

博士論文（要約）

昆虫嗅覚受容体発現細胞と FET を融合した
高機能バイオハイブリッド匂いセンサシステム

照月 大悟

論文の内容の要旨

論文題目：昆虫嗅覚受容体発現細胞と FET を融合した高機能バイオハイブリッド匂いセンサシステム

氏 名 照月 大悟

本研究は、遺伝子工学的に昆虫嗅覚受容体を発現した Sf21 昆虫培養細胞、すなわち「センサ細胞」の匂い応答を FET によって電氣的に検出するインターフェースの設計と応答検出、そしてウルトラファインバブルを用いた難水溶性有機化合物の溶解技術の確立を行うことで、これまでに構築されていなかった高機能バイオハイブリッド匂いセンサシステムを提案したものである。

第 1 章では、バイオエコノミーやスマートセルインダストリーなど、世界のバイオテクノロジーの潮流について言及し、生物の中でも特に昆虫の機能を引き出した昆虫テクノロジーへの期待について述べた。昆虫テクノロジーの具体例として、昆虫嗅覚受容体を発現させた Sf21 昆虫培養細胞である「センサ細胞」を用いて、匂い物質を高感度かつ選択的に検出する匂いセンサ素子が構築された。一方で、現在行われているセンサ細胞の計測は蛍光計測であり、昆虫嗅覚受容体の持つ性能を十分に生かしきれておらず、効率的な応答検出インターフェースの設計が必要となる。また、匂い物質は通常環境中に揮発した状態で漂っているため、匂いセンサの実用化においては、気中の匂い物質の検出技術が求められる。

そこで本研究では、次の 2 点を研究目的とした。1 点目は、遺伝子工学的に昆虫嗅覚受容体を発現した昆虫培養細胞、すなわち「センサ細胞」の匂い応答を、FET を用いて電氣的に検出するインターフェースを構築し、応答検出を達成することである。2 点目は、ウルトラファインバブルによる難水溶性有機化合物の溶解手法の有効性を検証することで、気中の匂い物質が溶解可能な技術を構築することである。

第 2 章では、匂い検出素子となるセンサ細胞の応答原理と特徴、蛍光計測方法についてまとめた。また、本研究に用いる BmOR3 発現系統と Or13a 発現系統の典型的な濃度依存的蛍光強度変化を取得し、電気信号による匂い応答検出と気中の匂い物質の溶解技術評価に向けた予備実験を実施した。

第3章では、センサ細胞の匂い応答を電氣的に検出可能な FET デバイスの開発と測定系の構築について記載した。既存の汎用バイオセンシングシステムである BioCMOS テスターを用いた実験では、匂い応答の検出に至らなかった。そこで本研究では、以下の条件を満たす、センサ細胞の匂い応答検出に特化したデバイスの設計を行った。

(1) センサ細胞の微小な匂い応答を電氣的に検出できること。

(2) センサ細胞を検出部に播種しやすく、細胞とデバイスの電氣的結合状態を検討できる構造であること。

(1)については、センサ細胞に使用される Sf21 細胞はアクションポテンシャルを発生せず、昆虫嗅覚受容体の微小な信号を検出するため、感度の高い電流検出型バイオセンサの設計を実施した。(2)については、最も単純な単一の FET、かつ自然接着によっても確実に細胞が播種できる電極サイズを持つ、伸長ゲート型 FET デバイスを設計した。これにより、電子顕微鏡によるセンサ細胞-デバイス界面の観察を可能にし、複数のセンサ細胞からの応答検出が期待できる。また、蛍光計測によって、伸長ゲート電極上に接着したセンサ細胞の活性評価を行った。結果として、アルミニウムベース材料上 (アルミニウム, Al_2O_3) に播種されたセンサ細胞の濃度依存応答カーブ、蛍光強度変化量、細胞応答割合はカバーガラス上と同程度であることが確認された。本結果より、Sf21 細胞に基づくセンサ細胞は、商用の CMOS ファウンドリを直接適用することが可能となり、高信頼性かつ低コストな匂いセンサシステムの構築に寄与することが期待される。

第4章では、本研究で設計した FET デバイスによる、センサ細胞の匂い応答測定結果について記載した。実験の結果、BmOR3 発現系統と Or13a 発現系統からの匂い応答を電氣的に検出し、電気信号による検出インターフェースの構築に成功した。電気信号によるセンサ細胞の匂い選択性は、過去の蛍光計測による結果と一致した。また、ノイズを低減する測定系を構築し、電気計測によって蛍光計測を超える感度を得られることが示唆された。応答検出の際、電極自体が匂い物質に非選択的に応答して偽応答を発生するという問題が確認されたため、電極全体を細胞で被覆する測定により、ノイズを低減しつつセンサ細胞の応答を検出できることが示された。以上の結果より、センサ細胞と伸長ゲート型 FET を1つの匂いセンサシステムとしてとらえた、OSFET (Odor-Sensitive Field Effect Transistor) という新しい概念を提唱した。

第5章では、センサ細胞-デバイス界面の観察・分析結果について論じた。本研究では、クロスセクションポリリッシャを用いることで、センサ細胞-デバイス

界面の微小構造を維持したまま断面観察試験片を作成し、その観察に初めて成功した。画像解析により、昆虫嗅覚受容体を発現した Sf21 細胞と Al₂O₃ 電極界面の平均距離 (cleft)は、 10.3 ± 0.5 nm であることが確認された。この結果は、先行研究で報告された各種細胞の cleft 距離より明確に短いものであり、Sf21 細胞は他の細胞で報告されている focal adhesion とは異なるメカニズムで電極上に接着していることが示唆された。また、センサ細胞は電気デバイスによる検出に適した細胞であり、センサ細胞とデバイスの結合はキャパシティブカップリングであることが示唆された。この結果は、センサ細胞の応答検出の場合、デバイスはイオン感応膜を備えた ISFET ではなく、金属電極によっても応答検出が可能であることを示唆している。

第 6 章では、ウルトラファインバブルを用いた難水溶性有機化合物の溶解技術の構築について記載した。本研究では、超音波ノズルから噴射したウルトラファインバブルを含有する液体ミストによって、難水溶性の匂い物質である 1-octen-3-ol を、短時間で高濃度に蒸留水中に溶解可能であることを示した。また、ウルトラファインバブルによる溶解サンプルを用いた Or13a 発現系統の蛍光強度変化量は、有機溶媒 (DMSO)によって溶解した場合と同程度であることが確認された。さらに、溶解した 1-octen-3-ol はサンプル作成から 6 か月経過した後も液中に保持されていた。

第 7 章では、本研究のまとめと貢献について記載した。本研究は、匂いセンサ開発における諸問題の中でも極めて重要な位置を占める、多様な匂いターゲットを高感度かつ選択的に検出可能な匂いセンサの開発と、気中の難水溶性有機化合物の溶解技術開発の 2 点を課題として取り組んだ。1 点目の解決策として、遺伝子工学的に昆虫嗅覚受容体を発現させた昆虫培養細胞の匂い応答を、FET によって電氣的に検出するバイオハイブリッド匂いセンサを提案している。また、昆虫嗅覚受容体利用センサは、嗅覚受容体が通常は液中のみで機能するため、気中の匂い物質検出に適用可能な技術が必要となる。そこで 2 点目の解決策として、ウルトラファインバブルを含有する液体ミストを噴霧することによって、気中の難水溶性有機化合物を高効率で溶解する手法を提案している。本研究は、疾病に関わる匂い物質やセキュリティ分野における危険物質の検出、食品や飲料水に含まれるカビ臭の検出など、幅広い産業分野への応用が期待される。本研究は、昆虫の持つ優れた機能を引き出して工学技術と融合することで、高機能バイオハイブリッド匂いセンサシステムの構築に貢献した。