

氏名(本籍)	まつ うら ひろ あき 松 浦 宏 昭 (高 知 県)		
学位の種類	博 士 (理 学)		
学位記番号	博 甲 第 3655 号		
学位授与年月日	平成 17 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	数理解物質科学研究科		
学位論文題目	<b>Development of Highly Sensitive Chemical Sensing Techniques with Surface Electrochemistry</b> (表面電気化学的手法による高感度化学センシング技術の開発に関する研究)		
主 査	筑波大学客員教授	工学博士	水 谷 文 雄
副 査	筑波大学教授	理学博士	新 井 達 郎
副 査	筑波大学教授	博士(工学)	寺 西 利 治
副 査	筑波大学教授	理学博士	齋 藤 一 弥

### 論 文 の 内 容 の 要 旨

化学センサは、特定の化学物質を識別し、その濃度に対応する電気信号（電流、電圧等）を出力として与える簡便な素子またはシステムである。近年、生体内の微量成分、環境中の微量成分を測定する目的で化学センサの一層の高感度化が求められている。化学増幅等、化学反応過程の巧妙なデザインによる高感度化は、化学センサの簡便性を維持したままで目的を達成するために有力な手法として着目される。電気化学測定法は化学物質濃度を電気信号として出力するための方法として、化学センサの分野で汎用されており、上述の化学増幅等の手法を導入した高感度化の研究例も散見される。

本論文は、表面科学の分野でこの二十年来興味を集めてきたチオールの金属上への化学吸着単分子膜形成と、吸着分子の還元脱離の現象を電気化学測定の観点から見直すことにより、チオールの高感度分析法として確立し、さらにこれをチオール生成反応を触媒する酵素の活性測定へ展開して酵素活性を指標とする農業測定、免疫化学測定に応用したものである。すなわち、チオールが金、銀等の電極上に吸着する過程を濃縮過程と考え、還元脱離過程を濃縮したチオールの電気化学検出過程と考えることにより簡便にチオール濃度あるいはチオール生成反応を触媒する酵素の活性を高感度に測定出来ることを示し、環境中、生体中の微量成分のセンシング技術として利用出来ることを示している。第一章では、本論文の位置づけを記載し、第二章から五章までは本論文の内容を要約している。

第二章では、チオールの吸着・還元脱離のプロセスによりチオール及びチオール生成反応を触媒する酵素の高感度測定が出来ることを示している。アミノエタンチオール溶液に電極を 10 分間浸せきし、吸着したチオールの脱離に伴う電気量をリニアスイープボルタモグラムから求めるというプロセスで、nM オーダーのアミノエタンチオールの定量が可能なることを示した。また、チオコリンを生成物として与える酵素アセチルコリンエステラーゼ (AChE) についても、酵素反応過程で生成するチオコリンの吸着、脱離のプロセスを適用して、酵素反応時間 5 分で 0.1 - 5 U/L、30 分で 0.01 - 0.08 U/L の範囲で測定できることを示した。特に、酵素反応時間を 30 分間としたときの測定下限値 0.01 U/L は従来の電流測定型のセンサによる値に比べて 1/100 であった。

第三章では、AChE 活性測定法において、高感度を保ちながら酵素反応時間を短縮する方法について報告している。チオコリンが酵素反応を行う中性溶液中で正に荷電していることに着目し、チオコリンの吸着基板となる銀電極に負の電位を印加して、銀表面の正電荷を減少させ、さらにゼロ電荷点を超えて負の電荷を持つようにするとチオコリンの吸着速度が大きくなると考えた。実際、チオコリンの吸着速度は  $-0.7$  V vs. Ag/AgCl で最大となり、酵素反応時に電極に  $-0.7$  V vs. Ag/AgCl の電位を印加することにより、酵素反応時間 5 分で  $0.01$  U/L の酵素活性の測定が可能であることを示した。

第四章では、第二、第三章で開発した高感度かつ迅速な AChE 活性測定法を AChE の阻害剤である有機リン系農薬の測定に応用している AChE を有機リン系農薬とインキュベートしたときに起こる酵素活性低下を本論文で開発した方法で測定している。エチルチオメトン、ダイアジノンについて  $0.01$  ppm までの測定が可能であり、この値はこれらの有機リン系農薬での野菜中の残留農薬濃度の規制値  $0.1$  ppm より十分小さく、本法を実用に供し得ることを示している。

第五章では、開発した AChE 活性測定法を酵素免疫測定系に応用している。免疫測定の対象としては、生体内に微量存在し、心疾患の診断に重要なペプチドホルモン BNP を取り上げている。BNP の血中濃度は健常人で  $20$  pg/mL 程度、心疾患の患者ではその病態に応じて数倍 - 百倍濃度が上がるとされており、実用上、少なくとも  $10$  pg/mL オーダーの測定が必要となる。抗 BNP 抗体を AChE で標識し、BNP との免疫反応後、免疫反応した抗体と未反応の抗体を分離し、いずれかの抗体上の AChE 活性を上記の方法で測定するとの系を確立した。特に、未反応抗体の活性を測定する方法で BNP の測定下限濃度  $40$  pg/mL を得、しかも血中に共存するコリンエステラーゼやチオール誘導体等の妨害を受けずに BNP が選択的に測定できることを示し、心疾患のモニタリングに適用する可能性が明示された。

## 審 査 の 結 果 の 要 旨

電気分析化学的手法、特に電流を測定し対象物質の定量を行う方法は、その簡便性から広く利用されているが、測定下限濃度は通常  $10^{-6} - 10^{-7}$  M であり、環境中、生体中の微量成分の測定等にはより高感度化が必要とされる。著者は表面科学分野で広く研究されているチオールの単分子膜形成、還元脱離を電気分析化学の観点から見直し、チオールを  $10^{-9}$  M オーダーまで測定できることを初めて見出した。さらに、この方法を酵素（アセチルコリンエステラーゼ）活性測定、酵素活性阻害率の測定による有機リン系農薬測定、酵素免疫測定によるペプチドホルモンの測定と、次々に展開した。このような新しい視点を導入した新規分析法の提案、提案した方法の適用可能性の探索のための一連の研究を積極的に進めたことは高く評価される。特に、ペプチドホルモン BNP の高感度測定技術は、循環器の医療に携わる研究者から注目されている。著者が提案した方法は適応性が広く、今後、新規な測定系の構築にも活用されるものと期待される。

よって、著者は博士（理学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。