

氏名(本籍)	光 ^{みつ} 本 ^{もと} 浩 ^{こう} 太郎 ^{たろう} (広島県)		
学位の種類	博士(生物工学)		
学位記番号	博甲第5400号		
学位授与年月日	平成22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	生命環境科学研究科		
学位論文題目	光学的特性を利用した環境中の生物由来物質の高感度計測技術に関する研究		
主査	筑波大学教授	工学博士	王 碧 昭
副査	筑波大学教授	農学博士	杉 浦 則 夫
副査	筑波大学教授	理学博士	繁 森 英 幸
副査	筑波大学准教授	農学博士	青 柳 秀 紀

論文の内容の要旨

光散乱原理を利用して、生活環境に存在する生物由来物質、特に人体に影響を与える生物由来物質を高感度かつ迅速に検出する方法を確立した。測定方法は二つ対象、花粉とエンドトキシンにより分けられた。

(1) 大気浮遊花粉のリアルタイム種別計測技術

日本国民の20%以上が花粉症に罹患しており、花粉症患者の個人対策として花粉予報に基づく曝露回避が有効であるが、現状の花粉予報は顕微鏡による前日の総飛散量(Durham法)と過去の気象データをベースにした予報であるため精度の粗さが課題であった。本研究は花粉の自家蛍光特性に着目し、高感度で迅速に花粉を自動計測する技術の研究を行った。特色としては花粉の自家蛍光の色比と花粉の大きさを組み合わせることによって顕微鏡下である程度花粉を識別できることをもとに、大気中の花粉を吸引して紫外線を照射し、花粉が発する散乱光と自家蛍光を空気流の中で同時に検出する装置(KP-1000)を開発した。スギ・ヒノキ花粉シーズンにKP-1000を屋外に設置して観測を行った結果、空中花粉の濃度変化を時間単位で計測することに成功した。また1日の総花粉数はDurham法の結果と相関が得られたが、スギ、ヒノキ花粉の飛散が重複する時期のデータについては補正が必要であることがわかった。この成果を元にハードウェアの改良を行ったKP-2000を開発した。屋内評価では、KP-2000は補正を行うことなく花粉を識別することがわかった。また屋外測定の結果についても補正を行うことなくDurham法と良好な相関が得られた。

(2) エンドトキシンの高感度迅速計測技術

エンドトキシンは大腸菌などのグラム陰性桿菌の細胞壁の成分であり、生活環境中に多数存在する物質である。耐熱性があり、血液に混入すると発熱やショック症状を引き起こす性質を持つため、血液に接触する製剤、医療用具は全てエンドトキシンが規格値以下であることが求められている。本研究はカプトガニの血球成分(LAL)がエンドトキシンと反応してCoagulinゲルを生成するリムルス反応を使って、光散乱を利用したエンドトキシンの早期検出およびその応用法を試みた。エンドトキシン標準希釈系列を光散乱法と従来法(比濁法)とで測定した結果、光散乱法は比濁法よりも迅速にゲル化を検出できることがわかった。検出時間の短縮化は試料が低濃度であるほど顕著で、比濁法にて138分で定量した試料を光散乱法では54分(約40%)で定量化することが可能であった。またエンドトキシン濃度と検出時間の両対数をとると回帰直線(検

量線)を作成することが可能であり、その相関係数は日本薬局方の規格 ($|r| \geq 0.980$) を満たした。血液中のエンドトキシンについても光散乱法は比濁法よりも早期にゲル化を検出したが、標準溶液よりも時間短縮化の割合は低かった。測定に影響を与える試料中の夾雑物の影響についても検討した結果、光散乱法のほうが夾雑物に対して堅牢であった。また、エンドトキシンと同様にリムルス反応を引き起こす β -D-グルカンについても、従来法よりも短時間で検出できることがわかった。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は光散乱原理を利用して、生活環境に存在する生物由来物質、特に人体に影響を与える花粉とエンドトキシンを高感度かつ迅速に検出する方法を確立した。花粉を検出する初期装置の特徴は、花粉の自家蛍光の色比と花粉の大きさを組み合わせることによって顕微鏡下である程度の花粉を識別できることをもとに、大気中の花粉を吸引して紫外線を照射し、花粉が発する散乱光と自家蛍光を空気流の中で同時に検出する装置である。さらにスギ、ヒノキ花粉の飛散が重複する時期のデータ補正を改良しながら、後期装置も開発した。本研究で確立された技術によって、空中花粉の種別濃度をリアルタイムで計測することが可能になった。この計測技術と気象データとを組み合わせることによって、従来よりも詳細な時間単位の花粉予報が可能になり、花粉症患者の QOL が改善されることが期待された。一方エンドトキシンの検出法の特徴は、カプトガニの血球成分 (LAL) がエンドトキシンと反応して Coagulin ゲルを生成するリムルス反応を使って、光散乱を利用したエンドトキシンの早期検出法である。その結果は日本薬局方の規格を満たした。また従来の比濁法よりも早期にゲル化となり、夾雑物に対して堅牢であったため、従来法より迅速な検出法が開発された。本研究で確立された計測技術を用いることによって、医薬品・医療用具の品質管理工程の迅速化および臨床におけるエンドトキシン血症の迅速診断の可能性が期待される。

よって、著者は博士 (生物工学) の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。