

匂いを測るバイオセンサ

小野寺, 武

九州大学大学院システム情報科学研究院情報エレクトロニクス部門 : 准教授

<https://hdl.handle.net/2324/1812924>

出版情報 : 九州大学大学院システム情報科学府・研究院先端サマーセミナー. 2017, 2017-08-10
バージョン :
権利関係 :



匂いを測るバイオセンサ

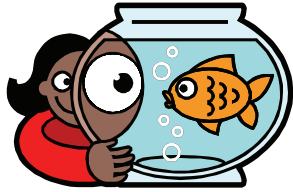
九州大学大学院システム情報科学研究院

情報エレクトロニクス部門

小野寺 武

人の五感

視覚



聴覚



触覚



嗅覚

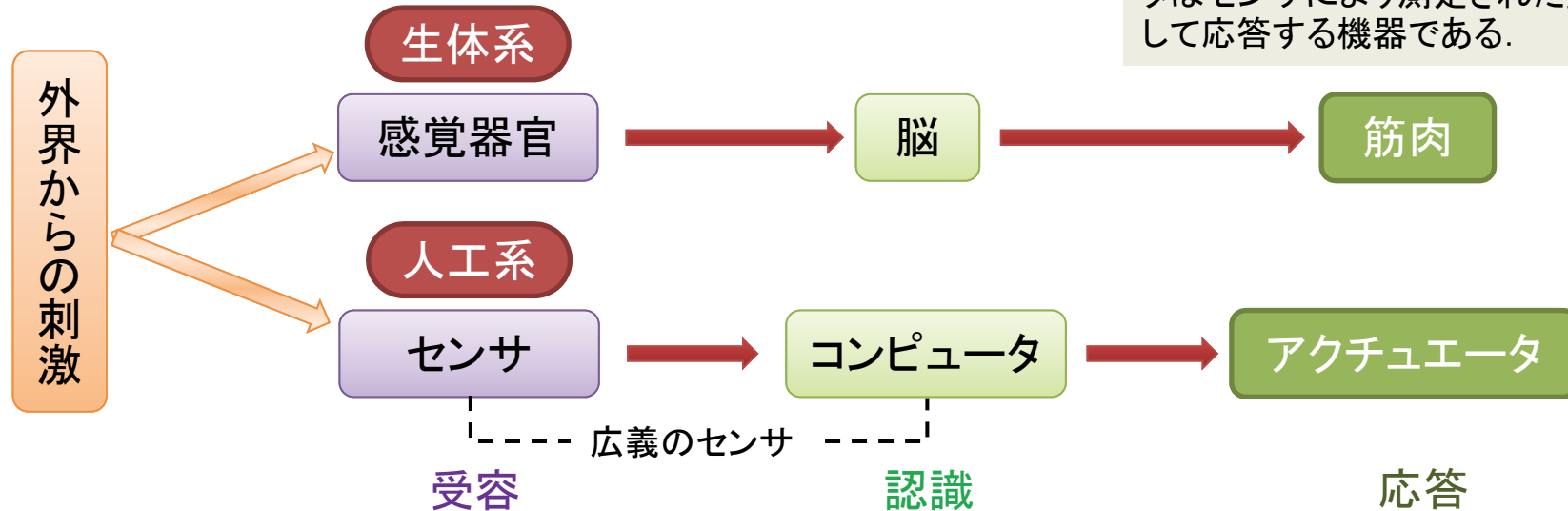


味覚



人には生きていく上で必要な外界の情報をえるための感覚が備わっている

生体系と人工系の情報の流れの比較



センサは、生体系の感覚器官に相当するものである。センサとコンピュータによる情報処理を含めてセンサということもある。アクチュエータはセンサにより測定された量に対して応答する機器である。

センサとは？

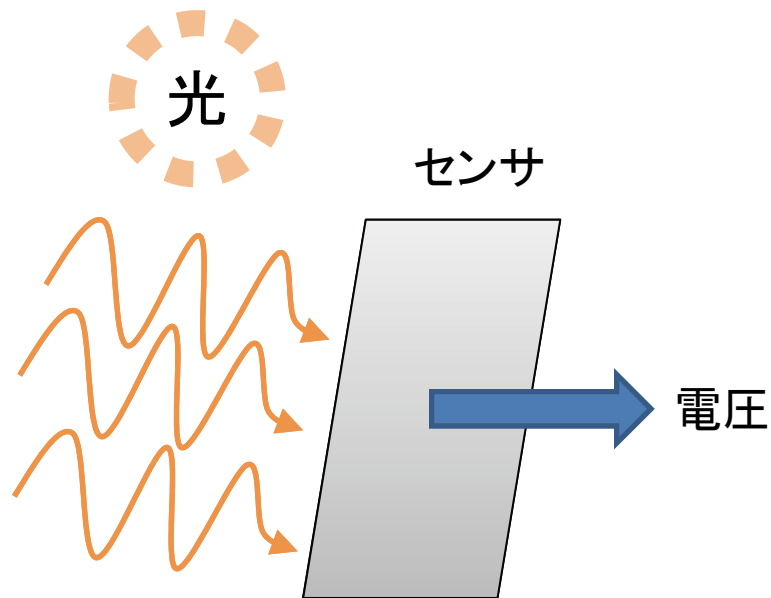
sense: <人>が…を(五感で)感じる

sensor: 感知装置

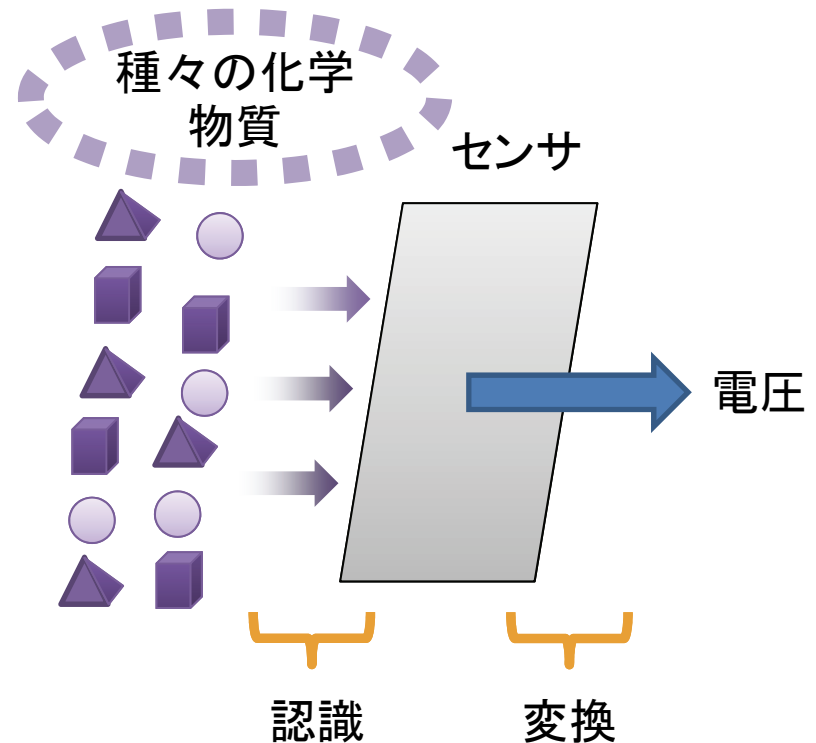
- 人間の感覚を人工的に再現するデバイス(素子)
 - 物理センサ
 - 光センサ(視覚), 圧力センサ(聴覚, 触覚)
 - 化学センサ
 - 味覚センサ(味覚)
 - ガスセンサ, 匂いセンサ(嗅覚)

物理センサと化学センサ

物理センサ



化学センサ



物理センサは、光、音波、圧力などの物理量を電気信号に変換する。
化学センサは、種々の化学物質を認識し、その濃度に応じて電気信号に変換する

五感とセンサ

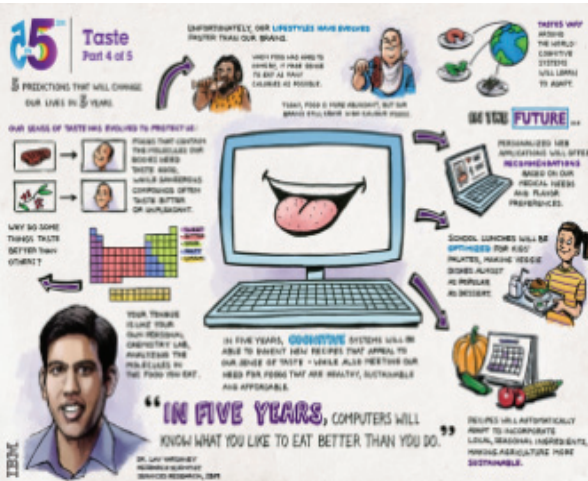
人の五感	感覚器官	対象	センサ	原理※
視覚	目	光	光センサ	光起電力効果 (光→電気)
聴覚	耳	音波	圧力センサ	圧電効果 (音波→電気)
触覚	皮膚	圧力 温度	圧力センサ 温度センサ	圧電効果(圧力→電気) ゼーベック効果(温度→電気)
嗅覚	鼻	匂い物質	匂いセンサ	吸着効果 (質量変化→周波数変化)
味覚	舌	味物質	味覚センサ	電気化学的効果 (相互作用→電気)

※電気抵抗変化、電圧変化、電流変化を単に電気と記した

スマートフォンに搭載のセンサ



IBM 5in5 (2012):五感融合



味覚: デジタル味蕾でスマートに食べる
嗅覚: コンピュータが嗅覚を持つ

Google Nose: 匂いを検索、伝送、再生



めくるめく香りを検索で

感覚をフル活用: キーボード入力、話す、タッチに加わる新たな感覚

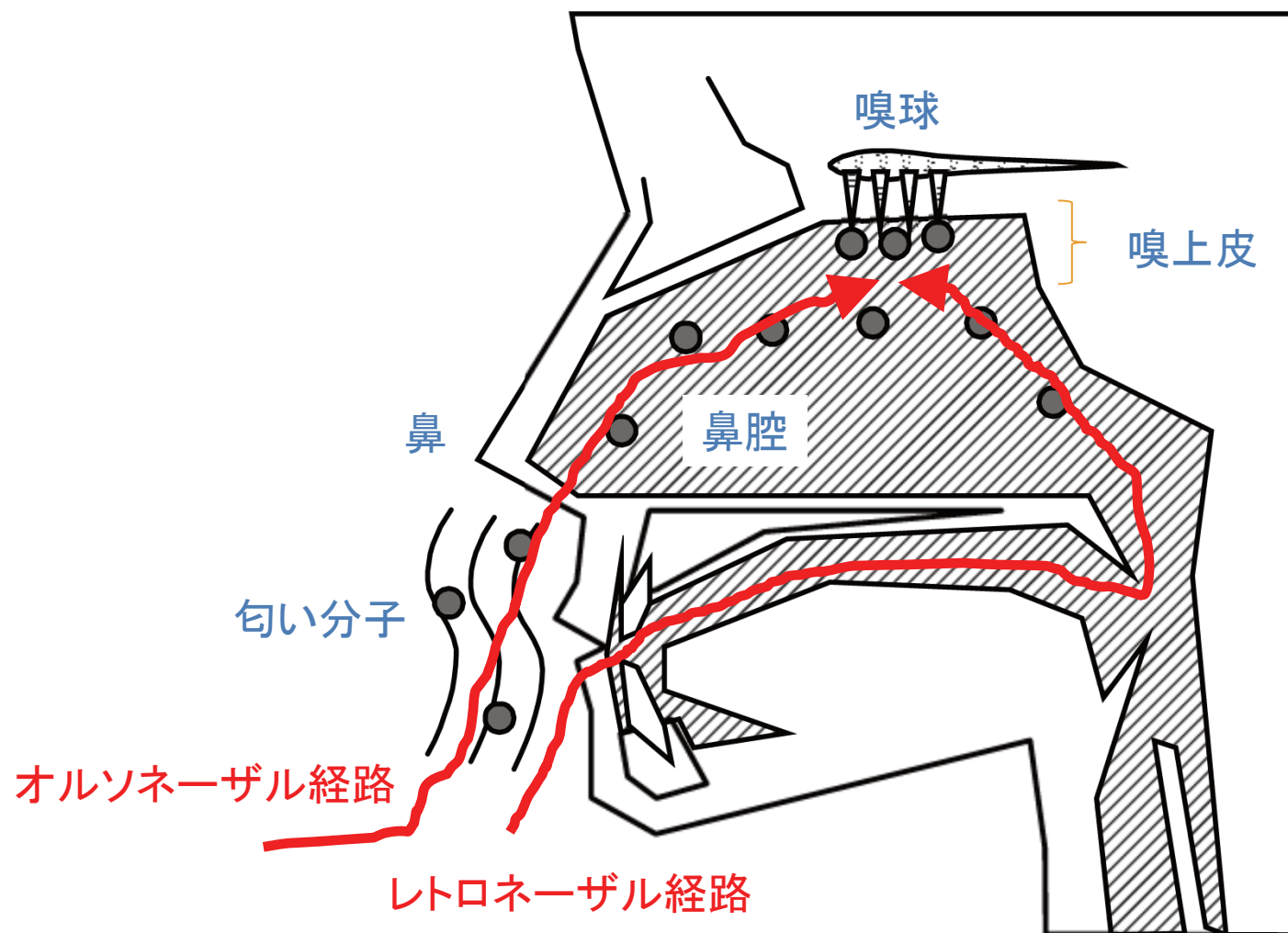
あなたのインターネット ソムリエ: ナレッジグラフで画像、詳細情報、音りの情報をひとまとめに



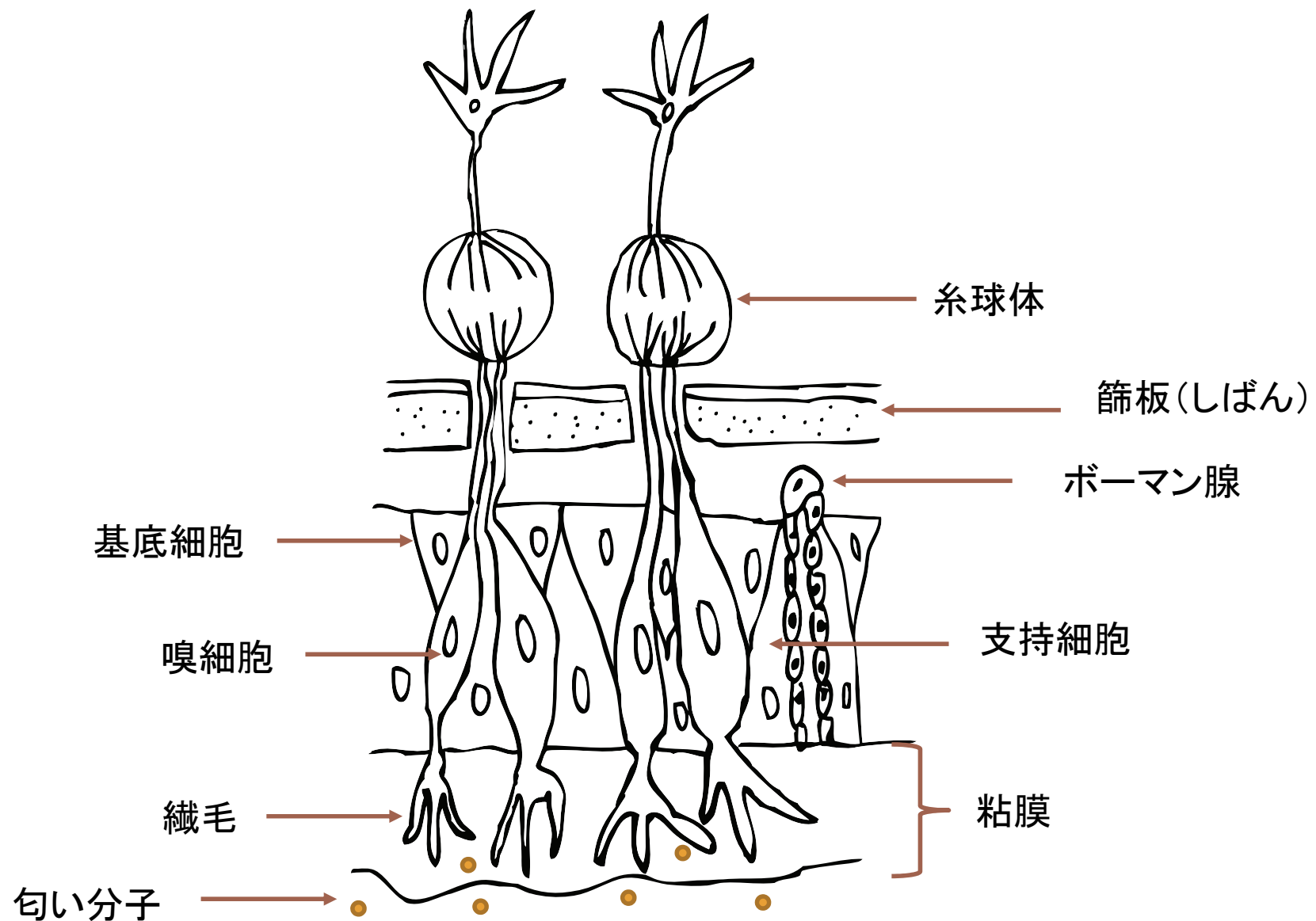
エイプリルフールのジョークだが、多くの人に関心を持たれた。

※Googleは2000年、検索者の思考を読み取って検索するというジョークサイトを設置→現在、予測検索が可能に。

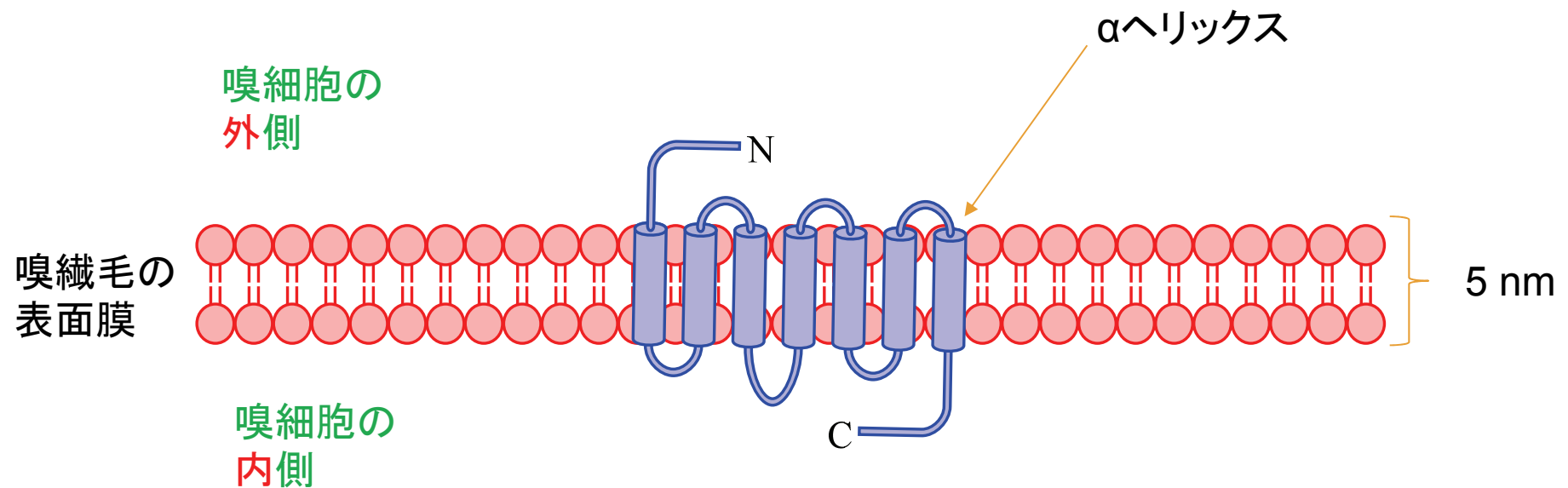
鼻の構造



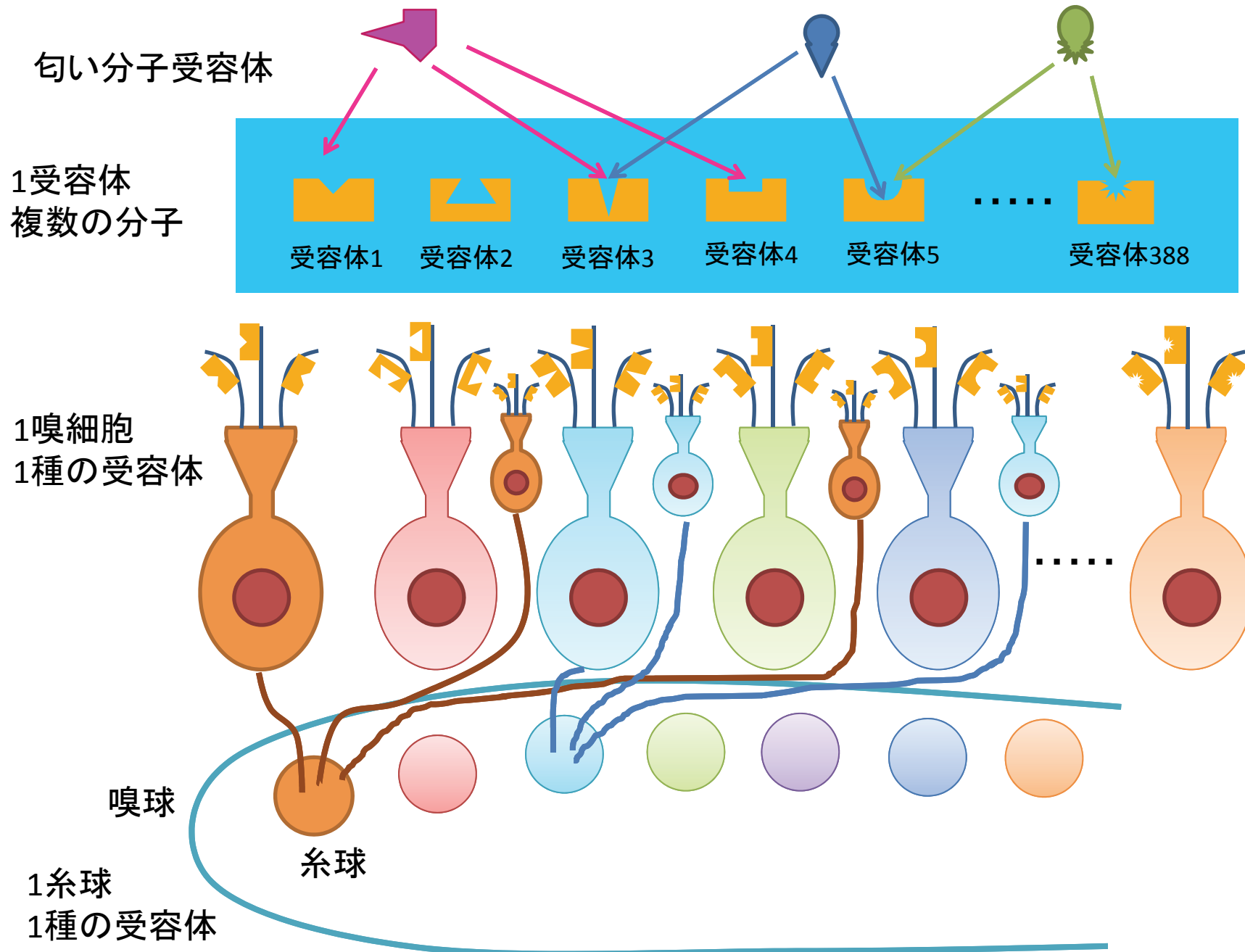
嗅細胞



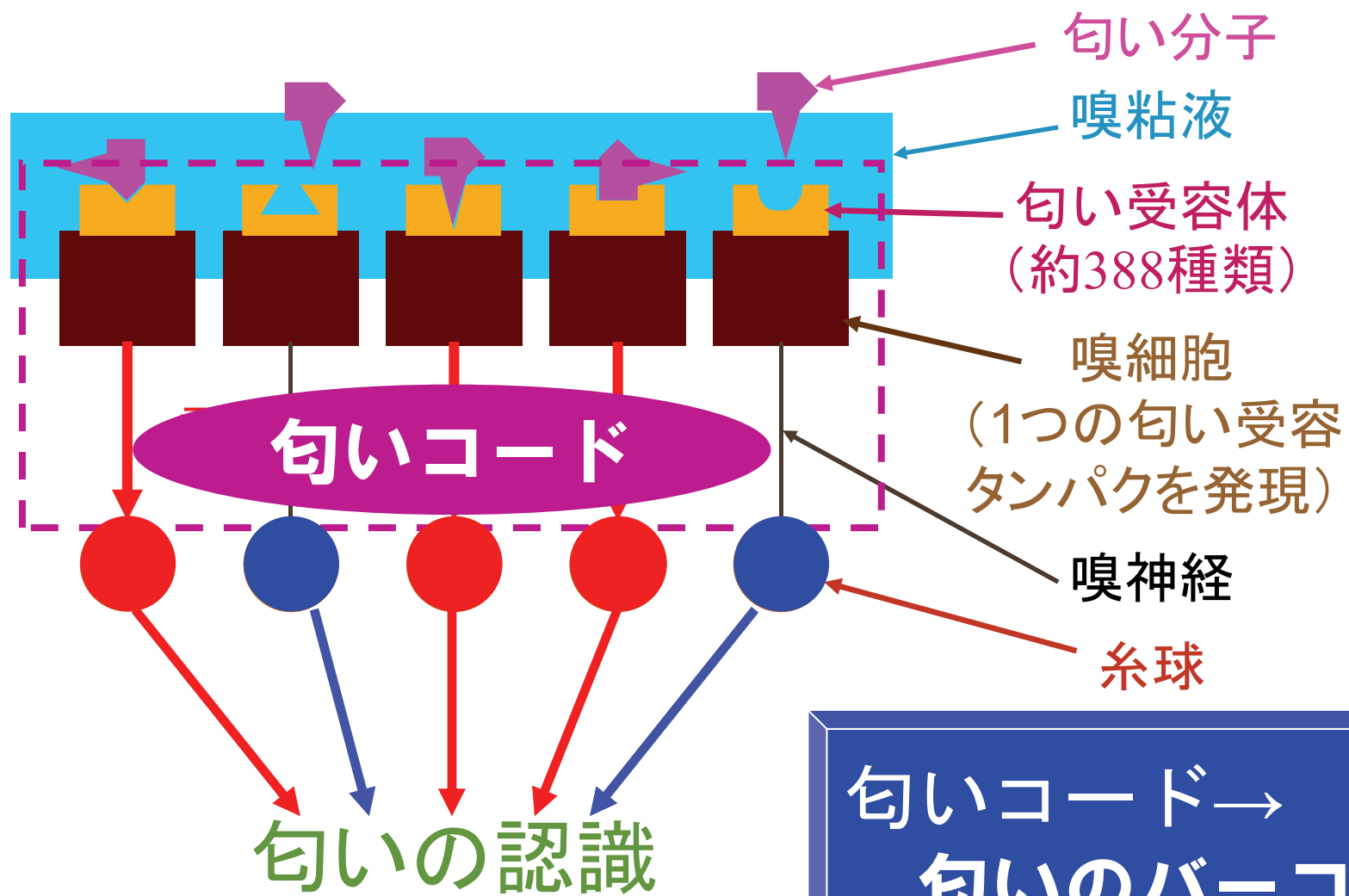
嗅覚受容体の構造



α ヘリックスが7回細胞膜を貫通した構造をとっている.

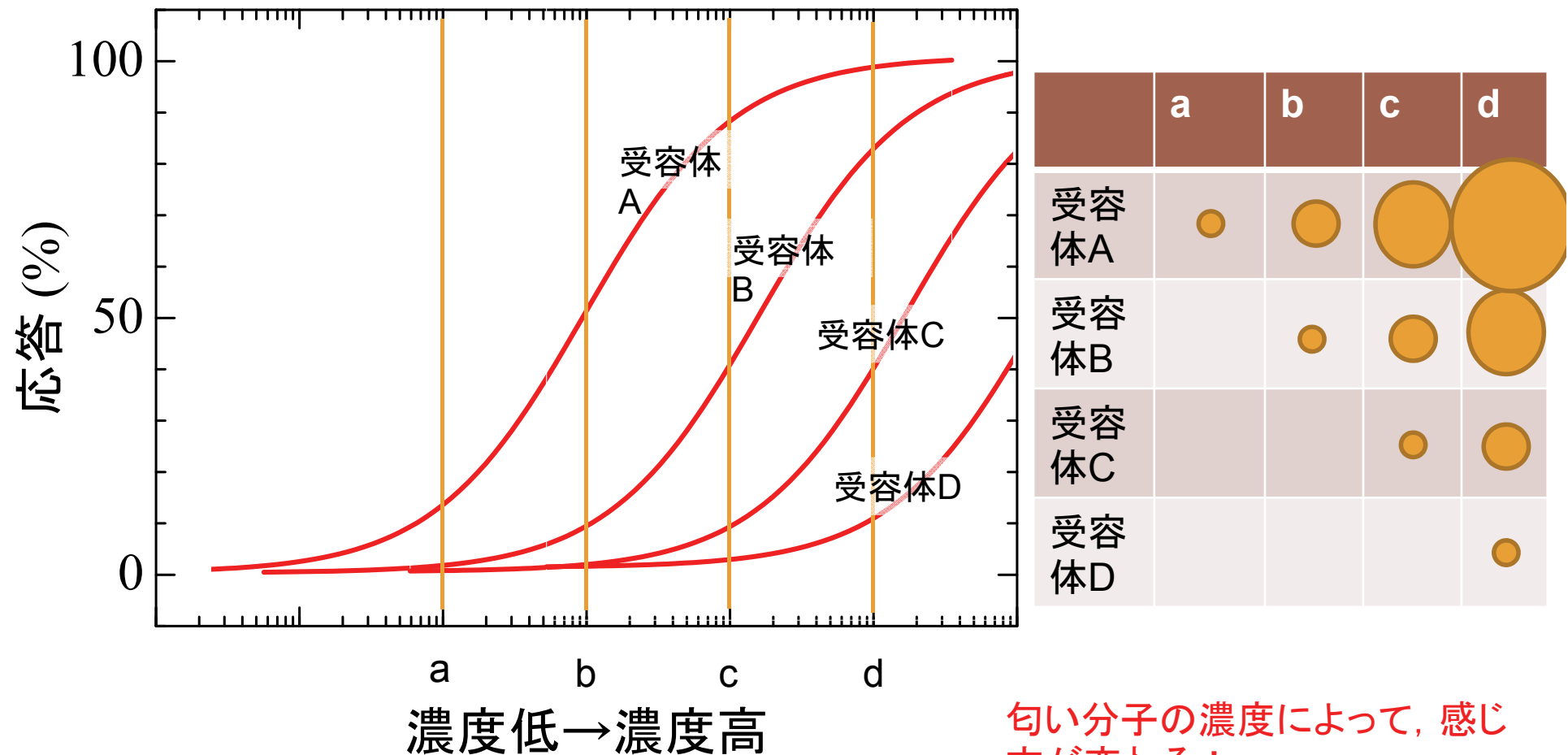


匂いコード

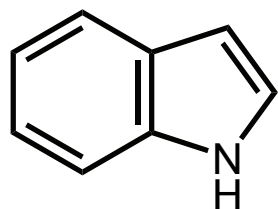


匂いコード→
匂いのバーコード

ある匂い分子の濃度変化と受容体の応答の強さ(親和性)の関係

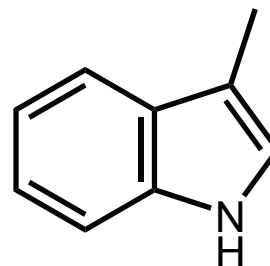


インドールの匂い



インドール

ジャスミン



3-メチルインドール



低

濃度

イヌとヒトの比較

	イヌ	ヒト
受容体の種類	872	388
嗅粘膜	170 cm ²	2.4 cm ²
嗅細胞	2億個	500万個
嗅繊毛	30～50 μm 125本/細胞	1～2 μm
表面積	7.9 m ²	0.00075 m ²

地雷の特徴

- ◆ 無差別性
 - 被害者の80%は非戦闘員, このうち3割は14歳以下の子供
- ◆ 半永久性
 - 50年以上前に埋められた地雷の被害もある
- ◆ 非人道性
 - 殺すことではなく, 手足を失わせることを目的としている
- ◆ 安価
 - 安価な地雷は3ドル程度でできる

<http://www.ne.jp/asahi/love/lobster/jirai/kiso.html>

地雷探知手法



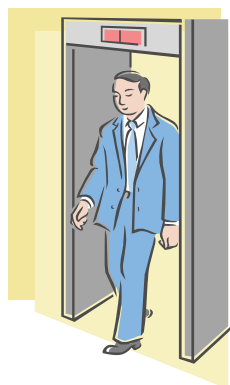
- ◆ 金属探知器(電磁誘導)
- ◆ 犬
- ◆ 開発段階
 - 地中レーダー(比誘電率の差)
 - センシング範囲, 時間で金属探知器に及ばず
 - 赤外線センサ(温度差)

爆発物探知装置に求められる性能

爆発物探知犬



金属探知器



(1) 低誤認率（高選択性）

⇒ 爆薬以外の物質に誤報を出さない

(2) 高探知率（高感度）

⇒ 極微量の爆薬を検知可能

(3) 短時間で測定可能なこと

⇒ 人、物の流通を妨げない

(4) 操作に熟練を要しないこと

(5) 可搬性があること

⇒ 装置を検査現場に持ち込み可能

(6) 安定使用可能なこと

⇒ 耐久性がよく，メンテナンスの手間がかからない

(7) 低コストであること

(※) 中村順(科警研)EXPLOSION Vol.16, No.1, 2006より一部引用

X線検査装置



低誤認率，高探知率が特に重要

センサコンセプト

信号変換部

表面プラズモン共鳴
(SPR) センサ
高感度なセンシングデバイス

分子検出部

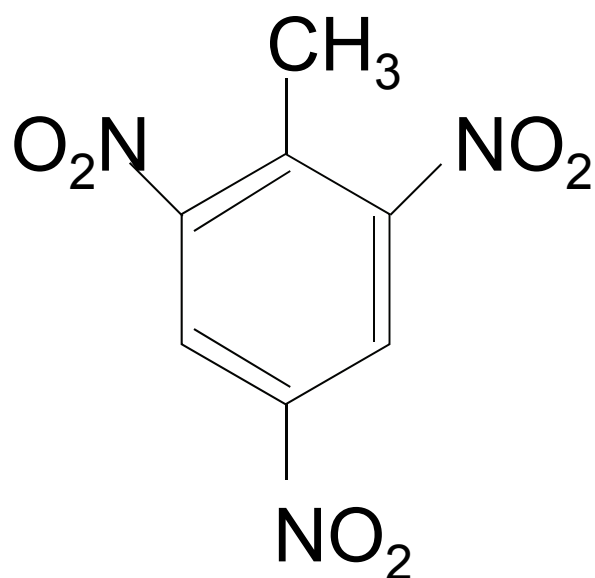
抗原抗体反応
抗体の抗原への親和性

- トリニトロトルエン (TNT)
- ジニトロトルエン (DNT)
- トリメチレントリニトロアミン (RDX)

サンプリング方法

超高感度匂いセンサ
エレクトロニックドッグノーズ
犬の電子の鼻

ターゲット物質



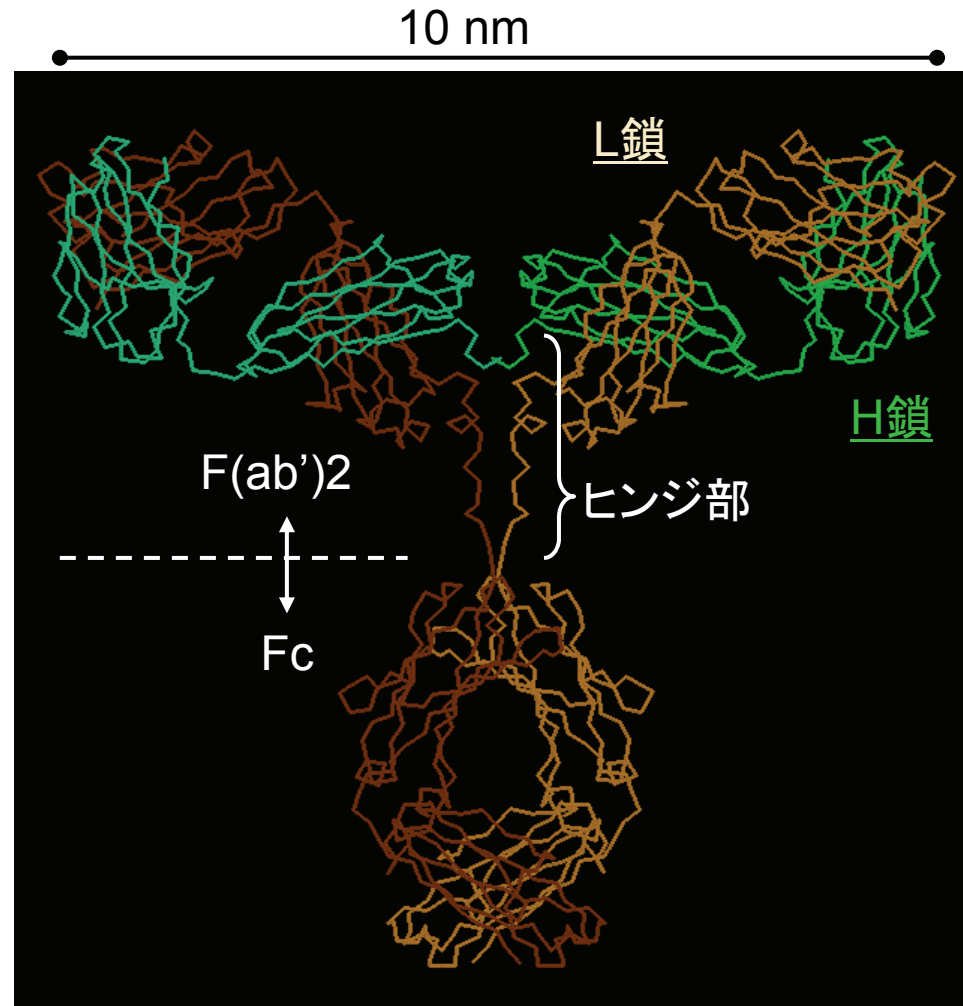
代表的な爆薬

2,4,6-Trinitrotoluene (TNT)

分子量: 227

- 結 晶: 淡黄色柱状晶
- 融 点: 80.7 °C
- 溶解度: 水 20 °C, 0.0130 g/100 g
95 %エタノール 20 °C, 1.23 g/100 g
ベンゼンに易溶
エーテルにかなり可溶.

抗体



イムノグロブリン G (IgG)

- 体液中の異物(ウイルス, 細菌)に結合
- 凝集などで, 不活性化
- 不活性化した後, 食細胞に取り込まれ, 消化される

ウイルス 100 nm

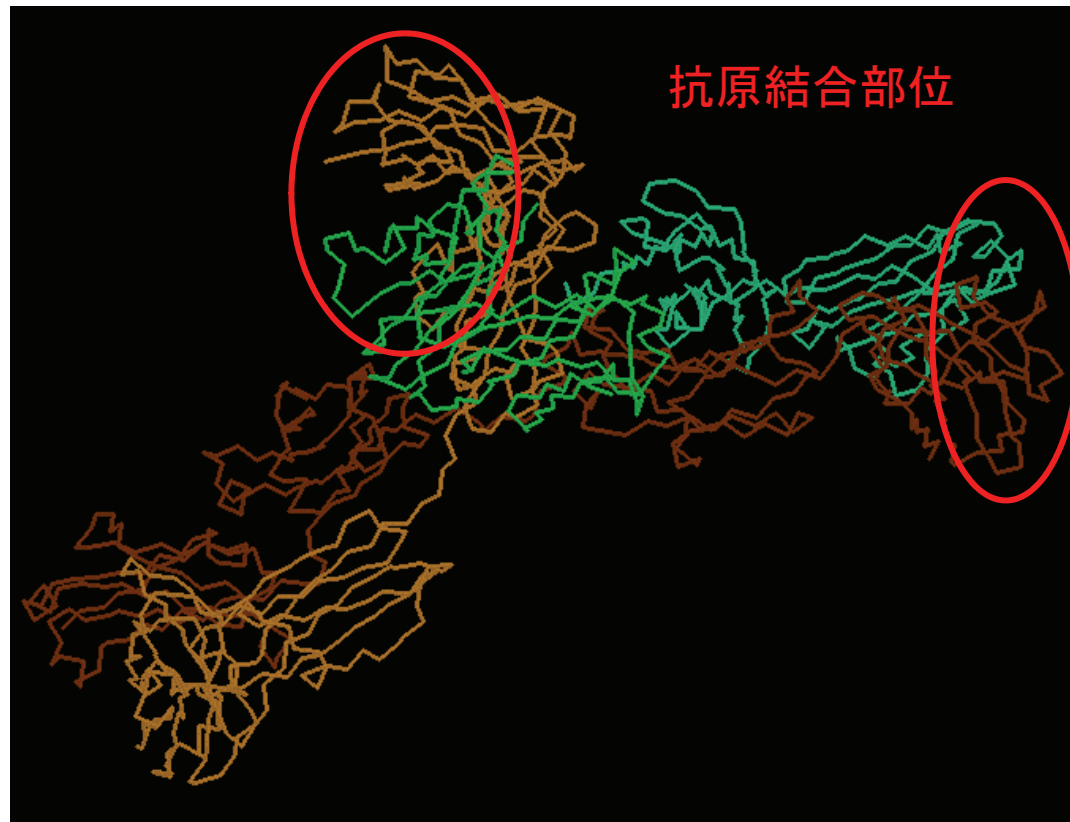
細菌 0.5~2 μm

Heavy chain, Light chain というポリペプチド2本ずつ

Fragment, crystalline: Fc

Fragment, antigen-binding: Fab

抗体

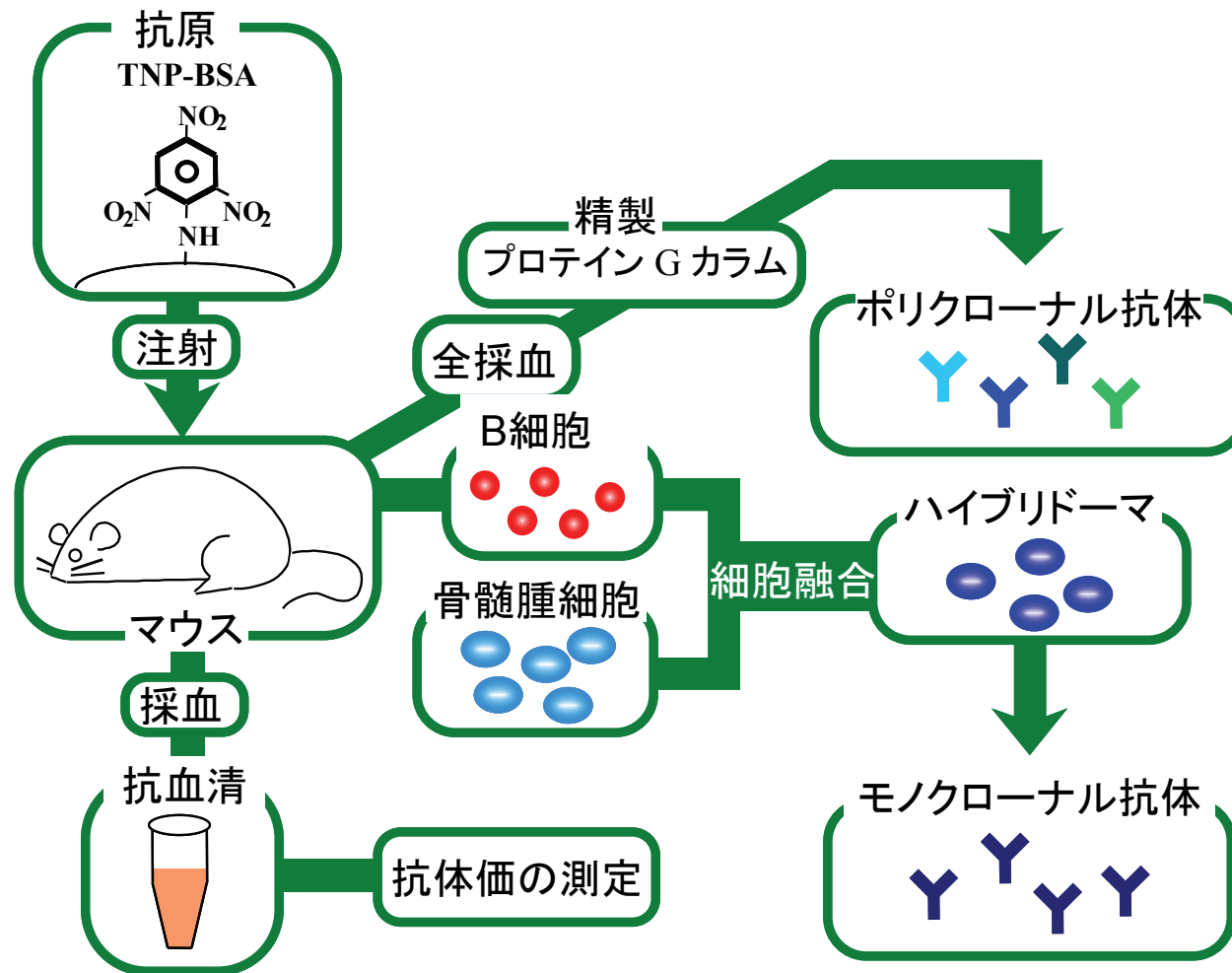


抗原結合部位は、可変領域
(V領域)と呼ばれ、IgG分子毎
に異なる

イムノグロブリン G (IgG)

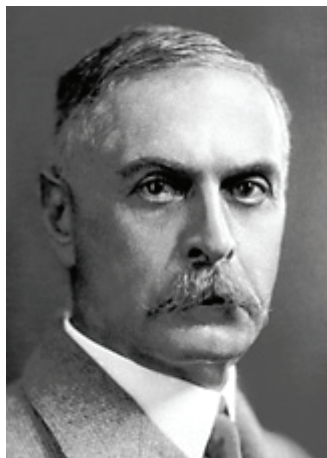
低分子抗体の作製方法

23



分子量5000未満の分子に対しては生物は抗体を作る能力を持たない
タンパク質にその分子を結合した物質を免疫原として、動物に接種すると、抗体が
獲得できる

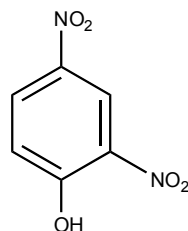
Karl Landsteiner (カール・ラントシュタイナー)



1900年 A,B,O式血液型の発見

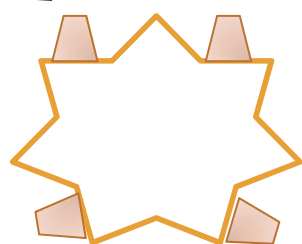
1930年 ノーベル生理学・医学賞

ハプテン: それ自体で免疫原性を持たないが, 抗体が結合できる低分子



ジニトロフェノール

ハプテン



キャリアタンパク質 + **ハプテン**



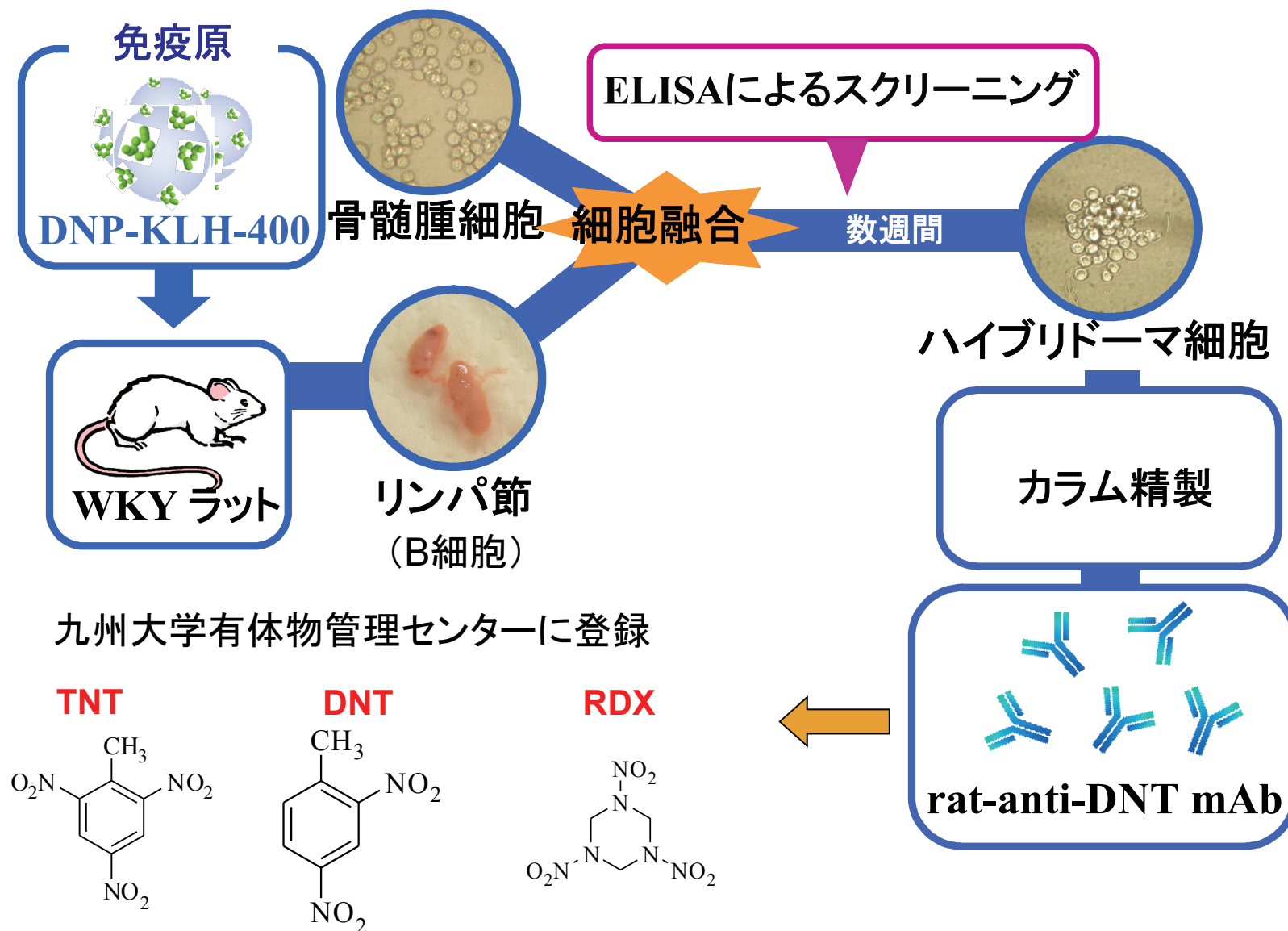
ハプテンに対する抗体

タンパク質に対する抗体

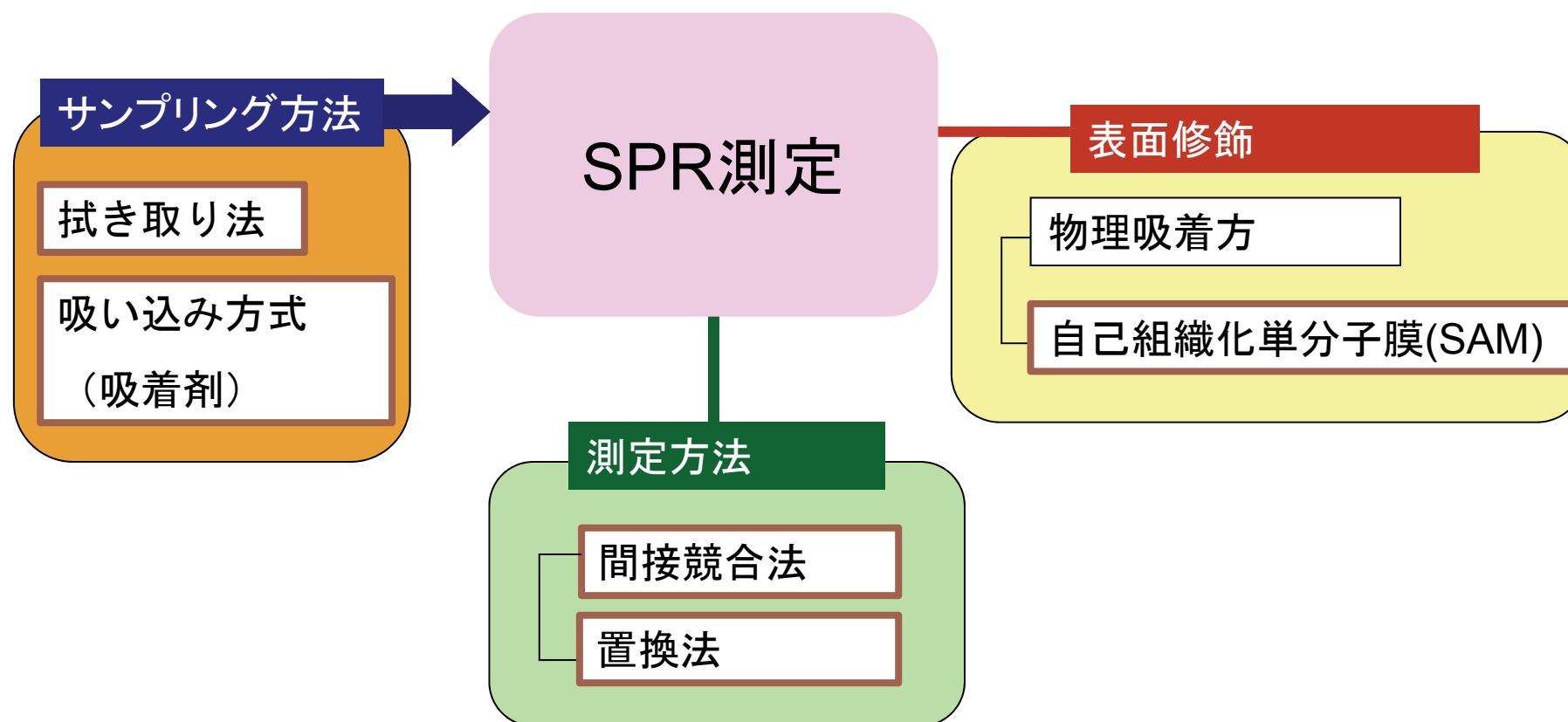
タンパク質 + **ハプテン**に対する抗体

モノクローナル抗体作成

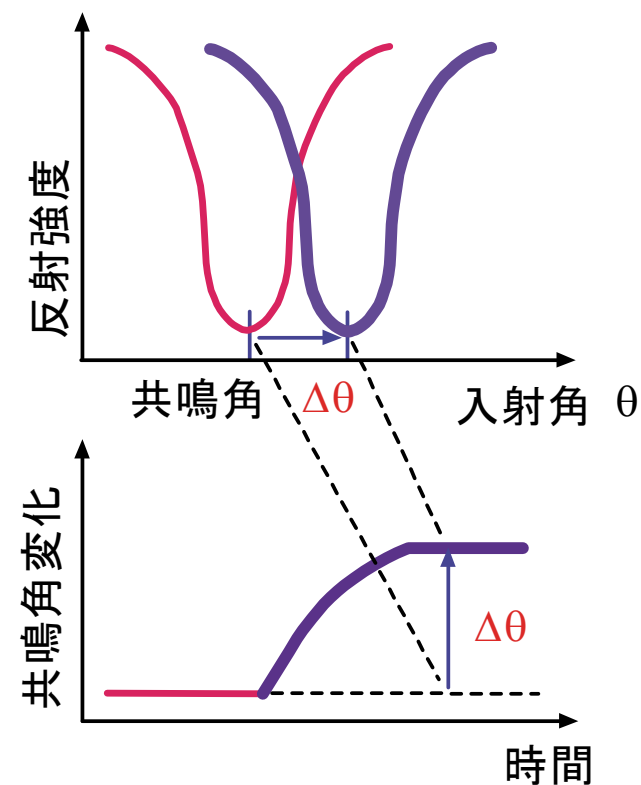
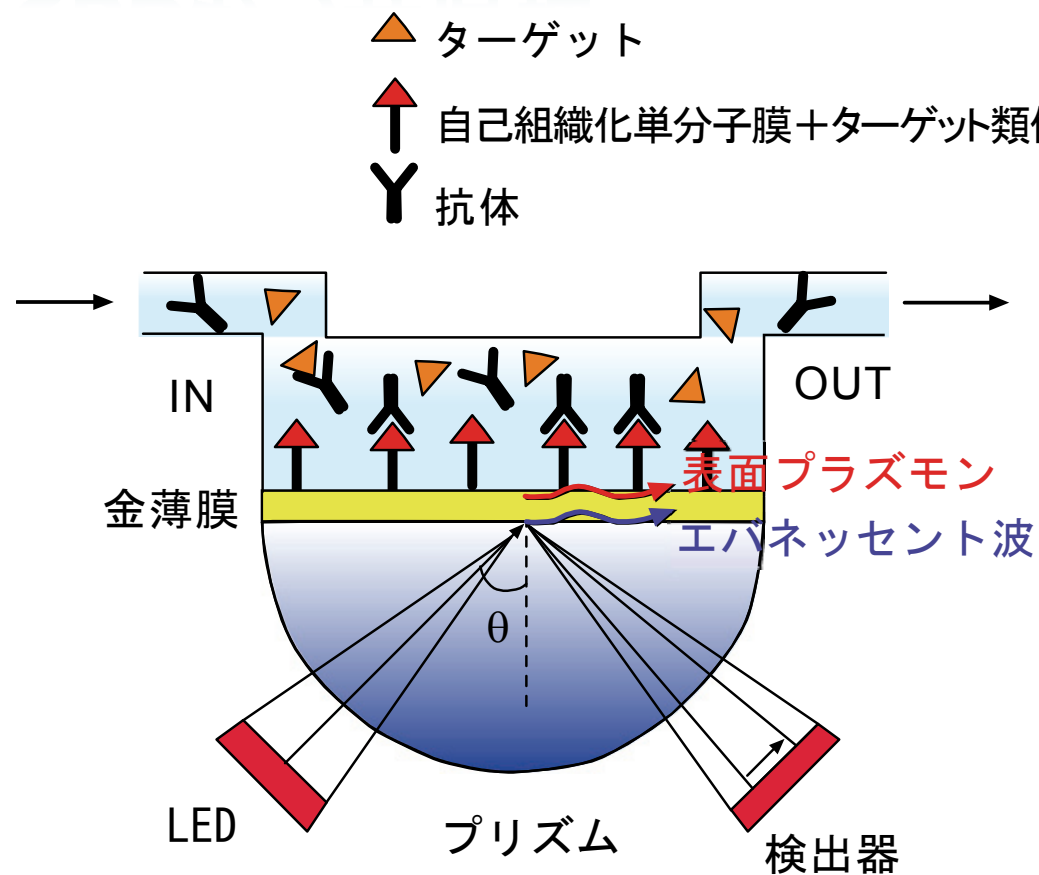
ラットリンパ節法による 抗体作製の流れ



現場で使用するために必要な要素技術



SPRセンサ原理



共鳴角変化
 0.0001° (1 RU)



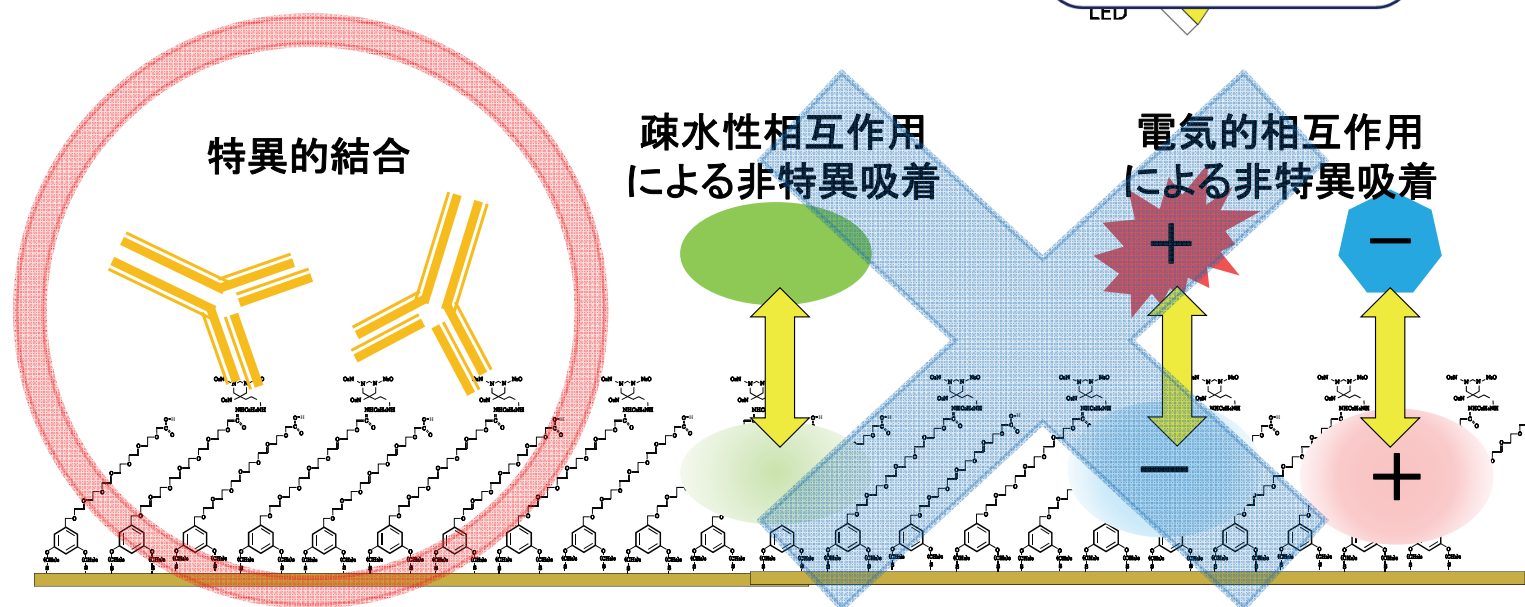
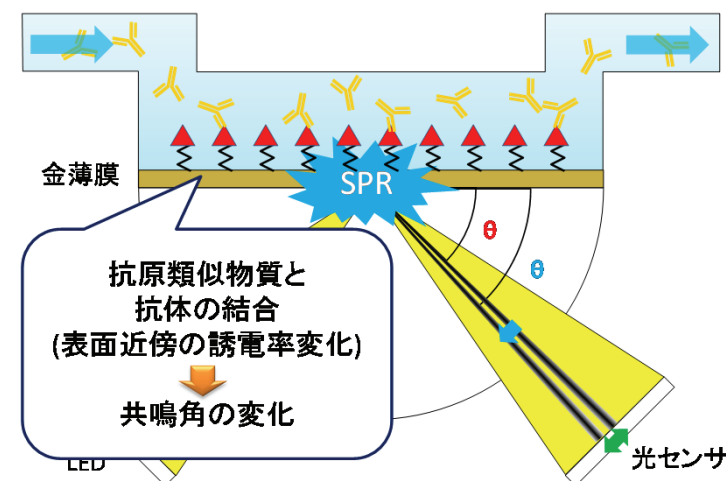
センサ表面での質量変化(タンパク質)
 1 pg/mm^2

SPRセンサの特徴

SPRセンサでは(表面近傍の)誘電率変化を測定
SPR免疫センサは**抗体の結合による**誘電率変化を利用

もし！

抗体の結合以外の要因による誘電率変化が起こったら？

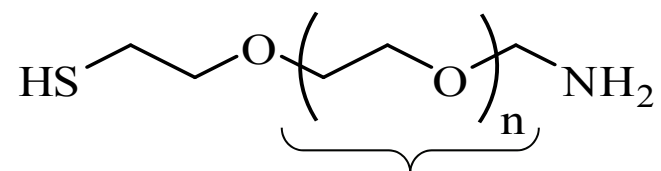


SPR免疫センサではそれらによる応答と
抗原抗体反応による応答とを**区別することができない**

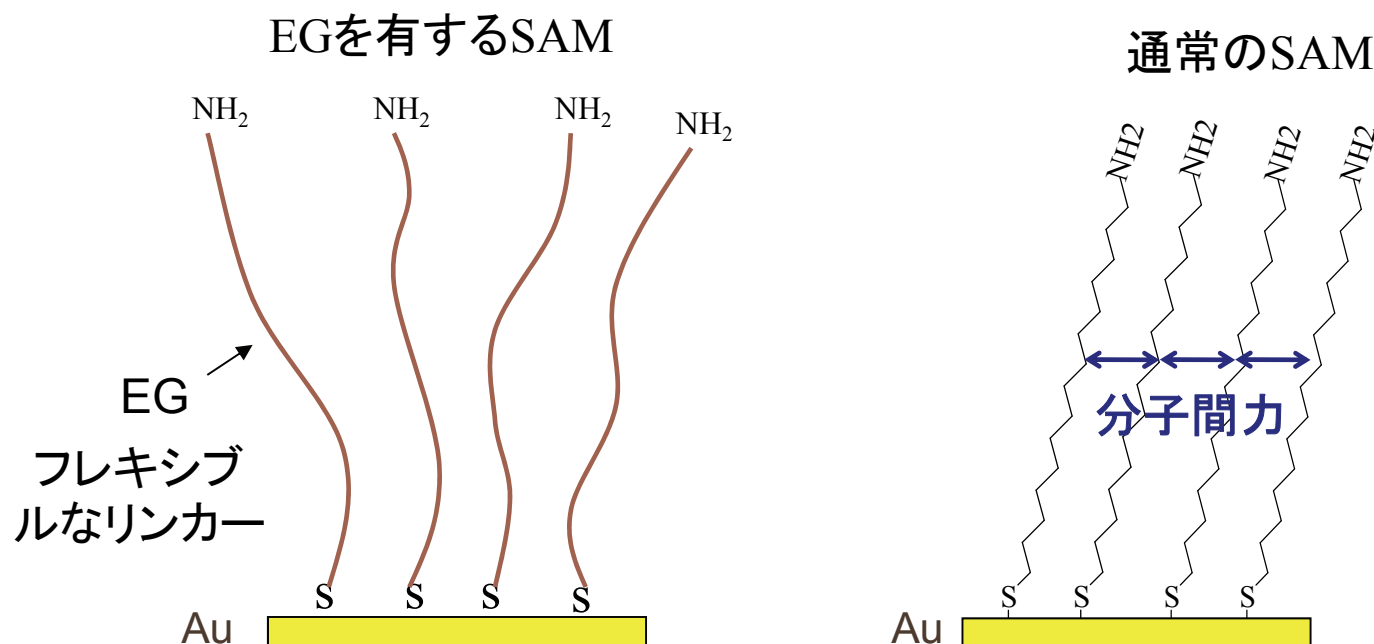
タンパク質の非特異的吸着の抑制

エチレングリコール(EG)鎖を有するセンサチップ

⇒ フレキシブルなEG鎖の自由回転運動、および高い親水性によって、タンパク質の非特異的吸着を抑制する効果

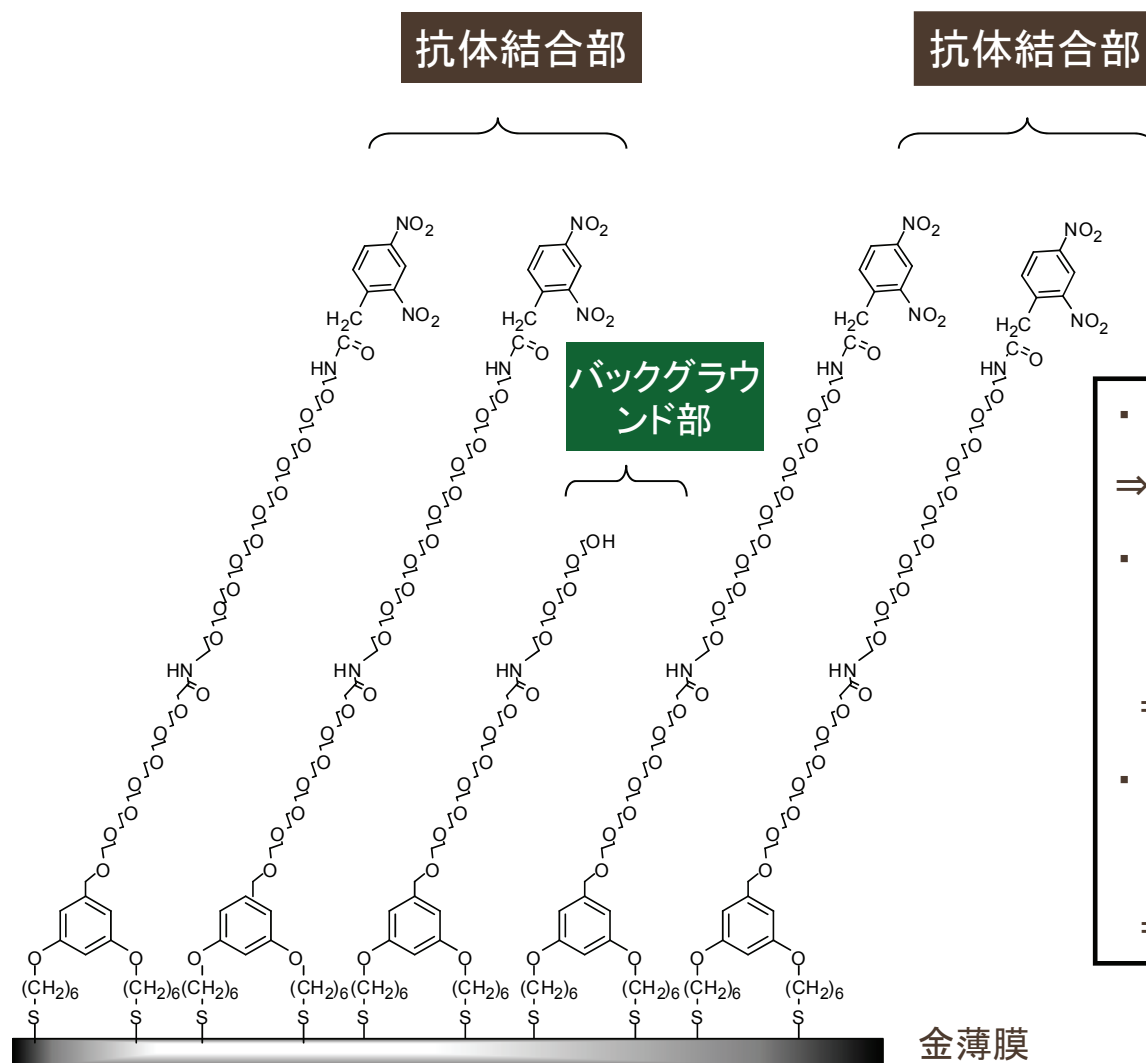


エチレングリコール



エチレングリコール鎖を有するセンサ表面

抗体結合部 : バックグラウンド部 = 4 : 1



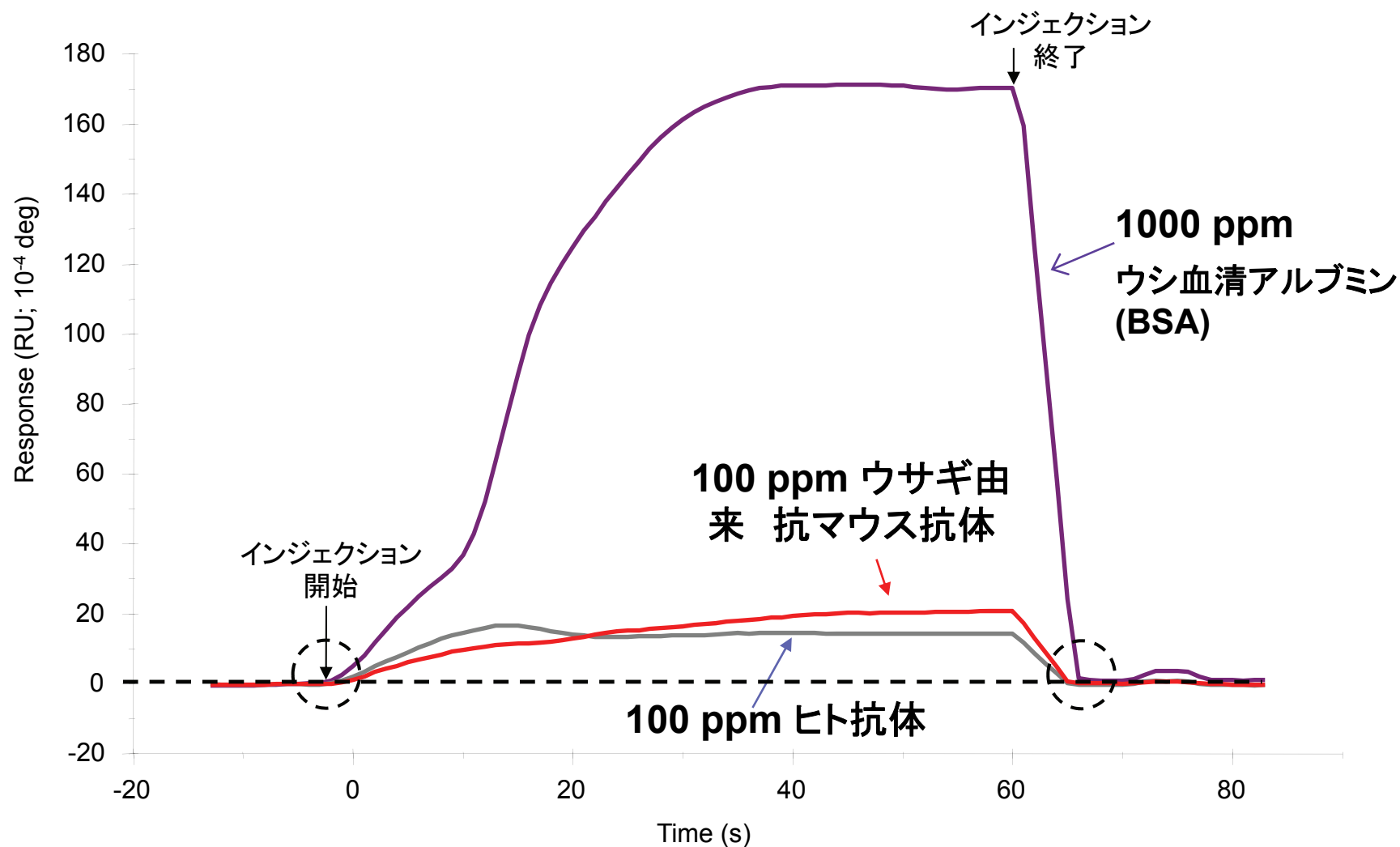
混合SAMの作製方法
特許5361221号

- エチレングリコール鎖を有する
⇒ タンパク質の非特異的吸着抑制
- 末端OH基のバックグラウンド部を有する
⇒ 非特異的吸着抑制力さらに向上
- ジチオール自己組織化単分子膜(SAM)試薬を用いる
⇒ 強固なSAMを形成

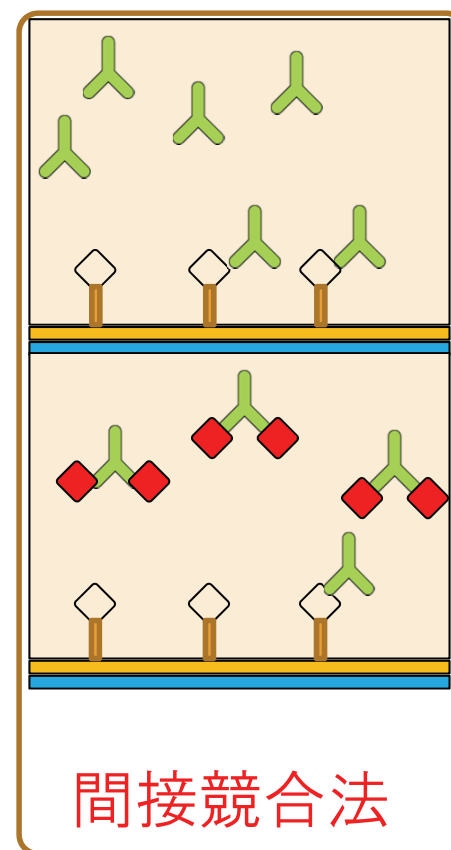
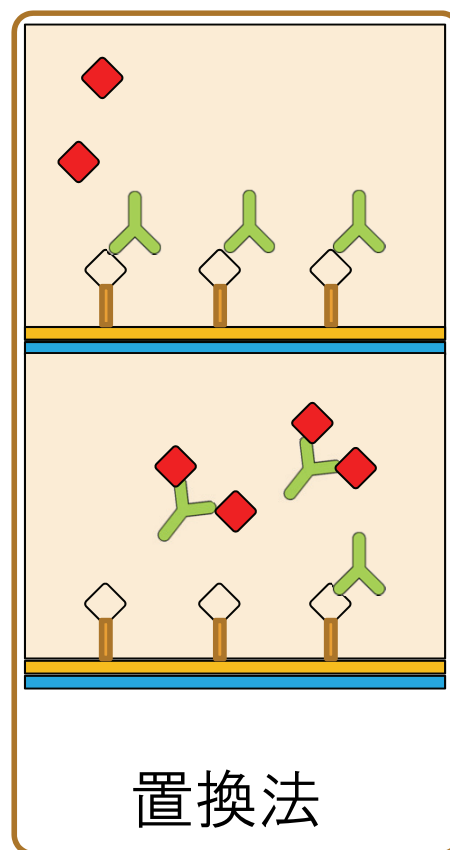
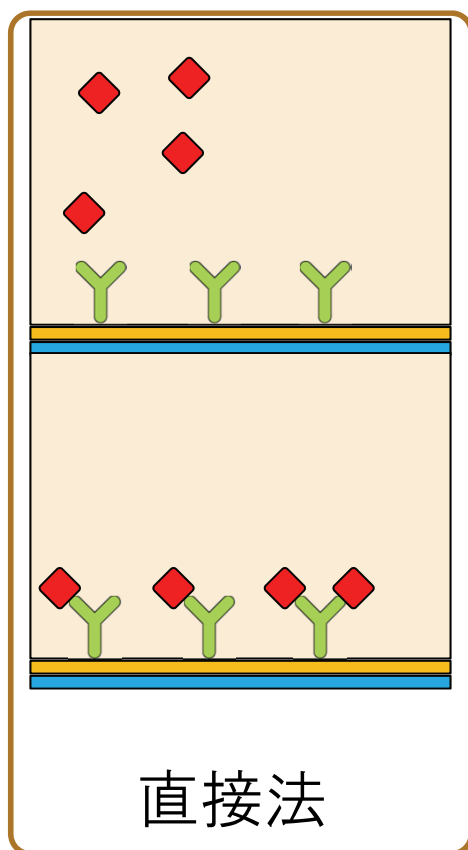
金薄膜

作製したセンサ表面による非特異的吸着抑制効果

3種類の高濃度のタンパク質の非特異的吸着をほぼ完全に抑制

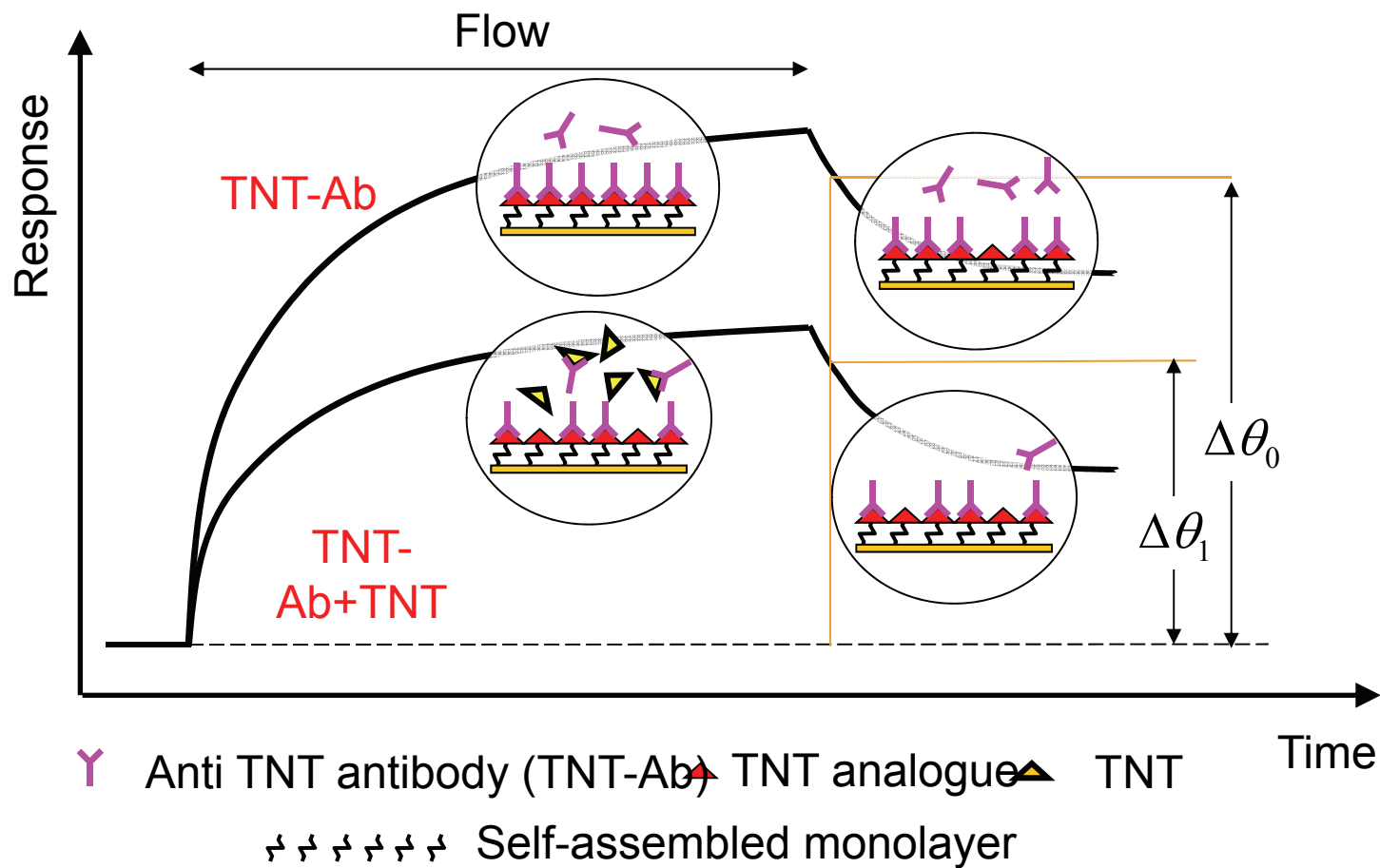


抗原抗体反応を用いた測定方法

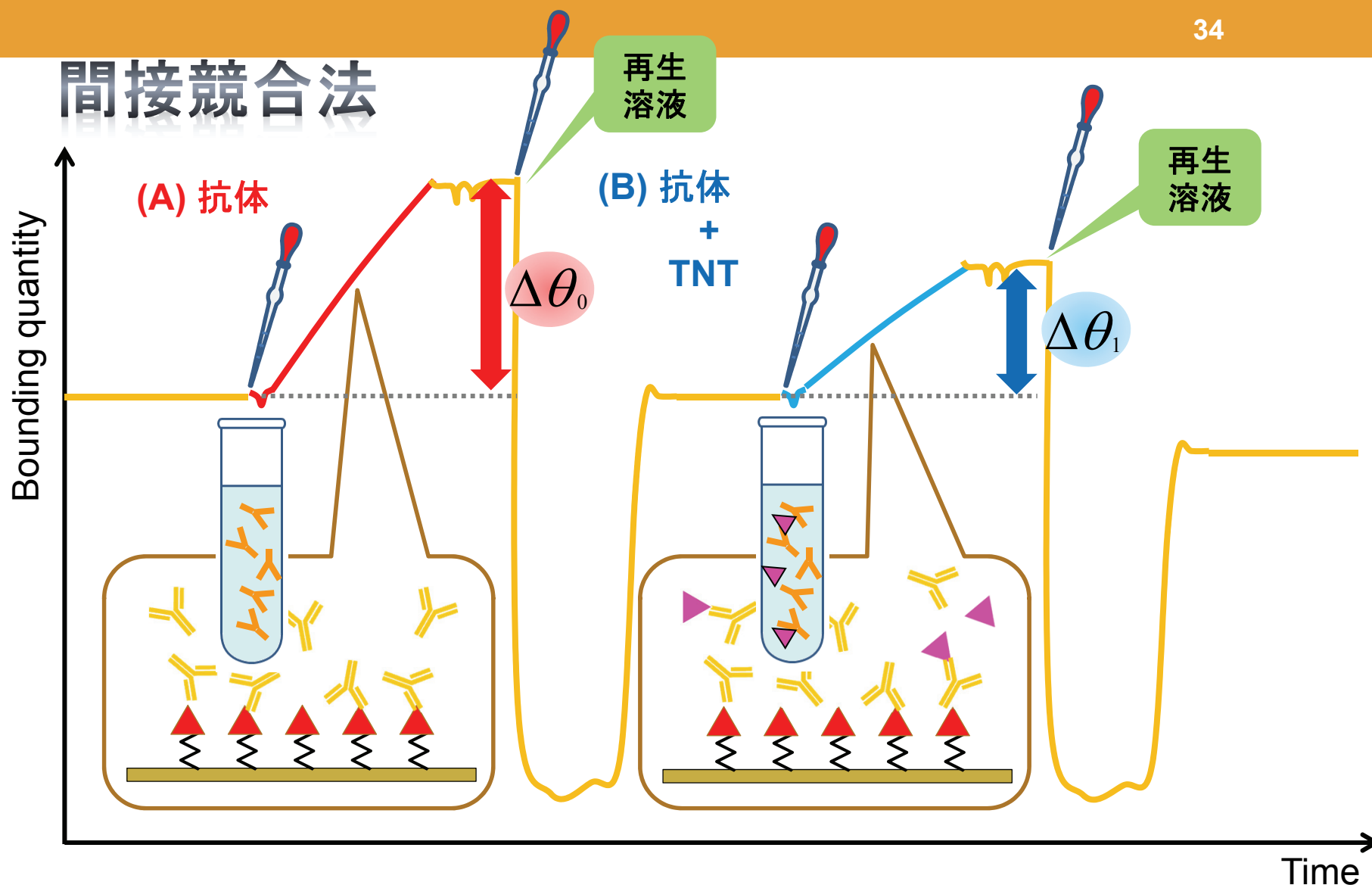


◆ 抗原 Y 抗体 ◇ 抗原類似物

間接競合法の原理



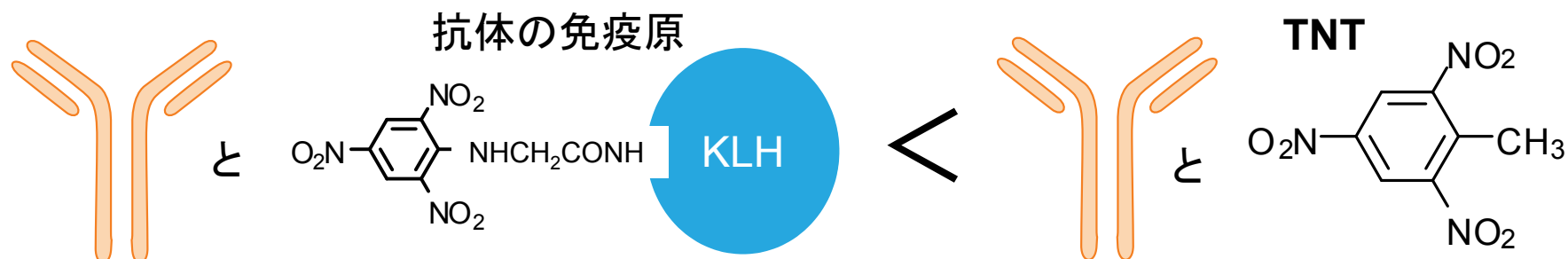
間接競合法



SPR sensor : BIACORE J
 Running buffer : HBST
 再生溶液 : 50 [mM] NaOH
 流速 : 30 [μ L/min]
 温度 : 25 [$^{\circ}$ C]

$$\text{結合率} = \frac{\Delta\theta_1}{\Delta\theta_0} \times 100 (\%)$$

TNT類似化合物の構造および抗体に対する親和性



表面に固定化したTNT類似物質

TNT
類似化合物

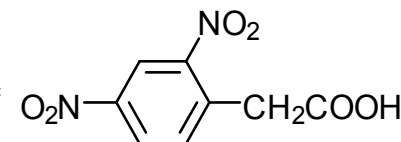
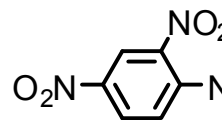
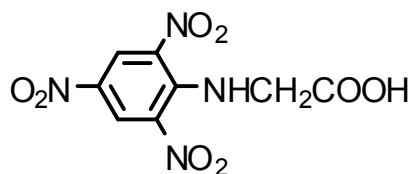
TNP-グリシン
(2, 4, 6-Trinitrophenyl
glycine)

DNP-グリシン
(2, 4-Dinitrophenyl
glycine)

DNP-酢酸
(2, 4-Dinitrophenyl
acetic acid)

構造

最も類似構造



親和定数
 K_A (M^{-1})

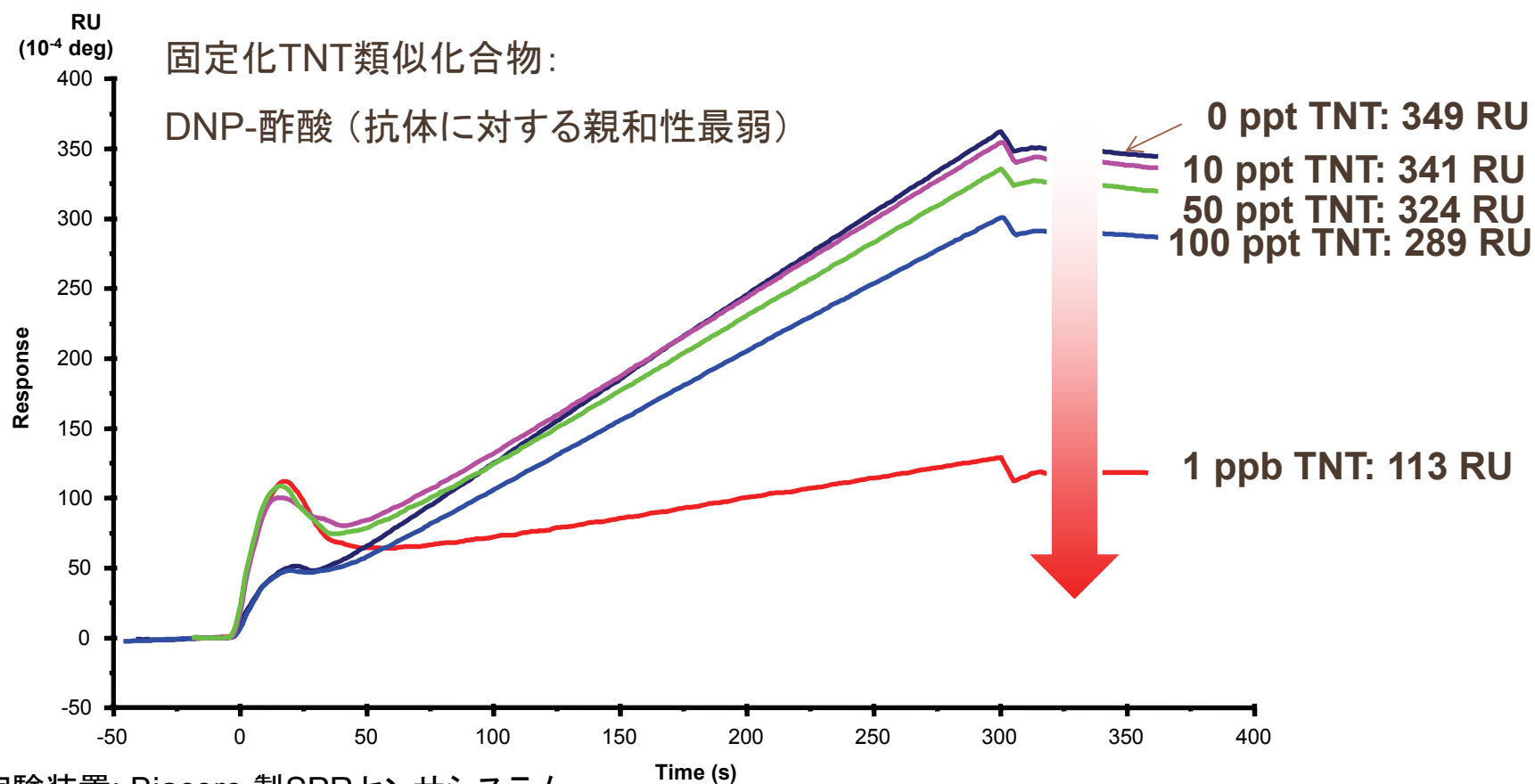
3.0×10^7

2.0×10^7

1.0×10^7

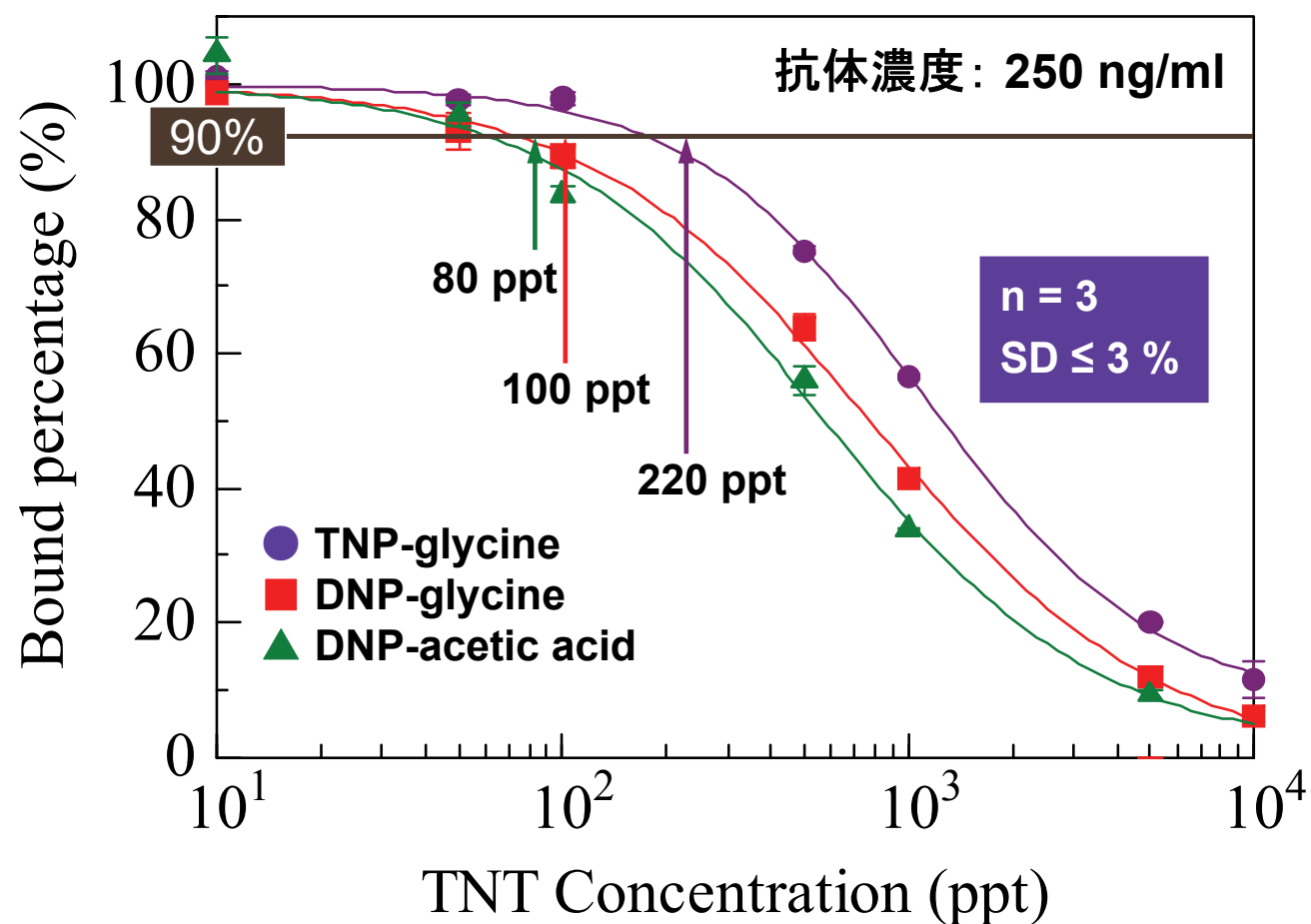
抗体との親和性大

間接競合法によるTNTの測定例

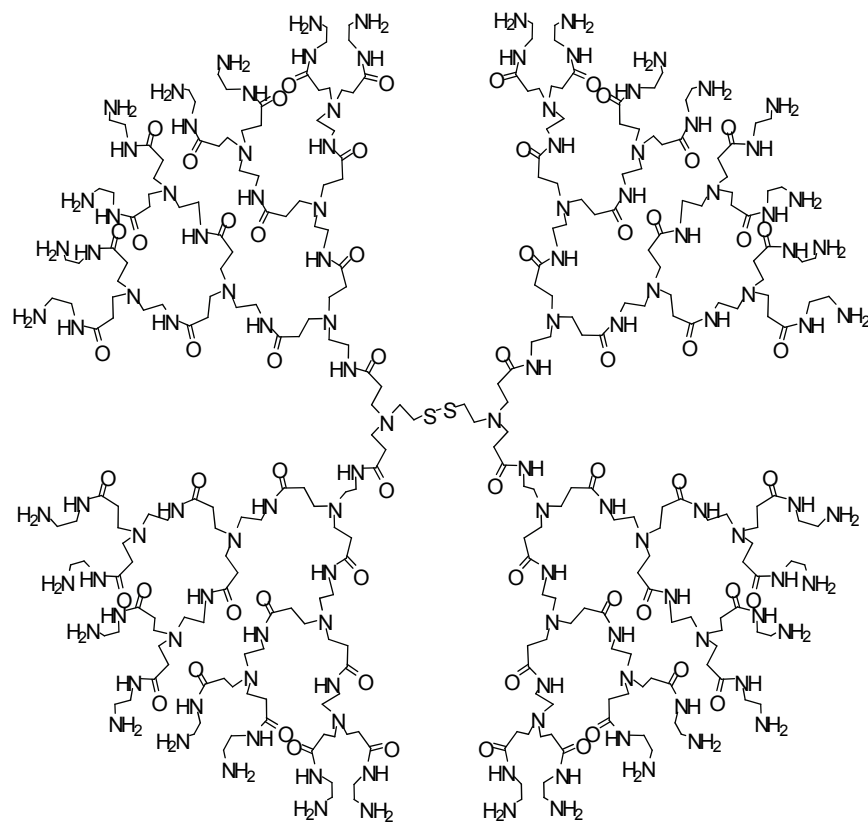


- 実験装置: Biacore 製SPRセンサシステム
- 抗体: 250 ng/ml 抗TNTモノクローナル抗体
- 流速: 60 μ l/min, 温度: 25 $^{\circ}$ C
- ランニングバッファー: PBST
(100 mM Phosphate Buffered Saline, 150 mM NaCl, 0.05 % (v/v) Tween 20, pH 7.2)
- インキュベーション時間: 15分間以上
- サンプルインジェクション量: 300 μ l (5 min)

間接競合法によるTNT測定結果



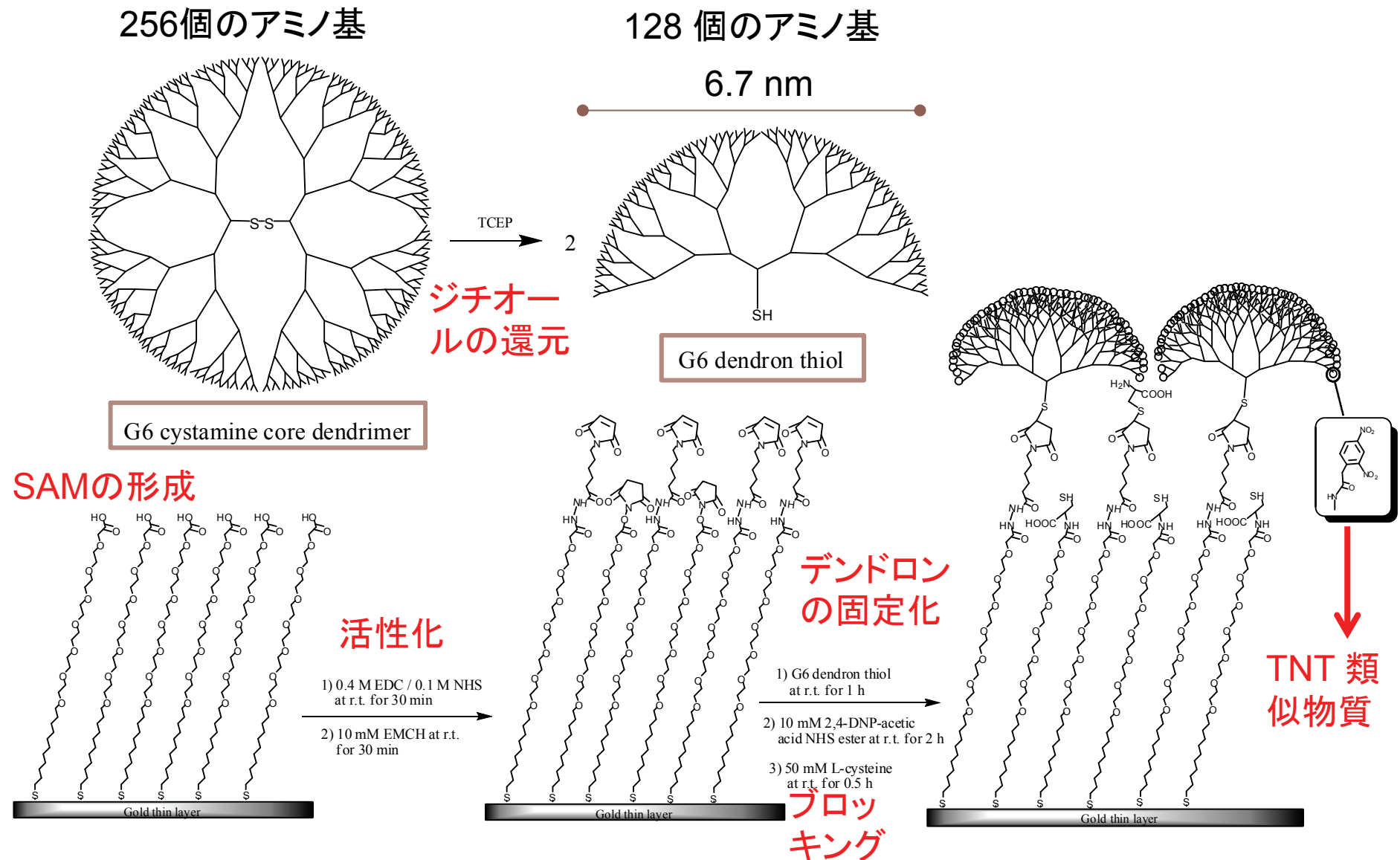
デンドリマー



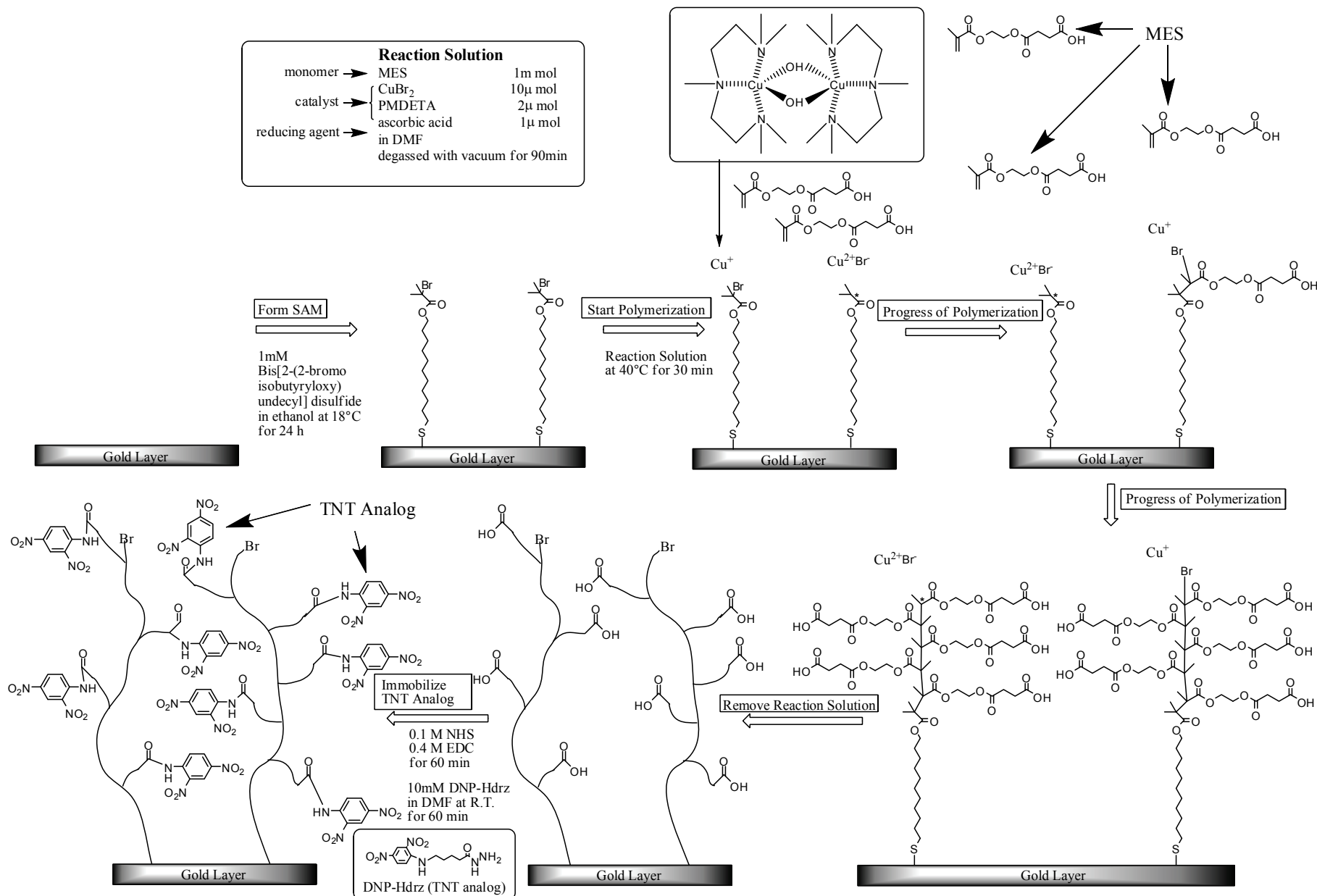
- 樹状高分子 (高次枝分かれ構造)
- 枝分かれの繰り返しの数を世代 (Generation) という
- 末端に多数の官能基を有する
- 結合サイトを **高密度かつ3次元状** に配置した表面を作製可能
- **シスタミンコア** のデンドリマーは、分子中心部のジチオール (-S-S-) を還元することにより、2分子のチオール (-SH) デンドロンが得られる

第3世代 アミノ基末端 ポリアミドアミン (PAMAM)
シスタミンコア デンドリマー
(Dendritic nanotechnologies 製)

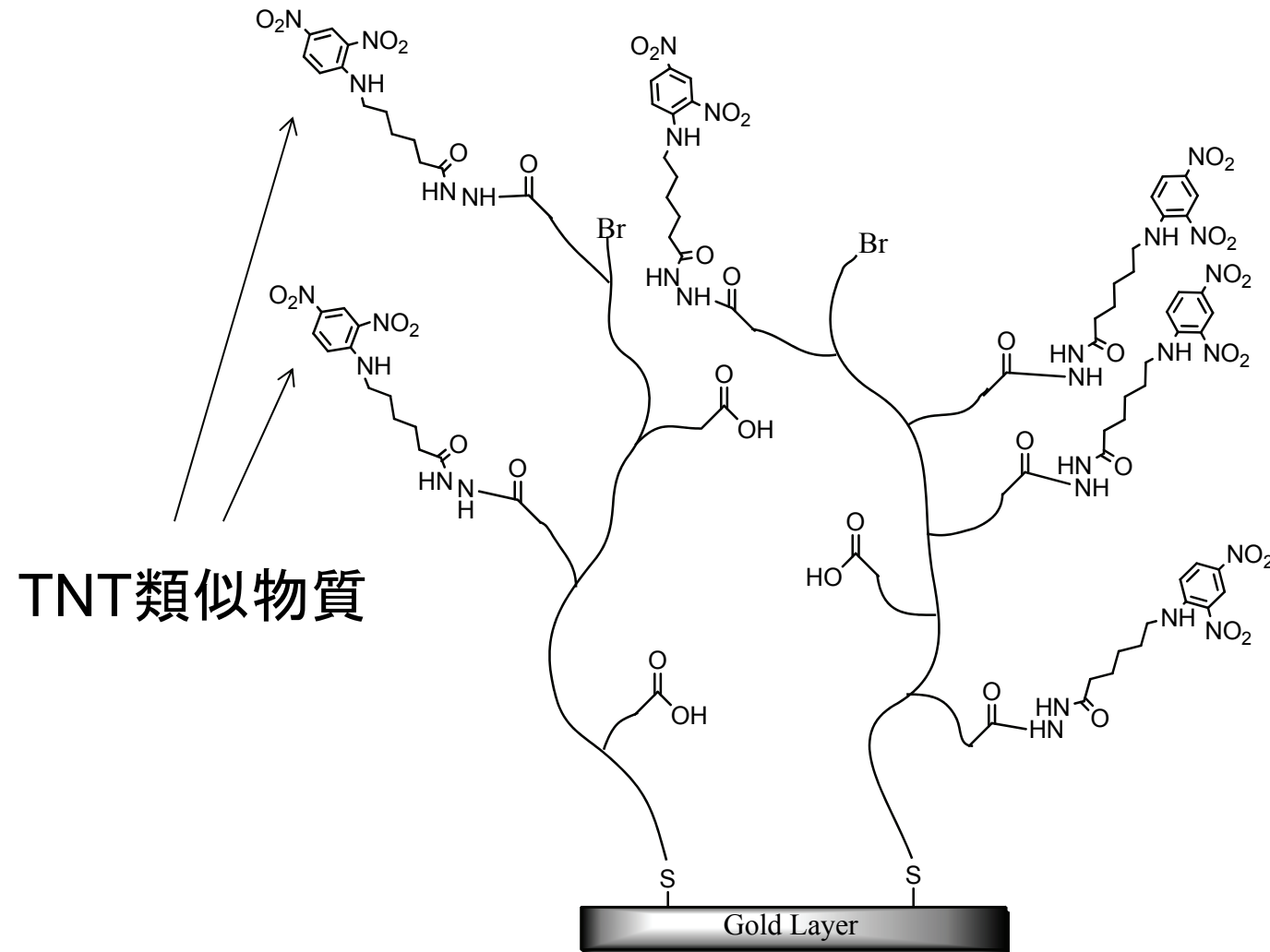
デンドロン(デンドリマー)を用いたセンサ表面



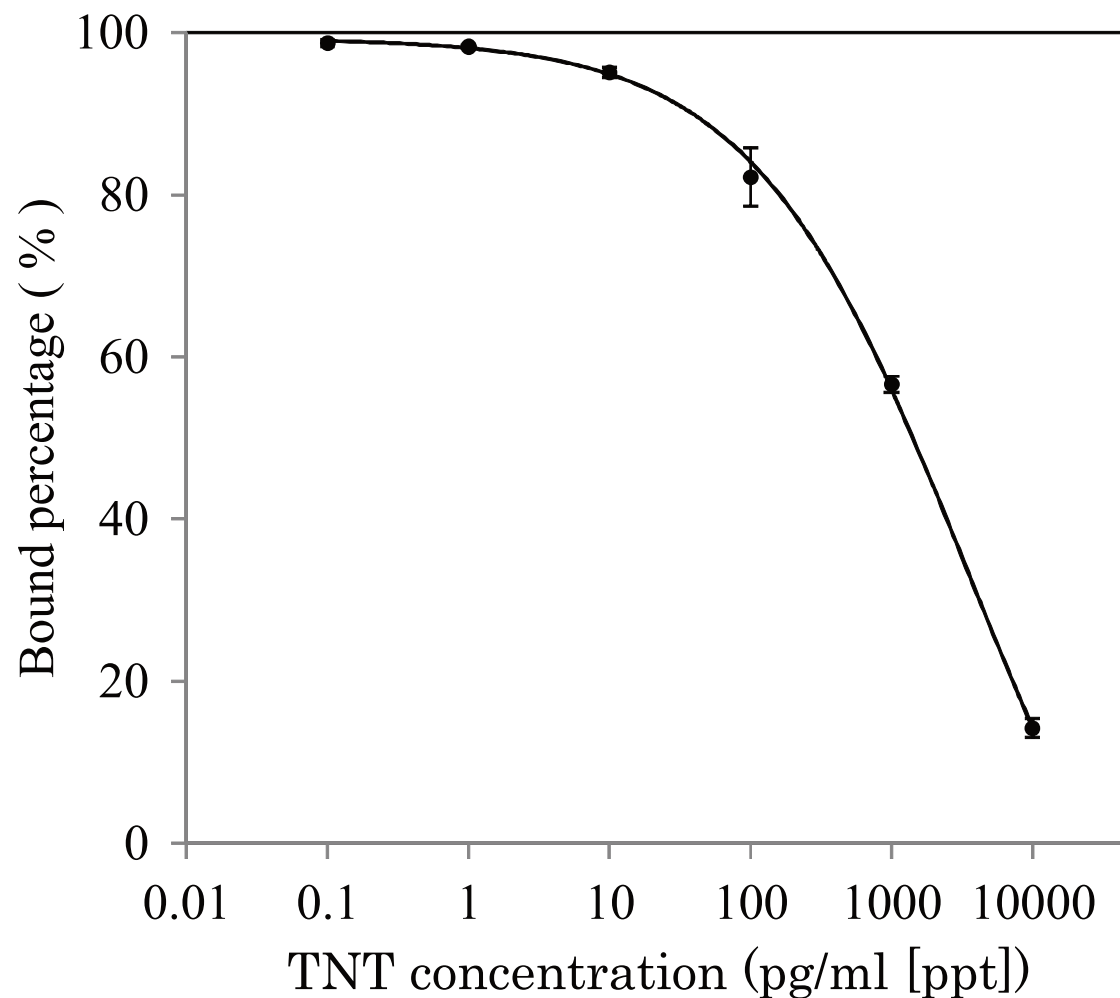
表面開始原子移動ラジカル重合によるセンサ表面⁴⁰



表面開始原子移動ラジカル重合(SI-ATRP)によるセンサ表面



TNTに対する応答特性(検出限界 5.7 ppt)



R. Yatabe, et al., Sensors, 13, 9294-9304 (2013)

高濃度

ppbとpptの世界

1 ppb

- 10億分の1
- 中国の人（13億人）の中から一人を見つける
- 東京-下関（山口県）間の距離の1 mmに相当

サブ ppb
=(100 ppt)

- 100億分の1
- 世界の人（60億人）の中から一人を見つける
- イヌの検出限界

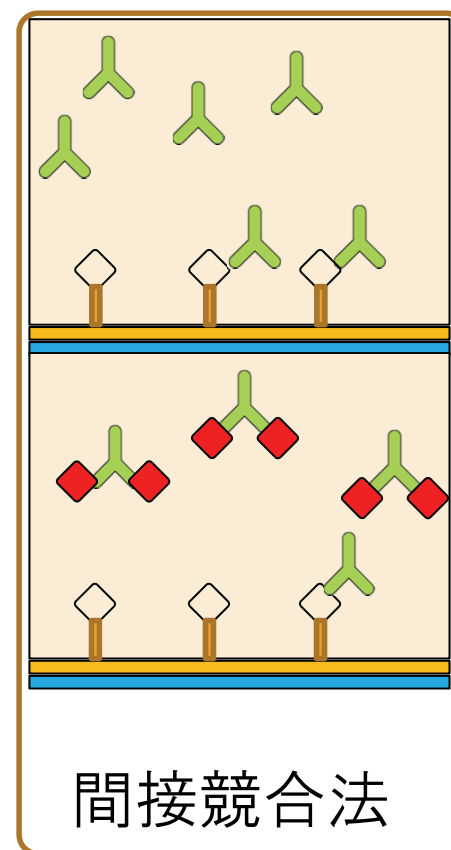
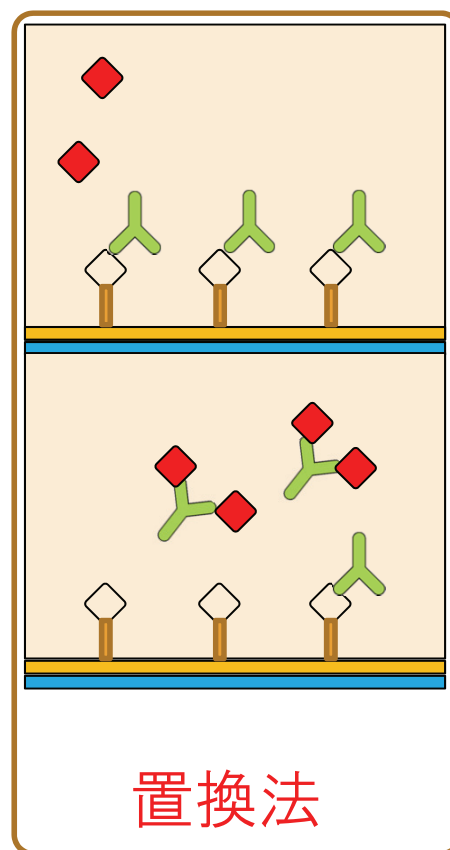
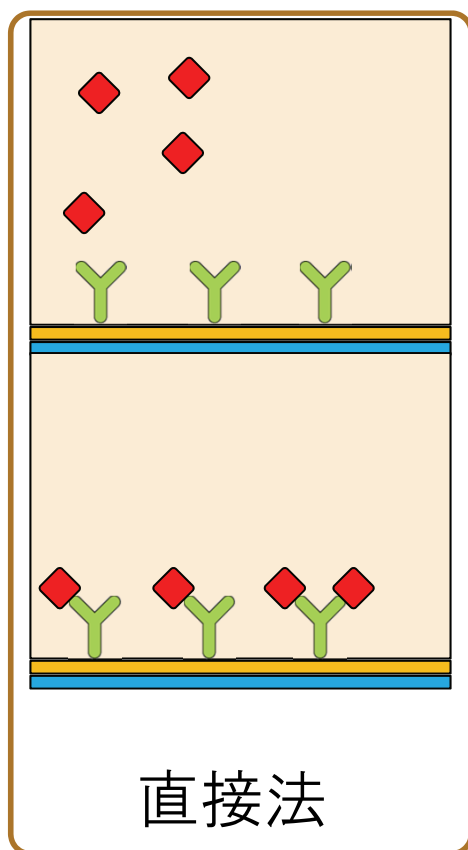
← センサ検出限界

1 ppt

- 1兆分の1
- ドーム球場を角砂糖で埋め尽くし、角砂糖1個を見つける
- ドーム球場を水で満たし、1個の角砂糖を入れたときの甘さ
- 10隻の10万トンタンカーの原油の1 g

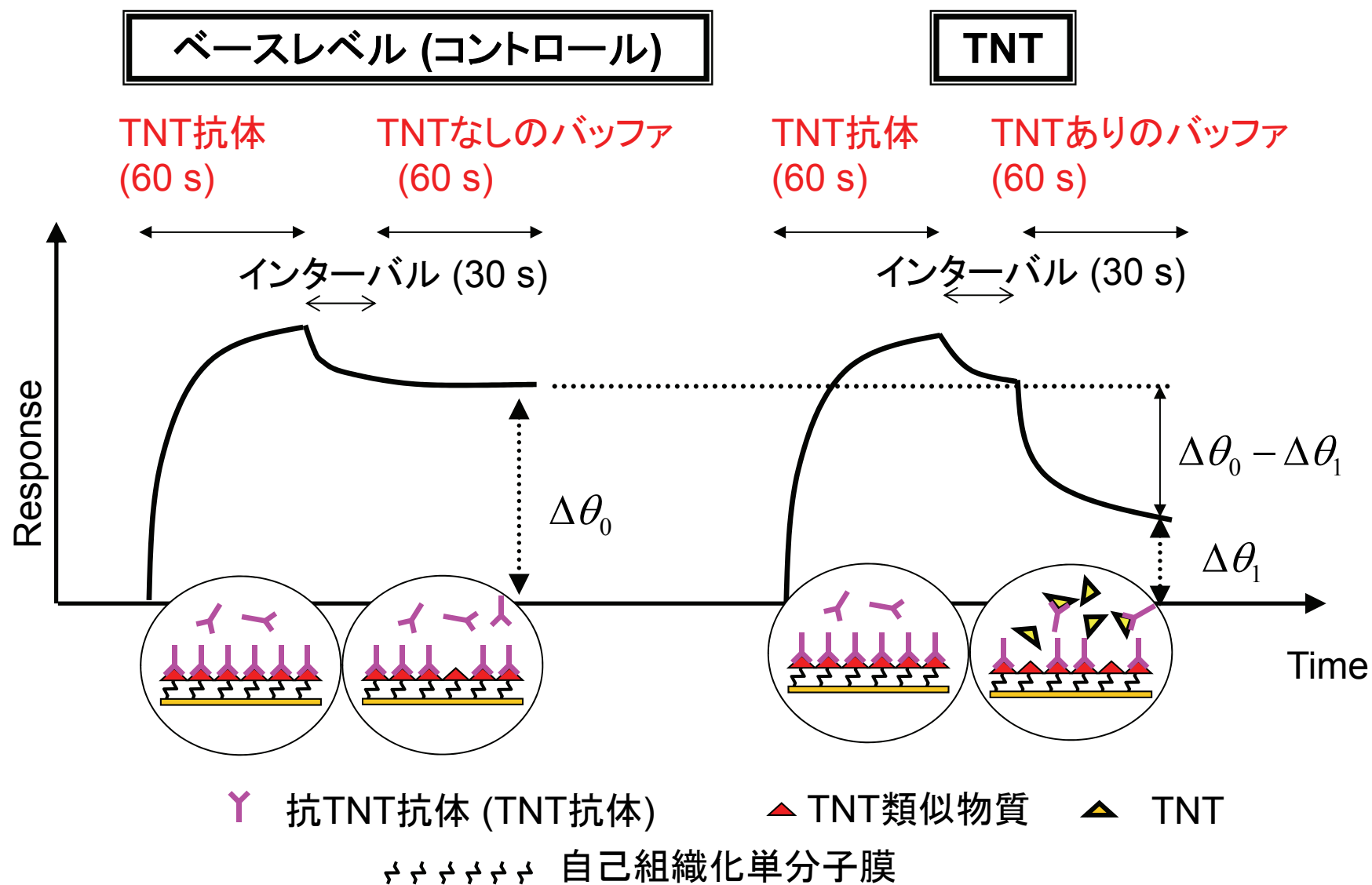
低濃度

抗原抗体反応を用いた測定方法



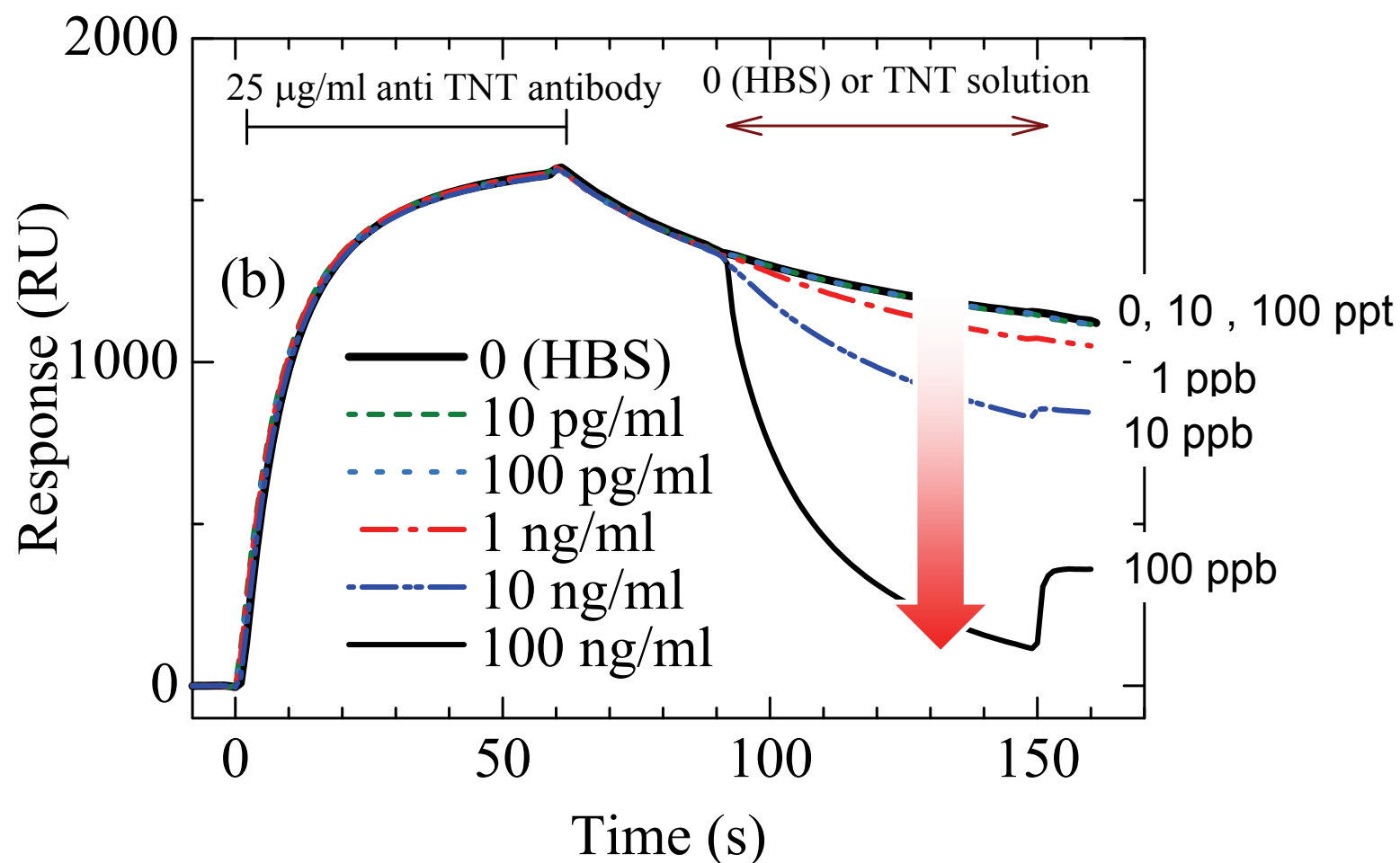
◆ 抗原 Y 抗体 ◇ 抗原類似物

置換法の原理

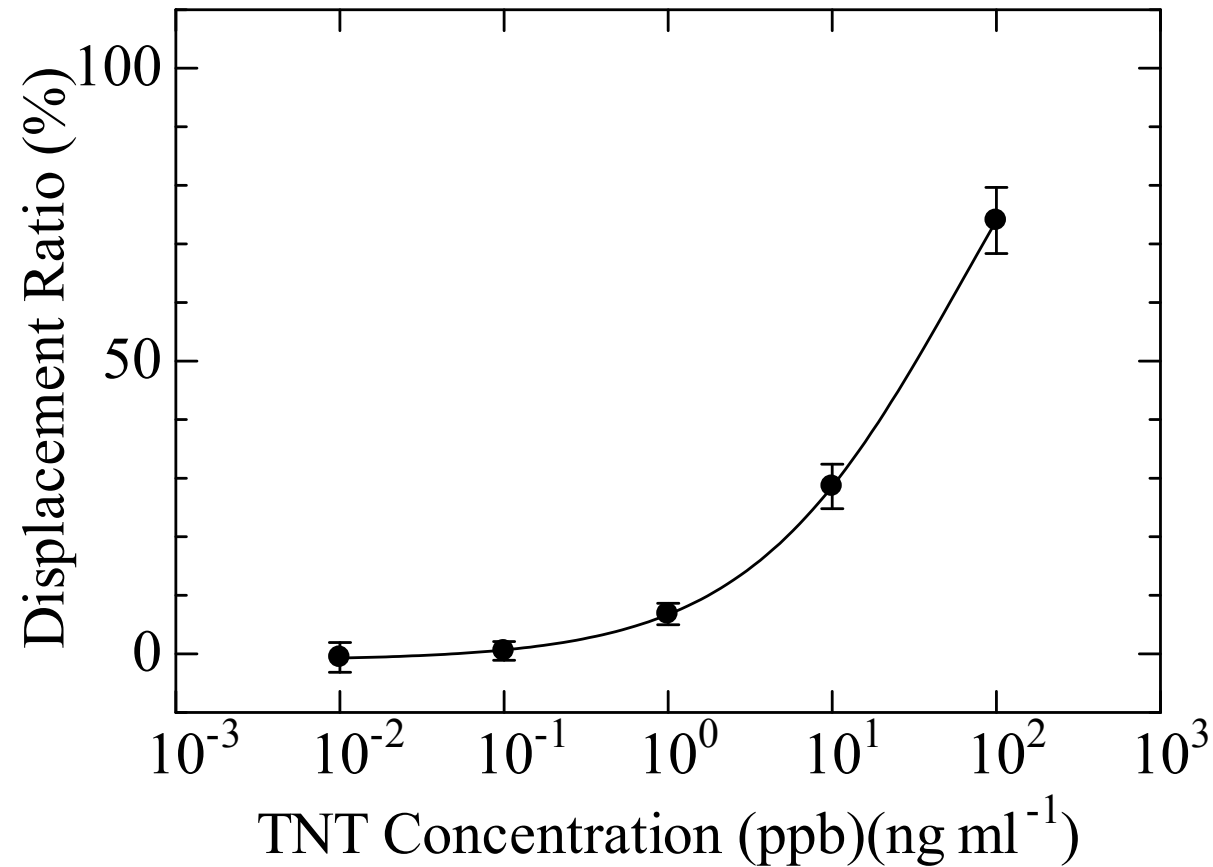


$$\text{応答(置換率)} = (\Delta\theta_0 - \Delta\theta_1) / \Delta\theta_0 \cdot 100$$

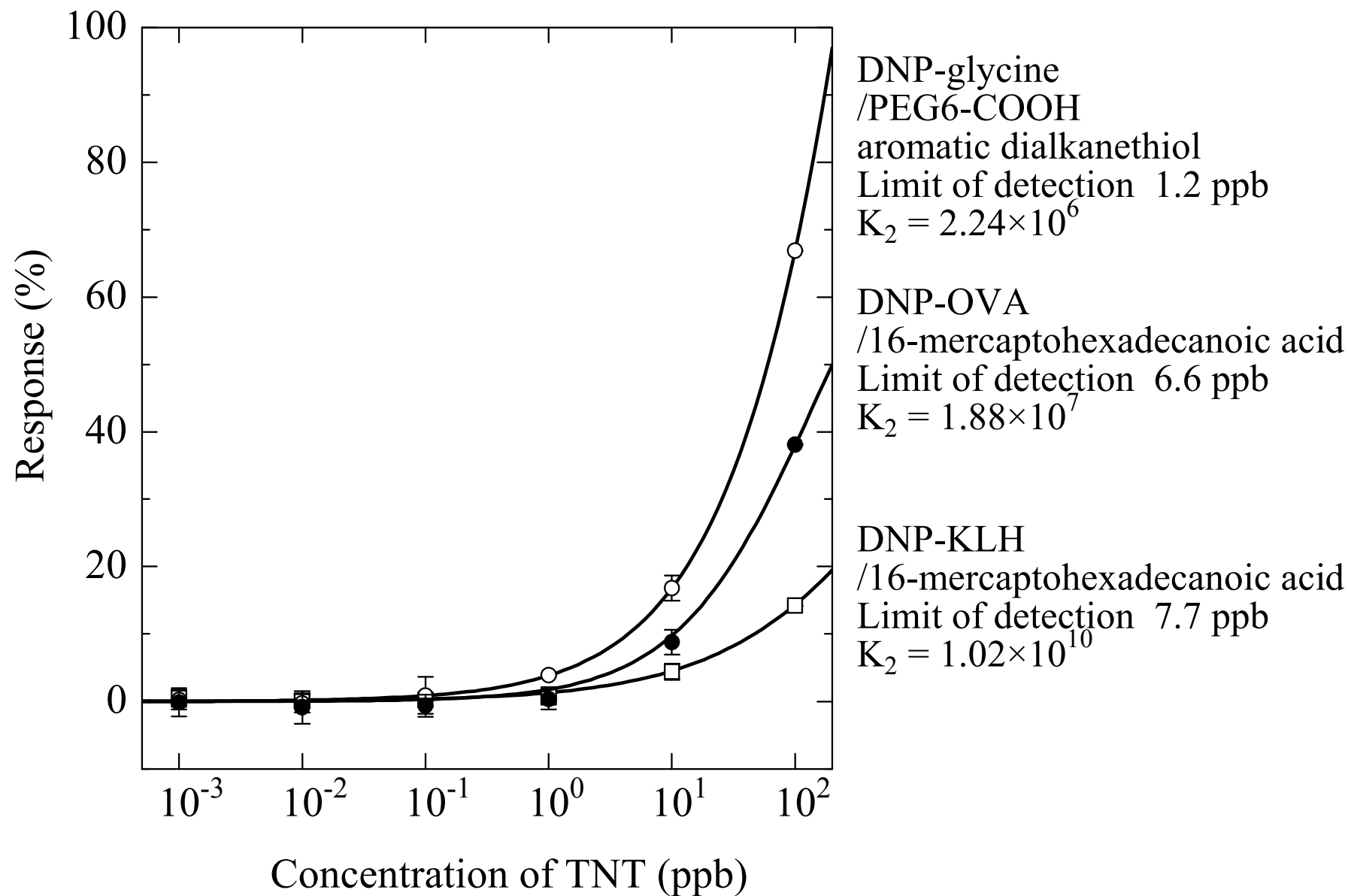
置換法によるTNTの検出



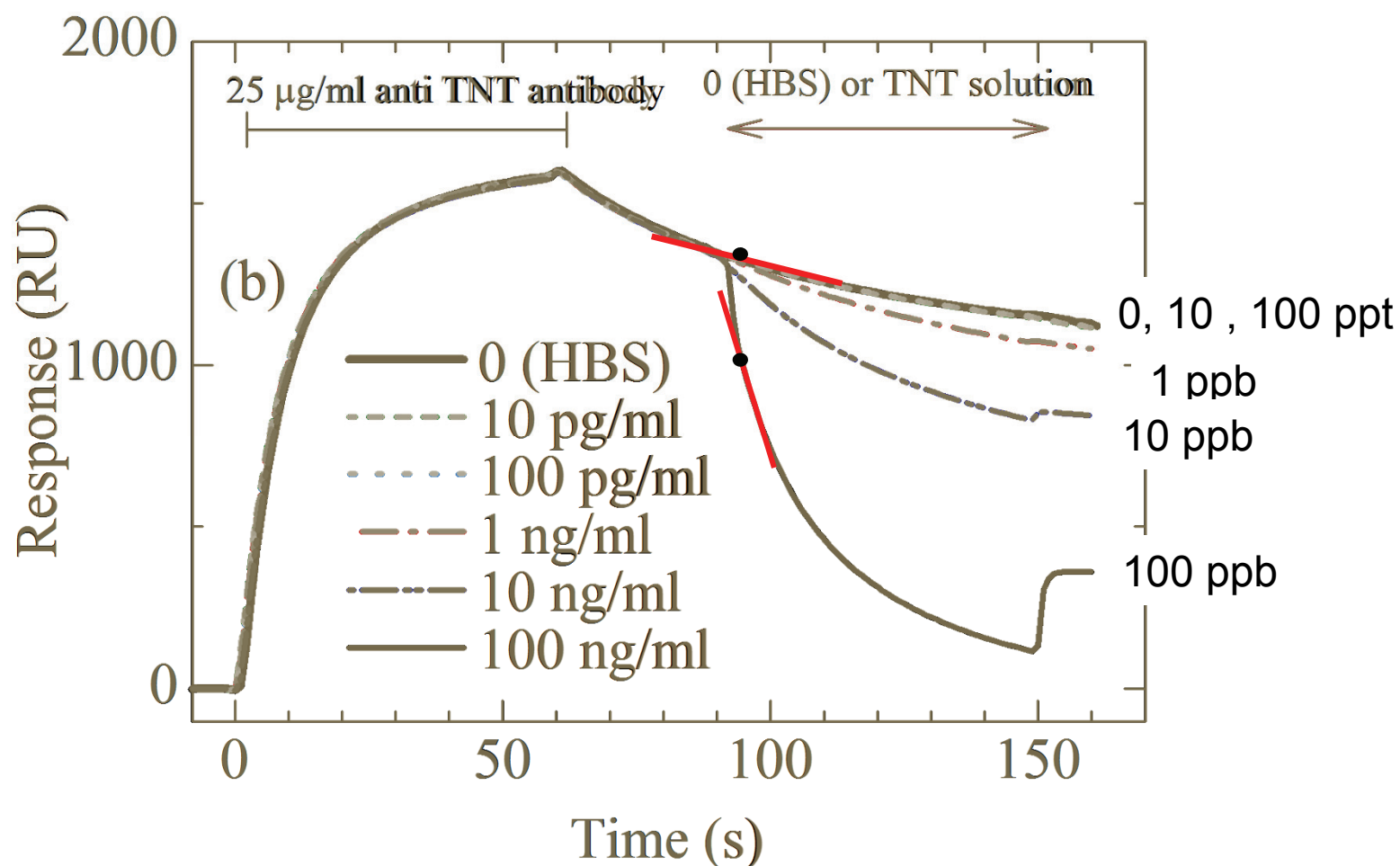
3枚のチップを作成し、各濃度3回ずつ、合計9回の測定を行い検量線を作成

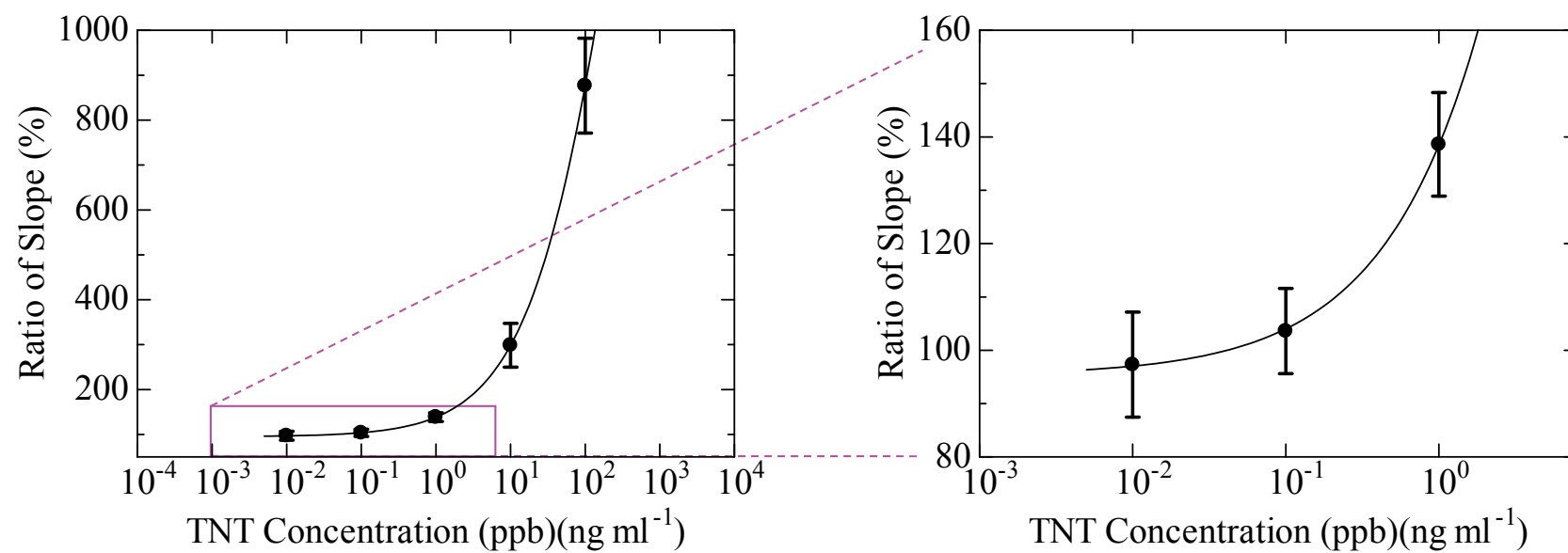


	SD (%) at 1 ng/ml (ppb)	3 SDs (%)	LOD (ng/ml) (ppb)
DNP-gly	0.9	2.7	0.4
DNP-gly (3 chips)	1.8	5.5	0.9

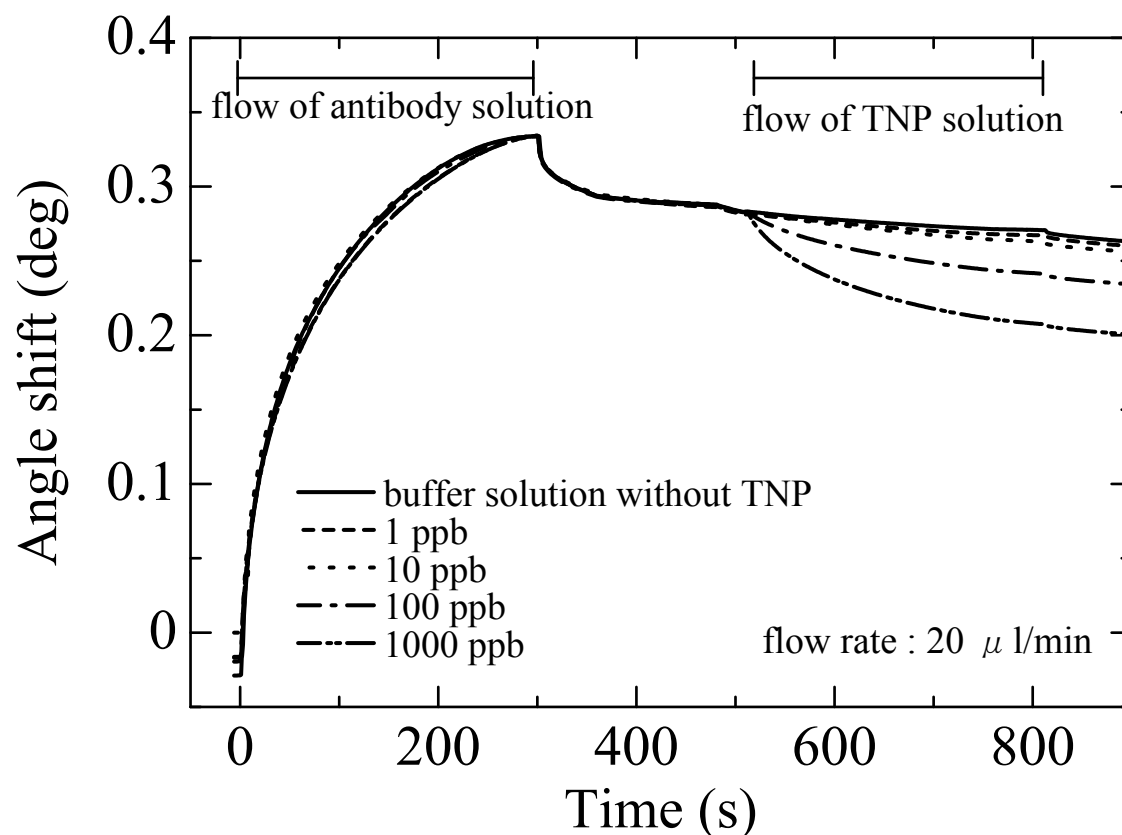


置換法によるTNTの検出（傾きの違い）





置換法によるトリニトロフェノールの検出



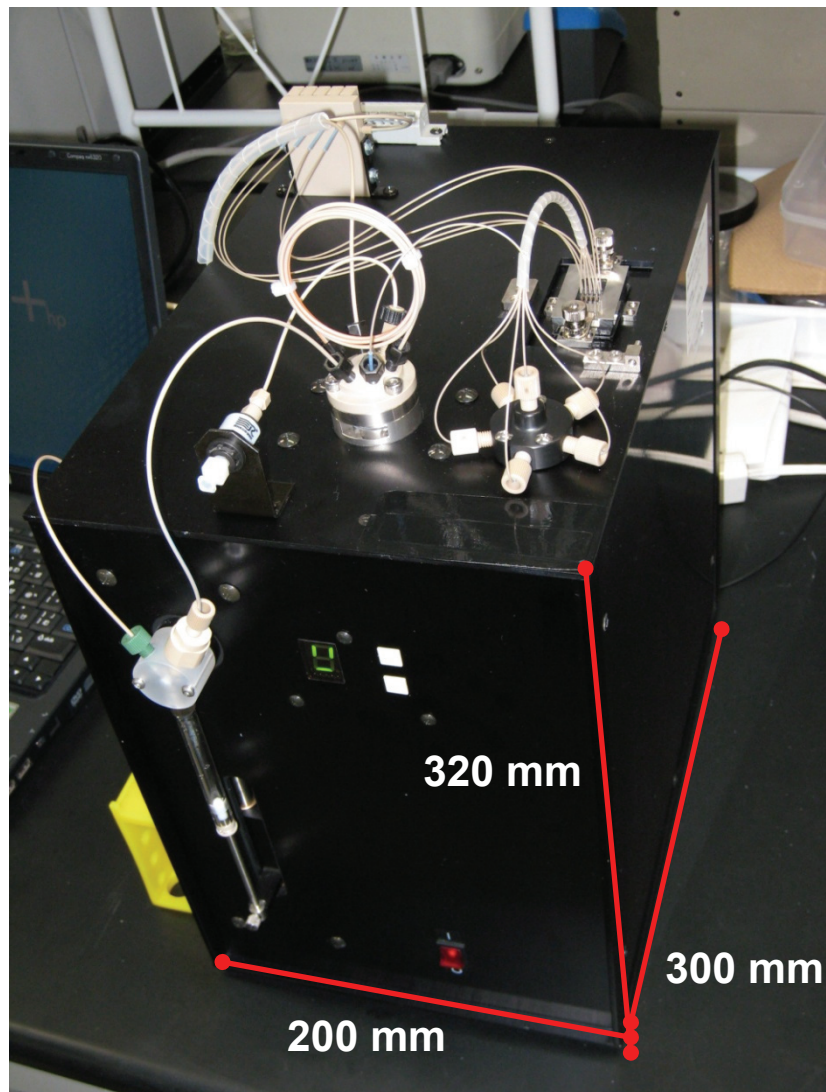
抗体：
抗TNP-gly-KLHポリクローナル
抗体

SAM:
16-mercaptohexadecanoic acid

類似物質：
TNP-BSA

T. Onodera, J. Liang, K. Miyahara, K. Matsumoto, N. Miura, T. Imato and K. Toko: "Highly Sensitive Detection of Explosive Molecules Using SPR Sensor", Technical Digest of The 10th International Meeting on Chemical Sensors (Chemical Sensors, Vol.20 supplement B), pp.100-101 (2004)

1次試作SPR装置 仕様

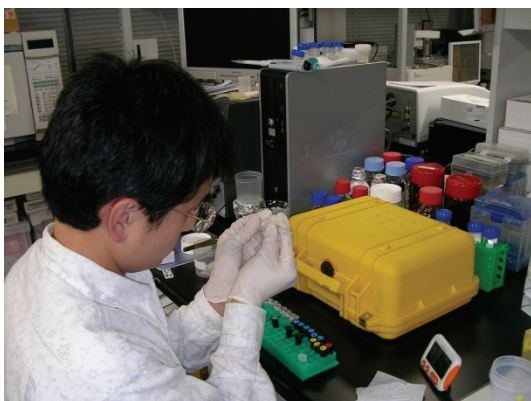


- ・ 光学配置: クレッチマン配置
- ・ 角度分解能: 10^{-4}°
- ・ サイズ: 高さ 32 cm × 幅 20 cm × 奥行き 30 cm
- ・ 重 量: 9.5 kg

爆薬成分の選択的検出についての実証試験



プラスチックケースにTNT標準溶液 (100 mg/ml)を2 μ l滴下し, TNTを付着させる. (200 ngのTNTが表面に付着した状態)

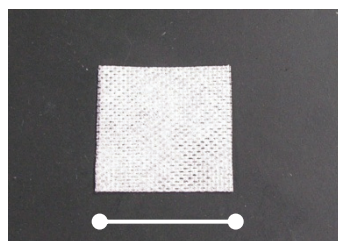


コットン製拭き取り材で, TNT滴下箇所を拭き取る. また, コントロールとして, TNTを滴下していない箇所も拭き取る. PBS緩衝液で抽出した溶液を測定試料とする.



抽出液をシリンジでろ過後, 試作装置により測定する.

Wiper



2.5 cm

Wiping (5 s)



Extraction of explosives from wiper in syringe (30 s)



Measurement by displacement method (20 s)



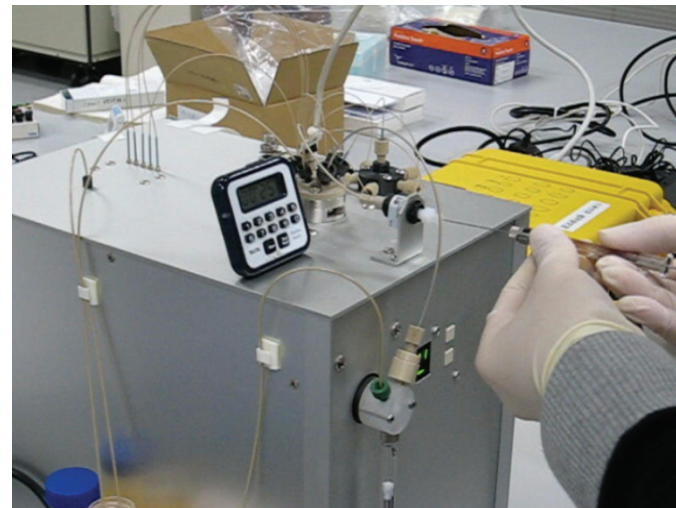
Injection into SPR sensor system (5 s)

財務省関税中央分析所における実証実験 (1分でTNTを検出)

1. ワイパーで拭き取り



2. シリンジ中で抽出後、注入

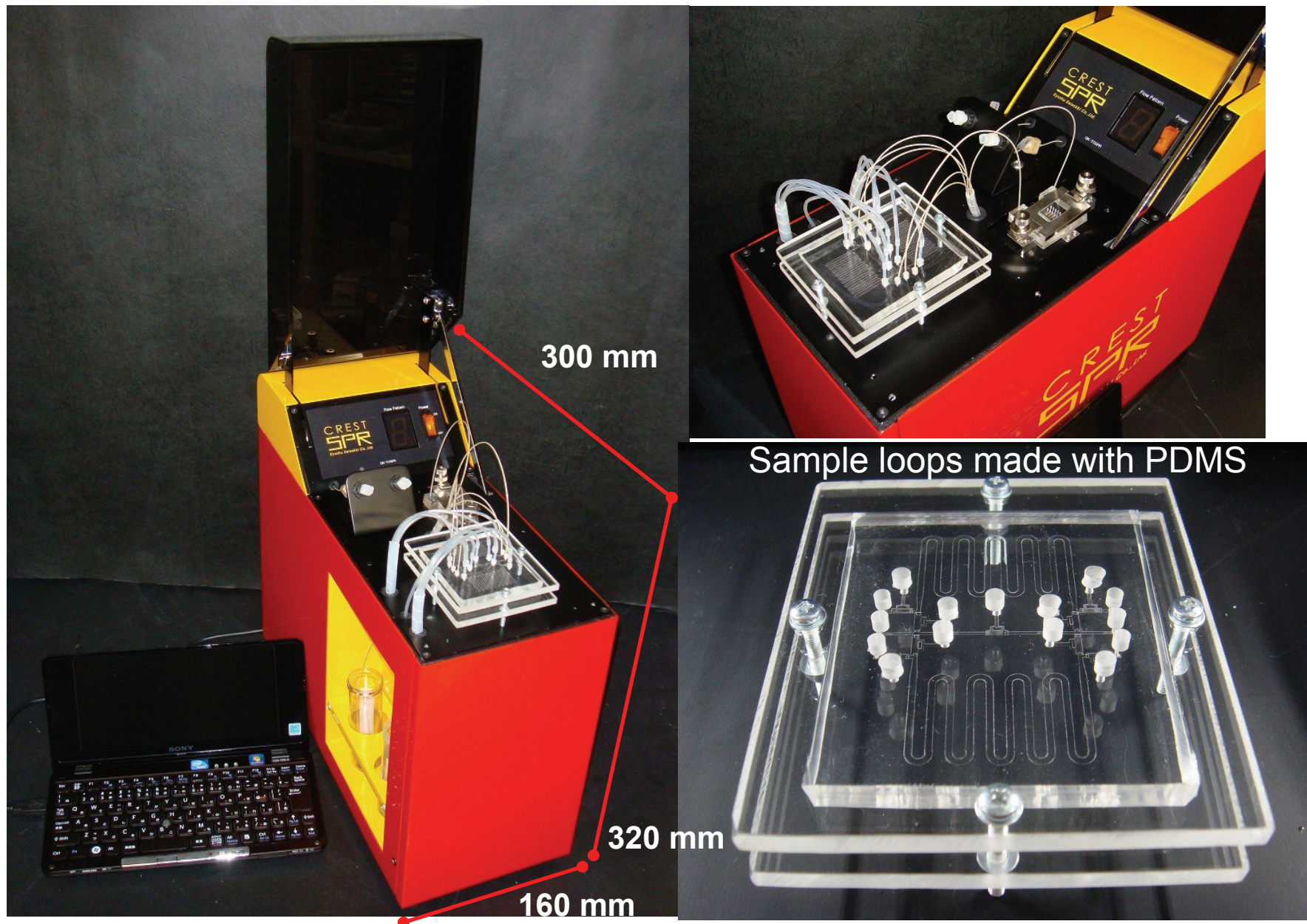


3. 置換法により測定中(緑:未検出)



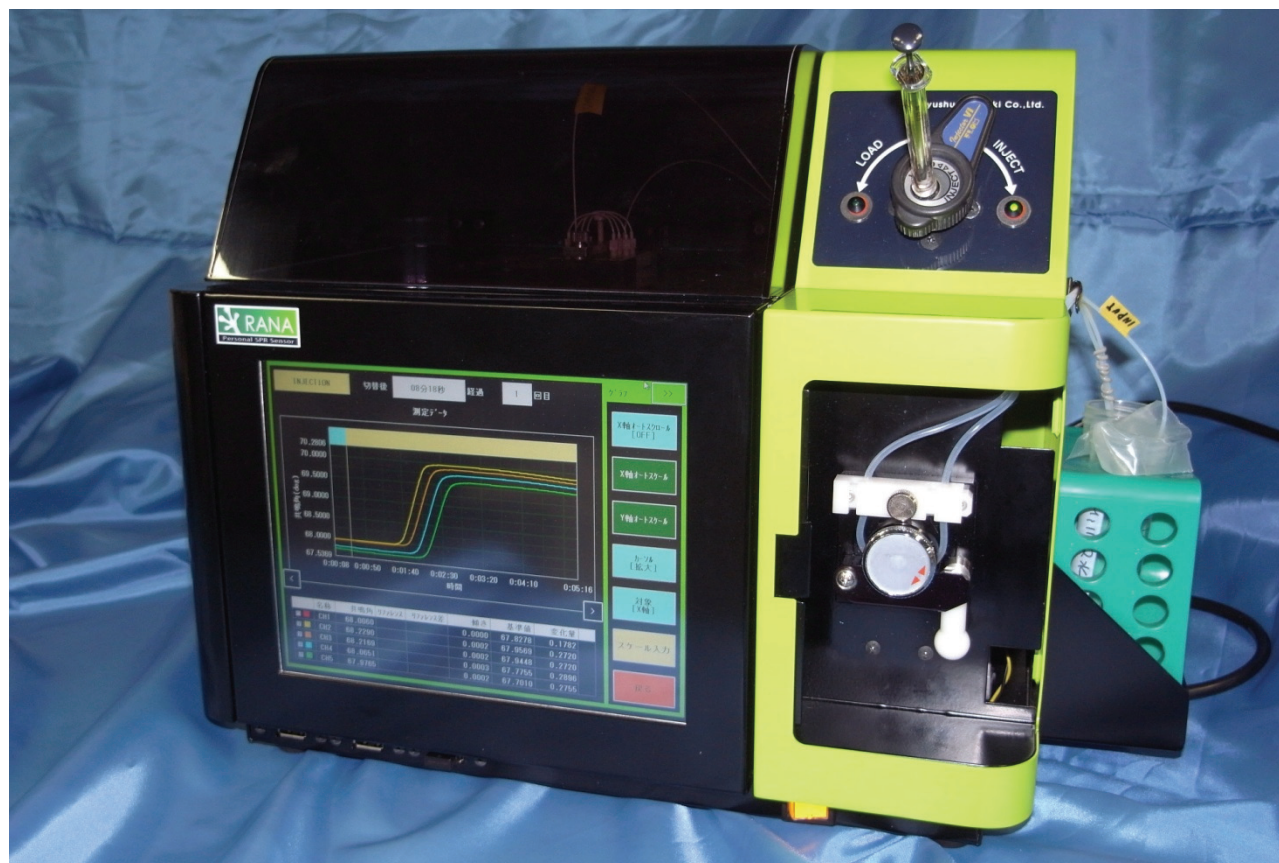
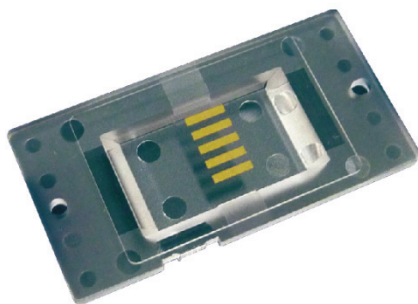
4. 置換法により傾き判定(赤:検出)



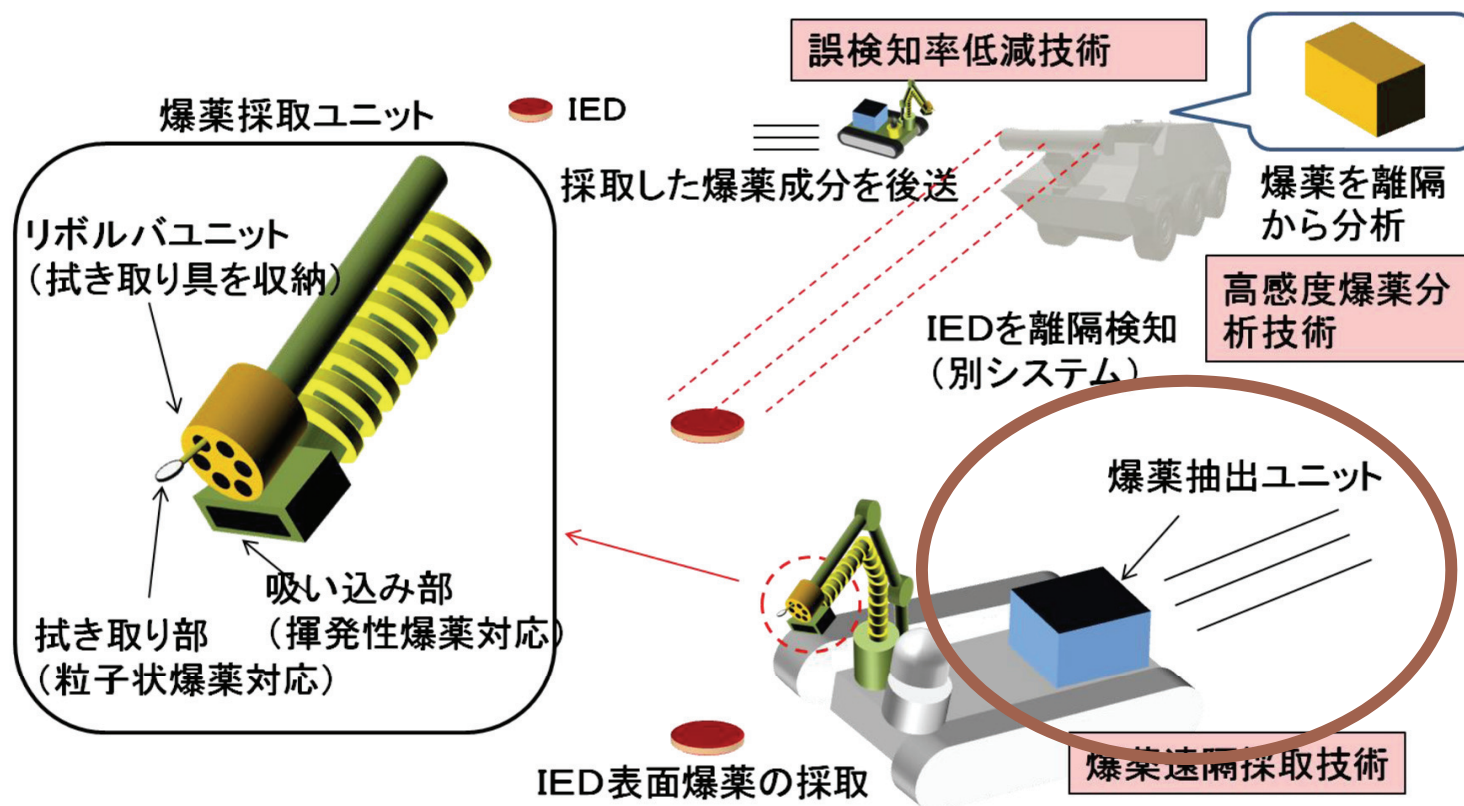


九州計測器製パーソナルSPRセンサRANA

プリズム一体型
センサチップ



防衛装備庁陸上装備研究所との共同研究



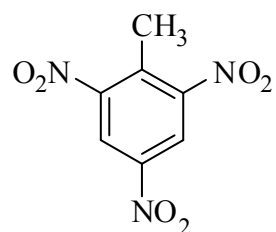
爆発物を安全・迅速に識別するために、高感度な爆発物識別法と無人システムとの一体化技術の構築を、陸上装備研究所と九州大学及び帝京平成大学との間で行うものでそれぞれ平成25年6月19日並びに平成26年3月1日に共同研究協定が締結されました。

IED: Improvised Explosive Device (即製爆発装置)

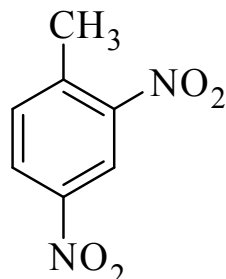
低分子に対する抗体獲得の実績

爆薬用

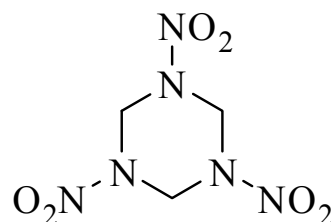
TNT



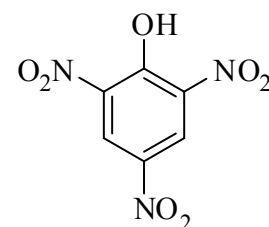
DNT



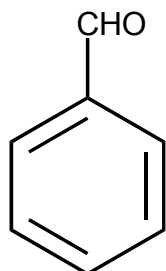
RDX



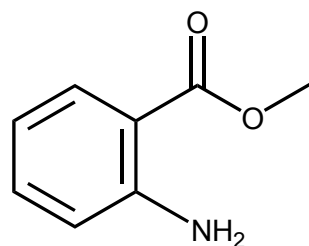
TNP



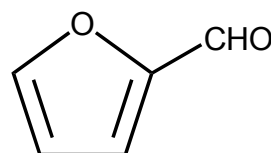
ベンズアルデヒド
(ピーチ)



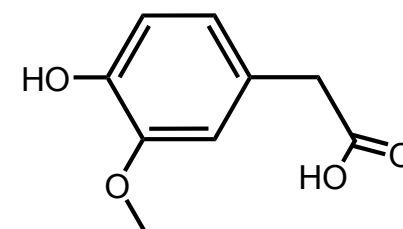
アントラニル酸メチル
(グレープ)



フルフラール
(ピーチ)



ホモバニリン酸
(カプサイシン類)

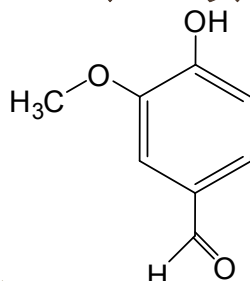


香料

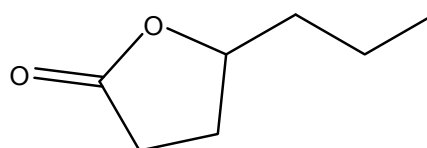
辛味

評価中

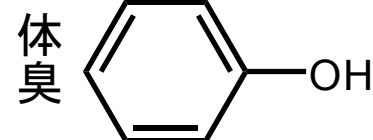
バニリン
(バニラ)



γ-ヘブタラクトン
(ピーチ)



フェノール



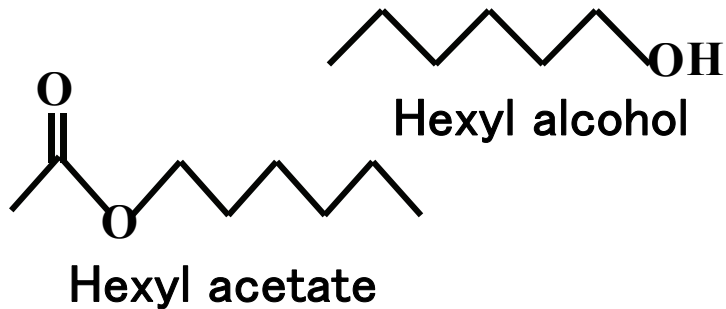
体臭

香料

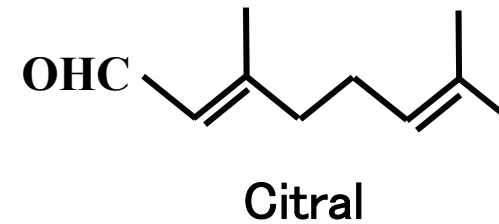
モノクローナル抗体
ポリクローナル抗体

代表的な香料

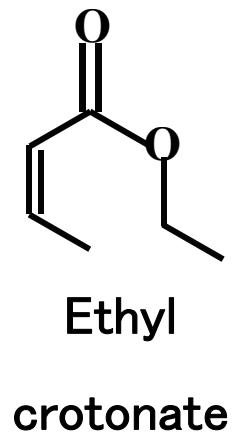
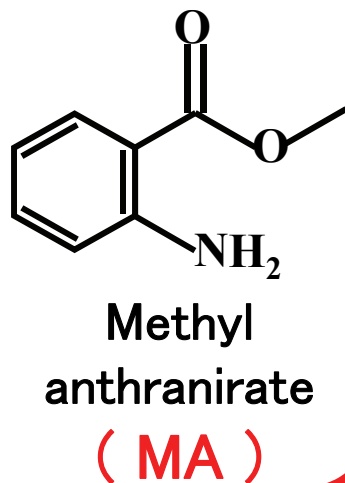
アップル



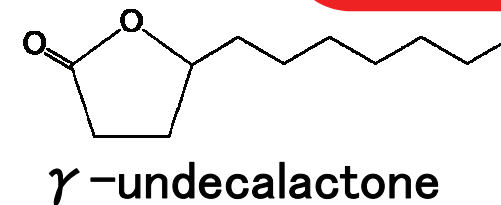
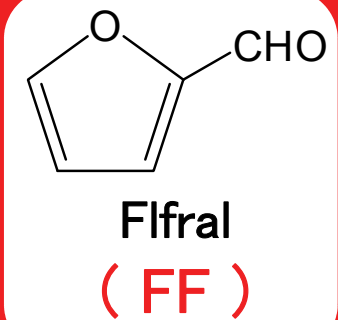
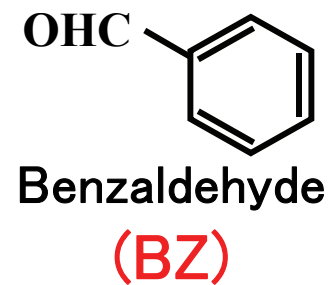
レモン



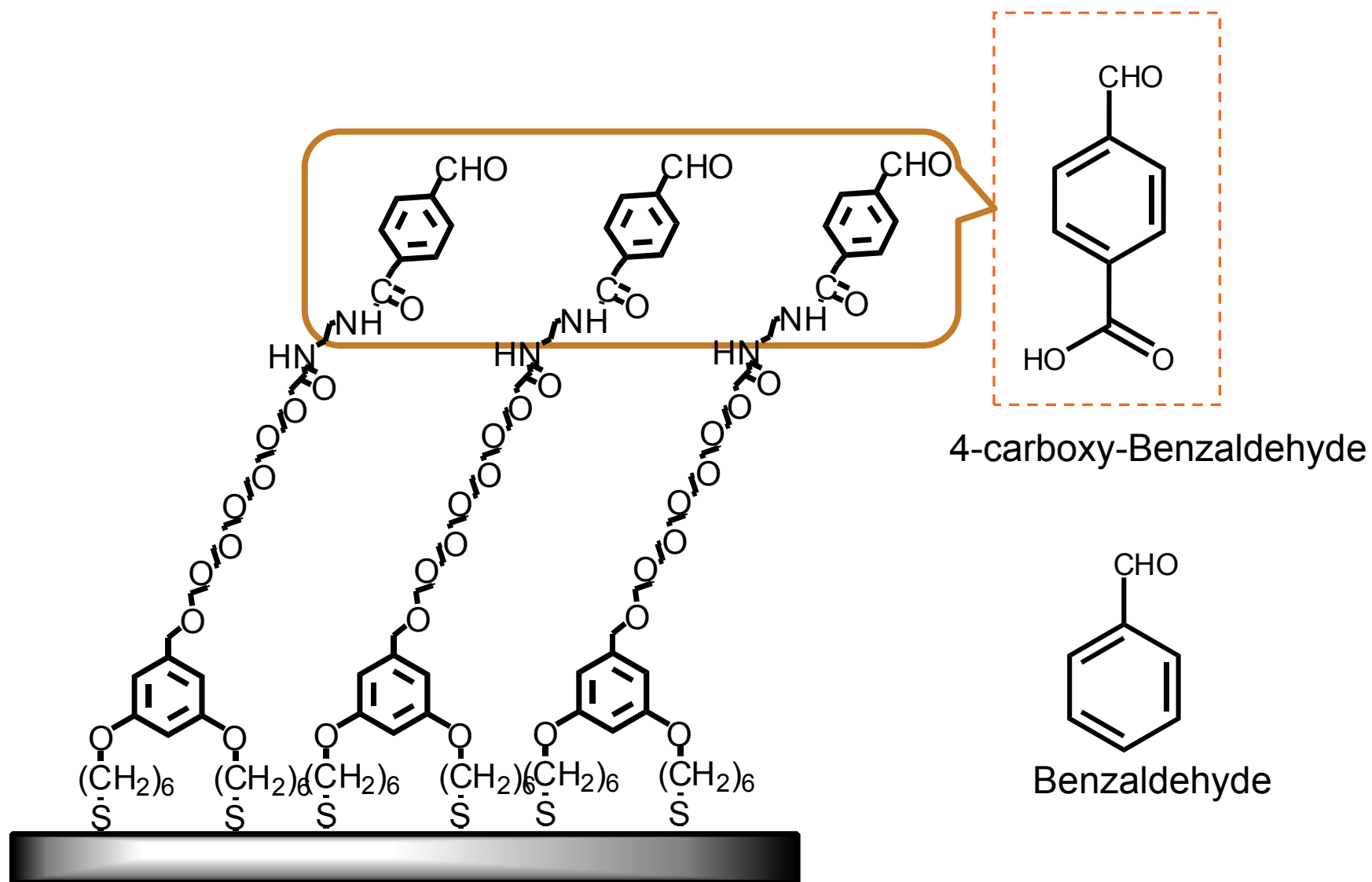
グレープ



ピーチ



ベンズアルデヒドの検出



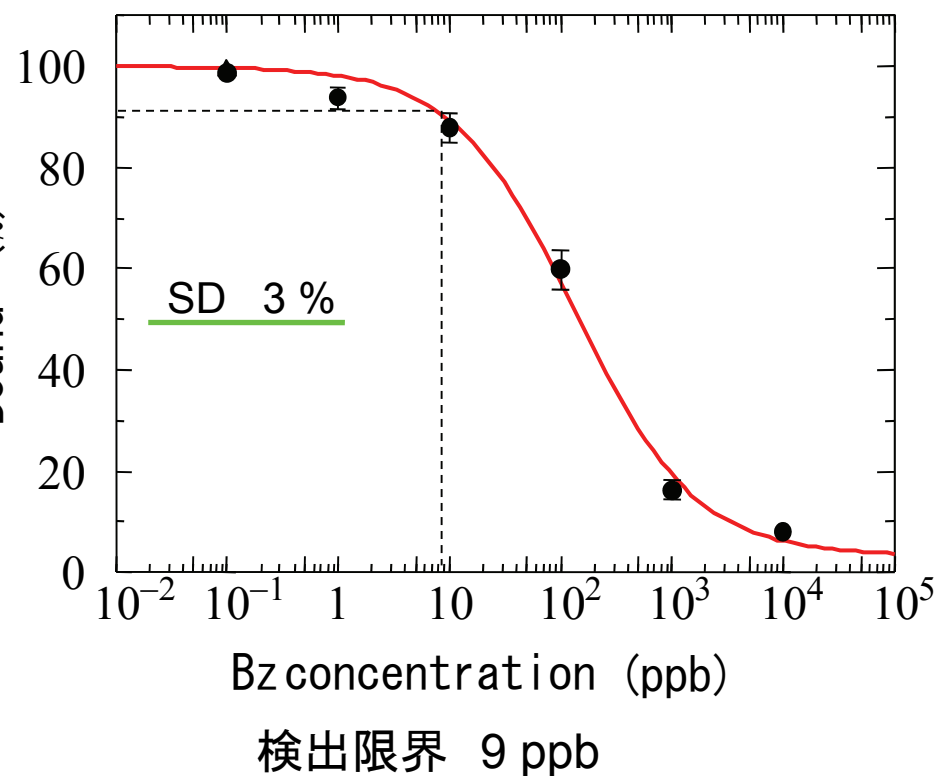
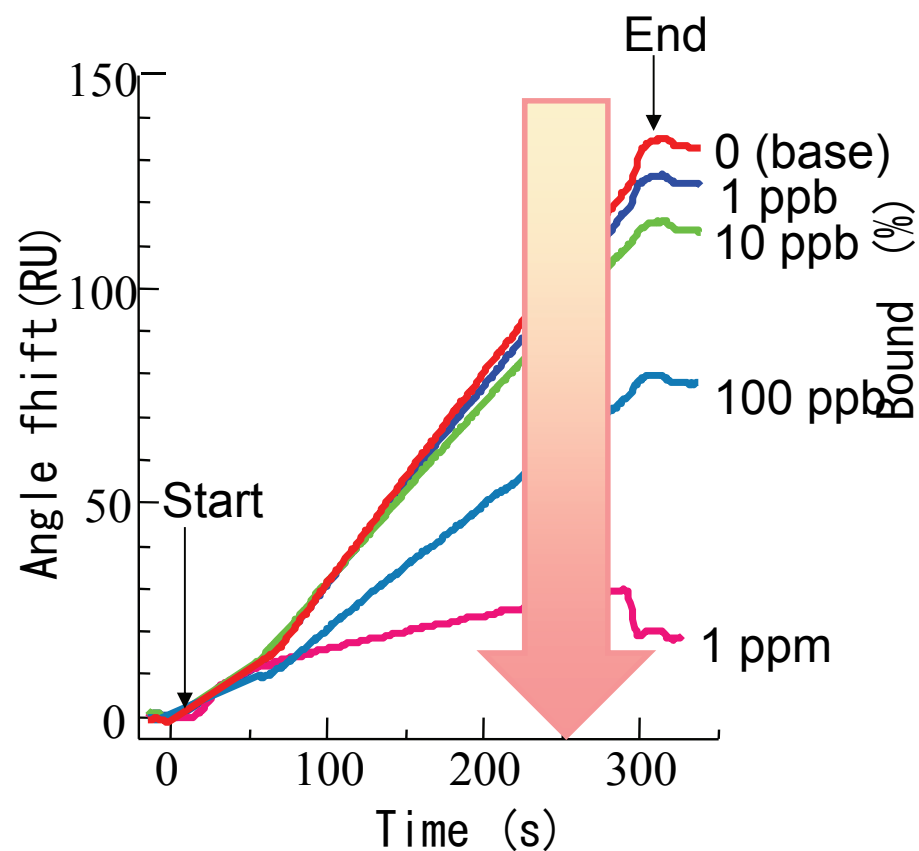
ベンズアルデヒドの間接競合法による測定

Anti Bz-KLH antibody (rat monoclonal)

抗体濃度 250 ppb

Peach flavor

ヒトの嗅覚閾値: 300 ng/mL (ppb)





写真提供：仙台市

©City of Sendai

災害救助犬



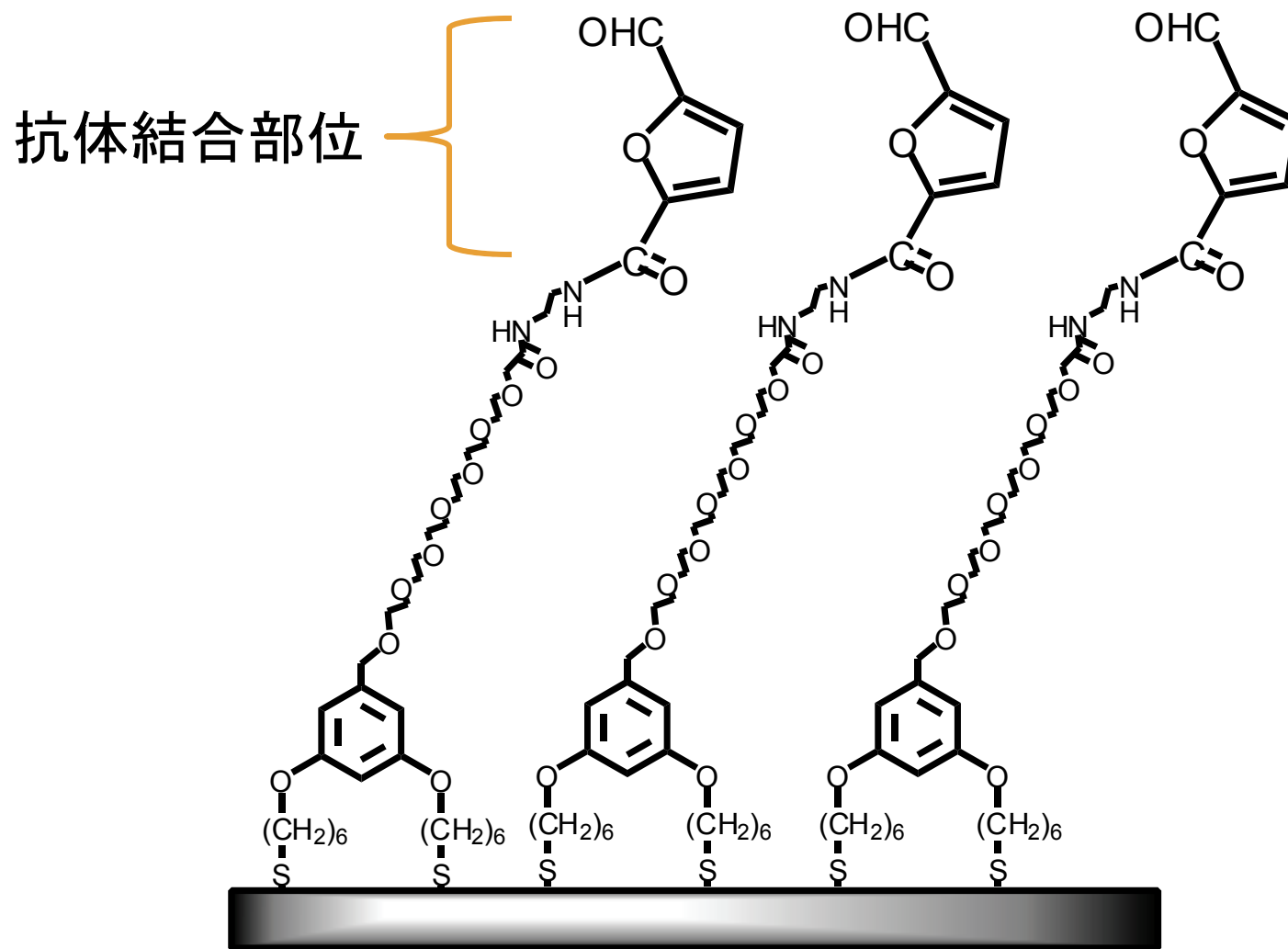
写真提供：仙台市



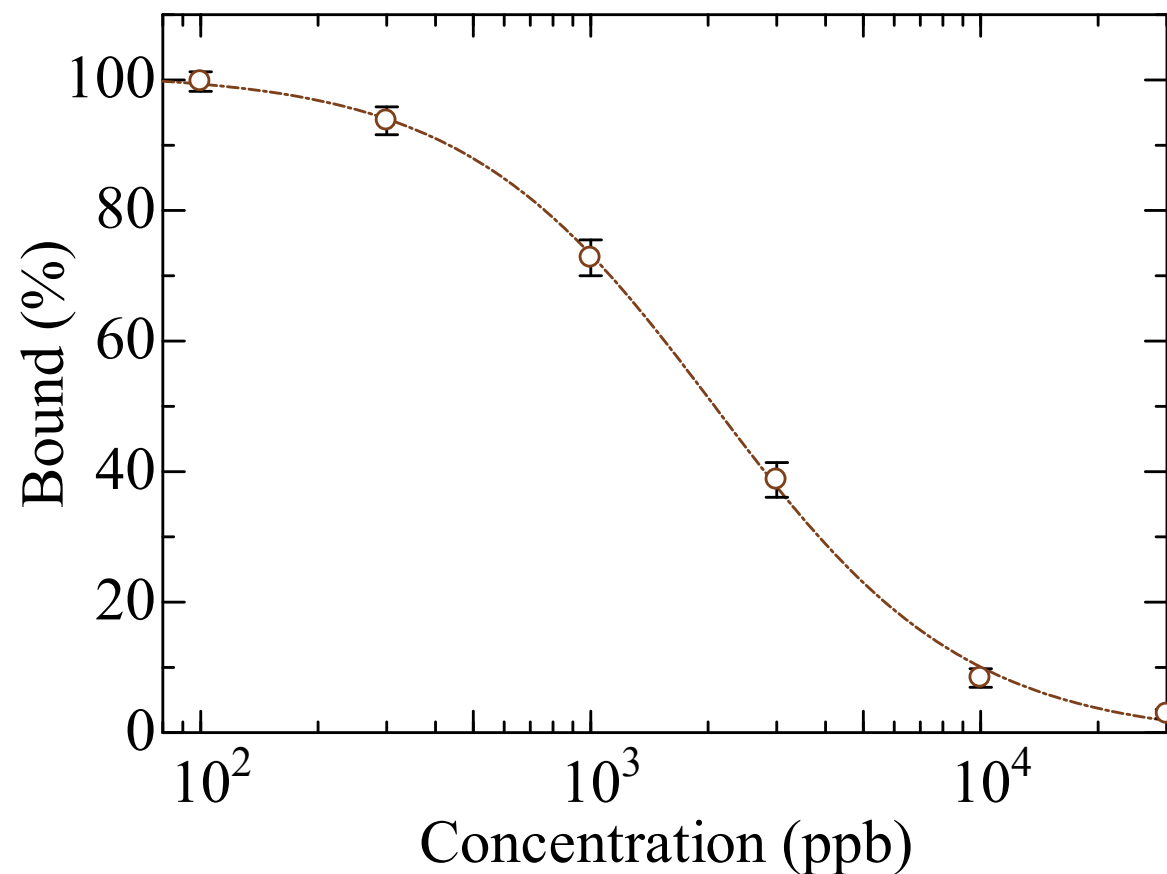
ハンドラー(指導主): 民間人
(ボランティア)

東日本大震災で活躍した
災害救助犬: 100匹(日
本国内から40匹)

フルフラール検出用センサチップ



➤フルフラールに対する応答特性



フルフラールに対して、検出限界190 ppb
ヒトの嗅覚閾値 3 ppm (mg/mL)より高感度

香水



手製爆弾探知
TNT・DNT・RDX



空港・港湾セキュリティ
爆薬・麻薬



ポータブル型
SPRセンサ



超高感度匂いセンサ



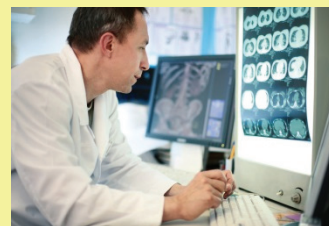
食品



ロボット



ガン検知
・病気診断



細菌
・ウイルス

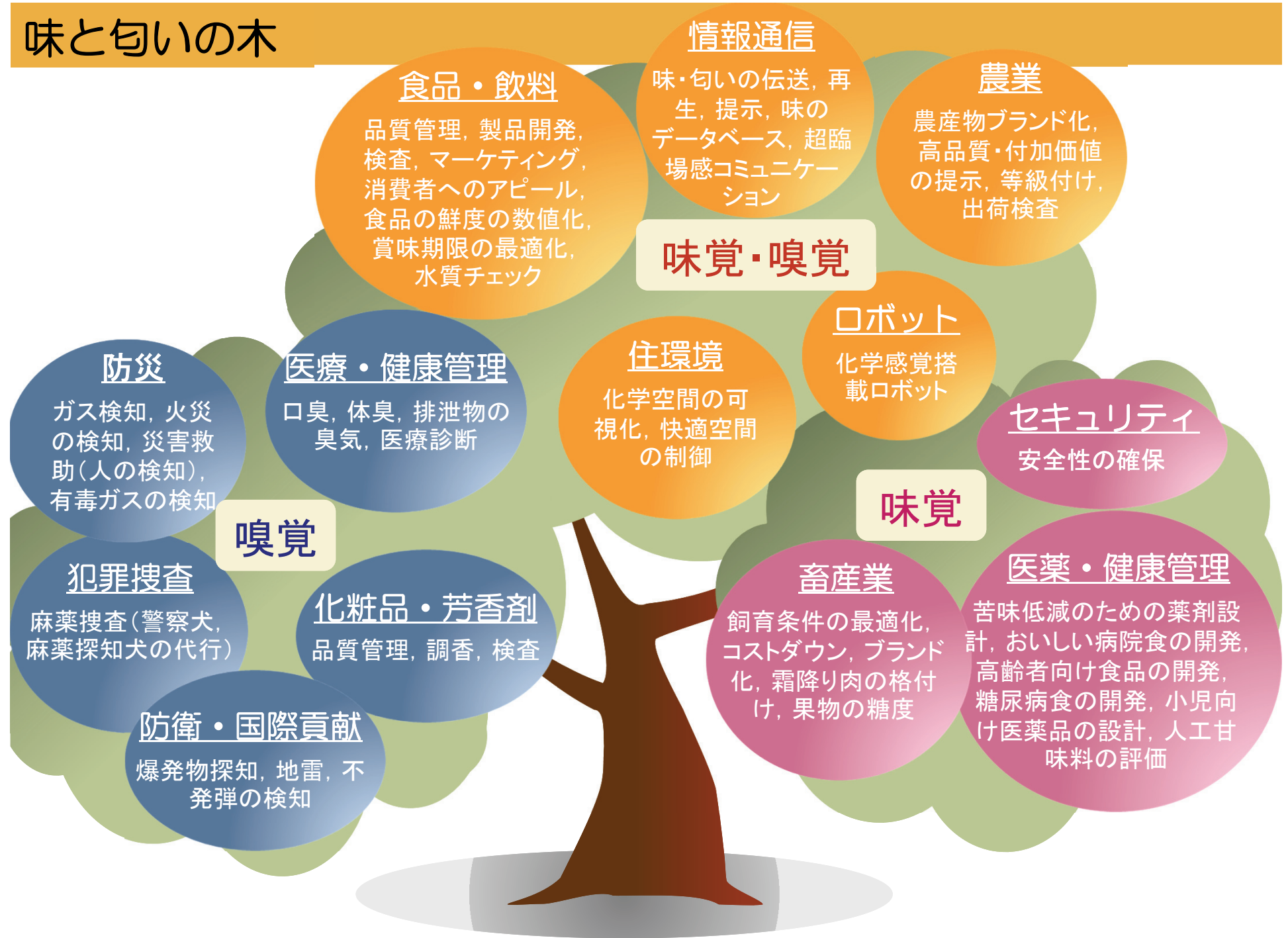


人命探索



安心・安全・快適
感性豊かな社会の実現に貢献

味と匂いの木





総合学習プラザセミナー室110

