

タンパク質から人工酵素まで一分子による情報変換を行う界面の創成

春山哲也

九州工業大学 大学院 生命体工学研究科

<http://www.life.kyutech.ac.jp/~haruyama/>

生体内にある分子（低分子から高分子のタンパク質まで）は様々な機能を発現し、それらの組み合わせが生体内での反応カスケードを形作り、生命活動の基となっている。こうした分子の機能は、分子情報の変換を行っていると言うことができる。このような分子による情報変換を上手に組み合わせれば、分子情報を電流に変換することも可能である。それは、分子を元にしてエネルギーを得ることが出来る、あるいは分子を認識したという信号を得ることが可能であることを意味している。その実例のひとつがバイオセンサである。酵素や抗体といったタンパク質は、厳密な分子の選択認識能を有しており、その高度な分子選択性と、情報変換機能を電子デバイスと機能連携させることにより、バイオセンサは *in situ*（その場）で、特定の物質の量を正確に測ることができる。

こうした特定の物質の量を明らかにすることを定量分析（quantitative analysis）といいます。これにたいし、著者が提唱した新たな分析コンセプトが「定質分析（qualified analysis）」です。定質とは、物質の特定ではなく、「物質が生体（そのほか環境など）へ与える影響や効果」「物質の構造的または特性的な共通性」などを指標に検出を行おうとするものです。このような分析の考え方を導入することによって、未知のリスク物質あるいは未知の有用物質を漏らさず検知することが出来るようになると考えられます。

こうした新たな分析コンセプトに基づき、すでに幾つかの実用に近い技術の構築に成功しています。その一例が、人工酵素を用いたバイオサーベイランスセンサです。

近年、安全・安心の観点から、細菌、黴、孢子、ウイルスなどのバイオコンタミナント混入を防ぐ、モニタリングする、いわゆるバイオサーベイランスが求められる場面が増えてきた。HACCP（Hazard Analysis Critical Control Point）などの食品製造管理基準や、医薬品など高い安全性の求められる製造現場における管理基準GMP（Good Manufacturing Practice）などにおいては、プロセスの厳密な設定によりモニタリングしなくても基準がクリアできている……という前提に立つ場合もあるが、それでは不十分であるという視点に立ち、測定検査を加えたいという需要が非常に高まっている。また、バイオテロ・化学テロといった、全く想像し得なかったリスクをも想定しなくてはならない場合も出てきている。

バイオコンタミナントの検知はどのように行われているか？これは細菌・黴、孢子、ウイルスはすべて別々の方法が必要である。普及している方法は培養が必要で、時間と設備を要し、つまり *ex situ*（非その場）の方法である。したがって、*in situ* そしてモニタリングといった測定需要に応えることが出来ない場合が多い。細菌などについては、生菌中に多く存在する生体エネルギー分子である ATP を酵素発光反応に共役させ、その発光量により、細菌を検知するルシフェリン・リシフェラーゼ法による簡便・短時間の細菌検知法がある。これはキット化も進み、専用機材などの開発で非常に便利かつオンサイト測定可能な測定技術となっている。ただし、ATPを測定対象分子とする場合には、孢子、芽胞、ウイルスなどは検知されない。

著者は、バイオコンタミナントの測定需要、とくに安全・安心の領域での一次測定（一次モニ

タリング) の需要に応えるためには、*in situ* な測定手法で、かつ、定質コンセプトに立った網羅的な検知手法の開発が必要であると考えた。

細菌、黴、孢子、ウイルスなどのバイオコンタミナントに共通することは何か？それは全て生物あるいは生物由来であることである。そして全てが核酸類 (ATP、ADP、AMPなどの生体エネルギー分子や、デオキシリン酸類など遺伝分子) を有していることに着目した。こうした核酸類は必ず生体由来であり、これが存在することは、バイオコンタミナントの存在が示唆されるということが出来る。核酸類はすべての分子で1～数個のリン酸がつながった部分構造 (無水リン酸結合構造) を有している。著者はこの核酸類の部分構造の共通性に着目した。そして、「分子の部分的共通性を網羅的に認識する人工酵素の分子設計」と「人工酵素の触媒機能と電極反応との連携による分子情報の電流変換」とを併せて達成することによって、構造共通性を網羅的に検知し、網羅的バイオサーベイランスを可能とする人工酵素バイオセンサの開発に成功した。これは定質を行うセンサの一例であり、そのほか、医薬開発現場で用いられる「医薬効果のある物質を検出するセンサ」など様々な定質センサの技術化が進みつつある。

定質センサは新しいコンセプトに立ったバイオセンサの技術であるが、その基本は、分子情報変換である。分子機能を電子デバイスと連携させ、分子の情報やエネルギーを出力として得ることであるが、それらの効率は現状では決して高くは無い。それは電子デバイス表面におけるタンパク質等の分子の状態 (配向や界面環境) を設計・制御することが困難であることに拠る。我々は、ナノテクノロジーとバイオテクノロジーとを駆使して、固相表面に制御されたタンパク質分子層を形成する技術の開発を行い、分子間機能連携そして分子-固相機能連携の高効率化にアプローチしている。講演では、その内容についても触れる。

参考論文

1. Hitoshi ASAKAWA, Katsumi MOCHITATE, Testuya HARUYAMA, Seamless signal transduction from live cell to an NO sensor via a cell-adhesive sensing matrix, *Analytical Chemistry*, in press
2. Satoshi Migita, Kazunari Ozasa, Shinya Ikeno, Tomoya Tanaka, Tetsuya Haruyama, Molecular Commonality Sensing of Phosphoric Anhydride Substances Using an Ion-Sensitive Field-Effect Transistor Covered with an Artificial enzyme Membrane, *Jpn. J. Appl. Phys.*, **46**(11) 7539-7541 (2007)
3. S. Ikeno, H. Asakawa, T. Haruyama, Molecular Commonality Detection Using an Artificial Enzyme Membrane for in situ One-Stop Biosurveillance, *Analytical Chemistry*, **79**, 5540-5546 (2007)
4. Hiroaki SAKAMOTO, Shinya IKENO, Tamaki KATO, Norikazu NISHINO, and Tetsuya HARUYAMA, Smart Immobilization of oligopeptides through Electrochemical deposition onto surface, *Analytica Chimica Acta*, **26;604** (1):76-80 (2007)
5. Tetsuya HARUYAMA, Tsutomu SAKAI, Kouhei MATSUNO, Protein Layer Coating on Metal Surface by Reversible Electrochemical Process through Genetical Introduced Tag. *Biomaterials*, 26/24, 4944-4947 (2005)
6. Shinya IKENO, Geza R. SZILVAY, Markus LINDER, Hijiri ARITOMI, Masako AJIMI, and Tetsuya HARUYAMA, Protein Dot Stamp Using Hydrophobin as Immobilization Carrier, *Sensors and Materials*, **16**(8), 413-420(2004)
7. 春山哲也、定量センサから定質センサへ、ケミカルエンジニアリング, 52(9) 679-687 (2007)
8. Tetsuya Haruyama, Cellular biosensing: Chemical and genetic approaches, *Analytica Chimica Acta*, 568, 211-216 (2006)
9. 春山哲也、レセプター機能評価技術とその意義、医薬ジャーナル増刊号 新薬展望2006, **42**(S-1)249-257 (2006)
10. 池野慎也、春山哲也、細胞・組織バイオセンシングの進展、分析化学, 53(3), 135-146 (2004)
11. T. Haruyama, (2003) Micro- and nanobiotechnology for biosensing cellular responses, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 55, 393-401
12. 春山哲也、細胞応答センシングの新展開 - 特集バイオマテリアルの新世界、バイオマテリアル, 20(3), 1-6(2002)