

酵素触媒反応によるノネナル用バイオ蛍光式ガスセンサ

Enzyme-fluorometric gas sensor for 2-nonenal vapor

東京科学大学¹ ○(M1C)稲葉 璃人¹, 森英久¹, 市川健太¹, 飯谷健太¹, 三林浩二¹

Institute of Science Tokyo¹, (M1C)Rihito Inaba¹, Hidehisa Mori¹,

Kenta Ichikawa¹, Kenta Iitani¹, Kohji Mitsubayashi¹

E-mail: m.bdi@tmd.ac.jp

1. はじめに

呼気・皮膚ガスからは、有臭・無臭な多様な生体由来の揮発性成分が蒸泄されている。加齢臭の原因成分であるノネナル (2-nonenal) は青臭さと油臭さを有し、加齢に伴い分泌が増加する9-ヘキサデセン酸が酸化分解されることで発生する。ノネナルの選択的測定は、加齢による代謝機能の評価等に有効と考えられる。本研究では、酵素によるノネナルの酸化反応に基づく、光ファイバ型ガスセンサ (バイオスニファ) の開発を行った。

2. 実験方法

ノネナルは α,β -不飽和アルデヒドであることから、検出用酵素にはアルデヒド脱水素酵素 (ALDH) を用いて酸化触媒することとした。ALDH は補酵素 NAD^+ の存在下でアルデヒドを酸化する際に、自家蛍光 (λ_{ex} : 340 nm、 λ_{fl} : 490 nm) を有する NADH を生成する。この NADH の蛍光を検出することによりノネナルの定量が可能となる。光学系は、高輝度 UV-LED を用いた励起光源ユニットと、光電子増倍管による蛍光検出ユニットを、二分岐光ファイバを介して光ファイバプローブに接続することで構築した。本プローブの先端に、生体適合性を有する MPC ポリマーにて ALDH を固定した酵素膜を隔膜として気液フローセルを取り付け、ノネナルガス用の生化学式ガスセンサとした。測定では、各濃度に調整した標準ノネナルガス (0.4 ~ 7.5 ppm) をセンサ感応部に負荷し、蛍光強度の変化から応答性と定量性の評価を行った。また、生体から放出される種々のアルデヒドガスについて出力値を測定・比較し、ガス選択性の評価を行った。

3. 結果と考察

作製したセンサに濃度調整した標準ノネナルガスを負荷した結果、ガス負荷に伴う蛍光強度の増加、濃度に応じた定常値、そして清浄ガス送気による初期値への回復が観察された。気液フローセルには補酵素 NAD^+ を含む緩衝液が送液され、酵素反応での反応生成物である NADH 等が速やかに除去されることで、ノネナルガスの連続計測を行うことができた。本センサの定量性を定常値にて調べたところ、40 歳以上の皮膚由来濃度 (0.85 ~ 4.35 ppm) を含む、0.4 ~ 7.5 ppm の範囲にてノネナルの定量が可能であった。また、異なる標準ガスを用いて出力を比較した結果、ヘキサナルを最大として他のアルデヒド類にも出力を示したが、加齢によりその濃度が大きく変化するアルデヒド物質はノネナルと考えられることから、加齢の度合いを評価できるものと考えられる。