補酵素 NADH 減少の UV-LED 励起蛍光検出によるアセトン用バイオスニファ（生化学式ガスセンサ）と呼気ガス計測応用

An acetone bio-sniffer by fluorometric detection (UV-LED ex.) of coenzyme NADH consumption for analysis of exhaled breath

○鈴木 卓磨 [1], 簡 伯任 [1], 叶 明 [2], 當麻 浩司 [2], 荒川 貴博 [2], 三林 浩二 [1,2]
（1. 医科歯科大院, 2. 医科歯科大生材研）
°Takuma Suzuki[1], Po-Jen Chien[1], Ming Ye[2], Koji Toma[2], Takahiro Arakawa[2], Kohji Mitsubayashi[1,2]
1. Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental Univ.
2. Institute of Biomaterials and Bioengineering, Tokyo Medical and Dental Univ.
E-mail: m.bdi@tmd.ac.jp

【はじめに】

呼気中には代謝や疾病に由来する様々な揮発性化合物が含まれており、これらの成分を非侵襲かつ連続的に計測することで、疾病スクリーニングにも役立つものと期待される。例えば、糖尿病疾患ではインスリンが不足し、脂肪酸をエネルギー産生に使用することから、健常者と比較して呼気中のアセトンが増加することが報告されている。つまり、呼気中のアセトン濃度は糖尿病患者の身体状況や、健常者においても脂肪燃焼の度合いを反映するものと考えられる。しかし、既存のガスクロマトグラフや半導体式ガスセンサ等のガス計測法では連続計測や呼気成分に対する選択性等の課題があり、簡便かつ高感度なアセトン用のガスセンサが求められている。そこで本研究では、アセトンを特異的に触媒可能な secondary alcohol dehydrogenase (S-ADH) を用い、アセトンガスを高感度かつ連続的に蛍光検出する光ファイバ型のバイオスニファ(生化学式ガスセンサ)を開発し、呼気ガス計測に応用した。

【実験方法】

本センサは、酵素膜を装着した光ファイバ型プローブ、励起光源 (UV-LED)、光電子増倍管などから構成され、下式に示す S-ADH の逆反応であるアセトンの還元反応に基づき、その際に消費される補酵素である還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (NADH) の減少を蛍光検出 (ex.: 340 nm、fl.: 491 nm) することにより、アセトンガスを測定した。実験では、種々の濃度の標準アセトンガスをセンサ感応部に負荷し、センサ特性を調べた。次に、作製したセンサを呼気中のアセトン濃度の計測に用いた。

$$\text{acetone} + \text{NADH} + \text{H}^+ \xrightarrow{\text{S-ADH}} \text{2-propanol} + \text{NAD}^+$$

【結果及び考察】

作製したバイオスニファに標準アセトンガスを負荷した結果、ガス濃度に応じた蛍光出力減少と安定値が確認され、健常者及び糖尿病患者の呼気アセトン濃度を含む、20-5300 ppb の範囲で定量が可能であった(Fig.)。また、本センサを用いて呼気中アセトン濃度の計測を行った結果、標準アセトンガスと同様に蛍光出力の減少が観測され、呼気中のアセトン濃度を定量することができた。今後、本センサでの呼気中アセトンによる、脂肪燃焼度合いや糖尿病患者での身体状態等の評価が期待される。

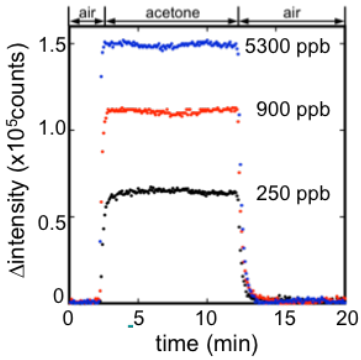

Fig. Typical responses of S-ADH biosniffer to standard acetone vapor.

© 2016年 応用物理学会