

## 飲酒後呼気 2 成分ガス (EtOH, AcH) のバイオ蛍光法による並列可視化計測

### Bio-fluorometric parallel imaging of breath compounds (EtOH, AcH) after drinking

医科歯科大 °水越 直樹, 早川 悠暉, 飯谷 健太, 當麻 浩司, 荒川 貴博, 三林 浩二

Tokyo Medical and Dental Univ.

°Naoki Mizukoshi, Yuuki Hayakawa, Kenta Iitani,

Koji Toma, Takahiro Arakawa, Kohji Mitsubayashi

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

#### 【はじめに】

呼気や皮膚ガスなどの生体ガスには代謝や疾患に関連する揮発性物質が含まれ、生体ガスを非侵襲的に計測することで代謝評価や疾患スクリーニングが期待されている。また対象ガス成分を可視化することで、ガス濃度の時空間分布が明らかになり、放出動態や部位の特定が可能になると考えられる。さらに、複数のガス成分を同時に可視化計測することで、詳細な代謝評価も可能と考えられる。本研究では、アルコール代謝で生成されるエタノール(EtOH)とアセトアルデヒド(AcH)を対象成分とし、アルコール脱水素酵素(alcohol dehydrogenase, ADH)の反応を用いることで 2 成分の並列同時可視化システムを構築し、飲酒後の呼気中 2 成分の計測に適用した。

#### 【実験方法】

可視化計測システムは、ADH を固定化したメッシュにおいて、EtOH・AcH ガス負荷時に ADH の酸化(pH9.0)・還元(pH6.5)反応によって生成・消費される NADH の自家蛍光(ex. 340 nm, fl. 490 nm)を高感度カメラで検出し、ガス 2 成分を同時に並列蛍光イメージングする。本システムは暗箱内に、励起光源(UV-LED シート)、励起光用バンドパスフィルター(BPF,  $\lambda = 340 \pm 42.5$  nm)、ADH 固定化メッシュ、蛍光用 BPF( $\lambda = 490 \pm 10$  nm)、高感度カメラの順で、光学同軸上に配置し構築した。また EtOH と AcH の酵素反応による蛍光の増減を同時に撮像するため、2 枚のメッシュを励起光源とカメラからの距離が一定になるように並列に設置した。ADH 固定化メッシュの作製は、メッシュ状担体に ADH をグルタルアルデヒド(GA)にて架橋することで作製した。測定では、ADH 固定化メッシュを EtOH の可視化では  $\text{NAD}^+$  溶液に、AcH では NADH 溶液に湿潤させ、それぞれにガスを負荷し酵素反応による蛍光の増・減を撮像した後、画像処理にて蛍光強度を数値化した。最後に、飲酒後の呼気ガス計測に適用し、2 種の生体ガスの同時可視化計測を行った。

#### 【結果および考察】

標準 EtOH ガスと AcH ガスをそれぞれ ADH 固定化メッシュに負荷したところ、負荷点を中心とするガス成分濃度に依存した蛍光の増減を同時に観察することができた (図 1)。得られた動画より定量特性を調べた結果、飲酒時の呼気中濃度(EtOH : 52–130 ppm, AcH : 1.0–6.0 ppm)を含む範囲で、2 成分の同時測定(EtOH : 0.1–1000 ppm, AcH : 0.2–10 ppm)が可能であった。次に、飲酒後の呼気を 2 つのメッシュに同時に負荷したところ、呼気中 EtOH・AcH に基づく蛍光の増減が並列で同時に撮像された。また両成分の濃度変化を調べたところ、飲酒後 30 分にピーク値を示した後、両者ともに漸次減少する様子が観察された。以上、構築した EtOH・AcH ガス用の同時可視化計測システムは、飲酒後の呼気中両成分の並列可視化及び濃度計測を同時に行うことが可能であった。

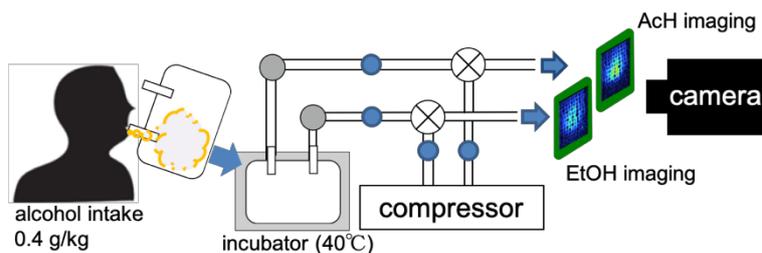


Fig.1 Parallel-imaging of gaseous EtOH and AcH in exhaled air