

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	嗅覚受容体を用いた大規模センサアレイによる匂いバイオセンサシステム
Title(English)	
著者(和文)	祐川 侑司
Author(English)	Yuji Sukekawa
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第11275号, 授与年月日:2019年9月20日, 学位の種別:課程博士, 審査員:中本 高道,山口 雅浩,小池 康晴,吉村 奈津江,長谷川 晶一
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第11275号, Conferred date:2019/9/20, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	論文要旨
Type(English)	Summary

論文要旨

THESIS SUMMARY

系・コース： Department of, Graduate major in	情報通信 情報通信	系 コース	申請学位 (専攻分野)： Academic Degree Requested	博士 Doctor of	(工学)
学生氏名： Student's Name	祐川 侑司		指導教員 (主)： Academic Supervisor(main)	中本 高道	
			指導教員 (副)： Academic Supervisor(sub)		

要旨 (和文 2000 字程度)

Thesis Summary (approx.2000 Japanese Characters)

嗅覚は生物にとって重要な感覚のひとつである。生物は匂いを嗅ぐために、嗅覚受容体を利用している。ヒトの場合は約 400 種類、ショウジョウバエの場合は約 30 数種類の嗅覚受容体を有しており、その多くは緩やかに重複する分子選択性を持っているとされている。そしてこれらの嗅覚受容体が匂いに対して生成する応答パターンにより匂いを認識していると言われている。この応答パターンは、匂いの濃度や構成成分によって様々に異なるという複雑さを有しているため、生物の匂い応答には未だ明らかにされていないことが数多く存在する。

生物が嗅覚によって獲得する匂い情報は、現代社会において環境計測や医療診断、食品工業等、様々な場面で活用されている。生物の嗅覚を工学的に再現した匂いセンサを用いて、匂い情報を取得することで、上記例のほか、匂い情報の記録や再生などの新しい応用分野も加えて、実世界での様々な工学的応用に繋がられる可能性がある。

このような考えから、これまでに様々な匂いセンサが開発されてきた。従来の匂いセンサは、センサ材料の匂い分子に対する吸着特性を様々に変化させることで人工的に与えた匂い分子の選択性を利用していた。このような人工材料に基づく匂いの選択性は、生物の嗅覚におけるものとは本質的に異なる。

一方で、生物の持つ嗅覚受容体などの機能を利用した匂いバイオセンサの研究が近年増加しつつある。多くの匂いバイオセンサは、一部の嗅覚受容体の高い感度や選択性を利用して、特定の匂いを検出することを実現している。しかし、高々数個程度の素子のセンサアレイを利用した研究しか報告されていない。

東京大学神崎研究室から提供されたセンサ細胞は、昆虫の嗅覚受容体と蛍光タンパク質をともに発現した培養細胞である。センサ細胞の存在する液相環境下において、匂い分子の濃度に応じて蛍光強度変化に変換するバイオ素子として動作する。発現させる嗅覚受容体を様々に変えて、それらを同時に蛍光画像として測定することで、原理上、生物の嗅覚における嗅覚受容体の応答パターンが再現可能である。

上記背景から本研究では、生物が持つ嗅覚システムの応答パターンを大規模センサアレイとして再現した匂いバイオセンサを実現することが目標である。そして、その基礎となる嗅覚受容体を利用した大規模センサアレイを構築するための方法を提案すること、および、その応答パターン認識による匂いバイオセンサシステムを実現することを目的とする。本研究では提案する匂い識別の原理検証のため、最も簡単な条件として 2 種類の嗅覚受容体を利用し、2 種類の匂い分子の識別を行なった。また、センサ細胞を用いた匂い応答測定における安定性向上のために、センサシステムとしての蛍光測定手法の検討を行なった。さらに、気相環境での匂い認識において重要な役割を担っているとされている匂い結合タンパク質を、匂いバイオセンサシステムの機能として取り入れることを想定し、その準備段階として、匂い結合タンパク質の匂い分子に対する吸着特性を、タンパク質-リガンドドッキング計算による予測も行なった。

第 1 章においては、上記の研究背景および生物における嗅覚、関連する研究や本論文の目的と取り扱う範囲について述べた。

第 2 章ではセンサ細胞を並べて蛍光画像としてセンサアレイを構築することで、多数のセンサ素子を並列的に同時測定し、さらにその蛍光画像を応答パターンとして利用した匂い認識の原理について説明した。この原理により細胞パターンニングを行うことなく、より簡便にセンサ細胞を用いた匂い測定が可能になる。さらに、蛍光画像として匂い応答を取得するための測定系である、光学測定系とフロー測定系、制御回路、制御ソフトウェアについても説明した。また微弱な蛍光応答を取得するための計測手法としてのロックイン計測についても説明した。

第 3 章では蛍光画像として得られるセンサ細胞応答から、センサアレイとしての多次元時系列情報を抽出するために、円形 Hough 変換を利用した細胞領域追跡アルゴリズムを提案した。そして実際のセンサ細胞による匂い

サンプル応答測定データに対して、このアルゴリズムが有効であることを実験的に確認した。続く第 4 章では匂い応答パターン解析のために、多次元時系列情報から特徴量ベクトルを取り出し、主成分分析やマハラノビス汎距離を用いた判別分析を実施した。この検討で 2 種類の異なる匂い分子が識別可能であること、及びそれぞれが 2 つの異なる濃度で存在していてもその情報を抽出可能であることを示した。さらに第 5 章では蛍光画像から多次元時系列情報を抽出するための別手法として、画像を 10×10 の小領域に分割しセンサアレイとする手法を提案し、この手法についても匂い識別が可能であることを実験的に示した。

第 6 章ではセンサ細胞の蛍光測定において蛍光強度が減衰してしまう蛍光退色現象についての対処法を検討した。励起光を間欠照射することや強度を弱めて照射することが、蛍光退色現象の抑制に効果的であることを実験的に示し、匂いセンサシステムをより安定的に動作させることが可能となった。

第 7 章では匂い結合タンパク質の匂い分子結合特性を予測するために、SwissDock と呼ばれるタンパク質-リガンドドッキング計算サービスを利用した。9 種類の匂い結合タンパク質と 87 種類の様々なリガンド分子の組み合わせについて検討し、匂い結合タンパク質ごとのリガンド選択性の差異が少ないという示唆が得られた。

以上の検討にあるように、目標としている生物の嗅覚応答を再現するような匂いバイオセンサシステムを実現に向けた匂い識別の原理検証を達成し、目的を十分に達成した。さらに、蛍光退色現象の抑制や匂い結合タンパク質の特性予測といった検討も含めて、本研究により大規模センサアレイによる匂いバイオセンサシステムの基礎が確立できたと言える。

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note：Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1 copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).

(博士課程)
Doctoral Program

論文要旨

THESIS SUMMARY

系・コース：	情報通信	系
Department of, Graduate major in	情報通信	コース
学生氏名：	祐川 侑司	
Student's Name		

申請学位 (専攻分野)：	博士	(工学)
Academic Degree Requested	Doctor of	
指導教員 (主)：	中本 高道	
Academic Supervisor(main)		
指導教員 (副)：		
Academic Supervisor(sub)		

要旨 (英文 300 語程度)

Thesis Summary (approx.300 English Words)

Combination of a number of olfactory receptors plays an important role in animal's recognition of an odorant. However, an odor sensor with the response close to animals' one has not yet been developed. That sensor is expected to be useful for engineering applications such as recording and reconstructing an odor. The goal of this study is to develop an odor biosensor system using a large-scale sensor array. Thus, I proposed a method for constructing a large-scale sensor array using olfactory receptors, and demonstrated odor discrimination.

A sensor cell expressing an olfactory receptor and a fluorescent protein can convert an odorant concentration into fluorescent intensity. A fluorescent image was used for acquiring responses of sensor cells with different receptor types at the same time. By using image recognition technique based on circle Hough transform and pattern recognition methods such as principal component analysis and linear discriminant analysis, odor discrimination between two odorants was demonstrated.

Moreover, in order to suppress photobleaching phenomena and to improve temporal stability of fluorescent measurement of sensor cells, several methods of excitation light such as intermittent exposure or weak exposure were tested. It was found that those methods had a potential to reduce the influence of photobleaching.

Furthermore, affinity to ligands of odorant binding proteins was estimated through a docking simulation between an odorant molecule and a protein. Simulation results may help us to design the gas phase measurement of the odor biosensor system. The results suggested that difference of proteins might not have an influence on ligand selectivity.

Based on these results, it is concluded that the principle of proposed odor biosensor system was demonstrated, and fundamental of odor biosensor system was established.

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note：Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).