

バイオセンサーの現状について

神奈川工科大学
応用化学科
飯田泰広

1. はじめに

バイオセンサーは、生体の持つ優れた識別能力を利用あるいは模倣して物質を計測するシステムであり、物質識別素子に用いる酵素や抗体、DNA や高分子膜などの基質認識部位と、認識に付随して変化する反応を物質量として変換するトランスデューサー（電極、受光素子、感熱素子、圧電素子など）とから構成されている。各種クロマト技術が分離に主眼を置くのに対し、センサーは、直接混合物から目的のものだけを識別できる点に主眼を置いており、小型化、集積化が容易である。この、識別素子に酵素、抗原・抗体、微生物などを用いることにより、それぞれ酵素センサー、免疫センサー、微生物センサーなどと呼ばれている。

近年、バイオテクノロジーの発展と、ナノテクノロジーの進展に伴って、血液センサーやDNAチップを含めた様々なバイオセンサーが開発・利用されてきている¹⁾。本講では、現在著しく市場が成長している、医療・臨床検査関係および製薬リサーチ・アプリケーション関係のバイオセンサーを中心に、その原理や開発の現状、問題点について紹介するとともに、筆者らの開発しているバイオセンサーを用いた薬剤スクリーニングについて報告する。

2. バイオセンサーの上市される分野とその市場

バイオセンサーの種類は多く、その論文も膨大な数に上るが、基本的には、表1に示すように、測定対象に対する、識別素子とトランスデューサーの組み合わせよりなっている。また、実際に上市されている分野は、医療・臨床検査、製薬リサーチ・アプリケーション、食品、環境、その他と大きく5つに分類して考えることができる²⁾。全世界におけるバイオセンサーの市場は、2003年の統計では73億ド

表1 バイオセンサーに用いられる識別素子やトランスデューサー

識別素子	トランスデューサー	測定対象
酵素	O ₂ 、H ₂ O ₂ 、pH電極、	グルコース、尿酸、
抗原あるいは抗体	炭酸ガス電極	コレステロール、
	アンモニアガス電極	脂質、黄化糖、
レセプター	サーミスタ	アミノ酸類、グルタミン酸、
オルガネラ	O ₂ 光ファイバー	尿素、クレアチニン、
微生物	表面プラズモン共鳴デバイス	BOD、ATP、
動・植物細胞	蛍光分光光度計	アルコール類、
動・植物組織	UV/Vis吸光度計	乳酸、鮮度、
疑似生体	フォトカウンタ	ヒスタミン、ビタミン類、
	水晶振動子	その他生理活性物質

ルと報告されているが、その約9割は先にあげた分野のうち、医療・臨床検査において用いられるバイオセンサーが占めている。この、医療・臨床検査用バイオセンサーは主に血中のグルコース濃度を計測するものであり、僅かこの10年間で4.5億ドルから64億ドル以上と、10倍以上に市場を拡大している。これは、血糖値自己診断群とも呼ばれる多数の糖尿病患者を対象としており、今後も需要の伸びが予想されている。

残りの1割の中の大部分（約8割（約5億ドル））は、製薬リサーチ・アプリケーションが占めており、この二つの分野からバイオセンサーの市場は成り立っているといっても過言ではない。

食品分野においてはアルコール、グルコース、乳酸、ペプチド、鮮度、味・匂いセンサーなどが開発、利用されている。環境分野の主流はBODセンサーである。また、その他の分野としては、近年、セキュリティ・アプリケーションとしての、有害微生物検出用のバイオセンサーの開発が望まれている。

以上の各分野における、2002年、2003年の売り上げと、今後の予測について表2（バイオセンサー市場R&Dと商用化動向、Fuji-Keizai USA Inc.より一部抜粋）に示す。表2に示すように、バイオセンサー

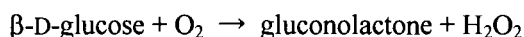
市場は今後も着実に拡大して行くことが予想されている。また、製薬関係やセキュリティの成長率からも想像できるように、安全・安心への需要が高まっている背景も、バイオセンサーの好調な伸びを後押しする形となっている。

表2 世界のバイオセンサー市場における売り上げとその予測

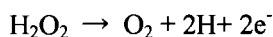
	2002	2003	2007	成長率(%)
医療・臨床検査	5759.9	6428.2	8348.2	7.7
製薬リサーチ・アプリケーション	480.4	521.2	1479.5	25.2
セキュリティ・アプリケーション	160.7	190.2	688.6	33.8
食品	112.2	126.7	197.9	12.0
環境	57.1	61.5	79.1	6.7
合計	6570.3	7327.8	10793.3	10.4

3. 医療・臨床検査におけるバイオセンサー

本分野はバイオセンサーの中心をなすものであり、本項では、その主流であるグルコースセンサーについて述べる。当該センサーは、バイオセンサーの創成期から研究されているセンサーであり、分子識別素子としてグルコースオキシダーゼが用いられており、以下に示すような反応を触媒する³⁾。



ここで、グルコースは電気化学的には安定であるが、本反応で減少する酸素や過酸化酸素は活性な物質であるため、例えば、



のように、過酸化水素を酸化して得られる電流を計測することにより、間接的にグルコース濃度を測定することができる。開発当初のグルコースセンサーは、グルコースオキシダーゼ (GOD) によって生成する過酸化水素と反応して呈色する試薬と組み合わせたり、過酸化水素と呈色試薬を基質とするペルオキシダーゼを用いて発色させたりしてその吸光度

の変化を指標とする色素法であったが、電極法が主流となり、現在では、グルコースオキシダーゼの代わりに、溶存酸素量に影響を受けないグルコースデヒドロゲナーゼ (GDH) を用いた製品が開発されている。国内で現在上市されている主な製品についてまとめたものを表3に示す。各社それぞれ工夫がなされているが、基本的なシステムは同様であり、手指などを専用の穿刺器を用いて穿刺、少量の血液を測定用チップにつけることにより酵素と接触、酵素反応に伴う変化を測定するものである。現在では、ほとんどのメーカーが使い捨てのセンサチップを採用している。

表3. 国内で市販されているグルコースセンサの例

メーカー	製品名	測定用酵素	測定法	採血部位
松下	グルコカードα	GOD	電極法	指尖
ニプロ	フリースタイル	GDH	電極法	指尖・任意
メディセンス	ソフタック	GDH	電極法	任意
アボット	プレジジョン	GOD	電極法	指尖
テルモ	メディセーフ	GDH	色素法	指尖
J & J	ノボアシストプラス	GOD	色素法	指尖
帝人	アトラスト	GOD	色素法	任意
バイエル	デクスターZ	GOD	電極法	指尖
ロシュ	アキュチェック	GDH	電極法	任意

4. 新規バイオセンサー開発の取り組み

グルコースセンサーはバイオセンサーの中心的存在であり、現在でもグルコースセンサーの改良が精力的に行われている。その改良にあたっては、①選択膜の改良、②酵素の改良、③メディエーターの改良、④電極の改良といった、大きく4つの観点から取り組まれているが、無痛針を目指した微細な針状のグルコースセンサーの開発⁴⁾や、非侵襲性のグルコースセンサー^{5,6)}、埋め込み型のグルコースセンサー⁷⁾など、これまでの、採血して計測とは異なる概念に基づく開発も試みられている。

また、グルコースセンサー以外のバイオセンサーも多数取り組まれており⁸⁾、金属酵素を用いたコファクターセンサー^{9, 10)}やカーボンナノチューブを用いたバイオセンサー^{11, 12)}や、近年発展の目覚ましいMEMS (MicroElectroMechanical Systems) 技術を用いた様々な微小センサーなどが開発されている。また、マイクロフローガス拡散デバイスによ

る、酵素反応性生物であるアンモニアや二酸化炭素を計測するデバイス^{13,14)}や、フローシステムに酸素を供給して計測範囲を向上させるデバイス¹⁵⁾、送液用の微小デバイス¹⁶⁾開発などの取り組みも行われている。

5. バイオセンサーを用いた薬剤スクリーニング

現在、製薬リサーチ・アプリケーションにおけるバイオセンサー開発への取り組みが盛んになされている。この分野でのバイオセンサーは非常に幅が広いが、主に、DNAチップや、抗原抗体、リガンドとレセプターのようなタンパク質相互間のアフィニティーを評価できるSPRセンサー¹⁷⁾や水晶振動子センサー¹⁸⁾などが開発されている。

しかし、これらのバイオセンサーは、識別素子とのアフィニティーを指標とするものであり、結合することと活性を有することを評価することは不得手である。これに対し著者らは、酵素を微細孔性ガラス上に固定化し、FIA (Flow Injection Analysis) システムと組み合わせることにより、酵素活性を指標とした薬剤スクリーニングシステムを開発してきている¹⁹⁾。具体的には、メラニンの合成に関与する酵素チロシナーゼに着目し、その阻害剤のスクリーニングに取り組んでいる。メラニンはしみやソバカスの原因となる黒色色素であり、チロシンがチロシナーゼによって L-3,4-ジヒドロキシフェニルアラニン (L-DOPA) に変換されることが生合成の第一歩であることが知られている。そのため、チロシナーゼの阻害剤は美白効果を有することが期待され、これまでに多くの研究がなされてきている。著者らは、図1に示すようなシステムを構築し、キャリアー溶液をポンプにより送液、基質であるチロシンを注入することによるチロシナーゼ活性評価を行っている。チロシナーゼが酸化酵素であり、酵素触媒反応に伴う溶存酸素の減少が注入するチロシン濃度に依存することから、酸素電極を用いた溶存酸素濃度のモニタリングにより、間接的にチロシナーゼ活性を評価することが可能となっている。

本システムにおいてチロシンを注入、初めのチロ

シナーゼ活性を評価した後、阻害剤（スクリーニング用サンプル）を注入、再度チロシンを注入することにより酵素活性の阻害効果を評価することができる。実際にチロシナーゼ阻害剤として知られているコウジ酸を用いて行った結果を図2に示す。

図2に示すように、チロシン注入後活性を有していたチロシナーゼ(a)が、コウジ酸により、チロシンを注入してもその活性が観測されないことが示された(b)。しかし、再度チロシンを注入すると、阻害されていた活性が回復する現象を評価できた(c)。この事は、コウジ酸の阻害効果が一時的であり、フローシステムを導入、薬剤（コウジ酸）を洗い流したことにより、見出された現象であると考えられる。通常の酵素阻害剤の評価法は、バッチ式を用い、阻害剤と酵素、基質が同一場に存在するため、薬剤が一定濃度で常に存在しており、このような、一時的な

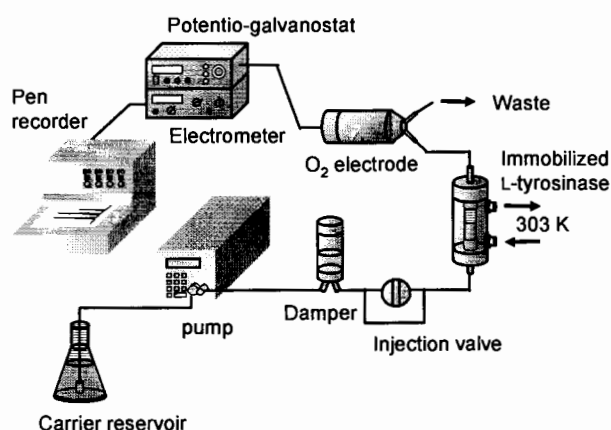


図1 チロシナーゼ阻害剤スクリーニング用FIAシステム。

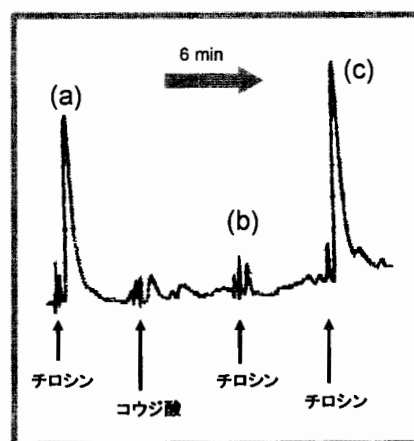


図2 コウジ酸のチロシナーゼ阻害能の評価

阻害であるか、あるいは持続的な阻害であるかを評価する事は困難である。これに対し、著者らのシステムにおいては、薬剤濃度の動的变化を考慮したスクリーニングが可能であり、より有効な阻害剤をスクリーニングできる可能性が示唆された。そのため、図3に示すように、阻害率、および回復率を定義、市販生薬の抽出物に関してチロシナーゼ阻害活性を評価したところ、コウジ酸と同等の阻害活性を示し、かつ、持続的に効果を発揮すると示唆される生薬抽出物が複数評価された(表4)。現在は抽出物に関して評価しているが、今後、分離・精製を進めて行

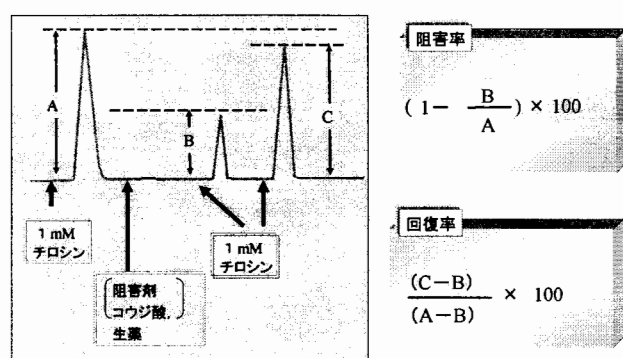


図3 阻害率および回復率の評価

表4 FIAシステムを用いたチロシナーゼ阻害剤のスクリーニング

生薬		阻害活性	
		阻害率	回復率
アマチャ	<i>Hydrangea macrophylla</i> (folium)	+++	+++
カンゾウ	<i>Glycyrrhiza uralensis</i> (radix)	+++	+++
クジシ	<i>Sophora flavescens</i> (radix)	++	++
ウコン	<i>Curcuma longa</i> (rhizoma)	++	+++
ソウハクヒ	<i>Morus alba</i> (cortex)	++	+++
ダイオウ	<i>Rheum palmatum</i> (rhizoma)	++	+++
ビワウ	<i>Eriobotrya japonica</i> (folium)	++	+++
ショウマ	<i>Cimicifuga dahurica</i> (rhizoma)	++	++
センブリ	<i>Sweria japonica</i> (herba)	+	++
センナ	<i>Cassia angustifolia</i>	+	+++
オンジ	<i>Polygala tenuifolia</i> (radix)	+	+++
コウカ	<i>Carthamus tinctorius</i> (flos)	+	+++
フシ	<i>Aconitum carmichaeli</i> (tuber)	+	-
ボレイ	<i>Ostrea gigas</i> (testa)	+	-
コウボク	<i>Magnolia obovata</i> (cortex)	+	+++
チモ	<i>Anemarrhena asphodeloides</i> (rhizoma)	-	-
オウゴン	<i>Scutellaria baicalensis</i> (radix)	-	-
キキョウ	<i>Platycodon grandiflorum</i>	-	-
シャクヤク	<i>Paeonia lactiflora</i>	-	-
ウワウルシ	<i>Arctostaphylos uva-ursi</i> (folium)	-	-
オウレン	<i>Coptis chinensis</i> (rhizoma)	-	-
コウジ酸	Kojic acid	+++	-

阻害率: +++ 71-100 % 回復率: - 71-100 %
 ++ 41-70 % + 41-70 %
 + 11-40 % ++ 11-40 %
 - 0-10 % +++ 0-10 %

くことにより、より低濃度でかつ効果的な阻害剤を見出せる可能性が示された。このように、バイオセンサー技術における固定化酵素を利用することにより、従来では見出すことのできなかった効果を評価でき、本研究は、製薬リサーチ分野におけるセンシングへ寄与するものと思われる。

6. おわりに

バイオセンサーは、生物機能と科学技術を融合させた、ハイブリッドシステムである。そのため、生命科学の進展と各種テクノロジーの進歩により様々な展開・利用が予想される。今後、多様な分野の研究者による相互協力により、バイオセンサー分野が発展あるいは貢献できることが期待でき、本分野の果たす役割、可能性はますます広がって行くものと思われる。

参考文献

- 1) P. T. Kissinger, *Biosensors Bioelectron.*, **20**, 2512-2516 (2005)
- 2) バイオセンサー市場 R&D と商用化動向, Fuji-Keizai USA Inc.
- 3) 軽部征夫 監修、バイオセンサー、シーエムシー出版 (1987)
- 4) S. Nomoto et al., *Chem. Sens.*, **21**, Supplement B, 40-42 (2005)
- 5) M. A. Arnold et al., *Anal. Chem.*, **77**, 5429-5439 (2005)
- 6) 田村守 他、*光学*, **33**, 380-386 (2004)
- 7) J. C. Pickup, et al., *Biosensors Bioelectron.*, **20**, 1897-1902 (2005)
- 8) 飯田泰広 他、「化学センサ 2003 酵素センサ」、*Chemical Sensors*, **20**, 14-22 (2004)
- 9) Y. Iida, et al., *Electrochemistry*, **71**, 453-456 (2003)
- 10) Y. Iida, et al., *Electrochemistry*, **71**, 449-452 (2003)
- 11) A. Merkoci, *Microchim. Acta*, **152**, 157-174 (2006)
- 12) Y. Lin, et al., *J Mater Chem.*, **14**, 527-541 (2004)
- 13) Y. Iida, et al., *Talanta*, **64**, 1278-1282 (2004)
- 14) Y. Iida, et al., *Anal. Sci.*, **22**, 173-176 (2006)
- 15) Y. Iida, et al., *Sensors and Actuators B Chem.*, **91**, 175-179 (2003)
- 16) H. Suzuki et al., *Anal. Chem.*, **77**, 6857-6863 (2005)
- 17) S. Szunerits et al., *Electroanalysis*, **17**, 2001-2017 (2005)
- 18) D. Yu et al., *Anal. Lett.*, **38**, 1687-1701 (2005)
- 19) 飯田泰広 他、フローインジェクション分析装置およびフローインジェクション分析方法、特願 2004-287710