The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	FABRICATION OF AMPEROMETRIC CHOLESTEROL AND URIC ACID SENSORS WITH USE OF ENZYMES AND ARTIFICIAL ELECTRON MEDIATORS
Author(s)	中南, 貴裕
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41372
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【20】

氏　　名	中南貴裕（なかみなみたかひろ）
博士の専攻分野の名称	博　士（工　学）
学位記番号	第　14596　号
学位授与年月日	平成11年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 工学研究科物質化学専攻
学位論文名	FABRICATION OF AMPEROMETRIC CHOLESTEROL AND URIC ACID SENSORS WITH USE OF ENZYMES AND ARTIFICIAL ELECTRON MEDIATORS （酵素および人工電子メディエーターを用いた電流検出型コレステロールおよび尿酸センサーの構築）
論文審査委員	（主査） 教授　米山　宏 （副査） 教授　足立　吟也　教授　甲斐　泰　教授　大島　巧 教授　野島　正朋　教授　小松　満男　教授　城田　靖彦 教授　平尾　俊一　教授　新原　晧一　教授　田川　精一

論文内容の要旨

本論文は，酵素とそれに対する人工電子メディエーターを用いた電流検出型コレステロールならびに尿酸センサーの開発研究に関する論文であり，緒言，本論四章，および総括により構成されている。

緒言では，本研究の目的と意義，およびこれまでに行われてきた酵素を利用した電流検出型センサー素子の調製に関する研究例と，近年開発が進められている電流検出型コレステロールならびに尿酸センサーの問題点について述べている。

第一章では，コレステロール酸化酵素により触媒されるコレステロールの酸化反応において電子受容体として機能するレドックス化合物を探索し，その反応速度および反応平衡に関するパラメーターを求めている。上記反応で生成する還元型レドックス化合物を電極で酸化することによってコレステロールの電気化学的酸化反応を行い，得られる定常酸化電流値のコレステロール濃度依存性を調べ，電流値が決定される機構について考察している。

第二章では，コレステロール酸化酵素，コレステロールエステル加水分解酵素を金基体上に共有結合で固定した電流検出型センサーを作製し，チオニンを人工電子メディエーターに用いて，遊離型およびエステル型コレステロールに対する電流応答特性を調べている。さらに，遊離型とエステル型コレステロールが共存する場合についてそれぞれの濃度を応答電流より見積もる方法を考案し，その定量法の有効性を血清サンプルに対して適用することにより確認している。

第三章では，数種のレドックス化合物が尿酸の酸化反応を触媒するウリカーゼに対する電子受容体として働くことを見出し，その電気化学特性を尿酸の電気化学的酸化との関連で調べている。そして，その結果をもとにして電子メディエーター機能を有するレドックスポリマーを調製し，それをウリカーゼとともに金電極上に固定することによって電流検出型の尿酸センサーを作製し，その特性を尿酸検出反応の反応速度の解析を行うことにより評価している。

第四章では，ウリカーゼと電子メディエーターを取り込んだ脂質とアルカンチオラートから成る生体模倣二分子膜を金基体上に形成させた電極を作製し，尿酸センサーとしての特性を評価し，それを反応基質の電極基体への拡散の点から考察している。

総括では，本研究で得られた成果を要約している。

論文審査の結果の要旨

本論文は，コレステロールおよび尿酸の迅速，簡便かつ正確な定量を可能にする，電流検出型のセンサーを開発することを目的としたものであり，酵素とそれに対する人工電子メディエーターを用いることにより数種のセンサー素子の作製に成功している。主な結果を要約すると以下の通りである。

(1) コレステロール酸化酵素により触媒されるコレステロールの酸化反応において，数種の酸化還元色素が電子受容体として機能することを見出すとともに，それら色素の電子受容能がその酸化還元電位だけでなく，分子サイズおよび疎水性によって影響されることを明らかにしている。

(2) 上記電子受容体を電子メディエーターとして用いたコレステロールの電気化学酸化反応において得られる定常酸化電流値がコレステロール濃度に依存し，その電流値は溶液バルクにおける還元型電子受容体の濃度によって決定されていることを明らかにしている。

(3) コレステロール酸化酵素，コレステロールエステル加水分解酵素を共有結合により固定化した金電極を調製し，それがチオニンを溶解した電解液中で遊離型およびエステル型コレステロールに対して迅速な電流応答を示すセンサーとして機能することを見出している。さらに，遊離型とエステル型コレステロールが混在する溶液に対する電流計測から各濃度を見積もる方法を考案し，その有効性を実証している。

(4) ウリカーゼに対して電子受容体として働く数種のレドックス化合物を見出し，特にフェナジニウム構造を有する受容体がウリカーゼにより触媒される尿酸の電気化学的酸化における有効な電子メディエーターとして働くことを明らかにしている。

(5) この結果をもとにして，電子メディエーター機能を有する新規なレドックスポリマーを調製し，それをウリカーゼとともに金電極上に固定することによって，尿酸に対して迅速な電流応答を示すセンサー電極の作製に成功している。そしてこの電極では固定されている酵素膜中への尿酸の拡散が応答電流を制御していることを明らかにしている。

(6) 金基体上にアルカンチオラートと脂質から成る二分子膜を形成させる新規な酵素固定化法を用いることにより，ウリカーゼと電子メディエーターを取り込んだ生体模倣膜で被覆された電極を調製し，これが電流検出型尿酸センサーとして機能することを明らかにしている。

以上のように，本論文ではコレステロール酸化酵素，ならびにウリカーゼに対する人工電子メディエーターを初めて見出しており，かつそれらを用いた電流検出型のコレステロールおよび尿酸センサー素子の開発に成功している。本研究で開発したセンサーを用いた電気化学定量法は，医療機関等で実用されている方法よりも迅速かつ簡便な定量を可能にするものであり，その意義は大きい。また，本研究で得られた知見は関連する分析電気化学の研究分野はもとより，蛋白と酸化還元化合物との間の電子移動を扱う分子生物学の分野にも多大の貢献をするものである。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。