Osaka University Knowledge Archive

Title	Development of Stress Sensor Systems and their Application to Stress-Responsive Bioprocess
Author(s)	鄭, 浩燮
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/44372
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏　　名	鄭（チョン）　浩（ホ）燮（ソップ）
博士の専攻分野の名称	博　士（工　学）
学　位　記　番　号	第　17907　号
学位授与年月日	平成15年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 基礎工学研究科化学系専攻
学　位　論　文　名	Development of Stress Sensor Systems and their Application to Stress-Responsive Bioprocess （ストレスセンサシステムの開発およびストレス応答型バイオプロセスへの応用）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　久保井亮一 （副査） 教　授　金田　清臣　　教　授　田谷　正仁　　教　授　渡會　　仁 講　師　馬越　　大

論　文　内　容　の　要　旨

生物・細胞の発現する多様なストレス応答機能を制御して利用する「ストレス応答型バイオプロセス」において、各構成要素（細胞・酵素・タンパク質・細胞膜・生体分子など）のストレス状態やストレッサを識別し、on-line モニタリングするための「ストレスセンサ」の開発が必要とされている。本研究で開発したストレスセンサは、リポソームやストレス応答型有機感応膜など生体模倣膜をセンサ素子として利用しており、細胞膜の状態や細胞膜界面における各種の環境ストレッサを *in situ* でモニタリングできるという特徴を有している。本研究では、動的な細胞膜界面のストレス応答機能に着目し、一連の生体膜機能模倣型センサを開発し、ストレスにより誘起される匂い・香り分子など環境ストレッサやタンパク質の構造異常性の識別方法について明らかにした。また、これらのセンサを用いてストレス応答型バイオ生産分離プロセスの具体例に応用した。

第一章では、ストレス応答型バイオプロセスで発生するガス成分をストレッサの一環として着目し、ストレス応答センサの基盤技術として、小型化、省電力の薄膜タイプの携帯可能な匂い・香りセンサを開発した。このセンサは無機感応膜と温度に対する特性変化の大きい有機感応膜を組合せたものでマイクロマニピュレーションシステムを用いてマイクロアレイ型電極の開発に成功した。また、微細化した有機感応膜は様々なガスに対する選択的なセンサ応答が確認され、感応膜のアレイ化と温度制御を組合わせると効果的にガス成分の識別が可能になった。さらに、これを拡張して様々な官能基を修飾した導電性高分子膜を利用した生体膜機能摸倣型センサによりタンパク質の構造異常の検出を試みた。

第二章では、さらに高感度化するため機能性リポソームを電極表面上へ固定化し、各種ストレス条件下におけるタンパク質の構造変化のセンシング手法を確立し、主として液相センサの開発とそのストレス応答型バイオプロセスの設計・開発への応用について検討した。リポソームなどのモデル生体膜を固定化した生体膜機能利用型センサを製作し、ストレス条件下におけるタンパク質とリポソーム膜界面の静的・動的な変化を AFM および Amperometric 法を用いて検討した。これらのセンサは生体膜の動的な変化を利用して種々のストレス条件下におけるタンパク質の構造

異常化を定量的に検出可能であった。

第三章では、一、二章で開発した気相センサおよび液相センサを用いて on-line モニタリングにより酵素・タンパク質・細胞膜等のストレス状態やプロセスからの廃ガスをモニターしながらストレスを負荷し利用するストレス応答型バイオプロセスの開発を試みた。そのケーススタディとして *Streptomyces griseus* 菌による Chitosanase のストレス応答型生産プロセスにおけるストレッサの on-line モニタリングの可能性について検討した。気相・液相ストレスセンサの解析結果に基づいて、目的酵素 Chitosanase を効率的に生産・放出するためのストレス条件を最適化した。その結果、熱ストレスの負荷により酵素の生産・放出量を従来の２倍程度まで、さらには、熱ストレスとリポソーム添加の複合効果により３倍程度まで改善できることを示した。

論文審査の結果の要旨

生物・細胞の発現する多様なストレス応答機能を制御して利用する「ストレス応答型バイオプロセス」において、各構成要素（細胞・酵素・タンパク質・細胞膜・生体分子など）のストレス状態やストレッサを識別し、on-line モニタリングするための「ストレスセンサ」の開発が必要とされている。本論文では、動的な細胞膜界面のストレス応答機能に着目し、一連の生体膜機能模倣型センサを開発し、ストレスにより誘起される匂い・香り分子など環境ストレッサやタンパク質の構造異常性の識別方法について明らかにした。また、これらのセンサを用いてストレス応答型バイオ生産分離プロセスの具体例に応用し、以下の結果を得ている。

まず、ストレス応答型バイオプロセスで発生するガス成分をストレッサの一環として着目し、小型化、省電力の薄膜タイプの携帯可能な匂い・香りセンサを開発した。このセンサは温度に対する特性変化の大きい有機感応膜を用いてマイクロアレイ型電極の開発に成功した。微細化した有機感応膜は様々なガスに対する選択的なセンサ応答が確認され、感応膜のアレイ化と温度制御を組合わせると効果的にガス成分の識別が可能である事を明らかにした。次に、機能性リポソームを電極表面上へ固定化し、各種ストレス条件下におけるタンパク質の構造変化のセンシング手法を確立し、主として液相センサの開発とそのストレス応答型バイオプロセスの設計・開発への応用について検討した。これらのセンサは生体膜の動的な変化を利用して種々のストレス条件下におけるタンパク質の構造異常化を定量的に検出できることを明らかにした。また、気相センサおよび液相センサを用いて on-line モニタリングにより酵素・タンパク質・細胞膜等のストレス状態やプロセスからの廃ガスをモニターしながらストレスを負荷し利用するストレス応答型バイオプロセスの開発を試みた。気相・液相ストレスセンサの解析結果に基づいて、ストレス条件を最適化し、酵素の生産・放出量を改善できることを明らかにした。

以上のように、本論文は気相センサおよび液相センサを用いて、酵素・タンパク質・細胞膜等のプロセス構成要素のストレス状態やプロセスからの廃ガスをモニターしながらストレスを負荷し利用するストレス応答型バイオプロセスのモニタリング・制御手法を明らかにした。よって、博士（工学）の学位論文として価値のあるものと認める。