

審査の結果の要旨

氏名 四反田 功

水環境中には多種多様な化学物質が存在し、その中には毒性を持つものもある。それにより生じるリスクを避けるためには、その種類や量を知ることが重要である。その際、特定物質の定量を行うよりも、毒性物質が生体に与える影響の質や程度をとらえる方が有効な場合も多い。このため、生体の毒物に対する応答を利用して毒性を包括的に評価する手法であるバイオアッセイが、重要性を増している。藻類細胞を用いたバイオアッセイは、毒性物質に対する感度や再現性が良い試験法である。しかし、成長阻害を指標とするため、評価までに3日程度の時間がかかる。また、サンプリングしたその場でアッセイを行うことができない。このため、より簡便かつ迅速に毒性評価できるデバイスが求められている。

そこで本研究では、藻類細胞の光合成活性、鞭毛運動活性をモニタリングする、新規バイオセンシングデバイスの開発を試みた。また、藻類細胞には多くの種属が存在するし、多種多様な生理活性(光合成、代謝、呼吸、鞭毛運動など)を持つ。これらの藻類細胞の生理活性を検出する複数のシステムを開発し、集積化することで、多種多様な毒性を評価可能になると考えられる。本研究では、そのための要素技術として、光合成活性、鞭毛運動を電気化学的に評価可能なシステムの構築を目的とした。それにより、毒性の種類とその強さを評価可能にすることをめざした。本論文では、上記の内容を全6章にまとめた。

第1章では、これまでに行われてきた環境毒性評価法について総括的に述べ、本研究の位置づけと目的を明らかにした。

第2章では、透明電極上に藻類を直接固定化することで、光合成による酸素発生量を簡便にモニタリングできる、小型化及びディスプレイ化可能なバイオセンサーを開発した。藻類の光合成による酸素発生量の変化を電気化学的にモニタリングし、4種類の化学物質に対する毒性評価を行った。従来の光合成活性計測型電気化学センサより迅速で高感度な測定が可能であった。また、従来の成長阻害に基づくアッセイ法との間に良い相関がみられた。

第3章では、2章で検討した光合成活性測定型バイオセンサーの技術を利用した、細胞アレイ電極による化学物質のモニタリング法を開発した。当研究室で開発された光触媒リソグラフィー法によって、任意の部位に異なる藻類を簡便に固定化することが可能となった。また、固定化されたそれぞれの藻類細胞は光合成活性を保持し、毒性評価に適用可能であることが分かった。従来の毒性に対する感受性が藻類の種類ごとに異なることを利用し、毒性の強度だけではなく種類を

簡易に判別する方法の基礎を確立した。

第4章では、クラミドモナスの遊泳と反重力走性を利用した全く新しい原理のバイオセンシングシステムを開発した。単細胞鞭毛藻類であるクラミドモナスの鞭毛運動により溶液が攪拌される効果を、溶液に加えたレドックスマーカーを用いて電気化学的にモニタリングしトルエン、 Cu^{2+} 、 Ni^{2+} などの遊泳阻害剤を検出・定量する方法を確立した。また、反重力走性を観測することで、より低濃度(3 μM)のトルエンを検出できた。

第5章では、4電極式の小型電気化学セルを作製し、鞭毛藻類の遊泳活性と、正、負の走光性を同時に測定するシステムを開発した。また、本システムによって、少なくとも3種類以上の異なる化学物質の毒性を見分けられることが分かった。走光性生物の性質や活動機構の解析にも有効であることが示された。

第6章では、本研究の成果、及び今後の展望について言及した。本研究で作製した、藻類細胞の光合成、鞭毛運動活性、反重力走性、走光性に基づくバイオセンシングシステムを用いることで、従来法に比べて簡便・迅速な生態毒性の定性・定量評価が可能であることを述べた。

本研究では複数種の藻類、複数種の生理活性を同時に測定するシステムを開発し、毒性の種類と強さの同時評価へ向けた方向性を明らかにした。今後、こうした知見をさらに広めた上で適切な組み合わせを選べば、水環境管理や化学物質のリスク評価に適したバイオセンシングシステムが確立できると考えられる。また、より高次元な生物の細胞・組織を利用したアッセイシステムへの展開も期待される。このように本研究は、環境計測化学、電気分析化学などの進展に寄与するところが大きい。

よって本論文は博士(工学)の学位請求論文として合格と認められる。