

## 審査の結果の要旨

氏名 棚田 法男

本論文は、バイオ材料を利用した化学センサーに関するもので、生体の優れた匂い識別機構に注目し、昆虫の嗅覚受容体をラットの神経細胞へ発現させた匂いセンサーを提案し、その実現性を実験により検証している。

第一章「序論」では、従来の匂いセンサーの動作原理と特徴を述べ、それらの問題点を抽出し、本研究の目的を導出している。現在実用化されている代表的な物理化学匂いセンサーは、金属酸化物半導体、水晶振動子、導電性ポリマーである。これらの匂いセンサーは、感度、多様性、応答時間などの点で生体の嗅覚系には大きく劣る。そのような欠点を克服するべく、近年では生体-シリコンハイブリット型匂いセンサーが研究されている。このような匂いセンサーの性能を向上させるために、嗅覚受容体、糸球体、一次嗅皮質からなる生体の嗅覚系の情報処理メカニズムの知見を要約し、どのように高感度な嗅覚受容が実現されているかを考察している。

第二章「神経細胞の分散培養系に嗅覚受容体を発現させた匂いセンサーの提案」では、生体の優れた匂い識別機構に注目し、昆虫の嗅覚受容体をラットの神経細胞へ発現させた匂いセンサーを提案する。このような昆虫の嗅覚受容体を用いる利点は、容易に機能発現を実現できる可能性が高いことにある。また、本研究は、嗅覚受容体を導入する培養細胞として、神経細胞の分散培養系を用いる。その利点として、第一に、神経細胞の寿命は通常の細胞より長いため、センサーの寿命を長期化できる可能性がある。第二の利点として、神経細胞は、嗅覚受容体が発生した微弱なイオン電流から、容易に計測できる活動電位へと、匂い信号を増幅するプリアンプとして利用できる。第三の利点として、微細な匂い物質の変化を、神経回路の活動パターンとして増幅するメインアンプとして利用できる可能性がある。

第三章「実験方法」では、提案した新規匂いセンサーの実現可能性を検証するため必要な実験手順の詳細が記述されている。まず、嗅覚受容体が細胞膜上

で発現していることを確認するために、共焦点顕微鏡による蛍光観察を行った。次に、トランスフェクション効率を見積もるために、免疫化学染色を用いた蛍光観察を行った。さらに、**m-RNA** レベルでの嗅覚受容体の発現を確認するために、**RT-PCR** 反応を調べた。最後に、発現した嗅覚受容体が機能的であるかを調べるために、**Ca** イメージングを行った。

第四章「実験結果」では、提案した新規匂いセンサーの実現可能性を実験的に検証している。第一に、共焦点顕微鏡によって、嗅覚受容体が細胞膜へ移行していることを示した。第二に、免疫化学染色を用いた蛍光観察によってトランスフェクション効率を見積もったところ、同効率は 8%程度だった。第三に、**RT-PCR** 反応により **m-RNA** レベルでの嗅覚受容体の発現を確認できた。最後に、**Ca** イメージングにより、匂い物質に対して、神経細胞に有意な **Ca** 濃度上昇が認められたことから、発現した嗅覚受容体が機能的であることを示した。

第五章「考察」では、検証実験から得られた知見、提案したセンサーの特徴を要約し、今後の展望を述べている。提案したセンサーでは、他のセンサーに比べ遺伝子導入効率が低くても、嗅覚受容体を導入した細胞の活動がシナプス結合を通じて神経回路の活動パターンに増幅することが可能である。さらに、ウイルスフェクション法にて作成したセンサーは限定された場所でのみしか適用できないのに対し、リポフェクション法を用いて作成したセンサーはいかなる場所でも適用可能である。今後の課題として、センサー寿命に関する問題がある。提案した匂いセンサーの機能的な期間は、発現した嗅覚受容体の機能的な期間のみならず、神経細胞の寿命にも依存する。そのため、発現した嗅覚受容体の機能的な期間を制御する技術が必要になる。さらに、センサーとしての定量性解決案の模索、効率的な匂い識別のために、嗅覚受容体の発現パターンの制御も必要である。また、長期的なセンサーの利用については、ニューラルネットワークのシナプス可塑性についても考慮する必要がある。

第六章「結論」では、本研究で得られた知見が要約されている。本研究では、ラットの神経細胞内に発現させた昆虫の嗅覚受容体が機能的であることが示されており、したがって、提案センサーの実現可能性が原理的に示されている。提案センサーで用いたバイオ材料の組み合わせは、従来のバイオ・シリコン・ハイブリッドセンサーの様々な問題点を解決しうる可能性を秘めている。これらの知見は、バイオ材料を利用した生体・シリコンハイブリッド型匂いセンサーの研究分野に対して、工学的、および、学術的に顕著な貢献が認められる。

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。