

公益財団法人セコム科学技術振興財団  
助成研究  
(平成 22 年度—25 年度)

研究課題名  
昆虫嗅覚センサー情報処理による匂い源探索装置の開発

Title  
Development of odorant detection system based on insect olfactory sensor

2016 年 9 月  
September, 2016

研究代表者：東京大学先端科学技術研究センター、教授、神崎亮平

Ryohei Kanzaki  
Research Center for Advanced Science and Technology, The University of Tokyo,  
Professor,

## 「全体要旨」

食品の品質管理、水質管理、農作物の生産環境のモニタリングだけでなく、空港での爆発物や麻薬検知など危機安全管理や、環境中の汚染物質のモニタリング、匂いによる病気診断など、我々の生活の安全・安心、質の向上のため、ごく微量の匂い物質をリアルタイムに検出する技術に対するニーズが高まってきている。既存の匂いセンサは、金属酸化物半導体、水晶振動子、弾性表面波などの工学的技術に基づいて開発されており、一部は実用化されている。しかし、これらの匂いセンサは、被覆材料の制約により検出できる匂い物質が限定される（金属酸化物半導体）、湿度等外乱の影響により匂い選択性や検出感度が十分でない（水晶振動子）、検出に要する時間が長い、大掛かりな装置を必要とするといった課題がある。現在、これらの課題を克服するために、検出可能な匂い物質の種類に制限がなく、高い検出感度、高い選択性を兼ね備えリアルタイムに匂いを検出できる、革新的な検出原理に基づく匂いセンサの開発が求められている。

生物のなかでも、昆虫は、繁殖、採餌、外敵感知など多くの生命活動に匂い情報を利用して、環境中に存在する多様な匂い物質を高感度かつリアルタイムに検出する機構を備えている。最近になり、この匂いの検出が触角に機能する嗅覚受容体によって成し遂げられていることが明らかにされてきた。本研究では、これら昆虫の嗅覚受容体に着目して、高感度かつ様々な匂い物質を検出できる匂いセンサの開発を目的とした。

まず、昆虫の嗅覚受容体を発現させた Sf21 細胞を検出素子とする匂いセンサ開発の基礎技術の確立のため、まず、カイコガの性フェロモン受容体を対象に、匂い検出素子の構築技術を確立し、その検出性能を評価することで、原理検証を行った。性フェロモン受容体遺伝子と共受容体遺伝子を、カルシウム感受性蛍光タンパク質遺伝子（GCaMP3）とともに Sf21 細胞に遺伝子導入することで、対象となる性フェロモン成分を蛍光強度変化量として検出する細胞系統を匂い検出素子として作出する技術を確立した。作出した細胞系統は、300nM（溶液換算；数十 ppb）の検出限界で対象の成分を濃度依存的に検出でき、また、導入した受容体の匂い選択性に従い、蛍光強度変化として成分を検出できることを示した。加えて、構築した細胞系統は2か月にわたり、応答性に変化なく、匂い物質を検出できることを示し、長期間利用できる匂い検出素子として利用できることを示した。これにより、昆虫の嗅覚受容体を発現させた細胞系統を匂いセンサ素子として開発する基礎技術を確立した。

次に、本技術を一般臭の検出に発展させるため、キイロショウジョウバエの一般臭嗅覚受容体を対象に細胞系統を作出し、一般臭の検出性能を評価した。基礎技術に基づき、一般臭嗅覚受容体を遺伝子導入することで作出した細胞系統は、一般臭を蛍光強度変化量として検出できることが分かった。また、より高感度な細胞系統の構築を目指し、発現ベクターにおける遺伝子の挿入位置、および蛍光タンパク質の選択を行った結果、ppb

オーダの感度で一般臭を検出する細胞系統の作出技術を確立した。本技術を利用して、キイロショウジョウバエの一般臭嗅覚受容体を遺伝子導入することで、カビ臭であるジェオスミンや1-オクテン-3-オールを300nM（溶液換算；数十ppb）の検出限界で検出する細胞系統の作出に成功した。作出した細胞系統は背景臭の存在下でもカビ臭を検出でき、実用的な検出素子として利用できることを示した。以上の結果から、確立した技術が一般臭の検出にも適用でき、実用的な匂い物質を含む様々な匂い物質を高感度かつ選択的に検出する検出素子の開発が可能であることを示した。

匂いセンサの構築には、異なる匂い選択性を示す検出素子をアレイ化し、複数の素子からの信号を取得する技術を確立する必要がある。そこで、微細加工技術、および細胞パターンニング技術を利用して、細胞系統のアレイ化技術の確立を試みた。微細加工技術では、ポリジメチルシロキサン（PDMS）およびガラス基板から構成される、2種類の細胞系統を並列配置できるマイクロ流路チップを開発した。本流路チップに異なる嗅覚受容体を発現させ、異なる匂い物質に応答する2種類の細胞系統を並列配置することで、2種類の匂い物質を蛍光パターンとして識別できる匂いセンサの開発に成功した。細胞パターンニング技術では、細胞接着分子として **Biocompatible anchor for membrane (BAM)** を用いて、ガラス平面上に4種類の異なる Sf21 細胞系統をアレイ化する技術を確立した。本技術を利用し異なる匂い選択性を示す4種類の細胞系統をアレイ化することで、4種類の匂い物質を蛍光パターンとして識別できるセンサの構築技術へと発展させた。

以上の研究を通して、昆虫の嗅覚受容体を利用することで高感度性や高選択性を兼ね備えた高性能な匂いセンサが開発できることを実証し、本研究により、既存の匂いセンサの性能を超える性能をもち、これまでにない革新的技術に基づく匂いセンサの開発を初めて示すことに成功した。