Chemical code system using bio-sniffer with enzyme immobilized membrane

バイオ・スニファを用いた化学情報システムに関する研究

Teruyoshi GOTO and Hirokazu AMAGAI

Graduate School of Engineering, Tokai University, 1117 Kitakaname, Hiratsuka, Kanagawa 259-1292, Japan

TEL: x81-463-58-1211(EX. 4438) FAX: x81-463-58-9461

Tomohiro SHINODA and Yoshitake NISHI

Department of Metallurgical Engineering, 1117 Kitakaname, Hiratsuka, Kanagawa 259-1292, Japan

TEL: x81-463-58-1211(EX. 3413) FAX: x81-463-50-2208 e-mail: 0aam1217@keyaki.cc.u-tokai.ac.jp

Kimio OTSUKA and Kohji MITSUBAYASHI

Institute of Biomaterials and Bioengineering, Tokyo Medical and Dental University,

2-3-10 Kanda-surugadai, Chiyoda-ku, Tokyo 101-0062, Japan

TEL: x81-3-5280-8091 FAX: x81-3-5280-8094 e-mail: m.bdi@tmd.ac.jp

(Received 24, January 2005 Accepted 25, April 2005)

A novel chemical code system was constructed with gas-phase biosensors (bio-sniffer) and a commercial inkjet printer. Two volatile chemicals, hydrogen peroxide (H_2O_2) and ethanol, were used for chemical code and printed by the inkjet printer. Each chemicals could be recognized by bio-sniffer fabricated with catalase and alcohol oxidase (AOD), respectively. Each bio-sniffer showed high selectivity due to the substrate specificity of the enzyme. Thus the combination of the sniffers was able to discriminate the inkjet printed 2-bit chemical code (4 patterns).

Keywords : bio-sniffer, chemical code, catalase, alcohol oxidase, hydrogen peroxide, ethanol, enzyme, inkjet printer.

I. INTRODUCTION

近年、偽造防止や識別システムとして対象の物理的特徴を検出する認証システムが多数開発されている。しかし、高価で操作が煩雑、識別精度が十分でないなどの問題があり、簡便で安価な認証システムが求められている。一方、識別対象として揮発性化学物質を利用したものは報告されていない。我々は、これまでに生体材料である酵素の基質特異性に着目し、匂い成分を選択的かつ連続的に計測可能な各種ガスセンサ(バイオ・スニファ)を多数開発してきた¹。そこで本研究では、複数のバイオ・スニファを用い、揮発性化学物質を情報の担体とした情報コードの認識を試みた。さらに市販のインクジェットプリンタを用いて化学物質を印刷し、バイオ・スニファによって識別する化学情報コードシステムを開発した。

II. EXPERIMENTAL

実験では化学情報コードの認識要素として、①過酸化水素および②エタノールを用いた。これらの物質は各々①カタラーゼ(EC1.11.1.6)、②アルコールオキシダーゼ(AOD; EC 1.1.3.13)によって特異的に認識され、下式のような反応が進行するため、それに伴う酸素量の変化を計測することにより、上記物質が計測可能である。

センサの作製ではまず、上記の各酵素と光架橋性樹脂(PVA-SbQ)を混合したペーストを、厚さ15 μm の透析膜上に塗布、含浸させた。その後、冷暗所にて1時間乾燥させ、30分間蛍光灯を照射し、光架橋法により酵素を包括固定化し、酵素固定化膜を作製した。次に、作製した酵素固

定化膜を酸素電極の感応部にO-リングにて取り付け、各酵素反応により変化する溶存酸素濃度を酸素電極にて検出し、ポテンシオスタット、A/D変換器を介してコンピュータにて計測した。

作製したバイオセンサの特性評価として、まず基質溶液に対する応答を計測した。計測では、各酵素の最適pHに調整したリン酸緩衝液(①pH7.0, 50mM、②pH8.0, 50mM)を満たしたビーカーにバイオセンサを浸漬し、基質溶液を滴下して上述の反応に伴って生じた酸素量の変化を調べた。次に本バイオセンサを気相計測に適応し、バイオ・スニファとしての特性を評価した。実験では、Fig.1のようにスニファを各濃度のガスが充填した容器内に設置し、基質ガスを負荷したときの応答を計測した。

Fig. 1. Procedure for evaluation of the bio-sniffers.

さらにこれらのスニファを用いて化学情報コードシステムを構築するため、認識要素としての化学物質を市販のインクジェットプリンタを用いて紙片に付着させ、その有無による情報コードを4パターン(2bit)作製した。また、Fig. 2 に示した手順により、作製した化学コードの識別を本バイオ・スニファ群にて試みた。

Fig. 2. Procedure for chemical code detecting

III. RESULTS AND DISCUSSION

Fig. 3 に示すように、作製したバイオセンサにより、それぞれの基質溶液の滴下に伴う溶存酸素濃度の変化が計測され、①過酸化水素溶液を22-5844 μ M、②エタノール溶液を0.039-12.46mMの範囲で定量可能であった。また、バイオ・スニファの各基質ガスに対する特性をそれぞれ評価した結果、①過酸化水素ガスを1.0-10.8ppm、②エタノールガスを1.0-30ppmの範囲でそれぞれ定量することが可能であった。なお、他の実験により、各スニファは酵素の基質特異性に基づく、高いガス選択性を示した。

Fig. 3. Calibration curves of bio-sniffers for H_2O_2 and ethanol gas

さらに、2種類の化学物質を用いた情報コードに対する識別実験を行った結果、Fig. 4で示すとおり、クロストークすることなく、化学情報コード物質の有無に応じた選択的なセンサ応答が確認され、化学情報コードを4パターン(2bit)認識・伝達することが可能であった。

Fig. 4. Chemical code recognition by the bio-sniffers

IV. CONCLUSION

現在、「バーコード」や「ICタグ」など物理情報による識別方法は多数存在するが、本研究では、揮発性化学物質をコーディングに用い、バイオ・スニファを用いて識別するという新しい識別方法を提案した。この方法は酵素の基質特異性を利用しているため、クロストークのないガス識別が可能であった。今後はセンサを繰り返し使用した場合の再現性などを確認する必要がある。本研究で提案した化学コーディングシステムは、化学物質を追加することにより多ビット化も可能である。また、適用する化学物質は揮発性であるため、情報コードを任意に消去することもできる。さらに、高選択性を有するバイオ・スニファを用いる事により、人では識別が困難な体臭成分を認識要素として用いた、バイオメトリクスへの発展も考えられる。

REFERENCE

- ¹ K. Mitsubayashi, K. Yokayama, T. Takeuchi, I. Karube, Anal. Chem., 66, 3297(1994).