

バイオ蛍光法を用いた探嗅カメラによる 呼気中エタノールガスの可視化計測

Bio-fluorometric sniff-cam for real-time imaging of exhaled ethanol after drinking

医科歯科大院¹, 医科歯科大生材研²

○早川 悠暉¹, ナセデン ムニラ¹, 飯谷 健太¹, 佐藤 敏征¹,
當麻 浩司², 荒川 貴博², 三林 浩二^{1,2}

Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University¹,
Institute of Biomaterials and Bioengineering, Tokyo Medical and Dental University²

○Yuuki Hayakawa¹, Munire Naisierding¹, Kenta Iitani¹, Toshiyuki Sato¹,
Koji Toma², Takahiro Arakawa², Kohji Mitsubayashi^{1,2}

Email: m.bdi@tmd.ac.jp

【はじめに】

呼吸・皮膚ガスなどの生体ガス中には、代謝や疾患に基づく揮発性の化学物質が含まれており、これら成分を計測することで代謝機能評価および疾患スクリーニングが可能と期待される。さらに対象ガス成分を可視化することにより、ガスの放出動態や部位の特定が可能になる。本研究では、酵素反応により生成する補酵素の自家蛍光を検出し、エタノールガスの時空間的な変化を動画像として捉える可視化システム(探嗅カメラ)を構築し、飲酒後の呼気中エタノールガスの可視化計測へ適用した。

【実験方法】

探嗅カメラは、アルコール脱水素酵素(ADH) を固定化した酵素メッシュにおいて、エタノールガス負荷時に生成される還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド(NADH) の自家蛍光(ex. 340 nm, fl. 490 nm) を検出し、エタノールガスを蛍光可視化する (Fig. a)。本システムでは、酵素メッシュを挟んで光学同軸上に「高感度 CCD」と「励起光源(UV-LED シート)」を配置し、不要な光を除去するため UV-LED 側と CCD 側にバンドパスフィルター($\lambda = 340 \pm 42.5$ nm, $\lambda = 490 \pm 10$ nm) を使用した(Fig. b)。酵素メッシュは、メッシュ担体に ADH をグルタルアルデヒド (GA) にて架橋することで作製した。実験では、酵素メッシュを NAD⁺溶液にて湿潤させ、暗箱内に設置し、標準エタノールガスを負荷し、ガス負荷により生成された NADH を UV-LED シートにて励起し、NADH の自家蛍光を撮像した。次に、飲酒後の呼吸について、呼吸流量制御装置を介して直接、酵素メッシュに負荷し、呼気中エタノールガスの蛍光可視化及び濃度計測を行った。

【結果および考察】

標準ガス発生装置より標準エタノールガスを酵素メッシュに負荷したところ、負荷点を中心とするガス濃度に応じた蛍光分布が観察され、エタノールガスを動画像として可視化することができた。この結果をもとに画像解析にて蛍光強度を算出したところ、飲酒運転時の呼気中濃度(78 ppm)を含む、0.5 – 150 ppm の範囲でエタノールガスの定量が可能であった。なお呼気中の他の化学成分を用いて、ガス種に対する選択性を調べたところ、いずれも蛍光は観察されず、エタノールガスに対する高い選択性が確認された。その後、呼吸流量制御装置を介して飲酒後の呼吸を直接負荷したところ、呼気中エタノールによる蛍光の経時変化が撮像され、エタノール濃度は 144 ppm(飲酒後 60 分)と算出された。以上、エタノールガスを可視化計測する探嗅カメラを構築し、生体ガス計測における有用性が示された。

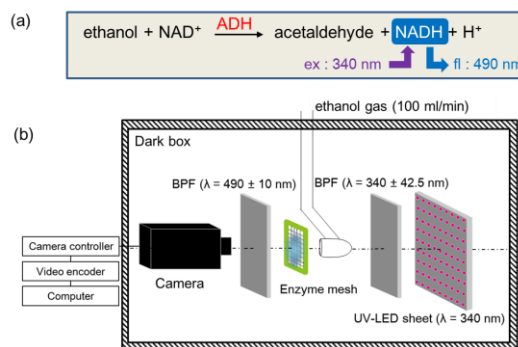


Fig. (a) Principle of NADH-based fluorometry of ethanol and (b) sniff-cam with enzyme mesh for gaseous ethanol.