

文部科学大臣賞

昆虫テクノロジーと工学の融合が拓くりビングデバイス

－昆虫嗅覚受容体発現細胞と FET を融合したバイオハイブリッド匂いセンサー－

東京大学大学院 工学系研究科 先端学際工学専攻
博士課程 3 年

照月 大悟

1. 緒 言

近年、バイオテクノロジーを用いた地球規模の問題解決と産業振興を目指す「バイオエコノミー」のビジョンや、自然界の生物が持たない人工的な遺伝子導入や生産性向上を目指した設計を行う「合成バイオ」を基幹技術とした戦略が欧米を中心に発表され[1, 2]、大きな産業的インパクトを生み出すことが期待されている。日本では、スマートセルインダストリーと呼ばれる、優れた微生物・培養細胞・昆虫などを用いた新しいものづくり技術への取り組みが進展している[3]。この潮流において、生物機能を直接利用することでこれまで解決できなかった課題に対応することが可能となってきた。バイオテクノロジーの中でも、昆虫の機能利用に着目した「昆虫テクノロジー」に関する今後10年間の技術や市場のビジョンを示した、昆虫テクノロジー・ロードマップが提案されている[4]。ロードマップの中では、昆虫テクノロジーに期待される技術の1つとして、匂い情報の高感度・高選択・リアルタイムなセンシング技術が挙げられている。所望の匂い物質を検出する技術へのニーズは多岐にわたり、幅広い産業応用が期待されている。例えば、疾病に関わる匂い物質やセキュリティ分野における危険物質の検出、食品や飲料水に含まれるカビ臭の検出などがある。しかし、匂い検出の幅広いニーズがある一方で、それに答える匂いセンシング技術の開発には検討すべき課題が多い。例えば、水晶振動子や金属酸化物半導体電界効果トランジスタなどの工学技術に基づく匂いセンサの開発が進められ、商品化されたものもある。しかし、センサの検出感度や選択性、検出可能な匂い物質の種類など改善すべき点が多く残されている[5]。これらの課題を解決するため、本研究では昆虫の優れた嗅覚機能と工学技術を融合した、新しい検出原理に基づくバイオハイブリッド匂いセンサの開発に取り組んだ。

表1. 昆虫の種類と反応する匂い物質の例。[6]を参考に修正して作成。

昆虫種 (学名)	反応する匂い物質の例	参考文献
ハマダラカ (<i>Anopheles gambiae</i>)	ヒトの汗, 糞臭 等 インドール、2-メチルフェノール、 4-メチルフェノール	Hallem et al., 2004 Carey et al., 2010
キイロショウジョウバエ (<i>Drosophila melanogaster</i>)	腐敗臭, 爆発物, 麻薬 等 ジオスミン、アンモニア、アミン、 シクロヘキサノン、無水酢酸	Hallem et al., 2006 Marshall et al., 2010 Stensmyr et al., 2012
セイヨウミツバチ (<i>Apis mellifera</i>)	爆発物 等 2,4-ジニトロトルエン (50-80 ppt)	Bromenshenk et al., 2003
タバコスズメガ (<i>Manduca sexta</i>)	爆発物 等 シクロヘキサノン、2-ヘキサノン	Daly et al., 2007
モンシロミ (<i>Nicrophorus vespilloides</i>)	腐敗臭 等 メタンチオール、メチルチオアセテート、 ジメチルスルフィド、 ジメチルトリスルフィド (癌の匂い)	Kalinová et al., 2009
トコジラミ (<i>Cimex lectularius</i>)	腐敗臭, 糞臭 等 アンモニア、インドール、 ジメチルトリスルフィド (癌の匂い)	Harraca et al., 2010

2. 昆虫の機能利用

2.1 昆虫嗅覚受容体

工学技術による匂いセンサの課題解決に向け、昆虫の嗅覚機能を利用する研究が進展している。昆虫は、環境中に存在する微量な匂い物質を高感度かつ選択的に、そしてリアルタイムで検出することができる[6]。例えば、蚊やハエは人の汗や糞臭、腐敗臭などを検出し、ミツバチは学習によって爆発物に含まれる2,4-ジニトロトルエンに反応することができる。昆虫が持つ高性能な嗅覚の例について表1に示す。これら昆虫の優れた嗅覚機能は、触角などの嗅覚器官に備える嗅覚受容細胞に発現した嗅覚受容体 (Olfactory receptor: OR) と呼ばれる膜タンパク質によって担われている。嗅覚受容体は匂い物質と選択的に結合し、匂い情報は嗅覚受容細胞内で電気信号に変換されて脳へと伝達される。昆虫の嗅覚受容体は、Gタンパク質共役型受容体である哺乳類の嗅覚受容体とは異なり、共受容体 (Olfactory receptor co-receptor: Orco) と複合体を形成してリガンド (匂い物質) 作動性のイオンチャネル型受容体として機能する[7]。この特徴として、受容体そのものが匂い受容から細胞内への陽イオン (Na^+ , Ca^{2+} など) の流入を担っており、受容体が匂い物質を受容してから数10ミリ秒もの速さで陽イオンの流入が発生する。昆虫嗅覚受容体の応答メカニズムを図1に示す。また、昆虫嗅覚受容体は多様な昆虫種から100種類以上が同定されており[8]、極めて豊富な匂い物質を検出対象にできる。よって、昆虫嗅覚受容体を利用することで、新しい匂いセンサ素子の構築が可能となる。

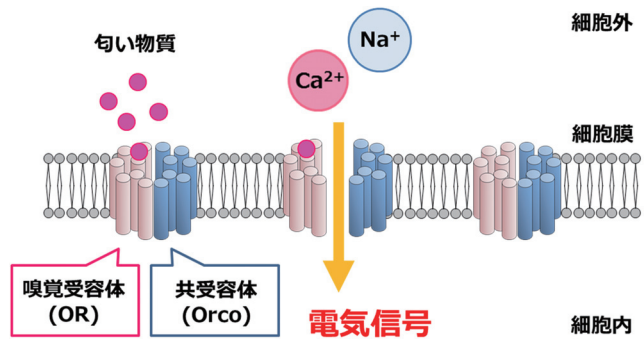


図1. 昆虫嗅覚受容体の構造と情報伝達の仕組み。

2.2 センサ細胞

昆虫嗅覚受容体の特徴に着目し、その機能を昆虫由来の培養細胞に再構築することで、匂い物質を検出可能なセンサ素子として利用する研究が展開されている[9]。ヨトウガ (*Spodoptera frugiperda*) 由来の培養細胞である Sf21 細胞は、哺乳類の培養細胞とは異なり、 CO_2 の供給が不要で、18–29℃ の幅広い温度条件下で培養が可能である。また、光学イメージングによる細胞応答測定ができる。先行研究では、昆虫嗅覚受容体を発現させた Sf21 細胞に蛍光インジケータであるカルシウム感受性蛍光タンパク質 (GCaMP3, GCaMP6s) を導入し、蛍光顕微鏡を用いたカルシウムイメージングによって嗅覚受容体の応答を蛍光強度変化量として可視化・識別することに成功している[9, 10]。この光る細胞は「センサ細胞」と呼称されている(図2)。センサ細胞の種類として、カイコガの性フェロモンである Bombykol (ボンビコール、以下 BOL と表記) の受容体である BmOR1 を発現した BmOR1 発現細胞と、Bombykal (ボンビカル、以下 BAL と表記) の受容体である BmOR3 を発現した BmOR3 発現細胞が作出されている[9]。また、カビ臭やキノコ臭に含まれる 1-octen-3-ol (1-オクテン-3-オール) に強く応答するキイロショウジョウバエの嗅覚受容体である Or13a を発現した Or13a 発現細胞と、カビ臭であるジェオスミンに強く応答する Or56a を発現した

Or56a 発現細胞も作出されている [10]。

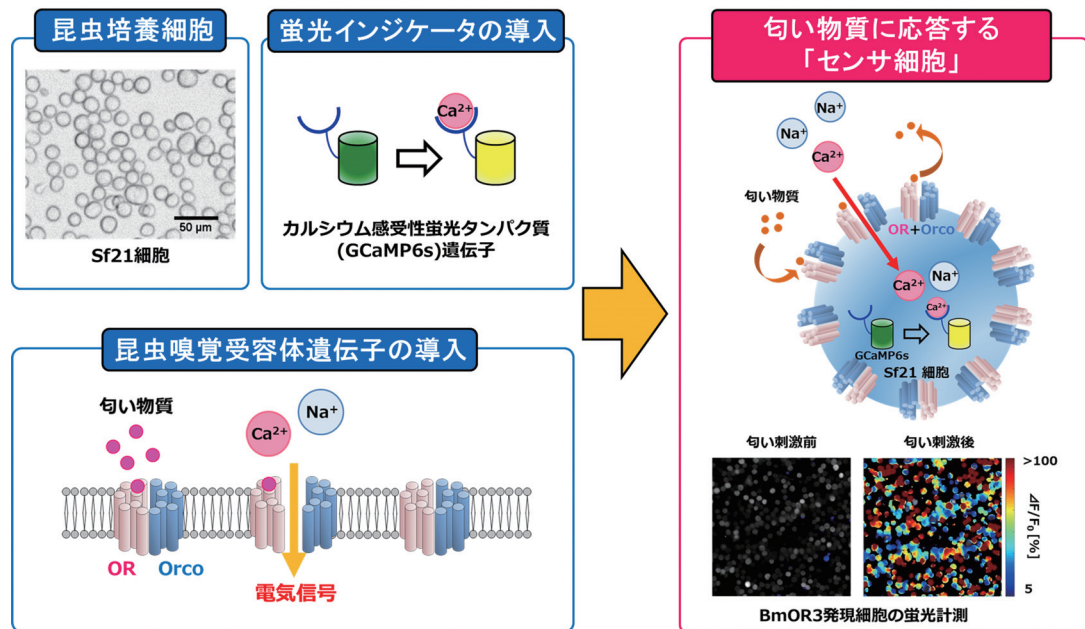


図2. 昆虫嗅覚受容体と昆虫培養細胞に基づくセンサ細胞の構築。

2.3 本研究の着想に至った経緯・独創性

現在のセンサ細胞の応答検出はカルシウムイメージングによって行われており、陽イオンの流入を一度蛍光に変換する間接的な検出となる。また、カルシウムイメージングの検出対象は Ca^{2+} のみであることから、昆虫嗅覚受容体が本来持つ高感受性やリアルタイム性を十分に活用していない。加えて、大型の蛍光顕微鏡が必要であり、センサの実用化の際に小型化が課題となる。これらの課題を解決するためには、大型の検出系を必要とせず、昆虫嗅覚受容体の応答を効率的に検出するインターフェースの開発が極めて重要である。昆虫嗅覚受容体を介して流入する陽イオンは電気的变化を発生するため、これを直接信号として検出できれば、蛍光インジケータの性能に依存せずに蛍光計測を超える感度を得ることができる。また、電気的な検出系の構築は半導体集積回路技術に基づくセンサのアレイ化につながるため、より小型で高機能な匂いセンサの実現に有用である。先行研究では、電界効果トランジスタ (Field effect transistor: FET) を用いて細胞のアクションポテンシャルを検出した事例が報告されている [11]。このような背景のもと、昆虫嗅覚受容体を介して流入する陽イオンはセンサ細胞内の電荷を変化させ、これを FET デバイスによって電気信号として検出可能であるとの着想に至った。本研究で構築する匂いセンサは、センサ細胞の匂い応答を光学イメージングに依らずに直接検出可能であり、昆虫嗅覚受容体を用いるため匂いの選択性が極めて高い点に独創性がある。

3. 電気信号検出インターフェースの設計

3.1 デバイスの設計方針

本研究では、以下の設計方針に沿ってデバイスを設計した。

- (1) センサ細胞の微小な匂い応答を電氣的に検出できること。
- (2) センサ細胞を検出部に播種しやすく、細胞-デバイス間の接着界面状態を検討できる構造であること。

まず(1)について説明する。先行研究のFETを用いた細胞応答の測定では、細胞のアクションポテンシャルを主な検出対象としている [11, 12]。一方センサ細胞では、神経軸索で見られるアクションポテンシャルは発生せず、昆虫嗅覚受容体に由来する微小な信号であることが想定された。FET を利用したバイオセンサでは、電流検出型の方が感度に優れると言われている [13]。そこで本研究では、FET のドレイン電流の変化を直接検出するデバイスを設計した。次に(2)について説明する。生体細胞からの電気信号を電気デバイスによって検出するシステムでは、細胞-デバイス間の適切な接着界面を作り出すことが効率的な信号検出に重要な役割を果たす。しかし、Sf21細胞と電気デバイスの接着界面の詳細はこれまで検討されていなかった。接着界面の検討には高密度な電極アレイは不要であり、細胞が接着した電極と検出した応答が対応できる単一の FET で、かつ自然接着によっても確実に細胞が播種できる電極サイズが望ましい。よって、最も単純な単一の FET と、細胞が播種しやすい $100 \times 100 \mu\text{m}^2$ の電極を設計した。広い電極は複数のセンサ細胞からの応答検出が可能であり、信号強度を向上させることも期待できる。

3.2 デバイスの設計

本研究では、CMOS ファウンドリサービスのデザインルール $0.6 \mu\text{m}$ に基づき、N チャネル型 FET を設計した。このとき、FET のゲート幅と長さはそれぞれ $5 \mu\text{m}$ と $2 \mu\text{m}$ とした。3.1 で挙げた設計条件を満たすデバイスの設計において、センサ細胞からの応答検出を担う

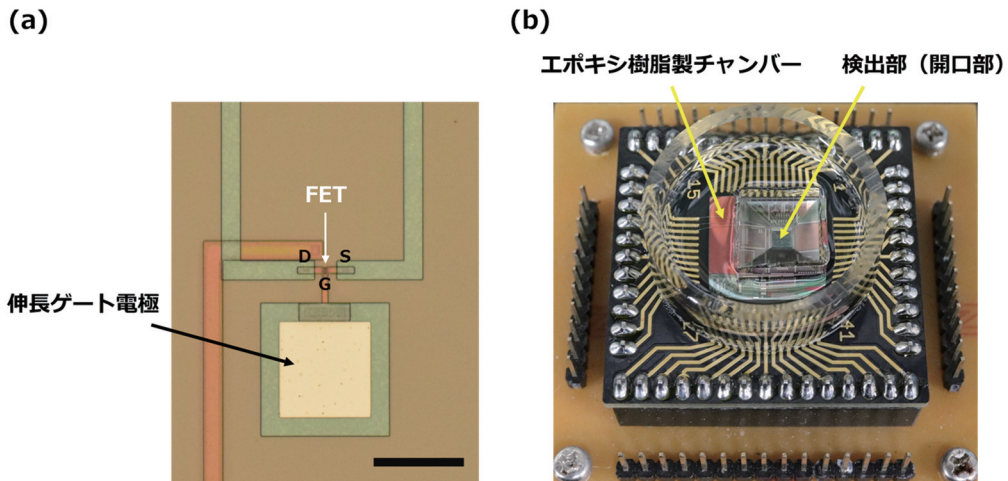


図3. (a) 設計した伸長ゲート型 FET の写真。D, drain; S, source; G, gate. Scale bar: $100 \mu\text{m}$. (b) エポキシ樹脂製のチャンバーを含むデバイス全体写真。

電極の設計は重要な位置を占める。本研究では、同一チップ上でFETのゲートと電極部を配線で接続した伸長ゲート型FETを設計に採用した。電極サイズは $100 \times 100 \mu\text{m}^2$ である(図3(a))。伸長ゲート電極はアルミニウムで構成されているが、本研究ではその表面に Al_2O_3 (アルミナ)を40–80nmの厚さでスパッタリングすることで、電極表面の分極を低減して表面の安定化を図った。センサ細胞の応答測定時には、細胞を含む懸濁液を電極上に設置する必要があると同時に、FETチップとPCB基板を接続するボンディング部を細胞懸濁液から保護する必要がある。そこで、検出部のみを開口してボンディング部を包埋するエポキシ樹脂製のチャンバーを構築した(図3(b))。チャンバーを構築することで、検出部以外を保護することはもちろん、ポンプと接続して灌流を行いながら連続した匂い刺激が可能となる。

4. FET デバイスを用いた匂い応答検出

4.1 実験条件

本研究では、BALを検出可能なBmOR3発現細胞と、1-octen-3-olを検出可能なOr13a発現細胞の匂い応答の電氣的検出を実施した。匂い物質は難水溶性であるため、有機溶媒であるジメチルスルホキシド(Dimethyl sulfoxide: DMSO)に溶解させた匂い刺激液を作成した。BmOR3発現細胞を刺激する匂い物質にはBALとBOLを使用し、Or13a発現細胞に対してはBALと1-octen-3-olを使用した。ペリスタルティックポンプを用いて1%以下のDMSOを含有するアッセイバッファ溶液を流量約 $140 \mu\text{l}/\text{min}$ で灌流した。各匂い物質の刺激時間は約120秒である。液中でFETを駆動させるため、参照電極を用いてチャンバー内の溶液を通してゲート電圧を印加し、ソースメジャーユニットを用いて応答検出を行った。FETデバイスを用いた匂い応答検出系の模式図を図4に示す。

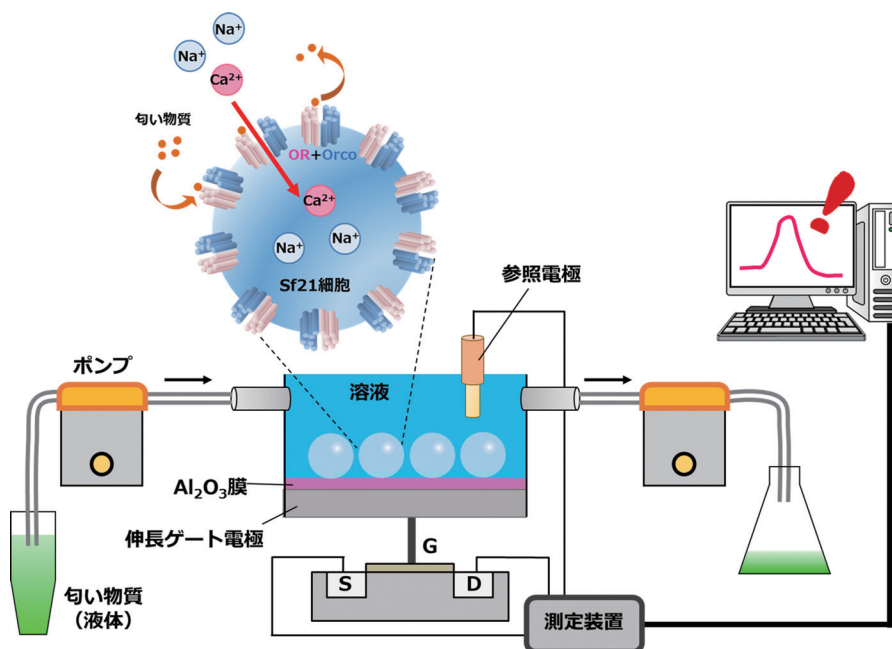


図4. FET デバイスを用いた匂い応答検出系の模式図。

4.2 実験結果

まず、BmOR3発現細胞に対して、アッセイバッファ溶液 (DMSO<1%, コントロール) $\Rightarrow$ 30 μ M BOL $\Rightarrow$ 30 μ M BAL の順番に匂い刺激を実施した。結果として、30 μ M BOL の刺激ではドレイン電流の変化は検出されず、30 μ M BAL の刺激によってドレイン電流の上昇を検出した(図5(a))。次に、Or13a 発現細胞に対して、アッセイバッファ溶液(DMSO<1%, コントロール) $\Rightarrow$ 30 μ M BAL $\Rightarrow$ 30 μ M 1-octen-3-ol の順番に匂い刺激を実施した。その結果、先ほどは応答が検出された BAL では変化がなく、1-octen-3-ol による刺激によってドレイン電流の上昇を検出した(図5(b))。また、BmOR3発現細胞の BOL と BAL に対する選択性について検討した。結果として、BmOR3発現細胞に対する BAL の刺激では、BOL の刺激と比較してドレイン電流の上昇値に有意差があることが示された(図6)。この結果は、過去の蛍光計測で示された昆虫嗅覚受容体の選択性と一致しており、本デバイスは BOL と BAL の極めて類似した構造とわずかな分子量の差を電気信号により識別した。よって、センサ細胞の匂い応答を電氣的に検出可能な検出インターフェースの構築と応答検出に成功した[14]。

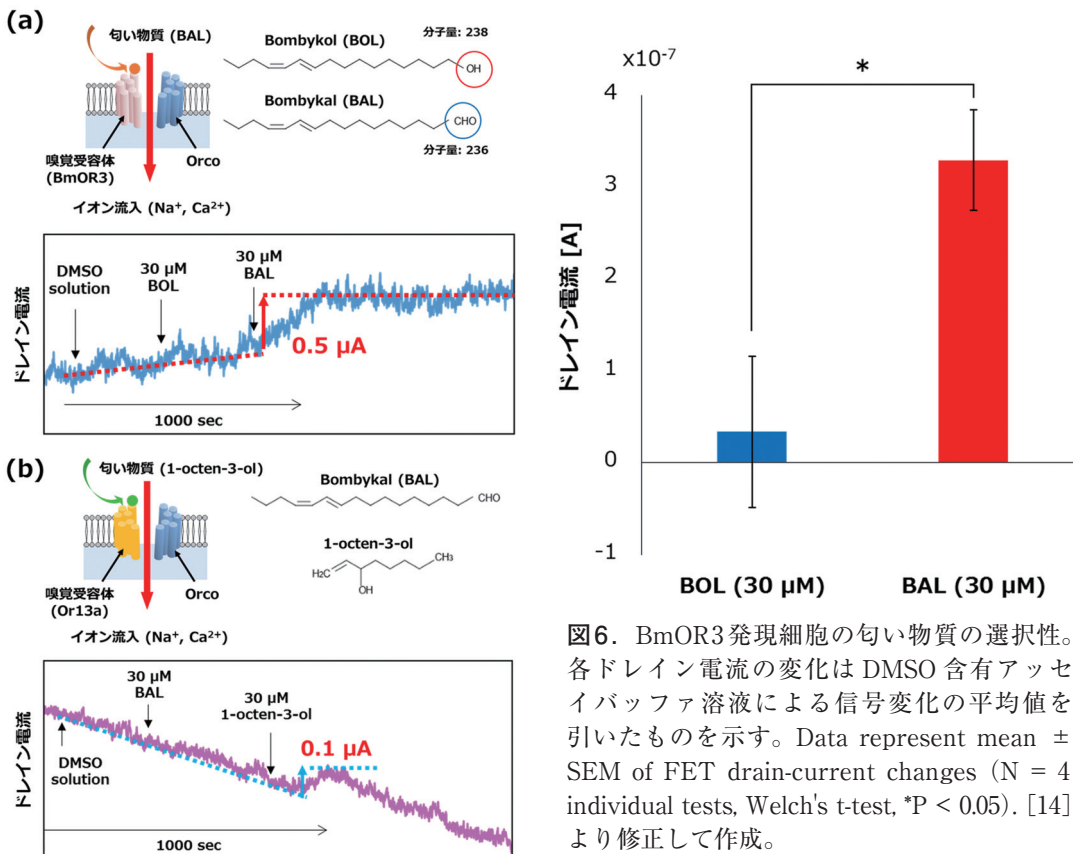


図5. 設計したFETデバイスによる (a) BmOR3発現細胞と、(b) Or13a 発現細胞の応答検出結果。[14]より修正して作成。

図6. BmOR3発現細胞の匂い物質の選択性。各ドレイン電流の変化はDMSO含有アッセイバッファ溶液による信号変化の平均値を引いたものを示す。Data represent mean $\pm$ SEM of FET drain-current changes (N = 4 individual tests, Welch's t-test, *P < 0.05). [14]より修正して作成。

4.3 Odor-Sensitive Field Effect Transistor(OSFET, オスフェット)

以上の結果を踏まえ、本研究では新しいバイオハイブリッド匂いセンサとして Odor-Sensitive Field Effect Transistor(OSFET, オスフェット)という概念を提案する。OSFET とは、センサ細胞と FET を電気的に結合した検出部を持ち、この検出部で細胞内の電荷の変化を検出して、FET により電流に置換するデバイスである。OSFET の概念図を図7に示す。OSFET の特徴として、センサ細胞の匂い応答を FET のドレイン電流変化として高感度かつ選択的に検出可能なことが挙げられる。また、電極に播種したセンサ細胞は市販の洗剤によって容易に除去することができ、高い再使用性を有する。OSFET は、昆虫の優れた嗅覚機能と工学技術 (FET デバイス) を融合したリビングデバイスであると言える。

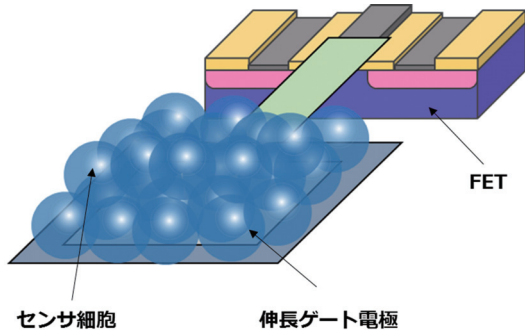


図7. Odor-Sensitive Field Effect Transistor (OSFET, オスフェット)の概念図。

5. 電極材料に対するセンサ細胞の適合性の検討

電気デバイスを用いた細胞応答測定では、細胞が接着する電極表面の生体適合性が安定した測定のために重要となる。先行研究では、金 (Au)、白金 (Pt)、白金黒 (Pt-Black) などの生体適合性材料で電極の形成や表面コーティングを施している [15-17]。本研究では、デバイスの設計信頼性の向上とコスト低減の両立のため、商用の CMOS ファウンドリによって設計・試作した。しかし、CMOS ファウンドリ由来の電極材料は、細胞毒性が報告されるアルミニウムに限定される [16, 18]。よって、通常はポストプロセスによって生体適合性処理を施すが、処理装置の導入等による時間的・費用的コストが発生する。CMOS ファウンドリ由来のデバイスを直接適用できればコスト的に有利であるが、そのためにはアルミニウムベースの電極材料上で細胞活性を評価する必要がある。本研究では、電極材料をスパッタリングした $5 \times 5 \text{ mm}^2$ の Si (シリコン) チップを用意し、その上に細胞を播種して蛍光計測を行うことで細胞活性を評価した。Al₂O₃ とアルミニウム、Si の3種のチップを作成し、直径 12mm のカバーガラス上に設置して BmOR3 発現細胞を播種した。また、先行研究と同様にカバーガラス上に播種した細胞の蛍光計測を実施してコントロールとした。各基板上での BmOR3 発現細胞の典型的な濃度依存的応答を図8 (a) に示す。また、10 μM BAL による刺激前後の疑似カラー画像を図8 (b) に示す。1, 3, 10 μM の濃度の BAL によって刺激を行った結果、全ての基板上で過去の細胞応答に対応する濃度依存的応答が検出された。また、疑似カラー画像より、センサ細胞は観察視野内全体で蛍光強度変化を示し、異常な応答を起こさないことを確認した [19]。これらの結果は、センサ細胞がアルミニウムベースの電極材料上でもセンサ素子として機能することを示している。Sf21 細胞がアルミニウムベースの電極材料に接着した状態でセンサ素子として機能することは、他種の細胞には備わっていない Sf21 細胞独自の利点である。

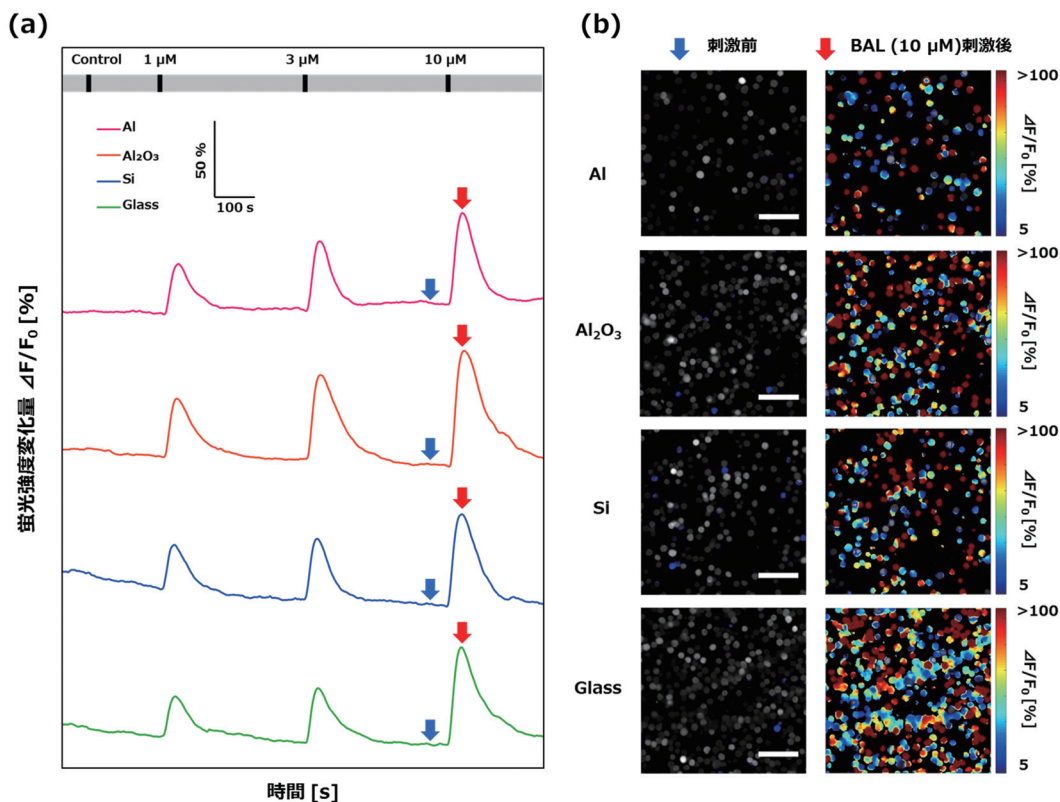


図8. (a) 各基板上での BmOR3 発現細胞の典型的な濃度依存的応答。(a) の上部にある長い灰色のバーは0.1% DMSO 含有のアッセイバッファ溶液の灌流を示し、短い黒いバーは、各濃度の匂い物質がチャンバー内を流れる15秒間を示す。(b) 各基板上の匂い刺激前と10 μM BAL による刺激後に5% 以上の蛍光上昇を示した細胞の疑似カラー画像。青矢印は匂い刺激前の状態を示し、赤矢印は蛍光強度変化のピークを示す。(a) の青矢印と赤矢印は、(b) の疑似カラー画像の匂い刺激前後に対応する。All scale bars: 100 μm . [19] より修正して作成。

6. 電極上のセンサ細胞の観察と細胞-デバイス接着界面の分析

電極上のセンサ細胞の接着状態を把握するため、走査型電子顕微鏡 (Scanning electron microscope: SEM) によって細胞の鳥瞰的観察を実施した。BmOR3 発現細胞を、 Al_2O_3 をスパッタリングした伸長ゲート電極と、アルミニウムのみの電極にそれぞれに播種して観察を行った (図9)。図9より、BmOR3 発現細胞は、細胞毒性の懸念されるアルミニウムベース電極上に形状変化などを起こさずに密着することが確認された。また、接着状態の Sf21 細胞を初めて詳細に観察することに成功した [19]。

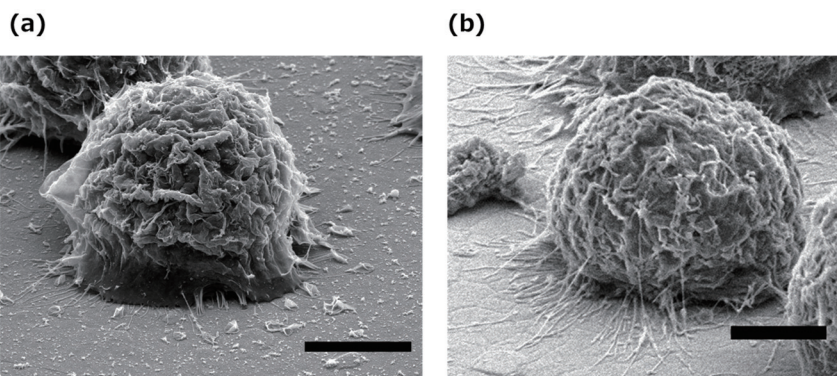


図9. (a) Al_2O_3 伸長ゲート電極上と、(b) アルミニウム伸長ゲート電極上の BmOR3 発現細胞の鳥瞰 SEM 写真。All scale bars: 5 μm . [19] より修正して作成。

次に、センサ細胞-デバイス接着界面の観察結果について述べる。本研究では、クロスセクションポリリッシャと呼ばれる装置を用いて高精度な断面試料を作成し、SEM 観察を実施した。BmOR3 発現細胞と Al_2O_3 伸長ゲート電極の全体断面 SEM 写真と、接着部の拡大 SEM 写真を図10に示す。図10より、細胞膜と Al_2O_3 膜、その境界の微細構造が明瞭に維持されていることを確認した。電気デバイスによる計測では、細胞-デバイス間の接着距離は最も重要なパラメータであり [20]、距離が短いほど信号検出に有利である [21]。しかし、通常細胞は focal adhesion (接着斑) によって基板と接着するため [22]、細

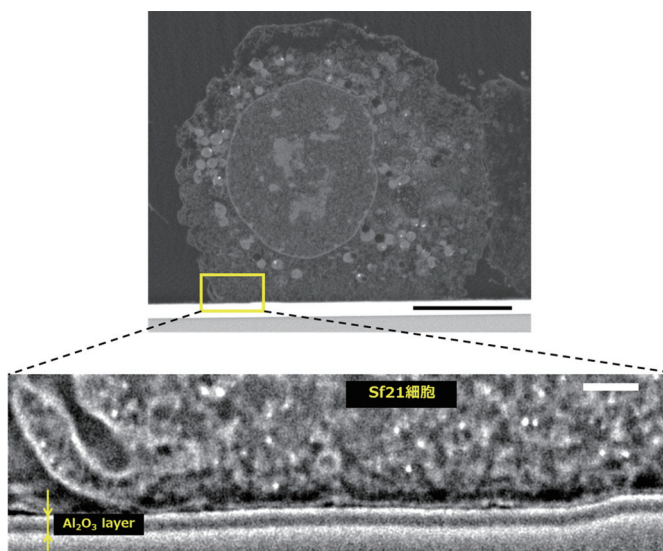


図10. クロスセクションポリリッシャによって加工した Al_2O_3 膜上の BmOR3 発現細胞の全体断面 SEM 写真と接着部の拡大 SEM 写真。Scale bars: 5 μm , 200 nm. [19] より修正して作成。

胞とデバイス間には10–100nm 程度の cleft(クレフト) と呼ばれる隙間が存在する [20]。本研究で BmOR3 発現細胞と Al_2O_3 膜の cleft を画像分析によって測定した結果、同じ電極上に接着した2つの細胞の cleft 距離の平均値は $10.3 \pm 0.5\text{nm}$ であった [19]。この結果は、先行研究で報告された他種の細胞より明確に短い。よって、Sf21 細胞は focal adhesion とは異なるメカニズムで電極上に接着し、電気計測に有利な電極への密着が可能な細胞であることが示唆された。先行研究で観察された細胞–デバイス接着界面の模式図と、本研究の観察結果に基づくセンサ細胞–デバイス接着界面の模式図を図11に示す。

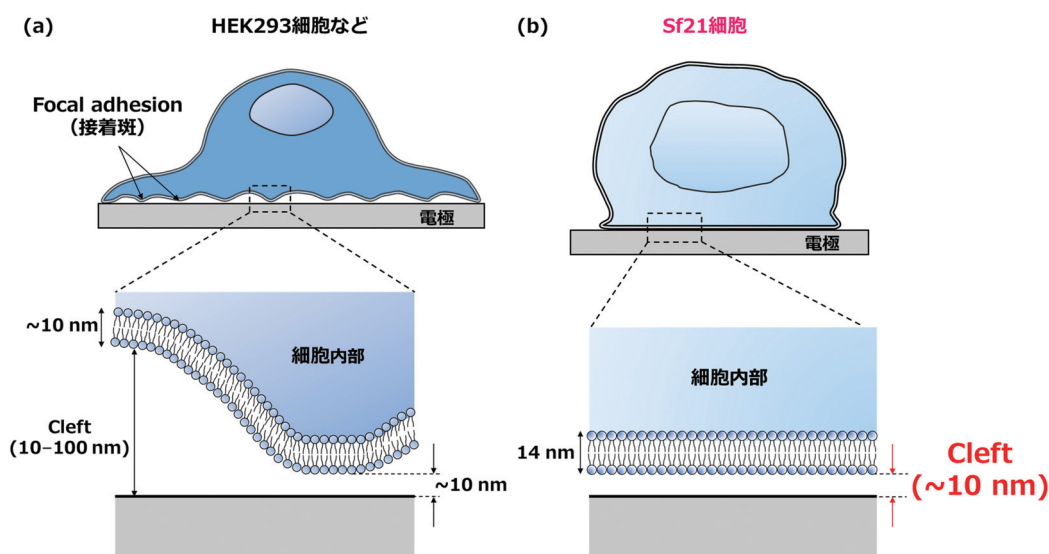


図11. (a) 先行研究で示された細胞–デバイス接着界面の模式図。(b) 本研究の電極上に接着した BmOR3 発現細胞の観察結果に基づいた、センサ細胞–デバイス接着界面の模式図。[19]より修正して作成。

7. 結 論

7.1 まとめ

本研究は、昆虫嗅覚受容体を発現した Sf21 細胞、すなわち「センサ細胞」の匂い応答を、FET デバイスによって電氣的に検出するインターフェースを構築して応答検出を実施し、新しいバイオハイブリッド匂いセンサを提案したものである。伸長ゲート型 FET による応答検出結果は過去の蛍光計測の選択性と一致し、センサ細胞の匂い応答を FET デバイスによって電気信号として検出することに初めて成功した。確立した匂いセンサは OSFET として提案した。また、電極材料上に接着したセンサ細胞の細胞活性を蛍光計測によって評価し、センサ細胞は細胞毒性の報告されるアルミニウム上でもセンサ素子としての機能を失わず、商用の CMOS ファウンドリを直接適用できることを示した。さらに、センサ細胞–デバイス接着界面の断面試験片を作成して画像分析を実施し、その接着状態を明らかにすることに成功した。昆虫嗅覚受容体を発現した Sf21 細胞は、先行研究で報告された他種の細胞より明確に短い距離で電極上に接着することを初めて見出した。この結果は、昆虫嗅覚受容体を

発現した Sf21 細胞は、他種の細胞で報告されている focal adhesion とは異なるメカニズムで電極上に接着し、電気計測に有利な短距離での密着が可能であることを示唆している。

7.2 将来の展望と実用化に向けて

本研究は、センサ細胞の匂い応答の電氣的検出と、細胞-デバイス接着界面の詳細な検討という基礎科学的課題に取り組むと同時に、実用化についても強く志向している。本研究の成果(電気計測)に関して2件の特許出願(国内1件、国際1件)を達成し[23, 24]、企業との共同研究においても特許出願を完了している[25]。本研究では、溶液中に溶解した匂い物質を OSFET によって検出できることを実証してきたが、センサの実用化の際には揮発した匂い物質を検出することが必要となる。この課題の解決に向け、気中の難水溶性有機化合物(気体状の匂い物質)を短時間かつ高効率で溶解する技術についても研究を進めており、特許出願を完了した[26]。センサ細胞の構築については既に特許が成立しており[27]、本研究の成果を含めた基本特許網を構築することで、センサ細胞を利用した匂いセンサの実用化が期待できる。今後は、確立された蛍光計測と、本研究の電気計測、そして気中の匂い物質の溶解技術を統合し、リビングデバイスとしての匂いセンサの実用化やベンチャー設立等を目指して更なる研究開発を進めていく予定である。

謝 辞

本研究の実施にあたり、多くの方々から多大なご支援をいただきました。まず、東京大学先端科学技術研究センター所長/教授の神崎亮平先生に深くお礼申し上げます。指導教員として熱心にご指導いただき、学際的研究分野に挑戦する機会をいただきました。また、同センター助教の光野秀文先生と特任講師の櫻井健志先生からは、生物学に関する様々な知識・実験手法についてご指導いただきました。心より感謝申し上げます。そして、FET デバイスの設計からクリーンルームでのプロセス、計測に渡るまで多くのご指導・ご支援をいただきました。先端科学技術研究センター教授の年吉洋先生、同准教授のティクシェ三田アニエス先生、工学系研究科電気系工学専攻准教授の三田吉郎先生、三田研究室博士課程の岡本有貴氏に心よりお礼申し上げます。本研究は、平成28年度立石科学技術振興財団研究助成(C)のご援助を受け、平成28年度農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業の一環として実施致しました。Sf21細胞のSEM観察については、日本電子株式会社(JEOL)と日立東大ラボよりご支援いただきました。本研究は、東京大学大規模集積システム設計教育研究センターを通しケイデンス株式会社の協力で行われました。

参考文献

- [1] OECD, “The Bioeconomy to 2030: designing a policy agenda.” Internet: <https://www.oecd.org/futures/long-termtechnologicalsocietalchallenges/42837897.pdf>, 2009.
- [2] 日本バイオ産業人会議, “進化を続けるバイオ産業の社会貢献ビジョン～新たな基幹産業の創出と地球規模の課題解決に向けて～.” Internet: [http://www.jba.or.jp/jabex/pdf/2016/JABEX_vision\(160509\).pdf](http://www.jba.or.jp/jabex/pdf/2016/JABEX_vision(160509).pdf), March, 2016.
- [3] 経済産業省商務情報政策局, “スマートセルインダストリー(生物による物質生産)の可

- 能性.” Internet: http://www.meti.go.jp/committee/sankoushin/shojo/bio/pdf/003_08_00.pdf, March, 2016.
- [4] 光野秀文, 櫻井健志, 照月大悟, 安藤規泰, 並木重宏, 加沢知毅, 神崎亮平, “テクノロジー・ロードマップ 2018-2027 <全産業編>.” 第6章 昆虫テクノロジー, 日経 BP 社, 2017.
 - [5] K. Arshak, E. Moore, G.M. Lyons, J. Harris, and S. Clifford, “A review of gas sensors employed in electronic nose applications,” *Sensor Review*, vol. 24, pp. 181–198, 2004.
 - [6] 光野秀文, 櫻井健志, 神崎亮平, “昆虫に学ぶ匂いバイオセンサ.” *昆虫科学読本*, 東海大学出版部, 第18章, pp. 259–277, 2015.
 - [7] K. Sato, M. Pellegrino, T. Nakagawa, T. Nakagawa, L. B. Vosshall, and K. Touhara, “Insect olfactory receptors are heteromeric ligand-gated ion channels,” *Nature*, vol. 452, pp. 1002–1006, 2008.
 - [8] R. Glatz and K. Bailey-Hill, “Mimicking nature’s noses: From receptor deorphaning to olfactory biosensing,” *Progress in Neurobiology*, vol. 93, pp. 270–296, 2011.
 - [9] H. Mitsuno, T. Sakurai, S. Namiki, H. Mitsuhashi, and R. Kanzaki, “Novel cell-based odorant sensor elements based on insect odorant receptors,” *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 65, pp. 287–294, 2015.
 - [10] M. Termatanasombat, H. Mitsuno, N. Misawa, S. Yamahira, T. Sakurai, S. Yamaguchi, T. Nagamune, and R. Kanzaki, “Cell-based odorant sensor array for odor discrimination based on insect odorant receptors,” *Journal of Chemical Ecology*, vol. 42, pp. 716–724, 2016.
 - [11] P. Fromherz, A. Offenhausser, T. Vetter, and J. Weis, “A neuron-silicon junction: a Retzius cell of the leech on an insulated-gate field-effect transistor,” *Science*, vol. 252, pp. 1290–1293, 1991.
 - [12] P. Fromherz, “Neuroelectronic interfacing: semiconductor chips with ion channels, nerve cells, and brain” in *Nanoelectronics and Information Technology* (ed. R. Waser), Wiley, Ch. 32, pp. 781–810, 2003.
 - [13] 新津葵一, 中里和郎, “CMOS 技術を用いたバイオセンサ集積回路,” *電気学会論文誌 E*, vol. 137, pp. 291–295, 2017.
 - [14] **D. Terutsuki**, H. Mitsuno, Y. Okamoto, T. Sakurai, A. Tixier-Mita, H. Toshiyoshi, Y. Mita, and R. Kanzaki, “Odor-sensitive field effect transistor (OSFET) based on insect cells expressing insect odorant receptors,” in *Proc. 30th IEEE International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS 2017)*, Las Vegas, NV, USA, pp. 394–397, 22–26 January 2017.
※ RightsLink を通して IEEE より copyright permissions を取得した。
 - [15] K. Nakazato, “An integrated ISFET sensor array,” *Sensors*, vol. 9, pp. 8831–8851, 2009.
 - [16] F. Heer, W. Franks, A. Blau, S. Taschini, C. Ziegler, A. Hierlemann, and H. Baltes, “CMOS microelectrode array for the monitoring of electrogenic cells,” *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 20, pp. 358–366, 2004.
 - [17] U. Frey, J. Sedivy, F. Heer, R. Pedron, M. Ballini, J. Mueller, D. Bakkum, S. Hafizovic, F. D. Faraci, F. Greve, K-U. Kirstein, and A. Hierlemann, “Switch-matrix-based high-density microelectrode array in CMOS technology,” *IEEE Journal of Solid-State Circuits*, vol. 45, pp. 467–482, 2010.

- [18] H. D. Graham, J. Robbins, C. R. Bowen, and J. Taylor, “Commercialisation of CMOS integrated circuit technology in multi-electrode arrays for neuroscience and cell-based biosensors,” *Sensors*, vol. 11, pp. 4943–4971, 2011.
- [19] **D. Terutsuki**, H. Mitsuno, T. Sakurai, Y. Okamoto, A. Tixier-Mita, H. Toshiyoshi, Y. Mita, and R. Kanzaki, “Increasing cell-device adherence using cultured insect cells for receptor-based biosensors”, *Royal Society Open Science*, 5, 172366, 2018.
 ※ *Royal Society Open Science* は Creative Commons Attribution License に基づいており、本文中には引用元を示して使用した。
- [20] G. Wrobel, M. Holler, S. Ingebrandt, S. Dieluweit, F. Sommerhage, H. P. Bochem, and A. Offenhausser, “Transmission electron microscopy study of the cell-sensor interface,” *Journal of The Royal Society Interface*, vol. 5, pp. 213–222, 2008.
- [21] A. Hai, A. Dormann, J. Shappir, S. Yitzchaik, C. Bartic, G. Borghs, J. P. Langedijk, and M. E. Spira, “Spine-shaped gold protrusions improve the adherence and electrical coupling of neurons with the surface of micro-electronic devices,” *Journal of The Royal Society Interface*, vol. 6, pp. 1153–1165, 2009.
- [22] K. Burridge, K. Fath, T. Kelly, G. L. Nuckolls, and C. Turner, “FOCAL ADHESIONS: Transmembrane junctions between the extracellular matrix and the cytoskeleton,” *Annual Review of Cell Biology*, vol. 4, pp. 487–525, 1988.
- [23] **照月大悟**, 神崎亮平, 光野秀文, 櫻井健志, テイクシェ三田アニエス, 三田吉郎, 岡本有貴, 年吉洋, “匂いセンサ”, 特願2017-080896, 出願日2017年4月14日.
- [24] 神崎亮平, 光野秀文, **照月大悟**, 櫻井健志, テイクシェ三田アニエス, 三田吉郎, 年吉洋, 岡本有貴, “匂いセンサ”, PCT 出願 PCT/JP2018/001284, 出願日2018年1月17日.
- [25] 安藤正彦, 亀代典史, 奥村忠嗣, 永田真斗, 神崎亮平, **照月大悟**, 光野秀文, 櫻井健志, “人工嗅覚センシングシステムおよびその製造方法”, 特願2018-7089, 出願日2018年1月19日.
- [26] **照月大悟**, 神崎亮平, 光野秀文, 櫻井健志, 間瀬暢之, 佐藤浩平, “難水溶性有機化合物の溶解システム、難水溶性有機化合物の溶解方法、及び匂い検出システム”, 特願2018-22267, 出願日2018年2月9日.
- [27] 光野秀文, 櫻井健志, 神崎亮平, “匂いセンサ”, 特許第5854686号, 2015年12月18日.