

## 〔課程博士〕 (博士論文審査及び最終試験の結果要旨)

学生氏名： 呉 海雲

博士論文題目：魚類のためのストレス応答測定用バイオセンサの開発に関する研究

### 博士論文審査：

当該学生から提出された博士論文について、公開発表会が8月17日に行われ、審査委員と学生の間で質疑応答が繰り返され、博士論文としての質を十分に確保しているとの結論に至った。特に、第四章については、本人のオリジナリティーに溢れた研究であることについて各審査委員から高い評価を得た。

魚のストレス状態を把握するには、ストレス反応中に分泌される血中コルチゾル濃度及びグルコース濃度の変動が指標となることが知られている。本研究では、魚の血漿中グルコースとコルチゾルの連続測定が可能な新しいストレス応答測定用バイオセンサシステムの構築を目的とした。まず、第一章において、ストレスを受けた後のグルコース及びコルチゾルの変動を確認するため、試験魚に各種ストレス因子を負荷し、上記指標の経時変化をモニタリングした。その結果、魚類のストレス応答の詳細な解析には、コルチゾルの迅速かつ連続測定的な測定法の確立が必須であることがわかった。次に第二章では、コルチゾルの迅速簡便な測定が可能なイムノバイオセンサの構築を目的に、抗-コルチゾル抗体、自己組織化単分子膜、金電極等より構成されるバイオセンサを製作し、サイクリックボルタンメトリーを用いて解析することによりコルチゾルの定量を可能にした。また第三章では、コルチゾルの連続測定を可能にするために、イムノバイオセンサの迅速交換が可能なフローチェンジャーシステムを設計・製作し、コルチゾル濃度を連続的に測定できるシステムを構築した。さらに第四章では、将来的にセンサを魚体内へ留置することを念頭に、酵素反応を利用した生体に優しいコルチゾル測定用バイオセンサの構築を試みた。すなわち、電極表面上に抗-コルチゾル抗体と共にグルコースオキシダーゼを固定化することによって、細胞への毒性が極めて低い新しい酵素/イムノバイオセンサを製作した。本センサを用いて試験魚(ティラピア)血漿中のコルチゾル濃度の測定を行ったところ、ELISAで得られた値との間に良い相関性が認められた。以上、本研究で得られた成果は、魚類のストレス応答の研究をはじめ、魚類行動学、魚類生理学等の分野における研究発展に新たな知見を提供できる可能性があり、その学術的意義は極めて大きいと考えられる。以上の内容から、申請者から提出された博士論文は、国内外の研究の水準に照らし、各研究分野における学術的意義、新規性、独創性及び応用的価値を有しており、博士の学位に値することを審査委員一同確認した。

### 最終試験の結果要旨：

最終試験は8月17日に行われた。審査委員一同出席の下、学生に対して、博士論文の内容について最終確認のための質疑応答を行ったところ、その内容は十分であった。一方、専門知識については公開発表会での質疑応答でのディスカッションにより、十分であると審査委員一同確認した。

学術論文については、以下の3編が第一著者として公表済みであることを確認した。

1. H. Wu, A. Aoki, T. Arimoto, T. Nakano, H. Ohnuki, H. Ren, H. Endo: Biosensors and Bioelectronics; **67**, 503-510 (2015)
2. H. Wu, H. Ohnuki, H. Ren, H. Endo: Sensors and Materials. **27**, 793-803 (2015)
3. H. Wu, H. Ohnuki, K. Hibi, H. Ren, H. Endo: Fish Physiology and Biochemistry. **42**, 19-27 (2016)

これら学術論文は全て英語で書かれており、かつ、国際会議においては英語による発表を行っており、英語の学力については問題ないと判断した。また、講演発表は共著を含めて国際会議8回、国内学会6回の発表を行い、2014年12月に中華人民共和国で開催されたChina-Japan-Korea Graduates Academic Exchange Conference 2014の口頭発表では"Excellent Thesis Second Prize"を受賞していることを確認した。合同セミナーの単位についても、代替科目となる企業型プロジェクトを履修済(評価:優)であることを確認した。

以上から、学生について博士論文審査、最終試験とも合格と判定した。