

I 電気化学バイオセンサ

Electrochemical biosensors

水谷文雄・安川智之・松原則男

Mizutani, F., Yasukawa, T., Matsubara, N.

電極表面上に固定化した抗体、酵素等の生体分子の特異的な基質選択能を利用し、高感度で簡便に生体分子を計測するシステムを構築している。特に、近年では、センサーの高感度化を目指して研究を行っている。免疫センサーでは、抗体固定化担体に免疫反応で捕捉された酵素の反応生成物を電極表面上に変換、蓄積、濃縮することにより、pMレベルの腫瘍マーカー検出を可能とした。また、プローブとなる認識素子の電極表面への固定化を不要とした簡便な高感度DNAハイブリダイゼーションセンサーの開発を行っている。誘電泳動による微粒子のマニピュレーション技術と組み合わせ、高感度・迅速な免疫センサーの開発に取り組んでいる。さらに、2酵素間における基質の酸化還元サイクルを利用した高感度化、イムノクロマトグラフィーとの融合に関する研究を行っている。

II マイクロ・ナノ電気化学を用いた細胞機能評価

Investigation for cellular activities by using micro- and nano-electrochemistry

水谷文雄・安川智之・松原則男

Mizutani, F., Yasukawa, T., Matsubara, N.

単一細胞のサイズと同程度以下のサイズのニードル型マイクロ・ナノ電極を作製し、単一細胞に近接させることにより、細胞の機能および活性をリアルタイムで計測するシステムを構築している。誘電泳動技術と組み合わせ、細胞アレイを作製し、細胞アレイを対象とした細胞の呼吸活動に伴う酸素消費量を単一細胞レベルで計測している。これを細胞機能や活性を指標とした、細胞応答性分子の高速スクリーニングシステムへと応用展開している。さらには、ミジンコやゼブラフィッシュ等の動く生物を対象とした代謝能活性評価に着手した。測定対象生物の動きは電流応答のノイズとして観測されるため、ファラディックな電流を金属粒子へと変換させる高感度計測法を考案した。1本の電極に独立して作動するデュアルマイクロ電極への選択的な酵素固定化を行い、小型で単一細胞を対象としたグルコースおよび乳酸の同時計測が可能なバイオセンサーの開発を行っている。

III 誘電泳動による細胞および微粒子操作

Manipulation with microparticles and living cells based on dielectrophoresis

水谷文雄・安川智之・松原則男

Mizutani, F., Yasukawa, T., Matsubara, N.

誘電泳動による微粒子や細胞を大量一括で迅速に配列可能なシステムを、細胞の表面抗原計測に応用している。マイクロバンド電極デバイスに白血球細胞株を導入し、交流電圧を印加することにより細胞の配列体を得ることができる。細胞の免疫反応による捕捉率の向上を目指している。さらに、この細胞配列パターンを自由に位置制御し、基板間免疫反応を組み込んで迅速に表面抗原を検出できた。マイクロ流路に導入した細胞の分離に関しても検討を開始している。

発表論文 List of Publications

- I-1 Takuya Goto, Tomoyuki Yasukawa, Kazuhiro Kanda (兵庫県大高度研), Shinji Matsui (兵庫県大高度研), Fumio Mizutani, Inhibition of Electrochemical Fouling Against Biomolecules on a Diamond-Like Carbon Electrode, *Anal. Sci.*, 2011, 27(1), 91-94.
- I-2 Tomoyuki Yasukawa, Yuki Yoshimura, Fumio Mizutani, Microsensors for Glucose in High Concentration Range by Controlling Oxygen Concentration, *Electrochemistry*, 2012, 80(1), 15-17.
- I-3 Tomoyuki Yasukawa, Yoshimi Yoshimoto, Takuya Goto, Fumio Mizutani, Highly-sensitive electrochemical immunosensing method based on dual amplification systems, *Biosensors and Bioelectronics*, 2012, 37, 19-23.
- I-4 水谷文雄、化学増幅を利用した高感度バイオセンサ、表面、2012, 50(1), 2-3.
- I-5 Tomoyuki Yasukawa, Yuki Yoshimura, Ryohei Ono, Fumio Mizutani, Dependence of Oxygen Concentration to responses of Microsensors for Glucose, Proceedings of the 52th Chemical Sensor Symposium, 2011.
- I-6 Tomoyuki Yasukawa, Yuya Yamashita, Daichi Nakayama, Seiichiro Iijima (産総研), Fumio Mizutani, Determination of double-stranded DNA formed with hybridization, Proceedings of the 53th Chemical Sensor Symposium, 2012.
- I-7 Tomoyuki Yasukawa, Takuya Goto, Yoshimi Yoshimoto, Fumio Mizutani, Highly sensitive immunosensing systems based on electrochemical charge accumulation system, Shikata Discussion 2011, May 26-29, 2011, Awaji (Hyogo)
- I-8 後藤卓也・安川智之・水谷文雄、酵素生成物変換濃縮デバイスを用いた高感度免疫測定、第23回化学とマイクロ・ナノシステム研究会、千葉大学、千葉、2011. 6. 10-11.
- I-9 安川智之・吉村友希・尾野諒平・水谷文雄、マイクログルコースセンサーの酸素濃度依存性、2011年電気化学秋季大会、第52回化学センサ研究発表会、2011.9.9-11、朱鷺メッセ (新潟市)
- I-10 ポスター賞受賞、三木崇路・渡邊一也・藪内康之・安川智之・水谷文雄、イニフエータ重合法を用いた温度感応性レドックス薄膜の電気化学特性評価、日本分析化学会第60年会、名古屋大学 名古屋市、2011.9.14-16
- I-11 Fumio Mizutani, Takuya Goto, Yoshimi Yoshimoto, Tomoyuki Yasukawa, Highly Sensitive Immunoassay With Dual Signal Amplification System, 9th Asian Conference on Chemical Sensors, Chlentan, Youth Activity Center, Taipei, Taiwan, 14-17 November, 2011.
- I-12 ポスター賞受賞, Takuya Goto, Tomoyuki Yasukawa, Yoshimi Yoshimoto, Fumio Mizutani, Highly-sensitive electrochemical immunosensing method based on dual amplification systems, International meeting on Novel Catalyst Design and Surface Science, Himeji, 8-10 December, 2011.
- I-13 Yuya Yamashita, Tomoyuki Yasukawa, Fumio Mizutani, Determination of dsDNA formed with hybridization based on the deposition of Pt complexes, 第21回日本MRS学術シンポジウム、2011.12.20-22、横浜
- I-14 安川智之・山下裕也・中山大地・飯島誠一郎 (産総研) ・水谷文雄、白金錯体の電解還元による触媒電流を利用したDNAセンシング、電気化学会第79回大会、2012.3.29-31、アクトシティ浜松、浜松
- I-15 加藤 大 (産総研) ・飯島誠一郎 (産総研) ・矢吹聡一 (産総研) ・丹羽 修 (産総研) ・水谷文雄、フェロセン誘導体を用いたエンドトキシンの電気化学検出、第53回化学センサ研究発表会 (浜松)、2012.3.
- II-1 Masahiro Koide (国立環境研), Tomoyuki Yasukawa, Kuniaki Nagamine (東北大), Hitoshi Shiku (東北大), Tomoaki Itayama (長崎大), Tomokazu Matsue (東北大), An electrochemical device with microwells for determining the photosynthetic activity of a single cyanobacterium, *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 2011, 153(2), 474-478.
- II-2 Yasufumi Takahashi (東北大), Takeshi Miyamoto (東北大), Hitoshi Shiku (東北大), Kosuke Ino

- (東北大), Tomoyuki Yasukawa, Ryutaro Asano (東北大), Izumi Kumagai (東北大), Tomokazu Matsue (東北大), *Electrochemical Detection of Receptor-mediated Endocytosis by Scanning Electrochemical Microscopy*, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 2011, 13(37), 16569-16573.
- II-3 Masahiro Koide (国立環境研), Tomoyuki Yasukawa, Yoshiko Horiguchi (東北大), Kuniaki Nagamine (東北大), Hitoshi Shiku (東北大), Tomokazu Matsue (東北大), Tomoaki Itayama (長崎大), *Microfluidic Devices for Electrochemical Measurement of Photosynthetic Activity of Cyanobacteria *Microcystis* Cells*, *Anal. Sci.*, 2012, 28(1), 69-72.
- II-4 Yu Hirano (産総研), Tomoyuki Yasukawa, Yoshiaki Mase (東北大), Daisuke Oyamatsu (東北大), Hitoshi Shiku (東北大), Fumio Mizutani, Tomokazu Matsue (東北大), *Imaging of Enzyme Reactions Captured via Immuno-recognition by Scanning Electrochemical Microscopy with Distance Control System*, *Electrochemistry*, 2012, 80(1), 30-32.
- II-5 安川智之・末永智一(東北大)・水谷文雄、迅速な細胞アレイの形成と単一細胞計測、*化学工業*、2012, 63(3), 20-25.
- II-6 小出昌弘(国立環境研)・安川智之・伊野浩介(東北大)・珠玖 仁(東北大)・鎌迫典久(国立環境研)・水谷文雄・末永智一(東北大)、酸素の変換濃縮法を応用したミジンコの呼吸活性計測、第23回化学とマイクロ・ナノシステム研究会、千葉大学、千葉、2011. 6. 10-11.
- II-7 小出昌弘(国立環境研)・安川智之・伊野浩介(東北大)・珠玖 仁(東北大)・鎌迫典久(国立環境研)・水谷文雄・末永智一(東北大)、ミジンコの呼吸活性を利用した生態毒性評価のための変換濃縮型計測法の開発、第5回バイオ関連化学シンポジウム、つくば国際会議場、つくば市、2011.9.12-14
- III-1 Kosuke Ino (東北大), Atsuko Ishida (東北大), Kumi Y. Inoue (東北大), Masato Suzuki (東北大), Koide Masahiro (国立環境研), Tomoyuki Yasukawa, Hitoshi Shiku (東北大), Tomokazu Matsue (東北大), *Electrorotation chip consisting of three-dimensional interdigitated array electrodes*, *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 2011, 153(2), 468-473.
- III-2 Javier Ramón-Azcón, Tomoyuki Yasukawa, Fumio Mizutani, *Sensitive and spatially multiplexed detection system based on dielectrophoretic manipulation of DNA encoded particles used as immunoreactions platform*, *Anal. Chem.*, 2011, 83, 1053-1060.
- III-3 Javier Ramón-Azcón, Tomoyuki Yasukawa, Fumio Mizutani, *Immunodevice for simultaneous detection of two relevant tumor markers based on separation of different microparticles by dielectrophoresis*, *Biosensors and Bioelectronics*, 2011, 28(1), 443-449.
- III-4 Hironobu Hatanaka, Tomoyuki Yasukawa, Fumio Mizutani, *Detection of surface antigens on living cells through incorporation of immunorecognition into the distinct positioning of cells with positive and negative dielectrophoresis*, *Anal. Chem.*, 2011, 83(18), 7207-7212.
- III-5 Tomoyuki Yasukawa, Junko Yamada (東北大), Hitoshi Shiku (東北大), Fumio Mizutani, Tomokazu Matsue (東北大), *Negative Dielectrophoretic particle positioning in a fluidic flow*, *Intelligent Automation and Soft Computing*, 2012, 18(2), 201-211.
- III-6 Hironobu Hatanaka, Tomoyuki Yasukawa, Fumio Mizutani, *Rapid detection of surface antigens with a dielectrophoretic manipulation of cells*, *Proceedings of the 51th Chemical Sensor Symposium*, 2011.
- III-7 Tomoyuki Yasukawa, Javier Ramón-Azcón, Fumio Mizutani, *Rapide and simple immunosensors based on particle accumulation with dielectrophoresis*, *IUPAC International Congress on Analytical Sciences 2011 (ICAS 2011)*, May 22-26, 2011, Kyoto.
- III-8 山本将士・安川智之・水谷文雄、誘電泳動による迅速な微粒子凝集体形成を利用した免疫センシング、第23回化学とマイクロ・ナノシステム研究会、千葉大学、千葉、2011. 6. 10-11.
- III-9 Tomoyuki Yasukawa, Hironobu Hatanaka, Fumio Mizutani, *Rapid detection of surface antigens on living cells by the distinct positioning of cells with dielectrophoresis*, *JAIMA Discussion on*

Analytical Science and Technology, 幕張メッセ国際会議場、2011. 9. 8.

- III-10 安川智之・川元真人・畠中啓伸・水谷文雄, 細胞 - 微粒子複合体の誘電泳動特性評価、2011年電気化学秋季大会、2011.9.9-11、朱鷺メッセ (新潟市)
- III-11 招待講演, Tomoyuki Yasukawa, Javier Ramon-Azcon, Fumio Mizutani, Particle manipulation with dielectrophoresis to develop rapid and sensitive immunosensing for pesticides, The 62nd Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry, 11-16 September, 2011, Niigata
- III-12 Hironobu Hatanaka, Tomoyuki Yasukawa, Fumio Mizutani, Dielectrophoretic cell manipulation for rapid detection of surface antigens, The 62nd Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry, 11-16 September, 2011, Niigata
- III-13 安川智之・畠中啓伸・富田昌弘 (三重大学) ・水谷文雄, 誘電泳動による粒子配列パターンの拡張と細胞表面抗原検出への応用、日本分析化学会第60年会、名古屋大学 名古屋市、2011.9.14-16.
- III-14 Tomoyuki Yasukawa, Hironobu Hatanaka, Fumio Mizutani, Simple and Rapid Detection of Surface Antigens on Cells with Dielectrophoresis, 24th Annual Conference of Biomedical Fuzzy Systems Association 2011 (BMFSA 2011), 29-30 October, 2011, Yamaguchi
- III-15 安川智之・川元真人・畠中啓伸・水谷文雄, 誘電泳動による細胞 - 微粒子複合体の分離と細胞表面抗原検出、第24回化学とマイクロ・ナノシステム研究会、大阪府立大学、堺、2011. 11. 17-18.
- III-16 山本将士・安川智之・水谷文雄, 誘電泳動による微粒子凝集体の形成と蛍光観察による免疫センシング、第24回化学とマイクロ・ナノシステム研究会、大阪府立大学、堺、2011. 11. 17-18.
- III-17 ポスター賞受賞, 畠中啓伸・安川智之・水谷文雄, 誘電泳動を駆動力とした迅速な表面抗原の検出、第24回化学とマイクロ・ナノシステム研究会、大阪府立大学、堺、2011. 11. 17-18.
- III-18 Hironobu Hatanaka, Tomoyuki Yasukawa, Fumio Mizutani, Rapid Detection of Surface Antigens on Living Cells Using Dielectrophoretic Manipulation of Cells, International meeting on Novel Catalyst Design and Surface Science, Himeji, 8-10 December, 2011
- III-19 Misa Furutani, Tomoyuki Yasukawa, Fumio Mizutani, Improvement of sensitivity for rapid and simple immunosensing systems using particle manipulation based on dielectrophoresis, 第21回日本MRS学術シンポジウム、2011.12.20-22、横浜
- III-20 安川智之・畠中啓伸・水谷文雄, 誘電泳動を用いた表面抗原発現細胞の迅速な識別、有機エレクトロニクス研究会、2012.2.17、産総研九州センター、鳥栖
- III-21 安川智之・畠中啓伸・水谷文雄, 抗体固定化電極表面への抗原発現細胞の迅速な捕捉、表面技術協会、第125回講演大会、2012.3.14、東京都市大学、東京
- III-22 橋本 彩・安川智之・水谷文雄, 誘電泳動による任意位置への配列化技術の開発と異種細胞パターンニング、表面技術協会、第125回講演大会、2012.3.14、東京都市大学、東京
- III-23 竹内将城・安川智之・水谷文雄, 誘電泳動による迅速な微粒子配列化を応用したDNA検出、表面技術協会、第125回講演大会、2012.3.14、東京都市大学、東京
- III-24 安川智之・畠中啓伸・水谷文雄, 誘電泳動を利用した迅速なイムノフェノタイピング、電気化学会第79回大会、2012.3.29-31、アクトシティ浜松ね浜松

大学院物質理学研究科

博士前期過程

後藤卓也：二段階化学増幅機構を組み込んだチップデバイスによる高感度免疫測定

畠中啓伸：誘電泳動を用いた表面抗原発現細胞の迅速な識別

三木崇路：イニフーター重合法を用いた温度およびpH感応性電極の開発

山本将士：直交型四重極電極を利用した生体関連粒子の迅速集積化による免疫センシング

尾野諒平：複合型酵素センサーの開発と免疫センサーへの応用

菊池美賀：電気化学顕微鏡による単一筋芽細胞の拍動時における酸素消費量の決定

古谷美沙：誘電泳動による迅速な免疫測定法の電気化学的高感度化
山本智大：酵素修飾による2段階増幅法を用いた高感度細胞膜表面抗原の検出

科学研究費補助金等

- 1 科学研究費補助金（平成22～23年度） 挑戦的萌芽研究
研究課題 PCR不要な超高感度DNAセンサーの創出
研究代表者 水谷文雄
- 2 田中貴金属グループ 貴金属に関わる研究助成
研究課題 白金錯体を利用した超高感度電気化学DNAセンサーの開発
研究代表者 水谷文雄
- 3 パナソニック株式会社 共同研究
研究課題 高感度電気化学測定に関する研究
研究者 水谷文雄・安川智之
- 4 独立行政法人科学技術振興機構 戦略的創造研究推進事業（平成20～25年度）
研究課題 電気化学的な異種材料ナノ集積化技術の開拓とバイオデバイス応用
研究代表者 西澤松彦
研究分担者 安川智之
- 5 科学技術振興機構（JST） 研究成果最適展開支援事業（A-Step）（平成23年度）
研究課題 プロトンの触媒還元電流を利用した高感度DNA計測
研究代表者 安川智之
- 6 兵庫県立大学特別教育研究助成金
研究課題 誘電泳動による細胞操作を応用した迅速な細胞表面タンパク質の表面型解析
研究代表者 安川智之
- 7 島津科学技術振興財団研究開発助成
研究課題 誘電泳動による微粒子操作技術を利用した迅速な免疫測定法の高感度化
研究代表者 安川智之
- 8 中谷電子計測技術振興財団 研究助成
研究課題 変換濃縮ストリッピング法を利用した単一細胞の活性評価システムの構築
研究代表者 安川智之