

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.

抗体やDNAの有する選択的な分子認識能力および酵素の触媒反応によるシグナル分子の化学増幅能力と電気化学センシング技術を融合することによる高感度バイオセンサの開発を行っている。特に、近年では、センサの高感度化を目指して研究を行っている。生体認識反応を利用して酵素修飾し、酵素反応生成物を超高感度に計測する技術開発を行った。酵素の反応生成物を電極表面上に金属銀や金属白金に変換して、蓄積することにより、pMレベルの腫瘍マーカー検出や特定の塩基配列を有する1本鎖DNAの検出を可能とした。誘電泳動による微粒子のマニピュレーション技術を積極的に融合し、高感度・迅速・簡便なセンサ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.

単一細胞表面に発現している抗原量を定量するために、免疫ラベル法を用いて酵素修飾し、その酵素活性を電気化学顕微鏡で調査した。ラベル酵素に酸化酵素を用い、酸素含有量の高いPDMSウェルに取り込んだ細胞を他測定対象とした。酵素基質である酸素濃度を高く維持できるため、高感度計測が可能となり表面抗原量定量を可能にした。電気化学顕微鏡のプロブであるマイクロ電極の先端に酵素を固定化したマイクロ酵素センサの開発に取り組んでいる。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.

本研究では、「誘電泳動を用いたフレキシブルな超高速細胞配列技術」により3次元細胞培養システムの創生に資する迅速な異種類細胞の配列体作製方法の開発と、この技術を基盤とした細胞膜表面に発現する抗原の表現型（フェノタイプ）を迅速（1分程度）で簡便（蛍光ラベル化不要）に解析する手法の確立を目指している。誘電泳動を用いると印加交流電圧の周波数、強度および位相の変換により異なる細胞パターンを作製できることを示した。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。表面抗原を発現した細胞を誘電泳動により抗体固定化領域に迅速に集積化し、未反応の細胞を表面抗原発現細胞から分離して識別した。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 Tomoyuki Yasukawa, Yuki Yoshimura, Fumio Mizutani, Microsensors for Glucose in High Concentration Range by Controlling Oxygen Concentration, *Electrochemistry*, 2012, 80(1), 15-17.
- I-2 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-3 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-4 水谷文雄、バイオセンサの新展開、電気化学便覧（第6版）、第18章、第4節、第11項、709-710、電気化学会編、丸善（2012）。
- I-5 水谷文雄、医療用バイオセンサーの開発動向と今後のニーズ、PHARMSTAGE、12(10)、55-57、技術情報協会（2013）。
- I-6 水谷文雄：「バイオセンシング技術」の市場データから読み解くこれからの研究開発テーマのねらいどころ、研究開発リーダー、10(1)、48-51、技術情報協会（2013）。
- I-7 Yuya Kiba, Yukako Otani, Tomoyuki Yasukawa, Fumio Mizutani, Electrochemical detection of redox species flowing in a nitrocellulose membrane and application to quantitative immunochromatography, *Electrochimica Acta*, 2012, 81, 14– 19.
- I-8 Mika Kikuchi, Tomoyuki Yasukawa, Fumio Mizutani, 生体分子計測への応用に向けたカーボン電極への白金析出による過酸化水素の触媒還元、表面技術、2013、64(3)、190-192.
- I-9 Tomoyuki Yasukawa, Yuya Yamashita, Daichi Nakayama, Seiichiro Iijima (産総研), Fumio Mizutani, Detection of DNA Sequence Based on Proton Reduction Catalyzed by Deposition of Platinum-Complexes, 14th International Meeting on Chemical Sensors, 2.2 Biosensors II (DNA, SPR), 21 May 2012, Nürnberg/Nuremberg, Germany
- I-10 水谷文雄、医療用バイオセンサの市場展望と研究・開発状況、セミナー「医療用バイオセンサの市場展望と研究開発の進め方、薬事申請、対応」、技術情報協会（東京）2012.7.
- I-11 Tomoyuki Yasukawa, Takuya Goyo, Yoshimi Yoshimoto, Fumio Mizutani, Highly-Sensitive Immunosensing Method Based on Dual Amplification Systems, 63rd Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry, Symposium 3: Advanced Materials Design for Bioelectrochemical Applications, 21 August 2012, Prague, Czech Republic.
- I-12 Tomoyuki Yasukawa, Yoshimi Yoshimoto, Takuya Goyo, Fumio Mizutani, Highly-Sensitive Immunosensing Method Based on Dual Amplification Systems, IUMRS-International Conference on Electronic Materials (IUMRS-ICEM 2012), 25 September, 2012, Pacifico Yokohama, Yokohama, Japan.
- I-13 安川智之・水谷文雄、イムノクロマトグラフィーへの電気化学定量法の融合～どんな病気にかかっているの？速く、簡単に、確実に測定したい～、平成24年度兵庫県立大学シンポジウム、2012年9月24日、イーグレ姫路（姫路市）
- I-14 安川智之・山下裕也・萌出 陸・水谷文雄、白金錯体のインターカレーションと電解還元を利用した簡便なDNA計測、日本分析化学会 第61年、金沢大学、2012年9月20日、金沢
- I-15 萌出 陸・安川智之・水谷文雄、メディエータをインターカレートしたDNAをポリアニオンとして利用したポリイオンコンプレックス膜、日本分析化学会 第61年会、金沢大学、2012年9月20日、金沢
- I-16 木葉祐也・安川智之・水谷文雄、免疫反応によりニトロセルロース膜に捕捉された酵素の活性の電気化学計測、日本分析化学会 第61年会、金沢大学、2012年9月20日、金沢
- I-17 (受賞講演) 水谷文雄：高感度電気化学バイオセンサーの構築、第58回ポラログラフィーおよび電気化学討論会、高尾の森わくわくビレッジ、2012年11月28日、八王子
- I-18 安川智之・萌出 陸・水谷文雄、電極への白金析出による触媒電流を利用したDNAセンシング、第58回ポラログラフィーおよび電気化学討論会、高尾の森わくわくビレッジ、2012年11月28日、八王子
- I-19 水谷文雄：売れる医療用バイオセンサへのアプローチポイント、セミナー「ニーズ/シーズを満たした医療用バイオセンサの開発」、技術情報協会、2012年12月、東京

- I-20 (招待講演) 安川智之、迅速・簡便・高感度をキーワードとしたバイオセンシングシステムの開発、パナソニック株式会社、けいはんな、2013年2月14日
- I-21 安川智之・萌出 陸・水谷文雄、白金析出による電極活性化を利用したDNA計測、表面技術協会、第127回講演大会、日本工業大学 宮代キャンパス、2013年3月18日～19日
- I-22 坪井安未・安川智之・水谷文雄、イニフアータ重合により作製したフェロセン修飾電極の温度特性、表面技術協会、第127回講演大会、日本工業大学 宮代キャンパス、2013年3月18日～19日
- I-23 有本 聡 (パナソニック) ・ 亀井明仁 (パナソニック) ・ 安川智之・水谷文雄・吉岡俊彦 (パナソニック)、電位変化量計測を用いたドライ系高感度測定システムの開発、電気化学会第80回大会、2013年3月29-31日、東北大学、仙台
-
- II-1 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-2 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-3 Tomoyuki Yasukawa, Junko Yamada (東北大), Hitoshi Shiku (東北大), Fumio Mizutani, Tomokazu Matsue (東北大), 抗体スポットを用いた表面抗原発現細胞の選択的捕捉, 表面技術, 2013, 64(1), 52-56.
- II-4 山本智大・安川智之・水谷文雄、免疫反応を介した酵素修飾による細胞表面抗原の定量、第72回分析化学討論会 (鹿児島大学郡元キャンパス)、2013年5月19日・20日
- II-5 菊池美賀・安川智之・水谷文雄、電気化学顕微鏡を用いた白金析出電極の酸素およびプロトンの触媒還元の評価、日本分析化学会 第61年会、金沢大学、2012年9月20日、金沢
- II-6 高田優人・安川智之・水谷文雄、マルチバイオセンサの開発に向けたマイクロアレイ電極への金ナノ粒子の局所固定化、日本分析化学会 第61年会、金沢大学、2012年9月20日、金沢
- II-7 山本智大・安川智之・水谷文雄、免疫反応を介した酵素標識による細胞表面抗原(CD33)の定量、兵庫県立大学 Cat-on-cat 新規表面反応研究センターシンポジウム2012、兵庫県立先端科学技術支援センター、2012年12月7日～8日
- II-8 菊池美賀・安川智之・水谷文雄、電気化学顕微鏡を用いた金属パターンニング、兵庫県立大学Cat-on-cat 新規表面反応研究センターシンポジウム2012、兵庫県立先端科学技術支援センター、2012年12月7日～8日
- II-9 安川智之・山本智大・水谷文雄、酵素免疫修飾による細胞表面抗原の検出、電気化学会第80回大会、2013年3月29-31日、東北大学、仙台
-
- III-1 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-2 Masashi Yamamoto, Tomoyuki Yasukawa, Masato Suzuki (東北大), Satoshi Kosuge (東北大), Hitoshi Shiku (東北大), Tomokazu Matsue (東北大), Fumio Mizutani, Patterning with Particles Using Three-Dimensional Interdigitated Array Electrodes with Negative Dielectrophoresis and Its Application to Simple Immunosensing, *Electrochim. Acta*, 2012, 82, 35-42.
- III-3 Tomoyuki Yasukawa, Hironobu Hatanaka, Fumio Mizutani, Simple detection of surface antigens on living cells by applying distinct cell positioning with negative dielectrophoresis, *Anal. Chem.*,

2012, 84(20), 8830-8836.

- III-4 Tomoyuki Yasukawa, Hironobu Hatanaka, Fumio Mizutani, Rapid pattern switching of cellular arrays with dielectrophoresis to discriminate surface antigen, *2012 International Symposium on Micro-NanoMechatronics and Human Science, MHS 2012*, 2012, art. no. 6492474, 387-389.
- III-5 安川智之・畠中啓伸・水谷文雄、誘電泳動を利用する細胞識別方法、特願2012-111134、2012年5月15日
- III-6 安川智之、超高速細胞配列化と高スループット細胞分化スクリーニング、新学術領域「超高速バイオセンブラ」キックオフミーティング、東京大学生産技術研究所
- III-7 安川智之・畠中啓伸・橋本 彩・水谷文雄、誘電泳動による粒子配列体の位置制御、第25回 化学とマイクロ・ナノシステム研究会、崇城大学（熊本）、2012年5月17-18日
- III-8 (ポスター賞受賞) 古谷美紗・安川智之・水谷文雄、誘電泳動を利用した迅速な免疫アッセイの初期微粒子濃度依存性、第25回 化学とマイクロ・ナノシステム研究会、崇城大学（熊本）、2012年5月17-18日
- III-9 尾野諒平・畠中啓伸・安川智之・水谷文雄、誘電泳動による表面抗原を発現した細胞の捕捉効率の向上、第72回分析化学討論会（鹿児島大学郡元キャンパス）、2012年5月19日・20日
- III-10 安川智之、超高速細胞配列化と高スループット細胞分化スクリーニング、新学術領域「超高速バイオセンブラ」第3回シンポジウム、キャンパスプラザ京都、2012年7月5日
- III-11 Tomoyuki Yasukawa, Hironobu Hatanaka, Fumio Mizutani, Rapid and simple discrimination of cell surface antigen based on dielectrophoretic manipulation, IUMRS-International Conference on Electronic Materials (IUMRS-ICEM 2012), 25 September, 2012, Pacifico Yokohama, Yokohama, Japan
- III-12 Misa Furutani, Tomoyuki Yasukawa, Fumio Mizutani, Development of rapid and simple biosensing system based on dielectrophoretic particle manipulation, RSC Tokyo International Conference, JASIS Conference, Makuhari Messe, Japan, September 6-7, 2012.
- III-13 安川智之、誘電泳動による超高速な細胞表面抗原分析、プロセスインテグレーションによる次世代ナノシステムの創製、3領域合同会議、2012年10月5日、JST東京本部
- III-14 Tomoyuki Yasukawa, Hironobu Hatanaka, Fumio Mizutani, Rapid and Simple Discrimination of Cells with Specific Surface Antigen with Dielectrophoresis, The 16th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences, Oct 2012, Okinawa
- III-15 Tomoyuki Yasukawa, Hitoshi Shiku (東北大), Tomokazu Matsue (東北大), Fumio Mizutani, Rapid and Simple Immunoassay Based on Negative Dielectrophoresis with Three-Dimensional Interdigitated Array Electrodes, 222nd ECS Meeting, The electrochemical Society of Japan – 2012 Fall Meeting, 9 October, 2012, Hawaii Convention Center
- III-16 安川智之、超高速細胞配列化と高スループット細胞分化スクリーニング、新学術領域「超高速バイオセンブラ」A01班班会議、名古屋大学、2012年11月7日
- III-17 安川智之、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、平成24年度兵庫県立大学研究発表会、姫路書写キャンパス（書写記念会館）、2012年11月28日
- III-18 Tomoyuki Yasukawa, Hironobu Hatanaka, Fumio Mizutani, Rapid pattern switching of cellular arrays with dielectrophoresis to discriminate surface antigen, MHS2012, 6 November, 2012, Nagoya University
- III-19 安川智之、誘電泳動による迅速で簡便な細胞表面抗原の識別、イノベーションフェア関西、大阪国際会議場（グランキューブ大阪）、2012年12月6日
- III-20 尾野諒平・畠中啓伸・安川智之・水谷文雄、誘電泳動による表面抗原を発現した細胞の捕捉効率の向上、兵庫県立大学 Cat-on-cat 新規表面反応研究センターシンポジウム2012、兵庫県立先端科学技術支援センター、2012年12月7日～8日
- III-21 古谷美紗・安川智之・水谷文雄、誘電泳動を利用した免疫測定法の高感度化、兵庫県立大学Cat-on-cat 新規表面反応研究センターシンポジウム2012、兵庫県立先端科学技術支援センター、2012年12月7日～8日

- III-22 安川智之、超高速細胞配列化と高スループット細胞分化スクリーニング、新学術領域「超高速バイオアセンブラ」全体会議、有馬温泉 向陽閣、2013年3月11日
- III-23 安川智之・阿部孝之（富山大）、微粒子操作を利用した迅速で高感度な免疫測定法の開発平成24年度一般共同研究成果報告会、富山大学 水素同位体科学研究センター、2013年3月21日

大学院物質理学研究科

博士前期過程

- 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
- 大家香苗：誘電泳動による迅速なDNA測定法の開発
- 木葉裕也：イムノクロマトグラフィー／電気化学測定系の構築と評価
- 高田優人：微小マルチ酵素センサーの開発と利用
- 萌出 陸：白金錯体を用いた高感度DNA測定法の開発

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 ひょうご科学技術協会 一般学術研究助成
 - 研究課題 細胞センサーアレイの構築及び高感度電気化学機能評価法の研究
 - 研究代表者 水谷文雄
- 3 科学研究費補助金（平成24～26年度） 基盤研究B
 - 研究課題 抗体医薬をめざした最先端ハイブリドーマテクノロジーの開発と応用
 - 研究代表者 富田昌弘（三重大学）
 - 研究者 水谷文雄・安川智之
- 4 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
- 5 科学研究費補助金（平成24～25年度） 新学術領域（バイオアセンブラ）
 - 研究課題 超高速細胞配列化と高スループット細胞分化スクリーニング
 - 研究代表者 安川智之
- 6 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（東北大学）
 - 研究分担者 安川智之
- 7 平成24年度富山大学水素同位体科学研究センター 一般共同研究助成
 - 研究課題 微粒子操作を利用した迅速で高感度な免疫測定法の開発
 - 研究代表者 安川智之