

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。抗体の認識反応を利用して固体表面に測定対象物質を捕捉し、その認識反応を多数の酵素による修飾、さらには、酵素反応生成物の再生反応および変換蓄積反応（金属銀，金属銅，難溶性ハロゲン化銀への変換）によりpMレベルの超低濃度分析を行っている。この手法を用いて、腫瘍マーカー検出や特定の塩基配列を有する1本鎖DNAの検出を可能とする。本年度から、認識素子として核酸アプタマーを使用し、測定対象物質を農薬、環境汚染物質、麻薬等へと拡充した。これらの物質は、あらかじめデバイス内に仕込んでおくことができないので、測定対象物質がセンサ表面に結合することをトリガーとしたラベル化不要なシグナル変換方法について取り組んだ。また、簡便な電気化学計測法の確立を目指し、ラテラルフロー型のイムノクロマトグラフィーに高感度電気化学計測技術を組み込んだワンステップ電気化学イムノクロマトグラフィーの開発に着手している。この研究は、パナソニック株式会社との共同研究である。さらに、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。

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.

外部からの電気パルス刺激により収縮と弛緩を繰り返す（拍動）単一筋細胞の呼吸活性評価を行っている。誘電泳動を利用して迅速に培養皿上に筋管細胞のパターンを作製し、電気化学顕微鏡（SECM）を用いて拍動する筋管細胞近傍の酸素濃度分布計測から「単一筋管細胞の酸素消費速度を決定する」ことを第一目標としている。パターンを対象にした個々の細胞の酸素消費速度の決定は、筋管細胞サイズ、融合細胞数と酸素消費の連関を詳細に調査できるため、個々の筋管細胞の呼吸活性を統計的に調査できるため意義深い。さらに、Bio-LSIを用いて平面上に培養された複数筋管細胞の酸素濃度変化を一括でイメージとして捉える。Bio-LSIの有する最大の優位点である、「微小空間における化学分子の濃度の時間変化をイメージング」を細胞活性・機能解析に応用展開する。これは、複数の筋管細胞の酸素消費を一括で調査可能とするため、代謝促進薬および阻害薬の探索への貢献に大きな意義がある。さらに、Bio-LSIを用いたゼブラフィッシュ胚の活性評価法を開発し、生態環境に与える物質群の効果を計測可能な細胞センサの開発に取り組んだ。ゼブラフィッシュ胚をBio-LSIの電極アレイ上に播種すると、胚の存在する電極で酸素還元電流の減少が観測され、その胚の移動を電流から記録することができた。ここに汚染物質を加えることにより、移動速度の増加、移動方向を変える頻度の増加が観測されたことから、これらを指標とした細胞センサとして使用できることを示した。また、筋管細胞のグルコース消費および乳酸放出計測を目的とし、デュアルマイクロ酵素修飾電極の作製と評価を行っている。

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.

誘電泳動による機能化微粒子、酵母、細胞を超高速に操作できる技術を最大限に利活用し、迅速、簡便および高効率に細胞を「創る」、「測る」、「分ける」を達成する。マイクロウェルアレイ電極を用いた誘電泳動では、数万個から数十万個の細胞を数秒でマイクロウェル内へと誘導し、個々の細胞を配列化することができる。マイクロウェルアレイ電極（下面）とITO電極（上面）間に正の誘電泳動を作用させると、個々の細胞を瞬時にそれぞれのウェル内へと1個ずつ導入して配列化できる。本研究では、この手法とウェル内の1細胞を対象とした発現タンパク質計測を行う。また、ウェル内での異種細胞ペアリングと電気パルス細胞融合による高効率なハイブリッド細胞の形成、電極格子点への細胞誘導による迅速な均一サイズのスフェロイド形成、正および負の誘電泳動を利用した機能化微粒子や細胞のウェル内への導入とウェル外への排出操作を利用した免疫反応結合力の統計的な一括計測へと応用展開する。さらに、マイクロ流路チップ内に誘電泳動を組み込むことにより、発現量別細胞分離に貢献したい。

発表論文 List of Publications

- I-1 T. Yasukawa, Y. Yamashita, R. Moede, D. Nakayama, S. Iijima (産総研), Fumio Mizutani: A DNA hybridization sensor based on catalytic response by platinum deposition, *Analyst*, 140, 1014–1018 (2015)
- I-2 安川智之・木葉祐也・水谷文雄：電気化学検出法を組み込んだラテラルフロー型アッセイ法の開発，分析化学，64, 99–104 (2015)
- I-3 T. Yasukawa, R. Moede, F. Mizutani: Application of the Oxidation of Hydrogen Peroxide for DNA Sensing Based on Platinum Deposition, *Sensors and Materials*, 27(9), 817–823 (2015)
- I-4 (表紙に採択) T. Yasukawa, Y. Kiba, F. Mizutani: A Dual Electrochemical Sensor Based on a Test-Strip Assay for the Quantitative Determination of Albumin and Creatinine, *Anal. Sci.*, 31, 583–589 (2015)
- I-5 T. Yasukawa, Y. Kiba, K. Tominaga, F. Mizutani: Electrochemical immunochromatography for rapid detection of albumin and creatinine, *Proceedings of the 58th Chemical Sensor Symposium* (2015)
- I-6 K. Tominaga, S. Arimoto (パナソニック), K. Shimono (パナソニック), T. Yoshioka (パナソニック), F. Mizutani, T. Yasukawa: Single-step electrochemical immunochromatography based on an activity of uncaptured labeled enzyme, *Proceedings of the 58th Chemical Sensor Symposium* (2015)
- I-7 S. Arimoto (パナソニック), S. Tanaka (パナソニック), K. Shimono (パナソニック), T. Yasukawa, F. Mizutani, T. Yoshioka (パナソニック): Effects of heat treatment on electrochemical response of an electrode modified with ferrocene conjugated DNA aptamer, *Proceedings of the 59th Chemical Sensor Symposium* (2015)
- I-8 富永浩平・安川智之・水谷文雄：電気化学計測法を組み合わせた全自動型免疫クロマトグラフィー，平成27年度日本分析化学会近畿支部平成夏季セミナー，アクティブプラザ琵琶（滋賀県高島市），2015年8月1–2日
- I-9 長谷川倭佳・安川智之・水谷文雄：シスプラチンの電解還元によるプロトン触媒能の獲得とDNAセンシングへの応用，平成27年度日本分析化学会近畿支部平成夏季セミナー，アクティブプラザ琵琶（滋賀県高島市），2015年8月1–2日
- I-10 富永浩平・有本 聡 (パナソニック)・下野 健 (パナソニック)・吉岡俊彦 (パナソニック)・水谷文雄・安川智之：未反応ラベル酵素の活性に基づくシングルステップ電気化学免疫クロマトグラフィー，2015年度電気化学秋季大会，埼玉工業大学（埼玉県深谷市），2015年9月11–12日

- I-11 有本 聡・安川智之・水谷文雄・吉岡俊彦：ゲル化したイオン液体を用いたドライ系高感度測定システムの設計，第61回ポーラログラフイーおよび電気分析化学討論会，イーグレひめじ（兵庫県姫路市），2015年11月24-25日
- I-12 安川智之・大谷由華子・水谷文雄：マイクロウェルアレイ電極による電解溶出を用いた酵素包括粒子の作製と酵素活性評価，第61回ポーラログラフイーおよび電気分析化学討論会，イーグレひめじ（兵庫県姫路市），2015年11月24-25日
- I-13 （ポスター賞）富永浩平・安川智之・水谷文雄：電気化学イムノクロマトグラフイーにおける測定領域の初期ラベル酵素量依存性，第61回ポーラログラフイーおよび電気分析化学討論会，イーグレひめじ（兵庫県姫路市），2015年11月24-25日
- I-14 大谷由華子・安川智之・水谷文雄：マイクロウェルアレイ電極を用いた銅（II）イオンの電解溶出による酵素包括アルギン酸粒子の作製，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2015，姫路・西はりま地場産業センター（兵庫県姫路市），2015年12月10日
- I-15 富永浩平・安川智之・水谷文雄：未反応標識酵素の活性を利用したシングルステップ電気化学イムノクロマトグラフイー，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2015，姫路・西はりま地場産業センター（兵庫県姫路市），2015年12月10日
- I-16 安川智之・阿部孝之：多段階化学増幅システムを搭載した高感度免疫計測システムの開発，平成27年度一般共同研究成果報告会，富山大学（富山県富山市），2016年3月1日
- I-17 有本 聡（パナソニック）・田中真司（パナソニック）・下野 健（パナソニック）・安川智之・水谷文雄・吉岡俊彦（パナソニック）：フェロセン修飾DNAアプタマ被覆電極の電気化学応答に対する加熱処理の効果，電気化学会第83回大会，大阪大学（大阪府吹田市），2016年3月29日
- II-1 Y. Igaki, F. Mizutani, T. Yasukawa: Oxygen consumption of contractile C2C12 myotubes investigated by scanning electrochemical microscopy, *Chem. Lett.*, 44(7), 1031-1032 (2015)
- II-2 Y. Igaki, F. Mizutani, T. Yasukawa: Investigation of oxygen consumption for micropatterns of contractile myotubes by scanning electrochemical microscopy, 2015 International Symposium on Micro-NanoMechatronics and Human Science, MHS 2015 (2015)
- II-3 居垣雄貴・水谷文雄・安川智之：電気化学顕微鏡を用いたC2C12筋管細胞の拍動に伴う酸素消費量の測定，分析化学会第64年会，九州大学（福岡県福岡市），2015年9月9日
- II-4 （ポスター賞受賞）Y. Igaki, F. Mizutani, T. Yasukawa: Measurement of oxygen consumption of contracting C2C12 myotube using scanning electrochemical microscopy, The 66th Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry, (台湾，台北), 4-9 October 2015, Taipei, Taiwan
- II-5 Y. Igaki, F. Mizutani, T. Yasukawa: Investigation of oxygen consumption for micropatterns of contractile myotubes by scanning electrochemical microscopy, MHS2015, (愛知県名古屋市), November, 2013
- II-6 居垣雄貴・安川智之・水谷文雄：電気化学顕微鏡を用いた拍動するパターン化C2C12筋管細胞の酸素消費量測定，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2015，姫路・西はりま地場産業センター（兵庫県姫路市），2015年12月10日
- II-7 J. Yoshioka (東大), T. Yasukawa, K. Yoshimoto (東大): Development of evaluation device for physical stimulation to cell based on dielectrophoresis, 日本化学会第96春季年会，同志社大学（京都府京田辺市），2016年3月24日
- III-1 T. Yasukawa, F. Mizutani: Hyper Bio Assembler for 3D Cellular Systems, Chapter 5, Discrimination of Cells with Specific Antigens Expressed on a Membrane Based on the Dielectrophoresis, Springer, 69-78 (2015)
- III-2 安川智之・水谷文雄：誘電泳動を利用した細胞配列，三次元ティッシュエンジニアリング技術最前線 第1編第3章第5節，株式会社エヌティエス，149-158, (2015)

- III-3 安川智之・守島 麻・吉本敬太郎 (東大)・水谷文雄：誘電泳動による迅速な細胞凝集塊の形成，第75回分析化学討論会，山梨大学 (山梨県甲府市)，2015年5月24日
- III-4 川島綾香・水谷文雄・安川智之：誘電泳動による超高速細胞アレイの作製と免疫反応結合力計測への応用，第75回分析化学討論会，山梨大学 (山梨県甲府市)，2015年5月24日
- III-5 後藤卓真・安川智之・水谷文雄：走査型誘電泳動による多孔質膜への自由度の高い粒子パターンの作製，第75回分析化学討論会，山梨大学 (山梨県甲府市)，2015年5月24日
- III-6 T. Yasukawa, K. Tominaga, S. Arimoto, K. Shimono, T. Yoshioka, F. Mizutani: Quantitative immunochromatographic assay based on electrochemical detection systems, ISMM2015, Kyoto University (京都府京都市), 8-10 June 2015
- III-7 安川智之：細胞膜表面抗原の免疫ラベルと誘電現象に基づく稀少細胞の分離回収，バイオアセンブラ領域会議 大阪大学 (大阪府豊中市)，2015年7月3日
- III-8 水谷文雄・安川智之：迅速，簡便，高感度なバイオセンシング，COCN研究会「安全・安心・快適を実現する空間ソリューション」キックオフミーティング，パナソニック東京汐留ビル (東京都港区)，2015年7月22日
- III-9 (ポスター賞受賞) 田中泰周・安川智之・水谷文雄：マイクロ流体デバイスを用いた誘電泳動による微粒子のサイズ別分離，平成27年度日本分析化学会近畿支部平成夏季セミナー，アクティブプラザ琵琶 (滋賀県高島市)，2015年8月1-2日
- III-10 後藤卓真・安川智之・水谷文雄：ニードル型マイクロ電極を用いた走査型誘電泳動による多孔質膜への自由度の高い細胞パターンの作製，2015年度電気化学秋季大会，埼玉工業大学 (埼玉県深谷市)，2015年9月11-12日
- III-11 T. Yasukawa, Y. Yoshimura, M. Tomita (三重大), Fumio Mizutani: Rapid Formation of Single-Cell Pairs on a Microwell Array Using Dielectrophoresis, Tokyo International Conference 2015, Makuhari Messe (千葉県千葉市), 3 September, 2015
- III-12 A. Kawashima, F. Mizutani, T. Yasukawa: Direct Estimation of the Interaction between Cell Surface Antigen and Antibody on Solid Phase Using Dielectrophoresis, Tokyo International Conference 2015, Makuhari Messe (千葉県千葉市), 3 September, 2015
- III-13 吉村友希・富田昌弘 (三重大)・水谷文雄・安川智之：マイクロウェル内での細胞ペア形成による細胞融合の高効率化，分析化学会第64年会，九州大学 (福岡県福岡市)，2015年9月9日
- III-14 T. Yasukawa, Y. Minakuchi, H. Hatanaka, F. Mizutani, Negative dielectrophoretic separation of cells based on the expression of specific surface antigen, The 66th Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry, (台湾, 台北) 4-9 October, 2015
- III-15 T. Yasukawa, F. Mizutani: Formation of cell-particle complexes by negative dielectrophoresis for rapid discrimination of an expression of surface antigen, 11th Asian Conference on Chemical Sensors, (マレーシア, ペナン), 16 November, 2015
- III-16 (受賞講演) 安川智之：バイオセンシングシステムの迅速化，簡素化，高感度化，第61回ポーラログラフイーおよび電気分析化学討論会，イーグレひめじ (兵庫県姫路市)，2015年11月24-25日
- III-17 (ポスター賞) 後藤卓真・安川智之・水谷文雄：走査型誘電泳動による多孔質膜への自由度の高い粒子配列体の作製，化学とマイクロ・ナノシステム学会 第32回研究会，北九州国際会議場 (福岡県北九州市)，2015年11月26-27日
- III-18 川島綾香・安川智之・水谷文雄：誘電泳動を用いた細胞表面抗原-抗体間の結合力計測法の開発，化学とマイクロ・ナノシステム学会 第32回研究会，北九州国際会議場 (福岡県北九州市)，2015年11月26-27日
- III-19 後藤卓真・安川智之・水谷文雄：ニードル型マイクロ電極を用いた誘電泳動による自由度の高い細胞マイクロパターンニング技術の開発，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2015，

- 姫路・西はりま地場産業センター (兵庫県姫路市), 2015年12月10日
- III-20 (ポスター賞) 川島綾香・安川智之・水谷文雄: ウェルアレイ電極を用いた誘電泳動による免疫反応結合合力計測, 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2015, 姫路・西はりま地場産業センター (兵庫県姫路市), 2015年12月10日
- III-21 安川智之・吉村友希・水谷文雄: 誘電泳動を用いた細胞操作法の「創る」, 「測る」への応用, 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2015, 姫路・西はりま地場産業センター (兵庫県姫路市), 2015年12月10日
- III-22 T. Yasukawa, Y. Yoshikura, M. Tomita, F. Mizutani: Rapid and highly-effective formation of precise single-cell pairing based on dielectrophoresis, Pacificchem 2015 Bio/chemical Approaches for Single Cell Biosensing Technologies, (米国, ホノルル), 18 December, 2015
- III-23 安川智之: 細胞膜表面抗原の免疫ラベルと誘電現象に基づく稀少細胞の分離回収, バイオアセンブラ第10回公開シンポジウム, 東京大学 (東京都目黒区), 2016年3月22日
- III-24 安川智之・田中泰周・水谷文雄: 微小孔を有するマイクロディスク電極を用いた誘電泳動による細胞の捕捉と再配置, 電気化学会第83回大会, 大阪大学 (大阪府吹田市), 2016年3月31日

大学院物質理学研究科

博士後期課程

吉村 友希: 誘電泳動現象に基づく細胞配列化を利用した細胞融合システムの構築に関する研究

博士前期課程

居垣 雄貴: 電気化学顕微鏡を用いた拍動する筋管細胞の酸素消費測定

川島 綾香: 誘電泳動を用いた細胞表面抗原 - 抗体間の結合合力計測

後藤 卓真: 走査型誘電泳動による多孔質膜への自由度の高い粒子配列体の作製

鋤崎 武彦: 化学増幅システムを用いた高感度な電気化学免疫センサの開発

田口 潤: Pt錯体の電解還元阻害を利用したDNAセンシング

田中 泰周: 表面膜タンパク質の発現量に基づく細胞分離

富永 浩平: ワンステップ電気化学イムノクロマトグラフィー

長谷川俊佳: アプタマーと白金錯体の相互作用を利用した高感度バイオセンシング

科学研究費補助金等

1 科学研究費補助金 (平成26~28年度) 基盤研究B

研究課題 機能性粒子によるシグナル増幅法を採用した超高感度バイオマーカーの免疫アッセイ

研究代表者 水谷文雄

研究分担者 安川智之

2 科学研究費補助金 (平成26~27年度) 新学術領域 (バイオアセンブラ)

研究課題 細胞膜表面抗原の免疫ラベルと誘電現象に基づく稀少細胞の分離回収

研究代表者 安川智之

3 科学研究費補助金 (平成25~27年度) 基盤研究C

研究課題 細胞リソグラフィーによる異種細胞配列体の形成と電気化学的機能評価

研究代表者 安川智之

4 科学研究費補助金 (平成27~28年度) 挑戦的萌芽研究

研究課題 細胞機能・分化に影響を与える物理刺激パターンを解明する新規評価用デバイスの開発

研究代表者 吉本敬太郎 (東京大学)

研究分担者 安川智之

5 共同研究費（パナソニック株式会社） 平成27年度

研究課題 高感度電気化学測定に関する研究

研究代表者 水谷文雄・安川智之

6 平成27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 多段階化学増幅システムを搭載した高感度免疫計測システムの開発

研究代表者 安川智之

7 科学研究費補助金（平成24～27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）

研究分担者 水谷文雄・安川智之