

I 電気化学バイオセンサ

Electrochemical biosensors

安川智之・松原則男

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

安川智之・松原則男

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

安川智之・松原則男
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。ウェル内の個々の細胞を対象とした発現タンパク質計測を行っている。また、電気パルス印加による高効率なエレクトロポレーション、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、発現量別細胞分離へと応用展開したい。

発表論文 List of Publications

- I-1 S. Arimoto (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): Improvement of Electrochemical Response of Cocaine Sensors Based on DNA Aptamer by Heat Treatment, *Anal. Sci.*, 32(4), 469-472 (2016).
- I-2 T. Hokuto, T. Yasukawa, R. Kunikata (日本航空電子工業), A. Suda (日本航空電子工業), K. Y. Inoue (東北大), K. Ino (東北大), T. Matsue (東北大), F. Mizutani: Simultaneous Immunosensing of different analytes in multiple specimens based on an imaging of enzyme activity by Bio-LSI, *Biotechnol. J.*, 11, 838-842 (2016).
- I-3 K. Tominaga, F. Mizutani, T. Yasukawa: Development of immunochromatography incorporated with electrochemical systems for detecting the activity of labeled enzyme, Symposium on Chemical Sensors 12: Chemical and Biological Sensors and Analytical Systems, Pacific Rim Meeting on Electrochemical and Solid-State Science, Hawaii Convention Center & Hilton Hawaiian Village (Honolulu, Hawaii, USA), 2-7 October, 2016.
- I-4 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): Design of detection system using ferrocene conjugated DNA aptamer and exonuclease III, Proceedings of the 61th Chemical Sensor Symposium, 33, 54-56 (2017).
- I-5 長谷川倭佳・水谷文雄・安川智之: 白金錯体の電解還元法を利用したDNA計測法の送液システムへの応用, 第76回分析化学討論会, 岐阜薬科大学・岐阜大学 (岐阜県岐阜市), 2016年5月28-29日
- I-6 長谷川倭佳・安川智之・水谷文雄: 白金錯体を増感剤としたDNA計測法のフローシステムへの応用, 平成28年度 日本分析化学会近畿支部平成夏季セミナー ぶんせき秘帖 巻ノ十, 赤とんぼ荘 (兵庫県たつの市), 2016年7月28-29日.
- I-7 富永浩平・安川智之・水谷文雄: シングルステップ電気化学イムノクロマトグラフィーの開発, 平成28年度 日本分析化学会近畿支部平成夏季セミナー ぶんせき秘帖 巻ノ十, 赤とんぼ荘 (兵庫県たつの市), 2016年7月28-29日.
- I-8 大谷由華子・水谷文雄・安川智之: マイクロウェルアレイ電極を用いた酵素包括アルギン酸粒子の開発, 平成28年度 日本分析化学会近畿支部平成夏季セミナー ぶんせき秘帖 巻ノ十, 赤とんぼ荘 (兵庫県たつの市), 2016年7月28-29日.

- I-9 岡崎 仁・水谷文雄・安川智之：誘電泳動を用いて免疫捕捉した微粒子の酵素活性計測による高感度化，平成28年度 日本分析化学会近畿支部平成夏季セミナー ぶんせき秘帖 巻ノ十，赤とんぼ荘（兵庫県たつの市），2016年7月28-29日。
- I-10 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 immunochromatography with electrochemical detection systems, RSC Tokyo International Conference (JASIS Conference, International Session), Makuhari Messe (千葉県千葉市), 8-9 September, 2016.
- I-11 長谷川倭佳・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：DNA アプタマーに結合するシスプラチンの電析によるプロトン触媒還元を利用したセンシング，第62回ポーラログラフイーおよび電気分析化学討論会，宮古島市中央公民館大ホール（沖縄県宮古島市），2016年11月19-21日
- II-1 (表紙に採用) J. Yoshioka (東大), T. Yoshitomi (東大), T. Yasukawa, K. Yoshimoto (東大): Alternation of Gene Expression Levels in Mesenchymal Stem Cells by Applying Positive Dielectrophoresis, *Anal. Sci.*, 32(11), 1213-1216 (2016).
- II-2 吉岡純矢 (東大) ・安川智之・吉本敬太郎 (東大)：鋸型電極の誘電泳動を利用する細胞の分離・凝集・力覚分析用デバイスの開発，第76回分析化学討論会，岐阜薬科大学・岐阜大学（岐阜県岐阜市），2016年5月28-29日
- II-3 J. Yoshioka (東大), T. Yoshitomi (東大), T. Yasukawa, K. Yoshimoto (東大): Dielectrophoresis device with saw-shaped electrode as a tool for applying mechanical stress to cell, 2nd international symposium on Nanoarchitectonics for Mechanobiology, NIMS (茨城県つくば市), 27-28 July, 2016.
- II-4 安川智之・居垣雄貴・水谷文雄：電気刺激により収縮する骨格筋細胞の酸素消費計測，化学とマイクロ・ナノシステム学会 第34回研究会，幕張メッセ（千葉県千葉市），2016年9月6-7日
- II-5 T. Yasukawa, Y. Igaki, F. Mizutani: Monitoring of oxygen for contracting myotube with the electrochemical microscopy, RSC Tokyo International Conference (JASIS Conference, International Session), Makuhari Messe (千葉県千葉市), 8-9 September, 2016.
- II-6 安川智之・居垣雄貴・水谷文雄：電気化学顕微鏡を用いた拍動する筋管細胞の酸素消費，第62回ポーラログラフイーおよび電気分析化学討論会，宮古島市中央公民館大ホール（沖縄県宮古島市），2016年11月19-21日
- III-1 T. Tanaka, F. Mizutani, T. Yasukawa: Dielectrophoretic Tweezers for Pickup and Relocation of Individual Cells Using Microdisk Electrodes with a Microcavity, *Electrochemistry*, 84(5), 361-363 (2016).
- III-2 (招待講演) T. Yasukawa, F. Mizutani: Rapid formation of single-cell pairs for hybrid cells, Symposium on Chemical Sensors 12: Chemical and Biological Sensors and Analytical Systems, Pacific Rim Meeting on Electrochemical and Solid-State Science, Hawaii Convention Center & Hilton Hawaiian Village (Honolulu, Hawaii, USA), 2-7 October, 2016.
- III-3 T. Tanaka, F. Mizutani, T. Yasukawa: Dielectrophoretic manipulation for picking up and relocating single cells by a microdisk electrode with microcavity, Symposium on Chemical Sensors 12: Chemical and Biological Sensors and Analytical Systems, Pacific Rim Meeting on Electrochemical and Solid-State Science, Hawaii Convention Center & Hilton Hawaiian Village (Honolulu, Hawaii, USA), 2-7 October, 2016.
- III-4 T. Yasukawa, T. Tanaka, F. Mizutani: Relocation of individual cells to form patterns based on dielectrophoresis using microdisk electrode with cavity, 2016 International Symposium on Micro-NanoMechatronics and Human Science (MHS2016), Nagoya University (愛知県名古屋市), 28-30 November, 2016.
- III-5 安川智之：誘電泳動による操作，細胞の特性計測・操作と応用 第1編第2章第4節，コロナ社，147-159

- (2016).
- III-6 安川智之：電場を利用した細胞分離，細胞の特性計測・操作と応用 第1編第3章第5節，コロナ社，237-248 (2016).
- III-7 (特別ポスター講演) 安川智之・水谷文雄：誘電泳動による表面抗原発現細胞の識別と分離，化学とマイクロ・ナノシステム学会 第33回研究会，東京大学生産技術研究所（東京都目黒区），2016年4月25-26日
- III-8 田中泰周・水谷文雄・安川智之：マイクロ流路デバイスを用いた誘電泳動による微粒子サイズ別分離技術の開発，化学とマイクロ・ナノシステム学会 第33回研究会，東京大学生産技術研究所（東京都目黒区），2016年4月25-26日
- III-9 安川智之・後藤卓真・田中泰周・水谷文雄：マイクロディスク電極を利用した誘電泳動による細胞配列，第76回分析化学討論会，岐阜薬科大学・岐阜大学（岐阜県岐阜市），2016年5月28-29日
- III-10 (招待講演) T. Yasukawa: Simple and rapid biosensing system based on manipulation techniques of particles and cells, The 16th International Meeting on Chemical Sensors (IMCS2016), Ramada Plaza Jeju (Jeju Island, Korea), 10-13 July, 2016
- III-11 安川智之：ぶんせき秘帖の歩み，平成28年度 日本分析化学会近畿支部平成夏季セミナー ぶんせき秘帖 巻ノ十，赤とんぼ荘（兵庫県たつの市），2016年7月28-29日。
- III-12 吉村友希・富田昌弘・水谷文雄・安川智之：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，平成28年度 日本分析化学会近畿支部平成夏季セミナー ぶんせき秘帖 巻ノ十，赤とんぼ荘（兵庫県たつの市），2016年7月28-29日。
- III-13 菅野尊公・水谷文雄・安川智之：三重極マイクロバンド電極を用いた誘電泳動による迅速かつ簡便な微粒子配列体の作製，平成28年度 日本分析化学会近畿支部平成夏季セミナー ぶんせき秘帖 巻ノ十，赤とんぼ荘（兵庫県たつの市），2016年7月28-29日。
- III-14 田中泰周・水谷文雄・安川智之：マイクロ流体デバイスを用いた誘電泳動による微粒子サイズ別分離技術の開発，平成28年度 日本分析化学会近畿支部平成夏季セミナー ぶんせき秘帖 巻ノ十，赤とんぼ荘（兵庫県たつの市），2016年7月28-29日。
- III-15 (ポスター賞受賞) 菅野尊公・水谷文雄・安川智之：三重極マイクロバンド電極を用いた誘電泳動による迅速な細胞配列体の作製，化学とマイクロ・ナノシステム学会 第34回研究会，幕張メッセ（千葉県千葉市），2016年9月6-7日
- III-16 安川智之・吉村友希・富田昌弘・水谷文雄：異種細胞ペアの電気パルス融合によるハイブリッド細胞の作製，日本分析化学会第65年会，北海道大学（北海道札幌市），2016年9月14-16日
- III-17 安川智之：誘電泳動による迅速で簡便な細胞操作～細胞を自由自在に動かし，速く簡単に「作る」，「測る」に応用～，兵庫県立大学知の交流シンポジウム2016，姫路商工会議所（兵庫県姫路市），2016年9月26日
- III-18 T. Yasukawa, T. Tanaka, F. Mizutani: Pickup and relocation of individual cells based on dielectrophoresis using a microdisk electrode with microcavity, 第27回日本MRS年次大会，波止場会館（神奈川県横浜市），2016年12月19日
- III-19 安川智之：迅速で簡便な細胞操作法の「創る」と「測る」への応用，神戸大学/兵庫県立大学間交流セミナー，兵庫県立先端科学技術支援センター（兵庫県赤穂郡），2017年1月6日
- III-20 安川智之：誘電泳動と微粒子ラベルによる細胞分離，平成28年度富山大学 研究推進機構 水素同位体科学研究センター「一般共同研究成果報告会」，富山大学（富山県富山市），2017年3月6日
- III-21 安川智之：迅速で簡便な細胞操作法の「創る」と「測る」への応用，次世代水素触媒共同研究センター H28シンポジウム，じばさんびる（兵庫県姫路市），2017年3月13日
- III-22 安川智之・後藤卓真・水谷文雄：ニードル型マイクロ電極を用いた異種細胞配列体の作製，電気化学会第84回大会，首都大学東京（東京都八王子市），2017年3月25-27日

大学院物質理学研究科

博士後期過程

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

博士前期過程

田中泰周：誘電泳動現象を用いたマイクロ流路中における粒子の流れ位置制御

富永浩平：シングルステップ電気化学イムノクロマトグラフィーの開発

長谷川倭佳：電極への白金析出を利用したシスプラチンのアプタマーへの結合特性

岡崎 仁：誘電泳動による微粒子配列化を利用した免疫測定法の開発

菅野尊公：三重極マイクロバンド電極を用いた誘電泳動による迅速で簡便な微粒子配列体の作製

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28～30年度） 基盤研究B
研究課題 パターン化単一筋管細胞の拍動に伴う代謝活性評価法の開発
研究代表者 安川智之
- 3 科学研究費補助金（平成28～29年度） 挑戦的萌芽研究
研究課題 固定化不要な電気化学アプタマーセンサの開発
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28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 安川智之
- 6 平成28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 誘電泳動と微粒子ラベルによる細胞分離
研究代表者 安川智之