

## 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。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。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 水谷文雄：今後の製品開発に向けた売れるバイオセンサーへのアプローチ手法，バイオセンサの先端科学技術と新製品への応用開発，2部3節，技術情報協会，59-62，(2014)
- I-2 水谷文雄：売れる医療用バイオセンサ開発に向けたアプローチ，次世代医療・ヘルスケア機器のデバイス技術と最新開発事例集，第2章第4節，技術情報協会，74-78，(2014)
- I-3 水谷文雄：バイオセンシング技術の市場動向から読み解くバイオセンサの将来像と方向性，10年後の市場・技術予測とそこから読み解く必然の研究テーマ，第2部第5章第2節，技術情報協会，266-269，(2014)
- I-4 水谷文雄：バイオセンサー，化学便覧 応用化学編第7版V，日本化学会編，丸善，第23章第3節4，1416-1419，(2014)
- I-5 T. Yasukawa, M. Koide (国立環境研), N. Tatarazako (国立環境研), R. Abe (国立環境研), H. Shiku (東北大), F. Mizutani, T. Matsue (東北大): Detection of the oxygen consumption rate of migrating zebrafish by electrochemical equalization systems, *Anal. Chem.*, 86(1), 304-307 (2014)
- I-6 T. Yasukawa, Y. Yamashita, R. Moede, D. Nakayama, S. Iijima (産総研), F. Mizutani: A DNA hybridization sensor based on catalytic response by platinum deposition, *Analyst*, 140, 1014-1018 (2015)
- I-7 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(2), 99-104 (2015)
- I-8 S. Arimoto (パナソニック), T. Yasukawa, F. Mizutani, T. Yoshioka (パナソニック): Design of highly sensitive measurement system using ionic liquid monitoring electrode potential, Proceedings of the 56th Chemical Sensor Symposium, (2014)
- I-9 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-10 鋤崎武彦・安川智之・水谷文雄：誘電泳動による迅速なBOD固定化電極の作製とバイオ燃料電池のカソードへの応用，日本分析化学会近畿支部 ぶんせき秘帖巻の八，神戸セミナーハウス（兵庫県神戸市），2014年8月9日
- I-11 田口 潤・安川智之・水谷文雄：白金メッシュ電極を組み込んだ送液システムによるレドックス分子の高効率電解，日本分析化学会近畿支部 ぶんせき秘帖 巻の八，神戸セミナーハウス（兵庫県神戸市），2014年8月9日
- I-12 T. Yasukawa, Y. Kiba, Y. Otani, F. Mizutani: Quantitative immunochromatography by detection redox species flowing in a membrane, 65th Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry, (Lausanne, Switzerland), 1st Sep 2014
- I-13 安川智之・萌出 陸・水谷文雄：電極表面への白金析出に伴うプロトン触媒還元能の獲得とバイオセンシングへの応用 表面技術協会第130回講演大会 京都大学吉田キャンパス(京都府京都市)2014年9月23日

- I-14 安川智之・小出昌弘 (国立環境研)・末永智一 (東北大)・水谷文雄：クーロメトリーによるゼブラフィッシュの呼吸活性の測定，第60回ポーラログラフイーおよび電気分析化学討論会，京都工芸繊維大学 (京都府京都市)，2014年11月15日－16日
- I-15 窪田慎太郎(兵庫県大生命理学)・山崎 徹(兵庫県大工学)・矢澤哲夫(兵庫県大工学)・安川智之・水谷文雄・樋口芳樹(兵庫県大生命理学)：ヒドロゲナーゼの性質の電気化学的解析と修飾用電極の探索，第60回ポーラログラフイーおよび電気分析化学討論会，京都工芸繊維大学 (京都府京都市)，2014年11月15日－16日
- I-16 (招待講演) 水谷文雄：高感度，迅速，簡便な免疫測定法の開発 -バイオセンサの利用拡大を目指して- 第58回化学センサ研究発表会，横浜国立大学 (神奈川県横浜市)，2015年3月15日－17日
- I-17 安川智之・木葉祐也・富永浩平・水谷文雄：電気化学イムノクロマトグラフイーによるアルブミンとクレアチニンの検出，電気化学会第82回大会，横浜国立大学 (神奈川県横浜市)，2015年3月15日－17日
- II-1 T. Hokuto, T. Yasukawa, R. Kunikata (航空電子), A. Suda (航空電子), K. Y. Inoue (東北大), T. Matsue (東北大), F. Mizutani: Electrochemical Activity Imaging of Enzymes Immobilized on Substrates Based on a Bio-LSI System, *Chem. Lett.*, 43(6), 758-759 (2014)
- II-2 T. Hokuto, T. Yasukawa, R. Kunikata (航空電子), A. Suda (航空電子), K. Y. Inoue (東北大), K. Ino (東北大), T. Matsue (東北大), F. Mizutani: Simultaneous Measurements of Immuno-Complexes Formed in Intersections of the Microchannels based on Bio-LSI Systems, *Proceedings of the 57th Chemical Sensor Symposium*, (2014)
- II-3 北東俊輝・安川智之・國方亮太 (航空電子)・須田篤史 (航空電子)・井上(安田)久美 (東北大)・末永智一 (東北大)・水谷文雄：バイオLSI計測システムを用いた多項目多サンプル同時免疫計測システムの開発，第74回分析化学討論会，日本大学工学部 (福島県郡山市)，2014年5月24日－25日
- II-4 安川智之：迅速，簡便，高感度なバイオセンシング，COCN研究会「安心・安全の実現に向けた空気浄化技術」キックオフミーティング，パナソニック東京 (東京都江東区)，2014年7月24日
- II-5 居垣雄貴・安川智之・水谷文雄：アレイ化筋管細胞の拍動と電気化学的呼吸量測定，日本分析化学会近畿支部 ぶんせき秘帖 巻の八，神戸セミナーハウス (兵庫県神戸市)，2014年8月9日
- II-6 北東俊輝・安川智之・國方亮太・須田篤史・井上(安田)久美・伊野浩介・末永智一・水谷文雄：バイオLSIによるマイクロ流路の格子点に形成された免疫複合体の一括同時計測，2014年電気化学秋季大会，北海道大学 (北海道札幌市)，2014年9月27日
- II-7 (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，兵庫県立健康生活科学研究所・兵庫県立大理学部講演会，兵庫県立大学 (兵庫県上郡町)，2014年12月9日。
- II-8 居垣雄貴・水谷文雄・安川智之：電気化学顕微鏡を用いた拍動するC2C12筋管細胞の酸素消費量測定，電気化学会第82回大会，横浜国立大学 (神奈川県横浜市)，2015年3月15日－17日
- III-1 Y. Yoshimura, C. Fujii, M. Tomita (三重大), F. Mizutani, T. Yasukawa: Array of single-cell pairs on a microwell array based on positive dielectrophoresis, *Chem. Lett.*, 43(7), 980-981 (2014)
- III-2 T. Horii, M. Yamamoto, T. Yasukawa, F. Mizutani: Rapid formation of cell-particle complexes via dielectrophoretic manipulation for the detection of surface antigens, *Biosens. Bioelectron.*, 61, 215-221 (2014)
- III-3 Y. Yoshimura, M. Tomita (三重大), F. Mizutani, T. Yasukawa, Cell Pairing Using Microwell Array Electrodes Based on Dielectrophoresis, *Anal. Chem.*, 86, 6818-6822 (2014)
- III-4 安川智之・水谷文雄：誘電泳動を利用した表面抗原の迅速検出技術，*Electrochemistry*, 82(11), 993-999 (2014)
- III-5 T. Yasukawa, F. Mizutani: Discrimination of Cells with Specific Antigens Expressed on a Membrane Based on the Dielectrophoresis, *Hyper Bio Assembler for 3D Cellular Systems*, Chapter 5, Springer, 69-78 (2015)

- III-6 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-7 Y. Minakuchi, T. Yasukawa, F. Mizutani: Evaluation of cell differentiation based on the capture of cells with specific antigen by dielectrophoresis, Proceedings of the 56th Chemical Sensor Symposium, (2014)
- III-8 T. Yasukawa, F. Mizutani: Separation of cells expressed specific antigen on the surface based on dielectrophoresis, World Automation Congress Proceedings, Article number 6935642, 13-18 (2014)
- III-9 T. Yasukawa, Y. Yoshimura, M. Tomita (三重大), F. Mizutani: Rapid Formation of Single-Cell Pairs on a Microwell Array with Dielectrophoresis, Proceedings of the 18th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences, MicroTAS 2014, 449-451 (2014)
- III-10 T. Yasukawa, Y. Yoshimura, F. Mizutani: Cell pairing on a microwell array electrode by positive dielectrophoresis, 2014 International Symposium on Micro-NanoMechatronics and Human Science, MHS 2014 (2014)
- III-11 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，新学術領域「超高速バイオアセンブラ」公募研究キックオフミーティング，東京大学先端科学技術研究センター（東京都目黒区），2014年4月25日
- III-12 T. Yasukawa: Application of dielectrophoretic manipulation of particles and cells for simple and rapid formation of patterns and sensing, Institute of Biomedical Engineering, National Cheng Kung University (Tainan, Taiwan), 15 May, 2014
- III-13 （招待講演）T. Yasukawa: Discrimination of cells with specific antigen expressed on membrane based on the dielectrophoresis, 19th Annual Conference of Chemical Sensors, Pingtung University of Science and Technology, Pingtung (Tainan, Taiwan), 17 May 2014
- III-14 吉村友希・富田昌弘（三重大）・水谷文雄・安川智之：マイクロウェル内への細胞誘導による迅速な一括ペアリング，化学とマイクロ・ナノシステム学会第29回研究会，日本女子大学目白キャンパス（東京都文京区），2014年5月22-23日
- III-15 川島綾香・安川智之・水谷文雄：抗原-抗体反応により捕捉した細胞の脱離に要する誘電泳動力の調査，化学とマイクロ・ナノシステム学会第29回研究会，日本女子大学目白キャンパス（東京都文京区），2014年5月22-23日
- III-16 （ポスター賞受賞）守島 麻・安川智之・吉本敬太郎（東大）・水谷文雄：直交型四重極電極を用いた誘電泳動による迅速な細胞凝集体の作製，第74回分析化学討論会，日本大学工学部（福島県郡山市），2014年5月24日-25日
- III-17 守島 麻・安川智之・吉本敬太郎（東大）・水谷文雄：直交型四重極電極を用いた誘電泳動による迅速な細胞凝集体の作製，バイオアセンブラ第7回公開シンポジウム，東京大学駒場キャンパス（東京都文京区），2014年7月4日
- III-18 （ポスター賞受賞）吉村友希・富田昌弘・水谷文雄・安川智之：マイクロウェルアレイ電極を用いたミエローマ細胞とB細胞の一括ペアリング，バイオアセンブラ第7回公開シンポジウム，東京大学駒場キャンパス（東京都文京区），2014年7月4日
- III-19 吉村友希・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，新学術領域「超高速バイオアセンブラ」第6回領域会議，東京大学生産技術研究所（東京都目黒区），2014年7月5日
- III-20 T. Yasukawa, F. Mizutani: Separation of cells expressed specific antigen on the surface based on dielectrophoresis, WAC2014, IFMIP, Hilton Waikoloa Village (Waikoloa, Hawaii, USA), 4 August, 2014
- III-21 （ポスター賞受賞）後藤卓真・安川智之・水谷文雄：マイクロ電極をプローブとした走査型誘電泳動によるアルミナ膜へのフレキシビリティの高い粒子パターン作製，日本分析化学会近畿支部 ぶんせき秘帖 巻の八，神戸セミナーハウス（兵庫県神戸市），2014年8月9日

- III-22 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細胞捕捉と回収 ～生体認識反応の結合力解析を目指して～，日本分析化学会近畿支部 ぶんせき秘帖 巻の八，神戸セミナーハウス (兵庫県神戸市)，2014年8月9日
- III-23 (ポスター賞受賞) Y. Yoshimura, M. Tomita (三重大), F. Mizutani, T. Yasukawa: Rapid fabrication of pairs of different types of cells on a microwell array based on dielectrophoresis, 65th Annual Meeting of the International Society of Electrochemistry, (Lausanne, Switzerland), 1 Sep 2014
- III-24 水口悠暉・水谷文雄・安川智之：誘電泳動フェノタイピングによる分化の評価，第8回バイオ関連化学，岡山大学 (岡山県岡山市)，2014年9月11日
- III-25 安川智之・吉村友希・富田昌弘 (三重大)・水谷文雄：誘電泳動による細胞ペアリングと高効率な電気パルス融合，分析化学会第63年会，広島大学東広島キャンパス (広島県東広島市)，2014年9月17日。
- III-26 吉村友希・富田昌弘 (三重大)・水谷文雄・安川智之：ミエローマ細胞捕捉マイクロウェルへのB細胞の誘導とペア形成，2014年電気化学秋季大会，北海道大学 (北海道札幌市)，2014年9月27日
- III-27 守島 麻・安川智之・吉本敬太郎 (東大)・水谷文雄：誘電泳動による均一な細胞凝集体の作製，化学とマイクロ・ナノシステム学会第30回研究会，北海道大学 (北海道札幌市)，2014年10月2-3日
- III-28 後藤卓真・安川智之・水谷文雄：マイクロ電極をプローブとした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，化学とマイクロ・ナノシステム学会第30回研究会，北海道大学 (北海道札幌市)，2014年10月2-3日
- III-29 T. Yasukawa, Y. Yoshimura, M. Tomita (三重大), F. Mizutani: Rapid Formation of Single-Cell Pairs on a Microwell Array with Dielectrophoresis, The 18<sup>th</sup> International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and life Science, San Antonio (Texas, USA), 28<sup>th</sup> Oct 2014
- III-30 T. Yasukawa, Y. Yoshimura, F. Mizutani: Cell pairing on a microwell array electrode by positive dielectrophoresis, 25th 2014 International Symposium, on Micro-NanoMechatronics and Human Science, Nagoya University (愛知県名古屋市), 11 Nov. 2014
- III-31 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，新学術領域「超高速バイオアセンブラ」名古屋大学 (愛知県名古屋市)，2014年11月12日
- III-32 (招待講演) 安川智之：誘電泳動による迅速なバイオ粒子操作とセンシングへの応用展開，第4回異分野融合若手研究者 Science & Technology クラブ じばさんびる (兵庫県姫路市)，2014年11月25日。
- III-33 T. Yasukawa, Y. Yoshimura, M. Tomita (三重大), F. Mizutani: Vertical pairing of different types of cells in microwells by positive dielectrophoresis, 24<sup>th</sup> MRS-J G: Nano-biotechnologies on Interface, Yokohama Media & Communications Center (神奈川県横浜市), 12 Dec 2014
- III-34 吉村友希・富田昌弘 (三重大)・水谷文雄・安川智之：誘電泳動を利用した異種細胞のマイクロウェルへの捕捉と迅速なペア形成，Cat-on-Catシンポジウム2014「水素エネルギー社会に向けての触媒科学と技術」，兵庫県立大学 (兵庫県姫路市)，2014年12月13日
- III-35 川島綾香・安川智之・水谷文雄：免疫反応結合力計測のためのウェルアレイ内への細胞の捕捉と除去，Cat-on-Catシンポジウム2014「水素エネルギー社会に向けての触媒科学と技術」，兵庫県立大学 (兵庫県姫路市)，2014年12月13日
- III-36 安川智之・吉村友希・富田昌弘・水谷文雄：誘電泳動を利用した超高速細胞ペアリング，日本機械学会第27回バイオエンジニアリング講演会 バイオMEMSとバイオテクノロジー，朱鷺メッセ新潟コンベンションセンター (新潟県新潟市)，2015年1月10日
- III-37 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，新学術領域「超高速バイオアセンブラ」，名古屋大学東京オフィス (東京都千代田区)，2015年2月2日
- III-38 安川智之・後藤卓真・水谷文雄：ニードル型マイクロ電極をプローブとした誘電泳動による粒子配列，表面技術協会 第131回講演大会 関東学院大学横浜・金沢八景キャンパス (神奈川県横浜市)，2015年3

月4-6日.

- III-39 安川智之・阿部孝之：誘電泳動を用いた迅速で簡便な細胞表面抗原の識別，平成26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（富山県富山市），2015年3月10日
- III-40 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，新学術領域「超高速バイオアセンブラ」第7回領域会議，湯元富士屋ホテル(神奈川県箱根町)，2015年3月22日
- III-41 （招待講演）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，新学術領域「超高速バイオアセンブラ」第8回公開シンポジウム，東京大学駒場キャンパス（東京都文京区），2015年3月24日.

## 大学院物質理学研究科

博士後期過程

吉村友希：超高速細胞アレイの構築とハイブリドーマテクノロジーの開発

博士前期過程

北東俊輝：バイオLSIによる多サンプル同時並列処理型多項目一括計測システムの開発

水口悠暉：誘電泳動による細胞分化識別

守島 麻：電気回転現象を用いた細胞識別システムの開発

居垣雄貴：電気化学顕微鏡を用いた筋管細胞の呼吸量計測

川島綾香：誘電泳動による抗原-抗体反応の結合力測定

後藤卓真：走査型誘電泳動法による細胞配列法の開発

鋤崎武彦：酵素固定化電極の機能評価

田口 潤：全電解法を利用した高感度免疫測定法の開発

## 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 共同研究費（パナソニック株式会社） 平成26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
- 4 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
- 5 平成26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 誘電泳動を用いた迅速で簡便な細胞表面抗原の識別  
研究代表者 安川智之
- 6 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）  
研究分担者 水谷文雄・安川智之