マイクロ・ナノ電極を利用する環境・医工学バイオ センサデバイスおよび材料評価システムの開発

Development of Environmental/Biomedical Sensors and Visualization Systems for Material Functions with Micro/Nano Electrodes



(工学研究科 兼任) Professor Hitoshi Shiku

現在、微小なデバイスのバイオ応用・環境モニタリングに大きな期待が寄せられている。これらのデバイスを用いることで、これまで難しかった 生体現象を観察することや、簡便かつ迅速な環境評価・医療用検査が可能になっている。また、生体を模倣した微小な細胞チップを作製することで、 再生医療応用や生体内での化学物質のモニタリングが可能になる。このような目的のために、我々はマイクロ・ナノシステムを組み込んだ電気化 学デバイスの開発を行った。

Micro/nano-devices are in continual demand in biological science and engineering, as well as achieving in accurate analytical information. We have developed micro/nano-electrochemical systems for environmental/biomedical applications and the evaluation of battery materials. We are also investigating the role of the tissue microenvironment, utilizing a microfluidic device, and scanning probe microscopy. These devices are useful in environmental monitoring, medical, and engineering applications.

生体モデル (細胞凝集塊、血管) 用センサの開発

細胞凝集塊 (スフェロイド) は、生体内環境を部分的に再現可能な 培養法として期待されている。スフェロイドの呼吸活動を定量的に評 価可能なセンサとして、電気化学発光を利用した新たなシステムを報 告した (Biosensors and Bioelectronics, 181, 113123 (2021)、 Fig.2)。本成果は、簡便な操作で複数の細胞組織の同時評価を実現 したものであり、今後臨床現場への展開が期待される。

また、血管モデル用のセンサシステムを複数報告した。多孔性のメ ンブレンやハイドロゲル表面に血管内皮細胞をシート状に培養し、透 過性や血管の形成過程を評価するモデルに利用されている。この血管 のシートを、血流を模した流れが付与可能なマイクロ流体デバイス内 に構築し、走査型イオンコンダクタンス顕微鏡 (SICM)、走査型電気 化学顕微鏡 (SECM) で表面状態、透過性を評価可能なシステムを報 告した (Adv. Healthcare Mater., 10, 2101186 (2021), Fig.3)。 さらに、バイオ LSI と呼ばれる多点電極上に細胞シートを配置するこ とで、簡便、迅速にシート内の透過性の相違を可視化するシステムを 構築した。さらに、本システムの、がん細胞の血管外漏出過程の評価 への利用可能性を示した (ACS Omega, in press, Fig.4)。

血管モデルのセンサとして、他にイオン電流を指標とした血管内腔 の高精度検出 (Anal. Chem., 93, 4902 (2021))、血管同士の吻 合、管腔形成を評価するシステムを報告した(Micromachines, 12, 1491 (2021)。

Development of biosensors for tissue-mimetic models (cellular aggregate and vascular models)

A Multi-cellular aggregate, a spheroid is promising for predicting human responses to drug candidates because it mimics the cellular activity in the body. Utilizing electrochemiluminescence (ECL), we developed a novel imaging system to evaluate respiratory activities of spheroids in a highthroughput manner (Fig.2; Biosensors and Bioelectronics, 181, 113123,

Endothelial cell sheets cultured on a porous membrane or hydrogel are widely used for vascular microphysiological models. We developed several sensing platforms for the vascular models. For the endothelial cell sheet in a microfluidic device, we showed that scanning ion conductance microscopy (SICM) and scanning electrochemical microscopy (SECM) are effective means to evaluate the changes in the morphology and the permeability (Fig. 3; Adv. Healthcare Mater., 10, 2101186, 2021). Bio-LSI is another electrochemical imaging device and it could provide spatial information about the changes in the permeability in a high-throughput manner, which is applicable to evaluating the cancer extravasation process (Fig. 4; ACS

In addition, by monitoring the change of ion current in the microphysiologicalsystems, we reported techniques to detect a vascular lumen at micrometerscale precision (Anal. Chem., 93, 4902, 2021) as a sensing system to evaluate anastomosis (vascular perfusability; Micromachines, 12, 1491, 2021).

Fig.1 Lab members 2021

Luminescence (O. concentration)

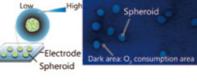


Fig.2 Electrochemiluminescence analysis for respiratory activities of spheroids

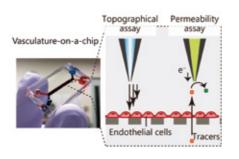


Fig.3 Application of scanning probe microscopy to vascular microphysiological system

准教授 伊野 浩介 (工学研究科 兼任) Associate Professor Kosuke Ino

(2021))。



生体分子の高感度、高解像度検出用センサの開発

尿中のたんぱく質を検出する新たなセンサを開発した(Electro-

chemistry, 89, 409 (2021))。電極上にグルタミン酸オキシダー

ゼ、プロテアーゼを修飾し、ヒトアルブミンを 0.1 mg/mL の感度で

30 min 以内に計測可能であることを示した。さらに、カスケード反応

とレドックスサイクルによる二つのシグナル増幅システムを有するイム

ノアッセイシステムを開発し、ヤギイムノグロブリン G を 470 aM の

感度で測定に成功した (ACS Applied Nano Materials, 4, 12393

また、還元反応により発光を生じる cathodic ルミノフォアを用いる

ことで、従来のバイポーラ―電極システムでは検出できなかったドーパ

ミンの検出を実現した (ChemElectroChem. 8. 3492 (2021))。本

成果により、昨年度報告した、配線不要な電気化学イメージングシステ

ム(バイポーラ電気化学顕微鏡, BEM) の応用範囲が拡張された。他方、

BEM の量産化、および高解像度イメージングを実現するため、熱延伸

法の応用を行った。熱延伸法により、BEM 電極素子の量産化に世界

で初めて成功した (Adv. Mater. Technol., in press, Fig.6)。同手

法で作製された電極素子は、先端がすぼまった形状のテーパード形状

を有し、小さな領域を大きく拡大された光イメージとして可視化する「拡

大イメージング」を可能とする。拡大イメージングにより、今後光の回

折限界を克服する高解像度イメージングへの応用が期待される。

准教授 井上 久美 (山梨大学 兼任) Associate Professo Kumi Y. Inoue



准教授 熊谷 明哉 (材料科学高等研究所、 物質・材料研究機構 兼任) Associate Professor Akichika Kumatani



助教 梨本 裕司 (学際科学フロンティア研究所、 工学研究科 兼任) Assistant Professo Yuji Nashimoto



高野 聡美

大宮 明子 渡辺 梨乃

研究補佐昌

助教 井田 大貴 (学際科学フロンティア研究所、 材料科学高等研究所 兼任) Assistant Professor Hiroki Ida

Development of Biosensors

We reported a simple electrochemical sensor that detects proteinuria (Electrochemistry, 89, 409, 2021). By immobilizing glutamate oxidase and protease on a glassy carbon electrode, we realized an easy-to-use method for albumin detection with a sensitivity of 0.1 mg/mL within 30 min. In addition, we developed a highly sensitive electrochemical immunoassay using a dual-signal amplification strategy of redox cycling within a nanoscale gap and the limulus amebocyte lysate cascade reaction with a sensitivity for goat immunoglobulin G of 470 aM (ACS Applied Nano Materials, 4, 12393, 2021).

We proposed the implementation of a cathodic-luminophore-producing ECL that enables detection of dopamine in a closed bipolar electrode (cBPE) system (ChemElectroChem, 8, 3492, 2021). The paper extends the range of cBPE application because the analyte molecules applicable to the conventional cBPE/ECL are limited to molecules causing a cathode reaction on the electrode surface. In addition, we developed a versatile and scalable thermal drawing process as a novel fabrication method for fiberbased cBPEs with feature sizes down to micro-/nanoscales (Adv. Mater. Technol., in press). In addition, the multielectrode fiber was tapered by using the principle of thermal drawing, for magnified electrochemical imaging. This work establishes a novel mass-production method for cBPE arrays, as well as a proof of concept for magnified electrochemical imaging using a thermally-drawn electrode array fiber.

Other Work

We developed a new bioprinting method for thiolated polymer-based hydrogels based on an electrochemical technique (Chem. Lett., 50, 256, 2021). In addition, we published review papers for biosensors and Biofabrication techniques (Electroanalysis, in press, Electrochem. Sci. Adv., e2100089, 2021, 月刊バイオインダストリー).

その他の研究活動

ハイドロゲルの新たなプリンティング技術として、チオール修飾ポ リエチレングリコールの電気化学的な析出技術を開発した(Chem. Lett., 50, 256 (2021))。また生体分子のセンサ、加工技術に関す る総説記事を複数出版した (Electroanalysis, in press, Electrochem. Sci. Adv., e2100089 (2021), 月刊バイオインダストリー)。

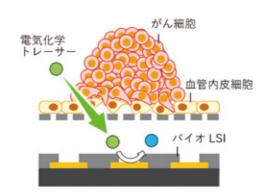
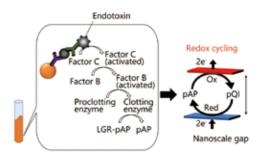


Fig.4 Bio-LSI assay for cancer extravasation



Dual signal amplification of redox cycling within a narrow gap and LAL reaction

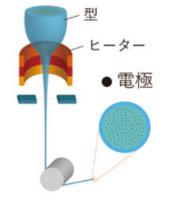


Fig.6 Thermally-drawn multi-electrode fibers for bipolar electrochemistry

Fig.5 Dual signal amplification for immunoassay

44 Coexistence Activity Report 2021 Coexistence Activity Report 2021 45