

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



教授 珠玖 仁
(工学研究科 兼任)
Professor
Hitoshi Shiku



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



准教授 井上 久美
(山梨大学 兼任)
Associate Professor
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 Professor
Yuji Nashimoto



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

秘書
高野 聡美

研究補佐員
大宮 明子
渡辺 梨乃

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 high-throughput manner (Fig.2; *Biosensors and Bioelectronics*, 181, 113123, 2021).

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 Omega*, in press).

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



Fig.1 Lab members 2021

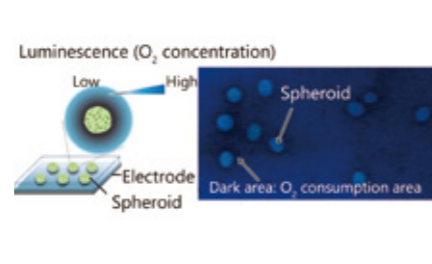


Fig.2 Electrochemiluminescence analysis for respiratory activities of spheroids

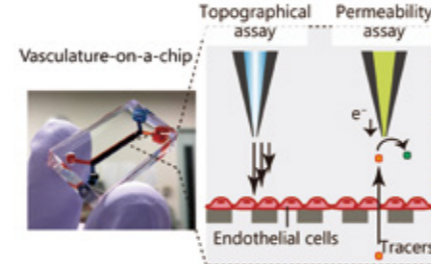


Fig.3 Application of scanning probe microscopy to vascular microphysiological system

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 (*Electrochemistry*, 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クセスシステムを開発し、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 (2021))。

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、熱延伸法の実用を行った。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、先端がすば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。

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)。

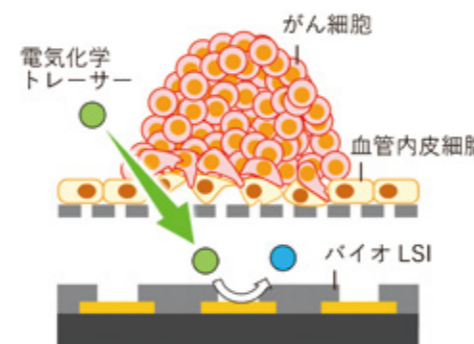


Fig.4 Bio-LSI assay for cancer extravasation

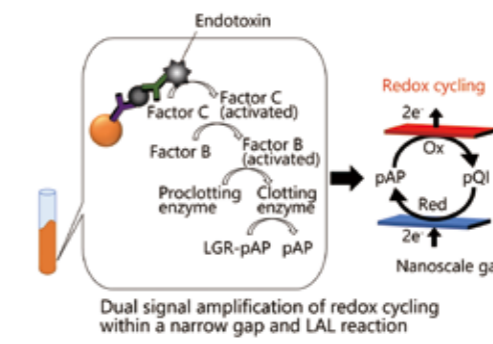


Fig.5 Dual signal amplification for immunoassay

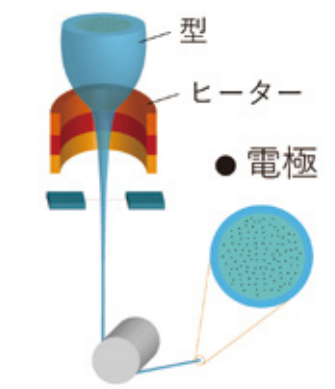


Fig.6 Thermally-drawn multi-electrode fibers for bipolar electrochemistry