

## Academic Program [Poster] | 06. Analytical Chemistry : Poster

📅 Wed. Mar 26, 2025 10:00 AM - 11:30 AM JST | Wed. Mar 26, 2025 1:00 AM - 2:30 AM UTC 🏢 Poster  
Site B(Hall, Shin-KansaiDaigaku-Kaikan North Bldg. [1F])

**[[PB]-1am] 06. Analytical Chemistry**

🇯🇵 Japanese

[[PB]-1am-01]

In-situ X-ray CT Observation of Resin Fracture Behavior Using Synchrotron Radiation

○Hideaki Yoshino<sup>1</sup>, Yuki Takahashi<sup>1</sup>, Hiroaki Ohara<sup>1</sup>, Taiki Kido<sup>2,3</sup>, Yasuhiro Niwa<sup>2,3</sup>, Masao Kimura<sup>2,3</sup> (1. Research & Development Division, Nippon Steel Chemical Co., Ltd., 2. Institute of Materials Structure Science, High Energy Accelerator Research Organization (KEK), 3. Graduate Institute for Advanced Studies, The Graduate University for Advanced Studies (SOKENDAI))

🇯🇵 Japanese

[[PB]-1am-02]

Spectrophotometric Determination of Dihydrogen Phosphate Ions with Woody Biomass

○Sumire Tanabe<sup>1</sup>, Ryoya Murata<sup>1</sup>, Masaki Tsujimoto<sup>2</sup>, Yuko Shikami<sup>2</sup>, Toshiyuki Miyauchi<sup>2</sup> (1. Graduate School of Engineering, Chubu University, 2. College of Engineering, Chubu University)

🇯🇵 Japanese

[[PB]-1am-03]

Development of on-site mercury analyzer with an enclosed mercury analysis cell using 3D printed technique

○Haruki Tsuboi<sup>1</sup>, Yuki Uga<sup>1</sup>, Rushia Okunishi, Tomoaki Watanebe<sup>2</sup>, Kotaro Sakamoto<sup>3</sup>, Daisuke Kozaki<sup>1</sup> (1. The Univ. of Kochi, 2. Nippon Instruments Co., 3. Ajinomoto Fine-Techno Co.)

🇯🇵 Japanese

[[PB]-1am-04]

HPLC electrochemical analysis for 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine

○Toshie Kobayashi<sup>1</sup>, Kenji Yokoyama<sup>1</sup> (1. Tokyo University of Technology)

🇯🇵 Japanese

[[PB]-1am-05]

Development of *in vivo* Lipids Extraction method using Organic solvent Solidification

○Shou Asano<sup>1</sup>, Nozomi Watanabe<sup>1</sup>, Hiroshi Umakoshi<sup>1</sup>, Yukihiro Okamoto<sup>1</sup> (1. Osaka University)

🇯🇵 Japanese

[[PB]-1am-06]

Hydrolysis study of nitrogen-unprotected ketimine by silica gel medium-pressure liquid chromatography system

○Shintaro Shibata<sup>1</sup> (1. Research Foundation Itsuu Laboratory)

🇯🇵 Japanese

[[PB]-1am-07]

Potential Control System Using a Non-contact Sample Solution Reference Electrode in an Electrochemical Flow Cell

○Daita Urakabe<sup>1</sup>, Hiromichi Asamoto<sup>2</sup>, Tatsuro Nakagama<sup>2</sup>, Kazunori Saitoh<sup>2</sup> (1. Nihon University Graduate School, 2. Nihon University)

🇯🇵 Japanese

[[PB]-1am-08]

Development of an intestinal model to analyse intestinal bacteria-cell interactions.

○Haruki MAEDA<sup>1</sup>, noritada kaji<sup>1</sup> (1. Kyushu University)

◆ Japanese

[[PB]-1am-09]

Microdevice fabrication for cancer cell-derived cell spheroid culture and exosome extraction

○Harumo Yoshinaga<sup>1</sup>, Noritada Kaji<sup>1</sup> (1. Kyushu University)

◆ Japanese

[[PB]-1am-10]

Phosphorylation Detection at the Single-Molecule Level: Toward Neurodegenerative Disease Diagnosis

○Sumire Nishihata<sup>1</sup>, Takahito Ohshiro<sup>2</sup>, Yuki Komoto<sup>2</sup>, Masateru Taniguti<sup>2</sup> (1. St. Andrew's High School, 2. Osaka University, ISIR)

◆ Japanese

[[PB]-1am-11]

Development of Single-Molecule RNA Identification Technology Using Minimally Invasive Samples

○Ayaka Kaneko<sup>1</sup>, Takahito Ohshiro<sup>2</sup>, Yuki Komoto<sup>2</sup>, Masateru Taniguti<sup>2</sup> (1. Kobe Kaisei Girls' Senior High School, 2. Osaka University, ISIR)

◆ Japanese

[[PB]-1am-12]

Single-Molecule Analysis of tRNA Modifications for Tumor Marker Detection

○fuka kondo<sup>1</sup>, Takahito Ohshiro<sup>2</sup>, Yuki Komoto<sup>2</sup>, Masateru Taniguti<sup>2</sup> (1. Osaka Prefectural Ikuno High School, 2. Osaka University, ISIR)

◆ Japanese

[[PB]-1am-13]

Attempt at comprehensive detection of sulfamides in hen's egg using LC-QTOF-MS with a few kinds of standards

○Hiroshi Matsui<sup>1</sup> (1. Osaka Institute of Public Health)

◆ Japanese

[[PB]-1am-14]

Development of chronic kidney disease diagnostic kit for pets

○Hitoshi Asano<sup>1</sup> (1. Sanyo-Onoda City University)

◆ Japanese

[[PB]-1am-15]

Wavelength control of fluorescent probe molecules with a terpyridine moiety and metal ion sensing by monolayers

○Yuta Yamamoto<sup>1</sup>, Koki Oishi<sup>1</sup>, Yukiyasu Kashiwagi<sup>2</sup>, Koji Kubono<sup>3</sup>, Koichi Mitsudo<sup>4</sup>, Masafumi Yano<sup>1</sup> (1. Kansai Univ., 2. ORIST., 3. Osaka Kyoiku Univ., 4. Okayama Univ.)

◆ English

[[PB]-1am-16]

Electrochemical analysis for material permeability of 3-dimensional cultured cells

○Shotaro Yamada<sup>1</sup>, Keita Ebine<sup>2</sup>, Yuanjia Lin<sup>1</sup>, Tomoyuki Ogawa<sup>1</sup>, Kosuke Ino<sup>1</sup>, Hitoshi Shiku<sup>1</sup>, Hiroya Abe<sup>1,3</sup> (1. Grad. Sch. Eng., Tohoku Univ., 2. Sch. Eng., Tohoku Univ., 3. FRIS, Tohoku Univ.)

---

◆ English

[[PB]-1am-17]

Wearable lactate sensor showing various pattern changes

○Yasumasa Kanekiyo<sup>1</sup>, Emi Sakai<sup>1</sup> (1. Kitami Institute of Technology)

---

◆ Japanese

[[PB]-1am-18]

Development of a Liquid-Liquid Microextraction Method Based on Downward Vortex Flow Formed by a Magnetic Rotating Gear-Shaped Extraction Cell

○Changxi Wang<sup>1</sup>, Aiko Ito<sup>2</sup>, Tatsuro Nakagama<sup>2</sup> (1. Grad. Sch. of Ind. Tech., Nihon Univ., 2. Coll. Ind. Tech., Nihon Univ.)

---

## 放射光を用いた樹脂破壊挙動の *in-situ* X 線 CT 観察

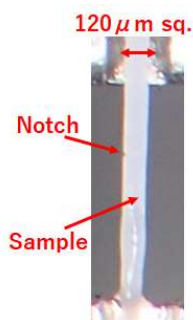
(日鉄ケミカル&マテリアル株式会社 総合研究所<sup>1</sup>、高エネルギー加速器研究機構 (KEK) 物質構造科学研究所<sup>2</sup>、総合研究大学院大学 先端学術院<sup>3</sup>) ○芳野 英明<sup>1</sup>、高橋 優樹<sup>1</sup>、大原 浩明<sup>1</sup>、城戸 大貴<sup>2,3</sup>、丹羽 尉博<sup>2,3</sup>、木村 正雄<sup>2,3</sup>

*In-situ* X-ray CT Observation of Resin Fracture Behavior Using Synchrotron Radiation  
(Research & Development Division, Nippon Steel Chemical & Material Co., Ltd.<sup>1</sup>, Institute of Materials Structure Science, High Energy Accelerator Research Organization (KEK)<sup>2</sup>, Graduate Institute for Advanced Studies, The Graduate University for Advanced Studies (SOKENDAI)<sup>3</sup>) ○Hideaki Yoshino<sup>1</sup>, Yuki Takahashi<sup>1</sup>, Hiroaki Ohara<sup>1</sup>, Daiki Kido<sup>2,3</sup>, Yasuhiro Niwa<sup>2,3</sup>, Masao Kimura<sup>2,3</sup>

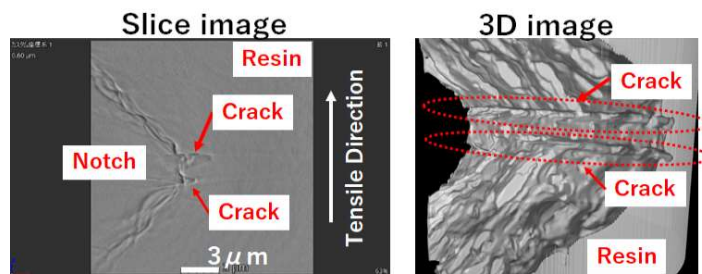
To elucidate the mechanism of fracture behavior for improving mechanical properties of polymer alloys, it is important to observe the cracks formed in phase-separation structures in three dimensions under applied stress. We focused on *in situ* phase contrast X-ray CT imaging at a synchrotron radiation facility with high-resolution and high-density resolution<sup>1</sup>. We observed the initiation and propagation of cracks in a phenoxy resin/nylon-12 polymer alloy with a sea-island structure. Using a notched bar sample (**Fig. 1**), X-ray CT imaging was performed while maintaining a certain amount of tensile stress. The initial state of crack generation in the direction perpendicular to the tensile direction near the innermost part of the notch was observed at a displacement of 50  $\mu\text{m}$  (**Fig. 2**).

**Keywords :** Polymer Alloy, Synchrotron Radiation, X-ray CT, *in situ* Observation

ポリマーアロイの機械特性改善の為に破壊挙動のメカニズムを解明するには、相分離構造の亀裂を応力印加下で三次元観察することが重要である。高解像度かつ高密度分解能を有する放射光施設での *in-situ* 位相コントラスト X 線 CT 撮像に着目し<sup>1)</sup>、海島構造を有するフェノキシ樹脂/ナイロン-12 ポリマーアロイについてクラックの発生と進展状態の観察を行った。ノッチ加工した棒状サンプル(**Fig. 1**)を使い、一定量の引張応力を保持した状態で X 線 CT 撮像を行った。変位 50  $\mu\text{m}$  でノッチ最奥近傍にて、引張方向に対して垂直の方向にクラック発生初期の状態が観察された(**Fig. 2**)。



**Fig. 1.** Sample appearance.



**Fig. 2.** X-ray CT images of cracks at a displacement 50  $\mu\text{m}$ .

- 1) M. Kimura, T. Watanabe, S. Oshima, Y. Takeichi, Y. Niwa, Y. Seryo, M. Hojo, *Compos. Sci. Technol.*, **2022**, 230, 109332.

## 木質バイオマスを用いたりん酸二水素イオンの吸光光度定量

(中部大院工<sup>1</sup>・中部大工<sup>2</sup>) ○田邊 堇<sup>1</sup>・村田 陵哉<sup>1</sup>・辻本 昌毅<sup>2</sup>・爾見 優子<sup>2</sup>・宮内 俊幸<sup>2</sup>

Spectrophotometric Determination of Dihydrogen Phosphate Ions with Woody Biomass (<sup>1</sup>Graduate School of Engineering, Chubu University, <sup>2</sup>College of Engineering, Chubu University)○Sumire Tanabe,<sup>1</sup> Ryoya Murata,<sup>1</sup> Masaki Tsujimoto,<sup>2</sup> Yuko Shikami,<sup>2</sup> Toshiyuki Miyauchi<sup>2</sup>

A color former was prepared by chemically modifying cedar sawdust with hydrochloric acid and potassium permanganate. The color former reacted with dihydrogen phosphate ions in a phosphate buffer to produce a reddish-brown color ( $\lambda_{\max} = 474 \text{ nm}$ ). The optimum conditions for coloration were a reaction time of 90 min, reaction temperature of 25 °C, and pH less than 7. The calibration curves of dihydrogen phosphate ions were found to be linear over concentrations of 0.05-1.0 mol L<sup>-1</sup> in the batch method ( $r = 0.992$ ) and 0.5-4.0 mol L<sup>-1</sup> in the column method ( $r = 0.990$ ). Furthermore, the determination of dihydrogen phosphate ions was not affected by up to a 10-fold increase in the concentration of disodium hydrogen phosphate in coexistence.

**Keywords :** Woody biomass; Dihydrogen phosphate ions; Spectrophotometric determination

【背景】りん酸二水素ナトリウムはりん酸緩衝液として、食品、医薬品および化粧品分野で広く利用されている。このりん酸緩衝液は、りん酸二水素ナトリウムとりん酸水素二ナトリウムを混合し、それぞれの濃度を変化させることでpHを調整するため、精確な濃度の測定が必要である。本研究では、化学修飾した木質バイオマスをりん酸緩衝液に加えたところ、りん酸二水素ナトリウムに由来するりん酸二水素イオンに対してのみ赤褐色を呈した。そこで、木質バイオマスを用いたりん酸緩衝液中のりん酸二水素イオンの選択的定量を試み、新たな定量試薬としての活用を目指した。

【実験】木質バイオマスであるスギおが屑を塩酸で前処理後、過マンガン酸カリウムで酸化し、発色剤を合成した。この発色剤をりん酸二水素ナトリウム水溶液に加え攪拌し、得られた発色溶液の吸収スペクトルをUV-Visにて測定した。また、発色の最適条件を検討し、バッチ法とカラム法にてりん酸二水素イオンの定量を行った。さらに、定量における共存物質の影響について検討を加えた。

【結果および考察】発色剤はりん酸二水素イオンに対して赤褐色( $\lambda_{\max} = 474 \text{ nm}$ )を呈した。りん酸二水素イオンの定量は、バッチ法では 0.05~1.0 mol L<sup>-1</sup> ( $r = 0.992$ )、カラム法では 0.5~4.0 mol L<sup>-1</sup> ( $r = 0.990$ )の範囲で良好な直線性を示す検量線が得られた(Fig. 1)。また、りん酸水素二ナトリウムは10倍濃度まで共存が許容された。よって、木質バイオマスを用いたりん酸二水素イオンの新規定量法の開発に成功した。

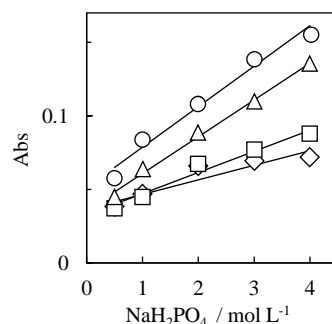


Fig. 1 Calibration curve for NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> with column method  
○, 25 °C; △, 40 °C; □, 60 °C; ◇, 80 °C; Cedar-CF, 1 g; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1 mL; Column,  $\phi$  8 mm  $\times$  250 mm; Flow rate, 8.0 mL min<sup>-1</sup>; Wavelength, 474 nm.

## 3D プリント技術を用いた、完全閉鎖系のオンサイト水銀分析装置の開発

(高知大院理工<sup>1</sup>・日本インスツルメンツ<sup>2</sup>・味の素ファインテクノ<sup>3</sup>) ○坪井 春樹<sup>1</sup>・宇賀 悠貴<sup>1</sup>・奥西 瑠志亜・渡辺 朋亮<sup>2</sup>・坂本 甲太郎<sup>3</sup>・小崎 大輔<sup>1</sup>

Development of on-site mercury analyzer with an enclosed mercury analysis cell using 3D printed technique (<sup>1</sup>The Univ. Kochi, <sup>2</sup>Nippon Instruments Co., <sup>3</sup>Ajinomoto Fine-Techno Co.) ○Haruki Tsuboi,<sup>1</sup> Yuki Uga,<sup>1</sup> Rushia Okunishi, Tomoaki Watanabe,<sup>2</sup> Kotaro Sakamoto, Daisuke Kozaki<sup>1</sup>

Development of mercury (Hg) analyzer for on-site analysis require simplifying the analytical procedure and minimization of configuration. In this study, we developed on-site Hg analyzer based on enclosed quartz cell-cold vapor-atomic absorption spectrometry (EQC-CV-AAS). To improve the detection sensitivity and reproducibility compared with previous study, we developed enclosed cell combined with a reagent mixing chamber by using 3D printed components and a quartz cell (Fig. 1). The developed on-site Hg analyzer was consisting lamp, enclosed cell, and detector with analyser exterior, liquid-crystal display monitor, low-pressure mercury lamp, and detector diverted from a RA-3 Hg analyser (Nippon Instruments) (Fig. 2). Accordingly, we successfully conducted on-site Hg analysis in field research. The developed analyzer exhibited an analytical performance with a limit of quantification of 1.8 µg/L and relative standard deviation of 5% (n=5) and it is achieved the compliance with the regulations for Hg in drinking water (6.0 µg/L) set by the World Health Organization (WHO)<sup>2</sup>.

**Keywords :** Analytical Chemistry; Mercury Analysis; 3D Printed Technique; Simple Analysis Method; Environmental Analysis

オンサイト水銀分析装置は、環境中の水銀濃度を正確かつ迅速に把握するために非常に重要であり、分析操作の簡便さと小型化によるポータブル性が求められる。そこで、石英セル内で水銀の還元から吸光度測定までが完結し、分析操作と装置の簡略化が可能な完全閉鎖セル式水銀分析法を基礎技術とした、オンサイト水銀分析装置を開発した<sup>1)</sup>。本装置は、Fig. 1 に示す、3D プリントした試薬混合部と石英セルによる測定部で構成された閉鎖セルを用い、検出感度と測定精度の向上を達成した。また、Fig. 2 に示す、既存の水銀分析装置 (RA-3, 日本インスツルメンツ製) を基盤に、ランプ・閉鎖セル・検出器を組み込んだ局所排気などを必要としない装置であり、河川や海岸でのオンサイト分析に成功した。分析性能は、5 回測定での相対標準偏差 (RSD) が 5% 以内、定量限界が 1.8 µg/L であり、世界保健機関 (WHO) が定める飲料水基準 (6.0 µg/L) を満たしていた<sup>2)</sup>。

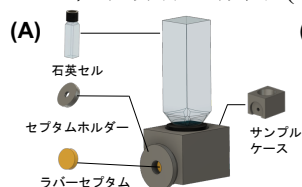


Fig. 1 (A) 開発した閉鎖セル, (B) 閉鎖セルの写真

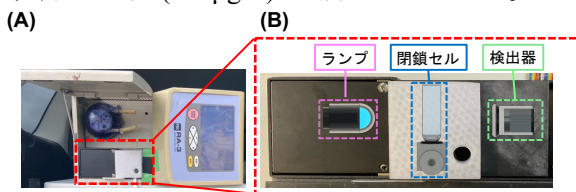
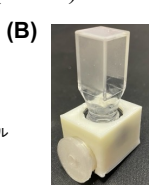


Fig. 2 (A) 開発した装置の外観, (B) 開発した分析装置の装置構成

1) H. Tsuboi, *et al.*, *Chem. Lett.*, **2023**, 52, 836-838., 2) World Health Organization, Guidelines for drinking-water quality, (2022).

## 8-ヒドロキシデオキシグアノシンの HPLC 電気化学分析

(東京工科大学<sup>1</sup>) ○小林寿江<sup>1</sup>・横山憲二<sup>1</sup>

HPLC electrochemical analysis for 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (<sup>1</sup>Tokyo University of Technology,) ○Toshie Kobayashi<sup>1</sup>, Kenji Yokoyama<sup>1</sup>

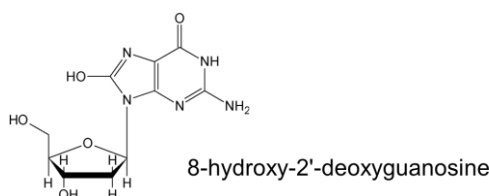
8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) is one of the oxidative stress markers. It is generated when intracellular DNA is damaged by reactive oxygen species (ROS) and can be analyzed from blood and urine. As a result, 8-OHdG has been actively studied as an indicator for cancer, lifestyle-related diseases, and aging. Although enzyme immunoassay and HPLC methods have been reported for its detection, issues such as sensitivity, accuracy, and simplicity remain. In this study, we measured 8-OHdG using HPLC-electrochemical detection (HPLC-ECD) for early diagnosis of such diseases described above. Especially, we focused on optimizing the electrochemical detector (ECD) used in HPLC-electrochemical analysis. The oxidation and reduction potentials of the upstream and downstream ECDs were examined in detail. This research aims to establish a highly selective and sensitive analysis method for 8-OHdG.

8-OHdG solution was analyzed using C18 reverse phase HPLC-electrochemical detection at pH 2.0. The resulting oxidation current of ECD1 increased sharply from around 100 mV (vs Pd) and reached a steady-state value above 200 mV. Additionally, as the pH increased to 4.4 and 7.0, oxidation currents were detected even at lower potentials.

**Keywords :** 8-OHdG; HPLC; reverse phase chromatography

8-ヒドロキシ-2'-デオキシグアノシン(8-OHdG)は、酸化ストレスマーカーとして高く評価されている。細胞内 DNA が活性酸素種などにより損傷を受けることで生成され、血中や尿中から分析することができるため、癌や生活習慣病、加齢などの指標として現在盛んに研究が行われている。これまでに酵素免疫測定法、HPLC 法が報告されているが、感度、精度、簡便性に問題がある。本研究では、8-OHdG 溶液を HPLC 電気化学法により測定し、疾患の早期発見に繋がる検出方法の開発を最終目標とする。特に HPLC 電気化学分析の電気化学検出器である ECD の最適化を検討した。上流側、下流側 2 つの ECD の電位について詳細に検討し、本研究により、高選択性で高感度な 8-OHdG 分析が可能になると考えられる。

まず、pH2.0 で 8-OHdG 溶液の HPLC 電気化学分析を行ったところ、ECD1 の電位が 100 mV(vs Pd)付近から急激に酸化電流が増加し、200 mV 以上で一定の電流値に達することがわかった。また、pH を 4.4、7.0 と高くするにつれて、低い電位から酸化電流がみられた。



## 有機相固化現象を利用した生体内脂質抽出法の開発

(阪大院基礎工) ○麻野 唱・渡邊 望美・馬越 大・岡本 行広

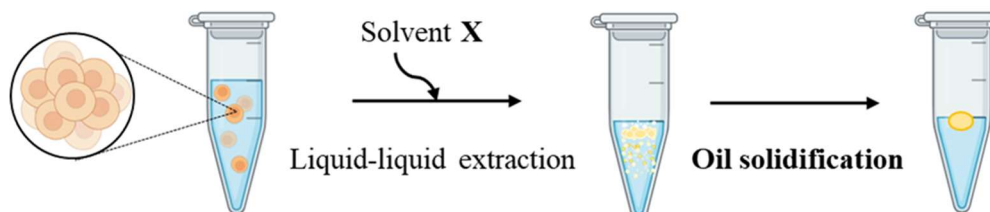
Development of *in vivo* Lipids Extraction Method using Organic Solvent Solidification  
(Graduate School of Engineering Science, Osaka University) ○ Shou Asano, Nozomi Watanabe, Hiroshi Umakoshi, Yukihiro Okamoto

Lipid molecules play diverse roles such as the constitution of biological membrane and signal transduction. Thus, Lipidomics, the comprehensive analysis of lipids *in vivo*, has significantly advanced the understanding of biological phenomena. Lipid heterogeneity among identical cells arise from the different development stages or exogenous stress has been implicated in diseases, highlighting the need for precise lipid analysis from biological microsamples. In Lipidomics, conventional liquid-liquid extraction poses challenges in handling and complete recovery. Therefore, this study introduces a novel extraction method utilizing organic solvents showing solid-liquid phase transitions near room temperature, enabling efficient lipid extraction and improved handling. Using liposomes as cell models, 91.2%, 70.1%, and 74.2% extraction efficiency were achieved within 1 min stirring for DOPC, DSPC, and DPPC, respectively. In addition, the amount of solvent was reduced from 300  $\mu$ L to 50  $\mu$ L, while maintaining the extraction efficiency.

**Keywords :** extraction, chromatography, lipidomics

脂質は生体内で膜構成やシグナル伝達など多様な役割を担っており、その網羅的解析（リポミクス）は生命現象の解明に貢献してきた。ところで、成長過程や外因性ストレスに起因した同種細胞間の脂質不均一化は、疾患の要因となることが報告されている。このため、脂質プロファイルの精度向上のために、微量生体サンプルからの脂質抽出・精密分離・解析法の確立が求められている<sup>1)</sup>。液液抽出の操作は簡便であるが、現行法では、抽出サンプルの全量回収が困難である。そこで、本研究では、液液抽出の問題点を改善するため、固液相転移する有機溶媒を用いた抽出法を開発し、微量サンプルからの脂質の抽出性能を検証した。

リポソームモデルを用いた実験では、DOPC、DSPC、DPPC がそれぞれ抽出時間 1 分で、91.2%、70.1%、74.2%の回収率で抽出されることを明らかとした。さらに、回収率を維持したまま溶媒使用量を 300 $\mu$ L から 50 $\mu$ L に削減することを実現した。



- 1) Single-Cell Lipidomics: An Automated and Accessible Microfluidic Workflow Validated by Capillary Sampling, Anastasia Kontiza, *et al.*, *ACS*, **2024**, *96* (44), 17594-17601



## シリカゲルを固定相とした中圧分取液体クロマトグラフィーによる窒素上無保護ケチミンの加水分解の調査

(乙卯研) ○柴田 真太郎

Hydrolysis Study of Nitrogen-Unprotected Ketimine by Silica Gel Medium-Pressure Liquid Chromatography System (*Research Foundation Itsuu Laboratory*) ○Shintaro Shibata

Nitrogen-unprotected imines (*N*-H imines) are valuable intermediates in a diverse range of fields from chemical to pharmaceutical industries. Because the *N*-H imines are convertible to primary amines when used as *C*-terminal electrophiles, to secondary amines when used as an *N*-terminal nucleophile, and to nitrogen-protected imines (*N*-R imines). Thus, *N*-H imines can lead to various nitrogen compounds. Among *N*-H imines, *N*-H aldimines ( $\text{RCH}=\text{NH}$ ) derived from aldehydes are difficult to isolate due to thermal instability and easy self-polymerizations. By contrast, *N*-H ketimines ( $\text{R}_2\text{C}=\text{NH}$ ) from ketones are relatively isolable, and expected as effective precursors for organic synthesis. However, there are few versatile synthetic studies of *N*-H ketimines.<sup>1)</sup> This is due to hydrolysis of *N*-H ketimines during conventional purification by liquid-liquid extraction or column chromatography. In this study, the hydrolysis properties of relatively stable *N*-H diaryl ketimines were investigated by silica gel column chromatography using a medium-pressure liquid chromatography (Yamazen EPCLC W-Prep 2XY). As a result, the hydrolysis of *N*-H ketimines was successfully suppressed under several conditions.

**Keywords :** *Nitrogen-unprotected ketimine; Medium-pressure liquid chromatography; Silica gel; Hydrolysis*

窒素上無保護イミン(*N*-H イミン)は、化学工業から医薬工業の多岐の分野において非常に重要な中間体である。なぜなら *N*-H イミンを *C*-端求電子剤として用いれば第一級アミンを、*N*-端求核剤として用いれば第二級アミンを合成することができ、窒素上保護イミン(*N*-R イミン)への誘導も可能なため、すべての窒素化合物の前駆体になり得る化合物である。*N*-H イミンの中でもアルデヒド由来の *N*-H アルジミン( $\text{RCH}=\text{NH}$ )は、自己重合しやすく非常に不安定な性質をもつために単離が難しい化合物あるのに対し、ケトン由来の *N*-H ケチミン( $\text{R}_2\text{C}=\text{NH}$ )は単離可能なため、その利用価値は非常に高い。その一方で単離可能な *N*-H ケチミンの合成は、非常に困難な歴史を辿っている<sup>1)</sup>。この原因としては、*N*-H ケチミンの水と反応しやすい性質により、従来の分液抽出法やカラムクロマトグラフィーを用いた精製の際に *N*-H ケチミンの加水分解を引き起こすからである。本研究では中圧分取装置(Yamazen EPCLC W-Prep 2XY)を用い、比較的安定な *N*-H ジアリールケチミンのシリカゲルカラムクロマトグラフィーに対する加水分解挙動を調べた。その結果、いくつかの条件で *N*-H ケチミンの加水分解を抑制することに成功したので報告する。

1) The latest review on the synthesis and application of *N*-H Ketimine. K. Morisaki, H. Morimoto, T. Ohshima, *ACS Catal.* **2020**, *10*, 6924.

## 電気化学フローセルにおける非接触型参照電極を用いた電位制御法

(日大院生産工<sup>1</sup>・日大生産工<sup>2</sup>) ○浦壁大太<sup>1</sup>・朝本紘充<sup>2</sup>・中釜達朗<sup>2</sup>・齊藤和憲<sup>2</sup>  
Potential Control Using a Non-contact Sample Solution Reference Electrode in an Electrochemical Flow Cell (<sup>1</sup>Graduate School of Industrial Technology, Nihon University, <sup>2</sup>College of Industrial Technology, Nihon University) ○Daita Urakabe<sup>1</sup>, Hiromichi Asamoto<sup>2</sup>, Tatsuro Nakagama<sup>2</sup>, Kazunori Saitoh<sup>2</sup>

An electrochemical flow cells (EFC) are used in flow analysis for detection, quantification and derivatization. The applied potential of the working electrode (WE) in the EFC is generally controlled by a three-electrode method, while a reference electrode (RE) is located in the EFC. Therefore, if measurements are made over a long period of time, the internal liquid of the RE may leak<sup>1)</sup>, changing the potential of the RE and causing the potential of the WE to become uncontrollable. On the other hand, our laboratory has developed a potential control system using a non-contact sample solution reference electrode (NCS-RE)<sup>2)</sup>. This system controls the potential of the WE in the sample solution using the RE that is not immersed in the sample solution, without using a liquid junction. If this system can control the potential of the WE in the EFC, it is expected to solve the aforementioned problems. Therefore, We investigated whether the potential of WE in the EFC can be controlled by NCS-RE using a flow injection analysis system with the EFC as the reactor. When electrodes with a large surface area were used for the CE in the EFC and the electrodes used were thoroughly cleaned to increase the reactivity on the electrodes, the results suggested that potential control equivalent to the three-electrode method was possible.

*Keywords : Electrochemical Flow Cell; Potential Control*

電気化学フローセル (EFC) は流れ系分析において、検出・定量や誘導体化に利用されている。EFC 内の作用電極(WE)の印加電位は一般的に三電極法で制御され、参照電極は EFC 内に設置されている。それゆえ、長時間測定すると参照電極の内部液が漏出し RE の電位が変化し、WE の電位が制御できなくなる恐れがある。一方、本研究室では非接触型参照電極 (NCS-RE) による電位制御システム<sup>2)</sup>を開発した。このシステムは、液絡を使用せずに試料溶液に浸漬されていない参照電極を用いて測定溶液中の作用電極の電位を制御するものである。このシステムで EFC 内の WE の電位を制御できると、先述した課題の解決が期待される。そこで、リアクターに EFC を用いたフローインジェクション分析システムを用い、NCS-RE による EFC 内の WE の電位制御できるか検討した。三電極法との比較を行った。EFC の CE に表面積の大きな電極を使用し、さらに使用する電極の洗浄を十分に行って電極上の反応性を高めたところ、三電極法と同等の電位制御が可能であることが示唆する結果が得られた。

1) Walker, N. L.; Dick, J. E. *Anal. chem.* **2021**, 93 (29), 10065–10074.

2) 齊藤和憲; 中釜達朗 特開 2021-038931, 2021.

## 腸内細菌—細胞間の相互作用解析が可能な腸管モデルの開発

(九大院工) 前田 陽樹・加地 範匡

Development of an intestinal model to analyze intestinal bacteria-cell interactions.  
(Graduate School of Engineering, Kyushu University)

In the human intestine, distinct bacterial populations colonize the villus-crypt axis, influencing the host immune system. Developing an in vitro system to analyze these interactions is essential. Organ-on-a-chip research has replicated intestinal structures for co-culturing bacteria and cells but lacks localized gene expression analysis. This study aims to construct an intestinal device with scaffolds replicating the villus-crypt axis, enabling cell-bacteria interaction analysis. Culturing Caco-2 cells on the scaffold for 21 days resulted in monolayer formation, with detached films showing cells from villus and crypt regions. Future work includes co-culturing bacteria and spatial gene expression analysis.

**Keywords :** *μTas ; Organ-on-a-chip ; Gut-on-a-chip ; RT-qPCR*

ヒトの腸内では、絨毛-陰窩軸に沿って三次元的に異なる細菌が定着しており<sup>1)</sup>、宿主免疫系に大きな影響を及ぼすため、ヒトの臓器の形態・機能をチップ上で再現した **Organ-on-a-chip** の研究が進められている。例えば、腸内細菌と細胞を培養した腸管の3次元構造を再現した足場が開発されているが<sup>2)</sup>、細胞や腸内細菌の位置情報は免疫染色により解析されており、遺伝子発現解析に基づいた研究はほとんど行われていない。そこで本研究では、腸管3次元構造を再現した足場構造を作製し、絨毛-陰窩軸に沿って細胞と細菌の位置情報を取得し、それらの相互作用が解析できる腸管デバイスの構築を目的とした。基板に対して絨毛-陰窩様の薄膜を作製し、ヒト結腸腺がん由来の Caco-2 細胞を足場上で21日間培養することで、腸上皮細胞の単層形成を確認した。また、薄膜の剥離により、絨毛部と陰窩部の細胞をそれぞれ確認した。今後は細菌との共培養を行い、細菌と細胞間の空間的な相互作用の解析を行う。

- 1) Microbiota and host epithelial cells interact locally to control intestinal function and physiology F. Sommer, F. Bäckhed, *BioEssays* **2016**, 38, 455–464.
- 2) 3-D intestinal scaffolds for evaluating the therapeutic potential of probiotics. C. M. Costello, R. M. Sorna, *Mol. Pharmaceutics* **2014**, 11, 2030–2039.

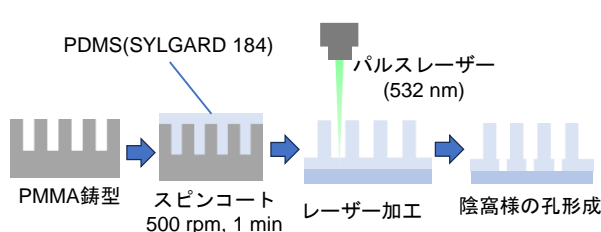


図1.腸管3次元足場の作製法

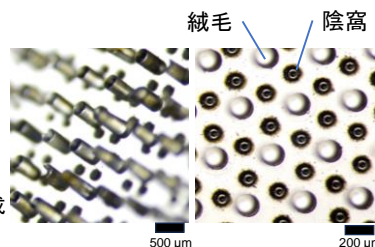


図2.作製した足場の位相差画像

## がん細胞由来の細胞スフェロイド培養に向けたマイクロデバイス作製とエクソソーム抽出

(九大院工<sup>1</sup>・北大院工<sup>2</sup>) ○義永 晴雲<sup>1</sup>・真栄城 正寿<sup>2</sup>・渡慶次 学<sup>2</sup>・加地 範匡<sup>1</sup>

Microdevice fabrication for cancer cell-derived cell spheroid culture and exosome extraction (<sup>1</sup>Graduate School of Engineering, Kyushu University, <sup>2</sup>Graduate School of Engineering, Hokkaido University) ○Harumo Yoshinaga,<sup>1</sup> Masatoshi Maeki,<sup>2</sup> Manabu Tokeshi,<sup>2</sup> Noritada Kaji<sup>1</sup>

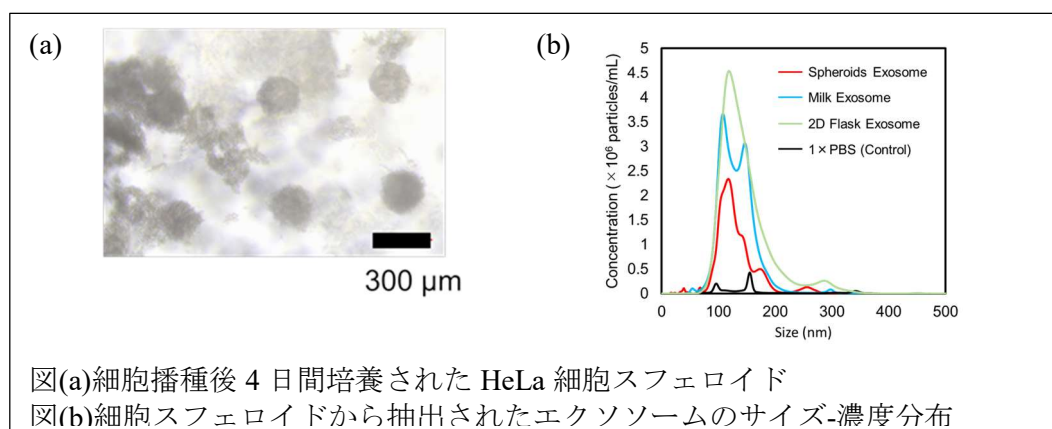
Exosomes released from cancer cells are expected to have applications in drug delivery systems because they are carriers of cell-to-cell communication. In addition, it is expected that the released exosomes may have different properties in cell spheroids, which are tissues similar to higher organisms, due to their enhanced cell-cell interactions. Therefore, in this study, we fabricated a microwell device for forming cell spheroids and used it to collect exosomes and evaluate their particle characteristics.

When HeLa cells (derived from human cervical cancer) were cultured in microwell devices prepared with agarose gel, aggregation of cell spheroids was observed in 4 days (Figure a). Exosome-sized nanoparticles (50~160 nm) were extracted from 1 mL of culture medium by ultracentrifugation. In contrast to previous studies, exosome secretion was reduced in spheroid culture compared to 2D culture (Figure b).

**Keywords :** Lab-on-a-chip, Micro TAS, Exosome, Cancer cell spheroids

がん細胞から放出されるエクソソームは、細胞間のコミュニケーションキャリアであることから、薬物送達システムへの応用が期待されている。また、より高次の生体様組織である細胞スフェロイドではその細胞間相互作用の増加から、放出されるエクソソームには異なる特性を持つ可能性が期待される。そこで、本研究では細胞スフェロイドを形成するためのマイクロウェルデバイスの作製と、これを用いたエクソソーム回収を行い、その粒子特性を評価した。

アガロースゲルで作製したマイクロウェルデバイスで HeLa 細胞(ヒト子宮頸がん由来)培養したところ、4 日で細胞スフェロイドの凝集が確認された(図 a)。また、この培養培地 1 mL から超遠心法によってエクソソームサイズ(50~160 nm)のナノ粒子が抽出された。このとき先行研究とは異なり、2D 培養に比べてスフェロイド培養でのエクソソーム分泌量は減少した(図 b)。



1) Cancer spheroids derived exosomes reveal more molecular features relevant to progressed cancer. J Tu, X Luo, H Liu, J Zhang, M He, *Biochem Biophys Res.* **2021**, 26, 101026

## 神経変性疾患診断に向けたアミノ酸のリン酸化修飾 1 分子識別

(桃山学院高等学校<sup>1</sup>, 大阪大学<sup>2</sup>) ○西畑すみれ<sup>1</sup>, 大城 敬人<sup>2</sup>, 小本 祐貴<sup>2</sup>, 谷口 正輝<sup>2</sup>

Phosphorylation Detection at the Single-Molecule Level: Toward Neurodegenerative Disease Diagnosis (<sup>1</sup> St. Andrew's High School, <sup>2</sup> Osaka University, ISIR) ○Sumire Nishihata<sup>1</sup>, Takahito Ohshiro<sup>2</sup>, Yuki Komoto<sup>2</sup>, Masateru Taniguchi<sup>2</sup>

This study developed a novel method for identifying phosphorylated serine (pSer) and unmodified serine (Ser) residues, critical markers in neurodegenerative diseases, at the single-molecule level. Experiments focused on detecting phosphorylated amino acids in tau proteins, a key feature in Alzheimer's and other neurodegenerative disorders, using a nano-gap device. The single-molecule signals obtained were analyzed with machine learning, achieving high discrimination accuracy with an F1 score exceeding 0.8 between pSer and Ser. This advancement holds potential for improving the early diagnosis of neurodegenerative diseases and facilitating the development of targeted therapeutic strategies.

**Keywords :** *Single-Molecule Detection; Amino acid; Epigenetic modification; Nano-device*

神経変性疾患、特にアルツハイマー病やパーキンソン病における病態進行には、タンパク質の異常な翻訳後修飾、特にリン酸化が重要な役割を果たすことが知られている。本研究では、神経変性疾患の診断技術として、アミノ酸のリン酸化修飾を 1 分子レベルで識別する方法を提案する。これまでに、ナノギャップ電極デバイスを用いた高速電気計測技術により、核酸塩基やアミノ酸などの生体分子の 1 分子識別に成功している 1)-5)。本技術は、個別の分子を検出できるため、低頻度で発生する修飾や異常を高感度で捉えることが可能であり、従来の解析では見逃されるような微小な修飾イベントも検出可能となる。

本研究では、特に神経変性疾患において重要とされるタウタンパク質のリン酸化修飾に注目し、リン酸化セリン (pSer) と未修飾セリン (Ser) を 1 分子識別する方法を確立することを試みた。具体的には、ナノギャップ電極を用いて pSer と Ser の高速電気計測を行った。測定溶液として、pSer および対照分子である Ser の水溶液を濃度 1  $\mu\text{M}$  に調整し、これを用いて高速電流計測を実施した。その結果、1 分子ごとの電流シグナルを取得することに成功した。

得られたシグナルデータから特徴量を抽出し、機械学習を用いた 1 分子の識別を試みた。pSer と Ser のシグナルデータの 80%を学習データとして用いて学習器を作成し、残りのデータをテストデータとして F1 スコアで評価した。その結果、F1 スコア 0.8 以上の高精度な識別器を作成することに成功した。この技術により、神経変性疾患に関連する異常リン酸化の早期発見が可能となり、疾患診断や治療方針の決定に寄与する可能性が示された。

引用: 1) Sci. Rep. 2021, 11, 19304, 2) Sci.Rep., 2019, 9, 3886, 3) Nat. Nanotech. 2014, 9,835-840 5) J. Phys. Chem. C, 2019, 123, 15867–15873

## 低侵襲サンプルを用いた RNA 1 分子識別技術の開発

(神戸海星女子学院高等学校<sup>1</sup>, 大阪大学<sup>2</sup>) ○金子亜耶伽<sup>1</sup>, 大城 敬人<sup>2</sup>, 小本 祐貴<sup>2</sup>, 谷口 正輝<sup>2</sup>

Development of Single-Molecule RNA Identification Technology Using Minimally Invasive Samples (<sup>1</sup> *Kobe Kaisei Girls' Senior High School*, <sup>2</sup> *Osaka University*) ○ Ayaka Kaneko<sup>1</sup>, Takahito Ohshiro<sup>2</sup>, Yuki Komoto<sup>2</sup>, Masateru Taniguchi<sup>2</sup>

RNA is a key biomarker for diseases like cancer and heart disease, with high-sensitivity detection in plasma offering significant potential for non-invasive diagnostics. This study focused on developing a single-molecule detection method to efficiently extract RNA signals from plasma. Using machine learning, a model was trained to identify and remove plasma-specific signals. Guanosine-spiked plasma solutions at 1  $\mu\text{M}$  and 0.1  $\mu\text{M}$  concentrations were analyzed, and the number of RNA signals extracted increased at 0.1  $\mu\text{M}$ . This demonstrates the model's ability to eliminate non-RNA components, enabling precise RNA identification for biomarker-based diagnostics.

**Keywords :** RNA; Single-Molecule Detection; Tunnel-Current; Epigenetics

RNA は、がんや心疾患などの疾患に関連する重要なバイオマーカーとして注目されており、特に血漿中の RNA を高感度で検出する技術は、低侵襲的な診断法の確立において大きな意義を持つ。本研究では、代表的な低侵襲的バイオブシーサンプルとして血漿に注目した。血漿中には体内の疾患マーカーが含まれていることから、それを効率的に検出する方法が注目されている。本研究では、血漿中の RNA シグナルを効率的に抽出する 1 分子検出法の開発に取り組んだ。

まず、市販の血漿を希釈した溶液と純水を比較し、血漿に特徴的なシグナルを学習させる機械学習モデルを構築した。次に、グアノシンを添加した血漿希釈水溶液を測定し、得られた 1 分子シグナルを用いて構築した学習器に入力し、血漿成分の特徴的なシグナルを除去した。さらに、グアノシン由来と推定されるシグナル数をカウントした。この手法を RNA 濃度 1  $\mu\text{M}$  および 0.1  $\mu\text{M}$  の調整溶液に適用した結果、0.1  $\mu\text{M}$  の溶液で RNA シグナルの抽出数が増加することを確認した。この結果は、学習器を用いることで血漿中のグアノシン以外の夾雑物質を除去できる可能性を示している。

本研究は、血漿中の RNA を高精度に識別できる技術を示し、RNA バイオマーカー診断における新たなアプローチを提供するものである。将来的には、非侵襲的な RNA 診断技術の基盤として、疾患の早期発見や個別化医療への応用が期待される。

引用: 1) Sci. Rep. 2021, 11, 19304, 2) Sci.Rep., 2019, 9, 3886, 3) Nat. Nanotech. 2014, 9,835-840 4) J. Phys. Chem. C, 2019, 123, 15867–15873

## 腫瘍マーカー検出に向けた tRNA 修飾の 1 分子計測

(大阪府立生野高等学校<sup>1</sup>, 阪大<sup>2</sup>) ○近藤風花<sup>1</sup>, 大城 敬人<sup>2</sup>, 小本 祐貴<sup>2</sup>, 谷口 正輝<sup>2</sup>

Single-Molecule Analysis of tRNA Modifications for Tumor Marker Detection (<sup>1</sup> Osaka Prefectural Ikuno High School, <sup>2</sup>Osaka University, ISIR) ○Fuka Kondo<sup>1</sup>, Takahito Ohshiro<sup>2</sup>, Yuki Komoto<sup>2</sup>, Masateru Taniguchi<sup>2</sup>

tRNA modifications play a crucial role in tumor development and progression, offering potential as biomarkers. This study focuses on distinguishing N1-methyladenosine (m1A), inosine (I), and unmodified adenine (A) using single-molecule detection. Solutions of m1A, I, and A (1  $\mu$ M) were analyzed with a nanogap electrode, capturing single-molecule signals. Machine learning models were applied to extracted features, achieving an F-measure of 0.52 for identifying these modifications. The results demonstrate the ability to differentiate m1A, I, and A at the single-molecule level, paving the way for new diagnostic techniques and therapeutic strategies targeting tumor-related RNA modifications.

**Keywords :** RNA; Single-Molecule Detection; Tunnel-Current; Epigenetics

tRNA の修飾は、腫瘍形成や進行に関与する重要な要因として注目されており、腫瘍マーカーとしての利用が期待されている。本研究では、N1-メチルアデノシン (m1A)、イノシン (I)、および修飾前のアデニン (A) の 3 種類を識別する 1 分子計測技術の開発に取り組んだ。これまで、ナノギャップ電極デバイスを用いた高感度・高速の電気計測技術を利用し、生体分子の 1 分子識別に成功している 1)-4)。

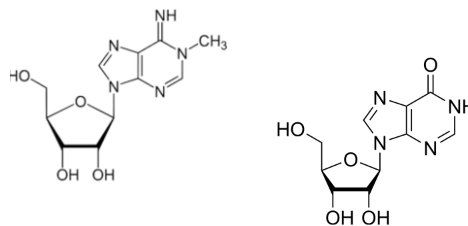


Fig.1 Molecular structures of N1-methyladenosine (m1A) (left) and Inosine (I) (right)

本研究では、tRNA 修飾に関連する m1A と I を検出し、非修飾のアデニン (A) との識別を目的とした。測定溶液として、m1A、I、および A の水溶液を濃度 1  $\mu$ M に調製し、高速電流計測を行った。計測データから得られた 1 分子シグナルに基づき、特徴量を抽出し機械学習モデルを構築した。その結果、識別能を F-measure で評価したところ、識別モデルは F-measure 0.52 を達成し、m1A、I、および A の 3 種類を識別できることを確認した。

この成果は、tRNA 修飾における 1 分子レベルでの識別が可能であることを示しており、修飾 RNA の変化を検出することで腫瘍マーカーの新しい検出技術として応用できる可能性を示唆している。この技術は、腫瘍診断や治療戦略の開発に貢献することが期待される。

引用: 1) Sci. Rep. 2021, 11, 19304, 2) Sci.Rep., 2019, 9, 3886, 3) Nat. Nanotech. 2014, 9,835-840, 4) J. Phys. Chem. C, 2019, 123, 15867-15873

## LC-QTOF-MS を利用した少品目の標準品による鶏卵中のサルファ剤の網羅的分析の試み

(大安研<sup>1)</sup> ○松井 啓史<sup>1</sup>

Attempt at comprehensive detection of sulfonamides in hen's egg using LC-QTOF-MS with a few kinds of standards (<sup>1</sup>*Osaka Institute of Public Health*) ○Hiroshi Matsui<sup>1</sup>

For analysis of chemicals in food, target analysis is widely used. It requires standards for the all analytes, and therefore it has difficulty for comprehensive analysis. As a comprehensive analysis method, non-target analysis (NTA) has been studied with great interest. However, NTA requires trained personnel for analysis and easily causes false positive. In this study, we developed a method that automatically detects compounds belonging to the target group based on the similarity of mass spectra to a few kinds of standards in that group, and we applied the developed method to sulfonamides (SAs) in hen's egg.

Based on similarity to 9 kinds of SAs in standard mixture solution, mixture standard solution of 27 kinds of veterinary drug (VDMix), which contains 23 kinds of SAs, and spiked (1 µg/g) hen's egg sample were evaluated. The egg samples were treated by the previously reported method[1]. The present method detected 21 and 11 kinds of SAs for VDMix and the spiked sample, respectively. There were 2 SAs that were false negative despite success of measurement of mass spectrum. This false negative can be attributed to difference of molecular structure and low concentration.

**Keywords :** *Sulfonamide; Comprehensive Analysis; Hen's Egg*

食品中の化学物質の分析は標準品を用いたターゲット分析が主流であるが、分析対象とするすべての物質について標準品が必要であり、物質群の網羅的分析は困難である。一方、網羅的分析手法としてノンターゲット分析が知られているが、偽陽性が発生しやすいことや分析者に技術や経験が必要となる点が課題とされてきた。本研究では、同一の物質群から選抜した少品目の標準品の質量スペクトルとの類似度を尺度に、試料から検出された物質がその物質群に包含されるかを自動的に推定する手法を開発し、鶏卵中のサルファ剤(SA)の網羅的検出への適用を試みた。

9種類のSAの混合標準溶液の測定データを基に、27種類の葉酸代謝拮抗薬(うち23種がSA)の混合標準溶液(VDMix)を評価したところ、21種類のSAを偽陽性なく検出できた。一方、鶏卵への添加試料(試料中1 µg/g相当)を既報[1]の手法で処理し評価したところ、偽陽性なく11種類が検出された。検出できなかった12種のうち、質量スペクトルが測定できたにも関わらず偽陰性となったものは2種あり、分子構造の差異や試験溶液中濃度の希薄さが影響したと考えられた。

1) M. Yamaguchi et al, *Ann. Rep. Osaka. Inst. Pub. Health* **2021**, 5, 48.



## ペット用慢性腎臓病診断キットの開発

(公立大学法人山陽小野田市立山口東京理科大学<sup>1)</sup> ○浅野 比<sup>1</sup>

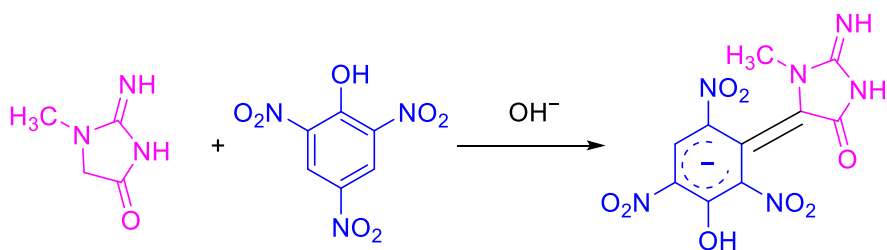
Development of chronic kidney disease diagnostic kit for pets (<sup>1</sup>Sanyo-Onoda City University)  
○Hitoshi Asano<sup>1</sup>

Pets are as important to people as family members, and among them, cats account for an extremely large number of 9.07 million as of 2023. In recent years, cat lifespans have been extended due to improved dietary habits and advances in medical technology, but diseases associated with old age, especially chronic kidney disease, have become more serious. Early detection through health checkups is important for disease prevention. The purpose of this research is to develop an inexpensive and simple paper-based analytical device for preventing chronic kidney disease using cat saliva.

**Keywords :** Cat; Chronic Kidney Disease (CKD); Paper-based Analytical Device; Early Detection

ペットは人にとって家族同様に大切な存在であり、その中でも猫は 2023 年時点で 907 万頭と極めて多い。近年、食生活の充実や医療技術の進歩により、猫の寿命が延びる一方で、老齢に伴う疾患、特に慢性腎臓病が深刻化している。病気の予防には健康診断による早期発見が重要である。本研究では、猫の唾液を用いた慢性腎臓病予防のための安価で簡便な分析試験紙の開発を目的としている。

本研究では慢性腎臓病の指標として、クレアチニンを使用する。クレアチニンがピクリン酸と反応して黄色から橙色の化合物を生成する反応 (Jaffe 反応による Folin 法<sup>1)</sup>) を用いる。クレアチニンは、1.4 mg/dL 未満 : ステージ 1、1.4~2.0 mg/dL : ステージ 2、2.0~5.0 mg/dL : ステージ 3、5.0 mg/dL 以上 : ステージ 4 と病期分類がされており、色変化の位置で各ステージがわかるようにグラデーションを付けてデザインする。



- 1) Colorimetric detection of serum creatinine on a miniaturized platform using hue-saturation-value space analysis. E. A. Tarim, H. C. Tekin, *Sci. Rep.* **2024**, *14*, 19441.

## ターピリジン部位を有する蛍光プローブ分子の波長制御と単分子膜による金属イオンセンシング

(関西大院理工<sup>1</sup>・大阪技術研<sup>2</sup>・阪教大<sup>3</sup>・岡山大院自然<sup>4</sup>) ○山本悠太<sup>1</sup>・大石康喜<sup>1</sup>・柏木行康<sup>2</sup>・久保埜公二<sup>3</sup>・光藤耕一<sup>4</sup>・矢野将文<sup>1</sup>

Wavelength control of fluorescent probe molecules with a terpyridine moiety and metal ion sensing by monolayers (<sup>1</sup>Graduate School of Science and Engineering, Kansai University, <sup>2</sup>Osaka Research Institute of Industrial Science and Technology, <sup>3</sup>Osaka Kyoiku University, <sup>4</sup>Graduate School of natural Science and Engineering, Okayama University) ○ Yuta Yamamoto,<sup>1</sup> Koki Oishi,<sup>1</sup> Yukiyasu Kashiwagi,<sup>2</sup> Koji Kubono,<sup>3</sup> Koichi Mitsudo,<sup>4</sup> Masafumi Yano<sup>1</sup>

In our research group, convenience fluorescent sensing of metal ions by the monolayers with fluorescent probes **1** was investigated. The aim of this study is to control the wavelength of **1** used as a fluorescent probe. Therefore, **2** and **3** introduced with methoxy and cyano groups as substituent effect into the triphenylamine moiety were synthesized. (Fig. 1). The fluorescence of **2** and **3** in acetone were red-shifted and blue-shifted compared with **1**. Furthermore, in complexation of ZnBr<sub>2</sub>, the fluorescence of **2**·ZnBr<sub>2</sub> was quenched and that of **3**·ZnBr<sub>2</sub> observed at blue-shifted maximum wavelength. The monolayers of **2** or **3** were successfully formed and transferred to a glass substrate using the LB method. Fluorescence sensing in the monolayers of **2** and **3** was also examined by placing water droplets containing metal ions on them, and responses were obtained for Sn<sup>4+</sup> and In<sup>3+</sup> in **2** and **3**, respectively.

**Keywords** : Triphenylamine; Terpyridine; Fluorescence probe; Metal ion sensing; Substituent effect

我々はこれまでに、2,2':6',2"-terpyridine を有する triphenylamine (TPA) に 1-hexyne を導入した誘導体 **1** の単分子膜を用いて、固液界面での金属イオンの蛍光検出が可能であることを明らかにした。本研究では、蛍光プローブ分子の波長制御を目的とし、メトキシ基およびシアノ基の置換基を導入した化合物 **2**, **3** の合成と光物性について検討した (Fig. 1)。合成は Buchwald-Hartwig Cross Coupling によりメトキシ基またはシアノ基を導入した TPA を得たのち、選択的なモノブロモ化、モノホルミル化を行い、Sonogashira Cross Coupling により 1-hexyne を導入後、ホルミル基を起点とするピリジン合成により **2** および **3** を得た。アセトン中での蛍光スペクトル測定の結果、**1** の 487 nm と比較し、**2** は 39 nm の長波長化、**3** は 27 nm の短波長化が確認された。ZnBr<sub>2</sub> との錯形成を検討したところ、**2** は ZnBr<sub>2</sub> との錯形成により消光され、**3** は長波長化を伴う発光が見られた。単分子膜は LB 法によって作製し、ガラス基板上に転写した。単分子膜における蛍光波長変化は溶液中と同様の傾向を示した。また、金属イオンを含む水滴を乗せることで **2** および **3** の単分子膜での蛍光センシングを検討したところ、**2** では Sn<sup>4+</sup>、**3** では In<sup>3+</sup> に対してそれぞれ応答が得られた。

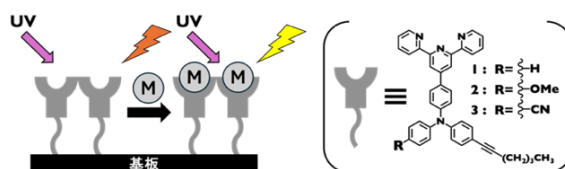


Figure 1. **1**, **2**, **3** の構造と蛍光センシングの概略図

## Electrochemical analysis of material permeability in 3-dimensional cultured cells

(<sup>1</sup>Grad. Sch. Eng., Tohoku Univ., <sup>2</sup>Sch. Eng., Tohoku Univ., <sup>3</sup>FRIS, Tohoku Univ.)

○Shotaro Yamada<sup>1</sup>, Keita Ebine<sup>2</sup>, Yuanjia Lin<sup>1</sup>, Tomoyuki Ogawa<sup>1</sup>, Kosuke Ino<sup>1</sup>, Hitoshi Shiku<sup>1</sup>, Hiroya Abe<sup>1,3</sup>

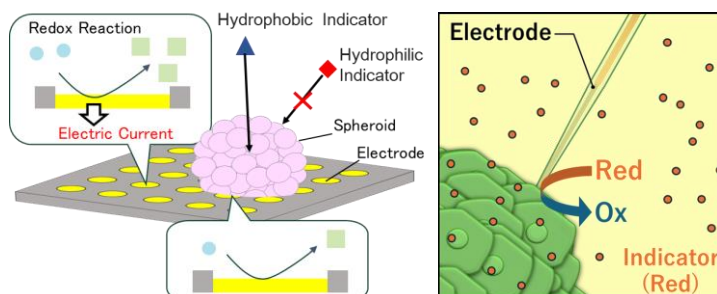
**Keywords:** biosensor, electrochemistry, drug evaluation

Assessing drug efficacy and penetration into cancer tumors is important in drug design. In this study, the penetration of drug models into spheroids was analyzed using electrochemical techniques, which have advantages such as label-free and minimally invasive analysis. Microelectrode arrays (MEAs) and probe-type ultramicroelectrodes (UMEs) were employed to measure the redox drug models in the 3-dimensional cultured cells.

MEAs consisting of 25 electrodes of 10  $\mu\text{m}$ -diameter with 40  $\mu\text{m}$ -pitch were fabricated on a glass substrate by photolithography and sputtering techniques. A spheroid of human breast cancer cell line (MCF-7) was introduced onto the MEAs and incubated for 1 hour to attach to the substrate. Ferrocene methanol ( $\text{FcCH}_2\text{OH}$ ) and ferrocyanide ion ( $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ ) were used as hydrophilic and hydrophobic indicators, respectively. The permeability of each redox indicator to the cells was evaluated by chronoamperometry. The current under the spheroid decreased due to the prevention of molecular diffusion to the electrodes through the spheroids. In addition, the decrease in the current of  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$  was clearer than that of  $\text{FcCH}_2\text{OH}$ .

For the analysis using the UMEs, the spheroid was incubated on the cell culture dish for 1 hour and the electrode was inserted into the spheroid incubated with each redox indicator. The decrease in current for  $\text{FcCH}_2\text{OH}$  was more distinct than for  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ , which was a similar trend with the MEAs. The decrease in current mainly depends on the concentration and diffusion coefficient of the redox indicators. For instance, the permeation coefficient of  $\text{FcCH}_2\text{OH}$  through cell membrane was higher than  $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$  for redox indicators, resulting in an increase in current.<sup>1</sup>

In summary, this study analyzed the penetration of redox indicators through the spheroid using MEAs and UMEs. These electrodes successfully clarified the differences in redox indicators, which will support the design of the drug.



1) T. Yasukawa *et al.* *Biochimica et Biophysica Acta* 1369 (1998) 152-158

## Wearable lactate sensor showing various pattern changes

(<sup>1</sup>*Faculty of Engineering, Kitami Institute of Technology*) ○Yasumasa Kanekiyo,<sup>1</sup> Emi Sakai<sup>1</sup>

**Keywords:** Lactic acid; Lactate; Boronic acid; Wearable; Sensor

Since lactate is a substance that serves as an indicator of physical fatigue and exercise intensity, easy measurement of lactate concentration in body fluids would be useful for not only top athletes but also for the general public to improve their competitive performance and health. Conventional lactate measurement methods require blood sampling, which imposes a heavy workload on athletes and related personnel (trainers and coaches), and does not allow continuous measurement, so improvements are needed. In recent years, methods for measuring lactic acid in sweat using wearable sensors have been developed. However, there are still many problems to be overcome, such as the large measuring device that interferes with the wearer's movement and the high cost and instability of the device.

In our laboratory, we are developing sportswears that changes its design in response to lactate using boronic acid as a lactate interface. This is a completely different approach from conventional methods using enzymatic or electrochemical reactions. The wearer does not have to bear any extra burden such as sensing units and data transmitters, and the design changes in response to the lactate concentration in sweat simply by wearing the garment (Figure 1). If such a wearable sensor that doesn't feel like wearing at all is put to practical use, it will enable anyone to easily determine the degree of physical fatigue and exercise intensity. It could be a clue for soccer team managers to know when to change players. The present methodology is expected to contribute to improving the health of citizens and the competitive performance of athletes.

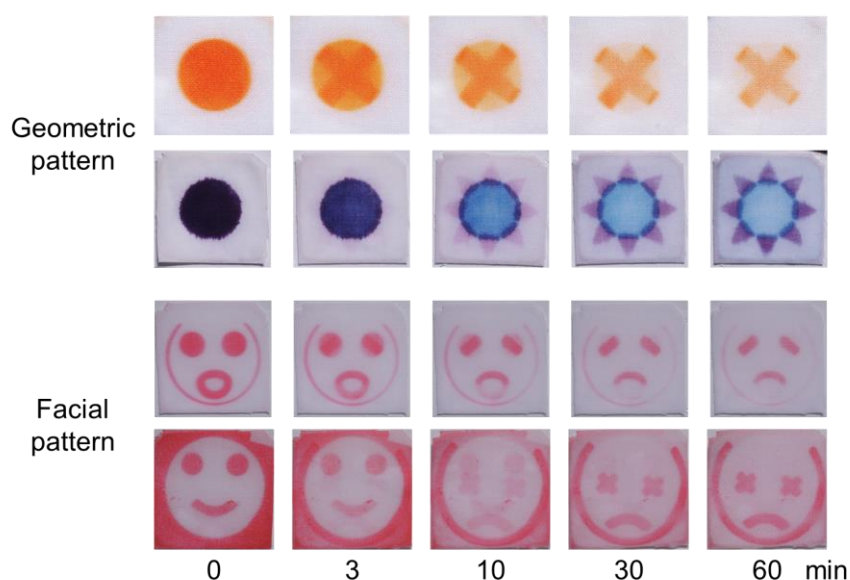


Figure 1. Changes in fabric patterns after immersion in 100 mM lactate solution.

## 磁気回転式歯車型抽出セルにより形成される下降渦流を利用した液液マイクロ抽出法の開発

(日大院生産工<sup>1</sup>・日大生産工<sup>2</sup>) ○王 暢茜<sup>1</sup>・伊藤 愛子<sup>2</sup>・中釜 達朗<sup>2</sup>

Development of a Liquid-Liquid Microextraction Method Based on Downward Vortex Flow Formed by a Magnetic Rotating Gear-Shaped Extraction Cell (<sup>1</sup>Graduate School of Industrial Technology, Nihon University, <sup>2</sup>College of Industrial Technology, Nihon University)  
○Changxi Wang<sup>1</sup>, Aiko Ito<sup>2</sup>, Tatsuro Nakagama<sup>2</sup>

Liquid-liquid microextraction (LLME) is an environmentally friendly extraction method that can achieve high concentration efficiency using a small amount of extraction solvent. It allows the use of various existing organic solvents for LLME and offers the advantage of direct injection of the extracted solutions into analytical instruments. However, conventional LLMEs such as dispersed liquid-liquid microextraction (DLLME) and single drop microextraction (SDME) require the extraction solvent to be dispersed and then phase-separated by centrifugation (DLLME) or the droplet to be held in the sample solution (SDME). In this study, we focused on the downward vortex flow generated by a conventional magnetic stirrer<sup>1)</sup>. We developed a magnetic rotating extraction cell that has gear-shaped blades for generating a radial flow and a small glass container (8 mm o.d.) for holding the extraction solvent on the top. When the vortex characteristics generated by this cell were examined, it was suggested that a downflow of 4 cm/sec could be formed at a rotational speed of 400 rpm at the center of the vortex. Using this method, when 100 mL of a fluorescent dye aqueous solution was extracted with 25  $\mu$ L of an extraction solvent at 500 rpm for 10 minutes, an increase in the absorbance of approximately 20 times was observed.

**Keywords :** *Liquid-liquid Microextraction, Downward Vortex Flow, Magnetic Stirrer, Magnetic Rotating Extraction Cell*

液液マイクロ抽出 (LLME) は、少量の抽出溶媒を用いて高い濃縮効率を実現できる環境に配慮した抽出法である。既存の多様な有機溶媒が LLME に利用可能であり、抽出後の溶液を分析装置に直接導入できるなどの利点もある。しかしながら、分散液液マイクロ抽出 (DLLME) や単一液滴マイクロ抽出 (SDME) などの LLME では抽出溶媒を分散し、遠心分離で分相する (DLLME)、試料溶液中で液滴を保持する (SDME) 必要がある。本研究では、市販のマグネティックスターラーにより生成する下降渦流<sup>1)</sup>に着目した。放射流を生成する歯車状の羽根と上部に抽出溶媒を収納するガラス容器 (外径 8 mm) を備えた磁気回転式抽出セルを試作した。このセルで形成される渦流特性を検討したところ、渦中心部において 400 rpm の回転数で 4 cm/sec の下降流が形成されることを示唆した。この方法で 25  $\mu$ L の抽出溶媒で蛍光色素水溶液 100 mL を 500 rpm で 10 分間抽出したところ、約 20 倍の吸光度増加が認められた。

1) G. Halász, B. Gyüre, I. M. János, K. G. Szabó and T. Tél, *Am. J. Phys.* **2007**, 75, 1092