

Oral presentation 12 Organic Molecules and Bioelectronics : 12.7 Biomedical Engineering and Biochips
--

📅 Wed. Sep 10, 2025 1:30 PM - 4:45 PM JST | Wed. Sep 10, 2025 4:30 AM - 7:45 AM UTC | 🏠 N305 (Lecture Hall North)

[10p-N305-1~12] 12.7 Biomedical Engineering and Biochips

Koichiro Miyamoto(Tohoku Univ.), Riku Takahashi(NTT)

1:30 PM - 1:45 PM JST | 4:30 AM - 4:45 AM UTC

[10p-N305-1] Three-Dimensional Underwater Locomotion of Catalyst-Integrated Gel Devices toward Autonomous Exploratory Biosensors.

○Shogo Himori¹, Riku Takahashi¹, Aya Tanaka¹ (1.NTT BRL/BMC)

◆ Presentation by Applicant for JSAP Young Scientists Presentation Award

1:45 PM - 2:00 PM JST | 4:45 AM - 5:00 AM UTC

[10p-N305-2] One-Step fabrication of 2D feedline and 3D electrode for a micropillar electrode array toward measuring potentials of 3D cultured neural tissues

○Taiki Otomo^{1,2}, Koji Sakai^{1,2}, Riku Takahashi^{1,2}, Toichiro Goto^{1,2}, Yosuke Mizuno^{1,2}, Aya Tanaka^{1,2} (1.NTT BRL, 2.NTT BMC)

2:00 PM - 2:15 PM JST | 5:00 AM - 5:15 AM UTC

[10p-N305-3] Functional response and self-repair processes after focal injury in artificial neuronal networks with hierarchically modular structure

○(D)Keita Watanabe^{1,2}, Hideaki Yamamoto^{1,2,3}, Takuma Sumi³, Hakuba Murota^{1,2}, Hironobu Osaki⁴, Kenshiro Kawamoto⁴, Teppei Matsui⁴, Yoshito Masamizu⁴, Shigeo Sato^{1,2}, Ayumi Hirano-Iwata^{1,2,3} (1.RIEC,Tohoku Univ., 2.Grad. Sch. Eng., Tohoku Univ., 3.AIMR, Tohoku Univ., 4.Grad. Sch. Brain Sci., Doshisha Univ.)

2:15 PM - 2:30 PM JST | 5:15 AM - 5:30 AM UTC

[10p-N305-4] Nanopore-Based Characterization of Mitochondrial Membrane-Mimetic Vesicles

○Chisae Kaji^{1,2}, Kaoru Hiramoto³, Yuxi Lin⁴, Young-Ho Lee⁴, Ayumi Hirano-Iwata^{2,5} (1.Tohoku Univ., 2.RIEC., 3.FRIS., 4.KBSI., 5.AIMR.)

2:30 PM - 2:45 PM JST | 5:30 AM - 5:45 AM UTC

[10p-N305-5] Migration Analysis of Cardiac Fibroblasts on One-Dimensional grooved PDMS Substrates

○Hiromu Kuwabara¹, Aoki Kazuhiro¹, Yuuta Moriyama¹, Toshiyuki Mitsui¹ (1.Aogaku Univ.)

◆ Presentation by Applicant for JSAP Young Scientists Presentation Award

2:45 PM - 3:00 PM JST | 5:45 AM - 6:00 AM UTC

[10p-N305-6] Observation of freezing damage process of biospecimens by laser induced crystallization

○(M2)Sho Inoue¹ (1.Osaka Univ.)

◆ Presentation by Applicant for JSAP Young Scientists Presentation Award

3:15 PM - 3:30 PM JST | 6:15 AM - 6:30 AM UTC

[10p-N305-7] The use of an open-top microfluidic chip for rapid freezing of biological cells

○Yoshino Tanabe¹, Kosuke Tsuji¹, Takumi Kunimoto¹, Masahito Yamanaka¹, Katsumasa Fujita^{1,2} (1.UOsaka, 2.UOsaka OTRI)

3:30 PM - 3:45 PM JST | 6:30 AM - 6:45 AM UTC

[10p-N305-8] Enhancement of Ion-Sensing Performance of Light-Addressable Potentiometric Sensors by Parylene Coating

○Anna Matsumoto¹, Yudai Hemmi², Hiroyuki Matsui², Ko-ichiro Miyamoto³, Tstsuo Yoshinobu³, Werner Carl Frederik¹ (1.Kyoto Inst. Tech., 2.Yamagata Univ., 3.Tohoku Univ.)

3:45 PM - 4:00 PM JST | 6:45 AM - 7:00 AM UTC

[10p-N305-9] Development of the Cell Aspiration Method toward Force-sensing Cantilever Using Dielectrophoresis

○Takayoshi Sonekawa¹, Takahiro Takiguchi², Ibuki Kawano², Gaku Morioka², Shogo Yamada², Ryusei Fujimaki², Masami Kageshima¹ (1.Graduate School, O.E.C.U., 2.O.E.C.U.)

◆ Presentation by Applicant for JSAP Young Scientists Presentation Award ◆ English Presentation

4:00 PM - 4:15 PM JST | 7:00 AM - 7:15 AM UTC

[10p-N305-10] Label-Free Characterization of Plant Protoplasts Using Multifrequency Impedance Flow Cytometry

○(DC)Trisna Julian¹, Muhammad Ridho Priyo¹, Tao Tang², Naomi Tanga¹, Yang Yang³, Yoichiroh Hosokawa¹, Yaxiaer Yalikun¹ (1.NAIST, 2.Chongqing Gen. Hosp., 3.Chinese Aca. of Sci.)

4:15 PM - 4:30 PM JST | 7:15 AM - 7:30 AM UTC

[10p-N305-11] *in-situ* Monitoring of Plant Water Stress by Electrochemical Impedance Spectroscopy and Machine Learning

○Mutsumi Sugiyama^{1,2}, Hiroki Yoshinaga¹, Yosuke Umemoto¹, Rintaro Shinoda¹ (1.Tokyo Univ. Science, 2.RIST, TUS)

4:30 PM - 4:45 PM JST | 7:30 AM - 7:45 AM UTC

[10p-N305-12] Measurement of D-amino acid diagnostic markers using electrochemiluminescence biosensor

○Eiichi Tamiya¹, Tomonori Kimura² (1.SANKEN, Osaka University, 2.School of Med. Osaka University)

空間探索型バイオセンサに向けた触媒内包ゲルデバイスの水中三次元移動

Three-Dimensional Underwater Locomotion of Catalyst-Integrated Gel Devices toward Autonomous Exploratory Biosensors.

NTT 物性基礎研・BMC ○檜森 匠吾, 高橋 陸, 田中 あや

NTT BRL/BMC, °Shogo Himori, Riku Takahashi, Aya Tanaka

E-mail: shogo.himori@ntt.com

1. 緒言

生体内や河川などの水環境では化学物質の濃度が空間的に不均一である。しかし、従来のバイオセンサは定点で測定が行われているため、その広域分布を把握することは困難だった。そこで本研究では、小型センサがターゲット物質を測定しつつ液中を自律的に移動し続ける空間探索型バイオセンサを提案する。前回の報告では触媒内包ゲルデバイスの水平方向への移動量から過酸化水素濃度を定量化した。本発表では垂直方向の浮上と沈降を繰り返す挙動を解析し、水中空間の広域探索に向けた設計指針を検討する。

2. 実験

ゲルデバイスは直径 3.5 mm の円形ガラス上にアクリルアミドゲルを接着させることで作製した (Fig. 1)。ゲル/ガラス界面では接着/非接着領域を制御し、ゲル膨潤時の座屈剥離によってデバイス中心の蓄積空間と外部へとつながる放出口を形成した[1]。また、蓄積空間の内部にプラチナ薄膜を接着させることで、液中化学反応の触媒を導入した[2]。作製したデバイスを過酸化水素溶液中に配置し、空間的な移動特性を観察した。

3. 結果および考察

過酸化水素のプラチナ触媒反応により生成された酸素気泡は蓄積空間で成長し、一定量に達すると放出口から排出される。デバイスは気泡の蓄積および放出に伴う全体の密度変化により浮力と重力のバランスが周期的に変化し、水面方向への浮上および沈降を繰り返す挙動を示した。過酸化水素濃度が高くなると気泡の生成速度が増加し、沈降状態の時間が短くなるため、デバイスの垂直移動距離が小さくなる (Fig. 2)。当日はデバイス重量や蓄積空間の大きさが移動経路に与える影響を議論する予定である。

【参考文献】 [1] Takahashi, R. *et al. Adv Funct Mater* **33**, 2300184 (2023). [2] Himori, S. *et al. ACS Omega* **9**, 42261-42266 (2024).

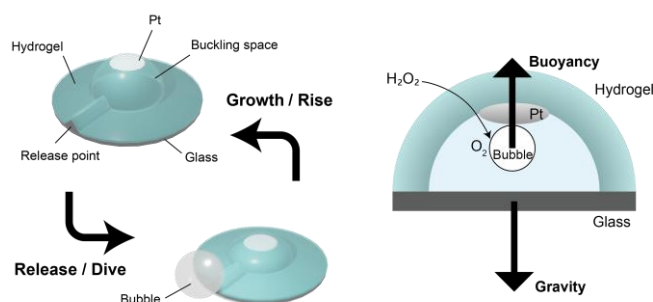
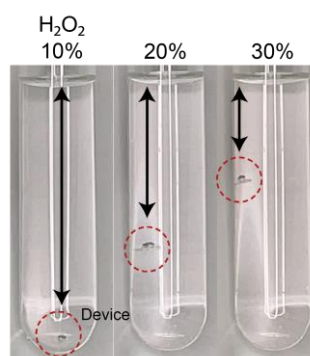


Fig. 1 Schematic of the catalyst-integrated gel device.

Fig. 2 H₂O₂ dependent vertical oscillation.

立体培養組織の電位計測のためのピラー電極アレイ製作に向けた 平面配線と立体電極の一括形成手法の提案

One-Step fabrication of 2D feedline and 3D electrode for a micropillar electrode array
toward measuring potentials of 3D cultured neural tissues

NTT 物性基礎研・BMC

○大友 泰輝, 酒井 洸児, 高橋 陸, 後藤 東一郎, 水野 陽介, 田中 あや

NTT BRL・BMC

○Taiki Otomo, Koji Sakai, Riku Takahashi, Toichiro Goto, Yosuke Mizuno, Aya Tanaka

E-mail: taiki.otomo@ntt.com

【緒言】脳オルガノイド等の三次元培養神経組織は脳の主要な機能を再現可能であり、その内部の活動電位を計測することは神経発達や脳疾患の理解に有用である¹。これに伴い、三次元組織内部を計測可能なピラー電極を有する微小電極アレイの製作技術が近年注目されている。先行研究では、フォトリソグラフィで形成した平面配線上に立体造形したピラー電極を統合する手法が用いられてきたが、配線とピラーの精密な位置合わせが必要であり、多様なスケールの立体構造物を汎用的に微小電極アレイへ統合するうえで技術的障壁となっていた。そこで本研究では、精密な位置合わせが不要で、平面配線と立体電極を一括形成可能な新たな製作手法についての提案・検討をした。

【実験・考察】製作プロセスを図1に示す。ガラス基板上にAu薄膜を成膜後に3Dプリント構造物とAu表面の密着性向上のため、チオール誘導体からなる接着性分子で表面処理をした。3Dプリンティングで中空ピラーと配線パターンを一括で形成し、ウェットエッチングで配線部以外のAu薄膜を選択的に除去した。最後に電解めっきで中空ピラーの内部にAuを析出させピラー電極を形成した。この製作手法の検証として、まず配線のパターンニング精度を評価した。Au薄膜上に長さ500 μm 、高さ50 μm 、幅5, 10, 50 μm の直方体構造を3Dプリンティングで形成後、ウェットエッチングによるパターンニングを試みた。その結果、最小幅5 μm のパターンの形成が可能であることが確認され、基板上に形成する配線の線幅として要求される寸法要件を満たすことが示された。加えて、3Dプリントで形成した角孔を有する中空ピラー(開口寸法25×25 μm 、高さ100 μm)内に電解めっきでAuを析出し、ピラー電極の形成について検討をした。Auは中空ピラーと同程度の高さまで内部空隙に均一に析出していることが確認され、本研究で提案する製作手法の有効性が示された。

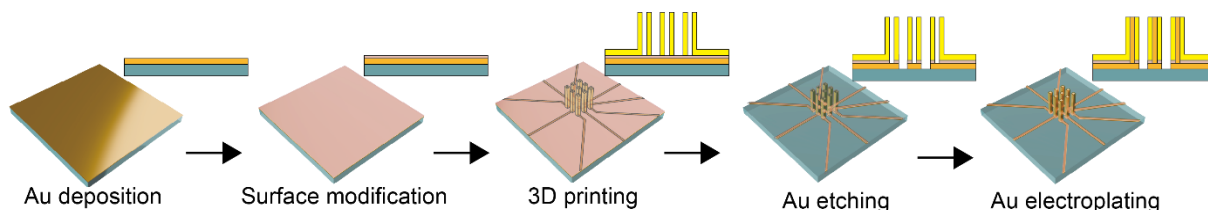


Fig. 1 Fabrication method of micro pillar array

【参考文献】 1.Huang, Q. *et al. Sci. Adv* 8, eabq5031 (2022).

階層モジュール構造型人工神経細胞回路の損傷・自己修復特性の解析

Functional response and self-repair processes after focal injury in artificial neuronal networks with hierarchically modular structure



東北大通研¹, 東北大院工², 東北大 AIMR³, 同志社大院脳⁴
 ○(DC) 渡邊 啓太^{1,2}, 山本 英明¹⁻³, 住 拓磨³, 室田 白馬^{1,2}, 尾崎 弘展⁴, 河本 賢史郎⁴,
 松井 鉄平⁴, 正水 芳人⁴, 佐藤 茂雄^{1,2}, 平野 愛弓¹⁻³

RIEC¹, Grad. Sch. Eng.², AIMR³, Tohoku Univ.; Grad. Sch. Brain Sci., Doshisha Univ.⁴

○K. Watanabe^{1,2}, H. Yamamoto¹⁻³, T. Sumi³, H. Murota^{1,2}, H. Osaki⁴, K. Kawamoto⁴,
 T. Matsui⁴, Y. Masamizu⁴, S. Sato^{1,2}, A. Hirano-Iwata¹⁻³

E-mail: watanabe.keita.q6@dc.tohoku.ac.jp

【背景・目的】 生体の情報処理システムである脳は、損傷を受けても柔軟な再編成により機能を回復させる (Chen et al., Cell, 2021). こうした機能回復には、損傷の大きさだけでなく損傷箇所も重要な要因であることが、動物モデルや数理モデルを通じて示されている (Fukui et al., Sci. Rep. 2020; Alstott et al., PLoS Comput. Biol. 2009; Sumi et al., Front. Neurosci. 2025). しかし、脳は大規模かつ複雑な構造であり、損傷による機能変調やその後の機能回復のメカニズムは依然として十分に理解されていない。そこで本研究では、哺乳類大脳皮質に見られる階層的モジュール構造 (Meunier et al., Front. Neurosci. 2010) を再現した人工神経細胞回路を用いて、特定の接続部位に選択的な損傷を与えることが可能なレーザーマイクロダイセクション実験系を構築した。さらに、構造機能相関の観点から、損傷箇所がネットワークの損傷耐性および自己修復性に与える影響を定量的に解析したので、その結果を報告する。

【実験方法】 マイクロ流体デバイスは、100 μm 四方の正方形 16 個からなる階層モジュール構造に設計し、ポリジメチルシロキサンをレプリカモルディング法で成型することにより作製した (図 1a) (Murota et al., Adv. Mater. Technol. 2025). そのデバイス上に、胎生 18 日ラット大脳皮質由来の神経細胞を播種することで人工神経細胞回路を作製した。培養 10~11 日目に UV ナノ秒パルスレーザーを用いてモジュール間の神経突起を選択的に切断した (図 1a). 自発活動は、損傷前、損傷直後、1, 3, 7 日後の各時点で Ca イメージングにより計測した。

【結果】 損傷直後において、損傷箇所近傍では自発活動がほとんど無くなったのに対し、損傷箇所以外では頻度はやや低下したものの、活動自体は維持されていた (図 1b). このことは、今回の実験系で神経突起のみを選択的に切断できていることを示唆している。また、ネットワークの中心に存在する hub 結合と末端に存在する peripheral 結合では、損傷後の回復速度と活動変化に明確な差が見られ、損傷箇所がネットワークの回復動態を決定する重要因子であることが分かった。発表では、初回から 7 日後に同一箇所を再損傷し、機能回復のメカニズムを調べた実験の結果についても報告する。本研究の結果は、脳損傷の理解と治療、さらには損傷耐性を備えた工学システム設計などに貢献することが期待される。

本稿の内容の一部は、学術変革領域研究 (A) 「脳神経マルチセルラバイオ計算の理解とバイオ超越への挑戦」、科研費、JST-CREST、東北大学電気通信研究所共同プロジェクト研究の成果に基づいて実施された。

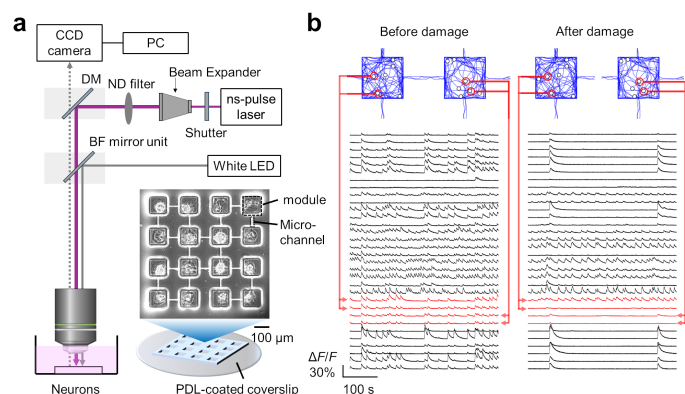


図 1: (a) レーザーマイクロダイセクション実験系の概略図と、人工神経細胞回路の位相差顕微鏡画像. (b) 損傷実験の模式図 (上) と、損傷前後における代表的な GCaMP 蛍光波形 (下). 赤色の波形は、損傷箇所に対応するモジュール内の神経細胞を示す. (Watanabe et al., bioRxiv, 2025)

ナノポア計測技術を用いたミトコンドリア膜模倣小胞の評価

Nanopore-Based Characterization of Mitochondrial Membrane-Mimetic Vesicles

東北大院工¹, 東北大通研², 東北大学際研³, Korea Basic Science Institute⁴, 東北大材料高等研⁵

○楢 千咲恵^{1,2}, 平本 薫³, Yuxi Lin⁴, Young-Ho Lee⁴, 平野 愛弓^{2,5}

Grad. Sch. Eng. Tohoku Univ.¹, RIEC², FRIS³, KBSI⁴, AIMR⁵

○Chisae Kaji^{1,2}, Kaoru Hiramoto³, Yuxi Lin⁴, Young-Ho Lee⁴, Ayumi Hiramio-Iwata^{2,5}

E-mail: kaji.chisae.t8@dc.tohoku.ac.jp

1. 緒言

当研究室ではこれまでに脂質膜コートナノポアの測定系を確立し、ミルエクソソームの検出において捕捉率の向上や滞在時間の延長といった効果を確認した。現在はこの技術を発展させ、脂質膜小胞の組成を変えることで生体内の脂質膜環境を模倣し、ナノポアを用いた生体分子（タンパク質）と脂質膜の相互作用検出の可能性を検討している。

本研究ではミトコンドリア膜に多く存在するカルジオリピンがタンパク質の特異吸着や活性発現に関与することに着目し、カルジオリピン濃度を変えたミトコンドリア膜模倣小胞を作製してナノポア検出時の挙動を調査した。また、ミトコンドリア膜模倣小胞とタンパク質を混合した場合のシグナル変化についても検証を行った。

2. 実験

ガラス管をレーザーブラーを用いて先鋭化し、ポア直径 200 nm 程度のナノピペットを作製した。次に、ダルベッコリン酸緩衝液を内部に充填したピペットの先端をリボソーム分散液(直径約 100 nm, 構成脂質 2-Dioleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine(DOPC))に浸し、ベシクル破裂によりポアに脂質膜を形成した。リボソーム分散液を緩衝液に置換しピペットのウォッシュを行った後に、ピペット外部溶液に検出対象であるミトコンドリア内膜組成を模倣したリボソーム(直径約 200 nm)を追加し、電圧を印加してナノポアを介して流れる電流を計測した。その後、さらにタンパク質 A を追加し、10 分間のインキュベートの後に再度電流計測を行った(Fig. 1)。

3. 結果・考察

ミトコンドリア膜模倣リボソームの分散液中でポアの内外に電圧を印加したところ、カルジオリピンの有無で異なる傾向の電流阻害波形(ブロッキング電流)が計測された。さらにタンパク質を液中に追加した場合にも、ブロッキングイベントの持続時間が延長された。これは小胞の組成やタンパク質の吸着の有無で表面電荷が変化したことにより、粒子に働く電気泳動力が変化したためであると考えられる。

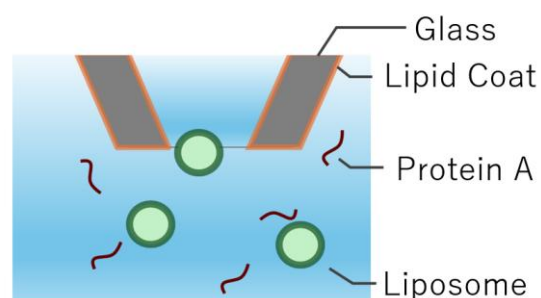


Fig. 1 実験模式図,
Experimental schematic

1 次元溝構造 PDMS 基材上における心筋線維芽細胞の運動解析

Migration Analysis of Cardiac Fibroblasts on One-Dimensional grooved PDMS Substrates

青学大理工¹ ○(M2) 桑原 宙歩¹, 青木 一浩¹, 守山 裕大¹, 三井 敏之¹

Aogaku Univ.¹, °Hiromu Kuwabara¹, Kazuhiro Aoki¹, Yuuta Moriyama¹, Toshiyuki Mitsui¹

E-mail: mitsui@phys.aoyama.ac.jp

【はじめに】組織再生や創傷治癒において、細胞の配向は細胞外環境の幾何学的構造に大きく影響を受ける。*In vitro*での培養においては、ポリジメチルシロキサン (PDMS) が、その幾何学的パターンニングの容易さから、細胞形状の制御に適した基板として広く用いられてきた。たとえば、PDMS 上の 1 次元 (1D) 溝構造が細胞配向に与える影響は観測されており、神経細胞は溝方向に沿って平行に配向することが知られている。本研究では、溝幅および溝間隔をパラメータとして設定した 1D 溝構造を PDMS 基板上に平行に配置し、心筋細胞および線維芽細胞の局所的な共培養を行った。細胞が溝上を遊走し、コンフルエントに至るまでの単一細胞の挙動および細胞集団としての運動を観察し、溝壁など構造的境界が及ぼす影響を解析した。本研究により、配向した心筋細胞組織を効率的に構築するための最適な溝幅および溝間隔の条件を明らかにする。

【実験方法】1D 溝構造を形成するためのモールドは、シリコン基板上にフィルムフォトレジスト (SU-8 3045CF DFR) を用いて 3D 構造を作成した。この SU-8 モールド上に PDMS を滴下・硬化させた後、剥離することで 1D 溝構造を有する PDMS 基板を得た。PDMS 基板表面は細胞接着のためにコラーゲンコートを行った。溝幅は 30~100 μm 、高さは 45 μm 、溝間隔は 50~150 μm とした。作製した PDMS 基板上の一部に、受精後 7 日目のニワトリ胚心臓から採取した線維芽細胞および心筋細胞を播種した。18 h の培養により局所的にコンフルエント状態を作り、細胞フリーの溝の領域へと細胞が遊走する様子を、位相差顕微鏡を用いたタイムラプス観察により記録した。

【実験結果】線維芽細胞は、孤立して先行して動く細胞と、その後、溝内や溝間において集団として動く細胞が観測された。Fig.1(a) では、集団として上方に動く線維芽細胞のスナップショットで、その下方では、細胞はコンフルエントであった。溝幅 80 μm の溝間が、最初にコンフルエントになり、溝内は溝間より集団としての動きが遅く、また、共培養の心筋細胞の密度が濃かった。本発表では、細胞種も含めて集団的動きの違いについて議論する。

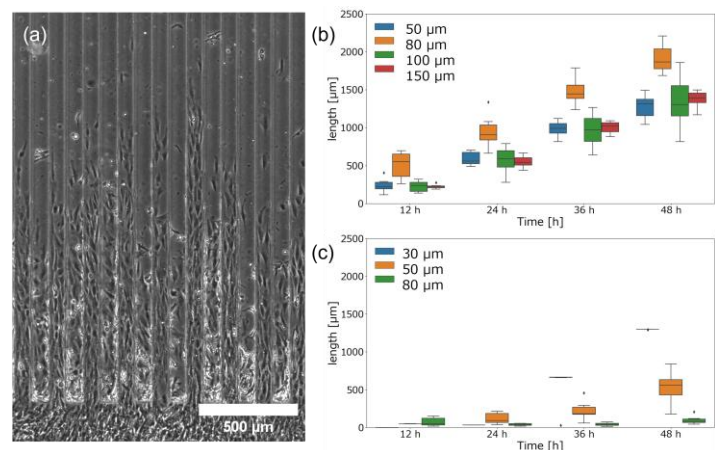


Fig. 1. (a) Image of grooves with cells. Fibroblasts appear dark, while cardiac cells appear bright. (b) Length of confluent cell area between grooves (c) in grooves.

レーザー結晶化技術によるバイオ試料の冷凍損傷プロセスの直接観察

Observation of freezing damage process of biospecimens by laser induced crystallization

阪大院工¹, (M2)井上 奨¹, 藤井 紀文¹, 高橋 秀実¹, 松崎 賢寿¹, 吉川 洋史¹

Grad. Sch. Eng., Univ. Osaka¹, [○]Sho Inoue¹, Norifumi Fujii¹, Hozumi Takahashi¹,

Takahisa Matsuzaki¹, Hiroshi Y. Yoshikawa¹

E-mail: inoue.s@mp.ap.eng.osaka-u.ac.jp

【序論】冷凍技術は、常温で劣化するバイオ試料(食品、細胞、臓器など)の長期保存のために必要不可欠である。一方、バイオ試料は冷凍で生じる氷結晶により容易に損傷することが知られており、その損傷メカニズムの解明が求められている。しかし、冷風や冷媒の温度調節のみに依存した従来の冷凍技術では、氷の結晶化が起こる時間や空間を厳密に制御できないため、試料内の「いつ」・「どこに」氷結晶が生成し、それがどのように成長して損傷を与えるか、バイオ試料の冷凍初期過程の定量的な知見を得ることが困難である。そこで本研究では、これまで我々のグループで開発してきたレーザー結晶化法[1, 2 等]により氷結晶化を時空間制御し、氷の結晶化によるバイオ試料(細胞および細胞膜モデル)損傷プロセスの直接観察が可能な実験システムの構築に取り組んだので報告する。

【実験】バイオ試料としては、ヒト肝細胞がん細胞(HepG2)および細胞サイズの脂質ベシクル(GUV, Giant Unilamellar Vesicle)を用いた。GUV は 2,3-Dioleoyl-glycero-1-phosphocholine (DOPC)を脂質として、Electro-swelling 法で作製した。事前に冷凍庫(-15℃ ~ -20℃)で静置した細胞または GUV の懸濁液 200 μL をガラスボトムディッシュに滴下し、室温(約 20℃)にて Ti:Sapphire レーザー(中心波長 800nm, パルス時間幅 5 ps, 繰り返し周波数 1000 Hz)を 20 倍対物レンズ(NA = 0.5)を通して集光照射した。集光位置はガラスボトムディッシュの底面から約 100 μm 上の液中とした。レーザー照射前後の試料は、同じ対物レンズを通して高速カメラ(12000 fps, PFV, Photoron)を用いて観察した。

【結果】Fig. 1 に HepG2 が懸濁されたリン酸緩衝液中に、パルスレーザーを連続照射したときのタイムラプス像を示す。レーザー照射開始直後から青色で示した集光領域周辺にバブルが生じ、2.5 ms 頃には結晶が発生・成長していく様子が観察された。その後数ミリ秒程度で、氷の結晶が細胞を覆いつくすようにして成長した。このようなレーザーによる氷の結晶化は、GUV の懸濁液中でも誘起することが可能であり、氷の結晶化により脂質膜が損傷し内部液が漏出する様子を観察することが可能であった。以上の結果は、レーザー結晶化技術を用

いることで、バイオ試料冷凍の時空間ダイナミクスを高精度に観察できることを示しており、今後詳細な冷凍損傷メカニズムの解明に繋がることを期待できる。

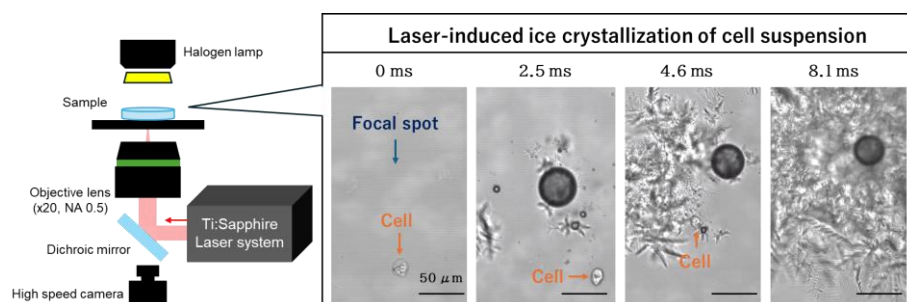


Fig.1: Laser-induced ice crystallization in cell suspension ($E = 20 \mu\text{J/pulse}$)

[1] H. Takahashi et al., *J Phys Chem Lett*, 14, 4394 (2023), [2] H. Y. Yoshikawa et al., *Chem Soc Rev*, 43, 2147 (2014).

開放型マイクロ流路を利用した細胞の急速凍結

The use of an open-top microfluidic chip for rapid freezing of biological cells

阪大工¹, 阪大 OTRI² °田辺よしの¹, 辻康介¹, 國本拓実¹, 山中真仁¹, 藤田克昌^{1,2}

UOsaka¹, UOsaka OTRI² °Yoshino Tanabe¹, Kosuke Tsuji¹, Takumi Kunimoto¹,

Masahito Yamanaka¹, Katsumasa Fujita^{1,2}

E-mail: fujita@ap.eng.osaka-u.ac.jp

細胞の急速凍結固定は、化学固定と異なり、細胞の形態、生体分子の分布だけでなく、生体分子の化学状態、イオン濃度分布などを自然に近い状態で固定できる技術である。近年、我々は、光学顕微鏡で細胞動態を観察しながら、任意のタイミングかつミリ秒の時間精度で細胞を急速凍結し、凍結後に凍結状態のまま細胞を観察できる「時間決定型クライオ光学顕微鏡」を開発した [1]。本技術では、十分な凍結速度で試料を凍結固定するため、細胞動態に影響しない範囲で試料中の緩衝液量を減らした後に、液体寒剤を試料に直接接触させ、急速凍結固定する。凍結速度は試料中に残留する緩衝液量によって左右されるため、再現性が高い凍結タイミング精度で試料を凍結固定するには、試料中の緩衝液量の制御が重要となる。

本研究では、時間決定的クライオ光学顕微鏡による試料凍結において、カバーガラス上に作製した開放型のマイクロ流路を利用することで、試料中に残留する液量を制御する技術を提案した。提案技術では、マイクロ流路中で細胞を培養し、マイクロ流路にのみ緩衝液を残留させることで、再現性良く細胞周囲に残留する緩衝液量を決定できる。図 1 A がカバーガラス上に作製した開放型のマイクロ流路の上面および側面図である。流路中央部には細胞観察用の深さ 20 μm 、幅 100 μm 、長さ 1 mm の流路があり、この流路の両サイドには、揮発による急激な液量減少を抑制するため、十分な液量を確保できる深さ 20 μm 、縦横 2 mm の溝が配置され、幅 50 μm の溝で幅 100 μm の溝と接続されている。図 1 B に示すように、溝のみに溶液が残留すること、および溝により残留溶液を保持できる時間を評価するため、マイクロ流路を作製したカバーガラスに蛍光溶液を滴下し、共焦点蛍光顕微鏡で残留溶液量を観察した。その結果、蛍光溶液をピペットで吸引した後、幅 100 μm 、長さ 1 mm の溝部分には液面が平坦な状態で高さ 20 μm の蛍光溶液が残留し、3-5 分程度の時間、溶液量が一定に維持されることを確認した。さらに、マイクロ流路付きカバーガラス上に HeLa 細胞を培養し、ミトコンドリアを染色した後に、蛍光顕微鏡観察下において急速凍結した結果、溝部分にのみ緩衝液が残留している状態で細胞を急速固定できることを確認した。この結果から、本提案技術により凍結直前の細胞周囲の緩衝液量を精度良く制御でき、細胞の凍結固定の条件を再現性高く設定できることが確認できた。

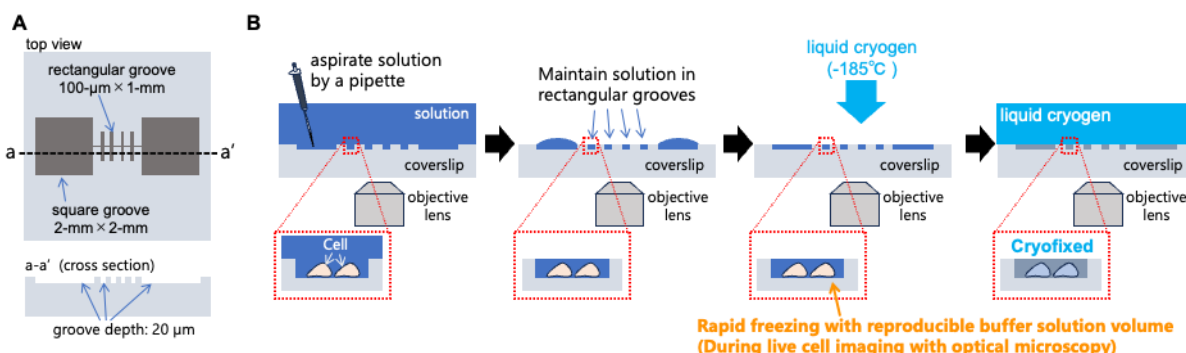


Fig. 1 (A) Top and cross-sectional views of a coverslip designed with an open-top microgroove structure. (B) Schematic illustration of the proposed method, in which the residual solution volume is reproducibly controlled, and rapid freezing is performed under optical microscopy observation.

参考文献 : [1] M. Yamanaka, K. Tsuji, et al., bioRxiv doi : 10.1101/2023.08.01.551103

パリレン被覆による LAPS のイオン検出性能向上 Enhancement of Ion-Sensing Performance of Light-Addressable Potentiometric Sensors by Parylene Coating

京工繊大・電気電子¹、山形大・ROEL²、東北大・電子工学³

○ (M2) 松本 晏奈¹、逸見 悠大²、松井 弘之²、宮本 浩一郎³、吉信 達夫³、WERNER Carl Frederik¹

¹Electronics, Kyoto Inst. Tech., ²ROEL, Yamagata Univ., ³Electronic Engineering, Tohoku Univ.

○ (M2) Anna Matsumoto¹, Yudai Hemmi², Hiroyuki Matsui², Ko-ichiro Miyamoto³,

Tatsuo Yoshinobu³, Carl Frederik Werner¹

E-mail: m4621040@edu.kit.ac.jp, werner@kit.ac.jp

[緒言]

近年、光源のビームサイズで空間分解能を任意に設計可能な光アドレス型電位センサ (LAPS) が注目されている^[1]。LAPS ではこれまで絶縁膜に SiO_2 や Si_3N_4 が広く用いられてきたが、その成膜には高温処理が必要であり、基板への熱負荷が大きいという課題がある。さらに、イオン選択膜 (ISM、イオノフォア含有 PVC 膜) を搭載する場合、 Si_3N_4 表面のヒドロキシ基を完全に化学修飾することが困難であり、これがセンサー感度低下の一因となることがあった。これらの問題解決のため、本研究では絶縁膜として、常温成膜で基板への熱的影響が小さく、化学的安定性高から安定したセンシングを期待できるパリレンの適用を試みた^[2]。

[実験内容・結果]

本研究では、 Si_3N_4 の表面に約 40 nm のパリレン (diX-SR) を CVD プロセスで成膜し、LAPS デバイスを作製した。LAPS チップは、200 μm の n-Si 基板上に 50 nm の SiO_2 と 50 nm の Si_3N_4 が積層された構造である。K イオノフォア (valinomycin) を含む ISM はディスペンサにより精密にデフロンパターニングを行い、ドロップキャストにより作成した (図 1)。

作製したデバイスの K イオン応答性は、既知濃度の KCl 溶液を用いて評価した (図 2)。比較のため、なにも修飾されていない Si_3N_4 表面、およびオクタデシルトリクロロシラン (OTS) で表面修飾した Si_3N_4 表面上での ISM 性能も評価した。その結果、パリレンを絶縁層として用いたデバイスが、試験した構成の中で最も優れた性能を示した。

結論として、カリウム選択性 ISM において異なる絶縁層 (無し、OTS、パリレン) の3種類の感度を比較したところ、パリレンが LAPS 上の ISM 感度を大幅に改善することが確認された。有機絶縁体であるパリレンは、PVC 膜への接着性が高く、さらにその表面にヒドロキシ基が存在しないため pH 交差感度を抑制できると考えられる。これらのパリレンの特性は、LAPS を用いた先進的で柔軟なイオンセンシング応用において、有望な絶縁材料であることを示唆している。

[参考文献]

[1] T. Yoshinobu, et al., Label-Free Biosensing: Advanced Materials, Devices and Applications, Springer(2018),103-132.doi:10.1007/5346_2017_22

[2] M. Sugiyama, et al., *Nature Electronics* **volume 2**, (2019) 351–360. doi: 10.1038/s41928-019-0283-5

[謝辞]

本研究は、日本学術振興会 (JSPS) の科学研究費補助金 23K23368 および 24K21336 の助成を受けて行われた。

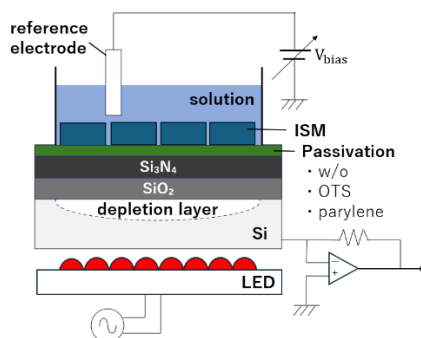


Figure 1: LAPS device structure with ISM.

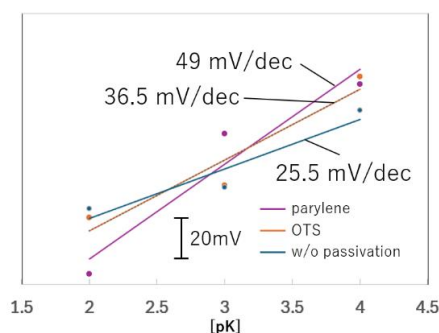


Figure 2: K^+ -sensitivity depending on different passivation types.

誘電泳動を用いた力検出カンチレバーへの細胞吸引法の開発

Development of the Cell Aspiration Method toward Force-sensing Cantilever

Using Dielectrophoresis

大阪電通大院工¹, 大阪電通大工², [○]菅根川 尊喜¹, 瀧口 貴大²,

河野 息吹², 森岡 雅功², 山田 祥悟², 藤巻 竜星², 影島 賢巳¹

Graduate School, O.E.C.U.¹, O.E.C.U.², Masami Kageshima¹, [○]Takayoshi Sonekawa¹,

Takahiro Takiguchi², Ibuki Kawano², Gaku Morioka², Shogo Yamada², Ryusei Fujimaki²

E-mail: me25a003@oecu.jp

1 はじめに

細胞核に病理的な変化が起きると、物理的性質が変化する可能性がある。そこで、我々は細胞を捕捉し、外力を加えたときの変形量を測定するために、細胞を捕捉するための機構の開発をしている。力を測定するために、カンチレバーに細胞を捕捉する。その概略図を図1に示す。Pt 箔に集束イオンビームによる超微細加工で細胞の大きさ程度の貫通穴を施し、ここに誘電泳動により細胞を吸引することを考えた。目標は、電極間に Pt 箔をカンチレバーとして取り付けることで、単一細胞レベルの捕捉を実現することである。本稿では、その検討について述べる。

2 実験方法

誘電泳動で注目すべきは、Clausius-Mossotti (CM) 因子に正負が存在することである。その符号が正のとき、粒子は電場の強い方向へ移動する。CM 因子のシミュレーションでは、細胞はイースト菌を用い、均質な球状粒子と仮定した。媒質は45 w/v% グルコース溶液を使用した。周波数を1 Hz~10 MHzの範囲で変化させた。結果は、1 Hz~100 Hzで負の一定値を示し、100 Hz~10 kHzで値が増加した。約2 kHzで符号が正に切り替わり、100 kHz以上で CM 因子が正の一定値を示した。

誘電泳動は非対称な電場で起こる現象で、これを実現するためにピン-プレート型電極を作製した。それぞれの電極については、直径が0.030 mmのタングステン線の先端を直流電解研磨することで、先端径を約0.5 μm に研磨した針状電極とステンレス箔で作製した平板電極とした。電極間を100 μm に調整し、非対称電極を作製した。

3 実験結果

印加電圧を10 V_{pp}、周波数を1 kHz~10 MHzとしたところ、100 kHz以上で正の誘電泳動の速度が一定となり、CM 因子の実部の計算結果に一致していることを確認した。ただし、負の誘電泳動については確認はできていないので、今後詳細な検討と実験が必要である。

今後は、その電極間に上記の製法で作製した厚さ5 μm の Pt 箔を銅線に絶縁性のエポキシ接着剤で片側を固定して作製したカンチレバーを配置し、貫通穴を通して誘電泳動ができるかを検討する。この実験結果とその考察については当日に報告する予定である。

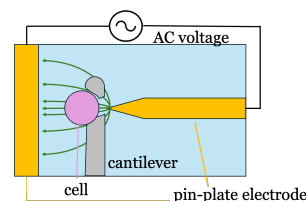


Figure 1. Schematic of cell aspiration

Label-Free Characterization of Plant Protoplasts Using Multifrequency Impedance Flow Cytometry

Trisna Julian¹, Muhammad Ridho Priyo¹, Tao Tang², Naomi Tanga¹, Yang Yang³,

Yoichiroh Hosokawa¹ and Yaxiaer Yalikun¹

¹Nara Institute of Science and Technology, JAPAN, ²Chongqing General Hospital, CHINA,

³Chinese Academy of Sciences, CHINA.



E-mail: julian.trisna.jw3@ms.naist.jp

Genetically modified (GM) plants offer a promising solution for developing climate-resilient crops. A key technique in plant genetic engineering involves manipulating protoplasts—plant cells devoid of cell walls—which allows direct access to the cell's internal machinery and enables complete regeneration into a mature plant¹⁾. However, characterizing individual plant protoplasts is challenging because conventional techniques like flow cytometry rely on fluorescent labels that can harm cell viability, limit marker compatibility, and hinder long-term studies²⁾. Therefore, in this study, we present a label-free, multifrequency impedance flow cytometry system for characterizing plant protoplasts at the single-cell level. Our custom-designed microfluidic device consists of a microfluidic channel embedded with three electrodes (Figure 1a). The central electrode is excited with an alternating current composed of three distinct frequencies chosen to probe specific cellular components. The resulting differential current across the side electrodes is converted to voltage and demodulated using a lock-in amplifier, yielding frequency-specific impedance profiles³⁾. To validate our system, we analyzed tobacco BY-2 protoplasts cultured for 0, 12, and 24 hours after enzymatic removal of the cell wall. Over time, protoplasts regenerate their cell walls, which increases cell size and alters the electrical properties of the membrane and cytoplasmic compartments (Figure 1b). These morphological and physiological changes are captured by metrics such as electrical diameter and low-frequency phase shift, which correlate with cell size and wall regeneration (Figure 1c). Additionally, a frequency-dependent opacity metric indicates the degree of membrane shielding as the cell matures. Mechanical properties were evaluated by introducing a constriction in the microchannel (Figure 1a), where increased passing time at lower channel height (CH) indicated rising stiffness during cell wall regeneration (Figure 1d). Our results highlight the potential of label-free, multifrequency impedance cytometry for non-invasive characterization of plant protoplasts, enabling scalable assessment of their electrical and mechanical properties during regeneration.

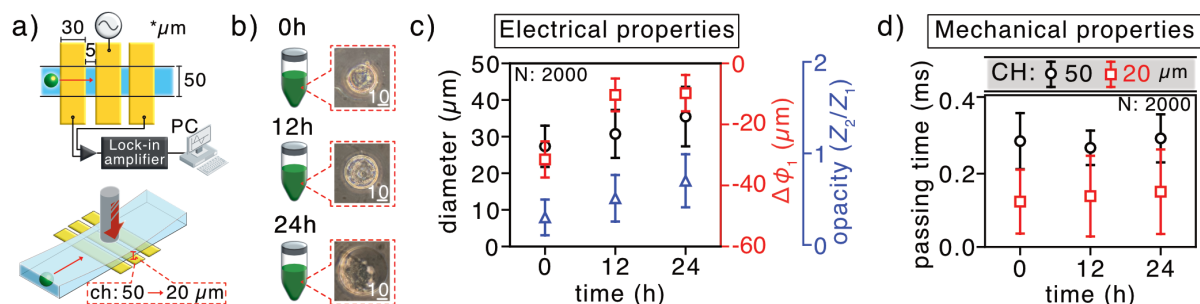


Figure 1. a) Schematic of the impedance flow cytometry setup. b) Image showing the regeneration process of a tobacco BY-2 plant cell. c) Electrical and d) mechanical property measurements of tobacco BY-2 cells during regeneration.

1) N. S. Mukundan, et.al., Plant Biotechnol Rep, 1-20 (2025)

2) T. Niehörster, et.al., Nat Methods 13 [3], 257 (2016).

3) T. Sun and H. Morgan, Microfluid Nanofluid 8 [4], 423 (2010).

電気化学インピーダンス測定と機械学習を用いた植物内部水分状態の定量的 *in-situ* 評価

in-situ Monitoring of Plant Water Stress by Electrochemical Impedance Spectroscopy and Machine Learning

東京理科大学 創域理工¹/総研²

○杉山 睦^{1,2}, 吉永 博紀¹, 梅本 遥介¹, 篠田 倫太郎¹

1. Faculty of Science and Technology / 2. RIST, Tokyo Univ. of Science

○M. Sugiyama^{1,2}, H. Yoshinaga¹, Y. Umemoto¹, R. Shinoda¹ E-mail: optoelec@rs.tus.ac.jp

【はじめに】 近年スマート農業による作業の自動化・効率化が推進されている。従来のセンシング技術では、土壌水分量や気温などの環境モニタリング、および画像解析による植物外観の観察などが主流であったが、これらの手法では植物内部の状態をリアルタイムで捉えることが困難である。例えばトマトは、育成時の水分状態が収穫量や味に大きく影響を与える事が知られているが、葉のしおれ具合など植物外観から目視で判断する場合が多く、定量性や客観性に欠ける。我々は、植物の内部状態を簡便・低コストかつリアルタイムに評価可能な手法として、「電気化学インピーダンス法(EIS)」に着目している[1]。EIS は、ストレスにならない程度の微小交流電圧を植物に印加し、得られた周波数依存インピーダンスからイオンの移動や細胞構造に関する多角的な情報を抽出することが可能な測定手法である。これまでCa イオンの移動に際し、数秒以内のモニタリングができていたことなどから、細胞レベルでのイオンなどの動きを瞬時に診断することが可能であることもわかってきている[2]。今回は、植物の生育状態などを高精度にリアルタイム分類・評価することを目的に、水分状態を変化させたコマツナに対し EIS 測定を行い機械学習を用いた解析を行った。

【実験方法】 水分量の変化が分かりやすい水耕栽培で育成したコマツナを用い、湿潤状態の「水有り」株と、水抜きによって乾燥を進行させた「水無し」株をそれぞれ準備した。いずれも茎の表面2点に貼付した電極を介して EIS 測定を行った。得られた測定に対して、図 1 に示す細胞組織を模した等価回路モデルに基づいて進化的最適化アルゴリズムを用いたフィッティングを行い、細胞外液抵抗(R_o)、細胞内液抵抗(R_i)、細胞膜キャパシタンス(CPE)などの各パラメータを訓練データとした二項分類モデルを Microsoft Azure Machine Learning Studio により構築した。

【結果及び考察】 EIS により取得される多角的な電気的情報を機械学習に用いて、パターン分類を行うことで、植物の水分状態の早期検出と定量的評価が可能となることが示された。この手法は、今後のスマート農業におけるリアルタイムモニタリング技術として有望であると考えられる。詳細は当日報告する。

【謝辞】 本研究の一部は、東京都葛飾区、JA 東京スマイル葛飾営農研究会の援助を受けた。

【参考文献】 [1] Our group: Theor. Exp. Plant Phys., 34 (2022) 501.; JJAP, 62 (2023) 027002.; JJAP, 62 (2023) 088002. [2] Our group, Environ. Cont. Biol., 63 (2025) accept.

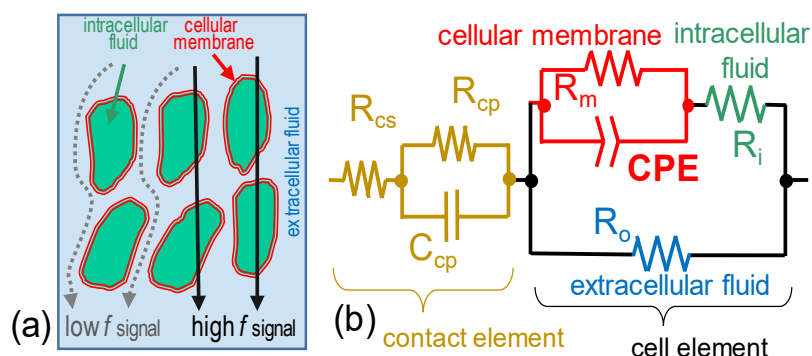


図 1. (a) 細胞に交流電流および直流電流を印加した際の電流経路のイメージと、(b)本研究で提案した細胞の電氣的等価回路(Okajima model[1])

電気化学発光バイオセンサーを用いる D-アミノ酸診断マーカーの計測

Measurement of D-amino acid diagnostic markers using electrochemiluminescence biosensor

阪大産研¹, 阪大医学² °民谷栄一¹, 木村友則²

SANKEN Osaka Univ.¹, School of Med. Osaka Univ.², °Eiichi Tamiya¹, Tomonori Kimura²

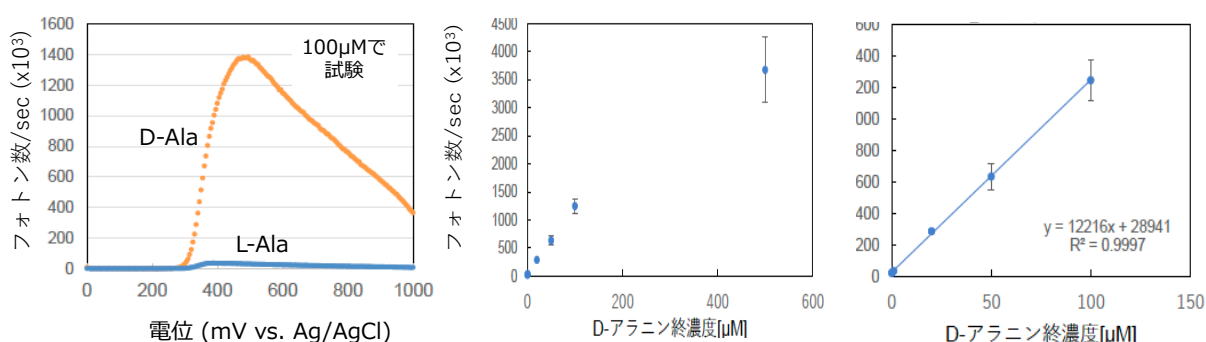
E-mail: tamiya@ap.eng.osaka-u.ac.jp

1. はじめに

生体中に微量に存在する光学不斉の D 体アミノ酸は、腎機能不全、認知症、心不全、腫瘍、ウイルス感染重症化などのバイオマーカーとしての可能性が示されているが、診断現場での早期診断、予後予測などを行なう操作性や感度などの優れた POCT 診断機器の開発が求められている。我々は、電気化学発光バイオセンサーを用いて種々のバイオマーカー（糖化アルブミン、グルコース、乳酸、1,5AG、抗酸化など）の測定を行っており、今回は、D-アミノ酸を選択的に高感度に測定できることを検討したので、以下に報告する。

2. 実験および結果

D-アミノ酸オキシダーゼ（池田糖化）400mU を印刷電極 EP-PP（バイオデバイステクノロジー社）に光架橋ポリマーおよびキトサンポリマーを用いて包括固定化した。測定には小型電気化学発光測定装置 BDT-eCL(バイオデバイステクノロジー社)を用いて以下のモード（LSV 測定 走査範囲:0-1000mV 走査速度: 50mV/sec)で測定した。用いた酵素の光学不斉選択性を確認するために D-Ala と L-Ala を用いて応答を調べたところ、明確な差が得られた。また、ここで用いた測定条件としては、酵素反応時間 5 分、発光計測時間 20 秒であり、迅速な測定が可能であった。得られた検量線から 0.5-500 μ M と高感度で広い測定範囲であることも示された。



民谷の関連論文

Anal.Chem. 89,5909–5915(2017)

*Anal.Chem.*89,5909–5915(2017)

Electroanalysis, 34, 8-14 (2022)

Electrochim.Acta, 222, 580-586 (2016)

Biosens. Bioelectron. 252, 116083 (2024)