

一般セッション(口頭講演) | 12 有機分子・バイオエレクトロニクス: 12.7 医用工学・バイオチップ

2025年3月15日(土) 14:30 ~ 18:45 皿 K403 (講義棟)

[15p-K403-1~15] 12.7 医用工学・バイオチップ

竹原 宏明(東大)、宮廻 裕樹(東大)、檜森 匠吾(NTT)

14:30 ~ 14:45

[15p-K403-1]

移動エントロピー解析による神経細胞間の結合特性評価

○箕嶋 渉¹、瀬川 夕海²、宮崎 達夢²、増井 恭子²、細川 千絵²、松田 厚志¹、小林 昇平¹ (1.NICT未来ICT研、2.阪公大院理)

14:45 ~ 15:00

[15p-K403-2]

周期的感覚刺激への脳波応答に基づくブレインマシンインタフェース

○中務 友心¹、外之内 祥大¹、綿貫 彩夏¹、澤畑 博人¹ (1.茨城高専)

15:00 ~ 15:15

[15p-K403-3]

電極の電気二重層による充放電を利用した神経刺激回路の動物実験評価

○竹垣 遥平¹、田野口 和将¹、澤畑 博人¹ (1.茨城高専)

15:15 ~ 15:30

[15p-K403-4]

閉領域上のアクティブ・ネマティックに基づく細胞集団におけるアクティブ応力の定量化法

○宮廻 裕樹¹、高橋 昂佑²、三好 裕之¹、奈良 高明¹ (1.東大院情理、2.東大工)

15:30 ~ 15:45

[15p-K403-5]

リポソーム固定化カンチレバー型バイオセンサ出力の時間周波数解析

○足立 奏斗¹、木村 悠人¹、野田 実²、福澤 理行¹ (1.京工織大、2.関西大)

16:00 ~ 16:15

[15p-K403-6]

グラフェンFETを用いたバイオセンサにおけるレセプター分布の可視化

○須藤 亮太¹、込戸 健司¹、秦 啓介¹、山形 卓¹、川村 浩晃¹、鈴木 美優花²、生田 昂²、前橋 兼三² (1.リコー、2.農工大)

16:15 ~ 16:30

[15p-K403-7]

細胞外小胞のフィルタリングにおける変性可能性の検討

○樋田 健斗¹、溝井 千春¹、瀬尾 尚宏¹、一木 隆範^{1,2} (1.東大、2.iCONM)

16:30 ~ 16:45

[15p-K403-8]

グルコース応答性蛍光ハイドロゲルで機能化されたマイクロニードルセンサの作製と評価

○福原 真拓¹、神田 循大^{1,2}、竹原 宏明^{1,2}、Kevin Barthelmes³、松元 亮^{1,3}、一木 隆範^{1,2} (1.東大院工、2.iCONM、3.東京科学大)

16:45 ~ 17:00

[15p-K403-9]

生体電気スキンパッチのための柔軟多孔質マイクロニードルアレイ

○鳥取 聡一郎¹、松浦 未来²、一瀬 彩栄¹、Cho Haechang¹、Galloway Tarryn³、森山 夏帆²、西澤 松彦^{1,2} (1.東北大工、2.東北大医工、3.ジョージア工科大生物工)

17:00 ~ 17:15

[15p-K403-10]

GFETの参照電極-ゲート電極間のリーク電流の検討

○山本 佳織¹、佐藤 夏岐¹、矢野 真美子¹、坂野 喜代治¹、大西 映里子¹、牛場 翔太²、谷 晋輔²、木村 雅彦²、田中 秀和¹、松本 和彦¹ (1.阪大産研、2.村田製作所)

◆ 奨励賞エントリー

17:30 ~ 17:45

[15p-K403-11]

単一筋管細胞誘導のための貫通スリット薄膜構造の作製と応用

○(M1)柴垣 竜資¹、秋田谷 美乃¹、丸山 央峰¹、星野 隆行¹ (1.名大院工)

◆ 奨励賞エントリー

17:45 ~ 18:00

[15p-K403-12]

集光フェムト秒レーザーを用いた単一神経細胞刺激手法の開発

○瀬川 夕海¹、箕嶋 渉²、増井 恭子¹、細川 千絵¹ (1.阪公大院理、2.NICT未来ICT研)

◆ 奨励賞エントリー

18:00 ~ 18:15

[15p-K403-13]

バイオセンサ応用に向けた分子鋳型導電性ポリアニリン電極の設計・創製

○(M1)井上 恵¹、坂田 利弥¹ (1.東大院工)

◆ 奨励賞エントリー

18:15 ~ 18:30

[15p-K403-14]

単一がん細胞を識別する溶液ゲート電界効果トランジスタの設計・創製

○(M1)赤尾 アメル¹、豎道 想太²、坂田 利弥¹ (1.東大院工、2.東大工)

◆ 奨励賞エントリー

18:30 ~ 18:45

[15p-K403-15]

酵素含有PEDOT:PSSチャネルOEECTの創製とグルコース応答性

○(D)伊藤 健介¹、坂田 利弥¹ (1.東大院工)

移動エントロピー解析による神経細胞間の結合特性評価

Evaluation of Connection Properties between Neurons by Transfer Entropy

NICT 未来 ICT 研¹, 阪公大院理² °箕嶋 渉¹, 瀬川 夕海², 宮崎 達夢²,

増井 恭子², 細川 千絵², 松田 厚志¹, 小林 昇平¹

NICT¹, Osaka Metropolitan Univ.², °Wataru Minoshima¹, Yumi Segawa², Tatsumu Miyazaki²,

Kyoko Masui², Chie Hosokawa², Atsushi Matsuda¹, Shouhei Kobayashi¹

E-mail: w.minoshima@nict.go.jp

【緒言】 脳では多数の神経細胞がシナプスを介して結合した神経回路網を形成しており、記憶や学習に代表される脳情報処理を行っている。神経回路網の情報処理機構を解明するためには、回路網を構成する細胞から活動電位の時系列データであるスパイク列を多点同時計測し、神経回路網の時空間ダイナミクスを示す特徴量を抽出することが重要である。これまでに微小電極アレイ (MEA) を用いたスパイク列の多点同時計測と解析により、細胞間でスパイクが伝達されることにより発生する時間的な同期性が神経回路網の時空間ダイナミクスにおいて重要であることが明らかにされてきた。しかしながら、従来の同期性解析では細胞間の空間的な信号伝搬に関する検証が不十分であり、MEA 計測では対象が電極周囲に存在する細胞由来のスパイクに限定され、単一細胞間の信号伝搬については議論できない。以上より、我々は MEA 計測に加えて蛍光カルシウムイメージングで計測したスパイク列に対し、情報科学で 2 系列間情報伝達の評価法として用いられる移動エントロピー解析 [1] を行い、細胞集団、および単一神経細胞間の結合特性を評価した。

【結果・考察】 8×8 のグリッド状に微小平面電極 (サイズ: 50×50 μm, 中心間隔: 450 μm) が配置された MEA 基板上に、ラット初代海馬神経細胞を培養し、培養 24、および 70 日目にそれぞれの電極で計測されたスパイク列のペアに対して移動エントロピーを算出した。結果として、培養日数の経過によって神経回路が成熟し、細胞間の結合強度が大きくなる傾向を示した (Fig. 1 (a))。また、細胞間の距離に伴って結合強度が弱くなることが示唆された (Fig. 1 (b))。以上の結果より、移動エントロピー解析により細胞集団間の結合特性評価手法として適していることが示された。当日は、蛍光カルシウムイメージングにより単一細胞間の結合特性を評価した結果、細胞外からの刺激に誘発された応答から細胞間結合特性を評価した結果についても併せて議論する。

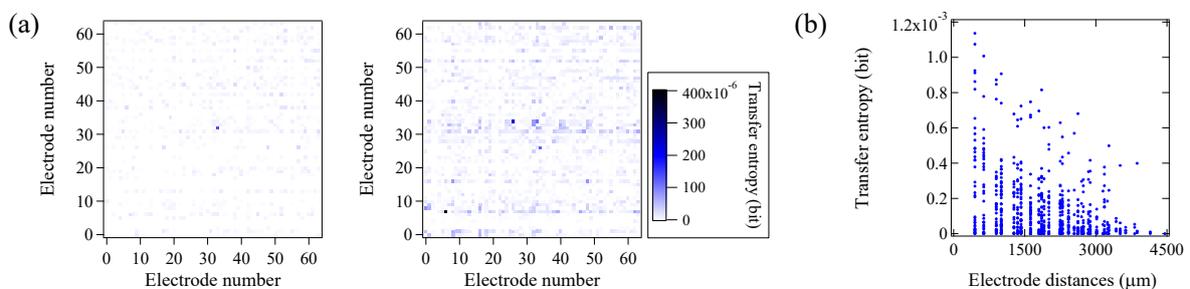


Fig.1 (a) 64×64 matrices of transfer entropy at 24 days *in vitro* (DIV) (left) and 70 DIV (right), respectively. (b) Scatter plots of transfer entropy against electrodes distances at 70 DIV.

[1] 箕嶋他, 第 82 回応用物理学会秋季学術講演会, 10p-Z12-19 (2021).

周期的感覚刺激への脳波応答に基づくブレインマシンインタフェース Brain-machine interface based on EEG response to periodic somatosensory stimulation.

茨城工業高等専門学校¹, ○(B)中務 友心¹, (B)外之内 祥大¹, 綿貫 彩夏¹, 澤畑 博人¹

KOSEN Ibaraki College, °Yushin NAKATSUKASA, Shota TONOUCI, Ayaka WATANUKI,

Hirohito SAWAHATA

E-mail: ac24105@gm.ibaraki-ct.ac.jp

1. 緒言

筋萎縮性側索硬化症 (ALS) や筋ジストロフィーなどの身体運動機能に重篤な障害を持つ患者を支援するための技術として、Brain-machine interface (BMI) の実現が期待されている。当グループでは空気圧アクチュエータを備えた装着型のロボットグローブ (Fig. 1) を脳波に基づいて制御する技術について研究を進めてきた^[1]。脳波から意思を解読する手法として、周期的な体性感覚刺激によって誘発される脳波信号に含まれる意識的注意によって変調される定常状態体性感覚誘発電位 (Steady-state somatosensory evoked potentials; SSSEP) の性質に着目した。本研究では、SSSEPのうち、意識的注意によって特に強く変調される信号成分を特定し、BMI に応用する場合の意思判別の指標になり得るか検証することを目的とした。

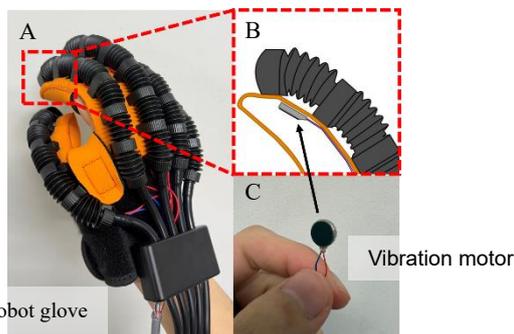


Fig. 1 Robot glove integrated with tactile stimulators.

2. 実験手法

脳波の体性感覚刺激に対する応答を計測するために、ヒト被験者を対象とした実験を行った。実験方法を Fig. 2 に示す。被験者は椅子に座り、両手の人差し指の背側 (爪側) に振動子 (振動モーター, uxcell 社) を設置した。脳波信号はワイヤレス脳波計 (Altair, Artisebio 社) を用いて計測し、頭頂部 (Pz) からの脳波データをサンプリング周波数 1 kHz で取得した。また外部からの電磁的ノイズを低減させるために、計測はシールドル

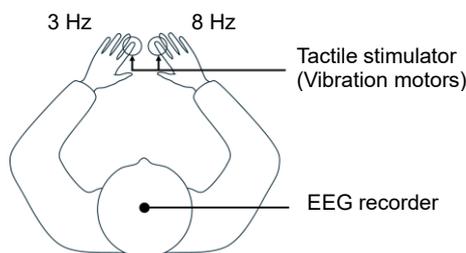


Fig. 2 Experimental setup for the SSSEP recording.

ーム内で実施した。意識的注意による影響について調べるため、被験者は、左右の指に異なる周波数で加えられる刺激の内、実験者から指定された片方の指に意識的注意を向けた。

取得した脳波データについては、意識的注意などの高次機能に関わる Gamma 波 (30-60 Hz) について解析を行った。帯域フィルタ (6th order Butterworth) と Hilbert 変換を用いて Gamma 波の包絡線信号を検出し、それに対して FFT を用いて周波数解析を行い、意識的注意の影響がある信号成分を調べた。

尚、本研究のヒトを対象とした実験は、本校の倫理審査で承認 (番号: R05-001) を受け、被験者の安全と個人情報保護に配慮して実施された。

3. 実験結果

解析の結果、Gamma 波包絡線信号の揺らぎには刺激の周波数と同じ 3 Hz 及び 8 Hz の信号が含まれていることが分かった。意識的注意の有無による影響を比較すると、3 Hz で刺激されている指に意識的注意が向けられている場合、Gamma 波包絡線の 3 Hz の信号成分が減弱される傾向があった (Fig. 3A)。また、8 Hz の場合にも同様に、意識的注意が向けられている刺激の周波数と一致する周波数の Gamma 波包絡線の信号成分が減弱される傾向があった (Fig. 3B) (Student's t-test, $p=0.013$, $n=19$)。

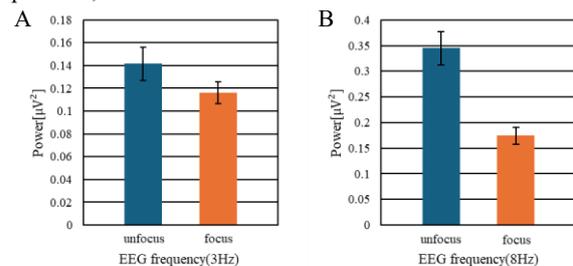


Fig. 3 Fluctuation magnitude of Gamma EEG envelope.

4. 結言

実験結果より、周期的な体性感覚刺激によって誘発される SSSEP のうち、Gamma 波包絡線信号が意識的注意によって減弱されることが分かった。従って、これを指標とすれば、意識的注意が向けられている身体部位を判別し、ロボットグローブ等を制御する BMI が実現できる可能性がある。

文献

- [1] 外之内祥大ら (2024) 応用物理学会春季学術講演会, 25p-61C-6
- [2] Norcia, A. M., & Ross, J. E. (2019). Clinical Neurophysiology, 130(11), 2108-2124.

電極の電気二重層による充放電を利用した神経刺激回路の動物実験評価

Evaluation of the neurostimulator utilizing charge/discharge in the EDL of electrodes.

茨城高専 ○(B)竹垣遥平, (B)田野口和将, 澤畑博人

KOSEN Ibaraki Col, Yohei TAKEGAKI, Kazuma TANOGUCHI, Hirohito SAWAHATA

E-mail: ac24104@gm.ibaraki-ct.ac.jp

1. 背景

神経刺激技術は、脳神経を対象とした脳深部刺激療法 (DBS)、筋肉を対象とした機能的電気刺激法 (FES)、網膜を対象とした人工視覚システムへ応用されるなど、脳科学、神経医療、医工学の分野において重要な技術である^[1]。従来法では、バッテリーを生体内に埋め込むことや生体外から髄膜内へ配線を通すことによる危険性が懸念されていた。そこで本研究グループでは、フォトダイオードの光起電力と、生体液中の電極に生じる電気二重層キャパシタンスの充放電を利用し、光入力のみで駆動・制御可能な光起電力チャージショット型刺激回路を提案している。これまで、提案技術によって神経刺激に十分な大きさ ($>100\ \mu\text{A}$)^[2]の電流パルスを発生できることは確認された。本研究では、実際に生体組織への刺激効果が得られるか否か、動物実験で検証することを目的とする。

2. 方法

2.2 提案技術

本研究で提案する回路を Fig. 1 に示す。電気二重層が形成されやすい多孔質カーボン電極として用い、フォトダイオード (PD)、接合形電界効果トランジスタ (JFET)、及び抵抗からなる。光照射時 (Fig. 1A) に JFET は OFF 状態となり、PD からの微弱電流は電極の電気二重層キャパシタンスに充電される。その後、光遮断時 (Fig. 1B) に JFET が ON 状態になり、充電された電荷が急速に放電されることによって生体液中に大きな振幅の電流パルスが発生される仕組みである。

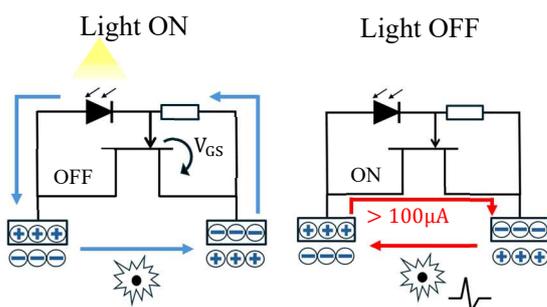


Fig.1 Photovoltaic charge-shot circuit

2.3 動物実験

刺激効果を確かめるために、メダカ (ヒメダカ, *Orizias latipes*) の筋肉を用いた実証実験を行った (Fig. 2)。冷却麻酔を施したメダカの腹部の皮膚を切開して筋肉を露出させ多孔質カーボン電極を接触させた。回路に近赤外光 LED (波長 840nm) を周期的に点滅させ、回路の受光部に照射して駆動させた。その際の筋肉の動きを実体顕微鏡を用いて動画撮影し、動画解析ソフト (Kinovia, kinovea.org.) で筋組織の運動を解析した。

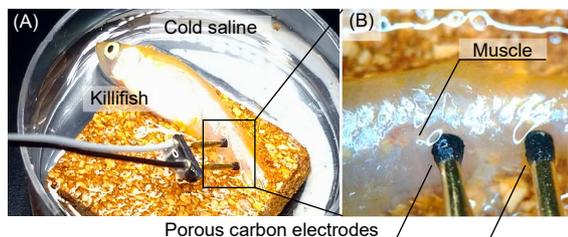


Fig.2 Experiment of stimulation to killifish muscle

3. 結果

2秒周期で点滅させた赤外光を回路に照射して回路を駆動した結果、電極を接触させた箇所の筋肉が周期的に収縮運動をすることが確認された。筋肉の運動速度の波形 (Fig. 3) において、赤外光の点滅と同じ2秒周期で運動速度のピークが見られた。

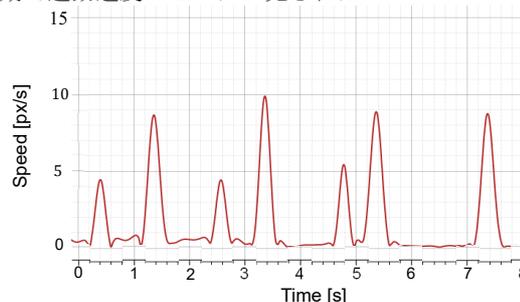


Fig.3 Movement response to stimulation by our circuit

4. 結論

本研究では、多孔質カーボン電極を用いた光起電力チャージショット回路によって筋肉活動を誘発可能であることが初めて確認された。同様にして、神経組織や網膜に対しても刺激効果を得ることが可能であると期待できる。刺激可能な大きさの電流パルスを発生させるための充放電に、コンデンサではなく多孔質カーボン電極の電気二重層キャパシタンスを利用したことで、生体内への埋め込みが可能な小型回路の実装も可能であると考えられる。この技術は、FESなどを始めとした医療・福祉分野へ大きく貢献できる可能性がある。

参考文献

- [1] U. Emily. (2017). Science 358 (6364): 710–710.
- [2] Y. Nakano et al. (2018). Sensors and Materials, Vol. 30, No. 2: 315–326

謝辞

本発表は以下の研究助成を受けて遂行したものであり、ここに謝意を表す。

- ・ JSPS 科研費 (21K12677)
- ・ MILLA 高専連携教育研究プログラム (1402)

閉領域上のアクティブ・ネマティクスに基づく 細胞集団におけるアクティブ応力の定量化法

Quantification of Active Stress in Cell Populations Based on Confined Active Nematics

東大院情理¹, 東大工² ◯宮廻 裕樹¹, 高橋 昂佑², 三好 裕之¹, 奈良 高明¹

Grad. Sch. IST, Univ. of Tokyo¹, Sch. Eng., Univ. of Tokyo²,

◯Hiroki Miyazako¹, Kosuke Takahashi², Hiroyuki Miyoshi¹, Takaaki Nara¹

E-mail: hiroki-miyazako@g.ecc.u-tokyo.ac.jp

【緒言】近年、生物物理学の分野においてアクティブ・ネマティクスとよばれる能動的に動くネマチック液晶が引き起こす流動現象が注目されている。筋細胞や上皮細胞などの細胞集団もアクティブ・ネマティクスとして物理モデル化することができ、アポトーシスに伴う細胞突出[1]や組織の形態形成[2]など様々なメカノバイオロジー機構と関連することが明らかとなっている。アクティブ・ネマティクスのダイナミクスはネマチック液晶としての弾性力（パッシブ応力）と細胞の収縮・伸展に伴う応力（アクティブ応力）のバランスによって決定される[3]。したがって、これらの応力の比を計測することができれば、メカノバイオロジーに関連する現象の定量化や予測につながることを期待される。本発表では、細胞集団を閉領域上で培養したときの顕微鏡画像と細胞配向解析によって、パッシブ応力に対するアクティブ応力の比を計測する手法を提案する。

【原理】紡錘形状を持つ細胞を閉領域上で培養したとき、境界付近では細胞は境界に沿って配向する(Fig. 1 左図)。さらに細胞密度が高くなると、細胞集団はネマチック配向秩序性を示し、トポロジカル欠陥とよばれる細胞配向角度が定義できない特異点を2個生成する (Fig. 1 右図)。このトポロジカル欠陥の生成位置はパッシブ応力およびアクティブ応力を複素関数によって表現することで理論的に予測することができ、特にパッシブ応力（ネマチック弾性）の効果は領域形状のみに依存することが示せる。したがって、閉領域上のトポロジカル欠陥の生成位置の実験データと理論予測値の差からアクティブ応力を推定することが可能となる。

【結果】発表者らの先行研究[4]の実験データを用いてマウス筋芽細胞(C2C12)の細胞集団中におけるアクティブ応力を推定する例を示す。単位円板を等角写像 $g(\zeta) = \zeta + \beta\zeta^3$ によって写像して得られる領域上で培養した細胞集団中のトポロジカルの生成位置の水平成分は Fig. 2 のようになり、実験データ（青線）はパッシブ応力のみを考慮した理論予測値（黒実線）よりも小さくなる。収縮に伴うアクティブ応力を考慮すると理論予測値（緑線）は実験データに近づき、パッシブ応力に対するアクティブ応力の比に対応するパラメタ $\hat{\alpha}$ が0.3~0.4程度となることが明らかとなった。

[1] T. B. Saw et al., *Nature*, **544**, 212–216 (2017). [2] P. Guillamat et al., *Nat. Mater.* **21**, 588–597 (2022).

[3] L. Giomi et al., *Phil. Trans. R. Soc. A.*, **372**, 20130365 (2014). [4] H. Miyazako et al., *npj Biol. Phys. Mech.*, **1** 1 (2024).

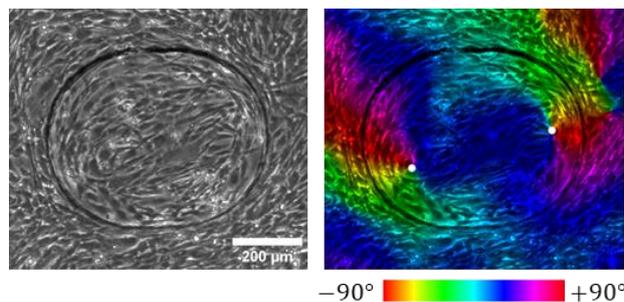


Fig. 1: C2C12 cells in a confined geometry (Left) and their alignment angle (Right). White points in the color image indicate topological defects.

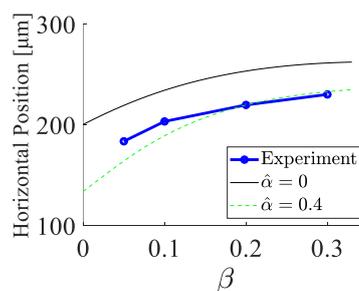


Fig. 2: Horizontal position of topological defects in confined geometries. $\hat{\alpha}$ represents the ratio of the active stress to the passive stress.

リポソーム固定化カンチレバー型バイオセンサ出力の時間周波数解析

Time-Frequency Analysis of Transducer Signal of

Liposome-Immobilized Cantilever Sensor

京工繊大・情報¹・電気電子², 関西大・化学生命³

○(M1)足立 奏斗¹, (M2)木村 悠人², 野田 実³, 福澤 理行¹

Kyoto Inst. Tech. Information science¹, Electronics²,

Kansai Univ. Faculty of Chemistry, Materials and Bioengineering.³,

○Kanato Adachi¹, Yuto Kimura², Minoru Noda³, Masayuki Fukuzawa¹

E-mail: m4622001@edu.kit.ac.jp

リン脂質膜をカンチレバーや MEMS ナノ構造等に固定化したバイオセンサは、ELISA や RT-QuIC に比べ検出時間の相対的優位性があるため[1]、アルツハイマー病など認知症の早期診断やスクリーニングへの応用が期待されている。実用化への課題には、再現性のよいマルチセルセンサチップの実現と、センサ出力からの検体情報の高精度推定が含まれる。検体情報の推定に関する先行研究では、一定時間経過後のセンサ出力のみに基づく推定が多く、反応初期段階でのセンサ出力やその後の経時変化はさほど活用されていなかった。検体情報の新しい推定手法の可能性を探索するため、本研究では、反応初期段階からのセンサ出力を時系列データとして収集し、その経時変化を後方視的に時間周波数解析した。ターゲットセンサと検体には、リポソームをバイオレセプターとするカンチレバー型バイオセンサと、パーキンソン病原因タンパク質 alpha-synuclein(α Syn)をそれぞれ用いた。 α Syn 濃度の異なる検体(0~10ng/ml)に浸された各々のセンサ出力(10sec/pt,0~5000sec)について、経時周波数スペクトルを比較したところ、特定周波数域のスペクトル密度が α Syn 濃度と相関を示し、センサ出力の経時周波数成分から α Syn 濃度を推定できる可能性が示唆された。

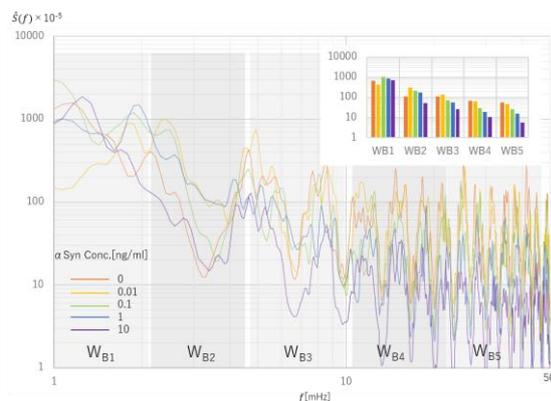


Fig. 1. Spectral density of Liposome-Immobilized Cantilever Sensor

【参考文献】

“A Rapid, Sensitive, and Specific Detection of Aggregated α -Synuclein by a Liposome-Immobilized Cantilever Sensor”, IEEE Sensors Journal, vol. 23, no12, pp. 12495-12502, 15 June 15, 2023, Ryoko Kobayashi; Kotaro Kamitani; Masanori Sawamura; Hodaka Yamakado; Ryosuke Takahashi; Masayuki Sohga; Minoru Noda

【謝辞】

本研究は JSPS 科研費 JP23K17476 の助成を受けたものである。

グラフェン FET を用いたバイオセンサにおけるレセプター分布の可視化 Visualization of receptor distribution in a graphene FET-based biosensor

(株)リコー¹, 東京農工大² ◦須藤 亮太¹, 込戸 健司¹, 秦 啓介¹, 山形 卓¹, 川村 浩晃¹,
鈴木 美優花², 生田 昂², 前橋 兼三²

Ricoh Company, LTD¹, Tokyo Univ. of A&T², ◦Ryota Suto¹, Kenji Komito¹, Keisuke Hata¹,
Takashi Yamagata¹, Hiroaki Kawamura¹, Miyuka Suzuki², Takashi Ikuta², Kenzo Maehashi²

E-mail: Ryota.Suto@jp.ricoh.com

表面積比が大きく高移動度を持つグラフェンをチャンネルにした GFET (Graphene Field-Effect Transistor) をベースとしたバイオセンサは、その感度や測定容易性、小型化やアレイ化が容易な点などから、ヘルスケア分野において広く注目を集めている。しかし現状は、素子や特性のバラつき、再現性、信頼性など多くの課題が残されている。

実際に同一チップ上に同一条件で形成・測定したセンサで特性がバラつくことを確認した (Fig. 1)。素子のバラつきの原因の一つとしてリンカーやレセプターが均一に分布していない可能性が考えられる。GFET ベースのバイオセンサは、グラフェン上に 1-Pyrenebutanoic Acid Succinimidyl Ester (PASE) などのリンカー分子を固定化し、ターゲットを捕捉する抗体や DNA アプタマー等のレセプターをリンカーと結合させて形成する。しかし、これまでグラフェン上に固定化されたリンカーやレセプターの分布状態まで評価することは難しかった。そこで、最表面を高感度に分析可能な ToF-SIMS (Time of Flight - Secondary Ion Mass Spectroscopy) を用いてグラフェン上のレセプターの修飾状態を分析した。グラフェン上における DNA アプタマー (Fig. 2) や、リンカーの固定化処理条件による分布状態の差異 (Fig. 3) の可視化に成功し、本分析がグラフェン上のレセプター分布の評価、ひいては条件最適化・特性安定化に有用であるとわかった。

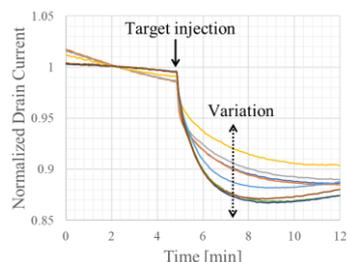


Fig. 1: Characteristic variations of sensors

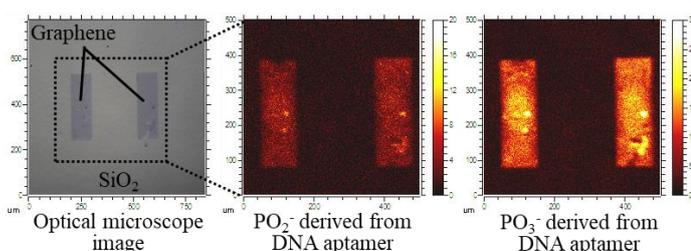


Fig. 2: Mapping images of DNA aptamer on graphene

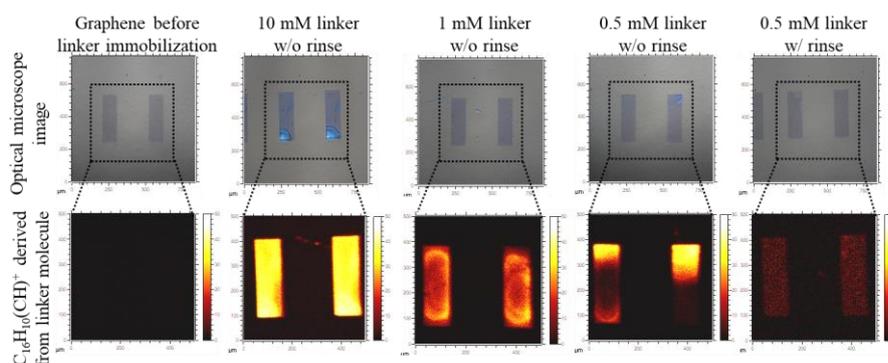


Fig. 3: Mapping images of linkers immobilized on graphene under various conditions

細胞外小胞のフィルタリングにおける変性可能性の検討

Study of the possibility of degeneration in extracellular vesicle filtering

東京大学¹, ナノ医療イノベーションセンター²○樋田健斗, 溝井千春¹, 瀬尾尚宏¹, 一木隆範^{1,2}The University of Tokyo¹, Innovation Center of NanoMedicine(iCONM)²○Kento Toyoda¹, Chiharu Mizoi¹, Naohiro Seo¹, Takanori Ichiki^{1,2}

E-Mail: toyoda@bionano.t.u-tokyo.ac.jp

【緒言】エクソソームは、脂質二重膜構造を持つ細胞外小胞 (EV) と呼ばれる生体内粒子の一種であり、50~150 nm 程度の大きさを持つ不均質な集団である。細胞間の情報伝達を担うことが知られており、診断ツールやエクソソーム製剤などの医用材料としての利用が期待されている [1]。EV の分離精製法としては、超遠心分離法、サイズ排除クロマトグラフィー、免疫沈降法など、さまざまな手法が報告されている [2]。しかし、これらの工程に起因して粒子の形態や性状が変化する可能性が指摘されている。そこで本研究では、フィルター内における EV の変性について、定量的に評価することを試みた。

【実験方法】フィルターにはエクソソームを 30 分以内という短時間で抽出できる陰イオン交換膜 (CATAROSEV[®] 東洋紡) を用いた。直径 2.5 cm、孔径が約 400 nm であるフィルターを専用のアタッチメントにセットし、DPSC (ヒト歯髄幹細胞) 培養上清 10 mL をシリンジからフィルターを通過させた。洗浄液とサンプル粒子の溶媒は 0.1 M NaCl 10 mM Tris-HCl (pH 7.5) であり、エクソソームと別の EV の集団であるマイクロベシクルをそれぞれ 0.3 M、0.8 M で抽出した。粒子の測定はナノ粒子トラッキング解析 (NTA) 法を用いた Ex400 [3] で解析する。この装置ではマイクロ流路チップに試料をセットし、シートレーザーを照射し粒子の散乱光を暗視野観察し記録する (Fig.1)。ブラウン運動と電気泳動の軌跡を解析し、1 粒子ごとの粒径とゼータ電位の値をそれぞれストークス・アインシュタインの式、スモルコフスキーの式から算出する。

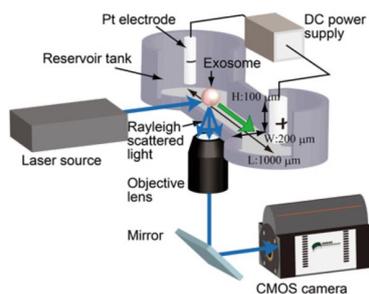


Fig1. Overview of the optical system of Ex400 [3]

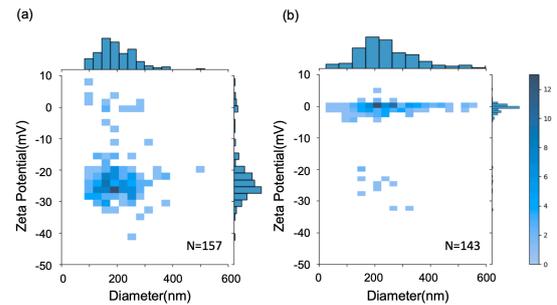


Fig2. Relationship between particle size and zeta potential of solution extracted with (a) 0.3 M and (b) 0.8 M

【実験結果】それぞれ約 150 μ L/sec の速度で抽出した溶液について Ex400 により粒径とゼータ電位を測定した (Fig.1 (a), (b))。横軸が粒径、縦軸がゼータ電位を示し、濃淡はそのエリアに含まれる粒子数を示している。この条件では (a) のエクソソームは回収できたが、より低いゼータ電位であるマイクロベシクルのゼータ電位が 0 に近い値となった。これはフィルターを通過する際に、エクソソームと比較して大きい粒子であるマイクロベシクルがフィルターを通過する際に損傷・変性している可能性があると考えられる。

【結言】陰イオン交換膜を用いた EV の回収では、エクソソームを高効率で回収できた一方で、マイクロベシクルが損傷している可能性が示唆された。今後は、より正確な孔径と孔密度を持つトラックエッチドメンブレンを使用し、フィルターの孔径と EV の粒径の関係を詳しく検討する。また、フィルター内での EV の変性挙動を評価し、変性前後における機能の違いを明らかにする。

【参考文献】

- [1] L. Barile, *et al. Pharmacol. & therapeutics* 174 (2017): 63-78.
- [2] Chen, Jiacy, *et al. Frontiers in bioengineering and biotechnology* 9 (2022): 811971.
- [3] Takanori Akagi, and Takanori Ichiki. *Extracellular vesicles: methods and protocols* (2017): 209-217.

グルコース応答性蛍光ハイドロゲルで機能化された マイクロニードルセンサの作製と評価

Fabrication and evaluation of microneedle sensors functionalized with glucose-responsive fluorescent hydrogels

東京大学¹, ナノ医療イノベーションセンター², 東京科学大学³

○福原真拓¹, 神田循大^{1,2}, 竹原宏明^{1,2}, Kevin Barthelmes³, 松元亮^{1,3}, 一木隆範^{1,2}

Tokyo Univ.¹, iCONM², Science Tokyo³ ○Masahiro Fukuhara¹, Yukihiko Kanda^{1,2}, Hiroaki Takehara^{1,2},

Kevin Barthelmes³, Akira Matsumoto^{1,3} and Takanori Ichiki^{1,2}

E-mail: fukuara@bionano.t.u-tokyo.ac.jp

【緒言】間質液 (ISF) は診断上の有用性が広く研究されているが、生体中の ISF のセンシングは依然として困難である[1]。マイクロニードルは、低侵襲に生体組織にアクセス可能な技術として注目されており、ISF のセンシングにおいても有望な手段となり得る。マイクロニードルの材料には、安全性の観点から生体吸収性ポリマーが望ましい。これまでに、生体吸収性ポリマーのポリ-L-乳酸 (PLLA) を材料とし、皮下の網状層近傍の ISF に到達可能な長さ 2 mm の高アスペクト比マイクロニードルの開発を進めてきた[2]。本研究では、センシング機能を付与した高アスペクト比マイクロニードル型センサを実現すべく、先端に機能性蛍光ハイドロゲルを充填したマイクロニードルデバイスを作製し、原理実証としてグルコース溶液に対する蛍光センシング機能を評価した。

【実験方法】ボロン酸ベースのセンサ分子を用い、グルコース応答性蛍光ハイドロゲル (Glu-Flu ハイドロゲル) で先端を機能化した光測定用マイクロニードルデバイスを作製した[3,4]。マイクロニードル (長さ 2 mm、根元直径 500 μm 、先端直径 200 μm) の先端には、Glu-Flu ハイドロゲルを充填した直径 100 μm 、深さ 100 μm のポケット構造 (体積: 0.79 nL) を成形した。次に、Figure 1 に示すように、本デバイスを用いたグルコースセンシングを行うための光学系を構築した。続いて、Glu-Flu ハイドロゲルのグルコース応答性を評価した。Glu-Flu ハイドロゲルのバルクサンプル (直径: 8 mm、厚さ: 0.5 mm) をガラスセル内に固定した後、異なる濃度のグルコース溶液 (pH=8.50) に浸漬した。十分時間が経過した後、蛍光分光光度計を用いて蛍光強度を測定した。さらに、本光学系に搭載した光測定用マイクロニードルの先端を異なる濃度のグルコース溶液 (pH=8.50) に浸漬した。励起用レーザー光 (382 \pm 7 nm) をマイクロニードル先端に集光し、アバランシェフォトダイオード (Thorlabs, APD410A2/M, 増倍率 $M=50$) により、蛍光強度を計測した。

【結果及び考察】Glu-Flu ハイドロゲルのバルクサンプル及び本デバイスのグルコースセンシングの測定結果を Figure 2 に示す。それぞれの測定において、異なるグルコース濃度に対する蛍光強度比 F/F_0 (F : 417-445 nm での蛍光強度、 F_0 : グルコース濃度 0 mM における F) をプロットした。バルクサンプルの測定結果から理論式

に基づく較正曲線を得た。決定係数 R^2 は 0.93 であった。この較正曲線に従い、本デバイスを用いたグルコースセンシングの測定結果の較正值を算出した結果、実際のグルコース濃度との誤差は 5.50 mM において 20.0%、50.5 mM において 1.8% であった。比較として、一般的な自己検査型血糖測定器に要求される測定値の誤差は 15% 以内である。今後、マイクロニードルの先端に搭載する光学プローブについて、計測対象とする生体分子の計測に必要な感度及び選択性の観点より検討を進める。

【結論】先端に機能性ハイドロゲルを充填した光測定用マイクロニードルデバイスを作製した。グルコース溶液に対する蛍光センシングを行い、グルコース応答性蛍光ハイドロゲルを搭載したマイクロニードルセンサの性能を確認した。本デバイスは、ISF 中の生体分子計測の有用なツールとなることが期待される。

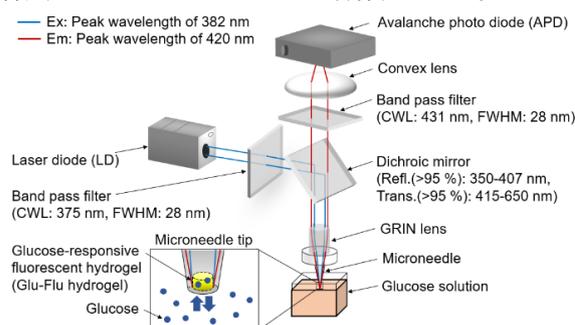


Figure 1. Illustration of the optical system incorporating the microneedle device embedded with Glu-Flu hydrogel.

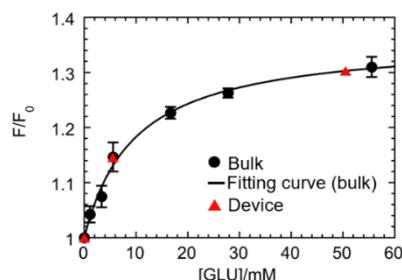


Figure 2. Results of glucose sensing using bulk samples and microneedle devices with Glu-Flu hydrogels.

- [1] M. Friedel, *et al.* Nat. Biomed. Eng., **7**, 1541-1555 (2023).
 [2] T. Kanda, *et al.*, Jpn. J. Appl. Phys., **58** (2019). [3] H. Takehara, *et al.*, J. Photopolym. Sci. Technol., **37** (2024). [4] Xu, S. *et al.*, Front. Chem. Sci. Eng., **14**, 112-116 (2020).

生体電気スキンパッチのための柔軟多孔質マイクロニードルアレイ

Flexible Porous Microneedle Array for Bioelectric Skin Patch

東北大工¹, 東北大医工², ジョージア工科大生物工³

○鳥取聡一郎¹, 松浦未来², 一瀬彩榮², Haechang Cho¹,

Tarryn Galloway³, 森山夏帆², 西澤松彦^{1,2}

Tohoku Univ. Dept. Finemech.¹, Tohoku Univ. Dept. BMEng.², Georgia Tech. Dept. BMEng.³

°Soichiro Tottori¹, Mirai Matsuura², Sae Ichinose¹, Haechang Cho¹,

Tarryn Galloway³, Natsuho Moriyama², and Matsuhiko Nishizawa^{1,2}

E-mail: soichiro.tottori.e2@tohoku.ac.jp

スキンパッチは、ウェアラブルデバイスとして、医療分野での生体情報のモニタリングや経皮薬物送達といった応用により注目を集めている。その中でも、経皮直流電流を生成する電気スキンパッチは、創傷治癒、防汗、薬物送達などの用途で広く研究されている。生体への安全性や柔軟性を持たせるため、電源として有力な候補として柔軟な酵素電池が研究されている。酵素電池は糖の酸化反応と空気中の酸素の還元反応によって駆動する電池であるが、比較的出力が低いという課題もある。特に経皮型生体電気パッチへ応用では、皮膚の最外層である角質層の高い抵抗値（約 $M\Omega$ ）が問題となる。一般的に、皮膚抵抗を低減するための様々な化学的および物理的方法の中で、血管や神経に到達することなく角質層を貫通できるマイクロニードル（通常は 1 mm 未満の長さ）の使用は、その簡便性と低侵襲性により注目されている。特に、針構造全体にマイクロ/ナノチャネル構造を有する固体多孔質マイクロニードル（PMN）は、溶液透過性が高く、経皮イオントフォレシス薬物送達および組織間液の収集のための経路として機能する。さらに、PMN を帯電分子で機能化することにより、電気浸透流が生成され、薬物の電荷やサイズに関係なく、薬物の皮膚への浸透が大きく向上する。しかし、これまでの硬いマイクロニードル基板は、指のような比較的高い曲率を持つ表面や、肘のように伸縮する部分に適合することができないという課題があった。このような不均一な適用は、皮膚へのへこみ、痛み、またはマイクロニードルの破損を引き起こす可能性があり、デバイスの医療効果を低減させる原因となる。故に、柔軟な多孔質マイクロニードルアレイの開発は、生体電気スキンパッチの安定した高い効果を達成するために不可欠である。

そこで、本研究では、ポリジメチルシロキサンシートを使用して、不均一な皮膚表面に適用可能な PMN 搭載型柔軟電気スキンパッチを開発した。バックエンド部分が非多孔質基板で覆われていないため、PMN を介して皮膚にイオン電流を流すことが可能であり、この柔軟パッチを適用すると、平面と曲面共に経皮抵抗が 1 桁以上低下した。酵素電池と柔軟な PMN アレイを統合し、安定した経皮電流生成を実証した。今後は、温度、pH、酸素濃度を始めとした実環境での性能を調査し、様々な医療デバイスとして応用していく。

GFET の参照電極-ゲート電極間のリーク電流の検討

Investigation of leakage current between reference electrode and gate electrode of GFETs

阪大産研¹、村田製作所²

○山本佳織¹、佐藤夏岐¹、矢野真美子¹、坂野喜代治¹、大西映里子¹、牛場翔太²、
谷晋輔²、木村雅彦²、田中秀和¹、松本和彦¹

SANKEN, Osaka Univ.¹, Murata Manufacturing Co., Ltd.²

°K. Yamamoto¹, S. Ushiba², N. Sato¹, M. Yano¹, K. Sakano¹, E. Ohnishi,
S. Tani², M. Kimura², H. Tanaka¹, and K. Matsumoto¹

E-mail: k-yamamoto@sanken.osaka-u.ac.jp

我々はグラフェン FET (GFET)を用いてインフルエンザウイルスや新型コロナウイルスの検出を行っている。ウイルスは空気中ではその形状を保てないため、溶液中でセンシングを行う必要がある。グラフェンは水中で安定と言う特性を持つため、ソース/ドレイン金電極上にグラフェン FET を形成した後、電解液を介して参照電極からトップゲート電圧を印加して電流伝達特性を測定している。GFET 表面にターゲットが近付くことで GFET 内にホール/電子が誘起され、伝達特性がゲート電圧に対して正方向もしくは負方向にシフトする。以前は GFET をアレイ状に配置したシリコン基板上にシリコンのゴム枠を付けることで電解液を保持していたが、ピペットマンでの溶液入れ替えの流速や液量に個人差があったため、マイクロ流路を導入した。これにより溶液入れ替えの流速や液量を一定に制御することができるようになった。また、トップゲート電圧はグラフェンだけでなく金電極にも印加される。以前の学術講演会で、金電極を SiO₂ で絶縁することで電流伝達特性のドリフトが低減したことを報告した。デバイ長の伸長のために希釈した電解液を流路内に導入しなければならないが、希釈前の電解液と比べ希釈後の電解液の方がドリフトが発生することが多かった。ドリフトが発生すると本来の電流伝達特性を得るまで時間がかかり、高速検出のためにはこの問題を解決する必要がある。

今回はグラフェンを乗せていない電極付きのシリコン基板上に電解液(1×PBS)を導入し、電流伝達特性を測定することで参照電極とドレイン電極間に流れるリーク電流を測定した。(Fig. 1) ソースドレイン電極間の電圧は 100 mV に固定し、0-500 mV でゲート電圧を 270 分程度掃引し続け、500 mV での電流値をプロットした。32 個の FET は上下 2 列にアレイ状に並んでおり、Fig. 1 中のグラフは各ドレイン電極に対応する。リーク電流は大きく 2 つのグループに分かれており、リーク電流が多いグループは少ないグループと比較してドレイン電極の面積が大きかった。リーク電流の減少は経時的に変化しており、ドリフトの原因はゲートドレイン電極間のリーク電流が原因である可能性が高い。

【謝辞】本研究は JST 未来社会創造事業本格研究の支援を受けた。

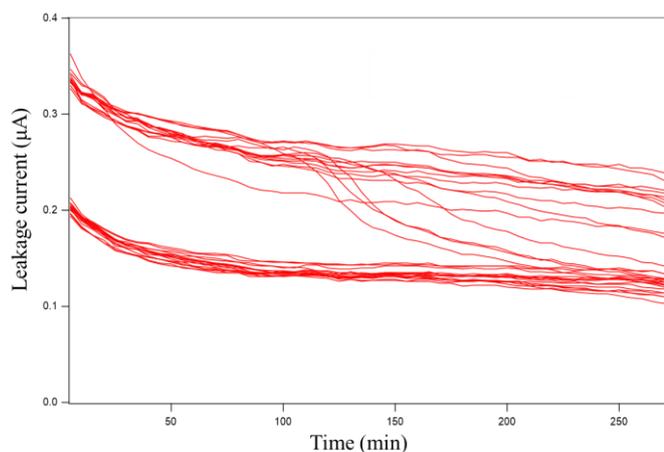


Fig. 1 Leakage current between reference electrode and gate electrodes

単一筋管細胞誘導のための貫通スリット薄膜構造の作製と応用

Manufacture and Application of Through Slit Membrane Structure for Single Myotube Cell Induction

名大院工¹, °柴垣 竜資¹, 秋田谷 美乃¹, 丸山 央峰¹, 星野 隆行¹

Nagoya Univ.¹, °Shibagaki Ryusuke¹, Akitaya Mino¹, Maruyama Hisataka¹, Hoshino Takayuki¹

E-mail: hoshino.takayuki.v7@f.mail.nagoya-u.ac.jp

1. 背景

骨格筋は人体の30~40%を占め、運動と生存に不可欠である。骨格筋疾患をモデル化し、より高いスループットと低コストで薬剤をスクリーニングするためのプラットフォームとして、人工の *in vitro* 骨格筋構造体が必要である。現在までに *in vitro* で培養された筋管細胞は全て筋芽細胞の誘導分化から得られている。これにより、様々な成熟レベルの筋管細胞と未分化筋芽細胞の混合グループが生じ、同じ成熟レベルの筋管細胞を得ることは不可能である。単一の筋管細胞を *in vitro* で培養することは、筋管細胞の生体力学的適応を正確に研究するためのより優れたモデルを提供しうる[1]。そこで、本研究では PDMS でできた貫通スリットを有する薄膜上で細胞誘導を行い、単一の筋管細胞を作製した。スリットが貫通していることにより、溝内での培養よりも優れた循環培養環境が形成される。また、薄膜を伸縮させることで容易に筋管細胞へ応力を加えることができる (Fig1)。

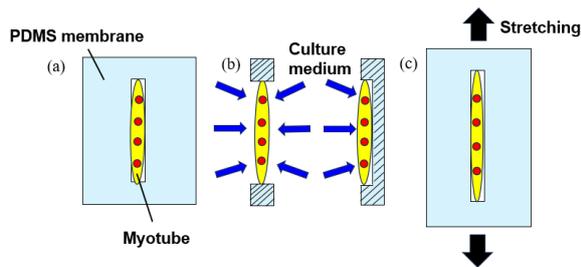


Fig.1 (a) Single myotube cultured in through slit membrane (b) Cross section of membrane. Culture medium circulates more easily than in a groove. (c) Stretching PDMS membrane and myotube.

2. 実験

本実験では、マウス由来の筋芽細胞 C2C12 を用いた。C2C12 は向きをそろえることで、筋管細胞に分化しやすくなることが報告されている[2]。細胞の基質としては SU-8 フォトレジストでマイクロパターンを作製したものを転写した poly-dimethylsiloxane (PDMS) を用いた。作製した薄膜は幅 40 μm 、長さ 500 μm 、の貫通

スリットを等間隔に空けているものである (Fig2)。C2C12 を PDMS 薄膜に播種後、分化培地に切り替えることによって筋管細胞を作製した。

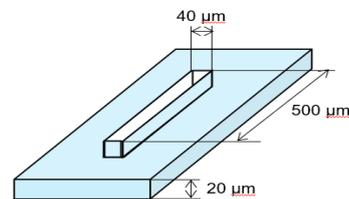


Fig.2 Design of through slit membrane

3. 結果

Fig.3 に貫通スリット付近での筋管細胞の様子を示す。

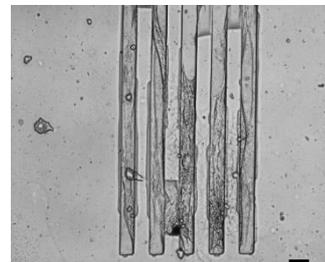


Fig.3 Myotubes cultured in through slit membrane (scale bar = 50 μm)

4. まとめ

今回作製した貫通スリット薄膜上に単一筋管細胞を作製し、溝内での培養よりも優れた循環培養環境を形成した。また、薄膜を伸縮させることで単一筋管細胞の伸縮を可能にした。今回の結果によって単一筋管細胞の解析への応用が期待できる。

参考文献

[1] Depeng Ren, et al., *frontiers in Physiology*, 2021 Aug2;12:689492.

[2] J. Ostrovidov, et al., *J. Tissue Eng Regen Med.*, DOI:10.1002/term.1956 (2014)

集光フェムト秒レーザーを用いた単一神経細胞刺激手法の開発

Development of Single Neuron Stimulation with a Focused Femtosecond Laser

阪大院理¹, NICT 未来 ICT 研² ◯瀬川 夕海¹, 箕嶋 渉², 増井 恭子¹, 細川 千絵¹

Osaka Metropolitan Univ.¹, NICT², ◯Yumi Segawa¹, Wataru Minoshima², Kyoko Masui¹,

Chie Hosokawa¹

E-mail: sn22920d@st.omu.ac.jp

脳では数百億の神経細胞で構成される複雑な神経回路網を形成している。神経回路網の神経活動の時空間パターンが外部刺激入力に伴い変化することにより脳の情報処理が行われる。このような多数の神経細胞からなる脳の情報処理機構を解明するためには、単一神経細胞に対して外部から刺激入力を行い、入力に伴って発生する神経回路網の神経活動変化を解析することが必要となる。そこで本研究では、集光フェムト秒レーザーを用いた非接触かつ低侵襲な単一神経細胞刺激手法を提案し、単一神経細胞刺激の有用性を実証した。

ガラスボトムディッシュおよび 8×8 個の微小平面電極を有する微小電極アレイ上に播種した海馬由来初代培養神経細胞に対して、フェムト秒チタンサファイアレーザー (中心波長 800 nm, パルス幅 ~100 fs, 繰り返し周波数 82 MHz) を集光し、誘発された神経活動をパッチクランプ電位計測または細胞外電位多点計測により評価した。単一神経細胞に対してフェムト秒レーザーをレーザー光強度 30 mW, 照射時間 8 ms の条件で照射したところ、照射直後より被照射細胞で高頻度の細胞膜電位スパイクが観測され、単一神経細胞が刺激されることを示した (Fig. 1(a)) [1]。細胞外電位多点計測により、神経回路網においてもフェムト秒レーザー照射直後に高頻度な神経活動の誘発を確認した (Fig. 1(b))。細胞外電位スパイクが検出された電極位置を可視化した結果、神経活動はレーザー集光位置近傍の電極から回路網の広い範囲に伝搬することが確認された (Fig. 1(c)) [2]。これらの結果は、集光フェムト秒レーザー照射により単一神経細胞で誘発された神経活動がシナプスを介して他の細胞へ伝搬し、神経回路網の神経活動の時空間パターンを変調したことを示唆する。本手法は、単一神経細胞と神経回路網の神経活動との関係を明らかにする手法として、脳の情報処理機構の解明に寄与すると期待される。

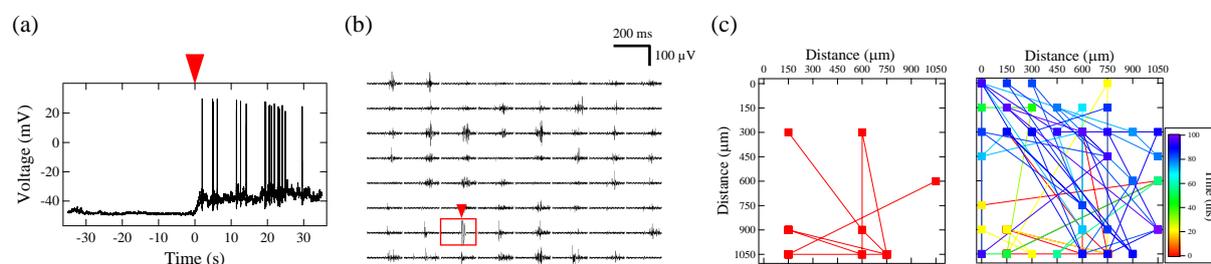


Fig. 1 (a) Membrane potentials and (b) extracellular potentials at 64 electrodes before and after femtosecond laser irradiation. The red arrows indicate the location and the time points of laser irradiation. The red box shows the electrode neighboring the femtosecond laser-irradiated neuron. (c) Spatial distribution of extracellular potential spikes in the area of 64 microelectrodes detected at 5 ms (left) and 100 ms (right) after femtosecond laser irradiation.

[1] Y. Segawa et. al., *Jpn. J. Appl. Phys.* 63, 11SP06 (2024). [2] Y. Segawa et. al., *ACS Omega* (2024), *in press*.

バイオセンサ応用に向けた分子鋳型導電性ポリアニリン電極の設計・創製 Design and development of molecularly imprinted polyaniline electrode for biosensor application

東大院工 ○(M1) 井上 恵, 坂田 利弥

The Univ. of Tokyo, °Megumi Inoue, Toshiya Sakata

E-mail: sakata@biofet.t.u-tokyo.ac.jp

1. 緒言

ポリアニリン (PANI) は酵素と比べて安価でありながら機能化を容易に行うことができる人工化合物として電池やセンサ材料への応用に向け研究が進められている。PANI は複数の酸化還元状態を有しており、酸性条件下では導電性を示す高分子であるが、酸をドーパントとして加えることで、中性条件においても導電性を示すことが知られている。我々の研究グループでは、ANI にボロン酸基を有するアミノフェニルボロン酸 (m-amino-PBA) を電極基板上に酸化重合することで (PANI-PBA 膜)、PBA-乳酸複合体の形成による電荷変化から、汗中の乳酸濃度をリアルタイム計測することに成功した[1]。

そこで本研究では、PANI-PBA 膜に分子インプリンティングを施すことにより、乳酸だけでなく、タンパク質などの高分子を含む幅広いターゲット分子を選択的に検出することを目的とする。得られる分子鋳型ポリマー (MIP) は、ターゲット分子に対して高い選択性を示すことが知られている[2]。さらに、MIP 膜のターゲット分子に対する結合定数とその膜厚との間に相関があることが示されており[3]、高性能な MIP 膜の作製には膜厚制御が重要である。前回の発表では、PANI-PBA 膜の膜厚制御におけるモノマー、重合開始剤、ドーパントの濃度依存性を調査し、電気特性との関係から MIP 膜に最適な作製条件を報告した。

本発表では、膜厚制御した PANI-PBA-MIP 膜を作製し、分子鋳型を含まない PANI-PBA-NIP 膜と比較することで、対象分子の濃度に対する電気特性の変化から分子鋳型の効果について報告する。

2. 実験方法

m-amino-PBA と、ドーパントとして50%フィチン酸溶液を混合したモノマー溶液に、重合開始剤としてペルオキソ二硫酸アンモニウム (APS) を加えて酸化重合を行った。この際、MIP膜には、PBAに対して20% (物質質量) の対

象分子として乳酸ナトリウム (乳酸Na) を加えて、カーボン電極上にドロップキャストリングにより成膜した。その後、pH 7.4のリン酸緩衝液 (PBS) 中で対象分子の除去を行い、過塩素酸Naを含むpH 5.3のPBS中にて、乳酸Na水溶液の濃度を変化させ、サイクリックボルタンメトリー (CV) 測定及び電気化学インピーダンス分光法 (EIS) 測定により電気特性を調査した。

3. 実験結果と考察

まず、PANI-PBA-NIP 膜をコーティングした電極を用いて EIS 測定を行ったところ、乳酸Naの濃度上昇に伴って抵抗値が上昇することがわかった。さらに、PANI-PBA-MIP 電極では、乳酸Naの濃度上昇に伴う抵抗値の上昇だけでなく、PANI-PBA-NIP 電極に対し高い感度を示すことが明らかとなった (図1)。これは、分子鋳型導入の効果によるものと考えられる。当日は、この分子鋳型効果について、対象分子における結合定数や検出限界など他のパラメーターについても議論する予定である。

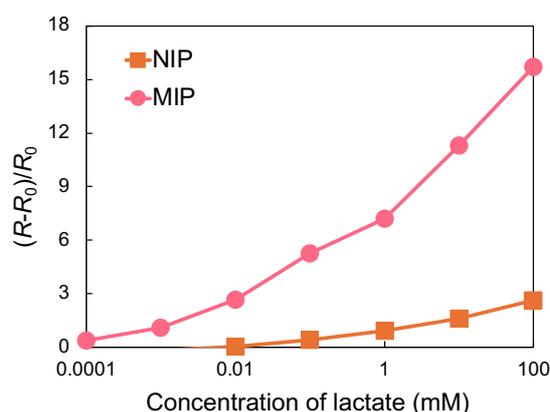


図1 PANI-PBA 膜における分子鋳型の効果

参考文献

- [1] Kishi, R.; Nishitani, S.; Kudo, H.; Sakata, T. *ACS Omega* **2024**, *9*, 12345–12356.
- [2] Horikawa, R.; Sunayama, H.; Kitayama, Y.; Takano, E.; Takeuchi, T. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2016**, *55*, 13023–13027.
- [3] Sakata, T. *Commun. Chem.* **2024**, *7*, 35.

単一がん細胞を識別する溶液ゲート電界効果トランジスタの設計・創製 Design and development of solution-gated field-effect transistors that identify single cancer cells

東大院工 °(M1)赤尾アメル, (B4)堅道想太, 坂田 利弥

The Univ. of Tokyo, °Amer Akao, Sota Tatemichi, and Toshiya Sakata

E-mail: sakata@biofet.t.u-tokyo.ac.jp

1. 緒言

現在のがん治療において、がんの進行が進むほどその治療は難しくなっていくとされ、その早期発見が重要な課題となっている。がんの発症は、がん細胞の分裂、転移より引き起こされるが、血中を流れる転移性のがん細胞数は他の正常細胞に比べはるかに少なく、循環腫瘍細胞 (CTCs) と呼ばれている。1 mL あたりの血中に正常細胞が数十億個あるのに対し、CTCs は数十個しかないため、血中のがん細胞だけを他の正常細胞の中から識別するのは困難とされるが、がんの早期診断を見据えると CTCs を検出するバイオセンサの需要は高まっている。

そこで本研究では、多数の細胞の中から CTCs のみを特異的に検出するバイオセンサを開発することを目的とする。具体的には、バイオセンサとして溶液ゲート電界効果トランジスタ (FET) に着目し、がん細胞と特異的に反応するアプタマーをゲート電極表面に固定し電気信号により検出する。溶液ゲート FET は、イオンや生体分子固有の電荷を電気的信号として直接検出することが可能であるため標識分子を必要とせず、さらに半導体微細化技術が確立しているため集積化が可能である[1]。つまり、溶液ゲート FET のゲート電極を 1 チップに多数集積化することによって、複数の生体分子やイオンの電荷を各ゲート電極にて同時に検出することが可能である[2]。これを利用して、多数の細胞を含むサンプル溶液をアプタマーを化学修飾した集積化溶液ゲート FET と反応させ、個々のゲート電極においてアプタマーと反応する CTCs 表面の電荷を検出することで、正常細胞の中から CTCs のみを識別することが可能であると考えられる。

2. 実験方法

CTCs のモデル細胞としてヒト急性リンパ芽球性白血病細胞株である CCRF-CEM を用い、アプタマー分子には CCRF-CEM と特異的に結合する sgc8c アプタマー (5'-SH-AAAAAA AAAAATCTA ACT GCT GCG CCG CCG GGA AAA TAC TGT ACG GTT AGA-3') [3] を使用した。Ta₂O₅ をゲート絶縁膜とした溶液ゲート FET を用い、測定溶液中のがん細胞濃度を変化させることで電気測定を行った。まず、ガラス基板上に Cr/Au/Cr/Ta₂O₅ の順にスパッタリングすることで

ゲート電極とし、Ta₂O₅ 表面にポリセロトニン薄膜をアンカー層、m-Maleimidobenzonyl-N-Hydroxysuccinimide ester (MBS) をスペーサー分子として、最後に sgc8c アプタマーを化学修飾した。塩橋を介して Ag/AgCl 電極を参照電極とし、ドレイン電流一定の条件で細胞濃度変化に対するゲート電圧の変化を測定することで溶液ゲート FET のがん細胞に対する電気的応答性について調査した。細胞濃度は 0, 1.0×10⁵, 3.0×10⁵, 5.0×10⁵, 1.0×10⁶ cells/mL と変化させ、各細胞濃度における細胞添加前後でのゲート電圧の変化と細胞濃度の関係について調べた。

3. 実験結果と考察

図 1 は、sgc8c アプタマー界面を有する溶液ゲート FET における、CCRF-CEM 細胞添加によるゲート電圧の変化を示す。細胞の添加によりゲート電圧が減少し、その濃度が上昇すると電圧減少も大きくなることが分かった。これは、CCRF-CEM 細胞がアプタマー分子と結合することによって、細胞表面の負電荷が Ta₂O₅ 電極の表面近傍で増加し、電荷密度の変化が生じることによるものと考えられる。当日は上記ゲート電圧変化の妥当性について議論する。

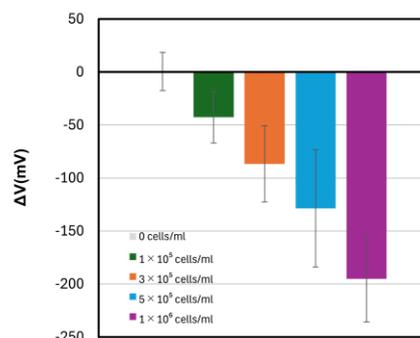


図 1 : sgc8c アプタマー界面を有する溶液ゲート FET における各細胞濃度の溶液添加時のゲート電圧の変化量

参考文献

- [1] Sakata, T. [Perspective], ACS Omega 2019, 4, 11852-11862.
- [2] Rothberg, J. et al., Nature 2011, 475, 348-352.
- [3] M. A. Tabrizi et al., Analytica Chimica Acta 2017, 985, 61-68.

酵素含有 PEDOT:PSS チャンネル OEECT の創製とグルコース応答性

Development of enzyme-containing PEDOT:PSS channel OEECT and its glucose responsivity

東大院工, [○](D)伊藤 健介, 坂田 利弥

The Univ. of Tokyo, [○]Kensuke Ito, Toshiya Sakata

E-mail: sakata@biofet.t.u-tokyo.ac.jp

1. 緒言

再生医療や細胞工学の発展とともに、薬剤スクリーニングに用いる評価系は、平面培養された単一細胞から、より生体に近い挙動を示す 3D 培養されたスフェロイド、さらにはマイクロ流路とオルガノイドを組み合わせ、動的な血流や組織間相互作用を模した系(Organ-On-a-Chip)へと発展している[1]。しかしながら、その観察手法は、光学顕微鏡や共焦点顕微鏡による表面近傍の静的な観察に留まっており、より詳細な薬物動態の解析には、3D 培養された細胞内部を動的に観察・計測可能な手法が必要であると考えられる。

我々の研究グループでは、生体適合性を有し柔軟性の高い導電性高分子ポリ(3,4-エチレンジオキシチオフェン):ポリ(4-スチレンスルホン酸)(PEDOT:PSS)をチャンネルとした有機電気化学トランジスタ(OEECT)について、そのチャンネルの機能化によるバイオセンシング応用の可能性を検討している。特に、PEDOT:PSS にフェニルボロン酸を含む相互侵入高分子網目を導入したダブルネットワークハイドロゲルをチャンネルにすることで、フェニルボロン酸とのジオール結合を利用したグルコースの検出に成功している[2]。

本研究では、PEDOT:PSS チャンネルを多孔質構造にし、多孔質チャンネル内部を細胞培養の足場として 3D 培養された細胞塊内部のイオン・分子濃度を *in situ* モニタリングすることを目指す。特に本発表では、PEDOT:PSS チャンネルによる分子認識の基礎検討として、グルコースオキシダーゼ(GOx)含有 PEDOT:PSS チャンネル OEECT によるグ

ルコース応答性を調査した。

2. 実験方法

PEDOT:PSS (0.1 wt%)と架橋剤 3-グリシジルオキシプロピルトリメトキシシラン(GOPS,0.3 wt%)、GOx (10 U)の混合液を、チャンネルとなるドレイン-ソース Au 電極間に滴下、室温にて 24 時間乾燥させた。得られた GOx 含有 PEDOT:PSS チャンネル OEECT のグルコース応答性を半導体パラメータアナライザーにて評価した(Fig.1)。

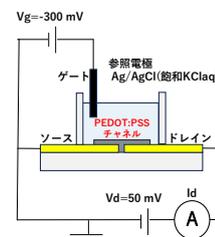


Fig.1 作製した OEECT の測定系

3. 結果

作製した GOx 含有 PEDOT:PSS チャンネル OEECT において、グルコース濃度の上昇に伴い、ドレイン電流が増大していくことがわかった(Fig.2)。これは、GOx によってグルコースが酸化される過程で生成された過酸化水素によって、チャンネル中の PEDOT が酸化されたためだ

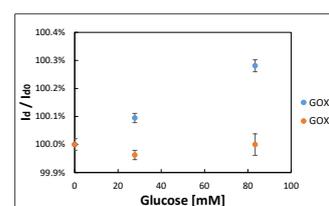


Fig.2 グルコース応答

と考えられる。当日は、酵素含有 PEDOT:PSS チャンネル OEECT の特徴やターゲット分子への応答メカニズムについて議論する予定である。

参考文献

- [1] A. Skardal et al., *Drug Discovery Today*, 21, (2016), 1399-1411.
- [2] A. C. Tseng, T. Sakata, *ACS Applied Materials & Interfaces*, 14, (2022), 24729–24740.