

令和 3 年 6 月 17 日現在

機関番号：12101

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2016～2019

課題番号：16H04160

研究課題名（和文）メソ細孔空間における酵素構造の理解と機能集積酵素センサーの開発

研究課題名（英文）Development of integrated enzymatic biosensor based on mesoporous materials

研究代表者

山口 央 (Yamaguchi, Akira)

茨城大学・理工学研究科（理学野）・教授

研究者番号：10359531

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,700,000 円

研究成果の概要（和文）：本研究の目的は、メソ細孔空間（メソサイズの3次元的細孔空間）を利用した次世代型酵素センサー開発であり、そのために必要な要素技術を開拓するとともに、学際的发展を支える酵素安定化機構の解明を進めた。その結果、メソ細孔空間サイズと細孔壁の化学状態が酵素安定化に影響することを独自の測定法から明らかとした。また、メソ細孔空間を利用した高感度酵素センサーのプロトコルを開発した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

バイオセンサーは予防医療の発展を支える基盤診断技術であり、国際的な研究開発競争が繰り広げられている。次世代バイオセンサー開発戦略の一つが、酵素の長期安定化によるセンサー寿命の改良および高感度化であり、安定化機構の解明に関わる学術的研究と高感度化に関わる新規技術創出を本研究で達成した。本研究で得られた成果は、体内バイオマーカーの簡易診断技術としての発展が期待される。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study is development of advanced enzymatic biosensor by utilizing meso-sized cavity. For that purpose, we examined structure and function of enzyme confined inside the meso-sized cavity and designed biosensor based on the confined enzyme. As the result, we found that the structure and function of the confined enzyme were affected by size and surface characteristics of the cavity. In addition, highly sensitive biosensor was successfully developed.

研究分野：分析化学

キーワード：メソ多孔材料 酵素センサー

1. 研究開始当初の背景

バイオセンサーは、予防医療の発展を支える基盤診断技術として国際的な研究開発競争が繰り広げられている。これまでに「微細加工・情報処理技術」と「高機能センサー基板(プラズモニク材料や先端炭素材料)作製技術」の進展によって、高度集積かつ高機能センサーデバイスの開発が可能となっている。一方で、選択性と計測感度を担保する分子認識系に関する技術的進展は乏しい。例えば、グルコースオキシダーゼ(GOD)を超える人工的グルコース認識・信号変換系は未踏であり、GODについても短期的な失活が長期安定デバイス開発の壁である。市販されているGOD固定型グルコースセンサーの寿命は2ヶ月程度であり、主に血清など比較的高グルコース濃度なサンプリング試料を対象としている。酵素活性の超長期安定化は、酵素固定型バイオセンサー(酵素センサー)を診断用から体内埋め込み型へ転換するために切望されている。また、酵素センサーの高感度化は、血清試料から家庭でのサンプリングが容易な呼気・唾液・尿試料への転換を可能とする(例:唾液中のグルコース濃度は血液中の1/100)。超長期安定化と高感度化は、次世代型酵素センサー(体内埋め込み型、だ液・呼気計測型)への質的転換と予防医療の実現に向けたブレークスルーとなる重要課題である。

メソポーラスシリカなど均一無機多孔体ホストのメソ細孔空間(概ね20nm以下の細孔空間)は、酵素など生体高分子の安定的かつ効率的な機能発現場と考えられており、メソ細孔空間に閉じ込められた生体高分子、特にタンパク質の構造・機能を分子レベルで理解することが求められている。さらに、「閉じ込めタンパク質」の特性を理解することは、無機多孔体とタンパク質を複合した機能性ナノバイオ材料の設計に寄与する。しかし、「閉じ込めタンパク質」の3次構造とその熱安定性を検証する実験手法は少なく、未だに経験的な知見に基づく材料設計となっている。

2. 研究の目的

本研究の目的は、メソ細孔空間(メソサイズの3次元的細孔空間)を利用した次世代型(体内埋め込み型、だ液・呼気計測型)酵素センサー開発であり、そのために必要な要素技術を開拓するとともに、学際的发展を支える酵素安定化機構の解明を進めることにある。具体的な研究項目と解明事項は(1)「閉じ込めタンパク質」の構造・機能の理解、(2)体内埋め込み型を指向した機能集積型酵素センサー開発、(3)だ液・呼気試料を指向した高感度センシング系の開発である。課題(1)については、「閉じ込めタンパク質」の構造や安定性を決定するための新しい方法論を開拓すると共に、タンパク質構造に及ぼす細孔サイズの影響について重点的に精査することとした。タンパク質構造と細孔サイズの相関を定性的に研究する例は多いが、本課題においては定量的な測定から相関関係を明確に解明することを目的としている。課題(2)については、酵素センサーに適切な新規材料開発を出発点とし、材料特性を活かしたセンサー設計を目的としている。課題(3)では、血液に代わる非侵襲試料に含まれる微量成分を高感度かつ簡便に計測するセンサー開発を目的としている。

3. 研究の方法

各研究課題について以下の研究を推進した。

(1)「閉じ込めタンパク質」の構造・機能の理解:本研究課題の遂行における最重要事項は、タンパク質がメソ細孔空間に閉じ込められていることを実証することである。次に、閉じ込められたタンパク質の3次構造を決定し、3次構造の熱安定性評価が必要となる。そこで、示差走査熱量測定(DSC)と小角中性子散乱(SANS)を組み合わせた方法論を開拓した。また、微小な3次構造および反応中心の構造解析について、電子常磁性共鳴を利用した測定も行った。なお、SANS測定はJ-PARCのBL-15 TAIKANで行った。

(2)体内埋め込み型を指向した機能集積型酵素センサー開発:メソ細孔空間内部の酵素反応では、細孔空間の微小さに起因する分子拡散・輸送の非効率性を解消することが肝要である。また、酵素反応生成物(H₂O₂)を効率的に計測するためには、効率的かつ可逆な信号変換系を構築することが望ましい。本課題においては、GODをモデル酵素としてGODを固定化するのに適した新規材料群(表面電荷が正なAl₂O₃やTiPO₄など)でのメソ多孔材料の創製、信号変換のための過酸化水素蛍光プローブの開発を行った。なお、GODの固定化を検証するためにオーストラリアANSTOのPLATYPUSで中性子反射測定を行った。

(3)だ液・呼気試料を指向した高感度センシング系の開発:非侵襲試料であるだ液中のグルコース濃度は血中のおよそ1/100であり、簡易かつ高感度なセンサー開発が求められる。本課題では、だ液や呼気をそのまま計測できるセンサーを設計し、その応答を確認した。

4. 研究成果

(1)「閉じ込めタンパク質」の構造・機能の理解:DSCとSANSを組み合わせた一連の実験では、球状タンパク質であるミオグロビン(Mb)を用いた。メソポーラスシリカ細孔内における細孔内水は、Mbの細孔内吸着によって減少する。この減少量を、DSC測定で得られる細孔内水

の融解熱および融点変化から解析する方法論を開拓した [1]。図 1 に細孔サイズが 6.4 nm のメソポーラスシリカ MPS64 で得られた細孔内水の融解ピークを示す。別途求めた Mb 総吸着量 (A_{tot}) から、Mb 総吸着量の増大による融点の低下と融解ピーク面積の減少が得られる。融点および融解ピーク面積は Mb の細孔内吸着量 (A_{pore}) と相関があるため、融解ピークから Mb 細孔内吸着量を解析することができる。

Mb 直径 (3.5 nm) と同等の細孔サイズを有するメソポーラスシリカ MPS39, および MPS64 において DSC 測定から得られた結果を図 2 に示す。ここでは、メソポーラスシリカ粒子を Mb 溶液に添加し、吸着平衡後の Mb 溶液濃度を決定することで、 A_{tot} と A_{pore} に関する吸着等温線を作製している。図 2 から MPS39 では吸着した Mb のほぼ全量が細孔内に存在することが分かる。一方、MPS64 では高濃度 Mb 溶液からの吸着では細孔内吸着が進む反面、低濃度 Mb 溶液からの吸着時に細孔入り口近傍に Mb が偏在して細孔内吸着が抑制されていることが分かった。一般的に細孔サイズが小さく、タンパク質サイズと同等の時、立体的制約から細孔内吸着は抑制すると考えられている。本研究では、細孔内吸着を定量的に解析することで、細孔内吸着が従来の予想と異なることが示された。

次に、Mb の吸着分布状態に及ぼす細孔サイズと溶液 pH の関係を DSC 測定から精査した [2]。その結果、図 3 に細孔径が 3.3 nm (MPS33), 5.3 nm (MPS53), 7.9 nm (MPS79) のメソポーラスシリカにおける Mb の吸着構造と吸着分布状態を示す。細孔サイズが最も小さい MPS33 では、構造変性の有無に関わらず細孔内に Mb が分布する一方、細孔サイズが Mb サイズに比べて十分に大きな MPS53 と MPS79 では、細孔内吸着挙動が構造変性によって影響を受けている。このように、比較的大きな細孔では、Mb の細孔内吸着が抑制される場合があることが示された。

細孔内吸着が DSC 測定から確認されたメソポーラスシリカ試料について、「閉じ込め Mb」の 3 次構造を決定するために SANS 測定を行った。実験は、溶媒とシリカの散乱長密度を同一としたコントラストマッチング条件で行い、「閉じ込め Mb」のみの中性子散乱信号を取得し、剛体球モデルで SANS プロファイルの解析を行った。その結果、細孔径が 3.9~7.5 nm のメソポーラスシリカ細孔内の Mb が球状構造を維持し、その直径が溶液中と一致することを見いだした [3]。さらに、細孔内 Mb の球状構造が熱変性する挙動についても検証し、バルク溶液中に比べて Mb の熱安定性が低下することも明らかとした。熱安定性低下の要因として Mb/シリカ間の相互作用が示唆された。Mb/シリカ間の相互作用は、Mb 球状構造を大幅に歪ませることは無いが、熱安

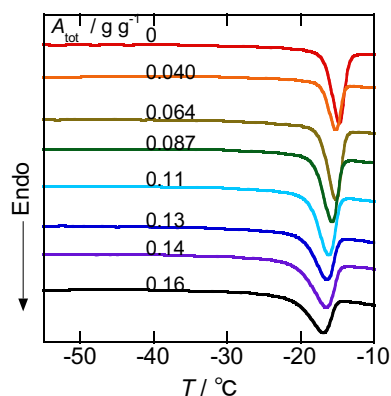


図 1 MPS64 細孔内水の融解ピークに及ぼす Mb 総吸着量の影響

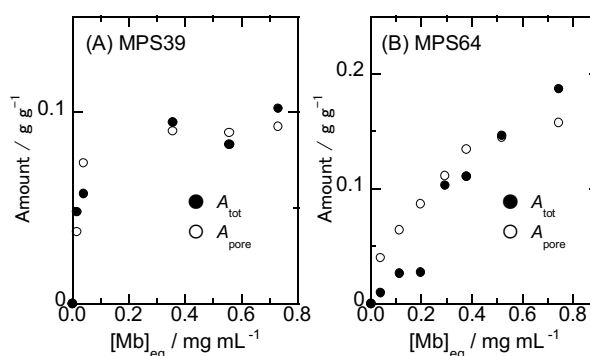


図 2 MPS39 と MPS64 における Mb 総吸着量と細孔内吸着量の関係

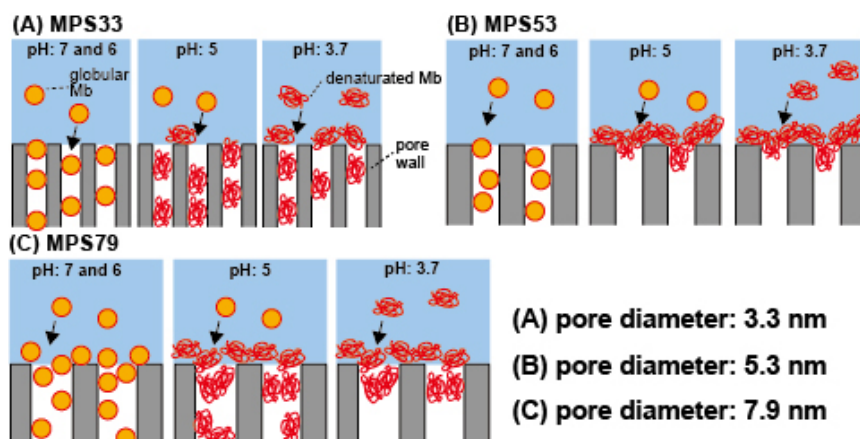


図 3 細孔サイズの異なるメソポーラスシリカに吸着した Mb の構造と吸着分布状態

定性の低下を引き起こすと考えられる。さらに、DSC と SANS を組み合わせた実験を進める中で、細孔内入り口近傍に偏在する Mb が最密充填状態にあること、Mb 最密充填が細孔入り口からおよそ 20 nm の領域にあることが分かってきた。

タンパク質の機能は反応中心の構造・活性に依存するため、「閉じ込めタンパク質」の反応中心についても研究を行った[4]。ここでは、銅タンパク質 PAz の EPR 測定から、反応中心である銅配位構造を観察し、配位構造におよぼす細孔サイズの影響について調べた。その結果、PAz サイズと同等のメソポーラスシリカ細孔内では、銅配位構造が若干歪むことが分かった。さらに、EPR スペクトルから得られた g 因子について、種々の PAz 変異体の値と比較した結果、構造歪みから推定される銅の還元電位変化が数十 mV 程度と見積もられた。

以上の通り、本研究課題では球状タンパク質である Mb をモデルタンパク質として、吸着タンパク質の分布状態や 3 次構造決定に DSC と SANS を用いた方法論が有効であることを実証すると共に、タンパク質吸着状態に対する細孔サイズの影響を明らかとした。また、銅タンパク質における反応中心構造に関する知見も得られた。「閉じ込めタンパク質」の構造・機能の学際的发展に対し、開拓した方法論や得られた知見が寄与するものと考えている [5]。

Mb は複数の α -ヘリックスがループ部位で連結した球状構造であり、その熱安定性がメソポーラスシリカ細孔内で低下する結果を得た。一方、直鎖状の DNA 二重鎖については、サイズマッチしたメソポーラスシリカ細孔内で顕著に安定化 (平衡定数で 100 倍程度) することも見いだしている [6]。ヘアピン DNA 構造の細孔内不安定化 (*Chem. Lett.* 2016) を考慮すると、シリカ細孔内壁とタンパク質ループ部位の間の相互作用が「閉じ込めタンパク質」の構造安定性に影響すると考えられる。

(2) 体内埋め込み型を指向した機能集積型酵素センサー開発：メソポーラスシリカに代表される均一無機多孔体の表面電荷は主に負であり、等電点の小さなタンパク質を閉じ込めるためにはアミン修飾などが必要である。本課題においては、表面電荷が正であるメソポーラスアルミナ膜の作製に成功した [7]。メソポーラスアルミナ膜は、硝酸アルミニウムと界面活性剤を含む前駆体溶液から、スピコートにより簡単に形成することが出来る。その結果、図 4 の表面 SEM 像で示すように細孔が規則的に配列したメソポーラス膜であることが分かった。さらに、GI-SAXS 測定から円筒状細孔が垂直配向した構造であることも示された。円筒状細孔が垂直配向したメソポーラス膜の合成は望まれており、均一多孔性膜の新しい作製法としての発展が期待される。

次に、メソポーラスアルミナ膜の細孔 (直径 10 nm) に対するグルコースオキシダーゼ (GOD) 吸着分布状態を調べるために中性子反射測定を行った [8]。測定はオーストラリアの ANSTO の EMU で行っている。その結果、表面電荷が負である GOD は強い静電相互作用によって細孔入り口に留まることが分かった (図 5)。また、GOD 濃厚溶液中では GOD の多相吸着が細孔入り口で起こり、洗浄後には単一層として GOD が細孔入り口に留まることも示された。中性子反射による最初の測定のため、pH 緩衝剤を含まない GOD 溶液で実験を進めている。今後は、GOD 吸着と溶液 pH の関係などを調べることで、GOD を効率的にアルミナ細孔内に閉じ込める条件を決定し、「閉じ込め GOD」を利用したセンサー開発が進むと考えている。

さらに、細孔内部に存在する GOD が酵素反応に関与する場合、細孔内で生成した過酸化水素を効率的に信号変換する必要がある。そこで、ペリレンジイミド誘導体の合成と過酸化水素計測への応用についても検討した。その結果、過酸化水素を可逆的に計測可能な蛍光プローブの合成に成功した。現在、蛍光プローブの固定化について検討を進めており、将来的には細孔内における効率的かつ繰り返し測定可能な酵素センサーへの展開を図る。

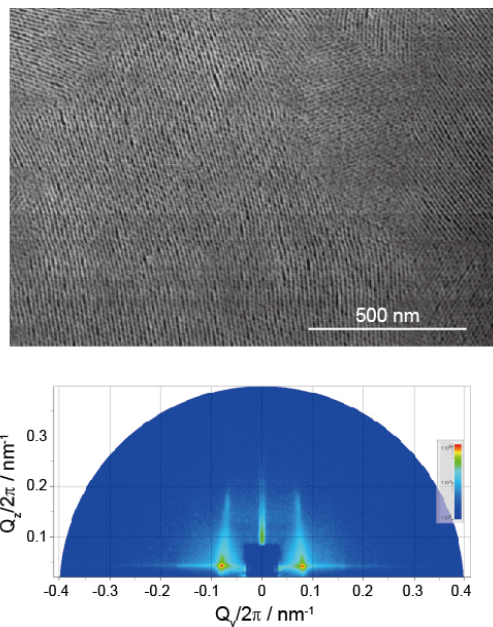


図 4 メソポーラスアルミナ膜の表面 SEM 像と GI-SAXS パターン。

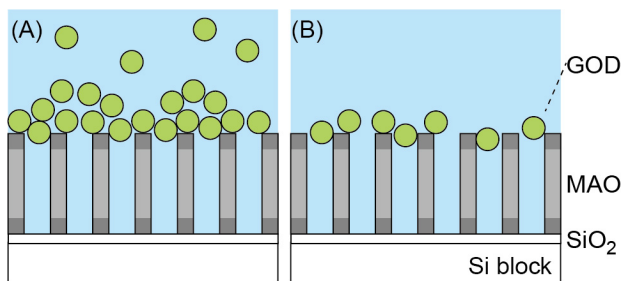


図 5 GOD 濃厚溶液中における GOD の多相吸着(A)、洗浄後の GOD 吸着の模式図。

(3) だ液・呼気試料を指向した高感度センシング系の開発：一般的なフロー型酵素センサーは送液ポンプを必要とするため、センサー全体の小型化に制約がある。そこで、送液ポンプを不要とする小型酵素センサーを設計し、その性能を検証した。センサーは、牛血清アルブミンゲル膜 (BSA ゲル膜)、 GOD 吸着メソポーラスシリカ粒子 (GOD/MPS)、および白金電極を成膜したナノ流路集積膜 (Pt/NP 膜) から構成され、BSA ゲル膜での物質拡散や浸透圧流、BSA ゲル膜の吸水機能によりポンプフリー計測を可能としている。センサー窓に溶液を滴下、あるいは模擬呼気の吹きつけによって、グルコースの高感度計測が可能であることを実証している (図 6)。検出限界はだ液や汗中グルコース濃度以下であり、将来的に非侵襲試料への適用が期待される。

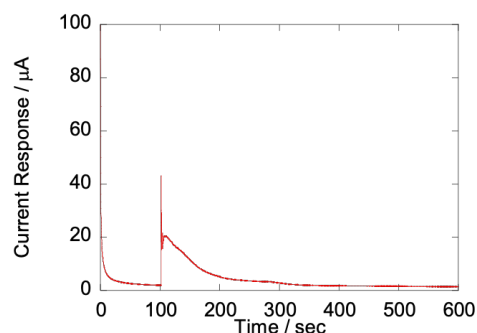


図 6 グルコース溶液に対するセンサー応答

〈引用文献〉

- [1] A. Yamaguchi *et al.* "Characterization of Myoglobin Adsorption into Mesoporous Silica Pores by Differential Scanning Calorimetry", *Anal. Sci.*, **34**, 1393-1399 (2018).
- [2] A. Yamaguchi *et al.* "Differential Scanning Calorimetry Study on the Adsorption of Myoglobin at Mesoporous Silicas: Effects of Solution pH and Pore Size", *ACS Omega.*, **5**, 22993-23001 (2020).
- [3] J. Kijima *et al.* "Structural characterization of myoglobin molecules adsorbed within mesoporous silica", *J. Phys. Chem. C*, **122**, 15567-15574 (2018).
- [4] A. Yamaguchi *et al.* "Effect of cavity size of mesoporous silica on type I copper site geometry in Pseudoazurin", *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **93**, 630-636 (2020).
- [5] T. Masuda *et al.* "Effect of cavity size of mesoporous silica on short DNA duplex stability", *Langmuir*, **34**, 5545-5550 (2018).
- [6] A. Yamaguchi *et al.* "Structural Characterization of Proteins Adsorbed at Nanoporous Materials", *Anal. Sci.*, **37**, 49-59 (2021).
- [7] Y. Shibuya *et al.* "Continuous mesoporous aluminum oxide film with perpendicularly oriented Mesopore channels", *ACS Omega.*, **4**, 17890-17893 (2019).
- [8] A. Yamaguchi *et al.* "In-situ Neutron Reflectometry Study on Adsorption of Glucose Oxidase at Mesoporous Aluminum Oxide Film", *Anal. Sci.*, **36**, 1331-1336 (2020).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 14件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Akira Yamaguchi, Yurie Edanami, Takahide Yamaguchi, Yuuta Shibuya, Norihisa Fukaya, and Takamitsu Kohzuma	4. 巻 93
2. 論文標題 Effect of cavity size of mesoporous silica on type I copper site geometry in Pseudoazurin	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bull. Chem. Soc. Jpn.	6. 最初と最後の頁 630-636
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/bcsj.20190355	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Akira Yamaguchi, Chiharu Kashimura, Mami Aizawa, Yuuta Shibuya	4. 巻 5
2. 論文標題 Differential Scanning Calorimetry Study on the Adsorption of Myoglobin at Mesoporous Silicas: Effects of Solution pH and Pore Size	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ACS Omega	6. 最初と最後の頁 22993-23001
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsomega.0c02602	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Akira YAMAGUCHI, Kazuya KATAYAMA, Stephen A. HOLT	4. 巻 36
2. 論文標題 In-situ Neutron Reflectometry Study on Adsorption of Glucose Oxidase at Mesoporous Aluminum Oxide Film	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Analytical Sciences	6. 最初と最後の頁 1331-1336
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/analsci.20P160	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Akira YAMAGUCHI, Masahiro SAIGA, Daiki INABA, Mami AIZAWA, Yuta SHIBUYA, Tetsuji ITOH	4. 巻 37
2. 論文標題 Structural Characterization of Proteins Adsorbed at Nanoporous Materials	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Analytical Sciences	6. 最初と最後の頁 49-59
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/analsci.20SAR05	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yuuta Shibuya, Kazuya Katayama, Kazuhiro Akutsu-Suyama, Akira Yamaguchi	4. 巻 4
2. 論文標題 Continuous mesoporous aluminum oxide film with perpendicularly oriented Meso-ore channels	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ACS Omega	6. 最初と最後の頁 17890-17893
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsomega.9b02797	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Jun Kijima, Yuuta Shibuya, Kazuya Katayama, Tetsuji Itoh, Hiroki Iwase, Yoshiaki Fukushima, Minoru Kubo, Akira Yamaguchi	4. 巻 122
2. 論文標題 Structural characterization of myoglobin molecules adsorbed within mesoporous silica	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J. Phys. Chem. C	6. 最初と最後の頁 15567-15574
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpcc.8b04356	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tsubasa Masuda, Yuuta Shibuya, Shota Arai, Sayaka Kobayashi, Sotaro Suzuki, Jun Kijima, Tetsuji Itoh, Yusuke Sato, Seiichi Nishizawa, Akira Yamaguchi	4. 巻 34
2. 論文標題 Effect of cavity size of mesoporous silica on short DNA duplex stability	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Langmuir	6. 最初と最後の頁 5545-5550
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.langmuir.8b00437	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Akira Yamaguchi, Kazuhiro Taki, Jun Kijima, Yurie Edanami, Yuuta Shibuya	4. 巻 34
2. 論文標題 Characterization of Myoglobin Adsorption into Mesoporous Silica Pores by Differential Scanning Calorimetry	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Anal. Sci.	6. 最初と最後の頁 1393-1399
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/analsci.18P371	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 山口 央, 伊藤徹二, 渋屋祐太	4. 巻 83
2. 論文標題 バイオセンサー開発における多孔質材料の利用	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 化学工学会誌	6. 最初と最後の頁 175-177
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hiroyuki Arafune, Kazuhiro Hotta, Tetsuji Itoh, Norio Teramae, Akira Yamaguchi	4. 巻 33
2. 論文標題 Nanoporous waveguide spectroscopy for the estimation of enzyme adsorption on mesoporous silica	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Anal. Sci.	6. 最初と最後の頁 473-476
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/analsci.33.473	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tetsuji Itoh, Yuuta Shibuya, Akira Yamaguchi, Yasuto Hoshikawa, Osamu Tanaike, Tatsu Tsunoda, Taka-aki Hanaoka, Satoshi Hamakawa, Fujio Mizukami, Akari Hayashi, Takashi Kyotani, Galen D. Stucky	4. 巻 5
2. 論文標題 High-performance bioelectrocatalysts created by immobilization of an enzyme into carbon-coated composite membranes with nano-tailored structures	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 J. Mater. Chem. A	6. 最初と最後の頁 20244-20251
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/c7ta04859a	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 K. Nagashima, M. Sasaki, K. Hashimoto, S. Takaichi, S. Nagashima, L. Yu., Y. Abe, K. Gotou, T. Kawakami, M. Takenouchi, Y. Shibuya, A. Yamaguchi, T. Ohno, J. Shen, K. Inoue, M. Madigan, Y. Kimura, Z. Otomo	4. 巻 114
2. 論文標題 Probing structure-function relationships in early events in photosynthesis using a chimeric photocomplex	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Proc. Natl. Acad. Sci.	6. 最初と最後の頁 10906-10911
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1703584114	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takaya Suzuki, Yuuta Shibuya, Takaya Sato, Seiichi Nishizawa, Itaru Sato, Akira Yamaguchi	4. 巻 32
2. 論文標題 Thermodynamic of complexation between thiourea-based receptor and acetate in water/acetonitrile mixture	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Anal. Sci.	6. 最初と最後の頁 741-744
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/analsci.32.741	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Akira Yamaguchi, Kazuyoshi Nasu, Naruki Wakaume, Yuuta Shibuya, Jun Kijima, Tetsuji Itoh	4. 巻 45
2. 論文標題 Stability of hairpin structure of (CCG) ₄ trinucleotide repeats inside amine-functionalized silica mesopores	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Chem. Lett.	6. 最初と最後の頁 1425-1427
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/cl.160835	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tetsuji Itoh, Akira Yamaguchi, Takashi Kyotani, Taka-aki Hanaoka, Fujio Mizukami	4. 巻 4
2. 論文標題 High-performance bio-sensor with enzymes immobilized on mesoporous membranes: Nanosized pores just corresponding to the size of an enzyme improve the stability of the sensor drastically	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Adv. Porous Mater.	6. 最初と最後の頁 157-165
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1166/apm.2016.1119	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計53件 (うち招待講演 5件 / うち国際学会 7件)

1. 発表者名 稲葉大輝, 佐藤悠希, 山口央
2. 発表標題 ナノ多孔材料とヒドロゲルを用いたポンプフリー-FIAシステムの開発
3. 学会等名 日本分析化学会69年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 會澤茉弥, 山口央
2. 発表標題 メソポーラスシリカ粒子に対するミオグロビンの吸着分布状態の解析
3. 学会等名 日本分析化学会69年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 雑賀将大, 山口央
2. 発表標題 電気化学的制御を利用した過酸化水素蛍光モニタリング系の開発
3. 学会等名 日本分析化学会69年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Stephen A. Holt, Akira Yamaguchi, Kazuya Katayama
2. 発表標題 The adsorption of glucose oxidase on mesoporous aluminum
3. 学会等名 Australia Japan Colloids Symposium 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 稲葉大輝, 佐藤悠希, 山口央
2. 発表標題 ナノ多孔材料を用いた自律型酵素グルコースセンサーの開発
3. 学会等名 第30回日本化学会関東支部茨城地区研究交流会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 雑賀将大, 松原弘明、山口央
2. 発表標題 連続モニタリングを目指した過酸化水素蛍光プローブの開発
3. 学会等名 第30回日本化学会関東支部茨城地区研究交流会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 會澤茉弥, 山口央
2. 発表標題 メソポーラスシリカ粒子におけるミオグロビンの吸着分布状態の評価
3. 学会等名 第16回茨城地区分析技術交流会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 片山知哉, 渋屋裕太、山口央
2. 発表標題 金薄膜上にメソポーラスアルミナ膜を形成した電極での電気化学評価
3. 学会等名 第16回茨城地区分析技術交流会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 新井翔太, 山口央
2. 発表標題 DDSを指向したBSAゲル被覆メソポーラスシリカナノ粒子の合成
3. 学会等名 第16回茨城地区分析技術交流会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山口央
2. 発表標題 ノ多孔性材料とタンパク質を複合化した生体触媒材料の開発
3. 学会等名 2019年度日本分析化学会東北支部若手交流会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 雑賀将大, 松原弘明、山口央
2. 発表標題 連続モニタリングを目指した過酸化水素蛍光プローブの開発
3. 学会等名 日本分析化学会68年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 片山知哉, 渋屋裕太、山口央
2. 発表標題 メソポーラスアルミナ/金積層電極の電気化学特性評価
3. 学会等名 日本分析化学会68年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 會澤茉弥, 櫻村ちはる、山口央
2. 発表標題 示差走査熱量測定によるシリカメソ細孔へのミオグロビン吸着挙動の解析
3. 学会等名 日本分析化学会68年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山口央, 洪屋裕太, 枝並友梨絵, 櫻村ちはる
2. 発表標題 ナノ細孔内水の凝固/融解におよぼす吸着物質の影響
3. 学会等名 第79回分析化学討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Akira Yamaguchi, Jun Kijima, Yuuta Shibuya
2. 発表標題 SANS study for structural characterization of myoglobin confined inside meso-cavity
3. 学会等名 3rd International Symposium of Quantum Beam Science at Ibaraki University (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kazuya Katayama, Yuuta Shibuya, Akira Yamaguchi
2. 発表標題 Synthesis and structural characterization of mesoporous titanium phosphate
3. 学会等名 3rd International Symposium of Quantum Beam Science at Ibaraki University (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 枝並友梨絵, 洪屋祐太, 山口央, 玉置彩緒理, 山口峻英, 高妻孝光
2. 発表標題 シリカ細孔内シュウドアズリンの構造に及ぼす細孔サイズ効果の検証
3. 学会等名 平成30年度東日本分析化学若手交流会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山口 央、 渋屋 祐太
2. 発表標題 メソ空隙に閉じ込められた機能性生体高分子の構造と安定性
3. 学会等名 GIC第57回研修セミナー（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shota Arai, Yuuta Shibuya, Akira Yamaguchi
2. 発表標題 Impact of cavity size for stability of confined DNA duplexes
3. 学会等名 RSC Tokyo International Conference 2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山口 央
2. 発表標題 小角中性子散乱と熱分析を利用したナノ空間内タンパク質の構造評価
3. 学会等名 日本分析化学会第67年会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 枝並 友梨絵、 渋屋 祐太, 山口 央
2. 発表標題 シリカメソ細孔内ブルー銅タンパク質反応中心の構造に及ぼす空間サイズの影響
3. 学会等名 日本分析化学会第67年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 洪屋 祐太、片山 知哉、山口 央
2. 発表標題 メソポーラスアルミナの開発と酵素センサーへの応用
3. 学会等名 日本分析化学会第67年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 片山 知哉、洪屋祐太、山口央
2. 発表標題 金電極に形成したメソポーラスアルミナ膜の酵素センサー応用
3. 学会等名 日本分析化学会第67年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 新井 翔太、増田 翼、小林 沙弥華、鈴木 崇太郎、洪屋 祐太、山口 央
2. 発表標題 サイズの異なるシリカメソ細孔内DNA二重鎖の構造安定性
3. 学会等名 日本分析化学会第67年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 新井翔太、増田翼、小林沙弥華、鈴木崇太郎、洪屋祐太、山口央
2. 発表標題 細孔サイズが及ぼすシリカメソ細孔内DNA二重鎖安定性への影響
3. 学会等名 第29回日本化学会関東支部茨城地区研究交流会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 片山知哉、渋屋裕太、山口央
2. 発表標題 メソポーラスアルミナ膜の合成と評価
3. 学会等名 第15回茨城地区分析技術交流会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 櫻村ちはる、枝並友梨絵、渋屋裕太、山口央
2. 発表標題 熱分析を利用したシリカメソ細孔内ミオグロビン吸着の評価
3. 学会等名 第15回茨城地区分析技術交流会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐藤悠希, 松原弘明、渋屋雄太、山口央
2. 発表標題 メソポーラスシリカとBSAゲルを用いたグルコースセンサーの開発
3. 学会等名 第15回茨城地区分析技術交流会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山口央
2. 発表標題 小角中性子散乱を利用したタンパク質/ナノ多孔複合材料の評価
3. 学会等名 2018年度量子ビームサイエンスフェスタ(招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 枝並友梨絵, 渋屋祐太, 山口央, 玉置彩緒理, 山口峻英, 高妻孝光
2. 発表標題 シリカ細孔内シュウドアズリンの構造に及ぼす細孔サイズ効果の検証
3. 学会等名 平成29年度 関東支部若手交流会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Akira Yamaguchi, Tsubasa Masuda, Yuuta Shibuya, Jun Kijima, Tetsuji Itoh
2. 発表標題 Structural regulation of biomacromolecules inside mesoscopic cavity
3. 学会等名 16th International clay conference (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Tetsuji Itoh, Akira Yamaguchi, Yasuto Hoshikawa, Tatsuo Tsunoda, Taka-aki Hanaoka, Takashi Kyotani, Galen D. Stucky
2. 発表標題 Bioelectrocatalysts with improving the direct electron transfer and stability by immobilization of enzyme onto carbon-coated mesoporous silica membrane
3. 学会等名 16th International clay conference (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 山口 央、 渋屋 祐太
2. 発表標題 生体高分子の高次構造と閉じ込め空間サイズの相関
3. 学会等名 日本分析化学会第66年会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 木島 惇、 洪屋 祐太、山口 央、阿久津 和宏、岩瀬 裕希、福嶋 喜章、伊藤 徹二
2. 発表標題 コントラスト変調中性子小角散乱を用いたメソポーラスシリカ/ミオグロビン複合体の構造解析
3. 学会等名 日本分析化学会第66年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 枝並友梨絵、洪屋祐太、山口央、玉置彩緒理、山口峻英、高妻孝光
2. 発表標題 共鳴ラマン散乱測定を用いたシリカメソ細孔内ブルー銅タンパク質の構造解析
3. 学会等名 日本分析化学会第66年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 新井 翔太、増田 翼、小林 沙弥華、鈴木 崇太郎、洪屋 祐太、山口 央
2. 発表標題 メソポーラスシリカ細孔内DNA二重鎖の構造安定性におよぼす細孔サイズの影響
3. 学会等名 日本分析化学会第66年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 岡村 理史、洪屋祐太、山口央
2. 発表標題 メソポーラスシリカに対する酸変性ミオグロビンの吸着挙動
3. 学会等名 第14回茨城地区分析技術交流会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 新井 翔太, 増田 翼, 小林 沙弥華, 鈴木 崇太郎, 渋屋 祐太, 山口 央
2. 発表標題 メソ細孔内DNA二重鎖の構造安定性に及ぼす細孔サイズの影響
3. 学会等名 第14回茨城地区分析技術交流会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yuuta Shibuya, Tetsuji Itoh, Yasuto Hoshikawa, Takashi Kyotani, Akira Yamaguchi
2. 発表標題 Enzyme electrode based on carbon coated mesoporous silica tube
3. 学会等名 2nd International Symposium of Quantum Beam Science at Ibaraki University
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Jun Kijima, Akira Yamaguchi, Yuuta Shibuya, Kazuhiro Akutsu, Hiroki Iwase, Yoshiaki Fukushima, Tetsuji Itoh
2. 発表標題 Structural analysis of mesoporous silica/myoglobin complex by contrast modulation neutron small angle scattering
3. 学会等名 2nd International Symposium of Quantum Beam Science at Ibaraki University
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 山口 央, 上野 涼太郎, 渋屋 祐太, 伊藤 徹二
2. 発表標題 チューブ状メソポーラスシリカを利用した酵素センサーの開発
3. 学会等名 第76回分析化学討論会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 木島 惇, 渋屋 祐太, 山口 央, 阿久津 和宏, 岩瀬 裕希, 福嶋 喜章, 伊藤 徹二
2. 発表標題 中性子散乱を利用した多孔性シリカ細孔内ミオグロビンの観察
3. 学会等名 平成28年度東日本分析化学若手交流会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Tsubasa Masuda, Sayaka Kobayashi, Soutaro Suzuki, Yuuta Shibuya, Akira Yamaguchi
2. 発表標題 Correlation between duplex formation of DNA fragments and pore size
3. 学会等名 RSC Tokyo International Conference 2016 (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Takaya Suzuki, Yuuta Shibuya, Akira Yamaguchi
2. 発表標題 Entropy-Driven Complexation between Thiourea-Based Receptor and Acetate
3. 学会等名 RSC Tokyo International Conference 2016 (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 木島 惇, 渋屋 祐太, 山口 央, 阿久津 和宏, 岩瀬 裕希, 福嶋 喜章, 伊藤 徹二
2. 発表標題 中性子散乱を利用したメソポーラスシリカ細孔内ミオグロビンの構造と会合状態の観察
3. 学会等名 日本分析化学会第65年会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 若梅 成輝、 那須 一啓、 洪屋 祐太、 木島 惇、 伊藤 徹二、 山口 央
2. 発表標題 シリカメソ細孔内でのヘアピン型DNAの二次構造安定性評価
3. 学会等名 日本分析化学会第65年会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 木島 惇、 洪屋 祐太、 山口 央、 阿久津 和宏、 岩瀬 裕希、 福嶋 喜章、 伊藤 徹二
2. 発表標題 小角中性子散乱を利用したナノ空隙内タンパク質の構造観察
3. 学会等名 日本中性子科学会第16回年会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 枝並友梨絵、 洪屋祐太、 山口央、 酒井千尋、 玉置彩緒理、 高妻孝光
2. 発表標題 メソポーラスシリカに吸着したブルー銅タンパク質シュウドアズリンの共鳴ラマン散乱測定
3. 学会等名 第27回日本化学会関東支部茨城地区研究交流会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 増田翼、 小林沙弥華、 鈴木崇太郎、 洪屋祐太、 山口央
2. 発表標題 短鎖DNAの会合エネルギーと細孔サイズの相関
3. 学会等名 第27回日本化学会関東支部茨城地区研究交流会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 若梅成輝, 那須一啓, 洪屋祐太, 木島惇, 伊藤徹二, 山口央
2. 発表標題 シリカメソ細孔内でのヘアピン型DNAの二次構造安定性評価
3. 学会等名 第13回茨城地区分析技術交流会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 鈴木貴矢, 洪屋祐太, 山口央
2. 発表標題 水/アセトニトリル混合溶媒中でのチオ尿素型アニオンレセプターと酢酸イオンの錯形成
3. 学会等名 第13回茨城地区分析技術交流会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 枝並友梨絵, 洪屋祐太, 山口央, 酒井千尋, 玉置彩緒理, 高妻孝光
2. 発表標題 メソポーラスシリカに吸着したブルー銅タンパク質シュウドアズリンの構造解析
3. 学会等名 第13回茨城地区分析技術交流会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 木島 惇、洪屋 祐太、山口 央、阿久津 和宏、岩瀬 裕希、福嶋 喜章、伊藤 徹二
2. 発表標題 小角中性子散乱を利用したナノ空隙内タンパク質の構造観察
3. 学会等名 2016年度量子ビームサイエンスフェスタ
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

茨城大学理学部山口研究室HP
<http://anal.sci.ibaraki.ac.jp/yama/yamalab.html>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	伊藤 徹二 (Itoh Tetsuji) (70392587)	国立研究開発法人産業技術総合研究所・材料・化学領域・主任研究員 (82626)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
オーストラリア	ANSTO			