

令和 3 年 6 月 17 日現在

機関番号：12614

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17H03871

研究課題名(和文) 魚の生理状態の可視化と測定：双方向通信技術を用いた魚類のためのバイオセンシング

研究課題名(英文) Development of biosensor system for fish physiological state by using bidirectional communication technology

研究代表者

遠藤 英明 (Endo, Hideaki)

東京海洋大学・学術研究院・教授

研究者番号：50242326

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は双方向通信技術を用いることにより、魚に装着したバイオセンサを陸上の端末機よりコントロールし、その生理状態を目視で容易に判別し、かつ定量的にリアルモニタリング可能な魚類のための新しいバイオセンシングシステムの構築を目的とした。まず、ストレス応答測定のためのバイオセンサおよび双方向通信システムを製作し、これらを複数の魚に装着した。次に、陸上にある送受信機からLEDの点灯/消灯をコントロールすることにより水中で遊泳している個体の識別を試みると共に、LEDの点灯色変化(赤・黄・青)によるストレス応答の可視化を試みた。その結果、本システムを用いることにより、上記目的を達成することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

バイオセンサと双方向通信技術を用いることにより、魚類の生体内情報の可視化と定量的なモニタリングが可能なバイオセンシングシステムを構築することができた。これにより、魚を自由に遊泳させた状態で、その生理状態と各種センサによる応答値との関わりを容易かつ詳細に解析することが可能となった。本システムによって得られる新知見は、魚類行動学、魚類生理学、水産化学等の分野の横断的発展のために大いに貢献できる可能性があり、その学術的意義は極めて高いと考えられる。また、水族館や河川で発生した魚の不明死や疾病などに対する原因究明の手がかりとなるような知見も得られる可能性があり、本研究の社会的意義も大きいと考えている。

研究成果の概要(英文)：The aim of this research was to develop a novel bidirectional wireless biosensing system for easily and intuitively monitoring the physiological state of fish. The system allows for direct visual judgment of different states and real-time monitoring of fish stress according to the commands sent by the client. We first developed a biosensor and a bidirectional communication system for monitoring the physiologic state of fish, such as the stress response, and attached them to multiple test fish. Next, we tried to identify specific individuals swimming in the water by controlling the LED pattern remotely. The fish stress states could also be visualized automatically by changing the color of the LED (Red Yellow Green) through 2 different preset thresholds. The proposed biosensor system fulfilled the objectives of the research.

研究分野：生物機能利用学

キーワード：バイオセンサ 魚類 モニタリング 通信 双方向

## 1. 研究開始当初の背景

魚類生理学や魚類行動学等の研究分野において、魚の生理状態を把握することは極めて重要である。特に疾病の要因となりうる魚のストレス応答は、大学等の研究機関や水族館などにおいて注目されており、ストレスの指標物質となる血中コルチゾルやグルコース濃度の迅速簡便な測定法の確立が望まれていた。こうしたことから申請者は、2014～2016年度科研費基盤研究(B)課題番号：26292114において、魚のストレス状態を測定するためのバイオセンサと光通信回路を設計・製作し、そのリアルタイムモニタリングが可能なバイオセンシングシステムの構築を試みてきた。

本システムは、ストレスの二次応答の指標となる血中グルコース濃度を測定するためのバイオセンサ部と、ストレス応答を電気信号に変換するための発光ダイオード(LED)型光通信/点滅システムより構成されている。バイオセンサにより測定されたストレス応答値は、光送信機にデジタル信号として転送され、これを水面付近にある光受信機で受信することにより、そのモニタリングを可能にした。また、魚が受けているストレス応答の大きさを、LEDの点滅により目視で判別できる可視化システムの開発基盤を築くことができた。さらに、ストレスの一次応答の指標となるコルチゾルについても、金電極上に抗-コルチゾル抗体を固定化して免疫バイオセンサを製作し、免疫反応における電極表面特性の変化をサイクリックボルタンメトリー(CV)にて捉えることにより、迅速・簡便な測定を可能にした。

一方、上記研究を遂行する過程において、魚の原因不明の大量死が発生した水族館や河川の調査研究に携わる研究者をはじめ、国内外の学界から、ストレス応答の測定ばかりでなく、魚の総合的な生理状態を多角的に可視化できないかという要望が多数寄せられていた。申請者は過去に魚類の健康診断法の確立を目的に、魚体内の生理指標となる物質を測定するためのバイオセンサシステムを開発してきた(引用文献～)。

しかし、これらセンサのほとんどが単一の指標物質を測定する目的で製作されてきたため、可視化を念頭においたシステムを構築するには、その構造が複雑になるばかりでなく、複数のセンサを魚に装着した場合、各種センサから発信している信号が、何のパラメーターの値を示すのかを判別することがしばしば困難であった。また、より正確な測定値を得るには、センサを一定時間毎に校正する必要性が生じてきた。したがって、魚体に装着されたセンサを必要に応じて操作するには、陸上にある端末機からそれらセンサの作動をコントロールできる新しいシステムの開発が急務であった。

## 2. 研究の目的

そこで本研究では、上記の研究背景をふまえ、双方向通信技術を用いることにより、陸上にある端末機より魚に装着されたバイオセンサをコントロールしながら魚の生理状態を目視で容易に判別でき、かつ定量的なリアルモニタリングに対応できる新しいバイオセンシングシステムの構築を目指した。特に、生理状態を把握するために要望が高い検査項目(ストレス応答の測定、産卵時期の予測、雌雄の判別、魚病の診断等)に焦点をあて、これらを迅速かつ簡便にモニタリングできるシステムの構築を試みた。

なお、各種バイオセンサの基本設計、製作、評価及び研究の総括は研究代表者の遠藤英明(生物機能利用学、電子化学)が担当した。また、電極上への自己組織化単分子膜(SAM)の形成、酵素および抗体固定化法の検討については東京海洋大学海洋工学部の大貫等(有機薄膜工学)、双方向通信システムの設計・製作は(公財)函館地域産業振興財団：北海道立工業技術センターの村田政隆(計測システム学)、魚の生理状態に対するシステムの応答値の検証については(国研)水産研究・教育機構の吉浦康寿(魚類生理学)、固定化磁性ビーズ抗体の調製は國學院大學栃木短期大学の日比香子(応用微生物工学)が連携研究者として担当した。

## 3. 研究の方法

本研究では、まず、魚類の生理状態を測定するために1)ストレス応答測定用バイオセンサ、2)産卵時期予測のためのバイオセンサ、3)未成熟魚の雌雄判別のためのバイオセンサ、4)魚病診断のためのバイオセンサを製作した。次に、双方向通信回路を設計・製作し、魚の生理状態に関するパラメーターの動態をモニタリングすることにより、バイオセンシングシステムとしての検証を行った。以下に研究の方法を示す。

### 1) ストレス応答測定用バイオセンサの製作

魚の生理学的なストレス応答は、コルチゾルやカテコールアミンなどのホルモン系の変化よりなる一次応答から始まり、これらストレスホルモンの代謝活性化によって生じる血中グルコースの濃度変化としての二次応答、生き続けられるかどうかが決まるまでの三次応答に分類される。本研究では、一次におけるコルチゾル、二次応答におけるグルコースの濃度変化をストレス応答の指標として測定するためのバイオセンサを製作した。

#### a) コルチゾル測定用バイオセンサ

SAMを利用して抗-コルチゾル抗体及びGOxを金電極表面に固定化することによりコルチゾ

ル測定用バイオセンサを作製した。このセンサをコルチゾル試料溶液に浸漬し、抗原抗体反応と酵素反応による電極表面上での電子移動の阻害を、アンペロメトリーで解析することによりコルチゾルの定量を試みた。次に、本センサの特異性を確認するために、その出力電流値に及ぼす他種ホルモン（テストステロン、エストラジオール等）の影響を検討した。さらに、魚（ティラピア）の血漿試料中のコルチゾル濃度の測定を行い、従来法（ELISA）で得られた測定値との相関を検討した。

#### b) グルコース測定用バイオセンサ

グルコースの測定には、バイオセンサの基盤電極として作用極に白金イリジウム線を、対極に銀塩化銀を用いた針型微小電極を作製した。電極検出部には、電極反応に及ぼす夾雑物質の影響を軽減するためにナフィオンを塗布し、その上に前述の生体適合性ポリマーとグルコースオキシダーゼ（Gox）を固定化することにより、グルコース測定用バイオセンサを製作した。

#### 2) 産卵時期予測のためのバイオセンサの製作

水産養殖場において効率的な人工種苗の生産を行うためには、迅速かつ簡便な産卵時期予測が必要である。魚類は、環境要因や生理学的要因により排卵時期が変動するが、排卵前に 17-20 $\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one（DHP）を急激に分泌するため、これを指標物質とすることにより産卵時期の予測が可能であるといわれていた。本研究では、抗原抗体反応と酵素反応とを組み合わせた生体に優しい DHP 測定用バイオセンサの製作を試みた。まず、SAM を利用して抗-DHP 抗体及び GOx をディスク型金電極表面に固定化することにより、DHP 測定用バイオセンサを作製した。次に、センサを DHP 標準溶液に浸漬し、形成した抗原抗体複合体による電極表面への電子移動の阻害度をアンペロメトリー法で電気化学的に解析することで DHP の定量を試みた。また、本センサの最適使用条件を確立するため、センサの出力応答に及ぼす温度、pH 等の影響を検討した後、催熟した魚の血漿試料中の DHP 濃度の測定を試みた。

#### 3) 未成熟魚の雌雄判別のためのバイオセンサの製作

魚の雌雄判別の指標物質としては、11-Keto Testosterone（11-KT）が知られているが、従来より用いられてきた ELISA 等の測定法は、操作が煩雑で分析に時間を要することが指摘されていた。そこで本研究では、迅速・簡便な 11-KT 測定法の確立を目的に、免疫反応と電気化学的測定法を組み合わせた新しい魚類雌雄判別用バイオセンサを考案した。まず、金電極表面に SAM を用いて抗-ウサギ IgG 抗体を固定化し、さらに抗-11-KT 抗体を結合させることにより、11-KT 測定用バイオセンサを製作した。次に、11-KT 標準溶液を用いて、サイクリックボルタンメトリーでセンサの応答を解析することにより 11-KT の定量を試みた。また、本センサの特異性を確認するため、魚類血漿中に含まれると想定されるテストステロン、アンドロステンジオン等の他種ホルモンを用いてセンサの出力電流値への影響を調べた。

#### 4) 魚病診断のためのバイオセンサの製作

河川における魚病の一つにエドワジェラ・イクタルリ感染症が知られている。この感染症は、アユにおいて斃死被害をしばしば引き起す疾病であるが、その発生を未然に防ぐには、環境水中から原因菌となる *Edwardsiella ictaluri* を迅速かつ高感度に検出する必要がある。本研究では、*E. ictaluri* 菌体を高濃度に濃縮し、これを PCR の測定試料とすることでその高感度検出が可能であると考えた。まず、試料水中の菌体を集めるために、特殊な磁性ビーズに抗-*E. ictaluri* 抗体を固定化した固定化磁性ビーズ抗体を調製した。このビーズを *E. ictaluri* が含まれる試料水中に懸濁させることにより、その菌体のみを磁力で簡単に収集できると考えた。本研究では、磁性ビーズ抗体が結合した試料を高勾配型免疫磁気分離（HGIMS）システムに移送することで菌体を効率的に濃縮し、これを試料として PCR 測定に用いた。

#### 5) 双方向通信回路の製作およびバイオセンシングシステムとしての検証

本研究では、魚の生理状態を把握する上で重要な項目となるストレス応用をモニタリングするために、双方向通信技術を用いて、LED 点灯色の基準値の校正をはじめ、測定対象魚の識別が容易に可能な新しいバイオセンシングシステムの構築を試みた（図 1）。本システムは、バイオセンサによって得られた出力電流値を基にグルコース濃度を算出し、さらに、陸上の PC で LED 点灯色の校正を行うことで、そのストレス応答の大小に応じて点灯色を変化させる（魚がストレスのない平常状態の時は「青」、ストレスがやや負荷されている時は「黄」、ストレスが非常に大きくなった時は「赤」に点滅する）原理に基づいてい

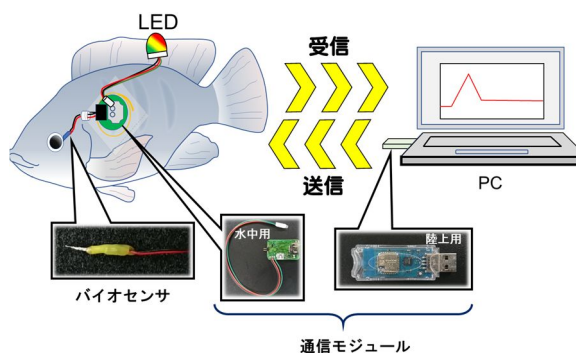


図 1 双方向通信型バイオセンシングシステム

る。まず、魚からセンサの留置部位に存在する魚類眼球外膜間質液（EISF）（引用文献））を採

取し、EISF 中のグルコースの最終濃度を段階的に変化させることにより、LED 点灯色の切り替えについての作動を検討した。次に、双方向通信基板を魚体に装着した後、バイオセンサを引用文献に従い魚類眼球付近の EISF 中に留置し、両者を接続した。そして陸上の送信機から LED の点灯色を校正し、魚体にストレスを負荷しながら、その応答に応じた LED 点灯色の变化を確認した。さらに、このシステムを複数の魚に装着し、同じ水槽内で対面させることにより、LED の点滅による測定対象魚の識別を試みると共に、ストレス応答の大きさに応じた LED 点灯色の变化を観察した。

#### 4. 研究成果

##### 1) ストレス応答測定用バイオセンサ

###### a) コルチゾル測定用バイオセンサ

本センサの電流減少率に及ぼす抗原抗体反応条件の影響を検討したところ、温度：30°C、pH：7.5、時間：25 分間の条件が最適であった。この条件下で、コルチゾル標準試料を用いて検量線を作成したところ、1 ~ 200 ng ml<sup>-1</sup> の濃度範囲においてセンサの電流減少値との間に直線関係が認められた。また、1 検体の分析所要時間は、抗原抗体反応時間を含めて約 30 分で可能であった。次に、魚類の血中に存在すると考えられる各種ステロイドホルモンを用いてセンサの特異性を検討したところ、本センサはコルチゾル以外のホルモンには応答しないことが確認でき、高い特異性を有していることがわかった。さらに、本システムを用いて魚に種々のストレスを負荷し、その血漿コルチゾル濃度の測定を行ったところ、ELISA による測定値との間に高い相関性が認められた。

###### b) グルコース測定用バイオセンサ

本センサを用いてグルコース標準溶液を測定したところ、グルコース添加後、速やかなセンサの応答が認められ、応答定常値の 90% (T<sub>90</sub>) に達するまでの時間はおよそ 30 秒であった。また、EISF 中のグルコース濃度を測定したところ、50 ~ 450mg dl<sup>-1</sup> の濃度範囲でセンサの応答値との間に相関性が認められた。さらにセンサに用いた電極は、静置した状態で約 144 時間の測定において安定した出力電流が得られた。

##### 2) 産卵時期予測のためのバイオセンサ

製作したセンサを DHP 標準溶液に浸漬したところ、濃度の変化に応じたセンサの応答が認められた。また、本センサの使用条件を検討したところ、pH: 6.5、温度: 30°C が最適であった。この条件下で DHP の測定を試みたところ、7.8 ~ 500 pg ml<sup>-1</sup> の濃度範囲でセンサの応答値との間に良好な直線関係が認められた。さらに、本センサを用いて催熟した魚の血漿試料中の DHP 濃度を測定し、ELISA の測定値との相関を検討したところ、図 2 に示すように排卵に先だった血中 DHP 濃度の急激な上昇を確認することができ、両者の間に良い相関関係が認められた。本研究では、センサの電極反応における生体への負担を軽減するために、Gox によるグルコースの酸化反応を利用した。この手法は、抗原抗体複合体の形成による Gox の酵素反応への阻害を検出し、DHP を定量する原理に基づいているため、環境に優しいバイオセンサの構築が期待できる。

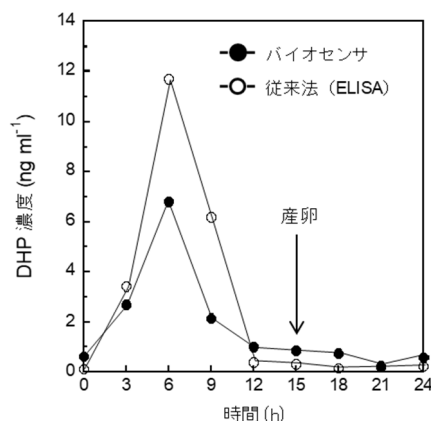


図 2 バイオセンサと ELISA による測定結果

##### 3) 未成熟魚の雌雄判別のためのバイオセンサ

製作したセンサの応答値は、11-KT 濃度の上昇に伴い増加した。この現象は、抗原となる 11-KT と電極表面の抗-11-KT 抗体が反応することによって形成された複合体により、電極表面の電子移動が阻害され、これがセンサの電流値の減少に起因したものと考えられる。次に、センサの最適使用条件を検討した結果、pH: 7.0、温度: 25°C において最も高い応答値が得られた。この条件下で、11-KT の検量線を作成したところ、図 3 に示すように 0.21 ~ 3.30 pmol ml<sup>-1</sup> の濃度範囲で直線関係が得られた。また、本センサの特異性を検討したところ、11-KT 以外の他種ホルモンにはほとんど応答しないことが確認され、その特異的検出が可能であることがわかった。しかしながら、今回製作したセンサは、測定可能な 11-KT の濃度範囲が狭

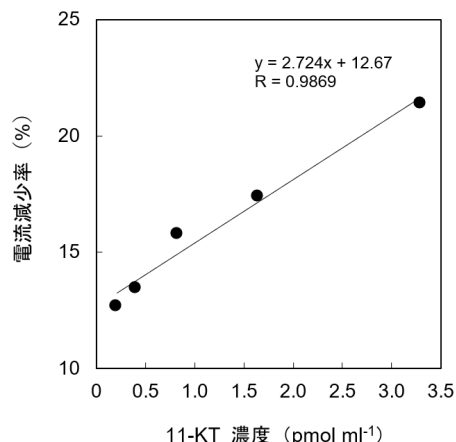


図 3 バイオセンサによる 11-KT の検量線



く、実際の雌雄判別を行うには問題が残された。今後は、標識抗体の特性やセンサの基盤材料を改良することにより、測定範囲の拡大を試みる必要がある。

#### 4) 魚病診断のためのバイオセンサ

*E. ictaluri* の菌体溶液を濃縮する場合の HGIMS システムの最適使用条件を、フローサイトメトリーを用いて検討したところ、免疫磁性ビーズと菌体試料の抗原抗体反応時間：15 分間、HGIMS システムの流速：10 ml min<sup>-1</sup> が最適であった。また、PCR を用いて *E. ictaluri* の検出を試みたところ、10<sup>2</sup> cfu ml までの菌体溶液で検出が可能であった。これにより、免疫磁気分離法と PCR による検出を組み合わせることにより、従来の PCR 法と比較して *E. ictaluri* の検出感度を 100 倍向上させることができた。

#### 5) 双方向通信回路の製作およびバイオセンシングシステムとしての検証

作製した双方向通信型バイオセンサシステムを魚体に取り付け、そのストレス応答をモニタリングするとともに、魚を遊泳させた状態で LED 点灯色のコントロールを試みた。まず、陸上の PC においてバイオセンサと LED 点灯色の基準値の校正を行った。そして、飼育水中の溶存アンモニア濃度を増加させることで魚体にストレスを負荷したところ、ストレス応答の大きさに応じて LED の点灯色が、青 黄 赤に切り替わることが確認できた。これにより、双方向通信により魚に余分なストレスを与えずに LED 点灯に係わる校正ができ、魚のストレス応答を視覚的に把握することが可能となった。

次に、本システムを複数の魚に装着し、それらを対面させることで威嚇行動によるストレス応答をモニタリングした。その結果、各個体のストレス応答を同時に測定することができ、対面させる個体の大きさの大小によってストレス応答に違いがあることがわかった。さらに、陸上の PC から LED の点滅をコントロールすることにより、水中に遊泳している魚の個体を識別することができ、かつセンサ出力の校正を行うことができた。そして、ストレス応答の大小に応じて LED の点灯色も切り替わることが確認できた。以上の結果から、双方向通信技術を用いた本システムは、陸上の PC で魚体に装着されたセンサ基板をコントロールすることにより、魚の識別、LED 点灯とセンサ出力の校正を行うことができ、複数個体のリアルタイムモニタリングが可能であることが明らかとなった。

以上本研究では、バイオセンサと双方向通信技術を用いることにより、魚類の生体内情報の可視化と定量的なモニタリングが可能で新しいバイオセンシングシステムを構築することができた。これにより、魚を自由に遊泳させた状態で、その生理状態と各種センサによる応答値との関わりを容易かつ詳細に解析することが可能となった。本システムによって得られる新知見は、魚類行動学、魚類生理学、水産化学等の分野の横断的発展のために大いに貢献できる可能性があり、その学術的意義は極めて高いと考えられる。また、水族館や河川で発生した魚の不明死や疾病などに対する原因究明の手がかりとなるような知見も得られる可能性があり、本研究の社会的意義も大きいと考えている。

#### < 引用文献 >

- Carbon nanotube-enhanced enzyme sensor for real-time monitoring of cholesterol levels in free-swimming fish. Taogesi, H. Wu, M. Murata, H. Ren, H. Endo. *Sens. Material.* 27, 805-815 (2015)
- Development of mediator-type biosensor to wirelessly monitor whole cholesterol concentration in fish. M. Takase, M. Murata, K. Hibi, R. Huifeng, H. Endo. *Fish Physiol. Biochem.* 40, 385-394 (2014)
- Development of a biocompatible glucose biosensor for wireless and real time blood glucose monitoring of fish. M. Takase, E. Takahashi, M. Murata, H. Ohnuki, K. Hibi, H. Ren, H. Endo. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 93 125-139 (2013)
- Wireless biosensor system for real-time L-lactic acid monitoring in fish. K. Hibi, K. Hatanaka, M. Takase, H. Ren, H. Endo. *Sensors* 12, 6269-6281 (2012)
- Electrochemical flow injection immunoassay for cortisol using magnetic microbeads. T. Muramatsu, H. Ohnuki, H. Ushio, K. Hibi, M. Igarashi, T. Hayashi, H. Ren, H. Endo. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 91, 161 - 173 (2011)
- Wireless enzyme sensor system for real-time monitoring of blood glucose levels in fish. H. Endo, Y. Yonemori, K. Hibi, H. Ren, T. Hayashi, W. Tsugawa, K. Sode. *Biosens. Bioelectron.* 24, 1417-1423 (2009)
- Biosensor system for continuous glucose monitoring in fish. Y. Yonemori, E. Takahashi, H. Ren, T. Hayashi, H. Endo. *Anal. Chim. Acta*, 633, 90-96 (2009)

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 12件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Wu Haiyun, Saito Yusuke, Yoshiura Yasutoshi, Ohnuki Hitoshi, Endo Hideaki	4. 巻 154
2. 論文標題 Development of an enzyme-functionalized immunosensor for measuring maturation-inducing hormone in fish	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochemical Engineering Journal	6. 最初と最後の頁 107460 ~ 107460
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bej.2019.107460	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 Wu Haiyun, Murata Masataka, Matsumoto Haruto, Ohnuki Hitoshi, Endo Hideaki	4. 巻 32
2. 論文標題 Integrated Biosensor System for Monitoring and Visualizing Fish Stress Response	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Sensors and Materials	6. 最初と最後の頁 4095 ~ 4095
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18494/SAM.2020.3121	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 Wu Haiyun, Shinoda Ryosuke, Murata Masataka, Matsumoto Haruto, Ohnuki Hitoshi, Endo Hideaki	4. 巻 11
2. 論文標題 Development of a novel LED color-switching type biosensor system for the visualization of fish stress responses	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Analytical Methods	6. 最初と最後の頁 5623 ~ 5628
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/c9ay01752f	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 Endo Hideaki, Wu Haiyun	4. 巻 85
2. 論文標題 Biosensors for the assessment of fish health: a review	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Fisheries Science	6. 最初と最後の頁 641 ~ 654
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12562-019-01318-y	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 Wu Haiyun, Shinoda Ryosuke, Murata Masataka, Matsumoto Haruto, Ohnuki Hitoshi, Endo Hideaki	4. 巻 130
2. 論文標題 Real-time fish stress visualization came true: A novel multi-stage color-switching wireless biosensor system	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biosensors and Bioelectronics	6. 最初と最後の頁 360 ~ 366
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bios.2018.09.042	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 遠藤 英明	4. 巻 84
2. 論文標題 魚類の健康診断のためのバイオセンサの創出に関する研究 (平成29年度日本水産学会水産学進歩賞受賞者総説)	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 NIPPON SUISAN GAKKAISHI	6. 最初と最後の頁 350-353
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2331/suisan.WA2524	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 Wu Haiyun, Ohnuki Hitoshi, Ota Shirei, Murata Masataka, Yoshiura Yasutoshi, Endo Hideaki	4. 巻 93
2. 論文標題 New approach for monitoring fish stress: A novel enzyme-functionalized label-free immunosensor system for detecting cortisol levels in fish	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Biosensors and Bioelectronics	6. 最初と最後の頁 57 ~ 64
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bios.2016.10.001	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 Wu Haiyun, Ohnuki Hitoshi, Murata Masataka, Endo Hideaki	4. 巻 13
2. 論文標題 Flow immunosensor system with an electrode replacement unit for continuous cortisol monitoring for fish	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Sensing and Bio-Sensing Research	6. 最初と最後の頁 122 ~ 127
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.sbsr.2017.01.002	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 Shinoda Ryosuke, Wu Haiyun, Murata Masataka, Ohnuki Hitoshi, Yoshiura Yasutoshi, Endo Hideaki	4. 巻 247
2. 論文標題 Development of an optical communication type biosensor for real-time monitoring of fish stress	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Sensors and Actuators B: Chemical	6. 最初と最後の頁 765 ~ 773
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.snb.2017.03.034	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 Wu Haiyun, Sugata Kobeni, Hirai Mutsuko, Yoshiura Yasutoshi, Hibi Kyoko, Endo Hideaki	4. 巻 16
2. 論文標題 Ultra highly sensitive method for detecting Edwardsiella ictaluri using high-gradient immunomagnetic separation with polymerase chain reaction	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Sensing and Bio-Sensing Research	6. 最初と最後の頁 68 ~ 73
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.sbsr.2017.11.003	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 -

〔学会発表〕 計29件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 15件)

1. 発表者名 H. Wu, L. Shen, H. Ohnuki, H. Endo
2. 発表標題 Development of Self-Powered Glucose Biosensors for Fish Stress Monitoring
3. 学会等名 PRiME 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 H. Wu, K. Yamada, M. Murata, H. Matsumoto, H. Ohnuki, H. Endo,
2. 発表標題 Visual Monitoring by A Wireless Biosensor System with Bi-Directional Communication Technology
3. 学会等名 WSCE 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年



1. 発表者名 沈 立航, 吳 海雲, 大貫 等, 遠藤英明
2. 発表標題 自家発電型グルコースバイオセンサの試作に関する基礎的研究
3. 学会等名 令和元年度日本水産学会秋季大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 沈 立航, 吳 海雲, 大貫 等, 遠藤 英明
2. 発表標題 魚のための自家発電型グルコースバイオセンサの改良に関する研究
3. 学会等名 令和2年度日本水産学会春季大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Y. Saito, H. Wu, H. Ohnuki, H. Endo
2. 発表標題 Development of an enzyme-functionalized immunosensor system for detecting oocyte maturation-inducing hormone in fish
3. 学会等名 Biosensors 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 H. Wu, R. Shinoda, M. Murata, H. Matsumoto, H. Ohnuki, H. Endo
2. 発表標題 LED color-switching type wireless biosensor system for the visualization of fish stress
3. 学会等名 Biosensors 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 N. Hirai, H. Wu, M. Murata, H. Matsumoto, H. Ohnuki, H. Endo
2. 発表標題 Biosensor system for simultaneous stress visualizing and monitoring for fish using optical communication technology
3. 学会等名 3rd Aquaculture Conference 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 K. Yamada, H. Wu, M. Murata, H. Matsumoto, H. Ohnuki, H. Endo
2. 発表標題 Novel remote bio-sensing system by using bi-directional communication technology for fish stress real-time monitoring
3. 学会等名 3rd Aquaculture Conference 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 H. Wu, K. Yoshida, H. Ohnuki, Y. Yoshiura, H. Endo
2. 発表標題 Fish stress monitoring system by continuous measuring cortisol using microfluidic bio-sensing technology
3. 学会等名 3rd Aquaculture Conference 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 呉 海雲, 山田和輝, 村田政隆, 松本陽斗, 大貫 等, 遠藤英明
2. 発表標題 魚類のストレス応答測定のための双方向通信型バイオセンサシステムの試作
3. 学会等名 平成31年度日本水産学会春季大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 斎藤祐介, 宇部ゆきの, 呉 海雲, 吉崎悟朗, 大貫 等, 遠藤英明
2. 発表標題 カーボンナノチューブを用いた魚類の雌雄判別のための11-Ketotestosterone測定用イムノセンサの試作
3. 学会等名 平成31年度日本水産学会春季大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 平井愛美, 呉 海雲, 村田政隆, 松本陽斗, 大貫 等, 遠藤英明
2. 発表標題 魚類の腹水に着目したバイオセンサによる魚のストレス応答モニタリング
3. 学会等名 平成31年度日本水産学会春季大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Y. Saito, H. Wu, H. Ohnuki, H. Endo
2. 発表標題 Development of a immunosensor system using enzyme reaction for detecting oocyte maturation-inducing hormone in fish
3. 学会等名 International Symposium “ Fisheries Science for Future Generations ”, Tokyo, Japan ( 国際学会 )
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Y. Fujii, K. Yamada, H. Wu, H. Ohnuki, M. Murata, K. Hibi, H. Endo
2. 発表標題 Development of novel glucose biosensor for fish using self-assembled monolayer
3. 学会等名 International Symposium “ Fisheries Science for Future Generations ”, Tokyo, Japan ( 国際学会 )
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 T. Sakurai, H. Wu, G. Yoshizaki, H. Ohnuki, H. Endo
2. 発表標題 Development of a novel immunosenser system for fish sex determination.
3. 学会等名 International Symposium “ Fisheries Science for Future Generations ” , Tokyo, Japan ( 国際学会 )
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 H. Endo, H. Wu, R. Shinoda, M. Murata, H. Ohnuki:
2. 発表標題 Development of LED-color-switching type biosensor for the visualization of fish stress response
3. 学会等名 BBMEC 12: Workshop on Biosensor & Bioanalytical Microtechniques in Environment, Food & Clinical Analysis, Rome, Italy ( 国際学会 )
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 H. Wu, Y. Fujii, H. Ohnuki, M. Murata, H. Endo
2. 発表標題 Development of novel biosensor system for fish stress monitoring using self-assembled monolayer
3. 学会等名 BBMEC 12: Workshop on Biosensor & Bioanalytical Microtechniques in Environment, Food & Clinical Analysis, Rome, Italy ( 国際学会 )
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 山田和輝・呉海雲・村田政隆・松本陽斗・大貫等・遠藤英明
2. 発表標題 魚類のための双方向電波通信型バイオセンサシステムの試作に関する研究
3. 学会等名 平成30年度日本水産学会春季大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 平井愛美・呉海雲・村田政隆・松本陽斗・大貫等・遠藤英明
2. 発表標題 魚類のストレス応答可視化のためのLED通信・点灯一体型バイオセンサシステムの試作に関する研究
3. 学会等名 平成30年度日本水産学会春季大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 呉海雲・吉田兼也・大貫等・遠藤英明
2. 発表標題 魚類のためのコルチゾル連続測定用フロー式バイオセンサシステムの試作
3. 学会等名 平成30年度日本水産学会春季大会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 遠藤英明，呉海云（分担執筆）	4. 発行年 2021年
2. 出版社 シーエムシー出版	5. 総ページ数 275
3. 書名 テレワーク社会を支えるリモートセンシング（三林浩二監修）	

1. 著者名 遠藤英明，呉海云（分担執筆）	4. 発行年 2020年
2. 出版社 シーエムシー出版書籍	5. 総ページ数 304
3. 書名 バイオセンサによる魚類のストレス応答の可視化～酵素トランスドューサーと酵素技術展開（三林浩二監修）	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

## 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
連携研究者	大貫 等  (Ohnuki Hitoshi)  (60223898)	東京海洋大学・学術研究院・教授    (12614)	
連携研究者	村田 政隆  (Murata Masataka)  (40505707)	公益財団法人函館地域産業振興財団(北海道立工業技術センター)・その他の部局・主任研究員    (80121)	
連携研究者	吉浦 康寿  (Yoshiura Yasutoshi)  (90372052)	国立研究開発法人水産研究・教育機構・瀬戸内海区水産研究所・主任研究員    (82708)	
連携研究者	日比 香子  (Hibi Kyoko)  (30789384)	國學院大學栃木短期大学・その他の部局・准教授    (42202)	

## 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