

令和 4 年 6 月 20 日現在

機関番号：82626

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K05536

研究課題名(和文) 分子認識スイッチ機能を有するオンサイト環境・バイオ評価用核酸マーカー分子プローブ

研究課題名(英文) Molecular recognition-triggered signal switching probes detecting nucleotide biomarkers for on-site environmental/biomedical evaluation

研究代表者

青木 寛 (Aoki, Hiroshi)

国立研究開発法人産業技術総合研究所・エネルギー・環境領域・研究グループ長

研究者番号：00392580

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：核酸バイオマーカーの環境やバイオでの「現場」でのオンサイト検出実現のため、(1)オンサイト検出に有利な、配列選択的な核酸認識により酸化還元電位変化を引き起こす分子認識スイッチ機能を有する非標識検出可能なセンサ原理、(2)電気化学活性団として人工酸化還元酵素を有する分子認識スイッチ機能を有するプローブを開発し、(3)実試料評価に向けての本技術の評価を行うとともに、さらに(4)酵素反応を用いた核酸バイオマーカーの高感度検出を達成した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で開発した人工核酸プローブ分子は、測定対象核酸を事前に標識化せずかつ外部から標識等を何ら添加することなく、配列選択的な核酸認識イベントを直接電気化学信号の発生に変換する機能を有することから、核酸検出のオンサイト利便性を大きく向上させると期待される。特に、-CDに基づく電位変化型のセンサ原理は、劣化に強いためオンサイト化に有利である。これら本研究で開発した人工核酸プローブ分子は、本法以外に報告はないため新規性および独創性は非常に高く、利便性を高め高感度センシングを可能とすることから進歩性も高く、学術的にも社会的にも意義深い研究成果である。

研究成果の概要(英文)：Aiming at on-site detection of nucleotide biomarkers in environmental and biomedical fields, (1) I developed the molecular recognition-triggered signal switching probe as a sensing system advantageous to on-site detection. The probe changes its redox potentials triggered by sequence-specific nucleotide detection to enable non-labeling target detection. (2) I developed the molecular recognition-triggered signal switching probe employing an artificial redox enzyme as an electroactive signaling moiety. (3) I studied the evaluation of the thus developed techniques for real samples. And, moreover, (4) I achieved to improve the highly sensitive detection of nucleotide biomarkers based on enzymatic reactions.

研究分野：分析化学

キーワード：核酸検出 DNA RNA バイオマーカー センサアレイ 環境評価 ヘルスケア

1. 研究開始当初の背景

環境中の化学物質は、人類の生産活動の結果として年々種類・量ともに増加の一途を辿っている。これら毎年新たに生産される化学物質を効果的かつ安全に使用するためには、その化学物質が生体に与える影響(安全性)を評価することが必要である。現在、化学物質の生体影響評価は、実験動物やモデル細胞などに化学物質を曝露した際の生体活動の変化を、DNA や RNA など核酸バイオマーカーの発現量変化を指標として用いる手法で行われている [Borlak Ed., “Handbook of Toxicogenomics” (2005)]。このような手法は、測定対象核酸への蛍光団標識に基づく高速シーケンサーや DNA マイクロアレイなどを使用したラボ内での手技に支えられているが、真の意味での環境化学物質の評価を行うためには、環境の「現場」での評価が望まれる。同様に核酸バイオマーカーに基づく環境 DNA や早期がん診断の分野でも「現場」評価のニーズがある。しかし、従来の検出法のほとんどは測定対象核酸に蛍光標識を行い、配列特異的な核酸認識を蛍光の有無で判定する手法のため、単に蛍光標識化工程が煩雑であるのみならず、未反応・未認識の核酸を分離・洗浄する必要があるなど、環境現場での利活用には課題があった。このように蛍光団標識の煩雑性や測定機器の低可搬性の点で、現場測定可能な核酸検出法はこれまでほとんど実現していない。

2. 研究の目的

これまで申請者らは、「現場」での核酸検出実現のため、核酸認識情報を直接電気信号に変換可能な点で現場測定用の検出法開発に適した電気化学的手法に基づき、測定対象核酸への標識を行う必要のない(非標識)核酸検出原理の開発を行ってきた [Aoki, *Chem. Asian J.* (2015)]。一方、複数の核酸バイオマーカーを同時に検出することで評価の精度を高める必要があると考え、核酸センサをアレイ化し、環境中のエストロゲン曝露に対する RNA および肺がんマーカーとしての RNA に対するバイオマーカー配列の識別に成功した [青木, *化学工業* (2017)]。しかし、電気化学信号を発生する試薬を別途添加する必要がある点で、環境の「現場」での利用には適さず、より利便性を検討する必要がある。

そこで本研究では、プローブ分子に電気化学信号発生部位を取り付け、さらに配列選択的な核酸認識で電気化学信号を引き起こす、いわばスイッチ機能を取り入れることで、非標識検出可能かつセンサ単独での検出可能という利便性を有する新たな機能性核酸プローブ分子を着想した。そして、このプローブ分子に基づく高機能核酸センサをアレイ化(並列化)することで、評価に必要な複数の核酸マーカーを現場測定可能な検出法を実現できると考えた。

本研究で開発する核酸プローブ分子は、測定対象核酸を事前に標識化せずかつ外部から標識等を何ら添加することなく、配列選択的な核酸認識イベントを直接電気化学信号の発生に変換する機能を有することから、核酸検出の利便性を大きく向上させると期待される。また、本研究では、配列選択的な核酸認識により電気化学活性が回復する ON/OFF スwitch機能に基づく電気化学的分子プローブの特許 [青木ら, 日本特許 5,334,136 号, 米国特許 8,454,820 号] を活用した。このような電気化学的スイッチ機能を有するプローブ分子は、申請者の知る限り本法以外に発表されておらず、新規性および独創性は非常に高く、利便性を高め高感度センシングを可能とすることから進歩性も高いと考えた。

3. 研究の方法

本研究では、ターゲットとのハイブリッド形成に伴い信号が増加する検出系 (“signal-on”型)を採用し、ターゲット標識化不要およびセンサ単独で検出可能(自己報告型)という簡便性を満たす、機能性核酸プローブを用いた高感度な核酸検出法の確立を目指す。そのため、電気化学的手法をベースとし、ハイブリッド形成により誘導された分子構造の変化により、自らの電気化学活性のスイッチを ON/OFF し電気化学信号(電流や電位)を発生させるプローブ分子を開発する。具体的には、ターゲット核酸認識部位を挟んで一端に電気化学活性団を有し、他の端にこの活性を抑制する活性抑制団を有する機能性プローブやセンサ検出原理を開発する。ハイブリッド形成前は、プローブ末端の活性抑制団およびプローブ構造の柔軟性により、電気化学活性団の活性は抑制されるが、ハイブリッド形成後は、二重らせんの形成に伴い活性抑制団が解離して、電気化学活性団の活性が回復する。すなわち、ハイブリッド形成により誘導された分子構造の変化により自らの電気化学活性スイッチを ON/OFF する機構である。新規プローブの分子設計および電極表面の構造の設計を行い、“signal-on”型高性能遺伝子センサの実現を目指す。

本研究では、1) 電気化学活性団としてフェロセン (Fc)、活性抑制団として β -シクロデキストリン (β -CD) を有するプローブにより分子認識スイッチ機能の実現を図り [Aoki, *Sens. Mater.* (2021)]、2) 電気化学活性団として人工酸化還元酵素を開発し、スイッチ機能 ON/OFF 時の信号変化の高性能化を図った [Aoki, *Sens. Mater.* (2020)]。最終的には、3) 開発されたセンサによる実試料測定を通じて本技術を評価した。さらに核酸バイオマーカーのさらなる高性能分析のプラットフォーム構築への挑戦として、4) 酵素反応を用いた miRNA バイオマーカーの微量検出 [Aoki ら 1, *Biosens. Bioelectron.* (2019)]、複数の異なる DNA 試料を 1 枚のチップ上で診断可能な DNA センサアレイチップ [Aoki ら 2, *Biosens. Bioelectron.* (2019)] にも取り組んだ。

4. 研究成果

本研究では、ターゲットとのハイブリッド形成に伴い信号が変化する検出原理を取り入れ、ターゲット標識化不要およびセンサ単独で検出可能という簡便性を満たす機能性核酸プローブの開発と、それを用いた高感度な核酸検出法の確立を目指した。

1) Fc に基づく分子認識スイッチ機能を有するプローブ設計

DNA とのハイブリッド形成応答的な分子認識スイッチ機能を有する新規プローブ DNA について検討した。本実験では、環境診断用の核酸バイオマーカー配列として、内分泌攪乱物質（いわゆる環境ホルモン物質）刺激応答性遺伝子配列を使用した。対象とするフェロセンの活性抑制基として β -シクロデキストリン (β -CD) を有するプローブ DNA を合成するため、末端に Dibenzocyclooctyl (DBCO) 基もしくは bicyclo[6.1.0]nonyne (BCN) 基を有する DNA をカスタム合成し、ジアゾ基を有する β -CD をクリック反応により結合させて標識化した。これを質量分析したところ望みの分子が合成できていることを確認した。

開発した β -CD を有するプローブ DNA (β -CD-DNA) に基づき、本プローブのターゲット DNA とのハイブリッド形成応答的な分子認識スイッチ機能を確認するとともに、本プローブを用いた核酸検出センシングとその動作原理の確立とを行った。 β -CD-DNA をフェロセン (Fc) とともに金電極表面上に固定してセンサを作製した。センサ表面のサイクリックボルタモグラム (CV) および矩形波ボルタモグラム (SWV) の電気化学測定を行ったところ、どちらのボルタモグラムにも、Fc の酸化還元反応に由来する 2 つの酸化還元ピーク電位 (E_{high} 、 E_{low}) が確認された。過去の検討では、 β -CD に包接された Fc は、遊離 Fc よりも高い酸化還元電位（酸化還元反応を起こしにくい）を有することを見出している。このことから、 E_{high} は β -CD-DNA の末端 β -CD と包接錯体を形成している Fc 由来の酸化還元ピーク電位であり、 E_{low} は錯体未形成の Fc 由来の酸化還元ピーク電位であると考察した。このセンサをターゲット DNA 溶液中に浸漬すると、 E_{low} 電流値 ($i_{E_{low}}$) が E_{high} 電流値 ($i_{E_{high}}$) に対して相対的に増加した（電流値比 $i_{E_{low}}/i_{E_{high}} = 0.815$ ）（図 1）これは、センサ作製直後はプローブ構造が柔軟でありプローブ末端の β -CD は電極表面の Fc と包接錯体を形成しているが、ハイブリッド形成の結果プローブ構造が剛直化し、この包接錯体が解離したためと考えた。

次に、尿素溶液に浸漬して一本鎖に戻すと、今度は E_{low} 電流値が減少し E_{high} 電流値が増加した（電流値比 = 0.457）。これは、一本鎖になり柔軟な構造となったプローブ末端 β -CD が、再び Fc と錯形成したためと考えた。更に、ミスマッチ DNA 溶液中に浸漬すると、 E_{low} と E_{high} の電流値比はやはり低く 0.398 だった。ここで、 E_{low} における電流値に着目すると、本センサ原理は、ターゲット DNA とのハイブリッド形成に応じて $i_{E_{low}}$ が電流増加する、いわゆる“signal-on”型の原理である。以上のことから、本センサは Fc に由来する 2 つの酸化還元ピーク電流値比に基づき、配列選択的に DNA を検出できることを見出した（図 1）。酸化還元ピーク電流値比をハイブリッド形成の指標として使用することで、センサ表面の Fc が劣化したとしても正常なセンサ応答が得られる利点があるため、オンサイトでの環境・バイオ応用に大きく貢献すると考えられる。また、本センサの特徴である、1 つの電気化学活性種の 2 つの状態比に基づく核酸センシングに関する報告はこれまでになく、新規性が非常に高いと考えられる。

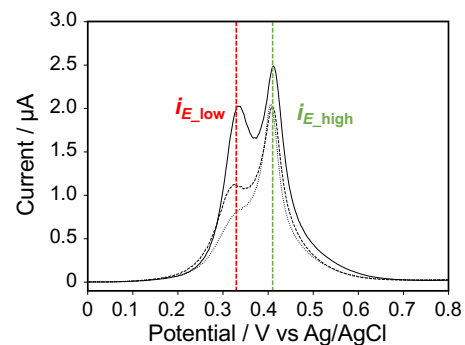


図 1 SWV の結果。ターゲット DNA 溶液(実線)、ミスマッチ DNA 溶液(点線)、尿素溶液(破線)。ハイブリッド形成により電流値比 $i_{E_{low}}/i_{E_{high}}$ の増加により、ターゲット DNA の検出に成功した。

2) 人工酵素に基づく分子認識スイッチ機能を有するプローブ開発

新たな分子認識スイッチ機能分子の開発のため、グアニン四重鎖をベースとした人工酵素 (DNAzyme) を開発し、ヒスタミン存在/非存在下で電気化学的および分光学的信号を ON/OFF するスイッチ機能を有することを見出した。グアニン四重鎖はカリウムイオン存在下で安定的に存在する。鉄ポルフィリンの一種であるヘミンは、このグアニン四重鎖との間で分子間相互作用を通じて安定した錯体を形成する。すなわち、グアニン四重鎖はヘミンに対するアプタマーとして働き、酸化還元能を有するアプタザイムを形成する。4 つの GGG 配列を有するオリゴ DNA (AptDNA) を含むリン酸緩衝液を高温から徐冷してグアニン四重鎖を形成した。これにヘミンを加えてヘミン/AptDNA 錯体を得た（図 2）。調製したヘミン/AptDNA 錯体は、イミダゾール基を有する小分子ヒスタミンの存在下・非存在下における H_2O_2 を基質とした人工酸化還元酵素として

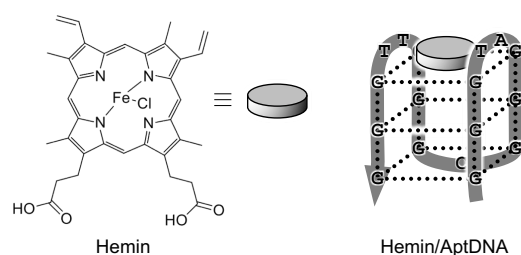


図 2 ヘミンの分子構造とヘミンを取り込んだ人工酵素 DNAzyme (Hemin/AptDNA)

の性質について、分光学的および電気化学的に評価した。

ヘミンが AptDNA に取り込まれて、酸化還元酵素として働くことを確認するため、分光学的観測を実施した。AptDNA のみでは 260 nm 付近に大きな吸光ピーク、ヘミンのみでは 400 nm 付近にややゆるやかで小さいピークが観測された。しかし、ヘミン/AptDNA のスペクトルを測定したところ、404 nm にヘミンポルフィリン環 Soret 帯の顕著なピークが観測された。このことから、ヘミンのポルフィリン環が AptDNA のグアニン四重鎖構造と強く相互作用し安定した錯体を形成していると考えた。

次に、ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline)-6-sulfonic acid) を用いて、ヘミン/AptDNA の H₂O₂ に対する酸化還元能を比色分析した。ヘミン/AptDNA を含む溶液に ABTS のみまたは ABTS と H₂O₂ の両方を添加したところ、後者の場合のみ、溶液の色が無色から青緑色に変化し、418 nm の吸光度が大幅に上昇することが確認された。これは、ヘミン/AptDNA をメディエータとする以下の酸化還元反応が生じたためと考えた。



一方で、ヒスタミン存在下では色の変化はかなり小さく、上記(1)の反応は極めて起こりにくくなった。これらの結果から、ヘミン/AptDNA は、ヒスタミンの存在・非存在により活性を ON/OFF スwitching する酸化還元酵素として機能することが分かった。

同様の現象は、電気化学的な評価でも観測された。H₂O₂ を含む測定溶液中でのサイクリックボルタンメトリでは、ヘミン/AptDNA の場合のみ、H₂O₂ の酸化還元反応に由来する非常に大きなピーク電流値が観測された (図 3)。一方、測定溶液中にヒスタミンを加えたところ、この電流値は大幅に減少した。特に、5 mM H₂O₂ を含む測定溶液中では、電流値 (at -23 mV vs Ag/AgCl) はヘミン/AptDNA を加えることで 28 倍に増加し、さらにヒスタミンを加えることで 1/16 に減少した。すなわち、生体内で重要な働きをしている生体因子であるヒスタミンの存在・非存在により、本プローブの電気化学シグナルが ON/OFF スwitching することを確認した。

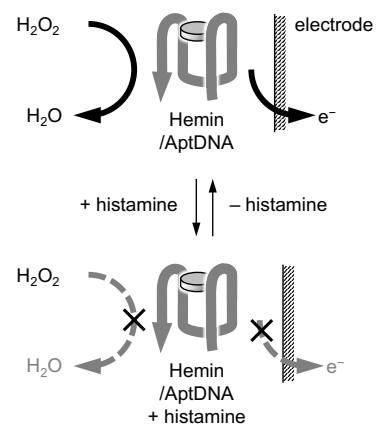


図 3 ヘミン/AptDNA による H₂O₂ 酸化還元反応メディエータ機能。ヒスタミンの存在・非存在が活性を ON/OFF する。

3) 実試料を通じた本技術の評価

実試料に基づく核酸検出を検討するとともに、アレイ電極に基づく核酸センサアレイの開発を進めた。特に、複数の微生物から特定の微生物を検出することを目的に、環境中に常在する微生物のゲノムを迅速簡便に検出する手法の開発に取り組んだ。

環境診断においてその指標となる核酸バイオマーカーは配列が既に決定されているため、現在盛んに使用されている核酸検出法である次世代シーケンサーは性能過多であり、核酸センサアレイのような決まった配列の核酸を測定する手法こそ適しており、むしろその方が迅速簡便な環境診断を可能とする。核酸センサアレイの大量生産は、環境・バイオ評価のオンサイト化にとって、非常に重要である。そこで、金/クロムスパッタ薄膜形成したガラス基板を用いて、光リソグラフィにより 384 チャンネルの電極アレイチップを作製し、各電極に人工核酸プローブを固定化することで、核酸センサアレイを開発した (図 4)。アレイ電極のセンサアレイ化に関して、大量生産し長期保存したアレイ電極チップの再活性化処理法を新たに見出し、このセンサが RNA バイオマーカー配列を選択的に検出することを見出した。

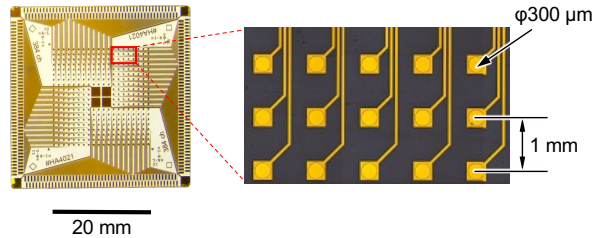


図 4 本実験で作製した電極アレイチップ。384 個の電極を有する。電極サイズは直径 300 μm で各電極間距離は 1 mm。

次に、微生物ゲノムの中の検出対象領域を決定し、対象遺伝子とのハイブリッド形成に伴い電気化学信号を発生する機能性人工核酸プローブの構造設計および合成を行った。微生物ゲノムは、製品評価技術基盤機構 (NITE) から購入した、土壌微生物やヒト常在菌など 15 種類の微生物株が混合したものである。本実験では、ヒト常在菌 *Clostridium clostridioforme* を対象として、人工核酸プローブ配列およびカスタム DNA 配列を決定した。使用した人工核酸プローブは、ペプチド核酸 (peptide nucleic acid, PNA) を分子認識部位として有し、末端にフェロセン (Fc) を他端にシス

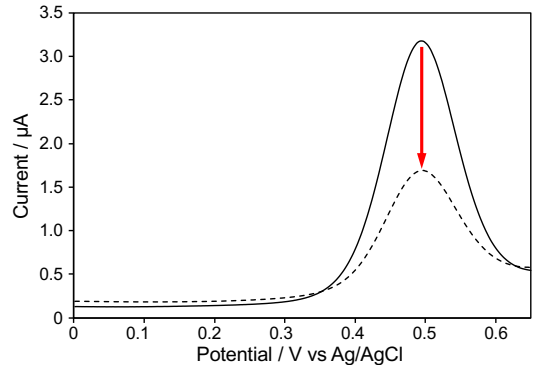


図 5 カスタム DNA における典型的なセンサ応答。センサ作製直後(実線)およびターゲット DNA (破線)の矩形波ボルタンメトリ(SWVs)。配列相補的な核酸認識により、末端フェロセンの電子移動反応が阻害され、観測する電流値が大きく減少した。

テイン (Cys) を有する。カスタム合成したモデル DNA を用いた単電極での実験では、ターゲット配列を有するカスタム DNA 存在下ではセンサ作製直後と比較して、観測される電流値が大きく減少 ($3.18 \mu\text{A} \rightarrow 1.69 \mu\text{A}$) することを見出した。すなわち、カスタム DNA を配列相補的に検出可能であることを見出した (図 5)。これをさらにセンサアレイ化へと展開したところ、同様に DNA 配列相補的な検出を確認することができた。

一方、微生物ゲノムを用いた実験では、応答が比較的微弱であることが確認された。これは、用いた微生物ゲノムの全長 (数百から数千塩基) が核酸プローブの配列長と比較して非常に長いいため、電極表面への接近が困難となったためであると考えた。PCR 産物を用いた他の検討では、70 塩基程度のターゲット DNA の場合、プローブによる配列認識部位が塩基鎖長の中央付近に位置していたとしても問題なく認識できたことから、制限酵素によるトリミングやプローブ-電極間リンカー長の延伸が必要と結論づけた。以上のことから、機能性人工核酸プローブの開発とそれを用いた DNA 検出手法の開発および核酸センサアレイへの展開と検出の際の必要条件について明らかにした。環境微生物を対象とすることで、環境状態の診断に向けた新たな研究領域の開拓にも取り組んだ。

4) 酵素反応を用いた核酸バイオマーカーの高感度検出

高感度検出のプラットフォームとして、酵素反応による新たな検出信号増幅法を考案し、表面プラズモン共鳴 (SPR) イメージング法に基づき、miRNA バイオマーカーの配列選択的なアトモレベルの微量検出に成功した。また、複数の異なる DNA 試料を 1 枚のチップ上で診断可能な DNA センサアレイチップを開発した。このうち紙面の関係から、前者の成果について述べる。

本研究で使用したセンサチップは、ガラス基板上にステンシルを介在させて金/クロムスパッタ薄膜形成を行い、16 チャンネル電極アレイパターンを構築して作製した。電極アレイ上に、肺がんの RNA バイオマーカー配列を有する miRNA である miR17 および miR21 に対するプローブ DNA (DNA_miR17、DNA_miR21)、A₃₀、および PEG を固定化して、センサチップを作製した。

作製したセンサチップを用いて、SPR イメージング測定を行った。5 μM RNA_miR21 と反応させたところ、この miRNA と配列相補的な配列を有する DNA_miR21 修飾センサのみ、SPR 応答を示した。これは、プローブ/miRNA 間の配列選択的なハイブリッド形成が起こったと考えられる。ハイブリッド形成した miRNA 末端にポリアデニン伸長反応を施したところ、この SPR 応答がはっきりと確認された。SPR 応答の相補/非相補による応答差は、RNA のハイブリッド形成直後とポリアデニン伸長反応後とを比較すると、約 5 倍に増幅した。

次に、酵素反応による RNA 認識選択的な SPR 応答の信号増幅を図るため、さらに T₃₀-ビオチン/西洋わさびペルオキシダーゼ (HRP) -ビオチン/ストレプトアビジンの三元錯体を反応させた。4 つのセンサを横断する SPR 応答のラインプロファイルにて比較すると、DNA_miR21 修飾センサで応答は最も大きく、ポジティブコントロールである A₃₀ 修飾センサよりも大きな応答だった。これは、DNA_miR21 修飾センサではハイブリッド形成の結果伸長したポリアデニン鎖に三元錯体が反応したことを示している。一方、非相補 DNA_miR17 修飾センサおよびネガティブコントロール PEG 修飾センサでは、ともに低い SPR 応答が観測された。SPR 応答の相補/非相補による応答差はグレースケール値にて約 20 だった。

さらに、HRP を介した酸化反応により青色沈殿を生じる色素 (tetramethylbenzidine, TMB) を用いた信号増幅を検討したところ、DNA_miR21 修飾センサの SPR 応答が著しく増加した。これと比較して、DNA_miR17 修飾センサや PEG 修飾センサでは SPR 応答の変化はわずかだった。これは、TMB が三元錯体の HRP 上で酸化された結果、配列選択的に青色沈殿 Ox-TMB が生じたことを示している。SPR 応答の相補/非相補による応答差はグレースケール値にて約 90 と、TMB の使用前と比較してさらに約 4.5 倍の信号増加となっていた。このことから、多段階酵素反応による miRNA 認識選択的な SPR 応答の信号増幅が行われたと結論付けた。

さらに、本センサチップ上の個別のセンサに 0.5 pM から 50 nM の様々な濃度の miRNA 試料を点着して反応させて濃度依存性を確認したところ、本検出系ではアトモレベルの RNA 検出が可能であることが分かった。金属ナノ粒子などを使用した方法と比較して、ELISA 法などで比較的広く使用される有機分子である TMB を使用した本法は、簡便で安価な信号増幅方法であると期待される。

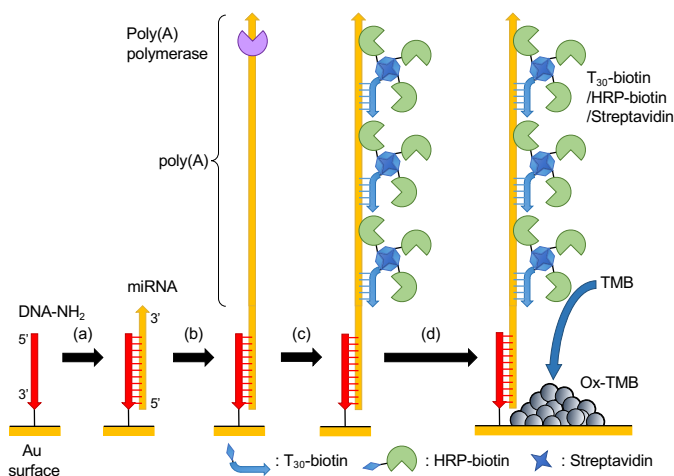


図 6 本研究で開発した酵素反応による miRNA バイオマーカーの高感度分析法。金表面に DNA-NH₂ を固定化して作製したセンサチップに、miRNA をハイブリッド形成させ (a)、酵素反応により RNA 伸長し (b)、T₃₀/HRP/アビジン三元錯体を作用させ (c)、HRP による TMB の選択的酸化を引き起こすことで、アトモルの検出を可能とする。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 10件）

1. 著者名 Aoki Hiroshi、Torimura Masaki、Habe Hiroshi	4. 巻 37
2. 論文標題 Spectroscopic Investigation of Increased Fluorescent Intensity of Fluorescent Dyes When Adsorbed onto Polystyrene Microparticles	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Analytical Sciences	6. 最初と最後の頁 773 ~ 779
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/analsci.20SCP22	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 Aoki Hiroshi、Torimura Masaki、Nakazato Tetsuya	4. 巻 136
2. 論文標題 384-Channel electrochemical sensor array chips based on hybridization-triggered switching for simultaneous oligonucleotide detection	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biosensors and Bioelectronics	6. 最初と最後の頁 76 ~ 83
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bios.2019.04.047	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 Aoki Hiroshi、Corn Robert M.、Matthews Brandon	4. 巻 142
2. 論文標題 MicroRNA detection on microsensor arrays by SPR imaging measurements with enzymatic signal enhancement	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biosensors and Bioelectronics	6. 最初と最後の頁 111565 ~ 111565
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bios.2019.111565	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 Aoki Hiroshi、Tani Hidenori、Nakamura Kaoru、Sato Hiroaki、Torimura Masaki、Nakazato Tetsuya	4. 巻 392
2. 論文標題 MicroRNA biomarkers for chemical hazard screening identified by RNA deep sequencing analysis in mouse embryonic stem cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Toxicology and Applied Pharmacology	6. 最初と最後の頁 114929 ~ 114929
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.taap.2020.114929	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 Aoki Hiroshi、Sukegawa Takeshi、Torimura Masaki、Nakazato Tetsuya	4. 巻 32
2. 論文標題 Nonlabeling and Nonexternal Indicator DNA Sensing Based on Ferrocene-terminated Probes Immobilized on Gold Film Electrode Arrays with Plasma and Acid Treatments	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Sensors and Materials	6. 最初と最後の頁 1079 ~ 1079
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18494/SAM.2020.2640	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 Aoki Hiroshi、Nakazato Tetsuya	4. 巻 32
2. 論文標題 Switching On/off of Electroactivity of Hemin/guanine-quadruplex Complex as DNA Aptazyme Triggered by Response to Histamine	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Sensors and Materials	6. 最初と最後の頁 1111 ~ 1111
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18494/SAM.2020.2705	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 Kanekiyo Yasumasa、Mitani You、Suda Miho、Aoki Hiroshi、Minai Hironobu	4. 巻 32
2. 論文標題 Development of Formaldehyde Gas Sensor that Exhibits Distinct Color Changes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Sensors and Materials	6. 最初と最後の頁 1101 ~ 1101
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18494/SAM.2020.2738	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 Aoki Hiroshi	4. 巻 37
2. 論文標題 Sensors with Highly Ordered Nucleotides	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Analytical Sciences	6. 最初と最後の頁 1191-1192
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 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 Aoki Hiroshi	4. 巻 33
2. 論文標題 Label-free Ratiometric Electrochemical DNA Sensing Based on β -Cyclodextrin-modified Probe Immobilized on Ferrocene Monolayers	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Sensors and Materials	6. 最初と最後の頁 2857 ~ 2857
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18494/SAM.2021.3450	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 Aoki Hiroshi	4. 巻 22
2. 論文標題 Material-Specific Determination Based on Microscopic Observation of Single Microplastic Particles Stained with Fluorescent Dyes	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Sensors	6. 最初と最後の頁 3390 ~ 3390
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/s22093390	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 16件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 青木 寛
2. 発表標題 環境やバイオ診断指標となる核酸バイオマーカーの非標識並列分析センサアレイ
3. 学会等名 東京薬科大学大学院薬学研究科特別講演 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Hiroshi Aoki, Robert M. Corn, Brandon Matthews
2. 発表標題 MicroRNA Detection on Microsensor Arrays by SPR Imaging Measurements with Enzymatic Signal Enhancement
3. 学会等名 71st annual meeting of the international society of electrochemistry (ISE71) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 青木 寛、中里 哲也
2. 発表標題 グアニン四重鎖DNAアプタザイムに基づく電気化学活性スイッチング分子
3. 学会等名 日本分析化学会第69年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 青木 寛、助川 剛、鳥村 政基、中里 哲也
2. 発表標題 核酸センサアレイ量産化に向けた長期保存金薄膜基板の再活性化検討
3. 学会等名 日本分析化学会第69年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 青木 寛
2. 発表標題 オンサイト環境・バイオ診断を目指した非標識核酸センシング
3. 学会等名 アグリビジネス創出フェア2020
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 青木 寛
2. 発表標題 環境診断・ヘルスケア管理のための電気化学核酸検出デバイス開発
3. 学会等名 埼玉工業大学 生命環境化学ゼミ（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 青木 寛
2. 発表標題 環境・臨床指標核酸バイオマーカー検出センサアレイ
3. 学会等名 産総研・インターナルコミュニケーション研究発表会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 青木 寛
2. 発表標題 核酸化学の基礎と応用 歴史的発見から最先端研究まで
3. 学会等名 埼玉工業大学 有機材料（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 青木 寛
2. 発表標題 環境・バイオ診断指標核酸バイオマーカーの非標識並列分析センサアレイ開発
3. 学会等名 慶應義塾大 理工学部特別講演（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 青木 寛
2. 発表標題 環境診断・ヘルスケア管理のための電気化学核酸検出デバイス開発
3. 学会等名 埼玉工業大学 生命環境化学ゼミ（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 青木 寛
2. 発表標題 核酸バイオマーカーの非標識並列分析センサアレイ開発
3. 学会等名 埼玉工業大学 先端科学研究所特別セミナー（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 青木 寛
2. 発表標題 核酸検出センサアレイに基づく環境・バイオ指標核酸の非標識並列分析
3. 学会等名 日本分析化学会関東支部若手交流会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 青木 寛
2. 発表標題 水環境診断用センサアレイチップ 細胞応答性核酸の迅速センシング
3. 学会等名 第1回環境研究機関連絡会研究交流セミナー（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 青木 寛
2. 発表標題 標的核酸の迅速検出に基づく水環境診断用センサアレイチップ
3. 学会等名 InterAqua 2020（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 青木 寛、Robert M. Corn、Brandon Matthews
2. 発表標題 酵素反応支援-表面プラズモン共鳴イメージング法による微量マイクロRNA検出
3. 学会等名 日本分析化学会第68年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 青木 寛、鳥村 政基、中里 哲也
2. 発表標題 ハイブリッド形成誘引-電気化学信号変調センサアレイに基づく核酸試料並列分析
3. 学会等名 日本分析化学会第68年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 青木 寛、鳥村 政基、中里 哲也
2. 発表標題 核酸試料並列分析のためのハイブリッド形成誘引-電気化学信号変調センサアレイ
3. 学会等名 電気化学会第87回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 青木 寛、鳥村 政基、中里 哲也
2. 発表標題 核酸試料並列分析のためのハイブリッド形成誘引-電気化学信号変調センサアレイ
3. 学会等名 第67回化学センサ研究発表会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 青木 寛
2. 発表標題 ヘルスケア管理・環境保全に向けた核酸センサアレイの開発
3. 学会等名 第14回Photo LIFEワークショップ(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 青木 寛
2. 発表標題 核酸バイオマーカー検出センサの開発とヘルスケア管理・環境保全への展開
3. 学会等名 電子情報通信学会2021年ソサイエティ大会シンポジウム(招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 青木 寛、鳥村政基、羽部 浩
2. 発表標題 蛍光色素の蛍光強度変化に基づくin situマイクロプラスチック分析
3. 学会等名 日本分析化学会第70年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 青木 寛
2. 発表標題 シクロデキストリン固定化DNA/フェロセン誘導体-混合単分子膜に基づく非標識DNAセンシング
3. 学会等名 日本分析化学会第70年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hiroshi Aoki
2. 発表標題 Sensor Arrays for Label-Free Detection of Nucleotide Biomarkers towards Healthcare and Environment Management
3. 学会等名 ICFPE 2021 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 青木 寛
2. 発表標題 核酸バイオマーカー検出センサの開発と環境保全・ヘルスケア管理への展開
3. 学会等名 北見工業大学生体分子工学特別講演 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hiroshi Aoki
2. 発表標題 Non-labeling and non-external indicator DNA sensing based on long-term stored gold film electrode arrays reactivated by plasma and acid treatments
3. 学会等名 Pacifichem 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Hiroshi Aoki
2. 発表標題 molecular recognition triggered electrochemical "nano-structured switches"
3. 学会等名 Pacifichem 2021 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 青木 寛
2. 発表標題 非標識検出技術に基づく核酸センサレイチップによる環境診断・バイオ診断
3. 学会等名 第32回センシング技術連絡会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松下真由美、山本京祐、青柳 智、稲葉知大、青木 寛、羽部 浩、佐藤由也
2. 発表標題 C1化合物利用能・ヨウ素抗菌性・捕食をめぐる微生物種間相互作用とそのコミュニティ形成への影響を水処理微生物集団からみる
3. 学会等名 日本農芸化学会2022年度大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松下真由美、山本京祐、青柳 智、稲葉知大、堀 知行、青木 寛、羽部 浩、佐藤由也
2. 発表標題 ヨウ化物イオンを含む廃水を処理する活性汚泥の菌叢解析と種間相互作用解析
3. 学会等名 日本農芸化学会2022年度大会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>【ホームページ】 国立研究開発法人産業技術総合研究所 環境創生研究部門 青木 寛ホームページ https://staff.aist.go.jp/aoki-h/</p> <p>【プレスリリース】 日本分析化学会第70年会 プレスリリース誌『展望とトピックス』「蛍光色素の蛍光強度変化に基づく in situ マイクロプラスチック分析」 https://www.jsac.jp/2021/09/08/70nenkai_topics-2/</p>
--

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
--	---------------------------	-----------------------	----

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			
米国	カリフォルニア大学アーバイン校			