

令和 5 年 6 月 26 日現在

機関番号：24506

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H02771

研究課題名(和文)細胞群から極少数の標的B細胞のハイブリドーマを作製し選択的に回収する手法の開発

研究課題名(英文)Effective fabrication and selective retrieval of hybridomas from among cell populations

研究代表者

安川 智之 (Yasukawa, Tomoyuki)

兵庫県立大学・理学研究科・教授

研究者番号：40361167

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)：誘電泳動を用いて脾細胞群から標的B細胞のみをマイクロウェル内に捕捉してアレイ化し有用細胞の選別を行った。ここでは、標的B細胞以外に微粒子を修飾し、誘電泳動挙動を変化させている。抗体分泌能を有する有用なB細胞の識別を行った。ウェルの底面または細胞表面に固定化した抗原を用い、細胞から分泌される抗体を捕捉した。捕捉抗体を蛍光ラベルすることにより個々の細胞の抗体産生能を簡便に評価できた。ウェルにB細胞とミエローマ細胞を捕捉し、非対称の電場パルスを形成すると細胞破碎を抑制した異なる直径の異種細胞融合ができた。ウェル選択的に負の誘電泳動を作用させることにより、標的抗体を産生するB細胞を選択的に回収できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、大量数のリンパ球の中から、標的とする細胞のみを捕捉、捕捉細胞の機能評価、細胞融合、標的細胞の回収を、迅速で簡便に達成できるデバイスの開発を行った。これまでのウェルアレイを用いた細胞選択では、数十万個のウェルに候補の細胞を捕捉し、わずかに含まれる抗体産生細胞を蛍光計測するため非効率であった。本法は非標的細胞を抗原固定化微粒子でラベル化し、標的細胞のみをアレイ化できるため、千ウェル程度で標的細胞を濃縮してアレイ化可能である。また、ウェルアレイを用いた高効率細胞融合、簡便で高スループットな捕捉細胞の選択的回収を可能にしたことから、迅速、簡便、高効率なハイブリドーマ形成法を構築できる。

研究成果の概要(英文)：Dielectrophoresis (DEP) was used to trap the target B cells from the splenocyte populations in microwell arrays to select useful cells. Here, microparticles were attached to the cells except target B cells to change their dielectrophoretic behavior. The useful B cells with antibody-secreting ability trapped in the microwells were discriminated. Antigens immobilized on the bottom of wells or on the cell surface were used to capture the antibodies secreted from the cells. Labeling of the captured antibodies by a fluorescence molecule allowed us to evaluate the antibody-secreting ability of individual cells easily. After both B cells and myeloma cells were trapped in the wells, asymmetric electric field pulses were applied to form heterogeneous cell fusions of different diameters with suppressed cell disruption. B cells with antibody-secreting ability were selectively retrieved by using negative DEP to the wells.

研究分野：バイオ分析化学

キーワード：誘電泳動 細胞アレイ ハイブリドーマ 細胞融合 選択回収

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

現在のモノクローナル抗体を取得するためのスタンダードはハイブリドーマ法である。マウスを抗原感作して免疫化マウスを作製した後、その脾臓 (B 細胞の存在率が 10-20% と高い) を摘出し、標的抗体を産生する B 細胞とマウスミエロマ細胞を融合するとハイブリドーマが得られる。ハイブリドーマは増殖能と抗体産生能を有するため、ハイブリドーマの培養により大量の抗体を取得することができる。しかし、その融合効率は低く (10^{-5})、融合後には融合細胞と非融合細胞の長期間の選択培養 (スクリーニング) 工程を必要とする。

抗体医薬に使用される抗体は、完全ヒト抗体が最も望ましい。現在、実用化されている抗体医薬品として、キメラ抗体やヒト型化抗体が用いられている。これらは、ヒト抗体をコードした遺伝子を遺伝子工学的にマウスに導入して作製しており、抗体分子の中の抗原を認識する先端部位以外をヒト由来とすることができるが、分子内にマウス由来の抗体部位が残存している。よって、ヒト免疫系はキメラ抗体やヒト型化を抗原として認識してしまうため、ヒト体内で異物と認識されアレルギー反応を誘発する、これらの抗体を医薬品として重複投与できないという欠点を有する。

ヒト抗体を取得するために、ハイブリドーマ法は使用されていない。これは、低い融合効率とともに、末梢血中の白血球 (10^6 cells/mL オーダー) 中の標的抗体産生 B 細胞の低い存在率 (10^{-5}) に起因する。よって、このシンプルなハイブリドーマ法を実現するためには、ヒト末梢血中に存在する標的抗体産生 B 細胞を迅速で高効率にスクリーニングする技術が必須となる。ヒト抗体作製にハイブリドーマ法を適用するためには、ヒト末梢血中に存在するわずかな標的抗体産生 B 細胞を見つけ出し、その細胞を回収する技術を確認することが、「高効率な完全ヒト抗体産生ハイブリドーマ」の作製における大きな研究課題である。

2. 研究の目的

本研究は、マイクロウェルアレイ電極を用いた誘電泳動による超高速で簡便な細胞操作技術を基盤とした「迅速で高精度な標的抗体産生 B 細胞の選択的な細胞アレイ化」、「標的抗体産生ハイブリドーマのハイスループットな識別」、「異種細胞ペアアレイの形成と融合」および「捕捉されたポジティブ細胞の選択的回収」の一連の操作を可能とする細胞チップの開発を目的とする。この研究により、患者の末梢血中に大量に存在するリンパ球から高親和性の抗体を産生する細胞を迅速に識別し、完全ヒト抗体産生ハイブリドーマの高効率な取得に資する方法を確認し、抗体医薬の分野に大きく貢献する。

本研究では、大量数のリンパ球の中から、標的とする細胞のみを捕捉、捕捉細胞の機能評価、細胞融合、標的細胞の回収を、迅速で簡便に達成できるデバイスの開発を行う。これまでのウェルアレイを用いた細胞選択では、数十万個のウェルに候補の細胞を捕捉し、わずかに含まれる抗体産生細胞を蛍光計測するため、蛍光顕微鏡では視野が狭く、レーザースキャン法では時間がかかった。本提案は標的細胞を抗原固定化微粒子でラベル化し、形成された細胞-微粒子複合体のみをアレイ化するため、千ウェル程度で標的細胞を濃縮してアレイ化可能という新規な独自性を有する。また、誘電泳動の利用は、マイクロピペットによる捕捉細胞の回収から、簡便で高スループットな捕捉細胞の選択的回収を可能にする。

3. 研究の方法

(1) 迅速で高精度な標的抗体産生 B 細胞の選択的な細胞アレイ化

バンドアレイ電極上に細胞サイズのウェル (直径 $16 \mu\text{m}$ 、高さ $10 \mu\text{m}$) を配列したマイクロウェルアレイ電極を作製し、もう 1 枚のバンドアレイ電極を直交させて配置した多点電極アレイを作製した (Fig. 1)。デバイスの上側バンドアレイ電極および下側ウェルアレイ電極間の流路 (高さ $30 \mu\text{m}$) に細胞を導入し、すべての電極に交流電圧 (5MHz 程度) を印加して、細胞を正の誘電泳動 (p-DEP, 強電場領域への引力) によりウェル内に導入した。さらに、標的細胞の捕捉されたウェルを構成する上下のバンド電極に、負の誘電泳動 (n-DEP, 強電場強度領域からの反発力) の作用する交流電圧 (100kHz 程度, 位相反転) を印加し、その標的細胞だけを選択的にウェルから排出して回収した。

誘電泳動によるネガティブセレクションを開発し、B 細胞を選択的にアレイ化した。免疫化マウスの脾臓を摘出し、その細胞群に CD73 抗体固定化微粒子を混合した。これにより B 細胞以外の細胞に

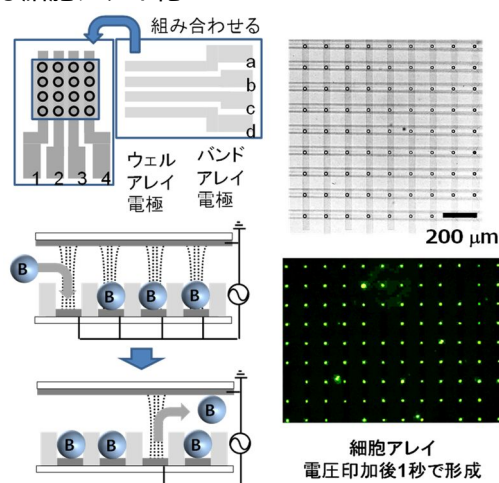


Fig. 1 Formation of cell array by using the microwell array electrodes based on dielectrophoresis.

微粒子が結合し微粒子 - 細胞複合体を形成させた。この複合体をデバイスに導入し、細胞の p-DEP、微粒子に n-DEP の作用する周波数の電場を形成して非標識細胞のみをマイクロウェル電極内に捕捉した。すなわち、標的の B 細胞をウェル内に捕捉し、それ以外を下流へ分離した。

(2) 標的抗体産生 B 細胞のハイスループットな識別

抗ウサギ血清アルブミン (RSA) 抗体を分泌するハイブリドーマを用いて抗体分泌細胞と非分泌細胞の識別を行った。p-DEP を用いて作製した細胞アレイ (Fig. 2a) に、両末端にオレイル鎖と RSA を有するポリエチレングリコール (oley-PEG4000-RSA) を導入し、37°C で 1 時間インキュベートした。これにより、オレイル鎖は細胞膜に挿入され細胞表面に RSA を導入できる。さらに、細胞から分泌された抗 RSA 抗体は、細胞表面に導入された RSA と結合し捕捉される。最後に、Alexa 488 修飾抗体で処理しラベル化し (Fig. 2b)、蛍光観察することにより抗体産生細胞の識別を行った。また、n-DEP を用い Alexa 488 修飾抗体で蛍光ラベルされた抗体分泌能を有する細胞を選択的に回収した (Fig. 2c)。選択的回収については、項目 (4) にて詳細を記載した。

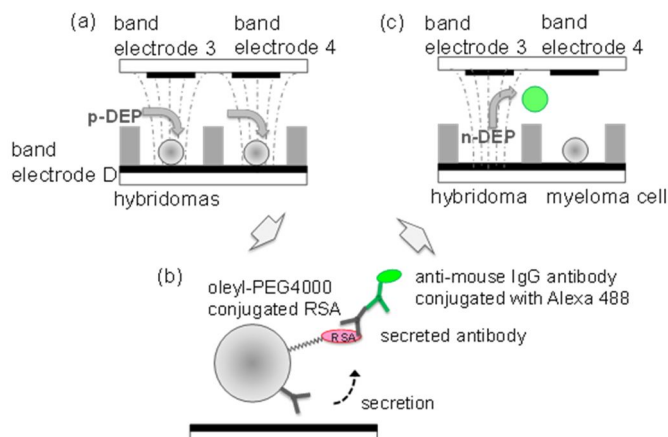


Fig. 2 Schematic for detecting and retrieving hybridomas with antibody secretion. (a) Formation of cell array with hybridomas and myeloma cells by p-DEP. (b) Capture and label of antibody secreted from hybridomas. (c) Retrieval of hybridomas from microwells by n-DEP selectively.

(3) 異種細胞ペアアレイの形成と融合

免疫化マウスの脾臓から取り出した B 細胞とミエローマ細胞のペアをマイクロウェル内に形成し電気パルス融合を行った。個々のマイクロウェル内に 3 電極を配置したウェルアレイを作製した (Fig. 3)。ウェル下面に 2 電極 (左電極 I、右電極 II) を、ウェル上面に 1 電極 (電極 III) を配置した。デバイスに脾細胞とミエローマ細胞を導入し、両細胞をそれぞれ電極 I および電極 II に配置して捕捉した。電極 II に直流電圧パルスを加えてマイクロウェル内に非対称の電場を形成することにより、サイズの異なる脾細胞とミエローマ細胞を融合した。

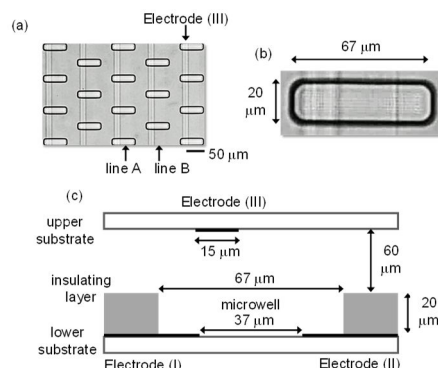


Fig. 3 (a) Image of the microwell array device. Electrodes (I) and (II) on the bottom substrate were invisible because the top of microwells were focused on. (b) Magnification image of a microwell. (c) Cross-sectional view of a microwell.

(4) 捕捉されたポジティブ細胞の選択回収

ここでは、項目 (2) で識別した標的抗体産生細胞の選択的な回収技術を開発した。マイクロウェルアレイにバンドアレイ電極を組み合わせたデバイスは、この選択回収で威力を発揮した。項目 (1) で作製した細胞アレイの中から項目 (2) の方法で抗体産生細胞を識別した。その後、抗体分泌能を示す蛍光細胞を n-DEP を用いて選択的にウェル外へ排出した。ここでは、標的の抗体産生細胞が捕捉されたウェルを構成する上下のバンド電極に交流電圧を印加し、そのウェルにのみ局所的に n-DEP を作用させた。

4. 研究成果

(1) 迅速で高精度な標的抗体産生 B 細胞の選択的な細胞アレイ化

p-DEP を用いて抗体産生細胞のアレイを作製した。蛍光染色した細胞をデバイスに導入し、上下電極に交流電圧 (3.0 MHz, 10 V_{pp}) を印加すると、細胞は瞬時にマイクロウェル内に移動し、ほとんどすべてのウェルに複数の細胞が捕捉された (Fig. 1 右下)。交流電圧を印加した状態で、溶液を 450 μm s⁻¹ で送液すると、ウェル下部に捕捉された細胞はウェル内に保持され、ウェルの上部に捕捉された細胞は下流へと流された。これにより、各ウェルに 1 細胞が捕捉されたシングル細胞アレイを形成した。余分な細胞を排除するこの工程において、送液速度が速いとウェル内のすべての細胞が排除され、送液速度が遅いと排除効率が低下した。最適な送液速度で余分な細胞を排除した際の単一細胞捕捉率 (総ウェル数に対する単一細胞の捕捉されたウェル数) は 90% 以上であった。これは、デバイス内の溶液交換ができることを示しており、この後の細胞識別において有用な技術となる。また、電極に n-DEP の作用する交流電圧 (100 kHz, 10 V_{pp}) を印加すると、捕捉されていたすべての細胞がウェル外へと放出された。

免疫化マウスの脾臓から採取した脾臓細胞 (B 細胞を含む) と CD73 抗体固定化微粒子を混合し, B 細胞以外に微粒子を結合させた. 細胞群には高周波数 (MHz 近傍) で p-DEP が, 低周波数 (数百 kHz 以下) で n-DEP が作用し, 抗体固定化微粒子にはこの周波数帯においてすべての周波数で n-DEP が作用した. 微粒子 - 細胞複合体の交差周波数 (p-DEP と n-DEP の切り替わる周波数) は, 脾臓細胞群の交差周波数と比較して高周波数側のシフトした. これは, 細胞上の結合した微粒子に n-DEP による斥力が作用し, 細胞に作用する p-DEP による引力が減少したためである. よって, 複合体の交差周波数 (700 kHz 程度) を用いると, B 細胞に p-DEP が作用し, 複合体に誘電泳動力が作用しない. 脾臓細胞群に抗体固定化微粒子を混合し, デバイスに導入して交流電圧 (700 kHz) を印加した. ここでは, B 細胞のみを緑色蛍光染色した. 流路に導入された緑色染色 B 細胞はウェルに捕捉され, 微粒子 - 細胞複合体は下流へと流された (Fig. 4). よって, この手法を用いると, 標的 B 細胞のみをウェル内に選択捕捉できることが示された.

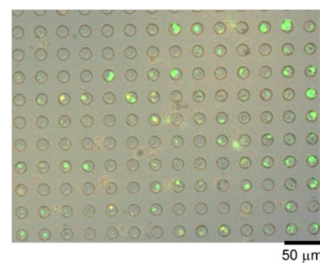


Fig. 4 Image of B cells trapped in microwells.

(2) 標的抗体産生 B 細胞のハイスループットな識別

p-DEP によってマイクロウェル内に捕捉された細胞から分泌される抗 RSA 抗体をマイクロウェルの底面に固定化した RSA に捕捉した. 赤色に染色した抗体分泌細胞と染色しないミエローマ細胞を同濃度で懸濁してデバイスに導入しウェルに捕捉した. 両細胞は p-DEP によってマイクロウェルに捕捉された. 赤色蛍光を示す抗 RSA 抗体分泌細胞が捕捉されたウェルから緑色蛍光が観測された (Fig. 5a, 5b). 一方, 赤色蛍光を示さないミエローマ細胞の捕捉されたウェルから緑色蛍光は観測されなかった. よって, 標識抗体からの緑色蛍光で特異的抗体を分泌する能力を有する細胞を識別することができることが示された. しかし, ほとんどの抗体産生細胞は n-DEP によってマイクロウェルから放出されなかった. これは, 下面電極に固定化した RSA と細胞の膜表面に提示された抗 RSA 抗体との間の免疫反応に起因する.

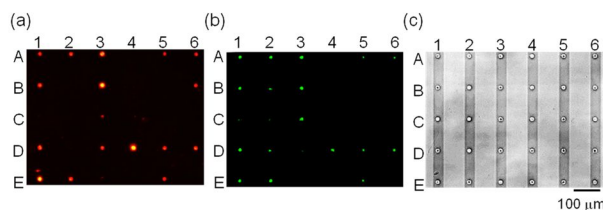


Fig. 5 Fluorescence images of (a) hybridomas trapped in the microwells and (b) antibodies secreted from the trapped hybridomas. (c) Optical image of cell array after cells were removed.

そこで, RSA を細胞の表面に導入した. 抗体産生細胞と非産生細胞の細胞懸濁液を用いて細胞アレイを形成した. 抗体産生細胞の存在比率を 5% とした. アレイ化したデバイスに oleyl-PEG4000-RSA と Alexa 488 修飾抗体を流路内に導入しインキュベートした. 約 5% の捕捉細胞から緑色蛍光を観察することができた. これは, 細胞から分泌された抗 RSA 抗体が細胞表面に導入した RSA と結合し, さらに, 溶液中に介在させた Alexa 488 修飾抗体が結合したことを示す. よって, 抗体分泌能を有する細胞を蛍光観察により簡単に識別することができた. なお, 細胞表面に分泌抗体を捕捉することにより, n-DEP による細胞のウェル外への放出が可能となった.

(3) 異種細胞ペアアレイの形成と融合

電極 I および III を接地し, 電極 II に直流パルス電圧 (15 V, 10 μs) を印加し, ウェルに捕捉された脾細胞とミエローマ細胞の破碎率を調べた. 電極 I 上の脾細胞の破碎率は 5% 以下であり, 電極 II 上の脾細胞の破碎率は 20% に増加した. ミエローマ細胞の破碎率は電極 II 上で高く (70%), 脾細胞の破碎率と比較して高い. これは, 電極 II への電圧印加により, ウェル内に電極 II 側に強電場が形成されることと, 外部電場によって誘起される膜電位が細胞の直径で増加するためである. よって, 電極 II 側に直径の小さい脾細胞を配置して直流パルス電圧を印加すると, ウェル内の電極 II 側に強電場を形成できるため効率的に直径の異なる細胞を融合できると考えられる.

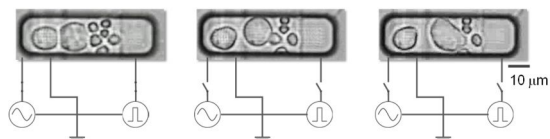


Fig. 5 Sequential images of the electrofusion between splenocytes and myeloma cells trapped in the microwells (d) immediately, (e) 6 min, and 10 min after applying DC pulse.

細胞破碎を抑制し, 脾細胞とミエローマ細胞を融合するために, 脾細胞とミエローマ細胞をそれぞれ電極 II, I 側に配置した. 脾細胞懸濁液をデバイスに導入し, 電極 II に交流電圧を印加して p-DEP により電極 II 上に脾細胞を捕捉した. 次に, ミエローマ細胞を導入しミエローマ細胞を p-DEP で電極 I 上に捕捉した. これにより, 迅速で簡単にウェル内に異種細胞アレイを作製した.

電極 II に直流パルス電圧を印加し, ウェル内の異種細胞を融合した (Fig. 5). マイクロウェルの中央付近で接触している脾細胞とミエローマ細胞は, 直流パルス電圧を印加後 6 分程度でひょうたん型に変形し, 10 分後に球形となり融合した. しかし, 脾細胞とミエローマ細胞をウエ

ル内で逆に配置した場合、細胞融合は起こらずミエローマ細胞が破碎した。よって、異なるサイズの異種細胞の融合には、直径の小さな脾細胞に強電場を印加し、直径の大きいミエローマ細胞を破碎しない条件が必要であることがわかった。本手法の融合効率 は約 2% であり、通常の電気パルス融合法と比較して 2 桁程度改善された。

(4) 捕捉されたポジティブ細胞の選択回収

項目(2)において、抗体産生細胞を緑色蛍光で識別できることを示した。この緑色蛍光を有する細胞を n-DEP を用いて選択的にウェル外へと放出した。Fig. 7a, 7b では、ウェル A1 から緑色蛍光が観察された。そこで、バンド電極 A1 に交流電圧を印加した。それ以外の電極には電圧を印加していない。ウェル A1 に捕捉されていた細胞は、n-DEP の斥力によってウェル外へと放出された (Fig. 7c)。一方、他のウェルに捕捉された細胞はウェル内に保持された。これにより、緑色蛍光を有する細胞を選択的にウェル外へと放出できることを示せた。また、緑色蛍光を有する細胞のみをウェル内に保持し、それ以外の細胞をウェル外へと排除することも可能であった。

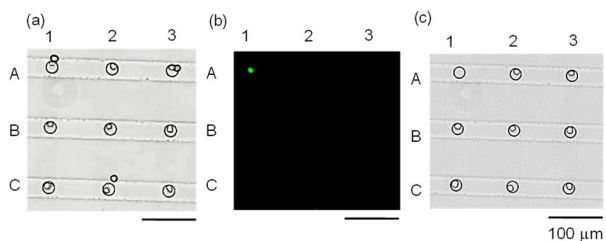


Fig. 7 (a) Optical image of trapped hybridomas. (b) Fluorescence image of antibodies secreted from hybridomas trapped in microwells. (c) Optical image observed after retrieving the hybridoma with green signal in well A1 by n-DEP.

以上から、マイクロウェルアレイ電極を用いた誘電泳動を用いると、「迅速で高精度な標的抗体産生 B 細胞の選択的な細胞アレイ化」、「標的抗体産生ハイブリドーマのハイスループットな識別」および「捕捉されたポジティブ細胞の選択回収」の一連の操作を可能とする細胞チップを開発することができた。今後、細胞融合後の細胞の回収を達成する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 11件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Fumihiko Kadera, Shun Sato, Fumie Saito, Tomoyuki Yasukawa, Minoru Umeda	4. 巻 51
2. 論文標題 Influence of Chlorine Oxyacid on the Electrooxidation of Methanol in Strong Acid	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 666-668
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/cl.220098	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 Misaki Hata, Masato Suzuki, Tomoyuki Yasukawa	4. 巻 209
2. 論文標題 Selective retrieval of antibody-secreting hybridomas in cell arrays based on the dielectrophoresis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biosensors and Bioelectronics	6. 最初と最後の頁 114250
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bios.2022.114250	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 安川智之, 鈴木雅登	4. 巻 73
2. 論文標題 電極表面の活性化に基づく電気化学DNAセンシング	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 表面技術	6. 最初と最後の頁 427-433
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 Masato Suzuki, Shikiho Kawai, Chean Fei Shee, Ryoga Yamada, Seiichi Uchida, Tomoyuki Yasukawa	4. 巻 23
2. 論文標題 Development of a simultaneous electrorotation device with microwells for monitoring the rotation rates of multiple single cells upon chemical stimulation	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Lab on a chip	6. 最初と最後の頁 692-701
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d2lc00627h	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 Misaki Hata, Masato Suzuki, Tomoyuki Yasukawa	4. 巻 37(6)
2. 論文標題 Selective trapping and retrieval of single cells using microwell array devices combined with dielectrophoresis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Analytical sciences	6. 最初と最後の頁 803-806
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21.16/analsci.21C002	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 Masato Suzuki, Yuka Iwaki, Kazuki Terao, Ryota Kunikata, Atsushi Suda, Kumi Y. Inoue, Kosuke Ino, Tomokazu Matsue, Tomoyuki Yasukawa	4. 巻 70(9)
2. 論文標題 Simultaneous monitoring of oxygen consumption and movement of zebrafish embryos based on an Isi-based electrochemical multiple-biosensor	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bunseki Kagaku	6. 最初と最後の頁 535-540
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/bunsekikagaku.70.535	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 Ikumi Onohara, Masato Suzuki, Yushi Isozaki, Kanta Tsumoto, Masahiro Tomita, Tomoyuki Yasukawa	4. 巻 38(2)
2. 論文標題 Electrofusioin of cells with different diameters by generating asymmetrical electric field in the microwell array	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Analytical sciences	6. 最初と最後の頁 235-239
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s44211-022-00072-z	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 安川智之, 鈴木雅登	4. 巻 51(5)
2. 論文標題 誘電泳動を利用した細胞の特性別分離に向けて	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 分離技術	6. 最初と最後の頁 299-304
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 Shikiho Kawai, Masato Suzuki, Satoshi Arimoto, Tsuguhiko Korenaga, Tomoyuki Yasukawa	4. 巻 145
2. 論文標題 Determination of membrane capacitance and cytoplasm conductivity by the simultaneous electrorotation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Analyst	6. 最初と最後の頁 4188-4195
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d0an00100g	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 Tomoyuki Yasukawa, Jyunko Yamada, Hitoshi Shiku, Tomokazu Matsue, Masato Suzuki	4. 巻 11(9)
2. 論文標題 Microfluidic separation of blood cells based on the negative dielectrophoresis operated by three dimensional microband electrodes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Micromachines	6. 最初と最後の頁 833(1-10)
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/mi11090833	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 Rino Takeuchi, Masato Suzuki, Tomoyuki Yasukawa	4. 巻 37(2)
2. 論文標題 Electrorotation Rates of K562 Cells Accompanied by Erythroid Differentiation Induced by Sodium Butyrate	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Analytical Sciences	6. 最初と最後の頁 229-232
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/analsci.20C017	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 Masato Suzuki, Yuki Minakuchi, Fumio Mizutani, Tomoyuki Yasukawa	4. 巻 175(1)
2. 論文標題 Discrimination of cell-differentiation using a cell-binding assay based on the conversion of cell-patterns with dielectrophoresis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biosensors and Bioelectronics	6. 最初と最後の頁 112892(1-7)
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bios.2020.112892	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 鈴木雅登, 安川智之	4. 巻 35(5)
2. 論文標題 誘電泳動法を利用したラベルフリーな肝細胞の識別	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BioClinica	6. 最初と最後の頁 80-85
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 安川智之	4. 巻 24(1)
2. 論文標題 誘電泳動現象のセンシングへの応用	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 日本化学会バイオテクノロジー部会 News Letter	6. 最初と最後の頁 3-11
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 河合志希保, 鈴木雅登, 安川智之	4. 巻 36(3)
2. 論文標題 細胞の電気回転計測の変遷と網羅的単一細胞分析法への展開	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chemical Sensors	6. 最初と最後の頁 105-114
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 -

〔学会発表〕 計66件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 17件)

1. 発表者名 波多美咲, 鈴木雅登, 安川智之
2. 発表標題 誘電泳動によるリポソームの膜容量評価とそれを指標とした脂質二分子膜のイオン透過性のモニタリング
3. 学会等名 第82回分析化学討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山田稜河, 鈴木雅登, 安川智之
2. 発表標題 マイクロウェルアレイ型3極式電気回転デバイスの開発と電気回転による化学刺激時の細胞応答のモニタリング
3. 学会等名 第82回分析化学討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松本惇希, 鈴木雅登, 安川智之
2. 発表標題 微粒子表面での抗原-VHH抗体反応に由来した微粒子表面導電率の変化を利用した抗原検出法の開発
3. 学会等名 化学とマイクロ・ナノシステム学会第45回研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鈴木雅登, 鶴田未央, Shee Chean Fei, 内田誠一, 安川智之
2. 発表標題 回転速度を指標とした薬剤刺激によって誘導される細胞膜容量の変化の検出 画像解析による細胞の電気回転速度の経時変化解析
3. 学会等名 化学とマイクロ・ナノシステム学会第45回研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鈴木雅登, 鶴田美央, Fei Chean Shee, 内田誠一, 安川智之
2. 発表標題 交流電場による細胞の回転運動を利用した、非標識に細胞の誘電特性を計測する電極デバイスの開発
3. 学会等名 第60回 日本生物物理学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松本惇希, 鈴木雅登, 安川智之
2. 発表標題 VHH抗体修飾粒子の誘電泳動現象を用いた抗原検出における微粒子サイズの依存性の評価
3. 学会等名 2022年電気化学秋季大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鈴木雅登, 鶴田未央, Shee Chean Fei, 内田誠一, 安川智之
2. 発表標題 四電極を持つマイクロエルデバイスによる細胞の網羅的電気回転計測と単一細胞の選択的操作
3. 学会等名 2022年電気化学秋季大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 酒井健登, 鈴木雅登, 安川智之
2. 発表標題 細胞群に存在する標的細胞を分離してアレイ化する技術の開発
3. 学会等名 2022年電気化学秋季大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 藤本 萌, 鈴木雅登, 安川智之
2. 発表標題 3次元グリッド電極デバイスを用いた一括電気回転による T細胞集団からの活性化誘導細胞の識別
3. 学会等名 日本分析化学会第71年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鈴木雅登, 鶴田未央, 竹内梨乃, Shee Chean Fei, 内田誠一, 安川智之
2. 発表標題 ー 括電気回転による赤血球様細胞への分化の非標識な評価法の開発
3. 学会等名 日本分析化学会第71年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 武内森史, 鈴木雅登, 小寺史浩, 安川智之
2. 発表標題 金属粒子を内包したオニオンライクカーボンで修飾したマイクロ電極の作製と酸素還元応答の評価
3. 学会等名 第68回ポラログラフィーおよび電気分析化学討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 石川蓮珠, 寺尾和輝, 鈴木雅登, 安川智之
2. 発表標題 ハイドロゲルに包埋したゼブラフィッシュ胚の呼吸活性の多点電気化学による測定
3. 学会等名 第68回ポラログラフィーおよび電気分析化学討論会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 波多美咲, 鈴木雅登, 安川智之
2. 発表標題 誘電泳動を利用した特定サイズのリポソームの選択的捕捉
3. 学会等名 化学とマイクロ・ナノシステム学会第46回研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 石川蓮珠, 鈴木雅登, 安川智之
2. 発表標題 多点電気化学デバイスによるハイドロゲルに包埋したゼブラフィッシュ胚の呼吸活性測定
3. 学会等名 化学とマイクロ・ナノシステム学会第46回研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 江口瑠, 鈴木雅登, 安川智之
2. 発表標題 誘電泳動を利用した異種細胞の位置選択的捕捉と共培養システムの開発
3. 学会等名 化学とマイクロ・ナノシステム学会第46回研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Misaki HATA, Masato SUZUKI, Tomoyuki YASUKAWA
2. 発表標題 Estimation of membrane capacitance of bilayers containing cholesterol based on dielectrophoresis of liposomes
3. 学会等名 32nd MRS-J (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Ryoga Yamada, Masato Suzuki, Tomoyuki Yasukawa
2. 発表標題 Cellular Responses to Chemical Stimuli based on an Electrorotation by Microwell Arrays with Three-electrodes
3. 学会等名 32nd MRS-J (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Tomoyuki Yasukawa
2. 発表標題 Selective Retrieval of Target Cells in a Cell-Based Array by Dielectrophoresis
3. 学会等名 15th International Symposium on Nanomedicine (ISNM2022) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 安川智之、波多美咲、鈴木雅登
2. 発表標題 誘電泳動挙動によるリポソームの電気特性評価
3. 学会等名 電気化学会第90回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 鈴木雅登、藤本 萌、安川智之
2. 発表標題 一括電気回転計測に基づく、細胞膜形態変化を伴う T細胞の免疫活性化の検出
3. 学会等名 電気化学会第90回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 石 川蓮珠、鈴木雅登、安川智之
2. 発表標題 多点電気化学測定によるゼブラフィッシュ胚内の NAD(P)Hデヒドロゲナーゼ活性測定
3. 学会等名 電気化学会第90回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 波多 美咲, 鈴木 雅登, 安川 智之
2. 発表標題 Electroformation 法により作製したリポソームの誘電泳動挙動の評価
3. 学会等名 化学とマイクロ・ナノシステム学会第43回研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 酒井 健登, 鈴木 雅登, 安川 智之
2. 発表標題 微粒子修飾細胞の誘電泳動特性の評価と標的細胞の選択的濃縮
3. 学会等名 化学とマイクロ・ナノシステム学会第43回研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 藤本萌、河合志希保、鈴木雅登、安川智之
2. 発表標題 3次元グリッド電極デバイスを用いた一括電気回転による膜タンパク質を発現させた細胞の電気特性評価
3. 学会等名 第81回分析化学討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 未澤直之, 鈴木雅登, 安川 智之
2. 発表標題 先鋭化ガラスキャピラリィ先端における電気動力学現象へのキャピラリ内外の塩濃度の影響
3. 学会等名 第81回分析化学討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 T. Yasukawa, M. Hata, and M. Suzuki
2. 発表標題 Discrimination and Selection of Target Cells from the Cell-Based Array Based on Dielectrophoresis
3. 学会等名 18th International Meeting on Chemical Sensors (IMCS) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shikiho Kawai, Masato Suzuki, Tomoyuki Yasukawa
2. 発表標題 Monitoring of the Electrorotation of Cells Stimulated by the Ionophore
3. 学会等名 18 th International Meeting on Chemical Sensors (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木雅登, 竹内梨乃, 安川智之
2. 発表標題 細胞の電気回転速度を指標とした分化誘導剤の評価
3. 学会等名 第60回日本生体医工学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 M. Suzuki, S. Kawai, T. Yasukawa
2. 発表標題 Simultaneous electrorotation systems to determine the membrane capacitance and cytoplasm conductivity of cells
3. 学会等名 Dielectrophoresis 2020 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 M. Suzuki, M. Hata, T. Yasukawa
2. 発表標題 Selective Trapping and Retrieval of Single Cells Using Microwell Array Devices Combined with Positive and Negative Dielectrophoresis
3. 学会等名 Dielectrophoresis 2020 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松本惇希, 鈴木雅登, 安川智之
2. 発表標題 VHH抗体修飾微粒子の誘電泳動挙動を用いた免疫測定法の開発
3. 学会等名 第15回近畿支部若手夏季セミナー
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 藤本萌, 小野原郁海, 鈴木雅登, 安川智之
2. 発表標題 3次元グリッド電極デバイスを用いた一括電気回転による細胞種の識別
3. 学会等名 第15回近畿支部若手夏季セミナー
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 酒井 健登, 鈴木 雅登, 安川 智之
2. 発表標題 細胞への粒子標識を利用した有用細胞の選択捕捉
3. 学会等名 第15回近畿支部若手夏季セミナー
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小野原郁海、鈴木雅登、磯崎勇志、湊元幹太、富田昌弘、安川智之
2. 発表標題 非対称な電場形成を利用したサイズの異なる異種細胞の融合
3. 学会等名 2021年電気化学秋季大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松本惇希、鈴木雅登、安川智之
2. 発表標題 分子量の異なる生体分子を固定化した微粒子の誘電泳動特性の評価
3. 学会等名 2021年電気化学秋季大会（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小野原郁海、鈴木雅登、磯崎勇志、湊元幹太、富田昌弘、安川智之
2. 発表標題 マイクロウェルデバイス内での異種細胞の電氣的融合に向けた電極レイアウトの最適化
3. 学会等名 分析化学会第70年会（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 波多美咲、鈴木雅登、安川智之
2. 発表標題 細胞膜への分泌抗体の捕捉による抗体産生細胞の識別と誘電泳動による選択的回収
3. 学会等名 分析化学会第70年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 I. Onohara, M. Suzuki, Y. Isozaki, K. Tsumoto, M. Tomita, T. Yasukawa
2. 発表標題 Electrofusion of cells with different sizes by forming the asymmetric electric fields
3. 学会等名 The 25th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Science (μ TAS 2021) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 M. Suzuki, S. Kawai, T. Yasukawa
2. 発表標題 A simultaneous electrorotation to monitor dielectric profiles of cells stimulated by ionophore
3. 学会等名 The 25th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Science (μ TAS 2021) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 M. Hata, M. Suzuki, T. Yasukawa
2. 発表標題 Selective retrieval of single hybridomas secreting target antibody using microwell array devices combined with dielectrophoresis
3. 学会等名 The 25th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Science (μ TAS 2021) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 藤本萌, 鈴木雅登, 安川智之
2. 発表標題 一括電気回転による膜タンパク質発現細胞の活性化の評価
3. 学会等名 化学とマイクロ・ナノシステム学会第44回研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 酒井健登, 鈴木雅登, 安川智之
2. 発表標題 微粒子修飾を利用した表面抗原発現細胞の誘電泳動による分離
3. 学会等名 化学とマイクロ・ナノシステム学会第44回研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 林雄貴, 鈴木雅登, 安川智之
2. 発表標題 微粒子表面に固定化したATPアダプターの鎖長が誘電泳動挙動に及ぼす影響の評価
3. 学会等名 化学とマイクロ・ナノシステム学会第44回研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 波多美咲, 鈴木雅登, 安川智之
2. 発表標題 誘電泳動を利用したコレステロール含有量の異なるリポソームの膜容量の評価
3. 学会等名 化学とマイクロ・ナノシステム学会第44回研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 武内森史, 鈴木雅登, 安川智之, 小寺史浩
2. 発表標題 カーボン複合微粒子による溶存酸素の電気化学的検出
3. 学会等名 第67回ポーラログラフィーおよび電気分析化学討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 安川智之, 竹内梨乃, 水口悠暉, 鈴木雅登
2. 発表標題 誘電泳動による標的抗原発現細胞の識別技術を利用した細胞分化の追跡
3. 学会等名 第67回ポラログラフイーおよび電気分析化学討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 M. Suzuki, T. Yasukawa
2. 発表標題 Development of a Simultaneous Electrorotation Device for Monitoring Dielectric Properties of Single Cells
3. 学会等名 MRM2021 Materials Research Meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 I. Onohara, M. Suzuki, Y. Isozaki, K. Tsumoto, M. Tomita, T. Yasukawa
2. 発表標題 Electrofusion of Cells with Different Sizes by Forming the Asymmetric Electric Fields
3. 学会等名 MRM2021 Materials Research Meeting (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 酒井健登, 鈴木雅登, 安川智之
2. 発表標題 誘電泳動を用いたマイクロウェルアレイ電極への標的細胞の選択捕捉
3. 学会等名 電気化学会第89回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 藤本 萌, 鈴木雅登, 安川智之
2. 発表標題 3次元グリッド電極デバイスを用いた一括電気回転によるT細胞の免疫活性化の評価
3. 学会等名 電気化学会第89回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 波多美咲, 鈴木雅登, 安川智之
2. 発表標題 超高速細胞配列と細胞表層濃縮法を用いた抗体分泌細胞の識別と回収
3. 学会等名 第80回分析化学討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 寺尾和輝, 鈴木雅登, 國方亮太, 須田篤史, 井上(安田) 久美, 伊野浩介, 末永智一, 安川智之
2. 発表標題 バイオLSIを用いたゼブラフィッシュ 胚周辺の酸素濃度計測に基づく毒性試験法の開発
3. 学会等名 第80回分析化学討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 竹内梨乃, 鈴木雅登, 安川智之
2. 発表標題 細胞質導電率に依存した電気回転現象 に基づく細胞分化の評価
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 小野原郁海, 鈴木雅登, 磯崎勇志, 富田昌弘, 安川智之
2. 発表標題 電極走査型誘電泳動による細胞ペアの形成と融合
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 河合志希保, 鈴木雅登, 平岡類, 安川智之
2. 発表標題 一括電気回転と化学刺激可能なウエル 型電極デバイスの開発とイオノフォアが細胞の電気回転速度に与える影響の解析
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 Masato Suzuki, Tomoyuki Yasukawa
2. 発表標題 Cell Adhesion Expelling Analysis for Discriminating the State of Differentiation in HL60 Using Dielectrophoretic Force
3. 学会等名 PRiME 202 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Misaki Hata, Masato Suzuki, Tomoyuki Yasukawa
2. 発表標題 Selective Trapping and Retrieval of Single Cells Using Microwell Array Devices Combined with Dielectrophoresis
3. 学会等名 PRiME 202 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 竹内 梨乃, 鈴木 雅登, 安川 智之
2. 発表標題 脱核をともなう赤血球分化の電気回転評価法の開発
3. 学会等名 化学とマイクロ・ナノシステム学会第42回研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 末澤 直之, 鈴木 雅登, 安川 智之
2. 発表標題 単一細胞操作のための先鋭化したガラスキャピラリィ先端における電気動力学現象
3. 学会等名 化学とマイクロ・ナノシステム学会第42回研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Tomoyuki Yasukawa
2. 発表標題 Development of sequential technique for formation of cell-based arrays, estimation of cellular function and retrieval of target cells
3. 学会等名 2020ICSS (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 河合志希保, 鈴木雅登, 安川智之
2. 発表標題 一括電気回転による高スループットな細胞識別技術の構築と化学刺激に伴う電気回転速度変化のリアルタイムモニタリング
3. 学会等名 第66回ポーラログラフィーおよび電気分析化学討論会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小野原郁海, 鈴木雅登, 磯崎勇志, 湊元幹太, 富田昌弘, 安川智之
2. 発表標題 走査型ディスク電極による細胞アレイの形成と融合細胞創出への応用
3. 学会等名 2020年度第3回関西電気化学研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 竹内梨乃, 鈴木雅登, 安川智之
2. 発表標題 電気回転法に基づく赤血球分化の評価法の開発
3. 学会等名 2020年度第3回関西電気化学研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 平岡 類, 菅野 天, 河合志希保, 有本 聡, 中南貴裕, 吉岡俊彦, 鈴木雅登, 安川智之
2. 発表標題 誘電泳動を用いたインフルエンザウイルス検出法の開発
3. 学会等名 電気化学会第88回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 竹内梨乃, 鈴木雅登, 安川智之
2. 発表標題 電気回転法を用いた化学刺激に伴う細胞活性化のリアルタイム計測
3. 学会等名 電気化学会第88回大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小野原郁海, 鈴木雅登, 磯崎勇志, 湊元幹太, 富田昌弘, 安川智之
2. 発表標題 誘電泳動を用いた局所領域への細胞濃縮を利用した電氣的細胞融合の効率化
3. 学会等名 電気化学会第88回大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 安川智之, 床波志保, 飯田琢也, 前田耕治	4. 発行年 2020年
2. 出版社 化学同人	5. 総ページ数 18
3. 書名 機器分析ハンドブック2 高分子・分離分析編 「電気分析化学」	

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 粒子の回転速度の測定方法	発明者 鈴木雅登, 安川智之	権利者 兵庫県立大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2022-068169	出願年 2022年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 電気回転デバイス及びこれを備えた細胞評価システム	発明者 鈴木雅登, 河合志希保, 安川智之	権利者 公立大学法人兵庫県立大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2020-093819	出願年 2020年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

兵庫県立大学 大学院理学研究科 物質理学専攻 化学分析学講座 https://www.sci.u-hyogo.ac.jp/material/analytical_chem/index-j.html 兵庫県立大学 大学院理学研究科 物質理学専攻 化学分析学講座 https://www.sci.u-hyogo.ac.jp/material/analytical_chem/index-j.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	鈴木 雅登 (Suzuki Masato) (60574796)	兵庫県立大学・理学研究科・准教授 (24506)	

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