

令和 6 年 6 月 7 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H01958

研究課題名（和文）バイポーラ電気化学を基礎とした集積化センシングシステムの構築

研究課題名（英文）Creation of integrated sensing system based on bipolar electrochemistry

研究代表者

鈴木 博章（Suzuki, Hiroaki）

筑波大学・数理工学系・教授

研究者番号：20282337

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 12,600,000円

研究成果の概要（和文）：バイポーラ電極(BPE)の精密電位制御を実現するために、制御用チャンバー中にイオン感応性電極を形成してBPEとの間に閉じた回路を形成し、BPEの電位を固定する手法を開発した。金属置換型クーロメトリーを行うにあたり、close型バイポーラ電気化学系と3電極系による2段階反応を用いるセンシングデバイスを開発した。Close型バイポーラ系のBPEの集積化では、2液を分離する壁の存在が集積化の障害になっていた。そこで、BPEの両極をリード線で結ぶ構造を用いることにより、集積化されるBPE数を顕著に増加させることができた。この構成によるDNAセンサアレイおよびクラーク型酸素電極アレイを作製した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

電気化学分析では3電極系が広く用いられているが、多数の3電極系を微小なチップ上に集積化する場合、配線数の増加、デバイスの動作、信号検出が非常に複雑になるという課題があった。バイポーラ電気化学系は装置構成がシンプルで、外部装置に接続されない電極（BPE）でセンシングが可能であるため、多数のセンサのアレイ化が容易に実現できるという特長がある。また、高度な電気化学デバイスを実現するための新技術の可能性を多く含んでいる。今回の研究成果は、今後の電気化学デバイス、特に微細加工で作製されるデバイスの研究開発に有用な知見を与えるものと考えている。

研究成果の概要（英文）：To control the potential of bipolar electrodes (BPEs), an ion-selective electrode was formed in a separate chamber and a closed circuit was formed. The effect of fixing the potential was clearly observed as changes in the intensity of electrochemiluminescence. In conducting coulometry coupled with silver metallization, a device was fabricated to conduct metallization by bipolar electrochemistry and measure the amount of deposited silver using a three-electrode system on the same chip. Enhancement of sensitivity was confirmed. To promote integration of BPEs in a closed bipolar system, a BPE structure with cathodic and anodic poles connected with thin leads was used, which was applied to fabricate arrays of DNA sensors and Clark-type oxygen electrodes.

研究分野：化学センサ

キーワード：バイポーラ電気化学 バイポーラ電極 3電極系 電気化学発光 電位制御 クーロメトリー 金属置換 センサアレイ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

従来の電気化学において、化学/バイオセンサ等に関わる電極反応の解析、利用には2電極系、3電極系が用いられてきた。これらにおいては、電極間に一定の電位差を印加し、関係する電極反応により電流を発生させてそれを解析したり、利用することが行われてきた。一方、これらとは異なる新しい構成、原理に基づくバイポーラ電気化学系が、21世紀はじめ頃から注目を集めており、研究例も着々と増加しつつある。その応用分野は化学分析をはじめとして多岐に渡る。

バイポーラ電気化学系の最も有望な応用分野は化学/バイオセンシングである。これまで、低分子の他、DNA、タンパク質、微生物の検出に関わる研究が多数報告されている。しかし、従来の3電極系をチップ上に多数集積化して、アレイ化による一括検出を目指す場合には、端子数の増加、駆動、信号検出の複雑化等、問題を抱えていた。この点、構成がシンプルなバイポーラ電気化学系は有利である。また、電気化学系の高機能化を実現する上で、バイポーラ電気化学系は多くの可能性を秘めており、この点において、未開拓のテーマが多く存在する。一方で、電極の電位設定が3電極系ほど容易に行えない等の課題も残されていた。

2. 研究の目的

上記のように、新しい構成、手法として、バイポーラ電気化学系に関わる研究が特に化学/バイオセンサ関係で活発化しつつある。本研究では、バイポーラ電気化学系が潜在的に有する可能性に着目し、従来の電気化学系では実現が困難であった高機能デバイスを実現するための要素技術の開発を行い、その応用例を示すことを目的とした。

3. 研究の方法

図1にバイポーラ電気化学系の基本構造と動作原理を示す。バイポーラ電気化学系は、open型とclose型の2種類に分類される。図1Aにopen型バイポーラ系の構成と原理を示す。Open型では、反応を起こすバイポーラ電極(BPE)が一つの溶液中に浸漬されており、別の一對の駆動電極間に電圧を印加することにより溶液中に電位勾配を生じさせる。BPE内の電位は一定であるため、BPE/溶液界面にBPE上の位置に依存する電位差が生じ、BPEが分極する。分極はBPEの両端で最大となる。したがって、適当な大きさの電圧印加により、BPEの一端では酸化反応が、他端では還元反応が進行する。電気化学分析に応用する場合には、BPEの一端で検出対象に関わる電極反応を進行させる。他端を用いてその変化を知るようになるが、BPEは外部装置に接続されていないため、通常電気化学発光を用い、その強度により他端での反応の進行に関わる情報を得る。本研究では、一部の研究を除き、アノード側で電気化学発光が生じる  $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ /tripropylamine系を用いた。

図1Bにclose型バイポーラ系の構成と原理を示す。酸化反応、還元反応それぞれを起こすBPEの部分を2つの溶液中に分離した構造となっている。Open型と同様に、一對の駆動電極を用い、溶液に電圧印加を行う。この場合、BPE両端および駆動電極における電極/溶液界面の電位差の和が印加電圧に等しくなる。Open型と同様、BPEの一端で検出を行い、他端では電気化学発光により、電極反応に関わる情報を得る。

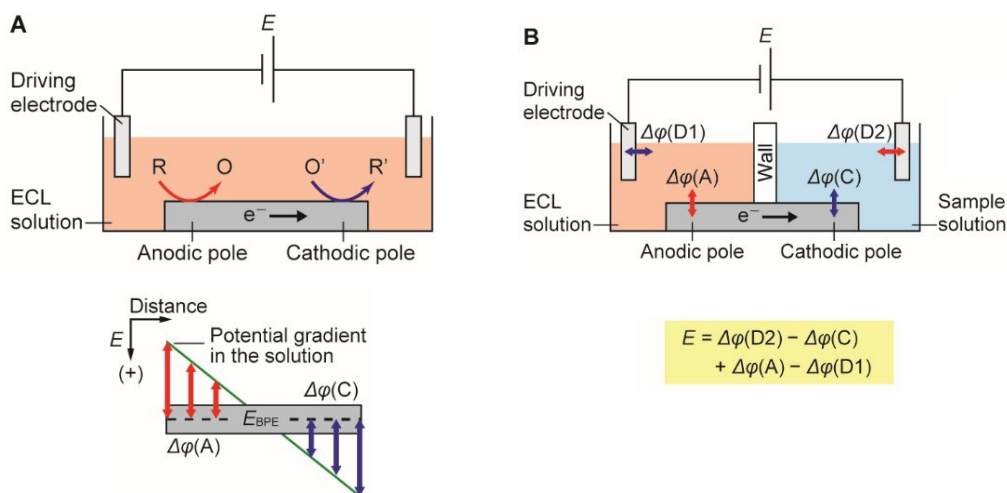


図1 バイポーラ電気化学系 . (A) open型 . (B)close型 .

電極はガラス基板上に薄膜プロセスにより形成し、微小容器は型取りにより、ポリジメチルシロキサン(PDMS)により形成した。BPEの材料としては当初白金を用いていたが、駆動電極によ

る電圧印加により、剥離等のダメージが発生しやすいことが明らかとなった。このため、本研究に関わる研究では、金を使用することとした。

#### 4. 研究成果

バイポーラ電気化学を応用した各種高機能デバイスを実現した。以下、これらについて概略を述べる。

##### (1) BPE の電位制御

バイポーラ電気化学系はアレイ化が容易である反面、反応を起こすバイポーラ電極(BPE)の精密電位制御が困難という課題があった。これについては既に銀/塩化銀を BPE 上に形成してその電位により制御する手法を開発済みであるが、銀/塩化銀では無視できない電流がそこで流れてしまい、BPE による検出に影響を与えてしまうという問題があった。そこで、電流を流さないイオン選択性電極を用い、同様の電位制御が行えることを示した。ここで、次の段階として、BPE を多数アレイ化する上でレイアウトの点で問題があった。そこで、BPE を形成したメインチャンパーとは別に形成した制御用チャンパー中に電流を流さないポリマーイオン感応膜を有する電極を形成して BPE との間に閉じた回路を形成し、BPE の電位を固定する手法を新たに開発した(図 2 A)。図 2 A は open 型バイポーラ系によるデバイスである。BPE 上には電位設定部として露出した BPE の部分があるだけだが、予想される電位設定が行えていることが、電気化学発光強度の違いから確認できた(図 2 B)。同様の効果は close 型バイポーラ系でも確認された。また、これを基礎に電気化学回路という新規なコンセプトを考案し、新規なポテンシostat およびこれを応用した pH スタットを実現した。

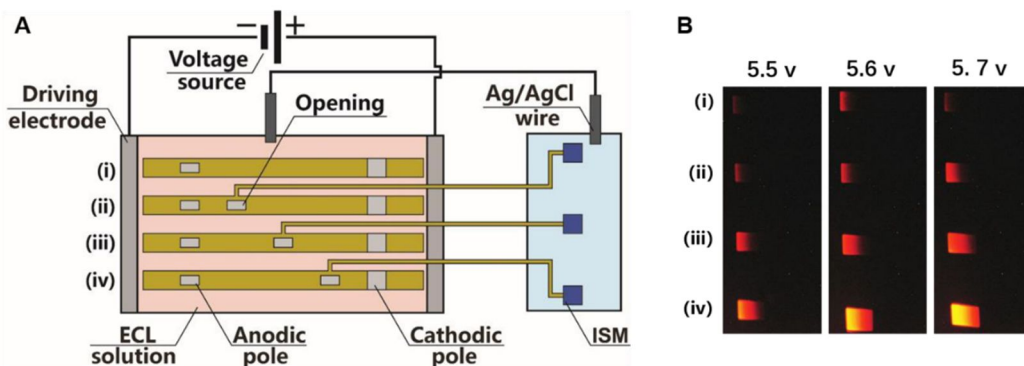


図 2 制御用回路による BPE の電位制御。(A) Open 型バイポーラ系における BPE の電位制御。左のチャンパーには 4 つの BPE が形成され、それぞれ両端の反応用開口に加え、電位制御用開口を形成した。一番上の BPE はそれがない比較用。

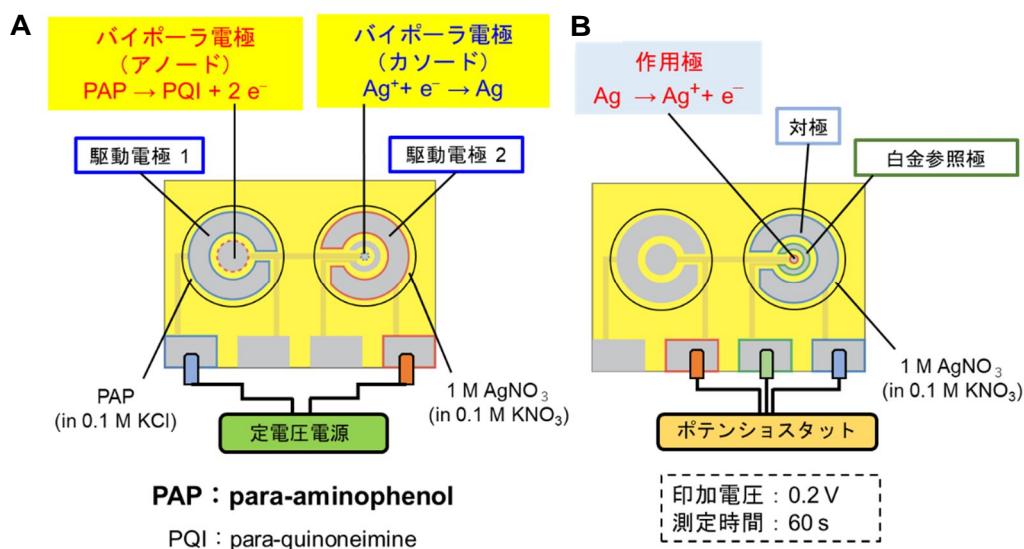


図 3 Close 型バイポーラ電気化学系による検出対象分子の銀への置換と 3 電極系によるクーロメトリーを行うデバイス。(A) Close 型バイポーラ系による検出対象分子の銀への置換。(B) 3 電極系を用いたクーロメトリーによる銀の定量。

## (2) 金属置換型クーロメトリーの高感度化

これまでの研究で、検出対象物質を混成電位で一旦銀に置換し、析出した銀の量をクーロメトリーで測定することにより、高感度検出が可能なが示されている。また、予備的な研究で、混成電位ではなく、close 型バイポーラ系の構成で銀を析出させることにより、置換反応を増幅できることが確認されている。そこで、これを行うデバイスを新規に作製し、その機能を確認した。図3に作製したデバイスを示す。同一チップ上で使用する電極を使い分けて、close 型バイポーラ系による銀置換と、3電極系による銀の定量が行えるようになっている。まず、図1Aのバイポーラ電極と駆動電極を用いて、検出対象物質を銀に置換する。検出対象物質としては、過酸化水素、ポリアミノフェノールを用いた。次に図1Bの右側の3電極系を用いて、析出した銀をクーロメトリーにより定量した。Close 型バイポーラ系で銀置換を行う際の駆動電圧に印加する電圧や置換時間を変えることにより、検出感度を自由に変えられることを示した。左側の駆動電極と検出対象物質を酸化する BPE のアノードを微小櫛型電極の構成にすることにより、レドックスサイクリングにより信号増幅を行えることも示した。

## (3) センサアレイ型デバイスの作製

従来の3電極系を用いて多数のセンサの集積化を行う場合、配線数の増加、デバイスの駆動、信号検出の複雑化等の問題が生じる。これらの問題の解決のためにバイポーラ電気化学は有用であるが、実用上好ましい close 型バイポーラ系では、カソード側、アノード側の2液を分離する壁の存在により、集積化できる BPE 数に制限があった。そこで BPE のカソード、アノード端を結ぶ部分をリード線で置き換えた(図4A)。これにより、集積化可能な素子数を顕著に増加させることが可能となった。BPE 数を増加させると、リード線のスペースも問題になるが、リード線部を積層構造とすることにより、この問題を解決できることを示した(図4B)。図4Cは多数の DNA を一括検出するセンサアレイを示す。BPE の検出側にプローブ DNA を固定し、検出対象 DNA と2本鎖を形成後、インターカレータを2本鎖に挿入し、これを BPE のカソード上で還元し、アノード側で電気化学発光を起こした。DNA 濃度に依存した発光強度の変化が認められた。

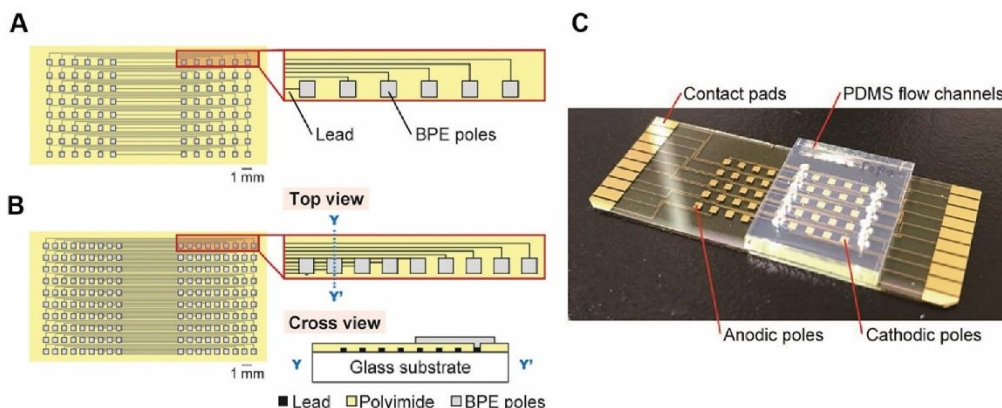


図4 BPE のカソード、アノード間をリード線で置き換えた close 型バイポーラセンシングデバイス . (A) 平面内での BPE のレイアウト . (B) リード線部を積層した構造 . (C) DNA センシング用 BPE アレイデバイス .

図5に同様に BPE 両端をリード線で結ぶデザインで作製したクラーク型酸素電極アレイを示す。酸素を還元する BPE のカソード側電解液は酸素透過膜(シリコーンゴム)でサンプル溶液と分離される。4x4 のカソード、アノードアレイが形成される。チャンパー中に導入したサンプル中の溶存酸素濃度に比例して、電気化学発光強度が変化する。酸素透過膜上には、微生物等を含むサンプルを導入するアクリル製のチャンパーが置かれる。これを用いることにより、病原性細菌に対する抗生物質の有効性評価に使用可能なことを実証した。図5B、C、Dは大腸菌に対する抗生物質ピペラシリンとオキシサリンの効果を示す。いずれの場合にも、濃度の増加とともに、電気化学発光強度の増加が認められた。これは、抗生物質により大腸菌の呼吸活性が低下し、酸素の消費量が減少したことを示している。同様の結果は、緑膿菌およびセフメタゾールとゲンタマイシンを用いた場合にも確認された。従来、同様の効果を調べる場合には、微生物を培養して行うため、結果が得られるまでに2,3日要する場合もあった。しかし、このデバイスを用いることにより、1時間程度で可視化された形で結果が得られるようになった。臨床検査において、有用なデバイスとしての使用が期待される。

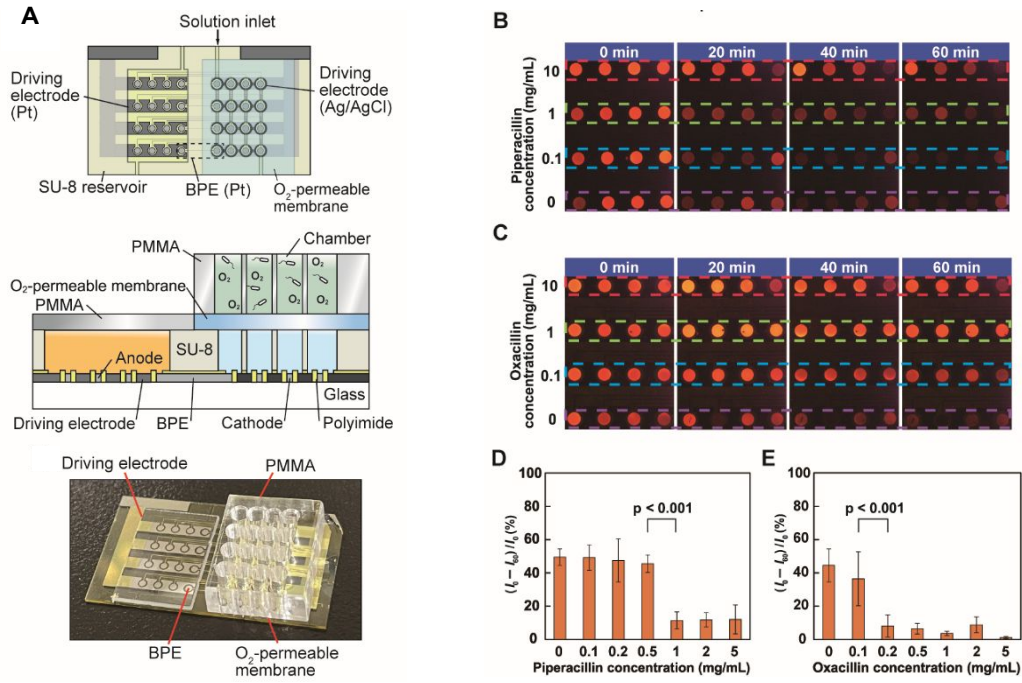


図5 バイポーラークラーク型酸素電極アレイ . (A)デバイス構造 . (B, C) 大腸菌に異なる濃度の(B)ピペラシリン、(C)オキサシリンを作用させた時の電気化学発光強度の変化 .

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 An-Ju Hsueh, Nurul Asyikeen Ab Mutalib, Yusuke Shirato, and Hiroaki Suzuki	4. 巻 7
2. 論文標題 Bipolar Electrode Arrays for Chemical Imaging and Multiplexed Sensing	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 ACS Omega	6. 最初と最後の頁 20298 - 20305
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsomega.2c02298	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 Shirato Yusuke, Hsueh An-Ju, Ab Mutalib Nurul Asyikeen, Deng Yi, Suematsu Ryohei, Kato Azusa, Kearney Bradley M., Kinoshita Manabu, Suzuki Hiroaki	4. 巻 9
2. 論文標題 Bipolar Clark-Type Oxygen Electrode Arrays for Imaging and Multiplexed Measurements of the Respiratory Activity of Cells	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 ACS Omega	6. 最初と最後の頁 10825 ~ 10833
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acsomega.3c09802	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 Mutalib Nurul Asyikeen Ab, Hsueh An-Ju, Deng Yi, Suzuki Miho, Wu Chia-Chien, Shirato Yusuke, Suzuki Hiroaki	4. 巻 171
2. 論文標題 Potential Modulation and Control of Redox Reactions at Bipolar Electrodes Using an Ion-Selective Membrane	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Journal of The Electrochemical Society	6. 最初と最後の頁 027502 ~ 027502
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1149/1945-7111/ad1c5f	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 Ab Mutalib Nurul Asyikeen, Suzuki Hiroaki	4. 巻 43
2. 論文標題 Evolution in the development of next generation electrochemical microdevices via bipolar electrochemistry	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Current Opinion in Electrochemistry	6. 最初と最後の頁 101424 ~ 101424
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.coelec.2023.101424	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

〔学会発表〕 計17件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 トウ イ、Nurul Asyikeen Ab Mutalib、牧谷涼、鈴木博章
2. 発表標題 イオン選択性電極を含む電気化学回路によるセンシングデバイスの電位制御
3. 学会等名 令和4年度電気学会E部門総合研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 白土裕介、薛安汝、木下学、鈴木博章
2. 発表標題 バイポーラークラーク型酸素電極アレイと細菌の薬剤感受性測定への応用
3. 学会等名 2022年 電気化学秋季大会（第71回化学センサ研究発表会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 白土裕介、薛安汝、Nurul Asyikeen Ab Mutalib、木下学、鈴木博章
2. 発表標題 バイポーラークラーク型酸素電極アレイと抗生物質の有効性評価への応用
3. 学会等名 第39回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yi Deng, Nurul Asyikeen Ab Mutalib, An-Ju Hsueh, Ryo Makiya, Yining Zhou, Hiroaki Suzuki
2. 発表標題 イオン選択性電極を含む電気化学回路によるセンシングデバイスの電位制御
3. 学会等名 第39回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小林吉成、薛安汝、清水哲郎、鈴木博章
2. 発表標題 金属置換型クーロメトリーにおけるバイポーラ電気化学的信号増幅
3. 学会等名 第39回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 白土裕介、薛安汝、鈴木博章、木下学
2. 発表標題 バイポーラクラーク型酸素電極アレイによる 抗生物質の有効性評価
3. 学会等名 令和5年電気学会全国大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 牧谷涼、羽賀勇人、鄧懿、鈴木博章
2. 発表標題 電気化学回路により構成されるポテンシヨスタット
3. 学会等名 令和5年電気学会全国大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 白土裕介、薛安汝、鄧懿、鈴木博章、木下学
2. 発表標題 バイポーラクラーク型酸素電極アレイによる細菌の薬剤感受性評価
3. 学会等名 電気化学会第90回大会（第72回化学センサ研究発表会）
4. 発表年 2023年



1. 発表者名 牧谷涼、羽賀勇人、鄧懿、鈴木博章
2. 発表標題 電気化学回路により構成されるポテンショスタットとその挙動
3. 学会等名 電気化学会第90回大会（第72回化学センサ研究発表会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Nurul Asyikeen Ab Mutalib, Yi Deng, An-Ju Hsueh, and Hiroaki Suzuki
2. 発表標題 Control of the Potential on Bipolar Electrodes using Ion-Selective Membranes
3. 学会等名 第38回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 薛安汝, Nurul Asyikeen Ab Mutalib, 鈴木博章
2. 発表標題 化学イメージングと同時一括センシングのためのバイポーラ電極アレイ
3. 学会等名 第38回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 トウ イ、Nurul Asyikeen Ab Mutalib、牧谷 涼、鈴木 博章
2. 発表標題 イオン選択性電極を含む閉回路によるバイポーラ電極の電位制御
3. 学会等名 2022年 電気化学会第89回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 白土裕介、薛安汝、鈴木博章
2. 発表標題 バイポーラクラーク型酸素電極アレイとその応用
3. 学会等名 令和4年電気学会全国大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小林吉成、薛安汝、清水哲郎、鈴木博章
2. 発表標題 バイポーラ電気化学的信号増幅を利用した金属置換型クーロメトリー
3. 学会等名 第40回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 周怡寧、薛安汝、鈴木博章
2. 発表標題 銀置換とカソード電気化学発光によるバイポーラ電気化学システム
3. 学会等名 第40回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 鈴木博章
2. 発表標題 化学・バイオセンシングデバイスの微小化、集積化、高機能化
3. 学会等名 2023電気化学秋季大会（第73回化学センサ研究発表会）（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Hiroaki Suzuki
2. 発表標題 Bipolar electrochemistry for microfabricated sensing devices of the next generation
3. 学会等名 2023 International Conference on Smart Sensors (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 測定装置および測定方法	発明者 鈴木博章他	権利者 筑波大学、株式会社オリジン
産業財産権の種類、番号 特許、特願2022-024857	出願年 2022年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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

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