

令和 6 年 6 月 1 0 日現在

機関番号：12608

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K14707

研究課題名（和文）極微小空間に閉じ込めた超高感度電気化学センサの創出

研究課題名（英文）Development of highly sensitive electrochemical sensors confined in microspace

研究代表者

菅野 佑介（Kanno, Yusuke）

東京工業大学・科学技術創成研究院・助教

研究者番号：30922330

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000 円

研究成果の概要（和文）：本研究では、極微小な閉鎖空間を利用して物質濃縮できる新構造のセンサの開発を目的とした。電極センサ上で標的粒子を捕捉するための電極の化学修飾法について検討した。修飾に重要な電極表面の改質においては、電気化学に基づく改質法が効果的であることを明らかにした。また、極微小な閉鎖空間を形成するために、マイクロ流路内の特定領域に開閉機構を有するバルブを設ける必要があり、感温性バルブの構築を検討した。そのため、温度応答性材料を用いてその温度応答性について評価し、感温性バルブに展開できることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

次世代がん診断法として、身体的負担が小さくがんの早期発見が期待されるリキッドバイオプシーに注目が集まっている。電気化学センサはその検査ツールとして有望だが、サンプル液中の微量物質の検出が課題である。本研究で得られたセンサ開発の知見は、微量検出可能な新構造センサの創出を促すことが期待できる成果であった。温度応答性材料の分析で得られた知見も、幅広いナノマイクロシステムの開発に展開できることが期待できる。

研究成果の概要（英文）：In this research, the objective was to develop a novel electrochemical sensor that can concentrate substances in a closed microspace. To capture target particles on the electrode sensor, chemical modification methods of the electrode were investigated. It was found that the modification methods based on electrochemistry were effective in the modification of the electrode surface. In addition, to form the closed microspace, it is necessary to construct a valve with an open/close mechanism in a specific region in the microfluidic channel, and we investigated the construction of a thermal-sensitive valve. We evaluated the thermal-sensitive polymer for its temperature response, and implied that it could be extended to the thermal-sensitive valve.

研究分野：ナノマイクロシステム

キーワード：電気化学 バイオセンサ マイクロ流体デバイス 温度応答性ポリマー

1. 研究開始当初の背景

がん診断は従来、患者の組織一部を採取する検査（生検）であったが、血液などの体液をもとに検査するリキッドバイオプシーが近年脚光を浴びている。身体への負担が小さく、さらにはがんの早期発見が期待される次世代診断法である。検査ツールの候補には、利便性に優れた電気化学センサが提案されている。ただし、検査対象の細胞外小胞などは体液中に極微量しか存在せず、検出の超高感度化が喫緊の課題である。細胞外小胞を電気化学検出するには通常、電極センサ上で小胞を捕捉して、酵素標識し、酵素基質を加えて電気化学検出できる物質へ変換して検出する。超高感度化のポイントは、この物質をいかに濃縮して検出できるかにある。本研究では、極微小な閉鎖空間を利用して物質濃縮できる、新構造のセンサの開発を検討した。

2. 研究の目的

本研究の目的は、極微小空間へ閉じ込めることのできる新構造の電気化学センサの開発であった。はじめに電極センサ上で細胞外小胞を捕捉するための電極の化学修飾法について検討した。加えて、マイクロ流路内の特定領域に閉鎖機構を有するバルブを設けて極微小な閉鎖空間を形成するための、感温性バルブの構築を検討した。

3. 研究の方法

(1) 電極センサ上での細胞外小胞の捕捉に向けて、本研究では金電極上にチオール化合物を修飾した。一般に、分子認識機能を有する抗体などにチオール基を付して、金電極などに修飾することで細胞外小胞を捕捉することができる。チオール化合物の電極修飾には電極表面をクリーンに保つことが重要であり、そのための電極表面の改質方法を種々検討した。具体的には、大気プラズマ処理、強塩基/強酸性水溶液中での電気化学処理、および金の電解メッキ処理の3種類を検討した。修飾後の電極表面状態はX線光電子分光法（以下、XPS）や、チオール化合物に修飾した電気化学活性種の電気化学検出、チオール化合物の電気化学的な還元脱離によって評価した。

(2) 感温性バルブの構築に向けて、本研究では温度応答性ポリマーである Poly(*N*-isopropylacrylamide)（以下、PNIPAM）を用いた。PNIPAM は下部臨界溶液温度（以下、LCST）である 30℃近傍を境に、高温側では疎水性を示して収縮、低温側では親水性を示して膨潤することが知られている。まずは本研究で用いる PNIPAM の LCST を評価した。次に、フォトリソグラフィで固体基板上に PNIPAM 製の支柱を形成し、Poly(dimethylsiloxane)（以下、PDMS）製のマイクロ流路チップを被せ、PNIPAM 支柱のサイズ変化の温度応答性を確認した。基板下部にはペルチェ素子プレートを設置して温度制御した。これによって感温性バルブ構築に向けた材料検証を行った。

4. 研究成果

(1) 金電極表面の洗浄方法として、はじめに大気プラズマ処理を検討した。この際、チオール化合物としては 6-Mercapto-1-hexanol（以下、MCH）を修飾した。XPS で電極表面を分析した結果、硫黄元素由来のピークが現れ、一方で金元素由来のピークが大幅に減衰したことから MCH の修飾が示唆された（図 1）。一方で、電気化学活性種を修飾したチオール化合物を使って、チオール化合物の修飾を電気化学的に評価した結果、チオール化合物由来のピークを検知できなかった。この結果に加え、XPS での分析の再現性も芳しくなかったことから、大気プラズマ処理とは異なる電気化学的な表面処理を検討した。強塩基および強酸性水溶液中に金電極を浸し、強塩基中では還元側、強酸中では酸化側に電極電位を高速スキャンすることで電極洗浄できることが知られている。この手法を電極に施した後、電気化学活性種を修飾したチオール化合物を電

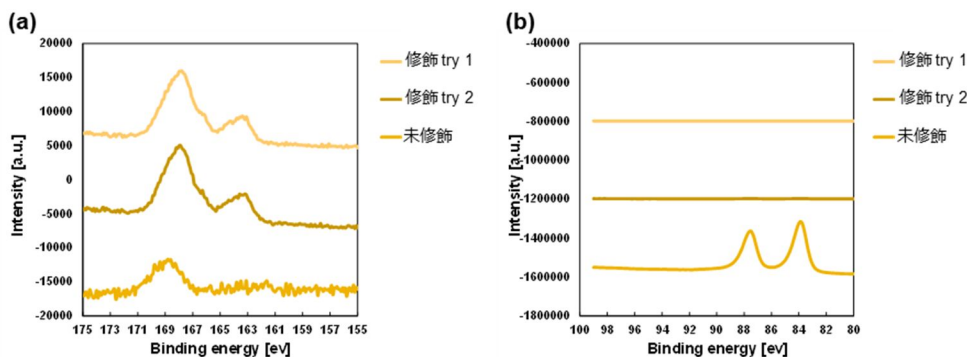


図 1 チオール化合物修飾金電極の XPS による表面分析。(a) S2p スペクトル。(b) Au4f スペクトル。

極に付して方形波ボルタンメトリーを行った結果、チオール化合物由来のピークを検知することに成功した(図2)。別の手法として、tetrachloroauric(III) acid を用いた金の電解メッキを電極に施すことで、チオール化合物を再現性良く修飾できることも見出した。修飾電極の電極電位を還元側にスキャンした際、チオール基の還元脱離に由来する還元ピークも検出できた。以上、本研究で検討した“強塩基/強酸性水溶液中での電気化学処理”および“金の電解メッキ処理”はチオール化合物を再現性良く修飾するための表面改質方法であり、細胞外小胞を捕捉可能なセンサの構築に向けて有力な手法であることを明らかにした。

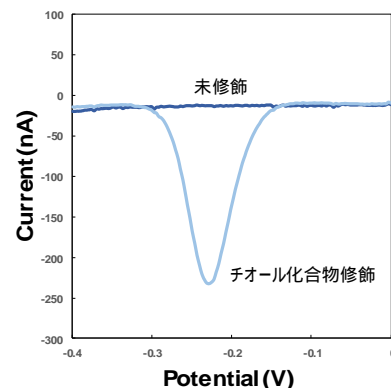


図2 方形波ボルタンメトリーによるチオール化合物修飾金電極の評価結果。

(2) フォトリソグラフィを用いて固体基板上に、直径約 25 μm 、高さ約 15 μm の PNIPAM 支柱のパターニングに成功した。その基板は PDMS チップとともに酸素プラズマ処理後、両者の化学的な接合が可能であり、基板上の PNIPAM 支柱は構造維持されたままであることも明らかにした。基板と PDMS チップの接合によって形成したマイクロ流体デバイスを温度制御したところ、LCST が約 29°C であり、LCST を境に温度変化に伴って支柱サイズが大きく変化したことを確認した。具体的には 50°C 下では支柱直径が約 25 μm に対して 20°C 下では支柱直径が約 60 μm で、直径がおおよそ 2.4 倍増大した。20°C → 50°C および 50°C → 20°C に温度変化させた場合ともに、支柱直径が変化開始時から終了時までの時間は 30 s 以内に収まり、温度応答性の速さも示すことができた。以上、本研究で作製した PNIPAM 支柱は、マイクロ流体デバイス内で温度変化に対して迅速応答可能な感温性バルブとして応用できる可能性が示唆された。

5 . 主な発表論文等

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

1 . 著者名 Nashimoto Yuji、Kanno Yusuke、Ito Hidenori、SEN Mustafa	4 . 巻 12
2 . 論文標題 Editorial: Modelling and sensing platform for cancer and tumour microenvironment	5 . 発行年 2024年
3 . 雑誌名 Frontiers in Bioengineering and Biotechnology	6 . 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fbioe.2024.1432352	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

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 1件／うち国際学会 0件）

1 . 発表者名 Ze Jiang, Yusuke Kanno, Takasi Nisisako
2 . 発表標題 Cell separation in a thermo-responsive deterministic lateral displacement device
3 . 学会等名 化学とマイクロ・ナノシステム学会第49回研究会
4 . 発表年 2024年

1 . 発表者名 Ze Jiang, Yusuke Kanno, Takasi Nisisako
2 . 発表標題 Thermo-responsive micropillars on a silicon chip for tunable deterministic lateral displacement
3 . 学会等名 2024年度精密工学会春季大会学術講演会
4 . 発表年 2024年

1 . 発表者名 菅野佑介, 唐叶毅, 増井周造, 西迫貴志
2 . 発表標題 磁場応答性タンパク質ゲル微粒子を用いたグルコースセンシング
3 . 学会等名 電気化学会第91回大会
4 . 発表年 2024年

1．発表者名 菅野佑介，唐叶毅，増井周造，西迫貴志
2．発表標題 バイオセンサ応用を指向した磁場応答性タンパク質ゲル微粒子の開発
3．学会等名 化学とマイクロ・ナノシステム学会第48回研究会
4．発表年 2023年

1．発表者名 菅野佑介，増井周造，西迫貴志
2．発表標題 電気化学センサ応用に向けた磁性タンパク質ゲル微粒子の開発
3．学会等名 第33回日本MRS年次大会（招待講演）
4．発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔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
--------	---------------------------	-----------------------	----

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