

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 10 月 19 日現在

機関番号：24403

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25288039

研究課題名(和文) 分子鑄型法に基づいた食中毒危害要因の電気化学的検出法の開発

研究課題名(英文) Development of electrochemical detection of food poisoning bacteria based on molecular imprinting technique

研究代表者

椎木 弘 (SHIIGI, Hiroshi)

大阪府立大学・工学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：70335769

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,200,000円

研究成果の概要(和文)：食中毒の危害要因として代表的な大腸菌などをターゲットとして、迅速な検出法の開発を目指し、生物機能によらない人工的な受容体の形成について検討した。分子鑄型法の適用によるバクテリア鑄型の形成に成功した。バクテリア鑄型は異なる抗原を持つ大腸菌を識別し、高選択的で迅速な検出が達成された。さらに、分子修飾した金ナノ粒子標識を用いたバクテリアの可視化、バクテリアの電気化学特性に基づいた簡易な検出法の開発にも成功した。

研究成果の概要(英文)：Pathogenic bacteria in food products have caused serious problems on public health. A rapid bacterial detection method has been developed through the formation of an artificial receptor without the biological function of bacteria. The artificial receptor formed on the polymer film can identify different types of E.coli based on the O-antigen. Moreover, we have succeeded in the visualization of bacteria using gold nanoparticle-labels with the molecular modification and developed a simple detection method focusing on the electrochemical properties of bacteria.

研究分野：分析化学

キーワード：分子鑄型 バイオ分析 表面分析 バイオセンサ 大腸菌 細胞鑄型

1. 研究開始当初の背景

集団食中毒を背景として、食の安全、安心への関心が高まっている。特に危害要因として代表的な腸管出血性大腸菌などの細菌は公定法に基づいて検出されており、各工程における操作性の向上や高感度化が進んでいる。しかしながら、十分な選択性と感度を得るために分離や増菌などの培養を要するため、判定までに数日以上を要する。したがって、集団食中毒の発生により特定食品の摂取に対して生じる「食への不安」が拡大し、消費者だけでなく生産者に至るまで大きな社会混乱を招く。危害要因の迅速な特定が可能になれば、早期の「食の安全確保」が速やかな「食の安心」をもたらす、食中毒発生による社会混乱を最小限に抑制することができる。したがって、速やかな「食の安全確保」のために、科学的根拠に基づいた迅速な検出法の開発が強く求められている。そこで、本研究では、相補的な形状と化学的相互作用に基づいて優れた認識能を発現する細菌型分子鑄型の開発と、それを用いた迅速検出法の開発を行った。

2. 研究の目的

化学的観点から微生物を評価し、生物機能によらない人工的な受容体を形成することを目的として、本研究では、細菌の形状と表面の化学構造に焦点を当て、分子鑄型法による細菌型分子鑄型の形成を行った。細菌型分子鑄型の認識能を評価するとともに、鑄型を用いた標的細菌の迅速な検出法の開発を目的とした。

分子鑄型法は、目的物質をテンプレートとして重合反応中に共存させ、テンプレートに選択性のある結合部位をポリマーに構築する方法である(図1A)。テンプレートの溶出により鑄型が形成されるため、様々なテンプレートに対してテーラーメイドできる技術的特徴を有する。

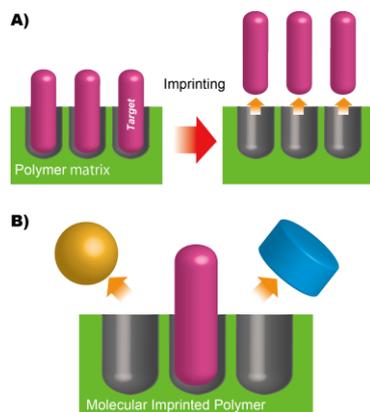


図1 (A)分子鑄型の形成と(B)分子認識の概念

さらに、テンプレートの化学構造と相互作用する官能基の配置により優れた分子認識能を発現する(図1B)。そこで、分子鑄型法を用いて各種細菌に対応した精巧な

鑄型を電極上に形成することで、細菌の高感度で迅速な検出について検討を行った。本研究により、これまで分子を対象としてきた分子鑄型法をマイクロサイズの細菌に適用することで、方法論の優位性の実証を目的とした。

3. 研究の方法

細菌表面の化学構造に基づく鑄型の設計と鑄型電極の形成、およびそれを用いた迅速検出法の開発を目指し、

- (1) 細菌表面の化学構造の解明
- (2) 細菌の電気化学的特性評価
- (3) 鑄型電極の作製
- (4) 鑄型電極を用いたワンステップ検出の各項目について検討した。最終的に各種細菌について高感度で迅速な検出について検討を行った。

4. 研究成果

(1) 細菌表面の化学構造の解明

各種分子を化学修飾した金ナノ粒子を標識として電子顕微鏡観察を行った。金ナノ粒子の結合により細菌の形状とともに細菌表面の官能基や化学種の種類や分布の可視化が可能である(図2)。

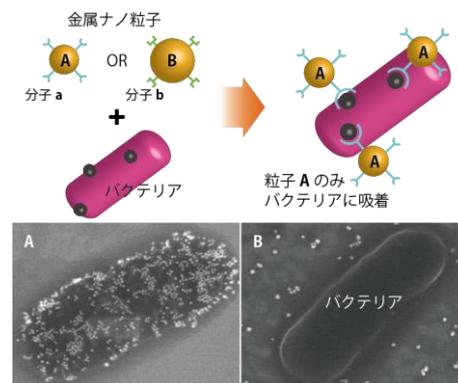


図2 分子修飾金属ナノ粒子による細菌標識。(A)アミノ基、(B)カルボキシ基導入したナノ粒子

アミノ基を持つ分子 a により化学修飾した金属ナノ粒子 A は細菌表面に吸着した。一方、カルボキシ基を持つ分子 b を修飾した金属ナノ粒子 B は細菌表面への吸着はみられず、基板に分散した状態で観察された。金属ナノ粒子 A は緩衝液中で正のゼータ電位 (+20 mV) を示すことから、細菌表面 (ゼータ電位: -20 mV) に静電的に吸着したものと推察された。一方、金属ナノ粒子 B は負のゼータ電位 (-40 mV) をもち、細菌と静電的に反発するために基板に分散した状態で観察されるものである。

以上、金属ナノ粒子のサイズを分解能として、細菌表面の化学種の分布を可視化することができた。

(2) 細菌の電気化学的特性評価

細菌、特にグラム陰性菌の電気化学

特性は、外膜に存在する各種酵素に基づいている。例えば、大腸菌はグルコース脱水素酵素 GDH を持っており、酵素触媒活性に基づいた良好な電気化学応答を示すことが知られている。この酵素に基づく応答は細菌の生存状態に依存しない。本研究では、細菌の検出の観点から、生菌、死菌を識別するために電気化学活性な標識の探索を行った。

細菌の電気化学特性を評価する際、電極材料や電解液などが、細菌の生存状態に大きな影響を与えた。炭素や酸化インジウムスズ (ITO) を電極材料として、電解液には細菌の生存状態に影響のない生理緩衝液を用いて、サイクリックボルタンメトリ (CV) を行った (図 3)。

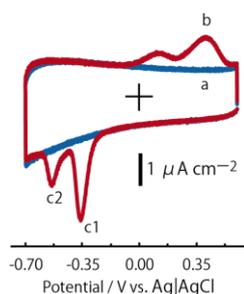


図 3 ITO 電極に滴下した大腸菌の CV。外膜崩壊前(a), 後(b)

細菌の懸濁液 (生存率 90%以上) を ITO 電極に滴下、乾燥した後、得られたボルタングラムを図 3 に示す。電流ピークは、細菌内部から放出された酸化還元物質に由来すると考えられ、乾燥により細菌の外膜が破壊された後に出現する。電流ピーク C1 はユビキノン, C2 はメナキノンに帰属されることが分かった。メナキノンの生産量は細菌の生存環境 (酸素濃度) により変化することから、ユビキノンの電流ピーク (C1) に着目することで細菌の定量が可能であった。また、C1 は大腸菌他、サルモレラ菌、黄色ブドウ球菌など、様々な細菌について同様に観察された。

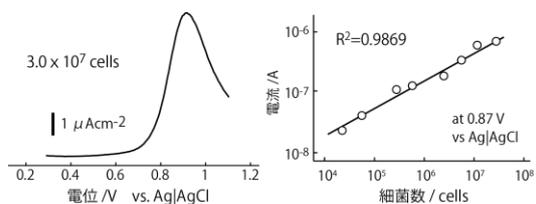


図 4 AO 標識大腸菌の微分パルスボルタングラムと標識の電流応答に基づく細菌の定量

電気化学活性な物質を標識として用い、標識の電気化学応答による検出についても検討を行った。細菌の蛍光染色に用いられているヨウ化プロピジウム (PI) が緩衝液中において特徴的な電流ピーク (at 0.65V) を示し、その電流値が濃度依存することを確認した。PI は死菌を選択的に染色する。一方、生菌、死菌とも染色するアクリジンオレンジ (AO) も明瞭な電流ピーク (at 0.87V) を示した。これらの色素を使用することにより、

電気化学応答に基づいた生存状態の大腸菌を定量することが可能になった (図 4)。

(3) 鋳型電極の作製

検討項目(1)より、細菌をテンプレートとしたポリマー形成には、緩衝液中で正電荷を生じるモノマーが有効であることが明らかになった。導電性ポリマーは電解により電極上での重合が可能であり、ポリアニリンやポリピロール、ポリチオフェン誘導体は重合の際、ポリマー骨格に正電荷を生じることが知られている。ポリアニリンの重合は酸性溶液中でのみ進行するため、細菌に緩やかな環境である中性 pH で重合可能なポリピロールとポリチオフェン誘導体を用いることとした。大腸菌とピロール、あるいはチオフェン誘導体をモノマーとして含む緩衝液中で電解重合したところ、重合の進行に伴うポリマー形成とともに大腸菌がポリマー膜に取り込まれる様子が観察された (図 5)。これは、モノマーが大腸菌表面の特定の部位 (官能基や化学種) と相互作用するとともに重合されることに基づいている。また、ポリピロールでは大腸菌のマトリクスからの溶出に伴う鋳型の形成についても確認できた。

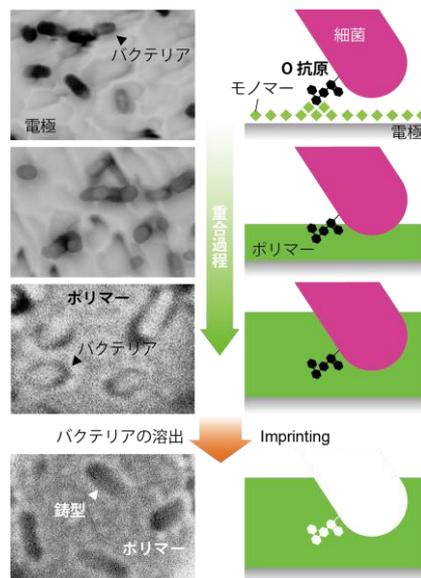


図 5 細菌をテンプレートとしたポリマー形成と細菌の溶出に伴う鋳型形成

(4) 鋳型電極を用いたワンステップ検出

検討項目(3)で形成した鋳型の選択性について水晶振動子マイクロバランス (QCM) 法により評価した (表 1)。

表 1 *E.coli* O157:H7 鋳型膜の QCM 応答

細菌	周波数/Hz	選択性
<i>E.coli</i> O157:H7	3360	1
(大腸菌) O157:HNM	360	0.10
O rough	180	0.05
<i>S.enterica</i> (サルモネラ)	540	0.16
<i>V.parahaemolyticus</i> (ビブリオ)	180	0.05
<i>S.aureus</i> (黄色ブドウ球菌)	290	0.09

各種グラム陰性菌に対して選択性を評価したところ、大腸菌 O157:H7 の鋳型膜は、O157:H7 を高選択的に認識した。特に、異なる抗原を持つ大腸菌を識別することが可能であった（選択性 10 倍以上）。

分子鋳型法を用いることで、バクテリア表面の化学構造と形状に基づいた高精度なバクテリア鋳型の形成が可能になり、同種のバクテリアの識別が可能になったものと考えられる。このことより、生物機能によらない人工的な受容体の形成が達成され、それによる標的バクテリアの高選択的な検出が達成された。

金ナノ粒子を標識として用いることで、バクテリアの形状とともに表面の官能基や化学種の種類や、それらの分布の可視化に成功し、金属ナノ粒子のサイズを分解能とした、表面解析の可能性が示唆された。

バクテリアの電気化学的評価には、炭素や ITO が電極材料として最適であった。これらの電極を用いることで、バクテリア内部から放出された酸化還元物質に基づく応答を高感度に得ることができた。特に、ユビキノンに基づく電流応答に着目することでバクテリアの定量が可能になった。また、ユビキノンは大腸菌他、サルモレラ菌、黄色ブドウ球菌など、様々なバクテリアについても同様に観察された。蛍光標識として知られる PI や AO が緩衝液中において特徴的な酸化電流ピークを示すことを見出した。これらの電気化学応答に基づいたバクテリアの定量が可能であった。また、これらの色素の選択的結合性を利用した生菌の定量が可能になった。

導電性ポリピロールを用いて形成した大腸菌 O157:H7 の鋳型膜は、O157:H7 を高選択的に認識した。特に、種々の大腸菌を識別することが可能であった（選択性 10 倍以上）。この結果より、高精度な鋳型の形成が確認され、生物機能によらない人工受容体の形成が達成された。

分子鋳型法による標的認識部位は、標的の種別やサイズに制限なくテーラーメイド可能であることから、バクテリアだけでなく危害要因として考えられるウイルスにも適用可能である。したがって、ウイルス性食中毒の他、新型インフルエンザや口蹄疫ウイルス感染症など、種々の危害要因を標的とした鋳型の形成が可能になり、広い分野での波及効果が期待される。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計 21 件）

- 1) T. Kinoshita, K. Kiso, D. Q. Le, H. Shiigi, T. Nagaoka, Light-scattering Characteristics of Metal Nanoparticles on a Single Bacterial Cell, *Anal. Sci.*, 査読有, **32**(3), (2016), 301-306. DOI:10.2116/analsci.32.301
- 2) 木下隆将, 椎木 弘, 長岡 勉, 光アンテ

ナの形成による病原性細菌の迅速検出, *化学工学*, 査読無, **366**(11), (2015), 812-816.

- 3) D. Q. Le, A. Morishita, S. Tokonami, T. Nishino, H. Shiigi, M. Miyake, T. Nagaoka, Voltammetric Detection and Profiling of Isoprenoid Quinones Hydrophobically Transferred From Bacterial Cells, *Anal. Chem.*, 査読有, **87**(16), (2015), 8416-8423. DOI:10.1021/acs.analchem.5b01772
- 4) T. Kinoshita, D. Nguyen, T. Nishino, H. Nakao, H. Shiigi, T. Nagaoka, Fluorescence Enhancement of Nanoraspberry Hot-spot Source Composed of Gold Nanoparticles and Aniline Oligomers, *Anal. Sci.*, 査読有, **31**(6), 487-493 (2015). DOI: 10.2116/analsci.31.487
- 5) D. Q. Le, S. Tokonami, T. Nishino, H. Shiigi, T. Nagaoka, Electrochemical Evaluation of Poly (3,4-ethylenedioxythiophene) Films Doped with Bacteria Based on Viability Analysis, *Bioelectrochem.*, 査読有, **105**, 50-55 (2015). DOI: 10.1016/j.bioelechem.2015.05.003
- 6) D. Q. Le, M. Takai, S. Suekuni, S. Tokonami, T. Nishino, H. Shiigi, T. Nagaoka, Development of an Observation Platform for Bacterial Activity Using Polypyrrole Films Doped with Bacteria, *Anal. Chem.*, 査読有, **87**(7), 4047-4052 (2015). DOI:10.1021/acs.analchem.5b00544
- 7) H. Shiigi, T. Kinoshita, M. Fukuda, L. Q. Dung, T. Nishino, T. Nagaoka, Nanoantennas as Biomarkers for Bacterial Detection, *Anal. Chem.*, 査読有, **87**(7), 4042-4046 (2015). DOI:10.1021/acs.analchem.5b00415
- 8) T. Nagaoka, H. Shiigi, T. Nishino, S. Tokonami, Fabrication of Bacteria-Imprinted Polymer Based Sensors Using Over Oxidized Polypyrrole, *Chemical Sensors*, 査読無, **30**, 22-24 (2014).
- 9) P. T. Bui, T. Nishino, H. Shiigi, T. Nagaoka, One-by-one single-molecule detection of mutated nucleobases by monitoring tunneling current using a DNA tip, *Chem. Commun.*, 査読有, **51**, 1666-1669(2015). DOI: 10.1039/C4CC08227C
- 10) S. Tokonami, Y. Nakadoi, H. Nakata, S. Takami, T. Kadoma, H. Shiigi, T. Nagaoka, Recognition of gram-negative and gram-positive bacteria with a functionalized conducting polymer film, *Res. Chem. Intermed.*, 査読有, **40**(6), 2327-2335(2014). DOI 10.1007/s11164-014-1609
- 11) H. Shiigi, M. Fukuda, T. Tono, K. Takada, T. Okada, L. Q. Dung, Y. Hatsuoaka, T. Kinoshita, M. Takai, S. Tokonami, H. Nakao, T. Nishino, Y. Yamamoto, T. Nagaoka, Construction of nanoantennas on the bacterial outer membrane, *Chem. Commun.*, 査読有, **50**,6252-6255(2014). DOI: 10.1039/c4cc01204f
- 12) H. Shiigi, T. Kinoshita, N. Shibutani, T. Nishino, T. Nagaoka, Efficient Collection and Sensitive Detection using Conducting Magnetic Microbeads, *Anal. Chem.*, 査読有, **86**(10), 4977-4981 (2014). DOI:10.1021/ac500452w

- 13) T. Kinoshita, H. Murakami, Y. Muranaka, Y. Yamamoto, T. Nishino, H. Shiigi, T. Nagaoka, Tracking the Growth of Tadpole-shaped Aggregates by Scanning Electron Microscopy, *Anal. Sci.*, 査読有, **30**(3), 319-322 (2014). DOI: 10.2116/analsci.30.319
- 14) H. Shiigi, Y. Muranaka, M. Iwamoto, K. Masuda, Y. Yamamoto, T. Nagaoka, One-step Preparation of Glucose Oxidase-Nanoparticle Hybrid, *BUNSEKI KAGAKU*, 査読有, **63**(2), 73-78 (2014). DOI: 10.2116/bunsekikagaku.63.73
- 15) H. Shiigi, T. Nagaoka, Molecularly Bridged Gold Nanoparticle Array for Sensing Applications, *Anal. Sci.*, 査読有, **30**(1), 89-96 (2014). DOI: 10.2116/analsci.30.89
- 16) H. Shiigi, Y. Muranaka, Y. Hatsuoka, Y. Yamamoto, T. Nagaoka, Electrochemical Catalytic Activity of Organic-Inorganic Hybrid Nanoraspberry Consisted of Gold Nanoparticle and Aniline Oligomer, *J. Electrochem. Soc.*, 査読有, **160**(11), H813-H817 (2013). DOI: 10.1149/2.058311jes
- 17) H. Shiigi, Y. Muranaka, Y. Yamamoto, T. Nagaoka, Simple Preparation of Microstructure by Using an Organic-Inorganic Rasperry-like Hybrid as a Building Block, *Anal. Sci.*, 査読有, **29**(10), 937-939 (2013). DOI: 10.2116/analsci.29.937
- 18) 椎木 弘, 床波志保, 長岡 勉, 分子鑄型を用いる化学センサの開発と応用, 査読無, *化学工学*, **64**(4), 27-32 (2013).
- 19) 椎木 弘, 長岡 勉, 金ナノ粒子2次元構造体の作製と電気的センシングへの応用, *Electrochemistry*, 査読有, **81**(8) 646-649 (2013). DOI: 10.5796/electrochemistry.81.646
- 20) S. Tokonami, Y. Nakadoi, M. Takahashi, M. Ikemizu, T. Kadoma, D. Le, H. Shiigi, T. Nagaoka, Label-Free and Selective Bacteria Detection Using a Film with Transferred Bacterial Configuration, *Anal. Chem.*, 査読有, **85**(10), 4925-4929 (2013). DOI: 10.1021/ac3034618
- 21) P. T. Bui, T. Nishino, Y. Yamamoto, H. Shiigi, Quantitative Exploration of Electron Transfer in a Single Non-covalent Supramolecular Assembly, *J. Am. Chem. Soc.*, 査読有, **135** (14), 5238-5241 (2013). DOI: 10.1021/ja312019p

[学会発表] (計 26 件)

- 1) D. Le, T. Kinoshita, A. Morishita, S. Tokonami, T. Nishino, H. Shiigi, T. Nagaoka, Conducting polymers for bacterial detection: Applications to sensors and trapping agents, Pacificchem2015, Dec.15-20, 2015, Honolulu (United States).
- 2) M. Fukuda, T. Kinoshita, H. Shiigi, T. Nagaoka, Optical nanoantenna for bacterial detection, Pacificchem2015, Dec-15-20, 2015, Honolulu (United States).
- 3) S. Suekuni, T. Tamura, H. Shiigi, T. Nagaoka, Development of an observation platform for

- bacterial activity using conducting polymer films doped with bacteria, Pacificchem2015, Dec-15-20, 2015, Honolulu (United States).
- 4) M. Takai, K. Ishiki, H. Shiigi, T. Nagaoka, Electrochemical evaluation of bacterial viability using fluorescent labels, Pacificchem2015, Dec-15-20, 2015, Honolulu (United States).
- 5) D. Le, A. Morishita, S. Tokonami, T. Nishino, H. Shiigi, T. Nagaoka, Voltammetric sensing and profiling of isoprenoid quinones hydrophobically transferred from bacterial cells deposited on an ITO electrode, 2015 Asian Conference on Chemical Sensor, Nov.16-18, 2015, Penang (Malaysia).
- 6) S. Suekuni, M. Takai, T. Tamura, D. Le, S. Tokonami, H. Shiigi, T. Nagaoka, Development of Bio-Platform Using Conducting Polymer Films for Bacterial Activity, 2015 Asian Conference on Chemical Sensor, Nov.16-18, 2015, Penang (Malaysia).
- 7) T. Kinoshita, M. Fukuda, D. Nguyen, K. Ishiki, T. Nishino, H. Shiigi, T. Nagaoka, Nanoantenna for Bacterial Detection, 2015 Asian Conference on Chemical Sensor, Nov.16-18, 2015, Penang (Malaysia).
- 8) D. Le, M. Takai, S. Suekuni, S. Tokonami, H. Shiigi, T. Nagaoka, Development of Conducting Polymer-based Platforms for Monitoring Bacterial Activity, 7th East Symposium on Functional Dyes and Advanced Materials, Sep. 2-5, 2015, 大阪府立大学 (大阪・堺) .
- 9) T. Kinoshita, M. Fukuda, H. Shiigi, T. Nagaoka, Optical Detection of Pathogenic Bacteria Using Nanocomposite as a Biomarker, 7th East Symposium on Functional Dyes and Advanced Materials, Sep. 2-5, 2015, 大阪府立大学 (大阪・堺) .
- 10) D. Nguyen, T. Kinoshita, H. Shiigi, T. Nagaoka, Fluorescence Enhancement of Nanoraspberry Composed of Gold Nanoparticles and Aniline Oligomer, 7th East Symposium on Functional Dyes and Advanced Materials, Sep. 2-5, 2015, 大阪府立大学 (大阪・堺) .
- 11) T. Nagaoka, S. Tokonami, T. Nishino, H. Shiigi, D. Le, Fabricated with Conducting Polymers Doped with Template Bacteria, G-012-008, 1st E-MRS/MRS-J Bilateral Symposia, Dec. 10-12, 2014, 横浜市開港記念会館 (神奈川・横浜) .
- 12) T. Kinoshita, M. Fukuda, T. Nishino, H. Shiigi, T. Nagaoka, Electron Microscopic Tracking Growth Process of Tadpole-Shaped Hybrid Composed of Au NPs and Polyaniline, 19th ICFIA, Nov. 30-Dec. 05, 2014, アクロス福岡 (福岡) .
- 13) D. Le, T. Nishino, S. Tokonami, H. Shiigi, T. Nagaoka, Electrochemical Characteristics of Poly (3,4-Ethylenedioxythiophene) Doped with Bacteria, 19th ICFIA, Nov. 30-Dec. 05, 2014, ア

クロス福岡（福岡）。

14) T. Kinoshita, Y. Hatsuoka, H. Nakao, T. Nishino, Y. Yamamoto, H. Shiigi, T. Nagaoka, Electron Microscopic Tracking Growth Process of Tadpole-Shaped Nanoparticles Aggregate, 13th European Vacuum Conference, Sep. 8-12, 2014, Aveiro (Portugal).

15) D. Le, H. Shiigi, T. Nishino, S. Tokonami, T. Nagaoka, Bacteria-Imprinted Conducting Polymers for Applications to Bacteria Monitoring Platforms and Sensors, 13th European Vacuum Conference, Sep. 8-12, 2014, Aveiro (Portugal).

16) Y. Hatsuoka, M. Fukuda, T. Kinoshita, S. Tokonami, H. Nakao, T. Nishino, H. Shiigi, T. Nagaoka, Formation of Nanoantenna on a Bacterium, 13th European Vacuum Conference, Sep. 8-12, 2014, Aveiro (Portugal).

17) T. Nagaoka, H. Shiigi, Development of Bacteria-imprinted Conducting-polymers for Bacterial Monitoring and Sensor Applications, ECOS30, Aug. 31-Sep. 5, 2014, Antalya (Turkey).

18) H. Shiigi, M. Fukuda, T. Kinoshita, Y. Hatsuoka, T. Nishino, T. Nagaoka, Formation of Nanoantenna on a Bacterial Surface, ECOS30, Aug. 31-Sep. 5, 2014, Antalya (Turkey).

19) D. Le, H. Shiigi, S. Tokonami, T. Nagaoka, Bacteria-imprinted conducting-polymer based sensors/detectors, 18th ICFIA, Sep. 15-20, 2013, Porto (Portugal).

20) D. Le, K. Saimatsu, S. Tokonami, H. Shiigi, T. Nagaoka, Immobilization of bacteria into conducting polymer film, 18th CFIA Sep. 15-20, 2013, Porto (Portugal).

21) M. Kinoshita, N. Shibutani, Y. Yamamoto, H. Shiigi, T. Nagaoka, Development of Electrochemical Biodetection System Using Magnetic Conducting Microbeads, RSC Tokyo International Conference, Sep. 5-6, 2013, 幕張メッセ（千葉・幕張）。

22) Y. Hatsuoka, L. Q. Dung, H. Shiigi, T. Nagaoka, Electrochemical Analysis of Bacteria Using Fluorescent Labels, A220, RSC Tokyo International Conference, Sep. 5-6, 2013, 幕張メッセ（千葉・幕張）。

23) T. Okada, K. Takada, M. Fukuda, T. Tono, D. Le, S. Tokonami, T. Nishino, H. Shiigi, T. Nagaoka, Surface Analysis of Bacteria Using Gold Nanoparticle, AsiananalysisXII, Aug. 22-24, 2013, 九州大学（福岡）。

24) K. Saimatsu, S. Suekuni, D. Le, S. Tokonami, H. Shiigi, T. Nagaoka, Immobilization of Living Bacteria into Polypyrrole Film, AsiananalysisXII, Aug. 22-24, 2013, 九州大学（福岡）。

25) D. Le, K. Saimatsu, Y. Hatsuoka, S. Tokonami, H. Shiigi, T. Nagaoka, Immobilization of Bacteria into PEDOT Film, AsiananalysisXII, Aug. 22-24, 2013, 九州大学（福岡）。

〔図書〕（計6件）

1) 椎木 弘, 長岡 勉, 基礎分析化学, 198 (173-185), (2015), 朝倉書店.

2) 長岡 勉, 椎木 弘, 床波志保, 導電性ポリマー材の高機能化と用途開発最前線, 286 (195-201), (2014), エヌ・ティー・エス.

3) 椎木 弘, 床波志保, 陳 智棟, 長岡 勉, バイオセンサの先端科学技術と新製品への応用開発, 534 (131-135), (2014), 技術情報協会.

4) 床波志保, 中田啓之, 椎木 弘, 長岡 勉, 製品中に含まれる（超）微量成分・不純物の同定・定量ノウハウ, 818 (679-684), (2014), 技術情報協会.

5) 長岡 勉, 椎木 弘, プラズモンナノ材料開発の最前線と応用, 280 (103-111), (2013), CMC 出版.

6) 床波志保, 椎木 弘, 長岡 勉, 金属ナノ・マイクロ粒子の最新技術と応用, 236 (218-224), (2013), CMC出版.

〔産業財産権〕

○出願状況（計1件）

名称：被検出微生物を検出する検出方法

発明者：椎木 弘, 長岡 勉

権利者：公立大学法人大阪府立大学

種類：特許

番号：特願 2013-174694

出願年月日：平成 25 年 8 月 26 日

国内外の別：国内

〔その他〕

ホームページ等

分子認識化学研究グループホームページ

<http://www.chem.osakafu-u.ac.jp/ohka/ohka12/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

椎木 弘 (SHIIGI HIROSHI)

大阪府立大学・工学研究科・准教授

研究者番号：70335769

(2) 連携研究者

長岡 勉 (NAGAOKA TSUTOMU)

大阪府立大学・工学研究科・教授

研究者番号：00172510

床波 志保 (TOKONAMI SHIHO)

大阪府立大学・工学研究科・准教授

研究者番号：60535491

西野 智昭 (NISHINO TOMOAKI)

東京工業大学・大学院理学研究科・准教授

研究者番号：80372415