

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 12 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H03542

研究課題名(和文)多機能ナノピペット探針の電気化学的物質輸送制御と1細胞分析への応用

研究課題名(英文)electrochemical control of mass transfer and single cell analysis by multifunctional nanopipet

研究代表者

珠玖 仁 (Shiku, Hitoshi)

東北大学・工学研究科・教授

研究者番号：10361164

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：近年、1細胞分析が高感度化・ハイスループット化し、大腸癌患者の実組織試料を用いて、1細胞レベルでの網羅的遺伝子発現解析が報告されている。しかし現行法では、組織試料から1細胞分析を行う際には高性能セルソーターによる細胞分取が不可欠であり、組織試料の中での細胞個々の位置情報が失われてしまう点が問題であった。本研究では、走査型プローブ顕微鏡により組織モデルの高解像度画像を取得し、標的細胞から低侵襲的に極微量サンプルを高精度に回収して網羅的遺伝子発現解析をおこなう装置システムの開発を目的とする。

研究成果の概要(英文)：Recently, single-cell analysis has been developed to achieve highly sensitive and high-throughput system. Large-scale data analysis of gene expression profiles for actual tissue samples of colorectal cancer patients. However, in the present stage, expensive cell sorter is required to perform single-cell analysis of tissue samples. And the cell sorting process lose information about the original location of the single cells in the tissue samples. We have developed a single-cell analytical tool based on scanning probe microscopy to obtain high-resolution topographic images of tissue model. Sequentially, the SPM system allows to precisely collect a targeted single-cell or a part of cytosol sample from a single-cell for high-throughput gene expression analysis.

研究分野：分析化学

キーワード：走査型プローブ顕微鏡 液液界面 遺伝子発現解析 組織モデル 胚性幹細胞 分化誘導 イオンコン
ダクタンス 電気化学

1. 研究開始当初の背景

走査型プローブ顕微鏡(SPM)は、生細胞やタンパク質 1 分子のリアルタイムイメージングをはじめバイオロジーの分野でも数多くの発見の端緒となってきた。我々は、プローブの多機能化或いは任意の座標における細胞試料の回収といった独自のアプローチにより、SPMを基盤とするバイオイメージングの研究領域の発展に貢献してきた。我々が確立した、SPMをプラットフォームとする 1 細胞レベルの網羅的遺伝子発現解析の工程では、1) 1 細胞回収探針の開発と 2) 並列定量 PCR の 2 つのプロセスが特に重要な研究開発要素となっている。

(1) 1 細胞回収探針の開発: 我々は、SPM システムで生細胞の高解像度イメージングに適用可能な多機能ナノピペット探針の開発に取り組んだ。特に、酸化還元電流とイオンコンダクタンス応答を距離制御信号に用いて高解像度走査型電気化学顕微鏡-イオンコンダクタンス顕微鏡(SECM-SICM)を世界で初めて考案した(特願 2009□140602)。ダブルパレル型ピペット探針では、2 つの異なる信号を得る。即ち、一方のチャンネルに電解液を満たし、SICM 探針によりイオン電流を観測する。イオン電流を探針 サンプル間距離制御信号に用いた場合、高解像度 SICM 画像が得られる。もう一方のチャンネルには、ブタンガスの熱分解により炭素電極を析出させ、電気化学反応に起因するファラデー電流により、酸化還元種や酵素の分布を得ることができる。

(2) 並列定量 PCR: 我々は、最も単純な組織モデルである球形の細胞塊(スフェロイド)に注目し、細胞塊の増殖活性・薬剤感受性・分化能が同一細胞種を 2 次元培養した場合と比べ異なることを研究してきた。細胞塊の直径が 400 μm 以上の場合、中心部の酸素濃度はほぼゼロとなる。これに伴い細胞塊の表面と中心では、細胞個々の微小環境が位置依存的に異なり、好氣的代謝から嫌氣的代謝にシフトする。胚性幹(ES)細胞の場合は、分化誘導過程で形成される胚様体と呼ばれる細胞塊の局所酸素濃度が、分化の方向に影響を与える。さらに、分化誘導培地に添加される成長因子の濃度が表面と中心部では異なっている。我々はこれまでに、流路集積化デバイスを搭載した市販の網羅的定量 PCR と高速セルソーターを組み合わせて、マウス ES 細胞の細胞塊のサイズ・酸素消費・分化経路の方向性の関係(H. Shiku *Mol. BioSyst.* 2013, 9, 2701-2711)、ヒト乳癌細胞塊の代謝経路の変化(H. Zhou *Anal. Biochem.* 2013, 439(2), 187-193)に関して、遺伝子発現プロファイルを個々の細胞塊レベルで解析することに成功している。本研究により組織モデルにおける位置情報を保持したまま、個々の細胞の遺伝子発現プロ

ファイルを 1 細胞レベルで解析することが可能になれば、微小環境を反映する細胞個々の位置情報と遺伝子発現の関係がより明確になると期待できる。マウス ES 細胞由来の細胞塊から 1 細胞分散懸濁液を得て、1 細胞遺伝子発現プロファイルから、個々の 1 細胞の分化状態の違いをクラスタリング解析した(H. Zhou et al. *Mol. BioSyst.* 2015, 11, 2560-2567)。その結果、ES 細胞から分化させた細胞群の中に混入した未分化状態の細胞を検出することができた。しかし現状では、細胞塊中の位置情報を反映させた 1 細胞分析には成功していない。

組織を構成する単一細胞内の mRNA 発現評価を行うハイスループットな技術として、細胞バーコード技術が注目されている。これは、mRNA と特異的に結合するポリ T 配列と、数塩基~数十塩基のランダムなヌクレオチド配列(インデックス配列)を有する核酸タグを数多く作成し、単一細胞ごとに核酸タグと結合、シーケンシング技術によってインデックス配列ごと mRNA 情報を読み取ることで、細胞ごとの mRNA の区別化が可能であり、細胞バーコード技術と呼ばれている。しかし、流路デバイスなどを用いて組織を単一細胞ごとに分散させる必要があり、位置情報の保持が出来ない。我々は、局所連続細胞回収ならびに複数細胞の同時遺伝子解析を目指し、電圧制御により 1 本のナノプローブ内部に有機相-水相の積層が行える積層型探針と核酸タグの開発を試みた。

2. 研究の目的

近年、1 細胞分析が高感度化・ハイスループット化し、大腸癌患者の実組織試料を用いて、1 細胞レベルでの網羅的遺伝子発現解析が報告されている。しかし現行法では、組織試料から 1 細胞分析を行う際には高性能セルソーターによる細胞分取が不可欠であり、組織試料の中での細胞個々の位置情報が失われてしまう点が問題であった。本研究では、走査型プローブ顕微鏡により組織モデルの高解像度画像を取得し、標的細胞から低侵襲的に極微量サンプルを高精度に回収して網羅的遺伝子発現解析をおこなう装置システムの開発を目的とする。

3. 研究の方法

【電気化学シリンジ】 SICM 探針と有機電解質充填探針を集積化し、水相-有機相 2ch 多機能ナノピペット探針を作製した。有機相は電気化学シリンジの役割を担い、液間電位を印加すると、油水界面が移動し 1 pL ($=10^{-12}$ L) 以下のサンプルを回収した。もう片方の水相チャンネルでは、イオン電流に基づき高解像度 SICM 形状画像を取得する。

【電場破碎プローブ】2本の炭素電極を集積化した Double barrel carbon Probe (DBCP) 探針を用い、マウス ES 細胞由来の血管新生モデルの局所的網羅的遺伝子発現解析を検討した。電極間に電圧パルス(500 V, 10 μ sec)を印加し局所の細胞片を回収した。定量 PCR およびハイスループット定量 PCR(BioMark HD, Fluidigm)により遺伝子発現を定量化した。

【並列定量 PCR、積層プローブと核酸タグ】回収操作の効率向上を目的とし、水相と有機相を 1ch のガラスピペットに積層する方法を考案した。電気化学シリンジの原理を応用し局所連続細胞回収ならびに複数細胞の同時遺伝子解析を目指した。

mRNA を捕捉する際に用いられるポリ T 配列 20 塩基分のプライマーと 100 塩基分のインデックス配列を連結した核酸タグを複数種類設計・合成した。核酸タグを用いて mRNA の捕捉と逆転写反応ができることを確認した。核酸タグが混在する溶液から、各々の核酸タグを個別に検出、定量が可能であることを確認するため、PCR を用いて選択的配列の増幅・検出が可能であることを確認した。

4. 研究成果

【電気化学シリンジ】水相-有機相 2ch 多機能ナノピペット探針を作製し、水相パレルで観測するイオン電流をフィードバック信号に用いることで、生細胞の高解像度の SICM 形状画像を取細胞得した。単一の生きた線維芽細胞の SICM イメージングを取得した後、画像上の任意のポイントを指定し、多機能ピペット探針の有機相側に電位を印加し mRNA を回収することに成功した(電気化学シリンジ)。核近傍と細胞周縁部から細胞質を回収し、定量 PCR により遺伝子発現を定量化した。核近傍と細胞周縁部では、ハウスキーピング遺伝子 GAPDH の発現量に違いが無かった。一方、細胞骨格 ACTB 遺伝子の発現量は、核近傍よりも細胞周縁部のほうが多いことが確認できた。さらに穿刺後の細胞活性を蛍光染色で判定した結果、細胞周縁部の穿刺後 100% の細胞が生存していた。核近傍の穿刺後も 80% 近くの単一細胞が生存しており、SPM をプラットフォームとする局所遺伝子発現解析法の低侵襲性が示された。

マウス ES 細胞、ES 由来分化誘導細胞、ヒト乳がん細胞 MCF-7、ヒト血管内皮細胞 HUVEC から遺伝子回収に成功した。電気化学シリンジの特性を明らかにするために、電流電位曲線を取得し、光学顕微鏡および CCD カメラ観察下の幾何体積の算出と PCR による核酸総量との関係を明らかにした。

細胞に対するダメージを減らすためにイオン分布やイオン電流の解析を行った。電気化

学シリンジの探針(1ch)を単層上に播種した細胞および細胞塊に向けて近接させ、その際のイオン電流を記録した。イオン電流に基づき距離制御および走査型電気化学顕微鏡(SICM)像の取得が可能であることが確認できた。

シート型の 2ch ピペットの片方に熱分解で炭素を析出させ、走査型電気化学顕微鏡(SECM)の探針として用いた。もう片方のピペットでイオン電流を観測しながら SICM 形状画像を取得した。ポリスチレンビーズに酵素を固定化したモデルサンプルとして、形状と電気化学活性の同時取得を実施した。

【電場破碎プローブ】DBCP 探針を用い、血管新生モデルの局所的網羅的遺伝子発現解析を検討した。血管先端に位置し伸長方向を制御する Tip Cell と、それに後続して血管管腔を形成する Stalk Cell の存在を免疫染色によりあらかじめ確認した。マウス ES 細胞由来の胚様体をコラーゲンに包埋し VEGF 添加低酸素下 10 日培養した試料を血管新生モデルとして作製した。胚様体から伸展する血管部の領域では血管内皮マーカー遺伝子に加え、Tip Cell, Stalk Cell のマーカー遺伝子の部位特異的発現を確認できた。

【並列定量 PCR、積層プローブと核酸タグ】水相にはリン酸緩衝溶液 PBS を使用し、有機相には 100 mM の支持塩 Tetrahexylammonium tetrakis (4-chlorophenyl) borate (THATPBCl) を溶媒 1,2-ジクロロエタンに溶解させ用いた。支持塩濃度が 100 mM の場合、5 層目まで油水界面を維持したまま吸引可能であることを確認した。支持塩濃度が 10 mM, 50 mM の場合、1 層目吸引時から電流値が不安定化し、3 層目程度で油水界面が崩れ、それ以上の積層が困難であった。有機相に支持塩が含まれていない場合、電流値が不安定で有機相の吸引自体が困難であった。

水相と有機相を 1 本のピペット内に積層する方式により、インジェクションおよび mRNA の捕捉の作業効率向上を検討した。細胞から Total RNA を抽出後、逆転写試薬内に核酸タグを混合し cDNA を合成した。核酸タグはポリ T 配列を有しているために、市販の RT PrimerMix の代用として逆転写反応が可能であることを確認した。複数細胞種の同時遺伝子解析を実施した。積層探針内に複数種類の核酸タグが混在している場合でも、マーカー遺伝子の同時検出が可能であることを定量 PCR により確認した。積層プローブを用いて、複数核酸タグを別々に吸引、積層させ、探針の先端部を折ることで同時検出が可能であることがわかった。

サンプルリザーバーを設計・作製することにより、SPM 画像取得時の任意の座標における細胞試料を回収しリザーバーの各アドレス

に吐出する操作の自動化を検討した。実際に配列化できたサンプルウェルは $3 \times 3 = 9$ 個であるが、核酸試料を電気化学シリンジの原理に基づき回収することが可能となった。1細胞ごとに蛍光色素と種類の異なる核酸タグを同時にインジェクションする系を検討した。

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 22 件)

1. K. Ino, T. Onodera, Y. Kanno, A. Suda, R. Kunikata, T. Matsue, H. Shiku. Electrochemicolor imaging of endogenous alkaline phosphatase and respiratory activities of mesenchymal stem cell aggregates in early-stage osteodifferentiation. *Electrochimica Acta* 査読有 268, (2018) 554-561. DOI: 10.1016/j.electacta.2018.02.094
2. M. Terauchi, K. Ino, Y. Kanno, S. Imai, H. Shiku, T. Matsue. Micropatterning of Nafion membranes on an electrode array using photolithographic and lift-off techniques for selective electrochemical detection and signal accumulation. *Chem. Lett.* 査読有 47(2), (2018) 204-206. DOI:10.1246/cl.171031
3. S. Ostrovidov, S. Ahadian, J. Ramon-Azcon, V. Hosseini, T. Fujie, P. P. Selvakumar, H. Shiku, T. Matsue. H. Kaji, M. Ramalingam, H. Bae, A. Khademhosseini. Three-dimensional co-culture of C2C12/PC12 cells improves skeletal muscle tissue formation and function. *J. Tissue Eng. Reg. Med.* 査読有 11, (2017) 582-595. DOI: 10.1002/term.1956
4. F. Ozawa, K. Ino, Y. Takahashi, H. Shiku, T. Matsue. Cell Sheet Fabrication Using RGD Peptide-Coupled Alginate Hydrogels Fabricated by an Electrodeposition Method. *Chem. Lett.* 査読有 45, (2017) 605-608. DOI: 10.1246/cl.170003
5. K. Ino, Y. Kanno, Y. Yamada, H. Shiku, T. Matsue. Binary number-based digital electrochemical detection using a single working electrode with multiple sensors. *Electrochem. Commun.* 査読有 77, (2017) 76-80. DOI: 10.1016/j.elecom.2017.02.016
6. K. Hiramoto, M. Yasumi, H. Ushio, A. Shunori, K. Ino, H. Shiku, T. Matsue. Development of Oxygen Consumption Analysis with an on-Chip Electrochemical Device and Simulation. *Anal. Chem.* 査読有 89(19), (2017) 10303-10310. DOI: 10.1021/acs.analchem.7b02074
7. Y. Kanno, K. Ino, H. Abe, C. Sakamoto, T. Onodera, K. Y. Inoue, A. Suda, R. Kunikata, M. Matsudaira, H. Shiku, T. Matsue. Electrochemicolor Imaging using an LSI-Based Device for Multiplexed Cell Assays. *Anal. Chem.* 査読有 89 (23), (2017) 12778-12786. DOI: 10.1021/acs.analchem.7b03042
8. K. Ino, M. Şen, H. Shiku, T. Matsue. Micro/nanoelectrochemical probe and chip

- devices for evaluation of three-dimensional cultured cells. *Analyst* 査読有 142(23), (2017) 4343-4354. DOI: 10.1039/c7an01442b
9. Y. Takahashi, H. Ida, Y. Matsumae, H. Komaki, Y. Zhou, A. Kumatani, M. Kanzaki, H. Shiku, T. Matsue. 3D electrochemical and ion current imaging using scanning electrochemical-scanning ion conductance microscopy. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 査読有 19, (2017)26728-26733. DOI: 10.1039/c7cp05157c
 10. 松岡涼, 青柳重夫, 松本尚志, 松平昌昭, 高橋康史, 熊谷明哉, 井田大貴, 棟方裕一, 飯田克彦, 珠玖 仁, 金村聖志, 末永智一, 超高解像度電気化学顕微鏡の創成と応用. *Electrochemistry*, 査読有 85(6), (2017) 319-326. DOI:10.5796/electrochemistry.85.319
 11. K. Ino, Y. Kanno, K. Y. Inoue, A. Suda, R. Kunikata, M. Matsudaira, H. Shiku, T. Matsue. Electrochemical motion tracking of microorganisms using a large-scale integration-based amperometric device. *Angew. Chem. Int. Ed.* 査読有 56, (2017) 6818 - 6822. DOI: 10.1002/anie.201701541
 12. H. Ida, Y. Takahashi, A. Kumatani, H. Shiku, T. Matsue. High speed scanning ion conductance microscopy for quantitative analysis of nanoscale dynamics of microvilli. *Anal. Chem.* 査読有 89(11), (2017) 6015-6020. DOI: 10.1021/acs.analchem.7b00584.
 13. Y. Takahashi, A. Kumatani, H. Shiku, T. Matsue. Scanning Probe Microscopy for Nanoscale Electrochemical Imaging. *Anal. Chem.* 査読有 89(1), (2017) 342-357. DOI: 10.1021/acs.analchem.6b04355
 14. H. Hibino, M. Takai, H. Noguchi, S. Sawamura, Y. Takahashi, H. Sakai, H. Shiku. An approach to the research on ion and water properties in the interphase between the plasma membrane and bulk extracellular solution. *Journal of Physiological Sciences*, 査読有 67(4), (2017) 439-445. DOI: 10.1007 / s12576-017- 0530-3.
 15. H. Ito, M. Tanaka, Y. Zhou, Y. Nashimoto, Y. Takahashi, K. Ino, T. Matsue, H. Shiku. Continuous collection and simultaneous detection of picolitter volume of nucleic acid samples using mille-feuille probe. *Anal. Bioanal. Chem.* 査読有 409 (4), (2017) 961-969. DOI: 10.1007/s00216-016-0006-y
 16. H. Ito, Y. Nashimoto, Y. Zhou, Y. Takahashi, K. Ino, H. Shiku, T. Matsue. Localized gene expression analysis during sprouting angiogenesis in mouse embryoid bodies using a double barrel carbon probe. *Anal. Chem.* 査読有 88(1), (2016) 610-613. DOI: 10.1021 / acs. analchem. 5b04338
 17. Y. Nashimoto, Y. Takahashi, Y. Zhou, H. Ito, H. Ida, K. Ino, T. Matsue, H. Shiku. Evaluation of mRNA localization using double barrel scanning ion conductance microscopy. *ACS Nano* 査読有 10 (7), (2016) 6915-6922. DOI:

10.1021/acsnano.6b02753

18. H. Shiku, N. Aoki, T. Arai, Y. Zhou, K. Y. Inue, K. Ino, T. Matsue. Sequential Monitoring of Oxygen Consumption Rate of Mouse Embryo Bodies in Glucose-Depleted Solution. *Electrochemistry* 査読有 84, (2016) 302-304. DOI: 10.5796/electrochemistry.84.302
19. H. Ida, K. Ino, J. Suzuki, Y. Kanno, H. Shiku, T. Matsue. Redox cycling-based electrochemical reporter gene assay for single cells using a scanning electrochemical microscope-microwell system. *Electrochemistry* 査読有 84, (2016) 308-311. DOI: 10.5796/electrochemistry.84.308
20. H. Abe, Y. Kanno, K. Ino, K. Y. Inoue, A. Suda, R. Kunikata, M. Matsudaira, H. Shiku, T. Matsue. Electrochemical imaging for single-cell analysis of cell adhesion using a collagen-coated large-scale integration (LSI)-based amperometric device. *Electrochemistry* 査読有 84, (2016) 364-367. DOI: 10.5796/electrochemistry.84.364
21. F. Ozawa, K. Ino, H. Shiku, T. Matsue. Electrochemical hydrogel lithography of calcium-alginate hydrogels for cell culture. *Materials* 査読有 9(9), (2016) 744-. DOI: 10.3390/ma9090744
22. Y. Zhou, K. Ino, H. Shiku, T. Matsue. Evaluation of senescence in individual MCF-7 spheroids based on electrochemical measurement of senescence-associated β -galactosidase activity. *Electrochim. Acta* 査読有 186, (2015) 449-454. doi: 10.1016/j.electacta.2015.10.115

[学会発表](計 23 件)

1. H. Shiku, Noninvasive electrochemical characterization of multicellular spheroids and embryoid bodies. 9th International workshop on nanostructures & nanoelectronics, Sendai (2018).
2. 珠玖 仁, Characterization of multicellular spheroids and embryoid bodies by electrochemical imaging. 第 95 回日本生理学会大会, 高松市(2018)
3. 珠玖 仁, 多機能電極プローブによる細胞塊の 1 細胞解析. 電気化学会第 85 回大会, 葛飾区(2018)
4. 珠玖 仁, 多点電極デバイスによる三次元培養系試料の電気化学イメージング. 第 8 回生体界面研究会, 野田市(2018)
5. 珠玖 仁, 多機能電極プローブによる生細胞・生体界面の局所分析. 日本分析化学会第 66 年会, 葛飾区(2018)
6. H. Shiku, Oxygen Consumption of Individual Mammalian Embryos, Embryoid Bodies, and Multicellular Spheroids Probed by Scanning Electrochemical Microscopy. The 19th Chongqing ART Conference 2017, Chongqing (2017).
7. 珠玖 仁, 走査型イオンコンダクタンス顕微鏡による細胞・生体界面のナノイメージング. 2017 年真空学会・表面科学会合同講演会, 横浜市(2017).
8. 珠玖 仁, 電気化学センシングに基づく生

体機能評価. 米ちのく分析科学シンポジウム 2017, 弘前市(2017).

9. Y. Takahashi, H. Shiku, T. Matsue, Visualization of Nanoscale Neuron Surface Topography and Detection of Neurotransmitter Release Using Nano Electrochemical Microscopy. PITTCON2016, Atlanta (2016).
10. H. Shiku, Electrochemical micro- and nano-analysis of embryos and embryonic stem cells. Tohoku University's Chemistry Summer School 2016, Sendai (2016).
11. H. Shiku, Scanning probe microscopy for high-resolution and multi-functional images. 平成 28 年度化学系学協会東北大会, いわき市(2016).
12. 珠玖 仁, センシング技術による細胞機能評価. 第 39 回教師のための化学教育講座, 仙台市(2016).
13. H. Shiku, Scanning Electrode Probe Technique for Analyzing Tissue Models at Single Cell Level. The XXII International Symposium on Bioelectrochemistry and Bioenergetics, Malmoe, Sweden, (2015).
14. 珠玖 仁, 胚様体における多項目分析および単一細胞レベルの遺伝子発現解析ツールの開発. 日本動物細胞工学会大会 JAACT2015, 仙台市(2015)
15. 珠玖 仁, 青柳重夫, 電気化学計測に基づく受精卵および細胞塊の機能評価装置の開発. 日本分析化学会第 64 回年会, 福岡市(2015).
16. H. Shiku, Multi-functional Nanopipette Probe for Single-cell Analysis of Tissue Models. 日本分析化学会第 64 回年会, アジア分析科学シンポジウム, 福岡市(2015)
17. H. Ito et al, High throughput Electrode Probe Techniques for Local Gene Expression Analysis of Tissue Model. The 10th International Symposium on Chemical- Environmental-Biomedical Technology-2015, Hsinchu, Taiwan (2015).
18. 宮下紘介ら, ガラスピペット内における細胞塊の培養とエクソソームの検出. 2015 年電気化学秋季大会, 埼玉県(2015).
19. 周縁殊ら, 走査型電気化学顕微鏡を用いた細胞老化評価法の開発. 2015 年電気化学秋季大会, 埼玉県(2015).
20. 伊藤秀矩ら, 組織内におけるハイスループット局所遺伝子解析. 第 5 回 CSJ 化学フェスタ, 東京(2015).
21. H. Shiku, Integrated nanopipette probes to obtain high-resolution bio-functional images. 第 25 回日本 MRS 年次大会, 横浜市 (2015).
22. H. Shiku, mRNA analysis of living cells after capturing SICM topography of the living cell membrane. The 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Scientists, Honolulu, Hawaii (2015).
23. Y. Zhou et al. Evaluation of senescence-associated β -galactosidase activity in single cell using scanning electrochemical

microscope. The 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Scientists, Honolulu, Hawaii (2015).

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

<https://www.che.tohoku.ac.jp/~est/member.html>

6 . 研究組織

(1)研究代表者

珠玖 仁 (SHIKU, Hitoshi)

東北大学・大学院工学研究科・教授

研究者番号：10361164