

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 5 月 29 日現在

機関番号：32612

研究種目：挑戦的研究（開拓）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K18164

研究課題名（和文）機械的メタマテリアルとDNAゲルの融合による生化学構造色センサの高感度化

研究課題名（英文）High sensitivity biochemical hydrogel sensor exhibiting structural color by using mechanical meta-materials and DAN gel

研究代表者

尾上 弘晃（Onoe, Hiroaki）

慶應義塾大学・理工学部（矢上）・教授

研究者番号：30548681

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 20,000,000円

研究成果の概要（和文）：機械的メタマテリアルをDNAハイドロゲルおよび構造色ゲルと組み合わせることにより、高感度かつ目視で検出可能な生化学マイクロゲルセンサを実現した。刺激応答性ゲルと構造色ゲルにより、ステップ付きサンドイッチ構造を形成することで、通常の約2倍の感度での検知に成功した。また、ヒスタミンの核酸アプタマーとスケード連鎖伸長反応による膨潤可能なDNA-アクリルアミドゲルを形成し、ヒスタミンの検出に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

刺激応答性ハイドロゲルとコロイド結晶を組み合わせた構造色ハイドロゲルは、ゲルの潤収縮を目視や簡便な光学システムにより色変化の情報として取得可能であり、化学物のモニタリングセンサ応用として、安価なヘルスケア分野でのセンサ素子や低環境負荷のモニタリングセンサの分野で有望である。本研究により、機械的構造による変位拡大機構と刺激応答性ゲルを統合することにより、刺激応答性ゲルセンサの感度の向上を実現した。これにより、従来までの分子設計に基づくゲルセンサ高感度化のアプローチとは異なり、機械的な構造によりゲルの膨潤収縮を拘束・拡大することでハイドロゲル化学センサの高感度化が可能であることを示した。

研究成果の概要（英文）：A highly sensitive and visually detectable biochemical microgel sensor was realized by combining mechanical metamaterials with DNA hydrogels and structural color gels. By forming a stepped sandwich structure with a stimuli-responsive gel and a structural color gel, we succeeded in detecting with about twice the sensitivity of conventional sensors. In addition, a swellable DNA-acrylamide gel was formed by a histamine nucleic acid aptamer and scade chain elongation reaction, and histamine was successfully detected.

研究分野：BioMEMS, ソフトマテリアル

キーワード：DNAゲル 構造色センサ 機械的メタマテリアル 生化学センサ DNAアプタマー

1. 研究開始当初の背景

近年の IoT (Internet of Things) 環境の発展に伴い、環境保全や監視を目的とした環境中化学物質の濃度検知や、ヒトの健康維持管理のための生体情報検出のために、生化学物質のモニタリングの需要が高まっている。これらの実現に向け、環境への多数のセンサの設置や、身体に負荷無くセンサを取り付けるためのウェアラブル化が求められているが、現行の化学分析装置は高精度ではあるが可搬性に乏しく、また安価で簡便な使い捨て化学試験紙では継続した計測が困難である。そのため小型で省エネルギーかつ持続的計測 (モニタリング) が可能な化学センサの実現が渴望されている。

このような現状の中、生化学物質に対して選択的に応答して膨潤・収縮して色が変わる刺激応答性構造色ハイドロゲルが、化学物質モニタリングのセンサ素子として着目されている。このゲルは膨潤・収縮が可視光領域における光の反射波長ピークシフト (色の変化) として取得できるため、目視や簡便な光学システムにより情報を取得可能であり、省エネルギーかつ小型デバイスへの応用として有望である。例えば、河川や養殖水槽内の重金属イオン濃度監視 (Ye et al, *Nanoscale*, 4, 5998, 2012) や、涙内の糖度の目視計測を可能とするコンタクトレンズ (Alexeev et al, *Clinical Chem.* 50, 2353, 2004) などが代表的な応用例であり、センサ設置のコストや採血などの糖尿病患者の負荷を大幅に減らすことが期待される。

しかしながら、このような優れた利点にもかかわらず、刺激応答性構造色ゲルを用いた化学センサ素子は実用には至っていない。その理由の一つとしては、計測対象物質の濃度変化に対するセンサの感度が絶対的に不足しているためであり、刺激応答性ゲルセンサの科学技術としての根本的な課題点となっている。そのため、従来より高分子化学や材料科学の観点から、高分子を新たにデザインすることで感度向上が試みられてきたが、現状としては素材 (高分子素材) 開発だけでは上記課題の克服が困難であり高分子材料・化学センサ分野におけるボトルネックとなっている。

2. 研究の目的

本研究提案では、マイクロスケールの「機械的な変位拡大機構」を「刺激応答性構造色ゲルセンサ」に融合させることで、従来の高分子化学のアプローチとは異なる「機械的な機構×刺激応答性ゲル」という発想に基づき、上記の課題の解決を図るとともに新規の科学技術の方向性を開拓する。

具体的には、変位拡大マイクロ機構を高精密 3D 造形装置で構成し、その機構内に刺激応答性ゲル (検知部) と構造色ゲル (読取り部) を配置する。

3. 研究の方法

(1) DNA アプタマーゲルによる検知部

刺激応答性ゲルとして、長期的に安定であり物質との選択的反応を塩基配列よりデザイン可能な DNA アプタマーゲルを用いる。DNA アプタマーとは特定の物質のみと高い親和性を持つ一本鎖 DNA 分子であり、多様な物質に対してライブラリ化されている。この DNA アプタマーをハイドロゲルの中に化学架橋により固定化、もしくは相補的 DNA により二重らせん構造を構成し、検知部として用いる。

(2) 変位拡大機構と構造色ゲルによる読取り部

DNA アプタマーを架橋および浸透させたゲルの挙動 (検出部) が、変位拡大マイクロ機構を介して隣接する構造色ゲル (読取り部) に伝わり、機械的な変位拡大により高感度での構造色の色変化を実現する。一般的にこのような変位拡大機構は「機械的メタマテリアル」と呼ばれ、外力印加時の物体のひずみで定義されるポアソン比を自由に設計でき (高ポアソン比 $\nu = 0.5-20$ や負のポアソン比 $\nu < 0$ など)、自然界に素材としては存在しない機械変形特性を材料へ付与することが可能である。

4. 研究成果

(1) 機械的な変位拡大機構を有する構造色ハイドロゲル生化学センサ (図 1)

刺激応答性構造色ハイドロゲル生化学センサの感度を機械的に拡大できる、汎用性の高いデバイス構造を考案した。このデバイスは、構造色ハイドロゲル部分と刺激応答ハイドロゲル部分、マイクロステップ構造を持つ上下 2 枚の基板間に別々に配列されており (サンドイッチ構造)、2 つのハイドロゲル部分の間に高さの差が生じている。この高さの違いにより、収縮率が刺激応答性ハイドロゲル部分よりも色調応答性ハイドロゲル部分の方が大きくなる。実験によ

り、今回考案したマイクロステップ付きサンドイッチ構造を持つ水ゲルセンサは、このような構造がない通常の水ゲルを用いた生化学センサの5倍から10倍の高感度が達成された。エタノール応答性水ゲルと温度応答性水ゲルを本デバイスに適用し、従来のセンサと比較して感度が拡大することを確認した。本センサデバイスは、医療用途などで実用的な感度でセンシングを行うための有効なアプローチになると考えている。

(2) 核酸アプタマーとカスケード DNA 伸長ゲルを統合したヒスタミン定量センシング (図2)

DNA ゲルによる生化学物質の定量センシングのために、RNA アプタマーと DNA 架橋ゲルを統合した、ヒスタミンに対する刺激応答性ゲルセンサを考案した。核酸アプタマーは対象物質を認識する特異性が高いため、カスケード DNA 伸長ゲルを核酸分子反応により連結することで、ヒスタミンに反応する膨潤ゲルシステムを構築する。

DNA 架橋ゲルはフォトリソグラフィ法を用いて作製した。アクリルアミド(1.26M)、アクリロキシエチルチオカルバモイルローダミン B(2.5mM)、Irgacure 1173(1%(v/v))を含むプレゲル溶液を調製した。ゲルに浸透させる核酸アプタマー反応液には、RNA アプタマー(3 μM)、H0 鎖(0.4 μM)、H1 鎖(8 μM)、H2 鎖(8 μM)、H1T 鎖(0.2 μM)、H2T 鎖(0.2 μM)で構成されている。ヒスタミンの定量検出のために、5つの異なる濃度(0 mM、2 mM、5 mM、10 mM、20 mM)のヒスタミンとの反応試料を調製した。作製したゲルを96ウェルプレートに単離し、各ウェルに100 μLの核酸アプタマー反応液を加えた。ゲルは10時間、室温で反応させ、定期的に蛍光観察を実施した。

ヒスタミンの定量計測は、反応液中のヒスタミン濃度を変えてゲルの膨潤度を比較することで評価し、結果として0-20 mMの範囲で5 mMごとに濃度を検知することを達成された。このシステムはアプタマーの塩基配列を変更するだけで多様な物質検知に展開可能であり、汎用的な生化学センサの検出基盤となることが期待できる。

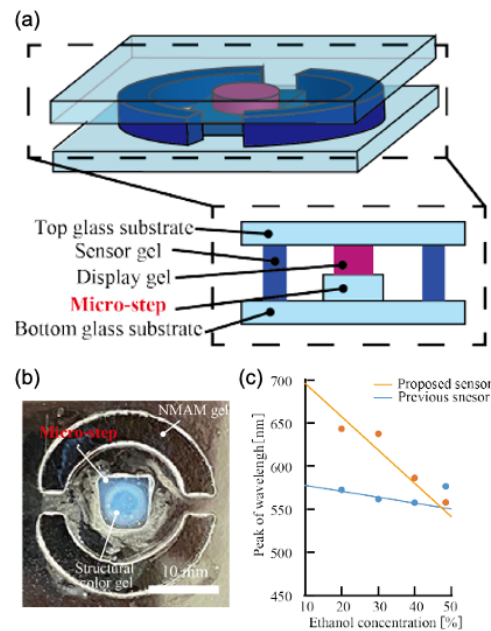


図1 機械的な変位拡大機構を有する構造色水ゲル生化学センサ

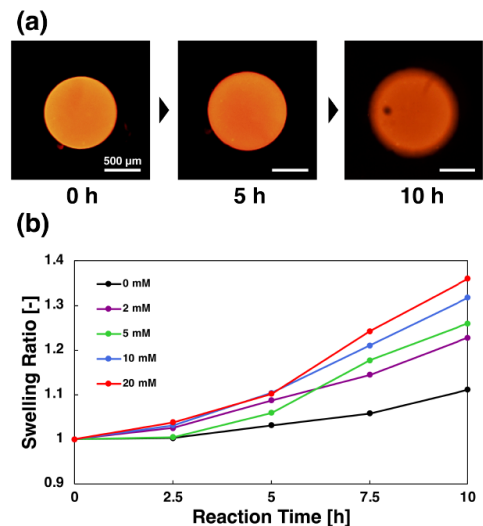


図2 核酸アプタマとカスケード DNA 伸長ゲルを統合したヒスタミン定量センシング

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 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Satofumi Kato, Yurika Ishiba, Masahiro Takinoue, Hiroaki Onoe	4. 巻 -
2. 論文標題 Histamine-responsive hydrogel biosensor based on aptamer recognition and DNA-driven swelling hydrogels	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 ACS Applied Bio Materials	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） 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 Yoshida Koki, Hayashi Tomoki, Takinoue Masahiro, Onoe Hiroaki	4. 巻 12
2. 論文標題 Repeatable detection of Ag ⁺ ions using a DNA aptamer-linked hydrogel biochemical sensor integrated with microfluidic heating system	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 9692
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-022-13970-z	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 Koki Yoshida, Hiroaki Onoe	4. 巻 -
2. 論文標題 Marangoni-propulsion micro-robots integrated with a wireless photonic colloidal crystal hydrogel sensor for exploring the aquatic environment	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Advanced Intelligent Systems	6. 最初と最後の頁 2100248
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/aisy.202100248	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 Maru Ando, Mio Tsuchiya, Shun Itai, Tomomi Murayama, Yuta Kurashina, Yun Jung Heo, Hiroaki Onoe,	4. 巻 21
2. 論文標題 Janus hydrogel microbeads for glucose sensing with pH calibration	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Sensors	6. 最初と最後の頁 4829
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/s21144829	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13件(うち招待講演 0件/うち国際学会 10件)

1. 発表者名 Satofumi Kato, Masahiro Takinoue, Hiroaki Onoe
2. 発表標題 Dual-sensing Mechanical Hydrogel Biosensor Composed by Aptamer Recognition and DNA Logic Gates
3. 学会等名 The 36th International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS 2023) (国際学会)
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Satofumi Kato, Yurika Ishiba, Masahiro Takinoue, Hiroaki Onoe
2. 発表標題 DNA-powered multitarget stimuli-responsive gel sensor for the sensing of histamine and caffeine
3. 学会等名 The 27th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Science (microTAS 2023) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Tomomi Murayama, Koki Yoshida, Yuta Kurashina, Hiroaki Onoe
2. 発表標題 In-ice polymerization for functional hydrogel microbead with flash freezing centrifugal microfluidic device
3. 学会等名 The 36th International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS 2023) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Satofumi Kato, Yurika Ishiba, Masahiro Takinoue, Hiroaki Onoe
2. 発表標題 A Hydrogel Chemical Sensor Based on Aptamer Recognition and DNA Strand Replacement Reactions
3. 学会等名 The 29th International Conference on DNA Computing and Molecular Programming (DNA29) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Satofumi Kato, Yurika Ishiba, Masahiro Takinoue, Hiroaki Onoe
2. 発表標題 DNA cross-linked modular stimuli-responsive gel sensor utilizing nucleic acid reaction for microfluidic systems
3. 学会等名 The 22nd International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems (Transducers 2023) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Satofumi Kato, Yurika Ishiba, Masahiro Takinoue, Hiroaki Onoe
2. 発表標題 Quantitative Sensing of Histamine by Integrating an RNA Aptamer and a Photolithographically-Patterned Stimuli-Responsive DNA Gel
3. 学会等名 The 18th Annual International Conference on Micro/Nano Engineered and Molecular Systems (NEMS 2023) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Ryohei Ueno, Shota Yamawaki, Hiroaki Onoe
2. 発表標題 Mechanically-sensitivity-tunable structural-color chemical sensor combined with DNA-aptamer hydrogel for visible silver ion detection
3. 学会等名 The 26th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Science (microTAS), Onsite-online hybrid (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 加藤智史, 石羽友莉花, 瀧ノ上正浩, 尾上弘晃
2. 発表標題 DNAのカスケード伸長反応を利用したDNA架橋ゲルによる抗原センサ
3. 学会等名 日本機械学会 第13回マイクロ・ナノ工学シンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Shota Yamawaki, Hiroaki Onoe
2. 発表標題 Mechanically magnified sensitivity enhancement with micro-step substrate for eye-recognizable structural-color hydrogel biochemical sensors
3. 学会等名 The 35th International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS 2022) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Maru Ando, Mio Tsuchiya, Shun Itai, Tomomi Murayama, Yuta Kurashina, Yun Jung Heo, Hiroaki Onoe
2. 発表標題 Janus hydrogel microbeads for glucose sensing with pH calibration
3. 学会等名 The 25th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Science (microTAS) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Ryohei Ueno, Shota Yamawaki, Hiroaki Onoe
2. 発表標題 Stimuli-responsive structural-color hydrogel chemical sensor microarray with separated functional structures
3. 学会等名 The 21st International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems (Transducers 2021) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 石羽友莉花, 上野遼平, 山脇翔太, 瀧ノ上正浩, 尾上弘晃
2. 発表標題 食品中の細菌検査のための薄膜型DNAアプタマーゲルセンサ
3. 学会等名 日本機械学会 第12回マイクロ・ナノ工学シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉田光輝, 尾上弘晃
2. 発表標題 構造色ハイドロゲル搭載型マイクロロボット
3. 学会等名 日本機械学会 第12回マイクロ・ナノ工学シンポジウム
4. 発表年 2021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
研究 分担者	岩瀬 英治 (Iwase Eiji) (70436559)	早稲田大学・理工学術院・教授 (32689)	
研究 分担者	瀧ノ上 正浩 (Takinoue Masahiro) (20511249)	東京工業大学・情報理工学院・教授 (12608)	

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