

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 6月 5日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011 ~ 2012

課題番号：23710143

研究課題名（和文）

バイオナノカプセルを用いた多機能バイオイメーキングプローブの開発

研究課題名（英文）

Bio-nanocapsules for multifunctional bio-imaging probes

研究代表者

飯嶋 益巳 (IIJIMA MASUMI)

名古屋大学・生命農学研究科・研究員

研究者番号：40390728

研究成果の概要（和文）：本研究は、バイオナノカプセルを用いて同動物種・サブクラス由来の抗体を用いた多種類の抗原の同時マルチカラー検出法「*IRODORI*」技術の開発に成功した。本研究成果により、免疫化学的検出において長年技術的課題であった使用抗体の動物種およびサブクラスに関する制限を根本的に解消できることが示され、「バイオナノカプセルを用いた多機能バイオイメーキングプローブ」の有効性を明らかにした。

研究成果の概要（英文）：Here, we developed the “*IRODORI* method” which can detect multiple antigens simultaneously, regardless of the animal species and subclasses of IgGs. Thus, bio-nanocapsules are expected to be a new platform for the multifunctional bio-imaging probes.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|-------|-----------|-----------|-----------|
| 交付決定額 | 3,500,000 | 1,050,000 | 4,550,000 |

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：ナノ・マイクロ科学・ナノ材料・ナノバイオサイエンス

キーワード：バイオナノカプセル、免疫アッセイ、マイクロアレイ、生体分子、

バイオイメーキングプローブ、抗体の整列化、高感度化、免疫センサー

1. 研究開始当初の背景

抗体を用いて特定の抗原を検出する免疫アッセイ法は、環境科学分野や医学分野のみならず、広く生命科学領域において必須な解析方法である (Gizeli E. et al. *Curr Opin Biotechnol.* 1996)。免疫複合体の検出には、主に、酵素標識法 (EIA)、放射標識法 (RIA)、蛍光標識法 (FIA) などが用いられているが、最近では従来法に加え、迅速かつ高感度に分子相互作用の観察が可能であることから Surface Plasmon Resonance (SPR) や Quartz Crystal Microbalance (QCM) の免疫センサーシステムが注目されている (Liedberg B. et al. *Sensors and Actuators*, 1983)。これらの測定においてセンシングの感度を増幅させるためには、抗原と効率よく結合させるために、抗体の配向性を揃えてナ

ノ粒子や基板の表面に提示する「抗体の整列化」技術の開発が最も重要な課題となる (RAO SV. et al. *Mikrochim. Acta.* 1998)。

そこで研究代表者は、B型肝炎ウイルス表面抗原 L タンパク質を含む中空ナノ粒子・バイオナノカプセル (BNC) (Kuroda S. et al. *J. Biol. Chem.* 1992) の L タンパク質 N 末端領域の一部を *Staphylococcus aureus* の Protein A 由来の IgG-Fc 結合 Z ドメイン (Nilsson B. et al. *Protein Eng.* 1987) 2 量体に置換した ZZ-L タンパク質 (約 120 分子) と脂質二重膜から形成される「ZZ-BNC」(図 1) を用いて (Tsutsui Y. et al. *J Control Release.* 2007)、ZZ-BNC の高い抗体結合能 (抗体 60 分子/ZZ-BNC) に着目し、抗体提示型 ZZ-BNC を用いた高感度免疫センサーの開発を行った。その結果、ELISA 法による

固相化抗原の検出系において、マウス由来標識化二次抗体を結合させた ZZ-BNC を使用したところ、二次抗体のみに比べ検出感度が約 10 倍上昇し、更にウェスタンブロット法においては、検出感度が 50 倍上昇した(Iijima M. et al. *Anal. Biochem.* 2010)。これらの結果は、ZZ-BNC 表面上に標識抗体がクラスター化して、免疫複合体あたりの標識物質の濃度が高まったためと考えられた。更に、QCM 法のセンサーチップに ZZ-BNC を介して抗体を固定化し、抗原の結合量を測定した結果、抗体を基板に直接固定化した場合に比べ、検出感度が約 150 倍上昇することが明らかとなった (Iijima M. et al. *Biomaterials*, accept (雑誌論文 14))。これらの結果は、ZZ-BNC 表面上で多数の抗体が整列化されたことにより抗原の認識能が高まったためと考えられたことから、ZZ-BNC は様々なイムノアッセイの高感度化を可能にする極めて有効なバイオナノ材料であると考えられた。そこで、抗体提示型 ZZ-BNC を用いたセンシング技術の更なる展開として、様々な蛍光色素あるいは標識分子を用いたバイオイメージング解析への応用を着想した。多くのイムノアッセイで用いられる抗原特異的の一次抗体および標識化二次抗体を用いた間接抗体法では、二次抗体のクロストークの問題から同一動物種由来・同一サブタイプの一次抗体を同時に使用できないため、複数の抗原の同時検出が困難となる。そこで研究代表者は ZZ-BNC の特性を生かし、従来不可能であった同一動物種由来・同一サブタイプの一次抗体を用いて高感度に複数抗原の同時検出を可能にする、革新的なバイオイメージングプロトコル「*IRODORI*」技術の開発を目指した。種々の蛍光色素(Cyanine, Cy) で標識した ZZ-BNC (Cy-ZZ-BNC) を作製し、各一次抗

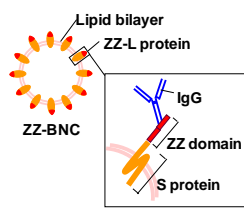


図 1: ZZ-BNC の構造

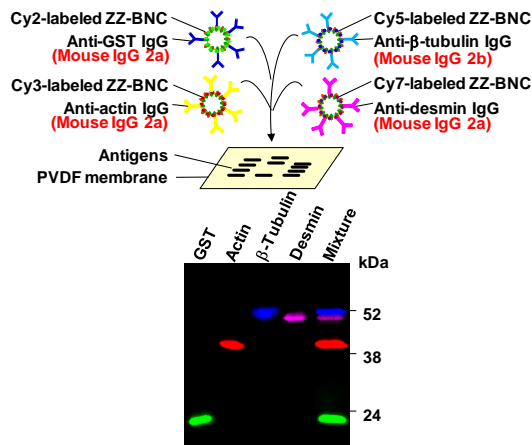


図 2: ウェスタンブロット法における蛍光標識 ZZ-BNC を用いた高感度マルチカラー検出

体-Cy-ZZ-BNC 複合体をウェスタンブロット法および培養細胞の蛍光免疫染色に応用した結果、従来法に比べ抗原タンパク質の検出感度が約 10 倍上昇した。更に 4 種類の抗原の同時検出系では、従来不可能であった同動物種・サブクラス由来の抗体を用いて 4 種類の抗原のマルチカラー検出に初めて成功し(図 2)、蛍光標識 ZZ-BNC の高感度バイオイメージングプローブとしての可能性を示した(特許出願 (2))。

2. 研究の目的

本研究は、上記の *IRODORI* 技術を様々なイムノアッセイ (フローサイトメトリー、免疫電顕) へ応用し、各アッセイの高感度化、高機能化、高効率化を図ることで、実用化に向けた技術開発を目的とした。更に、抗体提示型 ZZ-BNC を固相上に固定化することで、抗体ナノアレイ法 (抗原蛍光標識法、ラベルフリーマルチ SPR 法)における血中の既知の癌マーカーの網羅的解析法および新規癌マーカーの探索法を確立し、従来法の迅速化および 1000 倍の超高感度化を可能にする *IRODORAY*の開発を目標とした。

3. 研究の方法

(1) 標識分子-ZZ-BNC を用いた高感度多抗原同時検出法「*IRODORI*」技術の開発

① IgG-Cy-ZZ-BNC 複合体の抗体置換の評価

蛍光標識-ZZ-BNC の作製は、ZZ-BNC (1 mg)と Cy2-, Cy5-bis-Reactive Dye (GE)の各標識色素をそれぞれ混合し、室温で一時間反応後 Sephadex G-25 に供し、Cy2-ZZ-BNC および Cy5-ZZ-BNC を作製した。IgG-Cy-ZZ-BNC 複合体は、anti-EGFR (細胞表面レセプター上皮成長因子受容体) mouse IgG2a (片山化学工業) (1 μg)と Cy5-ZZ-BNC (5 μg)および Bis[sulfosuccinimidyl] suberate (BS3) (0-50 μM)を PBS (50 μL)中で混合して室温で 30 分間反応し、anti-EGFR mouse IgG2a-Cy5-ZZ-BNC 複合体 (IgG 濃度 20 μg/mL)を作製した。この時、Mouse total IgG, Human total IgG, Rat total IgG, Mouse IgG1, Mouse IgG2a, Mouse IgG2b (Sigma) (0-160 μg/mL)を各々添加し、室温で 30 分間反応した。ヒト扁平上皮ガン A431 細胞(1 × 10⁶ 細胞)を 2.5% (w/v) BSA/PBS (1 mL)でブロッキング後、100 μL/tube に分注し、各 anti-EGFR mouse IgG2a-Cy5-ZZ-BNC 複合体を添加して 4°C で 1 時間反応後、フローサイトメーター FACSCantoII (BD) を用いて EGFR を測定し、FASDiva Software (BD Bioscience)により 20,000 細胞を解析した。

② 蛍光標識 ZZ-BNC を用いた FACS 解析への応用 (シングルカラーイメージング)

IgG-Cy-ZZ-BNC 複合体は、anti-EGFR mouse IgG2a または anti-Integrin β 1 mouse IgG2a (Santa Cruz) (1 μ g) と、Cy2-ZZ-BNC または Cy5-ZZ-BNC (5 μ g) を PBS (50 μ L) 中で混合して室温で 30 分間反応し、anti-EGFR mouse IgG2a-Cy2-ZZ-BNC 複合体および anti-Integrin β 1 mouse IgG2a-Cy5-ZZ-BNC 複合体を作製した。なお、mouse total IgG-Cy-ZZ-BNC 複合体をネガティブコントロールとした。各複合体を A431 細胞(1×10^6 細胞)に添加し、4°C で 1 時間反応後、フローサイトメーターを用いて EGFR またはインテグリン β 1 の測定を行った。この時、Cy2 標識 goat anti-mouse IgG または Cy5 標識 goat anti-mouse IgG 二次抗体 (Jackson ImmunoResearch Laboratories, Inc.) (1 μ g) による従来法と比較した。

③ 蛍光標識 ZZ-BNC を用いた FACS 解析への応用 (マルチカラーイメージング)

(1)-(2)の方法で作製した Anti-EGFR mouse IgG2a-Cy2-ZZ-BNC 複合体および anti-Integrin β 1 mouse IgG2a-Cy5-ZZ-BNC 複合体を混合して室温で 30 分間反応した。A431 細胞(1×10^6 細胞)に添加し、4°C で 1 時間反応後、フローサイトメーターを用いて EGFR およびインテグリン β 1 の同時測定を行った。

④ 金コロイド標識 ZZ-BNC を用いた免疫電顕への応用

金コロイド標識 ZZ-BNC の作製は、ZZ-BNC と Mono-sulfo-NHS-Nanogold (1.4, 5 nm, Nanoprobes) を混合し、室温で 1 時間反応後 Sephadex G-25 に供し、1.4 または 5 nm 金コロイド-ZZ-BNC を作製した。IgG-金コロイド-ZZ-BNC 複合体は、anti-FLAG mouse IgG2a (Sigma) (1 μ g) と各金コロイド-ZZ-BNC (5 μ g) および 0-50 μ M BS3 を混合して室温で 30 分間反応し、anti-FLAG mouse IgG2a-金コロイド-ZZ-BNC 複合体を作製した。各複合体は透過型電子顕微鏡 (TEM) (H7500, HITACHI) により観察した。

(2) 抗体提示型 ZZ-BNC を用いた抗原蛍光標識法「IRODORAY」技術の開発

ZZ-BNC (0-5 μ g/spot) をガラススライド上へ添加し、室温で 30°C 反応して固定した後、anti-actin mouse IgG2a (Sigma), anti- β -tubulin IgG2b (Millipore), anti-desmin mouse IgG2a (Abnova), anti-chicken rabbit total IgG (Sigma) (1 μ g/spot) および 50 μ M BS3 を添加し、室温で 30 分間反応して抗体提示型 ZZ-BNC を作製した。Cy3 標識抗原 (Cy3-actin, Cy3- β -tubulin, Cy3-desmin, Cy3-chicken IgY) (0-5 μ g/spot) を各々添加し、蛍光イメージアナライザー (OV100,

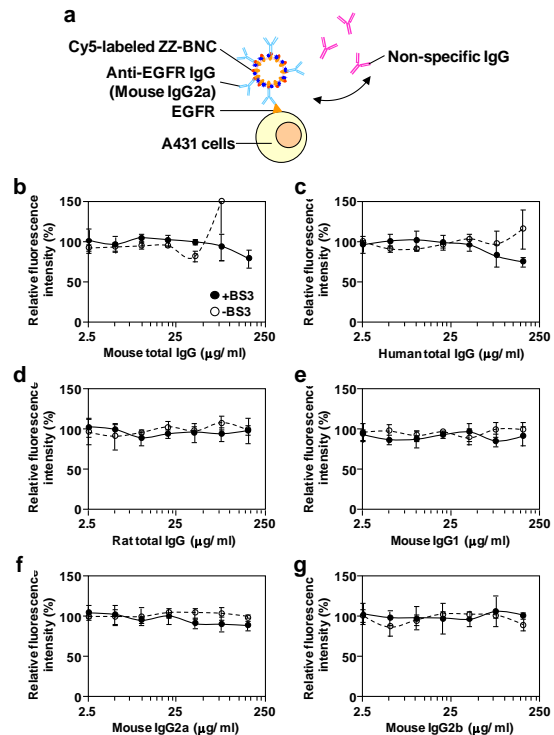


図 3: IgG-Cy-ZZ-BNC 複合体の抗体置換の評価

Olympus) を用いて解析した。

4. 研究成果

(1) 標識分子-ZZ-BNC を用いた高感度多抗原同時検出法「IRODORI」技術の開発

① IgG-Cy-ZZ-BNC 複合体の抗体置換の評価

ZZ-BNC 表層の ZZ-L タンパク質のリジン残基 (15 個) のアミノ基と、NHS (N-hydroxysuccinimide)-Cy との化学反応により Cy-ZZ-BNC を作製した結果、ZZ-L タンパク質 1 分子あたり Cy 色素は 1-3 分子標識された。そこで、標識分子による ZZ-BNC と IgG の結合への影響を評価するために、QCM により Cy-ZZ-BNC と Rabbit total IgG の結合量を測定した。その結果、ZZ-BNC は IgG が 43 分子結合したが、Cy-ZZ-BNC は 28 分子の IgG が結合したことから、色素標識による ZZ-BNC の抗体結合能はわずかに減少することが示唆された。しかし本研究における IgG-Cy-ZZ-BNC 複合体は、Cy-ZZ-BNC:IgG=1:9 (mol:mol) で作製することから、Cy-ZZ-BNC の抗体結合能は十分に保持されていることを明らかにした。

次に、anti-EGFR mouse IgG2a-Cy5-ZZ-BNC 複合体 (IgG 濃度 20 μ g/mL) を用いて、架橋剤 (50 μ M BS3) の有無による非特異抗体 (0-160 μ g/mL) との置換頻度の評価を行った (図 3a)。フローサイトメトリーにより A431 細胞表層の EGFR 発現量 (蛍光強度) を測定した結果、0 μ M BS3 では、ZZ-BNC と結合能が高い Mouse total IgG を 40 μ g/mL 添加した時、蛍光強度が 82% に

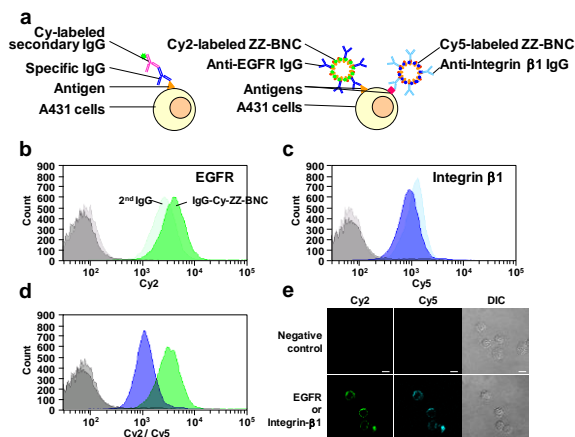


図4: 蛍光標識 ZZ-BNC を用いた FACS 解析への応用 (シングル(b, c), マルチカラー(d, e))

減少したことから、IgG の置換が起こることが示唆された(図 3b)。さらに 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 以上を添加すると蛍光強度は 150% に上昇したことから、複合体が凝集することが示唆された。一方、50 μM BS3 で架橋した場合、160 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 添加しても検出可能だったことから、IgG-Cy-ZZ-BNC は BS3 により安定化することが示唆された。同様に、0 μM BS3 では、ZZ-BNC と結合能が高い Human total IgG を 160 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 添加すると蛍光強度は 115% に上昇したが、50 μM BS3 により IgG-Cy-ZZ-BNC は安定化することが示唆された(図 3c)。一方、ZZ-BNC と結合能が低いあるいは中程度の非特異抗体(Rat total IgG(図 3d), Mouse IgG1(図 3e), Mouse IgG2a(図 3f), Mouse IgG2b(図 3g))は、BS3 の有無による差はほとんど認められなかった。以上より、IgG-Cy-ZZ-BNC 複合体は、BS3 非存在下では 2 倍量の抗体、また、BS3 存在下では 8 倍量の抗体を添加しても置換はほとんど起こらないことを明らかにした。

② 蛍光標識 ZZ-BNC を用いた FACS 解析への応用 (シングルカラーイメージング)

anti-EGFR mouse IgG2a-Cy2-ZZ-BNC 複合体または anti-Integrin β 1 mouse IgG2a-Cy5-ZZ-BNC 複合体を用いて、フローサイトメトリーによる A431 細胞表面の EGFR または Integrin β 1 の発現量を測定した(図 4)。その結果、通常の蛍光標識二次抗体で検出する方法(図 4a 左)と比べて、抗原の検出感度が同等または上昇することを見出した(図 4b,c)。以上の結果は、ZZ-BNC は検出用抗体を表層にクラスター化および整列化し、検出用抗体 1 分子あたりの蛍光色素の分子数を高めると考えられた。

② 蛍光標識 ZZ-BNC を用いた FACS 解析への応用 (マルチカラーイメージング)

蛍光標識 ZZ-BNC をイメージングプローブとして展開するために、anti-EGFR mouse

IgG2a-Cy2-ZZ-BNC および anti-Integrin β 1 mouse IgG2a-Cy5-ZZ-BNC 複合体を用いて、フローサイトメトリーにより A431 細胞表面の EGFR および Integrin β 1 の同時検出を行った(図 4a 右)。その結果、同じ動物種およびサブクラス由来の一次抗体を用いて 2 種類の抗原の同時検出を可能にした(図 4d)。なお、共焦点レーザー顕微鏡 (FV1000, Olympus) により細胞表面の特異的蛍光が観察された(図 4e)。以上の結果から、本研究により従来不可能であった同一動物種由来・同一サブタイプの一次抗体を用いて高感度に複数抗原の同時検出を可能にする、革新的なバイオイメージングプローブ「*IRODORI*」技術の開発を達成した。これらの研究成果は雑誌論文 (Iijima M. et.al. *Biomaterials*, 32, 9011-9020, (2011) (雑誌論文 12)) や学会発表等で報告し、社会・国民に向けて発信した。

④ 金コロイド標識 ZZ-BNC を用いた免疫電顕サンプルへの応用

蛍光色素以外の標識分子-ZZ-BNC による広範な *IRODORI* 技術の確立を目指し、金コロイドによる免疫電顕の検討を行った。1.4 および 5 nm 金コロイド-ZZ-BNC を作製し、anti-FLAG mouse IgG2a-金コロイド-ZZ-BNC 複合体を作製して TEM により観察した。その結果、1.4 nm 金コロイドは鮮明に検出できず、標識度合いを評価するのは困難であった(図 5 左)。これは、TEM の機能や分解能の低さが考えられた。一方、5 nm 金コロイドは鮮明に検出できたが、ZZ-BNC 表層に標識することで、IgG-金コロイド-ZZ-BNC 同士が凝集し分散性が著しく低下していた(図 5 右)。引き続き TEM の選定、金コロイドサイズおよび標識方法、さらに ZZ-BNC の分散性の最適化を検討し、免疫電顕への展開を試みている。

(2) 抗体提示型 ZZ-BNC を用いた抗原蛍光標識法「*IRODORAY*」技術の開発

抗原蛍光標識法について、小規模スケール(4 種類の抗原)を検討した結果、ガラススライド上に抗体を直接固定した従来法と比べて、抗体提示型 ZZ-BNC を用いた方法では、抗原の検出感度は \sim 2 倍上昇したことから、*IRODORAY* 技術実現の可能性が示された。

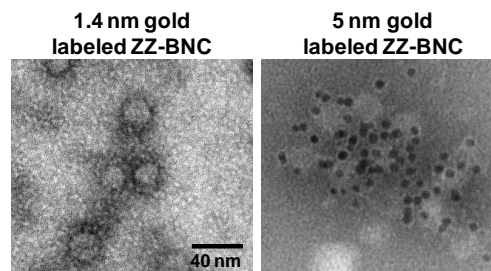


図5: IgG-金コロイド標識 ZZ-BNC 複合体の TEM 像

引き続き ZZ-BNC および抗体の固定化濃度や密度、各種架橋剤の最適化、さらにラベルフリーマルチ SPR 法の検討を進めている。

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 14 件)

1. Iijima, M., et al. (他 4 名) Nanocapsule-based probe for evaluating the orientation of antibodies immobilized on a solid phase. *Analyst*, 138, 3470-3477, (2013). DOI:10.1039/C3AN00481C. (査読有)
2. Miyata, T., et al. (9 名中 6 番目) A bio-nanocapsule containing envelope (E) protein domain III of Japanese encephalitis virus (JEV) protects mice against lethal JEV infection. *Microbiology and Immunology*, Accepted. DOI: 10.1111/j.1348-0421.12055 (査読有)
3. Iijima, M., et al. (他 4 名) Bio-nanocapsules for signal enhancement of alkaline phosphatase-linked immunosorbent assays. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 77, 843-846, (2013). (査読有)
4. Yoshimoto, N., et al. (14 名中 5 番目) An automated system for high-throughput single cell-based breeding. *Scientific Reports*, 3, 1191, (2013). DOI:10.1038/srep01191 (査読有)
5. Kida, A., et al. (6 名中 2 番目) Cell surface-fluorescence immunosorbent assay for real-time detection of hybridomas with efficient antibody secretion at the single-cell level. *Analytical Chemistry*, 85, 1753-1759, (2013). DOI: 10.1021/ac303067k (査読有)
6. Iijima, M., et al. (他 4 名) Nano-visualization of oriented-immobilized IgGs on immunosensors by high-speed atomic force microscopy. *Scientific Reports*, 2, 790, (2012). DOI:10.1038/srep00790 (査読有)
7. Matsuo, H., et al. (10 名中 3 番目) Engineered bio-nanocapsules, hepatitis B virus surface antigen L protein particles, for in vivo active targeting to splenic dendritic cells. *International Journal of Nanomedicine*, 7, 3341-3350, (2012). DOI: 10.2147/IJN.S32813 (査読有)
8. Hasebe, A., et al. (9 名中 5 番目) The C-terminal region of NELL1 mediates osteoblastic cell adhesion through integrin $\alpha 3 \beta 1$. *FEBS Letters*, 586, 2500-2506, (2012). DOI: 10.1016/j.febslet (査読有)
9. Somiya, M., et al. (7 名中 3 番目) Targeting of polyplex to human hepatic cells by bio-nanocapsules, hepatitis B Virus surface antigen L protein particles. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 20, 3873-3879, (2012). DOI: 10.1016/j.bmc (査読有)
10. Yamada, M., et al. (10 名中 4 番目) Hepatitis B virus envelope L protein-derived bio-nanocapsules: Mechanisms of cellular attachment and entry into human hepatic cells. *Journal of Controlled Release*, 160, 322-329, (2012). DOI:10.1016/j.jconrel (査読有)
11. Hasebe, A., et al. (8 名中 4 番目) Efficient production and characterization of recombinant human NELL1 protein in human embryonic kidney 293-F cells. *Molecular Biotechnology*, 51, 58-66, (2012). DOI:10.1007/s12033-011-9440-4 (査読有)
12. Iijima, M., et al. (他 5 名) Fluorophore-labeled nanocapsules displaying IgG Fc-binding domains for the simultaneous detection of multiple antigens. *Biomaterials*, 32, 9011-9020, (2011). DOI: 10.1016/j.biomaterials.2011.08.012 (査読有)
13. Jung, J., et al. (10 名中 2 番目) Efficient and rapid purification of drug- and gene-carrying bio-nanocapsules, hepatitis B virus surface antigen L particles, from *Saccharomyces cerevisiae*. *Protein Expression and Purification*, 78, 149-155, (2011). DOI: 10.1016/j.pep.2011.04.008 (査読有)
14. Iijima, M., et al. (他 15 名) Nanocapsules incorporating IgG Fc-binding domain derived from *Staphylococcus aureus* protein-A for displaying IgGs on immunosensor chips. *Biomaterials*, 32, 1455-1464, (2011). DOI: 10.1016/j.biomaterials.2010.10.057 (査読有)

[学会発表] (計 12 件、内招待講演 1 件)

[国内]

1. 飯嶋益巳 「バイオセンサー表面におけるセンシング分子方向性のナノレベル制御」電気化学会第 80 回大会、2013 年 3 月 29-31 日、仙台
2. 飯嶋益巳 「バイオナノカプセルによるバイオセンサーのナノレベル表面制御及び高機能化」日本農芸化学会 2013 年度大会、2013 年 3 月 24-28 日、仙台
3. 飯嶋益巳 「バイオナノカプセルを用いた生体分子整列化技術によるバイオセンサーの高機能化」2012 年度日本生物工学会中部支部例会若手講演、2012 年 8 月 2 日、名古屋

4. ○松尾英典「ワクチン抗原の能動的送達を可能にする樹状細胞標的化バイオナノカプセルの開発」第28回日本DDS学会学術集会、2012年7月4-5日、札幌
5. ○飯嶋益巳「バイオナノカプセルを用いた抗体整列化技術によるバイオセンサーの高感度化」日本農芸化学会2012年度大会、2012年3月22-26日、京都
6. ○飯嶋益巳「新しい抗体整列化技術（バイオナノカプセル）による高機能バイオセンサーの開発」第63回日本生物工学会大会、2011年9月26-28日、東京

[国外]

1. ○Iijima, M. Bio-nanocapsules for optimizing nanostructure of biosensor surface. *3rd International Conference on Bio-Sensing Technology*, 12-15 May, 2013, Sitges, Spain
2. ○Matsuo, H. In vivo active delivery of antigens to splenic dendritic cells by engineered bio-nanocapsules, hepatitis B virus surface antigen L protein particles. *Vaccine Technology IV*, 20-25 May, 2012, Albufeira, Portugal
3. ○Iijima, M. Bio-nanocapsules for a scaffold of oriented immobilization of antibodies in immunoassay systems. *Biosensors2012*, 15-18 May, 2012, Cancun, Mexico)
4. ○Iijima, M. Bio-nanocapsules as a scaffold of oriented immobilization of antibodies in highly sensitive immunoassay systems. *International Symposium on Innovative Nanobiodevices ISIN2012*, 21-22 March, 2012, Nagoya, Japan
5. ○Iijima, M. A new platform for bio-imaging probes based on oriented immobilization of biological sensing molecules. *The 15th SANKEN International Symposium 2012, The 10th SANKEN Nanotechnology Symposium Progress and Perspectives of Imaging Science and Technology-From Nano Structure To Human Behavior*, 12-13 January, 2012, Osaka, Japan (招待講演)
6. ○Iijima, M. Bio-nanocapsules for oriented immobilization of IgGs on immunosensor chips. *5th European Conference of the International Federation for Medical and Biological Engineering.*, 14-18 September, 2011, Budapest, Hungary

[図書] (計2件)

1. 飯嶋ら、(他1名)「バイオナノカプセルを用いるセンシング分子整列化技術」、バイオサイエンスとインダストリー、一般財団法人バイオインダストリー協会、印刷中

2. Iijima, M., et al. (他1名) Bio-nanocapsules for oriented immobilization of IgGs on immunosensor Chips. *Á. Jobbágy (Ed.): 5th European Conference of the International Federation for Medical and Biological Engineering 14-18 September 2011, Budapest, Hungary*, Springer-Verlag, 37, 1000-1003, (2012).

[産業財産権]

○出願状況 (計1件)

名称: バイオナノカプセル及びリポソームを含む複合体

発明者: 黒田俊一、松尾英典、良元伸男、飯嶋益巳、新川武

権利者: 同上

種類: 特許

番号: 特願 2012-080791

出願年月日: 2012年3月30日

国内外の別: 国内

○取得状況 (計1件)

名称: 多抗原同時検出用ナノ粒子

発明者: 黒田俊一、松崎高志、飯嶋益巳

権利者: 同上

種類: 特許

番号: 特開 2010-210444

取得年月日: 2010年9月24日

国内外の別: 国内

[その他]

ホームページ等

1. <http://www.natureasia.com/ja-jp/srep/abstracts/40899>

2. <http://www.natureasia.com/ja-jp/srep/abstracts/42558>

3. http://www.sanken.osaka-u.ac.jp/jp/operation/research_activities.html

4. <http://www.beacle.com/japanese/top.html>

5. <http://www.agr.nagoya-u.ac.jp/~tagen/tagen/home.html>

[受賞歴] (計2件)

1. 2012年度日本生物工学会中部支部例会若手講演 支部長賞、飯嶋益巳「バイオナノカプセルを用いた生体分子整列化技術によるバイオセンサーの高機能化」、2012年度日本生物工学会中部支部例会
2. 2010-2011年度 大阪大学論文100選、Iijima, M., et al. (雑誌論文14)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

飯嶋 益巳 (IIJIMA MASUMI)

名古屋大学・大学院生命農学研究科・

研究員

研究者番号: 40390728