

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 12 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24710114

研究課題名(和文) ナノベシクル1粒子ゼータ電位計測システムの開発とエキソソーム分析への応用

研究課題名(英文) Development of measurement system for single nanovesicles and application to analysis of exosome

研究代表者

赤木 貴則 (AKAGI, Takanori)

東京大学・工学(系)研究科(研究院)・講師

研究者番号：80401149

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円、(間接経費) 1,050,000円

研究成果の概要(和文)：直径100 nm以下のナノベシクルの重要な物性であるゼータ電位を1粒子で計測するためのチップ型システムの開発を目的として、マイクロキャピラリー電気泳動チップとレーザー暗視野光学系、および高感度イメージング技術を組合せて、ナノ粒子のゼータ電位計測技術を開発した。構築したシステムの性能を評価する実験の過程で、ナノ世界に特有な現象を発見すると共に、エキソソームと細胞とのゼータ電位との関係性にすいて見出した。更に、従来技術では困難な、個々のエキソソームの表面タンパク質へと応用した。本研究成果である本方法論は、今後のナノ医療、ナノ診断、ナノ生物学の分野における、重要な基盤技術となる可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：An on-chip microcapillary electrophoresis system with a laser dark-field microscopy system has been developed to study the electrophoretic behavior of single nanovesicles, and used to evaluate the electrophoretic mobility (EPM) distribution of nanovesicles. In the application of the evaluation of nanoliposomes, the size-dependent broadening of the EPM distribution of nanoliposomes due to the compositional fluctuation of a small number of lipid molecules was revealed for the first time. Subsequently, the system was applied for evaluating zeta-potential and surface proteins of single exosomes, which released from biological cells. These results suggested that this methodology is promising for single exosome analysis toward the future application of exosomes as disease biomarkers for low-invasivity diagnostics.

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：ゼータ電位 エクソソーム ナノ粒子 前立腺がん 乳がん マイクロ流体デバイス キャピラリー電気泳動

## 1. 研究開始当初の背景

細胞から分泌されるリン脂質二重膜で包まれる数十～数百 nm の膜小胞(ナノベシクル)が医療分野で注目されている。例えば、薬剤や核酸を標的細胞に直接届けて効率的に治療するドラッグデリバリーシステム(DDS)において、ナノリポソームが基材として期待されている。また、血液中に存在するナノベシクルであるエキソソームは、内包するタンパク質や核酸の分析による疾病の早期診断(ナノ診断)のマーカー候補として期待されている(C. Théry, Nat. Rev. Immunol., 2009)。更に、細胞生物学の分野では、細胞間情報伝達でのエキソソームの役割を探るナノ細胞生物学が注目されている。しかし、ナノベシクルの物理特性の評価技術は十分には確立されていない。今後、ナノベシクルを用いた治療や診断技術をより発展させていくためには、ナノベシクルの物理特性の正確な評価技術の開発が喫緊の課題である。

溶液中での挙動を規定するナノベシクルの物理特性は、拡散係数を規定する粒子径と、静電的相互作用を規定するゼータ電位である(M.C. Woodle, J. Drug Target, 1994)。従来、ナノベシクルのゼータ電位の測定には、電気泳動する粒子群にレーザーを入射させ、散乱光の波長の変化から電気泳動度(EPM)を求めるレーザードップラー電気泳動法(LDE)が用いられる(R. Barchini, Langmuir, 2000)。しかし、この方法では粒子個々の EPM を評価できないため、正確な EPM 分布を得ることは原理的に困難である。

我々は数年来、マイクロ流体デバイス技術を応用して作製したマイクロキャピラリー電気泳動( $\mu$ CE)チップと顕微光学系を組み合わせた、1粒子ゼータ電位評価システムについて研究してきた(Anal. Bioanal. Chem., 2008)。電気泳動に両端を開放させたマイクロキャピラリーを用いると電気浸透流が栓流となるため粒子の挙動が単純になる。即ち、従来装置では困難な、信頼性の高い電気泳動実験を簡便に行うことが可能である。このシステムを細胞のゼータ電位計測に応用し、細胞の状態とゼータ電位との関係を調べる過程で、両者間の密接な関係を見出した(Jpn. J. Appl. Phys., 2006, 2007, Trans. Mater. Res. Soc. Jpn., 2010)。これは独自開発した手法を用いて初めて得られた重要な知見である。しかしながら、本システムは明視野光学系で撮像するため、細胞ゼータ電位の精密測定には有効であるが、ナノベシクルの観察は原理的に困難であり、そのゼータ電位の計測に応用するには、最適な照明方法と撮像方法を検討する必要がある。

## 2. 研究の目的

上記の背景のもと、マイクロキャピラリー電気泳動チップと高感度検出系を組合せて、個々のナノベシクルのゼータ電位計測システムを開発し、エキソソームのゼータ電位計

測へ応用することを本研究の目的とした。

## 3. 研究の方法

①ナノベシクルゼータ電位計測チップ開発  
ソフトリソグラフィ法によりポリジメチルシロキサン(PDMS)製の電気絶縁性に優れ、光学的ひずみのないマイクロ流体チップを作製した。デッドボリュームがなく、形成が可能な形状である流路デザインとした。ナノベシクルの流路への非特異吸着を抑制するために、2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン(MPC)ポリマーを流路壁にコーティングした。

### ②ナノベシクル可視化法の検討

電気泳動により移動するナノベシクルの速度を計測するために、ナノベシクル可視化法を検討した。蛍光色素を内包したナノリポソームの撮像には、蛍光顕微鏡法を利用した。一方、蛍光色素を含まないエキソソームの撮像にはレーザ暗視野顕微鏡法と高感度検出系を組み合わせることで作製した。

### ③単一ナノリポソームのゼータ電位計測

エキソソームのモデル粒子としてアニオン性のリポソームを調製し、蛍光イメージングのために内部に蛍光物質カルセインを内封させた。ゼータ電位は負電荷脂質フォスファチジルセリン(PS)の割合によって制御し、粒子の変形等の影響がなく安定して電気泳動可能な脂質割合を選択した。粒子径は2ステップのフィルタリングで制御し、精製したベシクルのみメンブレン(孔径: 50-1000 nm)を通すことによって、単分散かつ分散の小さいリポソームを作製した。

測定システムは、 $\mu$ CE チップ、白金電極、直流電源、レーザ光源、倒立顕微鏡、EM-CCD カメラで構成し、マイクロキャピラリー内に導入した蛍光リポソームをレーザで励起し、その蛍光を EM-CCD カメラで検出することで、蛍光イメージングでの電気泳動計測を行った。

### ④単一エキソソームのゼータ電位計測

エキソソームサンプルは細胞の培養上清から分画超遠心法により精製した。細胞サンプルは、ヒト乳腺上皮細胞 MCF10A、2種類のヒト乳がん細胞乳がん細胞 MDA-MB-231 (MM231) 及び MDA-MB-231-D3H2LN (MM231LN)、ヒト前立腺上皮細胞 PNT2、2種類のヒト前立腺がん細胞 PC-3 及び PC-3 ML の全 6 種類を用いた。測定システムは、レーザ暗視野顕微イメージングと $\mu$ CE チップ電気泳動法を組み合わせることで構成した。

## 4. 研究成果

### ①ナノベシクルゼータ電位計測システム

直径 100 nm 以下のナノベシクルの重要な物性であるゼータ電位を 1 粒子で計測するためのチップ型システムを開発した(図 1)。具

体的には、ソフトリソグラフィ法によりポリジメチルシロキサン(PDMS)製の電気絶縁性に優れ、光学的ひずみのないマイクロ流体チップを作製し、非特異吸着抑制のために流路内表面を MPC ポリマーでコーティングした。チップ内電気泳動しているナノ粒子にレーザを照射し、生じるレイリー散乱光を対物レンズで集光し、高感度イメージング技術により撮像することによって、個々のナノ粒子の電気泳動速度計測が可能である。

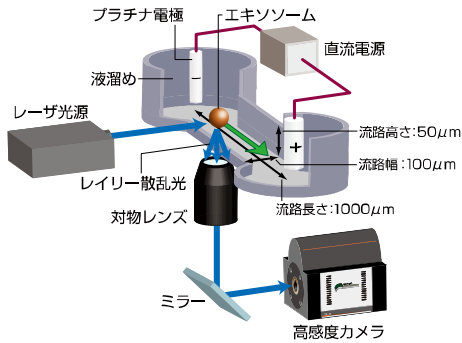


図1 ナノベシクルのゼータ電位計測システム

## ②ナノリポソームのゼータ電位計測

開発したゼータ電位計測システムを用いて、ナノメートルサイズのポアを有するメンブレンを用いて作製したリポソームのゼータ電位を1粒子ごとに計測した(図2)。ゼータ電位の平均値は粒子径にかかわらず一定であった。一方、ゼータ電位の標準偏差は、メンブレンのポア径が 100-1000 nm で作製したリポソームでは一定であったのに対し、50 nm のポア径で作製したリポソームではそれらの2倍以上であった。このゼータ電位のばらつきのサイズ依存性の主要な要因は、リポソーム脂質膜に含まれる負電荷脂質分子 PS の統計的ゆらぎの影響であるという、ナノ世界に特有の現象を発見した(図3)。本研究結果は英文誌「Electrophoresis」に発表した。

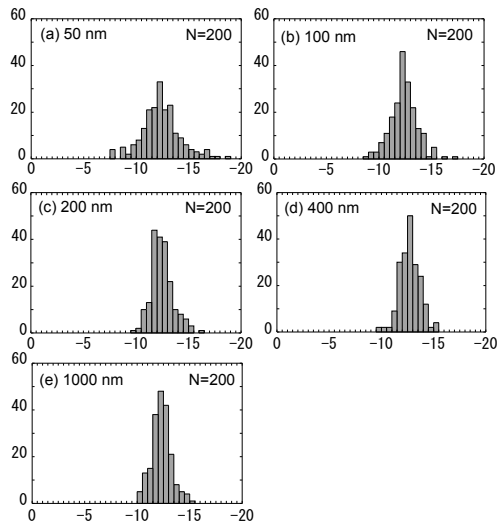


図2 サイズ径分布の異なるリポソームのゼータ電位分布

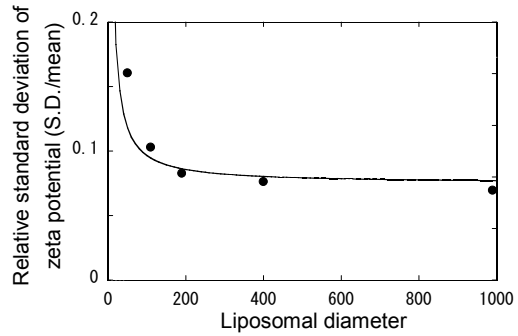


図3 リポソームの平均直径とゼータ電位の相対標準偏差との関係

## ③エキソソームと由来細胞のゼータ電位

本システムを用いて培養細胞由来エキソソームのゼータ電位分析に応用した。乳がんと前立腺がんをモデルとして、正常細胞およびがん細胞の培養上清からエキソソームを精製し、エキソソームおよび由来細胞のゼータ電位を計測した。がん細胞とがん細胞由来のエキソソームの平均 EPM は、正常細胞に比べて負に大きく変化し、エキソソームと由来細胞の平均の EPM の間に強い相関関係が認められた(相関係数=0.92)(図4)。このことから、エキソソームの表面の電気的性状は、由来細胞表面の電気的性状の変化を反映しているものと考えられ、細胞の状態や種類がそれら細胞から放出されるエキソソームの体内での挙動、すなわちエキソソームを介した細胞間コミュニケーションに影響を与えていることを示唆するものである。本研究結果は英文誌「Japanese Journal of Applied Physics」に投稿し、受理された。

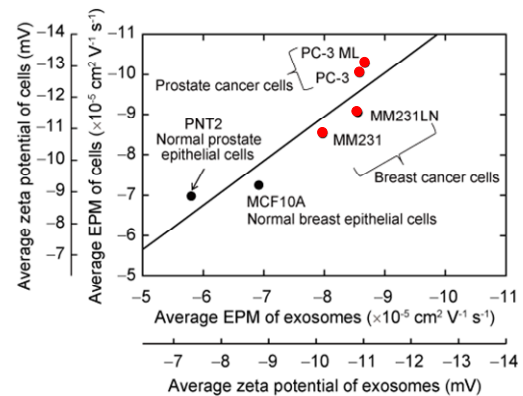


図4 細胞とエキソソームのゼータ電位の関係

## ④シアル酸切断酵素で処理したエキソソームのゼータ電位

ヒト前立腺がん PC3 細胞由来エキソソームのゼータ電位が正常前立腺上皮 PNT2 細胞由来エキソソームのゼータ電位と比較して大きく負である差異のメカニズムについて検討した。具体的には、細胞のゼータ電位の主要な要因とされるシアル酸がエキソソームのゼータ電位にも同様の役割を担うと着目

し、シアル酸切断酵素シアリダーゼを作用させた前後のエキソソームのゼータ電位を測定した。その結果、シアリダーゼによりエキソソームのゼータ電位は正にシフトし、PNT2由来と PC3 由来のエキソソームの電位は同程度となった(図5)。この結果は、エキソソームの由来細胞によるゼータ電位の差は糖鎖のシアル酸の発現量を反映していることを示しており、由来細胞の状態や種類がそれら細胞から放出されるエキソソームの体内での挙動、すなわちエキソソームを介した細胞間コミュニケーションに影響を与えていることを示唆するという非常に重要な知見である。本研究結果は英文誌「Japanese Journal of Applied Physics」に投稿し、受理された。

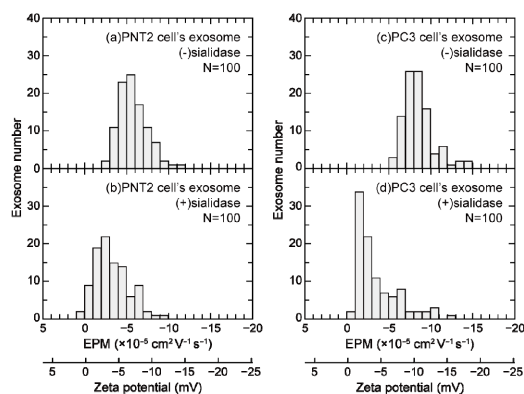


図5 ヒト前立腺上皮細胞(PNT2)および前立腺がん細胞(PC3)由来エキソソームのゼータ電位に及ぼすシアリダーゼの効果

### ⑤ エキソソーム表面タンパク質の分析

チップ電気泳動法のエキソソーム表面タンパク質分析への応用可能性について検討した。ヒト乳がん MDA-MB-231 細胞由来のエキソソームに抗ヒト CD63 抗体と反応させた後ゼータ電位を計測した。その結果、マウス IgG を作用させたエキソソームのゼータ電位と比較して、抗ヒト CD63 抗体を作用させたエキソソームでは大きく正にシフトした(図6)。この変化はエキソソーム表面に結合した抗体が有する正電荷に起因するものである。このことは、ゼータ電位変化を指標にしてエキソソーム表面のタンパク質を感度良く分析できることを示しており、将来のエキソソーム診断へ繋がる重要な成果である。

### ⑥ まとめ

個々のナノベシクルのゼータ電位計測システムを開発した。本システムをナノリボソームおよびエキソソームのゼータ電位計測に応用し、当該システムがエキソソームのようなナノバイオ粒子の分析に有効であることを実証した。この成果はバイオナノ粒子分析の新しい方向性を示し、生命現象におけるエキソソームの役割解明や、エキソソームを利用した診断・治療の実現などの医学・生命科学の更なる発展に貢献すると期待される。

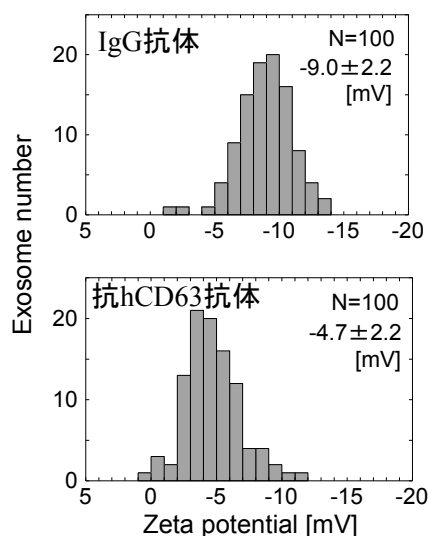


図6 ヒト乳がん(MDA-MB-231)細胞由来エキソソームの免疫電気泳動

### 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 4 件)

1. T. Akagi, K. Kato, N. Hanamura, M. Kobayashi, and T. Ichiki, "Evaluation of desialylation effect on zeta potential of extracellular vesicles secreted from human prostate cancer cells by on-chip microcapillary electrophoresis", *Jpn. J. Appl. Phys.*, 53, 06JL01 (2014) DOI:10.7567/JJAP.53.06JL01
2. K. Kato, M. Kobayashi, N. Hanamura, T. Akagi, N. Kosaka, T. Ochiya and T. Ichiki, "Electrokinetic evaluation of individual exosomes by on-chip microcapillary electrophoresis with laser dark-field microscopy", *Jpn. J. Appl. Phys.* 52, 06GK10 (2013). DOI: 10.7567/JJAP.52.06GK10
3. S. R. Kumal, M. Biyani, S. Ueno, T. Akagi, T. Ichiki, "Simultaneous synthesis and biotinylation of proteins using puromycin-based labeling technology for fabrication of protein array chip", *Jpn. J. Appl. Phys.* 52, 06GK09 (2013). DOI:10.7567/JJAP.52.06GK09
4. K. Kato, M. Koido, M. Kobayashi, T. Akagi, and T. Ichiki, "Statistical fluctuation in zeta potential distribution of nanoliposomes measured by on-chip microcapillary electrophoresis", *Electrophoresis*, 34(8), pp.1212-1208 (2013). DOI: 10.1039/c0ce00405g

[学会発表] (計 44 件)

1. 赤木貴則、一木隆範、「採血不要の在宅がん診断システムの開発」、スマートケア COI 拠点(COINS)キックオフシンポジウム、東京、2014年3月19日。
2. 花村奈未、赤木貴則、一木隆範、「ヒト乳がん細胞 SK-BR-3 由来細胞外ベシクルのオンチップ免疫電気泳動」、17p-E14-9、第61回応用物理学会春季学術講演会、神奈川、2014年3月17日。
3. 小林雅、林綾子、赤木貴則、一木隆範、「エキソソーム中 microRNA の回収方法の検討」、17p-E14-10、第61回応用物理学会春季学術講演会、神奈川、2014年3月17日。
4. 寺根将太郎、小林雅、赤木貴則、一木隆範、「アクリル系ポリマーで作製されたマイクロ流体デバイスに搭載可能な空圧式 PDMS パルプの開発」、17p-E14-13、第61回応用物理学会春季学術講演会、神奈川、2014年3月17日。
5. 赤木貴則、花村奈未、一木隆範、「マイクロ流体デ

- バイス技術を用いた細胞分泌型ナノベシクルの電気的評価」電気学会 BMS 研究会、東京、2014 年 3 月 12 日。
6. T. Akagi, N. Hanamura, T. Ichiki, “Surface protein assay of individual extracellular vesicles using a microcapillary electrophoresis chip” The FIRST Joint International Symposium, Tokyo, Feb. 21, 2014
  7. 赤木貴則、一木隆範、「チップ免疫電気泳動によるエキソソーム表面タンパク質の 1 粒子解析」東京大学先端医療シーズ開発フォーラム、東京、2014 年 1 月 24 日
  8. 花村奈未、加藤啓、赤木貴則、一木隆範、「マイクロキャピラリー電気泳動を用いた細胞外ベシクルの 1 粒子免疫応答解析」、バイオエレクトロニクス・バイオテクノロジー研究討論会、東京、2013 年 12 月 16 日。
  9. 蔣晨陽、赤木貴則、一木隆範、「POCT デバイスのための形状記憶ポリマーマイクロバルブの開発」、バイオエレクトロニクス・バイオテクノロジー研究討論会、東京、2013 年 12 月 16 日。
  10. 花村奈未、赤木貴則、加藤啓、小林雅、一木隆範、「シヨ糖密度勾配超遠心法で精製したヒト乳がん MM231 細胞由来エキソソームのオンチップ免疫電気泳動」、17a-C4-9、日本 MRS 年次大会、横浜、2013 年 12 月 9-11 日。
  11. 小林雅、赤木貴則、一木隆範、「脂質膜固定分子上に固定化されたエキソソーム評価法の開発」、17a-C4-10、日本 MRS 年次大会、横浜、2013 年 12 月 9-11 日。
  12. N. Hanamura, T. Akagi, K. Kato, M. Kobayashi and T. Ichiki, “Evaluation of Zeta Potential of Exosomes after Treated with Neuraminidase using Microcapillary Electrophoresis Chips”, Microprocess and Nanotechnology Conference 2013, Sapporo, Japan, Nov. 5-8, 2013.
  13. T. Akagi, K. Kato, N. Hanamura, N. Kosaka, T. Ochiya, T. Ichiki, “On-chip immunoelectrophoresis for evaluating surface proteins of exosomes at single-particle level for diagnostic application” 17th International Conference on Miniaturized Chemical and Biochemical Analysis Systems (Micro Total Analysis Systems 2013), Freiburg, Germany, October 27-31, 2013.
  14. M. Kobayashi, M. Sasaki, N. Kosaka, T. Ochiya, T. Akagi, T. Ichiki, “Development of microfluidic devices with polyethylene glycol-lipid-modified adsorption surface for high-throughput isolation of exosomes from human serum” 17th International Conference on Miniaturized Chemical and Biochemical Analysis Systems (Micro Total Analysis Systems 2013), Freiburg, Germany, October 27-31, 2013.
  15. N. Hanamura, K. Kato, T. Akagi, T. Ichiki, “Characterization of individual exosomes using on-chip microcapillary electrophoresis” Int. Conf. on BioSensors, BioElectronics, BioMedical Devices, BioMEMS/NEMS and Applications 2013 (Bio4Apps 2013) & 5th Sensing Biology Symposium, Tokyo, Japan, October 30-31, 2013.
  16. 赤木貴則、一木隆範、「高集積ナノバイオデバイスによる分子創出・分子診断」、東京大学疾病生命工学センター10th シンポジウム、東京、2014 年 9 月 25 日
  17. 赤木貴則、一木隆範、「ナノベシクル 1 粒子ゼータ電位計測システムの開発とエキソソーム分析への応用」、第 64 回コロイドおよび界面化学討論会、名古屋、2013 年 9 月 20 日
  18. T. Akagi, N. Hanamura, K. Kato, M. Kobayashi, T. Ichiki, “On-chip electrokinetic evaluation of exosomes at single particle level” 2013 JSAP-MRS Joint Symposia, Kyoto, Japan, September 16-20, 2013.
  19. T. Akagi, N. Hanamura, M. Kobayashi, K. Kato, T. Ichiki, “Immunoelectrophoresis of extracellular nanovesicles on a microcapillary chip” RSC Tokyo International Conference, JASIS Conference, Chiba, Japan, September 5-6, 2013.
  20. 赤木貴則、一木隆範、「エキソソーム表面タンパク質分析のためのオンチップ免疫電気泳動」、第 13 回東京大学生命科学シンポジウム、東京、2013 年 6 月 8 日。
  21. 小林雅、加藤啓、赤木貴則、小坂展慶、落谷孝広、一木隆範、「脂質膜固定分子を用いたヒト血清中エキソソーム回収法の開発」、第 60 回応用物理学会春季学術講演会、29a-G17-10、厚木、神奈川、2013 年 3 月 29 日。
  22. 赤木貴則、小島麻里、竹原宏明、塩野博文、一木隆範、「フレキシブル酸素センサアレイデバイスの開発と培養細胞の酸素消費量の評価」、電気学会 BMS 研究会、東京、2013 年 3 月 25 日
  23. T. Akagi, K. Kato, M. Kobayashi, N. Hanamura, T. Ichiki, “On-chip evaluation of zeta-potential of individual exosomes by microcapillary electrophoresis with laser dark-field microscopy” NanoBio First International Symposium, Tokyo, March 5, 2013.
  24. 赤木貴則、竹原宏明、一木隆範、「生体内細胞および培養細胞モニタリングのためのナノバイオデバイス」、東大先端医療シーズ開発フォーラム、2013 年 1 月 25 日
  25. K. Kato, M. Kobayashi, T. Akagi, N. Kosaka, T. Ochiya, T. Ichiki, “Evaluation of electrophoretic mobility of individual exosomes by microcapillary electrophoresis with laser dark-field microscopy”, Microprocess and Nanotechnology Conference 2012, Kobe, Japan, Oct. 30-Nov. 2, 2012.
  26. T. Akagi, M. Sasaki, M. Kobayashi, T. Ichiki, “Immobilization and isolation of exosomes using polyethylene glycol-lipid-modified surface in a microchannel and evaluation by atomic force microscopy”, 16th International Conference on Miniaturized Chemical and Biochemical Analysis Systems (Micro Total Analysis Systems 2012), Okinawa, Japan, Oct. 29-Nov. 1, 2012.
  27. S. Sato, M. Biyani, T. Akagi, T. Ichiki “Artificial darwinian selection technology on microarray chips towards directed evolution using single molecule processing”, 16h International Conference on Miniaturized Chemical and Biochemical Analysis Systems (Micro Total Analysis Systems 2012), Okinawa, Japan, Oct. 29-Nov. 1, 2012.
  28. H. Takehara, A. Nagaoka, J. Noguchi, T. Akagi, H. Kasai, and T. Ichiki, “Implantable microfluidic interface devices with drug perfusion function through hydrogel membrane”, 16h International Conference on Miniaturized Chemical and Biochemical Analysis Systems (Micro Total Analysis Systems 2012), Okinawa, Japan, Oct. 29-Nov. 1, 2012.
  29. M. Kojima, H. Takehara, T. Akagi, H. Shiono, T. Ichiki, “Flexible phosphorescent oxygen microsensor array devices for noninvasive monitoring of cellular oxygen metabolism during cultivation”, 16h International Conference on Miniaturized Chemical and Biochemical Analysis Systems (Micro Total Analysis Systems 2012), Okinawa, Japan, Oct. 29-Nov. 1, 2012.
  30. T. Ono, Ryo Iizuka, T. Akagi, T. Funatsu and T. Ichiki, “Single-molecule imaging device using localized evanescent illumination in polymeric nanoholes”, 16h International Conference on Miniaturized Chemical and Biochemical Analysis Systems (Micro Total Analysis Systems 2012), Okinawa, Japan, Oct. 29-Nov. 1, 2012.
  31. Y. Tanaka, M. Biyani, T. Akagi, T. Ichiki, “High-throughput protein microarrays: feature size effects on printing arrays with in situ protein synthesis”, 16h International Conference on Miniaturized Chemical and Biochemical Analysis Systems (Micro Total Analysis Systems 2012), Okinawa, Japan, Oct. 29-Nov.

- 1, 2012.
32. 赤木貴則, 小島麻里, 竹原宏明, 塩野博文, 一木隆範, 「培養細胞の非侵襲代謝モニタリングのためのフレキシブル酸素センサアレイデバイス」、第26回化学とマイクロナノシステム研究会、沖縄、2012年10月28日。
  33. H. Takehara, A. Nagaoka, J. Noguchi, T. Akagi, T. Sakai, Ung-il Chung, H. Kasai and T. Ichiki, “Tetra-PEG Gel/PDMS Hybrid Microfluidic Devices for In Vivo Analysis of Neural Cells”, 9th International Gel Symposium, Tsukuba, Oct. 9-12 (2012).
  34. T. Ono, R. Iizuka, T. Akagi, T. Funatsu and T. Ichiki, “Single-Molecule Fluorescence Imaging using Polymeric Nanoholes beyond Diffraction Limit”, 2012 International Conference on Solid State Devices and Materials (SSDM 2012), Kyoto, September 25-27, 2012.
  35. T. Ichiki, S. Sato, R. Kobayashi, Y. Tanaka, M. Biyani and T. Akagi, “A Strategy toward the High-Throughput Analysis of Biomolecular Function Using a Large-Scale-Integrated Microarray Platform”, IUMRS Int'l Conf. on Electronic Materials (IUMRS-ICEM2012), Yokohama, September 25, 2012.(invited)
  36. 赤木貴則, 「チップ電気泳動法のバイオ分析への応用」、電気学会第7回 半導体生体インターフェイス技術調査専門委員会、東京、2012年9月18日(依頼講演)
  37. 赤木貴則, 加藤啓, 小林雅, 花村奈未, 小坂展慶, 落谷孝広, 一木隆範, オンチップ電気泳動法によるエキソソーム表面免疫性の電気的検出、第73回応用物理学会学術講演会、12p-H3-5、松山、2012年9月12日
  38. 加藤啓, 小林雅, 赤木貴則, 小坂展慶, 落谷孝広, 一木隆範, マイクロキャピラリー電気泳動法を用いたがん細胞由来エキソソームの電気泳動移動度評価、第73回応用物理学会学術講演会、12p-H3-4、松山、2012年9月12日
  39. 小林雅, 加藤啓, 赤木貴則, 一木隆範, エキソソーム分離用マイクロ流体デバイスの開発、第73回応用物理学会学術講演会、12p-H3-6、松山、2012年9月12日
  40. 赤木貴則, 加藤啓, 小林雅, 一木隆範, “マイクロキャピラリー電気泳動チップを用いたナノリポソームの電気泳動度の評価”、医療薬学フォーラム2012、P258、福岡、2012年7月14日
  41. 赤木貴則, 一木隆範, “マイクロ流体デバイス技術を用いたエキソソーム精製法の開発と液中 AFM 法による定量評価、第12回東京大学生命科学シンポジウム、P2-244 K、東京、2012年6月30日
  42. T. Akagi, T. Ichiki, “On-Chip Electrophoresis of Human Promyelocytic Leukemia Cells during Neutrophil Differentiation”, The 10th International Symposium on Electrokinetic Phenomena (ELKIN 10th), P53, Tsukuba, May 21, 2012.
  43. K. Kato, M. Kobayashi, T. Akagi and T. Ichiki, “Development of a Zeta Potential Measurement System for Individual Nanovesicle using Microcapillary Electrophoresis Chips with Laser Light Scattering”, The 10th International Symposium on Electrokinetic Phenomena (ELKIN 10th), P33, Tsukuba, May 21, 2012.
  44. T. Akagi, S. Mohri, M. Sasaki, K. Kato and T. Ichiki, “Analysis and manipulation of nanovesicles in a microfluidic device” 2012 MRS Spring Meeting, SanFrancisco, U.S.A., April 12, 2012.

〔図書〕(計1件)

1. T. Akagi, T. Ichiki, “41. On-Chip Cell Electrophoresis and Evaluating Cellular Functions” in Electrical Phenomena at Interfaces and Biointerfaces: Fundamentals and Applications in Nano-, Bio-, and Environmental Sciences (Ed. H. Ohshima), pp. 725-736, John Wiley & Sons, Inc, 2012.

〔産業財産権〕

○出願状況(計4件)

名称: 流体デバイス、エキソソームの分析方法、生体分子分析方法及び生体分子検出方法  
 発明者: 一木隆範、小林雅、林綾子、土屋章一、赤木貴則、上野太郎、船津高志、宮本健司  
 権利者: 東京大学、株式会社ニコン  
 種類: 特許  
 番号: 特願 2013-199070  
 出願年月日: 2013年9月25日  
 国内外の別: 国内

名称: 流体デバイス、エキソソームの分析方法、生体分子分析方法及び生体分子検出  
 発明者: 一木隆範、赤木貴則、鈴木久皇  
 権利者: 東京大学、株式会社ニコン  
 種類: 特許  
 番号: 特願 2013-180575  
 出願年月日: 2013年8月30日  
 国内外の別: 国内

名称: エキソソームの分析方法、エキソソーム分析装置、及び抗体-エキソソーム複合体  
 発明者: 一木隆範、赤木貴則、塩野博文  
 権利者: 東京大学、株式会社ニコン  
 種類: 特許  
 番号: PCT/JP2013/071967  
 出願年月日: 2013年8月15日  
 国内外の別: 国外

名称: エキソソームの分析方法、エキソソーム分析装置、及び抗体-エキソソーム複合体  
 発明者: 一木隆範、赤木貴則、塩野博文  
 権利者: 東京大学、株式会社ニコン  
 種類: 特許  
 番号: 特願 2012-185666  
 出願年月日: 2012年8月24日  
 国内外の別: 国内

○取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://bionano.t.u-tokyo.ac.jp/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

赤木 貴則 (AKAGI, Takanori)

東京大学・大学院工学系研究科・特任講師

研究者番号: 80401149