

微細加工技術による機能性電極材料の開発

東京医科歯科大学生体材料工学研究所 ○田畑美幸、合田達郎、松元亮、宮原裕二
早稲田大学ナノ・ライフ創新研究機構 由比藤勇、加藤邦男、関口哲史

Development of Functionalized Electrode Materials by Fine Processing Technology
by ○Miyuki TABATA, Isamu YUITO, Kunio KATO, Tetsushi SEKIGUCHI, Tatsuro GODA, Akira
Matsumoto and Yuji MIYAHARA

1. 研究目的

生体環境中に普遍的に存在するイオン、タンパク質、糖、核酸といった様々な生体分子は、代謝や呼吸といった生命活動を支える分子機構のトリガーとなることが知られており、生命現象のメカニズム解明のためにしばしば電気化学的な測定が用いられている。我々は、微細加工技術の利点によりセンシングエリアを高度に集積化できハイスループットな検出を実現する電気化学的手法を用いたバイオセンサの開発に取り組んでいる。一般に、生体分子の検出には光学的にラベリングする手法が用いられているが、簡便な操作および低コスト化において課題があり、電気的手法を用いたラベルフリーでリアルタイムな計測を行うバイオセンシングシステムの開発が求められている。そこで本研究では、早稲田大学ナノ・ライフ創新研究機構と共同研究を推進し、微細加工技術を用いて生体反応に関与するプロトンおよび生体関連分子の有する負電荷を検出する電極の作製に取り組んだ。

2. 研究成果

2. 1 微小化 pH 電極の作製

典型的なプロトン感応材料として IrOx を選択し、我々は直径 0.3 mm の Ir ワイヤを 2 日間 5 M NaOH 溶液に浸漬後、大気雰囲気下で熱酸化処理 (800°C、30 分、3 回) する熱酸化法にて、Ir/IrOx 電極を得ていた。この微小化 pH 電極は -57.4 mV/pH という理論値である Nernst の傾き (-59.2 mV-pH at 25°C) に近い感度を示し、熱酸化法が有効な作製法であることを示した。今回、更なる作製法の簡便性を検討するため従来とは異なる熱酸化法として、Ir ワイヤを Li₂CO₃ 粉末で覆い、大気雰囲気下で熱酸化処理 (870°C、5 時間) する方法を試みた。pH4.0、7.0、9.0 の緩衝液中での電極電位をエレクトロメータで測定し電極の感度を評価したところ、その検出感度は -59.2 mV/pH (Fig. 1) と、理論値と同じ値を示し、理想的な微小化 pH 電極の作製に成功した。また、両者の SEM 観察を行うと表面の微細構造に大きな違いがみられ、酸化層の厚みや元素性の違いが電極性能の差をもたらしたと考えられる。さらに Li₂CO₃ 粉末を用いて調製した新型の電極に関しては、繰り返しオートクレーブの滅菌処理後もその感度を十分に維持していたことから、将来的には制御システムと組み合わせることで in vivo での使用が期待される。

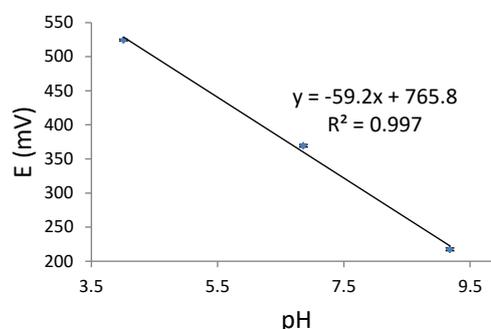


Fig.1 Ir/IrOx 電極の pH に対する感度

2. 2 微小電極構造を有するバイオセンサ

高齢化社会が進展し続けている我が国では、インフラ整備と併せて患者個人に適した高度な医療を提供できる検査・治療システムの創出が求められている。そのためには患者に負担や時間をかけることなく身近の診療所や在宅で、高精度・高感度に疾病マーカーを検出できる小型で簡易なバイオセンサの開発が有効であると考えられる。電位計測方式を用いる我々のバイオセンサ⁽¹⁻³⁾は、センサ表面に捕捉された標的分子の荷電または誘電率変化を固-液界面電位変化として直接検出するため、目的の生体分子を捕捉する機能性微小電極表面の構築が重要である。具体的には、正常な乳腺細胞 (MCF10A) と乳がん細胞 (MM231) の比較計測を行うセンサ表面の構築を目的とし、細胞存在下で電位計測を行った。

一般的にがん細胞表面ではシアル酸が多く発現していることが知られており、シアル酸由来の負電荷により変化する界面電位、すなわちがん組織の有無を、電位差として判断するためプローブ分子を検討した。Fig. 2 には用いた Au パターン化電極 (直径 0.5 mm、10 チャンネル計測) と、構築した機能性界面の例としてフ

フェニルボロン酸 (PBA) 誘導体を固定化したイメージを示した。他に細胞架橋剤として知られる脂質二分子膜にアンカーリングするオレイル基を有しておりリンカーとして疎水性のアルキル鎖を持つ場合 (C6_Oleyl) と親水性の PEG を持つ場合 (PEG_Oleyl)、コントロールとして修飾していない金電極 (bare) の 4 種の界面について、MM231 および MCF10A との相互作用を電位計測にて確認した。測定には 1 mM Bis-tris-propane (BTP) buffer (pH =7.2) を用いて細胞懸濁液を調製し、連続

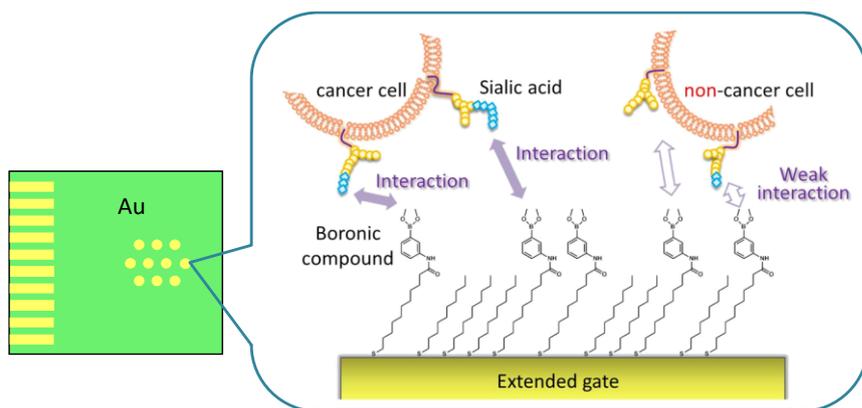


Fig.2 Au 基板とフェニルボロン酸固定化界面

して BTP buffer 10 min、0 cells/mL in BTP buffer 10 min、 1×10^4 cells/mL in BTP buffer 10 min、 1×10^5 cells/mL in BTP buffer 10 min、 1×10^6 cells/mL in BTP buffer 10 min の順で電位モニタリングした。どちらの細胞の場合においても bare の場合はドリフトに大きく影響された挙動を示し、Oleyl 基で修飾した界面は細胞に応答を示さなかった。細胞の捕捉には Oleyl 基間の距離や自由度が大きく影響することから、基板上的 Oleyl 基の密度を制御することで応答性は改善されると考えられる。一方で PBA 修飾界面の場合、細胞の添加に応じて負の電位応答を示し、特に MM231 において顕著な電位減少を示した。これは MCF10A より MM231 細胞膜表面に多く存在しているシアル酸由来の負電荷の検出を反映していると考えられる。これらの結果より、構築した PBA 誘導体固定化基板を用いてシアル酸由来の負電荷を検出可能であることが示された。この評価基板を用いて検出限界、ダイナミックレンジ等のバイオセンサとしての機能について継続して検討を行っている。また同時に、テンパックス基板上に細胞を捕捉する 20 または $25\mu\text{m}$ 程度の大きさを持つ、微小電極基板 (電極材料: Au) での評価も行っている。本電位計測方式の一つの利点として、電位計測結果は電極面積に依存しないことが挙げられる。細胞と同程度の大きさを有するウェル型のセンサを微細加工技術により集積化し、将来的にはデジタルカウンティングによりがんの定量診断を達成することを目標としている。

今後、病床数不足は加速し、近い将来に数十万人の人を在宅および介護施設で看取らなければいけなくなる状況の到来が予測されている。在宅でも医療・ケアの質を維持するために、小型の診断・治療機器を開発し、高度な医療をより身近に提供する環境を整える必要がある。そのためには工学と医学・生命科学がますます密に連携し、新たな融合分野を開拓することが期待されている。半導体工学と生命科学分野の具体的な融合デバイスである本研究はこの方向と一致しており、生命科学イノベーションの根幹技術として貢献すると期待される。

3. 参考文献

- (1) Akira Matsumoto, et al. J. Am. Chem. Soc., 2009, 131(34), 12022-12023
- (2) Akira Matsumoto, et al. Angew. Chem. Int. Ed., 2010, 49(32), 5494-5497
- (3) Tatsuro Goda, et al. Chem. Commun. 2012, 48 (98), 11942-11944