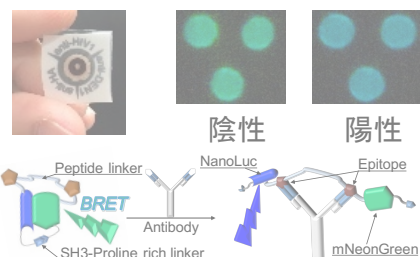
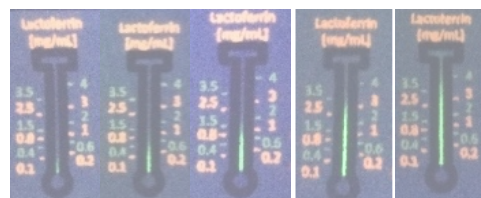
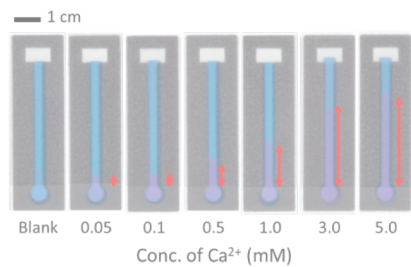


慶應義塾大学 応用化学科 分析化学（チッテリオ）研究室

マイクロ流体 紙基板センサーチップ

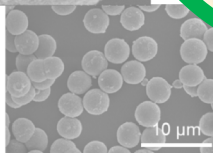
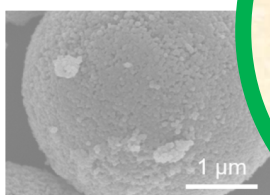
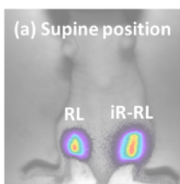
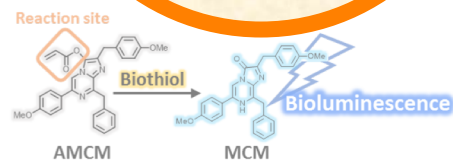
安価に誰にでも扱える
分析デバイスの開発



健康・環境・医療に向けた 化学センサーと バイオセンサーの開発

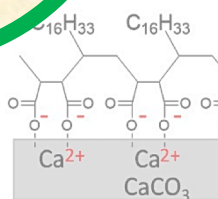
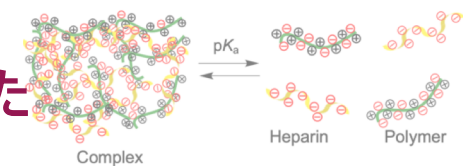
蛍光・発光 機能性色素

様々なニーズに応える
色素の開発



機能性 マテリアル

分析応用のための
機能性マテリアルの開発



研究室所在地・連絡先

Web: <http://www.applc.keio.ac.jp/~citterio/>

〒223-8522

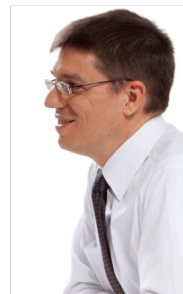
横浜市港北区日吉 3-14-1

慶應義塾大学理工学部応用化学科

チッテリオ研究室

Phone : 045-566-1568

Email: citterio@applc.keio.ac.jp



バイオチオール検出のための生物発光基質セレンテラジン誘導体の開発

ーバイオチオール検出セレンテラジン誘導体 AMCMの創製ー

Nomura N. et al., *Anal. Chem.* **2019**, *91*, 9546-9553

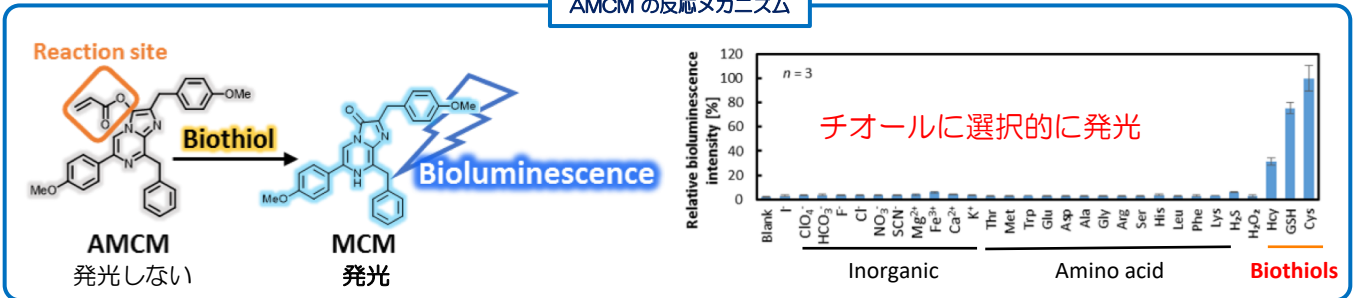
特長 酵素反応による生物発光は励起光源を必要としないため、高感度で簡便な分析が可能

測定対象物質：バイオチオール

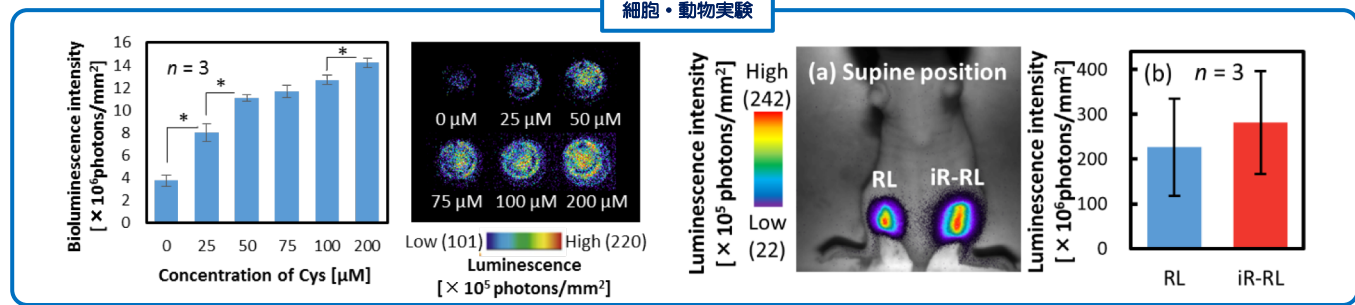
既存の蛍光分子による分析では、励起光が必要なため散乱や自家蛍光により高感度測定が困難

励起光不要で好感度な検出が可能な
新規生物発光プローブAMCMの創製

AMCMの反応メカニズム



細胞・動物実験



結果 細胞・動物内において、バイオチオールの選択的なイメージングに成功

pH 応答性を示す両性イオンポリマーの開発

ー生体物質分離技術を目指したpH応答両性イオンポリマーの創製ー

特許出願 2019

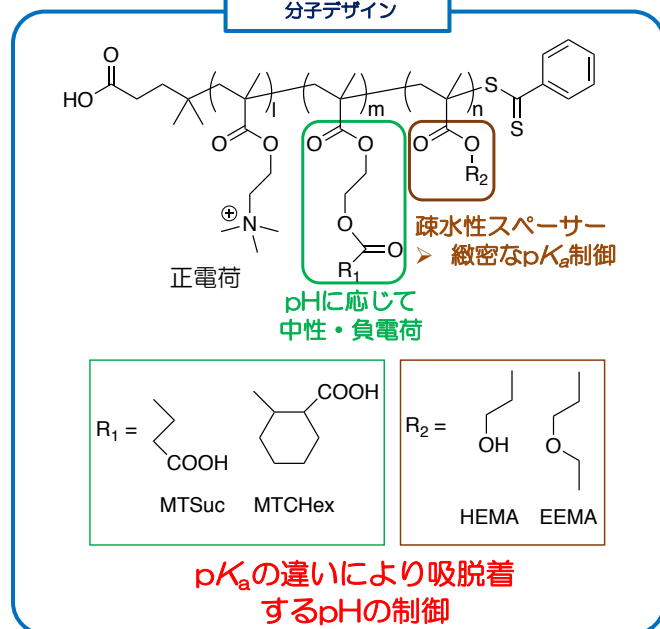
特長 pHの変化に反応して、生体物質への吸着能を向上させることが可能

測定対象物質：生体物質・薬

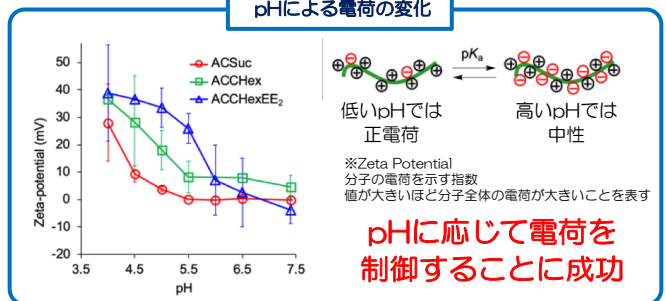
細胞をはじめ、生体内の多くの物質は表面に負電荷を帯びている

pHに反応し、生体物質への吸脱着を制御することができる両性イオンポリマーの創製

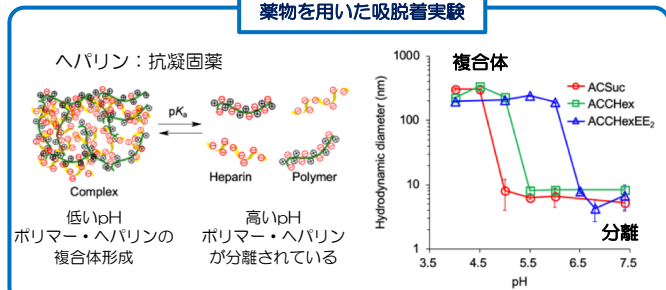
分子デザイン



pHによる電荷の変化



薬物を用いた吸脱着実験



結果 pHに反応して、薬物を分離する高分子材料の開発に成功

—交互ポリマーとCaCO₃メソポーラス球状粒子のハイブリッドマテリアル—

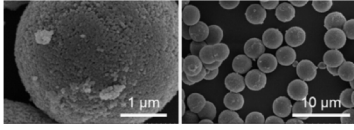
Mai Mochida et al., *J. Mater. Chem. B*, 2019, 7, 4771-4777

特長 アルカリ塩であるメソポーラスCaCO₃球状粒子を担体に用いることで従来のシリカゲル系カラムが抱えるアルカリ耐性を克服

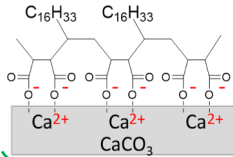
特許出願 2017

マテリアルデザイン

CaCO₃メソポーラス球状粒子をポリマーで修飾



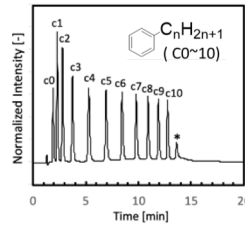
粒子表面を疎水化



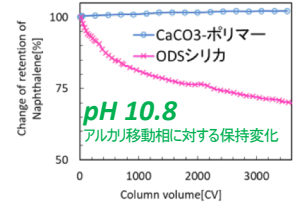
交互ポリマーの静電吸着を用いることでポアを埋めない修飾と機能化を同時に実現

逆相保持およびアルカリ耐性の評価

逆相の保持挙動

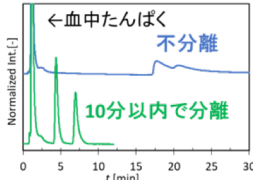


従来のカラムと比較して高アルカリ耐性



実サンプルへの応用

シリカゲル系カラムでは使用できないアルカリ性移動相を用いて測定



ODSシリカカラム (中性条件)

CaCO₃-ポリマーカラム (塩基性条件)

全血サンプル (n = 3)	回収率			
	ピークエリアから算出		ピーク高さから算出	
	[%]	誤差[%]	[%]	誤差[%]
イミプラミン	96.4	0.2	95.6	0.3
クロミプラミン	97.6	0.7	96.2	0.7

豚全血中の塩基性薬物を好分離

結果 CaCO₃とポリマーのハイブリッドマテリアルの作製のより、高アルカリ耐性の逆相充填剤の開発に成功

細胞内Mg²⁺イメージングのための近赤外蛍光プローブの開発

—細胞内Mg²⁺を蛍光により測定するNIR領域蛍光色素 KMG501の創製—

特長 細胞内で近赤外光領域を用いたMg²⁺イオンのイメージングに成功

Osamu Murata et al., *Anal. Chem. Just Accepted Manuscript* 10.1021/acs.analchem.9b03872

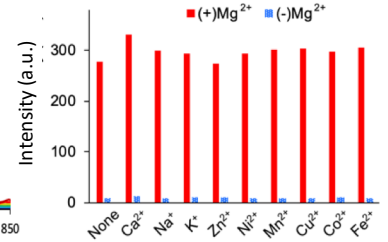
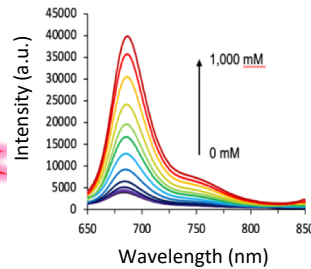
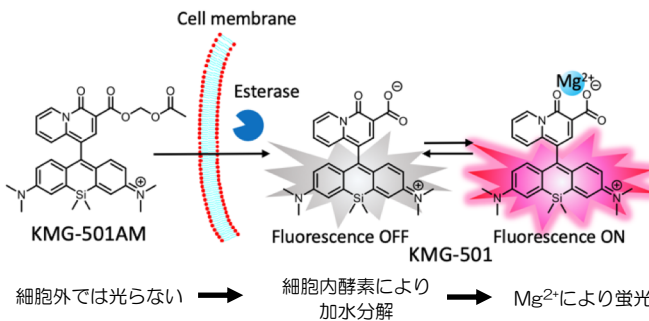
測定対象物質: 細胞内のMg²⁺

既存の蛍光色素を用いたMg²⁺の分析では以下のような問題があげられる

1. 測定の際に光散乱の影響を受けるため感度が低い
2. 自家蛍光によるバックグラウンドシグナル
3. 他金属イオンとの反応による蛍光

NIR領域の蛍光を示すシリコンローダミン(SiR)を用い、Mg²⁺イオン選択的な蛍光プローブを実現

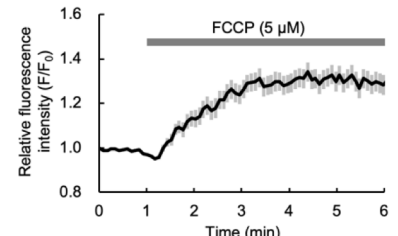
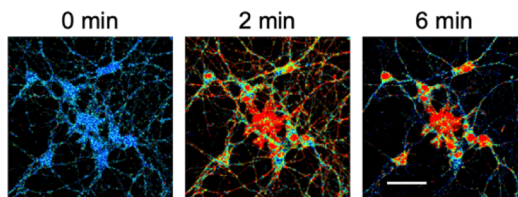
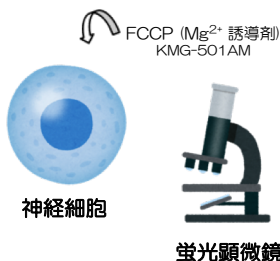
Mg²⁺ イメージングの反応メカニズム



Mg²⁺に選択的に蛍光

細胞実験

細胞内のMg²⁺濃度を増殖させるFCCPを神経細胞に適用させMg²⁺をイメージング



FCCP投与によるMg²⁺増加を蛍光で観察することに成功

結果 KMG-501の開発により細胞内におけるMg²⁺の挙動を蛍光を通して時空間的に把握することに成功

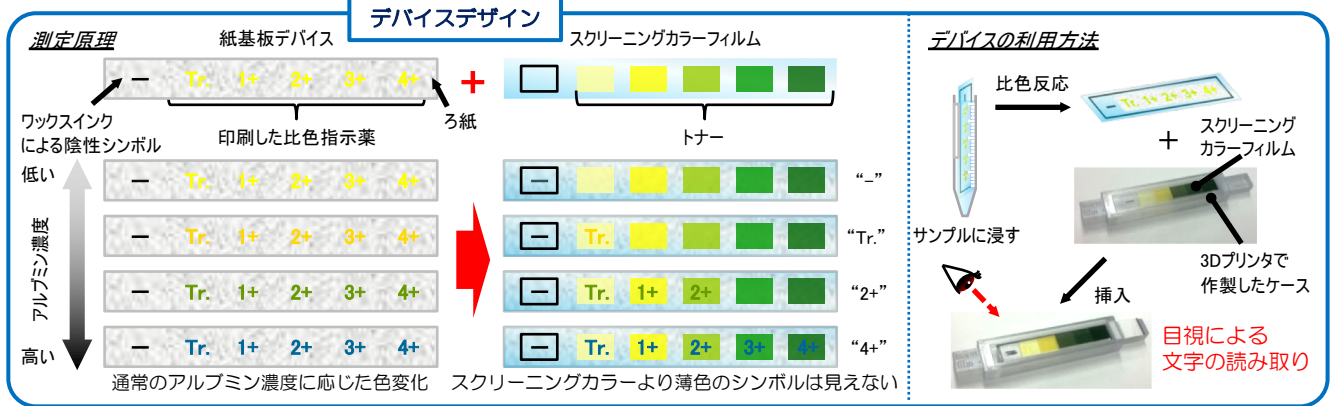
—文字による半定量分析が可能なセンシングチップ—

特長 尿中タンパク質の濃度を表される文字によって半定量的に測定可能

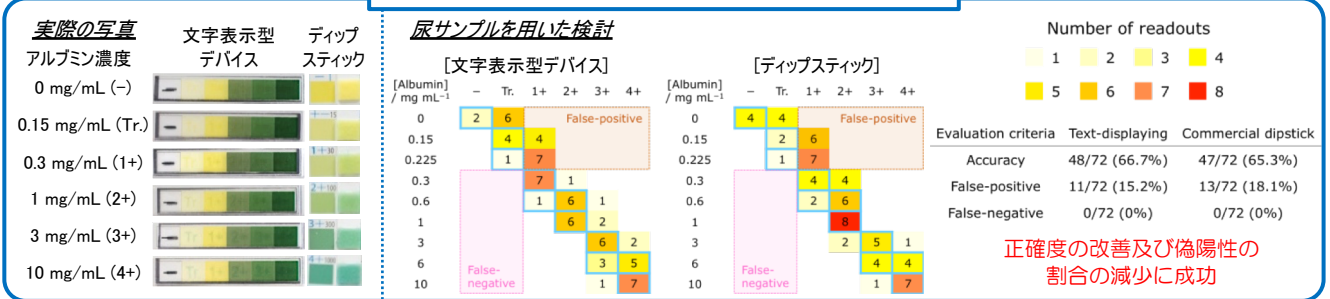
測定対象物質：アルブミン

市販の尿試験紙では表れた色調と標準色調表を比較する必要があるため、読み取り誤差があった

文字を読み取るため、読み取り誤差が少ない



市販の尿試験ディップスティックとの比較



結果 文字を見ることで読み取り誤差が少ない、尿中タンパク質を測定可能な診断チップの開発に成功

生物発光型タンパク質を用いた血中抗体センシングチップの開発

—特殊な機器を用いずに血液中の抗体濃度の測定が可能—

特長 ピペットマンを用いることなく、定量的な抗体の同時測定が実現

[1]Tenda K. et al., Angew. Chem. Int. Ed., 2018, 130, 15595–15599

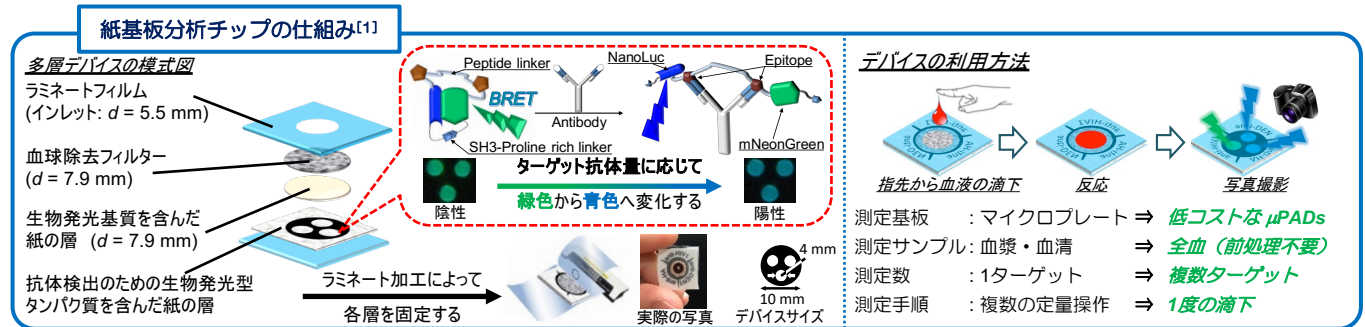
[2]Tomimuro K. et al., Proceedings of MicroTAS 2018

測定対象物質：anti-HIV1, anti-DEN1 (デング熱), anti-HA (インフルエンザ)

- 溶液系の測定では、
 - 複数種類の試薬の定量操作
 - 高価なマイクロプレートの利用
 - 全血に対する血球除去処理が必要

- 最終利用者が行う操作は血液の滴下のみ
- 安価な紙を主な基板としたデバイス
- 血球除去フィルターが組み込まれているため全血をそのまま滴下可能

特許出願 2017



結果 在宅医療やその場診断に適した、簡便に利用可能な血中抗体濃度測定用の診断チップの開発に成功

濃度に応答して蛍光の長さが変化するラクトフェリンセンシングチップの開発

— 抗体不使用かつデータ読み取り専用の機器が不要なタンパク質センシングチップ —

特長 抗体を使用せず、安価・簡便・迅速かつ選択的にヒト涙中のラクトフェリンを検出。さらに、濃度を観察される蛍光部分の長さで半定量可能。

測定対象物質：ラクトフェリン

眼の病気のバイオマーカー。従来のイムノアッセイに代わる扱いやすいセンサーが求められる。

デジタルカメラによるデバイスの撮影
パソコンでの色解析を必要とせず → **温度計のように長さ変化による検出**

Yamada K. et al., *Analyst*, 2014, 139, 1637-1643

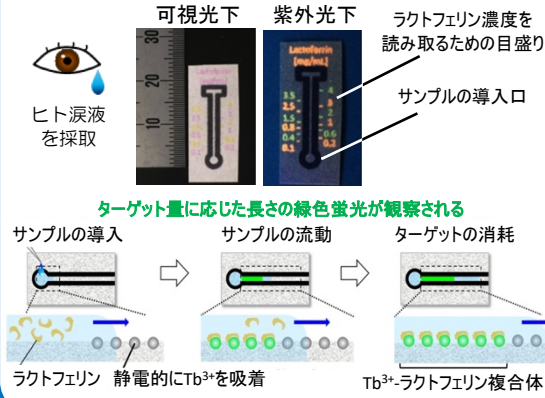
特許出願 2014

Yamada K. et al., *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2015, 7, 24864-24875

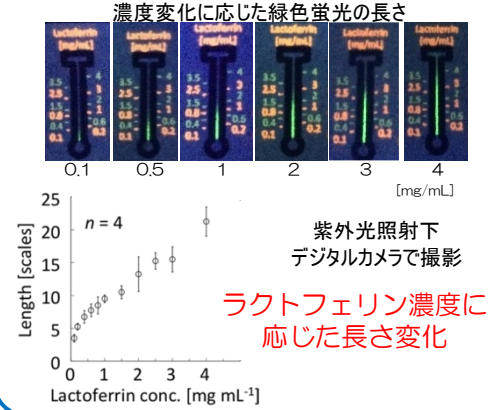
検出原理



デバイスデザインと長さによる検出のメカニズム



濃度変化に対応する蛍光部分の長さ応答

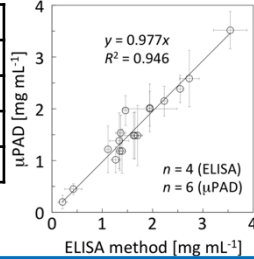


実サンプルへの応用

ヒトの涙液に含まれるラクトフェリン濃度を分析[スパイクテスト・ELISAとの比較]

提案法と既存法(ELISAキット)の性能比較

サンプルNo.	スパイク量 [mg/mL]	提案法 [mg/mL]	リカバリ率 [%]
1	0	1.05±0.30	—
2	1	2.07±0.31	101
3	1.5	2.45±0.27	93.3
4	2	2.87±0.24	90.7



材料費 : 150 円 ⇒ **0.5 円**
必要機器 : 分光器 ⇒ **UVハンドランプ**
分析時間 : 3-4 時間 ⇒ **10 分**
測定手順 : ウォッシングを含む複数段階
⇒ **一度のピペッティング**

既存法に比べ簡便であり、デバイスと測定機器のコストを大きく低減

市販のELISAキットとの一致
スパイクテストでの高いリカバリ率

結果 安価で迅速、かつ長さを見るだけでヒト涙液タンパク質が測定可能な眼病診断チップの開発に成功

濃度に応答して色変化した長さが変化するカルシウムセンシングチップの開発

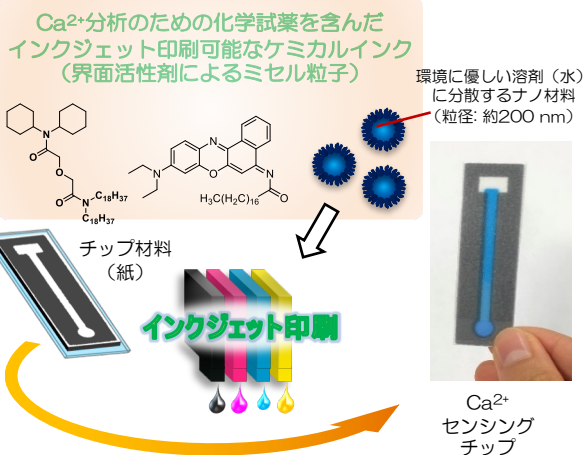
— チップのみで簡便にカルシウムを高選択に目視により分析 —

Shibata H. et al., *Analyst*, 2019, 144, 1178-1186

特長 飲料水・水道水中のカルシウムの高選択的かつ高感度な検出をチップのみで達成。さらに、印刷技術により再現性の良いチップの生産が可能

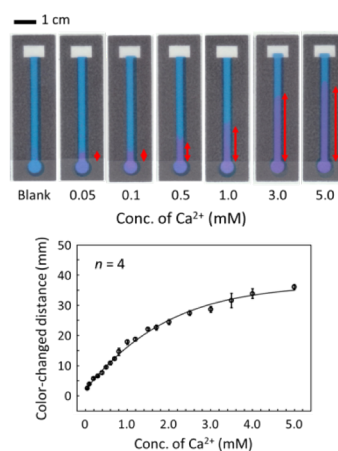
測定対象物質 カルシウムイオン (Ca²⁺)

チップデザイン



インクジェット印刷によるチップの大量生産が可能

濃度変化に対応する色変化した部分の長さ変化



実サンプル中の開発した紙基板チップによるCa²⁺の定量と従来法(錯滴定法)との比較

サンプルNo.	提案法 (mM)	エラー (%)
飲料水#1	0.43±0.03	0
飲料水#2	0.25±0.03	+6
飲料水#3	0.21±0.02	+2
飲料水#4	1.96±0.13	-5
水道水#1	0.46±0.03	+10
水道水#2	0.48±0.03	+6
水道水#3	0.51±0.03	+15
水道水#4	0.39±0.01	+12

色変化した「長さ」が 試料中のCa²⁺の「濃度」に対応
既存の分析法(錯滴定法)と 同様の分析性能を持つ

結果 アナログ温度計のように色変化した長さを測るだけで飲料水中のCa²⁺が定量可能な分析チップの開発に成功

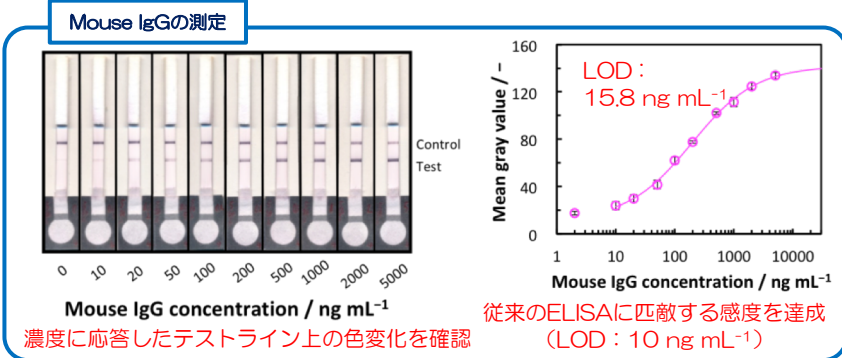
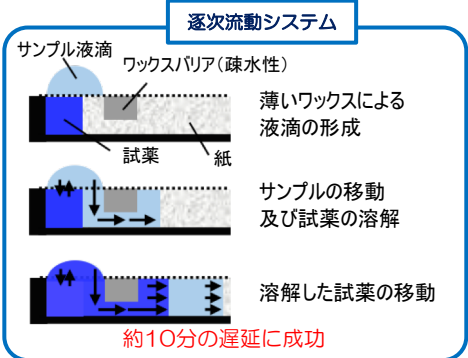
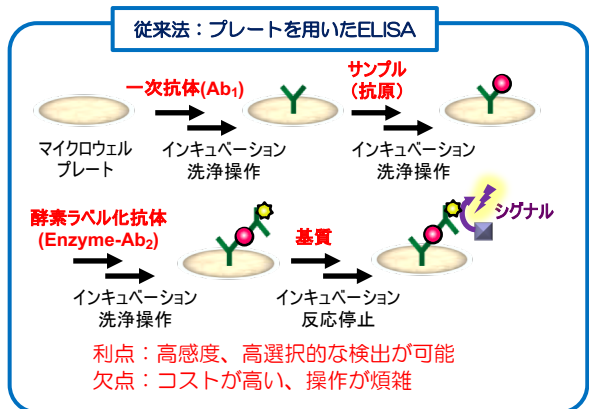
逐次流動システムを用いた抗原検出紙基板デバイスの開発

— 一滴のサンプル滴下でELISA(Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)が可能 —

特長 逐次流動システムの導入により、多段階のELISAをワンステップで行うことができる。

Ishii M. et al., Anal. Sci., 2018, 34, 51-56

測定対象物質: Mouse IgG (モデルターゲット)



結果 煩雑な操作を必要としない、ワンステップでELISAを行える紙基板デバイスの開発に成功

イオン分析のための電位差測定紙基板チップの開発

— インクジェットプリント技術を用いた紙基板の電位差測定イオン検出チップ —

Ruecha N. et al., Anal. Chem., 2017, 89, 10608-10616

特長 インクジェットプリント技術を用いることで、安価・簡便・迅速かつ選択的なイオン検出電極の作製が可能

測定対象物質: ナトリウムイオン(Na⁺), カリウムイオン(K⁺)

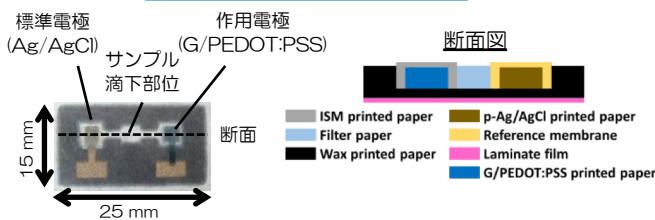
これまでの固体系電位差測定では、

- 作製方法が煩雑
- 測定前の電極調整が必要
- 標準電極の安定性が低い



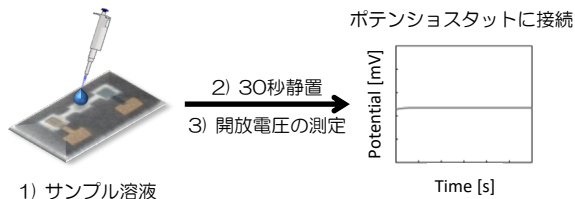
- 作製方法が簡単
- 最終利用者が行う操作はサンプル溶液の滴下のみ
- インクジェットプリント技術を用いているため再現性が向上

デバイスデザインおよび測定方法



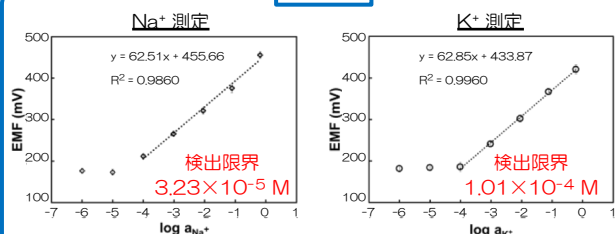
すべての試薬をインクジェットプリンタを用いて滴下

操作手順



少量のサンプルで、簡便かつ迅速に簡単なイオン検出が可能

検量線



生体サンプル測定で求められる濃度範囲でのイオン分析が可能

実サンプルへの応用

希釈したヒトの尿に含まれるナトリウムおよびカリウムイオン濃度の測定

sample no.	concentration of Na ⁺ (mM)			concentration of K ⁺ (mM)		
	Paper-based ISE	ion meter	% error	Paper-based ISE	ion meter	% error
1	144.22 ± 7.8	100.07	4.1	54.09 ± 4.2	53.79	0.5
2	126.07 ± 5.5	121.44	3.8	47.80 ± 4.1	50.47	5.3
3	97.82 ± 6.9	100.70	2.9	41.64 ± 5.2	39.80	4.6

ヒト尿中のナトリウムおよびカリウムイオン濃度の正確な分析が可能

結果 インクジェットプリント技術を用いた使い捨て可能な紙基板電位差測定用イオン検出チップの開発に成功