化学とマイクロ・ナノシステム研究会誌
Vol.11, No.1 (2012)

化学とマイクロ・ナノシステム

第 11 巻　第 1 号

目次

総説・解説
ナノカプセル化金ナノ粒子の治療・診断への応用　児島 千恵 ・・・・・・ 1
電気化学血糖センサ　南海史朗、池田信、中南貴裕、吉岡俊彦 ・・・・・・ 7
次世代抗体医薬：立体構造規制ペプチド・ライブラリーよる
分子標的ペプチド（マイクロ抗体）の創出　藤井 郁雄 ・・・・・・ 13

書籍紹介
「ナノ融合による先進バイオデバイス」　王 晨曦 ・・・・・・ 20

トピック紹介
化学・ナノマイクロ技術を用いた次世代 グルコース計測センサ
太田 裕貴 ・・・・・・ 21
ナノ空間の流動をはかる　嘉副 裕 ・・・・・・ 22

第 24 回化学とマイクロ・ナノシステム研究会ポスター賞
二次元マイクロチップ電気泳動分析の高感度化
木南冴子、川井隆之、末吉健志、北川文彦、大塚浩二 ・・・・・・ 23
浮遊細胞培養のための環流培養チップの開発
内藤豊裕、加地範匡、岡本行広、渡慶次 学、馬場嘉信 ・・・・・・ 25
パッチ型医療デバイスに向けた生体/食物からの直接発電システムの開発
羽田圭吾、吉野修平、大藤琢矢、三宅丈雄、西澤松彦 ・・・・・・ 27
ゲルビーズ分散型マイクロリアクションシステムによる PCR と
無細胞タンパク質合成の二段階反応
山本達之、佐伯大輔、杉浦慎治、金森敏幸、佐藤誠吾、市川創作 ・・・・・・ 29
誘電泳動を駆動力とした迅速な表面抗原の検出
畠中啓伸、安川智之、水谷文雄 ・・・・・・ 31
電気めっき法による金ナノ構造の形成と表面化学センサの高感度化への応用
長瀬紀子、垣田千洋、寺尾京平、宮西伸光、鈴木孝明、高尾英邦、
下川房男、大平文和 ・・・・ 33

学会報告
第 24 回化学とマイクロ・ナノシステム研究会（大阪）　久本 秀明 ・・・・・・ 35

Lab on a Chip 目次紹介（vol. 11, Issue 1−12）
名古屋大学・馬場研究室、千葉大学・関研究室、東京大学・火原研究室 ・・・・・・ 37

お知らせ
第 25 回化学とマイクロ・ナノシステム研究会 ・・・・・・ 64
μTAS2012 沖縄
論文投稿規定
会費に関する規定
変更届
「化学とマイクロ・ナノシステム研究会」入会案内

総説・解説

ナノカプセル化金ナノ粒子の治療・診断への応用

児島千恵
大阪府立大学ナノ科学・材料研究センター

Applications of Nanocapsuled Gold Nanoparticles for *Theragnosis*

Chie KOJIMA
Nanoscience and Nanotechnology Research Center, Osaka Prefecture University

Abstract
Gold nanoparticles (Au NPs) are useful for biomedical applications such as photothermal therapy and X-ray computed tomography (CT) imaging. Since delivery of Au NPs for the target tissue is indispensable, Au NPs were encapsulated into a biocompatible nanocapsule, polyethylene glycol (PEG)-modified polyamidoamine (PAMAM) dendrimer. Au NP-encapsulated PEGylated dendrimers were prepared by reducing gold ions in the presence of the dendrimer. However, the Au NP was too small to exhibit the efficient photochemical properties. Therefore, the seeding growth of Au NPs was performed in the PEGylated dendrimer *via* one step method using ascorbic acid and *via* step-by-step method using sodium borohydride. Larger Au NPs were observed after the seeding growth, depending on the amount of Au ions. Grown Au NPs exhibited the efficient CT intensities, which played a great role as a contrast agent for blood pool. Besides, they exhibited the efficient photothermal properties, which induced the photocytotoxicity. The theoretical analysis indicated that the size of Au NPs was influenced on the photothermal efficiency. It also indicated that the linearly aligned multiple Au NPs was contributed to the red shift of absorbing light as well as the efficient photothermal efficiency. The theoretical evaluation is useful for designing Au NPs with efficient photothermal properties. Therefore, the Au NP-loaded PEGylated dendrimer is useful for therapy and diagnosis, *theragnosis*.

Keywords: Gold nanoparticle; dendrimer; photothermal therapy; X-ray CT imaging; seeding growth

1. はじめに

金ナノ粒子は生体に毒性がなく、表面プラズモン共鳴（SPR）を示すことが知られており、様々な分野での研究がなされている。近年、光照射によって発熱することが見出され、光温熱療法への応用も試みられている[1,2]。このような光化学的な性質は金ナノ粒子の粒径や形状に大きく依存しているが、一般に金ナノ粒子は生理的な高イオン強度下においては凝集してしまうため、光化学特性を失ってしまう。したがって、金ナノ粒子を光温熱療法などに利用するためには、金ナノ粒子を安定に分散した状態で患部に送達するための運搬体が必要である。

金ナノ粒子は金イオンを還元することによって作製することができる。均一な金ナノ粒子の作製方法として鋳型を用いた金ナノ粒子の作製方法が挙げられる。ポリアミドアミン（PAMAM）デンドリマーは多くの金属微粒子の鋳型として用いられ、様々な金属微粒子が作製されてきた。金ナノ粒子の調製においては、PAMAM デンドリマーの内部の三級アミノ基はアニオン性の塩化金イオンとイオン対を形成するため、この状態で還元剤を加えることでデンドリマー内で均一な金ナノ粒子を作製することができる[2-5]。

これまで我々は、PAMAM デンドリマーに生体適合性ポリマーであるポリエチレングリコール(PEG)を末端に結合させた生体適合性ナノカプセルの作製を行ってきた。そして、その内部に薬物を内包させたり、化学結合を介して坦持させることによって薬物運搬体として利用できることを示してきた[6-8]。そこで、本研究では、この PEG 結合デンドリマーを金ナノ粒子の作製時の鋳型および運搬体として利用することによって、生体で利用できる金ナノ粒子の作製を行った。そして、得られた金ナノ粒子の形態や光化学的性質について検討を行った。さらに、光化学特性の向上を目的として、内部に保持できる金の量を増大させるため、この金ナノ粒子を核として、

児島千恵　（博士（生命科学））
〒599-8570　大阪府堺市中区学園町１－２
大阪府立大学 21 世紀科学研究機構ナノ科学・材料研究センター テニュア・トラック講師
Tel&FAX: 072-254-8190
e-mail: c-kojima@21c.osakafu-u.ac.jp

電気化学血糖センサ

南海史朗[1], 池田信[1], 中南貴裕[1], 吉岡俊彦[2]
[1]パナソニック ヘルスケア（株）, [2]パナソニック（株）

Electrochemical Blood Glucose Sensor

Shiro NANKAI[1], Shin IKEDA[1], Takahiro NAKAMINAMI[1], Toshihiko YOSHIOKA[2]
[1]*Panasonic Healthcare Co.,Ltd.*
[2]*Panasonic Corp.*

Abstract

The interest in health and medical treatment increases more in recent years, and importance of development and practical use of the biological body sensing technologies have risen, too. Especially, blood glucose sensors are widespread as the medical sensors that diabetic uses, and commonly used in the world. For a diabetic, blood glucose level is measured several times a day, and insulin is dosed according to the measured level and in such way, it is requested to manage adequate blood glucose level daily. As a result, serious complication such as renal syndrome and retinopathy, etc. caused by hyperglycemia can be prevented. One can feel convenience and can achieve precise blood glucose level management if the blood glucose level can be measured with blood glucose sensors everyday by oneself, instead of visiting the hospital regularly. Authors have been developing biosensor technology based on electrochemistry from the latter half of the 1970's and have offered some of the personal electrochemical blood glucose sensor. Here, we mainly introduce transition of blood glucose sensor technology and our challenges and approaches for practical use.

Keywords: Electrochemical blood glucose sensor; Biosensor; Diabetic; GOD; FAD-GDH; Mediator

1. はじめに

近年、健康・医療に対する関心はますます増大しており、生体センシング技術の開発と実用化に対する重要性も高まっている。特に血糖センサは糖尿病患者自身が用いる医療センサとして普及しており、世界各国で日常的に使用されている。

糖尿病患者数は世界で2億8,500万人(2010年)存在すると見られ、過去10年で約2倍に激増している。その数は今後増加の一途を辿り、2030年には人口の約7%、4億3,500万人に達すると推定されている[1]。患者数が多い地域は西太平洋(約7,700万人)と南東アジア(約5,900万人)であり、各々2030年頃に1億人を突破すると予測される。また現在の有病率でみれば、北米(10.2%)、中東・北アフリカ(9.3%)が高いとされている。糖尿病患者数の急増は医療財政の悪化を引き起こし、世界的に深刻な社会問題の一つとなっている。

糖尿病患者においては日に数回血糖値を測定し、その値に応じてインスリンを投与し、適正な値に管理することが日常的に求められている。これにより、高血糖状態が続くことによる腎症・網膜症等の深刻な合併症の発症を防ぐことが可能である。日々通院するのではなく、日常より自分自身で血糖計を用いて血糖値を測定し、適正な値にコントロールできれば、便利である上に細やかな血糖値管理を実現できる。

著者らは1970年代後半から電気化学方式のバイオセンサ技術開発を推進し[2-4]、これまでにいくつかの簡易型の電気化学血糖センサを提供してきた。本稿では血糖センサ技術の変遷、実用化の課題と取り組みを中心に紹介する。

2. 技術の変遷

血糖センサの技術の変遷についてTable 1に示す。酵素反応の電池応用について、当社は、半世紀ほど前の1964年頃に基礎検討を試みており、その後1977年より実施した通産省（当時）の未踏革新技術研究プロジェクト「酵素電池系の研究」（Fig. 1）の応用として、

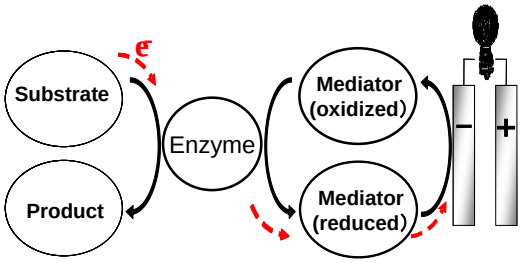


Fig. 1. Principle of biofuel cell with enzyme electrode

次世代抗体医薬：立体構造規制ペプチド・ライブラリーよる分子標的ペプチド（マイクロ抗体）の創出

藤井　郁雄
大阪府立大学大学院理学系研究科

Beyond Antibodies: Directed evolution of molecular-Targeting peptides in phage-displayed libraries of conformationally constrained Peptides.

Ikuo Fujii
Graduate School of Science, Osaka Prefecture University

Abstract
Today, antibodies are indisputably the most successful reagents in molecular targeting therapy. However, use of antibodies has been limited due to the biophysical properties and the cost to manufacture. To enable new applications where antibodies show some limitations, we have developed an alternative-binding molecule with non-immunoglobulin domain. The molecule is a helix-loop-helix peptide, “MicroAntibody”, which is stable against natural enzymes in vivo and is too small to be non-immunogenic. We constructed a phage-displayed library of MicroAntibodies. and screened the library for cytokine receptors. The obtained MicroAntibodies showed high affinity (Kd of nM range) and enzyme-resistant properties. The semi-rational strategy, which combines phage-displayed libraries with *de novo* designed peptides, provides a new way to generate structured functional peptides.

Key words: antibodies, peptides, directed evolution, phage-displayed libraries, molecular targeting therapy

１．はじめに

２１世紀に入るとともにヒトの遺伝子構造の全容が明らかにされた。現在，ゲノムから翻訳されるタンパク質の網羅的な解析が進められて，医薬品のターゲットとなるタンパク質の種類も数も劇的に増えている．このような急速なプロテオーム解析研究にともなって，分子標的医薬の第一候補として注目されているのが抗体医薬である。免疫システムのもつ抗体の多様性を利用すれば，標的タンパク質に特異的に結合する分子標的医薬を意のままに作製することができる。また，抗体のタンパク質工学も急速に進歩してきている。１５年前までは，抗原の免疫が唯一の抗体作製法であったが，いまでは，組み換え抗体タンパク質のファージ表層提示ライブラリー法より免疫をすることなく目的とした抗体を取得することができる。

一方，抗体医薬の研究が進むにつれ，その限界も明らかにされてきている。抗体医薬には，以下のような問題点が指摘されている。１）ヒトに対する抗原性を下げるため、ヒト化等が必要である。２）抗体は、多数のジスルフィド結合を含む巨大タンパク質であるため、細胞内に導入したり、細胞内で機能させたりすることができず、細胞内のタンパク質をターゲットとすることができない。３）現在の抗体医薬はそのほとんどがモノクローナル抗体であるために生産に膨大なコストを必要とする。さらに，４）抗体医薬の開発や生産には，特許の制限が複雑に絡み合っている。これらの問題点は，抗体の基本構造に起因するものである。そこで，イムノグロブリン構造を利用せず、目的の標的タンパク質に対して特異的に結合する抗体様物質の開発研究が始まっている[1)]。筆者らは，抗体様物質としてヘリックス–ループ–ヘリックス構造をもつ分子標的ペプチドの開発を行っている（図１）。すなわち，分子進化工学の主要技術であるファージ表層提示ライブラリー法を駆使し，立体構造規制ペプチド・ライブラリーから標的タンパク質に結合するペプチドをスクリーニングする。得られるペプチドは、強固な立体構造をもつため生体内の酵素分解に対しても安定であり，低分子量（分子量：3000～5000）であるにもかかわらず抗体と同等の高い結合活性をもつ。このことから，分子標的ペプチドを「マイクロ抗体」と名付けた。本稿では，まず進化分子工学の主要な技術であるファージ表層提示ライブラリー法を解説し，マイクロ抗体の分子設計およびその機能について紹介する。

２．進化分子工学とは

２０種類のアミノ酸を使って，新しい機能を持つ人工タンパク質を自由自在に創り出すことは，化学・生

Nature Biotechnology. **16**, 463 (1998).
12) N. Takahashi, H. Kakinuma, L. Liu, Y. Nishi, I. Fujii, *Nature biotechnology*, **19**, 563 (2001).
13) Y. Zenitani, Y. Takaoka, M. Arai and I. Fujii, *Peptide Science*, 351-352 (2001)
14) Y. Takaoka, T. Mizukoshi, H. Shimizu, I. Fujii, *Peptide Science*, 309-312 (2001)
15) D. Fujiwara, Z. Ye, M. Gouda, K. Yokota, T. Tsumuraya, I. Fujii, *Bioorg. Med. Chem. Lett*., **20** 1776–1778 (2010).
16) R. E.-Haggar, K. Kamikawa, K. Machi, Z. Ye, Y. Ishino, T.i Tsumuraya, I. Fujii, *Bioorg. Med. Chem. Lett*. **20**, 1169-1172 (2010).

書籍紹介

『ナノ融合による先進バイオデバイス』

民谷栄一　監修

シーエムシー出版 (2011 年 11 月)

ISBN 978-4-7813-0487-8

(本体 68,000 円 ＋ 税)

ナノマテリアルやナノテクノロジーを駆使して作製するバイオデバイスは我々工学系の研究者には医薬理工の異分野へ切り込む研究の新しいツールを提供する。これらの研究は近年目覚しい進展をとげている。しかしながら，学際的な幅広い新しい技術は既存の学問の枠にとらわれないため，若手研究者にとって発展状況を把握することが非常に困難である。その点から考えると，本書はナノバイオデバイスの要素技術から応用までの最新の研究動向に関わる研究例をわかりやすく解説した良書である。

本書の前半では，ナノ加工やナノ制御を駆使したりしてナノ構造を作り出すことで，生体系をターゲットとする新たな機能が見出される。また，遺伝情報，脳神経情報，生体防御情報などの様々な生体情報変換を利用した技術を概説している。一方，後半では高度バイオセンシングやバイオイメージング機能を実現した上で，応用例を中心にいくつかの実用化の例を詳述している。例えば，細胞機能を明らかにするためのナノ走査バイオイメージング，創薬のための細胞チップ，模倣した五感センサー，バイオ計測などを掲載し，初めてこの分野に接する読者にも興味を持たせることができるだろう。その他，医療や薬学へバイオナノテクの応用に取り組んだ様々な研究課題が全般に紹介されており、バイオデバイスの集大成の書であるとも言えよう。

王　晨曦 (東京大学・北森研究室)

学会報告

第 24 回化学とマイクロ・ナノシステム研究会（大坂）

久本　秀明
大阪府立大学大学院工学研究科

事後総括

2011 年 11 月 17 日（木）、18 日（金）の二日間、大阪府立大学なかもずキャンパスの学術交流会館にて、第 24 回化学とマイクロナノシステム研究会（24th CHEMINAS）が開催されました。これまでこの研究会は、京都では数回開催されたことがありましたが、大阪で開催するのは今回が初めてでした。今回は招待講演 4 件、ポスター発表 87 件、企業展示 3 件、研究会参加者はのべ 161 名でした。

初日は開会の挨拶後、2 件の招待講演が行われました。1 件目は大阪府立大学大学院理学系研究科の藤井郁雄先生から「次世代抗体医薬：立体構造規制ペプチド・ライブラリーによる分子標的ペプチド(マイクロ抗体)の創出」のタイトルでお話しいただきました。ペプチドライブラリーから結合定数の大きな分子を精密に選び出していく美しいプロセスが大変印象的なご講演でした。2 件目は大阪府立大学 21 世紀科学研究機構の児島千恵先生から「ナノカプセル化金ナノ粒子の光応答性を利用した診断・治療」 のお話をいただきました。児島先生はもともとデンドリマーを用いた薬物送達のご研究がバックグラウンドにあり、金ナノ粒子を使った最近のトピックをご紹介いただきました。続いて 30 件のフラッシュプレゼンテーション＆ポスターセッションが行われ、その後、3 件目の招待講演として、慶應義塾大学理工学部応用化学科の Daniel Citterio 先生から「Inkjet Printing and paper: a Different Approach to Microfluidic Devices」についてのお話をいただきました。数年前に Harvard のグループから紙を使ったマイクロデバイスの研究が発表されて以来、様々なアプローチが発表されてきていますが、Citterio 先生はインクジェット技術を試薬固定とデバイスファブリケーションの両方に用いる研究を展開されておられ、その最近のトピックスをご紹介いただきました。

2 日目は午前中に 27 件のフラッシュプレゼンテーション＆ポスターセッションが行われ、その後、4 件目の招待講演として、パナソニックヘルスケア株式会社の南海史朗先生から「パナソニックにおける血糖センサ開発」のお話をいただきました。生産販売開始後 20 年の節目を迎える血糖値センサー開発にずっと携わってこられた南海氏から、大会社の中で継続的にプロジェクトを続ける難しさを含め、血糖値センサーの成功に至るまでの大変興味深いお話をいただくことができました。昼食後に 30 件のフラッシュプレゼンテーション＆ポスターセッションが行われ、その後、ポスター賞のアワードセレモニーが行われました。審査委員長の広島大学村上裕二先生から、厳正な審査のもと若手研究者を対象として選考が行われたことが紹介され、特に「”この人と仕事がしたい”と思うかどうか」ということが考慮された、とのお話が印象的でした。3 回のポスターセッションから 2 名ずつ、計 6 名が選ばれ、関会長からポスター賞が授与されました。

ポスター賞受賞者

「LVSEP 法を用いた二次元マイクロチップ電気泳動分析の高感度化（3）」
木南冴子，川井隆之，末吉健志，北川文彦，大塚浩二（京都大学）

「浮遊細胞培養のための還流培養チップの開発」
内藤豊裕，加地範匡，岡本行広，渡慶次 学，馬場嘉信（名古屋大学）

「パッチ型医療デバイスに向けた生体/食物からの直接発電システムの開発」
羽田圭吾[1]，吉野修平[1]，大藤琢矢[1]，三宅丈雄[1,2]，西澤松彦[1,2]（1 東北大学，2 JST-CREST）

「ゲルビーズ分散型マイクロリアクションシステムによる PCR と無細胞タンパク合成の二段階反応」
山本達之[1]，佐伯大輔[2]，杉浦慎治[3]，金森敏幸[3]，佐藤誠吾[1]，市川創作[1]（1 筑波大学、2 神戸大学，3 産総研）

「誘電泳動を駆動力とした迅速な表面抗原の検出」
畠中啓伸，安川智之，水谷文雄（兵庫県立大学）

電気めっき法による金ナノ構造の形成と表面化学センサの高感度化への応用
長瀬紀子，垣田千洋，寺尾京平，鈴木孝明，高尾英邦，下川房男，大平文和（香川大学）

ポスター賞のアワードセレモニーの後、次回研究会案内を産総研九州の宮崎真佐也先生が行い、閉会となりました。

懇親会

懇親会は、大阪府立大学内の生協食堂で開催されました。当初約 40 名程度を想定していましたが、当日参加も含め、計 47 名の参加があり、交流を深めることができました。

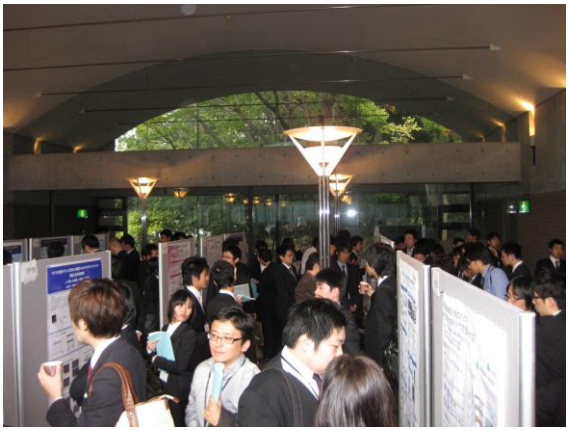
懇親会

若手交流会

若手交流会は、懇親会会場から徒歩 2-3 分程度の建物にある会場で、懇親会と同時刻に行われました。これは昨年名古屋で行われた学生メインの交流会を引き継ぐもので、この分野の研究を行う他大学の学生との交流の場として提供しているものです。参加費が安いこともあって多くの学生（57 名）の参加があり、大人の懇親会とは違った盛り上がりで交流を深めていました。

若手交流会

最後に、今回の研究会開催にあたり、ご多忙なスケジュールの中、ご講演くださいました招待講演の先生方に深く感謝申し上げます。ケミナス事務局からは藤貫様をはじめ、当日には小川様、萩谷様に事務局ブースを出していただき、ご協力いただきました。また、実務のほとんどをこなして下さった遠藤達郎准教授（阪府大）をはじめ、大阪府立大学分析化学研究グループのスタッフの皆さん、アルバイトとして働いてくれた学生の皆さんに深く感謝申し上げます。



ポスターセッションの様子

ポスター賞受賞者