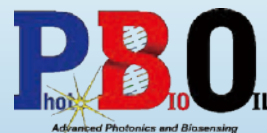


国立研究開発法人 産業技術総合研究所  
先端フォトニクス・バイオセンシングオープンイノベーションラボラトリ



2019年 1月17日  
第 1 号

# PhotoBIO ニュース



## Contents

---

- 産総研・阪大オープンイノベーションラボ フォトバイオ協議会に期待するー
- 戦略課題1 細胞微細操作計測班  
・生命の機能を探るフォトニクス技術  
・神経細胞機能の局所光操作
- 論文発表
- 受賞・表彰
- 第5回フォトバイオ協議会ワークショップ開催報告

## 産総研・阪大オープンイノベーションラボ ーフォトバイオ協議会に期待するー

大阪大学、産総研特定フェロー  
ラボ長 民谷 栄一



2017年1月より、産総研が経済産業省が進める「オープンイノベーションアリーナ構想」の一環として、大学のキャンパス内に設置する産学官連携研究拠点「オープンイノベーションラボラトリ」、通称「OIL(オー・アイ・エル)」が大阪大学のフォトニクスセンター内に設置されました。特に、このOILの設置を行うことで大学等の基礎研究と、産総研の目的基礎研究・応用技術開発を融合し、産業界へ技術の「橋渡し」を推進することを目的としています。大阪大学では、もとよりフォトニクス研究をになう100を超える研究室が集結しており、フォトニクスに関連する多様な研究が行われています。特にフォトニクスは、物理学、化学、生物学など基礎研究を行うための理論及び方法を提供するだけでなく、エネルギー、マテリアル、デバイス、バイオ医療などの幅広い応用を目指した研究開発を牽引しています。

特に、OILが設置されたフォトニクスセンターは、フォトニックデバイス、分子フォトニクスなどに代表されるナノフォトニクス領域を中心としたフォトニクス研究を進めており、基礎から応用、技術開発、産業展開なども視野に入れたオープンイノベーションを進めています。今回のOILにより産総研とも連携して関連企業との共同研究をさらに加速することを目指しています。

産総研との連携により形成される先端フォトニクス・バイオセンシングイノベーションラボラトリでは、産総研が進めるバイオデバイス技術とフォトニクスセンターが得意とするナノフォトニクス技術が連携することにより、バイオセンシング研究開発を進め、産業応用への展開のための拠点形成を目指しています。今日、安心安全や健康生活への関心が一段と高まっており、パーソナルに健康状態をモニターしたり、食品の安全やインフルエンザなどの感染の有無を、知りたいその場で、診断するための技術の実現が求

められています。また、新しいパラダイムでの創薬開発・評価を可能にする細胞チップ・計測技術や、先進医療を促進する細胞操作・イメージング技術が求められています。産総研はこれらのニーズに対応した遺伝子解析、細胞アレイなどのバイオ分析技術を有しており、阪大はフォトニクスによる高感度検出・解析や超解像イメージング・解析技術などの多彩な先進技術を有しています。例えば、金属ナノ粒子やナノ構造体による高感度バイオセンシング、超解像光学顕微鏡、分子解像ラマン顕微鏡、深紫外レーザー用非線形光学結晶などのフォトニクス高度基盤技術が研究開発されています。これら阪大のフォトニクス高度基盤技術と産総研のバイオ分析技術を組み合わせ融合することにより、早期診断や薬剤評価に係る革新的デバイス技術を創出し事業化・橋渡しを実現することを目指しています。また、フレキシブルセンサー、POCTセンサーなどSociety5.0の基盤となるべく、IoTやAIとのリンクを可能とするバイオセンシング分野の研究開発も強力に進めます。

このオープンイノベーションラボにおいては、産業界との連携の場を形成するために、新たにフォトバイオ協議会を創設しました。現在、12社(電気電子・光学系5社、化学・材料系4社、バイオ医薬系3社)が業種を超えて参加し、すでにオープンイノベーションに向けたシンポジウムを4回ほど行なっています。また、必要に応じてクローズな会議も進めています。真のイノベーションには、基礎から応用、実用化までを広く扱うだけに多面的な知識や経験が必要とされますし、多様な研究者、技術者との連携が極めて有用です。この協議会を通じた人的ネットワーク形成がソリューションを得るきっかけとなれば、幸いです。

## 生命の機能を探るフォトニクス技術

大阪大学生命機能研究科/産総研特定フェロー 井上 康志

PhotoBIO-OILの戦略課題1では、細胞微細操作計測に関わる技術開発を行なっています。阪大の得意とするフォトニクスを基盤とした最先端の顕微計測技術と、産総研が得意とする細胞機能を高度に操作する技術を融合することで、これまで測定が困難であった生体分子の応答を長時間、リアルタイムで計測する技術を開拓し、創薬や診断などの高度化に資する基盤的な評価技術の確立を目指しています。戦略課題1には2つのサブグループがあり、それぞれ神経シナプス活動および肝臓代謝系を対象としたフォトニクス計測技術の開発を進めています。

今号では、神経シナプス活動の微細操作計測法に関連したトピックスについて、阪大側からは井上が、産総研側からは細川主任研究員が、それぞれ紹介いたします。

水中や生体中も伝搬することができ、また、低エネルギーで生体に与える影響も少ない光は、優れたプローブの一つです。生体を計測・イメージングする方法は数多存在しますが、生きたままとなると、やはり光を利用した手法が一般的と言えます。近年では、光源となるレーザー技術の目覚ましい発展やカメラ等の検出器の高感度化、ステージなどの走査機構や光学部品の高精度化、ナノ構造体や新規蛍光物質の出現、画像など計測データ処理の高度化等が相まって、各種分光法を駆使することで、分析能や分解能を飛躍的に向上させた観察手法が開発されています。本稿では、ラマン散乱分光法と新規蛍光物質である白金ナノクラスターについて述べたいと思います。

ラマン散乱は、今から90年前の1928年にインドの物理学者 C.V. ラマンらにより発見されました。この光学現象は、光が物質により散乱されるときに、物質を構成する分子や結晶格子などの振動が励振され、振動エネルギー分だけ、光の周波数が変化する非弾性散乱の一つです。それぞれの振動は固有の周波数を有することから、散乱光のスペクトルを測定することで、物質を構成する分子構造や結晶構造を知ることができます。私自身およそ20年前からラマン散乱分光に関わる研究活動に従事してきました。具体的には、ナノスケールの先端径を有する金属探針先端に光を照射し、局在表面プラズモンを励起することで、光を探針先端に閉じ込めナノ光源とし、ラマン散乱をナノスケールで誘起するチップ増強ラマン散乱分光法

(TERS)と呼ばれる研究です。一種の表面増強ラマン散乱分光法(SERS)ですが、金属ナノ探針を試料表面上で走査することでナノスケールの空間分解能を実現することができます。また、金属ナノ探針を通して、ファンデルワールス力を分子に印加することで、分子の配向状態や高圧下でのラマン計測を分子スケールで実現することも可能です。探針先端の金属原子と分子との化学的な結合を評価できるなど、これまでにない新しいナノ分光法として利用されつつあります。このTERSですが、生体の細胞膜表面を観察することには適していますが、細胞内の観察となると不向きです。そのため、エンドサイトーシス等で細胞内に取り込ませた金属ナノ粒子にレーザー光を照射することで、SERSを誘起し、金属ナノ粒子近傍の分子からのラマン散乱光を計測する方法も開発されています。

さて、PhotoBIO-OILでは、オーソドックスな自発ラマン散乱による神経細胞の生体分子イメージングと神経伝達物質の動態を観察する方法の確立を目指しています。神経伝達物質の受容体やイオン分布などとの同時観察により、神経シナプス活動のライブイメージングを実現していきたいと考えています。

一方、神経伝達物質の受容体は白金ナノクラスターと呼ばれる新規の蛍光物質により標識をします。白金ナノクラスターは数個から十数個の白金原子により構成され、量子サイズ効果により発光性を獲得することで、蛍光プローブとして利用することが可能です。構成する原子数を変えることで、蛍光波長を制御することができます。これまでに、青色、緑色、黄色の蛍光を発光する白金ナノクラスターを合成する技術を確立しています。退色しにくいなど、光安定性に優れ、サイズも2 nm以下と半導体量子ドットよりも小さく、細胞毒性も低いなどの特徴を有しています。

これまでに、神経伝達物質の受容体に標識するプロトコルを確立し、培養した神経細胞上の神経伝達物質受容体の蛍光イメージングができることも示してきました。今後は、ラマン散乱分光法により神経伝達物質を、白金ナノクラスターによりその受容体を同時観察する技術の開発を図り、神経細胞間の情報伝達過程を計測・評価することを目指していきたいと考えています。

## 神経細胞機能の局所光操作

産総研バイオメディカル/PhotoBIO-OIL 細川 千絵

脳は神経細胞からなる巨大な回路網を形成しています。神経回路網では、神経細胞間のシナプス結合を介して情報伝達を行い、特定の神経細胞集団が同期的に発火する、機能的な結合が形成されています。この機能的結合は、記憶や学習といった高次脳機能において不可欠であり、神経回路網の時間的・空間的な活動パターン変化を制御する機構が脳機能にとって重要な役割を果たしています。ラット等の小動物の脳組織から取り出して分散培養した神経回路網では、培養日数とともに神経細胞のネットワークが自己組織的に再構築され、脳組織と同じように自発的な神経活動を行います。培養神経回路網においても、細胞間の機能的結合が、外部からの刺激入力に応じて動的に変化することが知られており、脳機能のモデル系として利用されている他、創薬スクリーニング等の応用研究にも活用されています。私たちは、神経回路網の細胞機能を能動的に、かつ非侵襲に操作可能な手法として、集光レーザービームの光摂動を用いた細胞操作技術の開発に取り組んでいます。本稿では、PhotoBIO-OIL 戦略課題 1 で進めています、培養神経回路網の光操作についてご紹介します。

神経細胞間の機能的結合を明らかにするためには、特定の細胞を高頻度に刺激し、誘発された神経活動の時空間パターンを解析する必要があります。細胞を刺激する方法として、パッチクランプ法や細胞外電位多点計測法等の電気的手法が挙げられます。電気生理学的手法では一細胞のみの刺激は可能ですが、電極の接触に伴う細胞へのダメージが懸念されます。一方、薬理学的手法では一細胞のみを高精度に刺激することは困難です。これに対して近年、光遺伝学的手法により一細胞レベルでの神経活動制御が実現されていますが、細胞への遺伝子導入が必要であり、治療等への応用は難しいと考えられています。このような背景の下、本研究では神経細胞を一細胞レベルで非接触に刺激する手法として、集光フェムト秒レーザーを用いた細胞内局所刺激手法の開発を進めています。フェムト秒レーザーは  $10^{-15}$  秒オーダーの超短パルス光源です。顕微鏡対物レンズで集光することにより  $1 \mu\text{m}$  程度の局所領域のみの加工が可能になることから、細胞操作への応用が近年注目を集めています。そこで本研究で

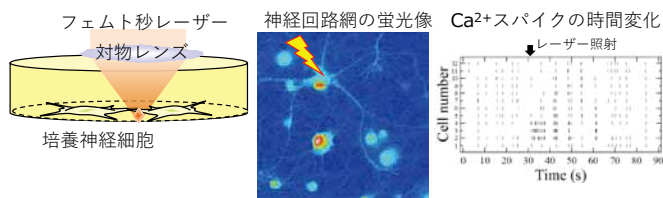


図. 集光フェムト秒レーザーを用いた神経細胞の光刺激

は、集光フェムト秒レーザーを用いて一細胞を刺激する手法について検討しました。

蛍光カルシウム指示薬を負荷したラット海馬領域の培養神経細胞にフェムト秒レーザーを集光し、レーザー照射前後にける細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の経過時間変化を計測しました。フェムト秒レーザー(中心波長  $800 \text{ nm}$ 、パルス幅  $\sim 100 \text{ fs}$ 、繰り返し周波数  $82 \text{ MHz}$ )を神経細胞の細胞体に集光すると、レーザー集光領域において細胞内の蛍光強度が増加し、細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の一過的な上昇がみられました。細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度の増加は、レーザー光強度や照射時間、レーザー光の集光位置に依存し、フェムト秒レーザーの多光子吸収に基づいて細胞膜に一過性の微小穿孔が誘起され、細胞内へイオン流入が促されると考えられます。さらに、細胞外電位多点計測システムを用いてレーザー照射前後に観測される神経細胞の電気活動変化を測定したところ、レーザーを照射した電極から細胞の刺激に伴う誘発応答と推察される電位の変化が観測されました。

以上の結果から、フェムト秒レーザー照射により神経細胞が刺激されることを明らかにしました。本手法は、ケージド化合物や遺伝子等の細胞内導入を必要とせず、一細胞に対して非接触に高い空間分解能での操作が可能であることから、従来の遺伝子操作を代替、或いは補完する細胞操作技術や、脳・神経疾患の標的分子に注目した新たな光治療研究への応用が期待されます。現在、PhotoBIO-OIL 戦略課題 1 において進めている、ラマン散乱顕微鏡を用いた神経シナプス活動のライブイメージングと本手法とを組み合わせることにより、狙った細胞を刺激し、神経細胞間の機能的結合を無標識でありのままに評価することを目指しています。

## 論文発表

- Nishitani Y, Hosokawa C, Mizuno-Matsumoto Y, Miyoshi T, Tamura S, Effect of correlating adjacent neurons for identifying communications: Feasibility experiment in a cultured neuronal network, *AIMS Neuroscience*, 5, 18 (2018).
- Saito M, Uchida N, Furutani S, Murahashi M, Espulgar W, Nagatani N, Nagai H, Inoue Y, Ikeuchi T, Kondo S, Uzawa H, Seto Y, Tamiya E, Field-deployable rapid multiple biosensing system for detection of chemical and biological warfare agents, *Microsystems & Nanoengineering*, 4, 17083 (2018).
- Tamiya E, Inoue Y, Saito M, Luminol-based Electrochemiluminescent biosensors for highly sensitive medical diagnosis and rapid antioxidant detection (Progress Reviews), *Jpn. J. Appl. Phys.*, 57, 03EA05 (2018).
- Furutani S, Nishio K, Naruishi N, Akazawa Y, Hagiwara Y, Yoshida K, Nagai H, Rapid Enzyme-Linked Immunosorbent Assays for Diagnosis of Diabetes in a Compact Disc-Shaped Microfluidic Device, *Anal. Sci.*, 34, 379 (2018).
- Ali RAM, Espulgar WV, Aoki W, Jiang S, Saito M, Ueda M, Tamiya E, One-step nanoimprinted hybrid micro-/nano-structure for in situ protein detection of isolated cell array via localized surface plasmon resonance, *Jpn. J. Appl. Phys.*, 57, 03EC03 (2018).
- Deka G, Nishida K, Mochizuki K, Ding HX, Fujita K, Chu S-W, Resolution enhancement in deep-tissue nanoparticle imaging based on plasmonic saturated excitation microscopy, *APL Photonics*, 3, 031301 (2018).
- Biyani M, Biyani R, Ushijima H, Saito M, Takamura Y, Tamiya E, Biyani M, Instant enumeration of total viable bacterial counts for food quality assurance using ‘DEP-On-Go’ sensor, *Anal. Methods*, 10, 1579 (2018).
- Rifki S, Hayashi S, Ishitobi H, Nesterenko, DV, Rahmouni A, Inoue Y, Sekkat Z, Resolution Enhancement of Plasmonic Sensors by Metal-Insulator-Metal Structures, *Annalen der Physik*, 530, 1700411 (2018).
- Higashi Y, Mazumder J, Yoshikawa H, Saito M, Tamiya E, Chemically regulated ROS generation from gold nanoparticles for enzyme-free electrochemiluminescent immunosensing, *Anal. Chem.*, 90, 5773 (2018).
- Kishimoto T, Maezawa Y, Kudoh NS, Taguchi T, Hosokawa C, Optical trapping of quantum-dot conjugated AMPA-type receptors depended on initial assembling states, *Proc. of SPIE*, 10712, 1071204 (2018).
- Zhu Z, Yoshikawa H, Saito M, Fan B, Tamiya E, Fabrication of Surface-Enhanced Raman Spectroscopy (SERS) – Active Electrodes by Silver Sputtering Deposition for Electrochemical SERS Analysis, *Electroanalysis*, 30, 1 (2018).
- Nito F, Shiozaki T, Nagura R, Tsuji T, Doi K, Hosokawa C, Kawano S, Quantitative Evaluation of Optical Forces by Single Particle Tracking in Slit-like Microfluidic Channels, *J. Phy. Chem.*, 122, 17963 (2018).
- Wakida S, Osaki S, Kintoki T, Kitamura K, Murai K, Moriuchi T, Development of Stable ISFETs for Salivary Nitrate to Acute Stress Monitoring, *Proc. IMCS*, 433-434, (2018).
- Toita R, Fujita S, Jeong-Hum K, Macrophage uptake behavior and anti-inflammatory response induced by liposomes containing bovine brain- or soybean-derived phosphatidylserine, *J. Oleo. Sci.*, 67, 1131 (2018).
- Toita R, Otani K, Kawano T, Fujita S, Murata M, Kang JH, Protein kinase A (PKA) inhibition reduces human aortic smooth muscle cell calcification stimulated by inflammatory response and inorganic phosphate, *Life Sci.*, 209, 466 (2018).
- Nawa Y, Yonemaru Y, Kasai A, Oketani R, Hashimoto H, Smith NI, Fujita K, Saturated excitation microscopy using differential excitation for efficient detection of nonlinear fluorescence signals, *APL Photonics*, 3, 080805 (2018).
- Mazumder J, Kizawa Y, Espulgar W, Yoshikawa H, Saito M, Koyama S, Takamatsu H, Kumanogoh A, Tamiya E, Electrochemiluminescence-based Monitoring of Activated Human Neutrophils Using Luminol Derivative Immobilized onto Screen-printed Electrodes, *Chem. Lett.*, 47, 1337 (2018).
- Zhu Z, Espulgar WV, Yoshikawa H, Saito M, Fan B, Dou X, Tamiya E, Electrochemically Modulated Surface-Enhanced Raman Spectra of Aminoglutethimide (AGI) on the Ag-sputtered Electrode, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 2018, 1575 (2018).
- 田邊史夏, 吉本秀輔, 野田祐樹, 荒木徹平, 植村隆文, 関谷毅, インフラ構造物モニタリングに向けたコンクリート内塩化物イオン濃度の電氣的計測に関する検討, センサ・マイクロマシンと応用システムシンポジウム論文集, 31pm2-PS-144 (2018).
- Kitamura K, Murai K, Wakida S, Actualization of Seamanship Enhancement Based on Evaluation of Mental Workload, *Proc. IAIN 2018*, C2-4, 1-4, (2018).

## 受賞・表彰

2018/04/05

近藤 雅哉

Masaya Kondo, Michael Melzer, Takafumi Uemura, Daniil Karnaushenko, Shusuke Yoshimoto, Mihoko Akiyama, Noda Yuki, Teppei Araki, Oliver Schmidt, and Tsuyoshi Sekitani, "Wiress Ultraflexible Magnetic Sensor Matrix System Integrated with Organic Driver and Amplifier Circuits," 2018 MRS Spring Meeting & Exhibit, Best Poster Award, April 2018.

Best Poster Award

2018 MRS Spring Meeting & Exhibit

Wiress Ultraflexible Magnetic Sensor Matrix System Integrated with Organic Driver and Amplifier Circuits

2018/08/31

金時卓哉

金時卓哉, 大崎脩仁, 森内隆代, 脇田慎一, 唾液硝酸イオン ISFETs 用ポリウレタン膜材料の探索研究

優秀ポスター賞

日本分析化学会中部支部・近畿支部合同夏期セミナーで優秀ポスター賞

唾液硝酸イオン ISFETs 用ポリウレタン膜材料の探索研究

## 第5回フォトバイオ協議会ワークショップ開催報告

産総研バイオメディカル/PhotoBIO-OIL 細川 千絵

平成30年10月2日に大阪大学フォトニクスセンターにて、第5回フォトバイオ協議会ワークショップが開催されました。折しも、本庶佑先生のノーベル医学・生理学賞が発表された翌日であり、創業に向けた応用展開への期待が高まる中、バイオセンシングの進展について興味深いお話を伺うことができました。

ワークショップでは、産総研/国立循環器病研究センターの片岡直也先生が、心不全ホームモニタリング実現に向けた、尿中ナトリウム利尿ペプチドの高感度測定機器の開発についてご講演されました。心不全の在宅モニタリングシステムの現状にはじまり、ナトリウム利尿ペプチドの迅速測定機器についてご説明いただきました。次に、神戸大学の竹内俊文先生より、がん細胞由来エクソソーム計測のためのセンシングチップに関する最新の研究成果についてご講演いただきました。分子インプリンティング手法を用いてエクソソームの高感度検出を可能とする、インプリントポリマーナノ粒子の作製についてご説明いただきました。

後半は、参画企業3社より話題提供をしていただきました。古野電気の研究開発の紹介と本協議会への期待とし

て、古野電気株式会社の西森靖氏にご講演いただき、創業の経緯に纏わる魚群探知機をはじめとした技術開発についてご紹介いただきました。旭化成株式会社の小谷雄三氏より、旭化成の事業紹介およびドライフィルムの機能についてご紹介いただき、本協議会への期待についてご説明いただきました。最後に、シャープ株式会社の村上善照氏よりシャープのR&D体制の取り組みについてご紹介いただき、ペットのモニタリングに関する最新の技術開発についてご説明いただきました。懇親会も含めて多くの議論がなされ、交流を深める良い機会となりました。

