



2020年度 助成 研究終了報告書

※ゴシック文字で記入下さい。

研究テーマ	ナノカーボン微小電極によるバイオセンシングデバイスの高感度化
研究の結果	<p><研究目的> 近年、iPS細胞や間葉系幹細胞(MSC)を始めとする細胞を用いた、再生医療等製品の産業化が進められている。再生医療製品である細胞加工物を扱う工程では、細胞加工プロセスは数値化やその利用が殆どなされておらず『Black Box』となっており、製品製造の観点から考えると、細胞加工プロセスの『徹底的な数値化』と理解、データを利活用した解析と工程のフィードバック実施が重要である。特に、細胞の定着および培養段階における細胞の活動を温度やpHなどの環境情報を厳密に把握したうえで、細胞電位のリアルタイム計測技術の確立が切望されている。</p> <p>そもそも細胞の電位計測アレイ(Micro Electrode Array: MEA)においては、これまで金属電極が用いられてきたが、その感度は本質的に細胞がもつ電位の1/1000程度のμV程度であり非常に低いことが問題点である。さらにピラー状の電極とすることで細胞内電位計測が可能になり、mVの電位計測も可能になるが、Siナノワイヤなどの生体親和性も低く、電気伝導性の低い報告例にとどまっている。カーボンナノチューブ(CNT)などのナノカーボン材料表面では細胞の定着率の向上などが報告されてはいるものの、サブミクロンサイズの高導電性CNTを用いた計測やMEA解析に応用した報告は申請者が知る限り存在しない。そこで本研究では、CNTを垂直配向させた電極による細胞内電位の高感度計測を新規アイデアとして提案し、生体親和性の高いCNT電極を用いた電位計測を研究目的とする。本研究ではプラスチック基板などのフレキシブルな基板を用いて、将来のin-situなウェアラブルセンシングデバイスの作製と評価を実施する。ナノカーボン材料の電子デバイス作製と評価に実績のある代表者(廣谷)に加え、細胞培養(蟹江)、CNT配向成長(杉目)、機械特性シミュレーション(劉)の若手研究分担者が強力にタッグを組むことで初めて可能となる研究である。</p> <p><研究内容> 細胞の電位計測は金属電極を用いたμVの電圧計測[A Stett et al., Analytical and Bioanalytical Chemistry 377, 486 (2003)]やSiナノワイヤなどの導電性の低い針状の針状の半導体を用いた計測[Suyatin DB et al., PLoS ONE, 8, 2 (2013).]は存在するものの、細胞の定着率や成長を促進しつつ、高導電性材料であるCNTを$1\mu\text{m}$以下の細胞より十分小さいサイズで用いた本研究での提案手法は、今回新規に提案したアイデア以外存在しない。カーボンナノチューブ(CNT)を用いた細胞応用研究でも、単にCNTの有無による細胞培養の違いに関する研究例[B. S. Harrison et al., Biomaterials, 28 344 (2007).]が報告されている程度であり、高導電性CNTピラーを用いて細胞外電位ではなく細胞内電位による1000倍高感度な計測にチャレンジする本研究には新規性がある。また、わずか1°Cの温度差や居住環境で我々人間の体調が大きく変化すると同様に、細胞にとって</p> <p>本研究で目指すもの サブミクロンサイズのナノカーボン電極をフレキシブル基板上に形成し、細胞活動状態のリアルタイムモニタリングと1000倍の高感度計測にチャレンジする。</p>  <p>図1. 研究内容全体像</p>

実験環境条件の把握は必要不可欠である。

今回は、細胞の電位計測に加えて温度や pH などの定量的に評価可能な物理情報をリンクさせることで、これまで経験的な検討が多かったバイオ応用分野の研究を開拓できる点は意義深い。本研究の特徴は、ナノカーボン材料にフレキシブル基板上でのデバイス作製技術と高感度計測技術を駆使することで、通常の平坦な基板上での細胞培養のみならず、局面や円筒内での細胞培養と特性評価を可能にしている。このアイデアにより、より現実に近い血管内部の実状態を模擬した系での細胞情報を計測することが初めて可能になった点で、新規性とチャレンジ性がある。さらに、CNT を細胞の高感度電位計測のみならず、培養の足場、温度計測などにも複合的に用いており、レアメタルフリーのデバイス作製を可能にしている。また本研究は、ナノ材料工学、電子工学を専門とする代表者を中心に、創薬学、化学工学、機械工学の異なる分野の若手研究者がサポートする若手主体の強力なチームであり、将来の医療応用に工学や化学の知見を応用した複合的研究である点で学術的価値が高い。将来的には代表者らが開発した伸縮基板上でのナノカーボン高感度デバイス作製技術[特願 2018-162967, 日本国]を応用した研究展開も見込め、体内に埋め込んだ状態で細胞の状態をリアルタイムでモニタリングすることも可能であり、産業応用可能な生体親和性の高い電子デバイスを創出できる。

<研究結果および考察>

まずこれまで研究代表者らによって得られている CNT 薄膜形成手法を応用して、細胞培養を実施した。その結果、CNT 薄膜上でも細胞は定着し、培養することがわかった。(図 2)この結果から、CNT 上での細

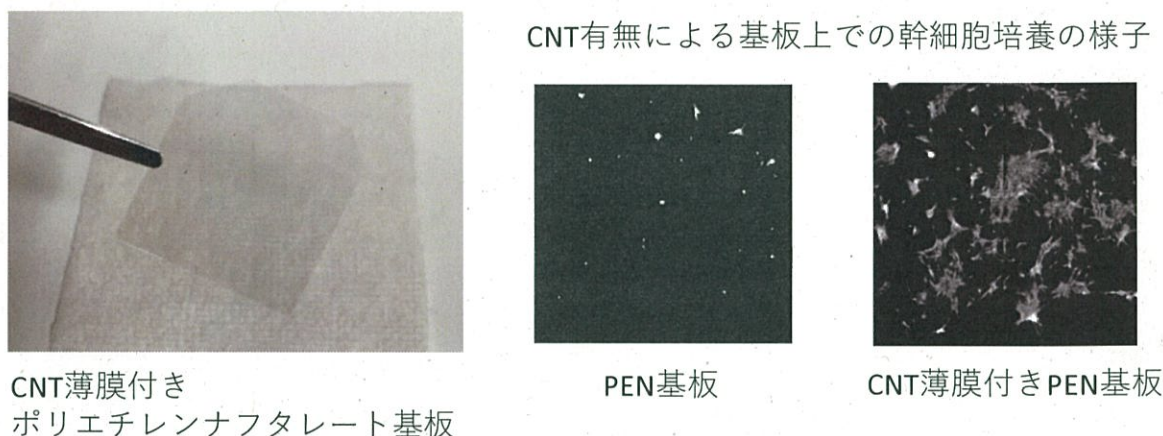


図 2. プラスチック基板上の幹細胞培養結果 (CNT の有無による比較)

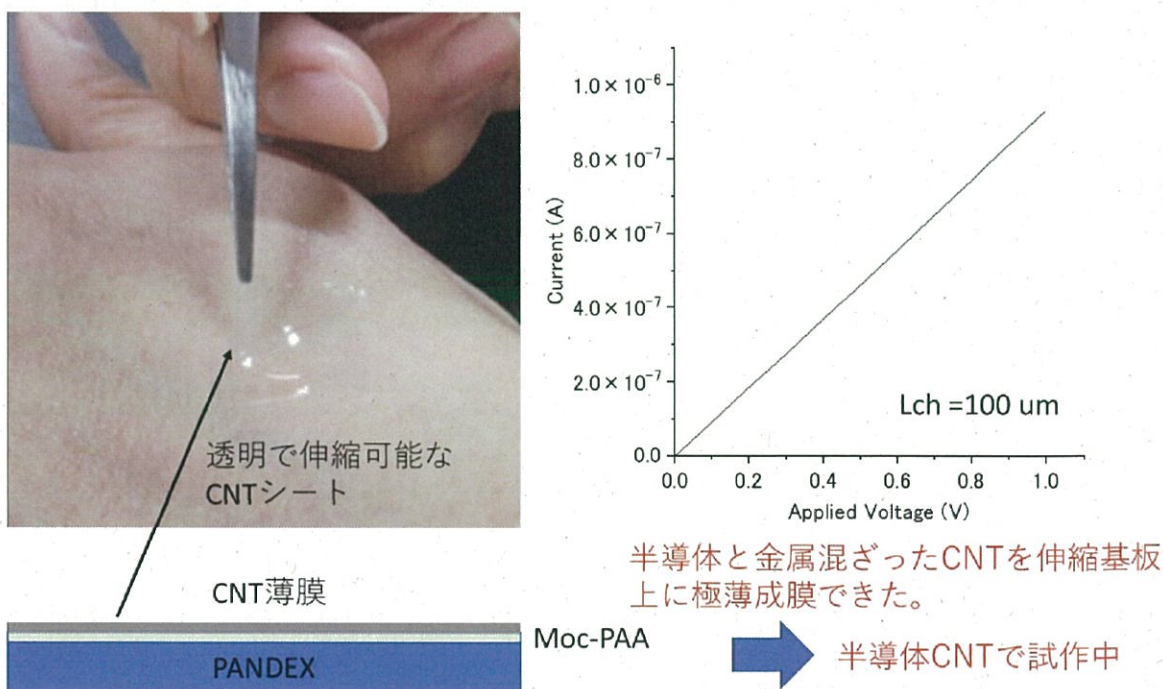


図 3. 伸縮可能な基板(PANDEX)上への極薄 CNT 成膜結果と電気特性評価結果

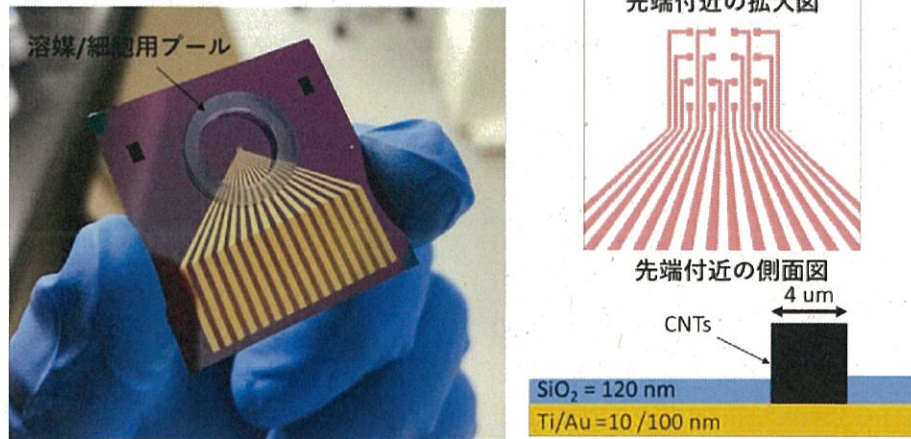


図 4. 半導体プロセス技術により作成した CNT 微小電極デバイス

胞定着と分化は可能であると考え、現在引き続き影響評価などを進めている。現在進行形で、n 増し実験による再現性確認を行いつつ、CNT 薄膜モニタリングデバイスの作製に向けて研究を進めている段階である。この薄膜を用いたバイオセンシングデバイスの作製と実験系の構築は研究代表者を中心に進めており、構築した実験系を用いて一般的なバイオセンシングデバイスの高感度測定が可能であるところまで確認している。さらにプラスチック基板だけでなく、伸縮基板上での極薄 CNT 成膜にも成功(図 3)しており、こちらもデバイス化に向けた研究を進めているところである。

また CNT が垂直配向した微小電極デバイスにおいては、半導体プロセス技術と CNT 成長技術により Si 基板上へのデバイス作製まで完了している。現在、図 4 に示すデバイス構造とした場合に、一様な垂直 CNT 配向膜とならずに、円周と中心付近に集中的に CNT が成長してしまう課題が発生している。フラットな Si 基板上に絶縁膜(SiO₂)を形成せずに CNT だけ成長させた場合には見られなかった問題点であり、現在は、均一な垂直配向 CNT 薄膜作製に向けた CNT 成長条件検討とデバイス構造の工夫を実施している段階である。

<今後の研究展開について>

若手異分野共同研究だったため、1 か月に 2 回程度の打ち合わせを実施しながら進めているが、まだまだお互いの研究分野の理解と言葉の共通化を図っている部分もある。また COVID-19 のため、装置購入に思いのほか時間を要したほか、研究者間交流がままならなかった点が課題として残る。しかしながら WEB 会議等を積極的に用いることで、図 2~4 で示した通り、着実に CNT 薄膜作製や高感度計測用デバイス作製などが進んでおり、2022 年度にまず論文 2 報程度の成果を共同で創出することで、ナノカーボン材料を用いた細胞センシングの応用研究を推進する。

本研究の遂行において、立松財団における特別研究助成により、バイオセンシングに必要不可欠なポテンシオスタットの購入、電気化学測定用消耗品一式、電気特性評価用のソースメーターを購入することができた。異分野の若手研究者が研究を実施しようとするための研究費で適当なものがなかなか存在しない状況において、研究成果の創出に向けた基盤を構築できた点が非常に大きく、ここに心からの謝意を記す。論文などの成果創出には n 増し実験と詳細な測定と評価が必要不可欠であるが、引き続き全力で研究を実施することで立松財団の趣旨に沿った研究開発と成果の社会還元に貢献したい。

研究発表
(実績)

2021 年度中の成果発表は特になし。

2022 年度中の論文 2 報と応用物理学会、フラーレン・ナノチューブ・グラフェン学会における発表 2 件を計画しており、引き続き研究開発を実施する。

提出期限：研究期間終了後、すみやかに助成金の「必要経費使途明細書」「領収書」と合わせて提出下さい。
年度をまたぐ場合は毎年 3 月末日までに、途中経過をご記入の上、報告願います。