

2017年7月6日(木)

15:30～15:55

⑤

ダイヤモンド電極の医療分野への展開 ～生体物質の高感度リアルタイムモニター～

慶應義塾大学
理工学部 化学科

教授 栄長 泰明

■ 新技術の概要

ホウ素を高濃度にドーピングした導電性をもつダイヤモンドを合成し、電極として用いる応用展開について研究開発を推進しています（ダイヤモンド電極）。ここでは、ダイヤモンド電極が、ウイルスの高感度検出をはじめ、高感度、リアルタイムで生体計測ができる電気化学センサーとして医療分野へ応用する展開について紹介します。

■ 従来技術・競合技術との比較

投薬や治療などによる薬物や腫瘍マーカーの濃度変動をリアルタイムで計測できる技術が求められている。従来技術ではリアルタイムモニターは困難であるが、ダイヤモンドマイクロ電極により電気化学的に高感度に検出が可能である。

■ 新技術の特徴

- 生体関連物質、薬物等を生体内でリアルタイムモニターが可能。
- 従来法で必須となっている試薬、抗体等を用いる必要がない。
- 簡便かつ高感度、さらに耐久性に優れている。

■ 想定される用途

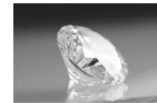
- 腫瘍マーカー、pH、薬物動態の生体内計測
- 携帯型・ウェアラブル型のウイルス検出デバイス
- 水質等、環境計測へも応用可能

ダイヤモンド電極の医療分野への展開 ～生体物質の高感度リアルタイムモニター～

慶應義塾大学工学部化学科 教授
栄長 泰明

材料としての「ダイヤモンド」

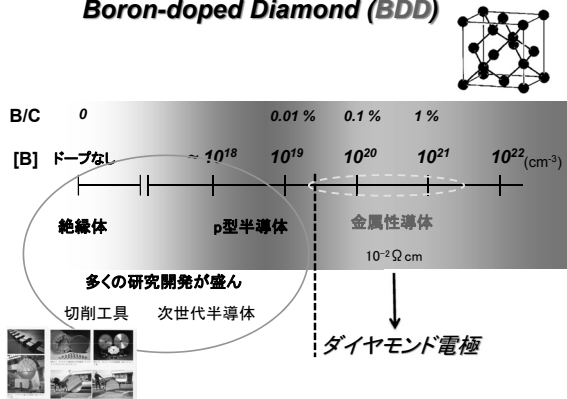
特性	数値	摘要
新モース硬度	15	地球上の物質中最高
音速	1.8×10^4 m/s	地球上の物質中最高
ヤング率	1050 GPa	地球上の物質中最高
体積弾性率	500 GPa	地球上の物質中最高
熱伝導率	900-2000 W/m·K	地球上の物質中最高
熱膨張率	0.8×10^{-6} /K	地球上の物質中最小
光学的性質	透明、等方、屈折、分散	何れも大
屈折率	$n_o=2.417$	非常に大
誘電率	5.5	非常に大
化学安定性	強酸・強塩基に侵されない	非常に大
デバイ温度	2240K	非常に高い
バンドギャップ	5.6eV	非常に大
着火温度	約1000℃	非常に高い



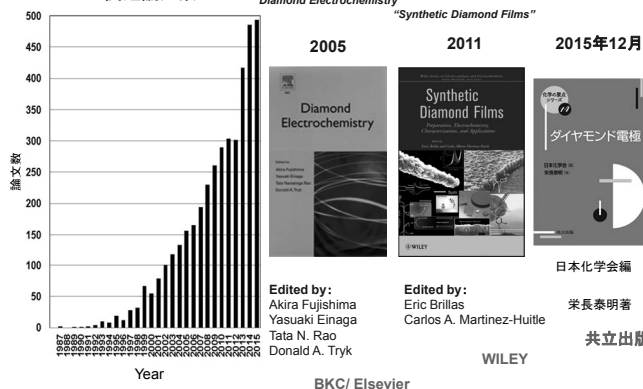
最も人を魅了する材料の一つ

ホウ素をドーピングした「導電性ダイヤモンド」

Boron-doped Diamond (BDD)

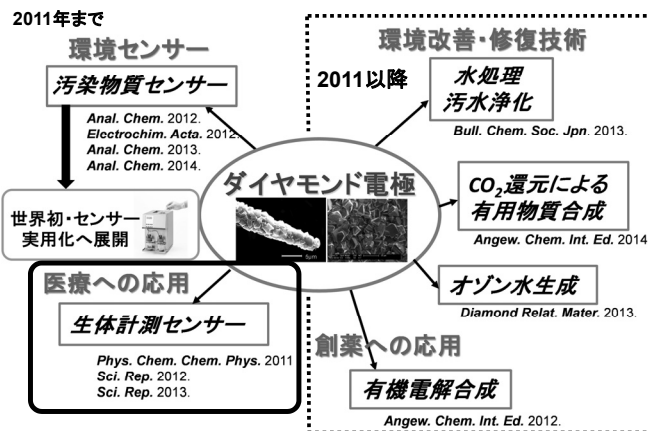


ダイヤモンド電気化学 関連論文数

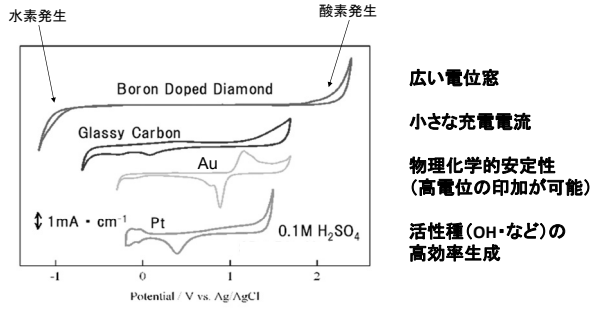


マイクロ波プラズマCVD装置によるダイヤモンド電極の作製

ダイヤモンドの電極機能開拓



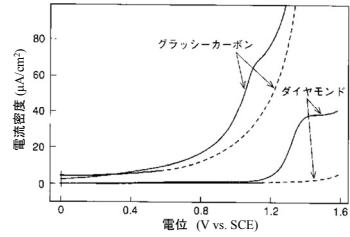
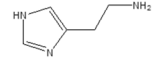
ダイヤモンド電極は何がすぐれているか？



水素発生 酸素発生

広い電位窓
小さな充電電流
物理化学的安定性
(高電位の印加が可能)
活性種(OH・など)の
高効率生成

ヒスタミンの測定

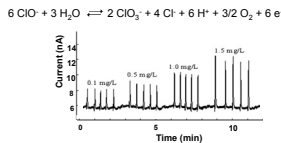
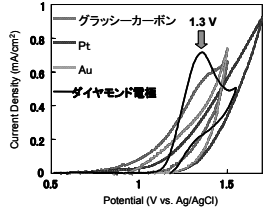


0.1Mリン酸緩衝液(pH=7)中における、100μMヒスタミンのリニアスイープボルタモグラム

—— 100μMヒスタミンを含む水溶液
 ヒスタミンを含まない水溶液

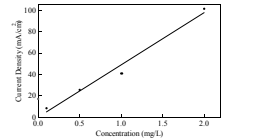
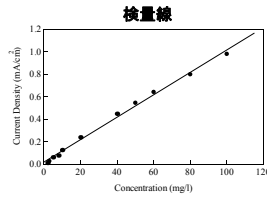
ダイヤモンド電極では酸素が発生しにくい

残留塩素の検出



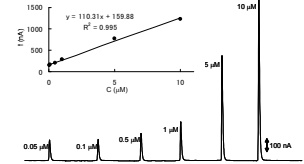
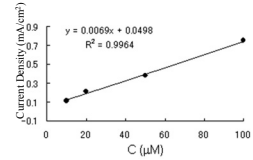
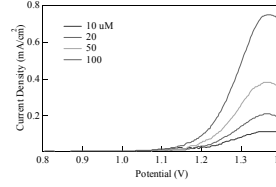
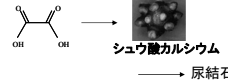
低濃度領域(0-2ppm: 水道水の分析に有用)においても測定可能
J. Electroanal. Chem., 612, 29 (2008). *特許第4734097号

水道水 プール
 現状: N,N-ジエチル(DPD)法(ジエチル-p-フェニレンジアミン)



シュウ酸の検出

通常の尿中: 70 - 450 μM



超高感度

Anal. Chem., 78, 3467 (2006).

環境(水)中

- 残留塩素
J. Electroanal. Chem., 612, 29 (2008).
- ヒ素
Anal. Chem., 78, 6291 (2006).
J. Electroanal. Chem., 615, 145 (2008)
Chem. Lett., 39, 1055 (2010)
- 亜鉛
Electrochim. Acta., 55, 2824 (2010).
- カドミウム
J. Electrochem. Soc., 158, F173 (2011).
Phys. Chem. Chem. Phys., 15, 142 (2013).
- 6価クロム
Electrochim. Acta., 82, 9 (2012).
- セレン
Int. J. Electrochem., 2012, 1 (2012).
- ヨウ素
Talanta, 103, 33 (2013).
- BOD(生物学的酸素要求量)
Anal. Chem., 84, 9825 (2012).
- アルシンガス
J. Electroanal. Chem., 645, 63 (2010).
- COD(化学的酸素要求量)
Anal. Chem., 86, 8066 (2014).

血液中・尿中・脳内

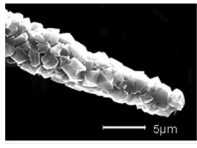
- ドーパミン
Anal. Chem., 79, 8608 (2007).
Neuroscience Res., 71, 49 (2011).
- オキシトシン
Sci. Rep., 6, 32429 (2016).
- グルコース(血糖値)
Anal. Chem., 78, 7857 (2006).
Biosens. Bioelectron., 24, 2684 (2009).
- シュウ酸
Anal. Chem., 78, 3467 (2006).
- グルタチオン(がんマーカー)
Sci. Rep., 2, 901 (2012).
Gastric Cancer, 1-9 (2016).
- タンパク質(がんマーカー)
J. Electroanal. Chem., 612, 201 (2008).
Anal. Chem., 80, 5783 (2008).
Biosens. Bioelectron., 26, 235 (2010).
- pH
J. Electroanal. Chem., 626, 156 (2009).
Phys. Chem. Chem. Phys., 13, 16795 (2011).
Sci. Rep., 3, 3257 (2013).

初のダイヤモンド電極搭載センサー

日本経済新聞
 2010年8月2日

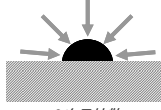
ダイヤモンド電極搭載の重金属分析装置
 (2010年8月(株)堀場製作所製作)

ダイヤモンドマイクロ電極



球拡散 → 限界電流

小さなバックグラウンド電流 → 即応答

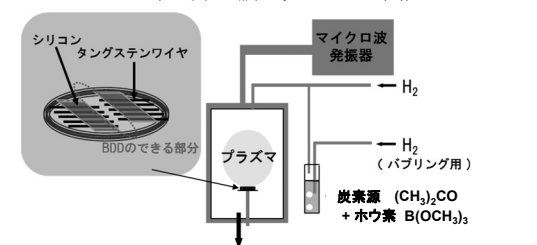


3次元拡散

小さなオーミック(IR)低下 → 支持電解質不要

将来、分析用途のダイヤモンド電極としては中心的存在になるはず！

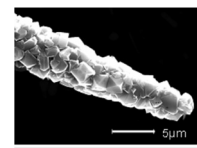
ダイヤモンドマイクロ電極の作製 (マイクロ波プラズマCVD法)



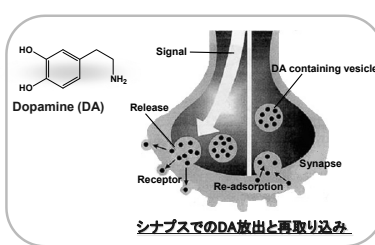
シリコン
タングステンワイヤ
BDDのできる部分
マイクロ波発振器
H₂
H₂ (バブリング用)
炭素源 (CH₃)₂CO + ホウ素 B(OCH₃)₃

ポンプ

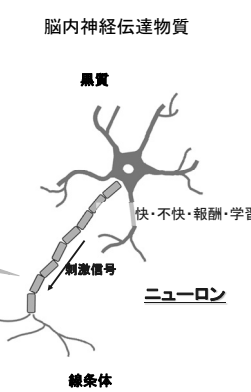
作製条件	平板	マイクロ
プラズマ出力	5000 W	2500 W
圧力	120 Torr	60 Torr
H ₂ 流量	500 sccm	300 sccm
積層時間	6 h	12 h



ドーパミン(DA)の生体内測定



シナプスでのDA放出と再取り込み

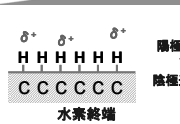


脳内神経伝達物質
黒質
ニューロン
線条体
快・不快・報酬・学習
刺激信号


しかし・・・
脳内にはDAの電気化学検出において妨害物質とされるアスコルビン酸(AA)が多量に存在。

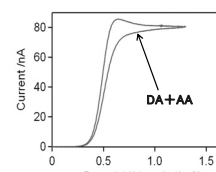
ドーパミン(DA)とアスコルビン酸(AA)の分離検出

水素終端

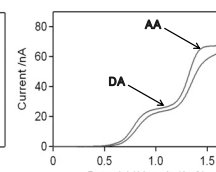


酸素終端





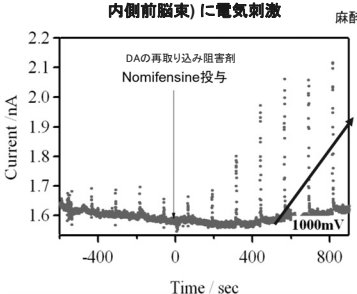
DA+AA



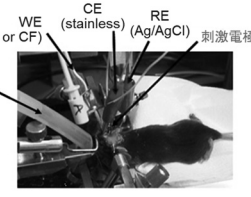
AA
DA

酸化電位の違いを利用した分子識別検出が可能

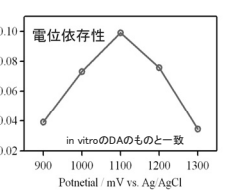
In vivoでのドーパミン(DA)測定



MFB (Medial Forebrain Bundle; 内側前脳束) に電気刺激
DAの再取り込み阻害剤 Normifensine投与
1000mV



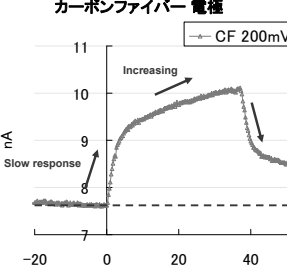
WE (BDD or CF)
CE (stainless)
RE (Ag/AgCl) 刺激電極
麻酔導入



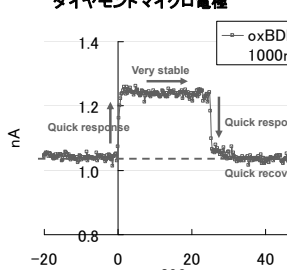
電位依存性
in vitroのDAのものと同じ

Anal. Chem., 79, 8608 (2007).

反応速度



カーボンファイバー電極
CF 200mV
Increasing
Slow response

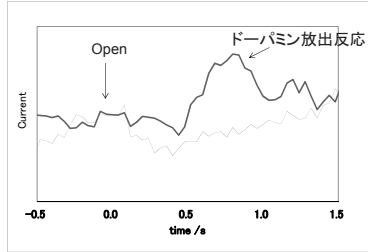
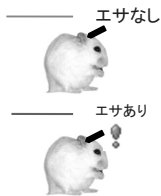


ダイヤモンドマイクロ電極
oxBDD 1000mV
Very stable
Quick response
Quick recover

ダイヤモンド電極・・・非常に早い反応+安定性

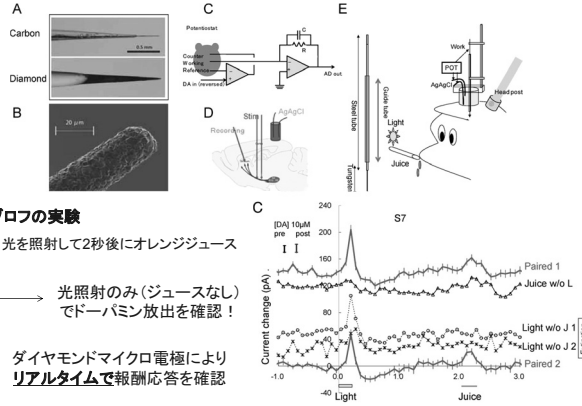
ドーパミンはどのタイミングで放出されるのか？

えさがもたらえる雰囲気を感じたとき？
えさを見たとき？
えさを食べるとき？



リアルタイム測定ができる！

サル脳における報酬応答

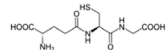


パブロフの実験
光を照射して2秒後にオレンジジュース
→ 光照射のみ(ジュースなし)でドーパミン放出を確認！
ダイヤモンドマイクロ電極によりリアルタイムで報酬応答を確認

Neurosci. Res., 71, 49 (2011).

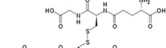
グルタチオン in vivo 測定：がん評価への応用

グルタチオン
(L-γ-glutamyl-L-cysteinyl-glycine, GSH)



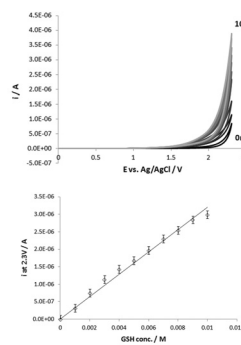
抗酸化物質：
フリーラジカル・過酸化物質などの活性酸素種から細胞を保護する補助的役割

酸化型グルタチオン
(Glutathione SS Glutathione, GSSG)

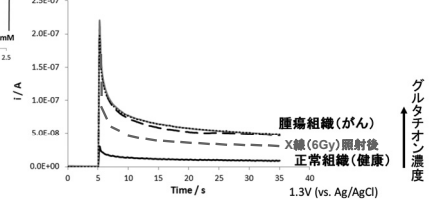


- がんそのものの評価**
癌細胞：正常組織と比較してGSH濃度が高い
G. K. Balendiran, et al., Cell Biochem. Funct., 22, 343 (2004).
- ストレスマーカーとして**
GSH/GSSG 比は酸化的ストレスの指標

グルタチオン(GSH)



マウス組織 in vivo (生体内)
グルタチオン濃度の測定



広い電位窓をもつ
ダイヤモンド電極で測定可

Sci. Rep., 2, 901 (2012).

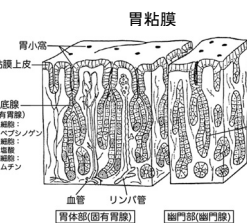
胃液のpHを in vivo 測定

胃酸(塩酸)

胃壁にある粘膜には胃小窩(胃腺の入口)という微細な穴

胃底腺(固有胃腺)(胃の2/3を占める)に存在する細胞

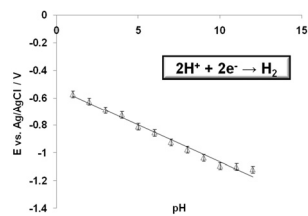
- ・表層粘液細胞
- ・頸部粘液細胞(副細胞)
- ・壁細胞(parietal cell) ・エネルギーを消費して、小胞体上のプロトンポンプ(H⁺、K⁺ATPase)によってH⁺を腔内に汲み出す。このH⁺と別経路から排出されたCl⁻から胃酸(塩酸)が産生される
- ・主細胞



胃がん細胞は壁細胞がなくなる→胃のpHが上昇

胃炎・胃がん・胃酸過多・逆流性食道炎などの診断に有効

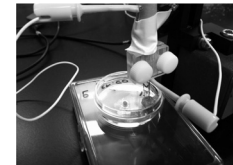
pHの簡便な測定



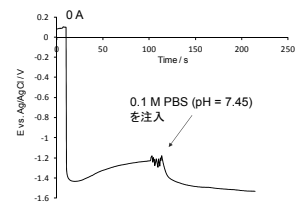
単純な水素発生電流にてpHをモニター

Phys. Chem. Chem. Phys., 13, 16795 (2011).
特許第5311501号

マウス胃の中のpH直接測定



ポテンシオメトリー(定電流) -50 nA



Sci. Rep., 3, 3257 (2013).

“愛情ホルモン” オキシトシン

新技術説明会

◆ ホルモン

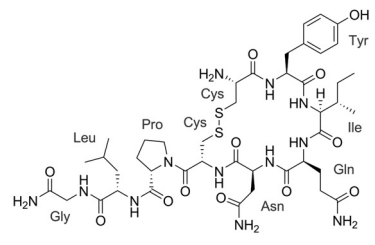
- ✓ 子宮収縮
- ✓ 乳分泌

→ 陣痛促進剤

◆ 神経伝達物質

- ✓ 母子間の絆
- ✓ 信頼関係
- ✓ 性行動

→ 自閉症などの治療への応用



基礎研究の必要性
= 生体内における連続測定の需要

Shen, H. *Nature* 2015, 522, 410.

25

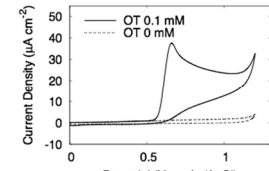
オキシトシンの電気化学

新技術説明会

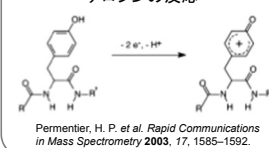
<サイクリックボルタンメトリー>

- ✓ オキシトシン (OT) 0.1 mM
- リン酸緩衝液 0.1 M (pH 7.4)
- ✓ 走査速度 0.1 V/s

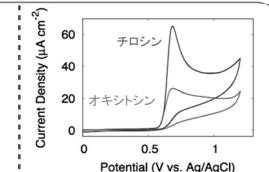
Cys-Tyr-Ile-Gln-Asn-Cys-Pro-Leu-Gly



チロシンの反応



Permentier, H. P. et al. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 2003, 17, 1585-1592.



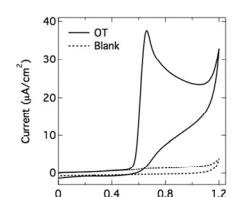
0.66 Vで酸化 (=チロシンの反応)

26

他電極との比較

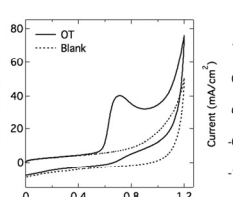
新技術説明会

BDD



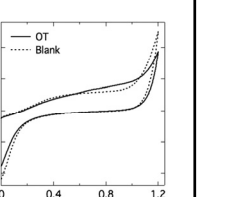
S/B **21.0**

グラッシーカーボン



5.0

白金



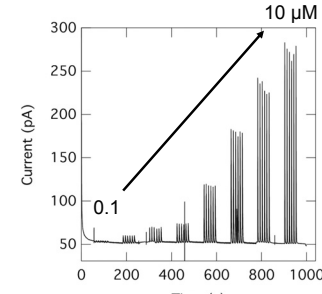
N/A

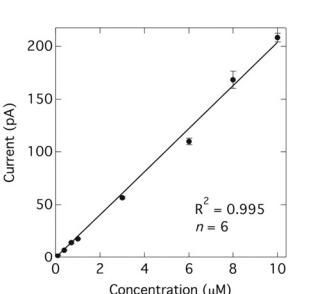
BDD: オキシトシンの高感度な測定が可能

27

オキシトシンの連続測定

新技術説明会





検出限界: 50 nM (S/N=3)

オキシトシンの連続測定を実現 (検出限界: 50 nM)

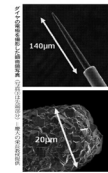
Sci. Rep., 6, 32429 (2016).

28

脳内ホルモン連続測定

新技術説明会

日経産業新聞 2016.10.6



脳内ホルモン連続測定

慶大、自閉症の解明に道

サイヤモドの電極活用

変情示すオキシトシン

（以下、記事本文の要約）

29

インフルエンザウイルス

新技術説明会

ヘマグルチニン(HA)

シアリダーゼ (ノイラミニダーゼ, NA)

細胞表面にあるレセプター (シアル酸) と結合

宿主細胞への結合

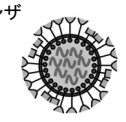
宿主細胞膜との融合

ウイルスの出芽

認識デバイス

- ・抗体
- ・糖鎖 (多糖)
- ・ペプチド

インフルエンザウイルス



分子素子

センサーデバイス

検出法

- ・水晶振動子(QCM) : 質量変化
- ・表面プラズモン共鳴 (SPR) 法 : 光学特性
- ・電気化学測定 : 電流、電位

30

ヘマグルチニン(HA)結合性ペプチドを利用

インフルエンザウイルス



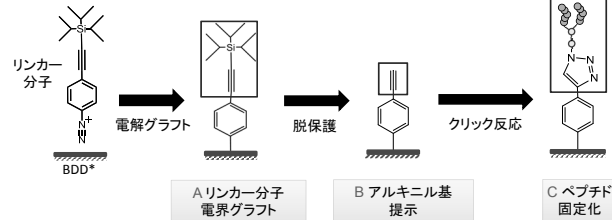
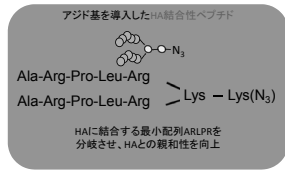
ペプチドライブラリーから単離された糖鎖ミミックペプチド

- ・インフルエンザウイルスと選択的に結合
- ・凍結乾燥が可能、安定
- ・デンドリマー化や糖鎖修飾により活性が向上

ダイヤモンド電極

ダイヤモンド電極への修飾

- (A) リンカー分子の電解グラフト
- (B) 脱保護によるアルキニル基提示
- (C) クリック反応によるペプチド固定化

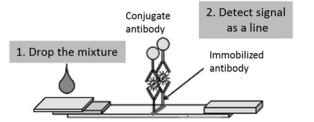


A リンカー分子電界グラフト B アルキニル基提示 C ペプチド固定化

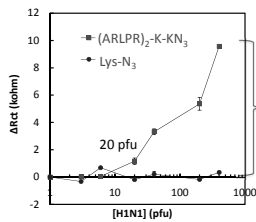
インフルエンザウイルスの検出

Rapid test kit

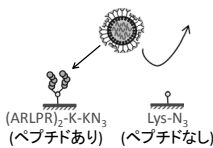
イムノクロマトグラフィー
検出限界: >1,000 pfu



pfu ≡ the number of viruses



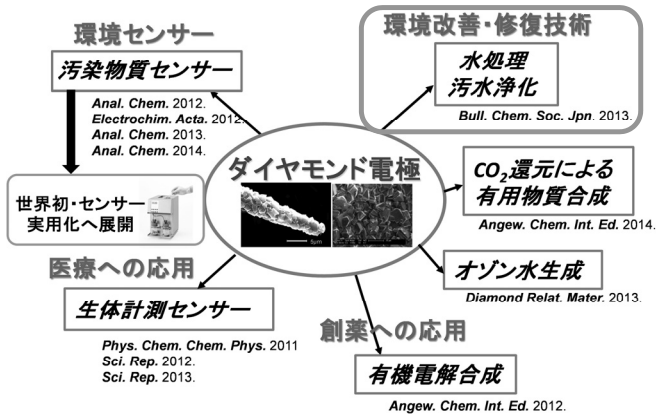
選択的



Proc. Natl. Acad. Sci., 113, 8981 (2016).

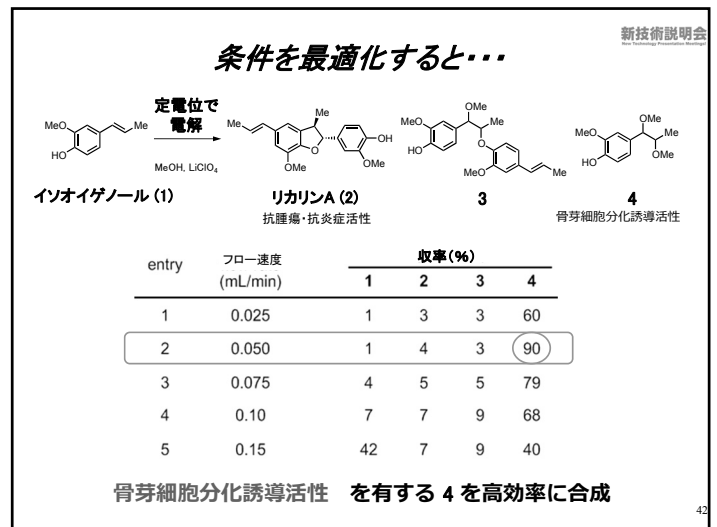
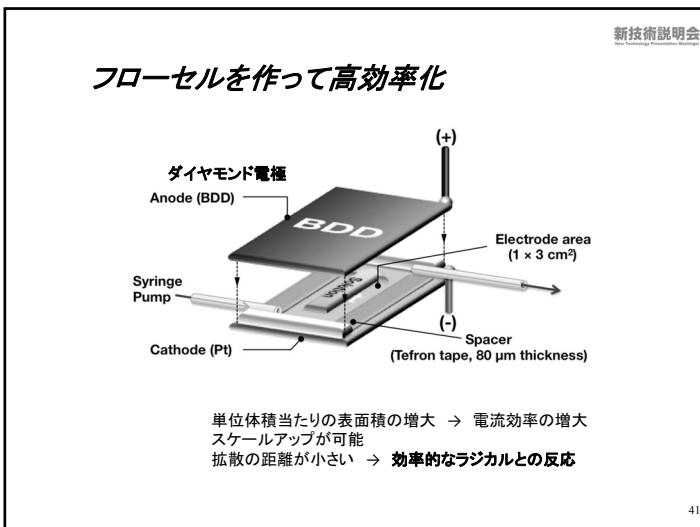
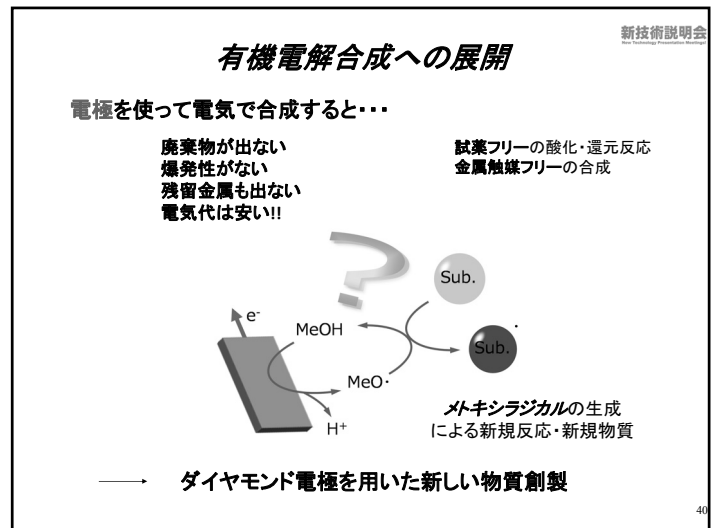
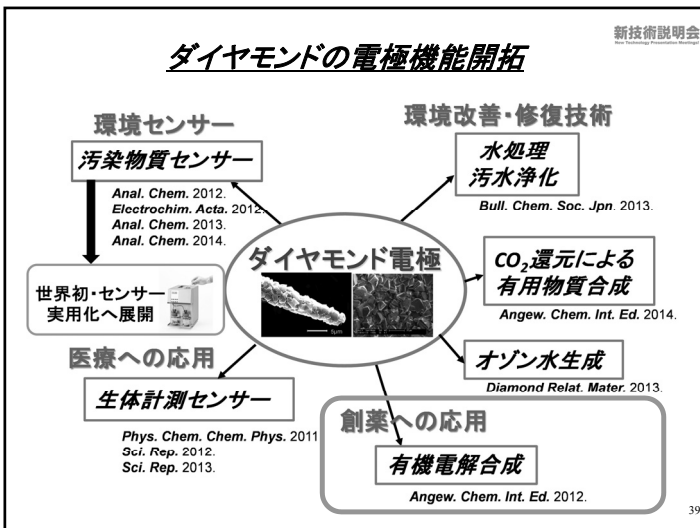
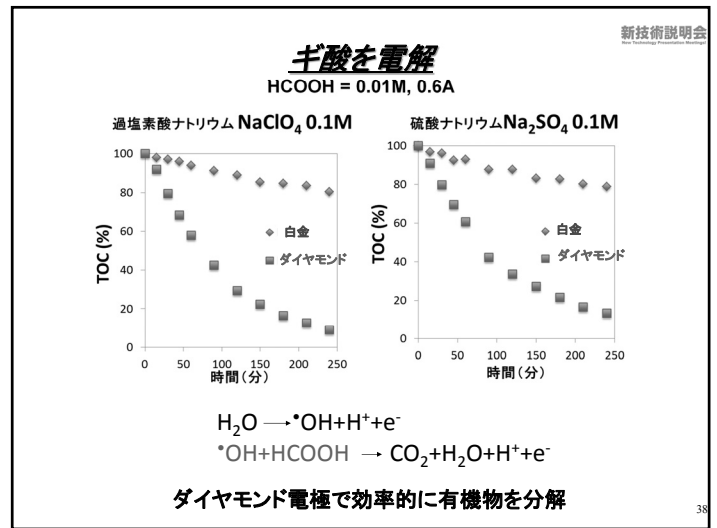
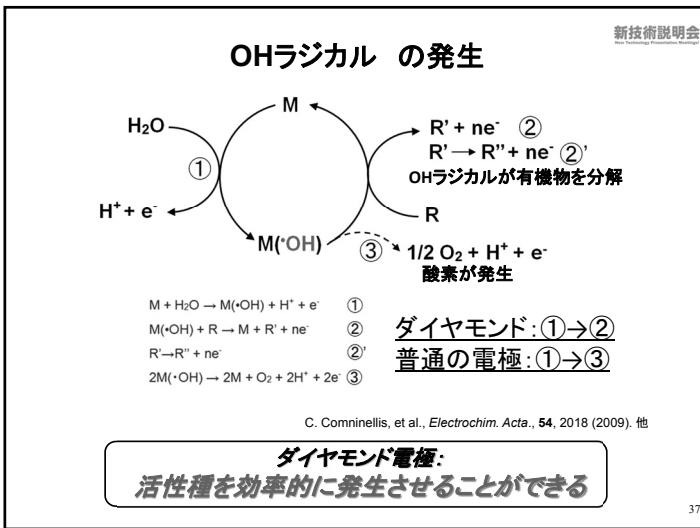


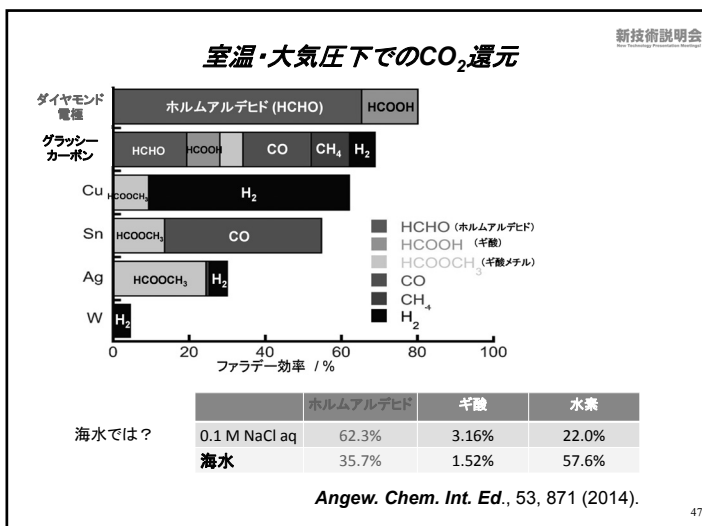
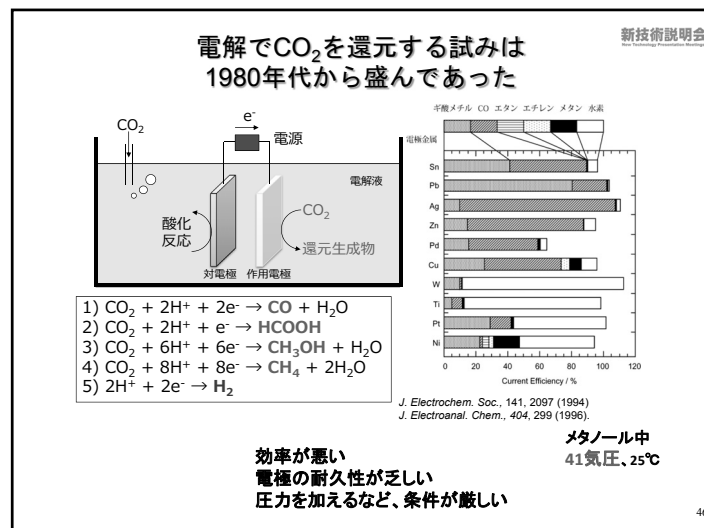
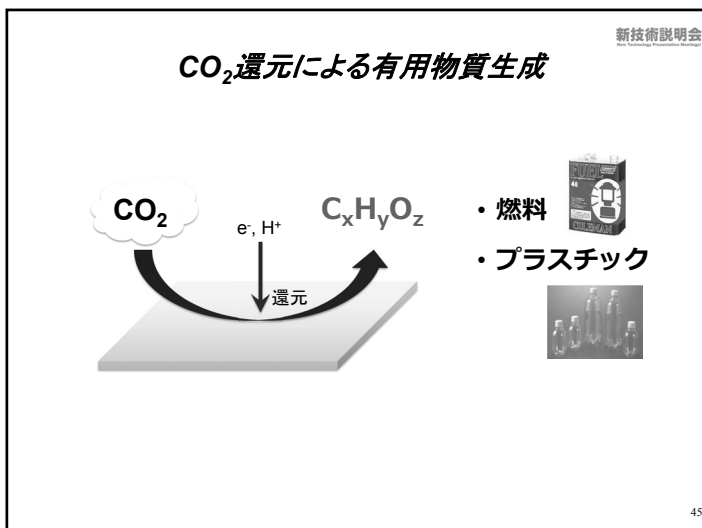
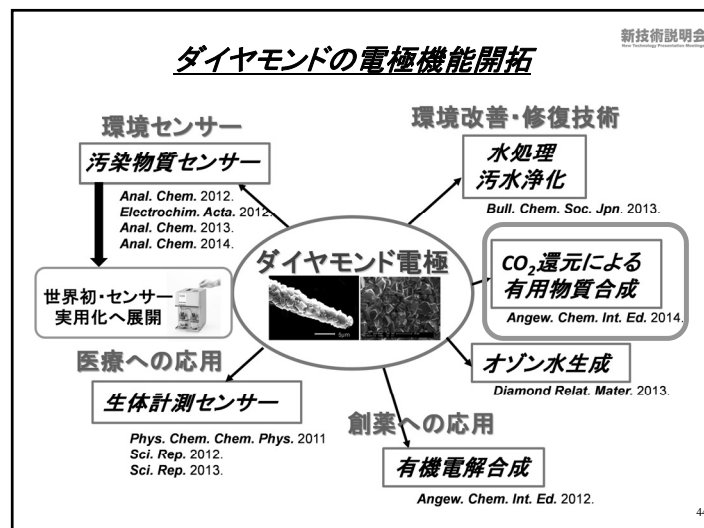
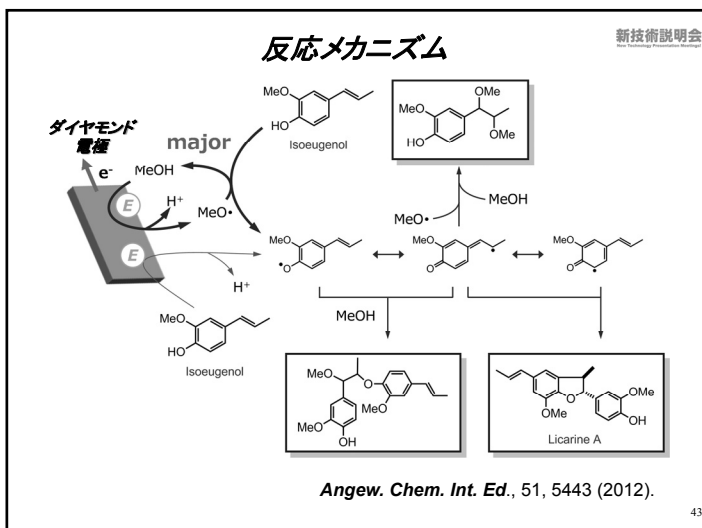
ダイヤモンドの電極機能開拓



ダイヤモンド電極は 高電圧 に耐える

ダイヤモンド電極は
活性酸素種を効率的に発生させることができる





CO₂還元でホルムアルデヒドが生成するメカニズムは?

新技術説明会

ホルムアルデヒド

HCHO (ad) ← HCO₂(ad) ← CO₂(ad) ← CO (ad) ← CH₂(ad) ← H₂ (ad)

電極

不活性な電極 **活性な電極**

•CO₂⁻の吸着能が低い表面 •CO₂⁻の吸着能が高い表面

H H CO₂ H H CO₂ CO₂ CO₂ H CO₂

電極 電極

CO₂(ad) + H⁺ + e⁻ → HCOO⁻(ad) CO₂(ad) + CO₂ + e⁻ → CO + CO₃²⁻

49

ダイヤモンドの電極機能開拓

新技術説明会

ダイヤモンド電極

環境センサー
汚染物質センサー
Anal. Chem. 2012, Electrochim. Acta. 2012, Anal. Chem. 2013, Anal. Chem. 2014.

環境改善・修復技術
水処理 汚水浄化
Bull. Chem. Soc. Jpn. 2013.

CO₂還元による有用物質合成
Angew. Chem. Int. Ed. 2014.

オゾン水生成
Diamond Relat. Mater. 2013.

創薬への応用
有機電解合成
Angew. Chem. Int. Ed. 2012.

医療への応用
生体計測センサー
Phys. Chem. Chem. Phys. 2011, Sci. Rep. 2012, Sci. Rep. 2013.

世界初・センサー 実用化へ展開

50


**オゾン水を作る
オゾン水の濃度を測る**

新技術説明会

オゾン水 “強力な酸化作用”, “残留性がない”

除菌、殺菌、脱臭、脱色
水道水浄化
器具の洗浄 (医療現場)

~電解によるオゾン生成方式~
薬品を使わない
効率が良い
大気中に排出する気体は酸素、水素のみ



**現状: 酸素の放電によるものが主
電解によるものは白金 (Pt) 電極が用いられている。**

51

ダイヤモンド電極ではオゾンを発生させることができる

新技術説明会

酸性溶液

2H₂O ⇌ O₂ + 4H⁺ + 4e⁻ 1.23 V

O₂ + H₂O ⇌ O₃ + 2H⁺ + 2e⁻ 2.07 V

H₂O ⇌ ·OH + H⁺ + e⁻ 2.85 V

(3H₂O ⇌ O₃ + 6H⁺ + 6e⁻ 2.07 V)

塩基性溶液

4OH⁻ ⇌ O₂ + 2H₂O + 4e⁻ 0.40 V

O₂ + 2OH⁻ ⇌ O₃ + H₂O + 2e⁻ 1.24 V

OH⁻ ⇌ ·OH + e⁻ 2.04 V

52

【オゾン生成】

新技術説明会


2H₂O ⇌ O₂ + 4H⁺ + 4e⁻ 1.23 V

3H₂O ⇌ O₃ + 6H⁺ + 6e⁻ 1.51 V

O₂ + H₂O ⇌ O₃ + 2H⁺ + 2e⁻ 2.07 V

2017年2月発売 ダイヤモンド電極によるオゾン水手洗い装置の製品化

HANDLEX



製品仕様表

株式会社 日科エスエス

53

従来技術とその問題点

新技術説明会

- カーボンファイバー電極
 - 物質の吸着
 - 電極の耐久性が乏しい
 - 感度に限界がある
 - リアルタイム計測が困難

54

新技術の特徴・従来技術との比較

- 高感度
- リアルタイム計測が可能
- 耐久性・安定性
- 仮に劣化しても回復処理が可能

想定される用途

- 血液、尿などの測定
- 腫瘍マーカーなどの生体内測定
- 薬物動態と疾病の相関に関する測定
- 治療効果の直接的判定

実用化に向けた課題

- 電極の量産化
- 必要とされる検出対象の絞り込み
- 系によっては選択性が課題

企業への期待

- 生体計測をはじめとしたさまざまな計測を必要とされる企業様
- どのような系のどのような物質の計測が求められているかご教示いただきたい

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : タンパク質又は病原体の新規検出方法
- 公開番号 : WO2016/175049
- 出願人 : 学校法人慶應義塾
- 発明者 : 栄長 泰明, 佐藤 智典, 松原 輝彦, 山本 崇史

お問い合わせ先

慶應義塾大学 研究連携推進本部

TEL 03-5427-1439

FAX 03-5418-6455

e-mail toiawasesaki-ipc@adst.keio.ac.jp