

前田バイオ工学研究室

Bioengineering Laboratory

主任研究員 前田 瑞夫
MAEDA, Mizuo

当研究室では、工学とバイオの新たな融合領域を開拓することを目的として研究を進める。高分子化学、分析化学、生化学、分子生物学などの学術領域を基礎に、バイオ成分を融合した新物質・新材料の創製、生体計測の新原理・新手法の開発、ならびに生命プロセスの人工的制御に関する研究を行い、生体材料工学、医用工学、生命科学、環境科学、マイクロ・ナノサイエンス、その他の分野への応用を目指す。その一例として DNA 機能材料に関する研究があり、独自に開発した DNA・合成高分子複合体を、DNA バイオセンサー、アフィニティー電気泳動、SNPs 応答性ナノ粒子、刺激応答性アンチセンス試薬、人工的遺伝子機能制御などへ展開することにより、DNA 工学という新しい境界領域を開拓しつつある。

1. DNA 工学

(1) DNA コンジュゲート高分子の合成と応用 (前田, 宝田, 宮本 *¹, 唐 *², 今泉 *³)

熱応答性高分子であるポリ (*N*-イソプロピルアクリルアミド) (PNIPAAm) に一本鎖 DNA をグラフトした PNIPAAm-*g*-DNA の水溶液を加熱して相転移させると、粒径がナノメートルサイズのコロイド粒子 (DNA 担持ナノ粒子) が自発的に形成される。さらに、完全に相補的な検体 DNA をナノ粒子分散液に加えて粒子表面上で二重鎖を形成させると、DNA 担持ナノ粒子が自発的に凝集して系は直ちに白濁する。本年度はこの系に DNA アプタマーを用いることにより、ATP を目視検出することを検討した。その結果、ATP が存在しない場合は DNA 担持ナノ粒子は凝集して系は白濁するが、ATP 存在下では、DNA アプタマーが ATP と複合体を形成することに伴い、粒子は分散状態を保って系は無色透明になるという ATP 検出システムを確立した。

(2) DNA-金ナノ粒子による遺伝子診断 (前田, 細川, 佐藤 (香) *⁴, 小野口 *³)

金コロイドナノ粒子に一本鎖 DNA を固定化した DNA-金ナノ粒子コンジュゲートは、高塩濃度中でも安定に分散し、金ナノ粒子特有の赤い色を示す。しかし、完全に相補的な検体 DNA をナノ粒子分散液に加えて粒子表面上で二重鎖を形成させると、DNA-金ナノ粒子が自発的に凝集して系は直ちに赤紫色へ変化する。さらに、この現象は、粒子の外側に位置する一塩基がミスマッチでは起こらない。本年度はその自発的凝集をゲノム DNA の遺伝子診断法として応用を試みた。大腸がん細胞株から得たゲノム DNA を用いて、がん遺伝子 *K-ras* の変異を調べた結果、ダイレクトシーケンスの結果と一致し、本方法の有効性が証明できた。

(3) 電気化学的 DNA センシング (前田, 細川, 伊藤 (寿) *¹)

遺伝子配列の相違を電気化学的に高感度で検出する新規システムの開発を行っている。チオール基で修飾した一本鎖プローブ DNA (15-mer) を金電極に自己組織化することにより DNA センサーを作製した。検定試料には相補お

よび非相補配列 (一塩基変異) を有する非修飾一本鎖 DNA (15-mer)、測定には交流インピーダンス法を用いた。相補鎖の場合、酸化還元マーカー ($\text{Fe}[(\text{CN})_6]^{3-/4-}$) の電荷移動抵抗 (R_{CT}) が小さくなったのに対し、非相補鎖では大きな R_{CT} が観測された。これは二本鎖 DNA 形成時の立体的および静電的な相違によるものと考えられる。現在、詳細な反応機構の解明とセンサー部位の微小化による高感度化について検討している。

(4) 蛍光性核酸塩基のエキシマー形成を利用するバイオセンサー (前田, 吉本 *⁴)

標的分子と相互作用することで蛍光や吸光スペクトルが大きく変化する核酸 (シグナリング・アプタマー) は新しいバイオセンサーとして注目を集めている。本研究では FRET と全く異なる応答原理を有するシグナリング・アプタマーの開発を目的とし、本年度は 2-アミノプリンのエキシマー蛍光を利用するアプタマーの設計と機能評価を行った。蛍光測定、融解温度測定、CD スペクトル測定などを用いてアプタマーの分子認識能および検出能を評価した結果、検討した一部のアプタマー系においてエキシマー蛍光強度とターゲット分子濃度の間に相関関係があることが明らかとなった。

(5) 分子応答性 DNA ハイドロゲル (前田, 迫野 *⁴)

アプタマーの分子認識能をハイドロゲルに組込むことで、これまでにない刺激応答性が付与されると考えられる。そこで、thrombin を特異認識する DNA アプタマーを組込んだハイドロゲルを調製したところ、アプタマー固定型ハイドロゲルにおいて体積膨潤がおき、最大で 10% の体積変化が見られた。一方、非固定型においては有意な体積変化を生じなかった。このことは、アプタマーおよびターゲット化合物間の分子認識がハイドロゲル中においても正常に機能していることを示していると考えられる。

2. マイクロ/ナノ分析化学

(1) アフィニティーキャピラリー電気泳動による遺伝子一塩基変異の検出 (前田, 細川, 宝田, 佐藤 (香) *⁴, 三嶋 *¹, 小野口 *³, 重田 *³)

簡易かつ信頼性の高い一塩基変異検出方法を目指すアプ

ローチの1つとして、DNA-合成高分子コンジュゲートを用いたアフィニティーキャピラリー電気泳動法（ACE法）の開発に取り組んでいる。この方法は、DNA二本鎖形成の親和性の差を利用した配列特異的な分離法であり、これまで種々の配列でその有効性を検証してきた。本年度は新たにDNA-ポリエチレングリコール（PEG）コンジュゲートを合成し、その一塩基変異識別能について検討した。その結果、リガンド長さ12-mer、PEG分子量5kDaからなるコンジュゲートを用いることにより、CYP1B1遺伝子（12-mer）の正常体と一塩基変異体が明瞭に識別できることを見いだした。DNA-PEGコンジュゲートは分子量の制御が容易であるので、当研究室で提案しているPRESS法（Probe-regulated simultaneous separation）への応用も容易にできると考えられる。

（2）アフィニティー電気泳動用マイクロチップの開発（前田，細川，佐藤（香）^{*4}，伊藤（寿）^{*1}，井上^{*3}，八木^{*3}）

アフィニティーキャピラリー電気泳動（ACE）法をさらに高速・高感度にするため、マイクロチップの開発を行っている。モールドニングにより微細な溝を加工したポリジメチルシロキサン（PDMS）とガラス基板とを貼り合わせてマイクロチップを作製した。PDMSの気体溶解性を利用して、分離媒体と検体DNAを自動的にマイクロ流路内に充填する手法を開発した。分離媒体にはポリジメチルアクリルアミド（PDMA）にリガンドDNA（10-mer）を固定化したDNA-PDMAコンジュゲートを用いた。K-ras遺伝子（60-mer）の正常体と一塩基変異体を混合した検体を電気泳動したところ、両成分ともDNA-PDMAコンジュゲートにトラップされて100倍程度濃縮された後、15秒で完全に分離した。未精製のPCR産物でも同様に濃縮と分離ができることを確認した。マイクロチップの利用により、迅速・簡易・高感度なACE分析が可能であることが示された。

（3）ナノ粒子を利用した遺伝子診断チップの開発（前田，細川，佐藤（香）^{*4}，佐藤（保）^{*1}，伊藤（圭）^{*3}，小俣^{*3}）

DNA修飾金ナノ粒子を相補的なDNAと反応させ、さらに塩を加えると、金ナノ粒子が基板表面に吸着・堆積する。この現象を表面プラズモン共鳴（SPR）法で検出することにより、特定の遺伝子を感度よく見分ける診断チップを開発している。金薄膜を真空蒸着したガラス基板に、微細成型加工したポリジメチルシロキサン（PDMS）を接合して、Y字型流路を持つマイクロチップを作製した。DNA修飾金ナノ粒子とターゲットDNA（15-mer）をバッチで反応させた後、マイクロチップ上でNaCl溶液と混合し、基板に堆積する金ナノ粒子をSPRイメージング装置で観測した。その結果、ターゲットDNAの配列に応じて、反射率に顕著な差が認められた。10 fmol程度のDNA量で、一塩基の相違を3分以内に見分けることができ、一塩基多型の簡易かつ高感度な識別に有望であることが分かった。

3. 環境分子の情報科学

（1）機能性タンパク質の化学と工学（前田，平石，座古，伊原^{*4}，迫野^{*4}，萬羽^{*3}）

本研究では、酸化還元機能やタンパク質リフォールディング機能などを有する機能性タンパク質特有の性質を利用して、環境に優しいエネルギーの創成および環境分子等の

高感度測定系の構築を目指している。

藍藻や藻類の水素発生能の改善を目指して、光合成反応中心タンパク質（PSI）の人為的改変を試みている。光合成反応中心に吸収されたエネルギーを高効率に水素エネルギーへと変換するには、水素発生に関与するヒドロゲナーゼをPSIに連結させたヒドロゲナーゼ-PSI複合体の合成が重要である。本年度は、ヒドロゲナーゼ-PSI複合体を、ヒドロゲナーゼと、ヒドロゲナーゼへの電子伝達体であるチトクロム c_3 、PSIのサブユニットの1つであるPsaE、PsaEを欠損したPSIをそれぞれ細胞外で再構築することで作成を試みた。まず、ヒドロゲナーゼ、チトクロム c_3 、PsaEおよびPsaE欠損PSIを微生物から単離精製した。さらに、チトクロム c_3 とPsaEの架橋体を合成し精製した。この架橋体をPsaE-less PSIと自己会合させ、チトクロム c_3 -PSI複合体を形成させることに成功している。現在、チトクロム c_3 -PSI複合体とヒドロゲナーゼ間の電子伝達能の測定や、ヒドロゲナーゼ-チトクロム c_3 -PSI複合体の作成を試みている。

また我々は、変性タンパク質に結合し、凝集を抑制する性質を持つ分子シャペロンを利用して、タンパク質の構造状態の新しい分析手法の開発を行っている。これにより、これまでの分光学的な手法では得られなかった、変性の度合いが低い構造変化を検出できると考えている。我々は、近年同定された分子シャペロンの1種であるプレフォルディンに注目している。本年度は、生体内でプレフォルディンと協調して働くとされているシャペロニンタンパク質との複合体形成を1分子蛍光イメージングやSPRセンサーによる解析で明らかにした。また、基質である変性タンパク質への結合機構を調べたところ、プレフォルディンの末端の疎水部分でシャペロニンや、基質タンパク質に結合していることが明らかとなった。現在、異なる構造状態のタンパク質への、プレフォルディンの結合能の違いを調べている。

（2）光応答性培養表面の開発（前田，宝田，中西^{*4}，菊地^{*3}）

外部刺激に応じて細胞接着性を変換できる機能性培養基板は、同一基板上での異種細胞の共培養や細胞の脱着を可能とするため、組織工学や細胞生物学的な基礎研究の有力な実験ツールとなっている。我々は、光分解性保護基を有するアルキルシロキサン単分子膜で表面修飾したカバーガラスを培養基板として用いることによって、ごく標準的な蛍光顕微鏡下で任意の位置・サイズの細胞接着領域を光照射で非侵襲的に形成する新手法を開発した。この方法を利用して、様々な種類の多細胞・一細胞アレイの作成に成功し、さらには、世界で初めて培養中の一細胞の近傍に異なる種類の一細胞を接着させることに成功した。

（3）半導体を利用したタンパク分子の検出法（前田，尾笹）
環境分子を捉える方法の1つとして、環境に応答する細胞の出す生体情報（タンパク分子やイオンなど）を計測する方法が考えられる。そこで、生体分子に敏感な表面を有する半導体センサーを開発し、その上で細胞を培養することで細胞の応答を捉えることを目指して「半導体表面のバイオ適応インターフェイス技術」を研究している。本年度はGaAs-HEMTの表面で細胞を培養するためのコーティングプロセスを検討した。GaAsの表面には純水中でも約24時間で70nm程度の酸化膜が形成されるが、遮光すること

で 10 nm 程度にまで低減できた。また培地である DMEM 溶液中では 0.5~3 nm とさらに酸化が抑えられることが分かった。表面に細胞を接着させるコーティングを DMEM 溶液中で遮光して行えばよいことになる。また HEMT 自体も DMEM 溶液中でゲート電圧をかけると、電気化学的な酸化反応によって構造が破壊されドレイン電流が減少してしまう。これも遮光を行えば、細胞の接着などの活性を評価するに足る時間、測定が可能であることが示せた。また CdSe 半導体微粒子と金基板を利用したタンパク分子検出法の実現のために、CdSe 微粒子を DNA で修飾する実験を行った。修飾を行うプロセスでの凝集を抑制するためには通常の凍結乾燥を行わないことが重要であることが分かった。

*1 協力研究員, *2 ジュニア・リサーチ・アソシエイト, *3 研修生, *4 基礎科学特別研究員

This laboratory is working on a new frontier of research that fuses biological science and engineering. Incorporating polymer chemistry, analytical chemistry, biochemistry, and molecular biology, we study new materials comprised of biological components and develop novel methodologies for bioanalysis, medical diagnosis, and artificial systems that regulate biological processes. Our work has been applied to research and developments in biomaterials science, medical engineering, life sciences, environmental science and micro/nanoscience. As an example, we newly prepared DNA-vinyl polymer conjugates that were used in a DNA biosensor, affinity electrophoresis, a SNPs-responsive diagnostic nanoparticle, a stimuli-responsive antisense drug, and an artificial gene regulation system. Our work might be more accurately called : DNA engineering.

1. DNA engineering

(1) Synthesis of DNA-vinyl polymer conjugate and its applications

DNA-linked colloidal nanoparticles were prepared through the phase transition of the amphiphilic copolymer. This copolymer's hydrophilic part was an oligodeoxyribonucleotide and a thermo-responsive poly (*N*-isopropylacrylamide) was the hydrophobic part. We had already identified the point mutation using the spontaneous aggregation of nanoparticles, so we applied this system to the turbidimetric detection of ATP using DNA aptamer. In the absence of ATP, DNA-linked nanoparticles aggregated. In the presence of ATP, however, DNA aptamer recognized ATP and nanoparticles dispersed.

(2) Gene diagnosis using DNA-gold nanoparticles

Aggregation of DNA-modified gold nanoparticles in a non-cross-linking configuration demonstrates extraordinary selectivity against terminal mismatch of the surface-bound duplex. We found that this utility can be used to detect single-base substitutions by testing the genomic DNA of five human tumor cell lines. Our findings were verified using direct sequencing.

(3) Electrochemical DNA sensing

We developed a novel gene sensor using electrochemical impedance spectroscopy. Thiol-modified oligonucleotide was immobilized on a gold electrode surface as a probe DNA. Hybridization of a complementary single-stranded DNA (ssDNA) decreased charge-transfer resistance (R_{CT}) of the redox maker $Fe[(CN)_6]^{3-/4-}$, while that of a non-

complementary (single-base mismatch) ssDNA increased the R_{CT} . Remarkable structural and electrostatic differences of the DNA duplexes explained this phenomenon.

(4) Signaling aptamer based on the excimer fluorescence of 2-aminopurine in DNA helix

Using our new strategy to produce fluorescence-based signaling aptamers, we demonstrated fluorometric detection of small molecules by aptamers. Using excimer fluorescence of 2-aminopurine in a DNA duplex, we were able to detect agmatine, a freshness biomarker in food products, fluorometric detection.

(5) Stimuli-responsive hydrogel containing DNA aptamer

To investigate the property of a hydrogel conjugated with DNA aptamer, we prepared an acrylamide gel with an embedded thrombin aptamer. Immobilized by the thrombin aptamer, the hydrogel swelled in the buffer definite after a set period of time. Swelling was not observed when a non-immobilized hydrogel was. This indicates that the interaction between aptamer and target protein takes place in hydrogel.

2. Micro/nanotechnology-based analytical systems

(1) Detecting gene point mutations using affinity capillary electrophoresis

Affinity capillary electrophoresis (ACE) is a sequence-specific DNA separation method. It is based affinity differences to ligand DNA that are combined with a polymer matrix in the capillary. We investigated a novel ACE system using DNA-poly (ethylene glycol) (PEG) conjugate. Under the optimized conditions, mutants of CYP1B1 gene were successfully detected. Because we can easily control the molecular weight of DNA-PEG conjugate, this material should be suitable for another original separation method: probe-regulated simultaneous separation (PRESS).

(2) Affinity microchip electrophoresis

We have been developing a microchip with affinity for capillary electrophoresis (ACE). This microchip would enable autonomous loading of a separation matrix and a DNA sample solution into the microchannel. We successfully separated 60-mer single-stranded DNA and its point mutant using a DNA-poly (dimethylacrylamide) conjugate as a separation matrix. The 15-s separation process was accompanied by 100-fold sample concentration enrichment caused by the trapping effect of the conjugate. This microchip enhances the speed and sensitivity of ACE analysis.

(3) Nanoparticle-based genetic analysis on a microchip

At high salt concentrations, gold nanoparticles carrying fully-matched DNA duplexes are selectively deposited onto a substrate. We have been developing a novel genetic analysis device that enables detection of this phenomenon by combining microfluidics technology and surface plasmon resonance. Preliminary experiments decreed a single-base difference in 10-fmol DNA samples within 3 min. This strategy is promising for rapid, sensitive, and reliable typing of human genetic variations.

3. Bioinformation science for ecomolecules

(1) Chemistry and engineering of functional proteins

To improve the hydrogen-producing ability of cyanobacteria or microalgae, we designed a hydrogenase-photosystem I complex (Hy-PSI complex) composed of hydrogenase, photosystem I (PSI) and cytochrome c_3 (the physiological electron transfer partner of hydrogenase). In the Hy-PSI complex, hydrogenase is linked to the electron

transfer site of PSI via cytochrome c_3 . It should accept electrons from PSI efficiently. We purified hydrogenase, cytochrome c_3 , PsaE (a subunit of PSI), and PsaE-less PSI. Cytochrome c_3 was then connected with PsaE covalently using a cross-linking reagent. The sucrose-gradient ultracentrifuge and Western blotting analysis confirmed that the cytochrome c_3 -PsaE complex can self-assemble with PsaE-less PSI in vitro. The electron transfer between free hydrogenase and the cytochrome c_3 -PSI complex is currently being investigated, and the Hy-PSI complex (the triple complex of hydrogenase-cytochrome c_3 -PSI) also is being prepared.

Molecular chaperone protein captures a protein in its unfolded state and stabilizes it thereby preventing aggregation. It recognizes hydrophobic surface that is exposed when the protein is unfolded. In order to develop a novel method to detect protein unfolding, we studied the mechanism of prefoldin, A molecular chaperone protein. Prefoldin is a jellyfish-shaped hexameric co-chaperone of chaperonin. We have found that the hydrophobic distal region of prefoldin is important for the interaction with substrate protein and chaperonin using SPR sensor analysis and single molecule observation.

(2) Development of photoresponsive substrate for cell culturing

Dynamic control of cell adhesion onto substrates is important for tissue engineering, cell-based drug screening, and fundamental cellular studies. To achieve dynamic control, several functional substrates have been developed, where cell adhesion can be controlled by external stimuli. We developed a new method using regional substrate photoactivation for cell adhesion under standard fluorescence microscopes. A glass cover slip is immobilized with an alkylsiloxane that has a photocleavable protecting group. Multiple and single cell arrays of various designs could be easily formed. We also successfully positioned single cells that were in the same proximity as cultivating single cells.

(3) Development of bio-nano sensors based on HEMT structure for cell activity measurements

To attain cell activity measurements based on bio-informative molecules including proteins and ions, we proposed a new bio-molecule detection system using HEMT structure and photo-excitation. This system enable the identification of the specific molecules by photo-excitation-induced spectroscopic current measurement. We examined the coating process of GaAs surface by cell-affinity materials and found that light-shielding during the incubation process and DMEM selection are the important factors in preventing the oxidation of GaAs surfaces. Electrochemical oxidation of HEMT structure was also observed when the gate voltage was applied through electrolytes with light. Modification of CdSe nanocrystals with DNA was examined to see if detection of DNA through CdSe/Au photoluminescence was possible.

Staff

Head

Dr. Mizuo MAEDA

Members

Dr. Kazuo HOSOKAWA

Dr. Kazunari OZASA

Dr. Tohru TAKARADA

Dr. Tomohiro HIRAISHI

Dr. Tamotsu ZAKO

Dr. Jun NAKANISHI^{*1}

Dr. Kae SATO^{*1}

Dr. Masafumi SAKONO^{*1}

Dr. Keitaro YOSHIMOTO^{*1}

Dr. Masaki IHARA^{*1}

Dr. Toshiyuki ITO^{*2}

Dr. Keiko MISHIMA^{*2}

Dr. Yasunobu SATO^{*2}

Dr. Daisuke MIYAMOTO^{*2}

^{*1}Special Postdoctoral Researcher

^{*2}Contract Researcher

Visiting Members

Mr. Zhonglan TANG (Grad. Sch. Eng., Kyushu Univ.)

Trainees

Mr. Akira INOUE (Fac. Pharm. Sci., Tokyo Univ. Sci.)

Ms. Yukiko KIKUCHI (Fac. Eng., Toyo Univ.)

Ms. Miwa ONOYUCHI (Fac. Eng., Toyo Univ.)

Ms. Emi IMAIZUMI (Grad. Sch. Eng., Saitama Inst. Technol.)

Mr. Keisei ITO (Fac. Sci., Tokyo Univ. Sci.)

Mr. Masaki OMATA (Fac. Sci., Toho Univ.)

Ms. Naomi SHIGETA (Fac. Sci., Tokyo Univ. Sci.)

Mr. Shinya BANBA (Fac. Eng., Toyo Univ.)

Mr. Masayuki YAGI (Fac. Eng., Saitama Inst. Technol.)

Mr. Shinya YUNOKI (Fac. Eng., Saitama Inst. Technol.)

誌 上 発 表 Publications

[雑誌]

(原著論文) *印は査読制度がある論文

Sato K., Sawayanagi M., Hosokawa K., and Maeda M.: "Single-base mutation detection using neutravidin-modified polystyrene nanoparticle aggregation", *Anal. Sci.* **20**, 893–894 (2004). *

Kikkawa Y., Fujita M., Hiraishi T., Yoshimoto M., and Doi Y.: "Direct observation of poly(3-hydroxybutyrate) depolymerase adsorbed on polyester thin film by atomic force microscopy", *Biomacromolecules* **5**, 1642–1646 (2004). *

Fujita M., Takikawa Y., Teramachi S., Aoyagi Y., Hiraishi T., and Doi Y.: "Morphology and enzymatic degradation of oriented thin film of ultrahigh molecular weight poly[(R)-3-hydroxybutyrate]", *Biomacromolecules* **5**, 1787–1791 (2004). *

Tang Z., Takarada T., Sato Y., and Maeda M.: "Colloidal nanoparticles from poly(*N*-isopropylacrylamide)-graft-DNA for single nucleotide discrimination based on salt-induced aggregation: extension to long target DNA", *Chem. Lett.* **33**, 1602–1603 (2004). *

Nakanishi J., Kikuchi Y., Takarada T., Nakayama H., Yamaguchi K., and Maeda M.: "Photoactivation of a substrate for cell adhesion under standard fluorescence microscopes", *J. Am. Chem. Soc.* **126**, 16314–16315 (2004). *

Ichikawa N., Hosokawa K., and Maeda R.: "Interface motion of capillary-driven flow in rectangular microchannel", *J. Colloid Interface Sci.* **280**, 155–164 (2004). *

Hosokawa K., Sato K., Ichikawa N., and Maeda M.: "Power-free poly(dimethylsiloxane) microfluidic devices for gold nanoparticle-based DNA analysis", *Lab Chip* **4**, 181–185 (2004). *

Ozasa K., Aoyagi Y., Hara M., Maeda M., Yamane A., and Arai Y.: "Enhanced photoluminescence of InGaAs quantum dots induced by nanoprobe indentation", *Physica E* **21**, 265–269 (2004). *

Zako T., Funatsu T., and Yohda M.: "Kinetic analysis of interactions between archaeal prefoldin and chaperonin", *Recent Res. Devel. Biophys.* **3**, 475–483 (2004). *

Ozasa K., Aoyagi Y., Iwaki M., Hara M., and Maeda M.: "Nanofabrication of cylindrical STEM specimen of InGaAs/GaAs quantum dots for 3D-STEM observation", *Ultramicroscopy* **101**, 55–61 (2004). *

Mishima K., Takarada T., and Maeda M.: "Capillary electrophoretic discrimination of single nucleotide polymorphisms using an oligodeoxyribonucleotide-polyacrylamide conjugate as a pseudo-immobilized affinity ligand: optimum ligand length predicted by the melting temperature values", *Anal. Sci.* **21**, 25–29 (2005). *

Sato K., Hosokawa K., and Maeda M.: "Non-cross-linking gold nanoparticle aggregation as a detection method for single-base substitutions", *Nucleic Acids Res.* **33**, e4 (2005). *

宝田徹, 前田瑞夫: "DNA 担持ナノ粒子による遺伝子診断", *有機合成化学協会誌* **62**, 534–539 (2004). *
(総説)

細川和生, 前田瑞夫: "金ナノ粒子による SNP 簡単判定法", *Bio Medical Quick Review Net(Web)*(<http://www.medicaldo.co.jp/>), No. 4012, pp. 1–5 (2004).

佐藤香枝, 前田瑞夫: "金ナノ粒子を用いた遺伝子診断法の開発", *Bio ベンチャー* **4**, 38–39 (2004).

細川和生: "マイクロチップと金ナノ粒子: 簡易 SNP 認識法に向けて", *バイオマテリアル* **22**, 400–406 (2004).

村上義彦, 前田瑞夫: "新しいインテリジェントマテリアルとしての DNA コンジュゲートハイドロゲル", *未来材料* **4**, No. 8, pp. 24–29 (2004).

中西淳, 前田瑞夫: "細胞の足場を制御する技術", *化学* **60**, No. 1, pp. 68–69 (2005).

(その他)

前田瑞夫: "ナノ診断", *Medical Pharmacy* **38**, 154 (2004).
[単行本・Proc.]

(総説)

前田瑞夫, 宝田徹, 唐中嵐: "微粒子・量子ドット", *先端の分析法: 理工学からナノ・バイオまで*, 岡本昌彦ほか (編),

株式会社 エヌ・ティー・エス, 東京, pp. 274–280 (2004).
中西淳: "タンパク質構造変化", *先端の分析法: 理工学からナノ・バイオまで*, 岡本昌彦ほか (編), 株式会社 エヌ・ティー・エス, 東京, pp. 347–352 (2004).

口頭発表 Oral Presentations

(国際会議等)

Maeda M.: "DNA-carrying nanoparticles for reliable genotyping", *Particles 2004: Particle Synthesis, Characterization, and Particle-Based Advanced Materials*, Orlando, USA, Mar. (2004).

Nakanishi J., Kikuchi Y., Takarada T., Nakayama H., Yamaguchi K., and Maeda M.: "In situ photoswitching of a substrate for cell adhesion under standard fluorescent microscopes", *Gordon Research Conf. on Signal Transduction by Engineered Extracellular Matrices*, Lewistown, USA, June–July (2004).

Tang Z., Takarada T., and Maeda M.: "Non-crosslinking aggregation of DNA-functionalized colloidal nanoparticles", *World Polymer Congr. MACRO 2004: 40th Int. IUPAC Symp. on Macromolecules*, (Centre National de la Recherche Scientifique and others), Paris, France, July (2004).

Hosokawa K., Sato K., and Maeda M.: "Gold nanoparticle-based DNA analyses in a power-free PDMS microfluidic device", *Micro Total Analysis Systems 2004 (μ TAS 2004)*, 8th Int. Conf. on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Science, Malmo, Sweden, Sept. (2004).

Ito T., Inoue A., Sato K., Hosokawa K., and Maeda M.: "Single-step concentration and sequence-specific separation of DNA by affinity microchip electrophoresis", *Micro Total Analysis Systems 2004 (μ TAS 2004)*, 8th Int. Conf. on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Science, Malmo, Sweden, Sept. (2004).

Nakanishi J., Kikuchi Y., Takarada T., Nakayama H., Yamaguchi K., and Maeda M.: "A caged cell-culturing substrate for photoswitching of cell adhesion and migration", *4th Asian Int. Symp. on Biomaterials (AISB4) and 2nd Int. Symp. on Fusion of Nano and Bio Technologies (FNB2004)*, (Japanese Society for Biomaterials, National Institute for Materials Science and Nanotechnology Researchers Network Center of Japan), Tsukuba, Nov. (2004).

Maeda M.: "Non-cross-linking aggregation of DNA-carrying nanoparticles for reliable genotyping", *SANKEN Int. Symp. on Scientific and Industrial Nanotechnology 2004 (SISSIN-2004)*, Osaka, Dec. (2004).

Ozasa K., Maeda M., and Hara M.: "Photoluminescence behavior of CdSe on GaAsOx/GaAs substrates", *5th Int. Conf. on Low Dimensional Structures and Devices (LDSD 2004)*, Cancun, Mexico, Dec. (2004).

Zako T., Yoshida T., Murase Y., Kanzaki T., Ide N., Iizuka R., Funatsu T., and Yohda M.: "Interaction analysis between hyperthermophilic chaperonin and prefoldin using

- SPR sensor”, Biophysical Soc. 49th Ann. Meet., Long Beach, USA, Feb. (2005).
- (国内会議)
- 井上明, 佐藤香枝, 伊藤寿之, 細川和生, 牧野公子, 前田瑞夫: “直線型マイクロチャンネルの構造を持った PDMS マイクロチップでのアフィニティー電気泳動による DNA 一塩基変異検出”, 日本薬学会第 124 年会, 大阪, 3 月 (2004).
- 村上義彦, 前田瑞夫: “DNA と合成高分子を複合化した DNA 応答性コンジュゲートハイドロゲルを用いた遺伝子検出”, 日本化学会第 84 春季年会, 西宮, 3 月 (2004).
- 唐中嵐, 宝田徹, 前田瑞夫: “DNA 担持コロイド粒子の界面動電現象に基づく粒子表面の状態解析”, 日本化学会第 84 春季年会, 西宮, 3 月 (2004).
- 谷口佳代子, 村上義彦, 尾高雅文, 廣瀬卓司, 遠藤勲, 前田瑞夫: “イソパレロニトリルを用いたニトリルヒドラーゼの反応機構解析”, 日本化学会第 84 春季年会, 西宮, 3 月 (2004).
- 村上義彦, 前田瑞夫: “次世代 DNA マイクロアレイを指向した新しい遺伝子検出技術「PRESS」”, 文科省科学技術振興調整費ゲノムフロンティア開拓研究シンポジウム「次世代のマイクロアレイ: カスタムアレイの展開」, 東京, 3 月 (2004).
- 細川和生, 佐藤香枝, 前田瑞夫: “ナノ粒子とマイクロチップによる遺伝子診断”, 文部科学省ナノテクノロジー総合支援プロジェクト「第 2 回ナノテクノロジー総合シンポジウム」(JAPAN NANO 2004), 東京, 3 月 (2004).
- 細川和生, 佐藤香枝, 前田瑞夫: “PDMS 無動力マイクロ流体デバイス”, 平成 16 年電気学会全国大会, 相模原, 3 月 (2004).
- 村上義彦, 前田瑞夫: “DNA と合成高分子を融合した新規 DNA 応答性ハイドロゲルによるバイオセンシング”, 化学工学会第 69 年会, 大阪, 4 月 (2004).
- 村上義彦, 前田瑞夫: “DNA-ポリアクリルアミドハイドロゲルを用いたバイオセンシング”, 第 53 回高分子学会年次大会, 神戸, 5 月 (2004).
- 唐中嵐, 宝田徹, 前田瑞夫: “DNA 担持コロイド粒子の非架橋凝集に関する界面化学的検討”, 第 53 回高分子学会年次大会, 神戸, 5 月 (2004).
- 前田瑞夫: “金ナノ粒子の非架橋型凝集を用いる DNA センシング”, 第 65 回分析化学討論会, 那覇, 5 月 (2004).
- 前田瑞夫: “DNA 装飾金コロイドを用いる常温遺伝子診断”, 04-1 高分子表面研究会, (高分子学会), 東京, 6 月 (2004).
- 村上義彦, 前田瑞夫: “DNA を認識して体積変化を示す新規分子応答性ハイドロゲル”, 第 14 回バイオ・高分子シンポジウム, (高分子学会, バイオ・高分子研究会), 東京, 7 月 (2004).
- 中西淳, 菊地由希子, 宝田徹, 中山秀一, 山口和夫, 前田瑞夫: “細胞接着の光スイッチング”, 第 33 回医用高分子シンポジウム, (高分子学会医用高分子研究会), 東京, 7 月 (2004).
- 尾笹一成, 前田瑞夫, 原正彦: “GaAsOx/GaAs 上の CdSe 微粒子の発光特性”, 日本物理学会 2004 年秋季大会, 青森, 高知, 9 月 (2004).
- 佐藤香枝, 澤柳宗貴, 細川和生, 前田瑞夫: “アビジン修飾ポリスチレンナノ粒子を用いた一塩基多型 (SNP) の検出法の開発”, 日本分析化学会第 53 年会・東京コンファレンス 2004 合同シンポジウム, (日本分析化学会, 日本分析機器工業会), 習志野, 9 月 (2004).
- 小野口美和, 佐藤香枝, 細川和生, 吉田泰彦, 前田瑞夫: “アフィニティーキャピラリー電気泳動による DNA の配列特異的分離”, 日本分析化学会第 53 年会・東京コンファレンス 2004 合同シンポジウム, (日本分析化学会, 日本分析機器工業会), 習志野, 9 月 (2004).
- 細川和生: “金ナノ粒子とマイクロチップを用いた DNA 分析”, 日本分析化学会第 53 年会・東京コンファレンス 2004 合同シンポジウム, (日本分析化学会, 日本分析機器工業会), 習志野, 9 月 (2004).
- 中西淳, 菊地由希子, 宝田徹, 中山秀一, 山口和夫, 前田瑞夫: “細胞基盤センサー開発を目指した単分子膜基板への細胞接着の光制御”, 日本分析化学会第 53 年会・東京コンファレンス 2004 合同シンポジウム, (日本分析化学会, 日本分析機器工業会), 習志野, 9 月 (2004).
- 井上明, 伊藤寿之, 佐藤香枝, 細川和生, 牧野公子, 前田瑞夫: “直線型マルチチャンネルにおけるアフィニティー電気泳動”, 日本分析化学会第 53 年会・東京コンファレンス 2004 合同シンポジウム, (日本分析化学会, 日本分析機器工業会), 習志野, 9 月 (2004).
- 唐中嵐, 宝田徹, 前田瑞夫: “DNA 担持コロイド粒子の DNA 構造に依存した分散安定性変化のメカニズム”, 第 53 回高分子討論会, (高分子学会), 札幌, 9 月 (2004).
- 伊藤寿之, 井上明, 佐藤香枝, 細川和生, 前田瑞夫: “アフィニティーマイクロチップ電気泳動を用いた DNA の濃縮および配列特異的分離”, 第 53 回高分子討論会, (高分子学会), 札幌, 9 月 (2004).
- 中西淳, 菊地由希子, 宝田徹, 中山秀一, 山口和夫, 前田瑞夫: “光分解性保護基を有する単分子膜への細胞接着の光スイッチング”, 第 53 回高分子討論会, (高分子学会), 札幌, 9 月 (2004).
- 菊地由希子, 中西淳, 宝田徹, 前田瑞夫, 中山秀一, 山口和夫: “光分解性保護基を有する単分子膜への細胞接着性の光制御”, 第 53 回高分子討論会, (高分子学会), 札幌, 9 月 (2004).
- 中西淳, 菊地由希子, 宝田徹, 中山秀一, 山口和夫, 前田瑞夫: “ケーゾ細胞培養基板上での細胞接着の光スイッチング”, 第 19 回生体機能関連化学シンポジウム, (日本化学会生体機能関連学部会), 東京, 10 月 (2004).
- 中西淳, 菊地由希子, 宝田徹, 中山秀一, 山口和夫, 前田瑞夫: “蛍光顕微鏡下での細胞接着の光スイッチング”, 日本バイオマテリアル学会シンポジウム 2004, つくば, 11 月 (2004).
- 細川和生, 佐藤香枝, 伊藤寿之, 前田瑞夫: “PDMS 無動力マイクロチップとその SNP 診断への応用”, 第 27 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2004).
- 佐藤香枝, 澤柳宗貴, 細川和生, 前田瑞夫: “ナノ粒子凝集を用いた一塩基多型 (SNP) の検出法の開発”, 第 27 回日本分子生物学会年会, 神戸, 12 月 (2004).
- 前田瑞夫: “DNA 検出技術”, 第 19 回「大学と科学」公開シンポジウム「人体にやさしい医療材料」, 東京, 12 月 (2004).
- 前田瑞夫: “診断エンジニアリング”, 第 22 回医用高分子研究会講座, 東京, 12 月 (2004).

松本信彦, 藤田雅弘, 平石知裕, 青木洋子, 阿部英喜, 土肥
義治: “原子間力顕微鏡を用いた生分解性ポリエステル
に対する PHB 分解酵素の吸着力の評価”, 第 5 回 Green

& Sustainable Chemistry(GSC) シンポジウム, (Green &
Sustainable Chemistry Network, 日本産業技術振興協会),
東京, 3 月 (2005).