

# ナノバイオデバイスが拓く未来医療

馬場 嘉信

名古屋大学大学院工学研究科・医学系研究科  
名古屋大学最先端研究開発支援プログラム(FIRST)・

革新ナノバイオデバイス研究センター

名古屋大学シンクロトロン光研究センター

名古屋大学リーディング大学院・PhDプロフェッショナル登竜門

名古屋大学リーディング大学院・グリーン自然科学国際教育研究プログラム

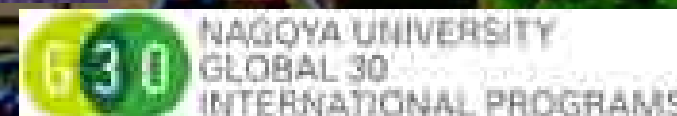
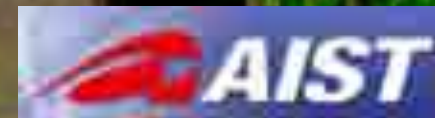
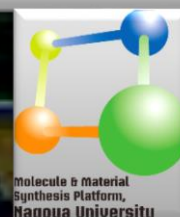
産業技術総合研究所 健康工学研究部門



Nagoya University



FIRST Program



医工連携セミナー

名古屋大学、2013年4月23日

# 医工連携セミナー

## ナノバイオデバイスが拓く未来医療

### 馬場嘉信

#### レポート課題

講義内容で興味を持ったテーマについて

A4 1枚にまとめてレポート提出

専攻、学生番号、氏名を記載すること

提出〆切： 5月10日(金)

提出先： 1022号室 馬場研秘書宛

# 最先端研究開発支援プロジェクト

## Funding Program for World-Leading Innovative R&D on Science and Technology (FIRST)

1 分子解析技術を基盤とした革新ナノバイオデバイスの開発研究  
Research and Development of Innovative Nanobiodevices  
Based on Single-Molecule Analysis (2010-2014, 38 M\$)

Prof. T. Kawai (Osaka Univ.), Prof. Y. Baba (Nagoya Univ.)

**Panasonic**  
ideas for life

**TORAY**

**TOSHIBA**

**JMAC**

名古屋大学革新ナノバイオデバイス研究センター

FIRST RESEARCH CENTER FOR  
INNOVATIVE NANOBIODEVICES  
NAGOYA UNIVERSITY

[WWW.NANOBIO.NAGOYA-U.AC.JP/](http://WWW.NANOBIO.NAGOYA-U.AC.JP/)



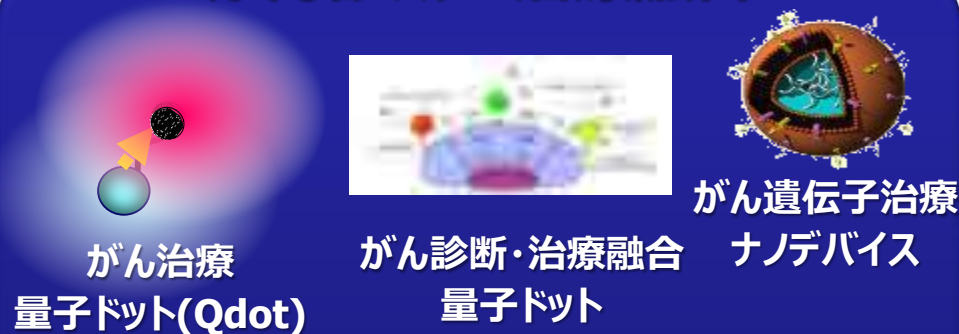
名古屋  
大 병원

# がんの単一細胞診断 エクソソーム・miRNA診断

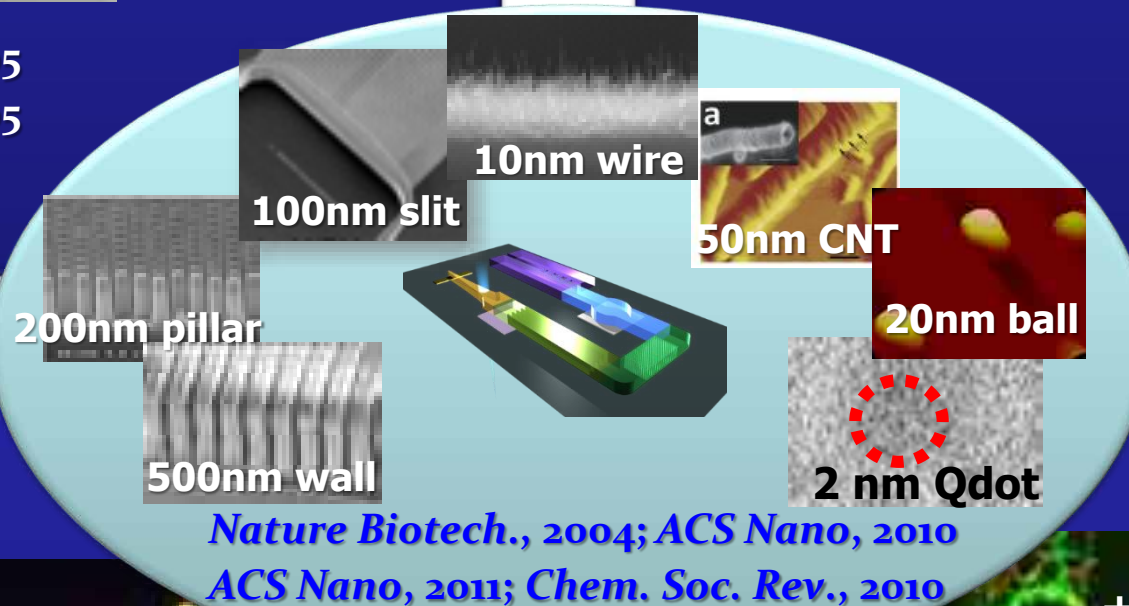


*J. Am. Chem. Soc.*, 2005  
*J. Am. Chem. Soc.*, 2005  
*Lab on a Chip*, 2010  
*ACS Nano*, 2013

# がん診断・治療融合



*Nature Biotech.*, 2004  
*Nano Lett.*, 2004  
*Biomaterials*, 2011  
*Mol. Ther.*, 2011



# ナノバイオデバイス



*J. Am. Chem. Soc.*, 2006; *Anal. Chem.*, 2011  
*Nucleic Acid Res.*, 2012; *Nano Lett.*, 2013

# 1分子ゲノムDNA解析



*ACS Nano*, 2011; *ACS Nano*, 2011  
*Nano Lett.*, 2012; *Biomaterials*, 2012

# イメージング・iPS細胞再生医療

# Contents

- **Single Cancer Cell Diagnosis for Cancer Metastasis Diagnosis :**  
**ミドリムシで単一がん細胞診断**

*ACS Nano*, 2010; *Lab on a Chip*, 2011; *PLoS One*, 2012.

- **Nanobiodevices for Ultrafast Analysis of DNA and Nanopore  
Single DNA/microRNA Sequencing for Cancer Diagnosis:**  
**まばたきの瞬間にDNA解析**

*Nature Biotech.*, 2004; *Nano Lett.*, 2013; *ACS Nano*, 2013; *ACS Nano*, 2011; *Chem. Soc. Rev.*, 2010.  
Kawai, et al., *Nature Nanotech.*, 2010 ; *Nature Commun.*, 2011; *Sci. Rep.*, 2011; *Sci. Rep.*, 2012.

- **Theranostic Nanobiodevice for Stem Cell Therapy and Gene  
Therapy of Cancer:**  
**量子ナノ構造でがんの診断・治療融合**

*Nature Biotech.*, 2004; *Nano Lett.*, 2012; *ACS Nano*, 2011; *Biomaterials*, 2010; *Biomaterials*, 2012.  
*ACS Nano*, 2011; *Biomaterials*, 2011; *Mol. Therapy*, 2011; *RSC Adv.*, 2012; *Int. Biol.*, 2012.

# Contents

- ## ■ Single Cancer Cell Diagnosis for Cancer Metastasis Diagnosis : ミドリムシで単一がん細胞診断

*ACS Nano*, 2010; *Lab on a Chip*, 2011; *PLoS One*, 2012.

- Nanobioscience  
Singh  
まは
- 今日のキーワード

*Nature*, 2010.

Kawano, 2012.

- The  
The  
量子  
Nat  
ACS
- ナノピラー/ナノポア/ナノワイヤ  
幹細胞治療/量子ドット/CNT
- ls, 2012.

# がんの診断を行うには？

がん組織

がん細胞

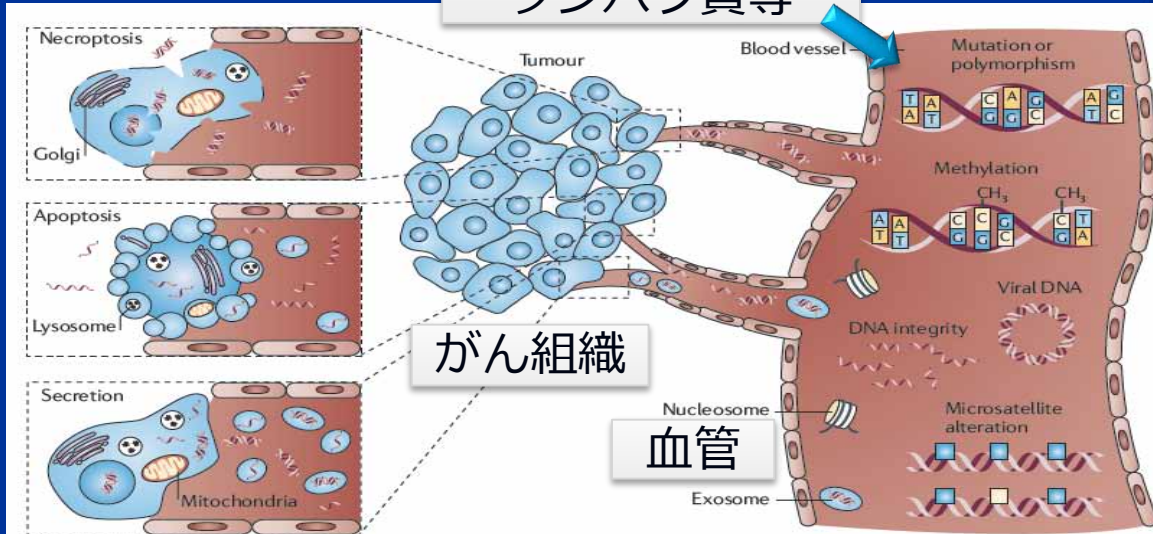
がん(PET+CT)



がん(内視鏡)



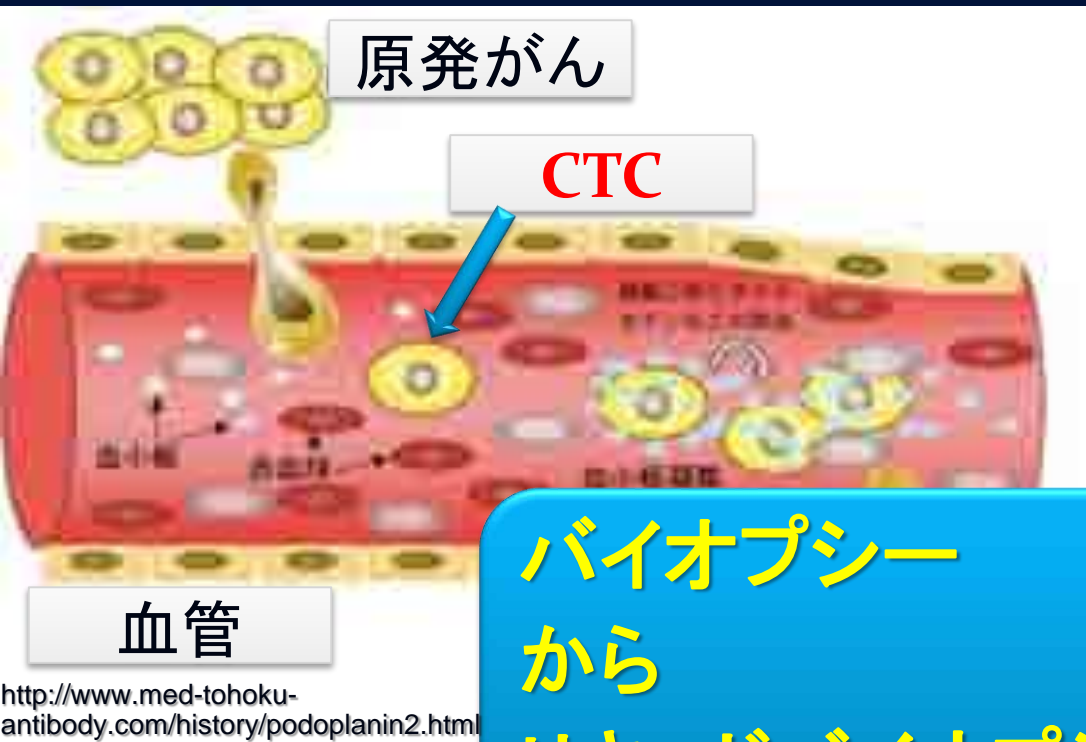
遺伝子、DNA  
タンパク質等



がん関連生体分子等  
遺伝子, DNA, miRNA,  
エクソソーム,  
タンパク質, 代謝物など

Science, 2011, 331, 1559; Cell, 2012, 150, 12;  
Science, 2013, 339, 1546; Nature, 2013, 494, 290.

# 血中循環がん細胞(CTC)検出によるがん転移診断



血液10 mL中

CTC: 数個～数十個

半減期1-2時間

RBC: 400億～500億

WBC: 3千万～9千万

バイオプシー  
から  
リキッドバイオプシー へ

分離

細胞抽出

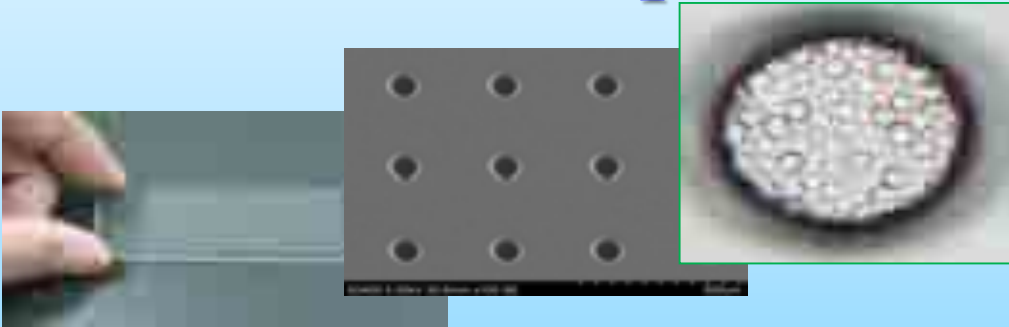
DNA配列、RNAなどの検出

乳がん、大腸がん、前立腺がん  
などの転移性がんにおける予後  
予測や治療効果判定

- 画像検査では発見できない転移診断
- 手術後の抗がん剤治療の必要性判断
- 採血のみで検査できるので低侵襲
- 治療経過を追って頻度多く検査可能

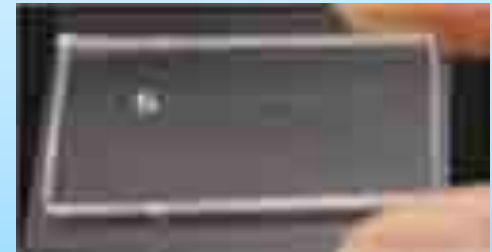
# Microfluidic Devices for CTC detection

## Cell Chip



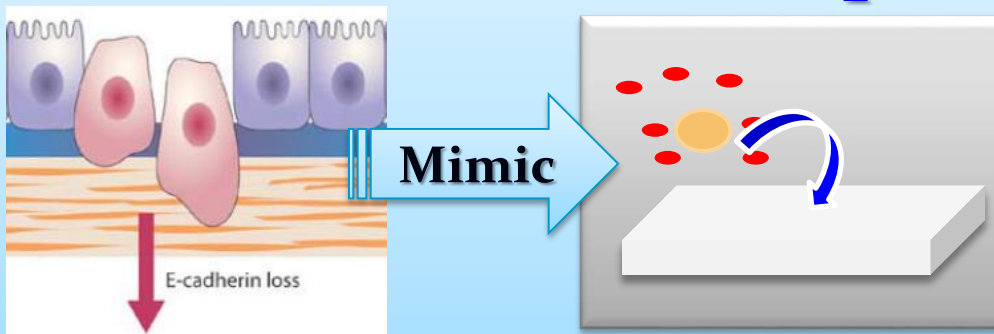
*ACS Nano*, 2010; *PLoS One*, 2012.

## Euglena Chip



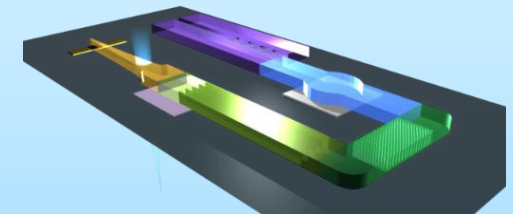
*MicroTAS*, 2012.

## Cancer Invasion Chip



*MicroTAS*, 2012.

## miRNA/Exosome Chip

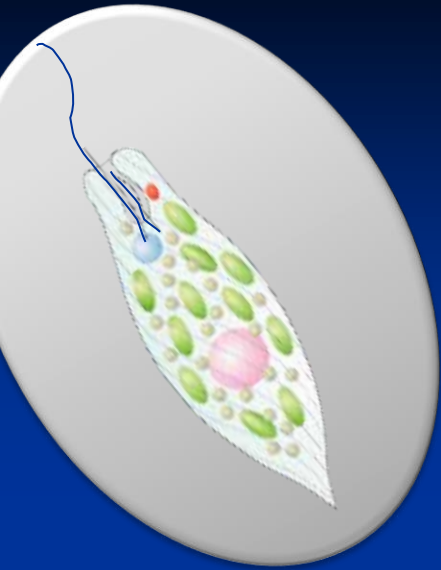


*Nature Biotech.*, 2004;

*Nano Lett.*, 2013;

*ACS Nano*, 2013; *ACS Nano*, 2011

# Separation of CTC by *Euglena*



<http://www.kenq.net/ill/index.html>

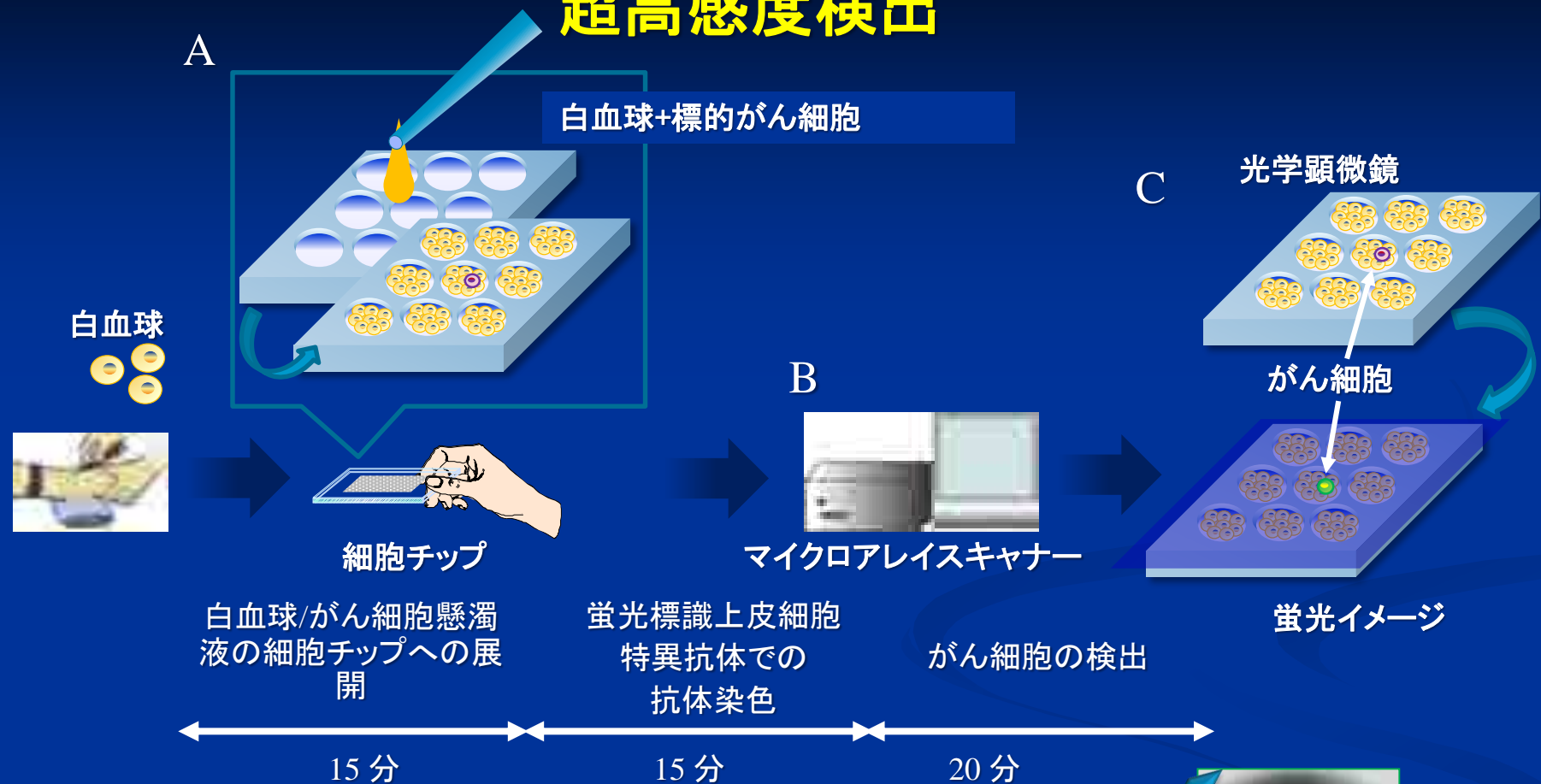
上記の図をもとに改変

—  
30  $\mu\text{m}$

- Unicellular protists  
(Less than 100  $\mu\text{m}$ )
- Both plant and animal features  
Move by using a large flagellum  
Photosynthesis
- Phototaxis  
100-150  $\mu\text{m/s}$

***Euglena*** (eu=beautiful + glena=eye) are the organisms that Dutch microscope pioneer **Anton van Leeuwenhoek** saw in 1674 in a sample of pond water. They have chlorophyll to produce food from sunlight, for instance, and also can ingest food. They have a primitive “eye” and a long tail or flagellum that moves like a whip to propel them through the water.

# 細胞チップを用いたCTC(circulating tumor cell)の 超高感度検出

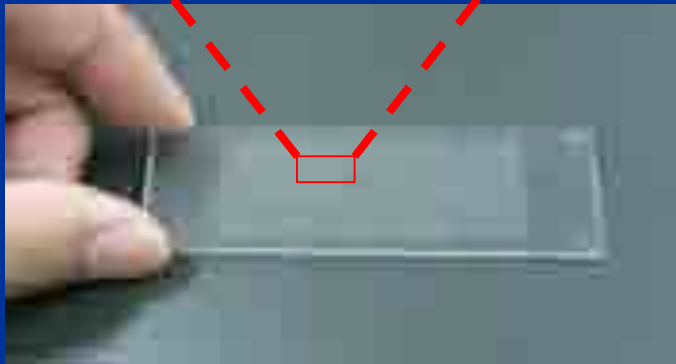
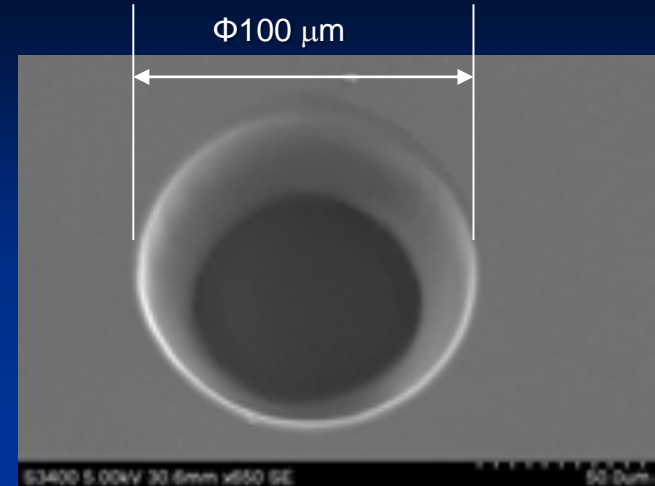
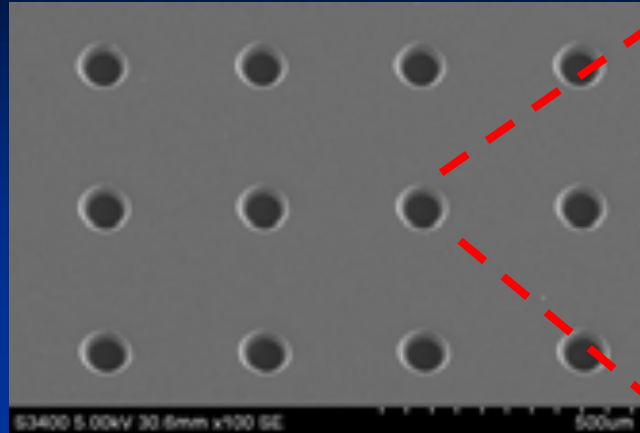
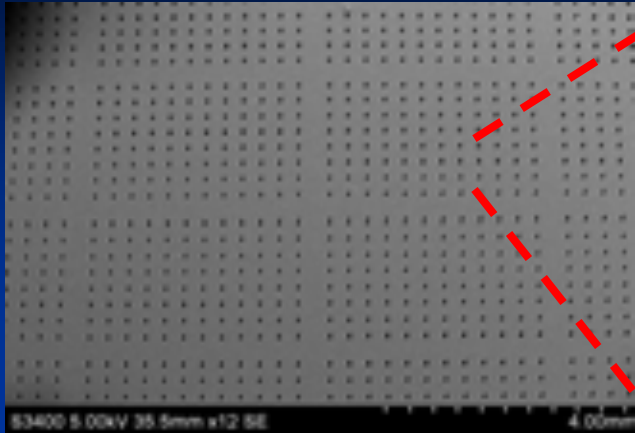


白血球

180万  
/チップ

*PLoS One*, 2012

# がん細胞検出チップ



ポリスチレンチップ(スターライト工業)

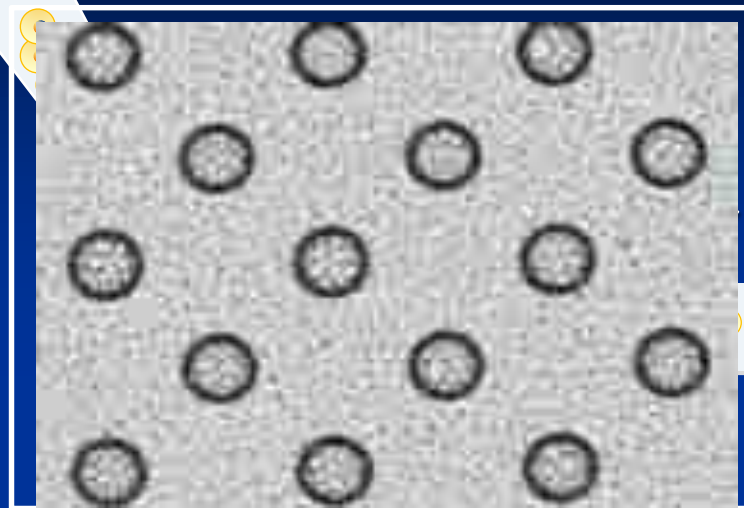
- ・ウエル:  $\phi 100 \mu\text{m}$ , 深さ  $50 \mu\text{m}$
- ・ウエル間ピッチ:  $300 \mu\text{m}$
- ・1クラスター内のウエル:  $12 \times 8$
- ・クラスター間隔:  $400 \mu\text{m}$
- ・クラスター配列:  $14 \times 8$       ウエル総数: 20,944個

*PLoS One*, 2012

マイクロチャンバーの形状と細胞チップ表面全体のRIE処理

多数の細胞のマイクロチャンバー底での単層配列が可能

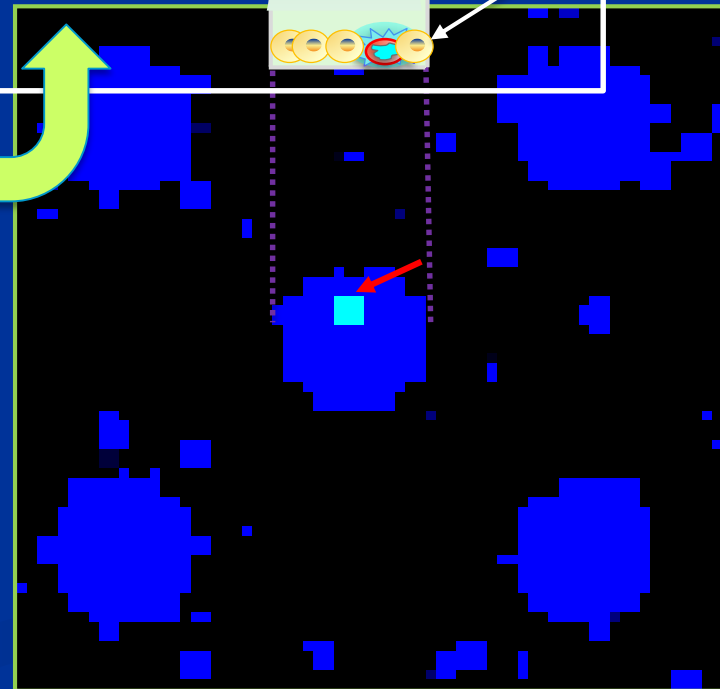
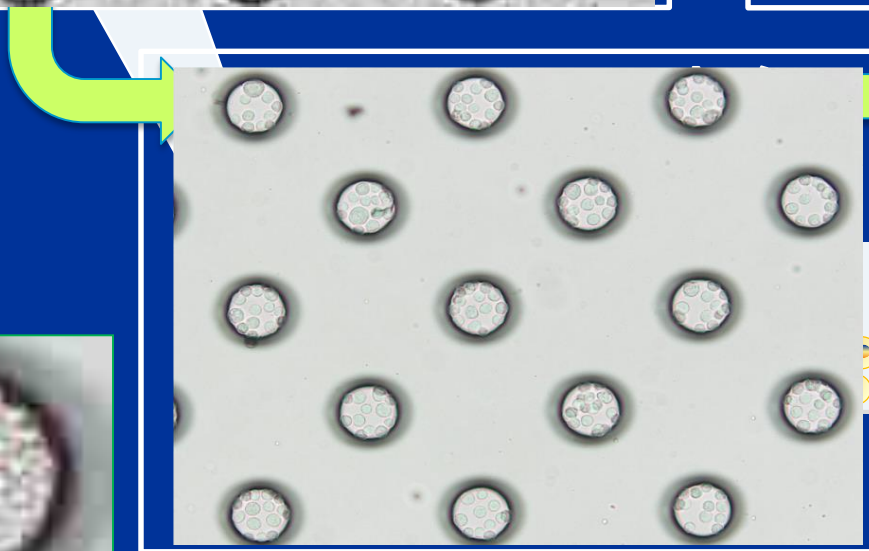
# 白血球中のがん細胞検出



抗体染色  
15分  
+  
洗浄

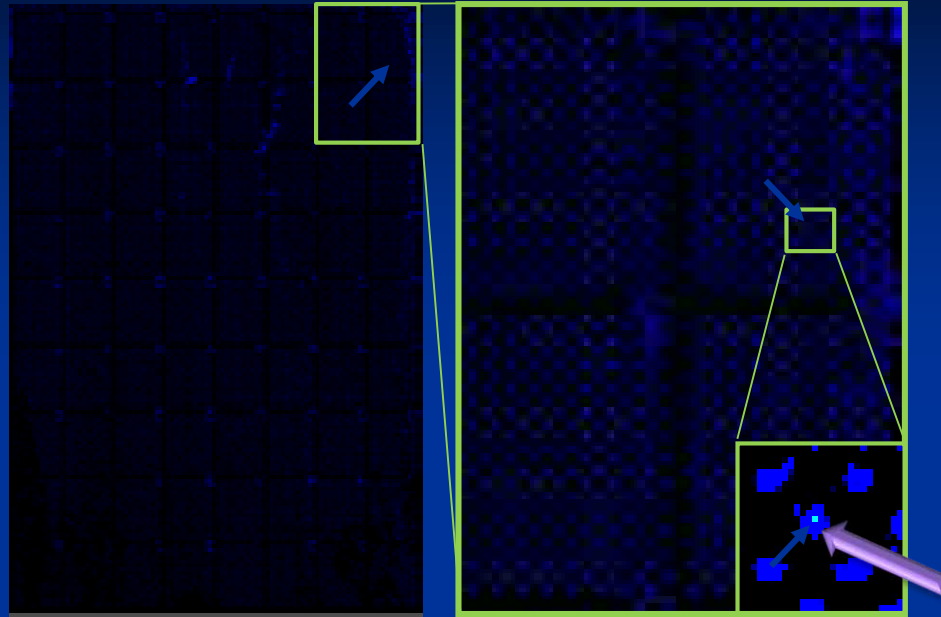
検出  
20分

白血球を  
単層配列

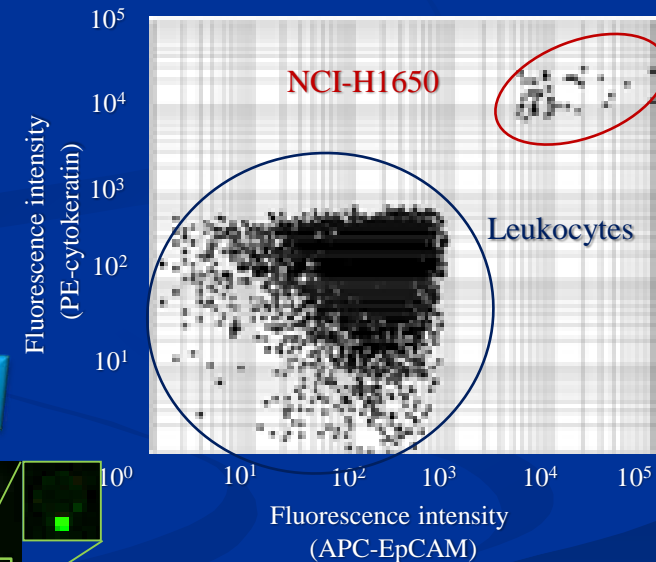
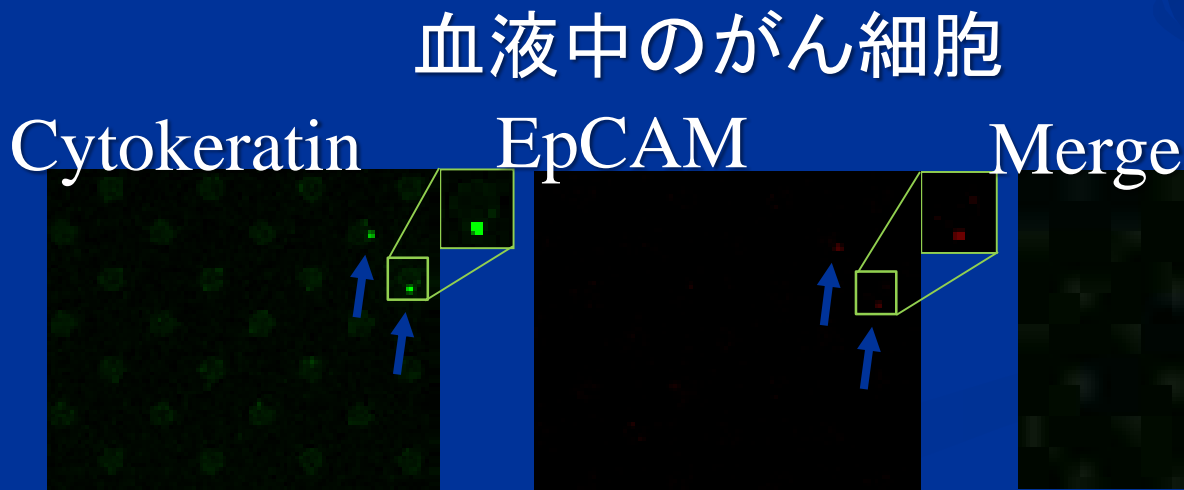


180万細胞/チップ

# 血液中のがん細胞検出



0.0001% (100万個に1個)  
1個/997,832個 (184 clusters)



# Contents

- Single Cancer Cell Diagnosis for Cancer Metastasis Diagnosis :  
ミドリムシで単一がん細胞診断

*ACS Nano*, 2010; *Lab on a Chip*, 2011; *PLoS One*, 2012.

- Nanobiosensors for Early Cancer Detection and Diagnosis are  
Single  
まは

*Nature*, 2010.  
Kaw

- The  
The  
量子  
量子  
Nat  
ACS

## 本日のキーワード

ミドリムシ/CTC

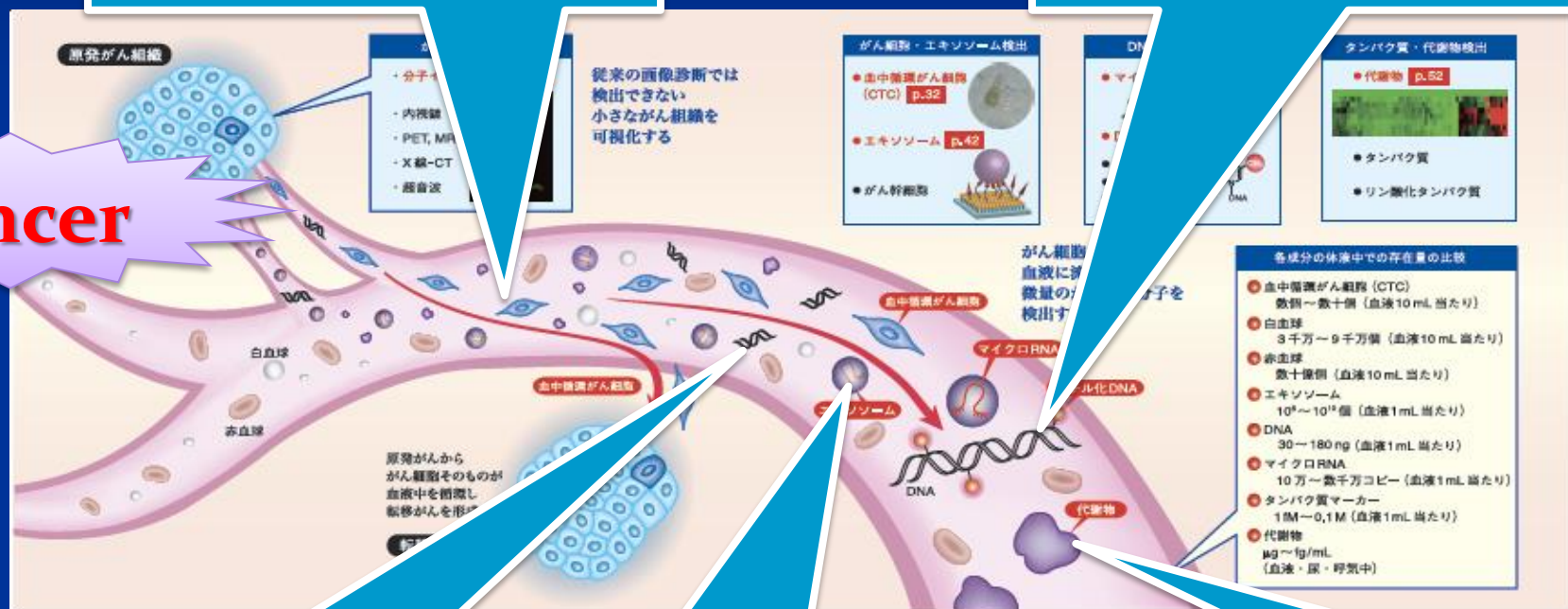
ナノピラー/ナノポア/ナノワイヤ  
幹細胞治療/量子ドット/CNT

# Analytical Challenges for Cancer Diagnosis

5-100 CTCs in  
10 mL Blood

Methylated DNA  
30-180 ng/mL Blood

Cancer



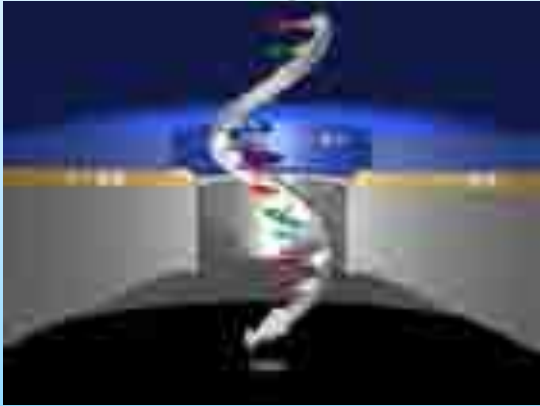
miRNA  
100 k clones/mL

Exosomes  
 $10^8/\text{mL}$  Blood

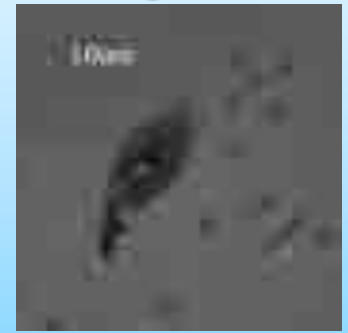
Metabolites  
ng-fg/mL Blood

# Nanopore-Nanopillar Integration

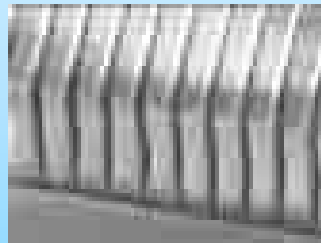
Nanopore



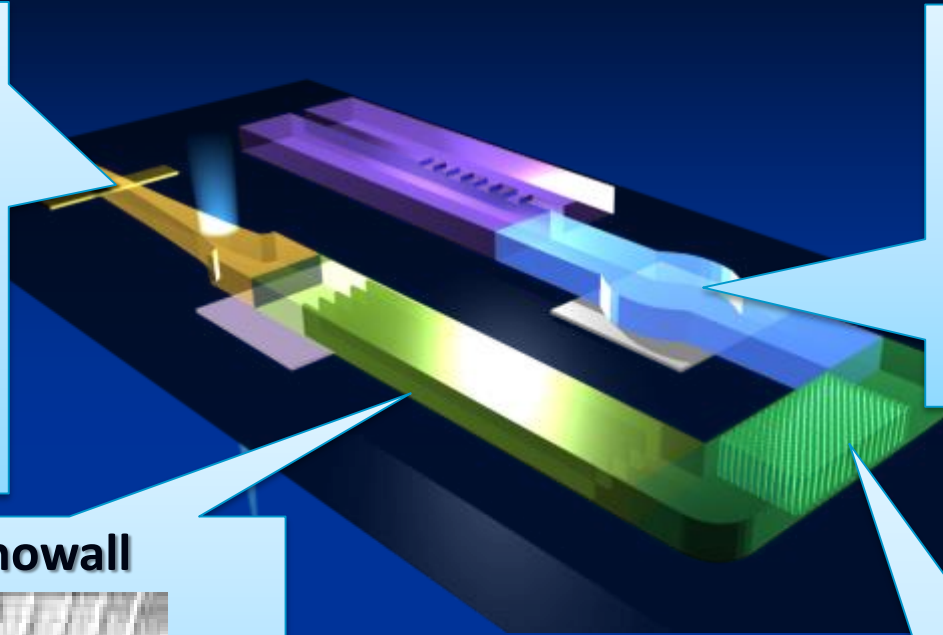
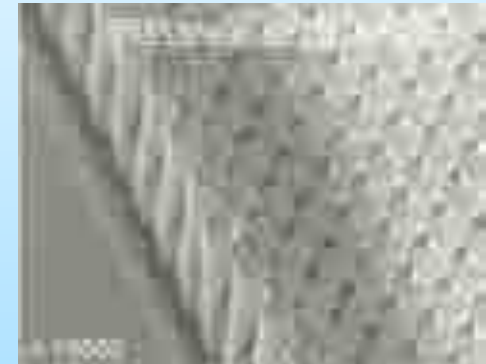
Euglena



Nanowall



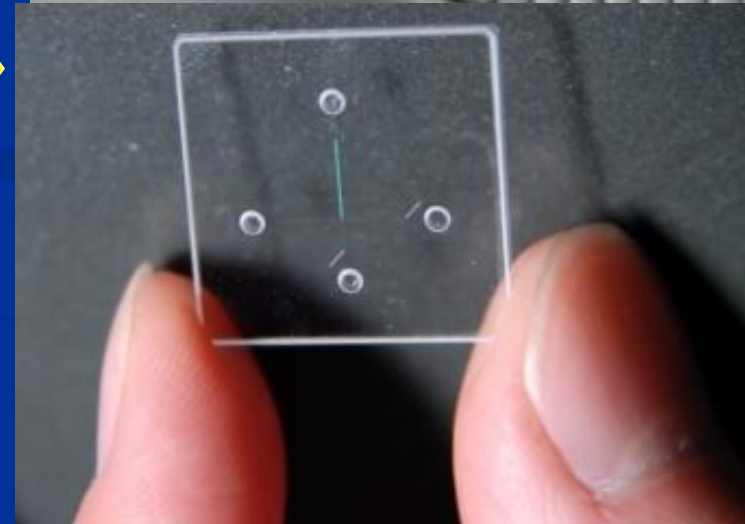
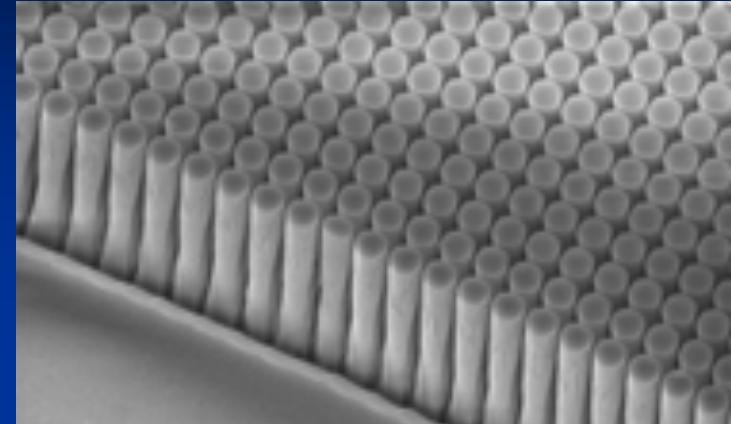
Nanopillar



**Single Molecular Genome, miRNA, Proteins, and Other Biomolecules Sequencing and Quantitation**

*Nature Biotech.* 2004; *Nano Lett.*, 2013; *ACS Nano*, 2013; *ACS Nano*, 2011

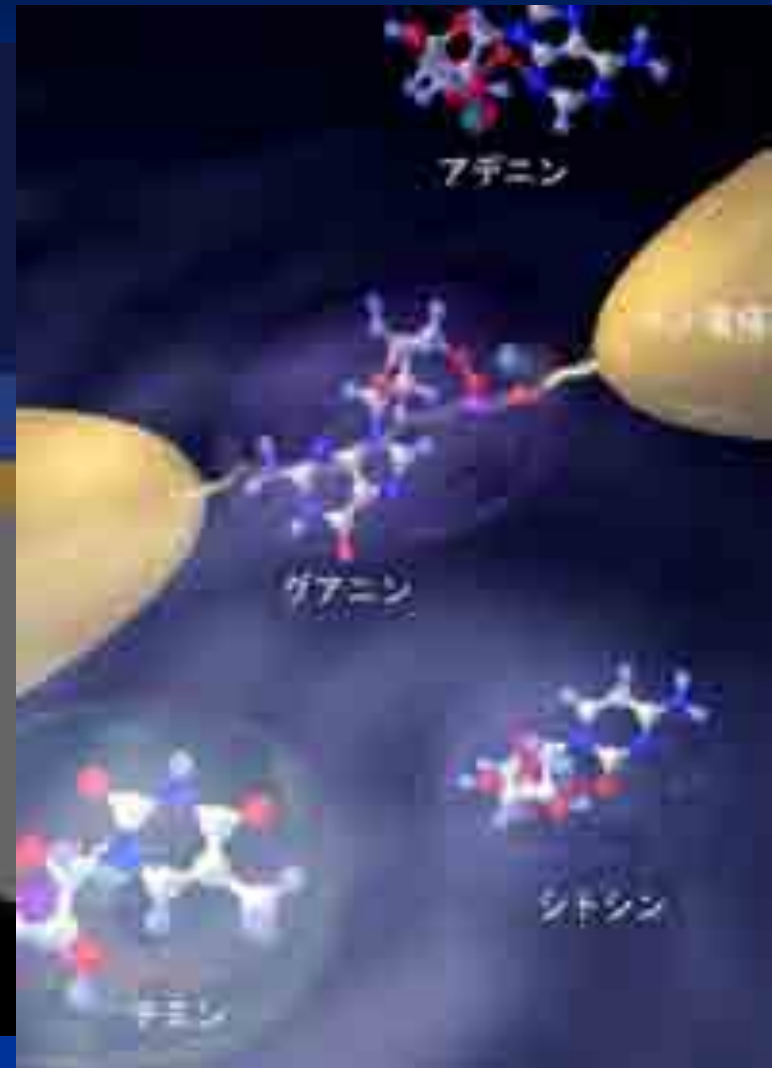
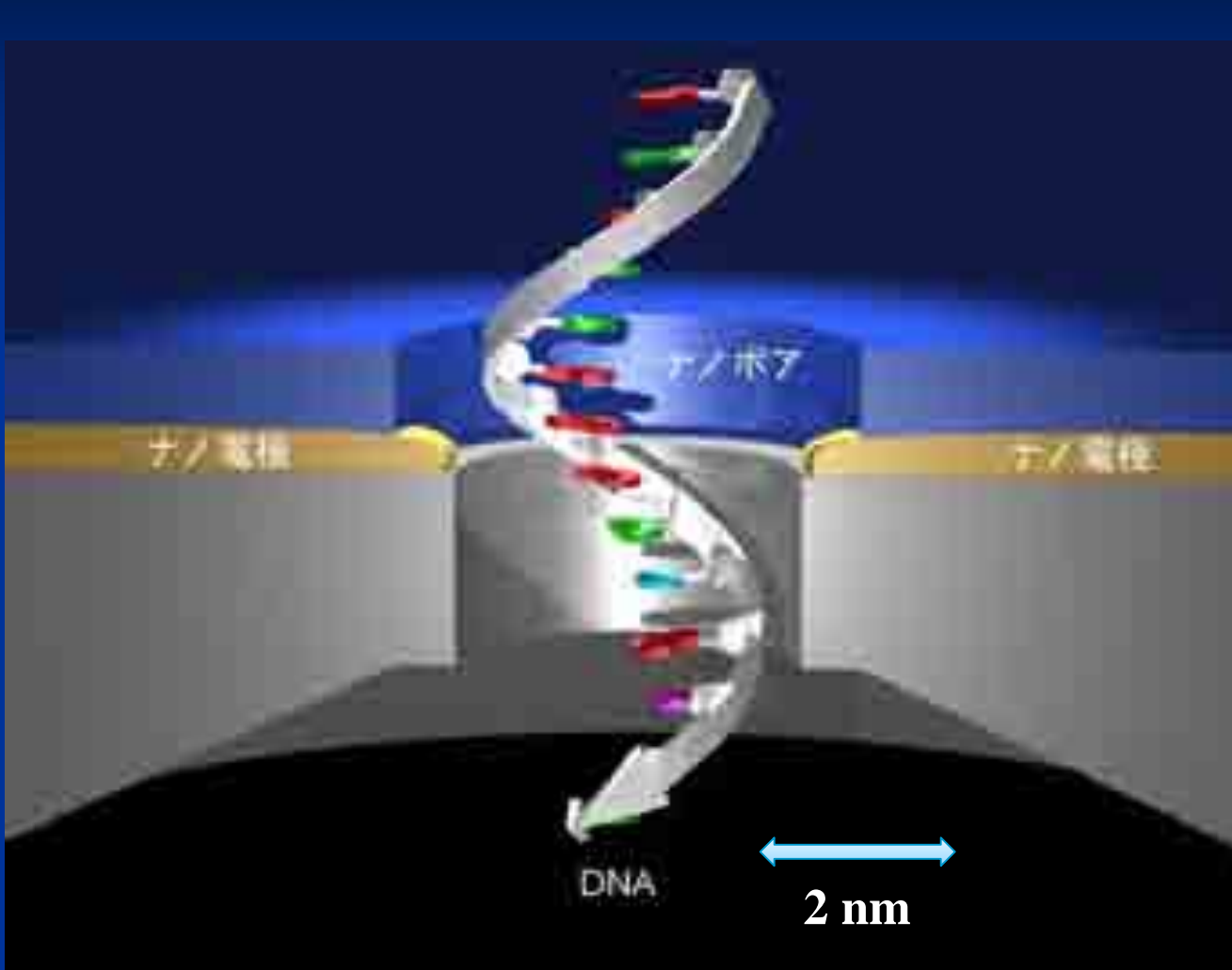
# 大型検査機器を手のひらに



名大病院臨床検査室

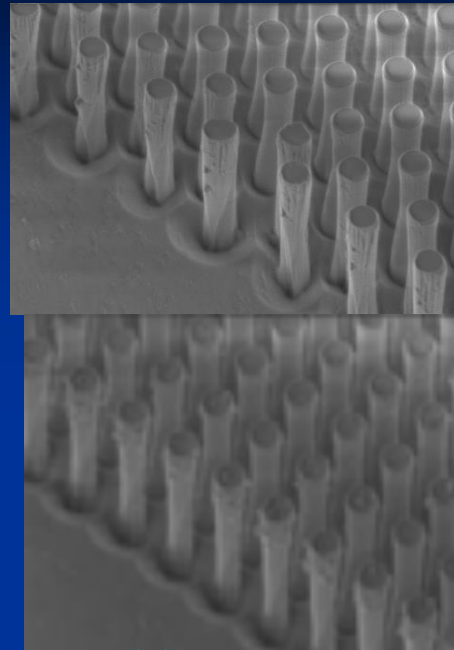
# Nanopore DNA Sequencing (3.6 Gbp/h)

## Collaboration with Prof. Kawai

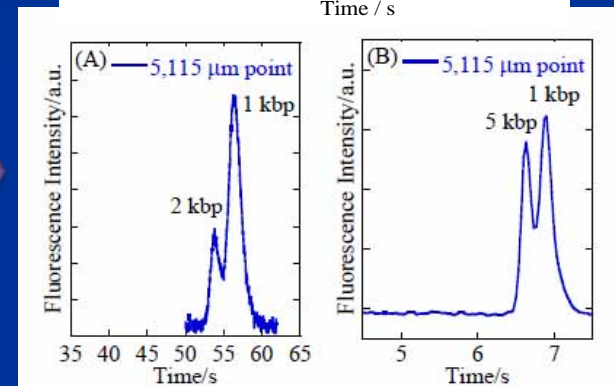
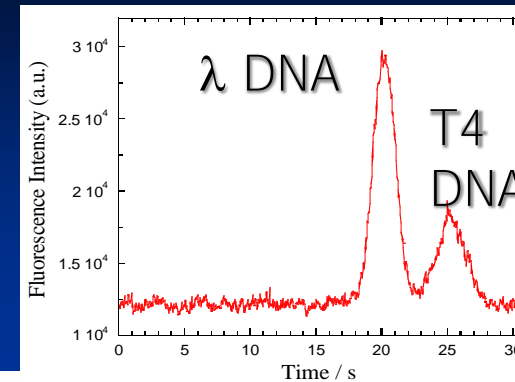


T. Kawai, *Nature Nanotech*, 2010, *Nature Commun.*, 2010

# 1G Nanopillar Based Separation of DNA



500 nm

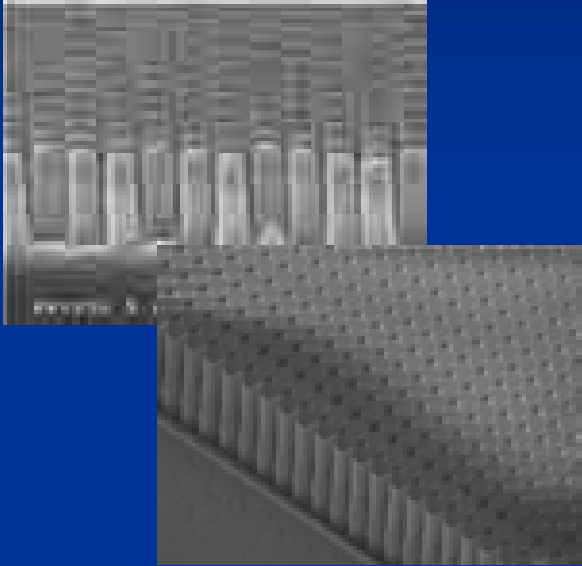


**λ DNA** (48.5 kbp)  
520 nm

**T4 DNA** (165.6 kbp),  
970 nm

*Nature Biotech.*, 2004; *Anal. Chem.*, 2004

# Molecular Sieving in Nanostructure



$$\ln \mu = \ln \mu_0 - c\lambda TN$$

$$\mu/\mu_0 = f = \exp [ -\pi L' (r+Rg)^2 \times 10^{-14}]$$

$$L' = T l' \times 10^{-2} \quad T: \text{gel concentration}$$

$$\ln \mu/\mu_0 = -\ln t/t_0 = -\pi l' (r+Rg)^2 T \times 10^{-16}$$

$$\langle Rg^2 \rangle = (1/3)pL[1 - p/L + (p/L)\exp(-L/p)]$$

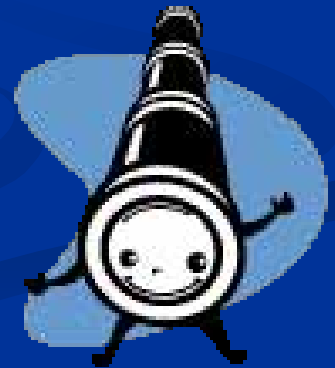
$$\langle Rg^2 \rangle \doteq (1/3)pL = \lambda N$$

Rg: radius of gyration

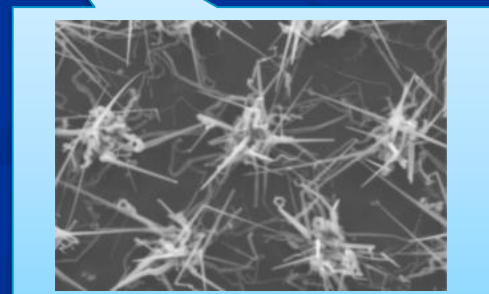
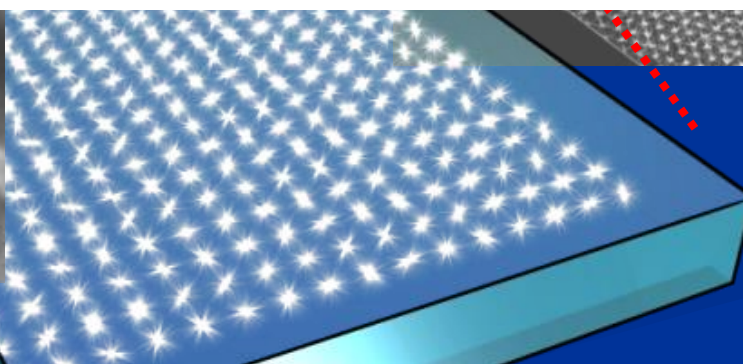
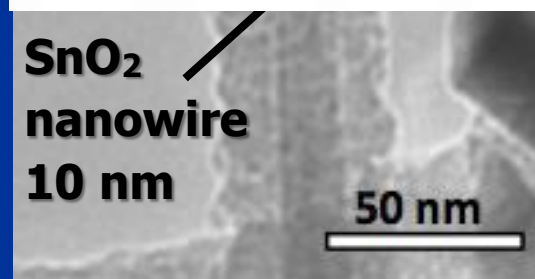
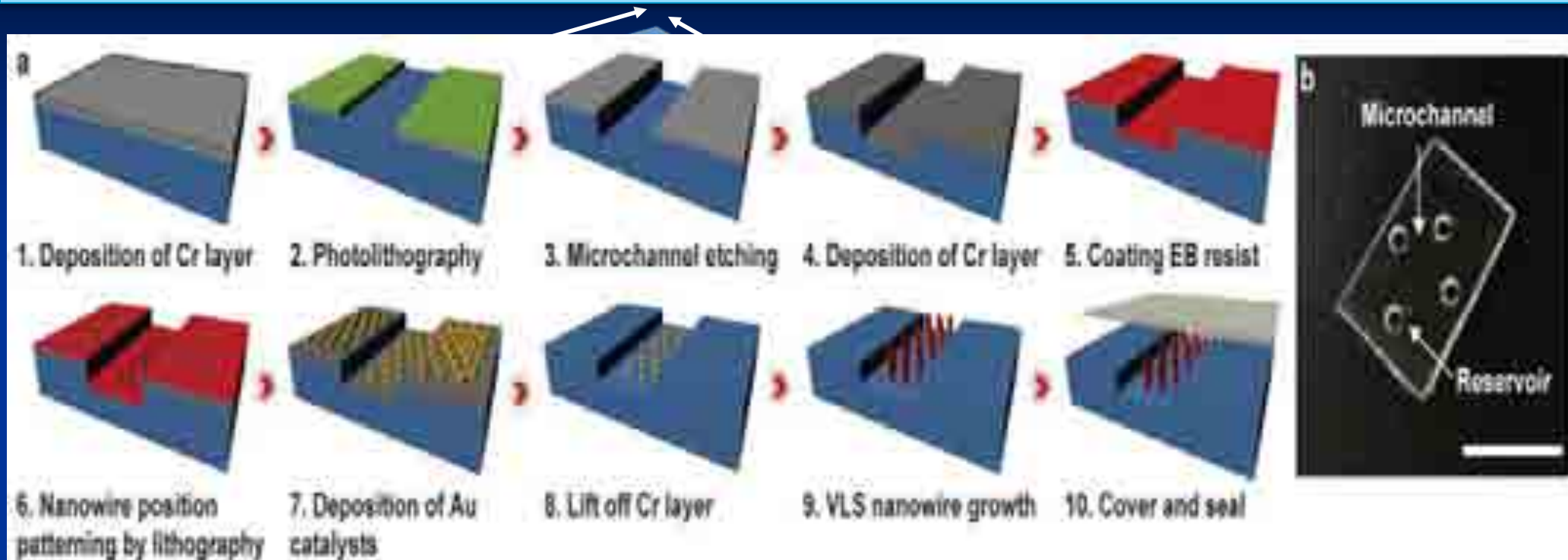
# まばたきの瞬間にがん遺伝子を測る

1960年代	ゲル	5時間	1倍
1990年代	キャピラリー	15分	20倍
2000年代	マイクロチップ	3分	100倍
2004年	第1世代ナノピラー	10秒	1800倍
2010年	第2世代ナノピラー	100ミリ秒	18万倍
2011年	第3世代ナノピラー	500 $\mu$ 秒	3600万倍
2012年	第3世代ナノピラー	64 $\mu$ 秒	2億8千万倍

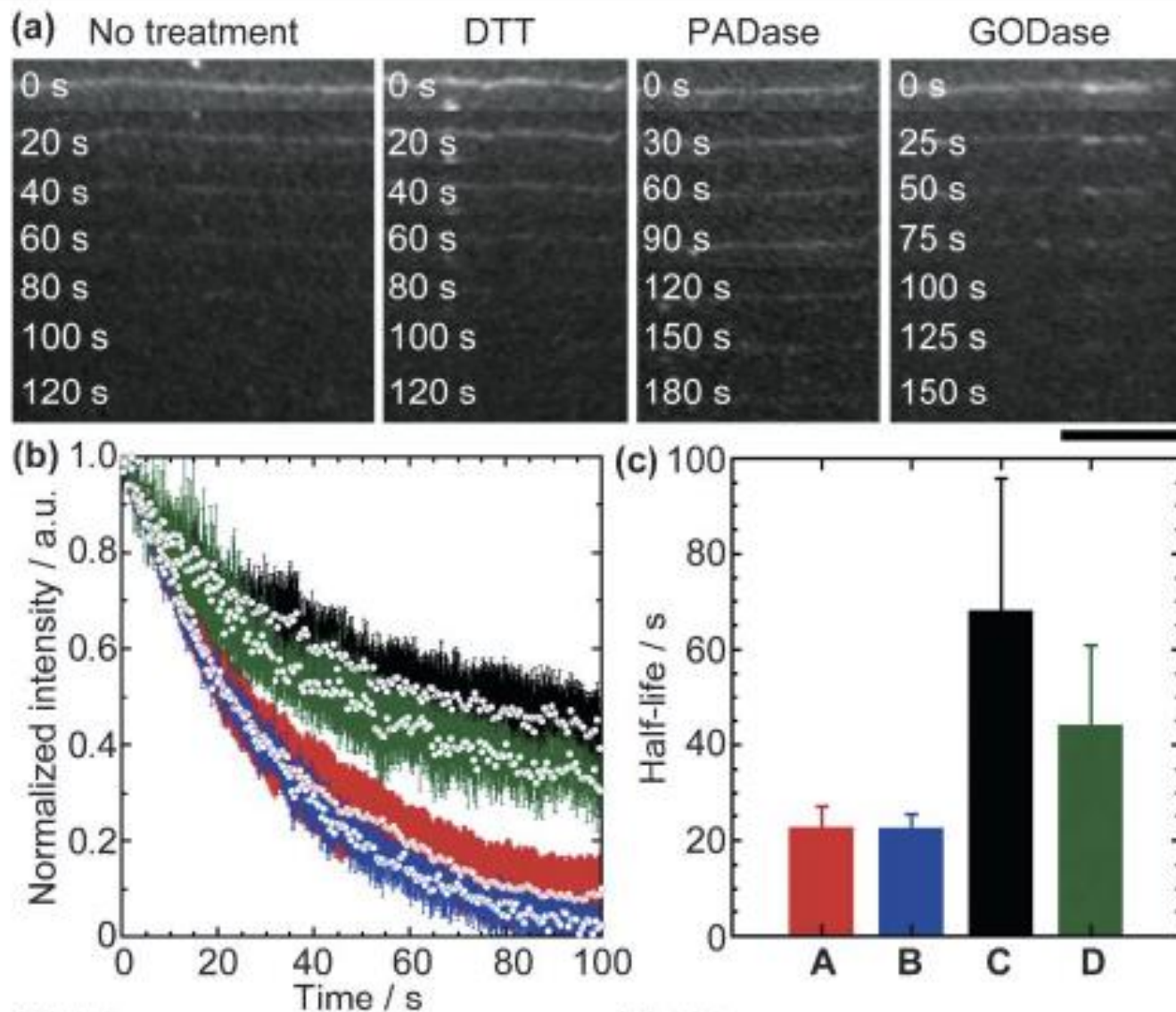
まばたきの速さ      100～150ミリ秒



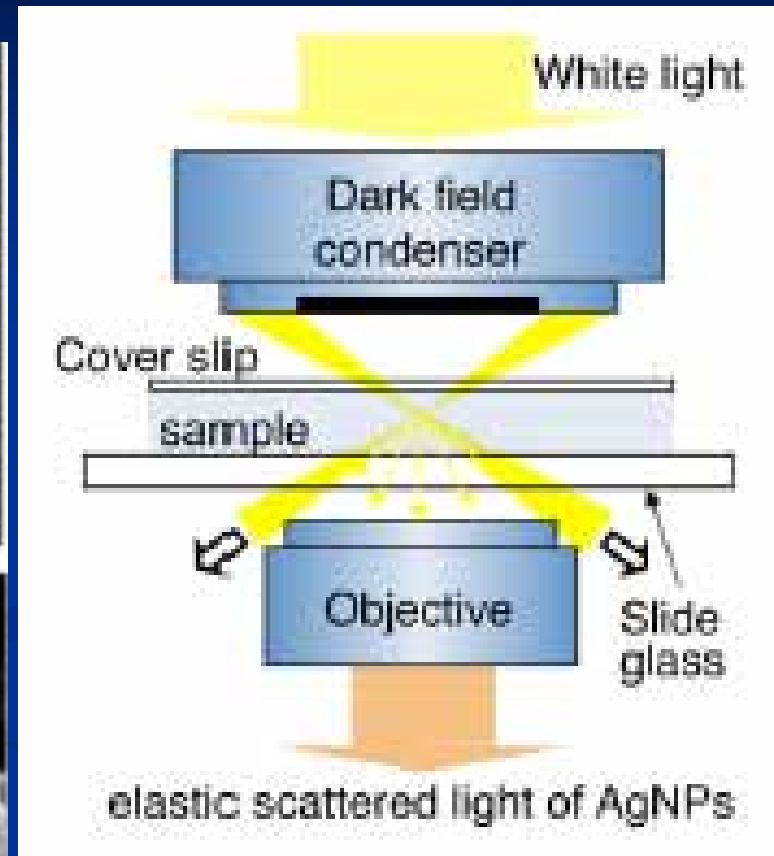
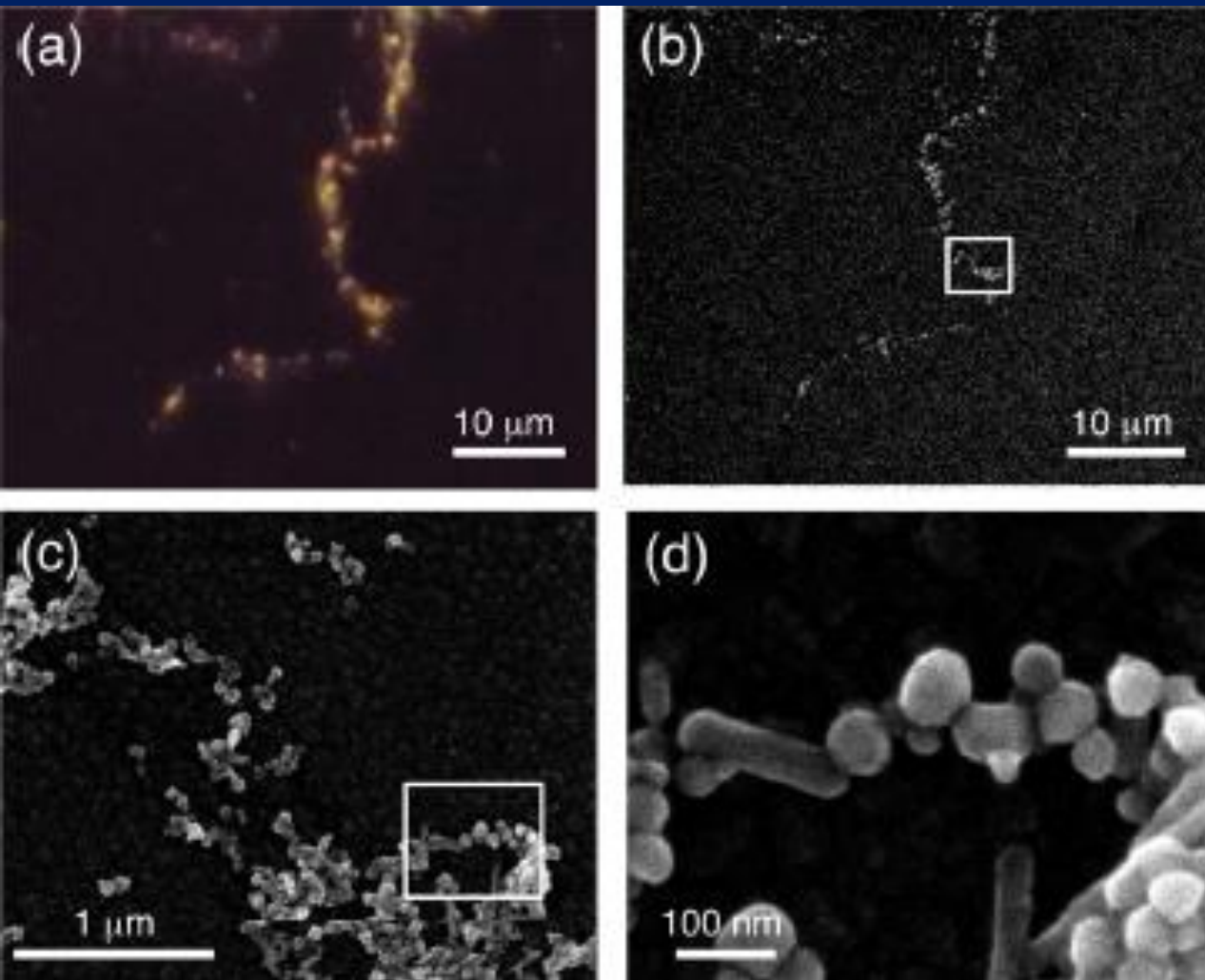
# Nanowire Array Device



# Single Molecule DNA Long-Term Fluorescent Observation

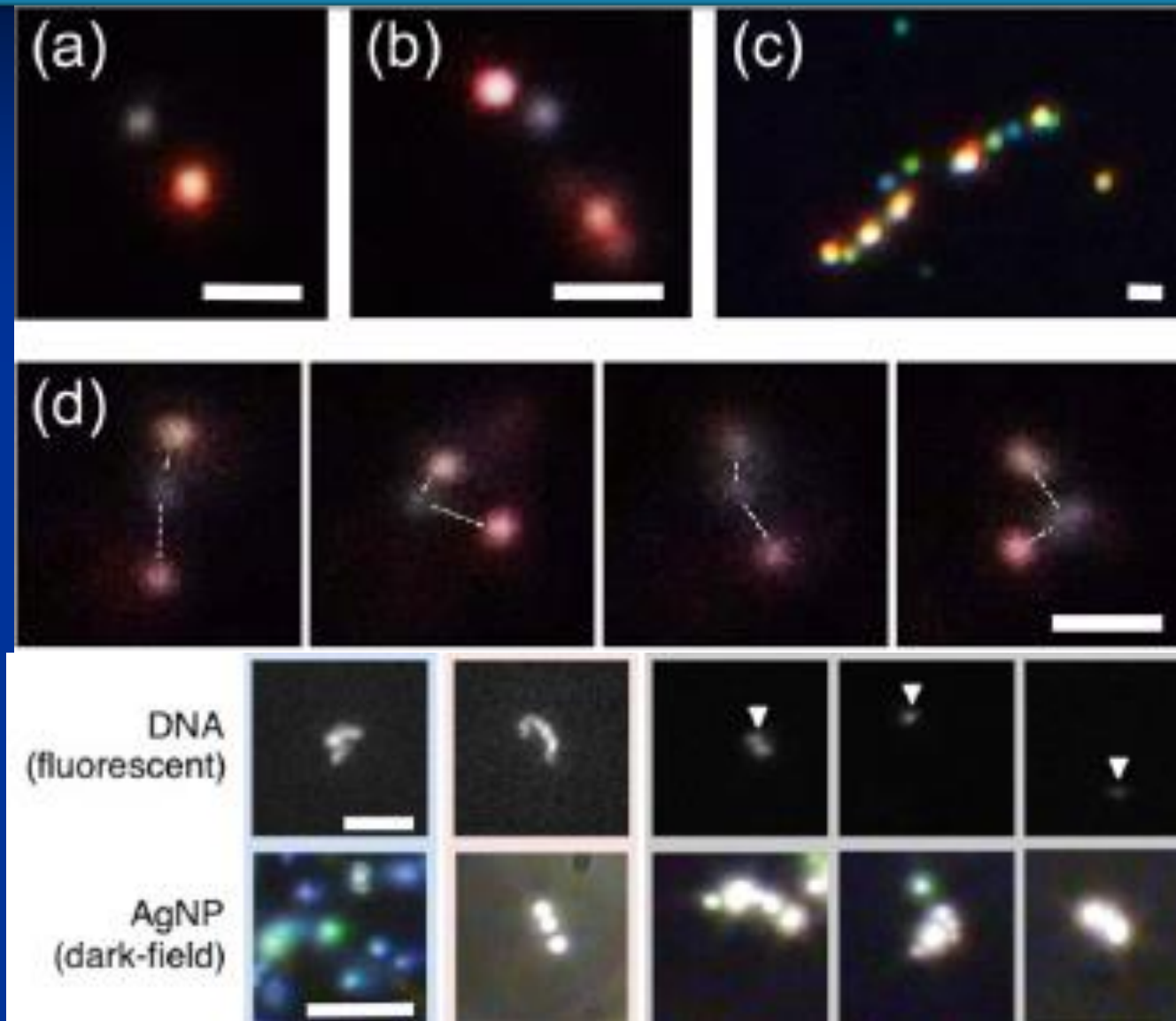


# Single Molecule Imaging of Ag Nanoparticle Binding DNA



**Over 7 min (420 s)**

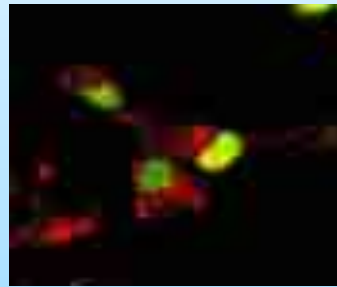
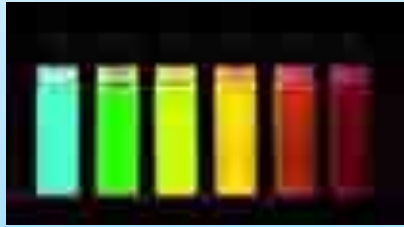
# Single Molecule Imaging of Ag Nanoparticle Binding DNA



*Nano Lett.*,  
2013.

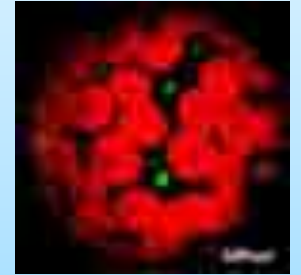
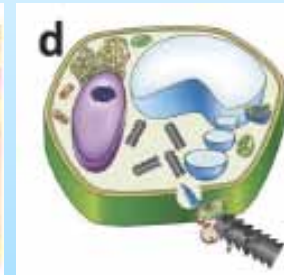
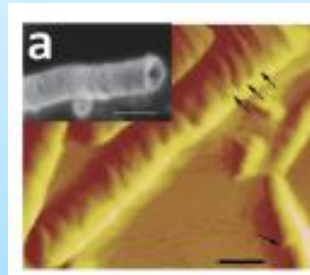
# Single Cell Nanoimaging and *in vivo* Imaging

## Quantum Dots



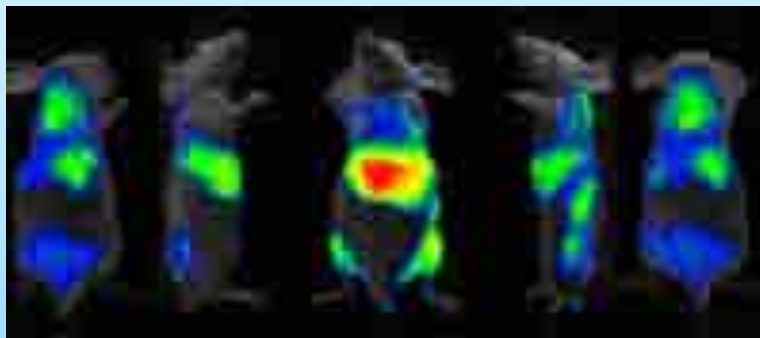
*Nature Biotech.*, 2004; *Nano Lett.*, 2004; *JACS*, 2006; *ACS Nano*, 2010.

## Carbon Nanotubes



*Nano Lett.*, 2012; *ACS Nano*, 2011; .  
*ACS Nano*, 2011.

## *In vivo* Imaging



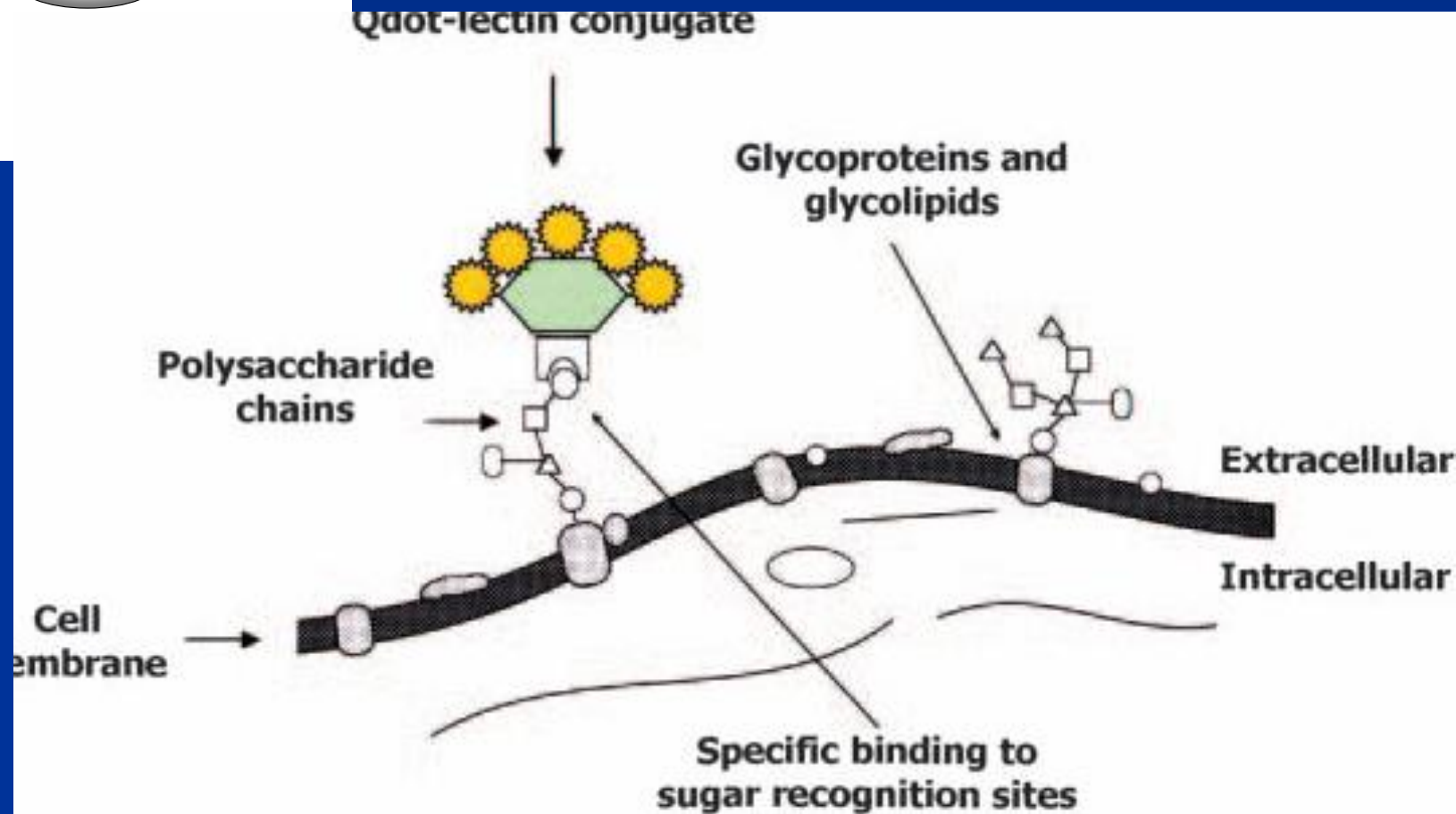
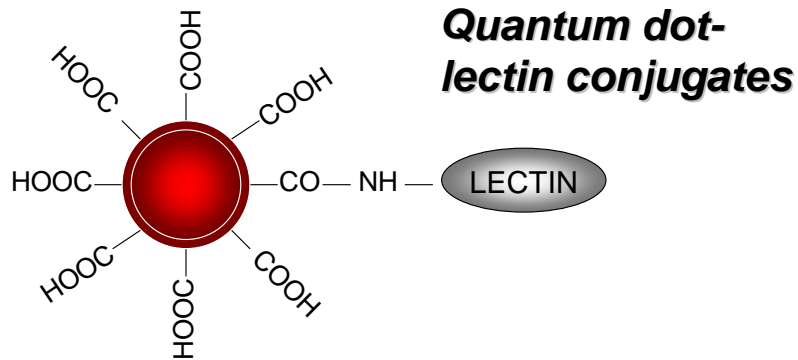
*Biomaterial*, 2010; *Biomaterial*, 2012.

## MEND



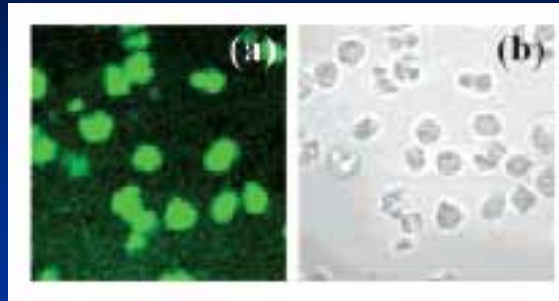
*Biomaterial*, 2011; *Mol. Ther.*, 2011.

# Selective Detection of Cancer Cell by QD conjugated with Lectin

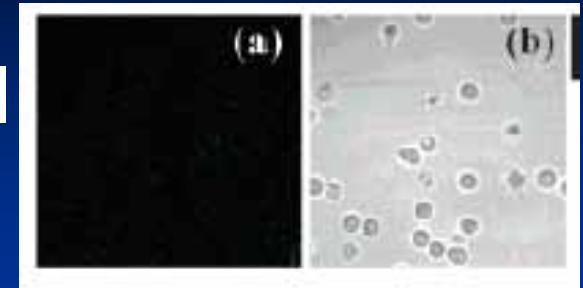


# Selective Detection of Cancer Cell by QD conjugated with Lectin

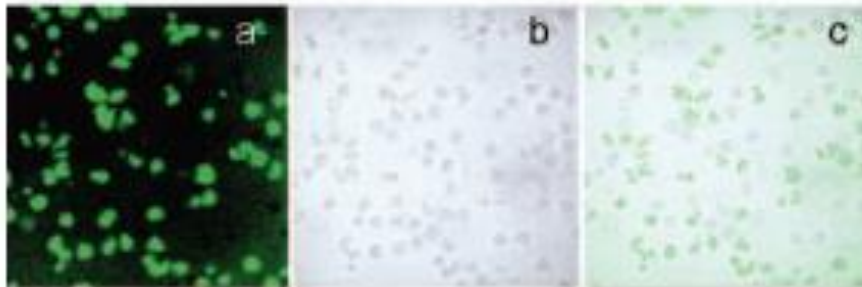
**Cancer Cell**



**Normal Cell**



A. Leukemia cells (Jurkat) + QD-SBA



B. Normal lymphocytes + QD-SBA



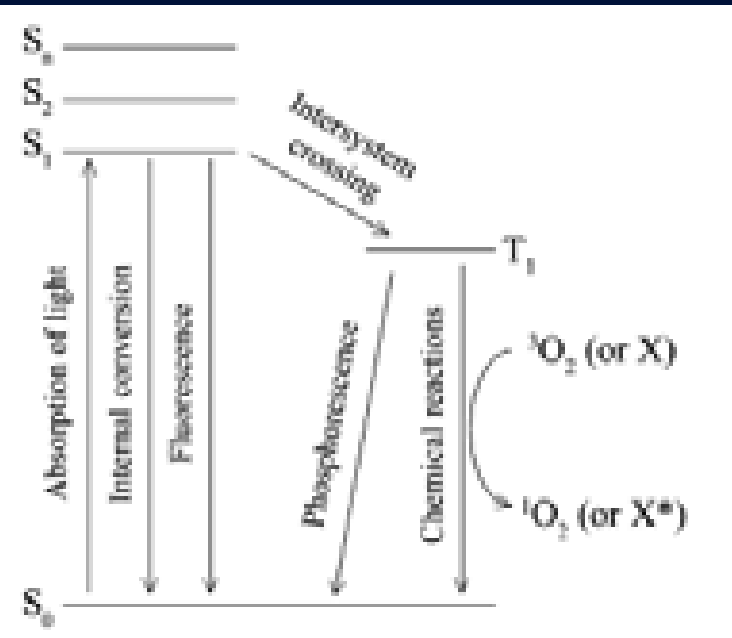
C. Leukemia cells (Jurkat) + FITC-SBA



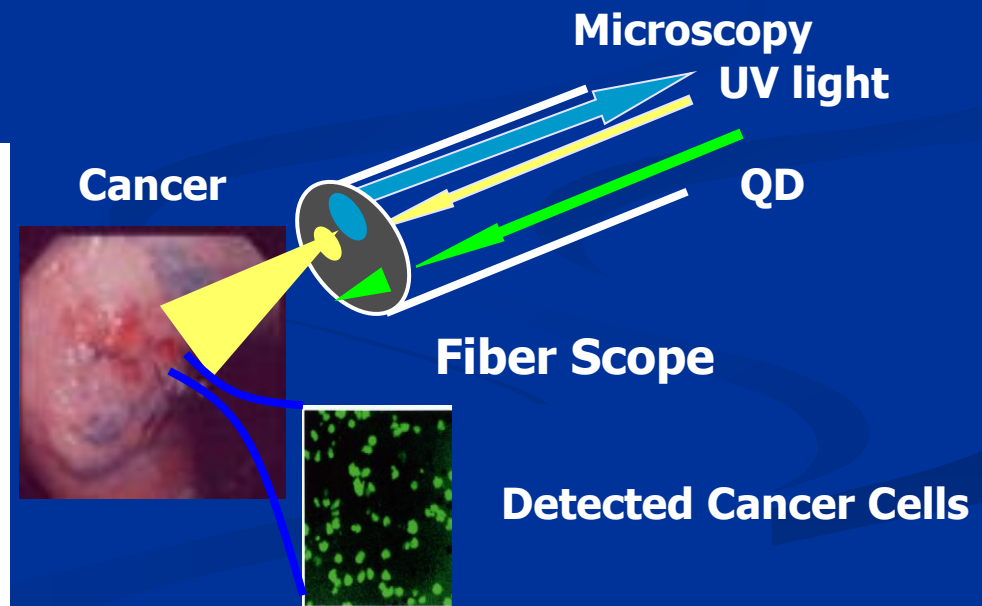
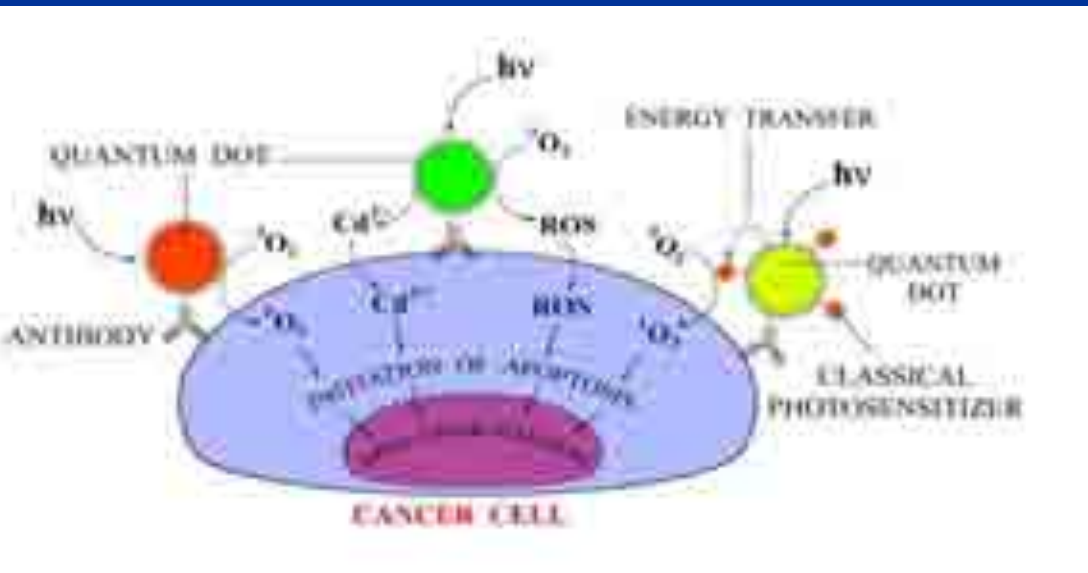
D. Normal lymphocytes + QD-WGA



# Integration of Diagnosis and Therapy by QD

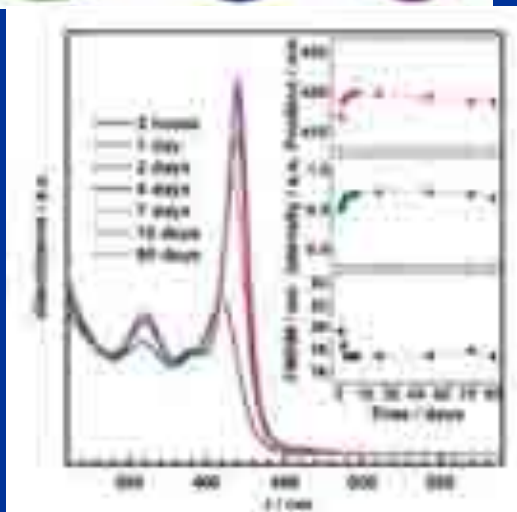


Cell \	Non-treated	+UV	+QD +UV	+QD+TF PZ+UV
normal	$92 \pm 4$	$86 \pm 7$	$88 \pm 6$	$89 \pm 4$
leukemia	$84 \pm 11$	$72 \pm 12$	$64 \pm 9$	$52 \pm 10$



*Nature Biotech.*, 2004, 22, 1360-1361

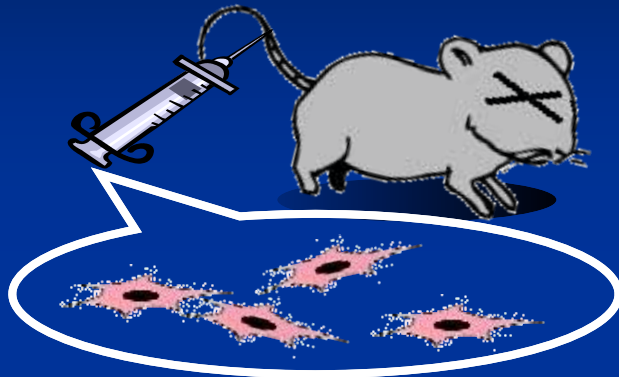
# Capping Molecule-Based Control for Size and Stabilization of CdSe Qdot preparing in Aqueous Solution at Room Temperature



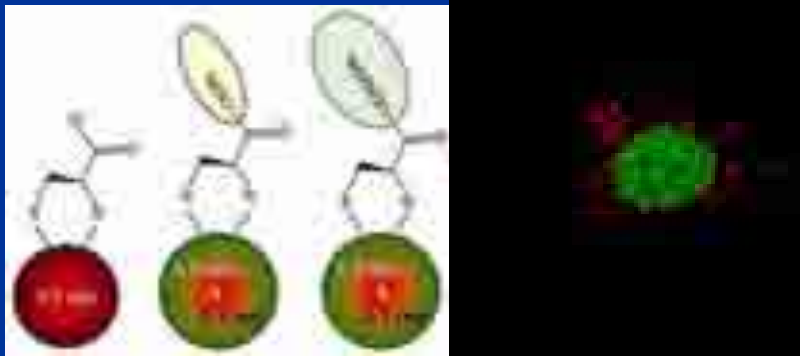
- The capping molecules should have at least one functional group with strong nucleophilicity as well as another free, charged group.
- Monodentate ligands were more effective than bidentate ligands for restricting size of the Qdots smaller, whereas less effective for getting a narrow size distribution
- The capping molecules having a relatively compact outermost spatial geometry led to Qdots with excellent long-term stability.

# Optical/MR Imaging for Stem Cell Therapy

Acute Liver Failure  
Mouse



Stem cells with  
some materials

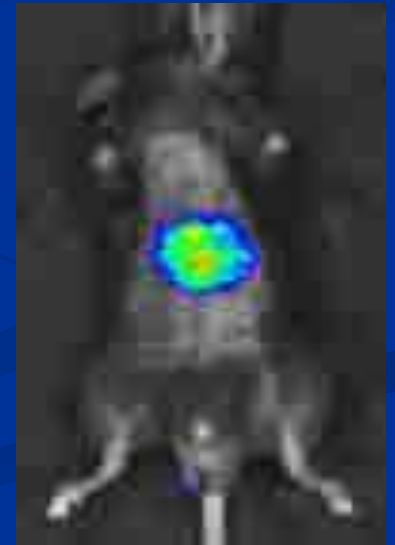
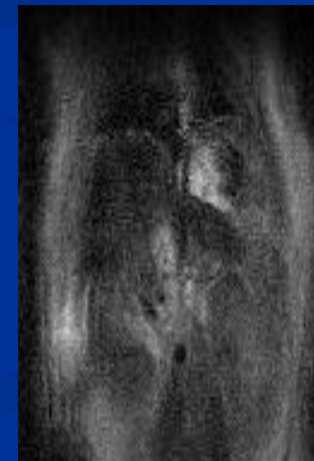


*ACS Nano*, 2010, *Biomaterials*, 2010, *Biomaterials* 2012.

Therapy of  
Acute Liver Failure

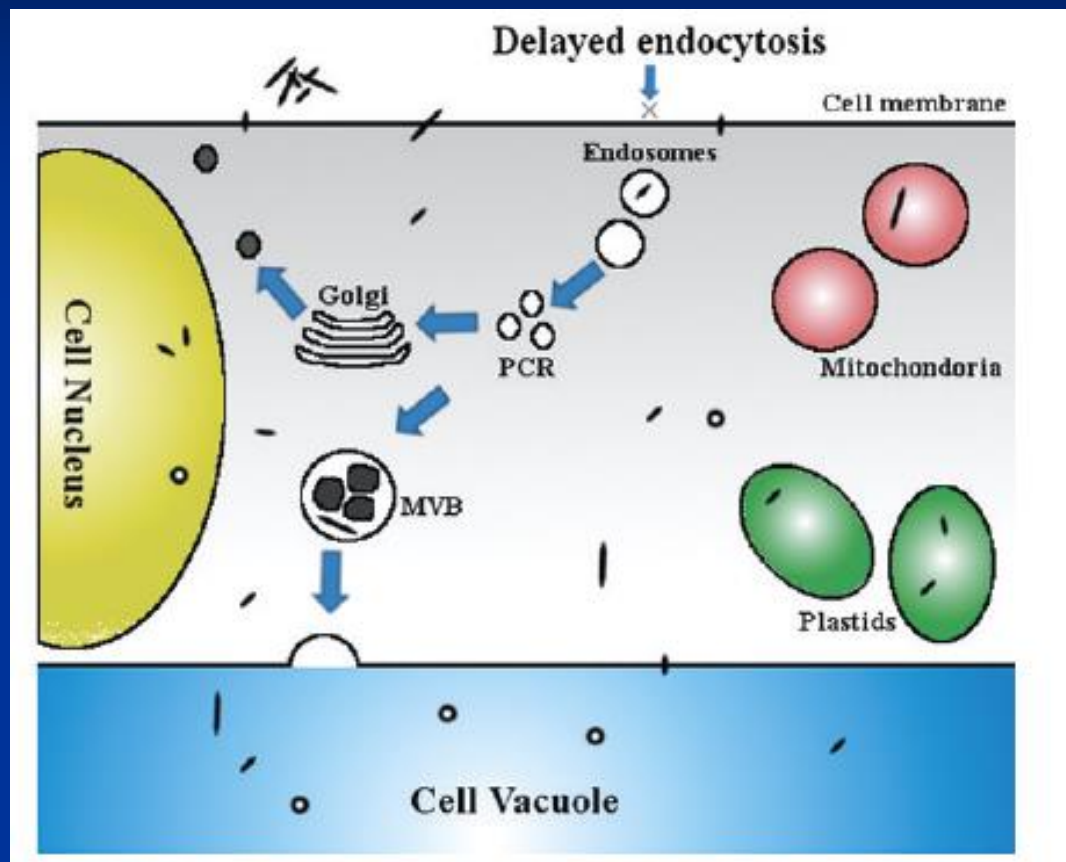
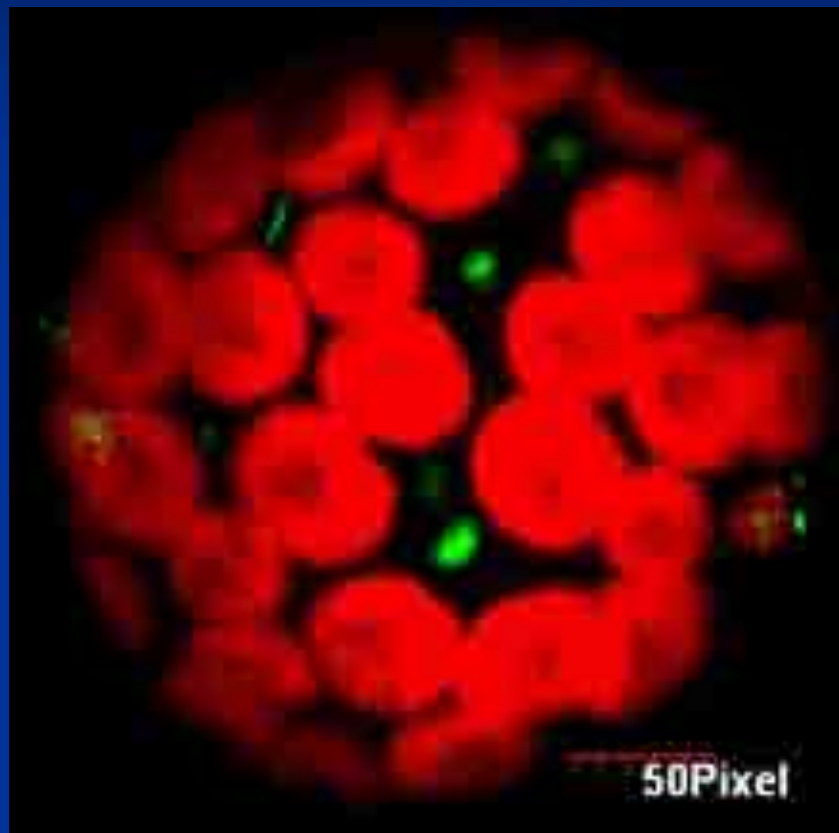


Survival rate: 100%





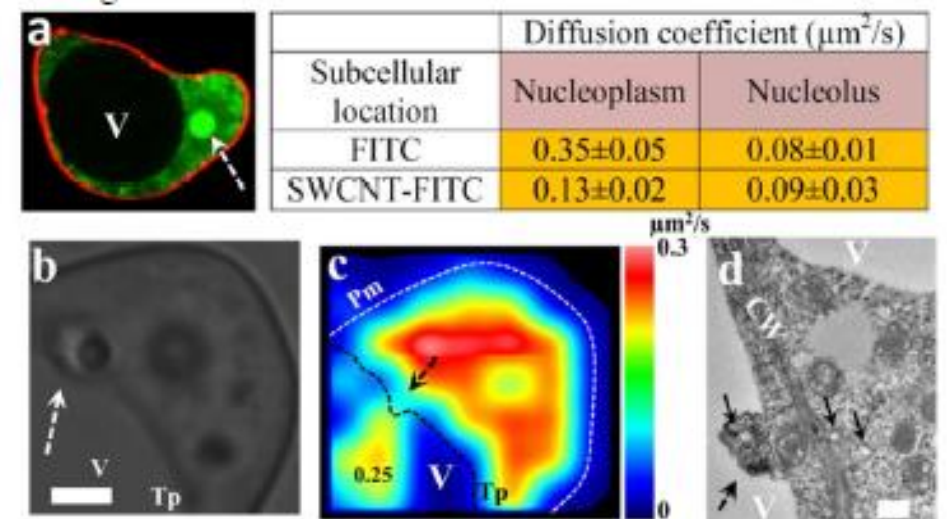
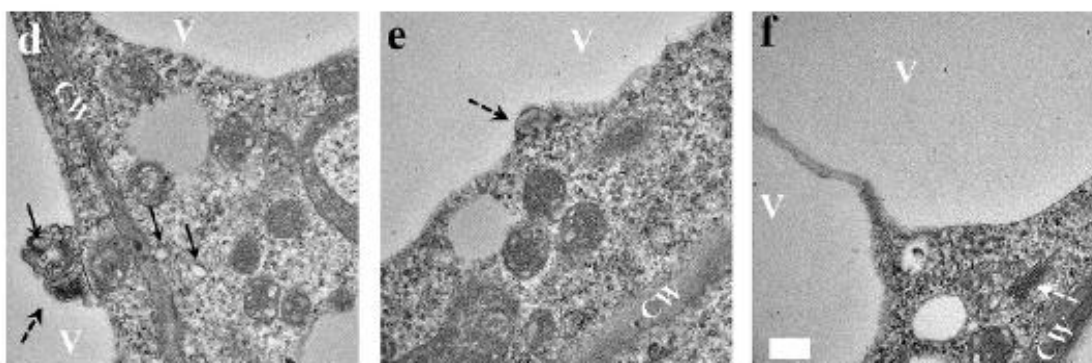
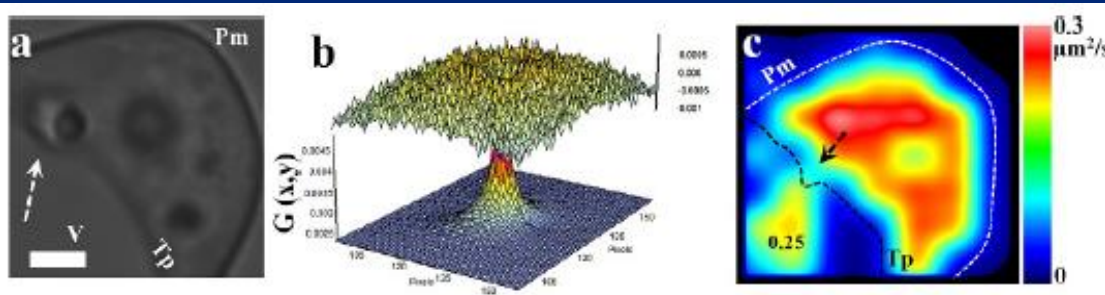
# Trafficking and Subcellular Localization of CNT in Cells



US 61/470,173

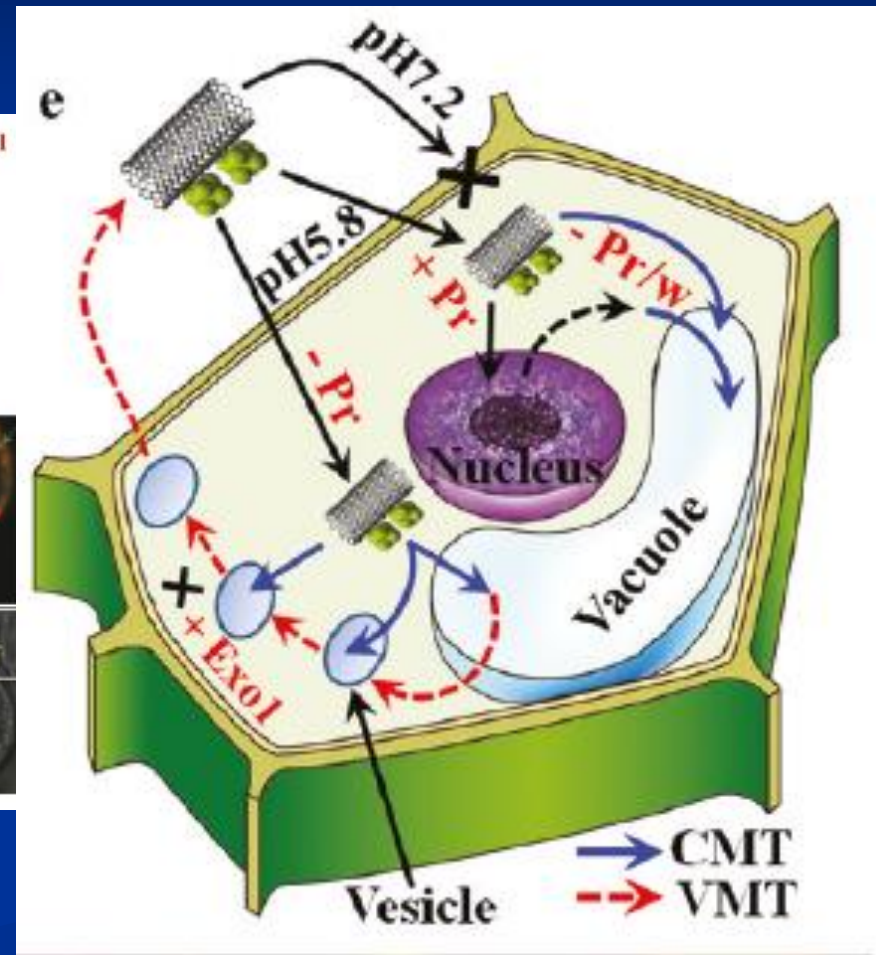
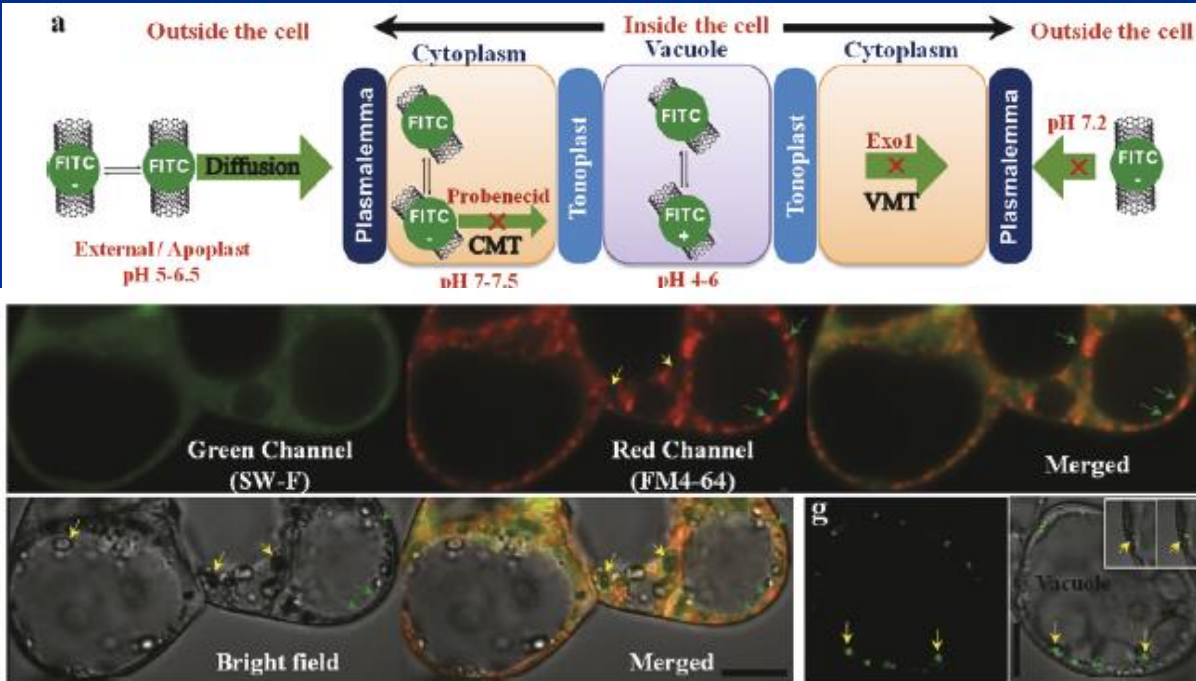
*ACS Nano*, 2011, 5, 493-499.

# Spatiotemporal Visualization of Subcellular Dynamics of Carbon Nanotubes



*Nano Lett.*, 2012, 12, 6145-6151.

# Functional Platform Controlled Subcellular Distribution of CNT



# 名古屋大学革新ナノバイオデバイス研究センター

名古屋大学総長

大阪大学

共同研究  
連携・協力

本部事務・研究支援機構

研究協力部

産学官連携推進本部  
知財本部

研究推進室

工学研究科

医学系研究科

大学病院

研究支援  
産学連携・  
知財支援

連携・装置  
共同利用

共同  
研究

国内研究所等

産業技術総合研究所・  
健康工学研究部門

北海道大学, 東北大学,  
東京工業大学, 九州大学

名古屋大学  
革新ナノバイオデバイス研究センター

研究  
支援室

センター長

研究運営委員会

(副総長・病院長・総長補佐・先端医療・  
臨床研究支援センター副センター長)

デバイス開発部門  
部門長 産総研

医療デバイス研究部門  
部門長 医学系研究科・附属病院

1分子ナノデバイス研究部門  
部門長 工学研究科

共同研究部門

臨床研究

臨床研究  
コーディネーター

先端医療・臨床研究支援  
センター

先端医療支援部門

臨床研究支援部門

開発技術の国際  
標準化

医療機器承認ガイ  
ドライン策定

名古屋大学医学部  
生命倫理委員会

共同企業等

Panasonic

東レ

東芝

バイオチップコンソーシアム(JMAC)

- 文科省「橋渡し研究加速ネットワークプログラム」
- 厚労省「臨床研究中核病院」
- 名大関連病院ネットワーク(500床以上の34病院、計20,000床以上)
- 中部先端医療開発円環コンソーシアム

**Nagoya University**

# ACKNOWLEDGEMENT

**HRI, AIST**

## FIRST PROJECT



Team Leader Mitsuru Isnikawa  
Team Leader Takahiro Hirotsu  
Team Leader Toshihiko Ooie  
Team Leader Shinichi Wakida  
Team Leader Masatoshi Kataoka  
Team Leader Kenichi Nakayama  
**Funding**  
JSPS FIRST Program  
MEXT, JST, METI, NEDO  
Aichi Pref.

6 Research Assistants  
**Collaboration**  
U. Tokyo, NIMS  
Kyoto U., Hokkaido U.  
Uppsala U., Kalorinska I.  
TORAY, Panasonic,  
Toshiba, Tokai Rubber,  
Takasago Elec., Cluster

**Aichi Pref. Funding  
Program for  
Priority Res. Area**

**Plasma Nano  
Res. Center**

**Preventive  
Med. Eng. Center**