総合論文

局所レドックスサイクルを用いた 電気化学バイオイメージングシステムの開発

伊野 浩介^{*1}, 珠 玖 仁¹, 末永 智一^{**1,2}

近年、電気化学イメージング技術が急速に発展している。電気化学イメージングは、化学反応を電気化学シグナルに置き換えて可視化できる手法であり、バイオ分析など多岐に渡り用いられている。電気化学イメージングのために、電極センサーをアレイ状に配置した電極デバイスが提案されているが、単純に電極を配置した場合では、電極面積が膨大になってしまうため、デバイス内に組み込める電極センサーの数が限られてしまう。そこで著者らは、新規原理に基づく電気化学イメージングシステムを提案した。この計測システムでは、レドックスサイクルと呼ばれる現象を局所的に誘導することで多数の電気化学センサーを組み込むことが可能である。本総合論文では、著者らが開発した電気化学イメージングシステムの概要と、それを実現するためのデバイス構造について詳述する。また、このシステムを用いた電気化学バイオイメージングへの応用を紹介する。

1 はじめに

現在、様々なイメージング技術が開発されている。その中でも、化学反応を電気化学シグナルに置き換えて可視化できる電気化学イメージングは、電池などの材料評価だけでなく、バイオ分析など多岐に渡り用いられている¹⁾。例えば、細胞活性を電気化学的に評価する手法が提案されており²⁾、有用細胞のスクリーニングや、効率的な移植医療、培養細胞の品質管理への応用が検討されている。また、患者から採取した細胞を検査することで、緻密な健康診断も可能である。このほかに、細胞をセンサー素子としたバイオセンサーが開発されており、新しい環境モニタリング法が提案されている³⁾。

このような応用のためには、1細胞レベル、1スフェロイド（細胞塊）レベルで検出できる高感度な測定法が求められる。また、生きたままリアルタイムに測定できる簡便なシステムや装置が求められている。一般的な細胞活性評価法として、蛍光や吸光分析のような光学的な検出法が広く用いられているが、周辺装置を含めた小型化が困難、光を吸収、遮光、放出する物質や材料を使えないと言った問題がある。そこで、前述したように電気化学的手法による細胞活性評価法が検討されている。電流計測による電気化学

的手法では、適切な電圧を印加した電極上で目的物質を反応させ、得られた電流値から目的物質の濃度を見積もられる。この手法により、細胞が持つ酵素活性や分泌物質の評価⁴⁾、細胞呼吸活性評価が可能であり⁵⁾、光学的手法と同様に多くの研究が行われている。

一般的な電気化学イメージングとして、走査型電気化学顕微鏡（scanning electrochemical microscopy: SECM）が挙げられる¹⁾。SECMでは、サンプル近傍で微小なプローブ電極を走査し、そのプローブの位置情報とその際に得られた電流値から、サンプル近傍の化学反応を可視化できる。空間分解能は電極のサイズに依存し、高分解能の電気化学イメージングを目指して直径がナノメートルサイズの電極プローブが開発されている⁶⁾⁷⁾。この手法は非常に高解像度の電気化学イメージングが可能であるが、プローブ走査に時間が掛かってしまうため、広範囲のリアルタイム計測やハイスループットな計測には不向きである。また、操作が煩雑という問題を抱えている。そこで、あらかじめ多数の電極をガラスなどの基板に配置したチップ型の電極デバイスが開発されている（Fig. 1A）。チップ型の電極デバイスは、先で挙げたSECMと違いプローブ電極を走査する必要がないため、簡単にリアルタイムな電気化学イメージングを行える。このようなデバイスを用いることで、酵素や化学物質の電気化学イメージングが可能になっている^{8)~11)}。また、各測定点に細胞捕捉用の微小ウェルを配置することで、ハイスループットな細胞解析が可能である¹¹⁾（Fig. 1B）。一方、単純に電極を配置した場合ではリード電極やコネクタ電極の面積が膨大になるため、組み込めるセ

* E-mail: ino.kosuke@bioinfo.che.tohoku.ac.jp

** E-mail: matsue@bioinfo.che.tohoku.ac.jp

¹ 東北大学大学院環境科学研究科先端環境創成学専攻: 980-8579
宮城県仙台市青葉区荒巻字青葉 6-6-11-604

² 東北大学原子分子材料科学高等研究機構（WPI-AIMR）: 980-8577
宮城県仙台市青葉区片平 2-1-1-509

Fig. 1 Electrode array device for cell analysis

(A) Simple electrode array device. (B) Microwells are incorporated into each sensor, and cells are trapped into the microwells so as to acquire electrochemical signals from the cells.

ンサー数が限られてしまう。したがって、さらなるハイスループットな計測や高解像度の電気化学イメージングに向けた電気化学システムやデバイスの開発が行われている。

そこで、集積化回路を組み込んだ電気化学デバイスが提案されている^{12)~17)}。このような集積化回路デバイスにはシグナル増幅器とスイッチング素子が組み込まれており、多くの電気化学センサーを搭載することが可能である。著者らは400個の電気化学センサーを搭載したバイオ計測用のlarge-scale integration (LSI) 型電気化学デバイスであるバイオLSIを開発しており^{14)~17)}、細胞活性の電気化学イメージングに成功している。一方で、LSI型デバイスの開発には費用が掛かる、構造が複雑といった問題がある。

そこで著者らは、新規原理に基づく電気化学イメージングシステム・デバイスを提案した。この計測システムでは、微小空間内の局所の電気化学反応と化学物質の溶液中の拡散を巧みに利用しており、少数の電極で多数の電気化学センサーを組み込むことができる。具体的には、レドックスサイクルと呼ばれる現象を局所的に誘導することで、多点電気化学計測を実現している。本総合論文では、本システムの基本原理である電極間レドックスサイクルによる電気化学分析法について述べ、その後、著者らが開発した電気化学イメージングシステムの詳細を述べる。最後に、開発したデバイスによる電気化学バイオイメージングの例を示す。

2 レドックスサイクルによる電気化学計測

バイオ分析において、電極サイズがマイクロ・ナノメートルの電極が用いられている。これは、微小電極が局所反応を計測できるという特徴以外にも、様々な優れた特徴を有しているからである。例えば、電極サイズを小さくする

Fig. 2 Scheme of redox cycling

と得られる電流が小さくなるが、電流密度が高くなり、測定感度が良くなる¹⁸⁾。このほかに、微小電極を組み合わせることにより、シグナル増幅が誘導できる。この1例として、電極間でのレドックスサイクルが挙げられる。このレドックスサイクルでは、近接させた2組の電極に適切な電圧を印加する (Fig. 2)。片方の電極上で反応した測定物質は液中を拡散して、もう片方の電極に到達する。そこで、再び電極反応が起こり、もとの状態に戻る。この再生された測定物質は拡散して元の電極に戻り、再び電極反応する。このように何度も電極反応がおこるため、得られる電流値を増大させて高感度な測定を実現できる。

レドックスサイクルを誘導するために、Fig. 3Aで示したような交互くし型電極が開発されている^{19)~22)}。くし型電極はバンド電極の集合体であり、2組の電極にそれぞれの電位を印加することでレドックスサイクルを誘導できる。それぞれの電極に適切な電位を印加すると、アノードとカソードの間で線形な濃度勾配が直ちに形成されるため、定常電流が流れるまでの時間が短くなる¹⁸⁾。レドックスサイクルの効率は電極の構造の依存しており、電極間の距離を数 μm まで縮めることで、飛躍的なシグナル増幅が望める。また、片側の電極の電位は一定であるから、測定時に充電電流が流れず、感度が向上する。また、アスコルビン酸のような非可逆的な妨害物質がある場合も片側の電極で酸化してしまえば、もう片方の電極で検出されなくなるため目的物質のみが検出できる¹⁸⁾。2次元的な配置ではなく、絶縁層を介して3次元配置をしたくし型電極が報告されており、高密度にバンド電極を配置することが可能になっている²¹⁾ (Fig. 3B)。その際、絶縁層を薄くすることで高効率なレドックスサイクルを実現できる²¹⁾。レドックスサイクルで標識酵素の酵素生成物を検出することが可能であり、くし型電極を用いた電気化学イムノアッセイが行われている²²⁾。くし型電極以外にも電極間の距離をナノメートルオーダーまで近接させたナノ流路電極デバイスによるレドックスサイクルが報告されており²³⁾²⁴⁾、1分子検出が可能になっている²⁴⁾。

著者らは柔軟なデバイスにくし型電極を配置したデバイスを開発しており (Fig. 4)、曲面に張り付けて計測することや微小な隙間に挿入してレドックスサイクルによる電気

Fig. 3 Interdigitated array (IDA) electrode
(A) Planar type. (B) Vertically separated type.

Fig. 4 Flexible device with IDA electrodes²⁵⁾

化学計測を実現している²⁵⁾。

さらに著者らは、レドックスサイクルを局所的に誘導することで電気化学イメージングを達成した新規計測システム・デバイスを開発している^{26)~39)}。次項から、まず始めに開発したシステムの概要について述べ、次にこのシステムを実現するためのデバイス構造や作製法について述べる。最後に、開発したデバイスを用いた電気化学バイオイメージングの例を示す。

3 局所レドックスサイクルを用いた電気化学イメージングシステム

3・1 システムの概要

著者らは、レドックスサイクルを局所的に誘導することで、少ない電極で多くの電気化学測定点を1枚のチップ内に組み込む新しい電気化学測定システムを開発した^{26)~39)} (Fig. 5)。このシステムでは、縦電極と横電極が立体的に交差している。それぞれの電極に適切な電位を印加することで、目的の格子点のみに局所的にレドックスサイクルを誘導できる。そのシグナルを読み取ることで、各格子点を独立した電気化学センサーとして使用できる。この

原理により, $2n$ 本のコネクタパッドで, n^2 個の電気化学センサーを搭載することが可能である. 前述したように, 単純に配置した場合には 1 枚のチップ内に多数の電気化学センサーを組み込むことは難しかったが, 著者らが開発したシステムでは少ない電極で比較的簡単に多くの電気化学測定点を組み込むことが可能であり, 前述した問題点を見

事に解決している. この電気化学計測システムは, 分子の拡散と電気化学反応を巧みに利用しており, 新しい電気化学計測システムである. 著者らはこの計測システムを local redox-cycling based electrochemical system (LRC-EC システム) と名付け, 様々な電気化学バイオイメージングを行っている.

このシステムを用いた計測スキームの概要を Fig. 6 に示す. まず始めに, 縦電極と横電極にレドックスサイクルが誘導されない電位に設定する. 続いて, 一つの縦電極のみの電位を変化させる. 縦電極上にレドックスサイクルを誘導できる測定物質がある場合, 局所的にレドックスサイクルを誘導され, このレドックスサイクルに由来する電気化学シグナルを横電極で取得する. 次に, 縦電極の電位を変化させて, レドックスサイクルを誘導する場所を変化させる. これを繰り返すことですべての測定点からの電気化学シグナルを取得する. このような測定法により, 各格子点を独立した電気化学センサーとして使用できる. このシステムでは各センサー上の酸化還元種の濃度を見積もることができたため, バイオサンプルをセンサー上に配置することで電気化学バイオイメージングを行える. 実際の計測装置では, 横電極だけでなく縦電極のデータ読み取りもスイッチングしているため, 3 チャンネルのポテンシostatで

Fig. 5 Schematic illustration of the LRC-EC system

An LRC-EC device consists of n column and n row electrodes. The column electrodes are perpendicular to the row electrodes so as to prepare n^2 sensors at the individual crossing points. A multichannel potentiostat is connected to these electrodes through a matrix system. By inducing locally redox cycling at designated crossing points, each crossing point can function as an independent electrochemical sensor.

Fig. 6 Detection scheme using an LRC-EC system consisting of 8×8 crossing points

Row electrodes are used for potential control and data acquisition, and column electrodes are used only for potential control. All electrodes are held at the reduction potential (V_R). The first column electrode is then stepped from V_R to the oxidation potential (V_O). Dotted circles indicate the measuring points. In this case, no signal is acquired from the row electrodes, because no redox cycling is induced. After measuring the responses at the first column electrode, the potential for the first column electrode is then stepped back from V_O to V_R , and the electrode for the second column electrode is stepped from V_R to V_O . In this case, reductant of the target molecules is oxidized at the second column electrode, and the oxidant is reduced back to the original form at the row electrodes, and a high signal is acquired from the row electrodes. Arrows indicate the areas where redox cycling is induced. The electrochemical signals at other sensor points are sequentially acquired in a similar way to complete electrochemical imaging.

Fig. 7 LRC-EC device with simple band electrodes²⁶⁾

A microelectrode array is attached orthogonally onto another microelectrode array with double-sided adhesive papers.

Fig. 8 LRC-EC device with IDA electrodes³⁴⁾

(A) Schematic illustration of the device fabrication process. Row and column electrodes are separated with SU-8 insulation layers. (B) Photographic images of the device consisting of 256 sensor points and 32 connector pads.

電気化学イメージングを達成している³⁴⁾³⁵⁾。

3・2 デバイス構造と作製法の概要

この計測システムを実現させるために、著者らは様々なデバイスを報告している。最も簡単なLRC-ECデバイスであるバンド型デバイスの概要をFig. 7に示す^{26)28)~31)}。バンド電極を配置した2組のガラス基板を重ね合わせて、このデバイスは作製されている。これまでに電極幅が50 μm、センサー間隔が250 μmのバンド型LRC-ECデバイスを報告している²⁸⁾。このデバイスでは、20個のコネクタパッドで100個の電気化学センサーを搭載することに成功しており、多点電気化学計測が実現されている²⁸⁾。このデバイスは非常にシンプルな構造であり、作製が容易である。一方で、測定のためにデバイスを組み立てる必要があり、計測精度に悪影響を与える。また、2組の基板で構成したデバイス内にサンプルを導入する必要があるため、細胞や細胞塊のように比較的大きなサンプルの導入が困難である。

この問題点を解決するために、著者らはくし型電極を組

み込んだLRC-ECデバイスを開発した³²⁾³⁴⁾³⁵⁾³⁷⁾³⁸⁾。このデバイスでは、縦電極と横電極の各格子点にくし型電極が配置されており、1枚のガラス基板上にすべての電極が配置されている(Fig. 8)。ネガティブフォトリソグレイブであるSU-8で作製された絶縁層を介して縦電極と横電極が配置されており、それぞれの電極に別々の電位を印加できる。これまでにセンサー数が1024個、センサー間隔が200 μmのデバイスを報告しており³²⁾、ハイスループットな電気化学計測を実現している。また、1枚のチップデバイス上に電極をすべて配置しているため、細胞などのバイオサンプルの導入が行いやすい構造である。

このほかに、Fig. 3で述べたような3次元的にセンサー電極を配置したLRC-ECデバイスも報告している³⁹⁾(Fig. 9)。このデバイスでは、絶縁層を介して上下にセンサー電極が配置されており、くし型電極を用いるよりも電極を高密度に配置できるデザインである。現在、30 μm間隔で電気化学センサーを配置したデバイスを報告しており³⁹⁾、高解像度の電気化学イメージングを実現している。

Fig. 9 LRC-EC device with vertically separated electrodes

(A) Schematic diagram of the device fabrication process. Row and column electrodes were separated with polyimide layers. (B) Photographic image of the entire device consisting of 256 sensor points with only 32 connector pads, and three-dimensional image of the sensor point. [Reprinted with permission from ref. 39. Copyright (2014) American Chemical Society.]

3・3 LRC-EC システムを用いた電気化学バイオイメージング

このシステムでは、電極上でレドックスサイクルを誘導できる物質を電気化学的に検出できる。したがって、これらの物質を介したバイオアッセイが可能である。例えば、電極上に DNA がある場合、負電荷を有する電子メディエーターからの酸化還元電流が大きく減少することが知られており⁴⁰⁾⁴¹⁾、この原理による LRC-EC デバイスの DNA 検出が可能である。具体的には、各センサーに捕捉用 DNA を修飾して、ターゲット DNA をハイブリダイゼーションさせた後、 $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ のレドックスサイクルのシグナルを取得する。その際の $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 由来の電流値の減少量から DNA 検出が可能である²⁶⁾ (Fig. 10)。

このほかに、酵素活性や細胞活性の電気化学イメージングを報告している。例えば、胚性幹細胞 (ES 細胞) の分化マーカーとして知られているアルカリホスファターゼ (ALP)⁴²⁾⁴³⁾ の活性を、LRC-EC デバイスを用いて電気化学イメージングに成功している (Fig. 11)。センサー間隔が 200 μm のデバイスを用いることで、細胞塊のスクリーニングへの応用が可能であり、センサー間隔が短いデバイス

を用いることで細胞のイメージングが期待できる。また、ALP 由来の電気化学シグナルと ES 細胞の遺伝子発現との関係を明らかにしており³⁷⁾、今後の細胞分化評価ツールとして期待できる。

このほかに 1 細胞解析の応用を行っており、1 細胞のレポータージーンアッセイに成功している³⁶⁾。この手法では、微小空間で細胞分泌物を蓄積させて分析する手法を採用しており⁴⁴⁾⁴⁵⁾、レポータータンパク質である分泌型 ALP (SEAP) を蓄積させて高感度な 1 細胞計測を実現している (Fig. 12)。Enzyme-linked immunosorbent assay (ELSA) を組み合わせることで様々な細胞分泌タンパク質の検出が可能であるため、LRC-EC システムは、1 細胞機能解析に向けた新たな電気化学分析システムになりえる。

また、液滴の蒸発といったこれまで電気化学イメージングではとらえることができなかった現象のイメージングに成功している³⁵⁾ (Fig. 13)。この結果を踏まえ、液滴をアレイ状に配置して電気化学計測が可能な参照極組込み型 LRC-EC デバイスを報告している³⁸⁾。これにより、一つの反応器である液滴内で細胞由来の生成物を蓄積して電気化学検出できるバイオアッセイ法を提案している (Fig. 14)。

Fig. 10 Detection of DNA hybridization using an LRC-EC device with simple band electrodes²⁶⁾

(A) Principle of the multipoint detection of DNA hybridization. (B) Schematic of the modification of DNA, and (C) electrochemical image. Capture probes were modified at all crossing points, and different concentrations (0.05, 0.1, 0.5, and 1 μM) of target DNA were modified at the four corners (A, B, C, and D, respectively). (D) Calibration curve of target DNA.

Fig. 11 Electrochemical imaging of embryoid bodies (EBs) from embryonic stem (ES) cells

Hanging droplets (20 μL) containing ES cells (150–200 cells) were incubated for 2–4 days to form EBs, and alkaline phosphatase (ALP) of the EBs were then electrochemically detected using normal LRC-EC device with IDA electrodes³⁴⁾ and LRC-EC device with densified sensors. [Reprinted with permission from ref. 39. Copyright (2014) American Chemical Society.]

このように本研究では、局所レドックスサイクルを用いた新しい電気化学計測システムである LRC-EC システムを提案した。開発したシステムは、細胞機能評価を含む様々なバイオアッセイへの応用が可能であり、網羅的電気化学計測における新しいツールになりえると考えられる。

4 ま と め

著者らは、新規原理に基づく集積化電気化学デバイスを開発した。このデバイスでは、局所的にレドックスサイクルを誘導することで、少ない電極で多数の電気化学セン

Fig. 12 Accumulation and detection of secreted proteins from single cells for reporter gene assays using an LRC-EC device

(A) Schematic illustration of the electrochemical reporter assay using the LRC-EC device with microwells. The transformed single HeLa cells were introduced into the microwells. The microwells were sealed with a glass slide to accumulate secreted ALP (SEAP) as reporter proteins from the cells onto the device surface modified with anti-SEAP antibodies. The cells were then removed and *p*-aminophenyl phosphate (PAPP) was hydrolyzed by ALP to produce *p*-aminophenol (PAP). The PAP was electrochemically detected to estimate SEAP activity. (B) Optical and electrochemical images of SEAP from the single cells. (C) Histogram of the current response from the cells. (Reproduced by permission of The Royal Society of Chemistry from ref. 36).

Fig. 13 Dynamic analyses of a redox component in droplets using an LRC-EC device

(A) Schematic illustration of electrochemical detection of droplets containing a redox component. An Ag/AgCl reference/counter electrode was inserted into the droplets. (B) Electrochemical imaging of droplets containing FcCH₂OH during evaporation. (Reproduced by permission of The Royal Society of Chemistry from ref. 35).

Fig. 14 LRC-EC device consists of row electrodes, column electrodes, and internal Pt pseudo-reference/counter electrodes for detection of droplets

(A) General configuration of the system. (B) Optical image of droplets including HeLa cells, HeLa cells and PAPP, or PAPP. (C) Electrochemical images obtained 10, 30, and 50 min. (Reproduced by permission of The Royal Society of Chemistry from ref. 38).

サーを搭載することが可能であり、網羅的な電気化学計測が期待できる。開発したデバイスは、移植医療に向けた有用細胞のスクリーニングや、細胞を用いた健康診断などへの応用が可能であり、医学分野だけでなく、工学、環境科学における革新的な分析ツールになり得る。これらの研究成果は、バイオ分析デバイスの分野に新たな手法を提供するものであり、今後の分析化学研究の発展の貢献が期待できる。

文 献

- 1) T. Matsue : *Anal. Sci.*, **29**, 171 (2013).
- 2) 伊野浩介, 珠玖 仁, 末永智一 : 生物工学会誌, **92**, 176 (2014).
- 3) S. F. D'Souza : *Biosens. Bioelectron.*, **16**, 337 (2001).
- 4) S. Amemiya, J. Guo, H. Xiong, D. A. Gross : *Anal. Bioanal. Chem.*, **386**, 458 (2006).
- 5) H. Shiku, T. Shiraishi, H. Ohya, T. Matsue, H. Abe, H. Hoshi, M. Kobayashi : *Anal. Chem.*, **73**, 3751 (2001).
- 6) Y. Takahashi, A. I. Shevchuk, P. Novak, B. Babakinejad, J. Macpherson, P. R. Unwin, H. Shiku, J. Gorelik, D. Klenerman, Y. E. Korchev, T. Matsue : *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **109**, 11540 (2012).
- 7) Y. Takahashi, A. Kumatani, H. Munakata, H. Inomata, K. Ito, K. Ino, H. Shiku, P. R. Unwin, Y. E. Korchev, K. Kanamura, T. Matsue : *Nat. Commun.*, **5**, 5450 (2014).
- 8) J. Yan, V. A. Pedrosa, A. L. Simonian, A. Revzin : *ACS Appl. Mater. Interfaces.*, **2**, 748 (2010).
- 9) K. Hayashi, T. Horiuchi, R. Kurita, K. Torimitsu, O. Niwa : *Biosens. Bioelectron.*, **15**, 523 (2000).
- 10) N. Kasai, C. X. Han, K. Torimitsu : *Sens. Actuators, B*, **108**, 746 (2005).
- 11) X. Liu, S. Barizuddin, W. Shin, C. J. Mathai, S. Gangopadhyay, K. D. Gillis : *Anal. Chem.*, **83**, 2445 (2011).
- 12) H. Meyer, H. Drewer, B. Gruendig, K. Cammann, R. Kakerow, Y. Manoli, W. Mokwa, M. Rospert : *Anal. Chem.*, **67**, 1164 (1995).
- 13) B. N. Kim, A. D. Herbst, S. J. Kim, B. A. Minch, M. Lindau : *Biosens. Bioelectron.*, **41**, 736 (2013).
- 14) K. Y. Inoue, M. Matsudaira, R. Kubo, M. Nakano, S. Yoshida, S. Matsuzaki, A. Suda, R. Kunikata, T. Kimura, R. Tsurumi, T. Shioya, K. Ino, H. Shiku, S. Satoh, M. Esashi, T. Matsue : *Lab Chip*, **12**, 3481 (2012).
- 15) M. Şen, K. Ino, K. Y. Inoue, T. Arai, T. Nishijo, A. Suda, R. Kunikata, H. Shiku, T. Matsue : *Biosens. Bioelectron.*, **48**, 12 (2013).
- 16) M. Şen, K. Ino, K. Y. Inoue, A. Suda, R. Kunikata, M. Matsudaira, H. Shiku, T. Matsue : *Anal. Methods*, **6**, 6337 (2014).
- 17) K. Y. Inoue, M. Matsudaira, M. Nakano, K. Ino, C. Sakamoto, Y. Kanno, R. Kubo, R. Kunikata, A. Kira, A. Suda, R. Tsurumi, T. Shioya, S. Yoshida, M. Muroyama, T. Ishikawa, H. Shiku, S. Satoh, M. Esashi, T. Matsue : *Lab Chip*, **15**, 848, (2015).
- 18) 青木幸一, 堀内 勉, 森田雅夫, 丹羽 修 : “微小電極を用いる電気化学測定法”, 第2版, (2006), (電子情報通信学会).
- 19) K. Aoki, M. Morita, O. Niwa, H. Tabei : *J. Electroanal. Chem.*, **256**, 269 (1988).
- 20) Y. Ueno, K. Furukawa, K. Hayashi, M. Takamura, H.

- Hibino, E. Tamechika : *Anal. Sci.*, **29**, 55 (2013).
- 21) O. Niwa, M. Morita, H. Tabei : *J. Electroanal. Chem.*, **267**, 291 (1989).
- 22) O. Niwa, Y. Xu, H. B. Halsall, W. R. Heineman : *Anal. Chem.*, **65**, 1559 (1993).
- 23) B. Wolfrum, M. Zevenbergen, S. Lemay : *Anal. Chem.*, **80**, 972 (2008).
- 24) M. A. Zevenbergen, P. S. Singh, E. D. Goluch, B. L. Wolfrum, S. G. Lemay : *Nano Lett.*, **11**, 2881 (2011).
- 25) Y. Kanno, T. Goto, K. Ino, K. Y. Inoue, Y. Takahashi, H. Shiku, T. Matsue : *Anal. Sci.*, **30**, 305 (2014).
- 26) X. Zhu, K. Ino, Z. Lin, H. Shiku, G. Chen, T. Matsue : *Sens. Actuator B-Chem.*, **160**, 923 (2011).
- 27) R. Kunikata, Y. Takahashi, M. Koide, T. Itayama, T. Yasukawa, H. Shiku, T. Matsue : *Sens. Actuator B-Chem.*, **141**, 256 (2009).
- 28) Z. Lin, Y. Takahashi, Y. Kitagawa, T. Umemura, H. Shiku, T. Matsue : *Anal. Chem.*, **80**, 6830 (2008).
- 29) Z. Lin, Y. Takahashi, T. Murata, M. Takeda, K. Ino, H. Shiku, T. Matsue : *Angew. Chem. Int. Ed.*, **48**, 2044 (2009).
- 30) Z. Lin, K. Ino, H. Shiku, T. Matsue : *Chem. Commun.*, **46**, 559 (2010).
- 31) Z. Lin, K. Ino, H. Shiku, T. Matsue, G. Chen : *Chem. Commun.*, **46**, 234 (2010).
- 32) K. Ino, W. Saito, M. Koide, T. Umemura, H. Shiku, T. Matsue : *Lab Chip*, **11**, 385 (2011).
- 33) M. Takeda, H. Shiku, K. Ino, T. Matsue : *Analyst*, **136**, 4991 (2011).
- 34) K. Ino, T. Nishijo, T. Arai, Y. Kanno, Y. Takahashi, H. Shiku, T. Matsue : *Angew. Chem. Int. Ed.*, **51**, 6648 (2012).
- 35) K. Ino, Y. Kanno, T. Nishijo, T. Goto, T. Arai, Y. Takahashi, H. Shiku, T. Matsue : *Chem. Comm.*, **48**, 8505 (2012).
- 36) M. Şen, K. Ino, H. Shiku, T. Matsue : *Lab Chip*, **12**, 4328 (2012).
- 37) K. Ino, T. Nishijo, Y. Kanno, F. Ozawa, T. Arai, Y. Takahashi, H. Shiku, T. Matsue : *Electrochemistry*, **81**, 682 (2013).
- 38) K. Ino, T. Goto, Y. Kanno, K. Y. Inoue, Y. Takahashi, H. Shiku, T. Matsue : *Lab Chip*, **14**, 787 (2014).
- 39) K. Ino, Y. Kanno, T. Nishijo, H. Komaki, Y. Yamada, S. Yoshida, Y. Takahashi, H. Shiku, T. Matsue : *Anal. Chem.*, **86**, 4016 (2014).
- 40) H. Aoki, P. Bühlmann, Y. Umezawa : *Electroanalysis*, **12**, 1272 (2000).
- 41) H. Aoki, A. Kitajima, H. Tao : *Anal. Sci.*, **26**, 367 (2010).
- 42) S. Pease, P. Braghetta, D. Gearing, D. Grail, R. L. Williams : *Dev. Biol.*, **141**, 344 (1990).
- 43) K. Guan, J. Rohwedel, A. M. Wobus : *Cytotechnology*, **30**, 211 (1999).
- 44) J. C. Love, J. L. Ronan, G. M. Grotenbreg, A. G. van der Veen, H. L. Ploegh : *Nat. Biotechnol.*, **24**, 703 (2006).
- 45) A. Jin, T. Ozawa, K. Tajiri, T. Obata, H. Kishi, A. Muraguchi : *Nat. Protoc.*, **6**, 668 (2011).

Local Redox-cycling-based Electrochemical System for Bioimaging

Kosuke INO^{*1}, Hitoshi SHIKU¹ and Tomokazu MATSUE^{**1,2}

* E-mail : ino.kosuke@bioinfo.che.tohoku.ac.jp

** E-mail : matsue@bioinfo.che.tohoku.ac.jp

¹ Graduate School of Environmental Studies, Tohoku University, 6-6-11-604, Aramaki-aza Aoba, Aoba-ku, Sendai-shi, Miyagi 980-8579

² WPI-Advanced Institute for Materials Research, Tohoku University, 2-1-1-509, Katahira, Aoba-ku, Sendai-shi, Miyagi, 980-8577

(Received December 12, 2014; Accepted January 29, 2015)

Electrochemical imaging has been dramatically developed. Electrochemical imaging can provide images of surface chemical kinetics, and its technique has been used for several applications, such as bioanalysis. Although several electrode array devices have been proposed for electrochemical imaging, it is difficult to incorporate many electrochemical sensors into a simple electrode array device due to the lack of spaces for electrodes. To solve this problem, we developed a novel electrochemical imaging system. In this system, redox cycling is based so as to incorporate many sensors in a chip device. In this review, our strategy of the detection system and device construction are described. Finally, electrochemical bioimaging using the device is described.

Keywords: electrochemical imaging; electrode array device; bioanalysis; redox cycling; bioMEMS.