

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2019-200087

(P2019-200087A)

(43) 公開日 令和1年11月21日(2019.11.21)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>GO 1 N 27/416 (2006.01)</b>	GO 1 N 27/416 3 3 8	2 G 0 5 9
<b>GO 1 N 27/414 (2006.01)</b>	GO 1 N 27/416 3 8 6 Z	
<b>GO 1 N 27/327 (2006.01)</b>	GO 1 N 27/414 3 0 1 K	
<b>GO 1 N 21/17 (2006.01)</b>	GO 1 N 27/327 3 5 3 P	
	GO 1 N 21/17 6 1 0	

審査請求 未請求 請求項の数 13 O L (全 13 頁)

(21) 出願番号 特願2018-93864 (P2018-93864)  
 (22) 出願日 平成30年5月15日 (2018.5.15)

(71) 出願人 899000068  
 学校法人早稲田大学  
 東京都新宿区戸塚町1丁目104番地  
 (71) 出願人 503359821  
 国立研究開発法人理化学研究所  
 埼玉県和光市広沢2番1号  
 (74) 代理人 110002675  
 特許業務法人ドライト国際特許事務所  
 (72) 発明者 大矢 貴史  
 東京都新宿区戸塚町1丁目104番地 学  
 校法人早稲田大学内  
 (72) 発明者 梅津 信二郎  
 東京都新宿区戸塚町1丁目104番地 学  
 校法人早稲田大学内

最終頁に続く

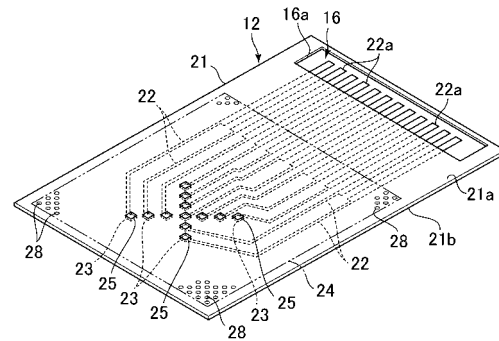
(54) 【発明の名称】 センサフィルム及び積層体

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】細胞組織の内部における情報を取得することができるセンサフィルム及び積層体を提供する。

【解決手段】第1細胞シートと第2細胞シートとの間にセンサフィルム12が配される。センサフィルム12は、フィルム状の基材21に複数の配線22及びセンサ部としての電極23を有している。配線22は、基材21内に埋設されており、電極23は、基材21の凹部25内に設けられ、面21a側に露出している。基材21の各面21a、21bに設けた配置領域24には、配線22と電極23を除く部分に複数の貫通孔28が形成されている。

【選択図】 図2



## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

一対の細胞集合体の間に配されるフィルム状の基材と、  
前記基材に設けられたセンサ部と、  
前記基材の前記センサ部の外側の領域に形成され、前記基材の厚み方向に貫通した複数の貫通孔と  
を備えることを特徴とするセンサフィルム。

## 【請求項 2】

前記基材は、柔軟性を有することを特徴とする請求項 1 に記載のセンサフィルム。

## 【請求項 3】

細胞接着性成分を含むコーティング層が表面に形成されていることを特徴とする請求項 1 または 2 に記載のセンサフィルム。

## 【請求項 4】

前記センサ部は、導電材料で形成され、前記基材の一方の面側に露出された第 1 の電極であることを特徴とする請求項 1 ないし 3 のいずれか 1 項に記載のセンサフィルム。

## 【請求項 5】

前記センサ部は、導電材料で形成され、前記基材の他方の面側に露出された第 2 の電極を有することを特徴とする請求項 4 に記載のセンサフィルム。

## 【請求項 6】

前記センサ部は、少なくとも細胞集合体からの光の受光機能を有する光学センサであることを特徴とする請求項 1 ないし 3 のいずれか 1 項に記載のセンサフィルム。

## 【請求項 7】

前記光学センサは、パルスオキシメータであることを特徴とする請求項 6 に記載のセンサフィルム。

## 【請求項 8】

前記センサ部は、特定の物質と反応して電流を流すまたは抵抗値が変化する電気化学センサであることを特徴とする請求項 1 ないし 3 のいずれか 1 項に記載のセンサフィルム。

## 【請求項 9】

前記センサ部は、酸素感応性蛍光材料で形成された蛍光層を有する酸素センサであることを特徴とする請求項 1 ないし 3 のいずれか 1 項に記載のセンサフィルム。

## 【請求項 10】

前記基材の厚みが  $0.1 \mu\text{m}$  以上  $1.0 \mu\text{m}$  以下の範囲内であることを特徴とする請求項 1 ないし 9 のいずれか 1 項に記載のセンサフィルム。

## 【請求項 11】

前記貫通孔の直径が  $10 \mu\text{m}$  以上  $1000 \mu\text{m}$  以下の範囲内であることを特徴とする請求項 1 ないし 10 のいずれか 1 項に記載のセンサフィルム。

## 【請求項 12】

前記基材と前記貫通孔だけからなる領域における開口率が  $10\%$  以上  $80\%$  以下の範囲内であることを特徴とする請求項 1 ないし 11 のいずれか 1 項に記載のセンサフィルム。

## 【請求項 13】

第 1 の細胞集合体と、  
第 2 の細胞集合体と、  
前記第 1 の細胞集合体と前記第 2 の細胞集合体との間に配された請求項 1 ないし 12 のいずれか 1 項に記載のセンサフィルムと  
を備えることを特徴とする積層体。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

10

20

30

40

50

本発明は、センサフィルム及び積層体に関するものである。

【背景技術】

【0002】

生体の表面や心臓、心筋の細胞シート等の表面に貼り付けて筋電位を測定するセンサフィルムが知られている（例えば非特許文献1～4を参照）。このようなセンサフィルムは、柔軟性（可撓性）を有する非常に薄いフィルム状の基材に電極等が印刷や蒸着等で形成されており、貼り付けられた部位の動き、形状変化等に追従して容易に変形するように構成されている。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0003】

【非特許文献1】Sekitani, T. et al. “Ultraflexible organic amplifier with biocompatible gel electrodes” Nature commun 7, 11425 (2016).

【非特許文献2】L. Xu et al. “Materials and Fractal Designs for 3D Multifunctional Integumentary Membranes with Capabilities in Cardiac Electrotherapy” Advanced materials 27,1731-1737 (2015).

【非特許文献3】G. Constantinescu et al, “Epidermal electronics for electromyography: An application to swallowing therapy”, Medical Engineering and Physics 38 807-812 (2016).

【非特許文献4】大矢貴史、菊地鉄太郎、佐々木大輔、清水達也、福田憲二郎、染谷隆夫、梅津信二郎、「エレクトロニクスシートを用いた心筋シート電位測定法の開発」、日本機械学会関東支部総会講演会講演論文集、23巻（2017）

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

ところで、創薬研究の目的等で細胞シートを積層した生体内を模擬した三次元の細胞組織を作製する場合があるが、上記のようなセンサフィルムでは、細胞組織の表面の電位等の情報しか得ることができない。より正確な薬効や毒性を評価するには細胞組織の内部における電位等の情報の取得が望まれている。

【0005】

本発明は、上記事情に鑑みてなされたものであり、細胞組織の内部における情報を取得することができるセンサフィルム及び積層体を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0006】

本発明のセンサフィルムは、一对の細胞集合体の間に配されるフィルム状の基材と、前記基材に設けられたセンサ部と、前記基材の前記センサ部の外側の領域に形成され、前記基材の厚み方向に貫通した複数の貫通孔とを備えるものである。

【0007】

本発明の積層体は、第1の細胞集合体と、第2の細胞集合体と、前記第1の細胞集合体と前記第2の細胞集合体との間に配された上記センサフィルムとを備えるものである。

【発明の効果】

【0008】

本発明によれば、センサフィルムの基材に貫通孔を設けたのでセンサフィルムを挟む細胞集合体が一体になった細胞組織の内部における情報を取得することができる。

【図面の簡単な説明】

【0009】

【図1】実施形態に係る積層体の外観を示す斜視図である。

【図2】センサフィルムを示す斜視図である。

【図3】電極及び配線と貫通孔との位置関係を示す説明図である。

【図4】センサフィルムの表面に形成されたコーティング層を示す要部断面図である。

10

20

30

40

50

【図 5】電極及び配線を基材に埋め込んだ状態にするまでのセンサフィルムの作製手順を示す説明図である。

【図 6】凹部および貫通孔の形成からセンサフィルムを取得するまでのセンサフィルムの作製手順を示す説明図である。

【図 7 A】第 1 細胞シートと第 2 細胞シートの電位の変化を示すグラフである。

【図 7 B】第 1 細胞シートと第 2 細胞シートの電位の変化を拡大して示すグラフである。

【図 8】細胞シートを 10 層に積層した細胞組織に複数のセンサフィルムを配して例を示す説明図である。

【図 9】基材の各面に露出する電極をそれぞれ設けたセンサフィルムの例を示す要部断面図である。

【図 10】センサ部として反射型のパルスオキシメータを設けた例を示す説明図である。

【図 11】センサ部としてグルコースセンサを設けた例を示す説明図である。

【図 12】センサ部として酸素濃度センサを設けた例を示す説明図である。

【図 13】センサ部として RNA 検出センサを設けた例を示す説明図である。

【発明を実施するための形態】

【0010】

図 1 において、積層体 10 は、センサフィルム 12 と、第 1 細胞シート 14 及び第 2 細胞シート 15 とを備えており、第 1 細胞シート 14 と第 2 細胞シート 15 との間にセンサフィルム 12 が配されている。この例におけるセンサフィルム 12 は、第 1 細胞シート 14 と第 2 細胞シート 15 とが一体になった細胞組織において第 1 細胞シート 14 の電位を測定するように構成されており、電位測定のための外部機器に接続する接続部 16 が設けられている。

【0011】

第 1 細胞シート 14 と第 2 細胞シート 15 は、細胞を凝集させてシート状に組織構築させた細胞集合体である。第 1 細胞シート 14 と第 2 細胞シート 15 は、生体から採取した細胞を培養してシート化したもの、iPS 細胞から分化誘導してシート化したもの等を用いることができる。この例では、心筋細胞をシート化したものを、第 1 細胞シート 14 及び第 2 細胞シート 15 としている。細胞シートの細胞の種類は限定されない。

【0012】

図 2 において、センサフィルム 12 は、フィルム（シート）状の基材 21 と、複数の配線 22 と、センサ部としての複数の電極 23 とを有している。基材 21 には、面 21a、21b にそれぞれ配置領域 24 が設けられている。第 1 の細胞集合体としての第 1 細胞シート 14 は、面 21a の配置領域 24 に配されて接着しており、第 2 の細胞集合体としての第 2 細胞シート 15 は、面 21b の配置領域 24 に配されて接着している。

【0013】

配線 22 は、基材 21 の厚み方向のほぼ中心に配されており、基材 21 内に埋設されている。配線 22 の一端 22a は、接続部 16 に配されている。接続部 16 では、面 21a 側の基材 21 を取り除いた開口 16a が形成されており、配線 22 の一端 22a は、面 21a 側に外部機器に接続するために露出している。配線 22 の他端は、配置領域 24 内にまで延びている。

【0014】

複数の電極 23 は、配置領域 24 内に配され、センサフィルム 12 の面方向で所定のパターンで配列されている。これにより、第 1 細胞シート 14 の電位を二次元にマッピングできる。各電極 23 に対応して、面 21a に開口した凹部 25 が基材 21 に設けられている。各電極 23 は、凹部 25 の底面に配され、配線 22 と同様に基材 21 の厚み方向のほぼ中心に配されている。各電極 23 は、それぞれ対応する配線 22 の他端に一体に形成されている。このように、各電極 23 は、面 21a 側が基材 21 によって被覆されていない状態とされ、面 21a 側に露出している。これにより、電極 23 が第 1 細胞シート 14 に接触する。なお、図 2 に示される電極 23 の配列パターンは、一例であり、これに限定されない。

10

20

30

40

50

## 【 0 0 1 5 】

上記配線 2 2 及び電極 2 3 は、安定性及び生体適合性が高い導電材料で形成されている。配線 2 2 及び電極 2 3 の材料としては、この例では Au (金) を用いているが、この他に PEDOT - PSS、Ag (銀)、白金 (Pt) 等を用いることができる。配線 2 2 及び電極 2 3 は、薄膜状に形成され、基材 2 1 とともに変形可能になっている。

## 【 0 0 1 6 】

基材 2 1 は、絶縁性、柔軟性 (可撓性) 及び生体適合性を有する材料で形成されている。この例では、基材 2 1 は、パリレンにより形成されているが、この他にポリエチレンナフタレン、キトサン、アルギン酸ナトリウム等を用いることができる。基材 2 1 に絶縁性を持たせることにより、基材 2 1 を通しての配線 2 2 同士が短絡しないようにしながら、  
10 基材 2 1 を通して配線 2 2 と第 1 細胞シート 1 4 及び第 2 細胞シート 1 5 とが電氣的に導通することを防止している。

## 【 0 0 1 7 】

また、基材 2 1 に柔軟性を持たせることによって、第 1 細胞シート 1 4 及び第 2 細胞シート 1 5 との収縮運動に追従して変形できるようにするとともに、生体内に埋め込んだ場合に生体内の組織の形状や変形に追従させて変形できるようにしている。なお、第 1 細胞シート 1 4 及び第 2 細胞シート 1 5 が変形や収縮しない場合、細胞組織の形状や変形に追従させて変形させる必要がない場合には、基材 2 1 に柔軟性を持たせなくてもよい。

## 【 0 0 1 8 】

基材 2 1 の配置領域 2 4 内には、基材 2 1 をその厚み方向に貫通する複数の貫通孔 2 8  
20 が設けられている。図 3 に示すように、貫通孔 2 8 は、配置領域 2 4 内の配線 2 2 と電極 2 3 を除く部分に設けられている。貫通孔 2 8 は、それを通して、センサフィルム 1 2 を挟んで配される第 1 細胞シート 1 4 と第 2 細胞シート 1 5 の細胞同士の細胞結合を可能とし、第 1 細胞シート 1 4 と第 2 細胞シート 1 5 とを一体の組織として機能させる。また、貫通孔 2 8 は、第 1 細胞シート 1 4 と第 2 細胞シート 1 5 にまたがる血管網の構築を可能にしている。

## 【 0 0 1 9 】

この例では、基材 2 1 の厚み、すなわち貫通孔 2 8 の深さが  $0.5 \mu\text{m}$  であり、貫通孔 2 8 の直径が  $300 \mu\text{m}$  であるが、これらに限定されない。基材 2 1 の厚みは、 $0.1 \mu\text{m}$  以上  $1.0 \mu\text{m}$  以下の範囲内であることが好ましく、 $0.1 \mu\text{m}$  以上  $0.3 \mu\text{m}$  以下の  
30 範囲内であることがより好ましい。基材 2 1 の厚みを  $0.1 \mu\text{m}$  以上とすれば、センサフィルム 1 2 のより高いハンドリング性を担保することができる。なお、基材 2 1 の一方の面にポリビニルアルコール等の水溶性の支持材を設け、この支持材とセンサフィルム 1 2 とを一体にハンドリングしてもよい。また、基材 2 1 の厚みを  $1.0 \mu\text{m}$  以下とすれば、心筋シート等の動きのある細胞シートの動きに基材 2 1 がより追従しやすく、 $0.3 \mu\text{m}$  以下とすれば、心筋シートの微小な凹凸に対して基材 2 1 をより強く密着させることができ、さらに酸素や栄養分の透過性を高められる点で有利である。

## 【 0 0 2 0 】

貫通孔 2 8 の直径は、 $10 \mu\text{m}$  以上  $1000 \mu\text{m}$  以下の範囲内であることが好ましく、  
40  $200 \mu\text{m}$  以上  $1000 \mu\text{m}$  以下の範囲内であることがより好ましい。貫通孔 2 8 の直径を  $1000 \mu\text{m}$  以下とすれば、センサフィルム 1 2 のハンドリングに必要な剛性を得る上でより有利である。また、貫通孔 2 8 の直径を  $10 \mu\text{m}$  以上とすれば、第 1 細胞シート 1 4 と第 2 細胞シート 1 5 との間でセンサフィルム 1 2 を介した毛細血管網を構築するうえでより有利であり、貫通孔 2 8 の直径が  $200 \mu\text{m}$  以上とすれば、センサフィルム 1 2 を挟む組織 (細胞シート) 間に細動脈サイズの血管を構築するうえでより有利である。

## 【 0 0 2 1 】

配置領域 2 4 を法線方向から見たときに、基材 2 1 と貫通孔 2 8 だけからなる領域、すなわち配置領域 2 4 の配線 2 2 及び電極 2 3 を含まない部分 (以下、無配線領域と称する) における単位面積を  $S_1$ 、無配線領域の単位面積  $S_1$  における貫通孔 2 8 の開口面積  $S_2$  としたときに、 $(S_2 / S_1) \times 100$  で求められる開口率  $S_R$  (単位 ; %) は、10  
50

%以上80%以下の範囲内であることが好ましく、50%以上80%以下の範囲内であることがより好ましい。開口率SRを80%以下とすることにより、細胞シート上の任意の位置に測定点を配置するためのハンドリングをより容易にするためのセンサ剛性を確保することができる。また、開口率SRを10%以上とすることにより、第1細胞シート14と第2細胞シート15の化学的なコンタクトがより成立しやすくなり、開口率SRを50%以上とすることにより、貫通孔28を介して第1細胞シート14と第2細胞シート15との間での血管網の構築に必要なより十分な開口面積が得られる。開口率SRは、貫通孔28に直径と貫通孔28の配列パターン(配列ピッチ)とで調整することができる。

#### 【0022】

図4に示すように、センサフィルム12の表面には、第1細胞シート14及び第2細胞シート15の細胞を、センサフィルム12の表面に接着させるコーティング層29が形成されている。コーティング層29が形成されるセンサフィルム12の表面としては、貫通孔28の内面等を含む基材21の露呈されている表面、電極23の表面である。コーティング層29は、細胞接着性成分として例えばフィブロネクチンを含む。コーティング層29に含まれる細胞接着性成分は、これに限定されるものではなく、この他にウシ胎児血清、ラミニン、マトリゲル等が挙げられる。

10

#### 【0023】

次に、センサフィルム12の作製手順について図5、図6を参照して説明する。なお、以下に示す手順は、一例であり、これに限定されない。ガラス基板31の一方の表面に、基材21の材料、この例ではパリレンを剥離しやすくするための離型層32を形成する(図5(A))。この後に、離型層32を形成したガラス基板31の表面に、パリレンを蒸着してパリレン層33aを形成し、そのパリレン層33aの上面(離型層32側の表面)に配線22及び電極23に対応した開口34a、34bを有するマスク34を形成する(図5(B))。

20

#### 【0024】

マスク34の開口34a、34bを通してパリレン層33aの上面にAuを蒸着する。これにより、配線22及び電極23を形成する(図5(C))。マスク34の除去後、再びパリレンを蒸着することにより、配線22及び電極23を埋め込んだパリレン層33bを形成する(図5(D))。

30

#### 【0025】

パリレン層33bの上面に、接続部16、電極23に対応した開口35a、35bを有するマスク35を形成し、続いてドライエッチングを行いパリレン層33aの一部を除去して、開口16a、凹部25を形成する(図6(A))。マスク35の除去後、各貫通孔28に対応した開口36aを有するマスク36をパリレン層33aの上面に形成してから、ドライエッチングを行って貫通孔28を形成する(図6(B))。マスク36の除去後、パリレン層33bの両端部を切り離してから、パリレン層33bを離型層32から剥離してセンサフィルム12を得る(図6(C))。

40

#### 【0026】

第1細胞シート14及び第2細胞シート15をセンサフィルム12に転写して積層体10を形成する場合には、まず上記のように得られるセンサフィルム12をフィブロネクチン希釈溶液に浸漬して、コーティング層29をセンサフィルム12の表面に形成する。フィブロネクチン希釈溶液は、例えばフィブロネクチンをリン酸緩衝生理食塩水で希釈してその濃度が5 $\mu$ g/mlとなるように調製したものが用いられ、37に維持したフィブロネクチン希釈溶液にセンサフィルム12を24時間浸漬する。この後、フィブロネクチン希釈溶液から取り出したセンサフィルム12の各配置領域24に、別途細胞を培養して作製しておいた第1細胞シート14、第2細胞シート15をそれぞれ転写する。

40

#### 【0027】

例えば、第1細胞シート14及び第2細胞シート15は、温度応答性培養皿上でそれぞれ別個に培養して作製する。温度応答性培養皿内で第1細胞シート14にセンサフィルム12を載せて押圧した状態にし、温度応答性培養皿の温度を例えば20に下げる。これ

50

により、第1細胞シート14がセンサフィルム12の面21aに転写される。第2細胞シート15については、スタンプ法を用いることが好ましい。すなわちゼラチンゲル等からなる支持体を取り付けた転写器具を用い、いったん第2細胞シート15を温度応答性培養皿から転写器具の支持体に転写し、その後支持体からセンサフィルム12の面21b側に転写する。なお、スタンプ法については、文献「Haraguchi, Y. et al. "Fabrication of functional three-dimensional tissues by stacking cell sheets in vitro", Nature Protocols volume 7, pages 850-858 (2012)」に詳細が記載されている。

#### 【0028】

上記のようにして、一方の面21aに第1細胞シート14が接着し、他方の面21bに第2細胞シート15が接着した積層体10が得られる。積層体10は、例えば培地内に置かれた状態とされ、第1細胞シート14と第2細胞シート15とを貫通孔28を通して細胞結合した状態にし、この後に第1細胞シート14の電位を測定する。

10

#### 【0029】

接続部16に露呈されている各配線22の一端22aに測定機器が接続され、例えば培地の電位を基準電位として、各電極23が接触している第1細胞シート14の各部の電位が測定される。センサフィルム12には、上述のように複数の貫通孔28を設けてあるので、第1細胞シート14と第2細胞シート15とが一体となった1つの細胞組織内の情報として第1細胞シート14の電位が測定される。

#### 【0030】

心筋の第1細胞シート14と第2細胞シート15とについて、それぞれ実際に測定した電位の変化を図7A、及び図7A中の破線で囲む部分を拡大した図7Bに示すように、第1細胞シート14と第2細胞シート15の電位が同期して変化しており、それら第1細胞シート14と第2細胞シート15が一体となった1つの組織として収縮運動していることが分かる。また、センサフィルム12には、複数の電極23が設けられており、第1細胞シート14の電位を二次元にマッピングできる。なお、上記図7A、図7Bに示される第1細胞シート14と第2細胞シート15の各電位は、下側からセンサフィルム12、第2細胞シート15、センサフィルム12、第1細胞シート14を順番に配した積層体を用いて測定しており、各センサフィルム12は上側の細胞シートの電位を測定している。

20

#### 【0031】

上記では、2層の細胞シートの上にセンサフィルムが配された積層体の例について説明しているが、センサフィルムの面上に積層される細胞シートの層数は、これに限定されず3層以上であってもよい。図8に示す、積層体40では、10層の細胞シート41を積層した細胞組織の任意の細胞シートの上に3つのセンサフィルム12を配している。各センサフィルム12を挟む細胞シート41同士はセンサフィルム12に設けた貫通孔28(図2参照)を通して細胞結合するため、センサフィルム12によって、1つの細胞組織内における細胞シート41の電位を図ることができ、組織内における細胞シート41の電位を3次元にマッピングできる。細胞集合体としては、細胞シートに限らず、スフェロイドであってもよい。

30

#### 【0032】

また、図9に示すように、センサフィルム12に、その一方の面21aに露出した第1の電極23aと、他方の面21bに露出した第2の電極23bとを設けてもよい。この構成によれば、1つのセンサフィルム12を用いて、そのセンサフィルム12を挟むように設けた一对の細胞シートのそれぞれの電位を測定することができる。なお、図9では、コーティング層の図示を省略している。

40

#### 【0033】

図10は、光学センサとしての反射型のパルスオキシメータ45をセンサ部として設けた例を示している。パルスオキシメータ45は、赤色光を細胞シートに照射する発光ダイオード(LED)45a、緑色光を細胞シートに照射する発光ダイオード45b、細胞シートからの光を受光する光検出器45cで構成されている。これらの発光ダイオード45a、45b、光検出器45cが基材21内に埋設され、それぞれ配線22を介して外部の

50

機器に接続される。なお、発光ダイオード 45 a、45 b、光検出器 45 c は、透明な基材 21 に覆われていてよい。発光ダイオード 45 a、45 b、光検出器 45 c としては、柔軟性を有し薄く形成できる点からポリマー発光ダイオード、有機光検出器を用いることが好ましい。なお、ポリマー発光ダイオード、有機光検出器を用いたパルスオキシメータの詳細については、文献「T. Yokota, et al.. “Ultraflexible organic photonic skin”, Science Advances, vol. 2, p. e1501856, 2016」に記載されている。センサ部としての光学センサは、パルスオキシメータに限定されず、少なくとも細胞集合体からの光の受光機能を有するものであればよい。

#### 【0034】

センサ部として特定の物質と反応して電流を流す電気化学センサを設けることもできる。図 11 は、電気化学センサであるグルコースセンサ 46 をセンサ部として設けた例を示している。グルコースセンサ 46 は、作用電極 46 a と、対電極 46 b と、参照電極 46 c を有しており、それぞれ配線 22 を介して外部の機器に接続される。作用電極 46 a、対電極 46 b、参照電極 46 c は、開口（図示省略）を介して、基材 21 の一方の面側に露出される。作用電極 46 a は、その表面にグルコースオキシダーゼを含む酵素層が設けられている。グルコースオキシダーゼに代えて、ラクターゼオキシダーゼ等の酵素を用いてもよい。このように構成されるグルコースセンサ 46 は、例えば文献「W. Dungchai, et al. “Electrochemical detection for paper-based microfluidics”, Analytical chemistry, vol. 81, no. 14, pp. 5821-5826, 2009」等に記載されるような周知のグルコースセンサと同様な構造であり、その動作についても同様である。

10

20

#### 【0035】

また、センサ部として、図 12 の例のように酸素センサ 47 を設けることもできる。酸素センサ 47 は、酸素感応性蛍光材料、例えば白金オクタエチルポリフィリン (PtOEP) を混合したポリスチレンからなる蛍光層 47 a が凹部 25 内に設けられ、面 21 a 側に露出している。凹部 25 の内面には、凹部 25 内への酸素の透過を防止する遮断層 47 b が形成されている。遮断層 47 b は、例えばエチレン-ビニルアルコール共重合体 (EVOH) が用いられている。このような構成により、凹部 25 内に形成されている空間の酸素濃度を、蛍光層 47 a の蛍光を外部から観察することで測定でき、第 1 細胞シート 14 が消費する酸素量を図ることができる。なお、このような酸素センサ 47 については、例えば文献「M. Kojima et al. “Flexible Sheet-Type Sensor for Noninvasive Measurement of Cellular Oxygen Metabolism on a Culture Dish”, PLoS One, 10e0143774. doi:10.1371/journal.pone.0143774, 2015」に記載されている。また、この例では、蛍光層 47 a と第 1 細胞シート 14 との間に空間を設けているが、蛍光層 47 a に第 1 細胞シート 14 が接触する構成としてもよい。

30

#### 【0036】

さらに、センサ部は、核酸を検出するバイオセンサでもよい。例えば、図 13 の例では、センサ部を RNA 検出センサ 51 としている。この RNA 検出センサ 51 は、カーボンナノチューブ FET (電界効果トランジスタ) をベースに RNA 検出するようにしたものである。RNA 検出センサ 51 は、基材 21 中に設けられた例えば SiO<sub>2</sub> 膜からなる絶縁層 52 上にドレイン 53 とソース 54 とが設けられている。ドレイン 53 とソース 54 とは、いずれも例えば Au (金) で形成されている。ドレイン 53 とソース 54 とは、チャンネルとなるカーボンナノチューブ 55 によって接続されている。

40

#### 【0037】

カーボンナノチューブ 55 は、単層カーボンナノチューブ (SWNT: Single-walled carbon nanotube) であり、その表面に siRNA (small interfering RNA) 結合タンパク質で装飾されたものが用いられている。siRNA 結合タンパク質は、検出する RNA に応じたものが用いられる。siRNA 結合タンパク質としては、p19 siRNA 結合タンパク質 (19 kDa) 等が挙げられる。ドレイン 53 及びソース 54 は、基材 21 に覆われ、カーボンナノチューブ 55 は、その一部分が凹部 25 内に設けられ、一方の面側に露出している。なお、このような RNA 検出センサ 51 の詳細については、文献「P. R

50



amrani et al. “Electronic Detection of MicroRNA at Attomolar Level with High Specificity”, Anal, Chem., 85, 8061 (2013)」に記載されている。なお、図 13 では、カーボンナノチューブ 55 を誇張して描いてある。

【0038】

上記のように構成されるセンサフィルム 12 は、特定の物質 (RNA) と反応して抵抗値が変化する電気化学センサとなり、RNA が siRNA 結合タンパク質と結合したときのドレイン 53 とソース 54 との間の抵抗値が変化する。この抵抗値の変化から RNA 量を検出する。センサフィルム 12 を積層される細胞シート間に挿入して測定することで、三次元の細胞組織の内部から分泌される RNA 量を検出することができる。

【0039】

上記では、細胞シート間にセンサフィルムを配した例について説明しているが、生体内の肝臓や心臓等の細胞組織の内部にセンサフィルムを配してもよい。この場合には、例えば細胞組織の一部を切開して開かれた部分にセンサフィルムを挿入すればよく、センサ部、配線の部分を除く挿入される基材の全領域に貫通孔を設ければよい。貫通孔を通して組織の細胞が細胞結合し、また血管の構築等が行われる。

【符号の説明】

【0040】

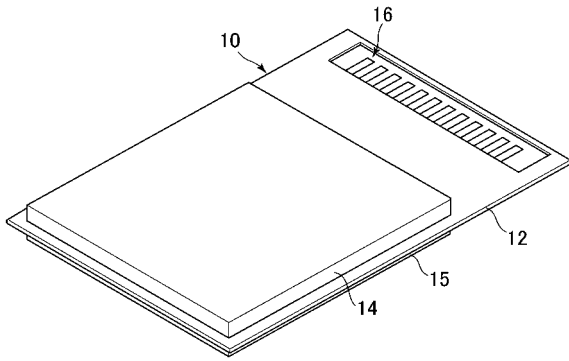
- 10、40 積層体
- 12 センサフィルム
- 14 第1細胞シート
- 15 第2細胞シート
- 21 基材
- 23 電極
- 25 凹部
- 28 貫通孔
- 29 コーティング層
- 41 細胞シート
- 45 パルスオキシメータ
- 46 グルコースセンサ
- 47 酸素センサ
- 51 RNA 検出センサ

10

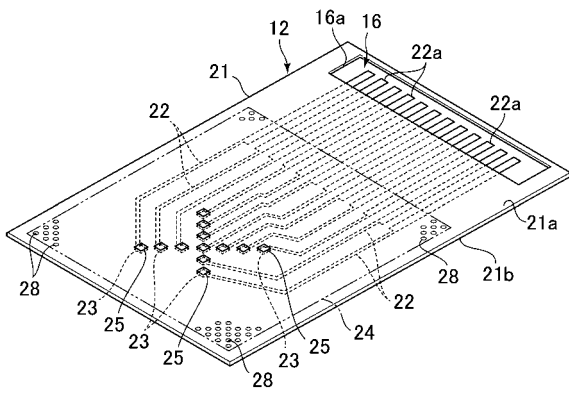
20

30

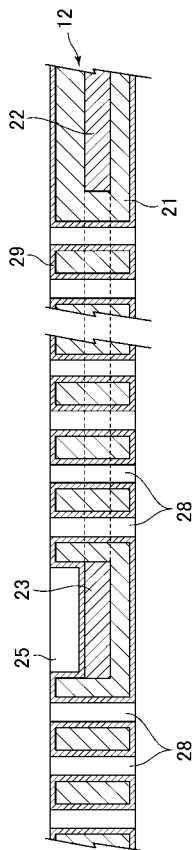
【図 1】



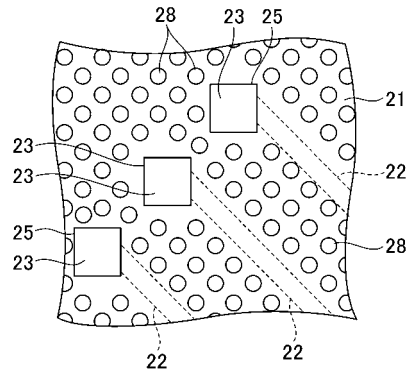
【図 2】



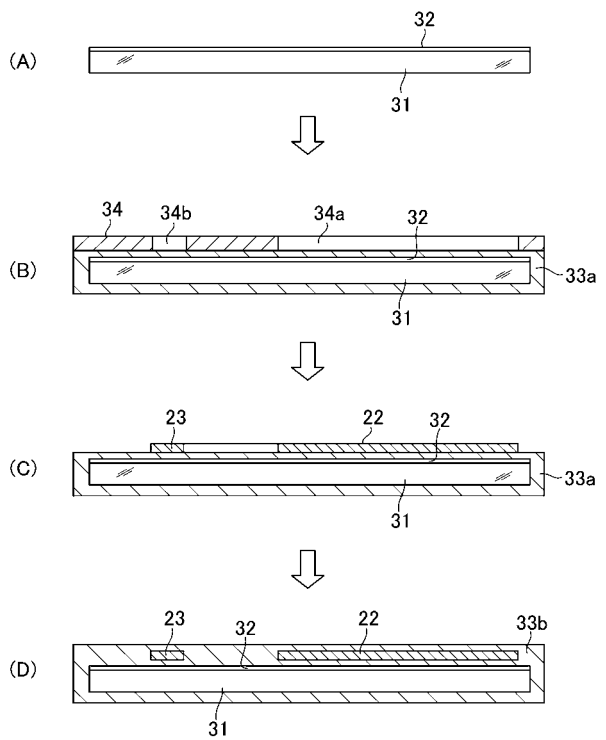
【図 4】



【図 3】

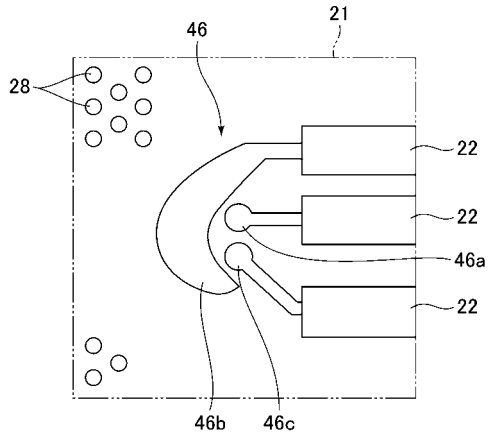


【図 5】

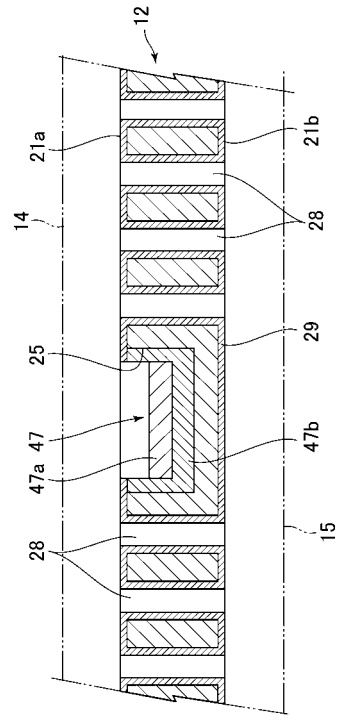




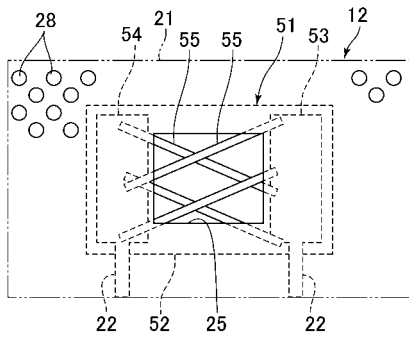
【 図 1 1 】



【 図 1 2 】



【 図 1 3 】



---

フロントページの続き

- (72)発明者 福田 憲二郎  
埼玉県和光市広沢2番1号 国立研究開発法人理化学研究所内
- (72)発明者 染谷 隆夫  
埼玉県和光市広沢2番1号 国立研究開発法人理化学研究所内
- (72)発明者 菊地 鉄太郎  
東京都新宿区河田町8番1号 学校法人東京女子医科大学内
- (72)発明者 佐々木 大輔  
東京都新宿区河田町8番1号 学校法人東京女子医科大学内
- (72)発明者 清水 達也  
東京都新宿区河田町8番1号 学校法人東京女子医科大学内

Fターム(参考) 2G059 AA01 BB14 CC18 DD13 EE01 EE11 GG02 GG03 HH02 KK02