

## 先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム) 実績報告書

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	ペプチドアレイを用いたアレルギー疾患病態モニタリングシステムの開発
研究機関・ 部局・職名	名古屋大学・大学院工学研究科・准教授
氏名	大河内 美奈

1. 研究実施期間 平成23年2月10日～平成26年3月31日

2. 収支の状況

(単位:円)

	交付決定額	交付を受けた額	利息等収入額	収入額合計	執行額	未執行額	既返還額
直接経費	113,000,000	113,000,000	59,349	113,059,349	113,059,349	0	
間接経費	33,900,000	33,900,000	0	33,900,000	33,900,000	0	
合計	146,900,000	146,900,000	59,349	146,959,349	146,959,349	0	0

3. 執行額内訳

(単位:円)

費目	平成22年度	平成23年度	平成24年度	平成25年度	合計
物品費	1,590,788	53,209,861	37,713,268	15,931,529	108,445,446
旅費	0	543,200	1,548,983	339,550	2,431,733
謝金・人件費等	0	662,862	329,989	0	992,851
その他	2,730	387,132	700,083	99,374	1,189,319
直接経費計	1,593,518	54,803,055	40,292,323	16,370,453	113,059,349
間接経費計	0	17,075,245	8,717,277	8,107,478	33,900,000
合計	1,593,518	71,878,300	49,009,600	24,477,931	146,959,349

4. 主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関名
スキャナータイプ画像解析装置	GEヘルスケア製 TyphoonFLA950 0BGR	1	13,235,250	13,235,250	2012/3/7	名古屋大学
マルチモードマイクロプレートリーダー	DSファーマ製 POWERSCAN4B T-H4LFPT	1	8,457,750	8,457,750	2012/1/23	名古屋大学
PC制御画像認識付卓上型ロボット	武蔵エンジニアリング(株)製	1	6,279,000	6,279,000	2012/2/7	名古屋大学
リアルタイムPCRシステムアップグレードキット	ライフテックロ ジージャパン 4379216	1	2,457,000	2,457,000	2011/9/6	名古屋大学
紫外可視分光光度計	島津製作所製 UV-2600	1	2,173,500	2,173,500	2012/3/26	名古屋大学
液滴作成用カスタムメイドマイクロ化学チップ	Fluigent MFCS4C-1000	1	2,090,760	2,090,760	2012/3/7	名古屋大学
超低温フリーザ	三洋電機(株)製 MDF-U500VX	1	1,776,600	1,776,600	2011/11/8	名古屋大学
分光蛍光光度計	島津製作所製 RF-5300PC	1	1,481,550	1,481,550	2012/2/21	名古屋大学
ペプチドシンセサイザー	独国intavis AG 製 Model ResPepSL(スホッ ト合成仕様)	1	14,581,350	14,581,350	2013/1/18	名古屋大学
全自動マイクロウェーブペプチド合成装置	BiotageAB Initiator+AI	1	7,875,000	7,875,000	2013/12/25	名古屋大学
倒立蛍光顕微鏡	独国ライカマイクロ システムズ社製 DMI3000B 蛍光・ 位相差・S70	1	2,412,900	2,412,900	2014/2/21	名古屋大学

5. 研究成果の概要

## 様式20

アレルギー疾患は近年、増加傾向にあり、食物アレルギーの発症率は乳児の10%に達する。本研究では、アレルギー反応を惹起する上で有益なエピトープを個々の患者において調べるため、抗原タンパク質のアミノ酸配列を基に高集密ペプチドアレイを製作し、患者血清中のIgEおよびIgG4抗体の結合量を解析した。牛乳アレルギーに着目し、自然寛解群および経口免疫療法を実施した患者群の抗体エピトープを解析した結果、患者群判別において有用なペプチドを選定でき、治療指針の提供が可能となった。細胞レベルでの脱顆粒試験による解析においてもエピトープペプチドの機能が検証できた。

課題番号	LR016
------	-------

## 先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム) 研究成果報告書

本様式の内容は一般に公表されます
------------------

研究課題名 (下段英語表記)	ペプチドアレイを用いたアレルギー疾患病態モニタリングシステムの開発
	Development of peptide array-based analysis system for monitoring the allergy disease states
研究機関・部局・ 職名 (下段英語表記)	名古屋大学・大学院工学研究科・准教授
	Nagoya University・Graduate School of Engineering・Associate Professor
氏名 (下段英語表記)	大河内 美奈
	Mina Okochi

### 研究成果の概要

(和文):本研究は、ペプチドアレイを用いた IgE 抗体エピトープ解析による食物アレルギーの病態モニタリングデバイスの開発を目的とし、アレルギー反応メカニズムに基づいたアレルギー診断法の確立およびアレルギー応答制御について検討した。まず、抗原ペプチドライブラリーを固定化したペプチドアレイの作製・保存、解析プロトコルの最適化を行った。牛乳アレルギーに着目し、高集密ミルクペプチド網羅アレイを用いた IgE および IgG4 抗体のエピトープ解析を行った結果、患者群の判別や治療予測において有用なペプチドを選定でき、約 8 割の推定率で治療指針の提供が可能となった。

(英文):Peptide array-based IgE epitope analysis was developed for monitoring the allergy disease states of patients with food allergies. Firstly, construction and preservation condition of the peptide array that immobilized peptide library corresponding to the primary sequences of antigen proteins was investigated, and epitope analysis condition was optimized. Focusing on IgE recognition profiles in milk allergy clinical patients, exhaustive milk peptide integrated array was constructed for selection of useful peptides in discriminant analysis and medical prognosis. The peptide array based analysis would be a promising clinical diagnostic tool that can indicate allergy outgrow with estimation rate of approximately 80%.

1. 執行金額 146,959,349円  
(うち、直接経費 113,059,349円、間接経費 33,900,000円)

2. 研究実施期間 平成23年2月10日～平成26年3月31日

### 3. 研究目的

近年、先進国を中心にアレルギー患者数は増加傾向にあり、乳幼児における食物アレルギーの発症率は約1割に上る。アレルギー疾患の発症の主な原因はアレルゲンによって誘発される免疫の過剰応答であることが知られる。食品や花粉などによる即時型アレルギー反応は、特異的IgE抗体にアレルゲンが結合することで惹起されるが、生体内では一つの抗原に対して結合する抗体が複数存在するため、抗原内のどのエピトープがアレルギー反応を規定するかを特定することは不可能であった。そこで本研究では、ペプチドアレイを用いた抗体エピトープ解析によりアレルギー症状や重症度に基づいたアレルゲン特異的抗体を特定し、患者群の判別や症状経過などの病態モニタリングシステムを開発することを目的とした。ペプチドライブラリーを固定化したペプチドアレイの作製・保存法、および解析プロトコルの最適化を図ることで、アレルギー患者のアレルゲン特異的抗体の結合パターンを解析し、定期的な解析により抗体の量的・質的变化を捉え、病態の把握や治療指標の提供を目指す。また、抗体エピトープ解析で得られた情報を細胞レベルで検証するため、脱顆粒反応を指標としたアレルギー反応の迅速な *in vitro* 検出法を構築し、アレルゲンとなるペプチドやその誘導体添加による応答を解析する。さらに、ペプチドアレイ解析を動物モデルに適用することで、アレルギー応答解析に関する基盤技術を構築する。

### 4. 研究計画・方法

- (1) スライドガラス型ペプチドアレイの作製と抗体エピトープ解析 ミルクアレルギーを対象として牛乳に含まれる全6種類のタンパク質のアミノ酸配列に基づいてペプチドアレイを作製した。医療機関から提供して頂いたミルクアレルギー患者血清を用いて、IgE及びIgG4抗体のエピトープ解析を行った。解析条件の最適化により、血清10µl、反応1時間での解析が可能となった。
- (2) 電気化学的手法によるエピトープ解析 ポテンシオメトリー法によるエピトープ解析を行うため、ビーズ上にエピトープ候補ペプチドを合成し、IgE抗体、アルカリホスファターゼ(ALP)標識抗IgE抗体と反応させた後、ALP基質であるホスホアスコルビン酸と反応させた。この反応溶液を $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-/4-}$ 溶液と混合し、自然電位を測定した。
- (3) 細胞レベルでのアレルギー応答検出 アレルギー反応をペプチドアレイ上で惹起するには、2種類のエピトープを同一スポット上に合成する必要がある。そこで、2種類の保護基が修飾されたLys残基を用いて、ジニトルフェニル基(DNP)修飾アミノ酸及び卵白アルブミン(OVA)のエピトープ配列を合成し、ペプチドアレイ上に細胞を播種することで直接、脱顆粒刺激を行う検出系を構築した。細胞としては好塩基球(RBL-2H3)を用い、抗DNP-IgE抗体及び抗OVA-IgE抗体で感作し、アレイ上のエピトープペプチドペアによるアレルギー応答を検出した。次に、アレルギーマウス

血清や患者血清を感作させた細胞においてアレルギー応答解析を行うため、液滴を用いた検出系を構築した。血清を感作した細胞を液滴に封入し、抗原添加を行うことでアレルギー応答を検出した他、ペプチド添加による応答制御を行った。

(4) 抗体結合ペプチドの探索と非標識抗体検出 非標識検出法を構築するため、Fcγ 受容体の膜外ドメインの全網羅ペプチドアレイを合成し、抗体 Fc 領域 (IgG-Fc) への結合性を解析することで、抗体結合ペプチドを探索した。本ペプチドを用いて銀ナノ粒子を利用した抗体の比色検出について検討した他、ペプチドビーコンの設計による非標識検出法を構築した。

(5) モデル動物 ミルクタンパク質であるカゼインをアジュバントとしてアラムゲルを用いて腹腔内投与し、3回の免疫によりアレルギーマウスを作製した。免疫1週間後、尾静脈を採血し、ミルクペプチド網羅アレイを用いて IgE エピトープを解析した。

5. 研究成果・波及効果

(1) スライドグラス型ペプチドアレイの作製と抗体エピトープ解析 牛乳アレルギー臨床検体のエピトープ解析をミルクペプチド網羅アレイにより解析した結果、個々の患者において IgE 抗体の結合性を評価でき、アレルギー反応を惹起する上で重要なエピトープペプチドを明らかにした(図1)。アレルギー患者群において共通性の高いエピトープペプチドが全 350 ペプチド中、約 50 配列選出された。また、臨床検体の症状経過に基づいた解析により、アレルギー発症(1歳前後)時と寛解時、経口免疫療法におけるアレイ経過解析から、各検体におけるエピトープの蛍光強度はアレルギー寛解により減少するものの、認識される配列は変化しないことが示唆され(図2)、IgE および IgG4 抗体のエピトープを解析することでアレルギー症状の経過や治療予測が可能となることが示唆された。特に、経口免疫療法の治療経過が異なる寛解群と非寛解群においては、一部のエピトープの認識特性が異なることから(図3)、治療効果を事前に予測できる可能性が示唆された。ペプチドアレイを用いた解析は患者群の判別や治療予測において有効であり、約 80%の推定率で治療指針の提供が可能であった。

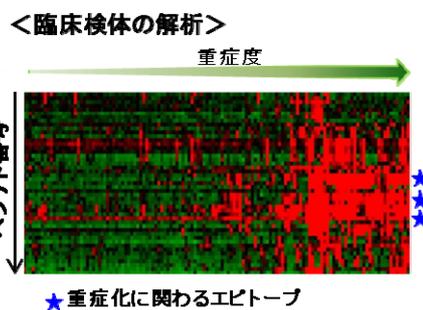


図1 ペプチドアレイによる臨床検体のクラスター解析  
横軸:各検体、縦軸:ペプチド番号

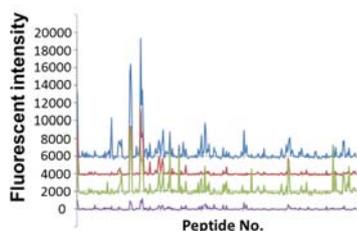


図2 経口免疫療法における IgE エピトープの経時データ例  
青:治療1年前、赤:治療開始時、緑:治療1年後、紫:2年後

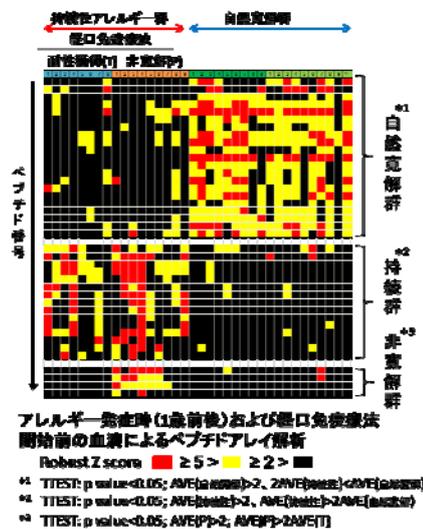


図3 ペプチドアレイによる治療指標の提供

(2) 電気化学的手法によるエピトープ解析 ポテンシオメリー法によるエピトープ解析を行うため、抗体結合ペプチドをアミノ基ビーズ上に合成し、ALP 標識抗 IgE 抗体と反応させたところ、抗体量に応じたシグナルを検出した(図 4)。また、OVA 固定化ビーズを用いた場合には、抗 OVA-IgE 及び ALP 標識抗 IgE 抗体と反応後に測定したところ、濃度依存的なシグナルが検出された。そこで、ビーズ上に様々な OVA ペプチドを合成して抗 OVA-IgE の結合性を評価したところ、ペプチド No.48 では IgE 濃度依存的な応答が得られた(図 5)。また、No.121 および No.182 は電位変化量が大きく、2 次抗体による非特異結合がみられたが、その他のペプチドでは変化は認められなかった。これらのことから、電極アレイを用いたポテンシオメリー法によるエピトープ解析が可能であり(図 6)、電気化学シグナル検出によるアレルギー解析が可能となった。

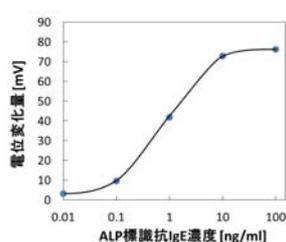


図4 ALP 標識抗体の検出  
特異的 IgE 基準値: 1.4 ng/ml

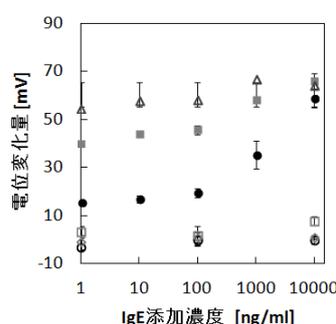


図5 OVA ペプチド固定化ビーズを用いた IgE エピトープ解析  
ポテンシオメリー法により ALP 標識抗 IgE 抗体を用いたシグナル検出によりエピトープ(●)を解析した。2 次抗体の結合配列(△, ■)および非結合配列(□, ○, ◇)も明らかとなった。

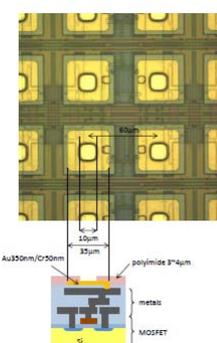


図6 MOSFET 電極アレイによるアレルギー検出

(3) 細胞レベルでのアレルギー応答検出 アレルギー反応は、抗原を認識する IgE 抗体が Fcε 受容体と結合し架橋することで惹起される。そこで、SPOT 固相合成法を利用して 2 種類の保護基が修飾された Lys 残基を用いて、2 種類のエピトープを合成することによりペプチドアレイ上で好塩基球と直接反応することによりアレルギー反応を行った。2 種類エピトープとして、ジニトルフェニル基(DNP)修飾アミノ酸及び卵白アルブミン(OVA)ペプチドを合成し、抗 DNP-IgE 抗体及び抗 OVA-IgE 抗体を感作したラット由来の好塩基球(RBL-2H3)をペプチドアレイ上に播種することで脱顆粒刺激を行った。その結果、ペプチドアレイ上の抗原エピトープ量依存的に脱顆粒率が上昇し、異なる 2 種類のエピトープを同スポット

上に合成すると顆粒割合がさらに上昇した(図 7)。次に、少量の患者血清及びアレルギーマウス血清で感作した好塩基球を用いてアレルギー応答解析を行うため、液滴を用いた脱顆粒検出について検討した(図 8)。細胞を液滴に封入し抗原添加によるアレルギー応答をカルシウムインジケーターにより検出したと

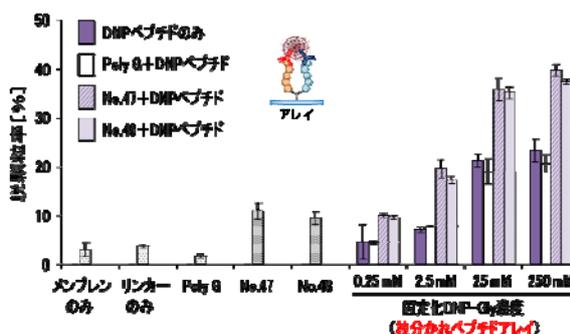


図7 2 種エピトープペプチドアレイ上での脱顆粒解析

ころ、エピトープペプチドによるアレルギー応答制御が確認された(図9)。以上のことから、ペプチドアレイを用いてアレルギー応答を指標としたエピトープ解析が可能であると示された。

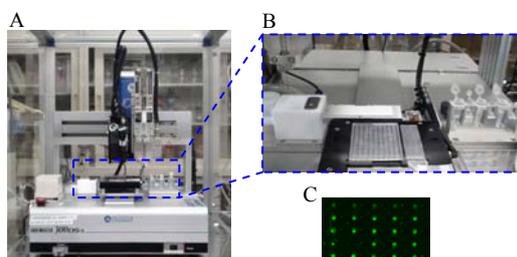


図8 自動液滴スポットティングを利用した脱顆粒検出チップ  
A) スポットティング装置 B) 解析チップ C) 脱顆粒検出

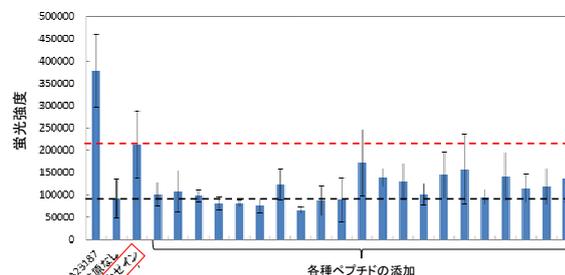


図9 アレルギーマウス血清を感作した細胞を用いたアレルギー応答解析。抗原としてカゼインを用い、各種ペプチド添加によるアレルギー応答の減少を確認した。(カルシウムインジケータを用いた脱顆粒検出、カルシウムイオノフォア A23187 はポジティブコントロール)

(4) 抗体結合ペプチドの探索と非標識抗体検出 非標識抗体検出系を構築するため、まず抗体Fc領域(IgG-Fc)に結合するペプチドを探索した。Fc $\gamma$ 受容体の膜外ドメインの網羅ペプチドアレイを合成し、IgG-Fc結合領域を調べたところ、Fc $\gamma$ RI, II, IIIよりそれぞれ高い結合性を示すペプチドが探索された。これらのペプチドの残基置換およびスクランブル配列を探索し、結合定数8.8  $\mu$ Mの高結合配列が得られた。本抗体結合ペプチドを生成担体レジン上に合成したところ、抗体産生細胞の培養上清より精製率83%で抗体を取得することができた。これより、本ペプチドは抗体を特異的に結合することが示され、ペプチドを利用した抗体精製法を構築できることが明らかとなった。そこで、抗体結合ペプチドを用いた抗体の非標識検出法の構築について検討した。探索した抗体結合ペプチドは正電荷を有するため、未修飾銀ナノ粒子の凝集反応を利用した方法について検討した。銀コロイド溶液は400 nmに吸収をもつがペプチドを添加すると凝集し568 nmにピークがシフトした。抗体存在下では、ペプチドが抗体に結合するため銀ナノ粒子の凝集が抑制され、抗体濃度依存的な色の変化が確認された。次に、ペプチドビーコンの設計による抗体の簡易迅速検出について検討した。抗体結合ペプチドとその相補結合ペプチドを1分子として合成し、ステムループ様構造をもつペプチドビーコンを設計した結果、50 nM以上の濃度でIgG抗体の検出が可能であった。以上のことから、抗体の非標識検出系の構築が可能であることが示された。

生体内の抗体エピトープは、アレルギー疾患の正確かつ効果的な診断・治療に資する重要な情報である。本研究では、アレルギーペプチドアレイを作製しミルクアレルギー患者のエピトープ情報を、各臨床検体の症状・治療経過などの臨床データと結びつけることで、これまでにない病態モニタリングシステムの開発を進めた。さらに、細胞評価系によるアレルギー応答検出や実験動物を用いた解析を進めアレイデータを検証することにより、ペプチドアレイの臨床応用に向けた取り組みを行った。ペプチドアレイを用いた解析により、アレルギー患者の病態把握が可能であり、症状や治療の経過予測など治療指標の提供も可能であることが示唆された。本研究より健康国家の実現に資するライフイノベーションの推進に寄与する先進的な知見が得られた。

## 6. 研究発表等

雑誌論文 計 26 件	<p>(掲載済み一査読有り) 計 19 件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Toshikazu Takeshita, Mina Okochi, Ryuji Kato, Chiaki Kaga, Yasuyuki Tomita, Satoshi Nagaoka, Hiroyuki Honda (2011) Screening of peptides with a high affinity to bile acids using peptide arrays and a computational analysis. <i>J. Biosci. Bioeng.</i> 112(1), 92–97.</li> <li>2. Kei Kanie, Ryuji Kato, Yingzi Zhao, Yuji Narita, Mina Okochi, Hiroyuki Honda (2011) Amino acid sequence preferences to control cell-specific organization of endothelial cells, smooth muscle cells, and fibroblasts. <i>J. Peptide Sci.</i> 17:479-486.</li> <li>3. Mina Okochi, Yuki Sakai, Yayoi Isaji, Hiroshi Nagasaki, Yoji Hamada, Hiroyuki Honda (2011) Personalized assessment of oxidative cellular damages associated with diabetes using erythrocytes adhesion assay <i>J. Biosci. Bioeng.</i> 112(6),635-637.</li> <li>4. Makoto Katayama, Tomoya Sugita, Ryuji Kato, Mina Okochi, Miyoko Matsushima, Tsutomu Kawabe, Tomokazu Takase, Yasuko Yoshida, Mitsuo Kawase, Hiroyuki Honda (2011) Screening of IgG-Fc binding peptides from milk protein using slide glass type-exclusive peptide array. <i>Kagaku Kogaku Ronbunshu</i> 37(6): 546-550.</li> <li>5. Ryuji Kato, Chiaki Kaga, Kei Kanie, Mitoshi Kunimatsu, Mina Okochi, Hiroyuki Honda (2011) Peptide array-based peptide-cell interaction analysis. <i>Mini-reviews in Organic Chemistry.</i> 8:171-177.</li> <li>6. Mitsuhiro Shikida, Noriyuki Inagaki, Mina Okochi, Hiroyuki Honda, Kazuo Sato (2011) Droplet introduction into a pen-shaped portable reaction system by gravity and interfacial forces, <i>Micro &amp; Nano Letters</i>, 6(4), 253-256.</li> <li>7. Mitsuhiro Shikida, Noriyuki Inagaku, Mina Okochi, Hiroyuki Honda, Kazuo Sato (2011) Fabrication of a pen-shaped portable biochemical reaction system based on magnetic bead manipulation, <i>J. Micromech. Microeng.</i> 21, 067006 (7 pp)</li> <li>8. Masashi Kuboyama Ryuji Kato, Mina Okochi, Hiroyuki Honda (2012) Screening for silver nanoparticle-binding peptides by using a peptide array. <i>Biochem. Eng. J.</i> 66:73-77.</li> <li>9. Yuji Asai, Tomoya Sugita, Ryuji Kato, Mina Okochi, Kyuya Nakagawa, Hiroyuki Honda (2012) Enhancement of the activity of a Lactobacilli-aggregating by freezing treatment. <i>Jpn. Chem. Eng. J.</i> 48:609-614.</li> <li>10. Kei Kanie, Yuji Narita, Yingzi Zhao, Fumiaki Kuwabara, Makoto Satake, Susumu Honda, Hiroaki Kaneko, Tomohiko Yoshioka, Mina Okochi, Hiroyuki Honda, Ryuji Kato (2012) Collagen type IV-specific tripeptides for selective adhesion of endothelial and smooth muscle cells. <i>Biotechnol. Bioeng.</i> 109: 1808-1816.</li> <li>11. Takashi Ochiai, Tomoya Sugita, Ryuji Kato, Mina Okochi, Hiroyuki Honda (2012) Screening of an alpha-amylase inhibitor peptide by photolinker-peptide array. <i>Biosci. Biotechnol. Biochem.</i> 76:819-824.</li> <li>12. Mina Okochi, Taku Matsumura, Shuhei Yamamoto, Eiichi Nakayama, Kowichi Jimbow, Hiroyuki Honda (2013) Cell behavior observation and gene expression analysis of melanoma associated with stromal fibroblasts in a three-dimensional magnetic cell culture array. <i>Biotechnol. Prog.</i> 29, 135-142.</li> <li>13. Mina Okochi, Taku Matsumura, and Hiroyuki Honda (2013) Magnetic force-based cell patterning for evaluation of the effect of stromal fibroblasts on invasive capacity in 3D cultures. <i>Biosens Bioelectron</i> 42, 300-307.</li> <li>14. Masahiro Nakatochi, Makoto Katayama, Ryuji Kato, Mina Okochi, Tomokazu Takase, Yasuko Yoshida, Mitsuo Kawase, Hiroyuki Honda (2013) Comprehensive combination analysis for screening of significant peptide epitopes using a slide glass type-exclusive peptide array from milk protein. <i>Kagaku Kogaku Ronbunshu</i>, 39:40-45.</li> <li>15. Tomoya Sugita, Makoto Katayama, Mina Okochi, Ryuji Kato, Takamitsu Ichihara, Hiroyuki Honda (2013) Screening of peptide ligands that bind to the Fc region of IgG using peptide array and its application to affinity purification of antibody. <i>Biochem. Eng. J.</i> 79: 33– 40.</li> <li>16. Tomoya Sugita, Mina Okochi, Hiroyuki Honda (2014) Design of quenching peptide probes incorporating tryptophan for rapid IgG detection. <i>Chem. Lett.</i> 43:550-552.</li> <li>17. Mitsuhiro Shikida, Tatsuaki Sugito, Mina Okochi, Hiroyuki Honda (2014) Droplet-based biochemical assay by magnetic wire manipulation between multiple droplets. <i>Microsystem Technologies</i>, 20:315–323.</li> <li>18. Akiko Yusa, Makoto Toneri, Seiji Ito, Taisuke Masuda, Shuhei Yamamoto, Mina Okochi, Naoto Kondo, Hiroji Iwata, Yasushi Yatabe, Yoshiyuki Ichinosawa, Seichin Kinuta, Eisaku Kondo, Hiroyuki Honda, Fumihito Arai, Hayao Nakanishi (2014) Development of a New Rapid Isolation Device for Circulating Tumor Cells (CTCs) using 3D Palladium Filter and its Application for Genetic Analysis. <i>PLOS ONE</i> 9(2), e88821</li> <li>19. Hisayuki Sugiura, Noriyasu Okazaki, Toshimi Sugiura, Hiroyuki Honda, Mina Okochi (2014)</li> </ol>
----------------	--

	<p>Degranulation of basophilic leukemia cells on branched-chain peptide array with an OVA-DNP double epitope. <i>Biochem. Eng. J.</i>, 87:8-14.</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計 7 件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 大河内美奈: ペプチドアレイを用いたアレルギー疾患モニタリングシステムの開発、化学工学、2012、76(4)、219-221</li> <li>2. 大河内美奈 (2013) 医療診断への分離技術の新展開「磁性微粒子を用いた3次元細胞培養アレイの構築とがん細胞の浸潤評価」分離技術、43(2):1-5.</li> <li>3. 大河内美奈、本多裕之 (2013) 1細胞から細胞ネットワーク形成に関する解析・操作技術「磁力制御による一細胞解析」生体医工学、51(3): 197-201.</li> <li>4. 大河内美奈(2013)「ナノ磁性粒子を用いたテクノロジーの開発と応用」2012年度生物工学奨励賞、生物工学会誌、91(6):301-307.</li> <li>5. 大河内美奈 (2013)「磁性細胞パターンニングによるがん細胞の浸潤・挙動評価」化学工学会バイオ部会ニュースレター、34、12-15.</li> <li>6. 大河内美奈、本多裕之 (2013) 「磁性ナノ粒子を利用したがん細胞の挙動解析」化学センサ、29(3)、93-99</li> <li>7. 大河内美奈 (2013)「ペプチドアレイによるペプチドデザインとセンシングツールの開発」名古屋大学 PRESS e、34、18.</li> </ol> <p>(未掲載) 計 0 件</p>
<p>会議発表 計 56 件</p>	<p>専門家向け 計 49 件</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 大河内美奈「ペプチドアレイによる食物アレルギーの疾患診断」 ナノバイオ Expo2011 第7回ナノバイオ国際シンポジウム、2011年2月16日、東京ビッグサイト、東京</li> <li>2. Mina Okochi, Taku Matsumura, Hiroyuki Honda: Evaluation of invasive capacity of tumor cells using magnetically micropatterned multicellular spheroid. The 5<sup>th</sup> International Workshop on approaches to single-cell analysis. March 4, 2011. The University of Tokyo, Tokyo.</li> <li>3. 大河内 美奈、酒井 雄規、伊佐治 弥生、本多 裕之「赤血球を用いた糖尿病合併症リスク予測センサ」化学工学会第76回大会、2011年3月22日、東京農工大学、東京</li> <li>4. 落合崇、大河内美奈、本多 裕之「酵素阻害ペプチド探索のためのフォトリンカーペプチドアレイの構築」化学工学会第76回大会、2011年3月24日、東京農工大学、東京</li> <li>5. 大河内美奈、片山真、加藤竜司、松島充代子、川部勤、吉良茂樹、吉田安子、川瀬三雄、本多裕之「ペプチドアレイを用いたミルクアレルギー疾患の診断」2011年3月29日、横浜国立大学、横浜</li> <li>6. 大河内美奈、手島 翠、古池真司、本多裕之: 磁性液滴搬送システムによる一細胞遺子発現解析、新潟、2011.9.9-11、電気化学会</li> <li>7. 大河内美奈、本多裕之: 磁性液滴搬送システムを用いた細胞機能解析、新潟、2011.9.9-11、電気化学会</li> <li>8. 大河内美奈、浅井裕司、杉田智哉、本多裕之: 乳酸菌 <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG の付着・菌叢化に関与するペプチドの探索、つくば、2011.9.12-14、日本化学会バイオ関連部会</li> <li>9. 大河内美奈、本多裕之: ペプチドアレイを用いた昨日分子の探索と食物アレルギー解析への展開、東京、2011.9.26、日本生物工学会シンポジウム</li> <li>10. 大河内美奈、片山 真、岡崎宜恭、浅井裕司、本多裕之: ミルクペプチドによる食物アレルギーの臨床解析と機能性ペプチドの探索、東京、2012-3.15-17、化学工学会</li> <li>11. 大河内美奈、松村 拓、本多裕之: 磁気細胞アレイによる間質細胞共存下でのがん細胞挙動および遺伝子発現解析、浜松、2012.3.29-31、電気化学会</li> <li>12. 大河内美奈、久保山正志、本多裕之: 金属コロイド凝集反応を用いたバイオマーカー特異的ペプチドプローブの設計、浜松、2012.3.29-31、電気化学会</li> <li>13. Mina Okochi, Taku Matsumura, Hiroyuki Honda: Magnetic force-based cell patterning for evaluation of the effect on invasive capacity in 3D culture system, Caucun, Mexico, 2012,5,18, Biosensors 2012 Congress</li> <li>14. 大河内美奈: ペプチドマイクロアレイを用いたミルクアレルギーの解析、清水、2012.5.25、第44回静岡コロキウム</li> <li>15. Mina Okochi, Yuji Asai, Tomoya Sugita, Hiroyuki Honda: Screening of peptides associated with</li> </ol>

	<p>adhesion and biofilm formation of lactic acid bacteria, San Fransisco, 2012.6.20, American Society for Microbiology 2012 (ASM2012) 112<sup>th</sup> General Meeting</p> <p>16. Syuhei Yamamoto, Kouichi Jinbow, Mina Okochi, Hiroyuki Honda: Three-dimensional cell culture array using magnetic force-based cell patterning for analysis of the competitive effect of NPrCAP and heat treatments. Kyoto, Japan, 2012.8.28-31, The 11th International Congress of Hyperthermic Oncology/The 29th Japanese Congress of Thermal Medicine</p> <p>17. 杉田知哉、神谷知宏、大河内美奈、本多裕之：抗体結合ペプチドを用いた抗体ホモジニアス検出系の開発、仙台、2012.9.19-21、化学工学会第44回秋季大会</p> <p>18. 新井小百合、山本修平、大河内美奈、本多裕之：藍藻変異株のスクリーニングに向けた微小液滴培養、仙台、2012.9.19-21、化学工学会第44回秋季大会</p> <p>19. 岡崎宜恭、大河内美奈、本多裕之：カルシウムインジケータを用いた小細胞による脱顆粒反応検出系の構築、仙台、2012.9.19-21、化学工学会第44回秋季大会</p> <p>20. 神谷知宏、片山 真、大河内美奈、本多裕之：銀コロイド凝集反応を利用した抗体認識ペプチドによる迅速抗体検出、名古屋、2012.9.19-21、第61回高分子討論会</p> <p>21. Mina Okochi: Application and development of technologies using magnetic nanoparticles for analysis of individual cells. 2012.9.20, Daegu, Korea, IBS2012, KBB-SBJ Joint Symposium</p> <p>22. Mina Okochi, Masashi Kuboyama, Hiroyuki Honda: The design of a biomarker specific probe and label-free colorimetric detection by aggregation of unmodified silver nanoparticles. Yokohama, Japan, 2012.9.23-28, IUMRS-International Conference on Electronic Materials</p> <p>23. Mina Okochi, Yasuko Yoshida and Hiroyuki Honda: Profile of IgE and IgG4 binding epitopes in cow's milk allergens using peptide array. Honolulu, USA, 2012.10.9, 2012 Electrochemical Society Pacific Rim Meeting (PRIME)</p> <p>24. 大河内美奈：ナノ磁性微粒子を用いたテクノロジーの開発と応用、神戸、2012.10.23、日本生物工学会90周年記念大会生物工学奨励賞受賞講演</p> <p>25. 山本修平、大河内美奈、本多裕之：磁気細胞パターンングを用いた薬剤評価システムの構築 2012.10.25、日本生物工学会90周年記念大会</p> <p>26. Mina Okochi, Shinji Koike, Hiroyuki Honda: Detection of HER2 expressing cells using the on-chip RT-PCR employing a magnetic droplet-manipulation system. Kyoto, Japan, 2012.11.27-28, International Joint Symposium on Single-Cell Analysis</p> <p>27. Shuhei Yamamoto, Mina Okochi, Hiroyuki Honda, Kowichi Jimbow :Analysis of the chemo-thermo sensitivity on B16F1 melanoma in three-dimensional cell culture array using magnetic force-based cell patterning. Kyoto, Japan, 2012.11.27-28, International Joint Symposium on Single-Cell Analysis</p> <p>28. 大河内美奈：磁力制御によるがん細胞のオンチップ遺伝子発現解析、沖縄、2012.12.5、電気情報通信学会</p> <p>29. 杉田智哉、大河内美奈、本多裕之：トリプトファン消光を利用した抗体検出ペプチドプローブのデザイン、大阪、2013.3.17-19、化学工学会第78年会</p> <p>30. 岡崎宜恭、大河内美奈、本多裕之：ミルクペプチドアレイを用いたエピトープ解析によるアレルギー経過予測と患者群判別 2013.3.17-19、化学工学会第78年会</p> <p>31. 神谷知宏、本多裕之、大河内美奈：液滴ハンドリングシステムを用いた微小細胞からの脱顆粒反応検出、大阪、2013.3.17-19、化学工学会第78年会</p> <p>32. 田邊智哉、杉田智哉、大河内美奈、本多裕之：抗体精製のためのIgG結合ペプチドリガンドの探索、大阪、2013.3.17-19、化学工学会第78年会</p> <p>33. Mina Okochi: Peptide array based analysis of food allergy, Philadelphia, USA.,2013.3.20, Pittcon 2013</p> <p>34. 酒井雄規、大河内美奈、本多裕之：糖尿病臨床サンプルを用いた赤血球による血管疾患リスク予測、仙台、2013.3.29-31、電気化学会第80回大会</p> <p>35. 丹羽宏介、酒井雄規、大河内美奈、本多裕之：ポテンシオメトリー法によるアレルギーエピトープの解析、仙台、2013.3.29-31、電気化学会第80回大会</p> <p>36. 大河内美奈：牛乳アレルギー患者のIgEエピトープ解析法の開発、2013.4.26、電子情報通信学会（有機エレクトロニクス研究会）</p> <p>37. Mina Okochi, Noriyasu Okazaki, Saori Ogihara, Hiroyuki Honda, Yasuko Yoshida, Sakura Sato, Motohiro Ebisawa: "Peptide array based analysis of IgE and IgG4 epitopes for evaluation and prediction of milk allergy outgrow." Milano, Italy, 2013.6.25, European Academy of Allergy and Clinical Immunology &amp; World Allergy Organization World Allergy (EAACI/WAO 2013).</p> <p>38. 大河内美奈、荻原沙緒理、岡崎宜恭、本多裕之、吉田安子、佐藤さくら、海老澤元宏：ペプチドアレイを用いた小児牛乳アレルギー患者のIgE エピトープ解析、横浜、2013.10.19、第50回日本小児アレルギー学会</p>
--	---

	<p>39. 山本修平、大河内美奈、本多裕之：磁気細胞パターンニング法を用いたがん細胞の薬剤応答評価法の構築、岡山、2013.9.16-18、第45回化学工学秋季大会</p> <p>40. 新井小百合、大河内美奈、花井泰三、本多裕之：磁性微粒子を用いた藍藻のアレイ状孤立培養技術の開発、岡山、2013.9.16-18、第45回化学工学秋季大会</p> <p>41. 大河内美奈、古池真司、神谷知宏、本多裕之：液滴搬送システムを利用した腹腔洗浄液中の胃がん細胞の検出、広島、2013.9.18-20、第65回日本生物工学会大会</p> <p>42. 杉浦寿之、大河内美奈、本多裕之：アレルギー応答検出のための2種エピトープペプチドアレイの構築、広島、2013.9.18-20、第65回日本生物工学会大会</p> <p>43. 荻原 沙緒理、伊藤 浩明、大河内美奈、本多裕之：ペプチドアレイを用いた減感作療法患者のエピトープ解析によるアレルギー治療予測、広島、2013.9.18-20、第65回日本生物工学会大会</p> <p>44. 丹羽宏介、酒井雄規、大河内美奈、本多裕之：ポテンシオメトリー法によるアレルギーエピトープの解析、名古屋、2013.9.26、第1回バイオ関連化学シンポジウム若手フォーラム</p> <p>45. 大河内美奈、荻原沙緒理、岡崎宜恭、本多裕之：ペプチドアレイを用いたIgE エピトープによる牛乳アレルギー患者の解析、名古屋、2013.9.27-29、第7回バイオ関連化学シンポジウム</p> <p>46. 杉田 智哉、大河内 美奈、本多 裕之：抗体結合ペプチドの探索とホモジニアス抗体検出への応用、名古屋、2013.9.27-29、第7回バイオ関連化学シンポジウム</p> <p>47. Mina Okochi, Tomoya Sugita, Yuji Asai, Hiroyuki Honda: "Screening of lactic acid binding peptides using peptide array and its enhanced probiotic effect for intestinal cells", 横浜、2013.12.9-11、第23回日本MRS年次大会</p> <p>48. 杉浦寿之、大河内美奈、本多裕之：アレルギー応答検出のための2種エピトープペプチドアレイの構築、岐阜、2014.3.18-20、化学工学会第79年会</p> <p>49. 大河内美奈、荻原さおり、岡崎宜恭、本多裕之：IgE 抗体エピトープによる小児牛乳アレルギー患者群の判別、岐阜、2014.3.18-20、化学工学会第79年会</p> <p><b>一般向け 計7件</b></p> <p>1. 大河内美奈：3次元細胞挙動評価モデルを用いた抗がん剤効果予測システムの開発、横浜 2011.10.6、BioJapan2011 ビジネスパートナーリングプレゼンテーション</p> <p>2. 大河内美奈、本多裕之：アレルギーペプチド探索用ペプチドアレイの作成と実用化、名古屋、2012.1.31、名古屋大学予防早期医療創成ワークショップ</p> <p>3. 大河内美奈：ペプチドアレイを利用したミルクアレルギーの解析、名古屋、2012.7.14、電気化学会主催「産学官連携フォーラム」</p> <p>4. 大河内美奈：ペプチドアレイを用いた食物アレルギーの経過解析、名古屋、2013.1.29、名古屋大学 予防早期医療創成センター 第3回ワークショップ</p> <p>5. 大河内美奈：生物工学と私の夢、大阪、2013.5.24、生物工学会第18回生物工学懇話会</p> <p>6. 大河内美奈：バイオチップを用いた解析と診断、豊田、2013.7.23、中部経済連合会主催第8回NEXT30産学フォーラム</p> <p>7. 名古屋大学予防早期医療創成センター 第4回ワークショップ、2014年1月29日、名古屋大学野依記念館、約60名、「ペプチドアレイを用いた小児牛乳アレルギー患者のIgE エピトープ解析」について講演した。</p>
<p><b>図書</b></p> <p>計3件</p>	<p>1. 大河内美奈、本多裕之 「磁性微粒子を用いた一細胞機能解析」を分担執筆、名古屋大学eブックシリーズ1 最先端メディカルエンジニアリング p204-209(総ページ数209)、一粒書房、愛知県、2013年</p> <p>2. 式田光宏、川部勤、松島充代子、本多裕之、大河内美奈、名古屋大学eブックシリーズ1 最先端メディカルエンジニアリング 一粒書房、「MEMS技術による医療バイオ応用」の項を分担執筆、p100-105(総ページ数p209)、愛知県、2013年</p> <p>3. 大河内美奈 第18章4節7項「微生物を利用したバイオセンサ」を分担執筆 電気化学便覧第6版 丸善株式会社、2013年</p>

<p>産業財産権 出願・取得 状況</p> <p>計〇件</p>	<p>(取得済み) 計〇件</p> <p>(出願中) 計〇件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>名古屋大学大学院工学研究科化学・生物工学専攻バイオテクノロジー講座生物プロセス工学研究グループ本多研究室  <a href="http://www.nubio.nagoya-u.ac.jp/proc/index.html">http://www.nubio.nagoya-u.ac.jp/proc/index.html</a>                  東京工業大学大学院理工学研究科化学工学専攻大河内研究室  <a href="http://www.chemeng.titech.ac.jp/~lab-okochi/2Research.html">http://www.chemeng.titech.ac.jp/~lab-okochi/2Research.html</a></p>
<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. テクノ・フェア名大 2011 ミニシンポジウム、2011年9月2日、名古屋大学(豊田講堂)、政府・自治体関係者、中部地区の経済界及び企業の研究開発担当者等、約1,100名、工学研究科内で本プログラムに採択された先生方5名とミニ講演会を開催した。</li> <li>2. 名大若手女性研究者サイエンスフォーラム 2011・女子中高生理系進学推進セミナー 2011、2011年11月26日、名古屋大学(ES会議室)、中部地区の女子中高生・保護者、学内女性研究者、約110名、特別講演およびポスターセッションによる若手女性研究者の支援・交流および女子中高生への理系進学の推進。</li> <li>3. 実験講習会、2011年8月10日、名古屋大学(工学部1号館)、津高校希望者、10名、酵素インベルターゼによるショ糖の加水分解と分離に関する実験を行った。</li> <li>4. 名古屋大学工学研究科主催「テクノ・フェア名大2012」、2012年8月31日、名古屋大学(豊田講堂)、政府・自治体関係者、中部地区の経済界及び企業の研究開発担当者等を対象、約1000名、「ペプチドアレイを用いた食物アレルギー高精度診断法の開発」に関するポスター発表を行った。</li> <li>5. 名古屋大学工学部主催「平成24年度テクノサイエンスセミナー」、2012年8月9日、名古屋大学(工学部1号館)、高校生が対象、95名、所属研究室の担当する固定化バイオリアクターに関する実験を行った。</li> <li>6. 電気化学会主催「産学官連携フォーラム」、2012年7月14日、名古屋大学(ES館)、会員および一般市民に向けた公開講座、62名、電気化学会の産学官連携フォーラム委員を担当し、「バイオセンシングの現状と今後の展開」に関する講演会の企画・運営および発表を行った。</li> <li>7. 日本生物工学会中部支部主催「中高生を対象とした実験教室」、2012年11月20日、名古屋大学(工学部1号館)、愛知県立瑞陵高等学校1年生40名、生物工学分野の実験教室を企画・運営し、「砂糖、果糖、ブドウ糖. お菓子に入れる糖をつくる」と題し、酵素反応および糖の簡易精製に関する実験を行った。</li> <li>8. 名古屋大学オープンキャンパス 2013年8月8日、名古屋大学(豊田講堂・シンポジオン)、高校生対象、約50名、「女性研究者からみた名古屋大学」について紹介した。</li> <li>9. 名古屋大学工学研究科主催「テクノ・フェア名大2013」2013年9月6日、名古屋大学(豊田講堂)、政府・自治体関係者、中部地区の経済界及び企業の研究開発担当者等を対象、約1000名、「ペプチドアレイを用いた食物アレルギー高精度診断法の開発」に関するポスター発表を行った。</li> </ol>
<p>新聞・一般雑誌等掲載 計2件</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 中部経済新聞、2012年1月10日、研究現場発「ペプチドアレイを利用した解析～機能性分子探索やアレルギー検査法構築」</li> <li>2. 電気新聞、2013年7月29日、Next30産学フォーラム中京大で初出張開催</li> </ol>
<p>その他</p>	

7. その他特記事項