

論文題名 『インクジェットプリンティングによる試薬固定化法を利用する 1 ステップバイオアッセイマイクロデバイスの開発』

掲載ページ：「分析化学」第70巻第3号125-131ページ

著者名：河相優子¹，白井亮洋¹，角田正也²，井手上公太郎²，末吉健志¹，遠藤達郎¹，久本秀明¹
(¹大阪府立大学工学部，²シスメックス株式会社)

2021年「分析化学」論文賞として、上記の論文が選定されましたので、お知らせいたします。

【選定理由】ならびに「論文概要」

バイオアッセイの分野では、分析ツールとしてマイクロプレートが汎用されている。しかし、マイクロプレートを用いたイムノアッセイや酵素分析などの分析手法は一般に、煩雑な測定操作、試薬・試料量の多さが課題となっている。

これらの課題解決のため本研究では、インクジェットプリンティングを用いて同一のポリジメチルシロキサン (PDMS) 製マイクロ流路へ2種類の反応試薬を独立に固定した1ステップ均一系競合型バイオアッセイマイクロデバイスを開発した。インクジェットプリンターは、反応試薬をナノリットル (nL) サイズの液滴として流路に均一かつ正確に固定できるため、デバイス作製の簡便化のみならず、デバイス間のばらつき低減や大量生産も期待できる。この研究では、これらのコンセプトを検証するためのモデル試料としてビオチンを用い、ビオチン固定化酸化グラフェン (Biotin-(sulfonic acid-containing graphene oxide) conjugate, BG) と蛍光標識ストレプトアビジン (Fluorescently-labeled streptavidin, F-SA) を用いた蛍光検出型デバイスを開発した。

反応試薬の固定化方法の評価では、インクジェット技術を用いて同一マイクロ流路内の中央に、流路に沿って交互にBGとF-SAを固定する方法と、左右の壁面付近にそれぞれを固定する方法を検討した。その結果、今回用いた500 μm幅のPDMS流路では、流路の両端から約100 μm離れた位置にそれぞれ試薬を滴下すると液滴が左右の壁面付近に再現性よく固定化できることを明らか

かにした。反応試薬固定化用添加剤の検討では、ウシ血清アルブミンとトレハロースを検討し、トレハロースが反応試薬の再分散・再溶解性向上に適していることを明らかにした。バイオアッセイマイクロデバイスを用いたビオチンの応答性評価では、試料導入操作のみの1ステップでビオチンを蛍光検出でき、その検出下限 (0.68 ng/mL) は先行研究と比較して約1/600に改善できていることを明らかにした。バイオアッセイマイクロデバイスを用いたビオチンの選択性評価では妨害物質として尿中に含まれる小分子であるクレアチニン、アスコルビン酸、グルコースのうち、ビオチンの場合の蛍光強度がもっとも高く、妨害物質の場合の蛍光強度が緩衝液と同程度であった。これらのことから、本デバイスのビオチン選択性の高さを明らかにした。

本論文の結果は、インクジェットプリント技術でデバイス作製の簡便化、固定化試薬量の精密制御、同一のPDMS製マイクロ流路内への2種反応性試薬を独立固定でき、1ステップ均一系競合型バイオアッセイマイクロデバイス開発につながることを示している。例として示されたビオチンの測定では先行研究よりも検出限界が劇的に改善された。今後、このインクジェットプリント技術を利用した固定化法は、ビオチンのみならず、抗体を利用したタンパク検出など、多様な1ステップバイオアッセイマイクロデバイス開発への展開が期待される。

委員会で慎重に審議・検討し、上記の理由により、本論文を2021年「分析化学」論文賞受賞論文に値すると認め、選定した。

〔「分析化学」論文賞選考委員会〕

論文題名 『多項目尿検査のための距離検出型ペーパーデバイス』

所載ページ：「分析化学」第 70 巻第 3 号 175-181 ページ

著者名：澤野理花¹，前島健人¹，柴田寛之¹，蛭田勇樹¹，Daniel CITTERIO¹

(¹慶應義塾大学理工学部)

2021 年「分析化学」論文賞として、上記の論文が選定されましたので、お知らせいたします。

【選定理由】ならびに「論文概要」

尿は様々な代謝物や異常マーカーを含み、さらに非侵襲的に多量に採取可能であることから利用価値が高い。現在、尿検査法として主流なのが試験紙法であるが、この方法は、操作者の人為的ミスが起因となる判定誤差が生じる危険がある。一方、ポイントオブケア検査に適した分析ツールとして近年注目を浴びているのがマイクロ流体紙基板分析デバイス (μ PADs) である。しかし、 μ PADs の最も単純な定量分析法の一つである比色分析法では、結果取得までに多くのステップが必要となるという問題がある。この問題の解決のために開発されたのが距離検出型 μ PADs である。これは、温度計のように検出試薬の色変化の境界の位置を変色距離として読み取る判定法で、結果を時間非依存、光学的校正不要かつ直感的に判定できる。以上を踏まえ、本論文では距離検出型 μ PADs を用いて尿検査の簡易化を目指した。

距離検出型 μ PADs の原理は以下のとおりである。基本的な構成要素は、試料エリアと検出エリアで、直線形の検出エリア内に目的物質と反応して色変化する検出試薬をあらかじめ配置すると、試料溶液滴下後に毛細管力によって運搬される試料中の目的物質が検出試薬と逐次的に反応を起こす。最終的に試料中目的物質濃度に応じた変色長さとして結果が得られるため、使用者は色変化の境界位置に対応した目盛を読み取るだけで結果の判定が可能である。

本論文で尿中のアルブミン、グルコース、ヘモグロビンの距離検出を検討したところ、それぞれについて距離検出応答を個別に確認した。測定可能濃度領域については、アルブミンおよびグルコースで尿検査試験に十分な

性能が得られた。さらに、アルブミン測定においてはアニオン性ポリマーであるポリ(4-スチレンスルホン酸)溶液 (PSS) で、グルコース測定においてはバイオポリマーであるキトサンで紙基板の表面修飾を行い、ユーザーがより明確に判定可能な距離検出結果を得られることを実証した。他方、ヘモグロビンでは検出感度に課題が残った。

尿中の他成分が変色長さに与える影響を評価するために選択性評価を行い、アルブミン、グルコース測定の十分な選択性、アルブミン共存下におけるヘモグロビン測定の偽陽性が確認された。このように現状ではヘモグロビン測定において感度と選択性に課題が残っている。今後の展望としては、ヘモグロビン測定用の μ PADs に非特異吸着防止のためのブロッキング処理を施すことで、低濃度領域の変色長さ延伸が期待できる。また、夾雑タンパク質の影響を抑えるために、ポリマー表面修飾等によるヘモグロビン以外のタンパク質の除去が必要になると考えられる。

本論文では、主要な三つの尿検査項目について、距離検出型 μ PADs を用いた測定が可能であることを示した。また、距離検出型 μ PADs は、尿検査に留まらず血液等其他の生体試料中の代謝物測定、環境・産業排水中の金属イオン分析や食品検査等の幅広い応用例に直感的な定量目視判定を提供できる有用な新規分析手法である。本論文でのポリマー紙表面修飾による視認性向上技術はこれら多くの分析実応用場面においても有効であると思われる。

委員会で慎重に審議・検討し、上記の理由により、本論文を 2021 年「分析化学」論文賞受賞論文に値すると認め、選定した。

〔「分析化学」論文賞選考委員会〕