

液体に浸すだけで成分を分析できるペーパーデバイスを開発

～場所を問わない簡単な分析を実現しニューノーマル時代の科学教育への貢献に期待～

ポイント

- ・液体試料に浸漬するだけで特定成分を検出可能な紙製検査チップを開発。
- ・従来必要だった高価なピペットと紙繊維への検出試薬の固定化が不要で簡便かつ迅速な検出を実現。
- ・自宅、診療所、川辺、海、生産現場での現場分析や遠隔の科学実験への展開に期待。

概要

北海道大学大学院総合化学院博士後期課程・日本学術振興会特別研究員の小松雄士氏，同工学研究院の石田晃彦助教，渡慶次学教授らの研究グループは，液体試料に浸漬するだけで成分濃度を測定可能なペーパー分析デバイス*1を開発しました。

この検査チップは，3cm 四方のろ紙に水をはじく性質があるインクで印刷して作製された小型・軽量・薄型の分析デバイスです。ろ紙の特定の領域がインクで囲まれており，流路の役割を果たします。流路の一端に浸漬エリアがあり，これを液体試料に浸漬すると，液は毛細管現象によって流路に沿って流れます。流路の途中には成分を検出する専用試薬が染み込んでおり，試料液がここに到達すると反応が起きて成分濃度に応じて発色します。このような検査チップは，ペーパー分析デバイスと呼ばれ，世界中で多くの研究が行われていますが，そのほとんどは極微量の液体試料を正確に採取して分析デバイスに導入する必要があるため，高価なピペットとそれを操作する技術が必要なため，誰でも簡単に利用できるものではありませんでした。

今回，研究グループは流路のデザインを検討し，ピペットによる試料導入が不要かつ簡便で誰でもどこでも成分濃度を測定できる安価なペーパー分析デバイスの開発に成功しました。発色後のペーパー分析デバイスは，専用アプリをインストールしたスマートフォンで撮影すると，分析結果を数値化できます。研究グループは，発色を数値化するための計算方法も既に考案しています。検出試薬は自由に選択でき，流路に塗布して乾燥させるだけでよいため，医療診断や食品・環境検査だけでなく，ニューノーマル時代の科学教育の新たなツールになることが期待されます。

なお，本研究成果は2021年3月4日（木）公開の *ACS Sensors* 誌にオンライン公開されました。



今回開発したペーパー分析デバイスが実現する場所を問わない成分分析

【背景】

ろ紙を基材とする分析デバイス（ペーパー分析デバイス）は、既存の分析方法に比べて、安価、簡便、迅速、必要な試料量が少ないという特長をもっています。そのため、医療診断、食品検査、環境調査等の新たな分析ツールとして注目され、世界中で研究されています。また、迅速に視覚的な色変化が現れる反応を組み込んだデバイスは、さらに簡便に検出できるようになります。発色の変化や度合いは、デジタルカメラで撮影し画像解析により数値化できるため、専用アプリがあれば今や誰もが持つスマートフォンを利用して、誰でもどこでも簡単に測定できるようになります。

しかし、このような分析法の実現にはいくつかの課題がありました。これまでに報告されたペーパー分析デバイスのほとんどは、分析を行うために液体試料を一定量採取してデバイスに導入するための高価なピペットが必要でした。正確かつ精密に体積をとるためにはピペット操作の熟練も必要です。一方で、今回開発した分析デバイスのような試料に浸漬するタイプもいくつかありましたが、そのほとんどは一定体積の試料に浸漬するか、決められた浸漬時間を守らなければなりません。さらに、流路の特定箇所（紙繊維）に検出試薬を設置（固定）する必要がありました。試薬の固定化操作は、流路内の紙繊維の性質を変え、毛細管現象に影響を与えるだけでなく、固定化自体が煩雑なため作製コストの上昇につながります。

今回、研究グループはこのようなペーパー分析デバイスにおける課題に取り組み、より簡便で迅速に分析できるペーパー分析デバイスの開発に成功しました。

【研究手法】

分析デバイスの開発のため、任意の時間、試料に浸漬するだけで分析できる流路のデザインを設計しました。本研究で開発したペーパー分析デバイスは、試料に浸漬する部分とそこに接続した流路から構成されます。流路は、同時に測定する成分数に応じて容易に作製できます。

今回は、二成分を同時に測定できるデバイスを設計しました。このデバイスを試料に任意時間浸漬すると、浸漬部に吸い取られた試料が流路の末端に向かって流れます。流路に二つの円形エリアがあり、手前の円形エリアには試料中の成分と反応する試薬が染み込んでいます。試料液がここを通過する時、試薬と成分が反応しながら流れ、試薬が固定されていないため発色した試薬（生成物）は一つ目から二目の円形エリアにかけて分布します（図1）。この時、流路の末端に円形エリアを一つだけ配置すると、液の流れとともに発色生成物は末端まで押し流されて圧縮されるため、発色がばらついてしまいます。今回の流路のデザインでは、この問題を解消しました。発色エリアが流路の中間にあるため発色生成物は圧縮されず適度に分散します。

さらに、本研究では二つのエリアにまたがる発色生成物の発色の強さを、画像解析で再現よく数値化する手法も検討しました（図2）。本研究ではこの流路のデザインと試薬の配置の有効性を検証するとともに、このデザインのデバイスを用いて飲料水中のビタミンC濃度とpH値の測定を試みました。

【研究成果】

作製したデバイスを用いて飲料水を異なる時間浸漬させて、ビタミンC濃度とpH値を測定したところ（図3）、ビタミンCでは試した全ての濃度（0~10 mg/L）で、浸漬時間に関係なく画像解析後の数値（発色）が一定値を示しました。また、pH値は全てのpH（2~8）で、浸漬時間3秒以上であれば、一定の発色を示しました。さらに、今回のような試薬の配置の仕方は、ビタミンCとpH値のどちらにおいても、流路末端に配置するデザインよりも高感度及び高精度に検出可能であることが明らかとなりました。

次に、3秒・60秒という浸漬時間でビタミンCとpH値の検量線*2を作成したところ、それぞれがほぼ重なる検量線が得られたことから、3～60秒の間で任意の時間浸漬すれば一定の結果が得られることを明らかにしました（図4）。

最後に、6種類の市販清涼飲料水中のビタミンC濃度とpH値をペーパー分析デバイスで同時測定し（図5）、その結果を従来法で得られた測定値と比較しました。その結果、本デバイスによる測定値は、従来法での測定値と一致し、統計的な有意差は確認されませんでした。

以上により、本研究では、試料液に3～60秒の任意の時間浸漬させるだけで試料中成分を同時に分析できるデバイスを開発することに成功しました。

【今後への期待】

本研究で開発したペーパー分析デバイスは、化学的処理を伴う検出試薬の固定化が不要になり、液体試料に浸漬するだけで簡便に検出できます。この分析デバイスを用いれば、目的成分に応じて試薬を選択し、流路に塗布・乾燥することで、様々な分野で現場分析が可能になります。さらに、COVID-19の流行によりリモート講義が増える中、通常実験室で行われている科学実験を実施できないという問題があります。このペーパー分析デバイスがあれば、あらかじめ教員が準備した（試薬を塗布した）状態で学生に配布するだけで、リモートで科学実験を行う環境を提供できることから、ニューノーマル時代の科学実験ツールとしても大いに期待されます。今後、スマートフォン用のアプリ（画像解析）を開発することでスマートフォンのみで測定が可能になるため、誰もがどこでも簡単に分析ができるようになり、分析結果に応じて迅速に対応できる社会が実現すると期待されます。

論文情報

論文名	Dip-type Paper-Based Analytical Device for Straightforward Quantitative Detection without Precise Sample Introduction（精密な試料導入なしで簡便な定量検出が可能な浸漬型ペーパー分析デバイス）
著者名	小松雄士 ¹ 、前田陵我 ¹ 、真栄城正寿 ² 、石田晃彦 ² 、谷博文 ² 、渡慶次学 ² （ ¹ 北海道大学大学院総合化学院、 ² 北海道大学大学院工学研究院）
雑誌名	<i>ACS Sensors</i>
DOI	10.1021/acssensors.0c02367
公表日	2021年3月4日（木）（オンライン公開）

お問い合わせ先

北海道大学大学院工学研究院 教授 渡慶次学（とけしまなぶ）

T E L 011-706-6744 F A X 011-706-6744 メール tokeshi@eng.hokudai.ac.jp

U R L <https://microfluidic.chips.jp/jp/>

配信元

北海道大学総務企画部広報課（〒060-0808 札幌市北区北8条西5丁目）

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール kouhou@jimu.hokudai.ac.jp

【参考図】

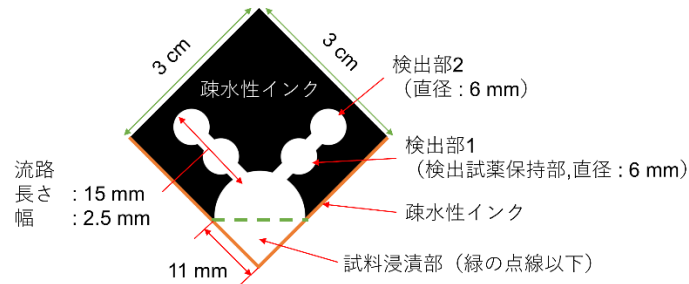


図 1. 本研究で開発したペーパー分析デバイス概略図

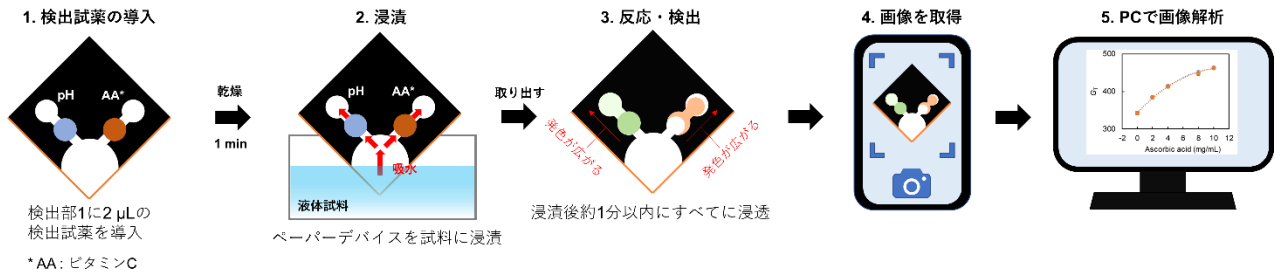


図 2. 分析手順

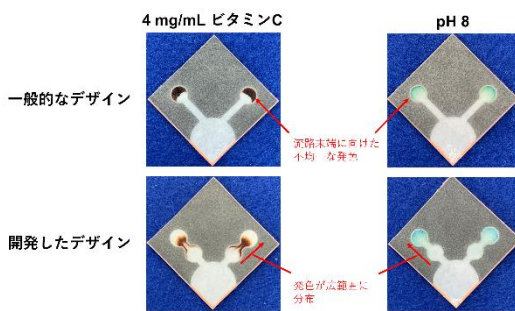


図 3. ビタミン C と pH 値を検出した際の写真

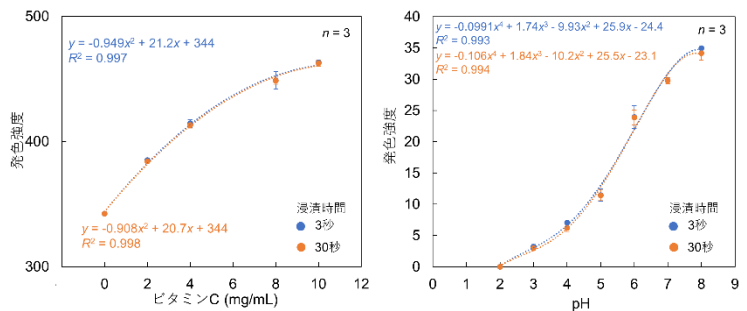


図 4. 浸漬時間による検量線の比較

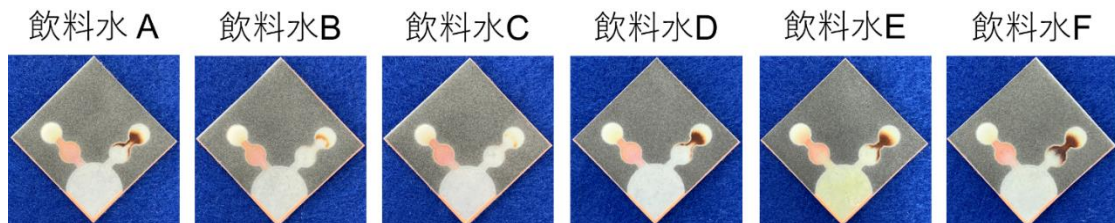


図 5. 市販清涼飲料水中のビタミン C と pH 値を同時検出した際の写真

【用語解説】

*1 ペーパー分析デバイス … 紙基板上で化学的・生化学的分析を安価，簡便，迅速に行うことを可能とする分析装置のこと。二次元的に描かれた流路またはそれを搭載した基盤を積層したものからなり，特定の成分を検出するために必要な部位が集積されている。試薬を染み込ませた試験紙とは異なる。

*2 検量線 … 検査対象の物質の量や濃度，活性などを定量する際に使用する検査対象と同じ物質で，あらかじめ量や濃度，活性がわかっている試料と，その測定データ（発色強度など成分濃度に応じてデバイスが出す信号強度）との間の関係を示したグラフのこと。このグラフを用いると，未知試料の信号強度から濃度などを求めることができる。