

ジェットリングセルを備えたシーケンシャルインジェクションシステム

鳥取大学教育学部 中野恵文

フローインジェクション (FI) 分析法において感度の向上と選択性の改善を同時に達成するため、イオン交換樹脂や固定化酵素などの充填カラムをオンライン化したフローシステムあるいは吸着媒体を充填したフローセルが用いられている。最近、Ruzicka ら^{1)~6)}は、各種の検出器と一体化できる小型の反応セル (Jet-ring cell) を考案し、機能性を有した微粒子 (ビーズ) をフロー系内に固定化することなく測定するたびに新しいビーズに交換できるシーケンシャルインジェクション (SI) システム (Flow injection renewable surface techniques (FI-RST) と名付けられている) を提示しているの、これについて紹介する。

FI-RST の各ステージおよび反射光を追跡したときの応答曲線の例⁴⁾を Fig. に示す。まず、目的に応じて修飾された 30~500 μm 程度のビーズ (クロマトグラフィー用の担体である Sephadex, Polysorb, Cytodex など) が適当な溶液に懸濁される。次に、絶えず攪拌されているビーズ懸濁液が Jet-ring cell (半径 0.8 mm) に導入され (Stage A)、セル内にビーズが捕捉される。その後、サンプル溶液が導入され (Stage B)、サンプルゾーンが捕捉されているビーズ層に達すると反応が起こる (Stage C)。この段階におけるビーズの反射光あるいは蛍光強度などが定量のパラメータとなる。計測後、直ちにビーズは排出されて (Stage D)、次の測定のため新しいビーズが導入される。なお、この SI システムへ吸引されるビーズ懸濁液量、サンプル量、流速あるいは流れの停止時間などは、コンピュータにより容易に設定することができる。Jet-ring cell に接続される測定器は、吸光、蛍光、化学発光検出器ばかりでなく、電気化学的検出器、光学顕微鏡なども使用できる。

Egorov ら⁴⁾は、FI-RST を 1,5-ジフェニルカルバジド (DPC) を用いる Cr(VI) の分析に適

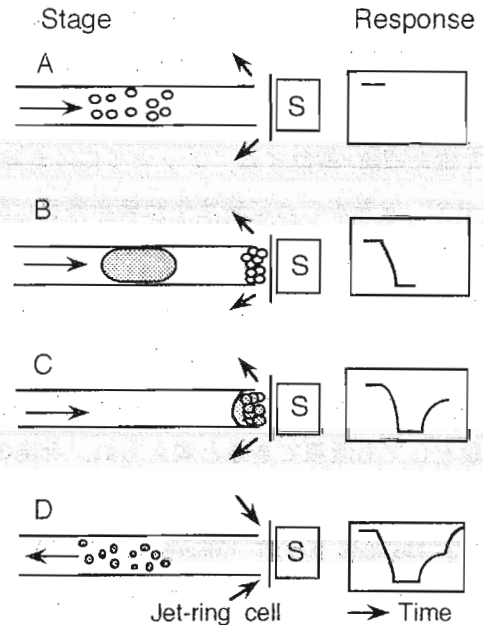


Fig. Principle of the flow injection renewable surface techniques⁴⁾

A, Charging the system with the beads; B, Injection of the analyte; C, Perfusion; D, Discharge of the spent beads; S, Sensor

用している。DPC を吸着させるビーズとして Polysorb MP-1 (35 μm) が用いられた。修飾ビーズ懸濁液 (2×10^5 個 ml^{-1}) 150 μl , Cr(VI)溶液 500 μl が、一定の流速 (0.5 ml min^{-1}) で順次 Jet-ring cell に吸引され、ビーズ上で Cr(III)-DPC 錯体が生成する。この錯体の反射光 (540 nm) の強さを測定することにより 0.03~0.8 ppm の Cr(VI) が定量されている。また、一試料当たりの分析時間は約 3 分で、カラムあるいは吸着体を充填したセルを用いる FI 法よりも迅速に行えることを示している。

白金電極と参照電極を組み込んだ Jet-ring cell が作製され、このセル内において酵素との反応で生成する過酸化水素を電気化学的に検出してアルコール、グルコースなどを定量できる FI-RST が報告された⁵⁾。アルコールオキシターゼ、グルコースオキシダーゼなどの酵素で修飾された Glassy carbon beads (80~200 μm) がセルに捕捉された後、サンプル溶液が導入される。サンプルゾーンがビーズ層に達すると、流れは一定時間止められる。この時ビーズ上で酵素反応が進行するので、その際に電流が変化していく。この変化量が定量のパラメータとなる。この方法により 0.17~1.7 mM のアルコール、0.01~1.5 mM のグルコースが分析でき、一試料の分析に要する時間は約 80 秒であった。この方法はビールやワイン中のアルコールおよびグルコースの定量に応用されている。

Pollema ら⁶⁾は、抗体で修飾した Agarose beads (35 μm) を用いて FI-RST をマウス免疫グロブリン (IgG1) の蛍光イムノアッセイに適用し、その有用性を示している。また、同じ手法で蛍光標識-競合イムノアッセイによる除草剤の定量 ($5\sim 5000 \text{ ng ml}^{-1}$) がなされている³⁾。FI-RST は測定ごとに固定化抗体が容易に交換できるため、これまで FI イムノアッセイで問題となっていたイムノリアクターの失活が改善された。

FI-RST は一回の測定に消費するビーズ懸濁液およびサンプル溶液はマイクロリッター量でよいという利点があり、SI 系でのバルブ切り替えやポンプ作動など一連の操作は自動化されている。この手法は各種の生体関連物質の分析や生きた状態での細胞の機能を迅速に計測する手段としても活用できると考えられ、今後の展開が期待される。

- 1) J. Ruzicka, C. H. Pollema and K. M. Scudder, *Anal. Chem.*, **65**, 3566 (1993).
- 2) G. D. Christian, *Analyst*, **119**, 2309 (1994).
- 3) J. Ruzicka, *Anal. Chim. Acta*, **308**, 14 (1995).
- 4) O. Egorov and J. Ruzicka, *Analyst*, **120**, 1959 (1995).
- 5) M. Mayer and J. Ruzicka, *Anal. Chem.*, **68**, 3808 (1996).
- 6) C. H. Pollema and J. Ruzicka, *Anal. Chem.*, **66**, 1825 (1994).