

紙ベースのフローインジェクション分析法による尿中グルコースの簡易定量

山形大学大学院理工学研究科 水口仁志

ヒトの健康状態の指標となる物質を可能な限り簡便な方法で検出することは、疾病の早期発見と適切な処置のためには極めて重要である。酵素反応を利用することは分析対象物質との反応選択性を確保する上で有用であるが、電流検出型の酵素センサーでは、電極反応活性の高い物質による影響を受けやすい。たとえばグルコース酸化酵素を用いるグルコース分析法は、酵素反応によって生成する過酸化水素を電気化学的に検出するという原理に基づいており、後段の電極における過酸化水素の酸化電流は、アスコルビン酸や尿酸などの酸化電流と区別することができない。

こうした問題を解決する戦略としては、①後段の検出電極での過酸化水素に対する選択性を向上させることと、②酵素反応の前段にて妨害物質を分解することに大別できる。前者では、過酸化水素選択性透過膜を検出電極に設置する手法が広く用いられている。しかし過酸化水素が電極の表面に浸透（拡散）する速度が膜を設置することで小さくなるため、電流として検出する感度が犠牲になるというデメリットがある。一方、後者では、電極反応活性の高い妨害物質を予め電気分解によって除去する方法が有効である (Fig. 1)。グルコースそのものは電極反応活性の低い物質であり、また、妨害物質の電気分解による生成物は、その後の電極反応に影響を与えないため選択性に優れたセンサーとなる[1]。しかし電気分解で妨害物質を完全に除去することは簡単ではなく、従来のバンドアレー型の電解セルでは薄層流を用いてさらに流速を抑える必要がある上、低流速では検出感度が低下するという問題がある。また、妨害物質の完全な分解を達成するための反応セルを独立させて別に取り付けるなど、装置構成が複雑になる傾向が強かった。

こうした中、Lankelmaらは紙ベースの新しいフローインジェクション分析法を開発し、上記課題に対応した尿中グルコースの定量法を提案した[2]。Fig. 2に示すように、白金をコーティングしたグラッシーカーボン電極上にニトロセルロース膜（厚さ 140 μm）を密着させ、その両端をろ紙に接触させて、さらにそれぞれのろ紙の他端を異なる高さに設置されたリザーバー内の緩衝溶液に浸した構成となっている。高い位置にあるリザーバーから吸い上げられた緩衝溶液は、ろ紙およびニトロセルロース膜を介して低い位置にあるリザーバーへと流れる。グルコース酸化酵素はニトロセルロース膜の最下流部に予め吸着させておき、電極に一定の電位を印加させた状態で一

定量の尿サンプルをニトロセルロース膜の上流部に導入する。緩衝溶液の流れに乗って試料が輸送される途中で妨害物質が分解され、グルコースが固定化酵素部に到達すると酵素反応によって過酸化水素が生成して、グルコース濃度に依存した電流シグナルが得られる。すなわちグルコースに由来するシグナルは、時間差によって妨害物質のものと区別される。この結果得られたピーク電流値はグルコース濃度に比例し、尿中グルコースの検出限界は 0.8 mM であり、少なくとも 26 mM までの範囲において検量線は直線となった。また、実試料 15 検体に対する本法の分析結果は、医療機関向けの市販の分析装置を用いた結果と良好に一致した。本法は、現状では 1 検体の処理に 20 分以上の時間が必要であるが、極めて安価な紙ベースの分析デバイスであり、作製が容易であるという利点がある。様々な酵素反応を用いる分析にも応用できる可能性も有しており、今後の発展が期待できる。

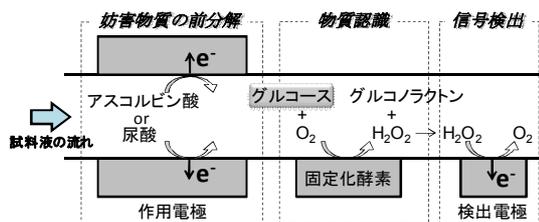


Fig.1 妨害物質を前分解する酵素センサーのスキーム

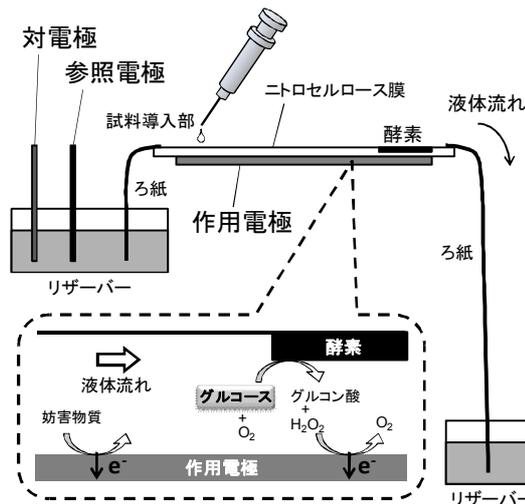


Fig. 2 紙ベースの FIA 法によるグルコース検出の模式図

[1] M. Zhao, D. B. Hibbert, J. J. Gooding: *Anal. Chem.*, **75**, 593 (2003).
 [2] J. Lankelma, Z. Nie, E. Carrilho, G. M. Whitesides: *Anal. Chem.*, **84**, 4147 (2012).