

3Dエアロクロマトの開発

富永達矢*¹ 常見崇史*¹ 関根正裕*²

Development of 3D aerochromatography

TOMINAGA Tatsuya*¹, TSUNEMI Takashi*¹, SEKINE Masahiro*²

抄録

抗原を簡便に検出するイムノクロマトグラフィー法において、着色線の視認を容易にするためにクロマト試験紙の透明化を検討した。試験紙としてセルロースエアロゲルフィルムを試作し、評価した。走査電子顕微鏡により繊維径100 nm以下、孔径約100 nm~300 nmの空孔を有するエアロゲルが確認された。その可視光透過率は、湿潤時に90%を超えたが、溶液浸透性は、市販の試験紙の10%~20%程度であった。フィルム生成時に塩類微粒子を混入することにより浸透性が改善した。

キーワード：セルロースナノファイバー、イムノクロマト法、エアロゲル

1 はじめに

イムノクロマトグラフィー法は、抗原抗体反応を紙片上に可視化した手法であり、試験紙の一端に被検液を滴下し、10分~20分後に紙上にラインが現れるか否かにより、陽性/陰性を判断する検査方法である¹⁾。特殊な装置を必要としない手軽さから、妊娠診断やインフルエンザ診断など、多様な用途が知られる²⁾。手軽な反面、検出感度の低さが課題とされ、本来陽性の検体を陰性と判断してしまう「偽陰性」の問題がしばしば生じる。

エアロゲルはゲル中の溶媒を除いて気体に置換した多孔性材料であり、単位重量あたりの熱伝導性の低さや表面積の大きさから断熱材や触媒担体としての利用が検討されている。これまで、二酸化ケイ素を原料とするエアロゲルが注目されてきたが³⁾、これらのゲルでは機械的強度の弱さが指摘されていた。近年開発されたセルロースナノファイバーを材料とするエアロゲルは、機械的強度

が非常に高いうえ、1 gあたり 200 m²以上の表面積を有する「超」多孔性材料である⁴⁾。このような材料をクロマトグラフィーの担体として用いれば、単位面積あたりの検出シグナル強度の増強が図れるため、大幅な感度向上を望める。

本研究では、エアロゲルを用いた高感度イムノクロマトグラフィーの開発を目指し、セルロースエアロゲルの試作、改良、評価を行った。

2 実験方法

2.1 試験紙の試作

セルロース素材をアルカリ溶液に溶解した。スラリーの粘稠性変化からセルロースの溶解を確認した後、ガラス板もしくはシャーレ上にスラリーを塗布した。シート状に広げたスラリーを凝固液中でゲル化させた。凝固液には、100%エタノールまたは50%エタノールを用いた。必要に応じて、スラリーにドデシル硫酸ナトリウム、炭酸カルシウム、炭酸水素ナトリウムを加えた。完全にゲル化してから、純水置換洗浄した後、凍結乾燥し、エアロゲルを得た。

*¹ 北部研究所 食品・バイオ技術担当*² 技術支援室 (現 事業化支援室)

2.2 表面観察および性能評価

走査電子顕微鏡を用いてエアロゲルの孔径観察を行った。また、分光光度計(UV-3600、(株)島津製作所)を用いて 400 nm～800 nm の波長域で可視光透過率を評価した。溶液浸透性は、一端を 40 μ L の純水で濡らし、3 分間で展開した距離(mm)により評価した。

3 結果及び考察

3.1 電子顕微鏡による観察

100%エタノールで凝固したエアロゲルの走査電子顕微鏡写真を図1に示した。繊維径100 nm以下のセルロースが確認できた。これらの繊維により形成された空孔部分の孔径は約100 nm～300 nmであった。

3.2 可視光透過率

エアロゲルそのものは白色不透明であるが、水などの溶媒に濡れた際には、可視光透過率が上昇する。そこで、凝固液として、100%エタノールおよび50%エタノールを用いて表面の親水性を変化させたエアロゲルの可視光透過率を乾燥時と湿潤時と比較した(図2)。50%エタノールで凝固したエアロゲルは、乾燥時の透過率が8%～25%であったのに対し、湿潤時には57%～79%と50%程度上昇した。100%エタノールで凝固したエアロゲルも同様に乾燥時45%～73%であった透過率が湿潤時90%～92%にまで上昇した。

いずれのゲルも湿潤時には、乾燥時よりも40%以上の可視光透過率の向上がみられたが、100%エタノールで凝固した場合には、400 nm～800 nmの全ての波長域にわたり90%以上の透過率を示したため、以降の研究では凝固液は100%エタノールをベースとして用いた。

3.3 溶液浸透性

セルロースを溶解させたスラリーにドデシル硫酸ナトリウム、あるいは炭酸カルシウム、炭酸水素ナトリウムを添加し、100%エタノールで凝固

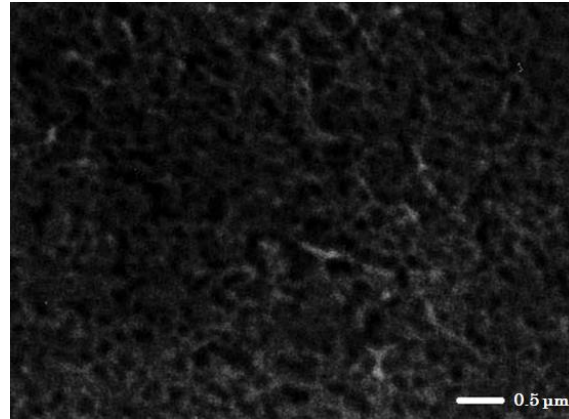


図1 走査電子顕微鏡写真

セルロースエアロゲルの構造

させ、作成したエアロゲルの溶液浸透性を図3に示した。

無添加のエアロゲルでは、3分間で純水は7.0 mm程度しか展開しなかった。しかし、スラリーに塩類の微粒子を加えることにより浸透性は改善され、特に炭酸水素ナトリウムを添加したときには展開距離が13 mmとなった。エアロゲル作製時にこのような粒子が添加されることで、空孔が形成され、水の移動抵抗が低減したと推測された。

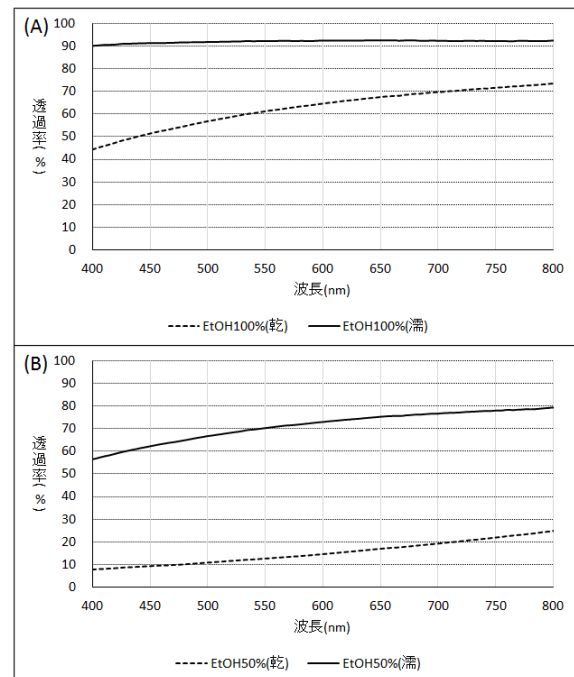


図2 可視光透過率

(A) 100%エタノールによる凝固, (B) 50%エタノールによる凝固, EtOH: エタノール

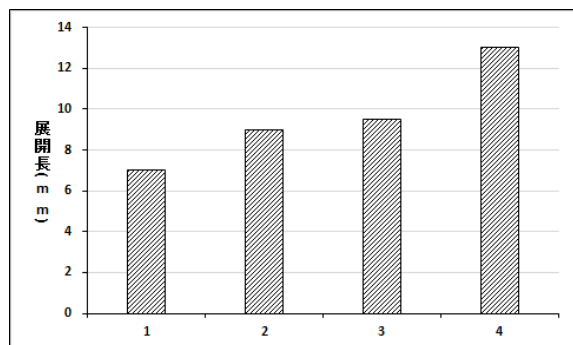


図3 溶液浸透性

1: 無添加, 2: 炭酸カルシウム添加, 3: ドデシル硫酸ナトリウム添加, 4: 炭酸水素ナトリウム添加

一方、市販のニトロセルロース製試験紙では、70 mmの展開距離がみられた。添加する物質の種類、粒子径などを検討し、エアロゲルを改良してさらに展開距離を伸ばす必要がある。

今回、溶液浸透性については課題が残るものの、非常に大きな比表面積を有するとされるセルロースエアロゲルの試作に成功した。高感度免疫クロマトグラフィーの実現に向け、今後、本ゲルの改良とそれを組み込んだデバイスの試作に取り組む。

4 まとめ

- (1) セルロースナノファイバーを素材として、エアロゲルを試作した。
- (2) 試作品は、繊維径数十 nm、孔径約 100 nm~300 nm のゲルであることが走査電子顕微鏡観察から推定された。
- (3) 試作品の可視光透過率は、乾燥時には 50%程度であったが、湿潤時に 90%を超えた。
- (4) 試作品の溶液浸透性は、市販の試験紙の 10%~20%程度であったが、塩類微粒子添加による改善の見込みが示された。

謝辞

本研究を進めるに当たり、客員研究員として御指導いただきました東京大学の空閑重則名誉教授に感謝の意を表します。

参考文献

- 1) Fratamico, P. M. and Bagi, L. K. : Comparison of an immunochromatographic method and the TaqMan[®] *E. coli* O157:H7 assay for detection of *Escherichia coli* O157:H7 in alfalfa sprout spent irrigation water and in sprouts after blanching, *J. Indust. Microbiol. Biotechnol.*, **27**, (2001) 129
- 2) Ito, M., Watanabe, M., Nakagawa, N., Ihara, T., and Okuno, Y.: Rapid detection and typing of influenza A and B by loop-mediated isothermal amplification: comparison with immunochromatography and virus isolation, *J. Virol. Methods*, **135**, (2006) 272
- 3) Hüsing, N., and Schubert, U.: Aerogels - airy materials: chemistry, structure and properties, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **37**, (1998) 22
- 4) Carlsson, D. O., Nyström, G., Zhou, Q., Berglund, L. A., Nyholm, L., and Strømme, M.: Electroactive nanofibrillated cellulose aerogel composites with tunable structural and electrochemical properties, *J. Mater. Chem.*, **22**, (2012) 19014