

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 医療分野研究成果展開事業 先端計測分析技術・機器開発プログラム
(英語) Medical Research and Development Programs Focused on Technology Transfers: Development of Advanced Measurement and Analysis Systems (AMED-SENTAN)

研究開発課題名： (日本語) 救急および災害現場で用いるポータブル血液検査装置の開発
(英語) Development of a portable blood test device for emergency and disaster

研究開発担当者 (日本語) 国立研究開発法人産業技術総合研究所
電子光技術研究部門 研究部門付 粟津 浩一

所属 役職 氏名： (英語) Koichi Awazu, Electronics and Photonics Research Institute, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST)

実施期間： 平成28年4月1日 ～ 平成29年3月31日

分担研究 (日本語) 装置、流路実装研究開発
開発課題名： (英語) Development and assembly of optical and fluidic systems

研究開発分担者 (日本語) オプテックス株式会社 ビジネス開発本部環境計測部 部長 藤後 達也
所属 役職 氏名： (英語) Tatsuya Togo, General Manager, Environmental Measurement Dept., Business Development Div., OPTEX Co., Ltd.

分担研究 (日本語) 血液型判定と感染症検査に関する研究開発
開発課題名： (英語) Research on blood typing and examination of infectious diseases

研究開発分担者 (日本語) 学校法人日本大学 医学部 教授 榎島 誠
所属 役職 氏名： (英語) Makoto Makishima, Professor, Nihon University School of Medicine

II. 成果の概要 (総括研究報告)

- ・ 研究開発代表者による報告の場合

和文

榎島 誠 教授（日本大学医学部）、藤後 達也 部長（オプテックス株式会社）らのグループとともに、数滴程度の微量血液で輸血前検査に必要な血液型検査および血中感染症スクリーニングが行える、ポータブル型の血液検査装置を開発した。具体的には、検体赤血球を用いて血液型検査を行う「血液型オモテ検査」、検体血漿中の抗血液型抗体を用いて血液型検査を行う「血液型ウラ検査」、検体血漿中の B 型肝炎、C 型肝炎、エイズ、梅毒に係る感染症抗原または抗体を検出する「感染症検査」を行う。本装置は産総研開発の高感度光学式センサである導波モードセンサをベースとし、マイクロ流路を実装することで、微量血液による多項目測定を実現するものである。

まず、それぞれの検査項目に係る検査方法を開発した。血液型オモテ検査については、抗血液型抗体試薬に対する凝集反応を導波モードセンサのスペクトル変化から検知する手法を確立した。本検出法はマイクロ流路による空間拘束効果を用いることで、1 分程度の測定時間で高速凝集検知を可能とする。血液型ウラ検査も同様の凝集を用いた検出法を確立した。感染症検査については、導波モード検出板上に標的タンパクを捕捉し、さらに標識抗体を反応させて導波モードスペクトルの変化を生じさせることで、20 分以内に検査可能な測定方法を確立した。導波モード測定により患者血漿中の感染症抗原および抗感染症抗体の検出が可能であり、現行のイムノクロマトグラフィ法およびラテックス凝集法と同等の検出感度を得た。

上記測定法を実施するポータブル血液検査装置のプロトタイプ機として、10 チャンネル光学系を有しバッテリー駆動可能な導波モードセンサ、マイクロ流路系を駆動する送液ユニット、および血液型オモテ、ウラ、感染症検査にそれぞれ対応した検査用マイクロ流路チップを開発した。血液型オモテ検査用マイクロ流路チップは、凍結乾燥試薬を封入した混合槽および毛細管力バルブを備え、流路チップ内での試薬混合とオモテ検査 4 項目（抗 A 抗体、抗 B 抗体、抗 D 抗体、Rh コントロール）の同時測定を実現した。本流路チップにより 4 項目測定を 5 分以内に完了でき、ABO および Rh(D)血液型を判定できた。血液型感染症検査用マイクロ流路チップは、全血から血漿のみを取り出す分離流路、および 4 つの感染症検出部を有する検出流路からなる。血液分離流路は、種々の方式を検討した結果、赤血球の重力沈降を利用した分離方式を採用して開発した。重力沈降方式では低希釈の血液から高純度の血漿を取り出すことができる。さらに、赤血球を沈降させる分離槽の形状を円錐型とすることで、高効率に高純度血漿が取り出せることを見出した。取り出した血漿を検出流路に導入し、前述の感染症検査法に基づく測定が可能である。本検出流路においてヒト血漿中の感染症 4 項目の標的タンパクが検出可能であった。

英文

We developed a portable blood test device for blood typing and screening of infectious diseases. Our device performs the forward test for ABO and Rh(D) blood typing, the reverse test for ABO blood typing, and detection of antigens or antibodies associated with hepatitis B virus (HBV), hepatitis C virus (HCV), human immunodeficiency virus (HIV), and *Treponema pallidum* (TP). Our device is based on a waveguide-mode sensor, which is a sensitive optical sensor developed in AIST, and equipped with microfluidic channels, enabling multiplexed measurements with few droplets of blood.

Firstly, we investigated methods of blood testing using the waveguide-mode sensor. For the forward blood typing, we developed a method to detect hemagglutination reaction using the waveguide-mode sensor. Hemagglutination was quickly detectable within 1 min by utilizing spatial restraints by a

microfluidic channel. The hemagglutination method was also applicable for the reverse blood typing. For the screening of infectious diseases, we developed a method of sandwich assay that causes changes in spectra of waveguide-mode sensor within 20 min. The antigen and antibodies were detectable from patients' blood plasma using the waveguide-mode sensor and the sensitivity was comparable with the conventional methods including immunochromatography and latex agglutination.

A prototype of the portable blood test device was developed. The prototype consisted of a 10-channel waveguide-mode sensor, a pumping unit for driving a microfluidic system, and microfluidic chips for the blood typing and the screening of infectious diseases. The microfluidic chip for the forward blood typing equipped mixing chambers encapsulated with freeze-dried reagents and capillary-force valves. Hemagglutination reactions against anti-A, anti-B, anti-D, and Rh control reagents were simultaneously detectable using the developed microfluidic chip and ABO and Rh(D) blood types could be determined within 5 min. The microfluidic chip for screening of infectious diseases consisted of a blood plasma separation portion and a detection portion. We investigated a method of blood plasma separation in microfluidic channels and developed the method based on gravitational sedimentation of red blood cells. A conical sedimentation hole was efficiently separated blood plasma. The microfluidic chip could perform detection of antigens or antibodies in the separated plasma. The antigens and antibodies associated with the infectious diseases were detectable using a 4-channel microfluidic chip.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 0 件、国際誌 2 件)

1. KURODA C, OHKI Y, ASHIBA H, FUJIMAKI M, AWAZU K, MAKISHIMA M. Design of a sedimentation hole in a microfluidic channel to remove blood cells from diluted whole blood. Japanese Journal of Applied Physics. 2017, 56, 037201.
2. SHIMIZU T, TANAKA T, UNO S, ASHIBA H, FUJIMAKI M, TANAKA M, AWAZU K, MAKISHIMA M. Detection of antibodies against hepatitis B virus surface antigen and hepatitis C virus core antigen in plasma with a waveguide-mode sensor. Journal of Bioscience and Bioengineering. 2017, S1389-1723, (16), 30468-6

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Development of a microfluidic sedimentation system for separation of plasma utilizing the Boycott effect, 口頭, KURODA C, OHKI Y, ASHIBA H, FUJIMAKI M, AWAZU K, SHIMIZU T, TANAKA T, MAKISHIMA M, Biosensors 2016, 2016/5/26, 国外.
2. 導波モードセンサーによる標識抗体を用いた抗 B 型肝炎ウイルス表面抗原抗体の検出、ポスター、清水武則、芦葉裕樹、宇野茂之、榎島誠、田中睦生、藤巻真、栗津浩一、第 31 回日本分子生物学会年会、2016/11/30、国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

なし。

(4) 特許出願