

令和 6 年 6 月 18 日現在

機関番号：82505

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K09279

研究課題名（和文）化学テロ発生現場において神経剤を検知する紙製流体デバイスの創製

研究課題名（英文）Development of a paper-based fluidic device to detect nerve agents at the site of a chemical terrorism outbreak

研究代表者

宮口 一（Miyaguchi, Hajime）

科学警察研究所・法科学第三部・室長

研究者番号：10370884

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：VXやノビチヨクなどの難揮発性神経剤を含めたあらゆる神経剤を検知できる紙製流体デバイスを開発した。デバイスは、試料や展開液の滴下部、酵素（コリンエステラーゼ）及び基質を浸潤させた反応部並びにpH指示薬を浸潤させた発色部からなるが、発色部に至る流路を二股に分岐し、発色した試薬を末端部に集積させる新規の流路構造を見いだしたことで、発色の高感度化と安定化を達成した。表面に付着したVXの拭き取りによる検知感度は約5 ngであり、極微量の神経剤を検知可能であった。有機溶媒やpHによっては判定結果に影響を与えるが、実務的には試料を水で希釈することで、それらに対する頑健性を向上させることが可能と考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

紙製流体デバイス技術を用いて、微量の神経剤をライブラリに依存せず高感度かつ安価に検知する現場検知資機材の開発に成功した。こうしたスペックを有する資機材は他に存在しないことから、実用化への期待は大きい。実用化した暁には、テロ発生現場における検知のほかにも、現場における除染の確認や、神経剤解毒剤自動注射器の現場使用の際の判断などに大きく役立つことが期待される。

研究成果の概要（英文）：We have developed a paper fluidic device that can detect a nerve agent, including involatile nerve agents such as VX and Novichok. The device consists of a start zone (sample and buffer introduction), a reaction zone (cholinesterase and substrate), and a coloring zone (pH indicator). The new structure having branched channel has achieved high sensitivity and stability of coloration. The detection limit by wiping off VX adhering to the surface was approximately 5 ng, enabling the detection of extremely small amounts of nerve agents. Although organic solvents and pH can affect the determination results, practically speaking, it was considered possible to improve the robustness against them by diluting the sample with water.

研究分野：分析化学

キーワード：神経剤 流体デバイス 化学テロ 現場検知 化学剤

1. 研究開始当初の背景

神経剤は有機リン系の構造を有する化学剤(化学兵器用剤)の一種であり、アセチルコリンエステラーゼと結合して神経伝達を阻害し、呼吸停止等により人を死亡させる。神経剤はイラン・イラク戦争やシリア内戦で用いられた例があるが、戦争を除く最初の使用例は、松本サリン事件(1994)や地下鉄サリン事件(1995)などのオウム真理教関連の事件であり、化学剤を用いた史上初のテロとして世界中に衝撃を与えた。最近においても、2017年の金正男氏暗殺事件にはVXが、2018年の元ロシア外交官スクリパリ氏暗殺未遂事件及びロシアの反体制活動家ナリヌワイ氏暗殺未遂事件にノビチョクが用いられており、世界の治安対策上の大きな脅威となっている。

ファーストレスポonderと呼ばれる警察機動隊員・消防隊員・自衛隊員などが実施する神経剤の検知には、揮発性物質をコロナ放電などでイオン化させて静電場中で移動させ、その移動度から物質を判定するイオンモビリティスペクトロメトリー(IMS)検知機や、試薬を充填したガラス管にガスを吸引し、呈色を確認する検知管が主に用いられている。それらは気相中に存在する微量の神経剤を検出可能であるが、検知対象は揮発性の化学剤に限られ、VXなどのV剤と呼ばれる難揮発性神経剤や、ノビチョクAシリーズと呼ばれる難揮発性神経剤を検知することはできない。ゆえに、現場に遺留された微量の難揮発性化学剤を簡便に検知することが課題となっている。

紙デバイスは、低コストで高い機能を実現するものとして近年研究が進められている。吸水性の高い紙を基材とし、流路以外の部分を疎水化することで流路を形成する。紙デバイスは浸潤により自律的に液体が移動するため、電源やポンプなどが不要であり、リソースが限られるテロ現場における検知には非常に適している。また、製造コストが安く、次亜塩素酸塩による除染が容易で、廃棄時の環境負荷も小さい。このように、紙デバイスは神経剤の現場検知に非常に適した特性を有しているが、これまで化学剤の検知に用いた例は電気化学センサーと組み合わせた神経ガス検知デバイスに関する研究があるものの、実用化した例はない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、神経剤を簡便、正確かつ迅速に判定可能で安価な紙デバイスを開発し、化学テロ発生時のファーストレスポonderによる初期検知に用いることで、汚染拡大の防止、解毒剤注射などの早期治療、医療従事者への二次被害の防止、除染の確認などに役立てることである。

3. 研究の方法

神経剤を検知する仕組みとして、本研究では実際の神経剤のターゲットであるコリンエステラーゼ阻害活性を利用することとした。すなわち、コリンエステラーゼ、基質及びpH指示薬を紙デバイスに浸潤させておき、基質の阻害をpH指示薬の呈色で確認する。これは、気相を対象とした既存の検知管と概ね同様の仕組みである。

紙デバイスの作製には、Xerox製のワックスプリンターを使用した。流路以外の部分を黒色で塗りつぶした画像をろ紙に印刷し、これをオーブンで加熱することによりろ紙にワックスを浸潤させ、印刷されていない部分を流路とする紙デバイスを作製した(図1)。

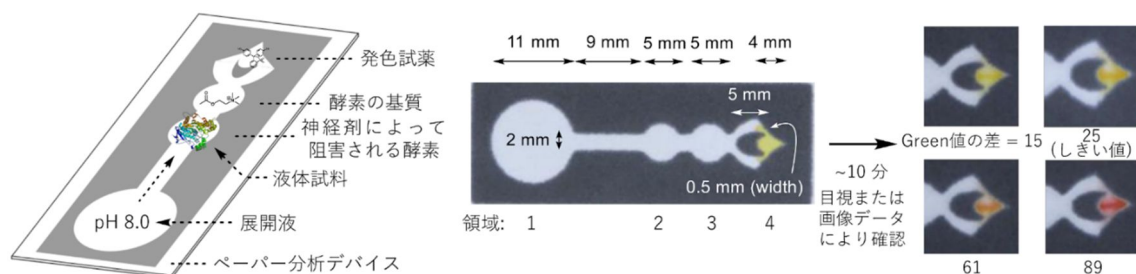


図1 本研究で開発した紙製検査チップの概略図

最初に、試料液体と展開液の導入後放置するだけで鮮明な発色が得られ、さらにその発色を長時間保持するための流路を設計した。本研究で開発した紙製検査チップは、展開液を滴下する部分、酵素及び基質を浸潤させた反応部並びにpH指示薬を浸潤させた発色部と、それらを繋ぐ流路からなる(図1)。

4. 研究成果

《流路デザインについて》

さまざまな形状の流路のデバイスを作製して実際の流れを検討した結果、発色部手前に分岐

を設け、流路先端を尖らせたデザイン(図1)が最も明瞭かつ高感度に発色を確認できることが分かった。すなわち、発色した試薬が反対方向の流れとぶつかるまで移動し、合流地点付近の狭い範囲に分布することで、少ない発色量でも明瞭に観測できるデザインを考案した。また、発色部位を限定させることで、発色の経時的な安定性も向上した。

《検出感度について》

作製したデバイスを用いて、異なる濃度の神経剤(VX, RVX, サリン, タブン)及び有機リン系農薬(ジクロロボス, パラオキソン)の濃度を測定したところ、北大西洋条約機構の定める許容摂取基準(60 µg/日)に照らし合わせて十分低濃度の神経剤(0.1 µg/mL)を検知することができ、さらに神経剤と有機リン系農薬の検知可能濃度との間に約1000倍の差を生じさせることができた。これにより、神経剤と有機リン系農薬の識別が可能となった。

《妨害物質について》

本デバイスは酵素やpH指示薬を使用しているため、酵素を変性させる有機溶媒や操作時の温度並びに酸・アルカリによる影響を受けやすいと考えられる。そこで、それらの影響を調べた。有機溶媒についてはDMSOによる影響が認められ、pHについてもpH 4~10の範囲を超えると偽陽性や偽陰性が発生することが判明した。温度については、4~33で検査に問題がないことが分かった。有機溶媒やpHの問題は、実務的には水で試料を希釈することで解決可能と考えられた。

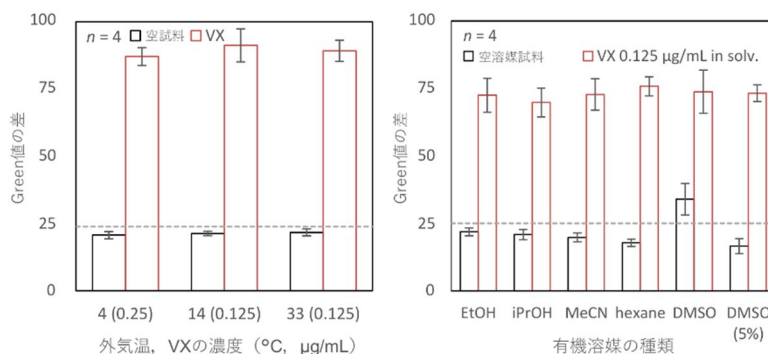


図2 温度及び有機溶媒の影響

《模擬検知について》

ドアノブやスイッチ表面から神経剤が検知されたケースを模擬し、ステンレス板及びプラスチック板上に残ったVXを展開液を浸潤させた綿で拭き取り、その展開液をそのまま紙製検査チップに導入して検査した。その結果、約5 ngのVXの検知に成功した。

《デバイス製造方法について》

実用化においては、有効期限がある程度長いことが必要である。この種の装備資機材は年1回の更新サイクルが一般的であることから、概ね2年程度の有効期限を有することが望ましい。本デバイスで使用する試薬のうち、最も劣化しやすいものはコリンエステラーゼであり、劣化が進むと偽陽性の原因となる。そこで、酵素をデバイスにアプライする方法について検討した結果、凍結乾燥状態で供給された酵素を有機溶媒に懸濁させてる紙にアプライする方法が、より長期の保存試験に耐えられることが判明した。

《まとめ》

本研究で開発した紙製検査チップが実用化すれば、従来現場検知が困難であったものを含む様々な性質の神経剤を高感度に検知することが可能となる。この分析デバイスは製造コストが非常に安価なために配備が容易であり、テロ発生現場における検知のほかにも、搬送患者や救急隊に付着した神経剤の除染確認や、最近化学テロ災害時における非医師による使用が解禁された神経剤解毒剤自動注射器の現場使用の際の判断に大きく役立つことが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yamaguchi Akinori, Miyaguchi Hajime, Ishida Akihiko, Tokeshi Manabu	4. 巻 4
2. 論文標題 Paper-Based Analytical Device for the On-Site Detection of Nerve Agents	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 ACS Applied Bio Materials	6. 最初と最後の頁 6512 ~ 6518
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acsabm.1c00655	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Yamaguchi Akinori, Miyaguchi Hajime, Ishida Akihiko, Tokeshi Manabu
2. 発表標題 An inexpensive μ -PAD for the colorimetric detection of nerve agents in on-site samples using small sample volume
3. 学会等名 Micro TAS 2021（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山口晃巨、宮口一、石田晃彦、渡慶次学
2. 発表標題 神経剤検知用紙製マイクロ流体デバイスの開発
3. 学会等名 日本分析化学会第71年会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 検知デバイス	発明者 渡慶次学、石田晃彦、山口晃巨、宮口一	権利者 国立大学法人北海道大学、警察庁科学警察研究所
産業財産権の種類、番号 特許、特願2021-100887	出願年 2021年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	渡慶次 学 (Manabu Tokeshi) (60311437)	北海道大学・工学研究院・教授 (10101)	
研究分担者	山口 晃巨 (Yamaguchi Akinori) (50822087)	科学警察研究所・法科学第三部・研究員 (82505)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関