The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	高周波無電極水晶振動子バイオセンサーを用いたタンパク質層の粘弾性測定と卓上測定システムの開発
Author(s)	舎川, 知広
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/53951
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（舎川　知広）	
論文題名	高周波無電極水晶振動子バイオセンサーを用いたタンパク質層の粘弾性測定と卓上測定システムの開発

論文内容の要旨

本論文は，高周波の無線・無電極水晶振動子バイオセンサーを用いた，超音波の減衰の計測を必要としない，共振周波数の変化のみからタンパク質層の粘弾性特性の新たな評価手法の開発および卓上測定システムの開発の成果をまとめたものである．従来では成し得なかった超音波の共振周波数の変化のみを用いた粘弾性特性の評価に成功し，従来の測定システムと比べて主要構成装置のサイズの設置面積を1/10以下にすることに成功した．本論文は8章で構成されており，以下にその概要を示す．

第1章は緒言であり，バイオセンサーの重要性と各バイオセンサーの解説および従来のQCMの課題をまとめている．

第2章はQCMについての解説であり，第3章は本研究で開発したMEMSプロセスによる高周波無線・無電極バイオセンサーの作成と測定システムについて解説し，高周波の水晶振動子が理論的に粘弾性特性に対して高感度であることを解説している．

第4章では粘弾性特性の解析に用いた3層モデルを，第5章は実験で使用したタンパク質の概要をそれぞれ解説している．

第6章では本研究で開発した高周波の無線・無電極バイオセンサーを用いたタンパク質層の粘弾性特性の測定の実用性を評価するために，様々な系を用いて，免疫グロブリンG（IgG）との特異結合の検出実験を行い，その周波数応答からタンパク質層の粘弾性特性を解析した．その結果，670 pMのIgGの検出に成功し，特異結合によってタンパク質層の剛性が上昇し粘性が低下することを明らかにし，タンパク質層の粘弾性特性が，その構造をよく反映することを確認した．

第7章では，実用性の向上のため，卓上測定システムの開発を行い，そのシステムの基本性能と粘弾性特性の評価への適用可能性を評価した．システムの主要な構成要素であるネットワークアナライザとシールドチャンバーの小型化により，これらの設置面積を1/10以下にし，システムの小型化に成功した．卓上分析システムを用いて67 pMという低濃度のIgGの検出に成功し，バイオセンサーとしての十分な性能を有することを確認し，多段注入での各注入における粘性の変化を共振周波数の変化から解析し，粘弾性特性の評価に適用可能であることを確認した．

第8章では，本研究の総括を述べている．

様式7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（舎川　知広）		
論文審査担当者	（職）	氏　名
	主査　教授	平尾雅彦
	副査　教授	小林秀敏
	副査　教授	三宅　淳
	副査　准教授	荻　博次

論文審査の結果の要旨

本研究は、無線・無電極技術とMEMS技術により製作されたRAMNE-Q（Resonance Acoustic Microbalance with Naked-Embedded Quartz）バイオセンサーを利用して、高周波振動のエネルギー散逸を測定せずに、共振周波数の変化のみを測定し、生体分子間の相互作用をタンパク質層の粘弾性特性を通じて評価する基本原理を提案するものである。この手法では高い基本共振周波数を有する水晶振動子を無線・無電極の状態で駆動し, 複数の高次モードにおける共振周波数変化を計測し、逆計算によって粘弾性特性を経時的にモニタリングすることが可能であることを明らかにした. さらに、医療・臨床検査分野での実用化を目指して、装置構成の小型化を図り、卓上の測定システムを構築した。

まず、単純せん断振動するATカット水晶振動子、Voigt粘弾性体であるタンパク質層、および粘性を持つ溶液層からなる複合３層モデルを考え、解析的に共振周波数変化の支配因子がタンパク質層の膜厚、粘性係数、および剛性率であることを見いだした。さらに、高周波数の高次モードがタンパク質層の粘弾性特性に敏感であることを確認した。これにより、散逸エネルギー測定に基づく従来法の低い感度と信頼性の課題を解決できることが示された。

続いて、SPG（連鎖球菌プロテインG）を固着させた基本共振周波数58MHzの水晶振動子によるIgG（免疫グロブリンG）の検出実験を実施し、第７次の共振周波数までをリアルタイムに計測した。SPGとIgGの特異結合では、粘性係数が低下し、剛性率が上昇する結果となり、各分子が互いに支え合う構造を形成していく過程を捉えることができた。また、結合反応中にその構造が再構成されること、非特異吸着していた分子が特異結合してより密な組織に移行することが確認された。周波数応答がタンパク質層の成長の一つの指標となることを証明した。

以上のように、タンパク質層の構造が結合を伴いながらダイナミックに変化していく過程をRAMNE-Qバイオセンサーを用いた粘弾性特性の評価から明らかにすることに成功した。本研究は、生体分子化学の分野において新しい指針を提案するものであり、博士（工学）の学位論文として価値のあるものと認める。