



Title	キャピラリカを用いたマイクロ流体制御の機構解析とバイオセンシングへの応用
Author(s)	橘, 宏明
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/53999
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、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >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

論文内容の要旨

氏 名 （ 橋 宏 明 ）	
論文題名	キャピラリカを用いたマイクロ流体制御の機構解析とバイオセンシングへの応用
論文内容の要旨 界面物理現象を利用したキャピラリカ送液制御は、外力なしで溶液の自律駆動が可能なマイクロ流体制御方法であり、バイオセンシングへの応用が期待できる。しかしながら、これまでの研究では、室温で、かつ短距離の送液制御に限られていた。遺伝子計測バイオセンシングのPCR (Polymerase Chain Reaction) をはじめ、より広範なバイオセンシングへの応用展開を切り開くためには、高温かつ複数の温度環境における、長距離の送液制御が不可欠である。そこで本研究の目的は、複雑な温度環境における長距離のキャピラリカ送液制御の機構解析と、そのバイオセンシング応用である。 本研究ではまず、キャピラリカ送液の機構解析を行うとともに、送液のシミュレーションモデルを構築した。これまでマクロにとらえていた圧力損失を微視的にとらえ、微小領域の足し合わせと考えることで、流路サイズや温度変化を考慮した理論式の導出に成功した。また、重要パラメータである粘性やキャピラリカを実験的に求め、キャピラリカ送液のシミュレーションモデルを構築した。これに基づき、単純直線形状、およびテーパ形状のマイクロ流路において、95℃と60℃の周期的変化を伴う環境下での溶液の挙動を明らかにした。シミュレーションと実測はよく一致しており、シミュレーションモデルの妥当性が検証された。その結果、150 μm幅および150 μm深さの直線形状のマイクロ流路がバイオセンシング応用には最適であることが明らかになった。 PCR応用のためのマイクロ流体デバイスは、COP (Cyclo-Olefin Polymer) 板に作製した。マイクロ流路の親水化は、非イオン性の界面活性剤を用いることで達成し、周期的な温度変化を伴う環境下において、PCR溶液の1200 mmを超える長距離のキャピラリカ送液に成功した。その結果、ヒトゲノムDNA、大腸菌ゲノムDNA、大腸0157ゲノムDNAをターゲットとし、それぞれ18分以下で、検出下限4、0.0019、0.031 pg/μmの定量リアルタイムPCRに成功した。 さらに、別の応用例としてマイクロ流体イムノPCRによる、ストレスマーカーであるヒトIgAタンパク質の検出にも成功した。重要な課題であるDNAタグ設計に対して、大腸菌<i>uidA</i>遺伝子のDNA配列を詳細に解析するとともに、実験的なスクリーニングを行うことにより、イムノPCRに最適なDNAタグの設計に成功した。その結果、高感度でかつ広いダイナミックレンジをもつマイクロ流体イムノPCRによるヒトIgAの検出を達成した。 本研究では、複数の温度環境における、長距離のキャピラリカ送液制御に関して、理論的かつ実験的な機構解析を行い、シミュレーションモデルの構築に成功した。さらに、キャピラリカ送液制御のマイクロ流体デバイスを創出し、バイオセンシング応用を実証した。この成果は、マイクロ流体バイオセンシングの学問分野に重要な一ページを刻むものであるとともに、バイオセンサのプラットフォーム技術になる可能性を示すものである。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (橋 宏 明)			
	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	教授	民谷 栄一
	副 査	教授	小林 慶裕
	副 査	教授	井上 康志
	副 査	教授	高村 禅 (北陸先端科学技術大学院大学)

論文審査の結果の要旨

界面物理現象を利用したキャピラリ力送液制御は、外力なしで溶液を自律駆動させることが可能なマイクロ流体制御方法であり、バイオセンシングへの応用が期待できる。そこで本論文では、広範なバイオセンシングへの応用展開を目指し、高温環境、さらには複数の温度環境における、長距離のキャピラリ力送液制御の機構解析と、そのバイオセンシング応用について検討している。以下に、本論文における成果をまとめている。

1) キャピラリ力送液の機構解析を行い、さまざまな流路サイズや温度変化に対応可能なキャピラリ力送液のシミュレーションモデルの構築を行っている。キャピラリ力送液において、これまでマクロにとらえていた圧力損失を微視的にとらえ、微小領域の足し合わせと考えることで、流路サイズや温度変化を考慮した理論式の導出に成功している。また、重要パラメータである粘性やキャピラリ力を実験的に求め、キャピラリ力送液のシミュレーションモデルを構築し、これに基づき、単純直線形状、およびテーパ形状のマイクロ流路において、95℃と 60℃の周期的変化を伴う環境下での溶液の挙動を明らかにしている。シミュレーションと実測との比較も行い、その妥当性の検証も行っている。また、シミュレーションを駆使し、150 μm 幅および 150 μm 深さの直線形状のマイクロ流路がバイオセンシング応用には最適であることを見出している。

2) 遺伝子計測バイオセンシングの PCR (Polymerase Chain Reaction) 応用のため、COP (Cyclo-Olefin Polymer) 製のマイクロ流体デバイスを開発している。マイクロ流路の親水化では、非イオン性の界面活性剤を用いることを見出し、周期的な温度変化を伴う環境下において、PCR 溶液の 1200 mm を超える長距離のキャピラリ力送液に成功している。その結果、ヒトゲノム DNA、大腸菌ゲノム DNA、大腸 0157 ゲノム DNA をターゲットとし、18 分以下での高感度な定量リアルタイム PCR に成功している。さらに、別の応用例として、マイクロ流体イムノ PCR による、ヒト IgA タンパク質計測にも成功している。重要な課題である DNA タグ設計に対して、大腸菌遺伝子の DNA 配列を詳細に解析するとともに、実験的なスクリーニングを行うことにより、イムノ PCR に最適な DNA タグの設計に成功している。その結果、高感度でかつ広いダイナミックレンジをもつマイクロ流体イムノ PCR によるヒト IgA の検出を達成している。

以上のように、本論文は、複数の温度環境における、長距離のキャピラリ力送液制御に関して、理論的かつ実験的な機構解析を行い、シミュレーションモデルの構築に成功するとともに、キャピラリ力送液制御のマイクロ流体デバイスを開発し、PCR による遺伝子計測、イムノ PCR によるタンパク質計測のバイオセンシング応用を試みたもので、応用物理学、特にナノバイオデバイス分野に寄与するところが大きい。

よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。