

氏名(本籍)	佐々文洋(東京都)
学位の種類	博士(工学)
学位記番号	博甲第5640号
学位授与年月日	平成23年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	数理物質科学研究科
学位論文題目	液体プラグ操作によるプログラマブル化学分析チップの構築

主査	筑波大学教授	博士(工学)	鈴木博章
副査	筑波大学教授	工学博士	宮崎修一
副査	筑波大学教授	理学博士	中村潤児
副査	筑波大学教授	工学博士	山部紀久夫
副査	筑波大学准教授	理学博士	木島正志

論文の内容の要旨

近年、医療診断、創薬、生物・化学の基礎研究等への応用を目指した微小化学分析システム (μ TAS) の研究が活発に進められている。現在、この分野では、ある目的に特化し、ハイスループットな処理を行うシステムの研究が主流となっている。しかし、今後、実用化を推進し、応用分野を拡大するためには、どのような用途にも対応可能な汎用的なシステムが求められることが予想される。本研究では、半導体マイクロプロセッサのように、同一チップ上で、プログラミング次第で様々な分析・実験が可能な、バイオ/ケミカルマイクロプロセッサと呼べるデバイスの構築を目的とした。

ここで、重要な要素技術となるのが、ナノリットルオーダーの溶液プラグ操作である。プラグは微小流路中に液滴の形で存在する液体であり、プラグとプラグの間は空気や油など疎水性の物質で隔てられる。液体をプラグの状態扱うことにより、一つの流路中で複数種類の溶液を同時に処理することが可能になり、試薬の量は最小限で済む。本研究では、シンプルなT字流路の交点上で、計量・融合・入れ替え等の8つの基本操作の組み合わせにより、化学分析等で必要となる溶液操作を行えることを示した。さらに、本システムで問題点となりうる隣接するプラグ同士による汚染の影響について調べた。蛍光物質あるいは蛍光物質を固定したタンパク質を用いて、溶媒濃度、流路表面の疎水性、プラグの移動速度が汚染に与える影響について調べた。その結果、移動距離あたりの汚染率は、溶媒の濃度には依存せず、移動速度の対数に比例した。また、流路内壁に超撥水処理を施すことで汚染を大幅に抑制できることを確認した。また、生化学分析への応用として、蛍光測定に基づくL-グルタミン酸の4サンプル同時測定を行った。L-グルタミン酸標準液の他、西洋ワサビペルオキシダーゼ、Amplex Red、L-グルタミン酸オキシダーゼを含む複数の溶液を計量後、順次混合し、蛍光強度を調べた。その結果、L-グルタミン酸濃度0.6 μ Mから5 μ Mの範囲において、高い再現性で蛍光強度と濃度の間に直線的な関係が認められ、本システムで複雑な手順を必要とする生化学分析を行えることが示された。

本研究では、さらにプラグのような微量試料中の成分を分析可能な集積化オンチップクーロメトリックセンシングシステムの作製を試みた。一般に、クーロメトリック測定では、試料体積の計量精度が測定に影響

を及ぼす。そこで、表面張力を利用したデジタル式計量機構を新たに考案した。この機構を用いて 520 nL のプラグを連続形成したところ、相対標準偏差は 1.2% 以内に抑えられ、十分な計量精度を得ることができた。また、流路高さ、電極の形状が検出感度、検出限界に及ぼす影響について検討した。その結果、検出部のみ流路高を低くし、アレイ状微小作用極を配置したデバイスを用いた過酸化水素測定で、410 nM の検出限界を実現した。さらに本センサで L-グルタミン酸酸化酵素を用いた L-グルタミン酸測定を行ったところ、0.1 ~ 1.0 mM の範囲で再現性の良い検量線が得られ、本デバイスで液体プラグ中での生化学物質測定が可能であることを確認できた。

従来のほとんどのマイクロフルーイディックデバイスでは、マイクロシリンジポンプ等の外付け式ポンプによる送液が行われてきたが、これでは微小化のメリットが活かしきれない。そこで、微小流路中でのプラグ操作を行うために、シンプルな形状記憶合金型マイクロポンプを作製した。このデバイスは、電気化学エッチングにより形成した複数のスリットを持つ形状記憶合金マイクロシートにシリコーンチューブを挿入するという非常にシンプルな構造となっている。また、このデバイスを 2 個直列に接続することにより、ステップ駆動型ポンプを構成し、双方向への自在な送液を実現した。本研究では、さらに作製したマイクロポンプを駆動するための制御回路、および JAVA 言語によるコントロールソフトウェアも作成し、プラグの計量分割・混合等の操作を全自動で行う制御システムを構築した。また、このシステム上で効率的にプラグ操作を行う操作アルゴリズムを考案し、実装することで、分析処理の高速化を行った。

本研究では、最後に上述の汎用液体プラグ操作流路、クーロメトリックセンシングシステム、SMA マイクロポンプの各技術を 1 つのチップ上に集積化した統合化学分析チップの作製を試みた。このチップに用いた形状記憶合金型ポンプは、前記のものを改良し、チップ上への集積化を可能にした。これに複数のパルス電力を周期的に印加したところ、2 W のパルスを用いたときに、最大 1 Hz で、流路の開閉動作を行うことができた。また、このチップの統合デバイスとしての評価のため、過酸化水素溶液プラグのクーロメトリーによる検出を行った。測定された電気量は、明瞭な濃度依存性を示した。

以上の結果より、最終目標であるプログラミング次第で様々な化学分析を行えるバイオ/ケミカルマイクロプロセッサの原型が完成し、その概念を実証することができた。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文では、医療診断、創薬、生物・化学の基礎研究等への応用を目指し、汎用的な溶液処理システムとセンシングシステムを統合したバイオ/ケミカルマイクロプロセッサとも呼べる新規なデバイスについて述べている。

まず、溶液プラグを処理するためのマイクロフルーイディックデバイスについて述べている。プラグの計量、融合、入れ替え等の操作を効率的に行うために、T 字型流路の使用を提案し、これにより L-グルタミン酸濃度の一括測定ができることが示されている。T 字型流路の使用は従来の研究には見られなかった興味深い斬新なアイデアであり、高く評価できる。

微小化学分析システムにおいて、センシングシステムは心臓部である。プラグ中の電極活物質を電気化学的に定電位で電流値の変化により検出する場合、検出対象である電極活物質の枯渇に伴う急激な電流値の減少により、高感度な測定が難しくなる。本論文では、電気量測定（クーロメトリー）により、この問題が解決できることを述べている。検出部の流路高を低くし、微小電極アレイを用いることにより、感度を増大させるとともに、ノイズを低減し、検出下限を下げるができることが示されている。これらのアイデアは、これまでの同分野の研究には見られなかったオリジナルなもので、微量サンプルの高感度センシングを実現する上で有力な手法となることが期待される。ここでは、さらに、ひし形流路における表面張力の変化

を巧みに利用したプラグ計量機構についても述べている。流路の形状を工夫することにより、デジタル式にプラグの計量を行うアイデアは実にユニークであり、実用的である。

本論文では、従来のポンプに代わり、プラグをチップ上で移動させるための形状記憶合金型マイクロポンプについても述べている。ポンプに限らず、形状記憶合金型アクチュエータの駆動には、形状記憶合金を変形させるためのバイアス力が必要である。従来のデバイスでは、バネや空気圧等が用いられてきたが、デバイス構成が複雑になるという問題があった。この問題を解決するために、マイクロフルイディックデバイスで良く用いられるシリコーンゴムチューブをバイアス力の発生源として使用している。また、2つのデバイスを使用したペリスタティックポンプについても述べられている。このようなシンプルな構造・動作でプラグの移動を行える点は、デバイスの集積化を進める上で重要なポイントである。

本論文では、最終的にセンシング機能と送液機能を集積化した統合的デバイスの実現可能性について述べている。集積化マイクロポンプを搭載した送液機構、クーロメトリックセンシング機構により、外部から電気信号を与えるだけで溶液操作とセンシングを行えるマイクロチップが実現できたことは、この分野に於いても画期的であり、今後の研究に一つの方向性・可能性を示すことができたのではないかとと思われる。

よって、著者は博士（工学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。