

氏名(本籍地)	Thangavel Lakshmipriya (インド)
学位の種類	博士(工学)
学位記番号	博甲第6838号
学位授与年月日	平成26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	

High-Performance Aptasensors: Poly(ethylene glycol)-tethered Surface Construction to Quench Bio-fouling and Enhance Sensitivity

(アプタマーを用いた高感度なセンサー：ポリエチレングリコール固定化表面による非特異的な物質吸着の抑制と感度の向上)

主査	筑波大学教授	長崎幸夫	工学博士
副査	筑波大学教授	鈴木博章	博士(工学)
副査	筑波大学教授	丹羽 修	工学博士
副査	筑波大学准教授	辻村清也	博士(農学)

論 文 の 要 旨

Reporting clinically relevant biomolecular interactions is mandatory in the field of medical diagnosis. The major prerequisite of biosensors includes measuring the specific target in a sample containing mixture of compounds, without compromising the convenience, specificity and sensitivity. It was reported that a densely packed poly(ethylene glycol) (PEG) tethered-chain surface shows high resistance to biofouling and increases the sensitivity. It is expected that PEG-derived polymers hybridized aptamer and target interactions on sensing surface will yield potential output. To fulfill this notion, human coagulating factor IX (FIX) protein was chosen as a model analyte because it has extremely low availability *in vivo* and important to detect defects in human blood coagulation system. Further, anti-influenza aptamers were generated to demonstrate diagnosis of intact virus. Sensor surfaces of Evanescent-field-coupled Waveguide-mode (EFC-WM), Surface Plasmon Resonance (SPR) and Surface Plasmon Fluorescent Spectroscopy (SPFS) were used to demonstrate the aptamer-protein interactions. On SiO₂ surface of EFC-WM PEG-b-poly(acrylic acid) (PEG-b-PAAc) blocking treatment completely prevents non-specific binding and reached the sensitivity to 100 pM, detection with coating of streptavidin-gold nanoparticle (GNP) by pentaethylenehexamine-terminated PEG (N6-PEG) improve the limit of detection to 100 fM. This detection limit of FIX was attained even in the presence of other coagulation factors or a realistic albumin concentration. With gold surface of SPR, co-immobilization of PEG-b-poly[2-(N,N-dimethylamino)ethyl methacrylate] (PEG-b-PAMA) and N6-PEG completely abolished the bio-fouling, whereas bovine serum albumin has shown higher non-specificity. The sensitivity was attained to 800 fM with aptamer-FIX-antibody sandwich and detected by GNP-conjugated anti-mouse IgG and selective FIX detection was shown with albumin containing sample and in human plasma. For detection on SiO₂ surface of SPFS, two aptamers were generated against influenza viruses (Tokio-virus and Jilin-Hemagglutinin), both aptamers have the values of K_d in the range of ~1 µg/mL against their targets. With the SPFS system in the presence of PEG-b-PAAc, the detection limits were determined to be low ng/mL. Through this work, it can be concluded that PEG-b-polymer constructed sensing surface is the potential way to develop high-performance faithful sensing systems and herein it is clearly demonstrated with different aptasensors. Further, preference of dual polymers on a given sensing system is shown to be with higher sensitive non-biofouling detections. This work will pave way to generate various sensing systems with the assistance of PEG-b-polymers for a wide range of ligand and analyte in clinical diagnosis.

審 査 の 要 旨

〔批評〕

論文審査及び質疑応答に関して、

1. 非特異吸着をおさえ、バックグラウンドを低減させることによりバイオセンシング性能の向上をはかるための設計として、2 種類のポリエチレングリコール-ポリアミンを設計し、バイオインターフェースの作製を行った精確な安定性評価など理論的に課題を考慮していることは、評価に値する。
2. バイオセンシングの高性能化で旧来利用されている抗体に代えてアプタマーを利用し、高度なバイオセンシングの系を構築している点で、評価に値する。特に上述したポリマーとの混合表面の役割を詳細に検討し、これが感度全体に与える影響を思考することは非常に重要なことである。
3. 本論文に記載した内容には、まだ投稿されていないデータも含まれ、今後論文としての投稿を行う必要がある。

〔最終試験結果〕

平成 26 年 2 月 19 日、数理物質科学研究科学学位論文審査委員会において審査委員の全員出席のもと、著者に論文について説明を求め、関連事項につき質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって、合格と判定された。

〔結論〕

上記の論文審査ならびに最終試験の結果に基づき、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。