

氏名	Tithimanan SRIMONGKON		
学位の種類	博 士 (生物資源工学)		
学位記番号	博 甲 第 7555 号		
学位授与年月日	平成 27年 9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	生命環境科学研究科		
学位論文題目	Creation of Bacterial Culture System on Paper by Application of Inkjet Printing (インクジェット印刷を活用した紙基板バクテリア培養システムの構築)		
主査	筑波大学教授	博士 (農学)	江前敏晴
副査	筑波大学准教授	工学博士	梶山幹夫
副査	筑波大学准教授	博士 (農学)	中川明子
副査	筑波大学教授	農学博士	大井 洋

論 文 の 要 旨

バクテリアの培養は一般的に手作業で行われ、種々の変動要因を含んでいることから、バクテリアを接種する形状と量が一定となるように制御する必要がある。そのため、本研究では紙とインクジェットプリンタを用い、微視的レベルで培地とバクテリアを分注することができる信頼性のある新規なバイオアッセイシステムを構築することを目的とした。インクジェット印刷の技術はドロップオンデマンドシステムによって液体を分注する用途に適している。近年、インクジェット印刷はオフィス機器としての用途だけではなく、フレキシブルプリントドエレクトロニクスや紙基板センサー、バイオ医薬品の分野にまで応用されてきている。本研究では、バクテリア培養システムの全ての工程で、分注装置としてインクジェットプリンタを使用した。一般的にバクテリアの培養には寒天が培地として使用され、ペトリ皿はその培地容器として使用される。様々な条件でのバクテリア培養試験では大量のペトリ皿が使われ、それを保管しておくための大きな空間を必要とする。そこで、省資源と省スペースのため、さらにはコンパクトで迅速な分析を可能にするため、容器として紙を使用することを考案した。紙は至るところで使用され、安価でリサイクル可能な材料であり、簡単に保管、移動、操作、廃棄ができる。さらに紙を親水性部分と疎水性部分に分けるパターンニングも容易である。培地を区画で仕切って収容するために、培地を固定する弱い親水性部分と培地同士の接触を防ぐ疎水性部分を紙に設ける必要がある。まず、ポリスチレンのトルエン溶液にろ紙を浸漬し、取り出して乾燥させて紙全体を疎水化した。次にトルエンだけを親水性に戻したい小矩形部分にのみインクジェット印刷した。このエッチング処理では、その部分だけポリスチレンが溶出して周囲に押しやられ、弱い親水性となった。後段の工程として培地及びバクテリアのインクジェット印刷適性を検討した。バクテリアの細胞は

プリンタヘッドの狭いノズルを通過中に大きなせん断力を受けるが、それにもかかわらず十分に生存してコロニーを形成することを確認した。次に、インクジェット印刷に適した培地の選択を検討した。最初に検討した寒天は室温でゲル化するので取り扱いが難しく、硫酸で加水分解して適度な粘度に調節したところ、インクジェット印刷することができた。しかし、寒天の加水分解は時間を要し、保水能を低下させる問題が残った。二番目に、インクジェット印刷において操作性の優れるハイドロゲル培地としてポリビニルアルコール (PVA) の適用を検討した。PVAに架橋剤となるアジピン酸ジヒドラジド (ADH) を混合してゲル化させた。ゲル化の程度はPVAとADHの濃度と比率及び経過時間に依存する。混合比率4.5:0.5:95 (PVA:ADH:H₂O)が粘度とゲル化までの時間(数十分)の観点からインクジェット印刷に最適であることがわかった。しかし、寒天ほどのバクテリア成長速度には至らなかった。三番目に、アルギン酸カルシウムゲルを検討した。このハイドロゲルはアルギン酸ナトリウムと塩化カルシウムの水溶液の混合により生成され、加熱しても融解することがない。両水溶液は、比較的低粘度に抑えることでインクジェットプリンタを使って効率よく印刷でき、紙面上で瞬時にゲル化して培地を形成した。両水溶液のほか、酵母エキス等の他の成分の混合比率は、それぞれを色の異なるCMYKインクカートリッジに充填しておき、ディスプレイ上の画像でCMYK各色の比率を指定した色のパターンをデザインすることで自由に変えることができた。印刷された培地上でバクテリアが十分に成長することも確認することができた。他の2つのハイドロゲルと比較してもアルギン酸ゲルは取り扱いの容易さと印刷適性において最適であり、培地印刷には非常に有望な材料であることがわかった。総じて、本研究において紙の加工、培地材料、インクジェット印刷を統合した開発を行い、安定性と正確性に優れた効率的なバクテリア培養システムを構築することができた。

審 査 の 要 旨

この研究は、紙とインクジェットプリンタを使って、効率よく安定して培地成分の組成やバクテリアの摂取量を制御する自動化バイオアッセイシステムの開発を目指したものである。低粘度の水溶液をインクとし、それらの混合比率を画像上の色を変えて出力することによって制御することができ、印刷と同時に紙面上でハイドロゲルを瞬時に形成するシステムを構築することに成功した。三種類の培地を検討した結果、アルギン酸ハイドロゲルが最適であることを見出した。バクテリア培養における成長量の評価に手作業に由来する誤差が入り込む余地を極力排除するため、種々の微生物機能の評価に応用が可能なシステムを開発したことは非常に価値の高い成果である。

平成27年8月4日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもとに論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

よって、著者は博士(生物資源工学)の学位を受けるのに十分な資格を有する者として認める。