

氏名	Shishir Kanti Pramanik			
学位の種類	博士（工学）			
学位記番号	博甲第 8957 号			
学位授与年月日	平成 31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	Development of highly functional microfluidic devices for biochemical analyses (生化学分析のための高機能マイクロフレイディックデバイスの開発)			
主査	筑波大学教授	博士(工学)	鈴木 博章	
副査	筑波大学教授	理学博士	中村 潤児	
副査	筑波大学教授	博士(工学)	末益 崇	
副査	筑波大学准教授	博士(農学)	辻村 清也	
副査	筑波大学准教授 (連携大学院)	博士(工学)	栗田 僚二	

論 文 の 要 旨

近年、生化学分析を微小なチップ上で行う、微小化学分析システム (μ TAS) あるいは Lab-on-a-Chip の研究が活発に進められている。ここで、DNA やタンパク質は重要な検出対象であるが、その検出に際しては、被検液の他、幾つかの試薬を反応容器に導入して、順次反応を進行させる必要がある。ポイントオブケア (POCT)等の応用では、使用者の手を煩わせることなく、その場で迅速に検出を行う必要があるが、上記の操作を微小なチップ上で実施するには、微量溶液を効率的に交換するための機構が必要であった。本論文では、これを実現するための新たな手法とデバイスについて述べている。

第1章では、研究の背景と目的について述べている。まず、発展途上国での POCT による生化学分析の必要性について述べている。POCT を目指したデバイスでは、微量溶液を取り扱うマイクロフレイディックスの技術が基盤となる。これにより、携帯化が促進されるだけでなく、反応効率の向上、被検液、試薬量の低減も実現される。しかしながら、熟練していないエンドユーザーの使用を考慮すると、その操作方法とデバイス機能の単純化が求められる。これらについて現状のデバイスの開発動向を述べた上で、最後に本研究の目的について述べている。

第2章では、微小化されたバイオセンシングで必要となる、被検液や試薬溶液のセンシング部への逐次導入・排出方法について、新規な手法を提案している。この章の研究で作製したデバイスは、タンパク質の検出を想定し、一つの微小反応容器とそこ接続する8つの微小流路から構成される。微小流路末端には被検液または抗体等の試薬を含む溶液が充填される液だめが形成され、このいずれかに圧力を加えることにより、溶液を反応容器に順次注入する。また、使用後は、陰圧をかけることにより、反応容器から

液だめに溶液を戻す。本研究では、反応容器の底部を疎水性にする効果や、ブロック用溶液の粘性が溶液交換に及ぼす影響について調べている。また、このデバイスを用いて Interleukin 2 (IL-2) のサンドイッチ免疫アッセイによる検出も試みている。125 pg/mL から 2.0 ng/mL の濃度範囲で IL-2 濃度に依存する明瞭な蛍光強度変化が認められ、検出限界は 105 pg/mL であったことが述べられている。さらに、ここの溶液操作を自動化するために、PDMS の弾力性のある隔膜を可逆的に変形させる機構についても提案している。

第3章では、第2章で述べたようなマイクロフルイディクスシステムにおける送液で必要となる高吸水性ポリマーを利用したマイクロポンプについて述べている。高吸水性ポリマーは、その吸水性をさらに高めるため、凍結乾燥したディスクの形で使用している。高吸水性ポリマーとしては、ポリアクリル酸ナトリウムを使用し、酢酸セルロースを添加することにより、ディスク形状を維持している。この吸水性ポリマーを含むポンプは、移動させる溶液と直接させれば吸引ポンプになる。このポンプは一定の流量を維持することができ、水を吸引する場合の流量は平均 25.8 $\mu\text{L}/\text{min}$ であったことが述べられている。また、ポリアクリル酸ナトリウムと酢酸セルロースの比が 1:1.5 の場合、吸引の流量は水を吸引する場合に最大となり、0.70 $\mu\text{L}/\text{min}$ であったことが述べられている。一方、弾力性のある PDMS 隔膜で移動させる溶液と分離し、吸水性ポリマーを含む区画に溶液を導入すると、吸水性ポリマーは膨潤し、その体積変化は隔膜を通して移動させる溶液に伝わる。この機構を利用した加圧用ポンプを新たに作製し、評価したことが述べられている。流量は、流路の断面や吸引させる液体ポリマー円板の材質、被検液とその pH を変えることにより調節することができたことが述べられている。

第4章では、これまでに述べたマイクロフルイディクスシステム上の送液制御に用いることのできるスイッチング可能なマイクロ疎水性バルブについて述べている。このバルブは、白金電極上に形成された界面活性剤 (sodium dodecyl benzenesulfonate (NaDBS)) をドーブしたポリピロール (PPy) 膜から構成される。このポリピロール膜は、適当な電位の印加により還元状態、酸化状態を取り、この変化に対応して表面の濡れ性が可逆的に変化する。ドーパントの種類と電解重合の時間がポリピロール膜の濡れ性の変化に重要であることを述べている。流路方向の長さが 50 μm の平均のスイッチング時間は 5 秒であり、電位を電極に印加しない状態では、10 分以上溶液を安定に静止させることができたことが述べられている。また、ドーパント濃度を調節することにより、応答時間を短縮することができたことが述べられている。このバルブは構造がシンプルであるため、マイクロフルイディクスシステムへの集積化が容易であり、複雑な流路ネットワーク中でも、溶液を自由自在に動かすことができる。また、第3章で述べたマイクロポンプの動作をこのバルブで自動的に制御し、液だめと反応容器の間で複数の溶液の注入、回収を行うことができたことが述べられている。

第5章では、全体を総括している。

審 査 の 要 旨

[批評]

タンパク質のセンシング等では複数の溶液を用い、順次反応を進めてゆくが、これを微小なチップ上で行う上で、それらの溶液をいかに交換するかが課題であった。本研究では、溶液を使用後に廃液だめに

移動させるのではなく、それらが貯留されていた容器に戻している。この操作はシンプルであり、実用的なデバイスを実現する上で有利である。また、POCT 等への応用では、チップを含めた測定系全体が小型でなければならないが、本研究では、さらに高吸水性ポリマーを用いたシンプルな吸引、加圧用ポンプも実現している他、このポンプを自動的に駆動し、前記の溶液交換を実現するためのバルブも新たに提案している。以上の研究を通じて、高度に集積化された高性能なマイクロフレイディックシステムを実現する上での基盤が構築されたものを思われる。

本研究で提案された集積化マイクロフレイディックデバイスは、微小で携帯性に優れるだけでなく、ユーザーの手を煩わせることなく、免疫アッセイ等での効率的溶液交換を可能にする。今後、POCT 等への応用が期待される。

〔最終試験結果〕

平成31年2月8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。