

氏名	森岡 和大 <small>モリオカ カズヒロ</small>
所属	都市環境科学研究科 都市環境科学専攻 分子応用化学域
学位の種類	博士（工学）
学位記番号	都市環境博 第 180 号
学位授与の日付	平成 28 年 3 月 25 日
課程・論文の別	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題名	オンサイト測定を指向したマイクロ化学分析システムの開発と 感染症検査への応用
論文審査委員	主査 准教授 中嶋 秀 委員 教授 内山 一美 委員 准教授 加藤 俊吾 委員 教授 楊 明

【論文の内容の要旨】

マイクロ化学分析システム(μ TAS)は、マイクロメートルサイズの微小な流路を有するマイクロチップと呼ばれる手のひらサイズの基板を利用して、試料導入から反応、分離、検出に至る一連の化学分析操作を行うシステムである。 μ TAS は、試料や試薬量の削減のみならず、迅速な温度制御が可能、分析時間の大幅な短縮が可能であるなど、従来の分析手法に比べて数多くの利点を有することから、革新的な新技術として将来の発展が期待されている。これまでに、電気泳動、クロマトグラフィー、細胞培養、酵素センサ、免疫測定などへの応用研究が多数報告されているが、ポンプやバルブなどの送液に必要な周辺機器およびレーザーや顕微鏡などの検出に必要な周辺機器が大型かつ高価であるため、 μ TAS をオンサイトでの環境測定やポイントオブケア検査に適用することは現実的に不可能であった。

そこで本研究では、現場で、誰もが、簡便、迅速かつ高感度に測定が可能な、小型でポータブルな μ TAS を開発することを目的とした。すなわち、遠心力を利用したポンプレス・バルブレスな送液法および LED や有機 EL を用いる小型で安価な検出システムを新規に開発し、これらのシステムを用いたウイルス抗体検査などを詳細に検討した。

本論文は 6 章から成る。第 1 章は序論であり、 μ TAS の例、動作原理、微細加工法、検出法などを解説し、 μ TAS の現状と問題点を明らかにするとともに、本研究の目的および位置づけを示した。

第 2 章では、「有機 EL を光源とする小型蛍光検出システムの開発」について述べた。 μ TAS では試薬や試料の使用量が超微量であるため、レーザー誘起蛍光法や熱レンズ法などの超高感度な検出法が必要不可欠である。しかし、これらの検出法にはレーザーや顕微鏡など

大型で高価な周辺機器が必要なため、分析システム全体が大型化するという問題がある。そこで、光源に有機 EL を、受光素子に CCD を用いる小型で安価な μ TAS 用蛍光検出システムを開発した。これを用いて唾液中に含まれるストレスマーカーの一種である IgA の測定に成功した。

第 3 章では、「遠心力を利用する送液法の開発」について述べた。 μ TAS により多成分や多検体の同時測定を行う場合、多数の送液ポンプと試料導入用バルブが必要となるため、分析システム全体が大型化してしまう問題がある。そこで、5 つの試薬・試料用リザーバーと 1 つの分離検出チャンバーおよび廃液リザーバーが 8 ユニット搭載された CD 型のマイクロチップを作製し、遠心力を利用してリザーバー中の試薬・試料溶液を分離検出チャンバーに送液する方法を検討した。溶液がリザーバーから流れ出る回転速度は、リザーバーの位置(回転半径)、リザーバー出口のサイズ、溶液の表面張力、接触角などに依存する。これに基づいて、本研究では、CD 型マイクロチップの回転速度を段階的に増加させていくことにより、回転半径の大きな円周側に位置する試薬・試料用リザーバーから順番に溶液を分離検出チャンバーに送液できることをシミュレーションと実験の両面から明らかにすることができた。

第 4 章では、「CD 型マイクロチップを用いる分析システムの開発」について述べた。CD 型マイクロチップを用いる分析システムにおいても、検出に必要な周辺機器が大型かつ高価であるという問題が残されている。そこで、蛍光法、電気化学検出法および表面プラズモン共鳴(SPR)法の 3 つの検出法を用いる小型の検出システムをそれぞれ製作し、CD 型マイクロチップと組み合わせた新規分析システムを開発した。これらの CD 型マイクロチップを用いる分析システムを用いて、唾液中に含まれるストレスマーカーの一種である IgA の測定に成功した。

第 5 章では、「携帯型マイクロプレートリーダーの開発と感染症検査への応用」について述べた。本研究で開発した上記送液法や検出法は、分析システム全体の小型化に極めて有用であるが、測定操作に一定の技術が必要であった。また、オンサイトでの使用を考えると電源が必要なことも課題として残されていた。そこで、酵素免疫測定法(ELISA)で一般的に用いられている 96 穴マイクロプレートとマイクロプレートリーダーを小型化した、より操作が簡便なシステムを開発した。すなわち、遮光性 9 穴マイクロプレートおよび有機 EL とフォトダイオードを用いる蛍光マイクロプレートリーダーからなる ELISA システムを開発した。これを用いて、唾液中に含まれる IgA や血清中に含まれる麻疹 IgG の測定に成功した。また、光源に LED を用いた、耐久性に優れ、バッテリー駆動が可能で、Bluetooth 通信によりワイヤレス測定が可能な、より実用性の高い、手のひらサイズの携帯型 ELISA システムを開発した。ベトナム国立フエ医科薬科大学にて本システムの実証試験を行ったところ、市販のデスクトップサイズの ELISA システムと一致した検査結果が得られ、本システムを感染症検査に適用できることが確かめられた。

第 6 章では、本論文を総括するとともに、本研究で得られた知見を踏まえ、今後の展望

を述べた。本研究では、 μ TAS に関する研究の中でも進展が特に遅れていた送液系および検出系の小型化・集積化に着目し、これまでにない、より実用性の高い小型でポータブルな分析システムを開発した。開発した分析システムは、感染症検査のみならず、他の医療検査や食品分析、環境計測などにも適用可能であり、これらの分野における従来の分析法を飛躍的に革新する可能性を秘めている。このような分析システムが実用化されれば、人々の健康福祉や地球環境保全に多いに貢献できると考えられる。