

氏 名	末 吉 健 志
学位(専攻分野)	博 士 (工 学)
学 位 記 番 号	工 博 第 2892 号
学位授与の日付	平 成 20 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	工 学 研 究 科 材 料 化 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	Studies on High Performance Electrophoresis Using Functionalized Microchips (機能性マイクロチップを用いた高性能電気泳動に関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 大 塚 浩 二 教 授 松 原 誠 二 郎 教 授 小 寺 秀 俊

論 文 内 容 の 要 旨

本論文は、機能性マイクロチップを用いた高性能電気泳動手法についての研究結果をまとめたものであり、序論を含む本編 6 章および総括からなっている。

第 1 章は序論であり、本論文で著されている研究の背景や目的、意義、位置づけなどを述べている。

第 2 章では、泳動液と異なる組成の機能性溶液の部分的導入によるマイクロチップ電気泳動の高性能化を目指して、2 種類の溶液を連続して分離チャンネルに導入可能な T-クロス型チップを新たに作製し、陰イオン性ミセル溶液を用いたスタッキング法において、より電気伝導度の低いプラグを試料プラグの泳動方向前方に導入して電場強度を増幅させることで濃縮効率を向上させる手法のマイクロチップ電気泳動への適用について検討を行っている。その結果、T-クロス型チップを用いることで低電気伝導度のプラグを分離チャンネルに導入可能であることを確認し、低電気伝導度溶液を部分的に注入することで、分離・濃縮効率を向上させられることを明らかにしている。また、マイクロチップを用いた分析過程の直接観察が、その機構の解明や分析性能の向上に有用であることも示している。

第 3 章では、マイクロチップ電気泳動における分離溶液の部分的注入による分離効率の向上に関して、T-クロス型チップを用いたミセル溶液の部分的注入法の適用を検討している。電気泳動移動度がほぼ等しくゾーン電気泳動では分離できないローダミン誘導体がミセル溶液プラグの部分的注入により分離されることを示し、ミセル溶液プラグの導入量や試料の導入量が分離や感度に及ぼす影響について考察している。結果として、従来の理論では説明できない未知の濃縮機構の存在が明らかになったことを述べている。

第 4 章では、前 2 章で得られた知見を基に、部分的に分離・濃縮用のミセル溶液プラグを注入後、試料を大量導入することで、高感度かつ高分離能な電気泳動分析の実現を試みている。新たに分離溶液プラグのみでなく試料溶液も任意の体積で導入可能な 5 叉路型の流路形状を有するマイクロチップを作製し、このチップを用いて分離溶液の部分的注入および試料の大量導入時の分析過程を蛍光画像によって観察することにより、新たに『トラップ機構による試料濃縮』と『トラップからリリースされる時間の差による分離機構』が介在していることを見出している。これらの機構による試料濃縮・分離機構を『トランジエントトラッピング法』と命名し、その原理について詳細な検討を行っている。同手法により得られる濃縮効率は、キャピラリー電気泳動における高効率なオンライン試料濃縮法であるスウィーピングよりも高いことが示唆され、リリース時間の差による分離機構により、短時間で高効率な分離が達成できることを示している。結果として、新規に開発したトランジエントトラッピング法により、高感度かつ高分離能を達成するマイクロチップ電気泳動分析を実現したと結論づけている。

第 5 章では、非蛍光性試料の高感度検出が可能な熱レンズ顕微鏡をキャピラリー電気泳動の高性能検出法として適用するために、新たにキャピラリーを接続したインターフェースチップを作製し、それを検出場として利用するキャピラリー電気泳動-熱レンズ顕微鏡システムの開発を検討している。熱レンズ顕微鏡検出にオンライン試料濃縮法であるスウィーピング

法を組み合わせた結果、キャピラリー電気泳動において一般的な紫外吸光検出法と比較して最大で390万倍の高感度化が達成され、蛍光誘導体化の必要のない簡便な高感度分析の実現が可能であることを示している。

第6章では、マイクロチップ電気泳動において、ポリメチルメタクリレート製チップの分離チャンネル表面へのタンパク質の非特異的吸着を抑制するために検討されてきた表面修飾法の性能向上を目指し、1,2級アミンのカルボキシル基への求核置換反応を利用した一段階修飾法を開発し、アミノ基を有する陽イオン性ポリマーであるポリエチレンジアミンをポリメチルメタクリレート製チップの分離チャンネル表面に固定化している。このコーティング法は物理吸着による表面修飾法に比べ高い耐久性を示すことが確認され、タンパク質の非特異的吸着を静電反発により抑制することで、分離性能および分析の再現性が向上することを示している。

最後は総括であり、本論文の内容についてまとめるとともに、電気泳動分析研究における本論文の位置づけと将来へ向けた課題についても言及している。

論文審査の結果の要旨

本論文は、機能性マイクロチップを用いた高性能電気泳動手法についての研究結果をまとめたものであり、得られた主な成果は次のとおりである。

- 1) マイクロチップ電気泳動分析における機能性溶液の部分的注入による分離・濃縮効率の向上について新規T-クロス型チップを作製して検討し、低電気伝導度溶液の部分的注入で分離・濃縮効率の向上を達成するとともに、分析過程の直接観察によりその機構説明や分析性能向上が可能となることを示した。
- 2) マイクロチップ電気泳動分析において、試料溶液を任意の体積で導入可能な5叉路型チャンネルを有するマイクロチップを新たに作製し、分離溶液の部分的注入および試料の大量導入時の分析過程を蛍光画像により詳細に観察した。その結果、新たに『トラップ機構による試料濃縮』と『トラップからリリースされる時間の差による分離機構』が介在していることを明らかにし、これらの機構による試料濃縮・分離機構をトランジエントトラッピング法と命名してその理論的検討を行った。
- 3) 熱レンズ顕微鏡をキャピラリー電気泳動における検出法として適用するためのインターフェースチップを開発し、オンライン試料濃縮法との組み合わせにより紫外吸光検出法と比較して最大で390万倍の高感度化を達成した。
- 4) タンパク質のマイクロチップ内表面への非特異的吸着抑制のための表面修飾法としてアミノ基を有する高分子を一段階の反応で固定化する手法を開発し、従来法に比べ高い耐久性を得るとともに分離性能および分析の再現性の向上を達成した。

以上要するに、本論文は機能性マイクロチップを用いた電気泳動分析についての新たな知見をまとめたものであり、学術上、実際に寄与するところが少なくない。よって、本論文は博士（工学）の学位論文として価値あるものと認める。また、平成20年1月29日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。