

審査の結果の要旨

氏名 福場 辰洋

本論文は、主にマイクロ加工技術を応用して小型・自動の現場型遺伝子解析装置を実現するための基礎技術の研究に関するものである。深海・地底などの極限的な環境において、遺伝子を用いた分子生物学的解析及び、標的とした微生物(相)の検出等を目的として、実際に現場で用いることのできる遺伝子解析装置について検討を行っている。遺伝子解析装置を実現する為に必要な要素は、サンプルの回収から解析に至るまで、一連の要素技術に分けることができるが、本論文では特に、遺伝子解析において非常に重要な反応操作である、PCR(ポリメラーゼ連鎖反応)法を用いた遺伝子断片の増幅を現場で行うための小型・自動装置を対象としている。

具体的には、連続的な PCR を行うために Flow-through PCR 方式を採用し、マイクロ加工によって製作したガラス製温度コントロール基板及びシリコーンゴム(ポリジメチルシロキサン:PDMS)製微細流路チップに小型の送液系及び制御装置を組み合わせることによって「現場型 Flow-through PCR 装置」を製作し、その性能評価を行うことを通して、当該装置の設計要件について論じると同時に必要な技術要素の解決をはかったものである。

製作した装置を用いた性能評価として、まず、モデルとして用いた大腸菌ゲノム DNA から、標的とした遺伝子断片を高効率かつ高速に増幅することであることを示し、さらに、深海に代表される様な高圧環境下における PCR の可能性についても検討を行うために、高圧かつ低温の深海環境を模擬するシステム、「高圧実験水槽システム」を構築し、それを用いた高圧条件下 PCR を試みている。10MPa, 30MPa(それぞれ水深約 1000m 及び 3000m に相当)条件下で装置を稼働させ、PCR を行った結果、それぞれの条件下において標的とした遺伝子断片の増幅が確認され、高圧力による PCR への阻害効果などはほとんど見られないことが明らかになった。

本論文の第 1 章では研究の目的と概要、及びその背景、特に環境微生物を対象とした遺伝子解析についての概説と、現場型遺伝子解析装置の重要性が論じられている。

第 2 章では遺伝子解析において重要な要素である PCR についての説明がなされ、マイクロ加工技術によって制作されたマイクロデバイスについて、主に PCR を目的とした

ものを概観している。また、連続的な PCR を行うための方法として Flow-through（連続流動）PCR 法を挙げ、そのためのマイクロデバイスの特徴などについて述べている。

第 3 章では、現場型遺伝子解析装置の設計要件について、主に海洋環境で用いることを想定した議論を行っている。また、実際に稼働している海中探査機への搭載を想定した上で、さらに詳細な設計要件と、それを満たすために必要な技術課題の抽出を行っている。

第 4 章では高圧環境下における PCR の可能性を議論するため、PCR に不可欠な酵素である DNA ポリメラーゼ及び DNA に対する圧力の影響について考察し、起こり得る問題とその解決法等について論じている。

第 5 章では主に第 3 章で論じた設計要件に基づき、マイクロ加工技術を応用した Flow-through PCR 装置の製作のための具体的な設計について述べている。

第 6 章では、第 5 章で設計を行った Flow-through PCR 装置の製作、主に薄膜材料のウエットエッチングによるパターニングと PDMS のモールドイング(型取り)による微細流路構造の製作過程と表面処理プロセスについて述べている。また、送液系の選択、制御系の製作についても合わせて論じている。

第 7 章では本論文で製作した現場型 Flow-through PCR 装置を用いた基礎的な評価実験の結果を示している。また、高圧実験を行うためのシステムの構築についても述べ、それを用いた高圧条件下での PCR についてその結果と考察が述べられている。

第 8 章では本論文中において製作し、評価を行った Flow-through PCR 装置について、現場型遺伝子解析装置の一部としての要件を満たしているかについての考察を行っている。

最後に、第 9 章において論文のまとめと、現場型遺伝子解析装置実現のための今後の展開について述べている。

以上のように、本論文はこれまでほとんど議論されてこなかったマイクロ流体デバイスの極限環境での応用に着目し、その可能性と実現への道筋について世界で初めて議論を行ったものである。本論文によって研究、開発された技術は、今後の深海等の極限環境における現場遺伝子解析への道を拓くものであり、環境海洋工学に資するところがきわめて大きい。

よって本論文は博士(工学)の学位請求論文として合格と認められる。