

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

申請者氏名 藤井 紳一郎

マイクロチップ技術は分析化学分野において、装置の省スペース化、試薬使用量の低減や微小空間での反応効率化などが期待され、機能集積型化学システムとして近年注目されている。しかし、機械工学的要素を多く含み、生命科学分野など利用者側が容易に利用できる環境は整っていない。本論文は、マイクロチップ技術の生命科学分野への普及を目指して、マイクロチップ作製に関する要素技術の簡易化と、マイクロチップに適した高感度蛍光分析装置の開発に関する研究をまとめたもので、6章からなっている。

第1章の緒言では、マイクロ空間の特性や微小空間における光学分析など、マイクロチップ技術に関する、研究開始時までの知見、問題点について述べられている。マイクロチップ技術を利用するには、微細加工技術や、微量の試料を対象とした高感度分析技術などが必要とされ、機械工学的分野を中心に、マイクロチップに関する要素技術が開発されている。

第2章では、ガラスを素材としたフォトリソグラフィー法を改良し、微細簡易加工技術を開発した。ここでは、高粘性のフォトレジストを使用することで、通常の工程で用いられる金属薄膜を必要としない系を開発し、作業時間が大幅に短縮された。また、その他の作業に必要な装置、材料についても比較的安価で容易に入手できるものを選択し、簡素化を実現した。この簡易方法を利用して、造形線幅約 220 μm において、ロット間相対標準偏差=5.7%とマイクロメートルオーダーの造形をガラス上に比較的均一に作製することができた。

第3章では、蛍光分析に適したマイクロチップを作製するため、素材や加工方法および周辺技術を開発した。ここでは、PDMSを用いて、マイクロチップの作製を行った。PDMSはガラスよりも光学特性に優れ、光学分析に適した素材である。また、熱硬化時にコネクタなどの構造物を埋め込むことが容易にでき、硬化したPDMSは接着剤などを必要とせずに平面への貼り合わせが可能である。さらに、ガラス鑄型を用いたPDMSへの微細造形では、造形誤差が生じず、同じ形の複数のチップを作製でき、マイクロチップ素材としては極めて有効である。加えて、マイクロチップへ送液するための周辺技術の検討を行い、簡易に作製のできる、ポンプ駆動方法のマイクロチップシステムを作製した。

第4章では、微量試料を検出するための高感度分析手法として、蛍光分析法を選択し、マイクロチップ分析に適した蛍光分析装置の開発を行った。新規に開発した落射型蛍光ユニットは、マイクロチップの底面に光ファイバー経由で励起光を照射し、試料から発する蛍光をレンズで集光し、検出する装置である。この装置に位置の微調整が可能なホルダーと、開閉式の遮光蓋を付加した。また、蛍光光度計付属の分光器で励起、蛍光を波長分光でき、汎用装置の簡便な操作性を利用できる蛍光検出装置として設計した。本装置の評価

を行うため、亜硫酸イオンを蛍光誘導体化し、マイクロチップ上で蛍光検出を行った。本装置を用いて良好に蛍光検出でき、また、波長分光測定もマイクロチップ上で容易に行うことができた。感度比較をしたところ、微量の試料を対象とするため、同条件の測定を行った蛍光光度計での結果よりも濃度感度ではやや劣る結果となったが、絶対量では 2 桁良い結果を示した。

第 5 章では、作製した PDMS マイクロチップおよび落射型蛍光ユニットを用い、亜硫酸および亜硝酸イオンの蛍光分析を行った。また、各蛍光誘導体化反応の諸条件について検討を行い、同時蛍光測定ができる条件を探索した。検討の結果、蛍光誘導体化反応後の pH 調整により、両者の蛍光ピークを分離することができ、かつ蛍光強度を増感する反応条件が得られた。蛍光試薬で蛍光誘導体化し、pH 調整を行った反応溶液について、落射型蛍光ユニットの波長分光機能を利用し、360 nm の 1 波長で励起し、388 nm（亜硝酸イオン）、474 nm（亜硫酸イオン）の 2 蛍光波長を同時に検出する測定系を設計した。この蛍光測定系を用いることで、互いの蛍光による干渉を受けずにマイクロチップ上において両イオンを高感度かつ同時に分析することが可能となった。また、実試料分析においても良好な結果を得ることができ、分析系および分析装置が良好に機能した。

第 6 章では、本研究のまとめと今後の展望が述べられている。

以上、本論文は、機械工学的分野を中心として発展してきたマイクロチップ技術について、他の分野への普及を目指し、微細簡易加工技術を含むマイクロチップの簡易作製技術と、新規の高感度蛍光分析装置の開発を行ったものであり、学術上、および実用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。