

審査の結果の要旨

氏名 李相旭

本論文は、マイクロメートル領域の微小空間における流体の特性を活用して、これを制御しながら生体分子の解析を行うことを可能とするマイクロ流体プラットフォームに関するものである。マイクロフルイディクスは、nL（ナノリットル）から pL（ピコリットル）さらには fL（フェムトリットル）領域の液体を取り扱う技術の総称であるが、その領域の特徴として、流れが層流となること、表面積体積比が大きくなるために熱輸送の効率が高くなることなどが考えられる。近年、これらの特徴を活用することを目指すデバイスの研究が盛んに行われるようになったが、現在までのところ流体の操作性に乏しく、生体分子の解析において微小空間内の環境条件の制御を行う方法に関する議論は十分でない。本論文は、こうした問題意識に基づき、流体操作における制御性を向上するための実験プラットフォーム、すなわちマイクロ流体プラットフォームを構築し、これを2通りの生体分子解析に実際に適用して、その有効性を検討したものである。具体的には、マイクロポンプを搭載したマイクロポンプチップ、マイクロ流路が形成されたマイクロ流路チップならびに解析用途毎に用意するガラスチップの3つのチップを組み立て、流路内において多層流の形成や制御等が行える「マイクロ流体プラットフォーム」を構築している。このプラットフォームの有効性を検討するため、DNAの電気的インピーダンス計測ならびに回転型の生体分子モータである F1-ATPase の一分子計測に適用し、具体的な計測・解析を行った。

DNA のインピーダンス計測においては、高電界を印加する必要があるため、流れの無い状態で長時間実験を行うと、気泡が発生したり、電極反応によって電極の材料である金属が溶出するといった問題があった。これに対して、製作したプラットフォーム上において $100\mu\text{m/s}$ 以下程度の流れを与えながら計測を行うことにより、1Hz から 10MHz までの周波数領域をカバーし、最大 0.3MV/m の交流電界を印加することが可能となった。電気的な計測を行いながら顕微鏡観察を同時に行うことによって、高電界下における DNA の挙動が周波数領域毎のインピーダンスの変化に寄与している可能性を示唆している。

一方、F1-ATPase の一分子計測では、マイクロ流体プラットフォームの機能

を用いて多層流を形成し、ATP を含む流れの位置を移動させることによって、観察対象である F1-ATPase 分子に対する ATP の供給をオン・オフさせ、その回転挙動の観察を行うことに成功している。さらに、流速を変化させることによって F1-ATPase の回転数との関係について検討を行い、流路底面の近傍における流速を導出する可能性について議論している。

本論文の第 1 章では、研究の背景と目的について述べており、前半はマイクロフルイディクスの技術的な特徴ならびに現状に関する問題意識について、後半はマイクロ流体プラットフォームを導入して微小環境の制御性を向上することの重要性を論じている。

第 2 章では、生体分子解析に用いるマイクロ流体プラットフォームの一般的な構造と機能について述べている。

第 3 章では、マイクロ流体プラットフォームを用いて DNA のインピーダンス計測を行い、周波数帯によって異なる計測結果が得られ、それらが高電界下における DNA の構造と相関することが述べられている。

第 4 章では、マイクロ流体プラットフォーム上において多層流を形成し、ATP を含む流れを操作することによって、F1-ATPase の回転をオン・オフする実験について述べ、一分子観察による実験結果を示している。

第 5 章では、マイクロ流体プラットフォームを用いる実験系の発展事例として、F1-ATPase の回転と流路内の流速の関係について議論し、流れの中に置かれた生体分子モータの挙動を説明するメカニズムについて検討を加えるとともに、流路底面近傍における流速を明らかにしうる可能性について議論している。

最後に、第 6 章において論文のまとめと、開発したマイクロ流体プラットフォームに関する今後の研究の見通しについて述べている。

以上のように、本論文は、マイクロフルイディクスの生体分子解析への応用を想定し、精密な流体制御を実現するためのマイクロ流体プラットフォームを提案・構築し、実際に DNA やタンパク質の計測に適用可能であることを示したものである。本論文で研究・開発された技術は、今後ますます重要度が増すであろう生体分子の一分子レベルでの解析における先端的な技術基盤の一部を成すものであり、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。