

## 審査の結果の要旨

氏 名 西澤 一樹

高齢社会に対応した予防医学や低侵襲医療の発展のために、血液に含まれる微量なホルモンや病原物質などの生体分子を効率よく検出できる技術が求められている。標的分子を高感度に検出するために、抗体などのバイオ分子の安定性を維持し、かつ高密度に固定化することが重要となる。また、高感度化のためには非特異的なタンパク質の吸着反応によって誘起されるノイズを低減させ、さらに特異的シグナルを増加させることが求められる。このためには、マテリアル工学を基盤とした高機能なバイオ界面の構築が必要不可欠である。本研究は、機能性ポリマーのナノ構造体からナノバイオインターフェイスを創製し、マイクロ分析のための高感度免疫検出デバイスを実現することを目的とし、機能性ポリマーの分子設計、ナノ構造体の形状制御と免疫分析、マイクロチップでの検出に分け、系統的な研究を行っている。

本学位請求論文は全体で6章から構成されている。

第1章では、本研究の背景と意義、バイオセンサーの基本概念と理論、バイオセンサー表面に求められる要素について述べている。その中で、バイオ分析基板のナノ構造表面形状、バイオ分子固定化方法、表面特性に焦点をあて、これまでの研究手法をまとめた上で、新規な高感度バイオインターフェイスの設計戦略を提案している。

第2章では、基軸となる機能性ポリマーの分子設計と基本物性について報告している。非特異的なタンパク質吸着を抑制する目的で、2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine (MPC)を一成分とし、さらにバイオ分子固定化可能なリン脂質ポリマー、poly[MPC-*co*-*n*-butyl methacrylate (BMA)-*co*-*p*-nitrophenyloxycarbonyl poly(ethylene glycol) methacrylate (MEONP)] (PMBN)を合成し、系統的な評価を行っている。PMBN表面で、Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)を行うことにより、通常は不可欠なブロッキング処理をすることなくノイズレベルが低下することを確認し、これがMPCユニットの効果であることを見いだしている。またPMBNの活性エステル基に、穏和な条件下で抗体を化学的に固定化でき、この活性を長期間維持されることを明らかにしている。このことからPMBNがバイオ分子分析基板にとって優れたバイオインターフェイスとして機能することを示している。

第3章では、PMBNのナノ構造体をElectrospray deposition (ESD)法を用いて作製し、構造体の形状、水媒体中でのナノ構造体の安定性に関して系統的な検討を行っている。ESD法で作製したPMBNのナノ構造体は、水媒体中で親水性基であるMPCユニットが水和し、膨潤するためナノ構造体が崩壊することを見いだしている。そこで、PMBNの活性エステル基と反応し、ポリマー鎖を架橋できるジアミン化合物を添加してESDを行い、さらに熱処理をすると、架橋構造によって水への安定性が向上することを明らかにしている。このことにより、ESDで作製したポリマーナノ構造体が親水性基を持つ場合でも、架橋、熱処理により水媒体中でナノ構造体を維持できると結論している。

第4章では、ナノ構造体を用いた免疫分析と、その形状が感度に与える影響について検討している。ESDで作製したPMBNのナノ構造体上では、表面積の増加により抗体固定化量が増加し、その固定化量から抗体が三次元的に固定化されていることを明らかにしている。形状、水安定性の異なるナノ構造体を用いてELISAを行った結果、大きな表面積をもつ多孔性ナノ構造体であり、かつ水に対して安定にナノ構造体を維持する表面が、高感度化のために必要であると結論している。また、構造体維持のための架橋剤であるジアミン化合物の量を変化させて検討を行った結果、ナノ構造体の水安定性、残存活性エステル基の量、分子運動性の影響により、アミノ基と活性エステル基の比が1対2の場合に最も高いシグナルが得られることを明らかにしている。

第5章では、ナノ構造体表面を用いて、マイクロ流路チップでの微量検体の検出を行った結果を報告している。導電性部位をマイクロ流路内にパターンニング形成することにより、ESD法によるナノ構造形成の領域を制御でき、この手法がマイクロチップの表面処理法として有効であることを示している。さらに、マイクロ流路に溶液を流しながら化学発光量を検出するシステムを新たに考案し、ELISAを行ってその有効性を検討している。PMBNのESD表面は、ナノ構造体の効果により高撥水性を示し、それにより抗原抗体間の反応が阻害されるが、一次抗体を固定化する際の溶液に界面活性剤を混合することにより溶液の表面張力を低下させ、ぬれ性を改善できることを見いだしている。これにより、ナノ構造体内部にまで抗体を三次元的に高密度固定することが可能となり、シグナルが増加することを明らかにしている。またMPCユニットの存在によって、バックグラウンドは低い値を示し、高感度測定が可能となることを示している。また測定時間は通常のELISA法で求められる約4時間から20分間に短縮され、また検体量は200  $\mu$ Lから5  $\mu$ Lへと極めて少なくでき、迅速かつ微小検体量での測定を実現している。

第6章は本研究の総括である。高感度免疫検出デバイスのためのナノバイオインターフェイスのための要素に関して、機能性ポリマーのナノ構造体を用いて系統的な検討を行うことにより、これらを明らかにするとともに、マイクロ流路チップを利用した高速・高感度・微量分析を実現している。これらのことから、固液界面を精密に制御することにより、バイオ分子の反応のコントロールを行っており、高感度化の求められる多くのバイオ分析デバイスの界面設計へ応用できると結論している。本研究成果は高感度マイクロバイオ分析基板のためのマテリアル創製の新しい方法を提案し、これを実装した高度医療デバイスの実現により、高齢社会の医療に大きく貢献すると評価できる。

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。