

## 審査の結果の要旨

氏名 朴 耕徳

本論文は「A study on separation method and analysis of mobility of long DNA molecules in nanofluidic device」(ナノ流路デバイスにおける長い DNA 単分子の挙動分析及び分離法の開発に関する研究)と題し英文で書かれており、従来、一般的に使用されているゲル電気泳動方法で容易に分離ができなかった 20,000 塩基対(basepair)以上の長さを持つ DNA 分子を新たな方式を用いてナノ流体デバイスにて分離できることを示してある。ナノチャネルをより簡単に製作できる新しい方法を提案し、その中で単分子レベルでの DNA の挙動を観察した。さらに長さに依存する DNA の mobility をナノ流体デバイスにて新たに検証したものであり、新しい分離法の開発への応用ができ、ナノバイオ学術分野に大きく貢献できると期待される。この成果を達成するため、以下の方法を提案しその応用技術に関する一連の研究・開発で得られた成果をまとめたものである。

1. DNA 分子の物理的変形を繰り返すことが可能になる構造のナノ流路デバイスを用いて長い DNA の長さによる電気泳動内の流れ速度差を観察した。より長い T4-DNA の速度は、短い  $\lambda$ -DNA の速度より遅くなることが確認できた。
2. ナノ流路に圧力を掛けた状況で同時に電気泳動を実施し、DNA 分子の挙動を観察した。特定長さの DNA 分子は、電場の強度とナノ流路内の圧力勾配の強さを制御することにより停止、または収集することができる。一定の圧力勾配の下で、より長い T4-DNA 分子を停止させるために、電場の必要な強度は短い  $\lambda$ -DNA 分子よりも低くなったことが確認できた。

以上の結果から、ナノ流路デバイスにおいて、電気泳動と圧力の調整により、現在まで困難となった長い DNA 分子を迅速に分離できると期待される。

本論文は、全 8 章から構成されている。

長い DNA 分子の分離技術と既存の技術の検討より本研究の重要性を第 1 章で述べている。また、研究目的と本論文の概要を紹介した。この論文で先ず議論すべき DNA 分子の物性、電気的特性および関連プロパティや背景知識は、第 2 章で紹介している。このような背景で、第 3 章には、長い DNA 分子が従来の方法で簡単には分離できない理由を検討し、本研究での課題に対する新規開発の意義と指針について述べている。

DNA 分子の物理的変形の重要性に関しては、第 4 章の先頭部分に導入されており、新たな流体デバイスの製作を提案することにより諸課題の解決を試みている。流れの中で DNA 分子を変形させるために、適切な寸法と形状を提供するデバイスをシャドウ蒸着と KOH 異方性エッチング方法を用いて作製した。その結

果、2つの種類の新規ナノチャンネルデバイスをシリコン基板に製作し、特有のアラインメントによってチャンバーチャンネル形体およびボトルネック形体のナノ流路デバイスが製作された。

第5章では、作製したデバイスで、 $\lambda$  & T4-DNA分子の長さに依存するモビリティの特性が観測されている。チャンバーチャンネル形体のデバイスでは、DNA分子の繰り返し変形と再コイル化がDNA分子の長さに依存した現象に基づいてそのモビリティの差を明らかにした。ボトルネック形体の流路デバイスでは、低レベルの電場でDNA分子は圧縮されて狭い流路を通過する現象が実験的に観測できた。

第6章では、緩衝溶液のドリフトが生じる状況において長さに依存したDNA分子の電気泳動速度を観測し、その結果の単純な物理的モデリングと共に分析を行った。その結果、長いT4-DNAの電気泳動による流れ速度は、短い $\lambda$ -DNAより高速に流れる現象を見つけた。

第7章では、実際の長いDNA,異なる長さを持つ様々な生体分子らの分離プロセスの実用化を目指して、より簡単な構造を有するナノスリットの流路デバイスを試作し、分離方法の可能性を示している。圧力勾配を制御することによって、第6章に比べてより効果的に、長さに依存するモビリティ特性が観測された。特に、電場の強度とナノ流路内の圧力勾配の強さを制御することで特定のDNA分子を停止させることも成功している。

第8章「結論」では、本研究で得られた成果をまとめ、提案した長いDNA分離法に関連した技術の将来を展望し、取り組むべき課題を述べている。

このように、本論文には、革新的なナノ流路デバイス製作方法を考案し、ナノ空間での単分子レベルのDNA分子挙動特性を調べ、新に長いDNA分子の分離方法への構想とその有効性を実証している。本論文の研究成果は精密工学の発展と生体分子への応用に貢献するものであり、従来の分離方法を代替して、より効率的に種々の医療分野などに利用されることが期待できる。

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。