

審査の結果の要旨

氏名 石橋 亮

本論文は、拡張ナノ空間（数 10~1000 nm）の流路を用いた新しい液体クロマトグラフィー（拡張ナノクロマトグラフィー）を創成し、その性能や分離科学に関する研究結果をまとめたものである。近年、単一細胞プロテオミクス等において、極微小試料を高分離効率、高速で分離可能な新しい分離手法が求められている。現在、主として液体クロマトグラフィーが用いられているが、充填粒子の孔内部を分離場として用いるクロマトグラフィーには性能に限界があり、単一細胞体積（pL オーダー）以下の試料の高効率、高速分離は非常に困難であった。そこで本研究では、充填粒子の孔と同程度のサイズの拡張ナノ空間を直接分離チャンネルとして用いることで充填粒子を排除し、従来の限界を突破する革新的な液体クロマトグラフィーを創成することを目的とし、以下のような章の構成とした。

第1章 緒言

第2章 極微量インジェクションのための高圧・高速流体操作法の開発

第3章 拡張ナノクロマトグラフィーの確立と分離性能の評価

第4章 拡張ナノ空間の特異性が誘起される水系移動相を用いた分離への展開

第5章 結言と今後の展望

以下、各章について簡単に説明する。

第1章では、従来の液体クロマトグラフィーの微小化に関する背景を述べ、さらなる発展のための従来法の課題を明らかにした。次に、この課題を解決する手段として、拡張ナノクロマトグラフィーの着想をまとめた。また、拡張ナノ空間に関する研究の発展過程や、拡張ナノ空間に特異的な水物性についてまとめた。さらに、拡張ナノクロマトグラフィーを達成するための課題として（1）aL オーダーの試料インジェクションのための新規流体制御デバイスの開発、（2）拡張ナノ空間を用いたクロマトグラフィーの分離現象の解明と分離性能の評価、（3）拡張ナノ空間の特異性が誘起される水系移動相を用いた分離への展開の3つを挙げ、本研究の目的を明らかにした。

第2章では、拡張ナノクロマトグラフィーの実現のために必要な aL オーダーの試料インジェクションのために必要な高圧、高速の圧力操作法を開発し、従来の HPLC のインジェクション量よりも7桁小さい 180 aL の再現的なインジェクションを初めて実証した。また、

インジェクションの際のバンド幅の上昇の定式化も達成した。これらにより、単一細胞 (pL) よりも小さい aL オーダー体積のインジェクションの流体制御がはじめて可能になり、クロマトグラフィーや免疫分析、DNA 分析などの拡張ナノ空間を用いたアプリケーションへの応用が期待できる。

第 3 章では、拡張ナノ空間を用いた順相クロマトグラフィーを確立し、拡張ナノ空間の特異的な効果を排除し、サイズ効果のみによる分離の性能評価を達成した。その結果、従来の HPLC よりも 7 桁小さい試料量を 2 桁速い分離時間で、2 桁大きい分離効率での分離を実証した。また、実験結果が理論式と合致することに着目し、高い分離効率について考察した。その結果、拡張ナノ空間を用いて充填粒子を排除したことにより、原理的に分離効率が上昇したことを明らかにした。これにより本研究は、従来の HPLC の充填粒子の使用による試料量、分離時間、分離効率の限界を、桁単位で打破した革新的なクロマトグラフィーであることを実証した。

第 4 章では拡張ナノ空間の特異性が誘起される水系の移動相を用いた分離へ展開した。親水性相互作用クロマトグラフィーを達成し、バンド幅の増加が従来のバルクの Van Deemter の理論と異なる挙動を示すことを見出した。またこの挙動は溶媒の組成比に影響されることを明らかにし、拡張ナノ空間内の水の特異物性による流速分布の崩れが発生する可能性を指摘した。今後さらなる解明により、拡張ナノ分離科学の解明や従来のクロマトグラフィーの分離原理の解明が可能になると期待できる。また逆相クロマトグラフィーを達成し、従来よりも 6 桁少ないタンパクの分子数で分析が可能であることを示した。

第 5 章ではこれまでの研究をまとめた。また今後の展望として、拡張ナノの分離科学や従来のクロマトグラフィーの分離原理の解明のための研究ツールとしての展開、また応用として単一細胞分析の一枚の基板への集積化による、単一細胞の溶解液の高効率な分離、リアルタイム分離への展開について紹介した。

以上要約したように、本研究では拡張ナノ空間を用いた液体クロマトグラフィーを創成した。その結果、従来のクロマトグラフィーの性能の限界を打破する新しいクロマトグラフィーを実現した。これにより、単一細胞分析などの極微量試料を高効率に分離分析するデバイスを提供するとともに、拡張ナノ空間内の溶媒物性や分離原理の解明のための研究ツールとしても重要になると期待できる。

以上、原理の提案、装置開発から革新的分離性能の実現まで、従来のクロマトグラフィーの限界を突破する新しい方法を創成した。従って、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。