

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	多孔質膜の微細孔空間を反応場とする生体分子検出法の設計・開発
Title(English)	
著者(和文)	奥山浩人
Author(English)	Hiroto Okuyama
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第11468号, 授与年月日:2020年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:山口 猛央,上田 宏,大塚 英幸,大河内 美奈,田巻 孝敬
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第11468号, Conferred date:2020/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	論文要旨
Type(English)	Summary

論文要旨

THESIS SUMMARY

系・コース： Department of, Graduate major in	応用化学 応用化学	系 コース	申請学位 (専攻分野)： 博士 (工学) Academic Degree Requested Doctor of
学生氏名： Student's Name	奥山 浩人		指導教員 (主)： Academic Supervisor(main) 山口 猛央 指導教員 (副)： Academic Supervisor(sub) 田巻 孝敬

要旨 (和文 2000 字程度)

Thesis Summary (approx.2000 Japanese Characters)

本論文は、「多孔質膜の微細孔空間を反応場とする生体分子検出法の設計・開発」と題し、感度と迅速性を両立する医療検査用分子検出デバイスの構築に向け、多孔質膜が有する微細孔を高感度な反応場とした膜型センサーの開発と、溶液透過に基づく迅速な分子検出法に関する内容であり、7章より構成されている。

第1章の「緒論」では、分子検出センサーを構成する要素である分子認識素子、シグナル増幅、材料(基板)特性のそれぞれについて、既往の研究を系統的に整理すると同時に、これらの要素特性を利用したセンシングデバイスについて概説している。そのうえで、センサーの感度と迅速性を両立するための方策を系統的に理解する。さらにこれらの先行研究を基に、本研究で開発する膜型センシングデバイスと溶液透過による高効率な検出システムのコンセプトを示している。

第2章の「生体分子認識ゲート膜の作製と評価」では、アビジン(標的分子)-ビオチン(認識素子)系をモデルとしたゲート型膜センサーの作製法について示している。このセンサーは、細孔内に導入された刺激応答性ポリマーと分子認識素子によって、分子認識時のみ膜細孔を閉塞させることが可能である。本章では、汎用的で多様な認識系への適用のために、プラズマグラフト重合と高反応性、高選択性である Click 反応を組み合わせることで膜を作製しており、製膜前後の膜構造や各ステップでの反応率についても検討が行われている。

第3章の「検体溶液透過による分子検出と認識性解析」では、第2章で作製したゲート膜を用いた溶液透過型の分子検出試験について示されている。多孔質膜の細孔空間を反応場にするセンシングシステムでは、検体溶液への浸漬ではなく溶液透過を用いることによって、短時間で優れたセンシング特性が生じることを明らかにしている。同時に、分子認識後の膜構造解析や認識アビジン量に関する考察から、さらなる高感度化に向けた指針を獲得している。

第4章の「膜型イムノセンサーの作製と特性解析」では、膜細孔内への溶液透過による効率的な分子認識のアイデアを抗原-抗体系へと展開した膜型イムノセンサーの作製法を示している。センサー基板として、均一なシリンダー様細孔を有する track-etched 膜を用い、プラズマグラフト重合と活性エステル法を併用することで、抗体が集密化した細孔空間を達成している。さらに作製された膜型センサーの物性解析では、蛍光物質標識抗体を本手法で固定した膜を用いた断面方向の蛍光分布解析によって、均一かつ高密度な抗体固定を実証するとともに、細孔内への溶液透過に対しても高い抗体保持特性を有していることを明らかにしている。

第5章の「膜型イムノセンサーの検出性能評価」では、第4章で作製された膜型センサーを用いた、迅速かつ高感度な溶液透過型イムノアッセイについて示している。本章では、膜型イムノセンサーに検体及び反応溶液を積極的に透過させることによって約35分で検査を行うことが可能であり、検査に約3時間を要する従来の ELISA 法と比較しても短時間にも関わらず、より高いシグナル特性を発揮できることを明らかにしている。さらに、長時間の保存期間後においても高いシグナル特性を維持していることも実証されている。

第6章の「化学工学モデリングによる膜型センサー性能予測」では、化学工学モデリングを介して、膜型イムノセンサーの有効性を実証するとともに、さらなる高感度化に向けた指針を獲得している。既往の ELISA 法と膜型センサーの両方について、化学反応工学を基にしたモデルを構築し、両者の性能を比較することで本システムの優位性を示している。さらに膜構造、分子検出試験における溶液透過流速といった各種条件を変化させることによって、シグナル増幅に関するパラメーターの検討と性能予測が行われている。

第7章の「総括及び今後の展望」では、本研究の総括及び今後の展望を示している。

以上、本論文では、優れた分子検出デバイスの開発を目指し、多孔質膜が有する微小細孔内を高感度な反応場とし、溶液透過によって高効率に分子認識を行うことによって、従来法よりも迅速かつ高感度な新規バイオセンサーの確立に貢献した。

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note：Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).

(博士課程)
Doctoral Program

論文要旨

THESIS SUMMARY

系・コース： Department of, Graduate major in	応用化学 応用化学	系 コース	申請学位 (専攻分野)： Academic Degree Requested	博士 Doctor of	(工学)
学生氏名： Student's Name	奥山 浩人		指導教員 (主)： Academic Supervisor(main)	山口 猛央	
			指導教員 (副)： Academic Supervisor(sub)	田巻 孝敬	

要旨 (英文 300 語程度)

Thesis Summary (approx.300 English Words)

In this study, a new rapid and sensitive biosensing system using the pore space of a porous membrane as the reaction space is developed. In the membrane-based sensor, the receptors are efficiently and densely immobilized in the pore using plasma-induced grafting technique, and the molecular recognition can be promoted by solution permeation. Firstly, this study demonstrated the effective recognition system via solution permeation with biomolecule-recognition gating membrane which can close its pores by recognizing target molecule. In the method, the tiny signal of the target biomolecule is amplified as obvious pressure change. This offers clearly higher sensitivity compared to the recognition via membrane immersion to sample solution with significantly shorter recognition time.

Then the idea using permeation to the membrane pore was also extended for the immunosensing using antigen-antibody reaction in the pore. The capture antibodies (receptors) are covalently and densely immobilized inside the membrane pores by the uniform introduction of grafting polymer via the plasma graft polymerization technique, followed by the active ester method. This membrane shows excellent antibody retention by covalent binding. The detection test was carried out via a sandwich-type assay, and all reaction steps from the antigen-antibody reaction to the enzyme reaction were conducted by permeating each solution into the pores. The detection test showed a signal comparable to that of the conventional enzyme-linked immunosorbent assay, although the detection time required in the test was shortened. The reason for achieving both high sensitivity and short detection time is that the antibody accumulated pore space with high selectivity and promoted contact between the reactants by solution permeation. This study is expected to aid the design of systems for membrane-based devices. It is further expected that this system could be applied to various diagnostic areas, including point-of-care testing.

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note: Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1 copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).