

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	超音波浮揚を利用した生体分子の微量計測 -検出原理の設計と実試料への応用-
Title(English)	Acoustic Levitation-Based Trace-Level Biosensing. -Design of Detection Systmes and Applications to Real Samples-
著者(和文)	宮川晃尚
Author(English)	Akihisa Miyagawa
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第11377号, 授与年月日:2020年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:岡田 哲男,小松 隆之,河野 正規,西野 智昭,福原 学
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第11377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)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

論文審査の要旨及び審査員

報告番号		甲第	号	学位申請者氏名		宮川 晃尚	
論文審査 審査員			氏 名	職 名		氏 名	職 名
		主査	岡田哲男	教授	審査員	西野智昭	准教授
		審査員	福原 学	准教授			
			小松隆之	教授			
			河野正規	教授			

論文審査の要旨（2000 字程度）

本論文は“Acoustic Levitation-Based Trace-Level Biosensing. Design of Detection Systems and Applications to Real Samples”と題し、7 章からなっている。

第 1 章 “Introduction”では、物理場を用いる粒子計測、マニピュレーション、分離に関する従来の研究を俯瞰し、現状用いられている方法の利点や問題点をまとめると共に、本論文の主題である音響場の特徴について述べている。また、これらを踏まえ本論文の目的を明らかにしている。

第 2 章 “Theory of Combined Acoustic-Gravitational Field”では、音響放射力の基本原理について述べると共に、本論文研究で用いた音場-重力複合場の原理と特徴について述べている。

第 3 章 “Principle of Detection Using Particle Levitation in a Coupled Acoustic-Gravitational Field”では、音場-重力複合場を用いてマイクロ粒子の音響物性を定量的に捉えられることを示し、それに基づいて微量計測原理が設計できると述べている。また、反応を介して密度変化を誘起すれば、浮揚位置から反応した分子数を数えることができることを述べ、これを実現するには高分子マイクロ粒子に対する金ナノ粒子の結合が有効であることを計算に基づいて示している。この際、結合した金ナノ粒子の数を決定するために必要な装置依存係数を密度の異なる複数の標準粒子を用いた浮揚位置計測から決定できることを示している。

第 4 章 “Detection of Avidin-Biotin Reaction”では、本論文の基本概念であるマイクロ粒子と金ナノ粒子の結合によるマイクロ粒子の密度変化の誘起と音場-重力複合場による計測を実証するために、アビジン-ビオチン反応を利用した結果について述べている。まず、この原理が予想通り働くことを確認するために、種々の厚さの金薄層を持つアクリル粒子の浮揚位置を計測し、浮揚位置と粒子の密度との関係を検討している。その結果、この原理が粒子の密度変化に応答していること、2 章の理論に概ね従うことを確認している。次に、アビジン-ビオチン反応によりマイクロ粒子上に金ナノ粒子を結合させ、複数マイクロ粒子および単一マイクロ粒子の浮揚位置と金ナノ粒子反応数との関係を求めている。この結果から、本論文で提案している概念が成り立つこと、アクリルマイクロ粒子では 100 個、ポリスチレンマイクロ粒子では 700 個の金ナノ粒子、言い換えるとこれらの数のアビジン-ビオチン間の結合を検出できると述べている。また、単一粒子浮揚を溶存ビオチンの計測に適用し、pM レベルの検出を可能にすると共に、粒子上でのアビジン-ビオチン反応の反応速度、平衡定数を決定し、溶液中での値との比較を行っている。

第 5 章 “Label-Free Detection of DNA/RNA Molecules”では、本論文の手法による核酸の二重鎖形成に基づく計測法を複数提案している。はじめに、粒子に直接結合した DNA 間の二重鎖形成を利用して、核酸塩基数と計測感度の関係を議論している。塩基数 8 と 9 の間に大きな感度ギャップが存在すること、粒子濃度の調整によりこの感度ギャップを制御できることを示している。この結果に基づいてサンドイッチハイブリダイゼーションを利用したラベルフリーの DNA および RNA 計測を設計し、その適用性について検討している。前者では、大きな感度ギャップのある塩基数を利用した設計により、一塩基多型の識別が可能であることを示している。後者では、異なる粒径を持つマイクロ粒子を利用することで、複数のマイクロ RNA の同時計測が可能であること、この方法がトータル RNA 中のターゲットマイクロ RNA の複数同時計測に適用できることを示している。

第 6 章 “Aptamer-Based Sensing of Small Organic Molecules”では、第 5 章の方法を利用して有機小分子の計測法を設計し、その特徴を明らかにしている。原理は以下の通りである。ターゲット分子と選択的に結合するアプタマーと相補的なプローブ DNA をマイクロ粒子、金ナノ粒子上に導入しておくことで予め金ナノ粒子を結合したマイクロ粒子を作製する。これをターゲットと混合すると、ターゲットとアプタマーが結合することで金ナノ粒子がマイクロ粒子から離脱する。これによりターゲット濃度に応じてマイクロ粒子の浮揚位置が変化する。この方法ではアプタマーとターゲットの結合定数に応じた感度変化と検出限界が得られる。これを利用してアプタマー-ターゲット間の結合定数を決定できることを示すと共に、実試料への適用性を検討している。結合定数の決定では金ナノ粒子の結合数を求める必要があるが、走査型電子顕微鏡による測定では明確に決定することはできず、超音波浮揚を利用して結合数を決定する必要があることを明らかにしている。

第 7 章 “Conclusion and Outlook”では論文を総括すると共に、本論文で得られた成果、知見に基づいて展開可能な研究について述べている。

以上要するに、本論文は、微少量の物質をマイクロ粒子の密度変化に変換し、それを音場-重力複合場における浮揚位置として捉える新たな計測原理を提案している。また、この方法を種々の反応計測に展開できることを示している点で理学上貢献するところが大きい。これにより、博士（理学）の学位論文として十分価値があるものと認める。

注意：「論文審査の要旨及び審査員」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。