

審査の結果の要旨

氏名 HOY CARLTON FUNE OGASAWARA

ホイ カールトン 舟 小笠原

イムノアッセイは、様々な疾患のバイオマーカーを検出するために広く一般的に用いられている。研究においては、検出物質に対する選択性、つまり特異性を確保しながら、高感度、迅速、低コスト、さらに簡便なシステムが求められ開発されてきている。

本研究では、このイムノアッセイにおいて、迅速で簡便な分析システムを提案することを目指した。迅速なイムノアッセイを達成するために、エレクトロスピニング法を用いて作製した高分子マイクロファイバーからなる不織布を活用した。ファイバー膜は、迅速なアッセイを可能とするため、反応溶液がマイクロファイバー膜の孔を透過できるように設計した。抗体が固定化されたマイクロファイバーに、抗原溶液を強制的に透過させた流体システムを構築した。このシステムを用いることで、抗原-抗体の反応時間を1分程度と短縮しても、十分な感度が得られる高速イムノアッセイプラットフォームを開発することができた。最後に、臨床応用としてのコンセプトを示すため、マイクロファイバー膜にマイクロサイズのスポットを反応場として形成させ、多項目検査用のイムノアッセイシステムを構築した。各章の内容を以下にまとめた。

1章は、本研究の戦略と目的を述べている。2章は、イムノアッセイの背景と、迅速なイムノアッセイを達成するために必要な技術である表面積増大効果についてまとめている。またエレクトロスピニング法でマイクロファイバーを作製し、その3次元構造体を用いることによる強制的な流体制御技術についてまとめている。このマイクロファイバーからなる3次元構造体をイムノアッセイのプラットフォームに用いる優位性と問題点についても言及している。

3章は、エレクトロスピニング法により、イムノアッセイ用の3次元構造体を作製する手法および条件検討をした結果である。特に高速で感度が十分に得られるイムノアッセイの目的には、孔サイズとファイバー径の制御が必須である。印加電圧、ポリマー溶液の濃度、湿度をパラメータとして条件検討を行い最適な構造を見出している。また抗体と抗原の接触頻度を高めることが、迅速かつ高感度なイムノアッセイの実現においては重要であり、ファイバー膜を積層化する技術も開発している。マイクロファイバーの3次元構造体と、流体を強制

対流するシステムと組み合わせることにより、高速に抗原を捕捉する機構を見出している。

4章では、マイクロファイバー膜が、サンドイッチ型のイムノアッセイの基材としての適応可能であるかを評価している。蛍光ラベル化二次抗体を用い、全体のアッセイ時間の短縮を図った。マイクロファイバーに一次抗体を固定化後、ブロッキング、抗原との反応、その後蛍光ラベル化抗体との反応、リンス後に蛍光輝度をシグナルとして検出というプロトコルを用いて、ヒト血清アルブミン (HAS) と中東呼吸器症候群 (MERS) の検査を試みている。HAS および MERS の検査ともに、通常1時間以上かかる検査時間を5分程度に短縮できることを示している。

5章では、3章、4章で真空ポンプを用いた流体制御法を見直し、持ち運びが可能な簡易診断システムとしての可能性を探る研究を行なっている。ここでは、ポリスチレンのマイクロファイバー膜に、酸素プラズマ処理を施すことで疎水性表面が親水性の物性になる性質を利用した。反応場をマイクロサイズのスポットとすることでアレイ構造を構築し、複数のターゲット抗原を同時に分析することを目指している。また真空ポンプを流体駆動に用いずに、シリンジを用いる簡便な操作での半定量分析を試みている。酸素プラズマ処理を施したスポットに、HAS と MERS のタンパク質をそれぞれ固定化し、それぞれと反応する抗体をラベル化抗体として用いて評価を行なった。これは、血液中の抗体残存量を検査する臨床応用を目的としたものである。マイクロファイバー膜とシリンジによる流体制御技術を用いる操作で、簡便に HAS と MERS の抗体を同時に検出することができることを示した。

6章は、本研究の結論と、エレクトロスピンニング法により作製した3次元マイクロファイバー構造体を利用した迅速イムノアッセイシステムの診断デバイスとしての将来展望についてまとめている。以上のように、本研究はマイクロファイバー構造が、迅速イムノアッセイのプラットフォームとして利用できる可能性を示した論文であり、材料学とバイオデバイスの研究として新たな知見を得た内容としてまとめられており、バイオエンジニアリング分野の発展に大きく貢献するものと確信する。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。