

審査の結果の要旨

氏名 ラハマン タンジルル

多くの国が急速に少子高齢社会に移行しつつある今日、医療にかかる経済的負担を抑えつつも質の高い医療サービスを持続的に提供を可能にするイノベーションの創出が喫緊の課題である。この課題を解決するための有力なアプローチとして診断技術の革新による予防医療の実現への期待が高まっている。本論文は、エレクトロニクスとマイクロ流体デバイスの融合・集積化に基づく、小型の低侵襲診断機器の実現を目指し、分子修飾された電極を用いたマイクロ RNA の無標識・高感度検出、ならびに信頼性に優れた新奇な微小参照電極の研究開発を行い、これらの要素基盤技術に関する研究成果を統合し、最後にエレクトロニクス/マイクロ流体デバイス統合システムの構築によるマイクロ RNA の全自動検出を達成している。本論文は以下の 6 章から構成される。

第 1 章は序論である。疾患診断の現状と近年ニーズが高まりつつあるポイントオブケア診断について概括するとともに、マイクロ流体デバイスや高感度バイオセンサーの開発現状をまとめている。また、体液検体を用いた低侵襲診断を可能にする疾患バイオマーカーとして循環型マイクロ RNA が有力な候補であることを述べている。これらの先端技術と知見を統合することにより実現が期待される次世代診断機器、すなわち、バイオデバイス技術を基盤とする微量診断装置を研究開発することの重要性を示し、本論文の目的を明らかにしている。

第 2 章では、微量の体液検体を用いた低侵襲診断を可能にする次世代診断機器に求められる諸性能を具体的に論じ、それらの達成に向けた研究開発の方針を明らかにしている。pM レベルの検出感度、 μl レベルの少量検体の使用、30 分間以内での短時間検出等を具体的目標として提示し、無標識マイクロ RNA の電氣的ハイブリダイズ検出、マイクロ流体デバイスによる検体操作、洗浄工程の自動化、迅速化等により、これらが原理的に達成可能と考えられることを示し、エレクトロニクス/マイクロ流体デバイスを統合した診断プラットフォームを開発する必要性の根拠を論じている。

第 3 章では、分子修飾した金電極を用いたマイクロ RNA の電氣的検出に関する研究が報告されている。本章では、マイクロ RNA 捕捉用のヘアピン構造を有する DNA プローブの設計、高感度検出用小型電子回路の設計ならびに試作、最適なハイブリダイズ検出、洗浄条件の検討、再現性に優れた電氣検出に不可欠な安定性の高い参照電極の新規開発について詳細が述べられており、特にメルカプトヘキサノールの自己組織化膜で表面修飾した銀/塩化銀を参照電極に用いることにより、測定時の核酸分子の非特異吸着の問題を回避するとともに長時間において安定な電位計測が可能になることを見出

している。miR-16 をターゲット分子、miR-21 をコントロールに用いて電極の電位シフトによる miRNA の定量測定を行い、検出下限 20fM の高感度検出を達成している。

第 4 章では、導電性酸化物である酸化ガリウムの単結晶基板を電極に用いるマイクロ RNA 検出が報告されている。塩基配列選択性に優れるマイクロ RNA 検出ではストリジエントな条件下でのハイブリダイズ検出が求められるが、3 章で報告された金電極においては、金 - チオール結合により固定されたプローブ DNA の安定性に課題がある。そこで、本章ではシランカップリングによる強固な結合を介して、プローブ DNA を導電性酸化物上に修飾したセンシング電極を作製し、電気的検出に用いた際の安定性等を評価し、バイオセンシングに適した電極材料であることを示している。また、電極と電解質溶液、ならびにその界面に形成される電気二重層で構成されるダイオード特性を示す電気回路に対して等価回路モデルを作成し、マイクロ RNA がセンシング電極に捕捉された際の電気二重層の変化を、電流 - 電圧特性のしきい値電圧(V_{th})、ならびに高電圧印加条件下($V > V_{th}$)での抵抗値の変化量から評価し、マイクロ RNA の定量検出を行っている。

第 5 章では、第 4 章で開発した分子修飾金電極と検出用電子回路を、マイクロポンプ、マイクロバルブを搭載するマイクロ流体デバイスに組み込み、マイクロ RNA を含む試料の操作、洗浄工程、検出の一連の作業を自動化した診断機器のコンセプト実証装置を試作している。この装置ではループ型流路内で試料を連続的に循環させることで、微小空間内でのハイブリダイズ反応の促進効果が期待でき、実際に 30 分以内で微量の miR-16 の検出が達成できたことが示されている。

第 6 章は以上の総括であり、さらに、エレクトロニクス/マイクロ流体デバイスの統合によるマイクロ RNA 診断機器の今後の展望について述べている。

以上、本論文は、将来の早期診断や予後診断等に利用可能な POC 診断機器の実現に向けて、エレクトロニクスとマイクロ流体デバイスを融合したマイクロ RNA 診断プラットフォームの構築に必要な要素基盤技術の開発とその統合システム化に関する研究をまとめたものである。開発された諸要素技術は、マイクロ RNA に限らず種々の生体分子の電気的検出を行うデバイスの技術基盤を与えるものであり、また、最終的に実証されたマイクロ RNA の自動検出システムの成果は、異種デバイス技術を高度に統合したバイオセンシング技術の医療診断への適用の正当性を大いに示唆するものである。

これらの成果は、バイオエンジニアリングの観点から有用性が高く、学術的にも価値が高いと判断される。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。