

## 論文内容の要旨

博士論文題目

遺伝子検査LoC (Lab-on-Chip) の設計手法とセンサから見た  
SNP 検出チップ最適化手法に関する研究

氏 名 田中 浩之

(論文内容の要旨)

ゲノム配列の約 0.1% の頻度で単独で塩基が置換される一塩基多型(SNP: Single Nucleotide Polymorphism)は個人の体質と関連性が高い。これまでの多くのデータ解析と研究の進展により SNP と疾患や薬効との関係が明らかになってきている。その結果いくつかの SNP は抗がん剤のマーカーなどに診断応用されつつあり、SNP 検出を病院などでその場で簡便に行える装置が求められている。

本研究では、専門技術者が大規模解析設備を持つ検査ラボで行っている SNP 検査を、病院の現場で微量血液から短時間で行うことを可能にする小型 SNP 検査 LoC (Lab-on-chip) 全自動検出システムを新規に作製することを行った。システムを構成する必要なコンポーネントを明らかにしてそれらを設計した後、寸法 3.2 x 2.8cm のチップ上にこれらコンポーネントを相互干渉が無い様にマイクロ流路を配置して集積した。ミキサー、マイクロリアクタ(PCR)、フィルタからなる前処理部は、高度熱分離による高速 PCR を実現したことにより最適条件下で、血液から DNA 抽出・増幅・精製を約 11 分で完了させることができた。研究途中段階で前処理部と後段の検出部で相反する薬液条件が明らかになったが、前処理部で発生する電気化学的 SNP 検出を阻害する副産物の削減を、血液およびプライマーを通常の約 3~10 分の 1 の低濃度とすることで両者のパフォーマンスを両立することに成功した。さらに電気化学センサの小型化限界を確認し、キャビティのカプセル化を施して 0.5 $\mu$ L まで、電流値の S/N 比を約 3 に確保して小型化できることを実験的に示した。これにより更なる小型化の可能性も示された。また検査操作の向上と、保存の容易性の確保のため、薬液の三群分離試薬凍結乾燥法を新規に作り出し、センサ電極上に乾燥試薬(ドライケム)を配置した SNP 検出センサを完成させた。

作製成された LoC は、研究で明らかになった最適処理条件により、1 $\mu$ L の全血から 1 時間以内に SNP 検出をすることができた。本研究で実現された LoC は、専門家に頼らず病院の現場で迅速な SNP 検査に実現に向けて役立つものと期待される。

|     |       |
|-----|-------|
| 氏 名 | 田中 浩之 |
|-----|-------|

(論文審査結果の要旨)

ゲノム配列中に約 0.1%の頻度で現れる一塩基多型(SNP: Single Nucleotide Polymorphism)は個人の体質と関連性が高く、SNP と疾患や薬効とを紐付ける研究が進んでおり、すでにいくつかの SNP は抗がん剤のマーカーとして診断応用されている。本件研究では、専門技術者が大規模解析設備を持つ検査ラボで行っている SNP 検査を、微量血液から 1 時間程度で行う小型全自動検出システムの実現を目指したものである。新規に必要なコンポーネントを設計して、相互干渉無い様に流路設計・集積配置をした小型 SNP 検査 LoC (Lab-on-chip) を作製し、この LoC の最適処理条件を決定して、1  $\mu$  L の全血から 1 時間以内の SNP 検出を実現した。以下に本研究の主な成果を示す

1. 小型化・高速化を可能にする送液・前処理・SNP 検出の機能を集積した寸法 3.2 x 2.8cm の LoC を設計・作製した。LoC の前処理部を構成するコンポーネントのミキサー、マイクロリアクタ(PCR)、フィルタの機能を確認し、血液から DNA 抽出・増幅・精製が約 11 分で行えることを実証した。
2. 前処理部の PCR 処理条件の最適化を行い、前処理部で発生する電気化学的 SNP 検出を阻害する副産物の削減を行った。血液およびプライマーを通常の約 3~10 分の 1 の低濃度とすることで副産物を低減でき、後段の電気化学的 SNP 検出でも十分な電流値の S/N 比を得られることを実験的に示した。
3. 使用する血液量を微量(1 $\mu$ L)にとどめるため、電気化学センサの小型化限界を確認した。キャビティのカプセル化などを行い電流値のバラツキを低減したセンサ実験より、容量が 0.5 $\mu$ L まで、電流値の S/N 比を約 3 に確保して SNP タイプが判別できる電気化学検出センサの小型化が可能であることを確認した。
4. 乾燥中副反応を抑制した三群分離試薬凍結乾燥を行うことで、センサ電極上に乾燥試薬（ドライケム）を配置した SNP 検出センサを完成させた。これにより検査操作の簡便性、長期保存性が確保された。

これらの成果により作製された LoC は、1 $\mu$ L の微量血液から SNP をその場で簡便に、かつ 1 時間以内での測定を可能にするものであり、その要素技術の確立と、バイオと MEMS 技術に基づく統合化の実現は学術的価値が高い。よって審査委員一同は、本論文を博士（工学）論文として認定した。