

2023年 8月 25日

豊橋技術科学大学長 殿

機械工学専攻
学位審査委員会
委員長

佐藤 海二



論文審査及び最終試験の結果報告

このことについて、博士学位論文審査を実施し、下記の結果を得ましたので報告いたします。

学位申請者	夏原 大悟		学籍番号	第 173154 号
申請学位	博士 (工学)	専攻名	大学院工学研究科博士後期課程 機械工学 専攻	
博士学位 論文名	マイクロ流体制御技術に基づく標的遺伝子の多検体・多項目同時定量診断システム (A Microfluidic-Based Quantitative Analysis System for the Simultaneous Detection of Multiple Nucleic Acid Targets in Multiple Samples)			
論文審査の 期間	2023年 7月 13日 ~ 2023年 8月 22日			
公開審査会 の日	2023年 8月 22日	最終試験の 実施日	2023年 8月 22日	
論文審査の 結果*	合格		最終試験の 結果*	合格
審査委員会(学位規程第6条)				
学位申請者にかかる博士学位論文について、論文審査、公開審査会及び最終試験を行い、別紙論文内容の要旨及び審査結果の要旨のとおり確認したので、学位審査委員会に報告します。				
委員長	足立 忠晴			
委員	柴田 隆行			印
	永井 萌土			印
				印

※論文審査の結果及び最終試験の結果は「合格」又は「不合格」の評語で記入すること。

論文内容の要旨

新型コロナウイルス感染症の経験と教訓を生かし、次のパンデミックへの備えとして、迅速・簡便・低コストに多検体・多項目の遺伝子検査が行える技術の確立が喫緊の課題となっている。本論文は、マイクロ流体チップテクノロジーと等温遺伝子増幅法（LAMP法）を融合し、1回の作業工程で複数種類の遺伝子検査を同時に行える診断システムの開発を目的としている。

第1章では、研究の背景として、マイクロ流体デバイスの研究開発動向を概説し、現状の技術的課題を抽出し、本研究の目的を述べている。第2章では、提案するマルチプレックス遺伝子診断デバイスの構成要素である横型ミキサにより検体・試薬の高効率な混合を可能としている。さらに、横型相ガイドを設置することで複数の反応容器への自律的な分注操作を可能とする流路デザインを提案し、蛍光LAMP法を実装することで、多検体の遺伝子診断が行えることを示している。第3章では、第2章で実用化に向けての課題となったデバイス性能の向上を目的とし、受動バルブとして縦型相ガイドを提案し、その配置を最適化したエアープラグインバルブ構造によって、デバイスへの送液可能な最大流量の向上と分注可能な反応容器数の制約条件を解除することに成功している。さらに、本デバイスの分注理論を構築し、設計指針を明らかにしている。第4章では、第2章で検討された横型ミキサの作製プロセスを簡略化するために、縦型ミキサを提案し、流路長手方向に対して障害物構造を非対称に配置することで、さらに高効率な混合を実現している。第5章では、ワックスリフロー援用ソフトリソグラフィ法を適用することで安定したデバイス作製を可能としている。さらに、電動ピペットを使用した診断プロセスの簡略化を実現している。また、現場即時検査を目的として、遺伝子増幅反応の陽性・陰性判定を目視で行える比色指示薬を用いて、本デバイス上で数種の標的遺伝子の定性診断が可能であることを実証し、診断システムの実装化を可能としている。第6章では、検体中の遺伝子の定量診断を目的とし、遺伝子増幅反応過程での反応容器の色の変化を画像解析するシステムを開発している。遺伝子増幅曲線の取得と理論関数へのフィッティングによって、遺伝子濃度の定量診断システムを構築し、その有効性を実証している。第7章では、複数検体の同時診断を目的とし、提案している遠心力を用いた送液に適した分注理論により、多検体・多項目の遺伝子診断を同時に行うことが可能な遠心送液型マルチプレックス遺伝子診断デバイスを開発し、その有効性を実証している。第8章では、本研究の成果を統括し、今後の展望を述べている。

審査結果の要旨

本論文では、高度な液体操作を実現する分注理論を提案し、その理論に基づいて極めて単純な流路デザインによってデバイスを開発し、さらに、画像色解析システムと統合することで、標的遺伝子の定量診断を多検体・多項目で実現するシステムを開発している。横型ミキサと横型相ガイド構造を組み込んだデバイスデザインを提案し、1回の作業工程で、植物ウイルス4種類の蛍光LAMP遺伝子診断を実現している。横型相ガイド構造と比較して、決壊圧力の設計自由度が高い縦型相ガイド構造を提案し、分注可能な反応容器数と導入流量を予測する理論モデルを構築している。その結果、デバイスに送液可能な最大流量を14倍に向上させるとともに、分注可能な反応容器数の制約を排除し、検査項目数の大幅な増加を可能としている。簡便なプロセスで作製が可能であり、かつ流路デザインを損なうことなく実装が可能な汎用性の高い非対称構造を有する縦型ミキサを提案し、広いレイノルズ数の範囲（ $Re=0.13\sim 13$ ）において高い混合効率（送液距離20mmで約90%）を実現している。デバイスに比色指示薬を用いたLAMP法を実装し、節足動物媒介性ウイルス、有毒植物、ヒト感染性ウイルス（新型コロナウイルスなど）、農作物病害虫、食物アレルギー物質の多項目遺伝子定性診断を実現している。さらに、遺伝子増幅反応中の反応容器の色の時間変化を解析するシステムを開発し、ヘルペスウイルスを標的とした検体ウイルス遺伝子濃度の定量診断に適用し、その有効性を実証している。多検体の同時遺伝子診断を実現するために、遠心送液型のデバイスデザインを提案し、分注理論モデルを構築するとともに、食物アレルギー物質の4検体・4項目の同時診断を実現している。

本論文において、開発されたマイクロ流体制御技術とその理論モデルは学術的に価値があり、それらに基づいて構築された診断システムは迅速・簡便な多検体・多項目の遺伝子の同時診断が可能であり社会的にも意義がある。以上、本論文は博士（工学）の学位論文として十分な価値を有するものと判断される。