

論文審査の要旨

| | | | |
|--|----------------|----|---------------|
| 博士の専攻分野の名称 | 博 士 (工 学) | 氏名 | XIAOXUE YE |
| 学位授与の要件 | 学位規則第4条第1・2項該当 | | |
| 論 文 題 目 | | | |
| Development of high performance analytical method for DNA fragments by capillary electrophoresis with electrokinetic supercharging preconcentration (動電過給前濃縮キャピラリー電気泳動法による DNA 断片の高性能分析法の開発) | | | |
| 論文審査担当者 | | | |
| 主 査 | 准教授 | 早川 | 慎二郎 |
| 審査委員 | 教 授 | 播磨 | 裕 |
| 審査委員 | 教 授 | 犬丸 | 啓 |
| 審査委員 | 准教授 | 竹田 | 一彦 (生物圏科学研究科) |
| 審査委員 | 特任教授 | 廣川 | 健 |
| 〔論文審査の要旨〕 | | | |
| <p>キャピラリー電気泳動法 (CE) は、クロマトグラフィーに比べ、迅速分析が可能で、試料や電解液量も少ないなど、HPLCにはない特徴を備えている。しかし、細いキャピラリーを分離・検出に使用するため、濃度感度が低いという問題があげられる。この点を改善するため、各種のオンライン前濃縮法が提案されている。中でも動電過給前濃縮法(EKS)は、等速電気泳動が成立する電解液条件を選択して、試料成分を狭いゾーンに前濃縮しながら電氣的に導入する方法である。EKSでは、希薄試料において電解液由来のターミナルゾーンが自動的に生成するため、従来、過渡的等速電気泳動法で必要とされたターミナルイオンの導入が不要であり、前濃縮操作が簡単である。更に電極配置を検討することによって、希土類イオンについてはICP-MSに匹敵する高感度化を達成している。一方、DNA断片のように大きなイオンのCE分析では、ポリマーをシービング剤とするサイズ分離を行うが(キャピラリーゲル電気泳動法, CGE)、従来は誘導体化して蛍光検出する方法が一般的であり、より簡便な紫外吸収検出法による高感度化は難しいと考えられてきた。本論文ではDNA断片分析の高感度化および高精度化をEKSで達成することを目的として研究を行ない、適切な分析法の開発に成功している。</p> <p>第1章では、CEの開発から現在までの発展経緯、応用例、CEの基本原理や装置について述べている。</p> <p>第2章では、EKSによる前濃縮について述べた後、定量分析の再現性に影響する因子の一つとして、電極間距離の変動に注目し、改善方法(電極間隔の固定化など)について述べている。</p> <p>第3章では、EKSシステムの希土類イオン分析への応用において、シミュレーションを参考に、ターミナルゾーンがどのようにして自動的に生成するか、その原理を述べている。</p> <p>第4章では、EKSシステムをDNA断片のCGE分析に適用するにあたって、電気泳動用支持電解液(BGE)中の試料と同じ電荷符号のイオンがリーディングイオンの役割を果たすために、移動度が大きいことが重要であり、シービング能を持ち粘度の低いBGEが必要であることを</p> | | | |

示している。更に、高感度化のためリング状電極を開発している。結果、72bp の断片について得られた検出限界は 7.7pg/mL で、通常の CGE にくらべ 10,000 倍の高感度化を達成している。これは世界トップレベルの成果である。

第 5 章では、極めて希薄な DNA 断片の溶液 (0.2 mg/L 以下) において、高電圧を印可して (10 kV/50 cm) 試料導入すると、DNA 断片の開裂などが起きるため、導入電圧に注意すべき (2 kV/50 cm) であることを見出している。またその原因について 2D シミュレーションを用いて考察し、局部的に極めて高電位勾配のゾーンが生成することを示唆している。

第 6 章では、DNA 断片の CGE 分析において、電極配置に注意しても定量再現性に問題がある事に注目し、その原因について考察している。結果、試料導入前に電極やキャピラリーを十分に洗浄しないと、BGE が薄膜として残り、EKS 時に試料導入に有効な電場の形成を妨害するため、試料導入効率が変化し、再現性を悪化させることを示している。洗浄なしでは面積再現性の RSD が 20% 以上であったが、これを回避する実際的な試料導入法によると 7~8% に低下することを示している。

第 7 章では、結論を述べている。

以上、審査の結果、本論文の著者は博士 (工学) の学位を授与される十分な資格があるものと認められる。 (1475 字)

備考：審査の要旨は、1,500 字以内とする。