

## 論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第 13575 号
------	---------------

氏 名 CHANG Di

### 論文題目

Measurement of the Mechanical Property of Unicellular Organism  
Using Microfluidic Chip and Atomic Force Microscopy  
(マイクロ流体チップと原子間力顕微鏡を使用した単細胞生物の  
機械的特性の測定)

### 論文審査担当者

主査	名古屋大学	准教授	丸山 央峰
委員	名古屋大学	教授	長谷川 泰久
委員	名古屋大学	教授	松本 健郎
委員	名古屋大学	客員教授	新井 史人

## 論文審査の結果の要旨

Chang Di君提出の論文「Measurement of the Mechanical Property of Unicellular Organism Using Microfluidic Chip and Atomic Force Microscopy（マイクロ流体チップと原子間力顕微鏡を使用した単細胞生物の機械的特性の測定）」は、微細操作とマイクロ流体チップを組み合わせによる新たな単細胞生物の機械的特性計測手法について明らかにしている。各章の概要は以下の通りである。

第1章では、本研究の背景と概念を紹介している。単細胞生物とは、単一の細胞からなる生物のことで、シアノバクテリア、大腸菌、酵母など多くの生物が含まれている。シアノバクテリアは光合成細菌の一種であり、様々な湿った土壌や水の中に生息しており、シアノバクテリアは光合成細菌の一種であり、光合成、バイオ燃料、環境ストレス適応など幅広い分野でモデル微生物として利用されている。酵母は、タンパク質生産、遺伝子解析、細胞培養などの研究に広く用いられている真核生物である。これらの単細胞生物が有するイオンチャンネルの機能はまだ未解明なものが多く、イオンチャンネルの働きが単細胞生物の機械的特性への影響を単一細胞レベルで精密に計測する必要があることについて述べている。

第2章では、シアノバクテリアの野生株と遺伝子組み換え微生物における機械的特性を測定するための測定システムを提案している。微小な単細胞生物の機械的性質を計測するために、光ピンセットとマイクロ流体チップを組み合わせた計測システムを構築している。光ピンセットはpNオーダーの力で標的細胞を操作することが可能で、チップ中に作製した2つのプローブ間の隙間に搬送し、標的細胞をプローブで挟み込み力を印加することで、細胞への印加力と細胞の変形量から細胞の硬さを計測するものである。計測システムのコンセプト、マイクロ流体チップの設計・製作、チップ上に作製した梁型センサのバネ定数の較正方法について述べている。

第3章では、シアノバクテリアの野生株と遺伝子組み換え株の2種類の細胞を3つの浸透圧条件下で測定したときのシアノバクテリアのヤング率について計測した結果を述べている。シアノバクテリアの*Synechocystis* sp.株PCC6803を用い、遺伝子組み換えを行わない野生株(WT)とメカノセンシティブチャンネル(MscL)の欠損変異株( $\Delta$ mscL)の2種類の細胞について、培養環境と同じ浸透圧(正常状態)、培養環境より低い浸透圧(低浸透圧)、培養環境より高い浸透圧(高浸透圧)の環境でヤング率を計測した。その結果、 $\Delta$ mscLについては、正常時と低浸透圧時の間でヤング率に有意な差が認められた。一方、WTについては、正常と低浸透圧の間のt検定ではヤング率に有意な差は認められなかった。また、各細胞のサイズについては有意な差はみられなかった。以上の結果は、MscLのシアノバクテリアの浸透圧調整メカニズムの解明に有用な知見である。

第4章では、代表的な単細胞生物である酵母を対象として、原子間力顕微鏡(AFM)とマイクロ流体チップを用いた計測結果を比較することで、細胞全体のヤング率を計測する手法についてのプローブのチップ形状に関する評価を行っている。第2章で提案したマイクロ流体チップを用いた計測結果と、AFMを用いた先端が尖ったプローブと平坦なプローブによる計測結果と比較した。酵母は野生型株である*Saccharomyces cerevisiae*BY4741の単細胞を用いた。マイクロ流体チップを用いた方法とAFMで先端が平坦なプローブを用いた方法では同様のヤング率が計測されたが、AFMで先端がシャープなプローブでは大幅に低いヤング率が得られた。先端がシャープなプローブは細胞表面の局所的なヤング率を計測するものであり、細胞全体のヤング率の計測を目的とする場合におけるマイクロ流体チップを用いた手法の有用性を明らかにしている。

第5章では、本論文の結論を与えている。

以上のように、本論文で提案された微細操作とマイクロ流体チップを用いた単細胞生物の機械的特性計測手法は、シアノバクテリア等の単細胞生物のイオンチャンネルと環境相互作用の解析を実現するために重要な知見が得られるため、工学の発展に寄与するところが大きいと判断できる。以上より、本論文の提出者であるChang Di君は博士(工学)の学位を受けるに十分な資格があると判断した。