

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第	11908	号
------	-------	-------	---

氏 名 伊藤 啓太郎

論 文 題 目

Microfluidic System for Mechanical Property Measurement of
Biological Objects
(生物体の機械的特性計測のためのマイクロ流体システム)

論文審査担当者

主査	名古屋大学	教授	新井 史人
委員	名古屋大学	准教授	丸山 央峰
委員	名古屋大学	准教授	田中 智久
委員	名古屋大学	教授	長谷川 泰久
委員	名古屋大学	准教授	清水 一憲

論文審査の結果の要旨

伊藤啓太郎君提出の論文「Microfluidic System for Mechanical Property Measurement of Biological Objects (生物体の機械的特性計測のためのマイクロ流体システム)」は、マイクロ流体チップを用いた細胞凝集体(スフェロイド)の機械的特徴量の計測手法、及びゲルアクチュエータを用いたマイクロ流体チップ内の流体制御に関する手法を述べている。

各章の概要は以下の通りである。

第1章では、細胞の機械的特徴量計測が求められている背景、及びスフェロイドの機械的特徴量の重要性を記述している。次に、従来の計測技術での問題点を記述し、本論文の目的として、ハイスループット化が可能となるマイクロ流体チップを用いたスフェロイドの機械的特徴量計測の計測技術、及びマイクロ流体チップ内での流体制御技術の提案を行い、最後に論文の構成について述べている。

第2章では、サイズにばらつきを持つスフェロイドの機械的特徴量計測を行うために、マイクロ流体チップの閉空間内でワイドレンジに駆動可能なオンチッププローブの駆動方式としてWhole chip deformation mechanismを提案している。チップはガラス、単結晶Si、ガラスの三層構造となっており、チップ内部の構造体にV字型のプローブを配置し外部に配置したピエゾアクチュエータを用いてチップ全体を圧縮する事でチップ内のプローブのワイドレンジな駆動を達成している。また、プローブ先端に折り返しばねの力センサを搭載する事でスフェロイドの変形と同時に反力の計測が可能となっている。チップの作製にはフォトリソグラフィ及び深堀RIE技術を用いて加工を用いている。チップの作製プロセスを述べた後、作製したプローブ及び力センサの駆動特性の評価を行っている。

第3章では、前章で作製したマイクロ流体チップを用いてヒト臍帯血管内皮細胞(HUVEC)と間葉系幹細胞(MSC)を混合したスフェロイド(HUVEC/MSCスフェロイド)の反力計測を行っている。非線形な反力特性を評価するために機械的特徴量として硬さ指標(Stiffness-index:SI)を定義し、硬さの評価を行っている。HUVEC/MSCスフェロイドの培養1日目から7日目までSIの評価を行い、SIの平均値が1日目から4日目までは増加し、培養4日目以降SIの値が小さくなっていく傾向を確認している。次に、HUVEC/MSCスフェロイドの培地にROCK inhibitor 10nMと100nMを混ぜて培養したHUVEC/MSCスフェロイド(ROCK10スフェロイド、ROCK100スフェロイド)のSIの評価を行い、計測したSIはHUVEC/MSCスフェロイドと比較してROCK10スフェロイドの方がどの培養日数でも小さく、ROCK100スフェロイドは更に小さくなる事を確認している。この結果からMSC中のアクトミオシンはHUVEC/MSCスフェロイドの硬さの要因の1つであることを確認している。更に、yes-associated protein 1 (YAP1) 遺伝子発現量をq-PCR法を用いて計測を行っており、硬さ指標とYAP1の遺伝子発現量には相関があることを確認している。構築したシステムでの計測スループットは92個/時間であった。

第4章では、マイクロ流体チップ内にパターンニング可能な温度応答性樹脂であるバイオレジストとマイクロ電極を用いてゲルアクチュエータの作製を行っている。始めに、バイオレジストのパターンニング精度の評価及び温度と膨張率の関係の評価を行い、次にバイオレジストの温度と膨張率の関係の評価を行っている。その後、ゲルアクチュエータをバルブとして応用し、その時の駆動特性、リーク圧の評価を行い、流体のせき止め、及び*Synechocystis* sp. PCC 6803を用いた流線の切り替え実験に成功している。更に、複数のバルブを組み合わせる事でポリスチレンビーズを5分岐にソーティングする事に成功している。

第5章では、本研究の結論を与えている。

以上のように本論文では、チップ内で計測対象のサイズ変化に対応可能な機械的特徴量計測の手法と、チップ内での流体制御可能なゲルアクチュエータ及びその応用としてバルブ・ソーティング機能を提案している。これらの提案並びに得られた結果は、従来、十分な計測が行われてこなかったスフェロイドの経時的な機械的特徴量計測を可能とし、チップ内での流体制御を行う事で、機械的特徴量に基づいた選別の可能性を見出している。これは、細胞生物学や再生医療等、多くの分野で今後広く応用が期待され、工学の発展に寄与するところが大きいと判断できる。よって、本論文の提出者である伊藤啓太郎君は博士(工学)の学位を受けるに十分な資格があると判断した。