

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第 12787 号
------	---------------

氏 名 中原 康

論 文 題 目

Integrated Microfluidic System for On-Chip Measurement of Cellular Mechano-Index
(細胞のオンチップ機械的指標計測のための統合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	教授	長谷川 泰久
委員	名古屋大学	教授	秦 誠一
委員	名古屋大学	准教授	丸山 央峰
委員	名古屋大学	准教授	加藤 竜司

論文審査の結果の要旨

中原康君提出の論文「Integrated Microfluidic System for On-Chip Measurement of Cellular Mechano-Index (細胞のオンチップ機械的指標計測のための統合マイクロ流体システム)」は、従来の細胞の機械的指標計測を目的としたマイクロ流体チップに対して流体制御技術を統合した計測システムを提案し、それらシステムを用いた単一細胞のタイムラプス計測と、多数の細胞のハイスループット計測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、細胞の機械的指標計測が求められている背景と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、細胞の機械的指標計測のためのロボット統合型マイクロ流体チップに、オンチップでの流体制御技術の統合を行うことで、細胞のハイスループットな機械的指標計測システムの構築を提案している。最後に論文の構成について述べている。

第2章では、細胞のハイスループット計測の重要性に関して考えるために、細胞の培養時における時間的変化に着目し、単一細胞の機械的指標のタイムラプス計測のためのセルキャリアチップを提案した。セルキャリアチップには、細胞を変形させるためのオンチッププローブとその際の反力を計測するための力センサに加え、チップ内で細胞を搬送するためのメンブレンポンプが統合されている。メンブレンポンプを手で押すことで、細胞がチップ先端より吸引され、計測部に到達する。従来のオンチップでの細胞計測手法とは異なり、外部ポンプとマイクロ流体チップをチューブで接続し、流体制御を行うという工程を必要とせず、これによりチップ内で細胞を失うことなく、チップを持ち運びすることが可能である。この特徴を利用して、顕微鏡下に計測環境を構築し、インキュベータを培養環境として、それぞれの環境に細胞を含んだセルキャリアチップを移動させることで、単一細胞の機械的指標計測及び培養を達成している。実験では、計測対象をマウス卵子とし、培養中における透明帯のヤング率の変化を計測している。透明帯のヤング率を計算するにあたり、弾性球殻モデルを適用し、実験値とフィッティングカーブがよく一致していることを確認している。さらに、卵子の透明帯のヤング率のタイムラプス計測から、透明帯のヤング率が培養時間に応じて増加傾向にあることを知見として得ている。

第3章では、細胞の機械的指標のハイスループット計測を目的として、ロボット統合型マイクロ流体チップの計測システムに、振動誘起流れによる細胞搬送技術の統合を行っている。このマイクロ流体チップでは、振動誘起流れにより細胞を搬送するため、マイクロ流体チップ内は閉じた環境ではなく開放された環境となる点が特徴である。これにより、従来のマイクロ流体チップに比べ、マイクロ流路へのアクセスが非常に容易になり、細胞を失うことなくチップ内に導入、またチップ内から回収することが可能である。実験の対象には卵子を用いており、振動誘起流れを発生させるピエゾアクチュエータへの印加電圧を制御することで、 $0.3 \mu\text{m/s}$ から $78 \mu\text{m/s}$ の速度で卵子が搬送可能であることを確認している。さらに卵子の機械的指標計測実験を行っており、その計測スループットとして、1時間に9個の計測を達成している。

第4章では、第3章で提案したシステムよりも高いスループットを実現可能なシステムとして、ロボット統合型マイクロ流体チップの計測システムに画像情報によるフィードバック制御を可能とするシリンジポンプの技術の統合を行っている。加えて、マイクロ流体チップにソーティング機能を付与し、計測された機械的指標に基づいたソーティングを行うことが可能なシステムを構築している。設計したマイクロ流体チップは、力センサプローブを駆動させるために、一部が開放された環境を有しているが、チップ内に印加された流体は漏れとしてその部分に流れ、この流れによるせん断力が力センサプローブを動かし、細胞の位置制御が難しくなるという問題が発生する。この問題の解決のため、マイクロ流体チップ内の流体環境のモデル化を行い、このような構造を持つマイクロ流体チップでは、流路内での位置制御には2つのポンプを用いることが有効であるという知見を得ている。実際に構築したシステムを用いて位置制御の実験を行い、2秒程度でチップ内の計測部の中心付近で対象物を静定させることに成功している。また、ソーティングのための実験として、MSCスフェロイドを用いて、ローディング、位置制御、機械的指標計測、ソーティング用ポンプによる吸引までの連続工程の実験を行った。その結果、スループットとして $3.85 \text{ 個}/\text{min}$ を達成し、第3章のシステムからの大幅なスループットの向上に成功した。

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、従来の細胞のロボット統合型マイクロ流体チップに流体制御技術を統合することで、単一細胞のオンチップでの機械的指標のタイムラプス計測手法と、多数の細胞のハイスループット計測手法を提案している。これらの提案並びに得られた結果は、従来、困難であった単一細胞の機械的指標の経時変化の評価を、また同様に困難であったマイクロ流体チップ内での細胞の機械的指標の連続的な計測を可能としている。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中原康君は博士(工学)の学位を受けるに十分な資格があると判断した。