

## 審査の結果の要旨

論文提出者氏名 張 氣薫

本論文は「Cell patterning in microchannel using photochemical reaction (光化学反応を利用した微小空間における細胞パターンニングの研究)」と題し、高機能マイクロ細胞実験システムのための細胞マイクロパターンニング法の開発に関する研究結果をまとめたものである。

第1章では、近年の $\mu$ -TAS や Lab-on-a-chip といわれる類似的研究の歴史的背景とその意義をまとめ、マイクロ化学システムの有用性を示した。また微小空間で細胞を操作する有用性や開発されている細胞操作デバイスについてまとめた。しかし、細胞生物学研究の最前線における現状と高度な要求(単一細胞分析、擬似組織空間、細胞と細胞の相互作用分析)に答えるためにはマイクロメートルサイズの細胞接着領域の制御が必要である。従来のマイクロ化学チップ技術では細胞の数と配置の制御が不可能だったので、達成されていない。この高度な要求に対し、マイクロチップ内の細胞マイクロパターン培養技術を着想した。マイクロ化学チップは狭い閉じた空間であるため、光を使って、細胞接着領域、非接着領域をコントロールすることを考案した。そして、微小空間における細胞マイクロパターンニング法の開発を本研究の目的にした。

第2章では、細胞非接着性である2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン(MPC)ポリマーと光反応を利用した表面修飾法を開発した。マイクロチップ内の狭い閉じた空間へ、細胞接着領域を構築するためには、光分解で選択的に細胞接着領域と非接着領域を構築することが有効である。しかし、光分解リンカーを持つ細胞非接着性化合物はないため、新たな化合物が必要である。そこで、細胞非接着性化合物 MPC ポリマーに光分解リンカーを組み込むことを着想した。ガラス表面にシラン化剤、光分解リンカー、MPC ポリマーを順に修飾することに成功した。接触角、XPS (X-ray photoelectron spectroscopy)、AFM (atomic force microscopy) などの表面分析ツールを利用して MPC ポリマーのガラス表面への修飾と光分解反応による MPC ポリマーの剥離を確認し、光パターンニングの基礎を実現した。

第3章では、2章で創製した修飾法を利用して、ガラス基板上への細胞パターンニングを実証した。まず、MPC ポリマー表面への細胞接着タンパク質と細胞の非特異吸着量を評価した。MPC ポリマー導入表面への細胞接着タンパク質の吸着量は、シラン化剤表面、光分解リンカー表面の吸着量と比べて10分の1まで減少した。一方、UV360 nm 照射表面の場合は、光分解リンカー表面と同等の吸着量を示した。同様に、細胞接着率も MPC ポリマー表面には細胞の接着が抑制されるのに対し、UV 照射表面には細胞の接着率が光分解リンカー表面と同等の細胞接着率が確認された。このような表面とフォトマスクを利用してタンパク質と細胞のマイクロパターンニングを実現した。直径30マイクロメートルサイズの丸型フォトマスクを利用して、単一細胞のパターンニングにも成功した。また、同一ガラス表面への2週間の細胞パターンニングを実現した。単一細胞レベルでの異種細胞の空間配置できる初めての技術である。最後に、細胞パターンは1日目のパターンを35日に渡って維持しな

がら生存していることが検証された。

第 4 章では、マイクロチャネル内の細胞マイクロパターンニング法を実現した。まず、基礎実験としてマイクロチップ基板材質の UV 透過性を検証した。次にマイクロチャネル内導入する細胞懸濁液濃度を細胞接着表面に関して最適化した。次に細胞マイクロパターンニングをマイクロチャネル内で実現し、細胞パターンの 2 週間の安定性を確認した。また、マイクロチャネル内への 2 種類の細胞マイクロパターンニングを世界ではじめて実証した。本研究で開発した技術は、細胞間の情報伝達など細胞生化学の新しい研究ツールとして期待出来る。

第 5 章では、第 2 章から第 4 章までに開発した光化学反応を利用した微小空間における細胞パターンニング法の意義についてまとめ、展望を示した。

以上のように本論文では、表面修飾の分子の設計からマイクロデバイスへの展開までに成功した。これらの研究成果は、マイクロ化学チップ研究の発展のみならず細胞生物学研究に貢献できる重要な知見である。

よって本論文は博士（工学）の学位請求論文として合格と認められる。