

審査の結果の要旨

氏名 許允楨

本論文は「細胞の力学応答特性計測のための伸縮する細胞培養基板」と題し、5章から構成されている。

細胞の力学刺激に対する応答特性について、細胞に機械刺激を与えながら細胞内カルシウム濃度変化として計測するために、柔軟な有機材料である PDMS の表面に微細加工をほどこしたシート状のものをつくり、それを貼り合わせて、細胞培養と機械刺激ができるデバイスを実現している。この細胞培養基板には、貼り合わせた2枚のシート間に部分的に小さな空隙があり、ここに空気を送ることでシート表面を部分的に伸ばすことができる。また、このデバイスは細胞との相性がよく、デバイスの表面で細胞を培養できる。

第1章「序論」では、研究の目的、背景、意義と、従来の研究、本論文の構成について述べられている。

第2章「デザイン」では、デバイスの原理とそれを利用したデバイスの設計について述べられている。提案する細胞培養基板では、PDMS とガラスの間に部分的に小さな空隙があり、ここに空気を送ることで PDMS 表面を部分的に伸ばすことができる。PDMS シートに形成する空隙は多様な寸法と形に製作できるので、細胞全体、あるいは一部分を機械刺激できる。デバイスの変形量に対する細胞の力学応答特性として、ヒトの皮膚にある線維芽細胞を用い、 Ca^{2+} の細胞内流入を蛍光プローブ OGB1-AM の蛍光変化として観察している。細胞内カルシウムは機械刺激量によって濃度が上がると考えられるが、本研究で提案するデバイスは、細胞膜の面積変化で生じる細胞膜の歪みによって Mechanosensitive (MS) イオンチャンネルが開く割合を変えるものである。

第3章「プロセスと実験準備」では、デバイスの製作方法とこのデバイスを使った計測方法が述べられている。PDMS とガラスで伸縮性細胞培養基板を微細加工で製作している。デバイス表面に線維芽細胞を培養するため、fibronectin を使って、この線維芽細胞とデバイス表面の密着性をあげている。デバイス表面の変形量にともなう Ca^{2+} の細胞内流入を蛍光プローブ OGB1-AM の蛍光変化として観察するための方法や実験システムについて説明している。

第4章「実験結果とディスカッション」では、細胞培養基板の細胞を伸展する機能を用いて細胞に機械刺激を与え、細胞のカルシウム応答を計測した結果が述べられている。2枚の PDMS シート、あるいは、PDMS シートとガラス基板を組み合わせた細胞培養基板で細胞を培養し、この細胞に機械刺激が与えられることを確認している。PDMS シートとガラス基板からなるデバイスは厚みが 2mm で、細胞の力学応答を観察するのに適当である。細胞培養基板の変形膜の歪みの分布を知るために、膜の変位を計測し、歪みに換算している。細胞培養基板を使って、細胞全体、および一部分の変形に対する Ca^{2+} の細胞内流入を OGB1-AM を用いて蛍光観察し、機械刺激の大きさに対して細胞内 Ca^{2+} が上がるという実験データを得ている。さらに、細胞の一部分を刺激した場合には、機械刺激を受けたところで最初にカルシウムの流入を観察している。また、直径 $5\mu\text{m}$ の空隙の細胞培養基板を試作して、微小ビーズでの機械刺激と競争できる局所刺激の可能性が示唆されている。

第5章「結論」では、本研究によって得られた成果とその結論を述べ、考察を加えている。

以上要するに、本論文では単一細胞の機械刺激応答を観察するために、伸縮する細胞培養基板を提案し、試作して、その有効性を実験により検証している。細胞培養基板は細胞が生きている状態で細胞を機械刺激できるデバイスであり、今後、細胞の機械刺激と細胞骨格との関係を調べる上でも利用可能なデバイスである。この点から本論文は、知能機械情報学の発展に貢献したものであって、本論文は博士（情報理工学）の学位請求論文として合格と認められる。