

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	接着性細胞を用いた細胞特異的結合分子探索のためのマイクロ流路デバイス開発
Title(English)	
著者(和文)	神永真帆
Author(English)	Maho Kaminaga
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第11185号, 授与年月日:2019年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:小俣 透,近藤 科江,初澤 毅,柳田 保子,八木 透,石田 忠
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第11185号, Conferred date:2019/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

(博士課程)

論文審査の要旨及び審査員

報告番号	甲第	号	学位申請者氏名	神永 真帆		
		氏名	職名		氏名	職名
論文審査 審査員	主査	小俣 透	教授	審査員	八木 透	准教授
	審査員	近藤 科江	教授		石田 忠	准教授
		初澤 毅	教授			
		柳田 保子	教授			

論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は、「接着性細胞を用いた細胞特異的結合分子探索のためのマイクロ流路デバイス開発」と題し、以下の6章から構成されている。

第1章「序論」では、本論文の研究背景、研究目的を述べている。まず、抗がん剤などの薬の副作用を低減する方法として、がん細胞などの標的細胞にだけ薬を運搬することが有効であり、そのために標的細胞に特異的に結合する分子（以下、細胞特異的結合分子）が注目されていることを述べている。この方法は、標的細胞の表面分子に特徴があれば、様々な臓器の疾患に適用できるが、標的細胞ごとに細胞特異的結合分子を用意する必要があるという問題点があり、そのため、その探索が重要になるとともに、従来の手作業による探索では、作業能率、探索精度が低く、サンプル消費が多いことが問題点であると指摘している。次に、マイクロ流路技術による改善の可能性に着目し、その先行研究において、接着細胞を接着させた状態で用いて、非標的細胞に結合する分子を除去することが達成されていないことを明らかにしている。そこで、この条件を満たす細胞特異的結合分子探索用マイクロ流路デバイスの開発を本研究の研究目的としている。

第2章「細胞特異的結合分子探索用マイクロ流路デバイスの概念設計」では、細胞特異的結合分子の探索をチップ上で実現するためのマイクロ流路デバイスを提案し、その特徴および探索操作を説明している。このデバイスは三つの非標的細胞チャンバと一つの標的細胞チャンバを直列に連結したものであり、上流側に配置する非標的細胞チャンバにより非標的結合分子を分子のライブラリから除去し、その残りを標的細胞チャンバで探索するという原理に基づいている。このための要素技術として、細胞均一播種のためのマイクロピラーアレイ (MPA)、および高い流路高さを持つ流路の切り替えのために空圧バルブの開発が必要であると述べている。

第3章「細胞均一播種のためのMPAの開発」では、要素技術である細胞均一播種のためのMPAの詳細について説明している。MPAは等間隔に配置されたマイクロピラーから構成され、間隔を適切に設定することにより、ピラー間に細胞が一時的に保持されやがて解放され、この動作を繰り返すことでランダム流を生成できると述べている。MPAを配置したチャンバに細胞を流すと、ランダム流により細胞が均一に播種できることを実験的に確認するとともに、細胞の増殖や形態に影響が見られないことを確認している。

第4章「流路切り替えのための空圧バルブの開発」では、流路切り替えのための平行四辺形断面と台形断面を持つ空圧バルブを提案し、その詳細を説明している。一般的に空圧バルブはバルーン状の

空圧流路に空圧を印加し、膜を変形させることで液流路を閉鎖する。一般的なプロセスで作製される矩形断面液流路のバルブでは、膜と角に隙間が生じるために液流路を完全に閉鎖することができず、その解決のため、従来はレジストのリフローを用いた半円形断面液流路が使用されていたが、リフローを使用すると液流路鋳型全体の形状が変化するために、MPA 構造が変形するという問題があることを指摘している。そこで、目的部位の断面形状のみを変更できる傾斜露光を用いる平行四辺形断面の空圧バルブを提案し試作している。断面を平行四辺形とすることで、膜と角の隙間を解消できると述べ、高さ 50 μm 、幅 500 μm 、傾斜角 60° の液流路と膜厚 40 μm の膜の組合せにおいて、液流路の完全閉鎖と繰り返し開閉ができることを確認している。さらに、最大高さ 350 μm の液流路の完全な閉鎖と繰り返し開閉が可能であるバルブを提案し試作している。

第 5 章「細胞特異的結合分子探索用マイクロ流路デバイスの作製と評価」では、第 3 章で説明した MPA および第 4 章で説明した平行四辺形断面空圧バルブを組み込み、第 2 章で説明した細胞特異的結合分子探索用マイクロ流路デバイスを作製し、それを用いた実験を行っている。Hela 細胞を非標的細胞、N87 細胞を標的細胞とし、蛍光標識抗体を細胞特異的結合分子として、デバイスの性能評価実験を行っている。細胞導入時に異種細胞が隣接チャンバに混入しないこと、キャノーラ油により抗体溶液を押し出して非標的細胞を培養した三つの直列チャンバを通過させることにより、非標的細胞に結合する抗体を蛍光測定の検出限界まで除去できること、回収バッファを用いて標的細胞に特異的に結合する抗体を回収できることを確認している。

第 6 章「結論」では、本論文をまとめるとともに、今後の課題、展望を述べている。

以上を要するに、本論文は細胞特異的結合分子探索のためのマイクロ流路デバイスを提案するとともに、製作したデバイスの性能を実験的に評価しており、工学上および工業上貢献するところが大きい。よって本論文を博士（工学）の学位論文として十分に価値があるものと認める。

注意：「論文審査の要旨及び審査員」は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。