

審査の結果の要旨

氏 名 手 島 哲 彦

本論文は「Mobile microplate technology for multi-angle observation of adherent cells (微小プレートによる接着性細胞の多角度観察)」と題し、5章から構成されている。

細胞は膜表面において外界との相互作用を行なうことで、形状や活性を維持している。膜表面での現象を詳細に観察するためには、細胞膜を多角度から観察する必要があるが、接着細胞での高解像度な多角度観察は難しかった。本論文の目的は、細胞の接着性を維持した状態で磁場による操作が可能な細胞培養基板（以下、微小プレート）を用いて、細胞の多角度観察を実現することである。

第1章は「序論」であり、細胞の多角度観察に関する研究の背景と既存手法、本論文の目的、論文の構成について述べている。

第2章の「微小プレートの設計と製作」では、提案する2種類の微小プレートに関して、細胞パターンングのためのデザイン、磁場による角度制御性の導出を行い、設計指針を得ている。微小プレートは細胞への毒性が低いパリレンを用いて製作されており、その内部に磁場応答性の金属であるパーマロイを組み込むことによって、磁場によって角度を制御する可動な構造体を製作している。また基板上に、細胞の接着性を調節するタンパク質やポリマーを選択的に塗布することで、細胞種を問わず微小プレートのみで細胞をパターンングできるプロセスを確立している。微小プレートとその下のガラス基板との間には細胞毒性の低いアルギン酸ハイドロゲルを犠牲層として組み込むことにより、構造体をリリースする方法についても提案している。以上の共通の設計指針のもと、ここでは、ヒンジによりガラス基板と微小プレートが繋がったマイクロフラップとヒンジのない微小プレートであるマイクロディスクを設計、製作している。

第3章の「マイクロフラップによる細胞の長期観察」では、マイクロフラップを用いることで、細胞の膜表面で起こる細胞の挙動を長期間にわたって観察できることを論じている。マイクロフラップはヒンジを有する構造から、磁場によるトルクとヒンジの曲げモーメントの関係式から外部磁場強度と傾斜角度に関する理論式を導出し、より

強い磁場強度において傾斜角度の実測値が理論値に合致することを示している。またHFF細胞とPC12細胞を用いて、マイクロフラップによる傾斜化後の2週間にわたる培養を行い、長期間安定した多角度観察が行えることを示している。マイクロフラップによる多角度観察をさらに応用して、本論文では寄生虫の宿主細胞への侵入感染過程の観察を行い、宿主細胞に感染する直前の寄生虫が膜表面において、接着、らせん滑走運動、屈曲運動、倒立回転という4種類の特異的な運動をすることを見出している。最後に寄生虫がどのようなタイミングで侵入を開始し、軌跡、侵入角度、侵入速度について定量的なデータを得ながら、詳細に感染過程を観察できることを示している。

第4章の「マイクロディスクによる細胞の多角度観察」では、マイクロディスクを用いることで、特定の細胞の選別と高解像度の細胞内部構造のスキャン画像取得ができることを論じている。マイクロディスクは、一つの細胞が接着するように細胞濃度とプレートの半径を調整することで、単一細胞の磁場による操作を実現し、特定の細胞の選別と再配置が可能であることを実験的に示している。微小プレートは、単一細胞を接着させた状態で与えられた磁場に配向するため、任意の角度で細胞を傾斜化し、顕微鏡下でスキャンすることで細胞内部の微小管の断面が輝点として見えるほど、任意の位置の細胞断面を高解像度に観察できることを示している。本システムを寄生虫の宿主細胞感染時の膜界面の観察に応用したところ、アクチン繊維の原虫側への変形と微小管の寄生虫を内包する変形が観察され、侵入中における寄生虫と宿主細胞骨格との新たな相互作用を報告している。

第5章「結論」では、本研究で得られた成果とその結論を述べ、考察と今後の展望についての議論を加えている。

以上のように、2種類の微小プレートを用いることで、接着細胞の多角度観察が可能であることが示されている。本手法を用いることで、これまで観られることのなかった寄生虫が宿主細胞へ侵入する際の、特異的な振る舞いや細胞骨格との相互作用を観察することに成功している。この結果は、微細加工技術を利用した細胞の操作や解析法の可能性を拡張するものであり、知能機械情報学の発展に貢献するところが少なくない。よって本論文は博士（情報理工学）の学位請求論文として合格と認められる。