

審査の結果の要旨

氏名 嶋田 直矢

嶋田直矢君提出の論文「生細胞の力学特性計測を目的とした光駆動ナノマシンの研究」は7章から成っており、従来手法では実現できなかった単一生細胞の3次元機械特性と、細胞骨格を構成するタンパク質の空間的相互作用を計測する2種類のシステム構築について論じたものである。

第1章では、まず本論文の概要について述べている。そして、近年重要性が増している細胞の機械特性計測についてその必要性和計測手法について解説している。そこから、本研究の目的について論じた。そして、本論文構成について述べている。

第2章では、本研究の背景と基盤技術の光駆動ナノマシンについて解説している。まず、従来技術である光ピンセット法について原理などを詳細に述べている。従来手法での問題点を挙げ、解決手法として5~10 μm の細胞と同程度の大きさのマイクロマシンである光駆動ナノロボット技術について解説している。

第3章では、3次元で細胞の機械特性を計測するシステムの構築について述べている。まず、細胞の機械特性を3次元計測する必要性について論じ、従来の手法での実現可能性について考察し、光駆動ナノロボット技術を用いた顕微鏡下の単一生細胞の機械特性を3次元で計測するための新規システムを提案している。これには、高さ方向に直径の変わる円錐台形状蛍光マーカを用いている。このマーカをナノロボット上の3か所に設置し、3次元位置姿勢を取得、そこから3次元で力計測を行う。この手法を実現すべく円錐台形状のマーカの試作した。試作したマーカの高さと直径の関係は0.20 $\mu\text{m}/\text{pixel}$ であることを実験により明らかにした。また、このマーカは1時間の蛍光励起でも変化率が変わらない。この手法を基に実際に3次元計測システムを構築している。

第4章では、構築した3次元計測システムについて、2種の実証実験を行った。まず、円錐台マーカを用いた光駆動ナノロボットの3次元姿勢を正確に取得可能か、2種類のナノロボットを用いて検証した。その結果ナノロボットの傾きの制限を明らかにした。このことを、実際の計測を行うナノロボットに反映し、発芽酵母であるサッカロミセスの圧縮による検証実験を行った。最終的に独自

に構築したシステムを用いて 3 次元的に力計測が可能であることを示した。

第 5 章では、細胞内部に存在する細胞骨格タンパク質の機械特性計測の研究意義を述べた後、従来手法の問題点に詳しく触れ、新たな計測システムの必要性について論じている。その後、細胞骨格タンパク質の 3 次元的な相互作用を計測すべく、専用の光駆動ナノロボットである光駆動ナノビームの設計開発を行った。このナノビームはガラス基板に接着したベース部から伸びた長さ 20 μm の微小梁構造の先端にプレートを有している。さらに、そのプレートの対面には同じサイズのガラス基板に接着した壁がある。壁とプレートの間のタンパク質集合体の弾性を準静的に計測可能である。このナノビームを実際に用いるために、2 つの課題について検討している。まず実験モデル構築による計測に必要な値の導出である。構築した実験モデルから準静的な引張試験にはナノビームの持つ微小梁の校正が必要であることを述べ、その校正を行っている。続いて、所望箇所へのタンパク質の吸着手法について検討を行っている。これは、壁とプレートのみを造形後表面にアミノ基を有する光硬化性樹脂を用いて作製し、その表面に架橋剤を用いて N-ヒドロキシコハク酸イミドエステルを修飾し、そこにタンパク質表面のアミノ基が結合する。本新手法の検証を行いアミノ基を有する樹脂のみにタンパク質が吸着する様子が確認した。それぞれの成果をうけ、ナノビームを用いた計測を実現可能なシステムの構築を行っている。

第 6 章では、構築したシステム用いた細胞骨格タンパク質であるアクチンフィラメントの相互作用の計測について述べている。アクチンフィラメントは、細胞内タンパク質の集合体である細胞骨格の主成分と知られ、その弾性計測は細胞骨格を模擬するために広く計測されている。そのため、選定したタンパク質で計測可能となれば一般的な計測に拡張できる。計測の結果、タンパク質が徐々に集積し 3 次元的に相互作用していると考えうる値を計測できた。このような計測は従来手法では不可能で、本手法の有用性を示すものとなった。

第 7 章では、構築した 2 つのシステムの特徴と有用性を示し、今後の展望を述べた。両システムに共通することとしては、ナノロボットの駆動源である光ピンセットの光学系を一切変更することなく従来行えなかった計測を実現している。そのため現在、光ピンセットを用いた実験に無理なく利用できる。

また、本研究では従来手法で実現不可能である計測をそれぞれのシステムで実現していることが細胞生物学分野で昨今重要視されている細胞・タンパク質の機械特性計測において有用であるとして、本論文を結論づけている。

以上、本論文で研究されたシステムは近年細胞生物学分野で重要になっている細胞に関する機械特性の計測に大きく寄与する。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