

論文内容の要旨

博士論文題目 Femtosecond Laser - Actuated High-Speed Cell Manipulation in a Microfluidic Chip

(フェムト秒レーザー誘起衝撃力を用いたマイクロチップ中での高速細胞操作)

氏名 Zhen-Yi Hong

(論文内容の要旨)

高強度の近赤外フェムト秒レーザーを顕微鏡下で細胞培養液に集光照射すると、レーザー集光点で培養液の爆発的な気化が誘導され、衝撃波と応力波が発生する。これまでに、この顕微鏡下で局在した爆発現象は、単一細胞を操作するための衝撃力として利用され、細胞外基質からの細胞剥離、植物細胞内の小器官の操作、細胞への分子導入など様々な非破壊的な細胞操作が実現されている。一方で、この方法は一つ一つの細胞操作に長い時間を要するため、短時間に大量の細胞を操作することができない。本研究では、この問題を解決するため、フェムト秒レーザーによる衝撃力発生システムをマイクロ流体デバイスと組み合わせ、高速に細胞を操作できる新システムを構築し、その性能を評価した研究成果についてまとめられている。

第1章では、マイクロ流体チップを用いた単一細胞操作技術、特にその中でも注目されている細胞分取技術(セルソーター)について概観している。さらに、顕微鏡下でフェムト秒レーザーを集光したときに誘導される衝撃波、応力波の発生原理について述べ、この現象をセルソーターに応用する意義を示している。第2章では、本研究のために構築された、マイクロ流体チップ中にフェムト秒レーザーを導入し、発生する衝撃力により細胞を操作する実験システムについて述べられている。第3章では、構築された実験システムにおいて、微小物体を高速に操作できることを実証し、その制御のための最適パラメーターを検討した結果について述べられている。第4章では、実験システムの性能を、細胞と同サイズのポリマー微小球を用いて評価し、世界最高レベルの高速操作性能が実現したことが示されている。第5章では、細胞を用いた高速細胞操作実験の前段階として、静置した培養液中の動物細胞にフェムト秒レーザー誘起衝撃力が作用したときに、衝撃力が細胞に与える損傷について評価し、細胞への衝撃波の作用の最適化を検討した結果について述べられている。第6章では、マイクロ流体チップ中での動物細胞の高速操作を実証し、その操作性能と細胞への損傷について評価した結果について述べられている。第7章では、マイクロ流体チップ中での細胞の操作性能の向上を目指し、チップ中の流路にフェムト秒レーザー誘起衝撃力を集中させるための付加構造を加え、細胞操作の更なる高効率化を図れる可能性を示した結果について述べられている。第8章では、本論文の研究成果と将来展望をまとめて、本論文の総括としている。

氏名	Zhen-Yi Hong
----	--------------

(論文審査結果の要旨)

高強度の近赤外フェムト秒レーザーを顕微鏡下で細胞培養液に集光照射すると、レーザー集光点で培養液の爆発的な気化が誘導され、衝撃波と応力波が発生し、その周囲の物質に衝撃力として作用する。この衝撃力を利用した多様な単一細胞操作が顕微鏡下で実現しているが、その操作に時間を要し、大量の細胞を短時間に処理できないという問題があった。本研究ではこの課題解決のため、マイクロ流体チップにある流路中にフェムト秒レーザーを集光し、その流路内を流れる細胞を順次高速に操作する新システムが構築された。特に、流路中に整列して流れる細胞から任意の細胞を移動させ、流れの先にある分岐路より細胞を分取するオンチップセルソーターが近年注目されており、その新方式の実現を第一目標としてシステムは設計されている。論文では、構築したシステムで微小物体と細胞の高速分取性能を実証した結果および、分取時に細胞に与えるダメージを評価した結果についてまとめられている。

マイクロ流体チップの流路内を高速度(秒速 1m)で流れる細胞の近傍にフェムト秒レーザーを集光し、レーザー照射により誘導される細胞の位置変化を高速カメラにより観察された。レーザー誘起衝撃力による細胞の操作性能を評価した結果、細胞が数珠つなぎで流れている条件でも、その中から任意の微小球のみに位置変位を与え、分取できる性能が実証された。細胞のモデルとして直径 10 μm のポリマー微小球を用いた性能評価実験では、1秒間に最大 10万個の微小球を個別に処理できることが示された。これは従来方式の高速セルソーターを凌駕する結果である。

本手法により細胞の高速操作が実現できる一方で、レーザー誘起衝撃力による細胞への物理的・生理的なダメージが懸念される。本研究では、レーザー誘起衝撃力が動物細胞に与えるダメージについても評価されている。レーザー照射位置が細胞に近づき、レーザー強度の強い条件で、細胞へのダメージは増加するが、これらの条件を最適化することにより、細胞へのダメージを最小限にし、細胞を高速に分取できる条件があることを見出している。

さらに、マイクロ流体チップ中でのレーザー衝撃力による細胞操作性能と細胞ダメージの軽減を目的とし、流路にフェムト秒レーザー誘起衝撃力を集中させるための付加構造を加えたチップが作製された。流路の脇に設けられたこの付加構造内にフェムト秒レーザーを集光することにより、流路の流れの横方向からレーザー誘起衝撃力を集中させ、微小物体に効率的な変位を与えることに成功した。

以上、本論文では、フェムト秒レーザー誘起衝撃力による細胞操作技術とマイクロ流体チップ技術を融合することにより、顕微鏡下で大量の細胞を高速に操作できる新しい可能性を実証している。本研究で得られた成果は、従来方法を凌駕する新規な高速セルソーターを提案するに留まらず、大量の細胞に対して、レーザーによる高度な細胞操作を高速に施すための新しい指針を示している。よって審査員一同は本論文が博士(工学)の学位論文として価値あるものと認めた。