

論文内容の要旨

博士論文題目

Microfluidic device for high-throughput and high-sensitive flow cytometry toward cell and droplet analysis

細胞と液滴の高速・高精度フローサイトメトリー解析に向けたマイクロ流体デバイスの開発

氏 名 Liu Xun

(論文内容の要旨)

Flow cytometry stands as a potent tool for the detection, analysis, and sorting of cells. By leveraging diverse physical fields within microfluidic chips, it facilitates the capture of a wide array of morphological and biochemical insights from distinct cell types. In evaluating the prowess of flow cytometry, the parameters of throughput and sensitivity emerge as pivotal. The objective described in chapter 1 is undertaking the development of a microfluidic chip with the aim of augmenting both the throughput and sensitivity of flow cytometry.

In the second chapter, efforts were concentrated on bolstering throughput. This involved an optimization of the conventional structure of a PDMS-based microfluidic chip. Notably, two key improvements were implemented. Initially, a horizontal alignment was established for the connections linking the chip and the pipeline. Simultaneously, the layout of the microchannels was streamlined to curtail flow resistance. Additionally, a two-layer channel configuration was adopted, introducing vertical hydrodynamic focusing. The outcome of these modifications was the creation of a novel microfluidic chip capable of achieving a remarkable cell imaging velocity of 40 m/s, thereby establishing a new global record in this regard.

Chapter 3 was dedicated to refining sensitivity, particularly pertaining to the gradient of electric field strength. Amplified signals during detection are a direct consequence of a steeper electric field gradient. In order to heighten the strength of the electric field, the study harnessed a femtosecond laser to craft electrodes characterized by a slender span of just 1 μm . Subsequent experiments, which encompassed minute beads and yeast cells, revealed that the electrode featuring a 1 μm width yielded concentrated amplitudes, indicative of heightened sensitivity.

Moreover, the research extended the application of impedance flow cytometry to encompass droplet detection and analysis. Investigations highlighted the influence of

electrode size, droplet length, and intervals between droplets on resultant signals. A meticulous detection methodology for quantifying droplets was established through a combination of numerical simulations and practical experiments. As a testament to its efficacy, this system proficiently discerned droplets possessing diameters of both 200 μm and 100 μm .

In conclusion, Chapter 4 culminated the series of endeavors presented within this study. The work unequivocally demonstrated the substantial elevation in flow cytometry throughput. Additionally, several techniques to amplify sensitivity were proposed, cementing the study's contribution to the advancement of this critical analytical tool.

(論文審査結果の要旨)

がんなどの異常細胞が血管内を循環するだけでなく、血小板や白血球などの血液細胞においても、複雑な生理的・病理的機能をより深く理解し、製薬や医療現場におけるより良い開発や治療戦略を実現するためには、大量な細胞の形態を高速かつ高精度に計測できる技術が必要であり、画像サイトメトリーとインピーダンスサイトメトリーが多用される。本研究では、既存の画像サイトメトリーとインピーダンスサイトメトリーの性能を大幅に向上させることで、以下の成果を達成した。

まず、画像サイトメトリーにおいて、これまでの課題であった微小流路内の流速制限や画像取得時の焦点のズレ、試料が受ける損傷、画像取得領域での細胞捕捉率向上の問題について、3つの手法を用いて解決した。1. 従来のハイスループットイメージング手法で使用されるマイクロ流体デバイスのサイズを従来の1/4サイズに小型化し、デバイス全体のコストを75%削減し、圧力損失も最大で70%減少させた。2. シリンジなどの送液系と接続するチュービングも、従来の垂直接続方式から水平接続に変更することで、圧力損失をさらに低減し、試料の紛失や損傷を回避した。3. 高流速時に試料の分布をより小さな領域に制限することで(従来と比べて66%改善)、イメージングの焦点ズレと流路の詰まりを効果的に防ぐことができた。

また、インピーダンスサイトメトリーの性能向上のため、電極間距離の最適化と試料の流路内での位置制御を行った。具体的には、フェムト秒レーザーを使用して、マイクロ流体デバイス内の微細な電極間距離を $1\mu\text{m}$ 以下に縮小し、計測感度を大幅に向上させ、ナノスケールの試料の特性を計測できるようにした。その後、粘弾性流体を利用して、試料の流路内での位置を精密に制御し、計測感度を更に高めた。

さらに、今後は製薬や生命科学において重要な役割を果たす微小な液滴(ドロップレット)のインピーダンス計測用電極の最適化設計も行い、従来の電極では正確な測定が難しかった問題を解決した。

本研究では、世界最速の画像サイトメトリー、ドロップレット用高感度インピーダンスサイトメトリーが実現され、創薬、疾病治療、生命科学研究の質と効率が向上することが期待される。これらの成果は学術的な新知見を提供しており、審査委員一同は本論文を博士(工学)の学位論文として高く評価した。