

2024年 8月 22日

豊橋技術科学大学長 殿

機械工学専攻
学位審査委員会
委員長 小林 正和 

論文審査及び最終試験の結果報告

このことについて、博士学位論文審査を実施し、下記の結果を得ましたので報告いたします。

学位申請者	VENKATESH KUMAR PANNEER SELVAM		学籍番号	第 209107 号
申請学位	博士（工学）	専攻名	大学院工学研究科博士後期課程 機械工学 専攻	
博士学位 論文名	Live Single-Cell Screening Based on Cell Encapsulation and Irradiation of Patterned Light (パターン光照射と細胞カプセル化を用いた単一生細胞スクリーニング技術の開発)			
論文審査の 期間	2024年 7月 18日 ～ 2024年 8月 22日			
公開審査会 の日	2024年 8月 22日		最終試験の 実施日	2024年 8月 22日
論文審査の 結果※	合格		最終試験の 結果※	合格
審査委員会(学位規程第6条) 学位申請者にかかる博士学位論文について、論文審査、公開審査会及び最終試験を行い、別紙論文内容の要旨及び審査結果の要旨のとおり確認したので、学位審査委員会に報告します。 委員長 足立 忠晴  委 員 柴田 隆行  印 永井 萌土  印  印				

※論文審査の結果及び最終試験の結果は「合格」又は「不合格」の評語で記入すること。

論文内容の要旨

医療・バイオ産業において高産生細胞株を樹立するために、長時間の生細胞観察後に望ましい特性を持つ細胞を回収し、調査や拡大培養を行う必要がある。そこで、本論文は長期間の生存を維持することが可能で単一細胞スクリーニングを自動化するシステムを開発することを目的として、以下の5章で構成されている。

第1章では、細胞の不均一性とそれに伴う単一細胞スクリーニングの必要性、および従来の単一細胞スクリーニング手法を概説し、高産生細胞株の樹立に必要な技術課題を明らかにするとともに、本研究の目的を述べている。

第2章では、ゼラチンメタクリロイル(GelMA)ハイドロゲル中に単一浮遊細胞を自動でカプセル化する手法を開発している。細胞を顕微鏡観察した後、必要な細胞のみをデジタルマイクロミラーデバイス(DMD)での光照射により、並列的に光重合することでシステムを構築している。

第3章では、単一浮遊細胞をカプセル化するGelMAが単一細胞スクリーニングにおいて長期の生存と増殖を維持し、顕著な生体適合性を示すことを明らかにしている。さらに、トリプシンを使用すれば、数分以内にGelMAハイドロゲルを溶解することができることを明らかにした。その上で、この現象を利用して、GelMA内にカプセル化された細胞の回収法を開発している。

第4章では、DMDベースのアプローチと比較して、より簡便な光学系で広い領域での単一浮遊細胞をカプセル化するために、液晶ディスプレイ(LCD)スクリーンとLED光源を用いた光重合システムを開発している。開発したシステムにより、広範囲にある細胞をGelMA内にカプセル化できることを実証している。

第5章では、本研究の成果を総括し、今後の展望を述べている。

審査結果の要旨

本論文では、長期観察が可能で単一生細胞を回収するための光照射による自動化された細胞分離システムを開発した。DMDを用いた光重合システムを開発し、GelMAハイドロゲル中に単一浮遊細胞を自動的にカプセル化する手法を確立した。データ転送方法の最適化により、細胞のカプセル化率を100%まで向上させるとともに、手動によるデータの転送法と比較して、処理時間を約80%短縮することに成功した。短時間での光硬化が可能になったことから、浮遊細胞をカプセル化する際の位置決め精度を6 μm 程度まで向上させることに成功し、システムの実装化に向けての有効性を明らかにしている。GelMAを単一細胞スクリーニングのためのカプセルとして使用することで、細胞の長期観察において、GelMAハイドロゲル内では5日間以上の細胞生存と増殖を維持することが可能となったことを明らかにしている。またGelMAへの積算光量に比例して、トリプシンでの溶解時間が増加する現象を発見した。このトリプシンへの溶解特性を利用して、GelMA内にカプセル化された細胞の回収法を確立した。続いて、DMDを用いたシステムと比較して、より簡便で高範囲に単一細胞をカプセル化するためにLCDスクリーンを用いた光重合システムを開発し、4 mm $\times$ 4 mmの領域での細胞のカプセル化が可能であることを明らかにした。

本論文において、単一生細胞を回収するための光照射による自動化されたDMDおよびLCDを利用した2つの細胞分離システムを開発し、短時間で単一細胞の回収を可能とし、さらに長期間の細胞観察が可能となったことを実験的に明らかにしており、バイオ医薬品開発、癌研究、個別化医療などの分野での応用が期待され、社会的にも意義があるものと言える。以上、本論文は博士(工学)の学位論文として十分な価値を有するものと判断される。

(各要旨は1ページ以上可)