



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Study on High-Speed Measurement of Cell Rheology Using Atomic Force Microscopy [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	高橋, 亮輔
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(情報科学)
Dissertation Number	甲第12404号
Issue Date	2016-09-26
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/63340
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Ryosuke_Takahashi_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士 (情報科学) 氏名 高橋 亮輔

審査担当者 主 査 教 授 岡嶋 孝治

副 査 教 授 平田 拓

副 査 教 授 館野 高

学位論文題名

原子間力顕微鏡による細胞レオロジー測定の高速化に関する研究

(Study on High-Speed Measurement of Cell Rheology Using Atomic Force Microscopy)

本論文は、細胞の力学特性が様々な細胞機能のメカニズムの解明や単一細胞疾患診断技術の確立につながるということが間接的な実験事実に基づいて指摘されつつある昨今の状況において、原子間力顕微鏡 (AFM) を用いた生細胞の粘弾性の周波数特性 (レオロジー) 測定を高速化するための技術開発と性能評価について論じている。

細胞の内部には細胞核等の細胞小器官や細胞骨格などが不均一に存在している。特に細胞骨格構造は細胞の力学特性の決定に強く寄与しており、細胞の力学特性も空間的な不均一性を示す。AFM は高い空間分解能を有し、細胞内の様々な力学特性の空間分布を観察することができる。AFM を用いた細胞レオロジー測定として、周波数掃引フォースモジュレーション法が広く用いられている。しかしながら、周波数掃引フォースモジュレーション法は複数の周波数成分を段階的に計測するため、測定に長時間を要する問題がある。また、細胞レオロジーの統計性評価が必要である細胞疾患診断への応用において、測定時間の短縮化は極めて重要な課題である。著者は、重畳周波数を用いた新規なフォースモジュレーション法を考案した。そして、この多重周波数フォースモジュレーション法を用いて、単一周波数フォースモジュレーション測定と同程度の測定時間で細胞レオロジー物性を測定することが可能になり、細胞内の詳細なレオロジーマッピング測定に成功した。そして、細胞内レオロジーマッピング像から細胞内部の微細構造を取得できる可能性が示唆された。更に、多数細胞計測の高速化を目指した AFM の広範囲自動計測システム、および、多数の独立した単一細胞計測に適した細胞培養基板を開発した。これらの技術開発は、細胞レオロジー物性の解明のみならず、細胞力学特性を指標とする単一細胞診断技術の発展にも大きく貢献する。本論文は 7 章から構成されており、第 1 章では、本論文の導入として、研究背景とその目的について述べている。

第 2 章では、本研究の実験上の基礎となる、AFM 測定の原理、AFM 測定データの解析法およびソフトガラスレオロジー理論について述べている。

第 3 章では、多重周波数フォースモジュレーション法の開発について詳述している。多重周波数を用いて全ての周波数成分を同時に計測することによって、単一周波数でのフォースモジュレーション測定と同程度の時間で細胞レオロジーが測定されることを示した。

第 4 章では、多重周波数フォースモジュレーション法を用いた単一細胞内レオロジーマッピング測定について論じている。細胞レオロジーの空間的な不均一性が個々の細胞で大きく異なることを明らかにした。そして、細胞内レオロジーマッピング像が細胞内部の力学構造を可視化する可能性

が考察された。

第5章では、応力緩和法と多重周波数フォースモジュレーション法の同時測定によって、短時間測定における時間領域及び周波数領域の細胞レオロジーの比較について論じている。理論上等価となる時間領域と周波数領域間でのレオロジー変数が、大きく異なることを実験的に明らかにした。そして、AFM 力学測定において避けることの出来ない押し込み開始から観測までの遅延時間が、時間領域の細胞レオロジー測定に影響することを示した。

第6章では、多数細胞計測を高速化するための広範囲自動計測システムの開発について詳述した。AFM 本来の高精度位置制御の機構を損なうことなく、広範囲に分布する多数細胞を自動で計測することが可能となった。また、多数の単一細胞レオロジー計測が可能な細胞培養基板を開発した。そして、細胞間接触による力学的相互作用が個々の細胞レオロジー特性において、それほど重要ではないことを統計的に明らかにした。

第7章では、3章から6章で得られた研究成果を総括し、今後の展開について論じている。

これを要するに、著者は、細胞レオロジーの高速計測を可能とする新規な原子間力顕微鏡 (AFM) 法を開発し、詳細、且つ膨大な細胞の力学物性情報を取得することに成功するとともに、既存の AFM 計測技術では得ることができない細胞力学物性を解明できる可能性を実験的に示したものであり、情報科学に対する貢献は大なるものがある。よって博士 (情報科学) の学位を授与するに値すると認める。