



Title	Design and development of a flexible autonomous cell culture system
Author(s)	落合, 幸治
Citation	大阪大学, 2021, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/82337
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

氏 名 (落合 幸治)	
論文題名	Design and development of a flexible autonomous cell culture system (柔軟で自律的な細胞培養システムの設計と開発)
論文内容の要旨	
Cell culture is a basic experimental technique in cell biology and regenerative medicine. However, culturing high-quality cells while maintaining reproducibility relies heavily on expert skills and tacit knowledge. Combining a newly developed AI software with LabDroid, a versatile dual-arm experimental robot, a variable-scheduling autonomous cell culture system was developed that can continuously produce subcultures of cell lines without human intervention. The system periodically observes the cells on plates with a microscope, predicts the cell growth curve by processing cell images, and determines the best times for passage. This system has been successful in maintaining the cultures of two different HEK293A cell lines with no human intervention for 192 hours. This autonomous culture system can also use different modules. Convolutional Neural Network (CNN) is one method that can be applied as a module. The effects of different imaging methods on the accuracy of image processing have not been examined systematically. The effects of different imaging methods on the performance of machine learning-based cell type classifiers were studied. Lymphoid-primed multipotent progenitor (LMPP) and pro-B cells were observed using three imaging methods: differential interference contrast (DIC), phase contrast (Ph), and bright-field (BF) imaging. The classification performances of CNNs were examined with each of these imaging methods and their various combinations. CNN achieved the same level of classification performance when using images captured by any of the BF, Ph, and DIC methods to infer the differentiation status of cells. Therefore, there is little need for hardware modification, such as the addition of a microscope, when applying CNN to automated experimental systems. By applying this CNN to the autonomous culture system, it is possible to discard cells, expand cultures, or change culture medium, depending on the quality as well as the quantity of cells, by changing the software. In future, the autonomous culture system developed in this study may alleviate the problems caused by a lack of human resources and high educational costs in cell biology research and regenerative medicine. It may also lead to acceleration of scientific discovery by the automation of exploratory experiments.	

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (落 合 幸 治)			
論文審査担当者	(職) 氏 名		
	主 査	特任教授	柳田 敏雄
	副 査	教授	上田 昌宏
	副 査	招へい教授	春野 雅彦
	副 査	招へい教授	高橋 恒一
	副 査	招へい教授	泰地 真弘人
論文審査の結果の要旨 論文は双腕ロボットを用いた自律型の細胞培養システムの開発と評価について報告している。ほ乳類細胞を用いた検証実験において、細胞が正常に増殖し、あらかじめ設定された細胞密度の目標値に応じての継代操作のタイミングが適切に調節されることを確認した。本システムの適用可能性をさらに広げるためには判断基準を細胞密度だけでなく分化状態にまで広げることが有効である。この可能性を検証するため、血球細胞のLMPPからProBへの分化過程において明視野顕微鏡、位相差顕微鏡、微分干渉顕微鏡の三種類の手法で同じ対象の画像を取得し、深層学習を用いた細胞状態分類の精度を比較、確認した。その結果、撮影方法によらずほぼ一定の精度を示すことが確認された。 本論文で報告されているように自律的に細胞状態を判断して細胞培養を行うような装置はこれまで報告されておらず、ロボットとAIシステムを組み合わせたシステム統合は工学的な飛躍と生物工学的な飛躍を同時に示すものであり、博士学位の授与にあたっての要件を満たすものである。			