

論文の内容の要旨

論文題目 操縦形マイクロハンドリングシステムの構築

氏名 土屋健介

微細な物体を対象とする場合、従来は、大量の対象物を一つの集団としてとらえ、それに対して操作を加えて大量の結果を得る、という手法が用いられてきた。しかし、近年は、特定の 1 個を対象として機械的な操作を加えるマイクロハンドリングが、工学・医療・生命の各分野で必要とされている。本論文では、1mm 以下の任意の微細物を対象として、対象物の状態検知・判断・操作の決定・実行というすべての過程を、人間の判断に基づいて行うハンドリングを"操縦形マイクロハンドリング"と定義し、それを実現するシステムの構築を目的とする。そのために、まず、操縦形マイクロハンドリングシステムの設計指針を提案する。次に設計指針に基づいて、マイクロハンドリングが汎用に行える操縦形マイクロハンドリングシステムのプロトタイプを開発する。さらに、各種の要求に対して、個々に対応するシステムを開発し、実際の試作・試用を通して、設計指針を帰納的に評価する。

以下に本研究の内容をまとめる。

(1) 操縦形マイクロハンドリングシステムの設計指針の提案した

本論文では、対象が微細であることに起因して発生する制約条件を分析し、その中で特定の一つの微細物に対して機械的な操作を加えることという要求機能を満たすために、以下の 3 項目を、操縦形マイクロハンドリングシステムの設計指針として提案した。(図 1)

1. 操縦形マイクロハンドリングシステムには、対象物や工具をリアルタイムに観察できる顕微鏡、工具を並進・回転させるマニピュレータ、対象物に対して操作を行う工具、対象物を固定する機能を持ったパレット、の 4 つの機構要素群が含まれる
2. 工具は、操作する対象物と同程度に先端が微細で、

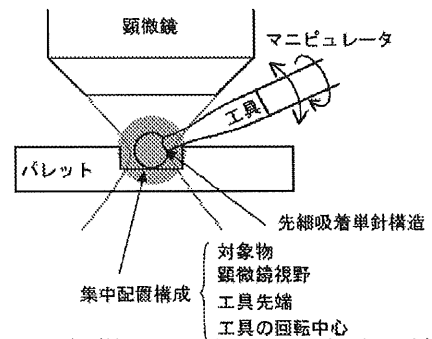


図 1 操縦形マイクロハンドリングシステムの構成

対象物を吸着させる単針構造になる

3. システムの機構要素の構成は、対象物・工具先端・工具の回転中心・顕微鏡視野が一箇所に集中する集中配置構成になる

(2) 設計指針に基づいて、微細操作が汎用に行えるような操縦形マイクロハンドリングシステムのプロトタイプを開発し、設計指針の妥当性を検討した

提案した設計指針を基にして、操縦形マイクロハンドリングシステムの一つの具体例として"ナノ・マニファクチャリング・ワールド(以下、NMW)"と称するプロトタイプを開発した。

サブ μm の精度での組立・接合作業を観察するために、顕微鏡には $1\mu\text{m}$ 程度以下の分解能と数 $10\mu\text{m}$ 以上の焦点深度とが求められ、対象物に工具がアクセスする空間を確保するために、数 10mm 程度の作動距離が求められる。したがって、観察には約 10nm の分解能と約 $100\mu\text{m}$ の焦点深度と 50mm の作動距離とを持つSEMを用いた。また、SEMを用いて3次元の情報を得るために、作業空間を上方と側方から同時にリアルタイムで観察できるMD-SEMを開発した。工具には、 $100\mu\text{m}\sim 1\text{mm}$ の対象物を吸着・離脱するために、ニクロム線の表面をガラス絶縁膜で覆った $\phi 100\mu\text{m}$ の静電気力工具と、 $100\mu\text{m}$ のろう材を溶かして対象物を接合するために、 $\phi 300\mu\text{m}$ に絞ってレーザー光を照射できる半導体レーザー工具とを用いた。

工具や対象物の駆動には、左右2本のアームとステージから構成され、並進・回転の合計20自由度を有する集動マニピュレータを用いた。2つの工具と対象物とをサブ μm の分解能で位置決めするために、アームとステージはそれぞれ分解能 $0.1\sim 0.2\mu\text{m}$ の並進自由度を持ち、姿勢を制御するために複数の回転自由度を持つ。

対象物を固定して搬送するために、静電気力パレットを用いた。電子顕微鏡で観察するために材質には導電体であるステンレスを用い、寸法は人手で扱える大きさの $29\text{mm}\times 26\text{mm}\times 6\text{mm}$ で、SEMの最大視野である 5mm 角の範囲に対象物を固定できる。また、各機構要素を集中配置構成になるように組み合わせ、システムを構築した。試作したNMWの構成を図2に示す。

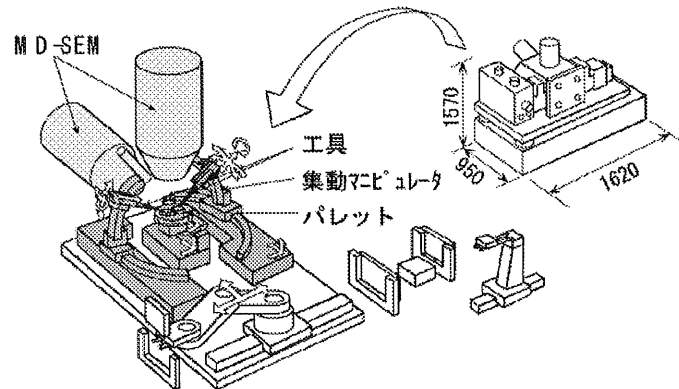
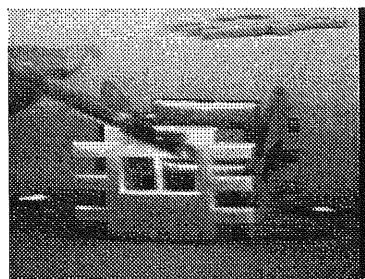
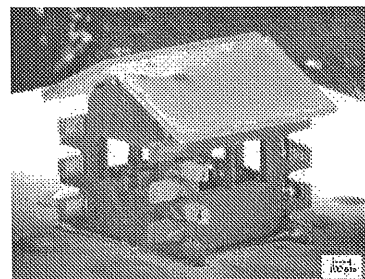


図2 ナノ・マニファクチャリング・ワールドの構成



(a) 静電気力工具による組立



(b) 完成した"マイクロハウス"

図3 "マイクロハウス"組立接合のSEM画像

試作したシステムを用いて、図 3 に示す 1mm 角の"マイクロハウス"の組立・接合作業を行い、要求機能が実現されていることを確認した。このことから、設計指針の妥当性を確認した。また、4 つの機構要素のうち、顕微鏡・マニピュレータと比較して、工具とパレットは実現が難しいことがわかった。

(3) 工具とパレットの設計に重点を置いて、各種の要求に対して、個々に対応するシステムを開発し、設計指針の妥当性を検討した

個々の機能要素、特に工具とパレットに注目して、顕微授精システム、DNA サージェリシステム、微量液体ハンドリングシステムを設計・試作した。

顕微授精システムでは、卵子の変形を抑えながら細胞膜に応力集中させて開孔するために、並進だけでなく回転する回転ピペットを開発した。 $\phi 3\mu\text{m}$ の精子を内部に取り込むために回転ピペットは $\phi 7\mu\text{m}$ とし、 $\phi 100\mu\text{m}$ の卵子を固定するホールディングピペットは $\phi 75\mu\text{m}$ とした。また、卵子・精子を固定して運ぶために、流動パラフィン中に卵子・精子を閉じ込めるための培養液ドロップを設けた時計皿を用いた。

卵子・精子の観察には $1\mu\text{m}$ 程度の分解能で十分なため、倒立光学顕微鏡を用いた。工具の駆動には、サブ μm の位置決め分解能が必要なため、液圧マイクロマニピュレータを用いた。システムは、本研究で提案した設計指針に基づいて設計し、倒立光学顕微鏡、液圧マイクロマニピュレータ・回転ピペットとホールディングピペットの各工具・時計皿パレットの 4 つの機構要素から構成した。また、各工具は卵子・精子と同程度に微細な先端を持ち、液体を陰圧で吸引してハンドリングする。さらに、各機構要素は、顕微鏡視野・対象物・工具先端・工具回転中心を一箇所に集中した集中配置構成にした。システムの構成を図 4 に示す。

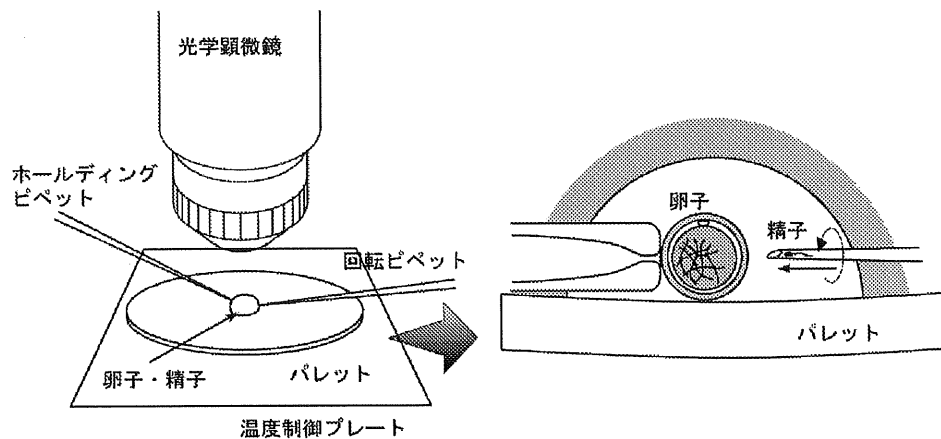
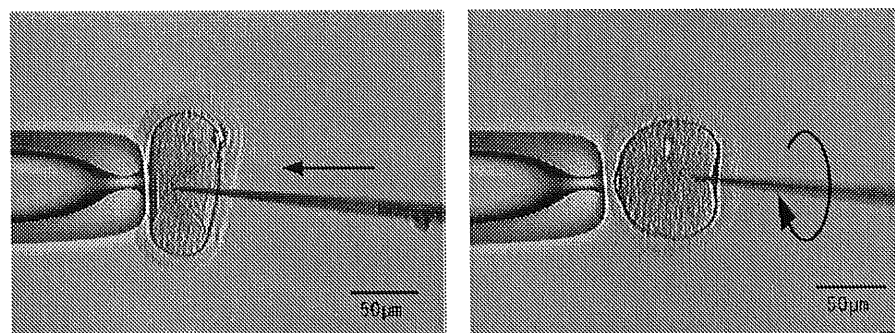


図 4 試作した顕微授精システムの構成



(a) 並進運動のみで挿入

(b) 回転させながら挿入

図 5 回転ピペットを卵子の卵細胞質内まで挿入したときの卵子の変形の様子

このシステムを用いて、図5に示すように卵子の変形を従来の35%に抑えて細胞膜の開孔を実現した。すなわち、低侵襲で卵子に開孔するという要求を実現したことを確認した。したがって、顕微授精システムは、操縦形マイクロハンドリングシステムの設計解の一つである。

DNA サージェリシステムでは、 $\phi 2\text{nm}$ の DNA をハンドリングするために $\phi 20\text{nm}$ の ナノプローブを用い、DNA を伸ばして固定するパレットとして SAW を利用した DNA 伸長チップを用いた。ナノプローブは、電子ビームの軌跡に真空中の残留気体を堆積させる 3D-EBD を用いて作製して、DNA を吸着させるために表面にアルミニウムを蒸着した。DNA 伸長チップは、溶液の流れで DNA を伸ばすために、圧電性基板上的楕円電極に高周波電界をかけて SAW を起こす。

DNA は $\phi 2\text{nm}$ と光の回折限界よりも遥かに小さく、また、溶液中でハンドリングするため、観察に光学顕微鏡や電子顕微鏡は使えない。したがって、蛍光試薬で染色して蛍光顕微鏡で観察する。また、蛍光顕微鏡の分解能は数 100nm であることから、工具の駆動にも、位置決め分解能が 100nm の液圧マイクロマニピュレータを用いた。

システムは、本研究で提案した設計指針に基づいて設計し、蛍光顕微鏡・液圧マイクロマニピュレータ・ナノプローブ・DNA 伸長パレット、という4つの機構要素から構成される。また、DNA を操作するナノプローブは DNA の 10 倍の微細な先端を持ち、表面のアルミニウムで DNA を吸着させる。さらに、各機構要素は、顕微鏡視野・対象物・工具先端を一箇所に集中した集中配置構成にした。試作したシステムを図6に示す。

このシステムを用いて、図7にしめすように、核の中から $\phi 2\text{nm}$ 長さ約 $100\mu\text{m}$ の DNA を引き伸ばし、伸ばした DNA の一部を切り出し、移動させる作業を実現した。すなわち、要求機能が満たされているため、DNA サージェリシステムは、操縦形マイクロハンドリングシステムの設計解の一つである。

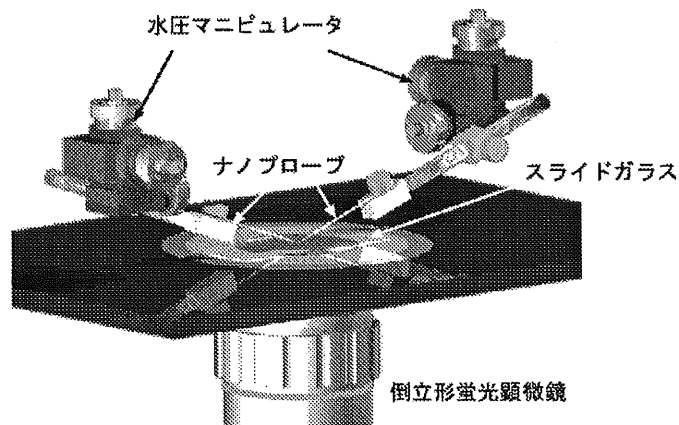
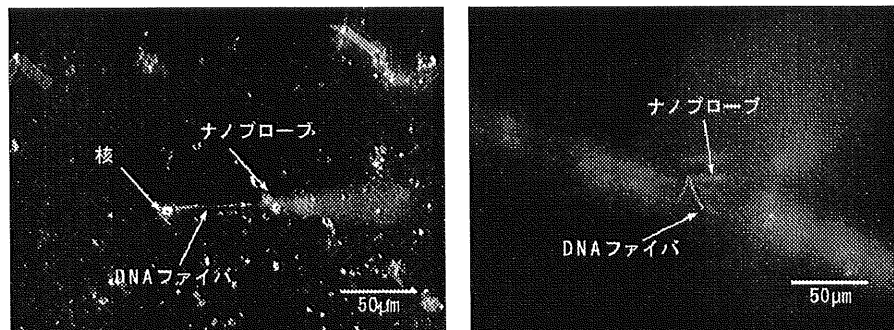


図6 試作したDNA サージェリシステムの構成



(a) 核から引き伸ばす様子

(b) 一部を切り取る様子

図7 ナノプローブを用いたDNAファイバの引き伸ばし、切り取り作業の蛍光顕微鏡画像

以上のことから、操縦形マイクロハンドリングシステムの設計指針を帰納的に評価し、その妥当性を確認した。

また、システムの設計を通して、操縦形マイクロハンドリングシステムを効率的に設計するには、要求機能に応じてまず工具とパレットを開発することが重要であることがわかった。その理由として、工具とパレットは一般に機能の汎用性が得られないこと、構造の微細性が不可欠だが微細加工が困難で実現が難しいこと、設計の整合性を保とうとすると一般に後で決めた機構が複雑になり設計が困難になること、の3点をあげた。また、実際のマイクロハンドリング作業を通して、通常は掴む・離す・転がす・滑らすなど、すべて重力・慣性力・摩擦力・垂直押し付け力のバランスで行われているハンドリングが、微細な世界では、静電気力や分子間力などのバランスで、物体間の接点で引っ張り合うことになることがわかった。さらに、今後の課題として、新たな設計解を実現するために制約の少ない顕微鏡の開発、微細な形状をもつパレットの開発、およびそれを実現するための微細加工プロセスを開発することが重要であることを述べた。

以上