

審査の結果の要旨

論文提出者氏名 工藤 謙一

本論文は「マイクロマニピュレーションシステムの開発」と題し、動物卵細胞に対して、人為的な操作を行うときに使用する細胞操作用マイクロマニピュレータおよびその周辺機器の開発を目的として行った研究成果を纏めたものである。

本論文は、全8章で構成されている。

第1章は、「序論」であり、研究背景、従来の手法、人工受精の歴史と現状及び既存の細胞操作用マイクロマニピュレータについて述べ、本論文の目的、構成、及び本研究で研究開発する新システムの開発指針について述べている。

第2章「細胞整列機構」では、卵細胞の大量操作への提案と液流を用いた細胞整列機構について述べている。哺乳動物の卵細胞を用いた核移植や体外受精では、細胞の入ったメディアウムをシャーレに小分けしたドロップレットとして、その中で作業を行う方法がとられているが、大量の細胞を扱うことを前提として自動化を考えた場合、細胞の入ったドロップレットを正確に回収・設置を繰り返すシステムは複雑な装置構成となることが問題であった。そこで、液体と操作対象の微小物が入ったケースを振動させることにより微小物が集束する現象を利用した細胞整列機構を考案している。この細胞整列機構を用いてのポリスチレンビーズやウサギの卵細胞を対象とする実験により、効率良く操作領域に微粒子を集めることが確認され、考案した整列機構の有用性を実証している。

第3章「ピエゾマイクロマニピュレータ」では、圧電素子の急速変形に伴う慣性力を利用した移動機構を考案し、これを利用したピエゾインパクトマイクロマニピュレータについて述べている。考案した圧電素子の急速変形に伴う慣性力を利用した移動機構は、移動体に圧電素子を取り付け、その圧電素子の端面に慣性体を取り付けただけの簡単な構造で、最小4 nm のステップ移動を実現できる微小移動機構であり、種々の超精密位置決め装置に用いられており、本機構に関する研究は、精密工学会賞を受賞している。この駆動原理を用いたピエゾインパクトマイクロマニピュレータは、動物卵細胞を変形させることなく、微細器具の挿入が可能である特徴がある。従来の液圧駆動のマニピュレータを細胞穿孔用に用いた場合には細胞膜の大きな変形が避けられなかったが、ピエゾインパクトマイクロマニピュレータでは、圧電素子により発生した慣性力によるピペットの急速な動きのため、細胞膜の変形をほとんど生じないことを明らかにしている。そして、マウスの核移植において、壊れやすく従来は挿入不可能であった脱核用のピペットの挿入を可能にしたことにより、クローンマウスの製作に欠かせない重要なツールとなったと述べている。

第4章「電磁衝撃力を利用した細胞穿孔機構」では、衝撃電磁力を用いた細胞穿孔機構について述べている。細胞膜の固い卵細胞やより口径の大きなピペットの挿入に際して、より大きな穿孔力を必要とする。そこで、圧電素子の代わりに衝撃電磁力を用いる機構を開発した。試作した機構により、ピエゾインパクトマニピュレータよりも大きな穿孔力を用意に発生出来ることを確認し、脳や臓器などへの薬剤のインジェクションなどにも適応可能であることを示している。

第5章「精密インジェクタ」では、精密インジェクタの開発について述べている。圧電素子と慣性体を取り付けただけの単純な構造で、精度の高い精密インジェクションが可能である新しい方式のインジェクタを考案している。電氣的に吐出量の制御が可能でありマイクロマニピュレーションの自動化に適している事を確認している。

第6章「微小力測定装置」では、細胞膜の物理特性測定用の微小力測定装置の開発について述べている。細胞の物理学特性を正確に測定することにより、細胞の優劣を判断できれば、迅速な卵子の選別が可能になると考え、レーザー光を利用した微小力センサ及び静電容量型微小力センサを開発した。試作したこれらのセンサを用い、細胞穿孔時の力を精密に測定できることを明らかにしている。

第7章「自動化マイクロマニピュレータ」では、コンピュータ制御マイクロマニピュレータシステムの開発について述べている。今まで熟練者の手技であった複雑な作業をコンピュータと電動ステージを用いて簡素化して、作業効率の向上や、マイクロマニピュレータの操作を短時間で習熟できる事を目的としたオペレータ支援装置を企業と共同で開発し、実用化に成功している。コンピュータマウスを用いた片手だけの操作で、ピペットの位置合わせや退避などが自動的に行われるようになり、ICSIや核移植1回当たり、2～3分の作業時間の短縮が達成されるなど、利用者から高い評価を得ている。

第8章「本論文のまとめ」は、本論文の結論であり、本研究で明らかとなった知見を纏めている。

このように、本論文でなされた研究において、「圧電素子の急速変形に伴う慣性力を利用した移動機構」や「液流を用いた細胞整列機構」などの革新的な技術を考案して、自動化されたマイクロマニピュレーションシステムの構築に成功している。開発した装置は、わが国だけでなく欧米にも販売され、顕微授精や核移植の研究に活用されており、医学や生物学の進歩に大きく貢献している。本論文の研究成果は生命工学、精密機械工学の発展に大きく寄与するものと言える。

よって、本論文は博士（工学）の学位請求論文として合格と認められる。