

# 圧電素子を用いた細胞操作マイクロマニピュレータの開発

Development of Piezo Micromanipulator for Cell Micromanipulation

樋口 俊 郎\*・工藤 謙一\*\*・小川 優\*\*・山形 豊\*

Toshiro HIGUCHI, Ken-ichi KUDOH, Masaru OGAWA and Yutaka YAMAGATA

## 1. はじめに

近年、哺乳動物における生命工学の研究には、細胞レベルでの微細な操作を行う必要があり、ミクロンオーダの精密位置決め機構に対する要求がある。生命工学の研究、なかでも特に細胞操作マイクロマニピュレータを用いて、動物細胞の核をマイクロピペットで取り出し、ほかの細胞に移植して、同じ形質をもつ生物を大量生産する方法、受精卵を分割して2匹以上の形質の同じものを作る方法、また最近特に注目を浴びている顕微受精、すなわち、精子の卵子卵卵腔内あるいは細胞質内注入による受精、ならびに卵子透明帯の一部を切除して体外受精をさせる方法は、今後、家畜の品種改良の効率化や、受精機構の解明の手段として、また、不妊症治療法としても大いに期待される方法である<sup>1)</sup>。しかし、おおかたの研究者が現在使用しているマイクロマニピュレータによる操作、特に細胞内における微小位置決め操作には、オペレータの熟練を必要とし、また細胞膜の弾性の強い卵子などは、マイクロピペットの挿入時に卵子が変形して破壊されてしまい、細胞操作の成功率は低い。我々は、圧電素子の急速変形によって微小移動する機構を開発して、種々の装置を試作し実験を行って来た<sup>2)3)</sup>。

今回、この機構を用いて細胞操作マイクロマニピュレータのマイクロピペットの微動装置に応用したところ、圧電素子の急速変形に伴う衝撃力により、細胞内にスムーズにマイクロピペットを挿入できることや、最小駆動ステップが非常に小さく微小な位置決めが可能なため、この機構が細胞操作マイクロマニピュレータの駆動機構として優れた性能を持っていることを確認したので報告する。

## 2. 微小駆動原理

図1に開発したマイクロマニピュレータに使用してい

\*東京大学生産技術研究所 第2部

\*\*プリマハム(株)

る微小駆動装置の駆動原理を示す。

移動体はベース上に置かれて、摩擦力で保持されている。この移動体 (M) の端面に慣性体 (m) が圧電素子を介して接着されている。圧電素子を縮めた状態から急激に電圧を印加して圧電素子を伸ばすと、移動体と慣性体が逆方向に移動する (①~②)。次に圧電素子を縮め、慣性体を一定の加速度で加速しながら引き戻してやる。このとき移動体が動かないように、この加速により引き起こされた慣性体の慣性力が、移動体とベースの間の静止摩擦力よりも小さくなるようにする。圧電素子が縮んだところで、慣性体の動きを急に止めてやれば、移動機構全体が、静止摩擦力に打ち勝って運動を始め、そして、運動エネルギーを動摩擦力によって失うまで移動して停止する (③~⑤)。逆方向への移動も伸縮のパターンを逆にするにより、同様に行うことができる。

## 3. 実験装置

### 3.1 微小駆動装置

図2は今回開発した圧電素子を用いた微小駆動装置

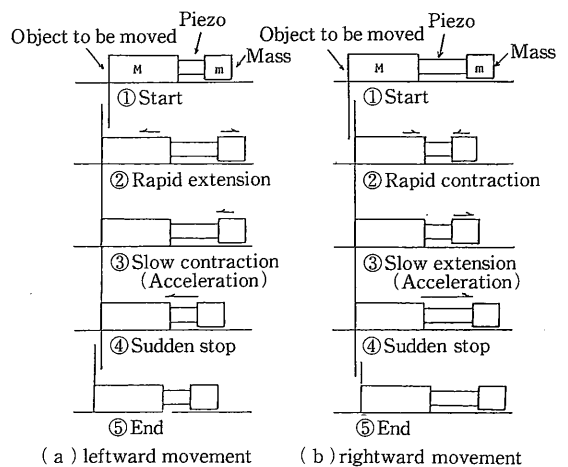


Fig. 1 Mechanism of Movement

研究速報

(ピペット駆動装置)を市販の倒立顕微鏡に取り付けた実験装置である。図3に微動部を示す。微動部分である直径4mmのピペットホルダ(ステンレス製)に、圧電素子2個と8gの慣性体2個を接着したプレート(アルミ製)を固定して、静止摩擦発生機構であるガイド部(真鍮製)に取り付けた。ピペットホルダにはマイクロピペット(ガラス製)を取り付けた。使用した圧電素子は、PMN系積層型素子(5×5×10mm)で、最大印加電圧150Vにおいて約8μmの変位を生じる。図4はピペットホルダの移動の様子を示す。

今回開発したマイクロマニピュレータのピペット駆動装置は、電圧振幅が20Vの時、1ステップ0.18μmの微小移動を記録している。なお、本機構による精密位置決めテーブルの実験ではナノメータオーダの位置決めを可能とすることを確認している。今回の開発装置でのマウスの卵子へのマイクロピペット挿入実験では、印加電圧30V、パルスレート60Hzの時、良好な結果を得ている。

3.2 マイクロインジェクタ

図5は圧電駆動マイクロインジェクタである。市販のマイクロシリンジ(100μl)端面に圧電素子と慣性体を取り付けただけの非常にシンプルな構造ながら、図6に示

すように印加電圧10Vの時、1パルスで、約243pI(2.43×10<sup>-7</sup>cc)の吐出量を得た。

3.3 DNA注入用精密マイクロマニピュレータ

図3の装置は、卵子透明帯や細胞膜に穴を開け、精子等を注入する作業において、非常に有効に機能しているが、さらに微細な核などにDNA等を注入する際、マイクロピペットの先端の振動が注入作業に不都合をもたらし

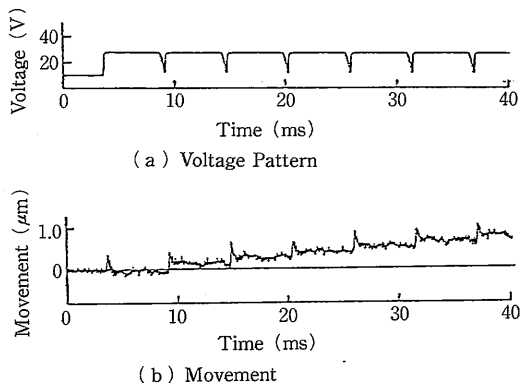


Fig. 4 An Example of Movement of Micro Pipette

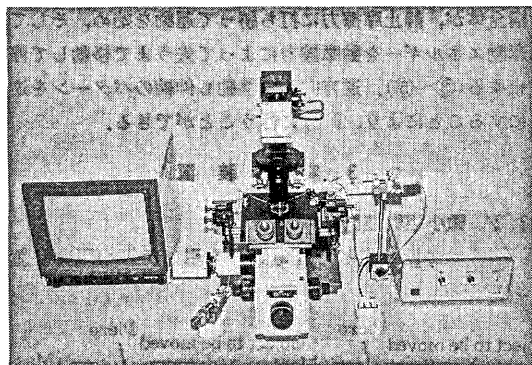


Fig. 2 Micro Manipulator

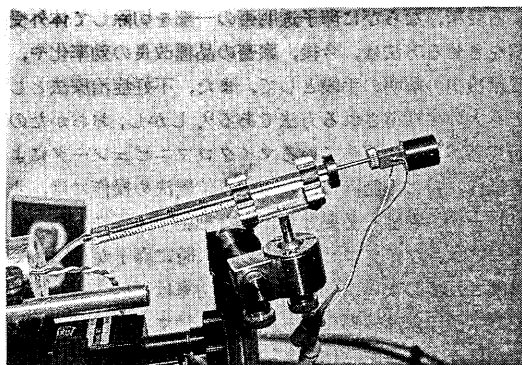


Fig. 5 Micro Injector

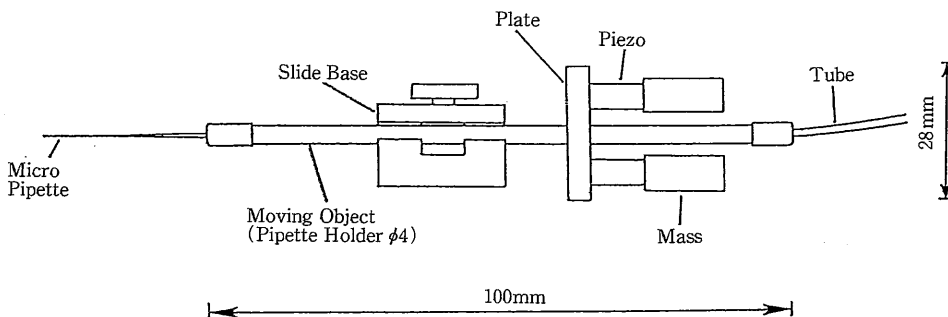


Fig. 3 Sketch of the Equipment

研究速報

た。そこで、図7に示すような穴あき型圧電素子を用いた微小駆動機構を開発した。図3のタイプでは2個の圧電素子を使用しているため、圧電素子間の性能のバラツキや取付位置、剛性等の問題が振動の収束を遅らせていたと考えられる。DNA注入用精密マイクロマニピュレー

タでは1個の大型の穴あき型圧電素子を使用することにより、素子間の性能(変位)のバラツキはなくなり、また、素子の中心へピペットホルダを設置できるので、運動エネルギーがピペットホルダに集中して効率の高い駆動力を得ることができ、従来型の諸問題を解決することができた。

4. マイクロマニピュレーションと今後の可能性

図8に圧電方式マイクロマニピュレータと従来の油圧駆動マイクロマニピュレータによる細胞操作の様子を示す。実験に使用した細胞はマウスの卵子で、大きさは約70 $\mu$ mである。

従来の細胞操作用マイクロマニピュレータの駆動には、一部に電磁力などを用いたものもあるが、一般的には油圧駆動である。油圧方式は微小領域でのマニピュレーションには熟練を必要とし、マイクロピペットの位置決め分解能や細胞操作の良否もオペレータの能力次第である。また、弾性のある細胞膜などにマイクロピペットを挿入する際、細胞が変形して、挿入がうまくいかないことがあった。今回、開発した圧電方式は、最小駆動ステップが非常に微小であり、駆動に圧電素子の急速変形に伴

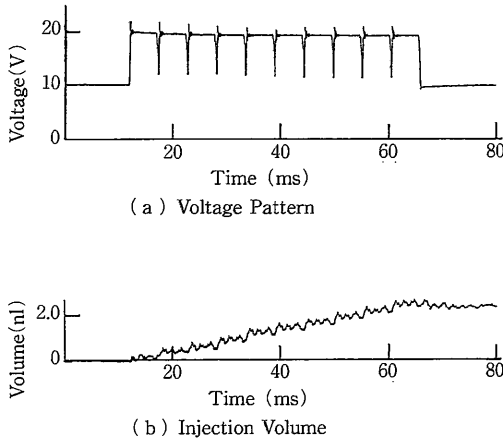


Fig. 6 An Example of Injection Volume of Piezo Injector

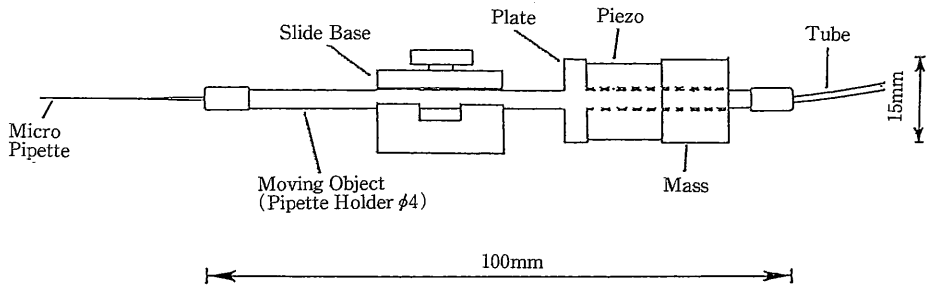
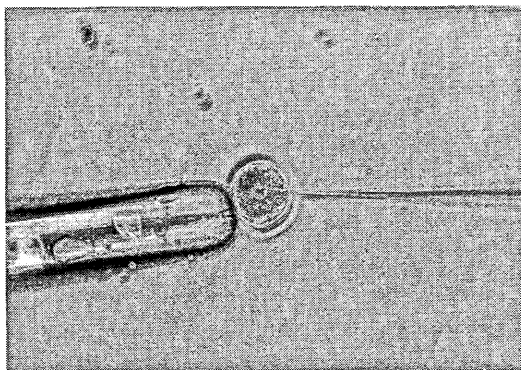
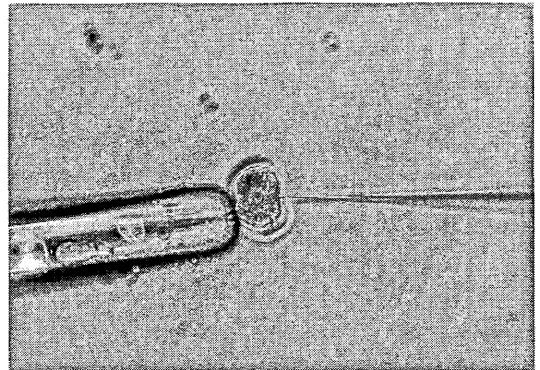


Fig. 7 DNA Type



(a) Piezo Manipulation



(b) Hydraulic Manipulation

Fig. 8 Micro Manipulation

## 研究速報

う衝撃力を利用しているため、弾性のある細胞膜などにマイクロピペットを非常にスムーズに挿入でき、細胞に与えるダメージが非常に少ないという特徴があり、細胞操作用マイクロマニピュレータの駆動機構に適していることが確認できた。また、穴あき型圧電素子を用いることにより、さらに微小領域におけるマニピュレーションを可能にした。この微小駆動機構はマイクロインジェクタにも応用可能で、より微小なインジェクションを可能にした。また、本機構は単純な構造でコンパクトであり、電気的に制御可能なので自動化に適している。よって、本機構の特徴を生かすことにより、マイクロサージェリーや半導体製造等にも応用できるなど、最近各方面で、要求の高まりつつあるマイクロマシンの駆動装置としても、非常に有望であると考えられる。

(1991年6月5日受理)

## 参考文献

- 1) K. SATO: In vitro fertilization of hamster eggs by microinjection of rabbit spermatozoa; J. Mamm. Ova Res., Vol. 6 No. 2 89
- 2) 樋口俊郎, 渡辺正浩, 工藤謙一: 圧電素子の急速変形を利用した超精密位置決め機構, 精密工学会誌 Vol. 54 No. 11 2107.
- 3) 樋口, 山形, 古谷, 佐藤, 後藤, 工藤: 圧電素子の急速変形を利用したマイクロマニピュレータの開発, 平成元年, 農業機械学会関東支部講演要旨集, 28.
- 4) 樋口, 山形, 古谷, 佐藤, 工藤, 小山, 小川: 圧電素子の急速変形を利用したマイクロマニピュレータの開発, 1990年度精密工学会秋季大会
- 5) 工藤, 後藤, 佐藤, 山形, 古谷, 樋口: 圧電素子を用いた細胞操作用マイクロマニピュレータの開発, 哺乳動物卵子研究会誌, 7巻1号, 7-12 (1990)