

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2009-153499

(P2009-153499A)

(43) 公開日 平成21年7月16日(2009.7.16)

(51) Int.Cl.
C12M 1/00 (2006.01)

F I
C12M 1/00 A

テーマコード (参考)
4B029

審査請求 未請求 請求項の数 5 O L (全 17 頁)

(21) 出願番号 特願2007-338367 (P2007-338367)
(22) 出願日 平成19年12月27日(2007.12.27)

(71) 出願人 000000376
オリンパス株式会社
東京都渋谷区幡ヶ谷2丁目4番2号
(74) 代理人 100058479
弁理士 鈴江 武彦
(74) 代理人 100091351
弁理士 河野 哲
(74) 代理人 100088683
弁理士 中村 誠
(74) 代理人 100108855
弁理士 蔵田 昌俊
(74) 代理人 100109830
弁理士 福原 淑弘
(74) 代理人 100075672
弁理士 峰 隆司

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 チップ駆動装置及びカンチレバーチップ

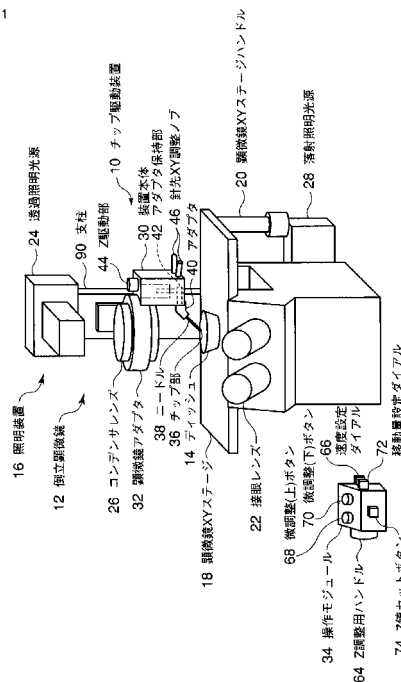
(57) 【要約】

【課題】低侵襲で生存率を高く維持したまま、細胞に物質を高効率で導入できるチップ駆動装置及びカンチレバーチップを提供すること。

【解決手段】可撓性を有するレバー部に対して所定の角度でディッシュ14内の細胞方向に形成されたチップ部36を所定の角度に保持しつつ、チップ部36を上記細胞の方向に移動可能なチップ駆動装置10における上記チップ部36に、上記レバー部先端を含みその延出方向に沿った断面において、細胞に所定の圧力をもって少なくとも一部が接触する第1の領域を形成する。

【選択図】 図1

図1



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

可撓性を有する支持部に対して所定の角度で対象物方向に形成されたチップ部を所定の角度に保持しつつ、チップ部を対象物の方向に移動可能なチップ駆動装置において、

上記チップ部は、上記支持部先端を含みその延出方向に沿った断面において、対象物に所定の圧力をもって少なくとも一部が接触する接触辺を有することを特徴とするチップ駆動装置。

【請求項 2】

上記チップ部は、上記接触辺を含む第 1 の領域と、上記支持部につながる第 2 の領域と、を備えることを特徴とする請求項 1 に記載のチップ駆動装置。

10

【請求項 3】

上記接触辺は、上記支持部と略平行であることを特徴とする請求項 1 に記載のチップ駆動装置。

【請求項 4】

上記チップ部の導入量が最適になるように、上記チップ部の上記第 1 領域と上記第 2 領域との面積比率が決められていることを特徴とする請求項 1 に記載のチップ駆動装置。

【請求項 5】

可撓性を有する支持部と、上記支持部に対して所定の角度に形成されたチップ部とを備え、上記チップ部を所定の方向に移動可能なチップ駆動装置に所定の部材を介して装着可能なカンチレバーチップであって、

20

上記チップ部は、上記支持部先端を含みその延出方向に沿った断面において、対象物に所定の圧力をもって少なくとも一部が接触する接触辺を有することを特徴とするカンチレバーチップ。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、チップ駆動装置及びカンチレバーチップに関する。

【背景技術】

【0002】

特許文献 1 には、微細針先端に遺伝子等の導入物質を電気的に吸着させ、この微細針を細胞内に侵入させて、この微細針にパルス電圧を印加することにより、細胞内に導入物質を導入するマイクロインジェクション方法及び装置が開示されている。ここで、微細針の侵入は、微細針と同軸に伸縮する圧電素子を用いて微動することにより行うようになっている。

30

【特許文献 1】W004 / 092369 号公報

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0003】

上記特許文献 1 は、微細針先端部に遺伝子を保持する方式であり、細胞に対して低侵襲で遺伝子を導入することが可能で、高い生存率を得ることができる。

40

【0004】

しかしながら、カンチレバー先端の微細針の細胞内への侵入容積は微小であり、また、細胞膜が流動性を有しているために、微細針の先端が細胞内に侵入したと思われる位置までカンチレバーを移動させても、細胞膜が流動的に針部の表面を覆ってしまい、細胞膜を貫通させることができない場合がある。このため、チップ駆動が安定せず、良好な導入率を得ることができないという不都合がある。

【0005】

また、上記特許文献 1 の構成では、微細針に通電することで細胞に電気的な刺激を与えて、生きたままの細胞を効率良く観察することもできなかった。

【0006】

50

本発明は、上記の点に鑑みてなされたもので、低侵襲で生存率を高く維持したまま、細胞に物質を高効率で導入し、又は、細胞に電気的な刺激を与え、生細胞を効率良く観察することができる、チップ駆動装置を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0007】

本発明のチップ駆動装置の一態様は、可撓性を有する支持部に対して所定の角度で対象物方向に形成されたチップ部を所定の角度に保持しつつ、チップ部を対象物の方向に移動可能なチップ駆動装置において、

上記チップ部は、上記支持部先端を含みその延出方向に沿った断面において、対象物に所定の圧力をもって接触する接触辺を有することを特徴とする。

また、本発明のカンチレバーチップの一態様は、可撓性を有する支持部と、上記支持部に対して所定の角度に形成されたチップ部とを備え、上記チップ部を所定の方向に移動可能なチップ駆動装置に所定の部材を介して装着可能なカンチレバーチップであって、

上記チップ部は、上記支持部先端を含みその延出方向に沿った断面において、対象物に所定の圧力をもって少なくとも一部が接触する接触辺を有することを特徴とする。

【発明の効果】

【0008】

本発明によれば、低侵襲で生存率を高く維持したまま、細胞に物質を高効率で導入し、又は、細胞に電気的な刺激を与え、生細胞を効率良く観察することができる、チップ駆動装置を提供することができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0009】

以下、本発明を実施するための最良の形態を図面を参照して説明する。

【0010】

[第1実施形態]

まず、本発明の第1実施形態に係るチップ駆動装置について、図1乃至図9(B)を参照して説明する。

【0011】

本実施形態に係るチップ駆動装置10は、図1に示すように、細胞を観察するための倒立顕微鏡12に装着して使用される。

【0012】

倒立顕微鏡12は、細胞を収容したディッシュ14上の細胞を照明する照明装置16と、上記ディッシュ14をX方向及びY方向に移動する顕微鏡XYステージ18と、該顕微鏡XYステージ18を駆動する顕微鏡XYステージハンドル20と、細胞において反射あるいは透過した光、あるいは細胞から発生した蛍光を観察するための図示しない対物レンズ及び接眼レンズ22と、を備えている。

【0013】

なお、ディッシュ14は、細胞の観察を行えるよう、少なくともその底面は透明な材料、例えばガラスで形成されている。

【0014】

なお、ここでは、手動操作される倒立顕微鏡12を説明したが、コンピュータにより顕微鏡XYステージ18を駆動制御する電動の倒立形顕微鏡であっても良い。更に、CCDカメラ等を備え、モニタに観察画像を表示するような倒立形顕微鏡でも良い。

【0015】

また、上記照明装置16には、細胞に対して、上記接眼レンズ22とは反対側から照明光を照射する透過照明光源24と、該透過照明光源24から発せられた照明光を細胞に集光するコンデンサレンズ26と、細胞に対して上記接眼レンズ22と同一方向から照明光を照射する落射照明光源28とが備えられている。

【0016】

そして、本実施形態に係るチップ駆動装置10は、装置本体30と、該装置本体30の

10

20

30

40

50

コンデンサレンズ 26 への取り付け部である顕微鏡アダプタ 32 と、上記装置本体 30 に図示しないケーブルを介して接続され、任意の位置に設置可能な操作モジュール 34 とから構成されている。図 1 では、装置本体 30 を、接眼レンズ 22 が設けられた側である倒立顕微鏡 12 の前面側に対し、コンデンサレンズ 26 の右側に装着した状態を示している。

【0017】

装置本体 30 は、駆動対象であるチップ部 36 を備えるニードル 38 を装着したアダプタ 40 を取り付けするためのアダプタ保持部 42 と、該アダプタ保持部 42 を Z 方向に移動することで上記チップ部 36 を Z 方向に移動させる Z 駆動部 44 と、上記アダプタ保持部 42 を X 方向及び Y 方向に移動することで上記チップ部の X Y 位置を調整する針先 X Y 調整ノブ 46 と、を備えている。

10

【0018】

ここで、アダプタ保持部 42 には、図 2 (A) に示すように、Z 駆動部 44 の図示しない直線移動機構に、図示しない X Y 駆動機構 (針先 X Y 調整ノブ 46 はこの駆動機構によりアダプタ保持部 42 を駆動する) を介して取り付けするための Z 軸駆動部取付部 48 とは長手方向反対側に、上記アダプタ 40 を着脱自在に装着するための装着部材、例えばアダプタ 40 が金属製ないしは対応する箇所に金属部を設けたものであればマグネット 50、が設けられている。なお、図 2 (A) において、一点鎖線の右側が装置本体 30 内に収容される部分である。即ち、上記マグネット 50 は、装置本体 30 外部となる位置に設けられている。また、このマグネット 50 の近傍に、アダプタ 40 の位置決めのために、アダプタ 40 に設けられた穴や溝に嵌合する嵌合部 52 が配設されている。嵌合部 52 は、倒立顕微鏡 12 の前面側に向けて突出しており、アダプタ 40 がこの前面側から差し込みにより装着できるようになっている。

20

【0019】

なお、装置本体 30 がコンデンサレンズ 26 の左側に装着された際にもアダプタ 40 を装着できるように、マグネット 50 及び嵌合部 52 をアダプタ保持部 42 の裏面側にも設けても良い。あるいは、装置本体 30 の装着位置に応じて、アダプタ保持部 42 を交換可能に構成しても良い。

【0020】

上記アダプタ 40 に装着されるニードル 38 は、図 2 (B) に示すように、チップ部 36 を形成したカンチレバーチップ 54 を、該カンチレバーチップ 54 を保持するためのシャフト 56 の先端に接着して構成されている。カンチレバーチップ 54 は、シリコンプロセスにより製造されるもので、他の部分との接着用のシリコンベース部 58 と、該シリコンベース部 58 から延在し、例えば厚み 2.7 μm 、長さ 240 μm で 2 N/m 程度の弾性定数を持つ可撓性のレバー部 60 と、該レバー部 60 の自由端に、該レバー部 60 の長手方向に対しておおむね 90 度の角度で形成された上記チップ部 36 とからなる。

30

【0021】

なお、一般的なチップ駆動装置では、図 3 に示すように先端が先鋭化されたチップ部 100 を使用している。これに対して、本実施形態に係るチップ駆動装置 10 では、図 4 (A) 及び (B) に示すように、その先端がレバー部 60 と略平行に平坦化されたチップ部 36 としている。即ち、図 5 に示すように、チップ部 36 は、レバー部 60 先端を含みその延出方向に沿った断面において、細胞に所定の圧力を持って接触する接触辺を含む第 1 の領域 (先端面) 361 と、レバー部 60 につながる第 2 の領域 (側面) 362 と、を備える。

40

【0022】

本実施形態に係るチップ駆動装置 10 では、上記のようなチップ部 36 を組み込んだニードル 38 をアダプタ 40 に空けられた図示しない穴に挿入・固定し、その後、該ニードル 38 を装着したアダプタ 40 を装置本体 30 に装着するようになっている。こうすることで、基本的に交換品度の高い構成品 (消耗品) であるニードル 38 を交換することができ、コンタミネーションの虞なく、該チップ駆動装置 10 を繰り返し使用することができ

50

る。

【0023】

また、細長いニードル38を装置本体30に直接装着する構成とすると、作業性が悪く、装着作業時にチップ部36が顕微鏡XYステージ18等の倒立顕微鏡12の何処かに当たって破損してしまう虞がある。本実施形態では、装置本体30から取り外したアダプタ40にニードル38を装着した上で、該アダプタ40を装置本体30の前面側から装着するようにしているので、そのような破損の虞を少なくすることができる。

【0024】

なお、アダプタ40は、装置本体30に装着された際に、ニードル38のシャフト56を所定の角度で斜め下方に向けて保持するように構成されており、また、カンチレバーチップ54はこのシャフト56に対して所定の角度となるように接着されている。また、上記したようにチップ部36は、レバー部60の長手方向に対して交差する方向に延びるように設けられている。従って、アダプタ40が装置本体30に装着された状態では、チップ部36は、レバー部60の自由端において、先端をほぼ鉛直下方に向けて保持されることとなる。

10

【0025】

上記アダプタ40がシャフト56を保持する固定角度については、以下のようにして決められている。即ち、図6(A)に示すように、シャフト56を起き上げ過ぎると、コンデンサレンズ26に干渉してしまう。ニードル38の長さを例えば約50mmとすると、シャフト56を60度よりも起き上げるとコンデンサレンズ26に干渉してしまう。また逆に、シャフト56を寝かし過ぎると、ディッシュ14の側壁に干渉してしまう。一般に、細胞培養で使用される頻度の高い35mmガラスボトムディッシュでは、30度よりも寝かすとディッシュ14の側壁に干渉してしまう。従って、本実施形態では、30度乃至60度の中間である45度に設定している。

20

【0026】

アダプタ40によりシャフト56を45度の角度で保持するように設定した場合、図6(B)に一点鎖線で示すような可動範囲62が得られ、上記35mmガラスボトムディッシュのガラス面(14mm程度)は、コンデンサレンズ26やディッシュ14の側壁に干渉することなく作業が行える。

【0027】

このように、アダプタ40がシャフト56を保持する固定角度は、コンデンサレンズ26と使用するディッシュ14への干渉を考慮して、ニードル38に十分な可動範囲62を与えるように決定している。そして、アダプタ40には、ニードル38を挿入・固定するため図示しない穴が、この固定角度でシャフト56を保持するような角度を持って形成されている。

30

【0028】

一方、チップ駆動装置10の操作モジュール34は、図1に示すように、Z調整用ハンドル64、速度設定ダイヤル66、微調整(上)ボタン68、微調整(下)ボタン70、移動量設定ダイヤル72、及びZ値セットボタン74を備えている。

【0029】

ここで、Z調整用ハンドル64及び速度設定ダイヤル66は、アダプタ保持部42の粗いZ方向の移動(mm単位)に使用するものである。Z調整用ハンドル64の回転操作により、その回転方向に応じて上記Z駆動部44を用いてアダプタ保持部42がZ方向に駆動され、速度設定ダイヤル66は、Z調整用ハンドル64の回転操作に応じた駆動量を大・中・小の3段階で切り替え設定するためのものである。

40

【0030】

また、微調整ボタン68、70及び移動量設定ダイヤル72は、アダプタ保持部42の細かいZ方向の移動(μ m単位)に使用するものである。微調整(上)ボタン68又は微調整(下)ボタン70の操作により、そのボタンに応じて上記Z駆動部44を用いてアダプタ保持部42がZ方向に微小駆動され、移動量設定ダイヤル72は、1回の微調整ボタ

50

ン 68, 70 の ON 操作に応じた微小駆動量を大・中・小の 3 段階で切り替え設定するためのものである。

【0031】

Z 値セットボタン 74 は、Z 方向任意の位置を記憶する指示を行うためのボタンであり、上記 Z 調整用ハンドル 64 や上記微調整ボタン 68, 70 を操作しても該 Z 値セットボタン 74 により記憶された位置よりも下（ディッシュ 14 内のサンプルの方向）にはアダプタ保持部 42 が下降しないようにするものである。なお、この Z 値セットボタン 74 は、図示しないラッチ機構を備えており、操作者が押下操作即ち ON 操作すると、再度押下操作されるまで、その押下状態即ち ON 状態を維持する。以降、Z 値セットボタン 74 が OFF 状態における Z 調整用ハンドル 64 及び微調整ボタン 68, 70 の操作を「第 1 モード」と呼び、Z 値セットボタン 74 が ON 状態における Z 調整用ハンドル 64 及び微調整ボタン 68, 70 の操作を「第 2 モード」と呼ぶ。

10

【0032】

図 7 は、本実施形態に係るチップ駆動装置 10 の電気的な構成を示すブロック図である。

装置本体 30 は、上記 Z 駆動部 44 に加えて、アダプタ保持部 42 の位置を検出するための位置検出部 76 を備えている。この位置検出部 76 としては、アダプタ保持部 42 の位置を、光学的に直接検出するものであっても良いし、Z 駆動部 44 の駆動量を検出することで間接的に検出するものであっても良い。また、位置検出部 76 を、装置本体 30 とは別体に設けても構わない。

20

【0033】

操作モジュール 34 は、入力部 78、記憶部 80、判定部 82、表示灯 84、制御部 86、及び電源 88 を備えている。

【0034】

入力部 78 は、上記 Z 調整用ハンドル 64 及び上記微調整ボタン 68, 70 の ON 操作に応じて移動指示信号を出力する移動指示部 78A と、上記速度設定ダイヤル 66 によって設定された移動速度を示す速度設定信号を出力する速度設定部 78B と、上記移動量設定ダイヤル 72 によって設定された移動量を示す移動量設定信号を出力する移動量設定部 78C と、上記 Z 値セットボタン 74 の ON 操作に応じて Z 値セット信号を出力する Z 値セット部 78D とを含む。この入力部 78 から出力される各信号は、制御部 86 に入力される。

30

【0035】

記憶部 80 は、上記 Z 値セットボタン 74 が ON 操作されたときの、上記位置検出部 76 で検出されたアダプタ保持部 42 の位置を Z 値として記憶するものである。判定部 82 は、上記位置検出部 76 で検出したアダプタ保持部 42 の位置と記憶部 80 に記憶されている Z 値とを比較して、アダプタ保持部 42 が上記 Z 値の位置に到達したか否かを判定するものである。表示灯 84 は、上記 Z 値セット部 78D からの上記 Z 値セット信号に応じて点灯するものであり、操作者は該表示灯 84 の点灯により Z 値の記憶を確認できるようにしている。

【0036】

制御部 86 は、該チップ駆動装置 10 の全体を制御するものである。そして、電源 88 は、該チップ駆動装置 10 の各部を動作させる電力を供給するものである。

40

【0037】

以下、このように構成された本実施形態に係るチップ駆動装置 10 を用いたチップ駆動方法について説明する。

【0038】

ここでは、本実施形態に係るチップ駆動装置 10 を用いて、ディッシュ 14 内の培養液中で培養される細胞に物質を導入する場合を例に説明する。

【0039】

即ち、図 8 に示すように、まず、装置本体 30 の取付けサイドを選択して、コンデンサ

50

レンズ 26 に顕微鏡アダプタ 32 を介して装着する (ステップ S10)。

【0040】

次に、装置本体 30 から取り外されているアダプタ 40 に、ニードル 38 を差し込み装着する (ステップ S12)。そして、そのニードル 38 が装着されたアダプタ 40 を、倒立顕微鏡 12 の前面側から、装置本体 30 のアダプタ保持部 42 に装着する (ステップ S14)。

【0041】

その後、チップ位置決めを行う (ステップ S16)。即ち、接眼レンズ 22 で観察しながら装置本体 30 の針先 XY 調整ノブ 46 と操作モジュール 34 の Z 調整用ハンドル 64 を操作して、目視により、ニードル 38 の先端に形成されているチップ部 36 の位置を、
10 図示しない対物レンズの中央位置 (視野中央位置) に設定する。これは、顕微鏡 XY ステージ 18 にディッシュ 14 を載置せずに行う。なお、Z 方向に関しては、操作モジュール 34 の速度設定ダイヤル 66 を大又は中にセットして、Z 調整用ハンドル 64 の操作により、視野にカンチレバーチップ 54 のレバー部 60 が目視で確認できるところまで、チップ部 36 の下降動作を行う。

【0042】

こうしてチップ位置決めがなされたならば、次に、サンプルのセット、即ち、顕微鏡 XY ステージ 18 上へのディッシュ 14 の載置を行う (ステップ S18)。これは、操作モジュール 34 の Z 調整用ハンドル 64 を操作してニードル 38 先端のチップ部 36 を安全な領域 (Z 方向上側) に退避し、かつ、倒立顕微鏡 12 の支柱 90 を後ろ側に倒し (装置
20 本体 30 全体が移動)、サンプルセットのスペースを確保した上で、ディッシュ 14 (サンプル) を顕微鏡 XY ステージに載置し、その後に倒立顕微鏡 12 の支柱 90 を元に戻すというようにして実施する。なお、ディッシュ 14 (サンプル) は、当該ディッシュ 14 内の培養液中で培養される細胞に物質を導入するために、その導入しようとする物質を分散させた状態でセットされる。

【0043】

そして、導入対象の細胞を選択する (ステップ S20)。これは、まず、接眼レンズ 22 で観察しながら、顕微鏡 XY ステージハンドル 20 を操作することで、顕微鏡 XY ステージ 18 を作動させ、ディッシュ 14 内の観察したい細胞を顕微鏡観察下に配置する。その後、Z 駆動部 44 を作動させ、ニードル 38 のチップ部 36 を細胞の上方から細胞に近
30 接させる。即ち、まず、接眼レンズ 22 で観察しながら視野にカンチレバーチップ 54 のレバー部 60 が目視で確認できるところまで、チップ部 36 の Z 方向への下降動作を行う。これは、操作モジュール 34 の速度設定ダイヤル 66 を小にセットして、Z 調整用ハンドル 64 の操作により行う。ディッシュ 14 内の細胞とチップ部 36 とが同じ高さではないので、チップ部 36 には合焦しておらず、チップ部 36 を観察することは困難であり、よって、チップ部 36 よりも大きく合焦していなくても大まかに識別可能なレバー部 60 を指標として Z 方向への下降動作を行う。そして、視野にレバー部 60 が目視で確認できるところまで下降させたならば、次に、接眼レンズ 22 で観察しながら目視で、顕微鏡 XY ステージの XY 方向への調整を行い、導入対象の細胞の真上にチップ部 36 と思われる位置を設定する。以上のようにして、導入対象の細胞を選択する (決定する)。
40

【0044】

その後の動作は、操作モジュール 34 の記憶部 80 に Z 値をセットしているか否かにより異なる。

【0045】

1 回目のチップ駆動では、まだ記憶部 80 に Z 値をセットしていないので (ステップ S22)、第 1 モード (Z 値なし) でのチップ導入を行う (ステップ S24)。即ち、操作モジュール 34 の Z 調整用ハンドル 64 又は微調整ボタン 68, 70 を操作しながら、接眼レンズ 22 で観察して、「細胞の歪み」または「レバー部 60 の撓み」を確認しながら、Z 方向の最適位置を決める。このとき、Z 調整用ハンドル 64 の操作は、速度設定ダイヤル 66 の大・中・小でその感度を適宜切り替えながら行うことになる。また、微調整ボ
50

タン 68, 70 の操作は、移動量設定ダイヤル 72 の大・中・小でその感度適宜切り替えながら行うこととなる。

【0046】

このようにしてチップ部 36 を下降させディッシュ 14 の底面へ近づけていき、チップ部 36 の先端が下降していく途中において、ディッシュ 14 内の細胞に接触する。ここで、更にチップ部 36 を下降させていくと、チップ部 36 の先端が細胞内、即ち、細胞膜及び核に孔または傷をつける。こうして形成された孔または傷に、ディッシュ 14 内に分散された物質が流通されることにより、物質が細胞内に流入する。導入しようとする粒子のサイズ等によっては、孔または傷をつけなくてもチップ部 36 で細胞を変形させることによる物理的刺激でストレッチレセプター等に結合されたチャンネルが開くことによっても流入する。このとき、操作モジュール 34 の Z 値セットボタン 74 を押すことで、位置検出部 76 で検出されるそのときのアダプタ保持部 42 の位置を最適位置を示す Z 値として、記憶部 80 に記憶させる (ステップ S 25)。

10

【0047】

上記のようにチップ部 36 の先端を摺動させることで細胞に傷をつけ、物質を導入するようにしている。

【0048】

図 9 (A) 及び (B) はこの様子を示す図であり、(A) は従来先端が鋭利なチップ部 100 を使用した場合を、(B) は本実施形態における先端が平坦化されたチップ部 36 を使用した場合を、それぞれ示している。

20

【0049】

図 9 (A) に示すように従来チップ部 100 を用いると、点接触 + 摺動により細胞 92 に傷 94 をつけることとなるが、このようにチップ部 100 の先端が先鋭であると、摺動時に破損する可能性が高い。

【0050】

これに対して、本実施形態では、チップ部 36 の先端が先鋭でないため、摺動時に破損する可能性は低い。チップ部 36 が面として細胞 92 に接触する場合、接触面積が増大するので、細胞 92 にある程度大きな傷 94 をつけることができ、物質導入の効率を高めることができる。また、チップ部 36 の角部のみで接触する場合、細胞 92 へのダメージを小さくすることができる。さらに、従来チップ部 100 は、第 1 の領域 361 に対応するものが無く、第 2 の領域 362 のみで導入量をコントロールするしかないが、本実施形態では、2 つの領域で導入量をコントロールできるため、チップ導入量の最適化がし易く、導入量の安定化に寄与する。

30

【0051】

なお、チップ部 36 の第 1 の領域 361 と第 2 の領域 362 の面積比率は、チップ導入量が最適になるように決めれば良い。

【0052】

その後、操作モジュール 34 の Z 調整用ハンドル 64 を操作して、ニードル 38 を上昇させることで、チップ部 36 を退避させる (ステップ S 26)。この際には、操作モジュール 34 の速度設定ダイヤル 66 を中又は小にセットして、第 1 モード (Z 値セットなし) での Z 調整用ハンドル 64 の操作により、チップ部 36 の上昇動作を行う。

40

【0053】

なお、チップ部 36 を上昇させてチップ部 36 を細胞 92 から引き抜いた後は、ある一定時間が経過すると、細胞膜は自己修復により回復し、細胞内に物質が取り込まれた状態となる。

【0054】

そして、チップ部 36 の退避が完了したならば (ステップ S 26)、次のサンプル細胞への物質の導入を行う必要がなければ (ステップ S 27)、操作者は装置本体 30 の図示しない電源スイッチを OFF 操作して、終了することとなる。

【0055】

50

これに対して、別の細胞への物質導入を行う場合には（ステップS27）、上記ステップS20に戻って、任意のサンプル細胞個々に対して物質の導入を繰り返し行うことになる。即ち、接眼レンズ22で観察しながら、顕微鏡XYステージハンドル20を操作することで、顕微鏡XYステージ18を作動させ、導入対象の細胞92を選択する（ステップS20）。

【0056】

2回目からのチップ駆動では、記憶部80にZ値をセットしているので（ステップS22）、第2モード（Z値セットあり）でのチップ導入動作を実施することになる（ステップS28）。この場合には、Z値が記憶部80にセットされているので、水平方向を位置決めした後は、Z調整用ハンドル64及び微調整ボタン66、68による行き過ぎた操作を気にせず、チップ部36を十分下降させる操作をするだけで、最適位置まで下降させることができる。即ち、操作モジュール34の判定部82が位置検出部76で検出したアダプタ保持部42の位置と記憶部80にセットされているZ値とを比較して、アダプタ保持部42（チップ部36）が上記Z値の位置に到達したと判定したならば、操作モジュール34の制御部86は、Z調整用ハンドル64及び微調整ボタン66、68が操作されても、それ以上Z駆動部44が下降しないように制御することができる。

10

【0057】

なお、最適Z位置が記憶部80にセットされているので、その位置まで自動でアダプタ保持部42（チップ部36）が下降するようにしても良い。即ち、第2モードでのハンドル操作を自動化しても良い。

20

【0058】

また、手動操作型の倒立顕微鏡12ではなく、コンピュータにより顕微鏡XYステージ18を駆動制御すると共に、CCDカメラ等を備え、モニタに観察画像を表示するような電動型の倒立形顕微鏡においては、物質の導入が必要な細胞92を予め画像上で選択しておき、自動でその位置まで移動するようにしても良い。即ち、顕微鏡XYステージ18のXY方向への調整を自動化しても良い。

【0059】

なお、細胞92内に導入する物質としては、遺伝子、色素、量子ドットなどの蛍光試薬、イオン、ペプチド、タンパク質、多糖類、等、ディッシュ14内に分散できるものであれば良い。

30

【0060】

また、細胞92に接触する平坦面（第1の領域361）の断面形状は、図4（A）及び図5に示すような三角形に限定されるものではなく、四角形やそれ以上のn角形（多角形）であっても良い。即ち、第1の領域361は、点や管ではない面であれば良い。

【0061】

[実施例]

HeLaS3細胞を遺伝子溶液中に浸漬し、導入を試みた例を示す、導入した遺伝子は、GFP蛍光タンパク質を発現する遺伝子であり、導入の正否は蛍光観察により確認することができる。

【0062】

図6（A）は、遺伝子導入直後の導入を試みた細胞の顕微鏡観察像を示す。観察画像中の複数の細胞を選定し導入を試みている。図6（B）及び（C）は、導入24時間経過後に導入の成否を確認した顕微鏡観察像である。図6（B）は、位相差観察像であり、24時間経過後の細胞の状態を示している。図6（C）は、この細胞を蛍光観察により観察したものであり、導入が成功した細胞では、遺伝子が発現し強い蛍光強度が得られている。この結果より、非常に効率良く、細胞に遺伝子が導入されていることが確認できる。

40

【0063】

以上のようにして、本実施形態に係るチップ駆動装置10では、レバー部60先端を含みその延出方向に沿った断面において、細胞92に所定の圧力をもって接触する接触辺を含む第1の領域361を有するチップ部36を使用することで、チップ導入量が安定する

50

ので、従来と同様に低侵襲で生存率は高いまま、更に、導入物質を細胞内に確實且つ高い導入効率で導入することができる。

【0064】

[第2実施形態]

次に、本発明の第2実施形態に係るチップ駆動装置について説明する。

図11(A)及び(B)は、本実施形態に係るチップ駆動装置におけるチップ部36の形状を示す斜視図及び側面図である。

【0065】

本実施形態におけるチップ部36は、上記第1実施形態におけるよりも第2の領域362の面積を小さくしたものである。なお、図では、第1の領域361は四角形としているが、上記第1実施形態と同様、三角形以上のn角形(多角形)の面であれば良い。

10

【0066】

このような本実施形態におけるチップ部36は、例えば、図12に示すように、先鋭なチップ部100が形成された市販のカンチレバーチップを切削加工することで製造することができる。即ち、先鋭なチップ部100が形成された市販のカンチレバーチップにおいて、図12に一点鎖線及び破線で示すように、2方向からカットを行うことで、製造することができる。

【0067】

あるいは、シリコンプロセスで製造した上記第1実施形態におけるチップ部36に対し、図12に一点鎖線で示すように、1方向からのカットを行うことで製造することも可能である。

20

【0068】

上記第1実施形態で説明したように、チップ部36の第1の領域361と第2の領域362の面積比率は、チップ導入量が最適になるように決めれば良い。従って、そのような比率となるように、先鋭なチップ部100が形成された市販のカンチレバーチップに対して2方向から、又は、第1実施形態のような第1及び第2の領域361, 362を持つチップ部36が形成されたカンチレバーチップ54に対して1方向からのカットを行う。

【0069】

図13(A)は第1実施形態におけるチップ部36、図13(B)は本第2実施形態におけるチップ部36によるチップ導入の様子を示す図である。

30

【0070】

本実施形態におけるチップ部36も、上記第1実施形態におけるチップ部36と同様、チップ部36の先端を摺動させることで細胞に傷をつけ、物質を導入することができる。なお、本実施形態におけるチップ部36は、第2の領域362の面積が第1実施形態よりも小さいので、チップ部36の体積に比例する導入量は少なくなるが、細胞92に与える負荷は上記第1実施形態よりも小さい。

【0071】

以上のように、本第2実施形態に係るチップ駆動装置10においても、上記第1実施形態と同様に、チップ導入量が安定するので、従来と同様に低侵襲で生存率は高いまま、更に、導入物質を細胞内に確實且つ高い導入効率で導入することができる。

40

【0072】

そして更に、細胞92に与える負荷が小さいので、上記第1実施形態におけるチップ部36が対象とする細胞よりも弱い細胞(小さい細胞又は細い細胞)に対するチップ導入に好適である。

【0073】

[第3実施形態]

次に、本発明の第3実施形態に係るチップ駆動装置について説明する。

【0074】

上記第1及び第2実施形態では、倒立顕微鏡12にチップ駆動装置10を一つだけ装着して使用する例を説明したが、チップ駆動装置10は同時に複数用いても良く、例えば、

50

装置本体 30 をコンデンサレンズ 26 の両側に装着して使用することができる。

【0075】

このようにチップ駆動装置 10 を複数使用することで、物質の導入の用途だけでなく、例えば、複数のチップ部 36 の間に電位差を与えることで細胞に電気的な刺激を与える用途にも利用できる。なお、上記電気的な刺激は、複数のチップ部 36 を用いることに限定されるものではなく、1つのチップ部 36 と図示しない所定の電極（例えばITO付きガラスボトム等）の間に電位差を与えることでも可能である。このような場合、チップ部 36 は導電性を有していることが好ましい。

【0076】

これにより本実施形態では、低侵襲で生存率を高く維持したまま、細胞に電気的な刺激を与え、生細胞を効率良く観察することができるようになる。

10

【0077】

以上実施形態に基づいて本発明を説明したが、本発明は上述した実施形態に限定されるものではなく、本発明の要旨の範囲内で種々の変形や応用が可能なのは勿論である。

【0078】

例えば、上記実施形態では、チップ駆動装置 10 の装置本体 30 から延伸された顕微鏡アダプタ 32 を、コンデンサレンズ 26 に装着するようにしているが、これに限らず、コンデンサレンズ 26 を支持する支持部等に装着するようにしても良い。

【0079】

（付記）

20

前記の具体的実施形態から、以下のような構成の発明を抽出することができる。

【0080】

（1）可撓性を有する支持部に対して所定の角度で対象物方向に形成されたチップ部を所定の角度に保持しつつ、チップ部を対象物の方向に移動可能なチップ駆動装置において、

上記チップ部は、上記支持部先端を含みその延出方向に沿った断面において、対象物に所定の圧力をもって少なくとも一部が接触する接触辺を有することを特徴とするチップ駆動装置。

【0081】

（対応する実施形態）

30

この（1）に記載のチップ駆動装置に関する実施形態は、第1乃至第3実施形態が対応する。それらの実施形態において、レバー部 60 が上記可撓性を有する支持部に、ディッシュ 14 内の細胞が上記対象物に、チップ部 36 が上記チップ部に、チップ駆動装置 10 が上記チップ駆動装置に、第1の領域 361 が上記接触辺に、それぞれ対応する。

【0082】

（作用効果）

この（1）に記載のチップ駆動装置によれば、チップ導入量が安定するので、低侵襲で生存率を高く維持したまま、細胞に物質を高効率で導入し、又は、細胞に電気的な刺激を与え、生細胞を効率良く観察することができる。

【0083】

40

（2）上記チップ部は、上記接触辺を含む第1の領域と、上記支持部につながる第2の領域と、を備えることを特徴とする（1）に記載のチップ駆動装置。

【0084】

（対応する実施形態）

この（2）に記載のチップ駆動装置に関する実施形態は、第1乃至第3実施形態が対応する。それらの実施形態において、第1の領域 361 が上記第1の領域に、第2の領域 362 が上記第2の領域に、それぞれ対応する。

【0085】

（作用効果）

従来のチップ駆動装置では、上記第1の領域に対応するものが無く、上記第2の領域の

50

みで導入量をコントロールするしかなかったが、この(2)に記載のチップ駆動装置によれば、2つの領域で導入量をコントロールできるため、チップ導入量の最適化がし易く、導入量の安定化に寄与する。

【0086】

(3) 上記接触辺は、上記支持部と略平行であることを特徴とする(1)に記載のチップ駆動装置。

【0087】

(対応する実施形態)

この(3)に記載のチップ駆動装置に関する実施形態は、第1乃至第3実施形態が対応する。

10

【0088】

(作用効果)

この(3)に記載のチップ駆動装置によれば、製造が容易である。

【0089】

(4) 上記チップ部の導入量が最適になるように、上記チップ部の上記第1領域と上記第2領域との面積比率が決められていることを特徴とする(1)に記載のチップ駆動装置。

【0090】

(対応する実施形態)

この(4)に記載のチップ駆動装置に関する実施形態は、第1乃至第3実施形態が対応する。

20

【0091】

(作用効果)

この(4)に記載のチップ駆動装置によれば、対象物に応じた導入が可能となる。

【0092】

(5) 可撓性を有する支持部と、上記支持部に対して所定の角度に形成されたチップ部とを備え、上記チップ部を所定の方向に移動可能なチップ駆動装置に所定の部材を介して装着可能なカンチレバーチップであって、

上記チップ部は、上記支持部先端を含みその延出方向に沿った断面において、対象物に所定の圧力をもって少なくとも一部が接触する接触辺を有することを特徴とするカンチレバーチップ。

30

【0093】

(対応する実施形態)

この(5)に記載のカンチレバーチップに関する実施形態は、第1乃至第3実施形態が対応する。それらの実施形態において、レバー部60が上記可撓性を有する支持部に、ディッシュ14内の細胞が上記対象物に、チップ部36が上記チップ部に、チップ駆動装置10が上記チップ駆動装置に、第1の領域361が上記接触辺に、それぞれ対応する。

【0094】

(作用効果)

この(5)に記載のカンチレバーチップによれば、チップ導入量が安定するので、低侵襲で生存率を高く維持したまま、細胞に物質を高効率で導入し、又は、細胞に電気的な刺激を与え、生細胞を効率良く観察することができる。

40

【図面の簡単な説明】

【0095】

【図1】図1は、本発明の第1実施形態に係るチップ駆動装置を示す全体構成図である。

【図2】図2(A)は、第1実施形態に係るチップ駆動装置の特徴部の構成を示す図であり、図2(B)は、ニードルの構成を示す図である。

【図3】図3は、一般的なチップ駆動装置で使用される先鋭化されたチップ部を持つカンチレバーチップの側面図である。

【図4】図4(A)及び図4(B)は、第1実施形態に係るチップ駆動装置で使用するチ

50

ップ部の構成を示す斜視図及び側面図である。

【図 5】図 5 は、第 1 実施形態におけるチップ部の拡大斜視図である。

【図 6】図 6 (A) は、ニードルの角度による干渉を説明するための図であり、図 6 (B) は、可動範囲を説明するための図である。

【図 7】図 7 は、第 1 実施形態に係るチップ駆動装置の電氣的な構成を示すブロック図である。

【図 8】図 8 は、本実施形態に係るチップ駆動装置を用いたチップ駆動方法を説明するためのフローチャートを示す図である。

【図 9】図 9 (A) は、従来先鋭なチップ部によるチップ導入の様子を示す図であり、図 9 (B) は、第 1 実施形態におけるチップ部によるチップ導入の様子を示す図である。

10

【図 10】図 10 (A) は、第 1 実施形態に係るチップ駆動装置によって H e l a S 3 細胞に G F P 蛍光タンパク質を発現する遺伝子を導入した直後の顕微鏡画像を示す図であり、図 10 (B) 及び図 10 (C) はそれぞれ 2 4 時間経過後の位相差観察顕微鏡画像及び蛍光観察による顕微鏡画像を示す図である。

【図 11】図 11 (A) 及び図 11 (B) は、本発明の第 2 実施形態に係るチップ駆動装置におけるチップ部の形状を示す斜視図及び側面図である。

【図 12】図 12 は、第 2 実施形態におけるチップ部の製造方法を説明するための図である。

【図 13】図 13 (A) は、第 1 実施形態におけるチップ部によるチップ導入の様子を示す図であり、図 13 (B) は、第 2 実施形態におけるチップ部によるチップ導入の様子を示す図である。

20

【符号の説明】

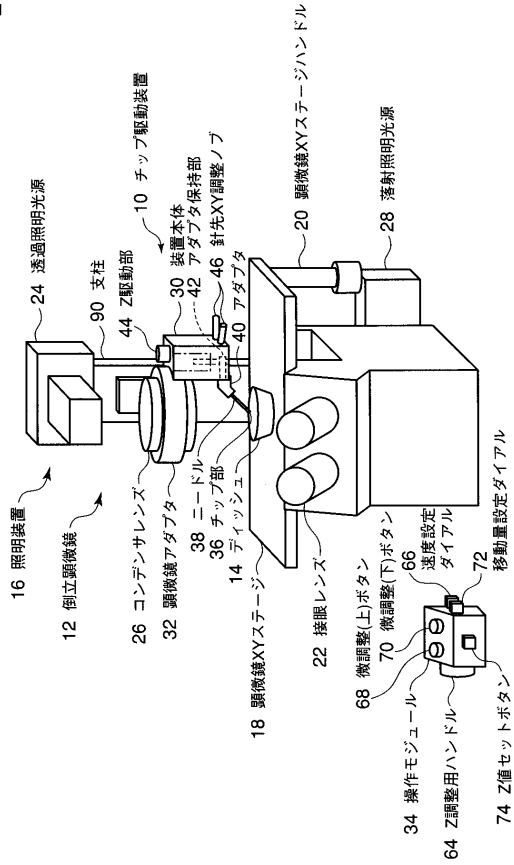
【 0 0 9 6 】

1 0 ... チップ駆動装置、 1 2 ... 倒立顕微鏡、 1 4 ... ディッシュ、 1 6 ... 照明装置、 1 8 ... 顕微鏡 X Y ステージ、 2 0 ... 顕微鏡 X Y ステージハンドル、 2 2 ... 接眼レンズ、 2 4 ... 透過照明光源、 2 6 ... コンデンサレンズ、 2 8 ... 落射照明光源、 3 0 ... 装置本体、 3 2 ... 顕微鏡アダプタ、 3 4 ... 操作モジュール、 3 6 ... チップ部、 3 8 ... ニードル、 4 0 ... アダプタ、 4 2 ... アダプタ保持部、 4 4 ... Z 駆動部、 4 6 ... 針先 X Y 調整ノブ、 4 8 ... Z 軸駆動部取付部、 5 0 ... マグネット、 5 2 ... 嵌合部、 5 4 ... カンチレバーチップ、 5 6 ... シャフト、 5 8 ... シリコンベース部、 6 0 ... レバー部、 6 2 ... 可動範囲、 6 4 ... Z 調整用ハンドル、 6 6 ... 速度設定ダイヤル、 6 8 ... 微調整 (上) ボタン、 7 0 ... 微調整 (下) ボタン、 7 2 ... 移動量設定ダイヤル、 7 4 ... Z 値セットボタン、 7 6 ... 位置検出部、 7 8 ... 入力部、 7 8 A ... 移動指示部、 7 8 B ... 速度設定部、 7 8 C ... 移動量設定部、 7 8 D ... Z 値セット部、 8 0 ... 記憶部、 8 2 ... 判定部、 8 4 ... 表示灯、 8 6 ... 制御部、 8 8 ... 電源、 9 0 ... 支柱、 9 2 ... 細胞、 9 4 ... 傷、 3 6 1 ... 第 1 の領域、 3 6 2 ... 第 2 の領域。

30

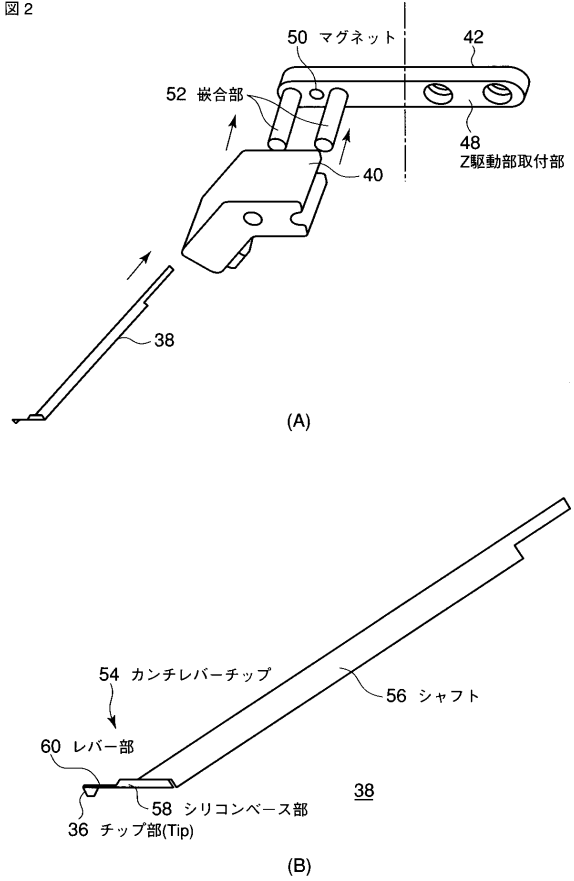
【図1】

図1



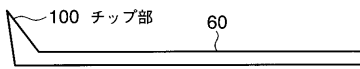
【図2】

図2



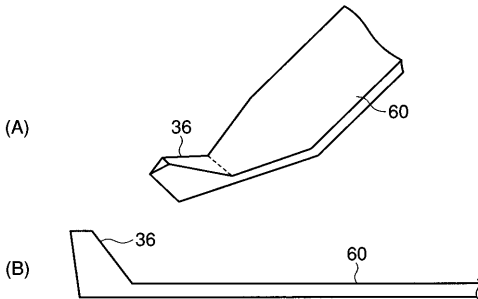
【図3】

図3



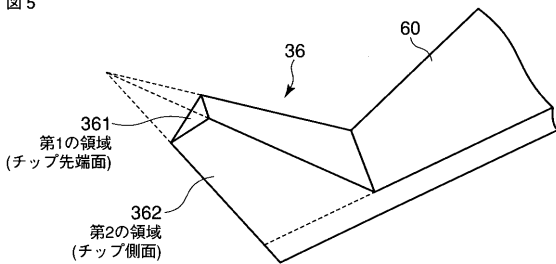
【図4】

図4



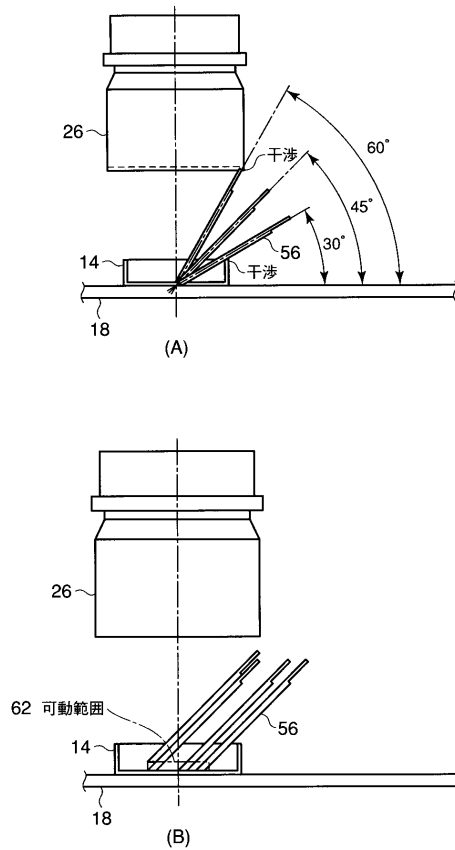
【図5】

図5

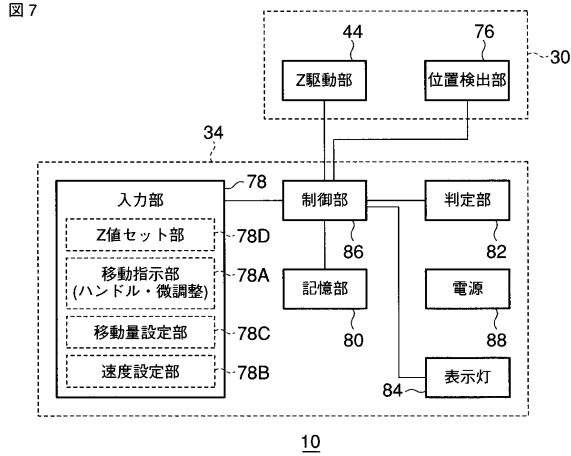


【図6】

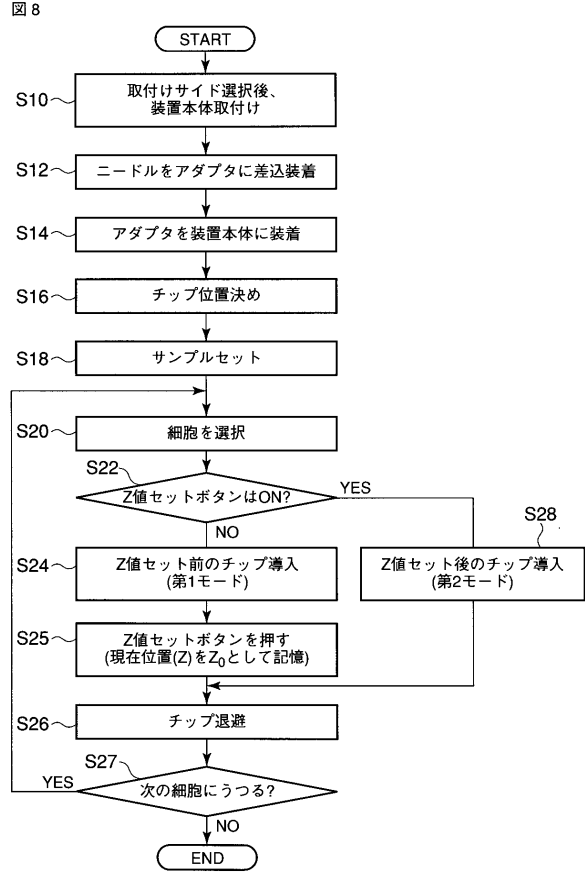
図6



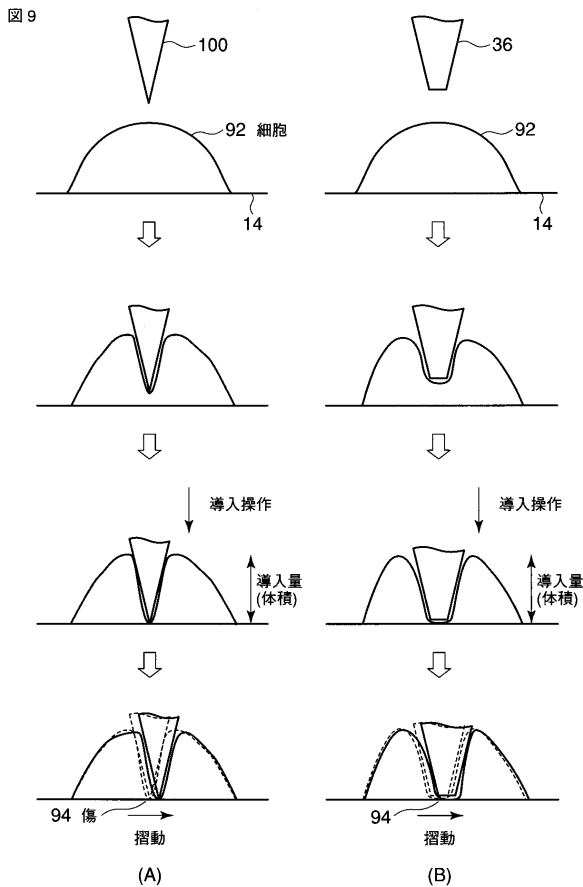
【 図 7 】



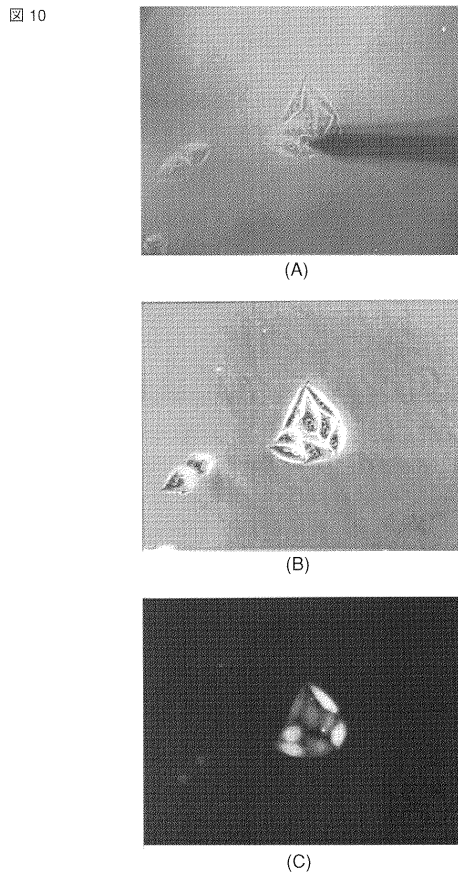
【 図 8 】



【 図 9 】

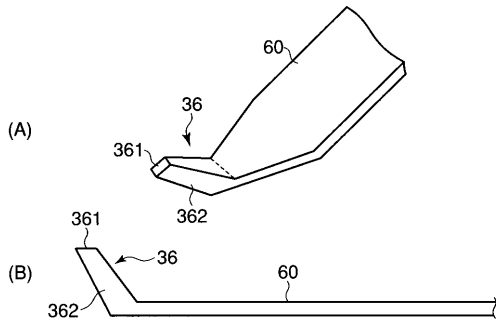


【 図 10 】



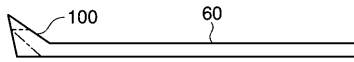
【 図 1 1 】

図 11



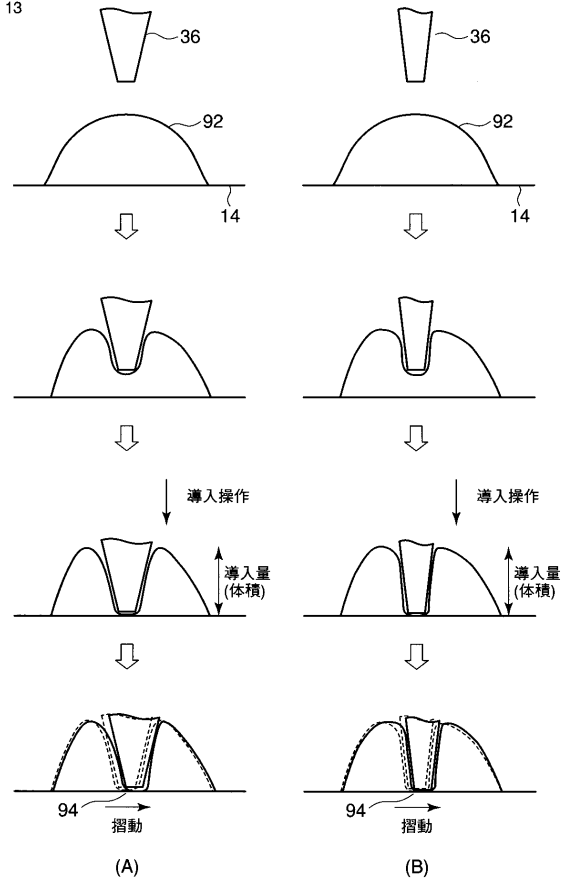
【 図 1 2 】

図 12



【 図 1 3 】

図 13



フロントページの続き

- (74)代理人 100095441
弁理士 白根 俊郎
- (74)代理人 100084618
弁理士 村松 貞男
- (74)代理人 100103034
弁理士 野河 信久
- (74)代理人 100119976
弁理士 幸長 保次郎
- (74)代理人 100153051
弁理士 河野 直樹
- (74)代理人 100140176
弁理士 砂川 克
- (74)代理人 100101812
弁理士 勝村 紘
- (74)代理人 100092196
弁理士 橋本 良郎
- (74)代理人 100100952
弁理士 風間 鉄也
- (74)代理人 100070437
弁理士 河井 将次
- (74)代理人 100124394
弁理士 佐藤 立志
- (74)代理人 100112807
弁理士 岡田 貴志
- (74)代理人 100111073
弁理士 堀内 美保子
- (74)代理人 100134290
弁理士 竹内 将訓
- (74)代理人 100127144
弁理士 市原 卓三
- (74)代理人 100141933
弁理士 山下 元
- (72)発明者 館山 清彦
東京都渋谷区幡ヶ谷 2 丁目 4 3 番 2 号 オリパス株式会社内
- (72)発明者 佐々木 靖夫
東京都渋谷区幡ヶ谷 2 丁目 4 3 番 2 号 オリパス株式会社内
- (72)発明者 今岡 由佳
東京都渋谷区幡ヶ谷 2 丁目 4 3 番 2 号 オリパス株式会社内
- F ターム(参考) 4B029 AA23 BB01 CC01