OUKA
Osaka University Knowledge Archive

Title	Multiple Microfluidic Stream based Bio-Manipulation in Open Space
Author(s)	亜力坤, 亜夏爾
Citation	大阪大学, 2014, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/34417
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（Yaxiaer Yalikun）	
論文題名	Multiple Microfluidic Stream based Bio-Manipulation in Open Space （オープンスペースにおけるマルチ微小水流を用いたバイオマニピュレーション）

論文内容の要旨

近年、生命工学、遺伝子工学、バイオテクノロジーにおいて、細胞レベルでの精密な操作を行うことができるマイクロマニピュレーション技術が必要とされている。例えば、人工授精、クローニングなどのバイオ操作では、顕微鏡下において、目標対象物である生体試料を捕捉して、内部に物理的な操作を加える必要がある。これまでに、これらの操作を実現するために、接触方式と非接触方式の2種類の生体試料操作手法が開発されてきたが、既存の手法はいずれも生体試料に悪い影響を及ぼす可能性がある。例えば、接触方式であるマイクロピンセットは物理的に生体試料と接触するため、生体試料にダメージを与える可能性がある。一方、非接触方式である光ピンセットは集光したレーザー光で生体試料を操作するため、生体試料に熱的な影響を与える可能性がある。また、微小化学分析デバイス技術の発達に伴い、マイクロチップを利用した生体試料の操作手法が開発されてきたが、いずれも閉じられた空間において、2次元的に定められたパターンでしか操作できない細胞操作手法であり、オープンスペースで3次元的に自由に操作できる手法はまだ存在しない。そこで、本研究では従来の方法と異なる、オープンスペースにおけるマルチ微小水流を用いた新たなバイオマニピュレーション手法（MMSM）を提案し、細胞への侵襲性が低く、オープンスペース上で3次元的に様々な操作が自動化可能である生体試料操作手法を提案する。

第一章「緒言」では、従来のバイオ操作技術に関する研究を述べ、これまでの操作手法の欠点を明らかにするとともに、本研究の背景や本研究の目的について述べた。

第二章「原理」では、本手法の基本原理について説明した。この原理は複数の微小孔から同時に噴水と吸水を繰り返すことで微小水流を発生させ、オープンスペース上で3次元的に微粒子の運動を制御するものである。微小水流を発生させることで、細胞を吸引して固定できるだけでなく、指定した方向や場所に移動させることができる。また、微小孔が複数あるので、水流の3次元方向制御及び流速制御が可能になり、様々な運動パターンにより細胞を操作することができる。この原理を検証するため、まず、Computational Fluid Dynamics(CFD)により、細胞を操作するために必要な駆動力を発生できる流量を求め、操作が実現できる流れの発生を確認した。

第三章「チップ型MMSMシステムの評価」では、このCFD結果に基づき、直径100μmの噴水孔を有するマイクロチップの設計と製作を行い、計算した流量で直径2μmの微粒子を流し、実際に発生した流れを可視化した。シミュレーションで得られた流れと比較したところ、流れの方向、流速の特性がほぼ一致していることが分かった。次に、直径200μmの微粒子、直径200μm、350μmの生体試料を用いて、原理検証実験を行った。その結果、計算によって得られた流速条件下で、細胞及び微粒子の移動、回転、搬送の複雑な操作が実現でき、微小水流の流速と操作対象の速度、作用する力の関係を明らかにした。

第四章「キャピラリー型MMSMシステムの評価」では、生体試料のより精密な位置制御を実現するために、より速く、簡単な作製方法を用いて、さらに微細な噴水孔（直径20μm）を有するマイクロチップを作製し、試料の操作を実現した。本研究の原理は直径20μmの噴水孔まで有効であることを示した。

第五章「自動化」では、操作の自動化を実現するために、精密な流体制御が可能でかつ操作対象物をCCDカメラにより画像認識できる自動制御システムを構築した。より小さい微粒子（直径50μm）を用いた実験を行ったところ、移動、搬送の操作が実現でき、微細試料の操作手法としての有効性を示すことができた。

第六章「結論」では、以上の結果を踏まえて総括を行い、今後本原理を用いた生体試料操作手法についての将来性や展望について述べた。

以上、本研究では、従来のバイオ操作手法の欠点を解決する新しい3次元操作手法MMSMの提案、原理検証、実験系の構築、マイクロチップの設計製作及び検証を行った。実験結果により、提案した手法が生体試料の新たな3次元操作法としてオープンスペース上において可能であることを実証した。

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名	(Yaxiaer Yalikun)	
	(職)	氏　名
論文審査担当者	主 査　教授	森島圭祐
	副 査　教授	田中敏嗣
	副 査　教授	山田克彦
	副 査　教授	大須賀公一

論文審査の結果の要旨

近年、生命工学、遺伝子工学、バイオテクノロジーにおいて、細胞レベルでの精密な操作を行うことができるマイクロマニピュレーション技術が必要とされている。例えば、人工授精、クローニングなどのバイオ操作では、顕微鏡下において、目標対象物である生体試料を捕捉して、内部に物理的な操作を加える必要がある。これまでに、これらの操作を実現するために、接触方式と非接触方式の 2 種類の生体試料操作手法が開発されてきたが、既存の手法はいずれも生体試料に悪い影響を及ぼす可能性がある。また、微小化学分析デバイス技術の発達に伴い、マイクロチップを利用した生体試料の操作手法が開発されてきたが、いずれも閉じられた空間において、2 次元的に定められたパターンでしか操作できない細胞操作手法であり、オープンスペースで 3 次元的に自由に操作できる手法はまだ存在しない。

本論文では従来の方法の欠点を解決すべく、オープンスペースにおけるマルチ微小水流を用いた新たなバイオマニピュレーション手法（MMSM）を提案し、細胞への侵襲性が低く、オープンスペース上で 3 次元的に様々な操作が自動化可能である生体試料操作手法の提案、原理の検証、操作システムの構築に関する研究を行ったものである。本論文の成果は次のように要約できる。

(1) 新たにマルチ微小水流を用いたバイオマニピュレーション手法を提案し、計算により、細胞を操作するために必要な駆動力を発生できる流量を求め、操作が実現できる流れの発生を確認することにより本手法の原理を理論的に検証した。この計算結果に基づき、直径 100μm の噴水孔を有するマイクロチップの設計と製作を行い、計算した流量で直径 2μm の微粒子を流し、実際に発生した流れを可視化した。シミュレーションで得られた流れと比較したところ、流れの方向、流速の特性がほぼ一致していることが分かった。原理を実験的に検証するため、直径 200μm の微粒子、直径 200μm、350μm の生体試料を用いた操作実験を行った。その結果、計算によって得られた流速条件下で、細胞及び微粒子の移動、回転、搬送の複雑な操作が実現でき、微小水流の流速と操作対象の速度、作用する力の関係を明らかにした。

(2) より精密な位置制御を実現するために、より速く、簡単な作製方法を用いて、さらに微細な噴水孔（直径 20μm）を有するマイクロチップを作製し、生体試料の操作を実現した。本研究の原理は直径 20μm の噴水孔まで有効であることを示した。

(3) 操作の自動化を実現するために、精密な流体制御が可能でかつ操作対象物を CCD カメラにより画像認識できる自動制御システムを構築した。より小さい微粒子（直径 50μm）を用いた実験を行ったところ、移動、搬送の操作が実現でき、生体試料の新たな微細操作手法としての有効性を示すことができた。

以上、本研究では、従来のバイオ操作手法の欠点を解決する新しい 3 次元操作手法 MMSM の提案、原理検証、実験系の構築、マイクロチップの設計製作及び検証を行い、提案した手法が生体試料の新たな 3 次元操作法としてオープンスペース上において可能であることを実証した。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。