

Title	インクジェットによる1滴1細胞プリンティングに関する研究
Author(s)	山口, 修一
Citation	大阪大学, 2013, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/59934">https://hdl.handle.net/11094/59934</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名	山 口 修 二
博士の専攻分野の名称	博 士 (工学)
学位記番号	第 26192 号
学位授与年月日	平成25年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 工学研究科機械工学専攻
学位論文名	インクジェットによる1滴1細胞プリンティングに関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 森島 圭祐 (副査) 教授 金子 真 教授 大須賀 公一 准教授 東森 充

### 論文内容の要旨

本論文は、文字や画像を出力するインクジェットプリンターに使われている、ピエゾ方式のインクジェット技術を応用して、20ミクロンスケールの粒子や細胞を安定して吐出させるための研究を行うと共に、インクジェットヘッドから吐出される液滴の1滴中に1細胞のみを含んだ状態で、指定した位置に1細胞をプリントしていく手法の研究、およびそのプリントを自動で行う研究を行った。

第1章「序論」では、従来のインクジェット技術を応用した細胞の吐出やプリンティングについての研究を整理し、これまでの課題を明らかにすると共に、本研究の背景や本研究の目的を明らかにした。

第2章「インクジェットヘッド」では、各種方式や吐出原理を比較する中で、本研究に必要とされるヘッドの構造について明確にした。

第3章「インクジェットヘッドの制御方法」では、ヘッドのアクチュエータであるピエゾ素子の駆動方法について、Pull-Push方式とPush-Pull方式を比較して、本研究に有効な駆動方式の考察を行った。

第4章「インクジェット液滴の撮影と計測」では、ヘッドから吐出される粒子や細胞懸濁液の飛行状態を高速度撮影可能とする装置やヘッドのノズル先端部内部を撮影可能とする装置を検討した。

第5章「ポリスチレンビーズ懸濁液の安定吐出」では、ヘッドのノズル部が可視化可能なガラスからなる、ピエゾインクジェットヘッドを用い、直径が10 $\mu$ mと20 $\mu$ mのポリスチレンビーズをノズル径や吐出駆動波形を変えて実験を行い、粒子を吐出させる場合ピエゾ素子に印加するパルスはPush-Pull方式の波形が適していること、粒子を安定吐出させるためには、インクジェットヘッドのノズル径はPush-Pull方式では粒子径の3倍以上が必要であることを明らかにした。

第6章「1滴に1個のビーズ/細胞を実現するインクジェット吐出方法」では、ノズル先端部が可視化可能なヘッドを用い、ポリスチレンビーズと昆虫細胞sf9を実際に吐出させて、1滴で吐出可能な領域をPull-Push方式とPush-Pull方式との2方式で調査した。その結果、Push-Pull方式の方が吐出領域が広くかつ、吐出領域と非吐出領域が混在していないこと、1滴1細胞の吐出を実現するには、Push-Pull方式が適していることを明らかにした。

第7章「1滴に1細胞を実現した、細胞プリンティング」では、Push-Pull方式を用いて、可視化されたノズル先端部の画像データを用いることにより、目視手動操作によって、高い確率で、1滴に1細胞のみが含まれた状態で指定位置に細胞を1個ずつプリントする手法を確立した。また、ヘッドから吐出された細胞が着滴後、どの程度ダメージを受けているか動物細胞sf9とマウス骨格筋細胞C2C12で検証し、細胞膜に対する大きなダメージは無いこと、インクジェット吐出された細胞は、細胞培養すると正常に分裂することを明らかにした。

第8章「1滴1細胞プリンティングの自動化」では、手動で行われてきた1滴1細胞を、画像処理を用いて行うためのシステムの開発や、細胞を高い確率でプリントする手法について研究した。その結果、高い確率で安定して1細胞を指定位置にプリントすることを実現した。

第9章「結論」では、以上の結果を踏まえて総括を行い、今後のインクジェット細胞プリンティングについての将来性や展望について述べた。

### 論文審査の結果の要旨

本論文は、インクジェットプリンターに使われているピエゾ方式インクジェット技術を応用して、20ミクロンスケールの粒子や細胞を安定して吐出させるための研究を行うと共に、ヘッドから吐出される液滴1滴中に単一の細胞のみを含んだ状態で指定した位置に印刷する手法とその自動化に関する研究を行ったものである。

第1章では、従来のインクジェット技術を応用した細胞の吐出やプリンティングについての研究を整理し、これまでの課題を明らかにすると共に、本研究の背景と目的を記述している。

第2章では、各種方式や吐出原理を比較する中で、本研究に必要とされるヘッドの構造について記述している。

第3章では、ヘッドのアクチュエータであるピエゾ素子の駆動方法について、Pull-Push方式とPush-Pull方式を比較して、本研究に有効な駆動方式の考察を行っている。

第4章では、ヘッドから吐出される粒子や細胞懸濁液の飛行状態を高速度撮影可能とする装置やヘッドのノズル先端部内部を撮影可能とする装置について検討を行ったことを示している。

第5章では、ヘッドのノズル部が可視化可能なガラスからなる、ピエゾインクジェットヘッドを用い、直径が10 $\mu$ mと20 $\mu$ mのポリスチレンビーズをノズル径や吐出駆動波形を変えて実験を行い、(1)粒子を吐出させる場合ピエゾ素子に印加するパルスはPush-Pull方式の波形が適している(2)粒子を安定吐出させるためには、インクジェットヘッドのノズル径はPush-Pull方式では粒子径の3倍以上が必要であることを明らかにしている。

第6章では、ノズル先端部が可視化できるヘッドを開発し、ポリスチレンビーズと昆虫細胞sf9を実際に吐出させて、1滴で吐出可能な領域をPull-Push方式とPush-Pull方式との2方式で調査した結果、Push-Pull方式の方が吐出領域が広くかつ、吐出領域と非吐出領域が混在していないこと、1滴1細胞の吐出を実現するには、Push-Pull方式が適していることを明らかにしている。

第7章では、Push-Pull方式を用いて、可視化されたノズル先端部の画像データを用いることにより、目視手動操作によって、高い確率で、1滴に1細胞のみが含まれた状態で指定位置に細胞を1個ずつプリントする手法を確立したことを記述している。また、ヘッドから吐出された細胞が着滴後、どの程度ダメージを受けているか動物細胞sf9とマウス骨格筋細胞C2C12で検証し、細胞膜に対する大きなダメージは無いこと、インクジェット吐出された細胞は、細胞培養すると正常に分裂することを明らかにしている。

第8章では、1滴1細胞プリンティングを、画像処理を用いて行うための自動化システムの開発や、細胞を高い確率でプリントする手法について検討した結果、高い確率で安定して1細胞を指定位置にプリントできることを実証している。

第9章では、以上の研究成果と意義をまとめ、今後の課題と展望について記述している。

以上のように、本論文はインクジェット方式により細胞を安定して吐出させるための新手法を提案・実行するとともに、1滴中に単一細胞を含んだ状態で、極めて高い効率で指定された位置に単一細胞を自動的に印刷することに成功している。これらの成果は、再生医療や製薬等のライフサイエンス分野を支える基盤技術として重要なものである。よって本論文は博士論文として価値あるものと認める。