

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 24 日現在

機関番号：81101

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24360100

研究課題名(和文) 稚魚を対象とした高精度マイクロインジェクションシステムの開発

研究課題名(英文) Development of Injection Systems Applied to Fish Juveniles

研究代表者

工藤 謙一 (Kudoh, Ken-ichi)

地方独立行政法人青森県産業技術センター・弘前地域研究所・所長

研究者番号：90250232

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,800,000円

研究成果の概要(和文)：魚の完全養殖を目指す場合、親魚の飼育が困難な大型魚に対しては、近縁種の小型魚のお腹を借りて増やす技術(借り腹養殖技術)が着目されている。また、雌雄どちらかだけを生産するデザイン養殖技術にも借り腹技術同様、機械式又は液圧式マニピュレータが使用されている。この作業はオペレータの熟練を要する作業であり自動化への期待がある。本研究は、オペレータの技量に関係なく効率の良い作業が行える様に自動化したマイクロインジェクションシステムを開発することを目的とした。圧電インパクト、圧電打撃型インジェクタ、空圧打撃型インジェクタなど数種のインジェクションシステムを試作して、稚魚へのマイクロピペット穿刺実験を行った。

研究成果の概要(英文)：If you aim to complete farming of fish, with the help of related species of small fish to increase technology (borrowed belly farming technology) it has been paying attention. Borrowed belly farming technology similar in design aquaculture technology to produce only one sex, mechanical or hydraulic manipulators are used. This study was aimed to develop a micro-injection system was automated as can be performed efficient work regardless skill of the operator. Piezoelectric impact, piezoelectric hammering injector, with prototype air pressure hammering injector, such as several types of injection system, was carried out micropipette injection experiments to fish juveniles.

研究分野：メカトロニクス

キーワード：マニピュレータ マイクロマニピュレータ インジェクション

1. 研究開始当初の背景

近年、魚の完全養殖を目指す場合、親魚の飼育が困難な大型魚（高級マグロなど）に対しては、近縁種の小型魚のお腹を借りて増やす技術（借り腹養殖技術）が着目されている。この借り腹養殖の作業現場で用いられる装置は、哺乳動物の品種改良やヒトの不妊症治療に使われる装置と同様の装置（機械式又は液圧式マイクロマニピュレータ）が使用されている。しかしながらこのマイクロマニピュレータを用いた作業はオペレータの熟練を要する手作業であり自動化への要求がある。稚魚は動物卵とは違い、日齢で大きさ、硬さが変化し、穿刺に求められる力の幅が広く、ワイドレンジの穿刺システムが要求される。

本研究では、オペレータの技量に関係なく効率の良い作業が行える様に自動化した、稚魚への高精度なマイクロインジェクションシステムの開発を目指した。

2. 研究の目的

稚魚へのインジェクション作業を行うオペレータの技量に関係なく、効率の良い作業が行える様に自動化した、稚魚への高精度なマイクロインジェクションシステムの開発を目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、オペレータの技量に関係なく効率の良い作業が行える様に自動化した稚魚への高精度なマイクロインジェクションシステム（腹腔部への始原生殖細胞注入や卵子に精子を注入する自動化された装置）の開発や革新的な養殖技術開発を目指して、下記に示す 6 項目について実験装置を試作して種々の実験を行った。

1. 電場を利用した稚魚位置決めシステムの開発。
2. ピエゾマイクロマニピュレータの稚魚インジェクタへの活用。
3. 圧電打撃型インジェクタの試作。
4. 空圧打撃型インジェクタの試作。
5. ストローク調整可能な空圧打撃型インジェクタの試作。
6. タッチパネル操作型マニピュレータの試作。

3 - 1. 電場を利用した稚魚位置決めシステムの開発

稚魚を作業領域へ搬送するための「稚魚位置決め用マニピュレーションシステム」の開発にあたり、稚魚の搬送に静電気力を用いることが可能か否かを判断するため、電場が稚魚に与える影響について、電場付与装置を試作して、場付与実験を行った。

【実験 1】

2/5: ハタハタ仔魚（全長 10mm 前後）10 尾を専用水槽に収容し、電流付与を開始（2.9V0.01A）。

2/6: 7 尾死亡。

2/8: 2 尾死亡。

【実験 2】

2/20: 数日前に予め専用水槽に移しておいたハタハタ仔魚 16 尾に対して、電流付与開始（2.7V0.13A）。

2/21: 10 尾の死亡を確認、残り 6 尾に関してもかなり弱まった。

上記実験により稚魚への電場付与は不適當であることが判明した。

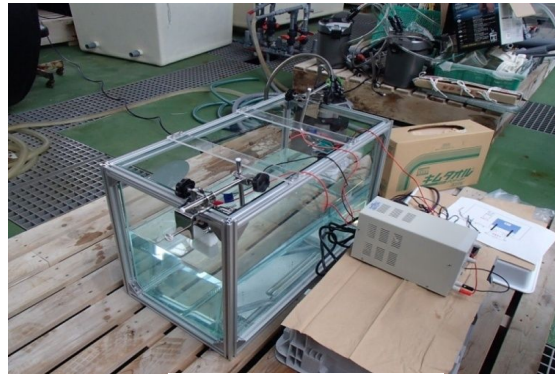


図 1 実験の様子



図 2 電場付与アンブ

3 - 2. ピエゾマイクロマニピュレータの稚魚インジェクタへの活用

図 3 に、圧電インパクト駆動機構を用いた細胞穿孔装置の微動部を示す。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、積層型素子（5mm × 5mm × 10mm：NEC トーキョー製）で、最大印加電圧 150V において約 8 μm の変位を生じる。圧電インパクト駆動機構を利用したピエゾマイクロマニピュレータは、哺乳動物卵細胞を用いた実験では細胞の変形が無くスムーズにピペットを細胞質内へ挿入可能である。ピエゾマイクロマニピュレータは、哺乳動物卵細胞への穿刺実験では良好な結果を示したが、今回行った日齢 8 ~ 9 日のトラフグ稚魚では、卵細胞に比べると外皮が非常に硬いのでマイクロピ

ペットによる穿孔は不可能であった。

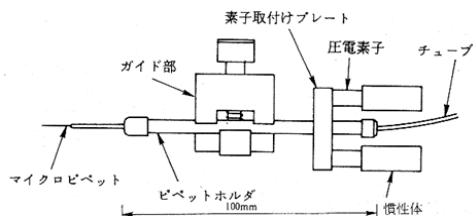


図3 細胞穿孔機構微動部

3-3. 圧電打撃型インジェクタの試作

ピエゾマイクロマニピュレータでは、穿孔不可能であった為、さらに大きな力が得られる装置（打撃型インジェクタ）を試作した。

本装置は、マイクロマニピュレータアームにバネヒンジ機構を介してピペットホルダが固定され、ピペットホルダに取り付けられたインジェクションピペットに、芯打ちアクチュエータにより後方から打撃力を与える構造になっている。ピペットにぶれることなく振動を伝える為に、A7075材（超超ジュラルミン）を用いて精密放電ワイヤ加工により平行バネヒンジ機構を製作し、ピペットホルダを支持する構造としている。図4に打撃型インジェクタを示す。実験に日齢9のトラフグの稚魚を使用した。実験は、手動マニピュレータによる実験及び電動マニピュレータ+打撃型インジェクタを使用しての実験を行った。手動マニピュレータ及び電動マニピュレータ+打撃型インジェクタタイプとも作業時間を1時間として、移植作業数、移植成功率、針刺し不可などの項目を比較検討した。

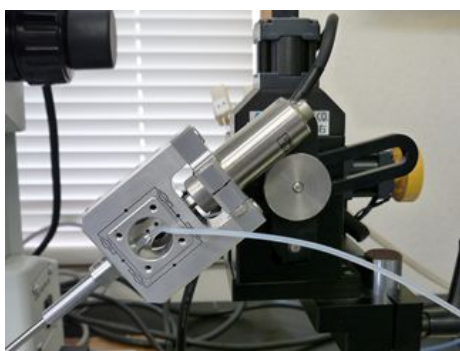


図4 打撃型インジェクタ

9日齢の試料を用いた実験では、処理数30尾に対して移植成功は0尾、針刺し不可が30尾であった。9日齢の稚魚へは手動マニピュレータでは移植不可能であった。電動マニピュレータ+打撃型インジェクタタイプを用いた実験では、24尾の処理数に対して、移植成功18尾であり成功率は75%であった。9日齢以降の成長した稚魚では、手動マニピュレータ、電動マニピュレータ+打撃型インジェクタタイプの両方ともインジェクションは出来なかった。

表1 実験結果（9日齢）

Table 1. Result (9 days).

装置	時間 (min)	処理数	成功	不可	成功率
電動+打撃型インジェクタ	60	24	15	9	63
手動	60	30	0	30	0

3-4. 空圧打撃型インジェクタの試作

ピエゾマイクロマニピュレータ、打撃型インジェクタでは穿孔不可能な日齢の稚魚に対応するため、エアシリンダに打撃用ピストンを追加した、空圧打撃型インジェクタを試作した。本装置は、ピペットホルダをエアシリンダのロッドとして利用することで、大きなストロークと推力を得ると同時に、小型化や軽量化を可能とした。また空気圧を調整することにより、簡単に推力の調整が可能である。ピペットホルダにカラーを固定してシリンダ内部に配置、カラーをピストンで押すことで推力とストロークを発生させている。ピストンをシリンダ内部で自由に可動する形にすることで、エアがシリンダ内に流入する時にカラーに衝突して打撃力を発生させる構造とした。図5に試作した空圧打撃型インジェクタの外観を示す。空圧打撃型インジェクタ性能評価のため、ピペットホルダ先端の変位を計測した。約2.5ミリ秒で2mm変位することが確認した。またその際の推力をデジタルフォースゲージ（イマダ ZP-50N）で測定し、約30Nであった。



図5 空圧打撃型インジェクタ

3-5. ストローク調整可能な空圧打撃型インジェクタの試作

作業現場では穿孔深さをコントロールしたいという要求があったので、3-4の項で試作した空圧打撃型インジェクタに改良を施し、0~2mm/1パルスのストローク可変型インジェクタ（穿孔装置）を試作した。45日齢のマコガレイ稚魚腹腔内へ任意のストロークでマイクロピペットが挿入可能なことを確認した。

平成25年度に試作した1μmの位置決め分解能を有するコンピュータマウス制御マイクロマニピュレータの制御ソフトのバグの

改善を行った。また、PC マウス操作方式からタッチパネル操作方式に対応すべくソフトの変更を行った。その結果、タッチパネルで操作するマイクロマニピュレーションシステムが完成した（世界初の試み）。

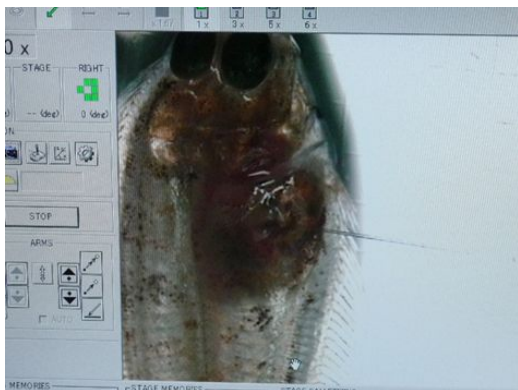


図6 稚魚への穿刺の様子

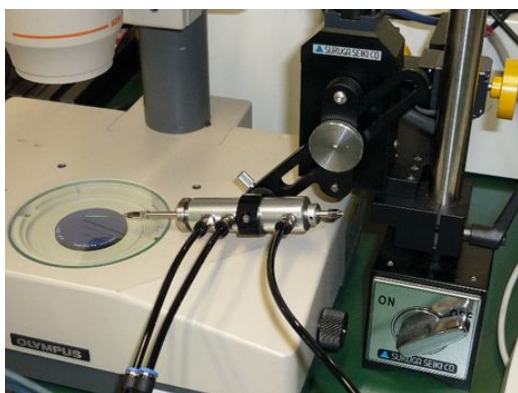


図7 ストローク調整可能空圧打撃型インジェクタを用いた実験の様子

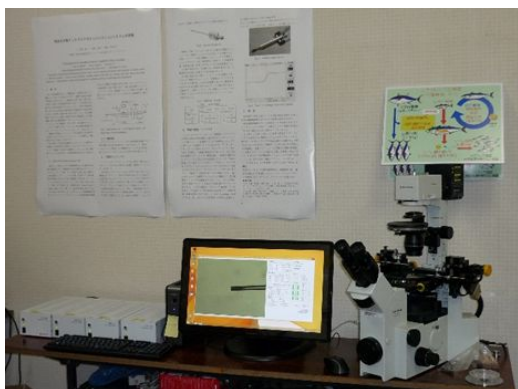


図8 タッチパネル操作方式自動化マニピュレーションシステム

4. 研究成果

3年間の研究期間において、 piezoinjector 装置、 piezo 打撃型穿刺装置、空圧打撃型穿刺装置、ストローク調整可能型穿刺装置を試作して、稚魚穿刺実験を行った。その結果、日齢8日までなら piezo 打撃型で穿刺可能であった。それ以上の穿刺力が必要な50日齢位の稚魚へは、空圧打撃型穿刺機構が適していることを確認した。マイクロピペッ

ト位置決めのための粗動用マニピュレータの自動化に関して、マウス制御自動化マニピュレータを改良して、スマートフォン感覚で誰にでも違和感無く容易に扱えるタッチパネル操作方式マイクロマニピュレータを開発した（世界初の試み）。

また、この1 μm の位置決め分解能を有するタッチパネル操作方式マイクロマニピュレータは、水産分野の研究のみならず、畜産分野、医療分野、精密産業（半導体製造分野など）などへの応用が期待できる。

参考文献

- (1) 工藤, 後藤, 佐藤, 山形, 古谷, 樋口: 「圧電素子を利用したマイクロマニピュレータの開発」, 哺乳動物卵子学会誌, Vol. 7, No. 1号, p7-12, (1990)
- (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, 第54巻, 第11号, pp.2107-2112 (1988) .

5. 主な発表論文等

(研究代表者, 研究分担者及び連携研究者には下線)

〔学会発表〕(計2件)

・ 工藤 謙一, 高橋 進吾, 伊藤寿美夫: 稚魚を対象としたマイクロインジェクションシステムの開発, 2014年度精密工学会春季大会学術講演会講演論文集, pp471-472, 2014年3月, 東京都・文京区 .

・ 工藤 謙一, 高橋 進吾, 伊藤寿美夫: 微小生体を対象としたマイクロインジェクションシステムの開発, 2014年度精密工学会東北支部学術講演会講演論文集, pp71-72, 2014年11月, 青森県・弘前市 .

6. 研究組織

(1)研究代表者

工藤 謙一 (KUDOH, Ken-ichi)
地方独立行政法人青森県産業技術センター・弘前地域研究所・所長
研究者番号: 90250232

(2)研究分担者

野呂 英樹 (NORO, Hideki)
地方独立行政法人青森県産業技術センター・水産総合研究所・研究員
研究者番号: 60638162

研究分担者

高橋 進吾 (TAKAHASHI, Shingo)
地方独立行政法人青森県産業技術センター・水産総合研究所・研究管理員
研究者番号: 10561912