

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 24 日現在

機関番号：13901

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24656167

研究課題名(和文) 低侵襲な細胞操作用ナノツールのエクステンジャーシステムの構築

研究課題名(英文) Nanotool Exchanger System of less invasive nanotools for cell manipulation

研究代表者

中島 正博 (Nakajima, Masahiro)

名古屋大学・工学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：80377837

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円、(間接経費) 930,000円

研究成果の概要(和文)：本プロジェクトでは、ナノマニピュレーションシステムのエンドエフェクタ交換の自動化を目指したナノツール・エクステンジャーシステム(NTEXS)を提案した。本システムにより、主に、試料室の大気開放を必要とせず、より短時間でナノツールの交換が可能、ナノツールを手動で交換する必要がなく、作業ミスなどによるナノツールの破損などを回避、ナノツールが劣化・破損した際に、予備のナノツールに交換、複数のナノツールを連続的に利用、することが実現できる。本研究では、環境制御型電子顕微鏡内ナノマニピュレーションのためのナノツール・エクステンジャーシステムを構築し、細胞操作への応用を目的とした。

研究成果の概要(英文)：In this project, we proposed Nanotool Exchanger System (NTEXS) to realize automation of exchange with different end-effectors for nanomanipulation. Through the NTEXS, the following advantages are mainly obtained: 1) it is not needed to open the sample chamber for exchange of nanotools by evacuation of sample chamber in a short time, 2) it is not needed to operate manually to exchange nanotools, 3) it is possible to recover the nanotools by exchanging new backup one, 4) it is possible to use different tools continuously. In this research, we developed the NTEXS for nanomanipulation system inside Environmental-Scanning Electron Microscope (E-SEM) for manipulation of cells.

研究分野：工学

科研費の分科・細目：機械工学，知能機械学・機械システム

キーワード：ナノツール エクステンジャーシステム ナノマニピュレーション 細胞操作 自動化

### 1. 研究開始当初の背景

我々は世界に先駆けて環境制御型電子顕微鏡(Environmental-SEM, E-SEM)内ナノマニピュレーションシステムを構築した。これにより低侵襲に細胞を解析・操作するために、ナノスケールの微細なツール(ナノツール)を考案し、単一細胞の特性計測などについて有効性を検証してきた。

ナノツールの交換は通常、手作業で行い、環境制御型電子顕微鏡の試料室を開けて作業を行うためには、15分程度(大気開放:約5分, 真空引き:約10分)の交換時間が必要である。この際、細胞は大気に晒され、環境変化に伴う経時的なダメージを受け、細胞の活性が低下してしまうことが問題であった。

そこで本プロジェクトでは、微細加工技術を応用し、環境制御型電子顕微鏡の試料室内で、ナノツールを連続的かつ短時間に交換可能なナノツール・エクステンジャーシステム(Nanotool Exchanger System: NTExS)を世界に先駆けて考案し、ナノツールの交換方式を、異なるナノツールであっても同一方式にするためのナノツールアダプタを考案し、効率的なナノツール交換システムを提案する。

### 2. 研究の目的

本プロジェクトでは、ナノマニピュレーションシステムのエンドエフェクタ交換の自動化などの工学的ニーズに応える革新的かつ先端的な技術及び機器として、ナノツール・エクステンジャーシステムを構築する。

本システムにより、主に、①試料室の大気開放を必要とせず、より短時間でナノツールの交換が可能、②ナノツールを手動で交換する必要がなく、作業ミスなどによるナノツールの破損などを回避、③ナノツールが劣化・破損した際に、予備のナノツールに交換、④複数のナノツールを連続的に利用、することが実現できる。

本研究では、環境制御型電子顕微鏡内ナノマニピュレーション用のナノツール・エクステンジャーシステムを構築し、ナノツールを用いた細胞操作への応用することを目的とした。

### 3. 研究の方法

図1に示すように、提案するナノツール・エクステンジャーシステムの構成を示す。ナノツール・エクステンジャーシステムは、①ナノツールアダプタ、②ナノツールホルダ、③ナノツール取り付け機構から構成される。①ナノツールアダプタは、異なるナノツールに対しても、同一方式で交換するために、ナノツール取り付け機構に対して、取り付け、取り外しが可能な機構とした。②ナノツールホルダは、複数のナノツールを格納し、交換するナノツールを選択し、ナノツール取り付け機構を介して、ナノツールの格納・リリースを可能とする機構とした。③ナノツール・

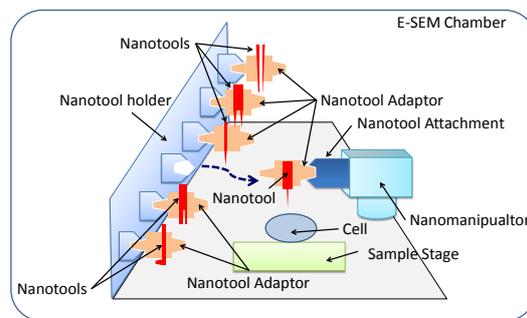


図1 ナノツール・エクステンジャーシステム(Nanotool Exchanger System, NTExS)の構成

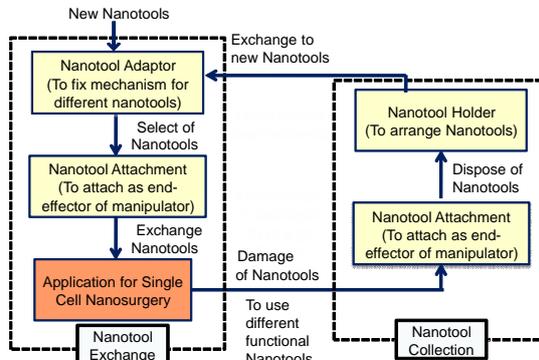


図2 ナノツール・エクステンジャーシステムによるナノツールの交換方式

取り付け機構は、ナノツールアダプタを介してナノツールの取り付け・取り外しを可能とする機構とした。

図2にナノツール・エクステンジャーシステムによるナノツールの交換方式を示す。本図に示すように、ナノツールは、ナノツールアダプタに取り付けることにより、先に述べたように、異なるナノツールであっても同一方式にて取り付け・取り外しが可能である。ナノツールの取り付けの際には、ナノツール取り付け機構により、ナノツールアダプタに取り付け、ナノマニピュレータのエンドエフェクタとしてナノツールを用いる。ナノツールに破損が発生したり、異なるナノツールを利用したりした場合には、ナノツールホルダに格納してあるナノツールの中から選択する。ナノツールの取り外しの際には、使用済のナノツールをナノツール取り付け機構に

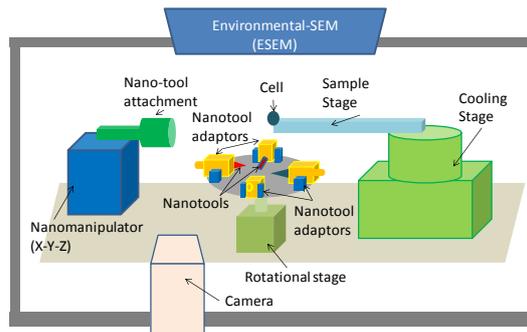


図3 ナノツール・エクステンジャーシステムの実験システム ((2)機械的な嵌め合いによる方式)

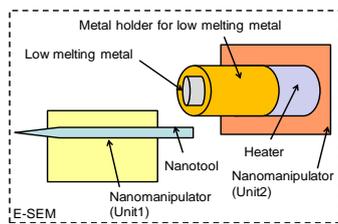


図 4 低融点金属による機構の模式図

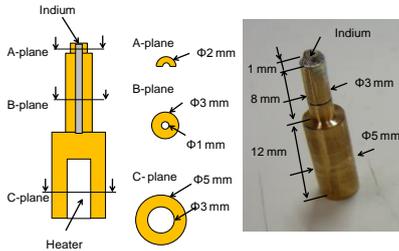


図 5 低融点金属による機構のナノツール取り付け機構

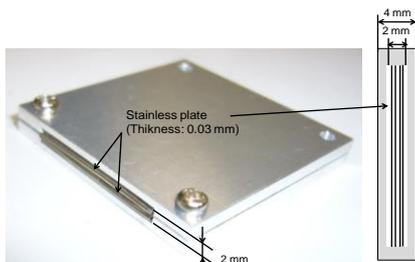


図 6 低融点金属による機構のナノツールホルダ

より、ナノツールホルダに格納する。その後、先に述べたように、ナノツール取り付け機構により、ナノツールアダプタに取り付け、ナノマニピュレータのエンドエフェクタとしてナノツールを用いる。この方式を、連続して行うことで異なるナノツールを試料室内で利用することが可能である。

本研究では、環境制御型電子顕微鏡内ナノマニピュレーションシステム (Environmental-Scanning Electron Microscope (E-SEM)) 用のナノツール・エクステンジャーシステムを構築した。図 3 に示すように、ナノツールホルダを操作対象の細胞試料の下側に配置することで、限られた試料室のスペースを有効に利用する設計とした。ナノツール取り付け機構は、3 自由度 (X-Y-Z 方向) に駆動可能なナノマニピュレータに固定し、試料ステージ上の細胞試料に対してナノツールを操作することを可能とした。ナノツールの交換作業の様子は、試料室内カメラにより試料室内を撮影することを可能とした。

#### 4. 研究成果

ナノツールを電子顕微鏡内の限られた試料室内で利用するために、可能な限りコンパクトな設計とする必要がある。そこで本研究では、(1)低融点金属による機構、(2)機械的な嵌め合いによる機構について検討した。

##### (1)低融点金属による機構

低融点金属による機構を図 4 に示す。ナノ

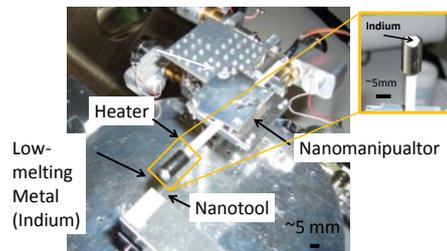


図 7 低融点金属による機構の実験システムのセットアップ

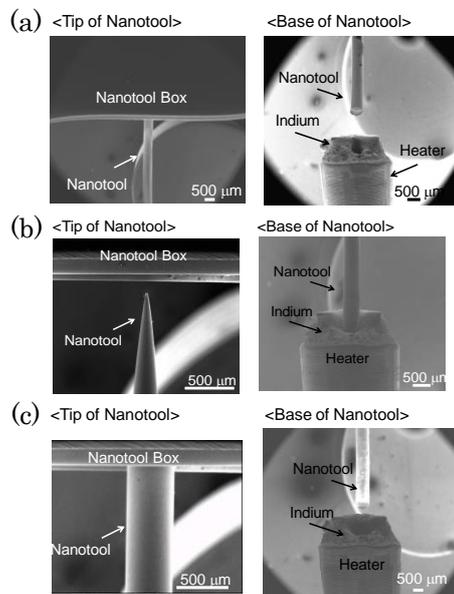


図 8 低融点金属による機構に基づいたナノツールの取り付け・取り外し実験

ツールアダプタは、低融点金属の温度を制御するためのヒータを備えている。加熱・冷却により、低融点金属は液体・固体と変化する。ナノツールの取り付けの際には、低融点金属を加熱し、液体の状態の低融点金属にナノツールアダプタをナノマニピュレータにより挿入し、冷却して固体化することで固定する。ナノツールの取り外しの際には、ナノツールをナノツールホルダに装着し、低融点金属を加熱して液体状態とし、ナノツールアダプタをナノマニピュレータにより取り外す。

実際に作製したナノツール取り付け機構を図 5 に、ナノツールホルダを図 6 に示す。ナノツールホルダは、機械的な嵌め合いによりナノツールアダプタが格納可能な機構とした。ナノツールアダプタはナノツールと一体化した。具体的には、タングステンプローブをナノツールアダプタとして用いるとともに、ナノツールはタングステンプローブ先端部の加工をすることで目的とするナノツールとして利用可能な構成とした。

図 7 に低融点金属による機構の実験システムのセットアップを示す。ナノマニピュレータにヒータを取り付け、ナノツールアダプタの内部に挿入する機構とした。これにより、ナノツールアダプタ内部にある低融点金属の加熱が可能である。実際に本システムによるナノツールの取り付け・取り外し実験の結果を図 8 に示す。ナノツールボックスに装着

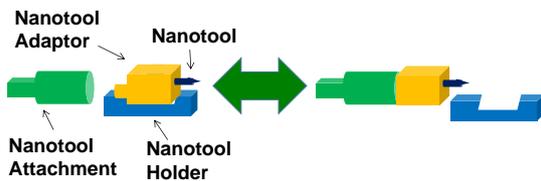


図 9 機械的な嵌め合いによる機構の模式図



図 10 機械的な嵌め合いによる機構のナノツールホルダ、ナノツールアダプタ、ナノツール取り付け機構

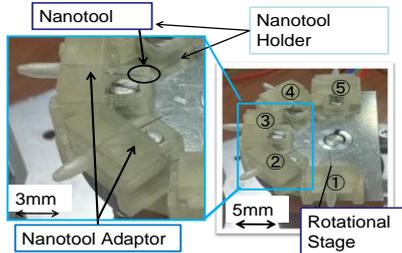


図 11 機械的な嵌め合いによる機構のナノツールホルダのセットアップ

されたナノツールに対して (図 8(a)), ナノツールアダプタを介してナノツールをナノツールアダプタに固定し, ナノツールホルダから取り出すことが出来ることを確認した (図 8(b)). また, 再度, ナノツールをナノツールホルダに装着し, ナノツールを取り外すことが出来ることを確認した (図 8(c)).

(2)機械的な嵌め合いによる機構

機械的な嵌め合いによる機構を図 9 に示す. ナノツールアダプタの凸部にナノツール取り付け機構の凹部を装着することでナノツールホルダから取り外すことが出来る. ナノツールホルダは, ナノツールアダプタを嵌め合うことが出来るような形状とした. これによりナノツールアダプタを装着したナノツール取り付け機構を一方方向に移動させることで, ナノツールアダプタのみナノツールホルダに格納し, ナノツールをナノツール取り付け機構から取り外すことが可能である.

図 10 に実際に作製したナノツールホルダ, ナノツールアダプタ, ナノツール取り付け機構を示す. 本研究では, 三次元光造形装置を用いてこれらの機構を作製した. また, 図 11 に示すように, ナノツールホルダは, 回転ステージに複数装着可能 (図 11 では, 5 個) とし, 回転機構を利用することで, 容易かつ短時間でナノツール取り付け機構との位置関

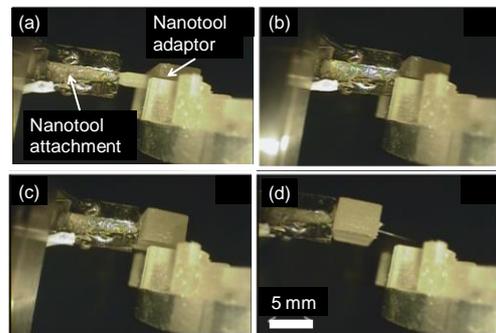


図 12 機械的な嵌め合いによる機構に基づいたナノツールの取り付け・取り外し実験

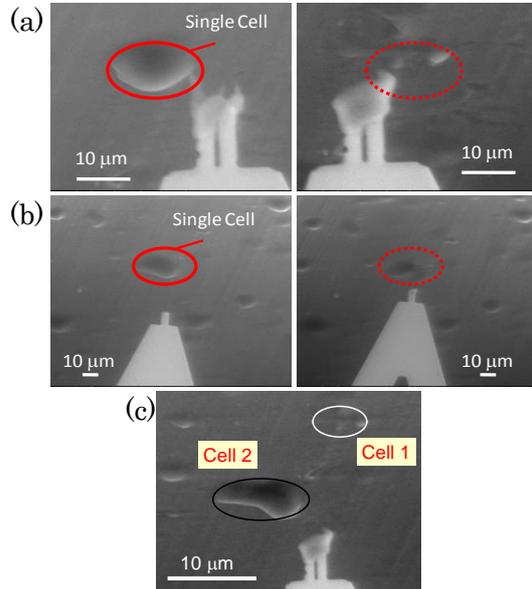


図 13 機械的な嵌め合いに機構に基づいた細胞操作実験, (a)ナノツール A を用いた細胞 1 のピックアップ, (b)ナノツール B を用いた細胞 2 のピックアップ, (c)細胞 1, 細胞 2 のピックアップ後

係を変更することを可能した.

図 12 にナノツールをナノツールアダプタ・ナノツール取り付け機構により取り付けている, 試料室内カメラにより撮影した結果を示す. ナノツールアダプタの凸部を, ナノツール取り付け機構の凹部に機械的に嵌め込む仕組みで, ナノツールの交換が可能であることを確認した.

図 13 に異なるナノツールをナノツール・エクスタッチャーシステムにより交換し, 複数の単一細胞に対してピックアップ実験を行った様子を示す. 本実験では, デュアル・フォーク型ナノプローブ (ツール A, 図 13(a)) 及びシングル・フォーク型ナノプローブ (ツール B, 図 13(b)) を用いて行った. 細胞は, 野生型のイースト細胞を用いた. また, ナノプローブは集束イオンビーム加工 (Focused Ion Beam, FIB)により作製した. 図 13(c)に示すように, 同一試料ステージ上にある複数のイースト細胞を操作し, それぞれを同時に複数の異なるナノツールを用いてピックアップ可能であることを確認した.

## 5. 主な発表論文等

[学会発表] (計 3件)

Masahiro Nakajima, Takuya Kawamoto, Masaru Kojima, Toshio Fukuda, Nanotool Exchanger System using Low-melting Metal under Environmental SEM, Proceedings of the 2011 International Symposium on Micromechatronics and Human Science (MHS 2011), pp. 69-74, 2011

Masahiro Nakajima, Takuya Kawamoto, Takanori Hirano, Masaru Kojima, Toshio Fukuda, Nanotool Exchanger System based on E-SEM Nanorobotic Manipulation System, Proceedings of the 2012 IEEE International Conference on Robotics and Automation (ICRA 2012), pp. 2773-2778, 2012

中島正博, 川本拓哉, 平野貴大, 小嶋勝, 福田敏男, 高効率細胞解析のためのナノツール・エクステンジャーシステム, 2A-S07, ロボティクス・メカトロニクス講演会'12

[図書] (計 1件)

Toshio Fukuda, Fumihito Arai, Masahiro Nakajima, Micro-Nanorobotic Manipulation Systems and Their Applications, pp. 188-190, Springer, 2013. 3.1

[産業財産権]

○出願状況 (計 1件)

名称：ナノツールエクステンジャーシステム

発明者：福田敏男, 中島正博, 小嶋勝

出願人：福田敏男, 中島正博, 小嶋勝

出願番号：特願 2011-122711

出願日：2011年5月12日

国内外の別：国内

[その他]

ホームページ等

<http://www.mein.nagoya-u.ac.jp/indexj.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

中島 正博 (NAKAJIMA MASAHIRO)

名古屋大学・工学研究科・助教

研究者番号：80377837

### (2) 研究分担者

福田 敏男 (FUKUDA TOSHIO)

名城大学・教授

研究者番号：70156785

### (3) 連携研究者

なし