

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6385450号
(P6385450)

(45) 発行日 平成30年9月5日(2018.9.5)

(24) 登録日 平成30年8月17日(2018.8.17)

(51) Int. Cl.	F 1
C 1 2 M 1/00 (2006.01)	C 1 2 M 1/00 A
C 1 2 N 15/87 (2006.01)	C 1 2 N 15/87 Z
C 1 2 Q 1/02 (2006.01)	C 1 2 Q 1/02

請求項の数 12 (全 17 頁)

(21) 出願番号	特願2016-552066 (P2016-552066)	(73) 特許権者	503360115
(86) (22) 出願日	平成27年9月29日(2015.9.29)		国立研究開発法人科学技術振興機構
(86) 国際出願番号	PCT/JP2015/077526		埼玉県川口市本町四丁目1番8号
(87) 国際公開番号	W02016/052511	(74) 代理人	100167689
(87) 国際公開日	平成28年4月7日(2016.4.7)		弁理士 松本 征二
審査請求日	平成29年3月8日(2017.3.8)	(72) 発明者	山西 陽子
(31) 優先権主張番号	特願2014-201440 (P2014-201440)		福岡県福岡市東区箱崎六丁目10番1号
(32) 優先日	平成26年9月30日(2014.9.30)		国立大学法人九州大学内
(33) 優先権主張国	日本国(JP)	(72) 発明者	濱野 洋平
			東京都江東区豊洲3-7-5 学校法人芝浦工業大学内
		(72) 発明者	神林 卓也
			東京都江東区豊洲3-7-5 学校法人芝浦工業大学内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 気泡噴出チップ、局所アブレーション装置及び局所アブレーション方法、並びにインジェクション装置及びインジェクション方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

基板、該基板上に形成された気泡噴出部を含み、
前記気泡噴出部が、
導電材料で形成された電極、
絶縁性の感光性樹脂で形成され、前記電極を挟むように設けられ、且つ前記電極の先端より延伸した延伸部を含む絶縁部、及び
前記絶縁部の延伸部及び前記電極の先端との間に形成された空隙を含み、
前記延伸部の先端には気泡噴出口が形成され、
前記絶縁部は、電極を挟む部分から前記気泡噴出口まで連続して形成されている、
気泡噴出チップ。

【請求項2】

前記延伸部が、テーパー状である請求項1に記載の気泡噴出チップ。

【請求項3】

前記感光性樹脂が、ネガティブ型フォトリソグレイである請求項1又は2に記載の気泡噴出チップ。

【請求項4】

前記気泡噴出部が2以上形成されている請求項1～3の何れか一項に記載の気泡噴出チップ。

【請求項5】

10

20

前記絶縁部にアシスト流路が形成されている請求項 1～4 の何れか一項に記載の気泡噴出チップ。

【請求項 6】

前記電極に接続する通電部を含む請求項 1～5 の何れか一項に記載の気泡噴出チップ。

【請求項 7】

前記気泡噴出部の電極とで電極対を構成する対向電極が、前記基板上に形成されている請求項 1～6 の何れか一項に記載の気泡噴出チップ。

【請求項 8】

前記気泡噴出部の空隙側に、インジェクション物質を含む溶液を流す流路が形成されている請求項 1～7 の何れか一項に記載の気泡噴出チップ。

10

【請求項 9】

請求項 1～8 の何れか一項に記載の気泡噴出チップを含む局所アブレーション装置。

【請求項 10】

請求項 1～8 の何れか一項に記載された気泡噴出チップを含むインジェクション装置。

【請求項 11】

請求項 9 に記載の局所アブレーション装置の電極と対向電極が導通するように溶液を注入し、

前記局所アブレーション装置の電極と対向電極とで構成される電極対に高周波電気パルスを加することで、気泡噴出部の先端から気泡を放出させ、

該気泡で加工対象物を加工する局所アブレーション方法。

20

【請求項 12】

請求項 10 に記載のインジェクション装置の電極と対向電極が導通するように溶液を注入し、

インジェクション物質を含む溶液を気泡噴出部の前に流し、

前記インジェクション装置の電極と対向電極とで構成される電極対に高周波電気パルスを加することで、前記インジェクション物質を含む溶液が吸着した気泡を放出させ、

気泡で加工対象物を局所アブレーションしながら、加工対象物にインジェクション物質を導入するインジェクション方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

30

【0001】

本発明は、気泡噴出チップ、局所アブレーション装置及び局所アブレーション方法、並びにインジェクション装置及びインジェクション方法に関するもので、特に、任意の個数の気泡噴出部を基板上に形成することができ、また、気泡噴出口の大きさを確実にコントロールでき、量産可能な気泡噴出チップ、及び該気泡噴出チップを含む局所アブレーション装置及び局所アブレーション方法、並びにインジェクション装置及びインジェクション方法に関するものである。

【背景技術】

【0002】

近年のバイオテクノロジーの発展に伴い、細胞の膜や壁に孔をあけ、細胞から核を除去又はDNA等の核酸物質の細胞への導入等、細胞等の局所加工の要求が高まっている。局所加工技術（以下、「局所アブレーション法」と記載することがある。）としては、電気メス等のプローブを用いた接触加工技術や、レーザー等を用いた非接触アブレーション技術などを用いた方法が広く知られている。特に、電気メスの接触加工技術は最近数マイクロメートルオーダーの焼結面に抑えることによって、熱侵襲領域を抑えて分解能を向上させた技術が考案されている（非特許文献 1 参照）。

40

【0003】

また、レーザー加工においてはフェムト秒レーザーの躍進が目覚ましく、最近では細胞加工を行う技術（非特許文献 2 参照）や液相中で気泡発生を抑えたレーザー加工技術が考案されている。

50

【0004】

しかしながら、従来の電気メス等のプローブを用いた接触加工技術においては、連続高周波によって発生させたジュール熱により対象物を焼き切る性質があるため、切断面の粗さと熱による周辺組織への熱侵襲の影響が大きいという問題があった。また、フェムト秒レーザー等のレーザーによる非接触加工技術においても、高密度エネルギーが局所的に当たることによって切断面周囲組織の熱侵襲の影響の問題があった。

【0005】

一方、細胞等への核酸物質等を導入するための局所的な物理的インジェクション技術（以下、「インジェクション方法」と記載することがある。）としては、電気穿孔法、超音波を用いたソノポレーション技術及びパーティクルガン法等が広く知られている。

10

【0006】

しかしながら、従来の電気穿孔法技術においては、電界強度により細胞膜の透過性を向上させるのに限界があり、柔軟な脂質2重膜ではなくて硬い細胞膜や細胞壁を有する対象物へインジェクションが困難であり、電極の配置などの制限により局所的な狙った場所へのインジェクションが困難であった。また、超音波を利用したソノポレーション技術においては超音波の集束が困難であり、局所的な気泡のキャビテーションを発生させ解像度を上げることが困難であった。また、パーティクルガン法によるインジェクション方法においても、粒子表面に付着させた物質が粒子を打ち込む際に表面から離脱してしまい導入効率が低いという問題があった。また、電気穿孔法、ソノポレーション法及びパーティクルガン法においては、インジェクションする物質の消費量が多く、貴重な物質をインジェクションすることが困難であるという問題もあった。

20

【0007】

上記従来の局所アブレーション方法、インジェクション方法の問題を解決するため、本発明者らは、導電材料で形成された芯材と、絶縁材料で形成され、前記芯材を覆い、かつ前記芯材の先端から延伸した部分を含む外郭部、及び前記外郭部の延伸した部分及び前記芯材の先端との間に形成された空隙を含む気泡噴出部材を作製し、該気泡噴出部材を溶液に浸漬させ、溶液中で高周波電圧を印加することで気泡を発生し、該気泡を加工対象物に連続的に放出することで加工対象物を切削（局所アブレーション）できることを見出して、特許出願している（特許文献1参照）。

【0008】

30

また、前記気泡噴出部材の外郭部の外側に、外郭部と空間を有するように外側外郭部を設け、前記空間にインジェクション物質を溶解及び／又は分散した溶液を導入することで、インジェクション物質が溶解及び／又は分散した溶液が界面に吸着した気泡を発生することができ、該気泡を加工対象物に連続的に放出することで加工対象物を切削するとともに、気泡を覆う溶液に含まれるインジェクション物質を加工対象物にインジェクションできることを見出し、特許出願している（特許文献1参照）。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0009】

【特許文献1】特許第5526345号公報

40

【非特許文献】

【0010】

【非特許文献1】D. Palanker et al.、J. Cataract. Surgery、38、127-132、(2010)

【非特許文献2】T. Kaji et al.、Applied Physics Letters、91、023904、(2007)

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0011】

しかしながら、特許文献1に記載されている気泡噴出部材及び気液噴出部材は、導電性

50

の芯材及び絶縁部材を加熱して引き切って作製している。そのため、個々の気泡噴出部材及び気液噴出部材の気泡噴出口の大きさを正確に揃えることが難しいとともに、量産化し難いという問題がある。

【0012】

また、加工対象物にインジェクションを行う際に、一か所ではなく、複数個所に一度にインジェクションを行う場合がある。しかしながら、特許文献1に記載されている気泡噴出部材及び気液噴出部材は、上記のとおり、個々の気泡噴出部材及び気液噴出部材の気泡噴出口の大きさを正確に揃えることが難しいことから、従来の気泡噴出部材及び気液噴出部材を複数組み合わせ合わせた場合、インジェクション量を均一にし難いという問題がある。

【0013】

更に、特許文献1に記載されている気泡噴出部材の外周は絶縁性の外郭部で覆われており、気液噴出部材の外周は外側外郭部で覆われているが、外郭部及び外側外郭部も絶縁材料を加熱して引き切って作製していることから大きさは一定していない。そのため、大きさが違うことから、組み合わせ作業が困難であるという問題がある。そして、気泡噴出部材及び気液噴出部材の先端は非常に脆いことから、別々に作製した気泡噴出部材及び気液噴出部材の組み合わせ作業が難しいという問題がある。

【0014】

本発明は、上記問題点を解決するためになされた発明であり、鋭意研究を行ったところ、フォトリソグラフィ技術を用いることで、(1)同じ大きさの気泡噴出口を有する同じ大きさの気泡噴出部材を任意の数含む気泡噴出チップを作製、及び量産化できること、(2)導電性材料で形成した電極を感光性樹脂で挟み、且つ感光性樹脂を電極より延伸して形成することで、感光性樹脂を用いて気泡噴出口を形成できること、(3)気泡噴出部の気泡噴出口側にインジェクション物質を含む溶液を流す流路を形成することで、インジェクション物質を含む溶液が界面に吸着した気泡を加工対象物に連続的に噴出することができ、加工対象物を切削するとともに、気泡を覆う溶液に含まれるインジェクション物質を加工対象物にインジェクションできること、を新たに見出した。

【0015】

すなわち、本発明の目的は、気泡噴出チップ、局所アブレーション装置及び局所アブレーション方法、並びにインジェクション装置及びインジェクション方法を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0016】

本発明は、以下に示す、気泡噴出チップ、局所アブレーション装置及び局所アブレーション方法、並びにインジェクション装置及びインジェクション方法に関する。

【0017】

(1) 基板、該基板上に形成された気泡噴出部を含み、

前記気泡噴出部が、

導電材料で形成された電極、

絶縁性の感光性樹脂で形成され、前記電極を挟むように設けられ、且つ前記電極の先端より延伸した延伸部を含む絶縁部、及び

前記絶縁部の延伸部及び前記電極の先端との間に形成された空隙を含む、気泡噴出チップ。

(2) 前記延伸部が、テーパ状である上記(1)に記載の気泡噴出チップ。

(3) 前記感光性樹脂が、ネガティブ型フォトリソグロスタである上記(1)又は(2)に記載の気泡噴出チップ。

(4) 前記気泡噴出部が2以上形成されている上記(1)～(3)の何れか一に記載の気泡噴出チップ。

(5) 前記絶縁部にアシスト流路が形成されている上記(1)～(4)の何れか一に記載の気泡噴出チップ。

(6) 前記電極に接続する通電部を含む上記(1)～(5)の何れか一に記載の気泡噴出

10

20

30

40

50

チップ。

(7) 前記気泡噴出部の電極とで電極対を構成する対向電極が、前記基板上に形成されている上記(1)～(6)の何れかに記載の気泡噴出チップ。

(8) 前記気泡噴出部の空隙側に、インジェクション物質を含む溶液を流す流路が形成されている上記(1)～(7)の何れかに記載の気泡噴出チップ。

(9) 上記(1)～(8)の何れかに記載の気泡噴出チップを含む局所アブレーション装置。

(10) 上記(1)～(8)の何れかに記載された気泡噴出チップを含むインジェクション装置。

(11) 上記(9)に記載の局所アブレーション装置の電極と対向電極が導通するように溶液を注入し、

前記局所アブレーション装置の電極と対向電極とで構成される電極対に高周波電気パルスを加えることで、気泡噴出部の先端から気泡を放出させ、

該気泡で加工対象物を加工する局所アブレーション方法。

(12) 上記(10)に記載のインジェクション装置の電極と対向電極が導通するように溶液を注入し、

インジェクション物質を含む溶液を気泡噴出部の前に流し、

前記インジェクション装置の電極と対向電極とで構成される電極対に高周波電気パルスを加えることで、前記インジェクション物質を含む溶液が吸着した気泡を放出させ、

気泡で加工対象物を局所アブレーションしながら、加工対象物にインジェクション物質を導入するインジェクション方法。

【発明の効果】

【0018】

(1) 本発明は、フォトリソグラフィ技術を用いることで、同じ大きさの気泡噴出口を有する同じ大きさの気泡噴出部を、基板上に任意の個数形成することができる。したがって、気泡噴出チップ毎の製造のバラツキを少なくすることができる。

(2) 単一の加工対象物の複数個所を、同時に局所アブレーション又は局所インジェクションを行う場合、複数個所に対して、同じ大きさの気泡を噴出することができる。また、単一の気泡噴出チップ1上の気泡噴出部の気泡噴出口の大きさを変えることもでき、加工対象物の複数個所に対して、異なる大きさの気泡を噴出することもできる。

(3) 従来の芯材と絶縁材料を加熱して引き切る製造方法と違い、フォトリソグラフィ技術を用いて気泡噴出チップを形成することから量産化が可能である。

(4) 気泡噴出部の気泡噴出口側にインジェクション物質を含む溶液を流す流路を形成することで、インジェクション物質を含む溶液が界面に吸着した気泡を加工対象物に連続的に噴出しやすくなり、加工対象物を切削するとともに、気泡を覆う溶液に含まれるインジェクション物質を加工対象物にインジェクションすることができる。

【図面の簡単な説明】

【0019】

【図1】図1は、本発明の気泡噴出チップ1の概略を示す図である。

【図2】図2は、気泡噴出チップ1の他の実施形態を示す図である。

【図3】図3は、本発明の気泡噴出チップ1の第1の実施形態の製造工程の一例を示す図である。

【図4】図4は、本発明の気泡噴出チップ1の他の実施形態を示しており、図4(1)は気泡噴出チップ1の全体、図4(2)は気泡噴出部3付近の拡大図である。

【図5】図5は、本発明の気泡噴出チップ1を用いた局所アブレーション装置6の全体構成を示す図である。

【図6】図6は、インジェクション装置に適した気泡噴出チップ1の概略を示す図である。

。

【図7】図7(1-1)は、インジェクション用気泡噴出チップ1の一例の断面図、図7(1-2)はその上面図である。図7(2-1)は、インジェクション用気泡噴出チップ

1の他の例の断面図、図7(2-2)はその上面図を示す。

【図8】図8は、図7(2-1)及び(2-2)に示すインジェクション用気泡噴出チップ1の製造工程の一例を示す図である。

【図9】図9(1)及び(2)は、インジェクション用気泡噴出チップ1の他の実施形態を示す図である。

【図10】図10は、図面代用写真で、図10(1)は実施例1で作製した気泡噴出チップ1の写真、図10(2)は気泡噴出部付近を拡大した写真である。

【図11】図11は、図面代用写真で、図11(1)は実施例2で作製した気泡噴出チップ1の写真、図11(2)は気泡噴出部付近を拡大した写真である。

【図12】図12は、図面代用写真で、実施例3において、ハイスピードカメラで気泡36の発生を撮影した写真である。 10

【図13】図13は、図面代用写真で、図13(1)は実施例4で作製した気泡噴出チップ1の写真、図13(2)は気泡噴出部付近を拡大した写真である。

【図14】図14は、図面代用写真で、実施例5において、ハイスピードカメラで気泡36の発生を撮影した写真である。

【発明を実施するための形態】

【0020】

以下に、本発明の気泡噴出チップ、局所アブレーション装置及び局所アブレーション方法、並びにインジェクション装置及びインジェクション方法について図面を参照しながら詳しく説明する。 20

【0021】

図1は、本発明の気泡噴出チップ1の概略を示す図である。本発明の気泡噴出チップ1は、基板2上に気泡噴出部3が形成されている。気泡噴出部3は、導電性材料で形成された電極31、電極31を挟むように設けられ且つ電極31の先端より延伸した延伸部32を含む絶縁部33で形成され、電極31の先端と延伸部32とで空隙34が形成されている。また、図1に示す例では、電極31に接続する通電部4が形成されているが、通電部4は、気泡噴出チップ1の作製時に一体的に形成してもよいし、気泡噴出チップ1とは別体とし、通電時に接続してもよい。また、対向電極5も基板2上に形成されているが、対向電極5は、気泡噴出チップ1の作製時に一体的に形成してもよいし、気泡噴出チップ1とは別体とし、通電時に溶液に浸漬してもよい。電極31と対向電極5に電圧を印加することで、隣り合う延伸部32で形成した気泡噴出口35から気泡36を連続的に噴出することができる。 30

【0022】

基板2を形成する材料としては、電極31、絶縁部33を堆積できるものであれば特に制限は無く、例えば、ガラス、石英、PMMA、シリコン等が挙げられる。

【0023】

電極31を形成する材料としては、通電することができ、且つ、電気メッキ、無電解メッキ等の方法により基板2上に積層できる材料であれば特に制限は無く、例えば、ニッケル、金、白金、銀、銅、スズ、マグネシウム、クロム、タングステン等の金属、又はそれらの合金が挙げられる。 40

【0024】

本発明では、延伸部32を含む絶縁部33はフォトリソグラフィ技術を用いて作成する。したがって、延伸部32を含む絶縁部33を形成する材料は、絶縁性の感光性樹脂であれば特に制限は無い。例えば、市販されているTSMR V50、PMER等のポジティブ型フォトレジスト、SU-8、KMPR等のネガティブ型フォトレジストが挙げられる。本発明では、電極31と対向電極5に通電することで気泡36を噴出することから、特に高電圧を印加した場合、微細な部分である気泡噴出口35に負荷がかかり易い。SU-8、KMPR等のネガティブ型フォトレジストは、ポジティブ型フォトレジストより硬度が高いため、気泡噴出部3に高電圧をかける場合は、感光性樹脂としてネガティブ型フォトレジストを用いることが好ましい。 50

【0025】

通電部4及び対向電極5は、外部電源の電気を電極31に流すことができれば特に制限は無く、上記電極31と同様の材料を用いることができる。なお、通電部4を気泡噴出チップ1と別体にする場合は、電極31の端部を絶縁部33からはみ出す状態にし、通電部4を接続し易いように製造すればよい。また、対向電極5を別体とする場合は、電極31と通電できればよいので、棒状、板状等、形状等に特に制限は無い。

【0026】

電極31及び対向電極5に電気を出力すると、空隙34で形成された気泡が引き千切られるように気泡噴出口35から噴出するので、気泡噴出部3に外部から気体を供給する必要は無い。また、空隙34は、噴出する気泡36に指向性を持たすため、気泡噴出口35に近づくほど小さくなるのが好ましく、後述する製造工程において、延伸部32がテーパー状となるような形状のフォトマスクを用いればよい。

【0027】

また、空隙34内で気泡が形成される際には、気泡噴出口35の内径（以下、「直径D」又は「D」と記載することがある。）に近い大きさの気泡が生成される。したがって、空隙34の深さ（電極31の先端から気泡噴出口35までの長さ。以下、「L」と記載することがある。）は、少なくとも空隙34内で気泡が生成できる大きさである必要があり、 L/D は少なくとも1以上であることが好ましい。一方、 L/D の上限は、気泡が連続的に噴出できる大きさであれば特に制限はない。特許文献1に記載の気泡噴出部材は、ガラス等を加熱して引き切って作製しているので、気泡噴出部材の先端は非常に細く破損し易かったが、本発明の場合は、基板上に感光性樹脂で気泡噴出口を形成しているので破損の恐れはない。 L/D は、フォトマスクの形状で調整することができる。噴出する気泡36の大きさは、気泡噴出口35の直径Dを変えることで調整することができ、製造の際にフォトマスクの形状で調整すればよい。

【0028】

図2は、気泡噴出チップ1の他の実施形態を示す図である。対向電極5を別体にする場合、基板2の大きさは気泡噴出部3（絶縁部33）と同じ大きさであればよい。図1に示す実施形態の場合は、電気を通すことができる溶液に気泡噴出チップ1を浸漬する、又は電極と対向電極が導通するように基板2上に溶液を注入し、基板2上に加工対象物を配置する必要があるが、図2に示す気泡噴出チップ1は、少なくとも気泡噴出口35を溶液に浸漬すればよい。何れの形態であっても、使用の際に、電極と対向電極が導通するように、溶液が注入されていけばよい。

【0029】

なお、図1及び図2には図示していないが、気泡噴出チップ1を溶液に浸漬した際の漏電防止のため、気泡噴出チップ1を使用する際には、上面に絶縁層を形成することが望ましい。絶縁層を形成する材料は、ポリジメチルシロキサン（PDMS）、パリレン、エポキシ樹脂、ポリミド、ポリエチレン、ガラス、石英、PMMA、シリコン等の周知の絶縁性材料を用いればよい。絶縁層は、使用の前に気泡噴出チップ1に貼り付けても、気泡噴出チップ1の製造時に予め形成してもよい。

【0030】

図3は、本発明の気泡噴出チップ1の第1の実施形態の製造工程の一例を示す図である。なお、図3は図示の関係上、気泡噴出部3が一つの例が記載されているが、気泡噴出部3を複数形成する場合は、フォトマスクの形状を変えればよい。

- (1) 基板2を、アセトン・エタノール・超純水等を用いて洗浄する。
- (2) 通電部4を形成する材料をスパッタリングにより基板2上に積層する。
- (3) フォトレジスト8を塗布し、最終的に通電部4を形成する部分にフォトレジスト8が残るように、マスクを用いて露光・現像する。
- (4) ウェットエッチング等の方法により、通電部4を形成する部分以外の材料を除去する。
- (5) フォトレジスト8を除去することで、通電部4を形成する。

以下の製造工程については、電極 3 1 を形成する部分は A-A' 断面図、延伸部 3 2 を含む絶縁部 3 3 (図面上の符号は 3 3 のみ記載) を形成する部分は、B-B' 断面図として示す。なお、A-A' 断面図、B-B' 断面図の位置については、上記 (5) の図面に図示した (図 3-2 及び図 3-3 の左側)。

(6) 延伸部 3 2 を含む絶縁部 3 3 を形成する材料をスピンコートにより積層する。

(7) 延伸部 3 2 を含む絶縁部 3 3 が残るような形状に設計したフォトマスクを用いて露光する。なお、外部電源への接続を容易にするため、基板 2 の端部部分の絶縁部 3 3 を除去し、通電部 4 が露出するような形状のフォトマスクを用いることが望ましい。

(8) 現像後、延伸部 3 2 を含む絶縁部 3 3 を形成する部分以外の材料を除去する。

(9) 通電部 4 の上に、電気メッキにより電極 3 1 を成長させる。

10

(10) 絶縁層 3 7 を形成する。

【0031】

上記工程で用いるレジスト、エッチャント、スパッタリング装置等は、微細加工技術の分野で用いられている公知の試薬、装置を用いればよい。

【0032】

なお、上記の製造工程は、通電部 4 上に電極 3 1 を電気メッキにより成長させているが、通電部 4 を設けなくてもよい。具体的には、工程 (2) ~ (4) を省略することで基板 2 上に絶縁部 3 3 を形成し、次いで、薄板状の電極 3 1 を形成するための材料を電極 3 1 の形状となるように切断し、絶縁部 3 3 の間にはめ込んで製造すればよい。その場合、電極 3 1 が基板 2 の端部に露出するように形成し、外部電源に直接通電できるようにすることが好ましい。また、上記製造工程は、基板 2 上に気泡噴出部 3 を 2 次元に配置した例を示しているが、工程 (10) 終了後に、工程 (2) ~ (10) を繰り返すことで、基板 2 上に、気泡噴出部 3 を 3 次元に形成することもできる。

20

【0033】

図 4 は、本発明の気泡噴出チップ 1 の他の実施形態を示しており、図 4 (1) は気泡噴出チップ 1 の全体、図 4 (2) は気泡噴出部 3 付近の拡大図である。上記のとおり、本発明の気泡噴出チップ 1 は、漏電防止のため、気泡噴出チップ 1 の上面に絶縁層 3 7 を形成する場合がある。その場合、気泡噴出口 3 5 と加工対象物との距離が長いと、気泡噴出口 3 5 から噴出した気泡 3 6 は溶液中を前方に移動するが、気泡 3 6 の浮力のため絶縁層 3 7 側にも移動し、絶縁層 3 7 に付着する恐れがある。そのため、絶縁部 3 3 にアシスト流路 3 8 を設け、噴出した気泡 3 6 を前方に押し出すアシスト流 (図 4 (2) の矢印) を形成してもよい。

30

【0034】

アシスト流路 3 8 は、上記のとおり気泡 3 6 を前方に押し出すアシスト流を形成できれば特に制限はない。例えば、アシスト流が、気泡噴出部 3 に沿って流れるように形成すればよい。図 4 (2) に示す例では、複数の気泡噴出部 3 の両端及び各々の気泡噴出部 3 の間にアシスト流路 3 8 を設けているが、アシスト流路 3 8 を複数の気泡噴出部 3 毎に形成してもよい。また、図 4 (2) に示す例では、気泡噴出部 3 が絶縁部 3 3 から突出しているが、図 1 及び図 2 に示す気泡噴出部 3 が絶縁部 3 3 から突出していない形状の気泡噴出チップ 1 にアシスト流路 3 8 を形成してもよい。アシスト流路 3 8 は、上記の製造工程 (7) のフォトマスクの形状を変えることで、絶縁部 3 3 に形成すればよい。また、アシスト流路 3 8 を形成する場合は、図 4 (1) に示すようにアシスト流路 3 8 に送液するためのポンプを接続するポンプ接続部 3 9 をアシスト流路 3 8 の端部に形成してもよい。ポンプ接続部 3 9 も製造工程 (7) のフォトマスクの形状を変えることで、絶縁部 3 3 に形成すればよい。ポンプ接続部 3 9 を形成する場合は、気泡噴出チップ 1 の上面の絶縁層 3 7 に孔を形成し、孔にシリコンチューブ等を接続すればよい。

40

【0035】

図 5 は、本発明の気泡噴出チップ 1 を用いた局所アブレーション装置 6 の全体構成を示す図である。局所アブレーション装置 6 は、電気出力手段を含んでおり、電気出力手段は、一般商用交流電源装置 6 1、並びに気泡噴出チップ 1 の電極 3 1 と対向電極 5 とで回路

50

を形成するための電線 62、を少なくとも含み、必要に応じて、無誘導抵抗 63、電圧増幅回路 64、図示しない D I O (Digital Input Output) ポート等を設けてもよい。電気出力手段は、従来の電気メス用電気回路に無誘導抵抗 63 や D I O ポート等を組み込み、微小対象用の出力構成にセッティングすることで簡単に作成することができる。

【0036】

電極 31 及び対向電極 5 に出力する電気の電流、電圧及び周波数は、気泡を噴出することができ、且つ気泡噴出部 3 を損傷しない範囲であれば特に制限は無いが、例えば、電流は、10mA～80mA が好ましく、25mA～75mA がより好ましい。電流が 10mA より小さいと気泡 36 をうまく生成できないことがあり、80mA より大きいと電極摩耗を生じることとなり好ましくない。電圧は、100V～800V が好ましく、200V～600V がより好ましい。電圧が 100V より小さいと気泡 36 の生成が困難となり、800V より大きいと電極 31 の摩耗や延伸部 32 が破損する恐れがあり好ましくない。周波数は、1kHz～1GHz が好ましく、5kHz～1MHz がより好ましく、10kHz～60kHz が特に好ましい。周波数が 1kHz より小さいと、延伸部 32 が破損する恐れがあり、1GHz より大きいと気泡 36 が生成できなくなる恐れがあり好ましくない。

【0037】

本発明の局所アブレーション方法は、先ず、本発明の局所アブレーション装置 6 の気泡噴出チップ 1 と対向電極 5 を導電性の溶液に浸漬、又は電極 31 と対向電極 5 が導通するように基板 2 上に溶液を注入する。そして、気泡噴出チップ 1 の気泡噴出部 3 と対向電極 5 の間に加工対象物を配置し、気泡噴出部 3 から噴出した気泡 36 を加工対象物に衝突させることで、加工対象物を局所的にアブレーションすることができる。

【0038】

加工対象物としては、気泡によりアブレーションできるものであれば特に制限は無く、例えば、細胞やタンパク質が挙げられる。細胞としては、ヒトまたは非ヒト動物の組織から単離した幹細胞、皮膚細胞、粘膜細胞、肝細胞、膵島細胞、神経細胞、軟骨細胞、内皮細胞、上皮細胞、骨細胞、筋細胞、卵細胞等の動物細胞、植物細胞、昆虫細胞、大腸菌、酵母、カビなどの微生物細胞などの細胞を挙げることができる。なお、本発明における「加工」とは、加工対象物に気泡を噴出することで、対象物に孔を開けたり、対象物の一部を切削することを意味する。

【0039】

特許文献 1 において、本発明者らは、気泡噴出部材から噴出する気泡がインジェクション物質を吸着できることを明らかにしている。芯材に通電することで発生した気泡は電気を帯びており、電気によりインジェクション物質が気泡に吸着すると考えられる。したがって、図 1 又は図 2 に示す気泡噴出チップ 1 を用いて局所アブレーションを行う際に、気泡噴出チップ 1 を浸漬する導電性溶液にインジェクション物質を含ませると、インジェクション物質が周りに吸着した気泡 36 を噴出することができる。そのため、加工対象物を局所アブレーションしながらインジェクション物質を導入することができる。また、本発明の気泡噴出チップ 1 の基板 2 から絶縁層 37 までの高さは μm オーダーである。したがって、流体力学上、ポンプ等を用いてインジェクション物質を含む溶液を導電性溶液に押し出すことで、インジェクション物質を含む溶液の層流を形成することができる。

【0040】

図 6 は、インジェクション装置により適した気泡噴出チップ 1 (以下、「インジェクション用気泡噴出チップ」と記載することがある。) の概略を示す図である。図 6 に示すインジェクション用気泡噴出チップ 1 は、気泡噴出部 3 の空隙 34 側に、インジェクション物質を含む溶液を流す流路 7 (以下、「インジェクション溶液流路」と記載することがある。) が形成されている。上記のとおり、特にインジェクション溶液流路 7 を形成しなくても、流体力学上は、インジェクション物質を含む溶液を層流にすることができるが、インジェクション溶液流路 7 を形成することでインジェクション物質を含む溶液がより層流

となりやすい。図7（1-1）は、インジェクション用気泡噴出チップ1の一例の断面図、図7（1-2）はその上面図である。図7（1-1）及び（1-2）に示す例では、インジェクション溶液流路7に相当する部分に通電部4を形成しないことで、他の部分より相対的に低くすることで流路7を形成している。

【0041】

図7（2-1）は、インジェクション用気泡噴出チップ1の他の例の断面図、図7（2-2）はその上面図を示す。図7（2-1）及び（2-2）に示す例では、絶縁壁71を気泡噴出部3の反対側に形成することで、気泡噴出部3の延伸部32と絶縁壁71で流路7を形成している。なお、図7（2-1）及び（2-2）に示すインジェクション用気泡噴出チップ1の場合、気泡36が流路7を通過することで、周囲にインジェクション物質が吸着した気泡36を形成することができる。そのため、加工対象物は流路7から離れた位置に置く必要があるため、気泡噴出部3に対向する絶縁壁71には、加工対象物を置くための加工対象物設置流路72を形成することが望ましい。絶縁壁71は、絶縁部32と同じ材料を用いればよい。なお、図7（2-1）及び（2-2）に示す例において、流路7が非常に狭く、インジェクション物質を含む溶液のみを流す場合には加工対象物設置流路72を形成し、加工対象物設置流路72内に導電性溶液を満たす必要がある。一方、流路7が広く、流路7内の導電性溶液内にインジェクション物質を含む溶液の層流を形成することができれば、加工対象物は流路7内に配置することもできるので、加工対象物設置流路72は必須ではない。

【0042】

なお、図7には示していないが、インジェクション用気泡噴出チップ1には、流路7内にインジェクション物質を流すための注入口を形成してもよい。導電性溶液とは親水度が異なるように調整したインジェクション物質を含む溶液を注入口から注入することで、気泡噴出チップ1を浸漬する導電性溶液の中に、インジェクション物質を含む溶液流を形成することができる。また、注入口は一つに限らず、複数形成してもよい。親水度が異なるように調整したインジェクション物質を夫々の注入口から注入することで、インジェクション物質を含む多層の溶液流を形成することができる。注入口を形成する場合は、流路7の反対側に排出口を形成すればよい。注入口及び排出口は、気泡噴出チップ1の上面の絶縁層37に孔を形成し、孔にシリコンチューブ等を接続すればよい。

【0043】

図8は、図7（2-1）及び（2-2）に示すインジェクション用気泡噴出チップ1の製造工程の一例を示す図である。図3の示す製造工程の内、工程（7）のフォトマスクの形状を、絶縁層71及び加工対象物設置流路72ができる形状にする以外は、図3に示す工程と同じでよい。

【0044】

図9は、インジェクション用気泡噴出チップ1の他の実施形態を示す図である。図6及び7に示すインジェクション用気泡噴出チップ1は、気泡噴出口35がインジェクション溶液流路7に面していたが、図9（1）に示すインジェクション用気泡噴出チップ1は、気泡噴出部3の周りに第1のインジェクション物質を含む第1インジェクション溶液流路8を形成し、そして、第1インジェクション溶液流路8が図6及び図7に示すインジェクション溶液流路7に接続している。図9（1）に示す実施形態では、第1インジェクション溶液流路8にはポンプaからインジェクション物質を含むインジェクション流aが形成され、インジェクション溶液流路7にはポンプbからインジェクション物質を含むインジェクション流bが形成され、インジェクション流a及びbが層流となる。なお、この場合、インジェクション流aは、前述したアシスト流の役割も果たす。気泡噴出口から噴出した気泡の周りには第1インジェクション溶液流路8を流れる溶液に含まれる第1のインジェクション物質が吸着し、その周りにインジェクション溶液流路7を流れる溶液に含まれるインジェクション物質が吸着する。なお、加工対象物を加工対象物設置流路72の入口付近に置き、気泡噴出部3に印加する電圧を大きくすることで、加工対象物設置流路72にもインジェクション物質を含むインジェクション流cを形成するためのポンプcを設け

、インジェクション流を3層にすることもできる。

【0045】

また、図9（2）に示す実施形態では、気泡噴出部3の周りに第1のインジェクション物質を含む第1インジェクション溶液流路8を形成し、第1インジェクション溶液流路8には、第1インジェクション物質が吸着した気泡が通過するための孔81が形成されている。更に、第1インジェクション溶液流路8の周りに、第2のインジェクション物質を含む第2インジェクション溶液流路9を形成している。図9（2）に示す実施形態では、気泡噴出口から噴出した気泡の周りには第1インジェクション溶液流路8を流れる第1のインジェクション物質が吸着し、その周りに第2インジェクション溶液流路9を流れる第2のインジェクション物質を吸着することができる。

10

【0046】

なお、図9（2）では図示は省略しているが、インジェクション物質を含む溶液を送液するためのポンプを接続するポンプ接続部をインジェクション溶液流路8、9の端部に形成してもよい。インジェクション溶液流路8、9、及びポンプ接続部は、上記の製造工程（7）のフォトマスクの形状を変えることで、絶縁部33に形成すればよい。ポンプ接続部を形成する場合は、インジェクション用気泡噴出チップ1の上面の絶縁層37に孔を形成し、孔にシリコンチューブ等を接続すればよい。

【0047】

上記の局所アブレーション装置6の気泡噴出チップ1に換え、インジェクション用気泡噴出チップ1を用いることで、インジェクション装置を作製することができる。インジェクション物質を含む溶液を流路7に流す以外は、局所アブレーション方法と同様の手順で、加工対象物を局所アブレーションしながら、インジェクション物質を導入することができる。勿論、インジェクション物質を含まない導電性溶液を用いれば、局所アブレーション装置として使用することもできる。

20

【0048】

インジェクション物質は、気体、固体、液体を問わず、液体に溶解及び／又は分散できるものであれば特に制限は無く、気体としては空気、窒素、ヘリウム、二酸化炭素、一酸化炭素、アルゴン、酸素等が挙げられ、固体としてはDNA、RNA、タンパク質、アミノ酸、無機物等が挙げられ、液体としては薬剤溶液、アミノ酸溶液等が挙げられる。インジェクション物質を溶解及び／又は分散させる溶液としては、生理食塩水、培地等が挙げられる。

30

【0049】

以下に実施例を掲げ、本発明を具体的に説明するが、この実施例は単に本発明の説明のため、その具体的な態様の参考のために提供されているものである。これらの例示は本発明の特定の具体的な態様を説明するためのものであるが、本願で開示する発明の範囲を限定したり、あるいは制限することを表すものではない。

【実施例】

【0050】

<実施例1>

〔気泡噴出チップ1の作製〕

40

（1）ガラス基板をアセトン・エタノール・超純水の順に100kHzで5分間ずつ超音波洗浄機により有機洗浄し、120℃で30分間バイクした。

（2）ガラス基板を常温まで冷却した後にガラス基板上にスパッタリング装置（（株）真空デバイスMSP-30T）を用いて、Auをプラズマ電流値（80mA）、1分間成膜した。

（3）ガラス基板上にOFPR-800 LB（200CP）を2000rpmで30秒間、及び4000rpmで2秒間スピコートし、オープン内で90℃で30分間プリバイクした。次いで、エマルジョンマスクを用いて露光後、NMD-3を用いて現像した。現像後は、超純水を用いてリンスをし、スピンドライヤー等で水分を飛ばし乾燥させた。

50

(4) パターニングされたOFPR以外の領域にAuエッチャント (AURUM-302、関東化学(株)) を浸漬させてAuをエッチングし、超純水でリンスした。

(5) ガラス基板をアセトンにつけて残りのOFPR膜を除去して、Au電極部のパターニングを完成した。

(6) ガラス基板にSU-8をスピコートし、ホットプレート上で95℃で50分間、プリベイクした。

(7) エマルジョンマスクを用いて露光後、ホットプレートの上で95℃で5分間、ポストエクスポージャベイクを行った。

(8) PGMEA (2-Methoxy-1-methylethyl acetate; CAS Number: 142300-82-1) を用いて現像した。現像後は、超純水を用いてリンスし、スピンドライヤー等で水分をとばし乾燥させSU-8のパターニング作業を完了した。 10

(9) Auパターニング部に電極を接続し、SU-8のパターニングに沿ってNiめっきをSU-8パターンの高さ(100 μm)まで成長させて、気泡噴出チップ1を作製した。

(10) ポリジメチルシロキサン(PDMS)をOHPフィルムの上において1000 rpmで20秒スピコートし、オープンにて90℃で15分間ベイクして、厚さ100 μm程度のシート状として用意した。このPDMSシートを、作製した気泡噴出チップ1の上面に被せ、接着剤(Super Xセメダイン(株))を用いて接着した。 20

【0051】

図10(1)は実施例1で作製した気泡噴出チップ1の写真で、図10(2)は気泡噴出部付近を拡大した写真である。気泡噴出口35の大きさは、約50 μmであった。

【0052】

<実施例2>

〔気泡噴出チップ1の作製〕

上記実施例1の(7)の工程のエマルジョンマスクの形状を変え、気泡噴出部を複数形成した気泡噴出チップ1を作製した。図11(1)は実施例2で作製した気泡噴出チップ1の写真で、図11(2)は気泡噴出部付近を拡大した写真である。気泡噴出口35の大きさは、約50 μmであった。

【0053】

<実施例3>

〔局所アブレーション装置及びインジェクション装置の作製及び気泡噴出実験〕

医療用電気メス(ConMed社製、Hyfrecator 2000)のメスに換え、実施例1で作製した気泡噴出チップ1を組み込み、更に、無誘導抵抗及びDIOポートを電気出力手段に組み込み、局所アブレーション装置及びインジェクション装置を作製した。

【0054】

次に、5MのNaCl溶液に、気泡噴出チップ1を浸漬し、電圧27.7mA、電流309V、アウトプット周波数は450kHz、インピーダンスマッチングのためのサンプリング周波数は450kHz、3.5kHzでフィードバックを行い、電極31と対向電極5に電気を出力した。気泡の形成は、ハイスピードカメラ(VW-9000, Keyence社製)を用いて撮影を行った。なお、対向電極5は銅板で作製し、気泡噴出チップ1とは離して配置した。 40

【0055】

図12は、ハイスピードカメラで気泡36の発生を撮影した写真である。写真から明らかなように、実施例1で作製した気泡噴出チップ1を用いることで、気泡噴出口35から気泡36を噴出できることが確認できた。

【0056】

<実施例4>

上記実施例1の(7)の工程のエマルジョンマスクの形状を変えることで、流路7を含 50

む気泡噴出チップ 1 を作製した。図 1 3 (1) は実施例 4 で作製した気泡噴出チップ 1 の写真で、図 1 3 (2) は気泡噴出部付近を拡大した写真である。気泡噴出口 3 5 の大きさは約 $50\ \mu\text{m}$ 、電極 3 1 の高さは $25\ \mu\text{m}$ 、流路 7 の高さは $50\ \mu\text{m}$ 及び幅は $100\ \mu\text{m}$ であった。

【 0 0 5 7 】

〔局所アブレーション装置及びインジェクション装置の作製及び気泡噴出実験〕

<実施例 5>

実施例 1 で作製した気泡噴出チップ 1 に換え、実施例 4 で作製した気泡噴出チップ 1 を用いた以外は、実施例 3 と同様の装置を用いて局所アブレーション装置及びインジェクション装置を作製し、気泡噴出実験を行った。

10

【 0 0 5 8 】

図 1 4 は、ハイスピードカメラで気泡 3 6 の発生を撮影した写真である。写真から明らかなように、実施例 4 で作製した気泡噴出チップ 1 を用いることで、気泡噴出口 3 5 から気泡 3 6 を噴出できること、及び噴出した気泡 3 6 が加工対象物設置流路 7 2 に到達したことが確認できた。

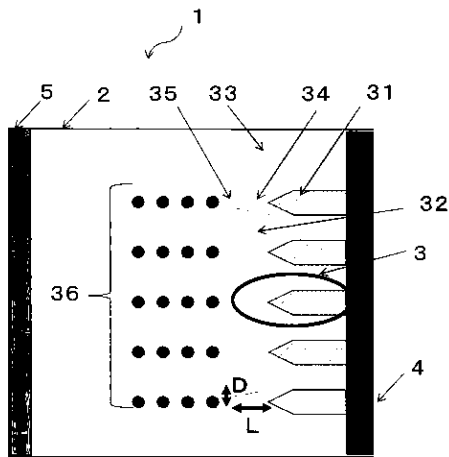
【符号の説明】

【 0 0 5 9 】

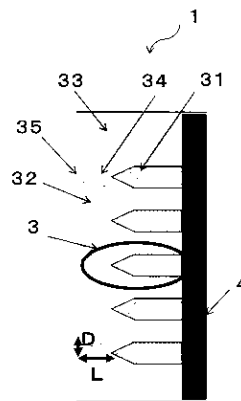
1 …気泡噴出チップ 1、2 …基板、3 …気泡噴出部、4 …通電部、5 …対向電極、6 …局所アブレーション装置、7 …インジェクション溶液流路、8 …第 1 インジェクション溶液流路、9 …第 2 インジェクション溶液流路、3 1 …電極、3 2 …延伸部、3 3 …絶縁部、3 4 …空隙、3 5 …気泡噴出口、3 6 …気泡、3 7 …絶縁層、3 8 …アシスト流路、3 9 …ポンプ接続部、6 1 …一般商用交流電源装置、6 2 …電線、6 3 …無誘導抵抗、6 4 …電圧増幅回路、7 1 …絶縁壁、7 2 …加工対象物設置流路、8 1 …孔

20

【図 1】

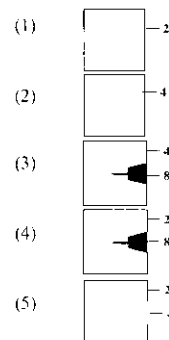


【図 2】

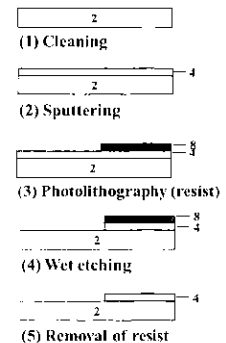


【図 3 - 1】

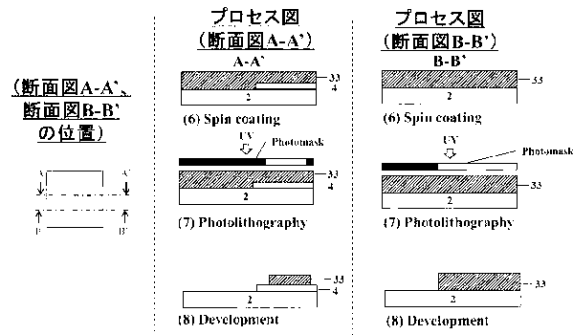
プロセス図(上から見た図)



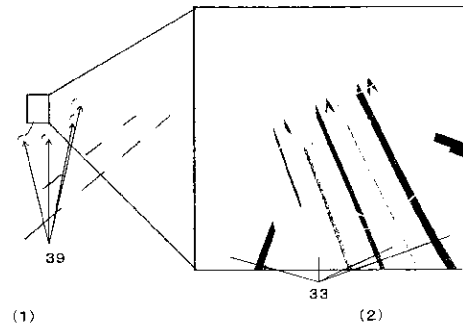
プロセス図(側面図)



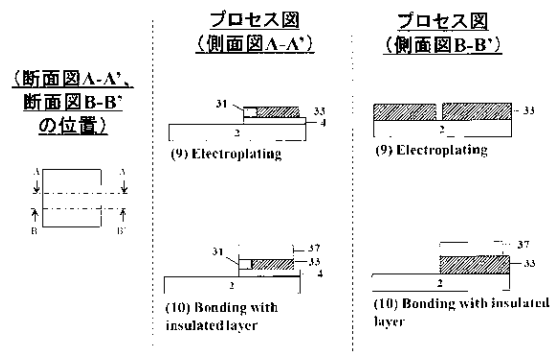
【図 3-2】



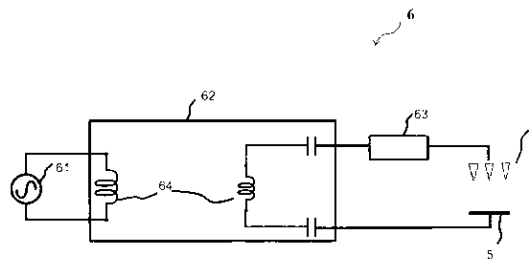
【図 4】



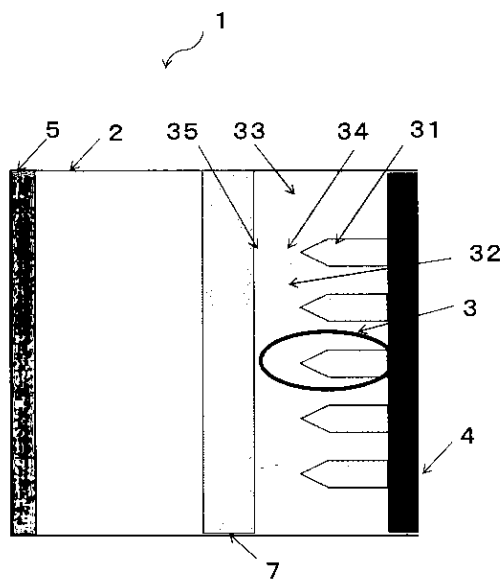
【図 3-3】



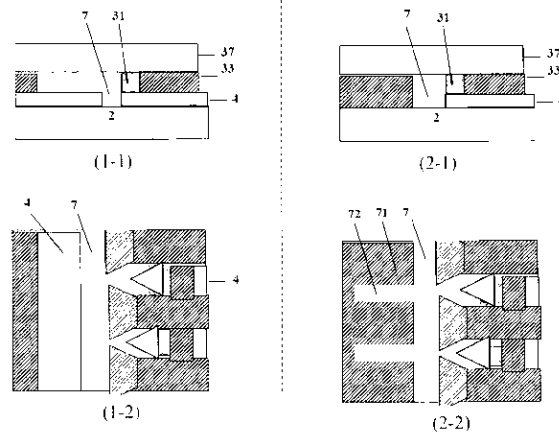
【図 5】



【図 6】

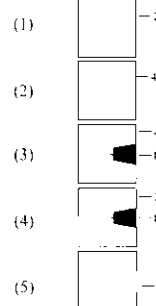


【図 7】

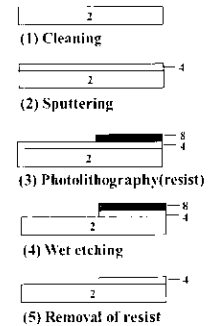


【図 8-1】

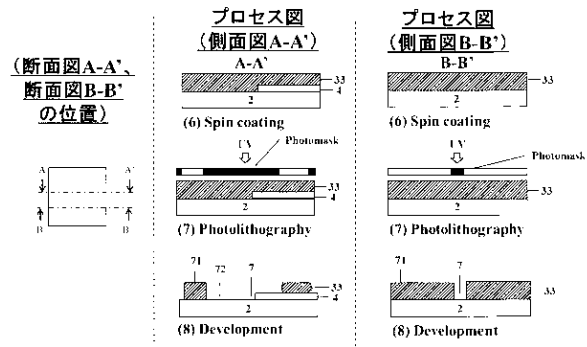
プロセス図(上から見た図)



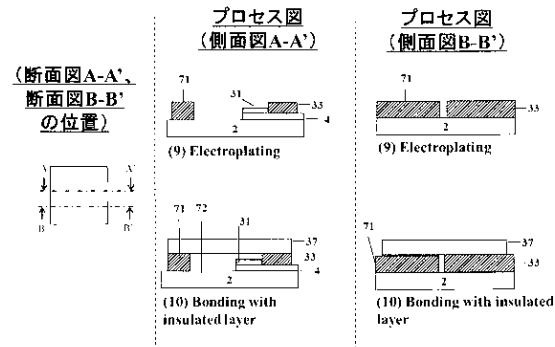
プロセス図(側面図)



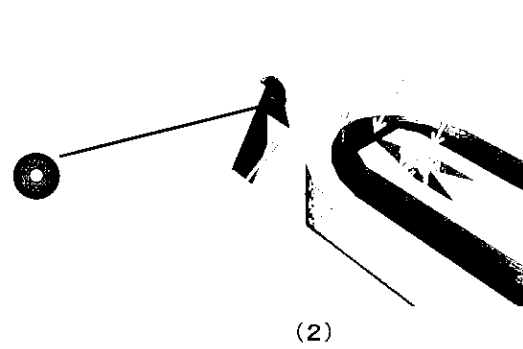
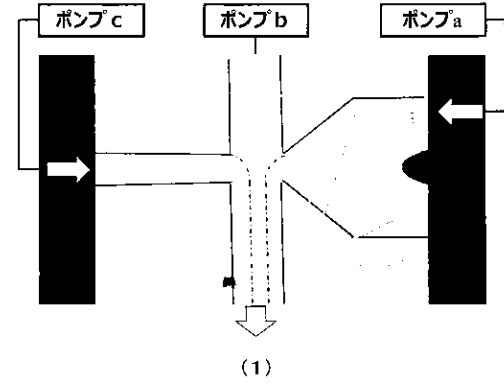
【図 8-2】



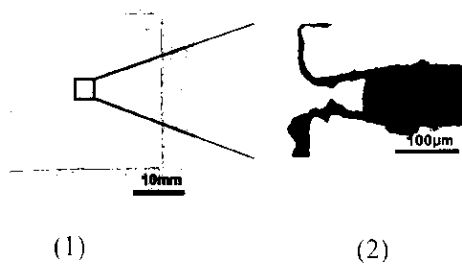
【図 8-3】



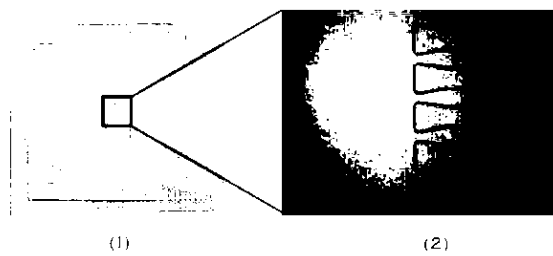
【図 9】



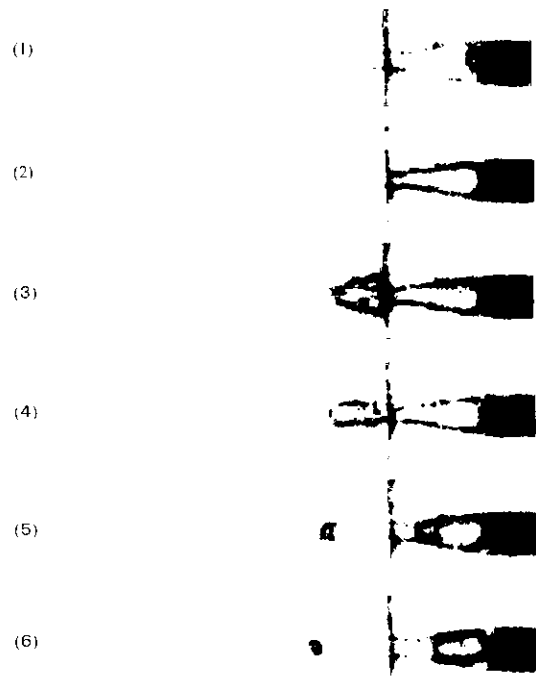
【図 10】



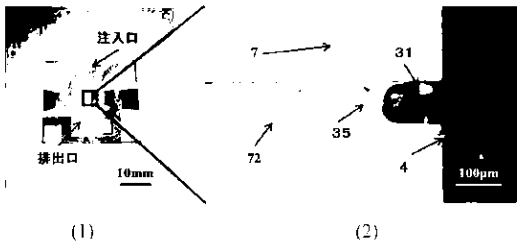
【図 11】



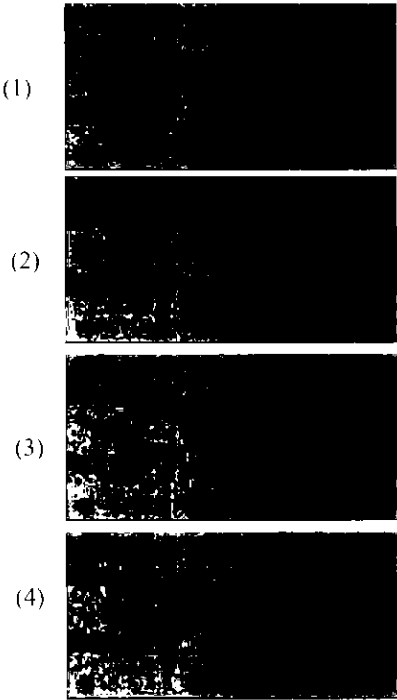
【図 12】



【図 1 3】



【図 1 4】



フロントページの続き

審査官 白井 美香保

- (56)参考文献 特表2008-509709 (JP, A)
特表2006-508663 (JP, A)
特開2010-022360 (JP, A)
特開2007-090135 (JP, A)
特表2010-506136 (JP, A)
国際公開第2013/129657 (WO, A1)
山西陽子, 「微細気泡の気液界面による薬剤・細胞輸送」, 芝浦工業大学2013年度特別教育・研究報告集, 2014年 6月30日, pp.59-62
日本機械学会誌, 2014年 7月, vol.117 no.1148, pp.28-30
第61回応用物理学会春季学術講演会 講演予稿集, 2014年 3月, p.08-148, 19p-F2-11
Local ablation of a single cell by micro/nano bubble, Proceedings of the 2012 JSME Conference on Robotics and Mechatronics, 2012年, pp.1A2-V05(1)-1A2-V05(4)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C12M 1/00-3/10
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)
CPlus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)
PubMed
Cinii