(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号

特許第6385453号
(P6385453)

(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 I		
C12M	1/00	(2006.01)	C12M	1/00	A
C12N	15/89	(2006.01)	C12N	15/89	Z

請求項の数 7　(全 18 頁)

(21)出願番号	特願2016-557770 (P2016-557770)
(86)(22)出願日	平成27年11月4日 (2015.11.4)
(86)国際出願番号	PCT/JP2015/080998
(87)国際公開番号	WO2016/072408
(87)国際公開日	平成28年5月12日 (2016.5.12)
審査請求日	平成29年3月8日 (2017.3.8)
(31)優先権主張番号	特願2014-226699 (P2014-226699)
(32)優先日	平成26年11月7日 (2014.11.7)
(33)優先権主張国	日本国(JP)

(73)特許権者　503360115
国立研究開発法人科学技術振興機構
埼玉県川口市本町四丁目１番８号
(74)代理人　100167689
弁理士　松本　征二
(72)発明者　山西　陽子
福岡県福岡市東区箱崎六丁目１０番１号
国立大学法人九州大学内
(72)発明者　高橋　和基
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　小見　駿
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】気泡噴出部材、気液噴出部材、局所アブレーション装置及び局所インジェクション装置

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

気泡噴出部材および外側外郭部を含み、

前記気泡噴出部材は、

導電材料で形成された芯材、

絶縁材料で形成され、前記芯材の先端より延伸した延伸部を含み、且つ前記芯材に少なくとも一部が密着して芯材を覆う外郭部、及び、

前記延伸部及び前記芯材の先端との間に形成され且つ気泡噴出口を有する空隙、を含み、

前記延伸部の先端に、他の延伸部より肉厚の肉厚部が形成され、

前記外側外郭部は、

前記気泡噴出部材の外郭部の外側に形成され、前記外郭部との間に空間を有するように前記外郭部から離間した位置に形成され、

前記外側外郭部と前記気泡噴出部材とが、相対移動が可能となるように形成されていることを特徴とする気液噴出部材。

【請求項２】

前記外側外郭部の端部が、伸縮部材を介して前記気泡噴出部材に接続していることを特徴とする請求項１に記載の気液噴出部材。

【請求項３】

前記外側外郭部と前記気泡噴出部材が相対移動する際のガイドの役割をする狭窄部が、

前記外側外郭部に形成されていることを特徴とする請求項１または２に記載の気液噴出部材。
【請求項４】
前記気液噴出部材の芯材とで一対の電極を構成する対向電極を更に含み、
前記対向電極が、前記外郭部の外面又は前記外側外郭部の内面に形成されていることを特徴とする請求項１～３の何れか一項に記載の気液噴出部材。
【請求項５】
前記外側外郭部の先端部分が、他の外側外郭部より肉厚に形成されていることを特徴とする請求項１～４の何れか一項に記載の気液噴出部材。
【請求項６】
請求項１～５の何れか一項に記載の気液噴出部材を含む局所アブレーション装置。
【請求項７】
請求項１～５の何れか一項に記載の気液噴出部材を含む局所インジェクション装置。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、気泡噴出部材、気液噴出部材、局所アブレーション装置及び局所インジェクション装置に関する。特に、従来の気泡噴出部材の先端を肉厚加工することで気泡噴出口を小さくし且つ高電圧を印加しても破損し難い気泡噴出部材、及び気泡噴出部材と相対移動が可能な外側外郭部を形成することで加工対象物を加工する際の気泡噴出部材の位置を容易に調整できる気液噴出部材、気泡噴出部材又は気液噴出部材を含む局所アブレーション装置、並びに気液噴出部材を含む局所インジェクション装置に関する。
【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」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。
【０００３】
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、（１）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く、特に液相中の生体材料加工においては熱による切断面のダメージが大きい、（２）タンパク質の変性やアミド結合の寸断により、再結合や再生が困難である、（３）また持続的な加工においてはプローブへの熱変性タンパク質等の吸着や熱により発生する気泡の吸着によって、切開面の観察環境は著しく悪化し、高分解性加工は困難である、という問題があった。
【０００４】
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で切断面周囲組織の熱の影響が存在し、特に液相中の対象物の加工においては加工時に発生する熱による気泡等の発生により持続的加工が困難である等の問題があった。
【０００５】
一方、細胞等への核酸物質等のインジェクション物質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、「局所インジェクション」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。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る等の問題があった。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る等の問題があった。更に、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等の問題があった。

【０００６】

上記問題点を解決するため、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）できることを新たに見出した。更に、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新たに見出し、特許出願を行っている（特許文献１参照）。

【先行技術文献】

【特許文献】

【０００７】

【特許文献１】特許第５５２６３４５号

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【０００８】

特許文献１に記載されている気泡噴出部材を用いて局所アブレーションを行う場合、加工対象物が細胞等、柔らかい物の場合には局所アブレーションをすることができる。一方、比較的固い加工対象物を局所アブレーションする場合、気泡の噴出速度を速くして衝突エネルギーを上げる為、気泡噴出部材に高電圧を印加する必要がある。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に高電圧を印加すると、気泡噴出部材の先端部分が破損してしまうという新たな問題が発生した。

【０００９】

また、加工対象物を局所アブレーションする際には、顕微鏡観察下で気泡噴出部材の気泡噴出口を観察しながら加工対象物との位置関係を調整する必要がある。しかしながら、気泡噴出部材はガラス等を引き切って作成することから気泡噴出口は鋭利な形状となっており、局所インジェクションをする際に加工対象物を傷つけてしまうという新たな問題が発生した。

【００１０】

更に、特許文献１に記載されている気液噴出部材は、気泡噴出部材に嵌めた位置決めワッシャに外側外郭部を外挿していることから、気泡噴出部材の気泡噴出口と外側外郭部先端との距離を変えることはできない。そのため、噴出したインジェクション物質を含む液体が界面に吸着した気泡（以下、「気液」と記載することがある。）が加工対象物に到達するまでにエネルギーを損失し、加工対象物によっては、気液が加工対象物に跳ね返されてしまうという新たな問題が発生した。そのため、気泡噴出部材に印加する電圧を高くして気液の衝突エネルギーを大きくする必要があるが、上記のとおり、高電圧を印加すると、気泡噴出部材の先端部分が破損してしまうという新たな問題が発生した。

【００１１】

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、（１）絶縁材料を引き切って作成した延伸部の先端を肉厚にすることで、気泡噴出部材に高電圧を印加しても先端部分が破損しないこと、（２）先端部分が肉厚となるため、加工対象物を突き刺して破損し難くなること、（３）先端部分を肉厚に加工する際に、気泡

噴出口の口径を小さくできるので、先端部分が破損することなく加工対象物をより微細加工できること、（４）気泡噴出部材と外側外郭部とが相対移動できるように気液噴出部材を作製することで、局所アブレーション又は局所インジェクションする際の気泡噴出部材と加工対象物の位置調整が容易になること（５）そして、外側外郭部を加工対象物に押し当てることでインジェクション物質を含む溶液が外側外郭部から外に漏れだすことを防止でき、その状態で気泡噴出部材と加工対象物の位置関係を調整できる。そのため、本発明の気液噴出部材を含んだ局所アブレーション装置又は局所インジェクション装置は大気中でも使用することができ、例えば、針なし注射装置へ応用が可能であること、を新たに見出した。

【００１２】

すなわち、本発明の目的は、気泡噴出部材、気液噴出部材、局所アブレーション装置及び局所インジェクション装置を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【００１３】

本発明は、以下に示す、気泡噴出部材、気液噴出部材、局所アブレーション装置及び局所インジェクション装置に関する。

【００１４】

（１）導電材料で形成された芯材、

絶縁材料で形成され、前記芯材の先端より延伸した延伸部を含み、且つ前記芯材に少なくとも一部が密着して芯材を覆う外郭部、及び、

前記延伸部及び前記芯材の先端との間に形成され且つ気泡噴出口を有する空隙、

を含む気泡噴出部材において、

前記延伸部の先端に、他の延伸部より肉厚の肉厚部が形成されていることを特徴とする気泡噴出部材。

（２）上記（１）に記載の気泡噴出部材、及び、

前記気泡噴出部材の外郭部の外側に形成され、前記外郭部との間に空間を有するように前記外郭部から離間した位置に形成した外側外郭部、

を含むことを特徴とする気液噴出部材。

（３）前記外側外郭部と前記気泡噴出部材とが、相対移動が可能となるように形成されていることを特徴とする上記（２）に記載の気液噴出部材。

（４）前記外側外郭部の端部が、伸縮部材を介して前記気泡噴出部材に接続していることを特徴とする上記（３）に記載の気液噴出部材。

（５）前記外側外郭部と前記気泡噴出部材が相対移動する際のガイドの役割をする狭窄部が、前記外側外郭部に形成されていることを特徴とする上記（２）～（４）の何れか一に記載の気液噴出部材。

（６）前記気液噴出部材の芯材とで一対の電極を構成する対向電極を更に含み、

前記対向電極が、前記外郭部の外面又は前記外側外郭部の内面に形成されていることを特徴とする上記（２）～（５）の何れか一に記載の気液噴出部材。

（７）前記外側外郭部の先端部分が、他の外側外郭部より肉厚に形成されていることを特徴とする上記（２）～（６）の何れか一に記載の気液噴出部材。

（８）上記（１）に記載の気泡噴出部材、又は上記（２）～（７）の何れか一に記載の気液噴出部材を含む局所アブレーション装置。

（９）上記（２）～（７）の何れか一に記載の気液噴出部材を含む局所インジェクション装置。

【発明の効果】

【００１５】

本発明の気泡噴出部材は先端部分が肉厚となっているので、本発明の気泡噴出部材又は気液噴出部材を用いた局所アブレーション装置は、高電圧を印加しても先端部分が破損し難くなる。したがって、噴出する気泡の衝突エネルギーを大きくすることができるので、より固い加工対象物であっても局所アブレーションすることができる。また、気泡噴出部

材の気泡噴出口は、肉厚加工の際に小さくできるので、加工対象物を微細加工することができる。更に、本発明の気泡噴出部材は、先端を平面状にできるので局所インジェクション時に加工対象物を損傷し難い。

【００１６】

本発明の気液噴出部材は、気泡噴出部材と外側外郭部とが相対移動できるように作製されている。したがって、本発明の気液噴出部材を用いた局所アブレーション装置又は局所インジェクション装置を用いて加工対象物を局所アブレーション又は局所インジェクションする場合、加工対象物と気泡噴出口の位置調整を容易に行うことができる。更に、位置調整の際には、外側外郭部を加工対象物に押し当てることで導電性溶液又はインジェクション物質を含む溶液が外に漏れだすことを防止でき、その状態で気泡噴出部材と加工対象物の位置関係を調整できるので、本発明の局所アブレーション装置又は局所インジェクション装置は大気中でも使用することができる。したがって、例えば、針なし注射装置として用いることができる。

【図面の簡単な説明】

【００１７】

【図１】図１は、本発明の気泡噴出部材１の作製方法の一例を示す図である。

【図２】図２は、本発明の気液噴出部材１０の実施形態の一例の作製方法を示す図である。

【図３】図３は、外側外郭部１３の他の作製手順を示す図である。

【図４】図４は、局所アブレーション装置２０の全体構成を示す図である。

【図５】図５は、本発明の局所インジェクション装置の実施形態の一例を示す図である。

【図６】図６（１）は、図面代用写真で、実施例１で作製した気泡噴出部材１の先端部分の写真である。図６（２）は、図面代用写真で、比較例１で作製した気泡噴出部材１の先端部分の写真である

【図７】図７は、図面代用写真で、実施例２で作製した局所インジェクション装置の全体写真、並びに、気液噴出部材１０の先端部分及び伸縮部分を拡大した写真である。

【図８】図８は、図面代用写真で、図８（１）は実施例２で作製した局所インジェクション装置の先端を加工対象物に押し当てる前の写真で、図８（２）は加工対象物に先端を押し付けた後の写真である。

【図９】図９は、図面代用写真で、実施例３で作製した局所インジェクション装置の全体写真、並びに、気液噴出部材１０の先端部分及び伸縮部分を拡大した写真である。

【図１０】図１０は、図面代用写真で、図１０（１）は実施例４において電力を印加する前の気泡噴出部材１の先端部分の写真、図１０（２）は電力の印加により破損した直後の先端部分の写真である。また、図１０（３）は比較例３において電力を印加する前の気泡噴出部材１の先端部分の写真、図１０（４）は電力の印加により破損した直後の先端部分の写真である。

【図１１】図１１は、図面代用写真で、図１１（１）は、実施例５においてアフリカツメガエル未受精卵に気泡を噴出した直後の写真である。図１１（２）は、比較例４においてアフリカツメガエル未受精卵に気泡を噴出した直後の写真である。

【図１２】図１２は、図面代用写真で、図１２（１）～（４）は実施例６において、アフリカツメガエル未受精卵に局所インジェクションを行った際の時系列の写真である。図１２（５）～（８）は比較例５において、アフリカツメガエル未受精卵に局所インジェクションを行った際の時系列の写真である。

【図１３】図１３は、実施例６の気泡を衝突させて１０秒経過後の未受精卵に、水銀ランプを照射してＣＣＤカメラで撮影した写真である。

【図１４】図１４は、実施例７で局所インジェクションを行った後のトマトの写真である。

【図１５】図１５は、図面代用写真で、局所インジェクション後のカイワレ大根の葉の暗視野での写真である。

【図１６】図１６は、図面代用写真で、局所インジェクション後の鶏ささみ肉の暗視野で

の写真である。
【図１７】図１７は、図面代用写真で、局所インジェクション後の玄米の暗視野での写真である。
【図１８】図１８は、図面代用写真で、本発明の局所インジェクション装置の他の実施形態で、実施例１１で作製した局所インジェクション装置の外観を示す写真である。
【図１９】図１９は、図面代用写真で、本発明の実施例８で作製した局所インジェクション装置の先端部分の動きを示す写真である。
【発明を実施するための形態】
【００１８】
図１は本発明の気泡噴出部材１の作製方法の一例を示す図である。本発明の気泡噴出部材１は以下の手順により形成することができる。
（１）中空の絶縁材料２を準備し、前記中空の絶縁材料２に導電材料で形成された芯材３を挿入し、熱をかけて引き切る。
（２）絶縁材料２と芯材３の粘弾性の差により、芯材３の先端から絶縁材料２が更に延伸した延伸部４を含む外郭部５が、芯材３の外周に密着するように形成される。
（３）延伸部４の先端に加熱手段６を配置し、延伸部４に押し当てる。
（４）前記延伸部４の先端に肉厚部４１が形成され、前記芯材３の先端部分と延伸部４で形成され且つ気泡噴出口８を有した空隙７を含む気泡噴出部材１を作製することができる。
（５）なお、局所アブレーション装置、又は局所インジェクション装置の電極に接続し易くするため、芯材３の周囲を導電性材料９で充填し、周りを絶縁材料９１で被覆してもよい。
【００１９】
絶縁材料２としては、電気を絶縁するものであれば特に限定はなく、例えば、ガラス、マイカ、石英、窒化ケイ素、酸化ケイ素、セラミック、アルミナ、等の無機系絶縁材料、シリコーンゴム、エチレンプロピレンゴム等ゴム材料、エチレン酢酸ビニル共重合体樹脂、シラン変性オレフィン樹脂、エポキシ樹脂、ポリエステル樹脂、塩化ビニル系樹脂、アクリル樹脂、メラミン樹脂、フェノール樹脂、ポリウレタン樹脂、ポリスチレン系樹脂、弗素系樹脂、シリコン系樹脂、ポリサルファイド系樹脂、ポリアミド樹脂、ポリイミド樹脂、ポリエチレン、ポリプロピレン、セルロース系樹脂、ＵＶ硬化樹脂等の絶縁性樹脂が挙げられる。
【００２０】
芯材３を形成する導電材料としては、電気を通す電極として使用できるものであれば特に制限はないが、好ましくは金属で、例えば、金、銀、銅、アルミニウム等、これらにスズ、マグネシウム、クロム、ニッケル、ジルコニウム、鉄、ケイ素などを少量加えた合金等が挙げられる。上記のとおり、空隙７は、芯材３の先端及び該先端から絶縁材料２が更に延伸した延伸部５とで形成されることから、絶縁材料２の粘弾性が芯材３の粘弾性より大きくなるように適宜材料を組み合わせればよく、例えば、絶縁材料２及び芯材３の組み合わせとしては、ガラス及び銅、ガラス及びプラチナ、ガラス及びアルミニウム、ガラス及び金、ガラス及び銀、ガラス及びニッケル、エポキシ樹脂及び銅、エポキシ樹脂及びプラチナ、エポキシ樹脂及びアルミニウム、エポキシ樹脂及び金、エポキシ樹脂及び銀、エポキシ樹脂及びニッケル、アクリル樹脂及び銅、アクリル樹脂及びプラチナ、アクリル樹脂及びアルミニウム、アクリル樹脂及び金、アクリル樹脂及び銀、アクリル樹脂及びニッケル、シリコン樹脂及び銅、シリコン樹脂及びプラチナ、シリコン樹脂及びアルミニウム、シリコン樹脂及び金、シリコン樹脂及び銀、シリコン樹脂及びニッケル等が挙げられる。
【００２１】
なお、気泡噴出部材１を用いて気泡を噴出する際には、電気を出力すると空隙７で一端形成された気泡が引き千切られるように気泡噴出口８から噴出するので、気泡噴出部材１に外部から気体を供給する必要は無い。したがって、図１に示すように、本発明の芯材３

は導電材料が延伸した中実な状態で形成され、芯材３の内部には空気を供給する管等は形成されていない。また、絶縁材料２と芯材３との粘弾性の差により、気泡噴出部材１の先端付近において、外郭部５の少なくとも一部は芯材３に密着するようになっている。

【００２２】

噴出する気泡の大きさは、気泡噴出口８の直径を変えることで調整することができる。なお、局所アブレーション装置又は局所インジェクション装置を使用する際には、気泡噴出部材１の空隙７に毛管現象により電気を通す溶液（以下、「導電性溶液」と記載することがある。）を充填する必要がある。そのため、気泡噴出口８の直径は、毛管現象により導電性溶液が通過できる大きさである必要があり、約１００ｎｍ以上が好ましく、２００ｎｍ以上がより好ましく、５００ｎｍ以上が特に好ましい。一方、上限は、気泡を噴出することができ、且つ、加工対象物にダメージを与えない範囲であれば特に制限は無いが、細胞のアブレーションや動物等へのインジェクションに用いる場合は、１００μｍ以下が好ましく、５０μｍ以下がより好ましく、１５μｍ以下が特に好ましい。気泡噴出口８の直径は、加熱する際の温度及び引き切るスピード、及び加熱手段６の押圧具合によって調整することができる。

【００２３】

加熱手段６は、絶縁材料２の融点以上の温度に加熱し、延伸部４の先端部分を溶融しながら押圧することで肉厚加工できるものであれば特に制限は無い。例えば、マイクロフォージ等の公知の装置を用いればよい。なお、従来の気泡噴出部材の延伸部４は、絶縁材料２を引き切ったものをそのまま用いていた。そのため、気泡噴出口８を小さくすればするほど、気泡噴出口８付近の延伸部４の厚さが薄くなり、加工対象物を傷つけやすかった。更に、噴出する気泡の指向性を向上するため、延伸部全体がテーパー状となるようなスピードで引き切っていたことからも、延伸部が薄肉となっていた。

【００２４】

一方、本発明の気泡噴出部材１の気泡噴出口８の大きさは、加熱手段６で延伸部４の先端部分を溶融して調整することができる。したがって、芯材３及び絶縁材料２は、従来の気泡噴出部材１より大きいものを使用することができる。また、（１）所望とする気泡噴出口８より大きい状態、つまり、芯材３は引っ張ることで引き切られるが、延伸部４は粘弾性の差により引き切る前の肉厚の状態で引っ張ることを中止し、（２）延伸した部分を切断することで開口部を形成し、（３）次いで、加熱手段６で開口部を溶融し、肉厚部を形成しながら気泡噴出口８を形成することで、（４）延伸部４の厚みをより確保しつつ、気泡噴出口８を小さくすることができる。したがって、従来の気泡噴出部材１の気泡噴出口８と同じ大きさの気泡噴出口８を有する気泡噴出部材１を作製する場合、本発明の気泡噴出部材１は、延伸部４をより厚くすることができ、耐久性を向上することができる。なお、マイクロフォージで肉厚部を形成する際に、延伸部４の先端部分を肉厚にすれば破損し難くなるので肉厚部の形状について特に制限は無いが、延伸部４の内側が先端に向けてテーパー状となるように肉厚にすると、噴出する気泡の指向性を高めることができるので好ましい。

【００２５】

なお、加工対象物を局所アブレーションする際に、加工対象物を傷つけないようにするためには、気泡噴出口８部分の延伸部４を加熱して押し込むことで肉厚にするとともに、加工対象物に接触する面が平面となるように加熱手段６で加工することが望ましい。

【００２６】

図２は、本発明の気液噴出部材１０の実施形態の一例の作製方法を示す図である。図２に示す気液噴出部材１０は、以下の手順により形成することができる。

（１）図１に示す中空の絶縁材料２より内径の大きな絶縁材料１１を準備し、熱をかけて引っ張る。

（２）引き切ることで、先端の尖った管１２を作製する。

（３）管１２の先端部分を、加熱手段６を用いて加熱する。

（４）管１２の先端部分カットすることで、外側外郭部１３を作製する。なお、図示はし

ていないが、先端部分をカットするとともに、気泡噴出部材１の延伸部４の先端部分と同様の手順により、外側外郭部１３の先端部分に肉厚部を形成してもよい。
（５）外側外郭部１３と気泡噴出部材１が相対移動する際に、気泡噴出部材１をガイドするための狭窄部を形成するために、加熱手段６を外側外郭部１３に押し当てる。
（６）外側外郭部１３に狭窄部１４を形成する。
（７）第１リング１５を埋め込んだワッシャ１６を気泡噴出部材１にはめ込む。
（８）外側外郭部１３を気泡噴出部材１の外側に挿入する。
（９）第１リング１５と外側外郭部１３の端部を伸縮部材１７で接続することで、気液噴出部材１０を作製する。
なお、上記工程において、狭窄部１４は必要に応じて形成すればよく、狭窄部１４の形成は必須ではない。

【００２７】
絶縁材料１１は、上記絶縁材料２と同じ材料を用いればよい。狭窄部１４を形成する場合は、気泡噴出部材１が移動する際の位置ズレを抑えるため、少なくとも３か所に対称形となるように形成することが好ましい。第１リング１５も、絶縁材料２と同様の材料を用いればよい。ワッシャ１６は、ポリマーフィルム、シリコン、ゴム、又はＰＤＭＳ（ポリジメチルシロキサン）を使用したソフトリソグラフィー・３次元光造形法等の方法により作製したものを使用すればよい。伸縮部材１７は、第１リング１５と外側外郭部１３の端部に接続することができ、且つ伸縮することで気泡噴出部材１と外側外郭部１３を相対移動することができれば特に制限は無く、例えば、ＰＤＭＳシート、ゴム、バネ等が挙げられる。伸縮部材１７は、加工対象物に当接していない状態では、外側外郭部１３が気泡噴出口８より前方に位置するように押出す方向に力がかかっていることが望ましいので、伸縮部材１７は押圧を止めると元の形状に戻る材料で形成することが好ましい。

【００２８】
図３は、外側外郭部１３の他の作製手順を示す図である。図３に示す外側外郭部１３は、絶縁材料１１に熱をかけて引っ張り、加熱部分が気泡噴出部材１の外径よりやや大きくなった状態で止めることで、作製することができる。図２の（８）、（９）の外側外郭部１３として、図３に示す外側外郭部１３を用いることで、図２とは異なる実施形態の気液噴出部材１０を作製することができる。加工対象物が細胞等の小さいものの場合は、図２に示す実施形態の気液噴出部材１０を用いればよい。また、ヒトなどの動物に局所インジェクションする場合、外側外郭部１３の開口部分が小さいとヒトや動物を傷つける可能性があるので、図３に示すような開口部分の大きな外側外郭部１３を含む気液噴出部材１０を用いればよい。

【００２９】
なお、図２に示す作製手順では、第１リング１５と外側外郭部１３を伸縮部材１７で接続しているが、気泡噴出部材１と外側外郭部１３とが相対移動でき、且つ、気泡噴出部材１と外側外郭部１３の間に充填した導電性溶液が漏れないような構造であれば特に制限は無い。例えば、外側外郭部１３の端部に第２リングを取り付け、第１リング１５と第２リングとを伸縮部材１７で接続してもよいし、第１リング１５を形成せず、伸縮部材１７の一方の端部を外側外郭部１３の端部に接着し、伸縮部材１７の他方の端部を気泡噴出部材１に接着してもよい。また、伸縮部材１７は、単一の材料に限定されず材料を組み合わせて形成してもよい。例えば、バネ等の隙間がある伸縮可能な材料を第１リング１５と外側外郭部１３の端部に嵌めて接着剤で固定した後、バネ等の周りを導電性溶液が漏れないように薄膜フィルムで密閉することで伸縮部材１７を形成してもよい。

【００３０】
なお、本発明の「外側外郭部と前記気泡噴出部材とが、相対移動が可能となるように形成されている」とは、図２及び図３に示している形状が変化しない硬質の外側外郭部１３を、伸縮部材１７を介して気泡噴出部材１と相対移動が可能となるように接続している例に限定されず、外側外郭部１３の端部と気泡噴出部材１の気泡噴出口８の位置関係を変えることができる構造であれば特に制限はない。例えば、外側外郭部１３全体を樹脂等の材

料で形成し、その一部を蛇腹状にすることで外側外郭部１３の一部を伸縮し易い構造にしてもよい。また、外側外郭部１３全体を可撓性のある材料で形成し、加工対象物に押し付けることで外側外郭部１３が外側に膨らみ、気泡噴出部材１の位置を調整できるようにしてもよい。

【００３１】

なお、上記した気液噴出部材１０は、気泡噴出部材１と外側外郭部１３とが、相対移動が可能となるように形成したものであるが、本発明の気泡噴出部材１は従来の気泡噴出部材と比較して優れた効果を示すものであることから、公知の気液噴出部材の気泡噴出部材のみを本発明の気泡噴出部材１に置き換えてもよい。その場合は、例えば、ポリマーフィルムやゴムワッシャ、ＰＤＭＳ（ポリジメチルシロキサン）を使用したソフトリソグラフィー・３次元光造形法等の方法により作製した位置決めワッシャを図１に示す気泡噴出部材１に嵌め、図２（５）又は（６）に示す外側外郭部１３をワッシャに外挿すればよい。

【００３２】

図４は、局所アブレーション装置２０の全体構成を示す図である。電気出力手段は、一般商用交流電源装置２１、並びに気泡噴出部材１又は気液噴出部材１０の芯材３（アクティブ電極）と対向電極２２とで回路を形成するための電線２３、を少なくとも含み、必要に応じて、無誘導抵抗２４、電圧増幅回路２５、図示しないＤＩＯ（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２４やＤＩＯ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。

【００３３】

なお、対向電極２２は、気泡噴出部材１又は気液噴出部材１０とは別体として形成してもよいが、気液噴出部材１０を用いる場合は、外郭部５の外面又は外側外郭部１３の内面に配置してもよい。対向電極２２を気液噴出部材１０に設ける場合、対向電極２２は芯材３と回路が形成できればよいので、気泡噴出部材１の外郭部５と外側外郭部１３の間に充填される導電性溶液と接触する場所であれば特に制限は無い。対向電極２２は、芯材３で例示した材料を使えばよい。

【００３４】

電気出力手段から芯材３及び対向電極２２に出力する電流、電圧及び周波数は、加工対象物を局所アブレーション、局所インジェクションすることができ、気泡噴出部材１、気液噴出部材１０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、１ｍＡ～１０Ａが好ましく、１ｍＡ～８０ｍＡがより好ましく、２ｍＡ～７５ｍＡが特に好ましい。電流が１ｍＡより小さいと気泡をうまく生成できないことがあり、１０Ａ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、０．１Ｖ～１００ｋＶが好ましく、１００Ｖ～１８００Ｖがより好ましく、２００Ｖ～１２００Ｖが特に好ましい。電圧が０．１Ｖより小さいと気泡生成が困難となり、１００ｋＶより大きいと芯材３の摩耗や気泡噴出部材１が破損する恐れがあり好ましくない。周波数は、０．１ｋＨｚ～１０ＧＨｚが好ましく、１ｋＨｚ～１ＧＨｚがより好ましく、５ｋＨｚ～１ＭＨｚが更に好ましく、１０ｋＨｚ～６０ｋＨｚが特に好ましい。周波数が０．１ｋＨｚより小さいと、加工対象物に与える衝撃が大きく、また、気泡噴出部材１が破損する恐れがあり、１０ＧＨｚより大きいと気泡が生成できなくなる恐れがあり好ましくない。

【００３５】

局所アブレーション装置を使用する場合は導電性溶液に気泡噴出部材１又は気液噴出部材１０、及び対向電極２２を浸漬し、電圧を印加すればよい。加工対象物としては、気泡を衝突させることで孔をあけたり、切削できる物であれば特に制限は無い。例えば、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、卵細胞等などや、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、タンパク質等の有機結晶等が挙げられる。

【００３６】

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３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、気液噴出部材１０を用いて局所アブレーションを行う際に、気液噴出部材１０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局所インジェクション装置として使用することができる。

【００３７】

インジェクション物質は、気体、固体、液体を問わず、溶液に溶解及び／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、液体としては、ＤＮＡ、ＲＮＡ、タンパク質、アミノ酸等の生体分子を含有する溶液、薬剤溶液等が挙げられる。

【００３８】

図５は、本発明の局所インジェクション装置の実施形態の一例を示す図である。本発明の局所インジェクション装置も、従来と同様に導電性溶液に気液噴出部材１０を浸漬して用いることができる。しかしながら、本発明の気液噴出部材１０は、図５（１）に示すように、気液噴出部材１０の外側外郭部１３の内側の空間にインジェクション物質を含む溶液（以下、「インジェクション溶液」と記載することがある。）を充填し、加工対象物３０に当接することでインジェクション溶液が外に漏れないようにし、そして、図５（２）に示すように、気泡噴出部材１を押し込み、気泡噴出口８を局所インジェクションに適した位置に配置することができる。したがって、本発明の局所インジェクション装置は大気中で使用することができる。

【００３９】

更に、上記のとおり、気泡噴出部材１の延伸部４には肉厚部４１が形成されているので高電圧を印加することができることから、従来の細胞等の他、動物等への局所インジェクションに用いることができる。また、本発明の局所インジェクション装置は空気中で使用することができ、且つ、高電圧をかけることができるので、針なし注射装置として用いることもできる。特に、従来の注射針を用いる注射器は、針を刺される痛みに加え、針の使いまわしや使用済み針を誤って刺すことによるウィルス感染等の問題があるが、本発明の局所インジェクション装置を針なし注射装置として用いることで、上記の問題を解決することができる。

【００４０】

気液噴出部材１０の外側外郭部１３の内側の空間へのインジェクション溶液の充填は、インジェクション溶液に気液噴出部材１０の先端を浸漬して毛管現象により充填してもよいし、気泡噴出部材１と外側外郭部１３の間の空間に、チューブ等を接続して注入してもよい。

【００４１】

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】

【００４２】

〔気泡噴出部材１の作製〕

＜実施例１＞

マイクロピペット用ボロシリケイトガラス管（外径１．３７ｍｍ、内径０．９３ｍｍ、Ｄｒｕｍｍｏｎｄ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ　Ｃｏｍｐａｎｙ）に直径３０μｍのＣｕ線を挿入し、ガラスプラー（サッター社製、Ｐ－１０００ＩＶＦ）によって加熱しながら引き切ることで、ガラスをＣｕ線より延伸させた。次いで、マイクロフォージ（ＭＦ－９００

、株式会社ナリシゲ）を使用し、延伸したガラスの先端部分を溶融しながら押し込むことで肉厚部を形成し、本発明の気泡噴出部材１を作製した。図６（１）は実施例１で作製した気泡噴出部材１の先端部分の写真である。写真から明らかなように、延伸部４の内側が先端に向けてテーパー状に肉厚になっていることが確認できた。また、芯材３の直径は約３０μｍ、気泡噴出口８は直径約６μｍの円形状であった。

【００４３】

＜比較例１＞

延伸したガラスの先端部分を肉厚加工せず、引き切ったものを比較例１の気泡噴出部材とした。図６（２）は、比較例１で作製した気泡噴出部材１の先端部分の写真である。写真から明らかなように、延伸部４全体が薄肉で且つテーパー状に形成されていることを確認した。また、気泡噴出口８は直径約１４μｍの円形状であった。

【００４４】

〔局所インジェクション装置（注射装置）の作製〕

＜実施例２＞

（１）外側外郭部１３の作製

マイクロピペット用ボロシリケイトガラス管（外径２．０３ｍｍ、内径１．６８ｍｍ、Ｄｒｕｍｍｏｎｄ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ　Ｃｏｍｐａｎｙ）を、ガラスプラー（サッター社製、Ｐ－１０００ＩＶＦ）によって加熱しながら引き切った。引き切ったガラス管をマイクロフォージ（ＭＦ－９００、株式会社ナリシゲ）にセットし、先端を直径約１００μｍになるようにカットした。更に、先端から約３００μｍ後ろの位置にマイクロフォージを当接し、９０°間隔で４か所加熱して狭窄部１４を作製した。外側外郭部１３の先端部分の内径は、約１００μｍであった。

【００４５】

（２）局所インジェクション装置の組立

先ず、実施例１で作製した気泡噴出部材１を、Ａｇペースト（Ｈ２０Ｅ、株式会社理経）を用いて医療用電気メス（ＣｏｎＭｅｄ社製、７１４－Ｓ）に接続した。その後、ホットプレートで、１２０℃、１５分間加熱し、接続部を硬化させた。

次に、ＯＨＰフィルム（住友スリーエム株式会社）の上に真空脱泡を３０分間かけたＰＤＭＳ（溶剤：硬化剤＝２５：１）（東レ・ダウコーニング(株)）を塗布し、スピンコーターで４０００ｒｐｍ、２０秒間スピンコートした。その後、オーブンにて１２０℃、６０分間加熱硬化させた。

そして、マイクロピペット用ボロシリケイトガラス管（外径２．０３ｍｍ、内径１．６８ｍｍ、Ｄｒｕｍｍｏｎｄ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ　Ｃｏｍｐａｎｙ）を１．５ｃｍ程度にカットしたものに、シリコンチューブ（内径２ｍｍ、外径３ｍｍ）を２ｃｍほどに切ったものを被せ、更にシリコンチューブの中央に切れ目を入れ、切れ目の部分から気泡噴出部材１の根本まで挿入し、空気の漏れのないよう接着剤（スーパーＸ、セメダイン株式会社）で結合した。最後に、上記（１）で作製した外側外郭部１３を気泡噴出部材１に外挿し、上記１．５ｃｍ程度にカットしたガラス管の端部と外側外郭部１３の端部を約３ｍｍ程度離した位置で、先に作製した上記のＰＤＭＳシートをＯＨＰフィルムから剥がしてガラス管と外側外郭部１３の端部同士をラッピングして結合することで、実施例２の局所インジェクション装置を作製した。図７は、実施例２で作製した局所インジェクション装置の全体写真、並びに、気液噴出部材１０の先端部分及び伸縮部分を拡大した写真である。

【００４６】

また、図８は実施例２で作製した局所インジェクション装置を使用する際の先端部分の動きを示す写真である。図８（１）は実施例２で作製した局所インジェクション装置の先端を加工対象物に押し当てる前の写真で、図８（２）は加工対象物に先端を押し付けた後の写真である。図８に示すように、気泡噴出部材１と外側外郭部１３が相対移動し、加工対象物と気泡噴出口８の位置関係を調整できることが明らかとなった。

【００４７】

＜実施例３＞

（１）外側外郭部１３の作製

マイクロピペット用ボロシリケイトガラス管（外径２．０３ｍｍ、内径１．６８ｍｍ、Ｄｒｕｍｍｏｎｄ　Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ　Ｃｏｍｐａｎｙ）を、ガラスプラー（サッター社製、Ｐ－１０００ＩＶＦ）によって加熱しながら引き、中央にくびれ構造を作り、くびれ構造の両端を適度な長さにカットすることで外側外郭部１３を作製した。外側外郭部１３の内径は約１．６ｍｍであった。

【００４８】

（２）局所インジェクション装置の組立

次に、真空脱泡を３０分間かけたＰＤＭＳ（溶剤：硬化剤＝１０：１）（東レ・ダウコーニング(株)）を、約７ｃｍ×７ｃｍ×３ｃｍのプラスチック製のトレイに高さが３ｍｍ程になるように流し込み、さらに真空脱泡を２０分間かけた後に、９０℃のオーブンで２０分間ベークした。その後、硬化したＰＤＭＳをプラスチック容器から取り出し、穴径８ｍｍの生検トレパン（貝印（株））でくり抜き、更にその中心を穴径２ｍｍの生検トレパン（貝印（株））でくり抜いてリングスペーサーを作製した。

次に、実施例２の（２）の手順において、１．５ｃｍ程度にカットしたガラス管の端部に上記リングスペーサーを挿入し、外側外郭部１３を実施例３（１）で作製した外側外郭部１３の端部に上記リングスペーサーを挿入したものに代え、２つのリングスペーサーを約１ｃｍ程度離し、２つのリングスペーサーをＰＤＭＳシートでラッピングした以外は、実施例２と同様の手順で局所インジェクション装置を作製した。図９は、実施例３で作製した局所インジェクション装置の全体写真、並びに、気液噴出部材１０の先端部分及び伸縮部分を拡大した写真である。

【００４９】

＜比較例２＞

実施例２の気泡噴出部材１に代え、比較例１の気泡噴出部材を用いた以外は、実施例２と同様の手順で局所インジェクション装置を作製した。なお、気泡噴出口８を加工対象物に近付けるようにするため、気泡噴出口８と外側外郭部１３は、ほぼ同じ平面状になるように配置した。

【００５０】

〔気泡噴出部材１の先端の強度試験〕

＜実施例４＞

実施例３で作製した局所インジェクション装置の気液噴出部材１０及び銅板で作製した対向電極２２を、Ｓｔｅｉｎｂｅｒｇ溶液（ＮａＣｌ　３．４ｇ／Ｌ、ＫＣｌ　０．０５ｇ／Ｌ、$Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$　０．０８ｇ／Ｌ、$MgSo_4 \cdot 7H_2O$　０．２０５ｇ／Ｌ、ＨＥＰＥＳ　０．７１５ｇ／Ｌ、超純水　１Ｌ）に浸漬した。次いで、芯材３と対向電極２２に印加する電力を徐々に上げたところ、約８．８０ｍＡ、２１６０Ｖで気泡噴出部材１の先端部分が破損した。図１０（１）は電力を印加する前の気泡噴出部材１の先端部分の写真、図１０（２）は電力の印加により破損した直後の先端部分の写真である。図１０（２）の矢印は破損箇所を示しており、芯材３と外郭部５の境界付近で外郭部５が破損していた。

【００５１】

＜比較例３＞

実施例３の局所インジェクション装置に代え、比較例２の局所インジェクション装置を用いた以外は、実施例４と同様に電力を印加したところ、約５．３３ｍＡ、１５６０Ｖで気泡噴出部材１の先端部分が破損した。図１０（３）は電力を印加する前の気泡噴出部材１の先端部分の写真、図１０（４）は電力の印加により破損した直後の先端部分の写真である。図１０（４）の矢印は破損箇所を示しており、延伸部４の先端部分が破損していた。

【００５２】

以上の結果より、気泡噴出部材１の先端に肉厚部を形成することで、気泡噴出部材１に印加する電力を高くできることが明らかとなった。

【００５３】
〔局所インジェクション装置による加工対象物の損傷実験〕
＜実施例５＞
実施例２で作製した局所インジェクション装置の気泡噴出口８(口径６μｍ)を、顕微鏡下で観察しながら、ＰＤＭＳで作製した卵子把持具で固定したアフリカツメガエル未受精卵（以下、「未受精卵」と記載することがある。）に反対側から近付け、次いで、１．８ｍＡ，４４０Ｖの電力を印加した。図１１（１）は、電力を印加して気泡を噴出した直後の写真である。未受精卵に気泡を噴出すると、気泡の衝突エネルギーで未受精卵は気泡の進行方向に一端押し込まれるが、気泡の噴出を止めると反作用で未受精卵が気泡噴出口８側に押し戻されて気泡噴出口８に接触することがある。しかしながら、気泡噴出部材１の先端は平面上になっていることから未受精卵を損傷することは無かった。
【００５４】
＜比較例４＞
比較例２で作製した局所インジェクション装置を用いた以外は、実施例５と同様に、気泡噴出口８（口径１４μｍ）を、未受精卵に近付け、電力を印加した。図１１（２）は、電力を印加して気泡を噴出した直後の写真である。比較例４では、気泡噴出部材の先端が尖っていることから、未受精卵が反作用で気泡噴出口８側に変形した際に、未受精卵に気泡噴出口８が突き刺さってしまった。
【００５５】
＜実施例６＞
実施例５で、本発明の気泡噴出部材１を用いると、気泡噴出時に未受精卵を傷つけないことを確認したが、局所インジェクションの一連の操作による未受精卵への影響を調べた。なお、未受精卵の損傷程度を観察するため、Ｓｔｅｉｎｂｅｒｇ溶液には蛍光試薬（Ｄｅｘｔｒａｎ，　Ａｌｅｘａ　ＦｌｕｏｒＲ　５９４　１０，０００　ＭＷ；　ライフテクノロジーズ・ジャパン社製）を添加した。未受精卵が損傷して内容物が外部に漏れだすと蛍光試薬が内容物と結合し可視化することができる。その他の手順は実施例５と同様に行った。図１２（１）は電力の印加前（ｔ＝０秒）、図１２（２）は電力を印加し噴出した気泡を衝突させた瞬間（ｔ＝０．３秒）、図１２（３）は気泡噴出口８を未受精卵から離した直後（ｔ＝５秒）、図１２（４）は気泡を衝突させた後、１０秒経過した後の写真である。
【００５６】
＜比較例５＞
比較例２で作製した局所インジェクション装置を用いた以外は、実施例６と同様の手順で電力を印加した。図１２（５）は電力の印加前（ｔ＝０秒）、図１２（６）は電力を印加し噴出した気泡を衝突させた瞬間（ｔ＝０．３秒）、図１２（７）は気泡噴出口８（口径１４μｍ）を未受精卵から離した直後（ｔ＝５秒）、図１２（８）は気泡を衝突させた後、１０秒経過した後の写真である。
【００５７】
図１２から明らかなように、従来の気液噴出部材１０を用いた場合は、未受精卵から中身が飛び出してしまうことが確認できた。これは、従来の気液噴出部材１０の気泡噴出口８の口径が大きいため未受精卵に気泡が衝突する際の衝撃が大きいこと、及び気泡噴出口８の先端部分がガラスを引き切ったものであることから、気泡噴出時に気泡噴出口８が未受精卵を傷つけた可能性があるためと考えられる。
【００５８】
一方、本発明の局所インジェクション装置を用いると、気泡噴出部材１の先端部分は肉厚で滑らかな形状であるため、気泡噴出部口８を未受精卵に近付ける際に、未受精卵を損傷し難い。更に、気泡噴出口８の直径が従来の気泡噴出部材１の直径より小さいことから、気泡が未受精卵に衝突する際に与える衝撃が少なかったためと考えられる。
【００５９】
図１３は、実施例６の気泡を衝突させて１０秒経過後の未受精卵に、水銀ランプを照射

してＣＣＤカメラで撮影した写真である。図１３の写真の矢印に示すように、蛍光試薬が局所的にインジェクションされていることが確認できた。以上の結果より、本発明の局所インジェクション装置を用いることで、加工対象物の損傷を抑えながら、局所インジェクションを行えることが確認できた。

【００６０】

〔局所インジェクション装置（注射装置）を用いた空気中でのインジェクション〕

＜実施例７：トマトへのインジェクション＞

気泡噴出口の直径が４μｍの気泡噴出部材１を用いた以外は、実施例３と同様の手順で局所インジェクション装置を作製した。次いで、外側外郭部１３の内部に実施例４のＳｔｅｉｎｂｅｒｇ溶液を充填しトマトに押し付けた。また、対向電極２２をトマト底面に接するように配置した。次いで、２．３ｍＡ、１７４０Ｖの電圧を印加した。図１４は、局所インジェクション後のトマトの写真で、矢印の部分がインジェクションをした場所である。

【００６１】

＜実施例８：カイワレ大根の葉への局所インジェクション＞

実施例３で作製した外側外郭部１３の内部に、純水を充填し、カイワレ大根の葉に押し付けた。なお、純水には、蛍光試薬（Ｆｌｕｏｒｅｓｃｅｉｎ　Ｉｓｏｔｈｉｏｃｙａｎａｔｅ－Ｄｅｘｔｒａｎ（１０，０００ＭＷ；ＳＩＧＭＡ－Ａｌｄｒｉｃｈ社製）を添加した。また、対向電極２２をカイワレ大根の葉の裏側に配置した。次いで、８１．８ｍＡ、１．３ｋＶの電圧を印加した。図１５は局所インジェクション後のカイワレ大根の葉の暗視野での写真である。図１５に示すように、蛍光が確認されたことから、カイワレ大根の葉に蛍光試薬をインジェクションすることができた。

【００６２】

＜実施例９：鶏ささみ肉への局所インジェクション＞

直径３０μｍのＣｕ線に代え、直径１００μｍのＣｕ線を用いた以外は、実施例１と同様の手順で気泡噴出部材１を作製した。芯材の直径は約１００μｍ、気泡噴出口８は直径約６μｍの円形状であった。次に、作製した気泡噴出部材１を用いた以外は実施例３と同様の手順で、局所インジェクション装置を作製した。

作製した局所インジェクション装置の外側外郭部１３の内部に、ＮａＣｌ溶液（０．９％ｗ／ｖ）を充填し、鶏ささみ肉に押し付けた。ＮａＣｌ溶液には、蛍光ビーズ（φ２．１μｍ；Ｔｈｅｒｍｏ　Ｓｃｉｅｎｔｒｉｆｉｃ社製）を添加した。なお、実施例９で蛍光ビーズを用いたのは、実施例８の蛍光試薬は鶏ささみ肉に染み込んでしまうためである。また、対向電極２２は鶏ささみ肉の下に置いた。次いで、２００ｍＡ、１．３ｋＶの電圧を印加した。図１６は局所インジェクション後の鶏ささみ肉の暗視野での写真である。図１６に示すように、鶏ささみ肉に蛍光ビーズを局所インジェクションすることができた。

【００６３】

＜実施例１０：玄米（もみ殻除去後）へのインジェクション＞

鶏ささみ肉に代え玄米（もみ殻除去後）を用い、該玄米をＰＤＭＳで作製した治具に固定し、対向電極２２を気泡噴出部材１と外側外郭部１３の間のＮａＣｌ溶液に接するように配置し、４２０ｍＡ、１．８ｋＶの電圧を印加した以外は、実施例９と同様の手順で局所インジェクションを行った。図１７は局所インジェクション後の玄米の暗視野での写真である。図１７に示すように、玄米に局所インジェクションすることができた。

【００６４】

実施例７～１０に示すように、本発明の局所インジェクション装置を用いると、空気中で、柔らかいものから硬い加工対象物に対して局所インジェクションができることを確認した。

【００６５】

〔局所インジェクション装置（注射装置）の他の実施形態の作製〕

＜実施例１１＞

実施例２の外側外郭部１３に代え、ＰＤＭＳを用いて中空円筒形状になるようにプラスチック型やガラス・金属棒を用いて転写及び３次元形状に成形することで、外側外郭部１３全体をＰＤＭＳで作製した。図１８は、作製した局所インジェクション装置の外観を示す写真である。

【００６６】

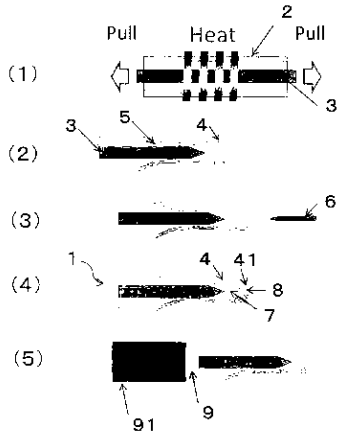
図１９は実施例１１で作製した局所インジェクション装置の先端部分の動きを示す写真である。図１９（１）は押し当てる前の写真、図１９（２）は押し当てた後の写真、そして、図１９（１）及び（２）の上段は外側外郭部１３の全体写真で、下段は先端部分を拡大した写真である。図１９から明らかなように、外側外郭部１３全体を可撓性のある材料を用いて形成することで、伸縮部材１７を使用しなくても、気泡噴出部材１と外側外郭部１３とを相対移動し、加工対象物と気泡噴出口８の位置関係を調整できることが明らかとなった。

【産業上の利用可能性】

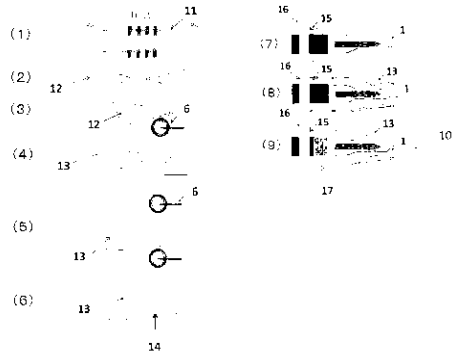
【００６７】

本発明に係る気泡噴出部材、気液噴出部材、局所アブレーション装置及び局所インジェクション装置を用いることで、従来技術と比較して、加工対象物をより微細加工することができる。更に、本発明の局所インジェクション装置は大気中でも使用することができ、針なし注射装置として用いることもできる。したがって、医療機関、大学、企業などの研究機関等において、加工対象物の微細加工に用いることができる他、医療機関、畜産・農林水産機関等において針なし注射装置として用いることもできる。

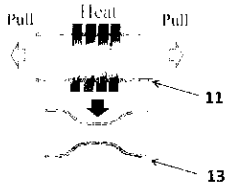
【図１】



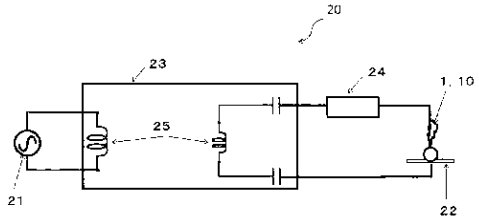
【図２】



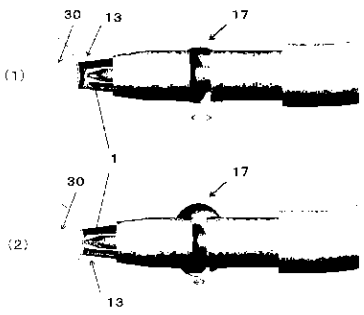
【図３】



【図４】

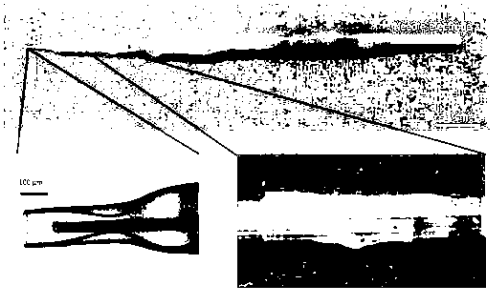


【図５】

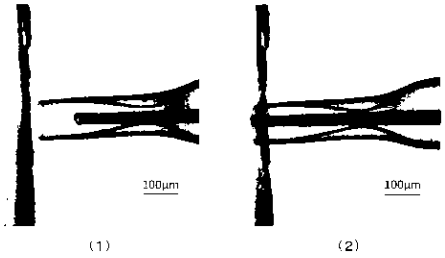


【図６】

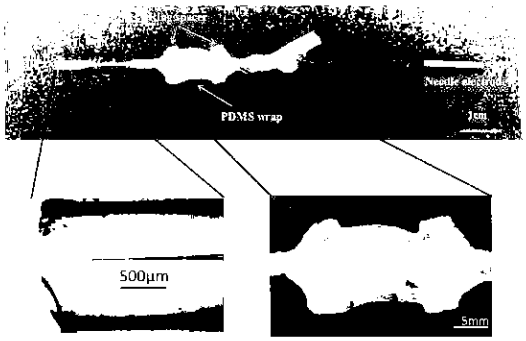
【図７】



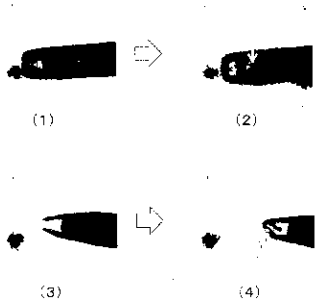
【図８】



【図９】

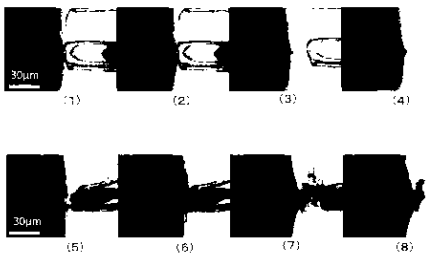


【図１０】

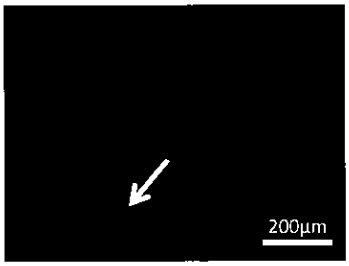


【図１１】

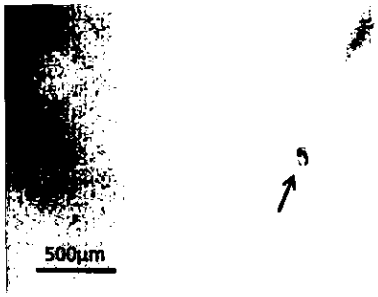
【図１２】



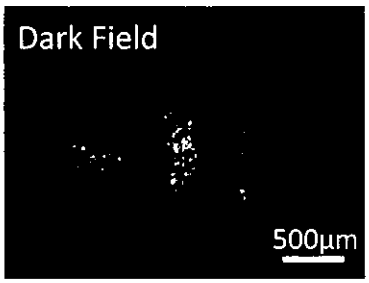
【図１３】



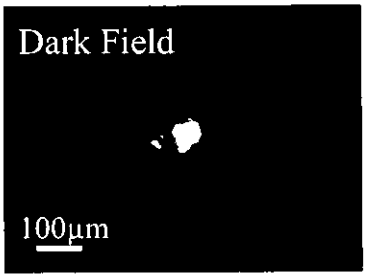
【図１４】



【図１５】



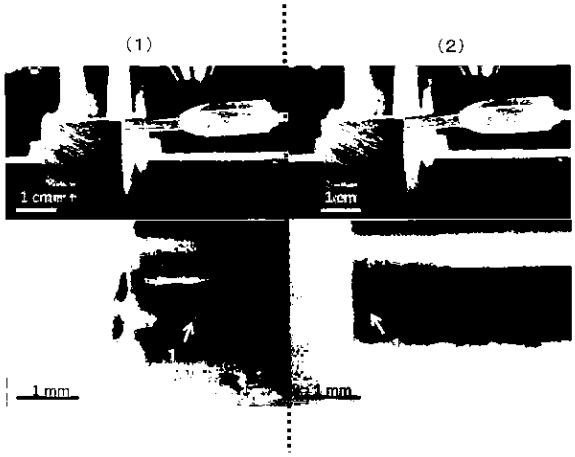
【図１６】



【図１７】

【図１８】

【図１９】



フロントページの続き

審査官　戸来　幸男

(56)参考文献　国際公開第２０１３／１２９６５７（WO，Ａ１）
日本機械学会マイクロ・ナノ工学シンポジウム講演論文集，２０１４年１０月，vol.6，p.21pm3-PM004
日本機械学会誌，２０１４年　７月，vol.117，no.1148，pp.28-30

(58)調査した分野(Int.Cl.，ＤＢ名)
Ｃ１２Ｍ　　１／００－１／４２
Ｃ１２Ｎ　１５／００－１５／９０
ＣＡｐｌｕｓ／ＭＥＤＬＩＮＥ／ＥＭＢＡＳＥ／ＢＩＯＳＩＳ／
ＷＰＩＤＳ（ＳＴＮ）
ＪＳＴＰｌｕｓ／ＪＭＥＤＰｌｕｓ／ＪＳＴ７５８０（ＪＤｒｅａｍＩＩＩ）
ＰｕｂＭｅｄ