

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2022年3月31日(31.03.2022)



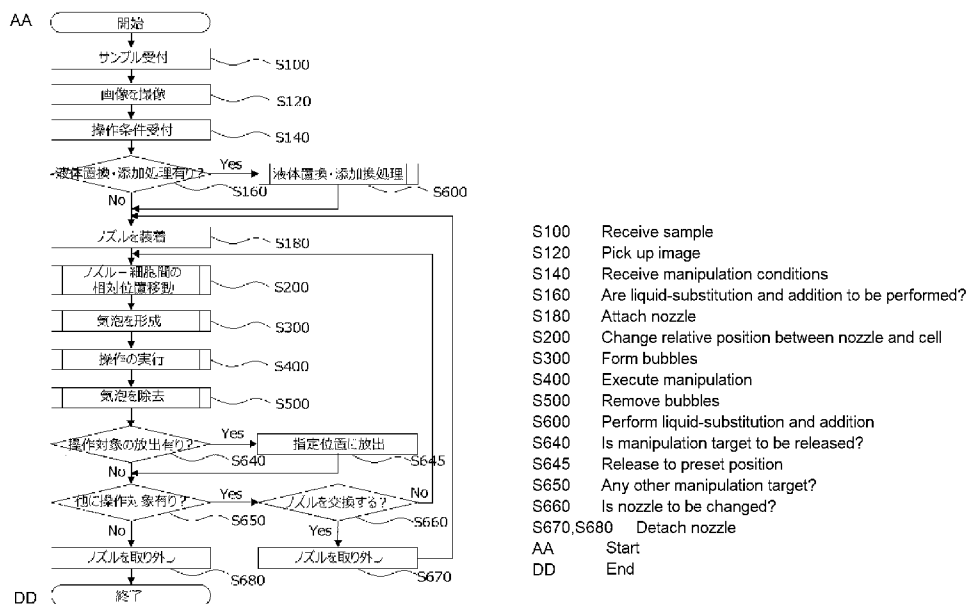
(10) 国際公開番号
WO 2022/065456 A1

- (51) 国際特許分類:
C12M 1/00 (2006.01) C12M 1/26 (2006.01)
C12M 1/04 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2021/035192
- (22) 国際出願日: 2021年9月24日(24.09.2021)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2020-160251 2020年9月24日(24.09.2020) JP
- (71) 出願人: 株式会社ニコン (NIKON CORPORATION) [JP/JP]; 〒1086290 東京都港区港南二丁目15番3号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 森山 真樹 (MORIYAMA Masaki); 〒1086290 東京都港区港南二丁目15番3

号 株式会社ニコン内 Tokyo (JP). 石澤 直也 (ISHIZAWA Naoya); 〒1086290 東京都港区港南二丁目15番3号 株式会社ニコン内 Tokyo (JP). 小林 遼(KOBAYASHI Ryo); 〒1086290 東京都港区港南二丁目15番3号 株式会社ニコン内 Tokyo (JP). 田中 修平(TANAKA Shuhei); 〒1086290 東京都港区港南二丁目15番3号 株式会社ニコン内 Tokyo (JP). 中村 太一(NAKAMURA Taichi); 〒1086290 東京都港区港南二丁目15番3号 株式会社ニコン内 Tokyo (JP). 林 世莉(HAYASHI Seri); 〒1086290 東京都港区港南二丁目15番3号 株式会社ニコン内 Tokyo (JP). 田窪 牧子(TAKUBO Makiko); 〒1086290 東京都港区港南二丁目15番3号 株式会社ニコン内 Tokyo (JP).

(54) Title: METHOD OF MANIPULATING ORGANISM AND DEVICE FOR MANIPULATING ORGANISM

(54) 発明の名称: 生物体の操作方法および生物体操作装置



(57) Abstract: In the first embodiment of the present invention, provided is a method of manipulating an organism, said method comprising: a bubble formation step for forming bubbles by introducing a gas into a liquid in which the organism is immersed; an energy control step for, before, during or after the bubble formation step, controlling a difference energy (E1-E2) that is calculated by subtracting the interfacial free energy E2 at the interface between the gas and the liquid from the interfacial free energy E1 at the interface between the gas and the organism; and a manipulation step for, during or after the energy control step, bringing the bubbles into contact with the organism and thus manipulating the organism using the bubbles.



WO 2022/065456 A1

(74) 代理人: 龍華国際特許業務法人(RYUKA IP LAW FIRM); 〒1631522 東京都新宿区西新宿 1 - 6 - 1 新宿エルタワー 2 2階 Tokyo (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

一 国際調査報告 (条約第21条(3))

(57) 要約: 本発明の第1の態様においては、生物体が浸された液体の中で、気体を導入することにより気泡を形成する気泡形成段階と、気泡形成段階の前、途中、または後に、気体と生物体との界面における界面自由エネルギーE1から、気体と液体との界面における界面自由エネルギーE2を引いた差分(E1 - E2)を制御するエネルギー制御段階と、エネルギー制御段階の途中、または後に、気泡を生物体に接触させ、気泡を用いて生物体を操作する操作段階と、を備える生物体の操作方法を提供する。

明 細 書

発明の名称：生物体の操作方法および生物体操作装置

技術分野

[0001] 本発明は、生物体の操作方法、および生物体の操作装置に関する。

背景技術

[0002] 細胞生物学の研究などにおいて、培養容器内の多くの細胞の中から、特定の細胞を吸引することが行われている。特許文献1には、チップを用いて、目的とする細胞を吸引する細胞吸引支援システムが開示されている。

[特許文献1] 特開2016-000007号公報

[0003] [一般的開示]

本発明の第1の態様においては、生物体の操作方法を提供する。生物体の操作方法は、生物体が浸された液体の中で、気体を導入することにより気泡を形成する気泡形成段階を備えてよい。生物体の操作方法は、前記気泡形成段階の前、途中、または後に、前記気体と前記生物体との界面における界面自由エネルギーE1から、前記気体と前記液体との界面における界面自由エネルギーE2を引いた差分(E1-E2)を制御するエネルギー制御段階を備えてよい。生物体の操作方法は、前記エネルギー制御段階の途中、または後に、前記気泡を前記生物体に接触させ、前記気泡を用いて前記生物体を操作する操作段階を備えてよい。

[0004] 本発明の第2の態様においては、前記エネルギー制御段階は、前記差分(E1-E2)を小さくするか、または、前記差分(E1-E2)が大きくなることを抑制することを含んでよい。前記操作段階は、前記気泡と前記液体との気液界面に生物体を付着させることを含んでよい。

[0005] 本発明の第3の態様においては、前記エネルギー制御段階は、前記差分(E1-E2)を大きくするか、または、前記差分(E1-E2)が小さくなることを抑制することを含んでよい。

[0006] 本発明の第4の態様においては、前記操作段階は、前記気泡と前記液体と

の気液界面が生物体を圧迫することを含んでよい。

- [0007] 本発明の第5の態様においては、前記エネルギー制御段階は、前記界面自由エネルギーE2を制御することを含んでよい。
- [0008] 本発明の第6の態様においては、前記エネルギー制御段階は、前記液体の少なくとも一部を別の液体で置き換えることを含んでよい。
- [0009] 本発明の第7の態様においては、前記エネルギー制御段階は、前記液体に別の液体を追加することを含んでよい。
- [0010] 本発明の第8の態様においては、前記エネルギー制御段階は、前記液体に極性有機化合物または無機塩を追加することを含んでよい。
- [0011] 本発明の第9の態様においては、前記エネルギー制御段階は、前記気体の少なくとも一部を別の気体で置き換えることを含んでよい。
- [0012] 本発明の第10の態様においては、前記エネルギー制御段階は、前記気泡形成段階で形成された気泡を、形成後、10秒以内に前記生物体に付着させることを含んでよい。
- [0013] 本発明の第11の態様においては、前記エネルギー制御段階は、前記気泡形成段階で形成された気泡を、形成後、15秒以上経過後に前記生物体に付着させることを含んでよい。
- [0014] 本発明の第12の態様においては、前記エネルギー制御段階は、前記気泡形成段階で形成された前記気泡の気液界面を拡大又は縮小させることを含んでよい。
- [0015] 本発明の第13の態様においては、前記エネルギー制御段階は、前記気泡形成段階における前記気体の導入速度または吸引速度を制御することを含んでよい。
- [0016] 本発明の第14の態様においては、前記操作段階は、前記液体と前記気泡との界面を前記生物体に接触させ、前記界面を移動することで前記生物体を操作することを含んでよい。
- [0017] 本発明の第15の態様においては、前記気泡形成段階は、前記気体を導入可能な流路の端部を液体中に浸して、前記端部から前記気体を前記液体に導

入することを含んでよい。前記気泡形成段階は、前記流路および前記生物体の相対的な位置を近づけるように移動させる移動段階をさらに含んでよい。

[0018] 本発明の第16の態様においては、前記操作段階は、前記液体と前記気泡との界面を前記生物体に接触させ、前記流路内に前記界面を取り込むことで、前記界面に接触した前記生物体を回収することを含んでよい。

[0019] 本発明の第17の態様においては、前記操作段階は、前記液体と前記気泡との界面を前記生物体に接触させた後、10秒以内に、前記流路内に前記界面を取り込むことを含んでよい。

[0020] 本発明の第18の態様においては、生物体を操作するための生物体操作装置を提供する。生物体操作装置は、前記生物体が浸される液体中に配置された端部から気体が導入されて前記端部に気泡を形成する流路を含んでよい。生物体操作装置は、前記気体と前記生物体との界面における界面自由エネルギー E_1 から、前記気体と前記液体との界面における界面自由エネルギー E_2 を引いた差分($E_1 - E_2$)を制御するエネルギー制御部を含んでよい。生物体操作装置は、前記気泡により前記生物体を操作する操作部を含んでよい。

[0021] 本発明の第19の態様においては、前記エネルギー制御部は、前記操作部に前記流路に接続されたポンプを制御させ、これにより前記液体中での前記気泡の体積を制御する体積制御部を有してよい。

[0022] 本発明の第20の態様においては、生物体操作装置を提供する。生物体操作装置は、容器に供給された、生物体を含む液体中に端部を配置する流路を含んでよい。生物体操作装置は、前記流路に気体を導入し前記端部に気泡を形成するポンプを含んでよい。生物体操作装置は、前記容器または前記流路の位置を制御する位置制御部と、を含んでよい。前記位置制御部は、前記気泡が前記生物体に接触可能な位置に前記容器又は前記流路を移動させてよい。前記ポンプは、前記位置で前記気泡を形成し、前記気泡の体積を増加させながら前記気泡を前記生物体に接触させてよい。

[0023] なお、上記の発明の概要は、本発明の必要な特徴のすべてを列挙したもの

ではない。また、これらの特徴群のサブコンビネーションもまた、発明となりうる。

図面の簡単な説明

- [0024] [図1A]本実施形態における、生物体操作装置100の装置構成の一例を示す。
- 。
- [図1B]本実施形態における、生物体操作装置100の装置構成の一例を示す。
- 。
- [図2A]本実施形態における、ノズル49の構造を示す模式図の一例を示す。
- [図2B]本実施形態における、ノズル49の構造を示す模式図の一例を示す。
- [図3A]本実施形態における、ノズル49の構造を示す模式図の一例を示す。
- [図3B]本実施形態における、ノズル49の構造を示す模式図の一例を示す。
- [図4]本実施形態における、生物体を回収する方法の一例を示す模式図の一例を示す。
- [図5]本実施形態における、情報処理装置170の具体的な構成の一例を示す。
- 。
- [図6]本実施形態における、生物体を操作する方法のフローの一例を示す。
- [図7A]本実施形態における、出力部160に表示されたGUI画像の一例を示す。
- [図7B]本実施形態における、出力部160に表示されたGUI画像の一例を示す。
- [図7C]本実施形態における、出力部160に表示されたGUI画像の一例を示す。
- [図7D]本実施形態における、出力部160に表示されたGUI画像の一例を示す。
- [図7E]本実施形態における、出力部160に表示されたGUI画像の一例を示す。
- [図8]本実施形態における、S600の液体を置換または添加処理するフローの一例を示す。

[図9A]本実施形態における、S200のノズル49と細胞との間の相対位置を移動させるフローの一例を示す。

[図9B]本実施形態における、S200のノズル49と細胞との間の相対位置を移動させるフローの一例を示す。

[図9C]本実施形態における、S200のノズル49と細胞との間の相対位置を移動させるフローの一例を示す。

[図10A]本実施形態における、S300の気泡を形成するフローの一例を示す。

[図10B]本実施形態における、S300の気泡を形成するフローの一例を示す。

[図11A]本実施形態における、S400の操作を実行するフローの一例を示す。

[図11B]本実施形態における、細胞から細胞質および細胞膜を回収する一例を示す。

[図11C]本実施形態における、細胞を気泡に付着して剥離する一例を示す。

[図11D]本実施形態における、細胞を回収する方法を示す模式図の一例を示す。

[図11E]本実施形態における、継代した細胞の一例を示す。

[図11F]本実施形態における、継代した細胞の一例を示す。

[図11G]本実施形態における、回収した細胞を解析した一例を示す。

[図11H]本実施形態における、保持した細胞を示す模式図の一例を示す。

[図11I]本実施形態における、圧迫した細胞の一例を示す。

[図12A]本実施形態における、S500の気泡を除去するフローの一例である。

[図12B]本実施形態における、S500の気泡を除去するフローの一例である。

[図13A]細胞が気泡に付着する際の界面自由エネルギー変化を説明する図である。

[図13B]気液界面 2 5 5 の界面自由エネルギーを変化させる方法を説明する図である。

[図13C]溶質が気液界面 2 5 5 の界面自由エネルギーを変化させ得る機構を説明する図である。

[図13D]細胞が気泡に付着して侵入する際の界面自由エネルギー変化を説明する図である。

[図13E]夾雑物を含む液体中に形成した気泡において、時間経過に伴い、界面自由エネルギーが低下することを説明する図である。

[図13F]液体を置換して、細胞を気液界面 2 5 5 に付着させやすくした一例を示す。

[図13G]気液界面 2 5 5 の表面積を拡大させながら、気液界面 2 5 5 を細胞に付着させた一例を示す。

[図14]コンピュータのハードウェア構成の一例を示す。

発明を実施するための形態

[0025] 以下、発明の実施の形態を通じて本発明を説明するが、以下の実施形態は請求の範囲に係る発明を限定するものではない。また、実施形態の中で説明されている特徴の組み合わせのすべてが発明の解決手段に必須であるとは限らない。なお、図面において、同一または類似の部分には同一の参照番号を付して、重複する説明を省く場合がある。

[0026] 図 1 A は、本実施形態における、生物体操作装置 1 0 0 の装置構成の一例を示す。本願発明に係る生物体操作装置 1 0 0 は、気体と液体との界面を用いて、細胞などの微小な生物体を操作する。例えば、生物体操作装置 1 0 0 は、界面に生物体を付着させた後、固相に接着した生物体を剥離するなど、生物体にさまざまな操作をすることができる。生物体操作装置 1 0 0 は、顕微鏡部 5 0 と、カメラ 6 0 と、カメラ 7 0 と、操作部 1 0 1 と、出力部 1 6 0 と、情報処理装置 1 7 0 と、入力部 1 8 0 とを備える。

[0027] 顕微鏡部 5 0 は、操作対象 3 5 を、顕微鏡を用いて拡大して観察または表示するための装置である。操作対象 3 5 は生物体である。生物体は、有機生

命体であってよい。例えば、生物体は、細胞であってよい。一例として、細胞は、動物細胞、または植物細胞であってよい。一例として、細胞は、生細胞、または死細胞であってよい。また、例えば、生物体は、細胞以外の微小な生物体であってもよい。一例として、微小な生物体は、微生物、菌類、藻類、生体組織、スフェロイドなどであってよい。また、生物体は、細胞内のオルガネラを含んでいてもよい。

[0028] 顕微鏡部50は、蛍光像観察用光源1と、ダイクロイックミラー2と、光偏向器3と、リレーレンズ4と、ダイクロイックミラー5と、対物レンズ6と、コンデンサレンズ7と、集光レンズ8と、バンドパスフィルタ9と、透過像観察用光源10と、バリアフィルタ11と、投影レンズ12と、バリアフィルタ13と、投影レンズ14と、ピンホール15と、光源16と、光源17とを備える。

[0029] 蛍光像観察用光源1は、操作対象35を蛍光像観察する場合に用いる光源である。操作対象35は、1種類または2種類以上の蛍光物質で標識されていてもよく、蛍光標識されていなくてもよい。蛍光像観察用光源1は、操作対象35に励起または反射させる光を当てる。

[0030] 透過像観察用光源10は、操作対象35を透過像観察する場合に用いる光源である。透過像観察用光源10は、操作対象35を透過させる光を当てる。操作対象35を透過させる光は、ノズルの外側を通ってもよいし、ノズルの内側を通ってもよい。

[0031] 上記に記載した以外の顕微鏡部50の構成については後述する。なお、上記の説明の例に限らず、顕微鏡部50は、既知の構成を有するものであってよい。例えば、顕微鏡部50の構成は、特開平7-13083号公報、または、特許第3814869号公報に記載の構成を有するものであってよい。

[0032] カメラ60は操作対象35の蛍光像を撮像し、画像を生成する。カメラ60が生成した画像のデータは、情報処理装置170の内部（例えば、後述する記録部190）に記録され、および／または、出力部160に出力されてよい。例えば、カメラ60は、蛍光像を撮像するカメラであってよいが、こ

れに限らない。以下の説明では、カメラ60は、蛍光像を撮像するカメラとする。

[0033] カメラ70は操作対象35の透過像を撮像し、画像を生成する。カメラ70が生成した画像のデータは、情報処理装置170の内部（例えば、後述する記録部190）に記録され、および／または、出力部160に出力されてよい。例えば、カメラ70は、透過像を撮像するカメラであってよいが、これに限らない。以下の説明では、カメラ70は、透過像を撮像するカメラとする。

[0034] カメラ60、およびカメラ70は、撮像センサー（図示せず）を有する。カメラ60、およびカメラ70は、冷却カメラであってよい。冷却カメラは、撮像センサーを冷却することによって、熱によって発生するノイズを抑えることができるカメラである。撮像センサーは、CMOSイメージセンサー（Complementary Metal Oxide Semiconductor）またはCCDイメージセンサー（Charge Coupled Device）であってよい。カメラ60、およびカメラ70は、顕微鏡部50とは異なる筐体に収められてもよい。

[0035] 操作部101は、操作対象35を、気体と液体との気液界面を用いて操作する。例えば、操作部101は、液体中に気泡を形成して、液体中の生物体（例えば、細胞）を操作する。操作部101は、ノズル用アクチュエータ40と、サンプル用アクチュエータ41と、流路撮像用カメラ42と、光源45と、光源46と、圧力生成部47と、センサー部48と、ノズル49と、流路51と、流路交換部53と、液体格納部54と、サンプル蓋58と、サンプル蓋保管部59と、の全部または少なくとも一部を有する。

[0036] ノズル用アクチュエータ40は、圧力生成部47を介してノズル49を搭載し、ノズル49を動かす。後述するようにノズル49の内部には流路51が形成され、流路51の先端部または内部に気泡などの気液界面255が形成される。ノズル用アクチュエータ40は、縦方向、横方向、および上下方向のいずれの方向にも動作可能であってよい。ノズル用アクチュエータ40

は、上下方向のみに動作可能であってよい。この場合、ノズル用アクチュエータ40の縦方向、および横方向の動きは、顕微鏡部50のステージにより動作してよい。ノズル用アクチュエータ40は、縦横方向のみに動作可能であってよい。この場合、ノズル用アクチュエータ40の上下方向の動きは、顕微鏡部50のステージにより動作してよい。ノズル用アクチュエータ40は、動作せずに固定されていてもよい。この場合、ノズル用アクチュエータ40の縦横方向および上下方向の動きは、顕微鏡部50のステージにより動作してよい。ノズル用アクチュエータ40の動作は、情報処理装置170内の体積制御部のノズル位置制御部（図示せず）により制御される。

[0037] サンプル用アクチュエータ41は、容器25を搭載するステージ（図示せず）を動かす。サンプル用アクチュエータ41は、縦方向、横方向、および上下方向のいずれの方向にも動作可能であってよい。ステージは、操作対象35を収納する透明な容器25を搭載してよい。容器25は、液体が満たされた培養容器であってよい。サンプル用アクチュエータ41は、1つまたは複数の容器、および／またはチューブを搭載してよいが、これらに限らない。サンプル用アクチュエータ41の動作は、情報処理装置170内の体積制御部のステージ位置制御部（図示せず）により制御される。なお、ステージは、操作部101に設けられてよいし、顕微鏡部50に設けられてもよい。

[0038] 流路撮像用カメラ42は、ノズル49の先端部を撮像する。流路撮像用カメラ42は、ノズル49の先端部に形成された気泡を撮像してよい。撮像された画像は、情報処理装置170内の画像処理部に送られてよい。撮像された画像に基づいて、体積制御部200は、ノズル用アクチュエータ40、および／またはサンプル用アクチュエータ41に、ノズル49と操作対象35との相対位置を移動するよう指示してよい。なお、流路撮像用カメラ42に代えて、カメラ60またはカメラ70などが、ノズル49の先端部を撮像してよい。これに限らず、以降の説明で、流路撮像用カメラ42は、顕微鏡部50に備えられた顕微鏡付属カメラであってよい。顕微鏡部50が備えるカメラは、蛍光像観察用光源1、透過像観察用光源10、光源16、光源17

、光源４５および光源４６を照明として用いてよい。光源１６、および光源１７は、リング照明であってよいが、これに限らない。

[0039] 光源４５、および光源４６は、ノズル４９および／または操作対象３５を照明する。光源４５、および光源４６は、リング照明であってよいが、これに限らない。

[0040] 圧力生成部４７は、流路５１に負荷する圧力を生成する。圧力生成部４７は、流路５１の液体と接触しない方の一端と接続され、当該一端に予め設定した気体を供給する。例えば、圧力生成部４７は、シリンジポンプおよびシリンジポンプのプランジャーを往復運動させるアクチュエータを有してよい。アクチュエータがシリンジポンプのプランジャーを流路５１側に向けて押すことで流路５１に気体を給気し、アクチュエータがシリンジポンプのプランジャーを流路５１側から引くことで流路５１から気体を吸気してよい。圧力生成部４７の制御は、情報処理装置１７０内の体積制御部により行われる。

[0041] 操作対象３５が浸される液体は、完全培地、基本培地、または緩衝液であってよいが、これらに限らない。完全培地は、細胞の維持および増殖に必要な維持・増殖因子を含んだ培地である。基本培地は、ごく一部のタンパク質、アミノ酸または塩分が含まれた培地である。緩衝液は、細胞の生存に適したpHおよび浸透圧を維持した液体である。液体、完全培地、基本培地、および緩衝液は、公知のものを使用することができる。

[0042] 気体は、空気であってよい。気体は、水分を含んでいてもよい。

[0043] センサー部４８は、一または複数のセンサーを有し、ノズル４９およびノズル４９内の液体と気体の状態を検知する。例えば、センサー部４８は、ノズル４９の位置、速度および加速度を検出してよい。センサー部４８は、ノズル用アクチュエータ４０の位置および圧力生成部４７に生じている圧力、ならびに、圧力生成部４７におけるシリンジポンプのプランジャーの位置などを検出してよい。センサー部４８は、環境温度および容器２５内の液体の温度を検出してよい。センサー部４８は、環境の湿度を検出してよい。また

、センサー部48は、容器25内の液体のpHを検出してよい。センサー部48は、ノズル49内の気体の温度および湿度を検出してよい。センサー部48は、これらの情報を情報処理装置170（例えば、後述する体積制御部200）に送る。センサー部48に用いられるセンサーは、公知のものを用いることができる。なお、センサー部48は、圧力生成部47とは異なる筐体であってもよいし、圧力生成部47の内部に格納されていてもよい。

[0044] ノズル49は、後述する流路51を備える機器である。ノズル49は、棒状または平板状であってよい。

[0045] 流路51は、吸引（吸気）または吐出（給気）される液体および気体が通過し、操作対象35が浸される液体中に配置された端部254から気体を導入する。流路51は、ノズル49の内側に、ノズル49の長手方向を貫通するように設けられる。流路51の他端側には、圧力生成部47が接続される。

[0046] 流路交換部53は、ノズル49の保管および廃棄を行う機器である。ノズル49を交換する場合、流路交換部53は、ノズル用アクチュエータ40に装着されているノズル49を取り外して流路交換部53のノズル廃棄部（図示せず）に廃棄し、流路交換部53のノズル保管部（図示せず）に保管されているノズル49を代わりにノズル用アクチュエータ40に装着してよい。流路交換部53は省略されてよく、その場合は操作者の手によりノズル49が交換されてよい。

[0047] 液体格納部54は、容器25に供給する液体の保管および容器25から液体を回収して廃棄を行う機器である。液体を交換する場合、液体格納部54は、容器25に收容されている液体を容器25から回収して液体格納部54の液体廃棄部（図示せず）に廃棄し、液体格納部54の液体保管部（図示せず）に保管されている液体を容器25に補充してよい。液体の交換は、同種の液体同士を交換してよい。液体の交換は、異なる種類の液体同士を交換してよい。液体格納部54は、省略されてよく、その場合は操作者の手により液体が交換されてよい。

- [0048] サンプル蓋 58 は、容器 25 に取り付けられる蓋である。サンプル蓋 58 は、容器 25 に取り付けられていてよいし、サンプル蓋保管部 59 に格納されていてもよい。サンプル蓋 58 は、必要に応じて、サンプル蓋用アクチュエータ（図示せず）により、サンプル蓋保管部 59 から取り出されて容器 25 への取り付け、および容器 25 から取り外されてサンプル蓋保管部 59 への格納が行われてよい。この場合、サンプル蓋用アクチュエータの動作は、情報処理装置 170 内の体積制御部 200 のサンプル蓋制御部（図示せず）により制御されてよい。サンプル蓋 58、およびサンプル蓋保管部 59 は、省略されてよく、その場合は操作者の手によりサンプル蓋 58 が容器 25 に取り付け、および容器 25 からの取り外しがされてよい。
- [0049] 液体格納部 54 は、容器 25 を充填している液体に対して、界面自由エネルギーの差分（ $E_1 - E_2$ ）を変更し得る液体を格納してよく、詳細は後述する。液体の補充および／または廃棄は、容器 25 および液体格納部 54 を連結する液体流路（図示せず）を介して行ってよい。例えば、液体流路は、容器 25 および液体保管部を連結し、液体を流通可能とするものであってよい。例えば、液体流路は、容器 25 および液体廃棄部を連結し、液体を流通可能とするものであってよい。液体流路は、ピペットであってよい。液体の交換は、同種の液体同士を交換してよい。液体の交換は、異なる種類の液体同士を交換してよい。液体格納部 54 は、省略されてよく、その場合は操作者の手により液体が交換されてよい。
- [0050] 出力部 160 は、情報処理装置 170 の処理結果を出力する。例えば、出力部 160 は、情報処理装置 170 の内部（例えば、後述する画像処理部 300）が画像処理を行った画像を出力する。例えば、出力部 160 は、情報処理装置 170 に接続されたモニターである。
- [0051] 情報処理装置 170 は、顕微鏡部 50、カメラ 60、カメラ 70、操作部 101、出力部 160、および、入力部 180 との間で命令およびデータをやり取りする。例えば、情報処理装置 170 は、顕微鏡部 50、および操作部 101 と接続され、顕微鏡部 50、および操作部 101 を制御する。

[0052] 具体的には、情報処理装置 170 は、顕微鏡部 50 の光路に配置される対物レンズ 6 の種類、および／または蛍光フィルタのフィルタキューブの種類との組み合わせを切り替える。例えば、透過像観察と蛍光像観察は、光路に配置されるフィルタキューブの種類と対物レンズ 6 の種類の双方が異なる。また、2 種類の蛍光像観察は、光路に配置されるフィルタキューブの種類のみが異なる。また、透過像観察と蛍光像観察は、使用する光源（それぞれ透過像観察用光源 10 および蛍光像観察用光源 1）も異なる。このため、情報処理装置 170 の内部（例えば、後述する撮像制御部）は、透過像観察および 1 種類または 2 種類以上の蛍光像観察の少なくともいずれか 1 つまたは複数の観察を行うかに応じて、フィルタブロック、対物レンズ 6、および光源の 1 つ以上を切り替えてよい。

[0053] 蛍光像観察を行う場合、情報処理装置 170 は、蛍光像観察用光源 1 の光路を有効にするために、蛍光像観察用光源 1 をオンにし、透過像観察用光源 10 をオフにする。蛍光像観察を行う場合、蛍光像観察用光源 1 から射出した光は、ダイクロイックミラー 2、光偏向器 3、リレーレンズ 4、ダイクロイックミラー 5、対物レンズ 6 を介して、操作対象 35 を照明する。

[0054] 操作対象 35 が蛍光標識されている場合、操作対象 35 の蛍光物質は励起され、蛍光を発する。操作対象 35 から発せられた蛍光は、対物レンズ 6、ダイクロイックミラー 5、リレーレンズ 4、光偏向器 3、ダイクロイックミラー 2、バリアフィルタ 13、投影レンズ 14、およびピンホール 15（顕微鏡部 50 が共焦点顕微鏡の場合）を介して、カメラ 60 の受光面に達する。このとき、操作対象 35 の蛍光像がカメラ 60 に形成される。なお、操作対象 35 が蛍光標識されていない場合でも、蛍光像観察用光源 1 から射出した光が操作対象 35 に当たり、操作対象 35 から反射した光を用いて、操作対象 35 を観察することができる。

[0055] 透過像観察を行う場合、情報処理装置 170 は、透過像観察用光源 10 の光路を有効にするために、透過像観察用光源 10 をオンにし、蛍光像観察用光源 1 をオフにする。透過像観察を行う場合、透過像観察用光源 10 から射

出した光は、バンドパスフィルタ 9、集光レンズ 8、コンデンサレンズ 7 を介して、操作対象 35 を照明する。操作対象 35 を透過した光は、対物レンズ 6、ダイクロイックミラー 5、バリアフィルタ 11、および投影レンズ 12 を介して、カメラ 70 の受光面に達する。このとき、操作対象 35 の透過像がカメラ 70 に形成される。なお、蛍光観察でノズル 49 の端部が見えにくい場合には、透過像観察をあわせて行ってよい。

[0056] また、情報処理装置 170 は、操作部 101 のノズル 49 およびステージの相対位置を制御する。また、情報処理装置 170 は、顕微鏡部 50 および操作部 101 の制御に加えて、カメラ 60、および／またはカメラ 70 が撮像した操作対象 35、および／または、操作部 101 の流路撮像用カメラ 42 が撮像した画像を受け取り、複数の画像から 1 つの合成画像を生成するなどの画像処理を行ってよい。情報処理装置 170 は、生物体操作装置 100 のその他の動作の制御およびデータ処理などを必要に応じて行ってよい。情報処理装置 170 の構成については後述する。

[0057] 入力部 180 は、操作者からの指示やデータなどを情報処理装置 170 に入力する。例えば、入力部 180 は、操作者からの操作対象 35 に対する操作アプリケーションの選択に関する指示を入力する。また、入力部 180 は、操作者からのノズル用アクチュエータ 40、および／またはサンプル用アクチュエータ 41 の動作量を情報処理装置 170 に入力する。例えば、入力部 180 は、生物体操作装置 100 に接続されたキーボードまたはマウスである。

[0058] 図 1 B は、本実施形態における、生物体操作装置 100 の装置構成の他の一例を示す。図 1 B では、顕微鏡部 50 が位相差顕微鏡、または微分干渉顕微鏡の場合の生物体操作装置 100 を示す。顕微鏡部 50 が位相差顕微鏡の場合、顕微鏡部 50 は、対物レンズ 6（位相板を含んでいてもよい）と、コンデンサレンズ 7 と、集光レンズ 8 と、バンドパスフィルタ 9 と、透過像観察用光源 10 と、バリアフィルタ 11 と、投影レンズ 12 と、光源 16 と、光源 17 と、リング絞り 39 とを備えてよい。顕微鏡部 50 が微分干渉顕微

鏡の場合、顕微鏡部50は、対物レンズ6と、コンデンサレンズ7と、集光レンズ8と、バンドパスフィルタ9と、透過像観察用光源10と、バリアフィルタ11と、投影レンズ12と、光源16と、光源17と、ノルマルスキープリズム31と、アナライザ（偏光板）32と、ポラライザ（偏光板）37と、ノルマルスキープリズム38とを備えてよい。また、これらに限らず、顕微鏡部50は、上記に挙げた以外の構成を備えてもよい。例えば、位相差顕微鏡がノルマルスキープリズム31などを備えていてもよいし、微分干渉顕微鏡がリング絞り39などを備えていてもよい。顕微鏡部50以外の生物体操作装置100の構成については、図1Aの説明が適用されてよい。

[0059] 図2Aおよび図2Bは、本実施形態における、ノズル49の構造を示す模式図の一例である。図2Aにおいて、ノズル49は、流路51を有する筒状部253を備える。筒状部253は、中空の円筒形であってよい。この場合、筒状部253の、軸方向と直交する断面の形状は、円になる。また、流路51は、一端側でポンプ251（例えば、圧力生成部47のシリンジポンプ）に接続されてよい。ポンプ251は、情報処理装置170（例えば、後述する体積制御部200）からの指示を受けて、流路51に給気、または流路51から吸気する気体の量を調節することにより、気泡の圧力、および／または体積を調節する。

[0060] 図2Bにおいて、筒状部253のポンプ（図示せず：例えば、圧力生成部47のシリンジポンプ）と接続されていない側の端部254が液体261中に配置された場合、ポンプは流路51に気体を給気することにより、端部254に気泡を形成することができる。この場合、気泡の気体と液体261との境界には、気液界面255が形成される。なお、気泡の形状は球状に限られず、端部254の形状に応じて変形していても良い。ここで、流路51の端部254で気体が保持される場合は、流路51の端部254で気液界面255が形成されるが、流路51の内部に気体および液体の両方が存在する場合は、流路51の内部で、両者の界面で気液界面255が形成され得る。

[0061] 気液界面255が液体261中の容器25の内底面などの固相に接着した

生物体と接触した場合、気液界面 255 を移動させることで、気液界面 225 が生物体に力を加え、生物体を固相から剥離し、気液界面 255 に付着させることができる。気液界面 255 の移動は、気泡が形成されたノズル 49 をノズル用アクチュエータ 40 が移動させることによって行ってよいし、液体を移動させることによって行ってよいし、気泡の体積を変化することによって行ってよい。ここで、固相は、接着細胞を接着させて培養できる表面であってよい。例えば、固相は、ガラス；ポリスチレン等の樹脂；金属；コラーゲン、フィブロネクチン、ラミニン、ポリリシンなどから選択される 1 種以上の細胞外マトリックスの成分でコーティングされた表面；各種ポリマー（一例として、親水性や細胞への吸着性を制御可能なポリマー）でコーティングした表面などであってよいが、これらに限定されない。なお、本実施形態において、気液界面 255 は気体と液体との界面によって形成されるが、これに限られず、界面と接している相や物質に応じて変更されてよい。さらに、気液界面 255 が液体 261 中の容器 25 の内底面などの固相に接着した生物体と接触した場合、生物体を気液界面 255 に付着させた後に、気液界面 255 を移動させることで生物体を固相から剥離してもよく、生物体を気液界面 255 に付着させない状態で気液界面 255 が生物体を押圧してもよい。生物体を固相から剥離する方法の詳細は後述する。

[0062] 端部 254 における流路 51 の開口面積は、生物体を操作できる大きさである限り、特に限定されない。例えば、開口面積は、生物体 1 個あたりの接着面積よりも大きくてよい。端部 254 の形状は、特に限定されない。また、流路 51 の内径は筒状部 253 の全長にわたって同じであってよい。また、端部 254 に形成される気泡に代えて、流路 51 の内部に気液界面 255 を形成しても良い。

[0063] また、流路 51 は、生物体が付着した気泡中の気体をポンプ 251 が吸気することで、気液界面 225 を流路 51 内に取り込み、さらに生物体を回収するものであってよい。または、ノズル 49 は、流路 51 とは別に、生物体を回収する別の流路をさらに備えるものであってもよい。

- [0064] 図2Aおよび図2Bの実施形態では、ノズル49内に流路51が1つだけ形成され、流路51に接続されるポンプ251も1つだけのため、非常に単純な最低限の構成であり、生物体操作装置100のメンテナンスやコストを削減することができる。
- [0065] 図3Aおよび図3Bは、他の実施形態における、ノズル49の構造を示す模式図の一例である。図2Aおよび図2Bの例では、気泡を形成する流路と生物体を回収する流路が同一の場合を示したが、図3Aおよび図3Bの例では、気泡を形成する流路と生物体を回収する流路が異なる場合を示す。
- [0066] 図3Aにおいて、ノズル49の筒状部253は、外筒253aおよび内筒253bの二重構造となっている。外筒253aと内筒253bとの間は、気体が行ける第1流路51aであり、内筒253bの内部は第2流路51bである。例えば、第1流路51aは、気体供給流路であってよく、第2流路51bは、気体回収流路であってよい。
- [0067] また、ノズル49の第1流路51a、および第2流路51bは、一端側でそれぞれ第1ポンプ251a、および第2ポンプ251bに接続されてよい。例えば、圧力生成部47は、シリンジポンプとして、第1ポンプ251aおよび第2ポンプ251bを有し、それぞれを別個のアクチュエータで制御してよい。第1ポンプ251a、および第2ポンプ251bはそれぞれ、後述する体積制御部からの指示を受けたアクチュエータが、第1流路51aおよび第2流路51bに給気、または吸気する気体の量を調節することにより、気泡の圧力、および／または体積を調節する。筒状部253の、軸方向と直交する断面の形状は、第1流路51aではドーナツ形状であり、第2流路51bでは円になる。
- [0068] 図3Bにおいて、筒状部253の第1ポンプ251aおよび第2ポンプ251bと接続されていない側の端部254が液体261中に配置された場合、第1ポンプ251aが第1流路51aに気体を給気することにより、端部254に気泡を形成することができる。この場合、気泡の気体と液体261との境界には、気液界面255が形成される。

- [0069] 気液界面 255 が液体 261 中の固相に接着した生物体と接触した場合、気液界面 255 を移動させることで、生物体を固相から剥離し、生物体を気液界面 255 に付着することができる。第 2 ポンプ 251 b は、生物体が付着した気泡を、第 2 流路 51 b を介して吸気することで、気液界面 225 を流路 51 内に取り込み、生物体を回収してよい。
- [0070] なお、上記の実施形態では、第 1 ポンプ 251 a が第 1 流路 51 a に気体を給気することで気泡を形成し、第 2 ポンプ 251 b が第 2 流路 51 b で気体を吸気することで生物体を回収するものであるが、第 2 ポンプ 251 b が第 2 流路 51 b に気体を給気することで気泡を形成し、第 1 ポンプ 251 a が第 1 流路 51 a で気体を吸気することで生物体を回収してもよい。また、第 1 ポンプ 251 a および第 2 ポンプ 251 b は、圧力生成部 47 に設けられた同一のシリンジポンプであってよい。第 1 ポンプ 251 a および第 2 ポンプ 251 b は、どちらか一方が省略されてもよい。
- [0071] 図 3 A および図 3 B の実施形態では、一方の流路で気泡を形成して生物体を気液界面 255 に付着させ、他方の流路で付着した生物体を回収することを同時に行うことができるため、細胞を回収する時間が短縮されるという効果を有する。なお、図 3 A および図 3 B では、筒状部 253 の、軸方向と直交する断面の形状は、第 1 流路 51 a ではドーナツ形状であり、第 2 流路 51 b では円になる実施形態を示したが、断面の形状はドーナツ形状または円に限られず、2 つの流路があれば、生物体の付着および回収を同時に行うことができる。
- [0072] 図 4 は、本実施形態における、操作対象 35 を回収する方法の一例を示す模式図である。290 a において、容器 25 の内底面にある固相で操作対象 35 が培養されている。操作対象 35 は、液体 261 中で培養されてよい。例えば、操作対象 35 は、接着細胞である。例えば、液体は、完全培地であってよい。
- [0073] 290 a において、ポンプ 251 がノズル 49 の流路 51 に気体を給気し、ノズル 49 の端部 254 に気泡 256 を形成する。気泡 256 を操作対象

35に接触させることにより、気体と液体261との気液界面255が操作対象35に接触する。この場合、ポンプ251は気体の給気および吸気を調整して、形成された気泡256を維持する。これにより、気泡256による操作対象35の操作をより容易に行うことが可能となる。

[0074] 次に、290bにおいて、ノズル用アクチュエータ40が操作対象35に気泡256を接触させたまま、ノズル49を固相の表面に沿って移動させる。図4では、ノズル用アクチュエータ40が左から右方向にノズル49を移動させた様子を記載しているが、固相の表面に平行な方向であれば、ノズル49を移動する方向は限定されない。ノズル用アクチュエータ40がノズル49を移動させることで、気液界面255が移動し、操作対象35が気液界面255に付着して、操作対象35を固相から剥離することができる。このとき、剥離した操作対象35は、気泡256の気液界面255に付着する。体積制御部200がポンプ251を制御して、給気または吸気する気体の圧力および／または体積を調節して、気泡256の大きさを変えることで、所望の範囲内にある操作対象35を剥離することができる。なお、ノズル49を固相の表面に沿って移動させる代わりに、ステージを移動させてもよい。

[0075] 次に、290cにおいて、ポンプ251が流路51にある気体を吸気することにより、気液界面255に付着している操作対象35を回収してよい。このように、ノズル49に形成する気泡256を用いて、操作対象35を固相から選択的に剥離し、回収することができる。

[0076] なお、操作対象35が固相に強く接着している接着細胞の場合、図4の方法を実施する前に、予め接着細胞の接着を緩和してもよい。接着細胞の接着の緩和は、後述するように、公知の方法を用いて行うことができる。

[0077] 図4では、ノズル49を移動させることで気液界面255を移動し、細胞を剥離し回収する例を記載したが、気液界面255の移動は上記の例に限られない。例えば、気泡256を操作対象35に接触させた後、気泡256の体積を増加させてよい。この場合、気泡256と固相との接触面が広がることになり、操作対象を固相から選択的に剥離し、回収することができる。例

例えば、気泡256を操作対象35に接触させた後、ノズル用アクチュエータ40がノズル49を固相に近づけるように移動させてよい。この場合も、気泡256が固相に押し付けられることにより、気泡256と固相との接触面が広がり、操作対象を固相から選択的に剥離し、回収することができる。

[0078] 図5は、本実施形態における、情報処理装置170の具体的な構成の一例を示す。情報処理装置170は、撮像制御部171と、記録部190と、流路制御部250と、画像処理部300と、エネルギー制御部500とを有する。

[0079] 撮像制御部171は、図1Aおよび図1Bにおいて説明した蛍光像観察用光源1、対物レンズ6、蛍光フィルタ、透過像観察用光源10、流路撮像用カメラ42、光源45、光源46、カメラ60、およびカメラ70、などの制御を行う。例えば、操作対象35の撮像条件が入力部180に入力されると、撮像制御部171は、入力された撮像条件にしたがって、カメラの切り替え、顕微鏡部50にある対物レンズ6の種類の切り替え、光源の切り替え、蛍光フィルタの種類の切り替え、ステージの位置および対物レンズ6の高さのうち、撮像ごとに必要な調整を行う。撮像制御部171が必要な調整を行った後で、流路撮像用カメラ42、カメラ60、およびカメラ70のうちの1つまたは複数のカメラは、操作対象35またはノズル49の撮像を行い、操作対象35またはノズル49の画像を生成する。1つまたは複数のカメラは、生成した画像のデータを、画像処理部300に送る。また、生成された画像のデータは、記録部190に記録され、および／または、出力部160に出力されてよい。

[0080] 記録部190は、メモリ、内蔵ハードディスクドライブ、または外部の記録媒体であってよいが、これらに限らない。情報処理装置170は、中央演算処理装置(CPU)を有し、当該CPUが記録部190に記録されたコンピュータプログラムを実行することにより情報処理装置170などを実現する。

[0081] 流路制御部250は、ノズル49の保管、装着および廃棄を制御する。流

路制御部250は、操作者からのノズル49の装着および廃棄に関する操作の指示を入力部180から受け取る。流路制御部250は、受け取った指示にしたがって、流路交換部53の流路保管部からノズル49を取り出し、ノズル用アクチュエータ40にノズル49を装着させ、またはノズル用アクチュエータ40に装着されているノズル49を取り外し、流路交換部53の流路廃棄部に廃棄するよう、流路交換部53に指示を送る。

[0082] 画像処理部300は、流路撮像用カメラ42、カメラ60、およびカメラ70が撮像した画像を、これらのカメラから受け取る。画像処理部300は、受け取った画像のうちの複数を用いて、これらを1枚の合成画像に合成してよい。例えば、画像処理部300は、カメラ60が撮像した蛍光像と、カメラ70が撮像した透過像とを合成して合成画像を生成してよい。画像処理部300は、これらのカメラから受け取った画像、および／または合成画像を、記録部190に記録し、および／または、出力部160に出力してよい。

[0083] エネルギー制御部500は、流路51に供給される気体、容器25に充填される液体、操作対象35とノズル49との相対的な位置関係、温度及び湿度等の操作部101の環境を制御する。これにより、エネルギー制御部500は、気体と生物体との界面における界面自由エネルギー E_1 から、気体と液体との界面における界面自由エネルギー E_2 を引いた差分($E_1 - E_2$)を制御する。差分($E_1 - E_2$)の値は、正の値であっても、0であっても、負の値であってもよい。差分($E_1 - E_2$)の値が小さければ小さいほど、気泡に生物体により付着する。ここで、界面自由エネルギー E_1 の値は一定であるため、エネルギー制御部500が制御できる余地が少ない。そのため、気体と液体との界面における界面自由エネルギー E_2 をエネルギー制御部500が制御することで、この差分($E_1 - E_2$)の値を予め設定した値に制御することができる。エネルギー制御部500は、体積制御部200、液体制御部260、温度制御部520、および湿度制御部530の全部または一部を備えてよい。

- [0084] 体積制御部200は、流路51に給気又は吸気する気体の圧力及び／又は体積、ノズル49の移動、ならびにステージの移動を制御する。体積制御部200は、操作部101内の圧力生成部47のアクチュエータを制御し、流路51に接続されたシリンジポンプから気体を給気、またはシリンジポンプに吸気することで、流路51で形成される気泡の圧力および／または体積を制御する。例えば、体積制御部200は、予め定められた圧力又は距離でシリンジポンプを押す又は引くようにアクチュエータを制御する。
- [0085] 体積制御部200は、気体の導入速度（給気速度）、および／または吸引速度（吸気速度）を制御してよい。具体的には、体積制御部200は、圧力生成部47のアクチュエータを制御し、シリンジポンプを移動する速度又はシリンジポンプを押す圧力を調節することで、気泡を形成する速度、および／または、操作対象35を回収する速度を制御してよい。例えば、シリンジポンプを押す速度を速めて、またはシリンジポンプを押す圧力を高めて、シリンジポンプに気体を吸気する速度を速めることにより、操作対象35を回収する速度を速め、操作対象35を回収しやすくすることができる。
- [0086] また、体積制御部200は、気体の導入速度、および吸引速度の情報を、圧力生成部47、またはセンサー部48から受け取ってよい。体積制御部200は、これらの情報から、流路51で形成される気泡の圧力および体積を算出してよい。体積制御部200は、ノズル位置制御部、ステージ位置制御部、給気制御部、および吸気制御部の全部または一部を備えてよい。
- [0087] ノズル位置制御部は、ノズル用アクチュエータ40を制御し、ノズル49の動作、ノズル49の動作に伴う気泡中の気流、およびノズル49の動作に伴う気液界面255の移動を制御する。また、ノズル位置制御部は、ノズル49の位置情報を、センサー部48、またはノズル用アクチュエータ40から受け取る。
- [0088] ステージ位置制御部は、サンプル用アクチュエータ41を制御し、操作対象35を収容する容器25を搭載したステージの動作、ステージの動作に伴う気泡中での気流、およびステージの操作に伴う気液界面255の移動を制

御する。また、ステージ位置制御部は、ステージ、および操作対象35の位置情報を、センサー部48、またはサンプル用アクチュエータ41から受け取る。

[0089] また、図3Aなどに示したように、ノズル49が、気体を供給（給気）する気体供給流路、および気体を回収（吸気）する気体回収流路を含む場合、給気制御部は、気体供給流路に接続された第1ポンプ251aを制御し、これにより気体供給流路に給気する気体の体積を制御してよい。体積制御部200、または給気制御部は、気体供給流路に給気する気体の量の情報を、ノズル用アクチュエータ40、圧力生成部47、またはセンサー部48から受け取る。

[0090] また、図3Aなどに示したように、ノズル49が、気体を供給（給気）する気体供給流路、および気体を回収（吸気）する気体回収流路を含む場合、吸気制御部は、気体回収流路に接続された第2ポンプ251bを制御し、これにより気体回収流路から吸気する気体の量（体積）を制御してよい。体積制御部200、または吸気制御部は、気体回収流路から吸気する気体の量の情報を、ノズル用アクチュエータ40、圧力生成部47、またはセンサー部48から受け取る。

[0091] 液体制御部260は、液体の保管、補充および廃棄を制御する。液体制御部260は、操作者からの液体の補充および廃棄に関する操作の指示を入力部180から受け取る。液体制御部260は、受け取った指示にしたがって、液体格納部54の液体保管部に保管されている液体を容器25に補充し、または容器25に収容されている液体を容器25から回収して液体格納部54の液体廃棄部に廃棄するよう、液体格納部54に指示を送る。

[0092] 具体的には、液体制御部260は、容器25に収容されている液体の全部または少なくとも一部を廃棄し、液体格納部54の液体保管部に保管されている液体を容器25に補充することで、容器25に収容されている液体の全部または少なくとも一部を置換するよう、液体格納部54に指示を送ってよい。また、液体制御部260は、容器25に収容されている液体を廃棄せず

に、液体格納部 5 4 の液体保管部に保管されている液体を容器 2 5 に補充することで、容器 2 5 に液体を追加するよう、液体格納部 5 4 に指示を送ってもよい。液体の置換または追加は、液体保管部と容器 2 5 とを連結する液体流路を介して行ってよい。

[0093] 温度制御部 5 2 0 は、液体の温度を制御する。例えば、温度制御部 5 2 0 は、容器 2 5 に收容された液体の温度を制御してよい。例えば、温度制御部 5 2 0 は、液体格納部 5 4 の液体保管部に保管されている液体の温度を制御してよい。温度制御部 5 2 0 は、液体格納部 5 4、および／または容器 2 5 に接続された加熱器又は冷却器などの温度調整機器に接続されてよい。例えば、温度調整機器は、電熱器またはペルチェ式冷却器であってよい。この場合、温度制御部 5 2 0 が温度調整機器を制御することで、温度調整機器が液体を予め設定した温度にするように調節してよい。温度制御部 5 2 0 は、液体の温度を調節することで、気液界面 2 5 5 における界面自由エネルギーの値を制御してよい。液体の温度を調節することにより、気液界面 2 5 5 における界面自由エネルギーの値が制御される機構の詳細は後述する。

[0094] 湿度制御部 5 3 0 は、気体の湿度を制御する。例えば、湿度制御部 5 3 0 は、シリンジポンプから供給される気体の湿度を制御してよい。湿度制御部 5 3 0 は、圧力生成部 4 7 に接続された加湿器に接続されてよい。この場合、湿度制御部 5 3 0 は加湿器を制御することで、加湿器が気体を予め設定した湿度にするように調節してよい。湿度制御部 5 3 0 は、気体の湿度を調節することで、気液界面 2 5 5 における界面自由エネルギーの値を制御してよい。気体の湿度を調節することにより、気液界面 2 5 5 における界面自由エネルギーの値が制御される機構の詳細は後述する。

[0095] 図 6 は、本実施形態における、生物体を操作する方法のフローの一例である。本実施形態の操作対象 3 5 となる生物体は、図 6 の S 1 0 0 ~ S 6 8 0 の処理を行うことによって操作することができる。なお、説明の便宜上、S 1 0 0 ~ S 6 8 0 の処理を順番に説明するが、これらの処理は少なくとも一部が並列に実行されるものであってもよいし、本発明の趣旨を逸脱しない範

囲で各ステップを入れ替えて実行されるものであってもよい。

[0096] まず、S 1 0 0において、サンプル用アクチュエータ4 1は、操作対象3 5となる生物体を受け付ける。例えば、S 1 0 0において、サンプル用アクチュエータ4 1は、ステージ上に液体とともに操作対象3 5を収容した容器2 5を搭載する。操作対象3 5に操作を行うために、容器2 5のふたが取り外されてよい。蓋は、蓋を交換するアクチュエータにより交換されてよいし、操作者の手により交換されてもよい。サンプル用アクチュエータ4 1が操作対象3 5となる生物体を受け付けた後で、情報処理装置1 7 0は処理をS 1 2 0に進める。

[0097] 次に、S 1 2 0において、カメラ6 0、またはカメラ7 0は、操作対象3 5を含む広い範囲の観察野を撮像して、画像を生成する。撮像制御部1 7 1は、観察方法を低倍率の透過像撮像に設定して、カメラ7 0に、観察野を撮像するよう指示を送る。撮像制御部1 7 1は、観察方法を蛍光像撮像に設定して、カメラ6 0に、観察野を撮像するよう指示を送ってもよい。撮像制御部1 7 1は、入力部1 8 0を介して、操作者から撮像条件の入力を受けてもよい。カメラ6 0、またはカメラ7 0は観察野を撮像する。画像処理部3 0 0は、撮像した画像を、記録部1 9 0に記録し、および／または、出力部1 6 0に出力してよい。カメラ6 0、またはカメラ7 0が観察野を撮像した後で、撮像制御部1 7 1は処理をS 1 4 0に進める。

[0098] 次に、S 1 4 0において、情報処理装置1 7 0は、入力部1 8 0を介して、操作者から操作対象3 5および操作の種類に関する入力を受ける。操作対象3 5は、単独の細胞であってよいし、細胞の集団（コロニー）であってよいし、細胞の細胞質および／または細胞膜であってよいし、スフェロイドであってよいが、これらに限らない。操作の種類は、操作対象3 5の回収であってよいし、操作対象3 5の除去であってよいし、操作対象3 5の保持であってよいし、操作対象3 5の圧迫であってよいが、これらに限らない。また、情報処理装置1 7 0は、気体と生物体との界面における界面自由エネルギーE 1から、気体と液体との界面における界面自由エネルギーE 2を引いた

差分（ $E1 - E2$ ）に関する入力を受けてから操作対象35および操作の種類に関する入力を受けてもよい。さらに、情報処理装置170は、操作対象35および操作の種類に関する入力を受け付けると、差分（ $E1 - E2$ ）を制御するための操作候補を出力してもよい。

[0099] 図7Aは、出力部160に表示された、カメラ60、またはカメラ70が観察野を撮像したGUI（Graphical User Interface）画像の一例である。図7Aにおいて、操作対象となる細胞aaa、bbb、およびcccが、入力部180を介して、操作対象35として指定されている。図7Aに示すように、操作対象35とする生物体は、入力部180を介して任意に指定される。図7Aに示すように、GUI画像において除去領域、および／または保護領域が選択されるように、観察野に除去領域、および／または保護領域が設けられてよい。除去領域を設けることによって、回収する細胞以外の細胞が回収されるリスクを低減することができる。また、保護領域を設けることによって、除去領域にある細胞を除去する際に、誤って回収細胞が除去されるリスクを低減することができる。

[0100] 図7Bは、出力部160に表示された、操作対象35となる細胞aaa、bbb、およびcccの回収先および移動先が、それぞれ12穴プレートのA1、A2、およびA3として指定されているGUI画像の一例である。図7Bに示すように、移動先は、入力部180を介して任意に指定される。例えば、移動先は同一のプレートであってよいし、異なるプレートであってよいし、シャーレであってよいし、またはマイクロテストチューブであってよいし、PCRチューブであってよいし、コニカルチューブであってもよい。

[0101] 図7Cは、出力部160に表示された、操作対象35となる細胞のID番号、操作対象35のサンプル用アクチュエータ41上でのxy座標、操作対象35の大きさ、および操作対象35の移動先を一覧にした表を表示するGUI画像の一例である。図7Cに示す表では、ID番号、xy座標、大きさ、および移動先を項目とする場合が示されているが、表示する項目はこれらに限られない。このように、入力部180を介して、操作対象35や移動先

などを指定されることで、画像処理部 300 は表を出力部 160 に出力してよい。

[0102] 図 7 D は、出力部 160 に表示された、操作対象 35 の操作の種類を選択する GUI 画面の一例である。入力部 180 は、操作対象 35 に対して、どのような操作を行いたいかの指示を操作者より受けて、情報処理装置 170 に入力する。例えば、表示領域 111 に示すように、細胞への操作は、継代であってよいし、細胞の保持または移動であってよいが、これらに限らない。例えば、表示領域 112 に示すように、細胞への操作は、細胞を圧迫して、細胞の深部を観察するものであってよいが、これに限らない。図 7 D では、操作の種類は、ラジオボタンにより選択される例を示しているが、選択の方法はラジオボタンに限られない。

[0103] 図 7 E は、出力部 160 に表示された、操作対象 35 の操作の種類を選択する GUI 画面の他の一例である。例えば、表示領域 113 に示すように、細胞への操作の種類は、プルダウンメニューにより選択されてよい。例えば、表示領域 113、表示領域 114、および表示領域 115 に示すように、操作の種類の選択は、プルダウンメニューおよびラジオボタンを併用してよい。

[0104] 入力部 180 は、図 7 A から図 7 E に示した画面に基づいて、操作者から入力された指示を情報処理装置 170 に送ってよい。情報処理装置 170 が指示を受けた後で、撮像制御部 171 は処理を S160 に進める。

[0105] なお、S160 では、操作対象 35 が固相に強く接着している接着細胞の場合、予め接着細胞の接着を緩和するステップを追加で行ってもよい。この場合、S140 の操作条件を受け付けるステップにおいて、情報処理装置 170 は、接着を緩和する処理を行うかどうかについての入力を受けてよい。

[0106] 接着細胞の接着の緩和は、公知の方法を用いて行うことができる。例えば、接着細胞の接着の緩和は、液体（例えば、培地）を除去し、緩衝液で洗浄した後に、接着緩和溶液で接着細胞を処理することで行ってよい。例えば、接着緩和溶液は、タンパク質分解酵素溶液であってよいし、金属イオンを含

まない溶液であってよいし、キレート剤溶液であってよい。一例として、接着緩和溶液は、トリプシン－EDTA溶液である。接着細胞の接着の緩和は、液体制御部260によって行われてよいし、操作者の手により行われてもよい。接着緩和溶液で接着細胞を処理し、接着力を弱めた後で、S160に進んでよい。なお、接着細胞の接着の緩和に限らず、操作者の手によりステップが行われた場合は、再度S100のサンプル受付のステップから始めてよい。また、接着緩和溶液による処理に代えて、接着を緩和する基材を用いて接着力を弱めてよい。例えば、接着を緩和する基材は、温度または光の照射に反応にして接着が緩和されるものであってよい。

[0107] 次に、S160において、情報処理装置170は、入力部180を介して、操作者から液体の置換または添加処理に関する入力を受ける。例えば、操作対象35となる生物体と気泡との付着力を調整したい場合、情報処理装置170は、液体の置換または添加処理を行うように入力を受けてよい。情報処理装置170が液体の置換または添加処理を行う指示を受けた場合、情報処理装置170は処理をS600に進めてよい。情報処理装置170が液体の置換または添加処理を行わない指示を受けた場合、情報処理装置170は処理をS180に進めてよい。

[0108] S600において、液体制御部260は、操作対象35が収容されている容器25の液体を置換または容器25の液体に他の液体を添加する。S600において、液体の置換または添加処理を行うステップは、図8に示すように、S610からS630のステップを含む。

[0109] まず、S610において、情報処理装置170は、入力部180を介して、操作者から、液体を除去するかどうかに関する入力を受ける。情報処理装置170が液体を除去するよう指示を受けた場合、処理をS615に進める。情報処理装置170が液体を除去しないよう指示を受けた場合は、処理をS620に進める。

[0110] S615において、液体制御部260は、液体格納部54を制御して、液体を除去する。例えば、液体制御部260は、容器25に収容されている液

体を容器 25 から予め設定した量だけ回収して液体格納部 54 の液体廃棄部に廃棄するよう、液体格納部 54 に指示を送る。このとき、液体格納部 54 は、液体の全量を回収して廃棄してよい。これに代えて、液体格納部 54 は、液体の一部（例えば半量）を回収して廃棄してよい。液体格納部 54 が液体を回収した後で、液体制御部 260 は処理を S620 に進める。

[0111] S620 において、液体制御部 260 は、付着力調整試薬を容器 25 に添加するよう液体格納部 54 に指示を送る。付着力調整試薬は、生物体と気泡との付着力を調整する試薬である。例えば、付着力調整試薬は、液体中の無機塩類の濃度、および／または、両親媒性物質の濃度を変化させるものであってよい。一例として、付着力調整試薬は、カルシウムイオンもしくはマグネシウムイオンの少なくとも一方を含むか、または含まない緩衝液であってよいし、基本培地であってよいし、完全培地であってよいし、キレート剤であってよい。このとき、液体格納部 54 は、液体格納部 54 の液体保管部に保管されている付着力調整試薬を容器 25 に補充する。

[0112] なお、上記の例では、付着力調整試薬を容器 25 に補充する例について記載したが、付着力調整試薬を容器 25 に加える代わりに、液体中に含まれる無機塩や両親媒性物質などをフィルタなどに付着させて除去することで、生物体と気泡との付着力を調整してもよい。

[0113] S630 において、情報処理装置 170 は、入力部 180 を介して、操作者から、上記の一連の操作を繰り返すかどうかに関する指示を受ける。情報処理装置 170 が一連の操作を繰り返すよう指示を受けた場合、情報処理装置 170 は処理を S610 に進め、液体制御部 260 は、容器 25 の液体を除去するよう液体格納部 54 に指示を送る。情報処理装置 170 が一連の操作を繰り返さないよう指示を受けた場合、情報処理装置 170 は処理を S180 に進める。なお、S600 のステップおよびサブステップは、操作者の手により行われてもよいし、この場合は、再度 S100 のサンプル受付のステップから始めてよい。

[0114] S180 において、ノズル用アクチュエータ 40 はノズル 49 を装着する

。例えば、情報処理装置170は、入力部180を介して、操作者から、ノズル用アクチュエータ40にノズル49を装着させるよう指示を受ける。流路制御部250は、指示にしたがって、流路交換部53の流路保管部からノズル49を取り出し、ノズル用アクチュエータ40にノズル49を装着させるよう、流路交換部53に指示を送る。このとき、操作対象35の大きさ、操作の種類などに応じて、適したノズル49が選択されてよい。ノズル49の選択は、入力部180を介して操作者から指定されてよいし、流路制御部250が自動的に指定してもよい。ノズル用アクチュエータ40がノズル49を装着した後で、流路制御部250は処理をS200に進める。なお、ノズル用アクチュエータ40にノズル49が予め装着されている状態、またはノズル用アクチュエータ40とノズル49とが一体形成されている状態など、ノズル用アクチュエータ40にノズル49の装着が必要ない場合は、S180のステップを省略してよい。

[0115] 次に、S200において、ノズル用アクチュエータ40は、ノズル49と操作対象35との間の相対位置を移動する。例えば、体積制御部200は、ノズル用アクチュエータ40に、ノズル49と操作対象35との間の相対位置を移動させる指示を送る。一例として、体積制御部200は、操作対象35に近接して気泡が形成できるように、ノズル用アクチュエータ40に、ノズル49と操作対象35との相対的な位置を近づけるように移動させる指示を送ってよい。S200において、相対位置を移動するステップは、図9Aに示すように、S210からS225のステップを含むか、図9Bに示すように、S230からS256のステップを含むか、または、図9Cに示すように、S260からS282のステップを含む。

[0116] 図9Aは、ノズル49の端部254の位置を撮像した画像に基づいて、ノズル49と操作対象35との間の相対位置を移動させるフローの一例である。

[0117] まず、S210において、体積制御部200は、ノズル用アクチュエータ40に、ノズル49を予め設定した位置へ動作させる指示を送る。ノズル用

アクチュエータ40は、 x y z 位置を制御するアクチュエータであってよい。ここで、 z 位置とは鉛直方向（重力に沿った方向、上下方向、 z 方向とも言う）における位置であってよく、 x 位置とは z 方向と垂直な任意の x 方向（縦方向とも言う）における位置であってよく、 y 位置とは x 方向および z 方向と垂直な y 方向（横方向とも言う）における位置であってよい。

[0118] ノズル49の位置は、まず容器25の底面にカメラ60および／またはカメラ70の焦点をあわせ、その後カメラ60および／またはカメラ70の焦点を任意の距離だけ上方に移動し、次いでノズル用アクチュエータ40がノズル49の先端をカメラ60および／またはカメラ70の焦点にあわせることで z 位置を設定してよい。例えば、任意の距離は、ノズル49の端部254に形成される気泡の半径以下であってよい。ノズル49の先端と容器25の底面との距離が、形成される気泡の半径以下である場合、気泡は底面に接触するため、底面に位置する生物体を気泡の界面を用いて操作することができる。この場合、ノズル49の x y 位置は、カメラ60および／またはカメラ70を用いて操作対象35を撮像した画像に基づいて、ノズル用アクチュエータ40またはサンプル用アクチュエータ41を用いて設定することができる。

[0119] また、カメラ60および／またはカメラ70に代えて、または、カメラ60および／またはカメラ70とあわせて、流路撮像用カメラ42を用いてノズル49の位置を設定してもよい。例えば、ノズル49の z 位置の調整は、流路撮像用カメラ42を用いて、ノズル49の先端および容器25の底面をノズル49の横方向から撮像して、 z 位置を設定してもよい。さらに、流路撮像用カメラ42を用いて、ノズル49の横方向から撮像することによって、気泡の形状または流路51の液量などを確認してもよい。ノズル用アクチュエータ40がノズル49を予め設定した位置に移動した後で、体積制御部200は処理をS215に進める。

[0120] 次に、S215において、流路撮像用カメラ42は、ノズル49の端部254の画像を撮像する。流路撮像用カメラ42は、撮像した画像を画像処理

部300に送る。画像処理部300は画像を、記録部190に記録し、および／または、体積制御部200に出力してよい。

[0121] 次に、S220において、体積制御部200は、撮像されたノズル49の端部254の画像に基づいて、ノズル49の位置が、予め設定した位置と異なるか否かを判断する。例えば、体積制御部200が、撮像されたノズル49の端部254の画像と、予め設定した設定xyz位置（すなわち初期位置）におけるノズル49の端部254の画像とから位置の差分を算出し、差分が閾値以上であれば、ノズル49の位置が初期位置と異なる判断する。

[0122] ノズル49の位置が初期位置と異なる判断する場合は、体積制御部200は処理をS225に進め、そうでない場合は処理をS300に進める。

[0123] S225において、体積制御部200は、ノズル用アクチュエータ40の動作量を決定する。例えば、体積制御部200は、ノズル用アクチュエータ40に、ノズル49を予め設定したxyz位置（すなわち初期位置）へ動作させるため、ノズル用アクチュエータ40の動作量を決定し、決定した動作量だけ動作するよう指示を送る。例えば、体積制御部200は、S220で算出した差分の大きさに応じた量の動作量を決定してよい。ノズル用アクチュエータ40は、指示を受け取り、S210に進む。2回目以降のS210では、体積制御部200は、ノズル用アクチュエータ40に、動作量に応じた量の動作をさせる指示を送る。

[0124] 図9Bは、ノズル用アクチュエータ40が感知する負荷に基づいて、ノズル49と操作対象35との間の相対位置を移動させるフローの一例である。

[0125] まず、S230において、体積制御部200は、ノズル用アクチュエータ40に、ノズル49を予め設定した位置へ動作させる指示を送る。ノズル用アクチュエータ40は、z位置を制御するアクチュエータであってよい。この場合、ノズル用アクチュエータ40が感知する負荷の値、接触または近接情報に基づいて、z位置が制御される。ノズル49は、容器25の底面に生物体が存在しない領域の上方に位置してよい。ノズル用アクチュエータ40がノズル49を予め設定した位置に移動した後で、体積制御部200は処理

をS 2 3 5に進める。

[0126] 次に、S 2 3 5において、センサー部4 8は、ノズル用アクチュエータ4 0の与える負荷、接触または近接情報を測定し、測定値を体積制御部2 0 0に送る。負荷検出の一例としては、ノズル4 9が容器2 5の底部に到達すると、ノズル用アクチュエータ4 0が感知する負荷が急激に増加する。そのため、ノズル用アクチュエータ4 0が感知する負荷の値を測定することで、体積制御部2 0 0はノズル4 9が容器2 5の底部に到達したかどうかを判断することができる。また、負荷検出の他の一例として、ノズル用アクチュエータ4 0がノズル4 9を下方方向に動かしながら、センサー部4 8が負荷を感知してもよい。なお、センサー部4 8に代えて、ノズル用アクチュエータ4 0が、感知する負荷の値を体積制御部2 0 0に送ってもよい。

[0127] 次に、S 2 4 0において、体積制御部2 0 0は測定した負荷の値が設定負荷以下か否かを判断する。測定した負荷の値が設定負荷以下の場合、体積制御部2 0 0は処理をS 2 4 2に進め、そうでない場合は処理をS 2 4 5に進める。上述したように、体積制御部2 0 0が設定した負荷と測定した負荷との差分を算出し、差分の値が閾値以上の場合、ノズル4 9が容器2 5の底部に到達していないと判断する。

[0128] S 2 4 2において、体積制御部2 0 0は、ノズル用アクチュエータ4 0の動作量を決定する。例えば、体積制御部2 0 0は、ノズル用アクチュエータ4 0に、ノズル4 9を予め設定した位置へ動作させるため、ノズル用アクチュエータ4 0の動作量を決定し、決定した動作量だけ動作するよう指示を送る。例えば、体積制御部2 0 0は、S 2 4 0で算出した差分の大きさに応じた量の動作量を決定してよい。ノズル用アクチュエータ4 0は、指示を受け取り、S 2 3 0に進む。2回目以降のS 2 3 0では、体積制御部2 0 0は、ノズル用アクチュエータ4 0に、動作量に応じた量の動作をさせる指示を送る。

[0129] S 2 4 5において、体積制御部2 0 0は、ノズル4 9の初期z位置を設定する。例えば、体積制御部2 0 0は、最後のS 2 3 0の後からノズル4 9の

z位置を動かさずに、これを初期z位置としてよい。これに代えて、体積制御部200は、ノズル49を容器25の底面から予め設定した任意の距離だけ、z方向に動かし、その位置を初期z位置としてよい。これによりノズル49の初期z位置は、底面から任意の距離だけ上方に位置するものとなる。例えば、任意の距離は、ノズル49の端部254に形成される気泡の半径以下であってよい。体積制御部200がノズル49の初期z位置を設定した後で、体積制御部200は処理をS250に進める。

[0130] 次に、S250において、体積制御部200は、ノズル用アクチュエータ40に、ノズル49を予め設定した設定xyz位置（すなわち初期位置）へ動作させる指示を送る。ノズル49の移動は、xy平面上で移動するものであってよい。この場合、z位置の制御は、ノズル用アクチュエータ40が感知する負荷の値に基づいて制御される。また、ノズル49の移動は、xy平面上の移動に加え、必要に応じてz方向に移動することを含んでもよい。ノズル用アクチュエータ40がノズル49を設定xyz位置に移動した後で、体積制御部200は処理をS252に進める。

[0131] 次に、S252において、流路撮像用カメラ42は、ノズル49の端部254の画像を撮像する。流路撮像用カメラ42は、撮像した画像を画像処理部300に送る。画像処理部300は画像を、記録部190に記録し、および／または、体積制御部200に出力してよい。

[0132] 次に、S254において、体積制御部200は、撮像されたノズル49の端部254の画像に基づいて、ノズル49の位置が、予め設定した位置と異なるか否かを判断する。例えば、体積制御部200が、撮像されたノズル49の端部254の画像と、予め設定した設定xyz位置（すなわち初期位置）におけるノズル49の端部254の画像とから位置の差分を算出し、差分が閾値以上であれば、体積制御部200はノズル49の位置が初期位置と異なる判断する。

[0133] ノズル49の位置が初期位置と異なる判断する場合は、体積制御部200は処理をS256に進め、そうでない場合は処理をS300に進める。

- [0134] S 2 5 6において、体積制御部 2 0 0は、ノズル用アクチュエータ 4 0の動作量を決定する。例えば、体積制御部 2 0 0は、ノズル用アクチュエータ 4 0に、ノズル 4 9を予め設定した設定 x y z 位置（すなわち初期位置）へ動作させるため、ノズル用アクチュエータ 4 0の動作量を決定し、決定した動作量だけ動作するよう指示を送る。例えば、体積制御部 2 0 0は、S 2 5 4で算出した差分の大きさに応じた量の動作量を決定してよい。ノズル用アクチュエータ 4 0は、指示を受け取り、体積制御部 2 0 0は処理を S 2 5 0に進める。2回目以降の S 2 5 0では、体積制御部 2 0 0は、ノズル用アクチュエータ 4 0に、動作量に応じた量の動作をさせる指示を送る。
- [0135] 図 9 Cは、ノズル 4 9の端部 2 5 4に形成された気泡の内圧に基づいて、ノズル 4 9と操作対象 3 5との間の相対位置を移動させるフローの一例である。
- [0136] まず、S 2 6 0において、体積制御部 2 0 0は、ノズル 4 9の端部 2 5 4に気泡を形成するように圧力生成部 4 7を制御する。気泡を形成するに先立って、体積制御部 2 0 0は、ノズル用アクチュエータ 4 0に、ノズル 4 9の端部 2 5 4を液体中へ動作させる指示を送ってよい。S 2 6 0の気泡を形成するステップおよびサブステップは、後述する S 3 0 0のステップおよびサブステップと同一であってよい。
- [0137] 次に、S 2 6 2において、体積制御部 2 0 0は、ノズル用アクチュエータ 4 0に、ノズル 4 9を予め設定した位置へ動作させる指示を送る。ノズル用アクチュエータ 4 0は、z 位置を制御するアクチュエータであってよい。この場合、センサー部 4 8が測定する内圧の値に基づいて、z 位置が制御される。ノズル 4 9は、容器 2 5の底面に生物体が存在しない領域の上方に位置してよい。ノズル用アクチュエータ 4 0がノズル 4 9を予め設定した位置に移動した後で、体積制御部 2 0 0は処理を S 2 6 4に進める。
- [0138] なお、S 2 6 2において、センサー部 4 8が測定する内圧の値に基づいて、ノズル 4 9の先端が液面を検知して z 位置を制御してもよい。体積制御部 2 0 0がノズルの内圧が大気圧以上または以下になるように維持し、ノズル

49の先端が液面に到達すると、液面に触れたことで気液界面の変形による外力により、センサー部48が測定する内圧の値が変化する。そのため、体積制御部200は、気泡の内圧の値を測定することで、ノズル49の先端が液面に到達したかどうかを判断することができる。これにより、ノズル49を移動させる位置を予め設定していない場合であっても体積制御部200はノズル用アクチュエータ40に、液面を基準位置としたz位置制御の指示を送り、ノズル49の位置を移動させることができる。

[0139] 次に、S264において、センサー部48は、形成した気泡の内圧を測定し、測定した気泡の内圧の値を体積制御部200に送る。気泡が容器25の底部に到達すると、底部との相互作用により気泡形状が変形し、気泡の内圧は急激に変化する。そのため、体積制御部200は、気泡の内圧の値を測定することで、気泡が容器25の底部に到達したかどうかを判断することができる。また、内圧測定の他の一例として、ノズル用アクチュエータ40がノズル49を下方方向に動かしながら、センサー部48が内圧を測定してもよいし、体積制御部200が圧力を制御してもよいし、圧力生成部47が作動してもよい。このように同時に動作することにより、底部の検出などを高速化できることや、気泡の形成過程における圧力の変化過程を検出指標とすることが可能になる。なお、センサー部48に代えて、ノズル用アクチュエータ40が、気泡の内圧を測定し、測定した内圧の値を体積制御部200に送ってもよい。

[0140] 次に、S266において、体積制御部200は、測定した気泡の内圧の値が予め設定した内圧の範囲か否かを判断する。測定した内圧の値が予め設定した内圧の範囲外の場合、体積制御部200は処理をS268に進め、そうでない場合は処理をS270に進める。上述したように、体積制御部200が設定した内圧と、測定した気泡の内圧との差分の絶対値を算出し、差分が閾値以上であれば、体積制御部200はノズル49が容器25の底部に到達していると判断する。

[0141] S268において、体積制御部200は、ノズル用アクチュエータ40の

動作量を決定する。例えば、体積制御部200は、ノズル用アクチュエータ40に、ノズル49を予め設定した位置へ動作させるため、ノズル用アクチュエータ40の動作量を決定し、決定した動作量だけ動作するよう指示を送る。例えば、体積制御部200は、S266で算出した差分の大きさに応じた量の動作量を決定してよい。ノズル用アクチュエータ40は、指示を受け取り、S262に進む。2回目以降のS262では、体積制御部200は、ノズル用アクチュエータ40に、動作量に応じた量の動作をさせる指示を送る。

[0142] S270において、体積制御部200は、ノズル49の端部254から気泡を除去するように圧力生成部47を制御する。S270の気泡を除去するステップおよびサブステップは、後述するS500のステップおよびサブステップと同一であってよい。

[0143] 次に、S272において、体積制御部200は、ノズル49の初期z位置を設定する。S272のステップは、S245のステップと同一であってよい。体積制御部200がノズル49の初期z位置を設定した後で、体積制御部200は処理をS274に進める。

[0144] 次に、S274において、体積制御部200は、ノズル用アクチュエータ40に、ノズル49を予め設定した設定xyz位置（すなわち初期位置）へ動作させる指示を送る。ノズル49の移動は、xy平面上で移動するものであってよい。この場合、z位置の制御は、ノズル用アクチュエータ40が測定する内圧の値に基づいて制御される。また、ノズル49の移動は、xy平面上の移動に加え、必要に応じてz方向に移動することを含んでもよい。ノズル用アクチュエータ40がノズル49を予め設定した設定xyz位置に移動した後で、体積制御部200は処理をS276に進める。

[0145] 次に、S276において、流路撮像用カメラ42は、ノズル49の端部254の画像を撮像する。流路撮像用カメラ42は、撮像した画像を画像処理部300に送る。画像処理部300は画像を、記録部190に記録し、および／または、体積制御部200に出力してよい。

- [0146] 次に、S 2 8 0において、体積制御部 2 0 0は、撮像されたノズル 4 9の端部 2 5 4の画像に基づいて、ノズル 4 9の位置が、予め設定した位置と異なるか否かを判断する。例えば、体積制御部 2 0 0が、撮像されたノズル 4 9の端部 2 5 4の画像と、予め設定した設定 x y z 位置（すなわち初期位置）におけるノズル端部 2 5 4の画像とから位置の差分を算出し、差分が閾値以上であれば、体積制御部 2 0 0はノズル 4 9の位置が初期位置と異なると判断してよい。
- [0147] ノズル 4 9の位置が初期位置と異なると判断する場合は、体積制御部 2 0 0は処理を S 2 8 2に進め、そうでない場合は処理を S 3 0 0に進める。
- [0148] S 2 8 2において、体積制御部 2 0 0は、ノズル用アクチュエータ 4 0の動作量を決定する。例えば、体積制御部 2 0 0は、ノズル用アクチュエータ 4 0に、ノズル 4 9を予め設定した設定 x y z 位置（すなわち初期位置）へ動作させるため、ノズル用アクチュエータ 4 0の動作量を決定し、決定した動作量だけ動作するよう指示を送る。例えば、体積制御部 2 0 0は、S 2 8 0で算出した差分の大きさに応じた量の動作量を決定してよい。ノズル用アクチュエータ 4 0は、指示を受け取り、体積制御部 2 0 0は処理を S 2 7 4に進める。2回目以降の S 2 7 4では、体積制御部 2 0 0は、ノズル用アクチュエータ 4 0に、動作量に応じた量の動作をさせる指示を送る。
- [0149] S 3 0 0において、体積制御部 2 0 0は、気液界面 2 5 5を拡大するよう圧力生成部 4 7を制御する。例えば、気液界面 2 5 5を拡大することは、気泡を形成することを含んでよい。気泡を形成するに先立って、体積制御部 2 0 0は、ノズル用アクチュエータ 4 0に、ノズル 4 9の端部 2 5 4を液体中へ動作させる指示を送ってよい。S 3 0 0において、気液界面 2 5 5を拡大するステップは、図 1 0 Aに示すように、S 3 2 0から S 3 4 2のステップを含むか、または、図 1 0 Bに示すように、S 3 7 0から S 3 9 2のステップを含む。
- [0150] 図 1 0 Aは、ノズル 4 9の端部 2 5 4の位置を撮像した画像に基づいて、気液界面 2 5 5を拡大するフローの一例である。

- [0151] S 3 2 0において、体積制御部 2 0 0は、流路 5 1に接続された圧力生成部 4 7に、流路 5 1の先端の気液界面 2 5 5を拡大（気泡を形成）させる指示を送る。例えば、体積制御部 2 0 0は、圧力生成部 4 7に、予め設定した距離だけシリンジポンプのプランジャーを押すか、または、予め設定した圧力になるまでシリンジポンプのプランジャーを押すように、圧力生成部 4 7のアクチュエータに指示を送る。その結果、シリンジポンプから押し出された気体が流路 5 1に給気され、流路 5 1の先端の気液界面 2 5 5が拡大（気泡が形成）される。気液界面 2 5 5が拡大（気泡が形成）された後で、体積制御部 2 0 0は処理を S 3 3 0に進める。
- [0152] 次に、S 3 3 0において、流路撮像用カメラ 4 2は、ノズル 4 9の端部 2 5 4に形成された気泡の画像を撮像する。流路撮像用カメラ 4 2は、撮像した画像を画像処理部 3 0 0に送る。画像処理部 3 0 0は画像を、記録部 1 9 0に記録し、および／または、体積制御部 2 0 0に出力してよい。
- [0153] 次に、S 3 4 0において、体積制御部 2 0 0は、撮像した気泡の画像に基づいて、形成された気泡の形状が、予め設定した気泡の形状と異なるか否かを判断する。体積制御部 2 0 0は、設定したノズル 4 9内の内圧、ノズル 4 9の端部 2 5 4の内径、ノズル 4 9の濡れ性（液体の接触角）、液体の種類、および気体の種類などの情報から、ノズル 4 9の端部 2 5 4に形成される気泡の形状を予測する。例えば、体積制御部 2 0 0は、撮像した気泡の画像と、上記の情報から予測した気泡の形状とを比較することで、形成された気泡の形状が設定された気泡の形状と異なるかどうかを判断してよい。
- [0154] 形成された気泡の形状が、設定された気泡の形状と異なる場合は、体積制御部 2 0 0は処理を S 3 4 2に進め、そうでない場合は S 4 0 0に進める。
- [0155] S 3 4 2において、体積制御部 2 0 0は、圧力生成部 4 7のシリンジポンプのプランジャーの動作量を決定する。例えば、体積制御部 2 0 0は、ノズル 4 9の先端に形成される気泡を、予め設定した形状となるように形成させるため、圧力生成部 4 7のシリンジポンプのプランジャーの動作量（例えば、シリンジポンプのプランジャーを押す距離または引く距離）を決定する。

体積制御部200は、決定した動作量だけ動作するように、圧力生成部47に指示を送る。例えば、体積制御部200は、S340で算出した差分の大きさに応じた量の動作量を決定してよい。

[0156] 動作量は、圧力生成部47のアクチュエータの動作量であってよく、または、シリンジポンプに負荷される追加の圧力であってもよい。圧力生成部47は、指示を受け取り、体積制御部200は処理をS320に進める。2回目以降のS320では、圧力生成部47は、動作量に応じた量の動作を行う。

[0157] 図10Bは、ノズル49内の内圧に基づいて、気液界面255を拡大するフローの一例である。

[0158] S370のステップは、S320のステップと同一であってよい。S370を終えて、体積制御部200は処理をS380に進める。

[0159] 次に、S380において、センサー部48は、ノズル49内の内圧を測定し、測定したノズル49内の内圧の値を体積制御部200に送る。なお、センサー部48に代えて、ノズル用アクチュエータ40が、ノズル49内の内圧を測定し、測定した内圧の値を体積制御部200に送ってもよい。

[0160] 次に、S390において、体積制御部200は、測定したノズル49内の内圧の値が予め設定した内圧の範囲か否かを判断する。測定した内圧の値が設定した内圧の範囲外の場合、体積制御部200は処理をS392に進め、そうでない場合は処理をS400に進める。例えば、体積制御部200は、予め設定した内圧と、測定したノズル49内の内圧との差分を算出し、差分が閾値以上であれば、設定された内圧に達していないと判断してよい。

[0161] S392において、体積制御部200は、設定したノズル49内の内圧を実現させるため、圧力生成部47のシリンジポンプのプランジャーの動作量（例えば、シリンジポンプのプランジャーを押し距離または引く距離）を決定する。体積制御部200は、決定した動作量だけ動作するように、圧力生成部47に指示を送る。例えば、体積制御部200は、S390で算出した差分の大きさに応じた量の動作量を決定してよい。

- [0162] 動作量は、圧力生成部47のアクチュエータの動作量であってよく、または、シリンジポンプに負荷される追加の圧力であってもよい。圧力生成部47は、指示を受け取り、体積制御部200は処理をS370に進める。2回目以降のS370では、圧力生成部47は、動作量に応じた量の動作を行う。
- [0163] S400において、操作部101は、操作対象35に対して操作を実行する。例えば、体積制御部200は、入力部180を介して受け取った指示に基づいて、操作部101に、操作対象35に対して操作を実行するよう指示を送る。S400において、操作を実行するステップは、図11Aに示すように、S410からS460のステップを含む。例えば、操作は、不要な細胞の除去、細胞膜および／または細胞膜の回収または移動、細胞の回収、細胞の保持、または細胞の圧迫であってよい。
- [0164] 図11Aは、操作対象35に対して操作を実行するフローの一例である。図11Aでは操作対象35が細胞である場合の例を説明する。なお、操作対象35は細胞に限らず、他の生物体であってもよい。
- [0165] まず、S410において、S140で不要な細胞を除去するよう指示を受けていた場合は、情報処理装置170は処理をS412に進める。S410において、S140で不要な細胞を除去しないよう指示を受けていた場合は、情報処理装置170は処理をS420に進める。
- [0166] S412において、体積制御部200は形成した気泡に細胞を付着させて除去する。
- [0167] 例えば、体積制御部200は、ノズル用アクチュエータ40に、ノズル49の位置を目的とする細胞の存在する位置へxyz方向に移動させるよう指示を送る。ノズル用アクチュエータ40がノズル49を目的とする位置へ移動した後で、体積制御部200は、ノズル49および／またはステージを移動させて、気泡の気液界面255と細胞とを接触させてよい。
- [0168] 一例として、ノズル用アクチュエータ40、またはサンプル用アクチュエータ41は、カメラ60、またはカメラ70が目的とする細胞を撮像した画

像から、目的とする細胞の存在する位置を特定して、ノズル49の中心を目的とする位置に合わせるように移動する。細胞を当該気泡の気液界面255に接触した後は、ノズル用アクチュエータ40は図4の290aから290cに示すように、目的とする細胞を流路51に回収し、液体格納部54は、これらの細胞を液体格納部54の液体廃棄部に廃棄してよい。

[0169] また、他の一例として、体積制御部200は、S300のステップおよびサブステップで予め定められた大きさの気液界面255を形成し、気液界面255を拡大するよう制御することで細胞を気液界面255に付着させ、剥離してもよい。液体制御部260が不要な細胞を除去した後で、体積制御部200は処理をS500に進める。

[0170] S420において、S140で細胞質および／または細胞膜を回収するよう指示を受けていた場合は、体積制御部200は処理をS422に進め、そうでない場合は、処理をS430に進める。

[0171] S422において、体積制御部200は、形成した気泡を用いて、細胞質および／または細胞膜を分離し、これらを当該気泡に付着させて回収する。例えば、体積制御部200は、圧力生成部47を制御して流路51の先端に気泡を形成させ、当該気泡に目的とする細胞を付着させる。次に、体積制御部200は、気泡により細胞を圧迫して細胞質および／または細胞膜部分だけを切り離し、気泡に付着させる。例えば、体積制御部200は、圧力生成部47を制御して気泡の内圧を上昇させるか、気泡を拡大させるか、または、ノズル用アクチュエータ40を制御してノズル49を細胞に向けて動かし、気泡を細胞に押し付けることにより、細胞を圧迫させる。その後、体積制御部200が、圧迫により細胞の外側に膨れ出た細胞の一部を、気液界面で細胞から切り離すように動かすことで、細胞質および／または細胞膜部分を細胞から切り離す。これにより、体積制御部200は、ノズル用アクチュエータ40、または圧力生成部47を制御して、操作対象35のうちの必要な細胞質および／または細胞膜を切り取らせる。

[0172] 例えば、体積制御部200は、ノズル用アクチュエータ40に、ノズル4

9を初期位置から目的とする細胞の存在する位置へx y z方向に移動させるよう指示を送ってよい。ノズル用アクチュエータ40がノズル49を目的とする位置へ移動した後、体積制御部200は、ノズル用アクチュエータ40、またはサンプル用アクチュエータ41により、ノズル49および／またはステージを移動させて、当該気泡の気液界面255と細胞とを接触させてよい。一例として、体積制御部200は、カメラ60またはカメラ70が目的とする細胞を撮像した画像から、目的とする細胞の存在する位置を特定して、ノズル49の中心を目的とする位置に合わせるようにノズル用アクチュエータ40を制御して、ノズル49を移動する。ここで、目的とする細胞の存在する位置を特定することは、操作者により行われてよい。この場合、体積制御部200は、入力部180から、目的とする細胞が存在する位置についての操作者による入力を受け取り、位置を特定してよい。

- [0173] 細胞膜には、膜成分を構成する脂質の組成の違いにより、相対的に柔らかい物性を示す部分と、相対的に硬い物性を示す部分が存在することが知られている。体積制御部200がノズル用アクチュエータ40、または圧力生成部47を制御して、気泡により細胞を圧迫させる。ここで、気泡による細胞の圧迫は、体積制御部200が、S300のステップおよびサブステップで予め定められた大きさの気液界面255を形成し、気液界面255を拡大するよう制御することで細胞を気液界面255に付着させ、圧迫してもよい。次に、細胞膜の相対的に柔らかい物性を示す部分が外側に膨らむことを利用して、気液界面255を用いて膨らんだ部分を付着させ、細胞から離れる方向に動かすことで細胞膜を切り離し、細胞膜を気液界面255に付着させたまま、流路51に回収してよい。また、このようにして細胞膜を切り取る際は、細胞膜は内側から細胞質に押されることにより膨らむため、切り離れた細胞膜は細胞質成分を内側に含んでおり、細胞質成分を流路51に回収することもできる。ノズル用アクチュエータ40が必要な細胞質および／または細胞膜部分を切り離れた後で、体積制御部200は処理をS434に進める。

[0174] 図11Bは、本実施形態により、細胞から細胞質および細胞膜を回収する様子を示す。体積制御部200が圧力生成部47およびノズル用アクチュエータ40を制御することで、容器25の固相に培養されている、HeLa細胞（ヒト子宮頸部がん細胞）を、気泡の気液界面255に接触させるべく、細胞とノズル49との相対位置を近づけた（802a）。次に、体積制御部200が、気液界面255を細胞に押し付けるように制御することで、細胞を圧迫した（802b）。このとき、圧迫により、細胞膜の柔らかい部分が外側に膨らむ様子が観察された（802bの矢印）。次に、この膨らんだ部分を、細胞から離れる方向に気液界面255を動かすことで、膨らんだ部分にある細胞質および細胞膜を切り離す（802cの矢印）。最後に、切り離れた細胞質および細胞膜を気液界面255に付着させて回収した（802d）。なお、図11Bの動作を行う場合、気液界面255を拡大することにより動作を行ってもよいし、ノズル49を移動することにより動作を行ってもよいし、ステージを移動することにより動作を行ってもよい。

[0175] 次に、S434において、体積制御部200は、S140で受けた指示が連続して操作対象35の細胞質および／または細胞膜を回収することを含むか否か判断する。体積制御部200は、判断が肯定的な場合は、処理をS435に進め、判断が否定的な場合は、S500に進める。

[0176] S435において、体積制御部200は、ノズル49の端部254に形成した気泡を除去するよう圧力生成部47を制御する。ここで、気泡を除去する際に、操作対象35の回収が同時に行われてよい。例えば、操作対象35は、流路51内に存在する液体中に回収されてよい。体積制御部S435の気泡を除去するステップおよびサブステップは、S500のステップおよびサブステップと同一であってよく、その詳細については、後述する。

[0177] 次に、S436において、体積制御部200は、ノズル49の端部254に新たな気泡を形成するため、気体の吸気を行うよう圧力生成部47およびノズル用アクチュエータ40を制御する。体積制御部200はノズル用アクチュエータ40に、ノズル49を液体から取り出すよう指示を送る。ノズル

用アクチュエータ40が、ノズル49を液体から取り出した後で、圧力生成部47は、必要な量の気体を吸気するようにシリンジポンプのプランジャーを引いてよい。

[0178] 次に、S437において、体積制御部200は、ノズル49の端部254に新たな気泡を形成するよう圧力生成部47を制御する。S437のステップおよびサブステップについては、既に説明したS300の内容が適用されてよい。圧力生成部47がノズル49の端部254に気泡を形成した後で、体積制御部200は処理をS420のステップに進める。

[0179] S430において、体積制御部200は、S140で細胞を回収するよう指示を受けているか否か判断する。体積制御部200は、判断が肯定的な場合は、S432に進め、判断が否定的な場合は、体積制御部200は処理をS440に進める。

[0180] S432において、体積制御部200は、圧力生成部47を制御して気泡を形成し、当該気泡に細胞を付着させる。体積制御部200は必要に応じて、気泡に付着した細胞を固相から剥離してよい。

[0181] 例えば、体積制御部200は、ノズル用アクチュエータ40に、ノズル49を初期位置から目的とする細胞の存在する位置へxyz方向に移動させるよう指示を送る。ノズル用アクチュエータ40がノズル49を目的とする位置へ移動した後、体積制御部200は、圧力生成部47を制御して流路51に気体を給気させ、流路51の先端に気泡を形成させる。次に、体積制御部200は、ノズル用アクチュエータ40、またはサンプル用アクチュエータ41を制御して、ノズル49またはステージを移動させて、気泡の気液界面255と細胞とを接触させてよい。

[0182] 一例として、ノズル用アクチュエータ40、またはサンプル用アクチュエータ41は、カメラ60、またはカメラ70が目的とする細胞を撮像した画像から、目的とする細胞の存在する位置を特定して、ノズル49の中心を目的とする位置に合わせるように移動する。ノズル用アクチュエータ40、またはサンプル用アクチュエータ41がノズル49を目的とする位置へ移動し

た後、体積制御部200は、圧力生成部47を制御して流路51に気体を給気させて、流路51の先端に気泡を形成させる。次に、体積制御部200は、ノズル用アクチュエータ40、またはサンプル用アクチュエータ41により、ノズル49および/またはステージを移動させて、気泡の気液界面255と細胞とを接触させてよい。例えば、細胞を当該気泡の気液界面255に接触させた後は、ノズル用アクチュエータ40は気液界面255を移動させることなどにより、必要に応じて細胞を剥離してよい。

[0183] ここで、細胞の回収は、液体と気泡との界面である気液界面255を細胞に付着させ、流路51内に気液界面255を取り込むことにより行われてよい。例えば、細胞の回収は、液体と気泡との界面である気液界面255を細胞に付着させ、流路51内にある気体を吸気して、流路51内に気液界面255を取り込むことにより行われてよい。例えば、細胞を気液界面255に接触させた後、予め設定した時間を経過してから、流路51内に気液界面255を取り込むことにより、目的とする細胞を回収してよい。一例として、予め設定した時間は、10秒であってよいし、20秒であってよいし、30秒であってよいし、30秒以上であってもよい。

[0184] 体積制御部200が、圧力生成部47を制御して気泡を形成し、当該気泡に細胞を付着させた後で、体積制御部200は処理をS434に進める。S434以降のステップについては、既に説明した内容が適用されてよい。なお、この場合、S434のステップでは、連続回収するものが細胞質のみ、または細胞のみに限らず、細胞質および細胞の両方であってもよい。

[0185] 図11Cは、本実施形態により、株化細胞を気泡に付着して剥離する様子を示す。体積制御部200が圧力生成部47およびノズル用アクチュエータ40（または、ノズル用アクチュエータ40に代えてサンプル用アクチュエータ41）を制御することで、容器25の固相に培養されているHeLa細胞を、気泡の気液界面255に接触させるべく、細胞とノズル49との相対位置を近づけた(804a)。次に、細胞が気泡の気液界面255に接触した(804b)。次に、ノズル用アクチュエータ40は気液界面255を移

動させ（804c）、細胞を気液界面255に付着させて剥離した（804d）。なお、図11Cの動作を行う場合、気液界面255を拡大することにより動作を行ってもよいし、ノズル49を移動することにより動作を行ってもよいし、ステージを移動することにより動作を行ってもよい。

[0186] 図11Dは、S430→S432→S434→S435→S436→S437を繰り返す場合の模式図を示す。連続して細胞質および／または細胞膜を回収する場合、および、連続して細胞を回収する場合、図11Dの模式図に示されるように行われてよい。810aにおいて、ノズル用アクチュエータ40がノズル49を液体中に入れた後で、体積制御部200は圧力生成部47を制御し、シリンジポンプ（図示せず）に給気させることでノズル49の端部254に気泡を形成する。次に、容器25の底面に接着している細胞を、当該気泡の気液界面255に付着させて剥離し、シリンジポンプに気体（例えば、空気）を吸気させることにより流路51に回収する。次に、810bにおいて、ノズル用アクチュエータ40はノズル49を液体から引き上げ、シリンジポンプは流路51に気体を吸引する。次に、810cにおいて、ノズル用アクチュエータ40がノズル49を液体中に入れた後で、シリンジポンプはノズル49の端部254に給気することで新たな気泡を形成し、容器25の底面に接着している細胞を、当該気泡の気液界面255に付着させることにより回収する。このようにして、体積制御部200は圧力生成部47およびノズル用アクチュエータ40を制御することで、気体を介して、2つの細胞（集団）が混ざることなく、連続的に流路51内に回収することができる。実際に、この方法により、2つの細胞（集団）を、間に空気をはさんで回収した写真も示す。なお、図11Dでは、ノズル49を移動する場合を例にして説明したが、ノズル49を移動する代わりに、ステージを移動して図11Dの動作を行ってもよい。

[0187] 図11Eは、本実施形態により、株化細胞を回収し、回収した株化細胞を培養した継代の様子を示す。体積制御部200が圧力生成部47およびノズル用アクチュエータ40を制御することで、株化細胞であるHeLa細胞（

ヒト子宮頸部がん細胞、820a)、HT29細胞(ヒト大腸がん細胞、820b)、およびKatolll細胞(ヒト胃印環細胞がん細胞、820c)を、容器25の固相から気泡の気液界面255を用いて付着、剥離および回収し、他の容器中の培地に放出して1.5日(820a、および820b)、および2日(820c)培養した。いずれの細胞も、継代後、細胞が増殖していることを確認した。つまり、本実施形態により、気泡の気液界面255を用いて株化細胞を剥離しても、細胞の生存性にダメージを与えることなく、細胞を増殖させることができた。なお、図11Eの動作を行う場合、ノズル49を移動することにより動作を行ってもよいし、ステージを移動することにより動作を行ってもよい。

[0188] 図11Fは、本実施形態により、iPS細胞を回収し、回収したiPS細胞を継代した様子を示す。体積制御部200が圧力生成部47およびノズル用アクチュエータ40を制御することで、培養したiPS細胞のコロニーを、容器25の固相から気泡の気液界面255を用いて付着、剥離および回収し、他の容器中の液体培地中に放出して4日間培養した後に透過像を観察した。また、比較例として、iPS細胞を通常の細胞継代方法(メカニカルパッセージ)により継代したものをを用いた。その結果、本実施形態のiPS細胞(830a)および比較例のiPS細胞(830b)との間に、形態学的な違いは認められなかった。また、10日間培養した後に、本実施形態および比較例のiPS細胞をアルカリホスファターゼ染色した。さらに、本実施形態および比較例のiPS細胞の継代を3回行って、30日間培養した後に、本実施形態および比較例のiPS細胞をアルカリホスファターゼ染色した。その結果、本実施形態のiPS細胞(10日間培養したものが831a、30日間培養したものが832a)と比較例のiPS細胞(10日間培養したものが831b、30日間培養したものが832b)との間に、染色性の違いは認められなかった。未分化で自己複製能を維持したiPS細胞では、アルカリホスファターゼが高発現していることが知られている。つまり、本実施形態により、気液界面255を用いてiPS細胞を剥離回収しても、未

分化能の維持性に影響を与えることなく、iPS細胞が未分化な状態を維持したまま増殖させることができた。なお、図11Fの動作を行う場合、ノズル49を移動することにより動作を行ってもよいし、ステージを移動することにより動作を行ってもよい。

[0189] 図11Gは、本実施形態により、株化細胞を回収し、回収した細胞を解析した様子を示す。株化細胞であるHeLa細胞を容器25の固相から気泡の気液界面255を用いて剥離回収した。体積制御部200が圧力生成部47およびノズル用アクチュエータ40を制御することで、HeLa細胞を固相から1細胞、4細胞、および8細胞選択して気泡の気液界面255を用いて剥離し、これらの細胞をそれぞれ7.5nLの液体培地とともに回収した(835a)。次に、回収したHeLa細胞を12.5μLの細胞溶解試薬に放出し、細胞を溶解した(835b)。HeLa細胞を溶解した細胞溶解液中で、β-アクチンのmRNAから、cDNAを合成し、PCR反応を行った(835c)。その結果、回収した細胞数に概ね比例したcDNAの量を検出することができた。つまり、本実施形態により、気液界面255を用いて細胞を1細胞または任意の細胞数を回収して、分子生物学的解析を行うことができた。なお、図11Gの動作を行う場合、ノズル49を移動することにより動作を行ってもよいし、ステージを移動することにより動作を行ってもよい。

[0190] 次に、S440において、体積制御部200は、S140で細胞を保持および撮像するよう指示を受けているか否か判断する。体積制御部200は、判断が肯定的な場合は、処理をS442に進め、判断が否定的な場合は、処理をS450に進める。

[0191] S442において、体積制御部200は、形成した気泡に細胞を付着させ、付着した細胞を保持するよう制御する。例えば、体積制御部200は、ノズル用アクチュエータ40に、ノズル49を初期位置から目的とする細胞の存在する位置へxyz方向に移動させるよう指示を送る。ノズル用アクチュエータ40がノズル49を目的とする位置へ移動した後、体積制御部200

は、圧力生成部 47 を制御して流路 51 に気体を給気させて、流路 51 の先端に気泡を形成させる。体積制御部 200 は、ノズル用アクチュエータ 40、またはサンプル用アクチュエータ 41 により、ノズル 49 および／またはステージを移動させて、当該気泡の気液界面 255 と細胞とを接触させてよい。一例として、ノズル用アクチュエータ 40、またはサンプル用アクチュエータ 41 は、カメラ 60、またはカメラ 70 が目的とする細胞を撮像した画像から、目的とする細胞の存在する位置を特定して、ノズル 49 の中心を目的とする位置に合わせるように移動する。細胞を当該気泡の気液界面 255 に接触した後は、体積制御部 200 は処理を S444 に進める。

[0192] ここで、目的とする細胞の存在する位置を特定することは、操作者により行われてよい。この場合、体積制御部 200 は、入力部 180 から、目的とする細胞が存在する位置についての操作者による入力を受け取り、位置を特定してよい。また、上記の例では、気泡の先端面を細胞に接触させる場合を記載したが、気泡と細胞との接触は、気泡の側面を細胞に接触させることにより行ってもよい。この場合は、ノズル用アクチュエータ 40、またはサンプル用アクチュエータ 41 は、ノズル 49 の中心を、目的とする細胞の近傍に合わせるように移動してよい。また、例えば、細胞を当該気泡の気液界面 255 に接触させた後は、ノズル用アクチュエータ 40 は気液界面 255 を移動させることなどにより、必要に応じて細胞を剥離してもよい。

[0193] 次に、S444 において、撮像制御部 171 はカメラ 60、またはカメラ 70 に、気泡に保持された細胞を撮像するよう指示を送る。カメラ 60、またはカメラ 70 は画像を撮像し、画像を画像処理部 300 に送る。画像処理部 300 は画像を、記録部 190 に記録し、および／または、体積制御部 200 に出力してよい。

[0194] カメラ 60、またはカメラ 70 が保持した細胞を撮像した後で、体積制御部 200 は処理を S500 に進める。

[0195] 図 11H は、株化細胞を気泡の気液界面 255 に保持し、観察する様子を示した模式図である。浮遊細胞または弱く接着した細胞は僅かな振動などで

培溶液中を自由に動くため、そのままでは顕微鏡などを用いて観察することが難しい。840aにおいて、体積制御部200はノズル用アクチュエータ40を制御することで、浮遊細胞（操作対象35）を培養する容器25中の液体培地中にノズル49の端部254を入れる。次に、圧力生成部47が流路51に気体を給気することでノズル49の先端に気泡を形成し、気液界面255を形成する。体積制御部200はノズル用アクチュエータ40または圧力生成部47を制御することで、形成した気液界面255に操作対象35となる浮遊細胞を付着させる。次に、840bにおいて、圧力生成部47は、気泡の内圧を制御して、当該気泡の気液界面255に細胞を一時的に保持する。次に、840cにおいて、圧力生成部47が流路51から気体を吸気することで気泡を縮小させる。その状態で保持された細胞は、顕微鏡などを用いて観察することができる。あるいは、圧力生成部47が気泡を縮小させずに、細胞を保持し、顕微鏡などを用いて保持された細胞を観察してもよい。このように、本実施形態により、細胞を気泡の気液界面255に保持することで、細胞を動かさずに観察することができる。

[0196] また、容器25の固相に散らばった接着細胞の場合、顕微鏡などで観察するには、ステージを動かして広い視野で観察する必要がある。842aにおいて、体積制御部200はノズル用アクチュエータ40を制御することで、接着細胞（操作対象35）を培養する容器25の液体培地中にノズル49の端部254を入れる。次に、圧力生成部47が流路51に気体を給気することでノズル49の先端に気泡を形成し、気液界面255を形成する。次に、体積制御部200はノズル用アクチュエータ40または圧力生成部47を制御することで、気液界面255を制御して、細胞を気液界面255に付着させて剥離する。次に、842bにおいて、圧力生成部47は、当該気泡の気液界面255に細胞を一時的に保持する。次に、842cにおいて、圧力生成部47が流路51から気体を吸気することで気泡を縮小させる。このような状態で保持された細胞は、同じz位置の平面の狭い範囲に細胞が存在することで顕微鏡などを用いて一斉に観察することができる。このように、本実

施形態により、細胞を気泡の気液界面に保持することで、観察すべき視野を小さくすることができる。

[0197] このような観察手法の一例として、浮遊細胞であるK a t o l l l細胞を固相に散らばらせ、一部の細胞を気液界面255に付着させた(844a)。その後、体積制御部200が圧力生成部47を介して気泡の内圧を制御することで、気泡を縮小しながら気液界面255に細胞を保持し、保持した細胞に焦点を合わせると、周りの細胞は焦点から外れた(844b)。このとき、ステージを動かすと、周りの細胞は動くが、気液界面255に保持した細胞は動かないため、保持した細胞を顕微鏡で観察することが容易になる(844c)。

[0198] S450において、体積制御部200は、S140で細胞を圧迫および撮像するよう指示を受けているか否か判断する。体積制御部200は、判断が肯定的な場合は、S452に進め、判断が否定的な場合は、処理をS460に進める。

[0199] S452において、体積制御部200は、圧力生成部47およびノズル用アクチュエータ40を制御して、気泡を用いて細胞を圧迫する。例えば、体積制御部200は、圧力生成部47を制御して流路51の先端に気泡を形成させ、当該気泡を操作対象35となる細胞に接触させる。なお、図11Hの動作を行う場合、ノズル49を移動することにより動作を行ってもよい、ステージを移動することにより動作を行ってもよい。

[0200] 一例として、体積制御部200は、ノズル用アクチュエータ40に、ノズル49を初期位置から目的とする細胞の存在する位置へxyz方向に移動させるよう指示を送る。一例として、体積制御部200は、カメラ60またはカメラ70が目的とする細胞を撮像した画像から、目的とする細胞の存在する位置を特定して、ノズル49の中心を目的とする位置に合わせるようにノズル用アクチュエータ40を制御して、ノズル49を移動する。

[0201] ここで、目的とする細胞の存在する位置を特定することは、操作者により行われてよい。この場合、体積制御部200は、入力部180から、目的と

する細胞が存在する位置についての操作者による入力を受け取り、位置を特定してよい。また、気泡と細胞との接触は、気泡の先端面を細胞に接触させることにより行ってもよいし、気泡の側面を細胞に接触させることにより行ってもよい。気泡の先端面を細胞に接触させる場合は、ノズル用アクチュエータ40、またはサンプル用アクチュエータ41は、ノズル49の中心を、目的とする細胞の真上に合わせるように移動してよい。気泡の側面を細胞に接触させる場合は、ノズル用アクチュエータ40、またはサンプル用アクチュエータ41は、ノズル49の中心を、目的とする細胞の近傍に合わせるように移動してよく、この場合は、細胞の横で気泡を形成し、ノズル49を移動して横から徐々に細胞を圧迫することができる。

[0202] 次に、ノズル用アクチュエータ40がノズル49を目的とする位置へ移動した後、体積制御部200は、圧力生成部47を制御して流路51に気体を給気させて、目的とする位置において流路51の先端に気泡を形成させる。体積制御部200は、ノズル用アクチュエータ40、またはサンプル用アクチュエータ41により、ノズル49および／またはステージを移動させて、当該気泡の気液界面255と細胞とを接触させてよい。ノズル49の位置を固定する場合は、ステージを移動することにより、気液界面255と細胞とを接触させてよい。体積制御部200が圧力生成部47を介して気液界面255を拡大するよう制御することで、細胞を気液界面255に接触させてもよい。

[0203] 一例として、体積制御部200は、予め設定した動作量で圧力生成部47のシリンジポンプのプランジャーを動作させて、予め設定した体積の気泡を形成してから、当該ノズル49を気泡が細胞を圧迫する位置に位置するように、ノズル用アクチュエータ40、またはサンプル用アクチュエータ41により、ノズル49および／またはステージを移動させる。次に、体積制御部200は、圧力生成部47を制御して、流路51の先端に形成した気泡を拡大させるか、または、ノズル用アクチュエータ40を制御してノズル49を細胞に向けて動かし、気泡を細胞に押し付けることにより、細胞を圧迫させ

てよい。

[0204] また、一例として、体積制御部200は、細胞のごく近くにノズル49を移動させた後に、圧力生成部47を制御して、流路51の先端に予め設定した体積の気泡を形成させることで細胞を圧迫させてもよい。

[0205] 次に、S454において、撮像制御部171はカメラ60、またはカメラ70に、圧迫した細胞を撮像するよう指示を送る。カメラ60、またはカメラ70は、画像を撮像し、画像を画像処理部300に送る。画像処理部300は画像を、記録部190に記録し、および／または、出力部160に出力してよい。

[0206] また、これに代えて／これに加えて、センサー部48または、ノズル用アクチュエータ40が、気泡が細胞を圧迫する圧力を測定して、測定した圧力の値を体積制御部200に送ってよい。カメラ60、またはカメラ70は、体積制御部200が細胞を圧迫する圧力を変化させながら、画像撮像を繰り返し行ってよい。細胞を圧迫する圧力は、体積制御部200が圧力生成部47を制御して、気泡の内圧および／または体積を変化させることにより、変化させることができる。

[0207] 一例として、体積制御部200は、細胞のごく近くにノズル49を移動させた後に、圧力生成部47を制御して、流路51の先端に気泡を形成し、気泡の内圧および／または体積を変化させて、細胞を圧迫する圧力を保ち、または変化させながら、細胞の全体または細胞のさまざまな部位を圧迫してよい。細胞膜または細胞内のオルガネラの組成や分布によって、細胞のさまざまな部位は硬さが異なることが予想される。このようにして、気泡による圧迫の際の圧力および／または観察像を指標にして、細胞における細胞膜または細胞内のオルガネラの組成や分布を分析することができる。細胞を圧迫することで、細胞の厚みが薄くなり、細胞の深部にある構造物を明瞭に観察することができ、横方向に広がることで近接していた構造が離れて個々に分離観察可能となる。細胞を圧迫しながら観察することで、細胞に加えた力と細胞内外の形態変化量に関する情報を得ることができ、細胞のメカニクスに関

する情報を解析することが可能となる。カメラ60、またはカメラ70が圧迫した細胞を撮像した後で、体積制御部200は処理をS500へ進める。

[0208] 図111は、本実施形態により、気泡を用いて株化細胞を圧迫し、細胞の深部を観察した様子を示す。生きた状態のHT29細胞から形成したスフェロイド(850a)の核と細胞質を染色し、気泡を用いて圧迫することで、核などの細胞の深部にある構造を観察することができた(850b)。特に厚みのある中心部分で比較すると、圧迫前の850aでは中心部分で核が見えないが、圧迫して観察した850bでは中心部分で核が確認できる。従来、細胞の深部にある構造を観察するためには、細胞をホルマリンまたはメタノールなどで固定し、細胞を薄くスライスして観察することや、深部観察に特化した特殊な顕微鏡を用いることで観察することが行われてきた。本実施形態によれば、細胞の深部にある構造を、生きたままの状態、特殊な顕微鏡を用いることなく、深部観察することができる。さらに、圧迫前のスフェロイド(850a)では核同士が密接して個々の核を認識することが難しいが、圧迫して観察したスフェロイド(850b)ではスフェロイドが縦横方向に広がることで、核同士に十分な間隔が生じ、核を独立して認識できた。従来、細胞の内部の近接した2つ以上のオルガネラを独立して認識するために、光学系や蛍光標識方法が工夫された顕微システムが研究開発され、超解像顕微鏡と呼ばれている。これらの顕微鏡技術では解像度は上昇するが、観察視野は狭くなり、撮像時間は長くなる。本実施形態によれば、細胞の内部にある近接した2つ以上のオルガネラを、生きたままの状態、特殊な顕微鏡を用いることなく、観察視野を維持したまま短時間の撮像時間で、独立して認識することができる。また、圧迫した細胞の観察像とメカニクス情報から、もとの細胞の立体的構造を再現することも可能である。

[0209] S460において、体積制御部200は、S140で受けていた指示のうち、S410~S450以外の必要な操作が操作対象35に対して行われるよう操作部101を制御する。例えば、操作は、細胞の接着性の評価や、細胞の分化の誘導などであってよいが、これらについては後述する。S460

を終えて、体積制御部200は処理をS500に進める。

[0210] S500において、体積制御部200は、気液界面255を縮小するよう圧力生成部47を制御する。気液界面255を縮小することは、気泡を除去することを含んでよい。ここで、気泡を縮小または除去する際に、操作対象35の回収が同時に行われてよい。S500において、気液界面255を縮小するステップは、図12Aに示すように、S510からS544のステップを含むか、または、図12Bに示すように、S560からS594のステップを含む。

[0211] 図12Aは、ノズル49の端部254の位置を撮像した画像に基づいて、気液界面255を縮小するフローの一例である。

[0212] S510において、体積制御部200は、圧力生成部47を制御して流路51に対して吸引動作を行わせ、流路51の先端から気液界面255を取り込ませる。このとき液体も同時に取り込まれる。取り込む液体は、操作対象35を気液界面255から離脱するために用いても良い。なお離脱とは操作対象35と気液界面255が接触している状態から接触していない状態に戻すことを含む。取り込む液体は、容器25に収容されている液体など（例えば、培地）であってよいし、液体格納部54に保管されている別の液体であってよい。

[0213] 例えば、体積制御部200は、圧力生成部47に、予め設定した距離だけシリンジポンプのプランジャーを引くか、または、予め設定した圧力になるまでシリンジポンプのプランジャーを引くように、圧力生成部47のアクチュエータに指示を送る。体積制御部200内の体積制御部、または吸気制御部からの指示を受けて、圧力生成部47は、気体を吸気する。その結果、気液界面255が縮小（気泡が除去）され、流路51に気液界面255が取り込まれる。気液界面255が縮小（気泡が除去）された後で、体積制御部200は処理をS520に進める。

[0214] 次に、S520において、流路撮像用カメラ42は、ノズル49の端部254の画像を撮像し、画像を画像処理部300に送る。画像処理部300は

画像を、記録部 190 に記録し、および／または、体積制御部 200 に出力してよい。

[0215] 次に、S530において、体積制御部 200 は、撮像されたノズル 49 の端部 254 の画像に基づいて、流路 51 が取り込んだ気液界面 255 の位置が、体積制御部 200 に予め設定した位置と異なるか否かを判断する。体積制御部 200 は、位置が異なる場合は、処理を S532 に進め、そうでない場合は処理を S540 に進める。例えば、体積制御部 200 が、撮像されたノズル 49 の端部 254 の画像に基づいて算出した気液界面 255 の位置と、予め設定した位置との差分を算出し、差分が閾値以上であれば、体積制御部 200 は流路 51 が取り込んだ気液界面 255 の位置が設定された位置と異なると判断してよい。

[0216] S532において、体積制御部 200 は、圧力生成部 47 のシリンジポンプのプランジャーの動作量を決定する。例えば、体積制御部 200 は、予め設定した気液界面 255 の位置まで気液界面 255 を取り込むため、圧力生成部 47 のシリンジポンプのプランジャーの動作量（例えば、シリンジポンプのプランジャーを押す距離または引く距離）を決定する。体積制御部 200 は、決定した動作量だけ動作するように、圧力生成部 47 に指示を送る。例えば、体積制御部 200 は、S530 で算出した差分の大きさに応じた量の動作量を決定してよい。

[0217] 動作量は、圧力生成部 47 のアクチュエータの動作量であってよく、または、シリンジポンプに負荷される追加の圧力であってもよい。圧力生成部 47 は、指示を受け取り、体積制御部 200 は処理を S510 に進める。2回目以降の S510 では、圧力生成部 47 は、動作量に応じた量の動作を行う。

[0218] S540において、S140で受けていた指示が細胞を界面から離脱することを含む場合（例えば、細胞回収）は、体積制御部 200 は処理を S542 に進め、そうでない場合は、体積制御部 200 は処理を S640 に進める。

- [0219] S 5 4 2において、体積制御部 2 0 0 はノズル用アクチュエータ 4 0 に、ノズル 4 9 を液体から取り出すよう指示を送る。ノズル用アクチュエータ 4 0 が、予め設定した距離だけノズル 4 9 を上方に動かすことにより、ノズル 4 9 を液体から取り出した後で、体積制御部 2 0 0 は処理を S 5 4 4 に進める。
- [0220] 次に、S 5 4 4 において、体積制御部 2 0 0 は、流路 5 1 内の気体と液体の気液界面 2 5 5 を高速で動かすように圧力生成部 4 7 を制御する。これにより、気液界面 2 5 5 に付着している細胞は気液界面 2 5 5 から離脱し、液体に移動する。例えば、体積制御部 2 0 0 は、圧力生成部 4 7 にシリンジポンプのプランジャーの往復動作を急速にさせることにより、流路 5 1 内で給気と吸気とを繰り返させて気液界面 2 5 5 を高速に動かす。また、これに加えて／代えて、体積制御部 2 0 0 は、ノズル用アクチュエータ 4 0 にノズル 4 9 を上下方向（± z 方向）および／または縦横方向（± x y 方向）に高速で往復運動させて、流路 5 1 内の気液界面 2 5 5 を高速で動かしてもよい。
- [0221] 体積制御部 2 0 0 は気液界面 2 5 5 の高速移動をその場（S 5 4 2 を行なった場所）で行わせてもよいし、ノズル用アクチュエータ 4 0 にノズル 4 9 を指定された移動先の液体に入れさせてから行わせてもよい。体積制御部 2 0 0 は、センサー部 4 8 から受け取ったノズル 4 9 内の内圧などの情報から、液体の移動速度などを制御することで、気液界面 2 5 5 に付着している細胞を気液界面 2 5 5 から適切に離脱させることができる。また、体積制御部 2 0 0 は、ノズル 4 9 内に対して電磁場を形成することで、気液界面 2 5 5 を振動させてもよい。
- [0222] さらに、体積制御部 2 0 0 は、気泡をフィルタに接触させることで細胞を気液界面 2 5 5 から離脱させるよう制御してもよい。体積制御部 2 0 0 は、液体格納部 5 4 を制御して、界面の自由エネルギーが低下するような液体を添加することで、細胞を気液界面 2 5 5 から離脱させてもよい。このほか、体積制御部 2 0 0 は、ノズル用アクチュエータ 4 0 および圧力生成部 4 7 を制御して指定された移動先でノズル 4 9 の先端に気泡を形成させ、細胞を指

定された移動先の容器 25 の底面にこすりつけることで離脱させてもよい。また、体積制御部 200 は、圧力生成部 47 を制御して、気泡の内圧を上昇させることで細胞を押し出して離脱させてもよい。また、移動先の液体を、界面自由エネルギーが低下するような液体にすることで、細胞を気液界面 255 から離脱させてもよい。界面から細胞を離脱させた後で、体積制御部 200 は処理を S640 に進める。

[0223] 図 12B は、ノズル 49 内の内圧に基づいて、気液界面 255 を縮小するフローの一例である。

[0224] S560 において、体積制御部 200 は、圧力生成部 47 を制御して流路 51 に吸引動作を行わせ、流路 51 の先端から気液界面 255 を取り込ませる。S560 のステップは、S510 のステップと同一であってよい。次に、体積制御部 200 は処理を S570 に進める。

[0225] 次に、S570 において、センサー部 48 は、ノズル 49 内の内圧を測定し、測定したノズル 49 内の内圧の値を体積制御部 200 に送る。なお、センサー部 48 に代えて、ノズル用アクチュエータ 40 が、ノズル 49 内の内圧を測定し、測定した内圧の値を体積制御部 200 に送ってもよい。

[0226] 次に、S580 において、体積制御部 200 は、測定したノズル 49 内の内圧の値が予め設定した内圧の範囲か否かを判断する。体積制御部 200 は、測定した内圧の値が予め設定した内圧の範囲外の場合は処理を S582 に進め、そうでない場合は処理を S590 に進める。例えば、体積制御部 200 は、予め設定した内圧と、測定したノズル 49 内の内圧との差分を算出し、差分が閾値以上であれば、設定された内圧に達していないと判断してよい。

[0227] S582 において、体積制御部 200 は、設定したノズル 49 内の内圧を実現させるため、圧力生成部 47 のシリンジポンプのプランジャーの動作量（例えば、シリンジポンプのプランジャーを押し距離または引く距離）を決定する。体積制御部 200 は、決定した動作量だけ動作するように、圧力生成部 47 に指示を送る。例えば、体積制御部 200 は、S580 で算出した

差分の大きさに応じた量の動作量を決定してよい。

[0228] 動作量は、圧力生成部47のアクチュエータの動作量であってよく、または、シリンジポンプに負荷される追加の圧力であってもよい。圧力生成部47は、指示を受け取り、体積制御部200は処理をS560に進める。2回目以降のS560では、圧力生成部47は、動作量に応じた量の動作を行う。

[0229] S590において、S140で受けていた指示が、細胞を気液界面255から離脱することを含む場合（例えば、細胞回収）は、体積制御部200は処理をS592に進める。S590からS594までのステップは、S540からS544までのステップと同一であってよい。S594を終えて、体積制御部200は処理をS640に進める。S140で受けていた指示が、気液界面255から細胞を気液界面255から離脱することを含まない場合は、体積制御部200は処理をS640に進める。

[0230] 次に、S640において、情報処理装置170は、入力部180を介して、操作者から操作対象35の放出に関する入力を受ける。情報処理装置170が操作対象35の放出をするよう指示を受けた場合、情報処理装置170は処理をS645に進め、そうでない場合は処理をS650に進める。

[0231] S645において、体積制御部200はノズル用アクチュエータ40に、回収した操作対象35の移動先に関する指示を送ってよい。例えば、操作対象35の移動先は、図7Bに示したように、操作者によりGUIの表示領域により指定されたものであってよい。ノズル用アクチュエータ40は、気液界面255に付着、または気液界面255から離脱した操作対象35を含むノズル49を、移動先の液体中に浸し、移動先の液体に放出してよい。ノズル用アクチュエータ40が、回収した細胞を移動先の液体に放出した後で、体積制御部200は処理をS650に進める。なお、移動先の液体に放出した細胞を、顕微鏡部50を用いて観察してもよい。

[0232] S650において、他に操作対象35がある場合は、体積制御部200は処理をS660に進める。S650において、他に操作対象35がない場合

は、体積制御部200は処理をS680に進める。

- [0233] S660において、他の操作対象35を操作するにあたって、ノズル49を交換する必要がある場合は、体積制御部200は処理をS670に進め、ノズル49を交換する必要がない場合は、処理をS200に進める。
- [0234] S670において、流路制御部250は、流路交換部53に、ノズル用アクチュエータ40に装着されているノズル49を取り外して流路交換部53のノズル廃棄部に廃棄するよう指示を送る。なお、細胞を放出せずに、ノズル49に取り込んだまま、ノズルを保管して、その後に取り込んだ細胞の解析を行ってもよい。この場合は、ノズル49を廃棄せずに、流路交換部53のノズル保管部に保管してよい。流路交換部53がノズル49を廃棄した後で、S180に進む。
- [0235] S680において、ノズル49の廃棄は、S670と同様の手順で行ってよい。流路交換部53がノズル49を廃棄して、フローが終了する。
- [0236] 上記のフローでは、操作対象35を操作する例として、不要な細胞の除去、細胞質および／または細胞膜の回収、細胞の回収および継代、細胞を保持、および細胞を圧迫する場合について記載した。操作の例としては、上記に挙げた以外にも、いくつか挙げられる。
- [0237] 操作の一例として、容器25の底面にある固相に培養基材、または薬剤を塗布し、これらの培養基材や薬剤の細胞に対する接着性を評価することが挙げられる。細胞に対する接着性は、細胞を剥離するときの気泡の内圧やノズルの移動速度や負荷を指標として評価することができるため、培養基材や薬剤の細胞接着に与える有効性を評価することができる。
- [0238] 操作の別の一例として、細胞の選別が挙げられる。上述のフローにしたがい、細胞に対して気泡により圧迫を行う。細胞の種類により、細胞膜や細胞内の構成要素、または物性が異なることが考えられる。そのため、体積制御部200がノズル用アクチュエータ40および／または圧力生成部47を制御し、細胞に対して気泡による圧迫を開始した後、停止した後、解放した後で、細胞の形状変化過程や、細胞の形状が異なることが考えられる。また、

細胞の種類により、圧迫されることで破裂する細胞が現れることも考えられる。これらを指標にして、細胞を選別することができる。

[0239] 操作の別の一例として、細胞を圧迫する過程での形状の変化を観察することが挙げられる。上述のフローにしたがい、細胞に対して気泡により圧迫を行う。例えば、細胞を圧迫する過程で、細胞を圧迫する圧力を変化させながら、細胞全体または細胞のさまざまな部位を圧迫して、細胞の形状の変化を撮像してよい。

[0240] 操作の別の一例として、細胞の圧迫による破裂または切断が挙げられる。細胞に大きな圧力を加えることで、細胞を破裂または切断させることができる。細胞を破裂または切断させることで、細胞膜、細胞質、および／またはオルガネラなどを回収することができるし、細胞同士の接続（例えば、神経細胞同士の接続であるシナプス）をカットすることができる。

[0241] 操作の別の一例として、細胞の分化の誘導が挙げられる。骨芽細胞、筋細胞、および血管内皮前駆細胞などは、機械的刺激を与えることにより、分化が誘導されることが知られている。これらの細胞に対して、上述のフローにしたがい、圧力生成部47が気泡を用いて圧迫を行うことで、分化を誘導することができる。

[0242] 操作の別の一例として、細胞への遺伝子導入が挙げられる。上述のフローにしたがい、体積制御部200が気泡を用いて、細胞膜のようなベシクル状の物体を気液界面255に付着させ、細胞膜に触れさせることで、膜融合により細胞にベシクルの中身が取り込まれる。このとき、ベシクルに遺伝子を内包させておくことで、細胞内に遺伝子を取り込ませることができる。また、遺伝子に限らず、孔を介して他の高分子を細胞内に取り込ませることもできる。また、上述のフローに従い、体積制御部200が気泡を用いて、気液界面255で細胞を圧迫すると細胞が変形する過程で膜の一部に微小な隙間が生じやすくなる。このとき、細胞の培地中に遺伝子を加えることで、隙間を介して細胞内に遺伝子を取り込ませることができる。また、遺伝子に限らず、隙間を介して他の高分子を細胞内に取り込ませることもできる。

- [0243] 操作の別の一例として、ファーメンターなどの細胞培養装置や、セルソーターなどの細胞分析装置のような外部装置との連携が挙げられる。上述のフローにしたがい、体積制御部200が気泡を用いて、流路51に細胞を取り込み、連携する外部装置の指定の位置に放出することで、細胞を移動させてもよい。また、流路51が直接外部装置に接続されていることで、流路51に取り込んだ細胞を外部装置へ送り、細胞を移動させてもよい。
- [0244] 操作の別の一例として、エマルションの操作が挙げられる。エマルションとは、油液中の液滴や水溶液中の油滴である。形成されたエマルションを安定化させるために、エマルションに両親媒性の物質である界面活性剤などを含ませることがある。界面活性剤などは液滴または油滴を取り巻くように並んでおり、界面に単分子膜を形成する。このような単分子膜は、エンドソームや脂肪滴のような、細胞内のオルガネラの一部にもみられる。上述のフローにしたがい、体積制御部200が気泡を用いて、エマルションを気液界面255に付着させてもよいし、さらに操作してもよい。
- [0245] 細胞を剥離および／または回収する方法としては、温度や光に反応する特殊基材を用いて基材を局所的に変性させて細胞を剥離する方法や、超音波により細胞を剥離する方法があるが、これらの方法は細胞を回収する手段を必要とする。しかし、本発明の方法では特殊基材が不要であり、細胞を剥離する手段および回収する手段をともに備えている利点がある。また、剥離した細胞の回収手段としては、アスピレーターのような液体を吸引する液流により細胞を回収する方法があるが、細胞と大量の液体を同時に回収してしまうことや、目的とする細胞以外の周囲の細胞を巻き込んでしまう可能性がある。しかし、本発明の方法では、気液界面をノズル内に取り込むことで、気液界面に付着した細胞が回収可能であり、非常に少ない液量で、目的とする細胞以外の細胞を巻き込むことなく、目的とする細胞を簡便に回収できるという利点がある。また、液体を吸引する際に強い液流を与えることにより、細胞に悪影響を及ぼすことが知られているが、本発明の方法を用いることでそのような悪影響を避けることができるという利点がある。

[0246] 次に、上記で述べた、気液界面 255 を用いて操作対象 35 を操作する方法において、気液界面 255 の界面自由エネルギーを制御することで、操作対象 35 を容易に操作することができる。以下に、気液界面 255 の界面自由エネルギーを制御する方法について詳述する。以下の説明では、操作対象 35 として細胞の場合を例にしているが、操作対象 35 は他の生物体であってもよい。

[0247] 以下に説明する、気液界面 255 の界面自由エネルギーを制御する方法は、気泡を形成（気液界面 255 を拡大）するステップの前、つまり、S300 のステップを行う直前に行うことに限定されない。例えば、気液界面 255 の界面自由エネルギーを制御する方法は、気泡を形成するステップおよびサブステップ（S300 のサブステップ）の途中、または気泡を形成するステップを行った後（S400 のステップを行う直前、および／または S400 のサブステップの途中）に随時行うことができる。

[0248] 例えば、気液界面 255 に細胞を付着させたい場合、気泡を形成するステップの前に、気液界面 255 の界面エネルギーを増加させるように制御することで、気液界面 255 に細胞を付着させやすくなる。また、気液界面 255 に付着した細胞を離脱させたい場合、気泡を形成するステップの途中、または気泡を形成するステップを行った後に、気液界面 255 の界面エネルギーを減少させるように制御することで、気液界面 255 から細胞を離脱させやすくなる。例えば、S645 のステップで、回収した細胞を指定位置に放出する際に、気液界面 255 の界面エネルギーを減少させるように制御することで、気液界面 255 から細胞を離脱させやすくしてよい。詳細は後述する。

[0249] また、操作対象 35 を操作するステップ（S400 のサブステップ）は、気液界面 255 の界面自由エネルギーを制御することを含んでよい。例えば、操作対象 35 を操作するステップ（S400 のサブステップ）は、気液界面 255 の界面自由エネルギーを制御する途中で行ってよいし、気液界面 255 の界面自由エネルギーを制御した後で行ってもよい。

[0250] 図13Aは、気液界面255に操作対象35が付着する場合の界面自由エネルギーの変化を説明する図である。図13Aの961aは、操作対象35である細胞が気液界面255に付着する前、961bは、細胞が気液界面255に付着した後を示している。

[0251] 961aにおいて、 γ_{CL} は付着する面積Sの細胞と液体との間の界面自由エネルギー、 γ_{GL} は付着する面積Sの気体と液体との間の界面自由エネルギーE2を表す。961bにおいて、 γ_{GC} は付着した面積Sの気体と細胞との間の界面自由エネルギーE1を表す。細胞が気液界面255に付着するとき、つまり961aから961bへ移行するときの、界面自由エネルギー変化は、以下の数式1、

[数式1]

$$\Delta G = \gamma_{GC} \times S - (\gamma_{GL} + \gamma_{CL}) \times S$$

で表される。熱力学的には、上記数式1の ΔG が負の値であれば、細胞が気液界面255に付着することが自発的に進行し得る。

[0252] ここで、操作対象35が親水性を示す表面を有するような生物体であり（例えば動物細胞）、液体261が操作対象35の増殖、維持または保管に適切な溶液（例えば培溶液、緩衝液など）である場合、 γ_{GC} および γ_{GL} の値は25℃の下でおよそ 10^{-2} J/m^2 のオーダーであるのに対し、 γ_{CL} の値は 10^{-4} J/m^2 のオーダーである。そのため、上記数式1において、 γ_{CL} の ΔG への寄与は少なく、ほぼ無視することができる。したがって、上記数式1は、

[数式2]

$$\Delta G = \gamma_{GC} - \gamma_{GL}$$

とみなすことができる。つまり、 ΔG の値は、E1からE2を引いた差分（E1 - E2）とみなしてよい。なお、E1からE2を引いた差分とは、上記数式2からも明らかのように、（E1 - E2）を表し、 $|E1 - E2|$ 、つまりE1からE2を引いた差（E1 - E2）の絶対値ではないことに留意すべきである。

- [0253] 界面自由エネルギーの制御は、上記の ΔG の値、つまり、 E_1 から E_2 を引いた差分を制御することであってよい。例えば、界面自由エネルギーの制御は、上記数式2の ΔG の値を小さくするように制御するか、または、 ΔG の値が大きくなることを抑制するように制御してよい。このように制御することで、細胞が気液界面255に付着しやすくなるため、上記の制御は、気液界面255に細胞を付着させる操作を行いたい場合に有効である。
- [0254] 例えば、界面自由エネルギーの制御は、上記数式2の ΔG の値を大きくするように制御するか、または、 ΔG の値が小さくなることを抑制するように制御してよい。このように制御することで、細胞が気液界面255に付着しにくくなるため、上記の制御は、気液界面255から付着していた細胞を気液界面255から離脱させる操作を行いたい場合に有効である。また、上記の制御は、細胞を同じ容器25の中で移動させたいときや、気泡を用いて細胞を圧迫して解析したいときなど、細胞を気液界面255に強く付着させたくないときにも有効である。
- [0255] さらに、 $\gamma_{GC}(E_1)$ の値は人為的に制御できる幅が狭いため、 $\gamma_{GC}(E_1)$ の値はほぼ一定である。そのため、上記数式2の ΔG の値を制御することは、 $\gamma_{GL}(E_2)$ の値、つまり、気体と液体との間の界面自由エネルギーを制御することで行われてもよい。なお、 $\gamma_{GL}(E_2)$ の値を制御するのみならず、 $\gamma_{GC}(E_1)$ および γ_{CL} の値を、細胞の表面に糖鎖または脂質などの修飾を行って変更することで、上記数式2の ΔG の値を制御してもよい。
- [0256] 図13Bは、気液界面255の界面自由エネルギーを変化させる方法を説明する図である。気液界面255の界面自由エネルギーを変化させる方法は、図13Bに示す1つ、または複数の方法を組み合わせることによって行われてよい。
- [0257] ここですで、気液界面255の界面自由エネルギーを変化させる機構について説明する。気泡の気液界面255において、液体を構成する分子の間には分子間力が働いている。液体の内部では分子が互いに相互作用して安定化しているが、気泡との表面（気液界面255）では、相互作用する分子が不

足するため、過剰なエネルギー（これを界面自由エネルギー、または表面張力という）を有する。したがって、液体を構成する分子の分子間力が大きいほど、相互作用する相手の分子が不足した場合の界面自由エネルギーは大きくなる。

[0258] 図13Cは、溶質の濃度により気液界面255の界面自由エネルギーが変化する機構を説明する図である。横軸は液体中の溶質の濃度 c を、縦軸は界面自由エネルギー（表面張力 γ ）を表す。溶質濃度が0のときの界面自由エネルギー（表面張力 γ ）を、純水の表面張力の値として、点線で表示している。図13Cは、液体が水溶液の場合を示す。

[0259] (A)は、無機塩を溶質として液体に加えた場合の表面張力 γ の変化を示している。無機塩は、水溶液などの液体中で陽イオンと陰イオンに電離する化合物であってよい。例えば、無機塩は、塩化ナトリウム、塩化カリウム、リン酸塩、ミョウバンなどの金属塩であってよい。無機塩は溶液中で電離して陽イオンおよび陰イオンとなり、これらのイオンは周囲を水分子に取り囲まれて水和することで安定化する。水分子は、他の水分子と相互作用して水素結合を形成するよりも、クーロン力を有する陽イオンおよび陰イオンと相互作用したほうが安定化する。そのため、無機塩に由来する陽イオンおよび陰イオンが気液界面255に付着することは起こり得ない。その結果、液体の内部は、無機塩に由来する陽イオンおよび陰イオンと水分子との間で安定でより強力なクーロン力に起因する相互作用が生じる。一方、気泡との気液界面255は水素結合のみの、より純水に近い状態となるため、液体の内部と気液界面255の表面の液体とのエネルギー差が生じ、その結果、気液界面255の界面自由エネルギーは大きくなる。つまり、無機塩を液体に追加することにより、界面自由エネルギーは増加する。

[0260] (B)は、極性有機化合物を溶質として液体に加えた場合の表面張力 γ の変化を示している。極性有機化合物は、アミノ基、カルボキシル基、水酸基などの極性の高い官能基を有する有機化合物であってよい。例えば、極性有機化合物は、アルコール、脂肪酸、アミノ酸、ペプチド、タンパク質、糖類

などであってよい。極性有機化合物は、疎水性の官能基および親水性の官能基を有するため、気液界面 255 に付着する。例えば、極性有機化合物の疎水性部分が気体と相互作用し、親水性部分が液体と相互作用して気液界面 255 に付着するつまり、極性有機化合物を溶液に加えることにより、気液界面 255 が極性有機化合物の分子で覆われる結果、気相に触れる表面の水分子が減少し、界面自由エネルギーは減少する。

[0261] (C) は、界面活性剤を溶質として液体に加えた場合の表面張力 γ の変化を示している。界面活性剤は、分子内に疎水性部分と親水性部分をともに有する両親媒性の化合物であってよい。例えば、界面活性剤は、陽イオン性界面活性剤（逆性石鹼など）、陰イオン性界面活性剤（脂肪酸ナトリウムなど）、両性界面活性剤（ベタイン系界面活性剤など）、または非イオン性界面活性剤（オクチルグリコシドなど）であってよい。界面活性剤も極性有機化合物と同様に、気液界面 255 の気体および水分子と相互作用するが、極性有機化合物の場合よりも極端に、より低い濃度で界面自由エネルギーが減少する。界面活性剤の濃度を増加させていくと、気液界面 255 がほぼ界面活性剤の分子で覆われる結果、気相に触れる表面の水分子が極端に減少する。また、界面活性剤を加えることで、界面活性剤が生物体の表面と相互作用し、 γ_{GC} や γ_{CL} の界面自由エネルギーは減少し得る。

[0262] つまり、図 13B の 910 で、液体に含まれる溶質の種類や組成を変化させることで、気液界面 255 の界面自由エネルギーの大きさを調節することができる。例えば、911 で、溶質を液体に追加することで、気液界面 255 の界面自由エネルギーの大きさを調節することができる。具体的には、上記の図 13C で説明したように、溶質として無機塩を液体に追加することで、気液界面 255 の界面自由エネルギーを増加させたり、あるいは、溶質として極性有機化合物または界面活性剤を液体に追加することで、気液界面 255 の界面自由エネルギーを減少させたりすることができる。

[0263] 例えば、912 で、界面自由エネルギーの大きさは、容器 25 内の液体に他の液体を追加することにより制御されてもよい。液体が完全培地の場合、

他の液体として、緩衝液、基本培地、または水を加えてよい。この場合、完全培地に含まれる極性有機化合物の濃度が、他の液体を加えることにより希釈される。そのため、気液界面 255 の界面自由エネルギーは増加するように調節され得る。

[0264] 例えば、913 で、界面自由エネルギーの大きさは、液体から無機塩や極性有機化合物を除去することにより調節されてもよい。無機塩の除去は、液体に EDTA などのキレート剤を追加することにより行われてよい。極性有機化合物または界面活性剤の除去は、液体にフィルタ、カラム、またはビーズなどの基材を投入し、基材が液体中の極性有機化合物または界面活性剤を吸着することにより行われてよいし、液体中に気液界面 255 を形成して、気液界面 255 に極性有機化合物または界面活性剤を吸着させることにより行われてもよい。このようにして、液体中の極性有機化合物または界面活性剤の濃度を減少させることができる。

[0265] 表 1 は、液体のさまざまな因子を調整することで、気液界面 255 の界面自由エネルギーが減少、または増加のどちらに変化するかを示した表である。上述した通り、液体中の無機塩、極性有機化合物または界面活性剤の濃度を制御することにより、気液界面 255 の界面自由エネルギーの大きさは調節され得る。

[表1]

液体調整因子	両親媒性物質濃度		無機塩濃度		温度(圧力)	
	低下	上昇	低下	上昇	低下	上昇
気体/液体界面自由エネルギー	増加	減少	減少	増加	増加	減少

[0266] 例えば、図13Bの914で、液体と気泡との気液界面255における界面自由エネルギーがE2の液体を、液体と気泡との気液界面255における界面自由エネルギーがE3の液体と置換することを考える。ここで、E3がE2よりも大きい場合、液体の置換により気液界面255の界面自由エネルギーは増加する。例えば、既存の液体と比較して、液体中の極性有機化合物または界面活性剤などの両親媒性物質の濃度が薄い液体と置換することで、気液界面255の界面自由エネルギーは増加する。例えば、既存の液体と比較して、液体中の無機塩の濃度が濃い液体と置換することで、気液界面255の界面自由エネルギーは増加する。

[0267] 例えば、914で、液体と気泡との気液界面255における界面自由エネルギーがE2の液体を、液体と気泡との気液界面255における界面自由エネルギーがE4の液体と置換することを考える。ここで、E4がE2よりも小さい場合、液体の置換により気液界面255の界面自由エネルギーは減少する。例えば、既存の液体と比較して、液体中の極性有機化合物または界面活性剤などの両親媒性物質の濃度が濃い液体と置換することで、気液界面255の界面自由エネルギーは減少する。例えば、既存の液体と比較して、液

体中の無機塩の濃度が薄い液体と置換することで、気液界面 255 の界面自由エネルギーは減少する。

[0268] また、920 で、気体および／または液体の温度を変化させることにより、気液界面 255 の界面自由エネルギーは調節され得る。気体および／または液体の温度が上昇すると、気液界面 255 の分子の運動が激しくなり、気液界面 255 の分子同士、特に液体内部の分子同士に働いていた分子間力の影響が小さくなる。したがって、気体および／または液体の温度が上昇すると気液界面 255 の界面自由エネルギーは減少し、気体および／または液体の温度が低下すると気液界面 255 の界面自由エネルギーは増加する。このように、気体および／または液体は、温度制御部 520 の制御を受けて、加温、または冷却されてよい。気体および／または液体の温度を変化させることにより、気液界面 255 の界面自由エネルギーが調節され得る。

[0269] また、925 で、気体および／または液体の圧力を上昇させることによっても、気液界面 255 の分子の運動が激しくなるため、気体および／または液体の温度を上昇させたときと同じ効果を得ることができるといえる。つまり、気体および／または液体の圧力が上昇すると気液界面 255 の界面自由エネルギーは減少し、気体および／または液体の圧力が低下すると気液界面 255 の界面自由エネルギーは増加する。このように、気体および／または液体の圧力を制御することでも、気液界面 255 の界面自由エネルギーは調節され得る。

[0270] さらに、930 で、気体に含まれる水分子の量（湿度）を変化させることによっても、気液界面 255 の界面自由エネルギーが調節され得る。気体に水分子が含まれると、気液界面 255 において、液体の水分子と気体中の水分子とが相互作用するため、気液界面 255 は安定化する。つまり、気体に含まれる水分子の量（湿度）が増加すると気液界面 255 の界面自由エネルギーは減少し、湿度が減少すると気液界面 255 の界面自由エネルギーは増加する。このように、気体の湿度を制御することによっても、気液界面 255 の界面自由エネルギーは調節され得る。また、エチルアルコールなどのよ

うに、水分子以外の、液体の水分子と相互作用し得る揮発性の物質を気体に含ませることでも、水分子の場合と同様に気液界面 255 の界面自由エネルギーが調節され得る。

[0271] 図 13D は、緩衝液中の細胞が気泡に接触して気泡の内部まで完全に入る過程における、系の自由エネルギー変化を示す図である。系の界面自由エネルギーとは細胞と液体との間の界面自由エネルギー、気体と液体との間の界面自由エネルギーおよび気体と細胞との間の界面自由エネルギーの総和である。細胞が気泡に接触して、気泡の内部まで完全に入る過程で、各界面の面積は変化するため、各面積に対して各界面自由エネルギーを掛けて、その総和を算出することで、その時点での系の自由エネルギーを得ることができる。気泡を球とし、その直径を $500\ \mu\text{m}$ と仮定した。また、細胞を球とし、その直径を $20\ \mu\text{m}$ と仮定した。311a は、細胞の気泡への侵入距離を基準距離として横軸に取り、系の自由エネルギーを縦軸に取ったグラフを表す。

[0272] 311b は、311a で、基準距離が $0\sim 5\ \mu\text{m}$ の部分を拡大したものである。311b によると、侵入距離が $0.72\ \mu\text{m}$ のとき、系の自由エネルギーが最小となる。つまり、細胞の変形を無視した場合、細胞が気泡に約 3.5% 程度侵入したところで系の自由エネルギーが最も低くなり、 ΔG の負の最小値となる。すなわち、細胞が気泡に約 3.5% 程度侵入したところで最も安定になるため、細胞が気泡に付着して、ごくわずかに気泡に侵入することは、自発的に進行し得る (311c の写真に実際に細胞が気泡に付着した様子を示す)。しかし、それ以上細胞が気泡に入り込むことや、逆に気泡から細胞が離れることは自発的に起こり得ない。仮に細胞の変形を考慮し、細胞が気泡の曲面に沿うように接触する場合、 ΔG が負になる各界面自由エネルギーの条件を満たしていれば、気泡と細胞の接触面積が最大となる状態が ΔG の負の最小値となり、最も安定となるため、気泡と細胞が付着した状態で安定化する。

[0273] 図 13E は、時間経過に伴う、夾雑物を含む液体中に形成した気泡を示す

図である。963aは、タンパク質などの夾雑物257を含む液体に気泡を形成した直後の様子を示す。この段階では、気泡が形成された直後であるため、気液界面255には夾雑物257がほとんど付着していない。次に、963bは、気泡を形成してしばらく時間が経過したときの様子を示す。この段階では、気液界面255に夾雑物257がある程度付着している。963cは、気泡を形成してさらに時間が経過したときの様子を示す。この段階では、気液界面255に相当量の夾雑物257が付着している。

[0274] 夾雑物257であるタンパク質は、分子内に疎水性の官能基および親水性の官能基を有する極性有機化合物であるため、夾雑物257は気液界面255の気体および水分子と相互作用し得る。つまり、夾雑物257が気液界面255に偶発的に衝突した場合、夾雑物257が気液界面255に付着して、気液界面255を覆う。そのため、気相に触れる表面の水分子が減少し、気液界面255の界面自由エネルギーは低下する。その結果、気液界面255には、細胞が付着しにくくなる。

[0275] このように、液体に夾雑物257が含まれている場合、時間経過とともに、気液界面255が夾雑物257に覆われ、気液界面255の界面自由エネルギーは低下することで、細胞が付着しにくくなる。この現象を利用して、図13Bの935で、細胞の気液界面255への付着しやすさの程度を、気泡を形成してから経過した時間により調節することができる。

[0276] 935で、気液界面255を形成してから細胞に接触させるまでの時間を調節することで、気液界面255の界面自由エネルギーを調節してよい。例えば、気液界面255を形成した直後に細胞に接触させることで、気液界面255に夾雑物257が付着し、気液界面255の界面自由エネルギーが低下する前に、気液界面255に細胞を付着させることができる。例えば、気液界面255を形成して10秒以内に細胞に接触させることで、気液界面255に細胞を付着させてよい。気液界面を形成してから細胞に接触し、付着させるまでの時間は、10秒以内であってよいし、5秒以内であってよいし、さらに1秒以内であってよいが、これらに限らず任意の時間を設定するこ

とができる。

[0277] また、935で、気液界面255の界面自由エネルギーを減少させて、気液界面255に付着した細胞を、気液界面255から離脱しやすくすることができる。例えば、気液界面255を形成して予め設定した時間を経過してから、気液界面255に細胞を付着させてよい。時間経過とともに、気液界面255が夾雑物257に覆われ、気液界面255の界面自由エネルギーは低下し、細胞が付着しにくくなる。一例として、気液界面255を形成して10秒以上、15秒以上、20秒以上、または30秒以上経過してから、気液界面255に細胞を接触し、付着させてよい。このように、気液界面255を形成してから予め設定した時間を経過させることで、気液界面255の界面自由エネルギーを減少させることができる。この場合、気液界面255に細胞をあまり付着させたくない場合や、気液界面255から細胞を離脱させやすくしたい場合に適した気泡を提供することができる。

[0278] また、915で、液体に含まれる夾雑物257の種類や組成を変化させることによっても、界面自由エネルギーの大きさを調節することができる。このことを利用して、液体が含む夾雑物257の種類や組成を変えることで、細胞の気液界面255への付着しやすさの程度を調節することができる。

[0279] 例えば、夾雑物257が含まれる液体は、基本培地であってよい。基本培地は、ごく一部のタンパク質やアミノ酸を含むものであってよい。一例として、基本培地は、DMEM（ダルベッコ変法イーグル培地）またはHam's F-12（ハムF-12培地）である。例えば、夾雑物257が多く含まれる液体は、完全培地であってよい。完全培地は、基本培地に血清または細胞増殖因子などのタンパク質や、L-グルタミンなどのアミノ酸を添加したものであってよい。

[0280] 例えば、夾雑物257をほとんど含まない液体は、緩衝液であってよい。緩衝液は、細胞に適した塩濃度、pH、または浸透圧に調節した溶液であってよい。一例として、緩衝液は、PBS（リン酸緩衝生理食塩水）、HANKS緩衝液、またはHEPES（ヒドロキシエチルピペラジンエタンスルホ

ン酸) 緩衝液であってよい。

[0281] 例えば、夾雑物 257 の濃度や種類などが異なる複数の種類の液体を用いて、液体を置換することにより、細胞の気液界面 255 への付着のしやすさが調節されてよい。例えば、細胞を培養する培地として、完全培地を用いた場合は、完全培地が夾雑物 257 を多く含むため、気液界面 255 の界面自由エネルギーは低い。そのため、液体が完全培地の場合、気液界面 255 に細胞は付着しにくい。そこで、完全培地を、夾雑物 257 (極性有機化合物などの両親媒性物質) が少ない液体に置換するか、または無機塩を多く含む溶液に置換することで、気液界面 255 の界面自由エネルギーを増加させ、気液界面 255 に細胞を付着しやすくすることができる。

[0282] 例えば、気液界面 255 に細胞を付着しやすく調節するためには、容器 25 に満たされた完全培地を全部または一部 (例えば半量) 除去し、代わりに基本培地または緩衝液を容器 25 に加えてよい。例えば、気液界面 255 に細胞を付着しやすく調節するには、容器 25 に満たされた完全培地に、さらに基本培地または緩衝液を適量加えてもよい。

[0283] さらに、液体として基本培地または緩衝液を用いた場合に、液体の全部または少なくとも一部を完全培地に置換するか、または液体に完全培地を適量追加してもよい。このように置換または追加することで、気液界面 255 の界面自由エネルギーを減少させることができ、気液界面 255 に付着した細胞を離脱させやすくすることができる。

[0284] 図 13F は、液体を完全培地から緩衝液に置換することで、気液界面 255 に細胞を付着させやすくした実験例を示す。完全培地で培養している HeLa 細胞に対して、完全培地 (970a) を PBS 緩衝液に置換した (970b)。その結果、PBS 緩衝液に置換した後では、気液界面 255 に細胞が付着することが示された (970b の白い塊状のものが細胞である)。

[0285] また、940 で、気泡の体積を変化させることで、気液界面 255 の界面自由エネルギーを調節してよい。例えば、941 で、気液界面 255 を新たに形成することで、気液界面 255 の界面自由エネルギーを増加させ、気液

界面 255 に細胞を付着しやすくすることができる。例えば、気泡の体積（大きさ）を増加させて、気液界面 255 を拡大させた直後、または予め設定した時間以内に、気液界面 255 を細胞に接触させてよい。一例として、気泡の体積を増加させて、気液界面 255 の表面積を拡大してから 10 秒以内に、気液界面 255 を細胞に接触させてよい。このようにして、気液界面 255 に夾雑物 257 が付着する前に、表面積の拡大によって生じた新鮮な気液界面 255 に細胞を付着させることができる。

[0286] 例えば、942 で、ステージ位置制御部またはノズル位置制御部は、気泡が生物体に接触可能な位置に容器 25 又は流路 51 を移動させて気泡を形成し、気泡の体積を増加させて、気液界面 255 の表面積を拡大させながら、気液界面 255 を細胞に接触させてよい。このようにすることでも、気液界面 255 に夾雑物 257 が付着する前に、表面積の拡大によって生じた新鮮な気液界面 255 に細胞を付着させることができる。気液界面 255 の表面積を拡大することは、体積制御部 200 が圧力生成部 47 に気体を予め設定した量給気させるように制御することで行われてよい。

[0287] 図 13G は、気泡の体積を増加させて、気液界面 255 の表面積を拡大させながら、気液界面 255 を細胞に接触させた実施例を示す。完全培地で培養しているヒト iPS 細胞から分化させた神経細胞の直上に、ノズル内側の外側付近が位置するように調整し（975a）、気泡を拡張させて気液界面 255 を細胞に接触させた（975b）。次に、気液界面 255 を細胞に接触させた状態で、気泡の体積を増加させ、気液界面 255 の表面積を拡大させた（975c）。その結果、細胞を気液界面 255 に付着させることができた。976d では、細胞を気液界面 255 に付着させてノズルの流路内に取り込んでいるため、細胞が上方向に移動しており、細胞の像のピントが外れている。

[0288] また、943 で、気泡の体積を減少させて、気液界面 255 の表面積を縮小することによって、気液界面 255 に付着した細胞を、気液界面 255 から離脱しやすくしてもよい。気液界面 255 の表面積を縮小させることで、

気液界面 255 に付着していた夾雑物 257 の占有面積が増加し、気液界面 255 の界面自由エネルギーは低下するため、細胞が気液界面 255 から離脱しやすくなる。また、細胞が付着する面積が減少することも影響する。気液界面 255 の縮小は、体積制御部 200 が圧力生成部 47 に気体を予め設定した量吸気させるように制御することで行われてよい。

[0289] 表 2 は、気泡の直径、細胞の形状、または細胞の直径を変えた場合の、系の自由エネルギーの低下量 (ΔG)、および気泡に細胞が侵入した場合の、最も安定化する侵入距離を示す。このとき、気泡および細胞の変形は考慮していない。系の自由エネルギーの低下量 (ΔG) が大きいほど、細胞が気液界面 255 に安定して付着していることを示している。表 2 の気泡直径が $500 \mu\text{m}$ 、細胞形状が球状、および細胞直径が $20 \mu\text{m}$ のときの結果と、気泡直径が $100 \mu\text{m}$ 、細胞形状が球状、および細胞直径が $20 \mu\text{m}$ のときの結果とから、気泡の直径、つまり気泡の大きさは、系の自由エネルギーの低下にほとんど影響を与えないことが明らかである。

[表2]

気泡直径 (μm)	細胞形状	細胞直径 (μm)	系の自由E 低下量 (nJ)	最安定侵入距離 (μm)
500	球状	20	-1.2×10^{-4}	0.72
500	球状	40	-4.9×10^{-4}	1.72
500	球状	100	-32.4×10^{-4}	4.57
500	扁平	直径: 100 厚み: 10	-87.0×10^{-4}	3.86
100	球状	20	-1.3×10^{-4}	0.84

[0290] また、表 2 の気泡直径が $500 \mu\text{m}$ 、細胞形状が球状、および細胞直径が $100 \mu\text{m}$ のときの結果と、気泡直径が $500 \mu\text{m}$ 、細胞形状が扁平状、お

よび細胞直径が100 μm のときの結果とから、細胞の形状は球状よりも扁平状の方が、系の自由エネルギーの低下に寄与することが明らかである。このとき扁平状の細胞は、細胞表面（表面積が最も大きい面）が気泡に付着している状態を想定している。さらに、表2の気泡直径が500 μm 、細胞形状が球状、および細胞直径が20 μm のときの結果と、気泡直径が500 μm 、細胞形状が球状、および細胞直径が100 μm のときの結果とから、細胞の直径、つまり細胞の大きさが大きいほど、系の自由エネルギーの低下に寄与することが明らかである。したがって、表2の結果から、細胞の形状が扁平状および／または細胞の大きさが大きいほど、細胞が気液界面255に付着しやすいことが明らかである。

[0291] また、945で、気体の種類によって、 γ_{GC} (E1) および γ_{GL} (E2) の値は異なるため、気体の種類や組成を変化させることで、気液界面255の界面自由エネルギーの大きさを調節することができる。例えば、既存の気体が空気の場合、変更する気体として、単原子分子気体（例えば、ヘリウム、ネオン、アルゴンなど）、二原子分子（例えば、窒素、酸素など）、多原子分子（例えば、二酸化炭素、メタンなど）や、これらの混合気体であってよい。体積制御部200は、変更する気体の吸気を行うよう圧力生成部47およびノズル用アクチュエータ40を制御する。例えば、体積制御部200はノズル用アクチュエータ40に、ノズル49を液体から取り出すよう指示を送ってよい。ノズル用アクチュエータ40が、ノズル49を液体から取り出した後で、圧力生成部47は、変更する気体を吸気するようにシリンジポンプのプランジャーを引いてよい。例えば、体積制御部200はノズル用アクチュエータ40に、ノズル49を液体に入れるよう指示を送ってよい。ノズル用アクチュエータ40が、ノズル49を液体に入れた後で、圧力生成部47は、変更する気体を給気するようにシリンジポンプのプランジャーを押してよい。

実施例

[0292] [実施例1]

株化細胞であるH e L a細胞を培養皿にて、完全培地である10%ウシ胎児血清を添加したD M E M培地で2日間培養した。完全培地をすべて除去し、P B S緩衝液に置換した。10~100個のH e L a細胞を操作対象とし、ノズルの端部が操作対象の細胞の付近、底面から100 μ mの位置に来るように、操作対象の細胞とノズルとの相対位置を調整した。次に、ポンプから空気を10 μ L/秒の割合で給気し、ノズルの端部（流路の内径は0.5mm）から気泡を形成した。体積約0.02mm³（ノズル端部からの気泡体積）の気泡の気液界面に、操作対象の細胞を接触させ、細胞剥離して付着させ、付着した細胞をノズルの流路内に取り込んだ。取り込んだ細胞を完全培地である10%ウシ胎児血清を添加したD M E M培地を入れた他の培養皿に放出することで移動させ、継代培養した。

[0293] [実施例2]

ヒトiPS細胞から分化させた神経細胞を培養皿にて、適切なサイトカインを添加したN e u r o b a s a l培地で7日間培養した。1個の神経細胞を操作対象とし、ノズルの端部が操作対象の細胞の付近、底面から30 μ mの位置に来るように、操作対象の細胞とノズルとの相対位置を調整した。次に、ポンプから空気を2 μ L/秒の割合で給気し、ノズルの端部（流路の内径は0.1mm）から気泡を形成した。気泡の形成を開始してから2秒後に、体積0.0002mm³（ノズル端部からの気泡体積）の気泡の気液界面に操作対象の細胞を接触させ、剥離して付着させた。付着した細胞をノズルの流路内に取り込み、12.5 μ Lの細胞溶解液を入れたP C Rチューブに放出し（図11Gの835bと同様に）、ターゲットmRNAを解析した。

[0294] [実施例3]

ヒトiPS細胞から分化させた神経細胞を培養皿にて、適切なサイトカインを添加したN e u r o b a s a l培地で7日間培養した。1個の神経細胞を操作対象とし、ノズルの端部を底面から30 μ m、ノズルの端部の流路出口内側の外側付近に操作対象の細胞が来るように、操作対象の細胞とノズルとの相対位置を調整した。次に、ポンプから空気を2 μ L/秒の割合で給気

し、ノズルの端部（流路の内径は0.1 mm）から気泡を形成した。このとき、気泡の表面積の増加速度は、0.0015 mm²/秒であった。気泡体積0.0002 mm³（ノズル端部からの気泡体積）に拡大形成する過程で気泡の気液界面に操作対象の細胞を接触させ、剥離して付着させた。付着した細胞をノズルの流路内に取り込み、12.5 μLの細胞溶解液を入れたPCRチューブに放出し（図11Gの835bと同様）、ターゲットmRNAを解析した。

[0295] 図14は、情報処理装置170として機能するコンピュータ1900のハードウェア構成の一例を示す。本実施形態に係るコンピュータ1900は、ホスト・コントローラ2082により相互に接続されるCPU2000、RAM2020、グラフィック・コントローラ2075、および表示装置2080を有するCPU周辺部と、入出力コントローラ2084によりホスト・コントローラ2082に接続される通信インターフェイス2030、ハードディスクドライブ2040、およびCD-ROMドライブ2060を有する入出力部と、入出力コントローラ2084に接続されるROM2010、フレキシブルディスク・ドライブ2050、および入出力チップ2070を有するレガシー入出力部を備える。

[0296] ホスト・コントローラ2082は、RAM2020と、高い転送レートでRAM2020をアクセスするCPU2000およびグラフィック・コントローラ2075とを接続する。CPU2000は、ROM2010およびRAM2020に格納されたプログラムに基づいて動作し、各部の制御を行う。グラフィック・コントローラ2075は、CPU2000等がRAM2020内に設けたフレーム・バッファ上に生成する画像データを取得し、表示装置2080上に表示させる。これに代えて、グラフィック・コントローラ2075は、CPU2000等が生成する画像データを格納するフレーム・バッファを、内部に含んでもよい。表示装置2080には、情報処理装置170の内部で生成される様々な情報（例えば、画像、操作対象35の位置情報など）を、表示することができる。

- [0297] 入出力コントローラ2084は、ホスト・コントローラ2082と、比較的高速な入出力装置である通信インターフェイス2030、ハードディスクドライブ2040、CD-ROMドライブ2060を接続する。通信インターフェイス2030は、有線または無線によりネットワークを介して他の装置と通信する。また、通信インターフェイスは、通信を行うハードウェアとして機能する。ハードディスクドライブ2040は、コンピュータ1900内のCPU2000が使用するプログラムおよびデータを格納する。CD-ROMドライブ2060は、CD-ROM2095からプログラムまたはデータを読み取り、RAM2020を介してハードディスクドライブ2040に提供する。
- [0298] また、入出力コントローラ2084には、ROM2010と、フレキシブルディスク・ドライブ2050、および入出力チップ2070の比較的低速な入出力装置とが接続される。ROM2010は、コンピュータ1900が起動時に実行するブート・プログラム、および／または、コンピュータ1900のハードウェアに依存するプログラム等を格納する。フレキシブルディスク・ドライブ2050は、フレキシブルディスク2090からプログラムまたはデータを読み取り、RAM2020を介してハードディスクドライブ2040に提供する。入出力チップ2070は、フレキシブルディスク・ドライブ2050を入出力コントローラ2084へと接続するとともに、例えばパラレル・ポート、シリアル・ポート、キーボード・ポート、マウス・ポート等を介して各種の入出力装置を入出力コントローラ2084へと接続する。
- [0299] RAM2020を介してハードディスクドライブ2040に提供されるプログラムは、フレキシブルディスク2090、CD-ROM2095、またはICカード等の記録媒体に格納されて利用者によって提供される。プログラムは、記録媒体から読み出され、RAM2020を介してコンピュータ1900内のハードディスクドライブ2040にインストールされ、CPU2000において実行される。

- [0300] コンピュータ1900にインストールされ、コンピュータ1900を情報処理装置170として機能させるプログラムは、気泡形成モジュールと、エネルギー制御モジュールと、操作モジュールとを備える。これらのプログラムまたはモジュールは、CPU2000等に働きかけて、コンピュータ1900を、体積制御部200や液体制御部260などとして機能させてよい。
- [0301] これらのプログラムに記述された情報処理は、コンピュータ1900に読込まれることにより、ソフトウェアと上述した各種のハードウェア資源とが協働した具体的手段である体積制御部200や液体制御部260などとして機能する。そして、これらの具体的手段によって、本実施形態におけるコンピュータ1900の使用目的に応じた情報の演算または加工を実現することにより、使用目的に応じた特有の情報処理装置170が構築される。
- [0302] 一例として、コンピュータ1900と外部の装置等との間で通信を行う場合には、CPU2000は、RAM2020上にロードされた通信プログラムを実行し、通信プログラムに記述された処理内容に基づいて、通信インターフェイス2030に対して通信処理を指示する。通信インターフェイス2030は、CPU2000の制御を受けて、RAM2020、ハードディスクドライブ2040、フレキシブルディスク2090、またはCD-ROM2095等の記憶装置上に設けた送信バッファ領域等に記憶された送信データを読み出してネットワークへと送信し、もしくは、ネットワークから受信した受信データを記憶装置上に設けた受信バッファ領域等へと書き込む。このように、通信インターフェイス2030は、DMA（ダイレクト・メモリ・アクセス）方式により記憶装置との間で送受信データを転送してもよく、これに代えて、CPU2000が転送元の記憶装置または通信インターフェイス2030からデータを読み出し、転送先の通信インターフェイス2030または記憶装置へとデータを書き込むことにより送受信データを転送してもよい。
- [0303] また、CPU2000は、ハードディスクドライブ2040、CD-ROMドライブ2060（CD-ROM2095）、フレキシブルディスク・ド

ライブ2050（フレキシブルディスク2090）等の外部記憶装置に格納されたファイルまたはデータベース等の中から、全部または必要な部分をDMA転送等によりRAM2020へと読み込ませ、RAM2020上のデータに対して各種の処理を行う。そして、CPU2000は、処理を終えたデータを、DMA転送等により外部記憶装置へと書き戻す。このような処理において、RAM2020は、外部記憶装置の内容を一時的に保持するものとみなせるから、本実施形態においてはRAM2020および外部記憶装置等をメモリ、記録部、または記憶装置等と総称する。

[0304] ここで、記憶装置等は、情報処理装置170の情報処理に必要な情報、例えば、動画像データなどを必要に応じて記憶し、情報処理装置170の各コンポーネントに必要なに応じて供給する。

[0305] 本実施形態における各種のプログラム、データ、テーブル、データベース等の各種の情報は、このような記憶装置上に格納されて、情報処理の対象となる。なお、CPU2000は、RAM2020の一部をキャッシュメモリに保持し、キャッシュメモリ上で読み書きを行うこともできる。このような形態においても、キャッシュメモリはRAM2020の機能の一部を担うから、本実施形態においては、区別して示す場合を除き、キャッシュメモリもRAM2020、メモリ、および／または記憶装置に含まれるものとする。

[0306] また、CPU2000は、RAM2020から読み出したデータに対して、プログラムの命令列により指定された、本実施形態中に記載した各種の演算、情報の加工、条件判断、情報の検索・置換等を含む各種の処理を行い、RAM2020へと書き戻す。例えば、CPU2000は、条件判断を行う場合においては、本実施形態において示した各種の変数が、他の変数または定数と比較して、大きい、小さい、以上、以下、等しい等の条件を満たすか否かを判断し、条件が成立した場合（または不成立であった場合）に、異なる命令列へと分岐し、またはサブルーチンを呼び出す。

[0307] また、CPU2000は、記憶装置内のファイルまたはデータベース等に格納された情報を検索することができる。例えば、第1属性の属性値に対し

第2属性の属性値がそれぞれ対応付けられた複数のエントリが記憶装置に格納されている場合において、CPU2000は、記憶装置に格納されている複数のエントリの中から第1属性の属性値が指定された条件と一致するエントリを検索し、そのエントリに格納されている第2属性の属性値を読み出すことにより、所定の条件を満たす第1属性に対応付けられた第2属性の属性値を得ることができる。

[0308] 以上に示したプログラムまたはモジュールは、外部の記録媒体に格納されてもよい。記録媒体としては、フレキシブルディスク2090、CD-ROM2095の他に、DVDまたはCD等の光学記録媒体、MO等の光磁気記録媒体、テープ媒体、ICカード等の半導体メモリ等を用いることができる。また、専用通信ネットワークまたはインターネットに接続されたサーバシステムに設けたハードディスクまたはRAM等の記憶装置を記録媒体として使用し、ネットワークを介してプログラムをコンピュータ1900に提供してもよい。

[0309] 本開示において、情報処理装置170が、プロセッサとしてCPU2000を有する構成を示したがプロセッサの種類は特に限定されない。例えば、プロセッサとして、GPU、ASIC、FPGA等を適宜使用することができる。また、本開示において、情報処理装置170が、補助記憶装置としてハードディスクドライブ2040を有する構成を示したが、補助記憶装置の種類は特に限定されない。例えば、ハードディスクドライブ2040に代えて、または、ハードディスクドライブ2040とともに、ソリッドステートドライブ等の他の記憶装置を用いてもよい。

[0310] 以上、本発明を実施の形態を用いて説明したが、本発明の技術的範囲は上記実施の形態に記載の範囲には限定されない。上記実施の形態に、多様な変更または改良を加えることが可能であることが当業者に明らかである。そのような変更または改良を加えた形態も本発明の技術的範囲に含まれることが、請求の範囲の記載から明らかである。

[0311] 請求の範囲、明細書、および図面中において示した装置、システム、プロ

グラム、および方法における動作、手順、ステップ、および段階等の各処理の実行順序は、特段「より前に」、「先だって」等と明示しておらず、また、前の処理の出力を後の処理で用いるのでない限り、任意の順序で実現しうることに留意すべきである。請求の範囲、明細書、および図面中の動作フローに関して、便宜上「まず、」、「次に、」等を用いて説明したとしても、この順で実施することが必須であることを意味するものではない。

[0312] (付記)

[項目 1]

生物体が浸された液体の中で、気体を導入することにより気泡を形成する気泡形成段階と、

気泡形成段階の前、途中または後に、気体と生物体との界面における界面自由エネルギー E_1 から、気体と液体との界面における界面自由エネルギー E_2 を引いた差分 ($E_1 - E_2$) を制御するエネルギー制御段階と、

エネルギー制御段階の途中または後に、気泡を生物体に接触させ、気泡を用いて生物体を操作する操作段階と、

を備える生物体の操作方法。

[項目 2]

エネルギー制御段階は、差分 ($E_1 - E_2$) を小さくするか、または、差分 ($E_1 - E_2$) が大きくなることを抑制することを含み、

操作段階は、気泡と液体との気液界面に生物体を付着させることを含む、項目 1 に記載の操作方法。

[項目 3]

エネルギー制御段階は、差分 ($E_1 - E_2$) を大きくするか、または、差分 ($E_1 - E_2$) が小さくなることを抑制することを含む、

項目 1 または 2 に記載の操作方法。

[項目 4]

操作段階は、気泡と液体との気液界面が生物体を圧迫することを含む、項目 3 に記載の操作方法。

[項目 5]

エネルギー制御段階は、界面自由エネルギー E 2 を制御することを含む、項目 1 から 4 のいずれか 1 項に記載の操作方法。

[項目 6]

エネルギー制御段階は、液体の少なくとも一部を別の液体で置き換えることを含む、

項目 5 に記載の操作方法。

[項目 7]

エネルギー制御段階は、液体を、気泡との界面における界面自由エネルギー E 3 を有し、E 3 が E 2 よりも大きい別の液体に置換することを含む、

項目 6 に記載の操作方法。

[項目 8]

エネルギー制御段階は、液体に別の液体を追加することを含む、

項目 5 に記載の操作方法。

[項目 9]

エネルギー制御段階は、液体に無機塩を追加することを含む、

項目 5 に記載の操作方法。

[項目 10]

エネルギー制御段階は、液体から極性有機化合物を除去することを含む、

項目 5 に記載の操作方法。

[項目 11]

エネルギー制御段階は、液体を、気体との界面における界面自由エネルギー E 4 を有し、E 4 が E 2 よりも小さい別の液体に置換することを含む、

項目 6 に記載の操作方法。

[項目 12]

エネルギー制御段階は、液体に極性有機化合物を追加することを含む、

項目 5 に記載の操作方法。

[項目 13]

エネルギー制御段階は、気体の少なくとも一部を別の気体で置き換えることを含む。

項目 1 から 4 のいずれか一項に記載の操作方法。

[項目 1 4]

エネルギー制御段階は、気泡形成段階で形成された気泡を、形成後、10 秒以内に生物体に付着させることを含む、

項目 1 から 1 3 のいずれか一項に記載の操作方法。

[項目 1 5]

エネルギー制御段階は、気泡形成段階で形成された気泡を、形成後、15 秒以上経過後に生物体に付着させることを含む、

項目 1 から 1 3 のいずれか一項に記載の操作方法。

[項目 1 6]

エネルギー制御段階は、気泡形成段階で形成された気液界面を拡大または縮小させることを含む、

項目 1 から 5 のいずれか一項に記載の操作方法。

[項目 1 7]

エネルギー制御段階は、気泡形成段階における気体の導入速度または吸引速度を制御することを含む、

項目 1 から 5 のいずれか一項に記載の操作方法。

[項目 1 8]

エネルギー制御段階は、液体の温度を制御することを含む、

項目 1 から 1 7 のいずれか 1 項に記載の操作方法。

[項目 1 9]

エネルギー制御段階は、気泡の湿度を制御することを含む、

項目 1 から 1 8 のいずれか 1 項に記載の操作方法。

[項目 2 0]

操作段階は、液体と気泡との界面を生物体に接触させ、界面を移動することで生物体を操作することを含む、

項目 1 から 19 のいずれか 1 項に記載の操作方法。

[項目 21]

気泡形成段階は、気体を導入可能な流路の端部を液体中に浸して、端部から気体を液体に導入することを含み、

流路および生物体の相対的な位置を近づけるように移動させる移動段階をさらに含む、

項目 20 に記載の操作方法。

[項目 22]

操作段階は、液体と気泡との界面を生物体に接触させ、流路内に界面を取り込むことで、界面に接触した生物体を回収することを含む、

項目 21 に記載の操作方法。

[項目 23]

操作段階は、液体と気泡との界面を生物体に接触させた後、10秒以内に、流路内に界面を取り込むことを含む、

項目 22 に記載の操作方法。

[項目 24]

生物体を操作するための生物体操作装置であって、

生物体が浸される液体中に配置された端部から気体が導入されて端部に気泡を形成する流路と、

気体と生物体との界面における界面自由エネルギー E_1 から、気体と液体との界面における界面自由エネルギー E_2 を引いた差分 ($E_1 - E_2$) を制御するエネルギー制御部と、

気泡により生物体を操作する操作部と、

を備える生物体操作装置。

[項目 25]

エネルギー制御部は、操作部に流路に接続されたポンプを制御させ、これにより液体中での気泡の体積を制御する体積制御部を有する、

項目 24 に記載の生物体操作装置。

[項目 26]

界面自由エネルギーの差分 ($E_1 - E_2$) を変更し得る別の液体を格納する液体格納部と、

液体格納部から別の液体が流通可能な液体流路と、
を更に備え、

エネルギー制御部は、液体流路を介して、別の液体を液体に追加するか、
または、液体を少なくとも部分的に別の液体に置換する液体制御部を有する

、
項目 24 または 25 に記載の生物体操作装置。

[項目 27]

エネルギー制御部は、液体の温度を制御する温度制御部を有する、
項目 24 から 26 のいずれか 1 項に記載の生物体操作装置。

[項目 28]

エネルギー制御部は、気体の湿度を制御する湿度制御部を有する、
項目 24 から 27 のいずれか 1 項に記載の生物体操作装置。

[項目 29]

生物体を拡大表示するための顕微鏡部を更に備える、
項目 24 から 28 のいずれか 1 項に記載の生物体操作装置。

[項目 30]

操作部は、液体と気泡との界面を生物体に接触させ、界面を移動することで生物体を操作する、

項目 24 から 29 のいずれか 1 項に記載の生物体操作装置。

[項目 31]

操作部は、流路内に界面を取り込むことで、生物体を回収することを含む

、
項目 30 に記載の生物体操作装置。

[項目 32]

体積制御部は、気体の導入速度または吸引速度を制御する、

項目 2 4 から 3 1 のいずれか 1 項に記載の生物体操作装置。

[項目 3 3]

命令を内部に有するコンピュータプログラムであって、
命令は、プロセッサまたはプログラム可能回路に実行されると、
プロセッサまたはプログラム可能回路が、
生物体が浸された液体の中で、気体を導入することにより気泡を形成する
気泡形成ステップと、

気泡形成ステップの前、途中または後に、気体と生物体との界面における
界面自由エネルギー E_1 から、気体と液体との界面における界面自由エネルギー E_2 を引いた差分 ($E_1 - E_2$) を制御するエネルギー制御ステップと、

エネルギー制御ステップの途中または後に、端部に生物体を操作する気泡
を形成する操作ステップと、

を含む動作を制御する、
コンピュータプログラム。

[項目 3 4]

容器に供給された、生物体を含む液体中に端部を配置する流路と、
流路に気体を導入し端部に気泡を形成するポンプと、
容器または流路の位置を制御する位置制御部と、を備え、
位置制御部は、気泡が生物体に接触可能な位置に容器又は流路を移動させ

ポンプは、位置で気泡を形成し、気泡の体積を増加させながら気泡を生物
体に接触させる、

生物体操作装置。

符号の説明

- [0313] 1 蛍光像観察用光源
 2 ダイクロイックミラー
 3 光偏向器

- 4 リレーレンズ
- 5 ダイクロイックミラー
- 6 対物レンズ
- 7 コンデンサレンズ
- 8 集光レンズ
- 9 バンドパスフィルタ
- 10 透過像観察用光源
- 11 バリアフィルタ
- 12 投影レンズ
- 13 バリアフィルタ
- 14 投影レンズ
- 15 ピンホール
- 16 光源
- 17 光源
- 25 容器
- 31 ノルマルスキープリズム
- 32 アナライザ（偏光板）
- 35 操作対象
- 37 ポラライザ（偏光板）
- 38 ノルマルスキープリズム
- 39 リング絞り
- 40 ノズル用アクチュエータ
- 41 サンプル用アクチュエータ
- 42 流路撮像用カメラ
- 45 光源
- 46 光源
- 47 圧力生成部
- 48 センサー部

- 4 9 ノズル
- 5 0 顕微鏡部
- 5 1 流路
 - 5 1 a 第1流路
 - 5 1 b 第2流路
- 5 3 流路交換部
- 5 4 液体格納部
- 5 8 サンプル蓋
- 5 9 サンプル蓋保管部
- 6 0 カメラ
- 7 0 カメラ
- 1 0 0 生物体操作装置
 - 1 0 1 操作部
 - 1 1 1 表示領域
 - 1 1 2 表示領域
 - 1 1 3 表示領域
 - 1 1 4 表示領域
 - 1 1 5 表示領域
 - 1 6 0 出力部
- 1 7 0 情報処理装置
 - 1 7 1 撮像制御部
- 1 8 0 入力部
- 1 9 0 記録部
- 2 0 0 体積制御部
- 2 5 0 流路制御部
 - 2 5 1 ポンプ
 - 2 5 1 a 第1ポンプ
 - 2 5 1 b 第2ポンプ

- 2 5 3 筒状部
- 2 5 3 a 外筒
- 2 5 3 b 内筒
- 2 5 4 端部
- 2 5 5 気液界面
- 2 5 6 気泡
- 2 5 7 夾雑物
- 2 6 0 液体制御部
- 2 6 1 液体
- 3 0 0 画像処理部
- 5 0 0 エネルギー制御部
- 1 9 0 0 コンピュータ
- 2 0 0 0 C P U
- 2 0 1 0 R O M
- 2 0 2 0 R A M
- 2 0 3 0 通信インターフェイス
- 2 0 4 0 ハードディスクドライブ
- 2 0 5 0 フレキシブルディスク・ドライブ
- 2 0 6 0 C D - R O M ドライブ
- 2 0 7 0 入出力チップ
- 2 0 7 5 グラフィック・コントローラ
- 2 0 8 0 表示装置
- 2 0 8 2 ホスト・コントローラ
- 2 0 8 4 入出力コントローラ
- 2 0 9 0 フレキシブルディスク
- 2 0 9 5 C D - R O M

請求の範囲

- [請求項1] 生物体が浸された液体の中で、気体を導入することにより気泡を形成する気泡形成段階と、
- 前記気泡形成段階の前、途中又は後に、前記気体と前記生物体との界面における界面自由エネルギー E_1 から、前記気体と前記液体との界面における界面自由エネルギー E_2 を引いた差分 ($E_1 - E_2$) を制御するエネルギー制御段階と、
- 前記エネルギー制御段階の途中又は後に、前記気泡を前記生物体に接触させ、前記気泡を用いて前記生物体を操作する操作段階と、
- を備える生物体の操作方法。
- [請求項2] 前記エネルギー制御段階は、前記差分 ($E_1 - E_2$) を小さくするか、または、前記差分 ($E_1 - E_2$) が大きくなることを抑制することを含み、
- 前記操作段階は、前記気泡と前記液体との気液界面に生物体を付着させることを含む、
- 請求項1に記載の操作方法。
- [請求項3] 前記エネルギー制御段階は、前記差分 ($E_1 - E_2$) を大きくするか、または、前記差分 ($E_1 - E_2$) が小さくなることを抑制することを含み、
- 請求項1又は2に記載の操作方法。
- [請求項4] 前記操作段階は、前記気泡と前記液体との気液界面が生物体を圧迫することを含み、
- 請求項3に記載の操作方法。
- [請求項5] 前記エネルギー制御段階は、前記界面自由エネルギー E_2 を制御することを含み、
- 請求項1から4のいずれか1項に記載の操作方法。
- [請求項6] 前記エネルギー制御段階は、前記液体の少なくとも一部を別の液体で置き換えることを含み、

- 請求項5に記載の操作方法。
- [請求項7] 前記エネルギー制御段階は、前記液体に別の液体を追加することを含む、
請求項5に記載の操作方法。
- [請求項8] 前記エネルギー制御段階は、前記液体に極性有機化合物または無機塩を追加することを含む、
請求項5に記載の操作方法。
- [請求項9] 前記エネルギー制御段階は、前記気体の少なくとも一部を別の気体で置き換えることを含む、
請求項1から4のいずれか一項に記載の操作方法。
- [請求項10] 前記エネルギー制御段階は、前記気泡形成段階で形成された気泡を、形成後、10秒以内に前記生物体に付着させることを含む、
請求項1から9のいずれか一項に記載の操作方法。
- [請求項11] 前記エネルギー制御段階は、前記気泡形成段階で形成された気泡を、形成後、15秒以上経過後に前記生物体に付着させることを含む、
請求項1から9のいずれか一項に記載の操作方法。
- [請求項12] 前記エネルギー制御段階は、前記気泡形成段階で形成された前記気泡の気液界面を拡大又は縮小させることを含む、
請求項1から5のいずれか1項に記載の操作方法。
- [請求項13] 前記エネルギー制御段階は、前記気泡形成段階における前記気体の導入速度または吸引速度を制御することを含む、
請求項1から5のいずれか1項に記載の操作方法。
- [請求項14] 前記操作段階は、前記液体と前記気泡との界面を前記生物体に接触させ、前記界面を移動することで前記生物体を操作することを含む、
請求項1から13のいずれか1項に記載の操作方法。
- [請求項15] 前記気泡形成段階は、前記気体を導入可能な流路の端部を液体中に浸して、前記端部から前記気体を前記液体に導入することを含み、
前記流路および前記生物体の相対的な位置を近づけるように移動さ

せる移動段階をさらに含む、請求項 1 4 に記載の操作方法。

[請求項16] 前記操作段階は、前記液体と前記気泡との界面を前記生物体に接触させ、前記流路内に前記界面を取り込むことで、前記界面に接触した前記生物体を回収することを含む、
請求項 1 5 に記載の操作方法。

[請求項17] 前記操作段階は、前記液体と前記気泡との界面を前記生物体に接触させた後、10秒以内に、前記流路内に前記界面を取り込むことを含む、
請求項 1 6 に記載の操作方法。

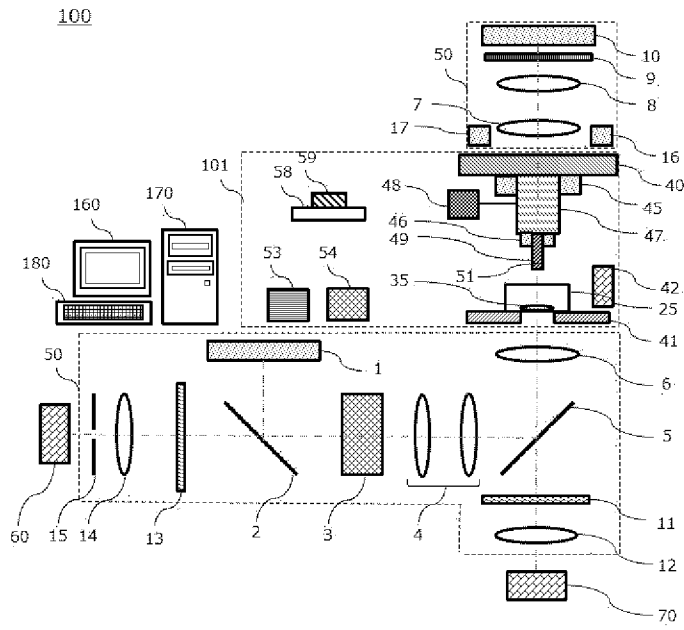
[請求項18] 生物体を操作するための生物体操作装置であって、
前記生物体が浸される液体中に配置された端部から気体が導入されて前記端部に気泡を形成する流路と、
前記気体と前記生物体との界面における界面自由エネルギー E_1 から、前記気体と前記液体との界面における界面自由エネルギー E_2 を引いた差分 ($E_1 - E_2$) を制御するエネルギー制御部と、
前記気泡により前記生物体を操作する操作部と、
を備える生物体操作装置。

[請求項19] 前記エネルギー制御部は、前記操作部に前記流路に接続されたポンプを制御させ、これにより前記液体中での前記気泡の体積を制御する体積制御部を有する、
請求項 1 8 に記載の生物体操作装置。

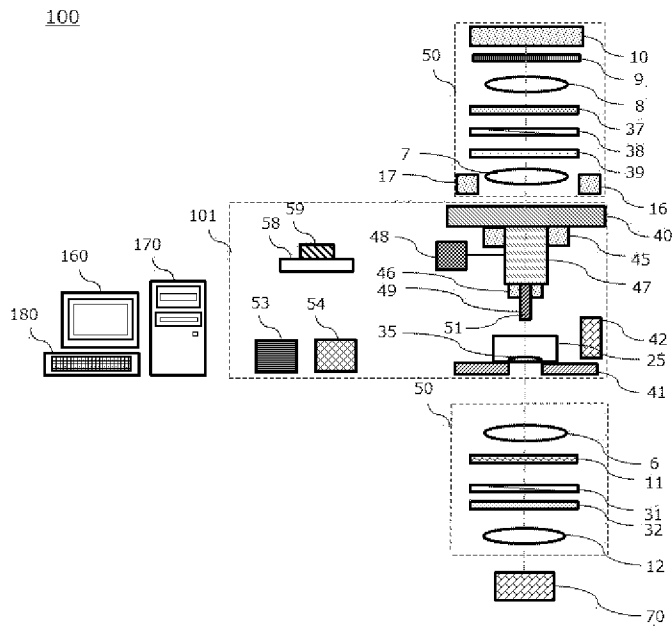
[請求項20] 容器に供給された、生物体を含む液体中に端部を配置する流路と、
前記流路に気体を導入し前記端部に気泡を形成するポンプと、
前記容器または前記流路の位置を制御する位置制御部と、を備え、
前記位置制御部は、前記気泡が前記生物体に接触可能な位置に前記容器又は前記流路を移動させ、
前記ポンプは、前記位置で前記気泡を形成し、前記気泡の体積を増加させながら前記気泡を前記生物体に接触させる、

生物体操作装置。

[図1A]

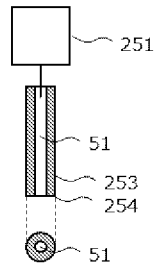


[図1B]



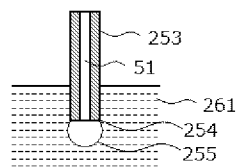
[図2A]

49



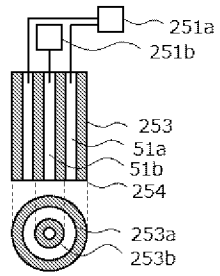
[図2B]

49



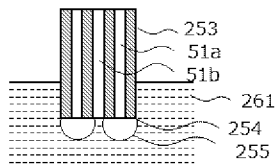
[図3A]

49

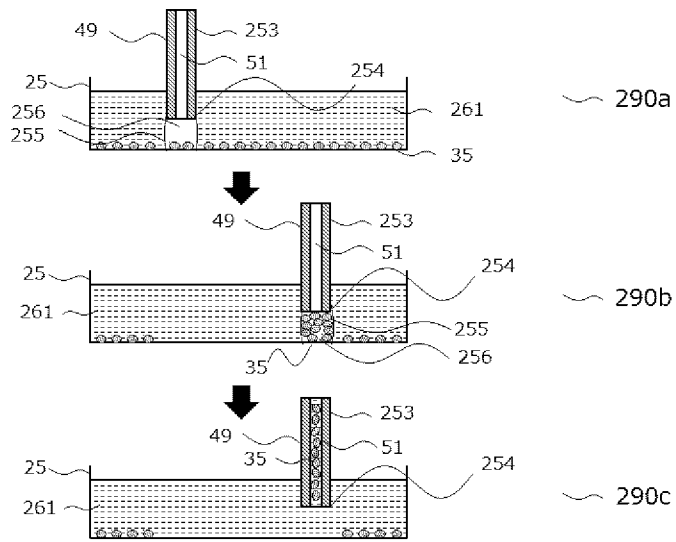


[図3B]

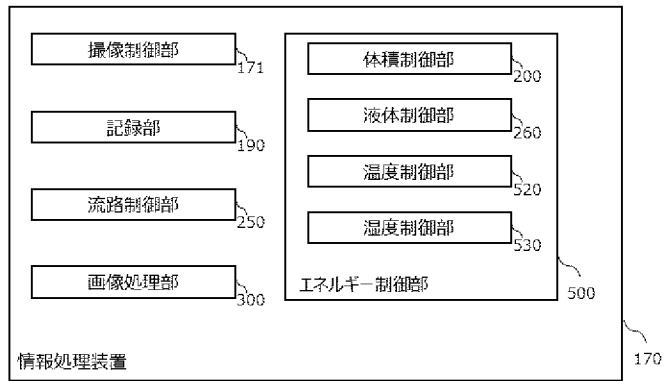
49



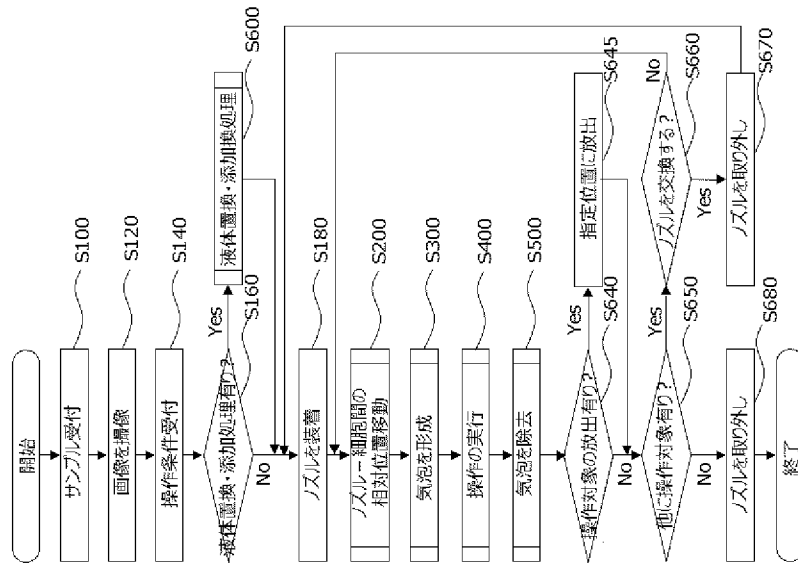
[図4]



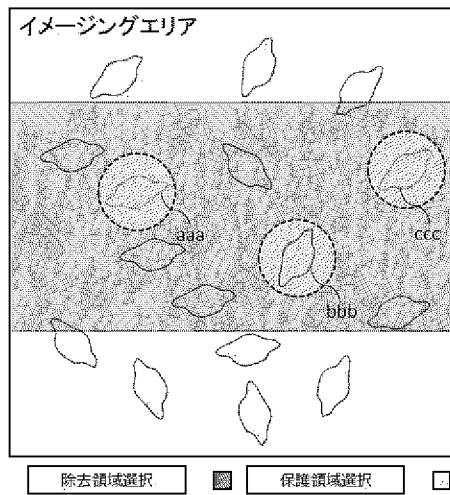
[図5]



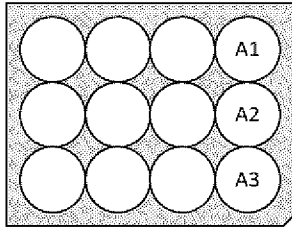
[図6]



[図7A]



[図7B]



[図7C]

ID	座標	大きさ	移動先
aaa	(Xaaa, Yaaa)	AAA	A1
bbb	(Xbbb, Ybbb)	BBB	A2
ccc	(Xccc, Yccc)	CCC	A3

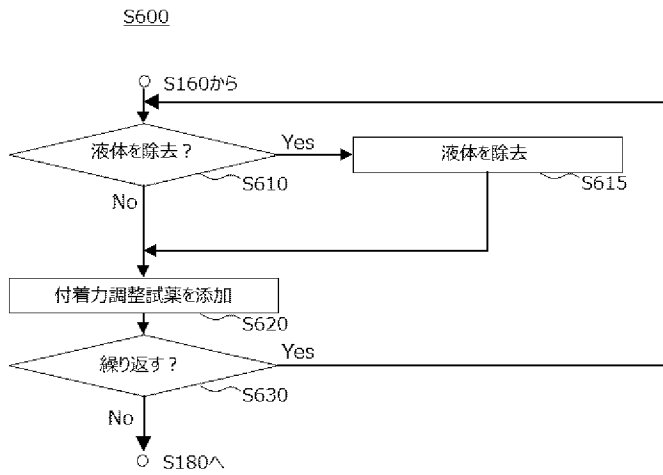
[図7D]

▼ 細胞操作 <input checked="" type="radio"/> 細胞回収(継代) <input type="radio"/> 細胞回収(解析) <input type="radio"/> 細胞除去、カット <input type="radio"/> 細胞質回収 <input type="radio"/> 細胞保持、移動 <input type="radio"/> 細胞接着力測定 ▼ 細胞圧迫 <input type="radio"/> 細胞メカニクス解析 <input type="radio"/> 細胞深部観察 <input type="radio"/> 細胞超解像観察	111 112
--	--

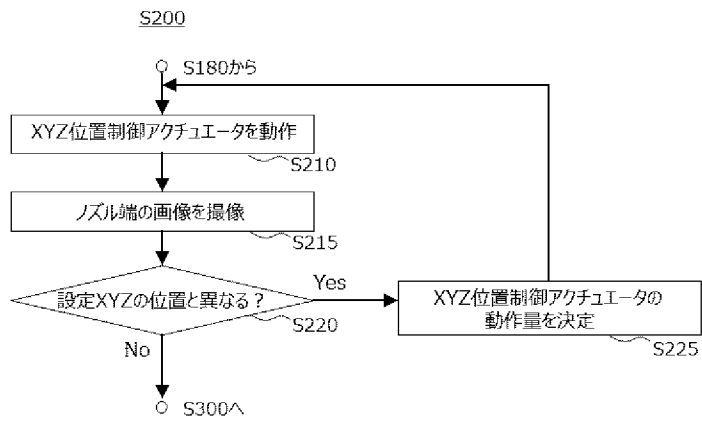
[図7E]

アプリケーション <input type="text" value="細胞回収(解析)"/> ▼	113
操作細胞形態 <input type="radio"/> 細胞質 <input checked="" type="radio"/> 単独細胞 <input type="radio"/> 細胞集団(コロニー) <input type="radio"/> スフェロイド	114
操作 <input checked="" type="radio"/> 回収 <input type="radio"/> 保持 <input type="radio"/> 除去 <input type="radio"/> 圧迫	115

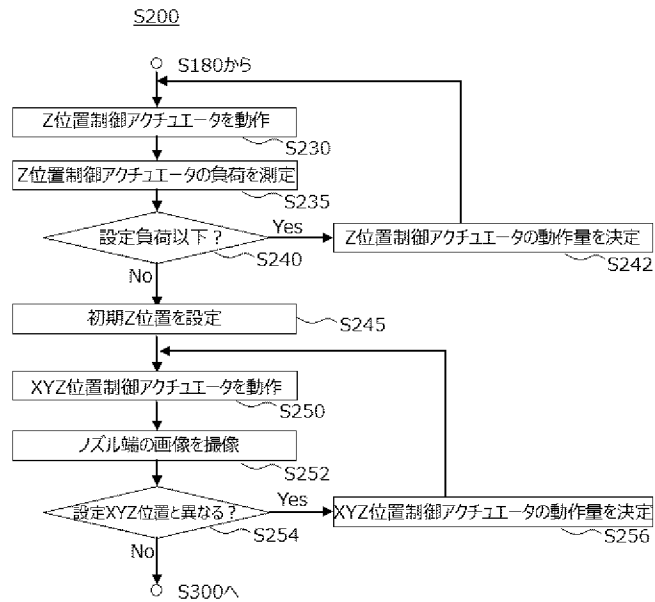
[図8]



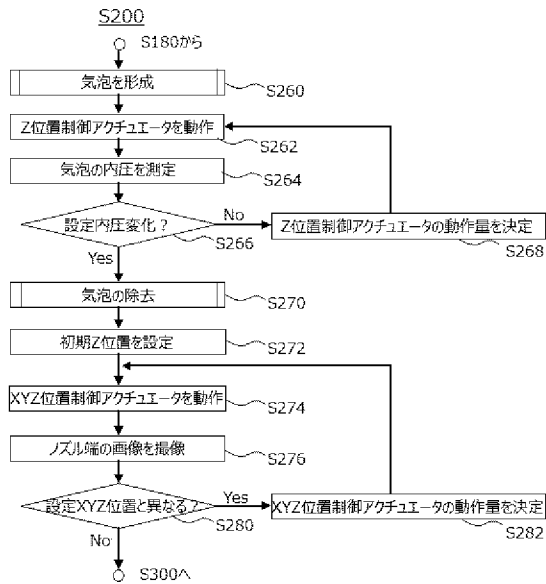
[図9A]



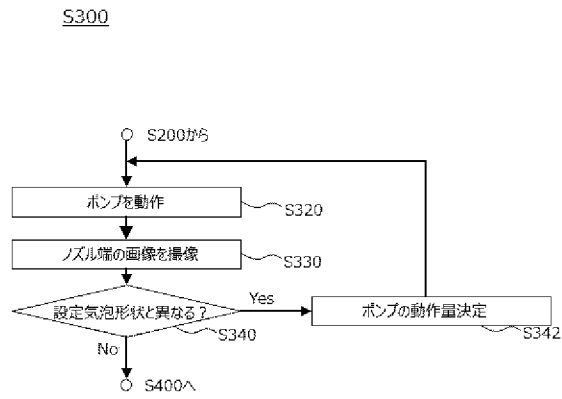
[図9B]



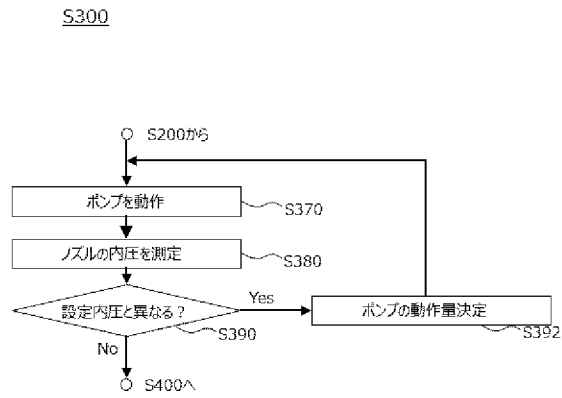
[図9C]



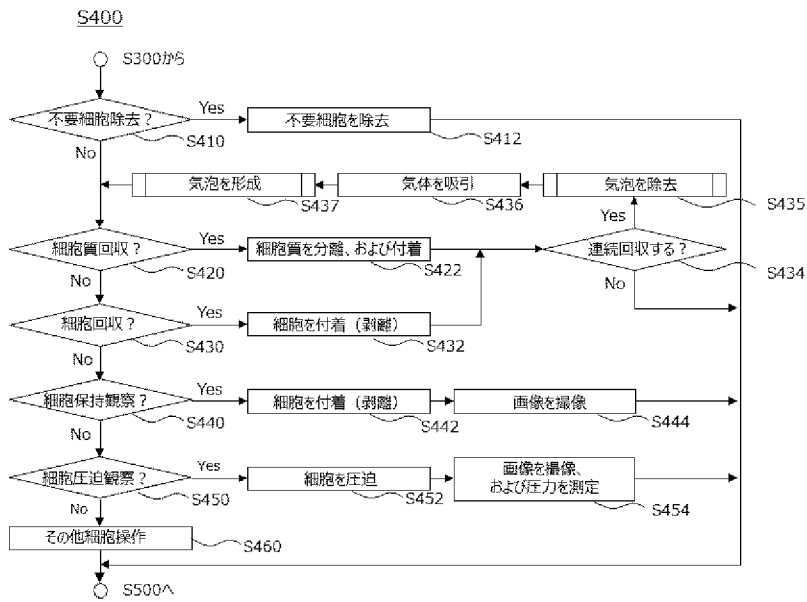
[図10A]



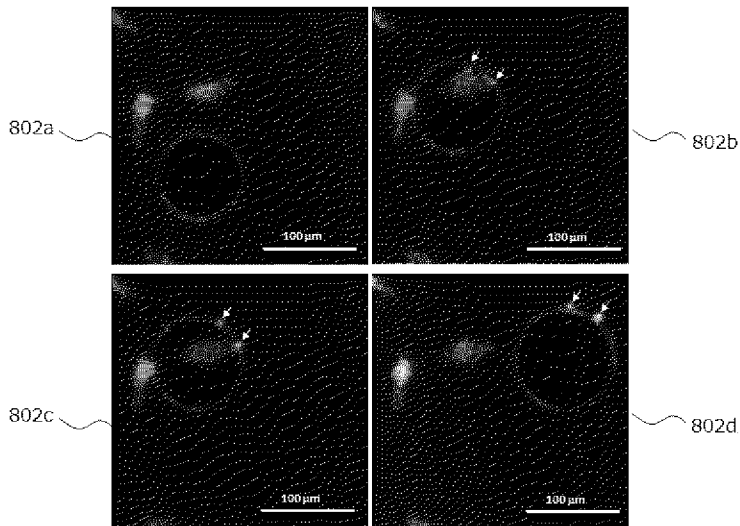
[図10B]



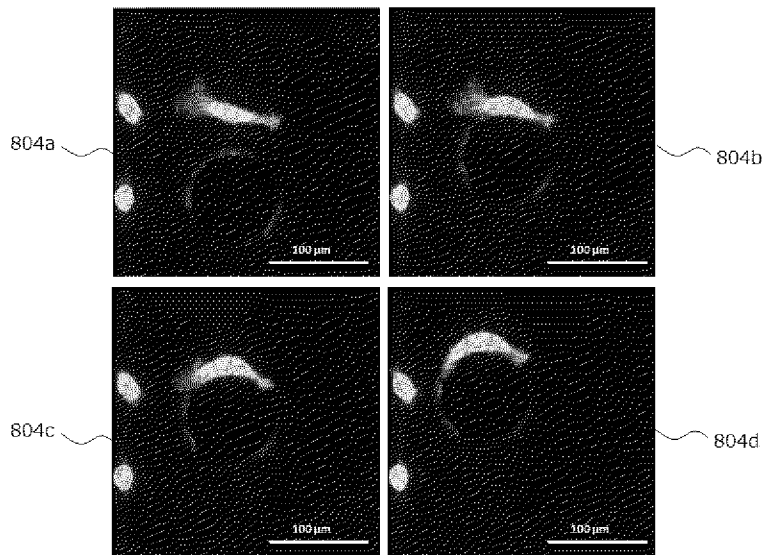
[図11A]



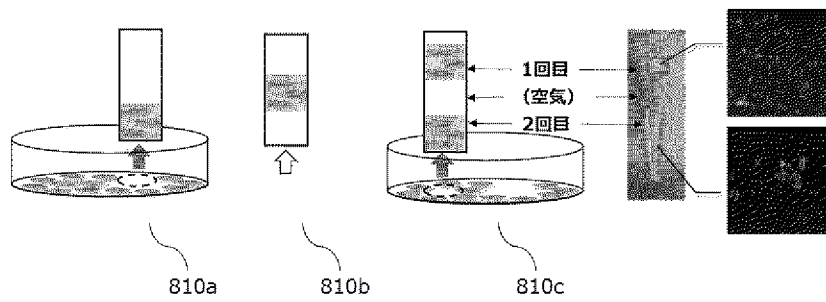
[図11B]



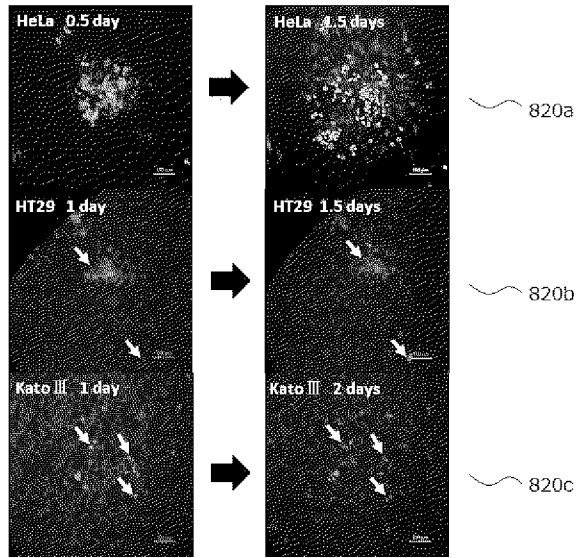
[図11C]



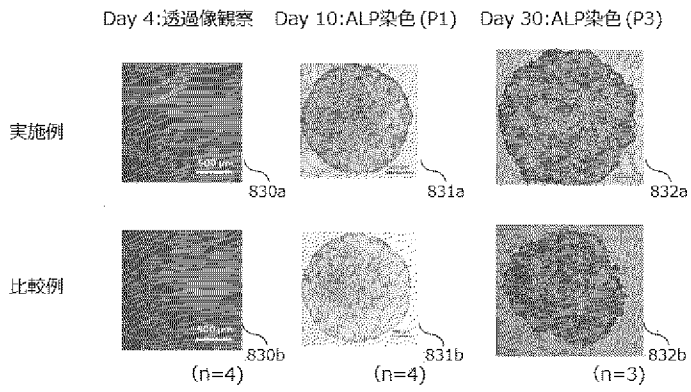
[図11D]



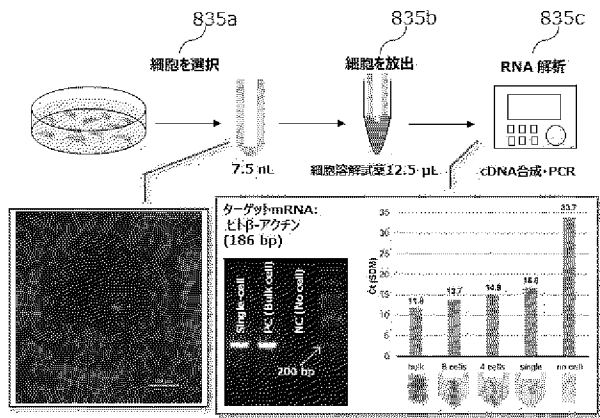
[圖11E]



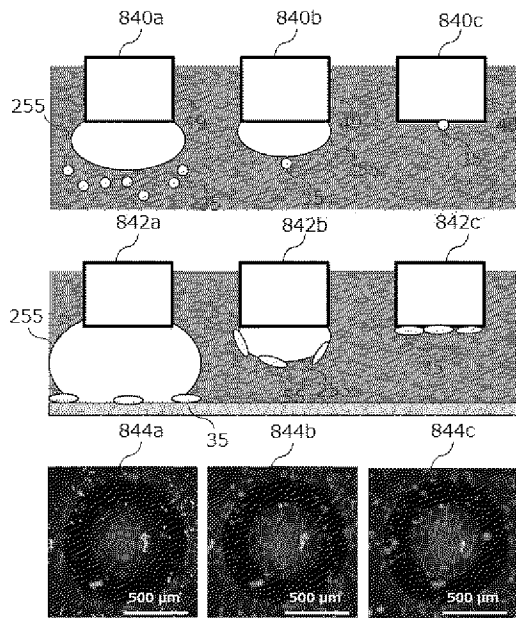
[圖11F]



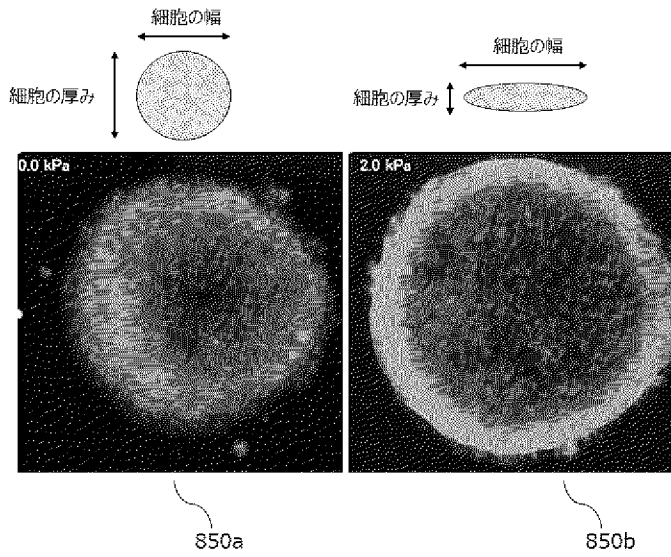
[図11G]



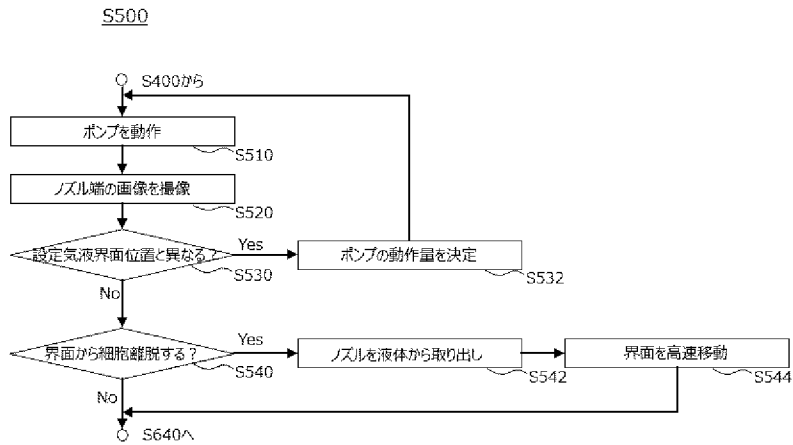
[図11H]



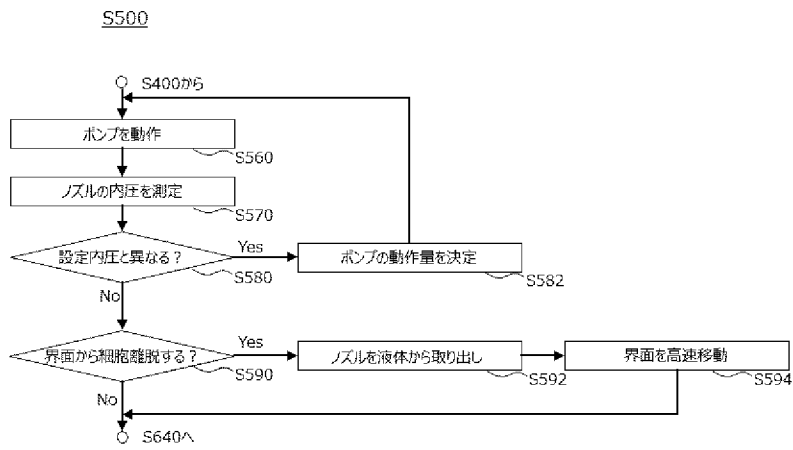
[図11I]



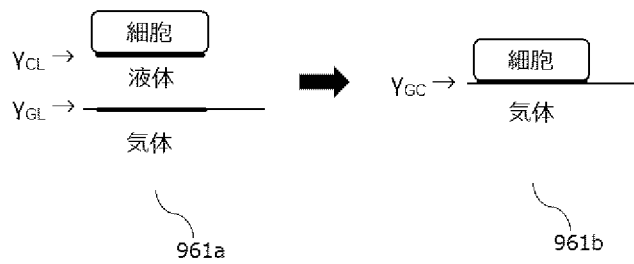
[図12A]



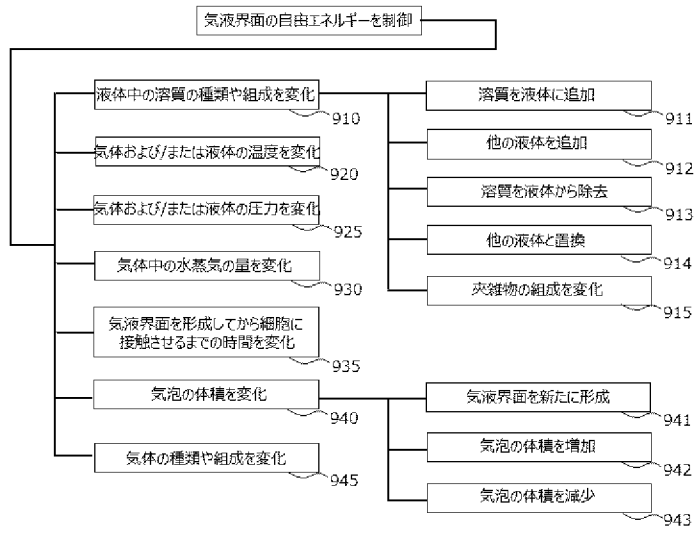
[図12B]



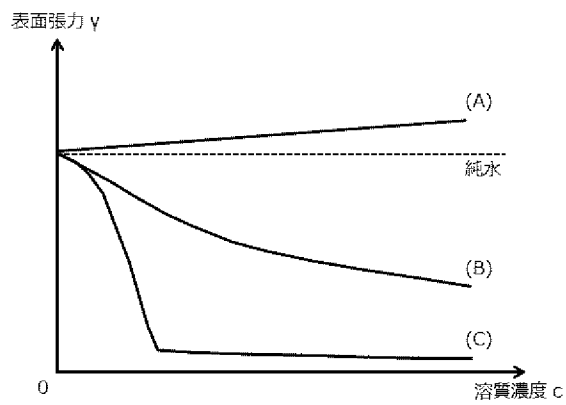
[図13A]



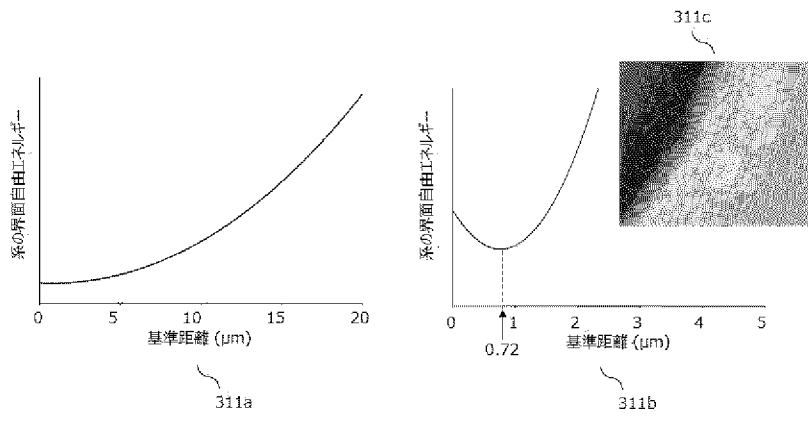
[図13B]



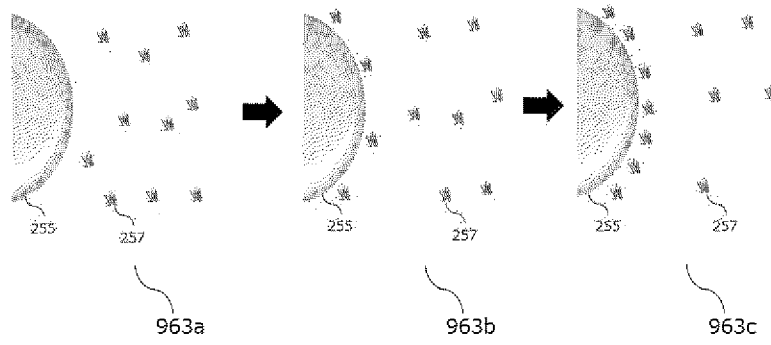
[図13C]



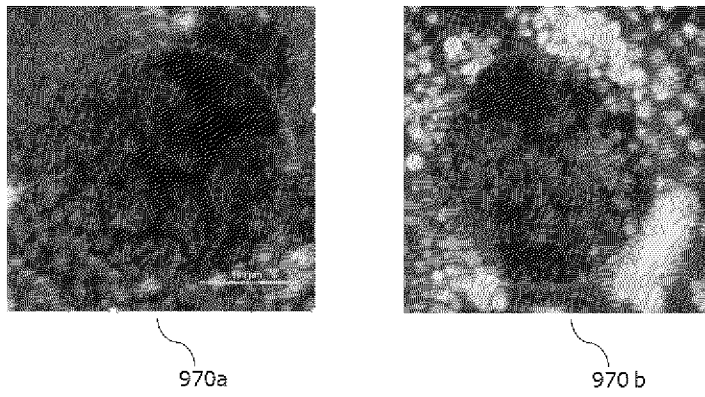
[図13D]



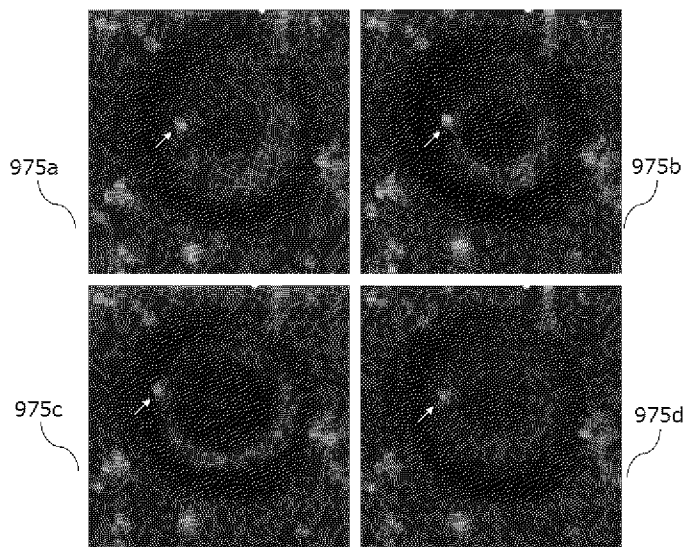
[図13E]



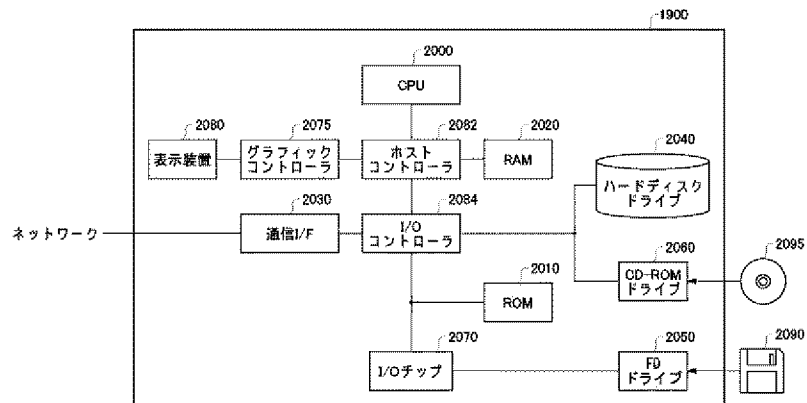
[図13F]



[図13G]



[図14]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2021/035192

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
<i>C12M 1/00</i> (2006.01)i; <i>C12M 1/04</i> (2006.01)i; <i>C12M 1/26</i> (2006.01)i FI: C12M1/00 Z; C12M1/26; C12M1/04		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C12M1/00; C12M1/04; C12M1/26		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Published examined utility model applications of Japan 1922-1996 Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2021 Registered utility model specifications of Japan 1996-2021 Published registered utility model applications of Japan 1994-2021		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 07-047259 A (HITACHI LTD) 21 February 1995 (1995-02-21) paragraphs [0001], [0101]-[0114], fig. 21	1-14, 18, 19
A	entire text	15-17, 20
X	WO 2015/098919 A1 (SEKISUI CHEMICAL CO LTD) 02 July 2015 (2015-07-02) claims, fig. 1, 2	1-10, 13, 14, 18
A	entire text	15-17, 19, 20
A	JP 2005-538287 A (MEMSFLOW APS) 15 December 2005 (2005-12-15) entire text, all drawings	1-20
A	JP 3187489 B2 (CANON INC) 11 May 2001 (2001-05-11) entire text, all drawings	1-20
A	WO 2014/057713 A1 (FURUKAWA ELECTRIC CO., LTD) 17 April 2014 (2014-04-17) entire text, all drawings	1-20
A	JP 2006-158335 A (OLYMPUS CORP) 22 June 2006 (2006-06-22) entire text, all drawings	1-20
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 22 October 2021		Date of mailing of the international search report 09 November 2021
Name and mailing address of the ISA/JP Japan Patent Office (ISA/JP) 3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915 Japan		Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/JP2021/035192

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
JP	07-047259	A	21 February 1995	US 6216538 B1 column 1, lines 9-22, column 21, line 5 to column 23, line 48, fig. 21	
WO	2015/098919	A1	02 July 2015	(Family: none)	
JP	2005-538287	A	15 December 2005	WO 2004/016948 A1 entire text, all drawings EP 001534954 A1 US 2006/0051214 A1	
JP	3187489	B2	11 May 2001	(Family: none)	
WO	2014/057713	A1	17 April 2014	EP 002908116 A1 entire text, all drawings US 2015/0198537 A1	
JP	2006-158335	A	22 June 2006	(Family: none)	

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） C12M 1/00(2006.01)i; C12M 1/04(2006.01)i; C12M 1/26(2006.01)i FI: C12M1/00 Z; C12M1/26; C12M1/04		
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC）） C12M1/00; C12M1/04; C12M1/26 最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2021年 日本国実用新案登録公報 1996-2021年 日本国登録実用新案公報 1994-2021年		
国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語） JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII)		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X A	JP 07-047259 A (株式会社日立製作所) 21.02.1995 (1995-02-21) 段落 [0001]、[0101] - [0114]、図21 全文	1-14, 18, 19 15-17, 20
X A	WO 2015/098919 A1 (積水化学工業株式会社) 02.07.2015 (2015-07-02) 特許請求の範囲、図1, 2 全文	1-10, 13, 14, 18 15-17, 19, 20
A	JP 2005-538287 A (エムイーエムエスフロー・アンパルトセルスカブ) 15.12.2005 (2005-12-15) 全文、全図	1-20
A	JP 3187489 B2 (キヤノン株式会社) 11.05.2001 (2001-05-11) 全文、全図	1-20
A	WO 2014/057713 A1 (古河電気工業株式会社) 17.04.2014 (2014-04-17) 全文、全図	1-20
A	JP 2006-158335 A (オリンパス株式会社) 22.06.2006 (2006-06-22) 全文、全図	1-20
<input type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input checked="" type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー “A” 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの “E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの “L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す） “O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 “P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献	“T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの “X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの “Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの “&” 同一パテントファミリー文献	
国際調査を完了した日 22.10.2021	国際調査報告の発送日 09.11.2021	
名称及びあて先 日本国特許庁(ISA/JP) 〒100-8915 日本国 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	権限のある職員（特許庁審査官） 中村 勇介 4N 4872 電話番号 03-3581-1101 内線 3448	

国際調査報告
 パテントファミリーに関する情報

国際出願番号

PCT/JP2021/035192

引用文献	公表日	パテントファミリー文献	公表日
JP 07-047259 A	21.02.1995	US 6216538 B1 第1欄第9行-22行, 第21欄第 5行-第23欄第48行, 図21	
WO 2015/098919 A1	02.07.2015	(ファミリーなし)	
JP 2005-538287 A	15.12.2005	WO 2004/016948 A1 全文, 全図 EP 001534954 A1 US 2006/0051214 A1	
JP 3187489 B2	11.05.2001	(ファミリーなし)	
WO 2014/057713 A1	17.04.2014	EP 002908116 A1 全文, 全図 US 2015/0198537 A1	
JP 2006-158335 A	22.06.2006	(ファミリーなし)	