

(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 2022/065460 A1

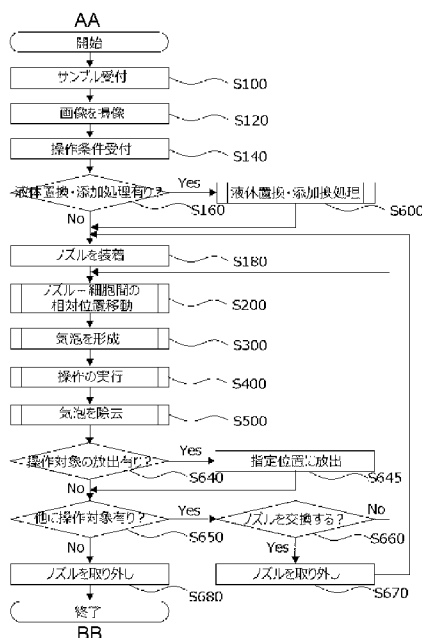
- (51) 国際特許分類:
C12M 1/04 (2006.01) C12N 1/02 (2006.01)
C12N 1/00 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2021/035209
- (22) 国際出願日: 2021年9月24日(24.09.2021)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2020-160241 2020年9月24日(24.09.2020) JP
- (71) 出願人: 株式会社ニコン (NIKON CORPORATION) [JP/JP]; 〒1086290 東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). 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). 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). 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: OPERATION METHOD AND OPERATION DEVICE FOR LIVING BODY

(54) 発明の名称: 生物体の操作方法および操作装置

【図6】



AA... START
S100... RECEIVE SAMPLE
S120... CAPTURE IMAGE
S140... RECEIVE OPERATION CONDITION
S160... IS THERE LIQUID REPLACEMENT OR ADDITION PROCESS?
S180... MOUNT NOZZLE
S200... MOVE RELATIVE POSITION BETWEEN NOZZLE-CELLS
S300... FORM BUBBLE
S400... EXECUTE OPERATION
S500... REMOVE BUBBLE
S600... LIQUID REPLACEMENT OR ADDITION PROCESS
S640... IS THERE DISPOSITION OF OBJECT TO BE OPERATED?
S645... DISPOSE TO DESIGNATED POSITION
S650... IS THERE OTHER OBJECT TO BE OPERATED?
S660... IS NOZZLE TO BE EXCHANGED?
S670, S680... DETACH NOZZLE
BB... END

(57) Abstract: According to a first aspect of the present invention, provided is an operation method for a living body, comprising: a gas-liquid interface forming step for immersing an end part of a channel in a liquid in which the living body is immersed and forming, inside the channel or on the end part, a gas-liquid interface on which a restoration force works with respect to a minute movement of the interface; and an operation step for operating the living body by using the gas-liquid interface.

(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:

— 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に流路の端部を浸し、流路内又は端部に、微小な界面移動に対して復元力が働く気液界面を形成する気液界面形成段階と、気液界面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。前記生物体の操作方法是、生物体が浸された液体に流路の端部を浸し、前記流路内又は前記端部に、微小な界面移動に対して復元力が働く気液界面を形成する気液界面形成段階を備えてよい。また、前記生物体の操作方法是、前記気液界面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、前記生物体の操作方法の前記気液界面形成段階は、前記端部から気体を放出または吸引する段階を含んでよい。

[0005] 本発明の第3の態様においては、前記生物体の操作方法の前記気液界面形成段階は、前記端部から気体を放出し、前記端部に、微小な体積変化に対して復元力が働く前記気液界面を維持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、前記生物体の操作方法の前記気液界面形成段階において、前記気液界面から前記流路の内部まで連続する前記気体が占める気体体積 V (m³)は、前記流路の端部の半径 r_h (m)に対して以下の式を満たしてよい。

$$V \leq a \times r_h^4 + b \times r_h^3$$

ただし、 $a = 2.65 \times 10^8$ 、および $b = 2.59 \times 10^2$ を満たす。

[0007] 本発明の第5の態様においては、前記生物体の操作方法是、前記気液界面

形成段階の前に、前記流路の端部から内部まで連続する前記気体が占める気体体積を減少させる体積減少段階を更に含んでよい。

[0008] 本発明の第6の態様においては、前記生物体の操作方法の前記体積減少段階は、前記流路の内部に前記液体を取り込んでおき、取り込んだ液体により前記流路の内部の前記気体を区画することを含んでよい。

[0009] 本発明の第7の態様においては、前記生物体の操作方法の前記体積減少段階は、前記流路に、前記流路の内部の一部の空間をふさぐ充填材を充填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、前記生物体の操作方法の前記流路はノズル及び前記ノズルに連結されるポンプの内部に形成される空間を含んでよい。前記体積減少段階は、前記ポンプの容量を最大容量の10%以下に低減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、前記生物体の操作方法の前記流路には、前記流路の内部の空間を区分する区分部材が設けられてよい。

[0012] 本発明の第10の態様においては、前記生物体の操作方法の前記流路の端部の断面形状は、内側に向けて突出部を有する形状であってよい。

[0013] 本発明の第11の態様においては、前記生物体の操作方法の前記流路の端部において、前記流路の内側面と、前記流路を形成する流路部材の端部側の面とにより角が形成され、当該角のなす角度は 90 ± 5 度の範囲であってよい。

[0014] 本発明の第12の態様においては、前記生物体の操作方法の前記流路を形成する流路部材と前記液体との液滴法による接触角は90度以下であってよい。

[0015] 本発明の第13の態様においては、前記生物体の操作方法の前記流路は、端部側に設けられた先端部分を有してよい。前記流路は、前記先端部分に接続され、前記先端部分の流路径と異なる流路径を有する内側部分を有してよい。前記先端部分と前記内側部分との接続部分において前記流路は段差を形成してよい。

- [0016] 本発明の第14の態様においては、前記生物体の操作方法の前記流路は、流路径の太い部分および細い部分を備えてよい。前記流路径の細い部分の流路径は、前記流路径の太い部分の流路径の10分の1以下であってよい。
- [0017] 本発明の第15の態様においては、前記生物体の操作方法の前記気液界面形成段階の前に、前記気体との間における前記液体の表面張力を減少させる表面張力減少段階を更に含んでよい。
- [0018] 本発明の第16の態様においては、前記生物体の操作方法は、前記気液界面に加わる第1圧力を検知する検知段階をさらに有してよい。前記検知段階は、前記流路に気体を放出し続けた際の前記第1圧力の変化を検知し、前記変化した前記第1圧力の値に基づき前記気液界面を形成可能な第2圧力を決定してよい。
- [0019] 本発明の第17の態様においては、前記生物体の操作方法は、前記気液界面に加わる第1圧力を検知する検知段階をさらに有してよい。前記生物体の操作方法は、前記第1圧力の変化に基づき前記流路の端部が前記液体に接触したこと、または前記流路の端部に形成された前記気液界面が前記生物体を培養する容器の底部に接触したことを検知してよい。
- [0020] 本発明の第18の態様においては、前記生物体の操作方法は、前記気液界面形成段階の前に、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。
- [0021] また、本発明の第19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。前記生物体操作装置は、前記生物体が浸される液体に端部が浸される流路を備えてよい。前記生物体操作装置は、前記流路の内部又は端部に、微小な界面移動に対して復元力が働く気液界面を形成し、前記気液界面により生物体を操作する気液界面操作部を備えてよい。
- [0022] 本発明の第20の態様においては、前記生物体操作装置の前記気液界面操作部は、前記端部から前記液体に気体を放出してよい。前記端部に、微小な体積変化に対して復元力が働く前記気液界面を維持してよい。
- [0023] 本発明の第21の態様においては、前記生物体操作装置は、前記流路の前

記気液界面から内部まで連続する前記気体が占める気体体積 V (m³) は、前記流路の端部の半径 r_h (m) に対し以下の式を満たしてよい。

$$V \leq a \times r_h^4 + b \times r_h^3,$$

ただし、 $a = 2.65 \times 10^8$ 、および $b = 2.59 \times 10^2$ を満たす。

[0024] また、本発明の第22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。前記生物体操作装置は、前記流路に気体を導入して前記端部に気液界面を形成するポンプを備えてよい。前記生物体操作装置は、前記気液界面に加わる第1圧力を検知する圧力検知部を備えてよい。前記生物体操作装置は、前記気液界面を維持可能な第2圧力が記憶された記憶部を備えてよい。前記ポンプは、前記第1圧力の変化に基づき前記気体の導入量を変化させ、前記第1圧力が前記第2圧力以下の状態を維持するように前記流路に導入する前記気体を制御してよい。

[0025] 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

[0026] [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]気液界面の安定化式について説明する図である。

[図13B]気液界面におけるメニスカスとノズル表面とのなす角 θ_m と、安定化式の右辺との関係を表す図である。

[図13C]気泡を安定化させる方法を説明する図である。

[図13D]ノズルの流路内の体積を減少させる方法の一例を示す。

[図13E]ノズルの流路内の体積を減少させる方法の一例を示す。

[図13F]ノズルの端部の形状を変化させたときの、無次元体積および無次元曲率との関係を表す図である。

[図13G]ノズルの端部の面取り角度を変化させたときの、ラプラス圧変化率と気泡体積との関係を示した。

[図13H]ノズル表面の接触角を変化させたときの、無次元体積および無次元曲率との関係を表す図である。

[図13I]ノズルに段差を設けることを説明する図である。

[図13J]段差を設けたノズルの一例を示す。

[図13K]微小な体積の気体による、気泡が安定に形成される様子を示す図である。

[図13L]流路の端部の半径および気泡の最大安定体積との関係を表す図である。

。

[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

[0027] 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。

[0028] 図1Aは、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。本願発明に係る生物体操作装置100は、気体と液体との界面を用いて、細胞などの生物体を操作する。例えば、生物体操作装置100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100は、顕微鏡部50と、カメラ60と、カメラ70と、気液界面操作部101と、出力部160と、情報処理装置170と、入力部180とを備える。

[0029] 顕微鏡部50は、操作対象35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35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、細胞以外の生物体であってもよい。一例として、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。

[0030] 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。

[0031] 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。

[0032] 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。

[0033] 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。

[0034] 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。

[0035] 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。

[0036] 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。

[0037] 気液界面操作部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、気液界面操作部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。気液界面操作部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。ここで、気液界面操作部101は、流路51の内部または端部に、微小な界面移動に対して復元力が働く気液界面255を形成してよい。例えば、気液界面操作部101は、ノズル49の端部254から液体に気体を放出し、端部254に微小な界面移動に対して復元力が働く気液界面255を維持してよい。微小な界面移動に対して復元力が働くことにより、形成された気泡は安定化するが、その機構については後述する。

[0038] 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もよい。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内の気泡形成部のノズル位置制御部（図示せず）により制御される。

[0039] 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内の気泡形成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、気液界面操作部１０１に設けられてよいし、顕微鏡部５０に設けられてもよい。

[0040] 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、気泡形成部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。

[0041] 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。

[0042] 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 内の気泡形成部により行われる。

[0043] 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・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。

[0044] 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。

[0045] 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、後述する気泡形成部 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。

[0046] 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。

[0047] 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の端部２５４は、操作対象３５が浸される液体中に浸されてよい。流路５１の他端側には、圧力生成部４７が接続される。

[0048] 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。

[0049] 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（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。

[0050] サンプル蓋５８は、容器２５に取り付ける蓋である。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 内の気泡形成部 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。

[0051] 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。

[0052] 情報処理装置 170 は、顕微鏡部 50、カメラ 60、カメラ 70、気液界面操作部 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、および気液界面操作部 101 と接続され、顕微鏡部 50、および気液界面操作部 101 を制御する。

[0053] 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 171）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。

[0054] 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。

[0055] 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。

[0056] 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。

[0057] また、情報処理装置170は、気液界面操作部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および気液界面操作部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、気液界面操作部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。

[0058] 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。

[0059] 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、ノルマルスキュープリズム 31 と、アナライザ（偏光板） 32 と、ポラライザ（偏光板） 37 と、ノルマルスキュープリズム 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ュープリズム 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 1 A の説明が適用されてよい。

[0060] 図 2 A および図 2 B 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 2 A 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、後述する気泡形成部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。

[0061] 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。

[0062] 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２５５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もよいし、液体を移動させることによって行ってもよいし、気泡の体積を変化することによって行ってもよい。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。

生物体を固相から剥離する方法の詳細は後述する。

[0063] 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。

[0064] 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。

[0065] 図 2 A および図 2 B 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。

[0066] 図 3 A および図 3 B 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 2 A および図 2 B 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 3 A および図 3 B 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。

[0067] 図 3 A において、ノズル 49 の筒状部 253 は、外筒 253 a および内筒 253 b の二重構造となっている。外筒 253 a と内筒 253 b との間は、気体 mengalir 第 1 流路 51 a であり、内筒 253 b の内部は第 2 流路 51 b である。例えば、第 1 流路 51 a は、気体供給流路であってよく、第 2 流路 51 b は、気体回収流路であってよい。

[0068] また、ノズル 49 の第 1 流路 51 a、および第 2 流路 51 b は、一端側でそれぞれ第 1 ポンプ 251 a、および第 2 ポンプ 251 b 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 251 a および第 2 ポンプ 251 b 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 251 a、および第 2 ポンプ 251 b はそれぞれ、気泡形成部 200 からの指示を受けたアクチュエータが、第 1 流路 51 a 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。

[0069] 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。

[0070] 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251bは、生物体が付着した気泡を、第2流路51b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。

[0071] なお、上記の実施形態では、第1ポンプ251aが第1流路51aに気体を給気することで気泡を形成し、第2ポンプ251bが第2流路51b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251bが第2流路51bに気体を給気することで気泡を形成し、第1ポンプ251aが第1流路51a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251aおよび第2ポンプ251b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251aおよび第2ポンプ251bは、どちらか一方が省略されてもよい。

[0072] 図3Aおよび図3B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3Aおよび図3B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51aではドーナツ形状であり、第2流路51b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。

[0073] 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。290a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。

[0074] 290a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。

[0075] 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、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。気泡形成部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。

[0076] 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。

[0077] 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。

[0078] 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。

[0079] 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、気泡形成部２００と、流路制御部２５０と、液体制御部２６０と、画像処理部３００とを有する。

[0080] 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

らは、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。

[0081] 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。

[0082] 気泡形成部 200 は、流路 51 で形成される気泡の圧力、および体積、気体の給気、および吸気、ノズル 49 の移動、ならびにステージの移動を制御する。気泡形成部 200 は、ノズル位置制御部、ステージ位置制御部、体積制御部、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。

[0083] 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。

[0084] 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、およびステージの動作に伴う気液界面 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。

[0085] 体積制御部は、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。また、体積制御部は、気泡の圧力および／または体積の情報を、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。

- [0086] また、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、体積制御部、または給気制御部は、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する。体積制御部、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。
- [0087] また、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、体積制御部、または吸気制御部は、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）を制御する。体積制御部、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。
- [0088] 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。
- [0089] 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。
- [0090] 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。

[0091] 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３５となる生物体は、図６のＳ１００～Ｓ６８０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、Ｓ１００～Ｓ６８０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。

[0092] まず、Ｓ１００において、サンプル用アクチュエータ４１は、操作対象３５となる生物体を受け付ける。例えば、Ｓ１００において、サンプル用アクチュエータ４１は、ステージ上に液体とともに操作対象３５を収容した容器２５を搭載する。操作対象３５に操作を行うために、容器２５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４１が操作対象３５となる生物体を受け付けた後で、情報処理装置１７０は処理をＳ１２０に進める。

[0093] 次に、Ｓ１２０において、カメラ６０、またはカメラ７０は、操作対象３５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１７１は、観察方法を低倍率の透過像撮像に設定して、カメラ７０に、観察野を撮像するよう指示を送る。撮像制御部１７１は、観察方法を蛍光像撮像に設定して、カメラ６０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１７１は、入力部１８０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６０、またはカメラ７０は観察野を撮像する。画像処理部３００は、撮像した画像を、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。カメラ６０、またはカメラ７０が観察野を撮像した後

で、撮像制御部 171 は処理を S140 に進める。

[0094] 次に、S140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および操作の種類に関する入力を受ける。操作対象35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35の回収であってよいし、操作対象35の除去であってよいし、操作対象35の保持であってよいし、操作対象35の圧迫であってよいが、これらに限らない。

[0095] 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。

[0096] 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。

[0097] 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 3 5 の大きさ、および操作対象 3 5 の移動先を一覧にした表を表示する G U I 画像の一例である。図 7 C に示す表では、I D 番号、x y 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 1 8 0 を介して、操作対象 3 5 や移動先などを指定されることで、画像処理部 3 0 0 は表を出力部 1 6 0 に出力してよい。

[0098] 図 7 D は、出力部 1 6 0 に表示された、操作対象 3 5 の操作の種類を選択する G U I 画面の一例である。入力部 1 8 0 は、操作対象 3 5 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 1 7 0 に入力する。例えば、表示領域 1 1 1 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 1 1 2 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。

[0099] 図 7 E は、出力部 1 6 0 に表示された、操作対象 3 5 の操作の種類を選択する G U I 画面の他の一例である。例えば、表示領域 1 1 3 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 1 1 3、表示領域 1 1 4、および表示領域 1 1 5 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。

[0100] 入力部 1 8 0 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 1 7 0 に送ってよい。情報処理装置 1 7 0 が指示を受けた後で、撮像制御部 1 7 1 は処理を S 1 6 0 に進める。

[0101] なお、S 1 6 0 では、操作対象 3 5 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、S 1 4 0 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 1 7 0 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。

[0102] 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。

[0103] 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。

[0104] 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。

[0105] 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。

[0106] 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。

[0107] 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、基礎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。

[0108] 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。

[0109] 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 S1

80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。

[0110] 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。

[0111] 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、気泡形成部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。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。

[0112] 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。

[0113] まず、S210において、気泡形成部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。

[0114] 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。

[0115] 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、気泡形成部200は処理をS215に進める。

[0116] 次に、S215において、流路撮像用カメラ42は、ノズル49の端部2

54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、気泡形成部200に出力してよい。

[0117] 次に、S220において、気泡形成部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、気泡形成部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と判断する。

[0118] ノズル49の位置が初期位置と異なると判断する場合は、気泡形成部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。

[0119] S225において、気泡形成部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、気泡形成部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、気泡形成部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、気泡形成部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。例えば、気泡形成部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近づけるよう移動させる指示を送ってよい。このとき、ノズル用アクチュエータ40は、ノズル49（流路51）と操作対象35との間の相対位置を近づけるように移動させることができる。

[0120] 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。

[0121] まず、S230において、気泡形成部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、気泡形成部２００は処理をＳ２３５に進める。

[0122] 次に、Ｓ２３５において、センサー部４８は、ノズル用アクチュエータ４０の与える負荷、接触または近接情報を測定し、測定値を気泡形成部２００に送る。負荷検出の一例としては、ノズル４９が容器２５の底部に到達すると、ノズル用アクチュエータ４０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４０が感知する負荷の値を測定することで、気泡形成部２００はノズル４９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、負荷検出の他の一例として、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が負荷を感知してもよい。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、感知する負荷の値を気泡形成部２００に送ってもよい。

[0123] 次に、Ｓ２４０において、気泡形成部２００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、気泡形成部２００は処理をＳ２４２に進め、そうでない場合は処理をＳ２４５に進める。上述したように、気泡形成部２００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は、ノズル４９が容器２５の底部に到達していないと判断する。

[0124] Ｓ２４２において、気泡形成部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、気泡形成部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、気泡形成部２００は、Ｓ２４０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、S 2 3 0に進む。2回目以降のS 2 3 0では、気泡形成部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。

[0125] S 2 4 5において、気泡形成部2 0 0は、ノズル4 9の初期z位置を設定する。例えば、気泡形成部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、気泡形成部2 0 0は、ノズル4 9を容器2 5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4 9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4 9の端部2 5 4に形成される気泡の半径以下であってよい。気泡形成部2 0 0がノズル4 9の初期z位置を設定した後で、気泡形成部2 0 0は処理をS 2 5 0に進める。

[0126] 次に、S 2 5 0において、気泡形成部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）へ動作させる指示を送る。ノズル4 9の移動は、x y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4 0が感知する負荷の値に基づいて制御される。また、ノズル4 9の移動は、x y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4 0がノズル4 9を設定x y z位置に移動した後で、気泡形成部2 0 0は処理をS 2 5 2に進める。

[0127] 次に、S 2 5 2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、気泡形成部2 0 0に出力してよい。

[0128] 次に、S 2 5 4において、気泡形成部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、気泡形成部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、気泡形成部２００はノズル４９の位置が初期位置と異なると判断する。

[0129] ノズル４９の位置が初期位置と異なると判断する場合は、気泡形成部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。

[0130] Ｓ２５６において、気泡形成部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、気泡形成部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×ｙｚ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、気泡形成部２００は、Ｓ２５４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、気泡形成部２００は処理をＳ２５０に進める。２回目以降のＳ２５０では、気泡形成部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。例えば、気泡形成部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近づけるよう移動させる指示を送ってよい。このとき、ノズル用アクチュエータ４０は、ノズル４９（流路５１）と操作対象３５との間の相対位置を近づけるように移動させることができる。

[0131] 図９Ｃは、ノズル４９の端部２５４に形成された気泡の内圧に基づいて、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。

[0132] まず、Ｓ２６０において、気泡形成部２００は、ノズル４９の端部２５４に気泡を形成するように圧力生成部４７を制御する。気泡を形成するに先立って、気泡形成部２００は、ノズル用アクチュエータ４０に、ノズル４９の端部２５４を液体中へ動作させる指示を送ってよい。Ｓ２６０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Ｓ３００のステップおよびサブステップと同一であってよい。

[0133] 次に、Ｓ２６２において、気泡形成部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、センサー部48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、気泡形成部200は処理をS264に進める。

[0134] なお、S262において、センサー部48が測定する内圧の値に基づいて、ノズル49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200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。

[0135] 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気泡形成部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、気泡形成部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気泡形成部200に送っ

てもよい。

[0136] 次に、S 2 6 6において、気泡形成部 2 0 0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、気泡形成部 2 0 0は処理をS 2 6 8に進め、そうでない場合は処理をS 2 7 0に進める。上述したように、気泡形成部 2 0 0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、気泡形成部 2 0 0はノズル 4 9が容器 2 5の底部に到達していると判断する。

[0137] S 2 6 8において、気泡形成部 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、気泡形成部 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、気泡形成部 2 0 0は、S 2 6 6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 6 2に進む。2回目以降のS 2 6 2では、気泡形成部 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。

[0138] S 2 7 0において、気泡形成部 2 0 0は、ノズル 4 9の端部 2 5 4から気泡を除去するように圧力生成部 4 7を制御する。S 2 7 0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S 5 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。

[0139] 次に、S 2 7 2において、気泡形成部 2 0 0は、ノズル 4 9の初期 z 位置を設定する。S 2 7 2のステップは、S 2 4 5のステップと同一であってよい。気泡形成部 2 0 0がノズル 4 9の初期 z 位置を設定した後で、気泡形成部 2 0 0は処理をS 2 7 4に進める。

[0140] 次に、S 2 7 4において、気泡形成部 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）へ動作させる指示を送る。ノズル 4 9の移動は、x y 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、気泡形成部200は処理をS276に進める。

[0141] 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、気泡形成部200に出力してよい。

[0142] 次に、S280において、気泡形成部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、気泡形成部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、気泡形成部200はノズル49の位置が初期位置と異なると判断してよい。

[0143] ノズル49の位置が初期位置と異なると判断する場合は、気泡形成部200は処理をS282に進め、そうでない場合は処理をS300に進める。

[0144] S282において、気泡形成部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、気泡形成部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、気泡形成部200は、S280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、気泡形成部200は処理をS274に進める。2回目以降のS274では、気泡形成部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。例えば、気泡形成部200は、ノズル用アクチュエータ40に、ノズル49と操作対

象 3 5 との間の相対位置を近づけるよう移動させる指示を送ってよい。このとき、ノズル用アクチュエータ 4 0 は、ノズル 4 9（流路 5 1）と操作対象 3 5 との間の相対位置を近づけるように移動させることができる。

[0145] S 3 0 0 において、気泡形成部 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、気泡形成部 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。

[0146] 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。

[0147] S 3 2 0 において、気泡形成部 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、気泡形成部 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、気体が端部 2 5 4 から放出されることで、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、気泡形成部 2 0 0 は処理を S 3 3 0 に進める。

[0148] 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、気泡形成部 2 0 0 に出力してよい。

[0149] 次に、S 3 4 0 において、気泡形成部 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。気泡形成部200は、設定したノズル49内の内圧、ノズル49の端部254の内径、ノズル49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49の端部254に形成される気泡の形状を予測する。例えば、気泡形成部200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。

[0150] 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、気泡形成部200は処理をS342に進め、そうでない場合はS400に進める。

[0151] S342において、気泡形成部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、気泡形成部200は、ノズル49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。気泡形成部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、気泡形成部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。

[0152] 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、気泡形成部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。

[0153] 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。

[0154] 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、気泡形成部200は処理をS380に進める。

[0155] 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内の内圧の値を気泡形成部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気泡形成部２００に送ってもよい。

[0156] 次に、Ｓ３９０において、気泡形成部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、気泡形成部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、気泡形成部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。

[0157] Ｓ３９２において、気泡形成部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す距離または引く距離）を決定する。気泡形成部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、気泡形成部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。

[0158] 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、気泡形成部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。

[0159] Ｓ４００において、気液界面操作部１０１は、操作対象３５に対して操作を実行する。例えば、気泡形成部２００は、入力部１８０を介して受け取った指示に基づいて、気液界面操作部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。

[0160] 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 3 5 は細胞に限らず、他の生物体であってもよい。

[0161] まず、S 4 1 0 において、S 1 4 0 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 1 7 0 は処理を S 4 1 2 に進める。S 4 1 0 において、S 1 4 0 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 1 7 0 は処理を S 4 2 0 に進める。

[0162] S 4 1 2 において、気泡形成部 2 0 0 は形成した気泡に細胞を付着させて除去する。

[0163] 例えば、気泡形成部 2 0 0 は、ノズル用アクチュエータ 4 0 に、ノズル 4 9 の位置を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る。ノズル用アクチュエータ 4 0 がノズル 4 9 を目的とする位置へ移動した後で、気泡形成部 2 0 0 は、ノズル 4 9 および／またはステージを移動させて、気泡の気液界面 2 5 5 と細胞とを接触させてよい。

[0164] 一例として、ノズル用アクチュエータ 4 0、またはサンプル用アクチュエータ 4 1 は、カメラ 6 0、またはカメラ 7 0 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 4 9 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 2 5 5 に接触した後は、ノズル用アクチュエータ 4 0 は図 4 の 2 9 0 a から 2 9 0 c に示すように、目的とする細胞を流路 5 1 に回収し、液体格納部 5 4 は、これらの細胞を液体格納部 5 4 の液体廃棄部に廃棄してよい。

[0165] また、他の一例として、気泡形成部 2 0 0 は、S 3 0 0 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 2 5 5 を形成し、気液界面 2 5 5 を拡大するよう制御することで細胞を気液界面 2 5 5 に付着させ、剥離してもよい。液体制御部 2 6 0 が不要な細胞を除去した後で、気泡形成部 2 0 0 は処理を S 5 0 0 に進める。

[0166] S 4 2 0 において、S 1 4 0 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、気泡形成部 2 0 0 は処理を S 4 2 2 に進め、そうでない場合は、処理を S 4 3 0 に進める。

[0167] S 4 2 2 において、気泡形成部 2 0 0 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、気泡形成部 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、気泡形成部 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、気泡形成部 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、気泡形成部 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、気泡形成部 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。

[0168] 例えば、気泡形成部 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 $x y z$ 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、気泡形成部 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、気泡形成部 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、気泡形成部 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。

[0169] 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。気泡形成部 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、気泡形成部 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 を拡大するように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、気泡形成部 200 は処理を S434 に進める。

[0170] 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。気泡形成部 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、気泡形成部 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。

- [0171] 次に、S 4 3 4 において、気泡形成部 2 0 0 は、S 1 4 0 で受けた指示が連続して操作対象 3 5 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。気泡形成部 2 0 0 は、判断が肯定的な場合は、処理を S 4 3 5 に進め、判断が否定的な場合は、S 5 0 0 に進める。
- [0172] S 4 3 5 において、気泡形成部 2 0 0 は、ノズル 4 9 の端部 2 5 4 に形成した気泡を除去するよう圧力生成部 4 7 を制御する。ここで、気泡を除去する際に、操作対象 3 5 の回収が同時に行われてよい。例えば、操作対象 3 5 は、流路 5 1 内に存在する液体中に回収されてよい。S 4 3 5 の気泡を除去するステップおよびサブステップは、S 5 0 0 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。
- [0173] 次に、S 4 3 6 において、気泡形成部 2 0 0 は、ノズル 4 9 の端部 2 5 4 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 4 7 およびノズル用アクチュエータ 4 0 を制御する。気泡形成部 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、ノズル 4 9 を液体から取り出した後で、圧力生成部 4 7 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。
- [0174] 次に、S 4 3 7 において、気泡形成部 2 0 0 は、ノズル 4 9 の端部 2 5 4 に新たな気泡を形成するよう圧力生成部 4 7 を制御する。S 4 3 7 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 S 3 0 0 の内容が適用されてよい。圧力生成部 4 7 がノズル 4 9 の端部 2 5 4 に気泡を形成した後で、気泡形成部 2 0 0 は処理を S 4 2 0 のステップに進める。
- [0175] S 4 3 0 において、気泡形成部 2 0 0 は、S 1 4 0 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。気泡形成部 2 0 0 は、判断が肯定的な場合は、S 4 3 2 に進め、判断が否定的な場合は、気泡形成部 2 0 0 は処理を S 4 4 0 に進める。
- [0176] S 4 3 2 において、気泡形成部 2 0 0 は、圧力生成部 4 7 を制御して気泡を形成し、当該気泡に細胞を付着させる。気泡形成部 2 0 0 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。

[0177] 例えば、気泡形成部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、気泡形成部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、気泡形成部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。

[0178] 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、気泡形成部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、気泡形成部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。

[0179] 気泡形成部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、気泡形成部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。

[0180] 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。気泡形成部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。

[0181] 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、気泡形成部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（例えば、空気）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、気泡形成部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。

[0182] 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。気泡形成部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H e L a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K a t o l i l 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。

[0183] 図11Fは、本実施形態により、i P S細胞を回収し、回収したi P S細胞を継代した様子を示す。気泡形成部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i P S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、i P S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i P S細胞（830a）および比較例のi P S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i P S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i P S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i P S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i P S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。

[0184] 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。気泡形成部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。

[0185] 次に、S440において、気泡形成部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。気泡形成部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。

[0186] S 4 4 2において、気泡形成部 2 0 0 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、気泡形成部 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る。ノズル用アクチュエータ 4 0 がノズル 4 9 を目的とする位置へ移動した後、気泡形成部 2 0 0 は、圧力生成部 4 7 を制御して流路 5 1 に気体を給気させて、流路 5 1 の先端に気泡を形成させる。気泡形成部 2 0 0 は、ノズル用アクチュエータ 4 0 、またはサンプル用アクチュエータ 4 1 により、ノズル 4 9 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 2 5 5 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 4 0 、またはサンプル用アクチュエータ 4 1 は、カメラ 6 0 、またはカメラ 7 0 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 4 9 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 2 5 5 に接触した後は、気泡形成部 2 0 0 は処理を S 4 4 4 に進める。

[0187] 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、気泡形成部 2 0 0 は、入力部 1 8 0 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 4 0 、またはサンプル用アクチュエータ 4 1 は、ノズル 4 9 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 2 5 5 に接触させた後は、ノズル用アクチュエータ 4 0 は気液界面 2 5 5 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。

[0188] 次に、S 4 4 4 において、撮像制御部 1 7 1 はカメラ 6 0 、またはカメラ 7 0 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 6 0 、またはカメラ 7 0 は画像を撮像し、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、気泡形成部 2

00に出力してよい。

[0189] 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、気泡形成部200は処理をS500に進める。

[0190] 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、気泡形成部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。気泡形成部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。

[0191] 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、気泡形成部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、気泡形成部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。

[0192] 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、気泡形成部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)。

[0193] S450において、気泡形成部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。気泡形成部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。

[0194] S452において、気泡形成部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、気泡形成部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し、ステージを移動することにより動作を行ってもよい。

[0195] 一例として、気泡形成部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x y z方向に移動させるよう指示を送る。一例として、気泡形成部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。

[0196] 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、気泡形成部 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。

[0197] 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、気泡形成部 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。気泡形成部 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。気泡形成部 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。

[0198] 一例として、気泡形成部 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、気泡形成部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。

[0199] また、一例として、気泡形成部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。

[0200] 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。

[0201] 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気泡形成部２００に送ってよい。カメラ６０、またはカメラ７０は、気泡形成部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もよい。細胞を圧迫する圧力は、気泡形成部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。

[0202] 一例として、気泡形成部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、気泡形成部200は処理をS500へ進める。

[0203] 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。

[0204] S 4 6 0において、気泡形成部 2 0 0は、S 1 4 0で受けていた指示のうち、S 4 1 0～S 4 5 0以外の必要な操作が操作対象 3 5に対して行われるよう気液界面操作部 1 0 1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。S 4 6 0を終えて、気泡形成部 2 0 0は処理をS 5 0 0に進める。

[0205] S 5 0 0において、気泡形成部 2 0 0は、気液界面 2 5 5を縮小するよう圧力生成部 4 7を制御する。気液界面 2 5 5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 3 5の回収が同時に行われてよい。S 5 0 0において、気液界面 2 5 5を縮小するステップは、図 1 2 Aに示すように、S 5 1 0からS 5 4 4のステップを含むか、または、図 1 2 Bに示すように、S 5 6 0からS 5 9 4のステップを含む。

[0206] 図 1 2 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を縮小するフローの一例である。

[0207] S 5 1 0において、気泡形成部 2 0 0は、圧力生成部 4 7を制御して流路 5 1に対して吸引動作を行わせ、流路 5 1の先端から気液界面 2 5 5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 3 5を気液界面 2 5 5から離脱するために用いても良い。取り込む液体は、容器 2 5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 5 4に保管されている別の液体であってよい。

[0208] 例えば、気泡形成部 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 4 7のアクチュエータに指示を送る。気泡形成部 2 0 0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 4 7は、気体を吸気する。その結果、気液界面 2 5 5が縮小（気泡が除去）され、流路 5 1に気液界面 2 5 5が取り込まれる。気液界面 2 5 5が縮小（気泡が除去）された後で、気泡形成部 2

00は処理をS520に進める。

[0209] 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、気泡形成部200に出力してよい。

[0210] 次に、S530において、気泡形成部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、気泡形成部200に予め設定した位置と異なるか否かを判断する。気泡形成部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、気泡形成部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、気泡形成部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。

[0211] S532において、気泡形成部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、気泡形成部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。気泡形成部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、気泡形成部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。

[0212] 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、気泡形成部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。

[0213] 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、気泡形成部 200 は処理を S 5 4 2 に進め、そうでない場合は、気泡形成部 200 は処理を S 6 4 0 に進める。

[0214] S 5 4 2 において、気泡形成部 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、予め設定した距離だけノズル 49 を上方に動かすことにより、ノズル 49 を液体から取り出した後で、気泡形成部 200 は処理を S 5 4 4 に進める。

[0215] 次に、S 5 4 4 において、気泡形成部 200 は、流路 51 内の気体と液体の気液界面 255 を高速で動かすように圧力生成部 47 を制御する。これにより、気液界面 255 に付着している細胞は気液界面 255 から離脱し、液体に移動する。例えば、気泡形成部 200 は、圧力生成部 47 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 51 内で給気と吸気とを繰り返させて気液界面 255 を高速に動かす。また、これに加えて／代えて、気泡形成部 200 は、ノズル用アクチュエータ 40 にノズル 49 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 51 内の気液界面 255 を高速で動かしてもよい。

[0216] 気泡形成部 200 は気液界面 255 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 40 にノズル 49 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。気泡形成部 200 は、センサー部 48 から受け取ったノズル 49 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 255 に付着している細胞を気液界面 255 から適切に離脱させることができる。また、気泡形成部 200 は、ノズル 49 内に対して電磁場を形成することで、気液界面 255 を振動させてもよい。

[0217] さらに、気泡形成部 200 は、気泡をフィルタに接触させることで細胞を気液界面 255 から離脱させるよう制御してもよい。気泡形成部 200 は、液体格納部 54 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 255 から離脱させてもよい。このほか、気泡形成部 200 は、ノズル用アクチュエータ 40 および圧力生成部 47 を制御して指定された移動先でノズル 49 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、気泡形成部 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、気泡形成部 200 は処理を S640 に進める。

[0218] 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。

[0219] S560 において、気泡形成部 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、気泡形成部 200 は処理を S570 に進める。

[0220] 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 内の内圧の値を気泡形成部 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気泡形成部 200 に送ってもよい。

[0221] 次に、S580 において、気泡形成部 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。気泡形成部 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、気泡形成部 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。

[0222] S582 において、気泡形成部 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す距離または引く距離)を決定する。気泡形成部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、気泡形成部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。

[0223] 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、気泡形成部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。

[0224] 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、気泡形成部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、気泡形成部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、気泡形成部200は処理をS640に進める。

[0225] 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。

[0226] S645において、気泡形成部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、気泡形成部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。

- [0227] S 6 5 0 において、他に操作対象 3 5 がある場合は、気泡形成部 2 0 0 は処理を S 6 6 0 に進める。S 6 5 0 において、他に操作対象 3 5 がない場合は、気泡形成部 2 0 0 は処理を S 6 8 0 に進める。
- [0228] S 6 6 0 において、他の操作対象 3 5 を操作するにあたって、ノズル 4 9 を交換する必要がある場合は、気泡形成部 2 0 0 は処理を S 6 7 0 に進め、ノズル 4 9 を交換する必要がない場合は、処理を S 2 0 0 に進める。
- [0229] S 6 7 0 において、流路制御部 2 5 0 は、流路交換部 5 3 に、ノズル用アクチュエータ 4 0 に装着されているノズル 4 9 を取り外して流路交換部 5 3 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 4 9 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 4 9 を廃棄せずに、流路交換部 5 3 のノズル保管部に保管してよい。流路交換部 5 3 がノズル 4 9 を廃棄した後で、S 1 8 0 に進む。
- [0230] S 6 8 0 において、ノズル 4 9 の廃棄は、S 6 7 0 と同様の手順で行ってよい。流路交換部 5 3 がノズル 4 9 を廃棄して、フローが終了する。
- [0231] 上記のフローでは、操作対象 3 5 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。
- [0232] 操作の一例として、容器 2 5 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。
- [0233] 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、気泡形成

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。

[0234] 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。

[0235] 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。

[0236] 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。

[0237] 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、気泡形成部 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、気泡形成部 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。

[0238] 操作の別の一例として、ファーマ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、気泡形成部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。

[0239] 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、気泡形成部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。

[0240] 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。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可能である。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可能である。

[0241] 上記の通り、気液界面 255 を用いて操作対象 35 を操作する方法を説明した。ここで、形成した気液界面 255 を安定に制御することで、操作対象 35 を容易および安定に操作することができる。以下に、気液界面 255 を安定に制御する方法について詳述する。

[0242] まず、気液界面 255 を安定に制御するための理論を説明する。気泡の気液界面が安定に維持されている状態では、気泡の内圧 P_i と、メニスカス（気液界面 255）のラプラス圧 P_m とが釣り合っている。ラプラス圧 P_m は気泡内の気相と液体 261 の液相の圧力差である。つまり、以下の数式 1 が成立している。

[数式 1]

[数1]

$$P_i = P_m$$

[0243] また、微小な体積変化に対して、復元力が働く条件が成立している。復元力が働かないと気泡は膨張を続けて、維持または制御が困難になる。具体的には、下記の数式 2 が成立していれば、気泡は安定である。ここで、 V は、気泡の体積を表す。以下の説明で、この数式 2 を、安定化式と称する。

[数式 2]

[数2]

$$\frac{dP_i}{dV} \leq \frac{dP_m}{dV}$$

[0244] 上記の安定化式（数式 2）の左辺について説明する。左辺において、微小な体積変化に対する気泡内圧変化を、準静的な断熱過程であると仮定すると、以下の数式 3 が成立する。ここで、 κ は、比熱比を表す。

[数式 3]

[数3]

$$\frac{dP_i}{dV} = -\kappa \frac{P_i}{V}$$

[0245] 上記の数式 3 において、 V を 0 に近づける、あるいは、 V を無限大に発散させると、

[数式 4]

[数4]

$$\lim_{V \rightarrow 0} \frac{dP_i}{dV} = -\infty$$

$$\lim_{V \rightarrow \infty} \frac{dP_i}{dV} = -0$$

が成立する。

[0246] したがって、安定化式（数式 2）の左辺は、0 から負の実数値を取り得る。そのため、安定化式（数式 2）において、気泡の体積 V をできるだけ減少させるほど、安定化式（数式 2）の左辺が小さくなるので、安定化式（数式 2）はより成立しやすくなり、気泡が安定に維持される。よって、気泡を安定に維持するためには、気泡の体積 V を減少させるとよいことが示される。

[0247] 次に、図 1 3 A を用いて、安定化式（数式 2）の右辺について説明する。

図 1 3 A において、気体と液体 2 6 1 の表面張力を γ 、ノズル 4 9 の流路 5 1 の半径を r_h 、ノズル 4 9 の端部 2 5 4 とメニスカス（気液界面 2 5 5）とのなす角を θ_m とする。このとき、安定化式（数式 2）の右辺の P_m および V （ V_m と記載する）は、 θ_m の関数として、以下の数式 5 で表される。

[数式 5]

[数5]

$$P_m(\theta_m) = \frac{2\gamma \sin \theta_m}{r_h}$$

$$V_m(\theta_m) = \frac{\pi(\cos \theta_m - 1)^2(\cos \theta_m + 2)r_h^3}{3 \sin^3 \theta_m}$$

[0248] したがって、安定化式（数式2）の右辺は、 θ_m の関数として、以下の数式6で表される。

[数式6]

[数6]

$$\frac{dP_m}{dV_m}(\theta_m) = \frac{2\gamma \cos \theta_m (\cos \theta_m + 1)^2}{\pi r_h^4}$$

[0249] 図13Bは、上記の数式6をグラフに表したものであり、横軸は θ_m 、縦軸は安定化式（数式2）の右辺、つまり、数式6を示す。図13Bによれば、安定化式（数式2）の右辺は、 θ_m が90度以下であれば0以上、 θ_m が90度超過であれば0未満になる。したがって、 θ_m が90度以下であれば、安定化式（数式2）の右辺は0以上、安定化式（数式2）の左辺は、数式4に示したように0以下となるため、安定化式（数式2）は常に成立する。

[0250] 以上の通り、ノズル49の端部254とメニスカス（気液界面255）とのなす角 θ_m が90度以下であれば、気泡は安定に維持されることになり、制御が容易になる。また、気泡の体積Vをできるだけ減少させるほど、気泡は安定に維持されることになり、制御が容易になる。

[0251] また、 θ_m が90度超過し、安定化式（数式2）が成立しなくなるということは、気泡の内圧 P_i がメニスカス（気液界面255）のラプラス圧 P_m より

大きくなることを示し、気泡は圧力差により急激に拡大する。このとき、気泡の体積 V の拡大により気泡の内圧 P_i は急激に低下する。このような気泡の内圧 P_i の変化を検出することにより、実験的に気泡が安定に維持される圧力を検出することも可能である。例えば、気泡の体積 V を圧縮し、気泡の内圧 P_i を上昇させていくと、気泡が不安定となった瞬間に、気泡の体積 V の拡大により気泡の内圧 P_i は急激に低下するため、気泡の内圧 P_i が低下する直前の気泡の内圧 P_i が気泡を安定に維持できる圧力であることを知ることが出来る。このような気泡を安定に維持できる圧力の検知方法を、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のステップおよびサブステップを行う前に行ってよく、気泡を安定に維持できる圧力を設定内圧として用いてよい。このような、気泡の内圧に基づく、気泡を安定に維持できる圧力の検知方法は気泡が底面に接触しているような、気泡形状が半球状ではない場合にも成立する。

[0252] 次に、図13Cは、上記の説明に基づいて、気液界面255を安定化する方法について説明する図である。以下に説明する、気液界面255を安定化する方法は、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のステップおよびサブステップを行う前に行ってよいが、これに限定されない。例えば、気液界面255を安定化する方法は、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）の途中に行うことができる。後述する911等の流路構造に関連する方法においては、S100を行う前に予め実行しておいてもよい。

[0253] 例えば、S300のステップを行う前に気液界面255を安定化する方法を行う場合を説明する。気液界面255を安定化する方法は、生物体操作装置100により自動的に行われてよく、その場合はまず、情報処理装置170は、入力部180を介して、操作者から、気液界面255を安定化させるかどうかに関する入力を受けてよい。情報処理装置170が気液界面255を安定化させるよう指示を受けた場合は、情報処理装置170は図13Cに記載の910～933に示す方法のいずれか1つまたは複数を行い、そうで

ない場合は、情報処理装置 170 は処理を S300 に進める。なお、気液界面 255 を安定化する方法は、生物体操作装置 100 が自動的に行うのではなく、操作者の手により行われてもよい。例えば、S300 のステップを行う直前に操作者の手により気液界面 255 を安定化する方法が行われた場合は、S300 から処理を再開してよい。

[0254] 図 13D および図 13E は、図 13C の 910、つまり、気泡 256 から流路 51 の内部まで連続する気体が占める気体の体積を減少する方法について説明する図である。上記で説明したとおり、気泡に連続する気体の体積を減少させることで、気泡が安定に維持される。例えば、流路 51 が、ノズル 49 およびノズル 49 に連結されるシリンジポンプの内部に形成される空間を含む場合、シリンジポンプにより、流路体積が最大容量の 10% 以下、8% 以下、さらに 5% 以下に低減されてよいが、これらに限らない。

[0255] 910 を具体的に行う例を挙げる。その一例として、911 は、図 13D の 701 において、ノズル 49 内の流路 51 を極細にして、流路体積を減少させることで、気泡に連続する気体の体積を減少させ、気泡が安定に維持される。例えば、流路 51 の流路長が 150 mm の場合、流路径を 100 μm 以下、75 μm 以下、さらに 50 μm 以下にすることによって、気泡を安定に維持することができる。この場合、流路 51 を極細にしたノズル 49 をノズル用アクチュエータ 40 に予め装着することにより、911 の方法を行うことができる。ノズル 49 をノズル用アクチュエータ 40 に取り付ける必要がある場合、再度 S180 のノズルを装着するステップから始めてよい。ノズル 49 を装着するステップは、S180 と同様に行ってよい。流路 51 を極細にしたノズル 49 は、予め流路交換部 53 のノズル保管部に保管されてよい。気液界面操作部 101 が流路交換部 53 を備えない場合は、流路 51 を極細にしたノズル 49 を操作者の手によりノズル用アクチュエータ 40 に取り付けてよい。

[0256] 910 を具体的に行う他の例を挙げる。その一例として、912 は、図 13D の 702 において、ノズル 49 内の流路 51 に充填材（例えば、ビーズ

291)を充填することで、流路51の内部の一部の空間をふさぐことで、気泡に連続する気体の体積を減少させ、気泡を安定に制御する。ビーズ291は、金属製、プラスチック製、またはゴム製であってよいが、これらに限られない。ビーズ291の大きさは、流路51に収まる大きさであればよく、ビーズ291の形状も球状であってよいが、これに限られず、ビーズ291は任意の大きさおよび形状を用いることができる。

[0257] 流路51の総体積に占める充填材の総体積は、95%以下であってよい。流路51の総体積に占める充填材の総体積は、30%以上であってよく、60%以上であってよく、さらに90%以上であってよい。ここで、流路51の総体積は、ノズル49の端部254と、ノズル49に連結されるシリンジポンプのプランジャーとの間で密閉される空間の体積であってよい。

[0258] ビーズ291を充填したノズル49をノズル用アクチュエータ40に予め装着することにより、912の方法を行うことができる。ノズル49をノズル用アクチュエータ40に取り付ける必要がある場合、再度S180のノズル49を装着するステップから始めてよい。ノズル49を装着するステップは、S180と同様に行ってよい。

[0259] ここで、ビーズ291を充填したノズル49は、予めビーズ291をノズル49内の流路51に充填した後で、流路交換部53のノズル保管部に保管されてよい。これに代えて、ビーズ291を充填していないノズル49をノズル保管部に保管しておき、ノズル用アクチュエータ40に装着する直前に、ビーズ291を操作者の手によりノズル49内の流路51に充填してから、ノズル49を操作者の手によりノズル用アクチュエータ40に装着してもよい。

[0260] 910を具体的に行う他の例を挙げる。その一例として、913は、図13Dの703において、ノズル49内の流路51に液体261を取り込み、取り込んだ液体261により、流路51の内部の気体を区画する。これにより、気泡形成に関わる流路体積を減少させることで、気泡に連続する気体の体積を減少させ、気泡が安定に維持されることになり、制御が容易になる。

流路 5 1 に取り込む液体 2 6 1 は、容器 2 5 を満たす液体であってよく、液体格納部 5 4 の液体保管部に保管されている液体であってもよいが、これらに限られず、任意の液体を用いることができる。

[0261] 流路 5 1 の総体積に対して、取り込む液体 2 6 1 の量（体積）は、1 % 以上であってよい。流路 5 1 の総体積に対して、取り込む液体 2 6 1 の量（体積）は、9 0 % 以下であってよく、5 0 % 以下であってよく、さらに 2 0 % 以下であってよい。ここで、流路 5 1 の総体積は、ノズル 4 9 の端部 2 5 4 と、ノズル 4 9 に連結されるシリンジポンプのプランジャーとの間で密閉される空間の体積であってよい。

[0262] 予め液体 2 6 1 を取り込んだノズル 4 9 をノズル用アクチュエータ 4 0 に予め装着することにより、9 1 3 の方法を行うことができる。ノズル 4 9 をノズル用アクチュエータ 4 0 に取り付ける必要がある場合、再度 S 1 8 0 のノズルを装着するステップから始めてよい。これに代えて、ノズル 4 9 をノズル用アクチュエータ 4 0 に取り付けた後で、ノズル 4 9 内の流路 5 1 に液体 2 6 1 が取り込まれてもよい。

[0263] なお、ノズル 4 9 内の流路 5 1 への液体 2 6 1 の取り込みは、S 5 1 0 のステップと同様にして行ってよい。例えば、液体 2 6 1 の取り込みは、気泡形成部 2 0 0 が圧力生成部 4 7 を制御して流路 5 1 に対して吸引動作を行わせ、流路 5 1 の先端から液体 2 6 1 を取り込ませることにより行われてよい。ノズル 4 9 内の流路 5 1 へ液体 2 6 1 を取り込んだ後で、さらにノズル 4 9 内の流路 5 1 へ気体を取り込んでよい。気体の取り込みは、S 4 3 6 のステップと同様にして行ってよい。例えば、気泡形成部 2 0 0 は、ノズル 4 9 の端部 2 5 4 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 4 7 およびノズル用アクチュエータ 4 0 を制御してよい。気泡形成部 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 2 6 1 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 4 0 が、ノズル 4 9 を液体 2 6 1 から取り出した後で、圧力生成部 4 7 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。取り込んだ空気の量に

より、流路51の内部の気体が区画される量を調節することができる。

[0264] 910を具体的に行う他の例を挙げる。その一例として、914は、図13Eの704a、704b、および704cにおいて、ノズル49内の流路51に区分部材（例えば、ダイヤフラム292）を設けて流路51の内部の空間を区分し、気泡に連続する気体の体積を減少させ、気泡が安定に維持されることになり、制御が容易になる。ダイヤフラム292は、圧力生成部47を制御して流路51に対して吸気または吸引動作を行わせられることにより、流路51内を移動可能としてよい。ダイヤフラム292は、プレス器294によって任意の距離だけ押したり引いたりされることにより、流路51内を移動可能としてよい。プレス器20は、気泡形成部200の制御に基づいて、ノズル用アクチュエータ40、またはプレス器用アクチュエータ（図示せず）により、予め設定された距離だけダイヤフラム292を押ししたり引いたりしてダイヤフラム292を流路51内で移動させてよい。ダイヤフラム292は、金属製、プラスチック製、またはゴム製であってよいが、これらに限られない。この場合、ダイヤフラム292を設けたノズル49をノズル用アクチュエータ40に予め装着することにより、914の方法を行うことができる。ノズル49をノズル用アクチュエータ40に取り付ける必要がある場合、再度S180のノズル49を装着するステップから始めてよい。ノズル49を装着するステップは、S180と同様に行ってよい。

[0265] ここで、流路51の総体積に占める、区分部材で区分される空間の体積（例えば、704aの場合、ダイヤフラム292より下方の空間の体積）は、1%以上であってよい。流路51の総体積に占める、区分部材で区分される空間の体積は、50%以下であってよく、25%以下であってよく、さらに10%以下であってよい。ここで、流路51の総体積は、ノズル49の端部254と、ノズル49に連結されるシリンジポンプのプランジャーとの間で密閉される空間の体積であってよい。

[0266] ダイヤフラム292を設けたノズル49は、予めダイヤフラム292およびプレス器294をノズル49内の流路51に設けた後で、流路交換部53

のノズル保管部に保管されてよい。これに代えて、ダイアフラム 292 およびプレス器 294 を設けていないノズル 49 をノズル保管部に保管しておき、ダイアフラム 292 およびプレス器 294 を操作者の手によりノズル 49 内の流路 51 に設けてから、ノズル 49 を操作者の手によりノズル用アクチュエータ 40 に装着してよい。

[0267] 910 を具体的に行う他の例を挙げる。その一例として、915 は、図 13E の 705 で、ノズル 49 内の流路 51 において、流路径の太い部分および流路径の細い部分を備える構造を備える。例えば、流路 51 において、流路径の太い部分および流路径の細い部分を備える構造は、流路 51 の一部が狭くなっているオリフィス構造であってよい。また、流路 51 において、流路径の太い部分および流路径の細い部分は、それぞれ 1 つまたは複数が備えられてよい。図 13E の 705 では、ノズル 49 が、流路径の細い部分 297、流路径の太い部分 295 および流路径の太い部分 298 を備えるが、ノズル 49 が備える流路径の細い部分および流路径の太い部分の数は、これに限らない。

[0268] このように、流路径の細い部分 297 を設けることにより、流路 51 を介して気泡 256 に気体を吸気した際に、気泡の形成に関わる流路 51 に存在する気体の体積が、時間の経過においては 295 の体積のみであるとみなせる効果が得られ、気泡に連続する気体の体積が減少し、気泡を安定が安定に維持されることになり、制御が容易になる効果が得られる。

[0269] 流路径の細い部分の流路径は、流路径の太い部分の流路径の 10 分の 1 以下であってよく、20 分の 1 以下であってよく、さらに 25 分の 1 以下であってもよいが、これらに限られない。流路径の細い部分の流路径は、流路径の太い部分の流路径の 10 分の 1 以下であることで、気泡の安定維持および制御に十分な効果をもたらすことができる。

[0270] この場合、流路径の太い部分および流路径の細い部分を備えたノズル 49 をノズル用アクチュエータ 40 に予め装着することにより、915 の方法を行うことができる。ノズル 49 をノズル用アクチュエータ 40 に取り付ける

必要がある場合、再度 S 1 8 0 のノズルを装着するステップから始めてよい。ノズル 4 9 を装着するステップは、S 1 8 0 と同様に行ってよい。流路径の太い部分および流路径の細い部分を備えたノズル 4 9 は、予め流路交換部 5 3 のノズル保管部に保管されてよい。気液界面操作部 1 0 1 が流路交換部 5 3 を備えない場合は、流路径の太い部分および流路径の細い部分を備えたノズル 4 9 を操作者の手によりノズル用アクチュエータ 4 0 に取り付けでよい。

[0271] 次に、9 2 0 において、上記の安定化式（数式 2）の右辺を大きくすることによっても、気泡を安定化することもできる。つまり、微小な体積変化に対して気泡のラプラス圧 P_m の変化を増加させることで、気泡が安定に維持されてよい。例えば、ノズル 4 9 の流路 5 1 における、断面の形状を変えることでも、気泡を安定に維持することができる。

[0272] 図 1 3 F は、ノズル 4 9 の端部 2 5 4 を形成する流路部材と液体 2 6 1 との接触角を 9 0 度とした場合の、無次元体積および無次元曲率との関係を示したグラフであり、これに基づいて、9 2 0 を具体的に行う例として、9 2 1 を説明する。横軸は気泡の無次元体積、縦軸は気泡の無次元曲率を表す。曲線 2 9 8 a（点線）は、ノズル 4 9 の流路 5 1 における、断面の形状が正方形の場合、曲線 2 9 8 b（実線）は、断面の形状が十字形の場合、曲線 2 9 8 c（破線）は、断面の形状が円形の場合を示す。これらの断面の断面積はいずれも等しく、断面の形状のみが異なる。

[0273] ここで、ノズル 4 9 の流路 5 1 における、断面の形状が、9 2 0 の微小な体積変化に対するラプラス圧の変化を増加させることで、気泡を安定に維持することに影響を与える。具体的には、断面が十字形の場合に、ラプラス圧の変化を増加させる効果が最も大きいことが示される。

[0274] 図 1 3 F のグラフの曲線において、無次元曲率は気泡の曲率を示しており、気泡は曲率が大きいほど内圧は高く、曲率が小さいほど内圧が低くなる。無次元体積変化に対して無次元曲率が増加しているということは、体積変化に対して気泡内圧が上昇していることを示しており、液体 2 6 1 の液相との

圧力差であるラプラス圧が大きくなることを示している。つまり、微小な体積変化に対してラプラス圧が増加しており、上記の安定化式（数式2）の右辺が大きくなることを示している。一方で、無次元体積変化に対して無次元曲率が減少しているということは、微小な体積変化に対してラプラス圧が減少しており、上記の安定化式（数式2）の右辺が小さくなることを示している。以上から、無次元曲率が増加から減少に転じると、安定化式（数式2）の右辺がプラスからマイナスに変化することになるため、気泡は不安定になる。そのため、曲線の極大値を与える無次元体積の値が大きいほど、気泡の安定維持および制御可能な体積の領域が広いことになり、より容易に気泡を安定に維持および制御することができる。図13Fのグラフにおいては、断面が十字形の場合の曲線298bが、断面が正方形の場合の曲線298aおよび断面が円形の場合の曲線298cよりも、より大きな無次元体積のときに無次元曲率の極大値を与えているため、断面が十字形のほうが、気泡の安定性に寄与できると考えられる。

[0275] 図13Fでは、断面が十字形の場合を示したが、安定化に寄与する形状は十字形に限定されない。例えば、断面形状が、内側に向けて突出部を有する形状、つまり、内角を有する形状であれば、十字形と同様の効果を得ることができる。例えば、内側に向けて突出部を有する形状は、アスタリスク形の形状であってよいが、これらに限られない。

[0276] また、921において、ノズル49の端部254において、流路51の内側面と、流路51を形成する流路部材の端部側の面とで形成される角度が、920の微小な体積変化に対するラプラス圧の変化を増加させることで、気泡を安定に維持することに影響を与える。

[0277] 図13Gは、ノズル49の流路51の内側面と、流路51を形成する流路部材の端部側の面とで形成される角の面取り角度（298uの θ_c ）を変化させたときの、ラプラス圧変化率と気泡体積との関係を示したグラフである。横軸は気泡の体積、縦軸は気泡のラプラス圧変化を表す。曲線298v（実線）は、面取り角度が15度の場合、曲線298w（点線）は面取り角度

が30度の場合、曲線298x（破線）は面取り角度が45度の場合、曲線298y（一点鎖線）は面取り角度が60度の場合、曲線298z（二点鎖線）は面取り角度が75度の場合を示す。グラフから、面取り角度が大きくなるほど、気泡形成に伴う体積増加に対して、特に初期の体積増加段階において、ラプラス圧変化が減少していることから、気泡を安定に維持および制御することが難しくなると考えられる。面取りが無い場合は、流路51の内側面と、流路51を形成する流路部材の端部側の面とで形成される角度は90度であり、図13Cのように気泡形成に伴い、ラプラス圧の変化が増加する領域が存在し、気泡を安定に維持および制御可能な領域が存在する。つまり、ノズル49の端部254において、流路51の内側面と、流路51を形成する流路部材の端部側の面とで形成される角度、つまり、ノズル49の端部における断面の角度が、 90 ± 5 度の範囲にあることで、気泡を安定に維持および制御することができる。

[0278] 上記の形成される角度は、 90 ± 5 度の範囲にあってよく、 90 ± 3 度の範囲にあってよく、さらにほぼ90度であってもよい。形成される角度が直角近傍にあることで、安定化式（数式2）の右辺を増加させることができ、気泡の安定性に寄与できる。

[0279] 上記のような断面の形状、および／または角度を有するノズル49をノズル用アクチュエータ40に予め装着することにより、921の方法を行うことができる。ノズル49をノズル用アクチュエータ40に取り付ける必要がある場合、再度S180のノズルを装着するステップから始めてよい。ノズル49を装着するステップは、S180と同様に行ってよい。上記のような断面の形状、および／または角度を有するノズル49は、予め流路交換部53のノズル保管部に保管されてよい。気液界面操作部101が流路交換部53を備えない場合は、ノズル49を操作者の手によりノズル用アクチュエータ40に取り付けてよい。

[0280] さらに、ノズル49の流路51を形成する流路部材と液体との接触角が、920の微小な体積変化に対するラプラス圧の変化を増加させることで、気

泡を安定に維持することに影響を与える。具体的には、流路部材と液体との接触角が、90度以下であることで、気泡を安定化することができる。

[0281] 図13Hは、ノズル49の流路51の端部254を形成する流路部材と液体261との接触角を変化させたときの、無次元体積および無次元曲率との関係を示したグラフであり、これに基づいて、910を具体的に行う他の例として、922を説明する。横軸は気泡の無次元体積、縦軸は気泡の無次元曲率を表す。曲線299a（実線）は、ノズル49と液体との接触角が30度の場合、曲線299b（点線）は接触角が60度の場合、曲線299c（破線）は接触角が90度の場合、曲線299d（一点鎖線）は接触角が120度の場合、曲線299e（二点鎖線）は接触角が150度の場合を示す。

[0282] 接触角が90度を超過した120度および150度の場合（それぞれ、曲線299dおよび曲線299e）、極大値を与える無次元体積の値が大きく左側にシフトしていることが図13Fにより示されている。つまり、接触角が90度を超過すると、気泡が安定維持される領域が狭くなるため、気泡を安定に維持および制御することが難しくなると考えられる。したがって、気泡の安定維持および制御に寄与するためには、ノズル49の流路51の端部254を形成する流路部材と、液体261との接触角は90度以下であるとよい。ノズル49の流路51の端部254を形成する流路部材と、液体261との接触角は60度以下であるとよい。

[0283] なお、流路部材と液体261との接触角は公知の方法により測定することができる。例えば、接触角は、液滴法により測定されたものであってよい。液滴法は、液体の液滴を流路部材に接触させて着液させ、そのときの液体と流路部材との静的な接触角を、接触角計を用いて測定したものであってよい。接触角計は、市販のものをを用いることができる。

[0284] この場合、上記の接触角を有するノズル49をノズル用アクチュエータ40に予め装着することにより、922の方法を行うことができる。ノズル49をノズル用アクチュエータ40に取り付ける必要がある場合、再度S180のノズルを装着するステップから始めてよい。ノズル49を装着するステ

ップは、S 1 8 0と同様に行ってよい。上記の接触角を有するノズル4 9は、予め流路交換部5 3のノズル保管部に保管されてよい。気液界面操作部1 0 1が流路交換部5 3を備えない場合は、上記の接触角を有するノズル4 9を操作者の手によりノズル用アクチュエータ4 0に取り付けてよい。

[0285] さらに、9 2 0を具体的に行う他の例を挙げる。その一例として、9 2 3において、ノズル4 9内の流路5 1に段差3 0 7を設けることによっても、気泡の安定化に寄与することができる。

[0286] 図1 3 1は、ノズル4 9内の流路5 1において、流路5 1の端部側に設けられた先端部分3 0 5と、先端部分3 0 5に接続された内側部分3 0 6との接続部分に段差3 0 7を設けた図である。ここで、段差とは、流路5 1の内径が、ノズル4 9の筒状部2 5 3の軸方向において変化している構造であってよい。また、段差とは、流路5 1の内部において、狭い流路径の部分が、広い流路径の部分に入り込んだ構造であってよい。例えば、先端部分3 0 5と内側部分3 0 6とは異なる流路径を有してよい。例えば、先端部分3 0 5の流路径は、内側部分3 0 6の流路径よりも小さくてよい。一例として、先端部分3 0 5の流路径は、内側部分3 0 6の流路径の1 0分の1以下であってよく、2 0分の1以下であってよく、さらに2 5分の1以下であってよいが、これらに限らない。

[0287] 段差の例として、7 1 0 aに示すように、流路径の広い部分と流路径の狭い部分とが連続的に接続している場合や、7 1 0 bに示すように、流路径の狭い部分が流路径の広い部分に入り込んで接続している場合が挙げられる。7 1 0 bの場合は、流路径の狭い部分が流路径の広い部分に入り込んでいる長さを調節することで、ごく微量の液量を測り取ることができる。

[0288] このとき、流路5 1に液体2 6 1を取り込むことにより、接続部分の段差3 0 7において、気液界面2 5 5が形成される。このように、流路5 1に段差3 0 7を設けることにより、形成された気液界面2 5 5において、上述の安定化式（数式2）が成立する。つまり、気液界面2 5 5を段差3 0 7の位置で容易に維持および制御することができる。このことを利用して、流路径

の小さい先端部分 305 において、先端部分だけのごく微量の液量を測り取ることができる。

[0289] この場合、上記の段差 307 を設けたノズル 49 をノズル用アクチュエータ 40 に予め装着することにより、923 の方法を行うことができる。ノズル 49 をノズル用アクチュエータ 40 に取り付ける必要がある場合、再度 S180 のノズルを装着するステップから始めてよい。ノズル 49 を装着するステップは、S180 と同様に行ってよい。上記の段差 307 を設けたノズル 49 は、予め流路交換部 53 のノズル保管部に保管されてよい。気液界面操作部 101 が流路交換部 53 を備えない場合は、操作者の手により段差 307 を設けたノズル 49 をノズル用アクチュエータ 40 に取り付けてよい。

[0290] 図 13J は、流路 51 に段差 307 を設けたノズル 49 を示す。図 13H に示すノズル 49 は、先端部分 305 の流路径（直径）が 0.1 mm、先端部分 305 の高さが 1 mm、内側部分 306 の流路径（半径）が 1.0 mm、ノズル 49 の全長が 20 mm である。このノズル 49 は、段差 307 において、安定な気液界面 255 を維持することができ、先端部分だけの液量（約 7.5 nL）を測り取ることができた。

[0291] さらに、930 において、気体との間における液体の表面張力（気液界面 255 の界面自由エネルギー）を減少させることで、気泡を安定化することもできる。表面張力を減少させると、小さな内圧変化で気泡が容易に拡張するため、微小な体積変化に対する気泡の内圧の変化が小さくなる。つまり、安定化式（数式 2）の左辺が減少することになるため、気泡をより安定に維持および制御することが可能になる。

[0292] 930 を具体的に行う例を挙げる。その一例として、931 において、液体の表面張力を減少させる溶質を液体に追加することで、気体との間における液体の表面張力を減少させることができる。例えば、溶質は、極性有機化合物、または界面活性剤であってよい。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 を形成する気体および液体 261 の分子と相互作用し、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、表面張力は減少する。

[0293] 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 を形成する気体および液体 261 の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、より低い濃度で表面張力が減少する。したがって、液体に界面活性剤を加えることで、表面張力は顕著に減少する。このような、溶質を追加するステップは、例えば溶質を含んだ溶液を、S620のステップと同様の操作を行うことで、追加してよい。

[0294] 930を具体的に行う他の例を挙げる。その一例として、932において、液体の表面張力を増加させる溶質を液体から除去することで、気体との間における液体の表面張力を減少させることができる。例えば、溶質は、無機塩であってよい。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、気泡の内部は、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、表面張力は増加する。そのため、液体から無機塩を除去することにより、表面張力を減少させることができる。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や、液体に対してイオン交換樹脂などのカラム処理を行うことなどによって行われてよい。

[0295] 930 を具体的に行う他の例を挙げる。その一例として、933 において、液体に、表面張力が相対的により小さな液体を追加することで、気体との間における液体の表面張力を減少させてよい。あるいは、液体を、表面張力が相対的により小さな液体と置換することで、気体との間における液体の表面張力を減少させてよい。例えば、容器 25 に満たされた液体に、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を追加するか、または両親媒性物質の濃度が濃い液体に置換することで、表面張力を減少させ、気泡を安定維持および制御できるようにしてよい。例えば、容器 25 に満たされた液体に、液体中の無機塩の濃度が薄い液体を追加するか、または無機塩の濃度が薄い液体に置換することで、表面張力を減少させ、気泡を安定維持および制御できるようにしてよい。

[0296] このような、液体を追加または置換するステップは、S600 のステップおよびサブステップと同様に行うことができる。例えば、容器 25 に満たされた基本培地または緩衝液に対して、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、表面張力を減少させることができ、気泡を安定化させることができる。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。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

ー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。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。

[0297] なお、図13Bで説明したように、本来、 θ_m が90度を超過すると気泡は不安定になり得るが、 θ_m が90度を超過した場合であっても、特定の条件のもとで、気泡は安定に維持することができる。そのときの、気泡が安定に維持される気泡形成に関わる気体（気泡に連続する気体）の最大の体積を V_0 とする。気泡に連続する気体の体積を V_0 以下とすることで、気泡が安定に維持可能となる。 V_0 を表す式は複雑であるため、実際の使用条件に基づいて、パラメータの数値を設定して実験すると、以下のことが確認された。

[0298] 図13Kは、上記の実験を行った様子を示す。720aにおいて、ノズル49の流路51において、液体をはさんで、微小な気体の空間を形成させた。このとき、液体として水を、ノズル49と液体との接触角が90度、気体は空気を用いた。ノズル49の流路51の半径は50 μm であり、気泡が安定に維持される、気泡に連続する気体の最大体積 V_0 を算出すると1.17 μL であった。720aにおいて、ノズル49の流路51に形成された微小な気体の空間の体積は、約0.9 μL であり、 θ_m が90度を超過した場合であっても気泡が安定に維持されることとなる。このような微小な気体の空間は、次のようにして形成した。まず、ノズル49の流路51の先端部を水に入れ、シリンジポンプに吸引動作を行わせ、約3.5 μL の水を流路51に取り込んだ。続いて、ノズル49を水から取り出し、シリンジポンプに吸引動作を行わせ、約0.9 μL の空気を流路51に取り込んだ。このようにして、流路51の内部の気体が区画される量を調節することができる。このような微小な気体の空間を形成し、次のように気泡形成の安定性を確認した。微小な気体の空間を形成したノズル49の流路51の先端部を水に入れ、720bの状態から、シリンジポンプを用いて加圧を開始した（720c）。こ

のときすでに θ_m は90度を超えているが、気泡は安定に維持され、制御が容易であった。加圧を継続し(720d)、さらに気泡を大きくしても気泡は安定に維持され、制御が容易であった。その後、加圧を停止し、気体の吸引を開始した(720e)。気体の吸引を継続し(720f)、気泡を少しずつ小さくする過程においても気泡は安定に維持され、制御が容易であった。気体の吸引を完了し(720g)、気泡をノズル49の流路51に取り込んだ。

[0299] まず、ノズル49の流路51の端部254を形成する流路部材と液体261との接触角が90度のときに、 V_o が最大となる。また、気体の比熱比 κ が大きいほど、 V_o は大きくなる。例えば、比熱比 κ の値は、ヘリウムなどの単原子分子で5/3、窒素などの二原子分子で7/5、二酸化炭素などの多原子分子で8/6である。さらに、表面張力 γ は小さいほど、 V_o が大きくなる。例えば、気温20℃における表面張力 γ の値は、水で72.8 mN/m、タンパク質を含む培溶液で約50 mN/m、界面活性剤を含む水溶液で約5～15 mN/mである。

[0300] そこで、ノズル49と液体との接触角が90度、気体が単原子分子(比熱比 κ が5/3)または空気(空気を主に構成する窒素および酸素は二原子分子であるので、空気を二原子分子として考え、比熱比 κ が7/5)の場合を検討した。このとき、 V_o および流路51の端部254の半径 r_h との関係は、 V_o および r_h を両対数グラフにプロットすると、直線で示される。

[0301] 図13Lは、横軸に r_h を、縦軸に V_o を取ったときの両対数グラフを示す。気泡が安定に維持および制御できるための条件を、 V_o により規定することができる。図13Lに示されるように、 V_o および r_h は直線で示される関係にあるため、直線の傾きを算出することができる。直線の傾きを算出することにより、 V_o および r_h は、以下の関係式で近似することができる。

[数式7]

$$V_o = a \times r_h^4 + b \times r_h^3$$

ここで、 a および b は係数である。そして、図13Lのグラフにおいて、

この直線よりも下側にある領域であれば、気泡の体積が V_0 以下となるため、気泡は安定に維持および制御できる。

[0302] 例えば、図13Lにおいて、ノズル49の端部254と液体261との接触角が90度、気体が空気（二原子分子、比熱比 κ の値は7/5である）、液体が水（このとき、表面張力 γ の値は気温20℃で72.8 mN/mである）の場合、 $a = 1.82 \times 10^8$ であり、 $b = 2.59 \times 10^2$ である。

[0303] したがって、気液界面255から流路51の内部まで連続する気体が占める気体の体積 V (m^3) は、流路51の端部254の半径 r_h (m) に対して、以下の式を満たしてよい。

[数式8]

$$V \leq a \times r_h^4 + b \times r_h^3$$

ただし、 $a = 1.82 \times 10^8$ であり、 $b = 2.59 \times 10^2$ である。 V が r_h に対して上記の数式8を満たす場合、気泡は安定に維持および制御される。

[0304] 例えば、図13Lにおいて、ノズル49の端部254と液体261との接触角が90度、気体が単原子分子、液体が界面活性剤を含む水溶液（このとき、表面張力 γ の値は気温20℃で5 mN/mである）の場合、係数 a および b を算出すると、 $a = 3.21 \times 10^9$ であり、 $b = 3.15 \times 10^2$ である。

[0305] また、図13Lにおいて、ノズル49の端部254と液体261との接触角が90度、気体が空気、液体がタンパク質を含む培養溶液（このとき、表面張力 γ の値は気温20℃で50 mN/mである）の場合、 $a = 2.65 \times 10^8$ であり、 $b = 2.59 \times 10^2$ である。つまり、これらの値を係数 a および b に代入した場合、数式8を満たす範囲内で気泡は安定に維持および制御される。なお、図13Kに示した例の場合、ノズル49の端部254と液体261との接触角が90度、気体が空気、液体が水であり、 r_h は50 μm であるため、 V_0 は1.17 μL と求められる。図13Kでは、気体の体積が約0.9 μL であるため、気泡は安定に維持および制御されていることを実

験で確認することができた。なお、上述の関係式は接触角が90度である一例を示したが、接触角は90度に限られない。例えば、所定の係数を設定することで、接触角は80度でも120度などであっても、上述の関係式を満たす。

[0306] 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。

[0307] 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。

[0308] 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 CPU 2000 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-ROM 2095 からプログラムまたはデータを読み取り、RAM 2020 を介してハードディスクドライブ 2040 に提供する。

[0309] また、入出力コントローラ 2084 には、ROM 2010 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。ROM 2010 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、RAM 2020 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。

[0310] RAM 2020 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-ROM 2095、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、RAM 2020 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、CPU 2000 において実行される。

[0311] 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、CPU 2000等に働きかけて、コンピュータ1900を、気泡形成部200や液体制御部260などとして機能させてよい。

[0312] 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に読み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気泡形成部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。

[0313] 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、CPU 2000は、RAM 2020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、CPU 2000の制御を受けて、RAM 2020、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-ROM 2095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、CPU 2000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。

[0314] また、CPU 2000は、ハードディスクドライブ2040、CD-ROMドライブ2060（CD-ROM 2095）、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RAM 2020へと読み込ませ、RAM 2020上のデー

タに対して各種の処理を行う。そして、CPU 2000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、RAM 2020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RAM 2020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。

[0315] 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。

[0316] 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、CPU 2000は、RAM 2020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RAM 2020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RAM 2020、メモリ、および／または記憶装置に含まれるものとする。

[0317] また、CPU 2000は、RAM 2020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、RAM 2020へと書き戻す。例えば、CPU 2000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。

[0318] また、CPU 2000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、CPU 2000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。

[0319] 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。

[0320] 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。

[0321] 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得ることが、請求の範囲の記載から明らかである。

[0322] 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。

[0323] (付記)

[項目 1]

生物体が浸された液体に流路の端部を浸し、流路内又は端部に、微小な界面移動に対して復元力が働く気液界面を形成する気液界面形成段階と、
気液界面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]

気液界面形成段階は、端部から気体を放出または吸引する段階を含む、
項目 1 に記載の操作方法。

[項目 3]

気液界面形成段階は、端部から気体を放出し、端部に、微小な体積変化に対して復元力が働く気液界面を維持することを含む、
項目 1 に記載の操作方法。

[項目 4]

気液界面形成段階において、気液界面から流路の内部まで連続する気体が占める気体体積 V (m^3) は、流路の端部の半径 r_h (m) に対して以下の式を満たす、

$$V \leq a \times r_h^4 + b \times r_h^3$$

(ただし、 $a = 2.65 \times 10^8$ 、および $b = 2.59 \times 10^2$ を満たす)

項目 2 または 3 に記載の操作方法。

[項目 5]

気液界面形成段階の前に、流路の端部から内部まで連続する気体が占める気体体積を減少させる体積減少段階を更に含む、

項目 2 から 4 のいずれか一項に記載の操作方法。

[項目 6]

体積減少段階は、流路の内部に液体を取り込んでおき、取り込んだ液体により流路の内部の気体を区画することを含む、

項目 5 に記載の操作方法。

[項目 7]

体積減少段階は、流路に、流路の内部の一部の空間をふさぐ充填材を充填することを含む、

項目 5 に記載の操作方法。

[項目 8]

流路はノズル及びノズルに連結されるポンプの内部に形成される空間を含み、

体積減少段階は、ポンプの容量を最大容量の 10%以下に低減することを含む、

項目 5 に記載の操作方法。

[項目 9]

流路には、流路の内部の空間を区分する区分部材が設けられる、

項目 5 に記載の操作方法。

[項目 10]

流路の端部の、断面形状は、内側に向けて突出部を有する形状である、

項目 1 から 9 のいずれか 1 項に記載の操作方法。

[項目 11]

流路の端部において、流路の内側面と、流路を形成する流路部材の端部側の面とにより角が形成され、当該角のなす角度は 90 ± 5 度の範囲である、

項目 1 から 10 のいずれか 1 項に記載の操作方法。

[項目 12]

流路を形成する流路部材と液体との液滴法による接触角は 90 度以下である、

項目 1 から 11 のいずれか 1 項に記載の操作方法。

[項目 13]

流路は、
端部側に設けられた先端部分と、
先端部分に接続され、先端部分の流路径と異なる流路径を有する内側部分と、
を有し、
先端部分と内側部分との接続部分において流路は段差を形成する、
項目 1 から 12 のいずれか 1 項に記載の操作方法。

[項目 14]

流路は、
流路径の太い部分および細い部分を備え、
流路径の細い部分の流路径は、流路径の太い部分の流路径の 10 分の 1 以下である、
項目 1 から 12 のいずれか 1 項に記載の操作方法。

[項目 15]

気液界面形成段階の前に、気体との間における液体の表面張力を減少させる表面張力減少段階を更に含む、
項目 2 から 9 および項目 2 または 3 に間接的に従属する 10 から 14 のいずれか 1 項に記載の操作方法。

[項目 16]

気液界面形成段階の前に、
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 1 から 15 のいずれか一項に記載の操作方法。

[項目 17]

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に端部が浸される流路と、
流路の内部又は端部に、微小な界面移動に対して復元力が働く気液界面を形成し、気液界面により生物体を操作する気液界面操作部と、

を備える生物体操作装置。

[項目 18]

気液界面操作部は、端部から液体に気体を放出し、端部に、微小な体積変化に対して復元力が働く気液界面を維持する、

項目 17 に記載の生物体操作装置。

[項目 19]

流路の気液界面から内部まで連続する気体が占める気体体積 V (m^3) は、流路の端部の半径 r_h (m) に対し以下の式を満たす、

$$V \leq a \times r_h^4 + b \times r_h^3,$$

(ただし、 $a = 2.65 \times 10^8$ 、および $b = 2.59 \times 10^2$ を満たす)

項目 18 に記載の生物体操作装置。

[項目 20]

流路には、流路の内部の一部の空間をふさぐ充填材が充填される、

項目 17 から 19 のいずれか一項に記載の生物体操作装置。

[項目 21]

流路には、流路の内部の空間を区分する区分部材が設けられる、

項目 17 から 20 のいずれか一項に記載の生物体操作装置。

[項目 22]

流路の端部の、断面形状は、内側に向けて突出部を有する形状である、

項目 17 から 21 のいずれか 1 項に記載の生物体操作装置。

[項目 23]

流路の端部において、流路の内側面と、流路を形成する流路部材の端部側の面とにより角が形成され、角のなす角度は 90 ± 5 度の範囲である、

項目 17 から 22 のいずれか 1 項に記載の生物体操作装置。

[項目 24]

流路を形成する流路部材と液体との液滴法による接触角は 90 度以下である、

項目 17 から 23 のいずれか 1 項に記載の生物体操作装置。

〔項目 2 5〕

流路は、

端部側に設けられた先端部分と、

先端部分に接続され、先端部分の流路径と異なる流路径を有する内側部分と、

を有し、

先端部分と内側部分との接続部分において流路は段差を形成する、

項目 1 7 から 2 4 のいずれか 1 項に記載の生物体操作装置。

〔項目 2 6〕

流路は、

流路径の太い部分および細い部分を備え、

流路径の細い部分の流路径は、流路径の太い部分の流路径の 1 0 分の 1 以下である、

項目 1 7 から 2 5 のいずれか 1 項に記載の生物体操作装置。

符号の説明

- [0324] 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

- 1 4 投影レンズ
- 1 5 ピンホール
- 1 6 光源
- 1 7 光源
- 2 5 容器
- 3 1 ノルマルスキープリズム
- 3 2 アナライザ（偏光板）
- 3 5 操作対象
- 3 7 ポラライザ（偏光板）
- 3 8 ノルマルスキープリズム
- 3 9 リング絞り
- 4 0 ノズル用アクチュエータ
- 4 1 サンプル用アクチュエータ
- 4 2 流路撮像用カメラ
- 4 5 光源
- 4 6 光源
- 4 7 圧力生成部
- 4 8 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 気液界面操作部
- 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 気泡形成部
- 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 6 0 液体制御部
- 2 6 1 液体
- 2 9 1 ビーズ
- 2 9 2 ダイアフラム

294 プレス器
295 流路径の太い部分
297 流路径の細い部分
298 流路径の太い部分
300 画像処理部
305 先端部分
306 内側部分
307 段差
1900 コンピュータ
2000 CPU
2010 ROM
2020 RAM
2030 通信インターフェイス
2040 ハードディスクドライブ
2050 フレキシブルディスク・ドライブ
2060 CD-ROMドライブ
2070 入出力チップ
2075 グラフィック・コントローラ
2080 表示装置
2082 ホスト・コントローラ
2084 入出力コントローラ
2090 フレキシブルディスク
2095 CD-ROM

請求の範囲

- [請求項1] 生物体が浸された液体に流路の端部を浸し、前記流路内又は前記端部に、微小な界面移動に対して復元力が働く気液界面を形成する気液界面形成段階と、
前記気液界面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] 前記気液界面形成段階は、前記端部から気体を放出または吸引する段階を含む、
請求項1に記載の操作方法。
- [請求項3] 前記気液界面形成段階は、前記端部から気体を放出し、前記端部に、微小な体積変化に対して復元力が働く前記気液界面を維持することを含む、
請求項1に記載の操作方法。
- [請求項4] 前記気液界面形成段階において、前記気液界面から前記流路の内部まで連続する前記気体が占める気体体積 V (m^3) は、前記流路の端部の半径 r_h (m) に対して以下の式を満たす、
$$V \leq a \times r_h^4 + b \times r_h^3$$

(ただし、 $a = 2.65 \times 10^8$ 、および $b = 2.59 \times 10^2$ を満たす)
請求項2または3に記載の操作方法。
- [請求項5] 前記気液界面形成段階の前に、前記流路の端部から内部まで連続する前記気体が占める気体体積を減少させる体積減少段階を更に含む、
請求項2から4のいずれか一項に記載の操作方法。
- [請求項6] 前記体積減少段階は、前記流路の内部に前記液体を取り込んでおき、取り込んだ液体により前記流路の内部の前記気体を区画することを含む、
請求項5に記載の操作方法。
- [請求項7] 前記体積減少段階は、前記流路に、前記流路の内部の一部の空間を

ふさぐ充填材を充填することを含む、

請求項 5 に記載の操作方法。

[請求項8] 前記流路はノズル及び前記ノズルに連結されるポンプの内部に形成される空間を含み、

前記体積減少段階は、前記ポンプの容量を最大容量の 10%以下に低減することを含む、

請求項 5 に記載の操作方法。

[請求項9] 前記流路には、前記流路の内部の空間を区分する区分部材が設けられる、

請求項 5 に記載の操作方法。

[請求項10] 前記流路の端部の断面形状は、内側に向けて突出部を有する形状である、

請求項 1 から 9 のいずれか 1 項に記載の操作方法。

[請求項11] 前記流路の端部において、前記流路の内側面と、前記流路を形成する流路部材の端部側の面とにより角が形成され、当該角のなす角度は 90 ± 5 度の範囲である、

請求項 1 から 10 のいずれか 1 項に記載の操作方法。

[請求項12] 前記流路を形成する流路部材と前記液体との液滴法による接触角は 90 度以下である、

請求項 1 から 11 のいずれか 1 項に記載の操作方法。

[請求項13] 前記流路は、
端部側に設けられた先端部分と、
前記先端部分に接続され、前記先端部分の流路と異なる流路を有する内側部分と、

を有し、

前記先端部分と前記内側部分との接続部分において前記流路は段差を形成する、

請求項 1 から 12 のいずれか 1 項に記載の操作方法。

- [請求項14] 前記流路は、
流路径の太い部分および細い部分を備え、
前記流路径の細い部分の流路径は、前記流路径の太い部分の流路径の10分の1以下である、
請求項1から12のいずれか1項に記載の操作方法。
- [請求項15] 前記気液界面形成段階の前に、前記気体との間における前記液体の表面張力を減少させる表面張力減少段階を更に含む、
請求項2から9および請求項2または3に間接的に従属する10から14のいずれか1項に記載の操作方法。
- [請求項16] 前記気液界面に加わる第1圧力を検知する検知段階をさらに有し、
前記検知段階は、前記流路に気体を放出し続けた際の前記第1圧力の変化を検知し、前記変化した前記第1圧力の値に基づき前記気液界面を形成可能な第2圧力を決定する、
請求項1から15のいずれか1項に記載の操作方法。
- [請求項17] 前記気液界面に加わる第1圧力を検知する検知段階をさらに有し、
前記第1圧力の変化に基づき前記流路の端部が前記液体に接触したこと、または前記流路の端部に形成された前記気液界面が前記生物体を培養する容器の底部に接触したことを検知する、
請求項1から16のいずれか1項に記載の操作方法。
- [請求項18] 前記気液界面形成段階の前に、
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から17のいずれか一項に記載の操作方法。
- [請求項19] 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に端部が浸される流路と、
前記流路の内部又は端部に、微小な界面移動に対して復元力が働く気液界面を形成し、前記気液界面により生物体を操作する気液界面操作部と、

を備える生物体操作装置。

[請求項20] 前記気液界面操作部は、前記端部から前記液体に気体を放出し、前記端部に、微小な体積変化に対して復元力が働く前記気液界面を維持する、

請求項19に記載の生物体操作装置。

[請求項21] 前記流路の前記気液界面から内部まで連続する前記気体が占める気体体積 V (m^3) は、前記流路の端部の半径 r_h (m) に対し以下の式を満たす、

$$V \leq a \times r_h^4 + b \times r_h^3、$$

(ただし、 $a = 2.65 \times 10^8$ 、および $b = 2.59 \times 10^2$ を満たす)

請求項20に記載の生物体操作装置。

[請求項22] 生物体が含まれる液体中に端部が配置された流路と、
前記流路に気体を導入して前記端部に気液界面を形成するポンプと、

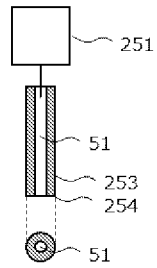
前記気液界面に加わる第1圧力を検知する圧力検知部と、

前記気液界面を維持可能な第2圧力が記憶された記憶部と、を備え、

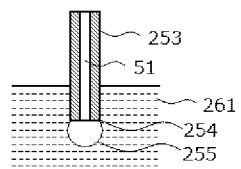
前記ポンプは、前記第1圧力の変化に基づき前記気体の導入量を変化させ、前記第1圧力が前記第2圧力以下の状態を維持するように前記流路に導入する前記気体を制御する、

生物体操作装置。

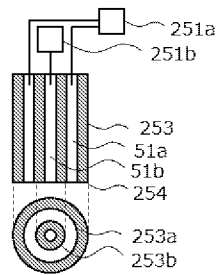
[図2A]

49

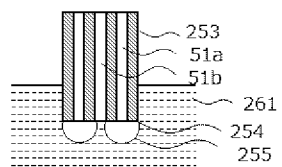
[図2B]

49

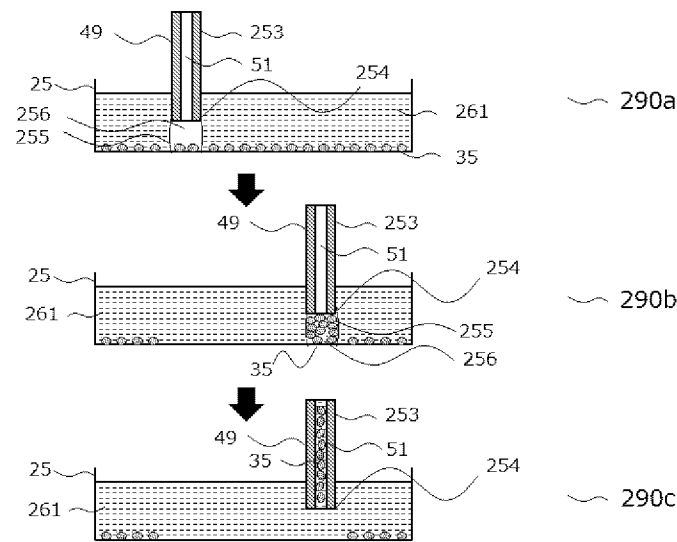
[図3A]

49

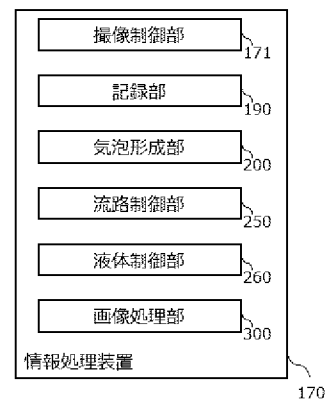
[図3B]

49

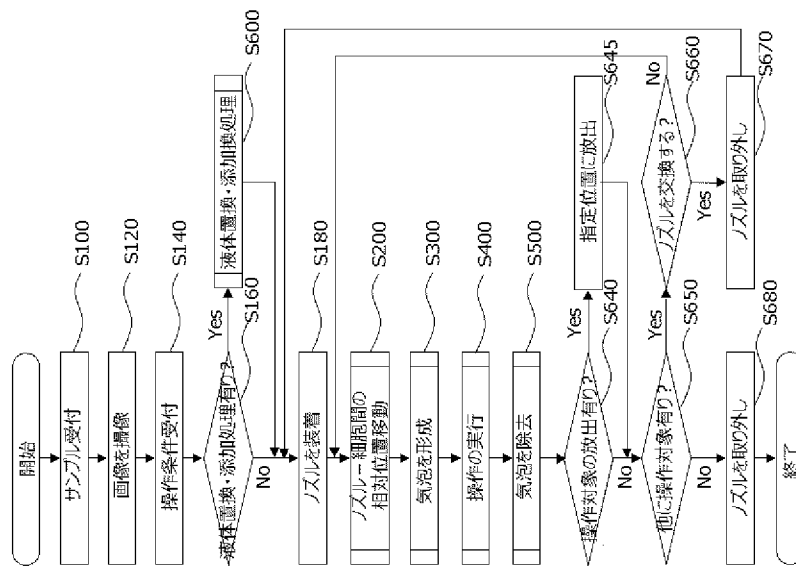
[図4]



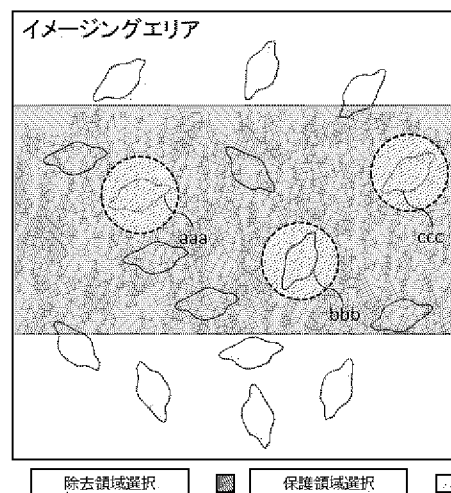
[図5]



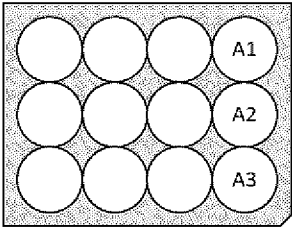
[図6]



[図7A]



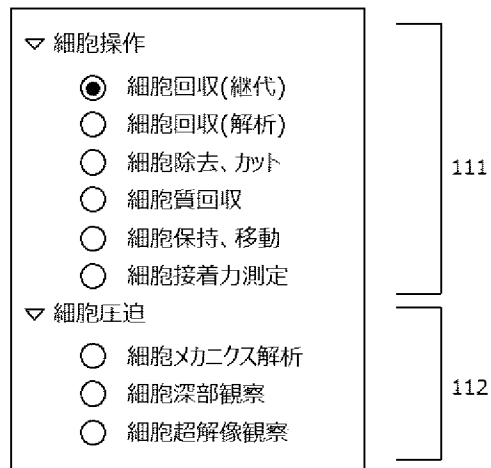
[図7B]



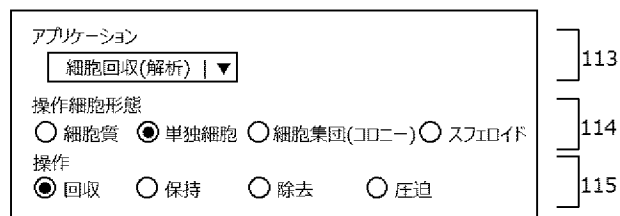
[図7C]

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

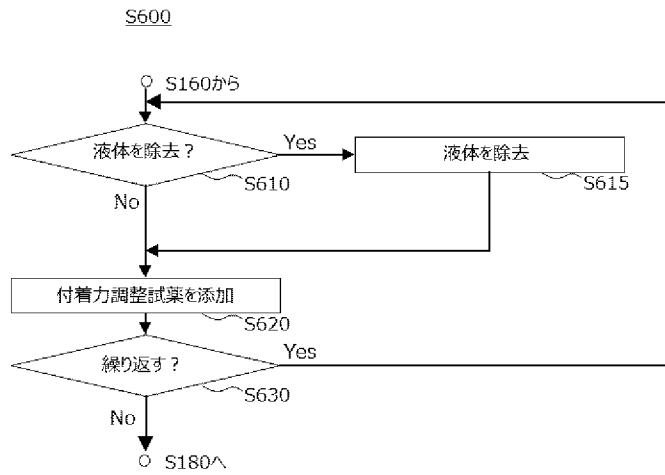
[図7D]



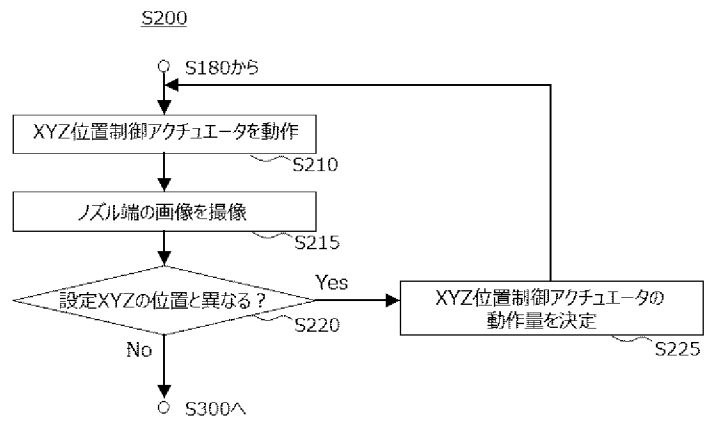
[図7E]



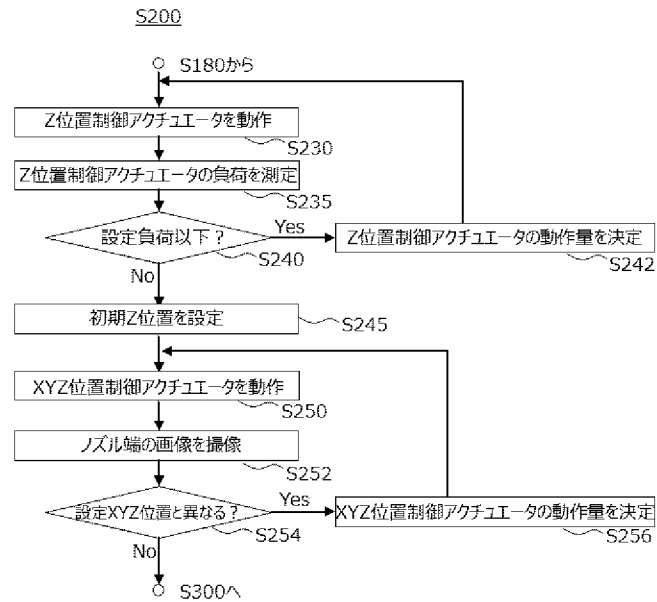
[図8]



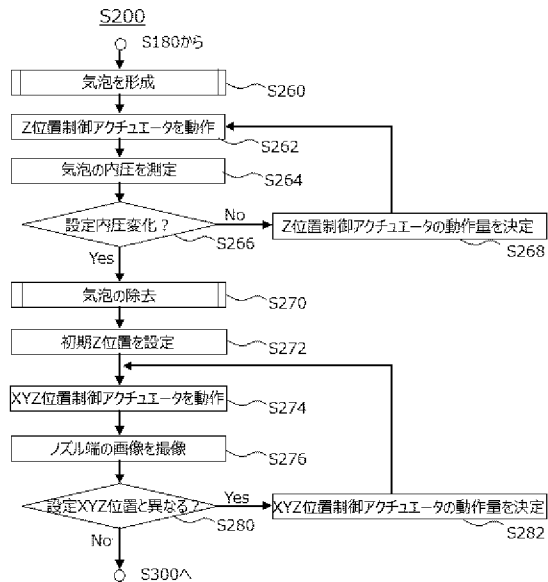
[図9A]



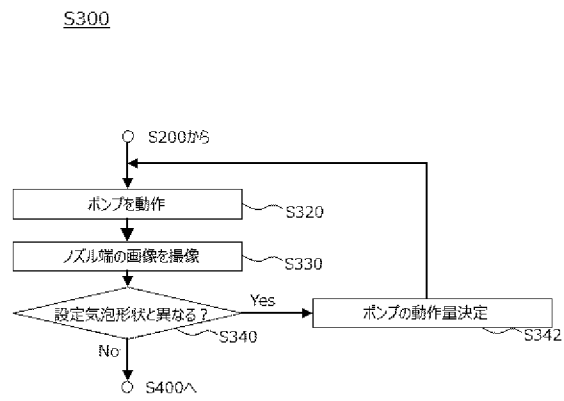
[図9B]



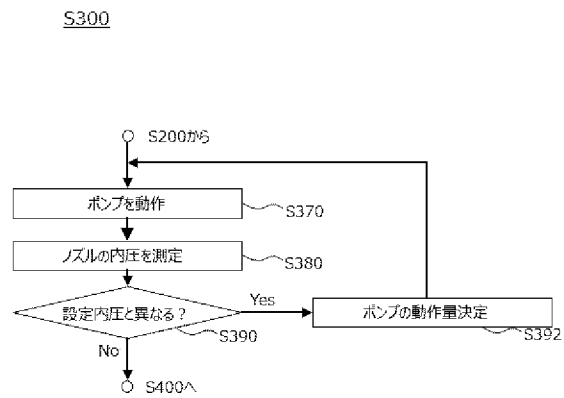
[図9C]



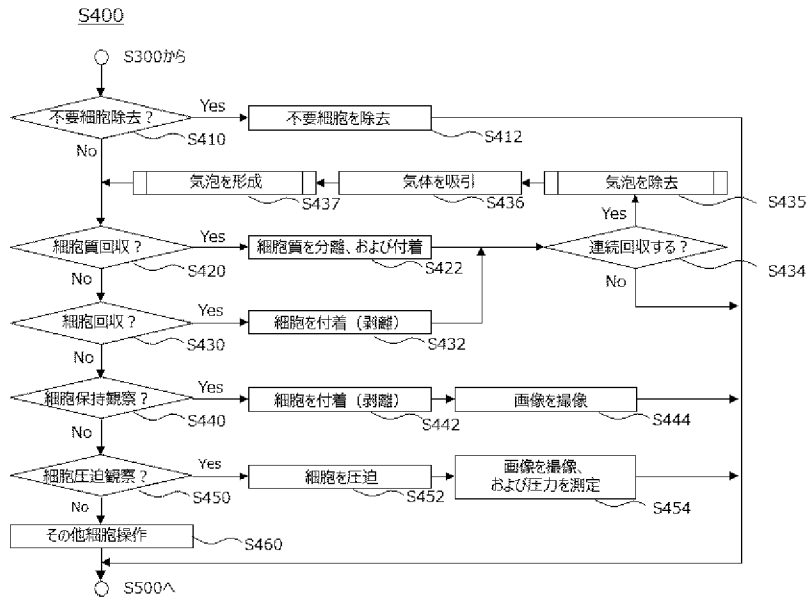
[図10A]



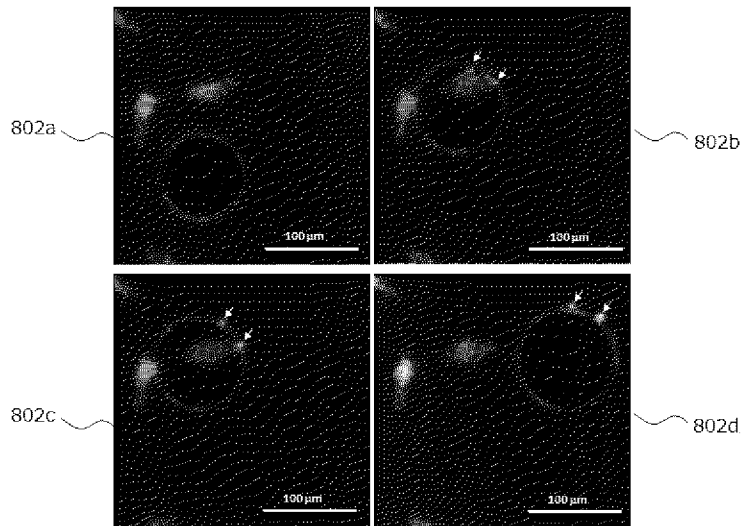
[図10B]



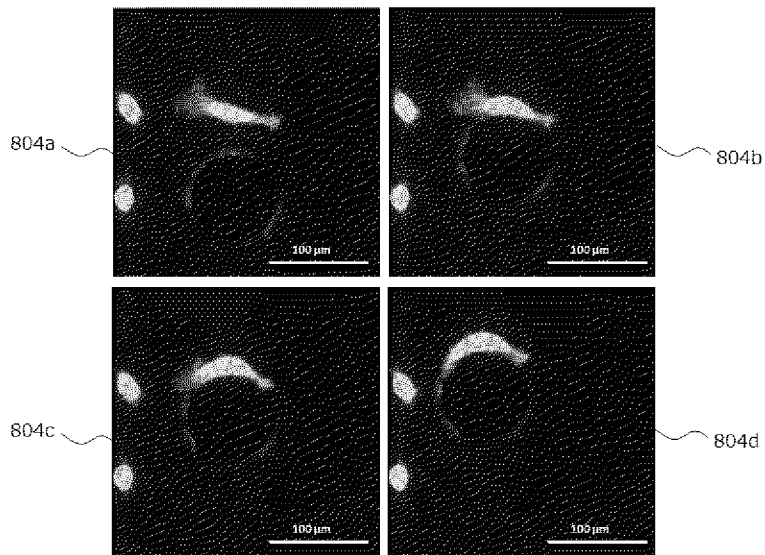
[図11A]



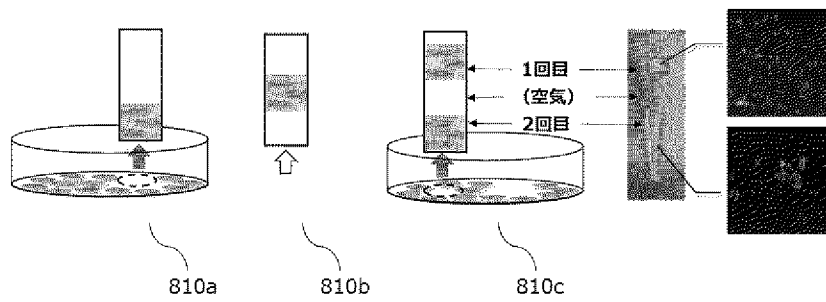
[図11B]



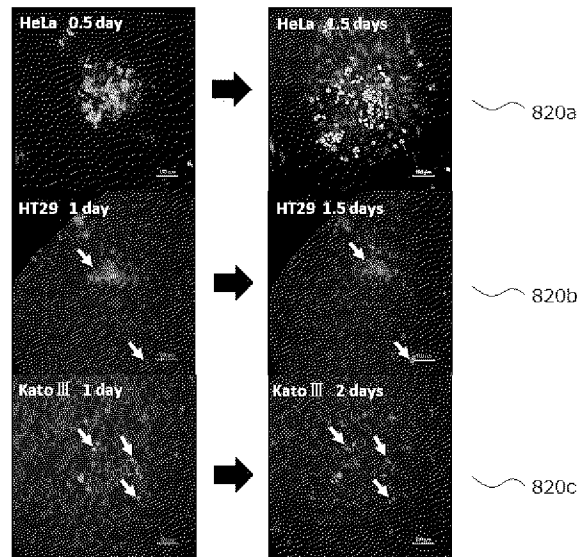
[図11C]



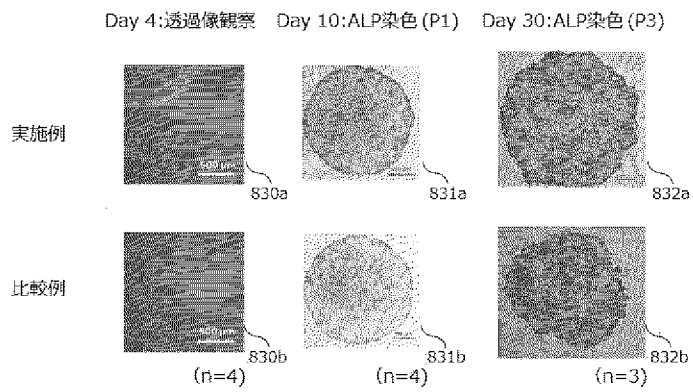
[図11D]

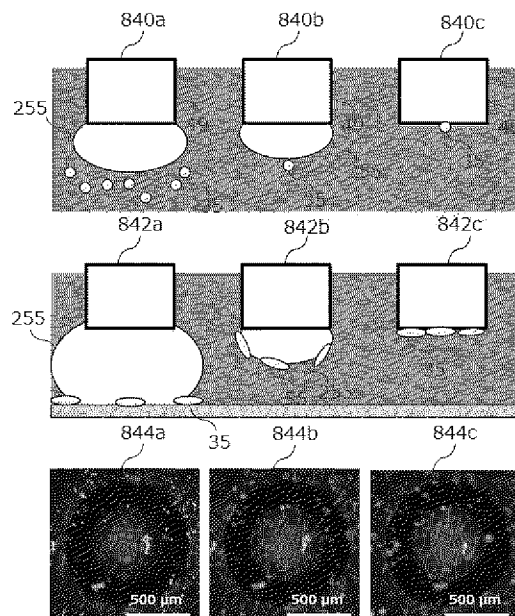
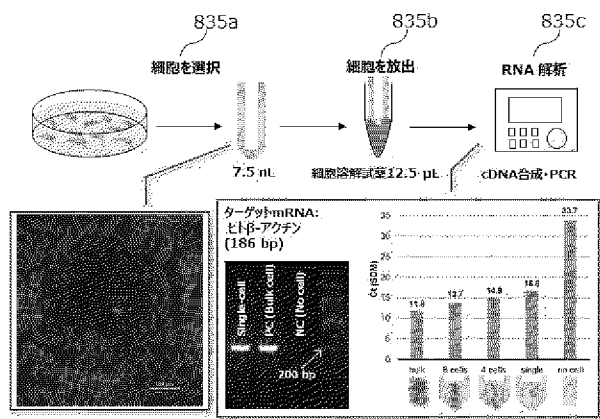


[図11E]

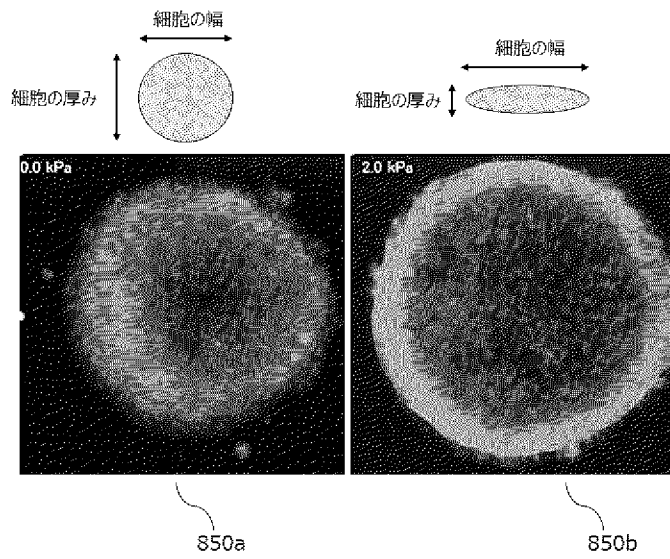


[図11F]

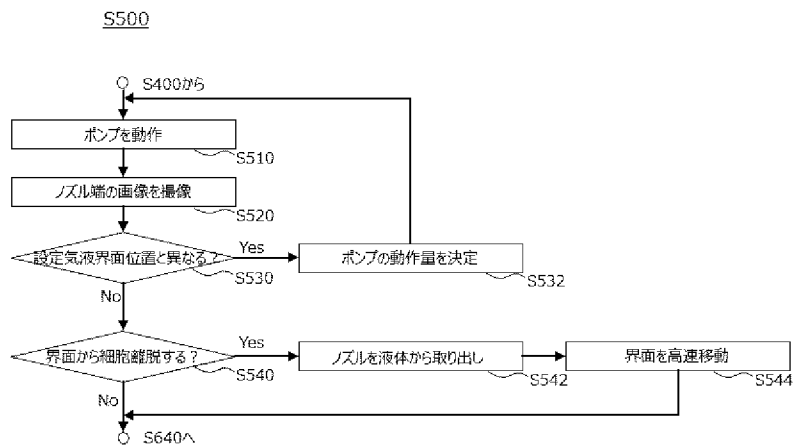




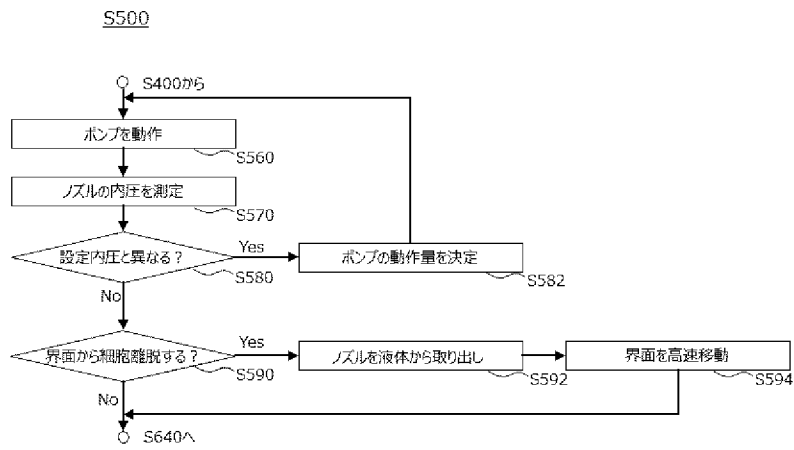
[図11I]



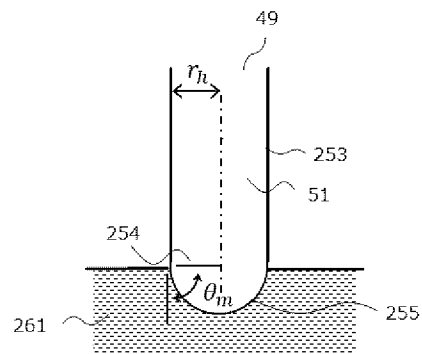
[図12A]



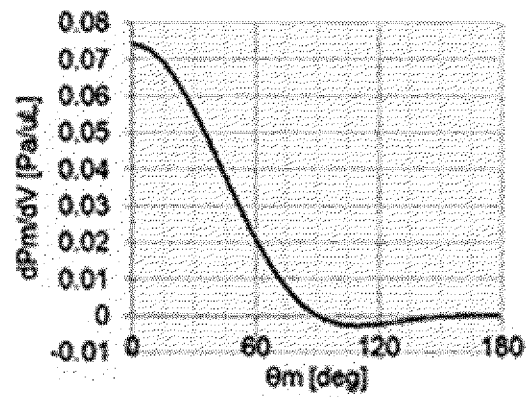
[図12B]



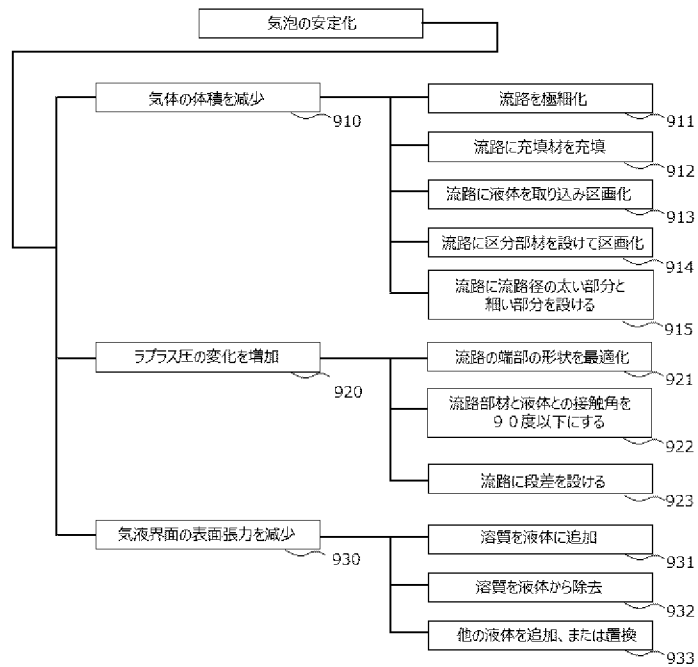
[図13A]



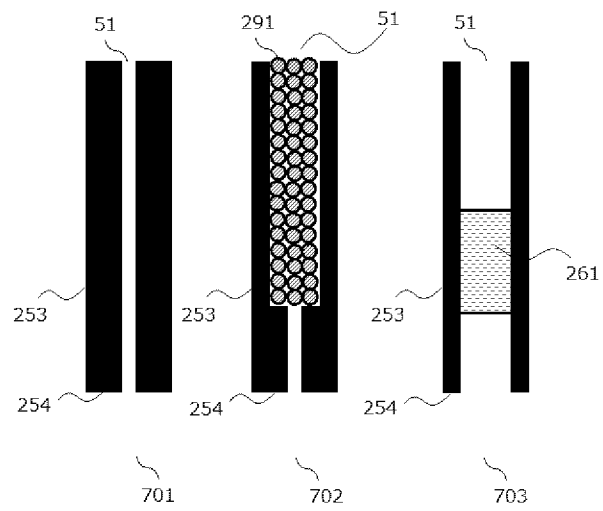
[図13B]



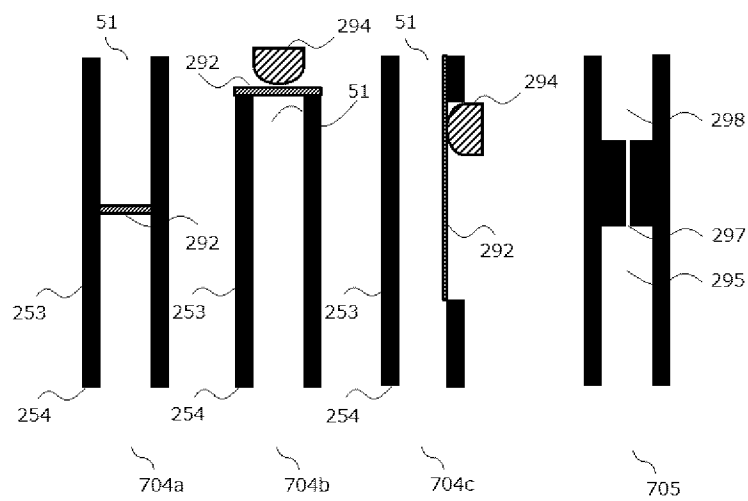
[図13C]



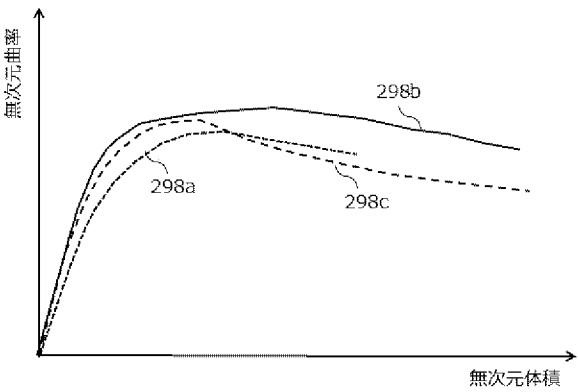
[図13D]



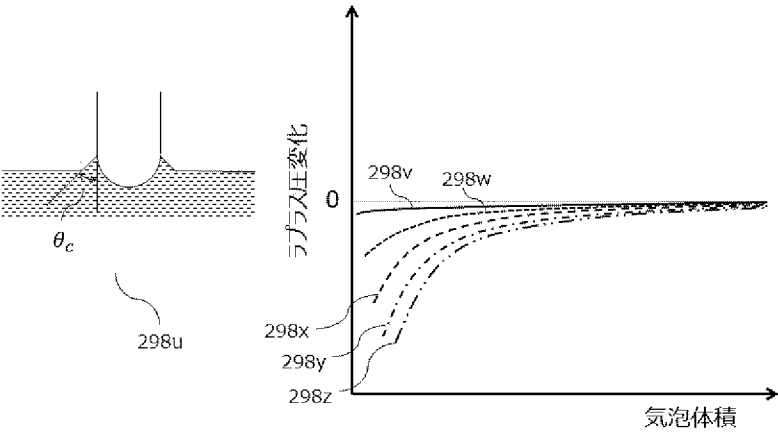
[図13E]



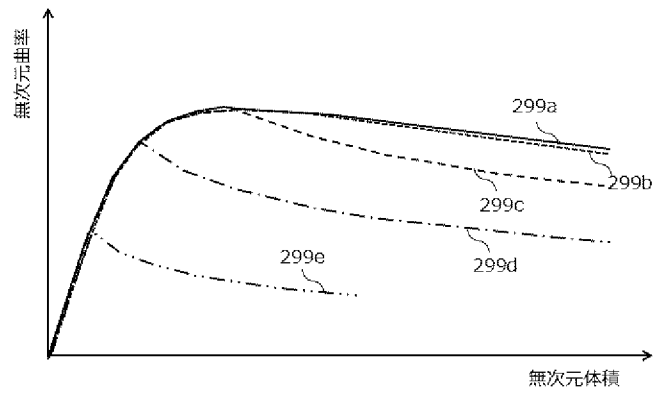
[図13F]



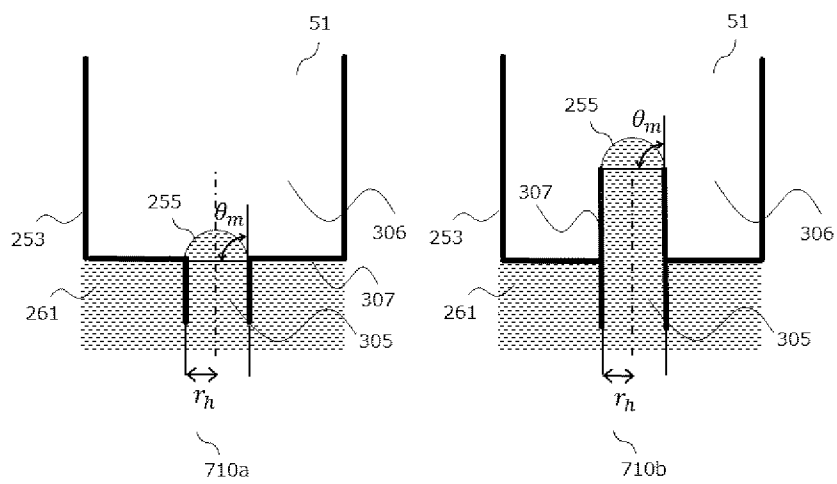
[図13G]



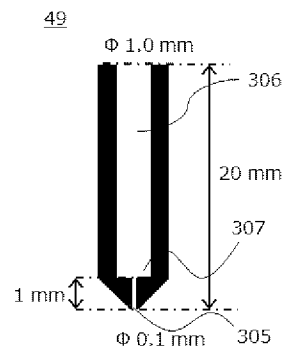
[図13H]



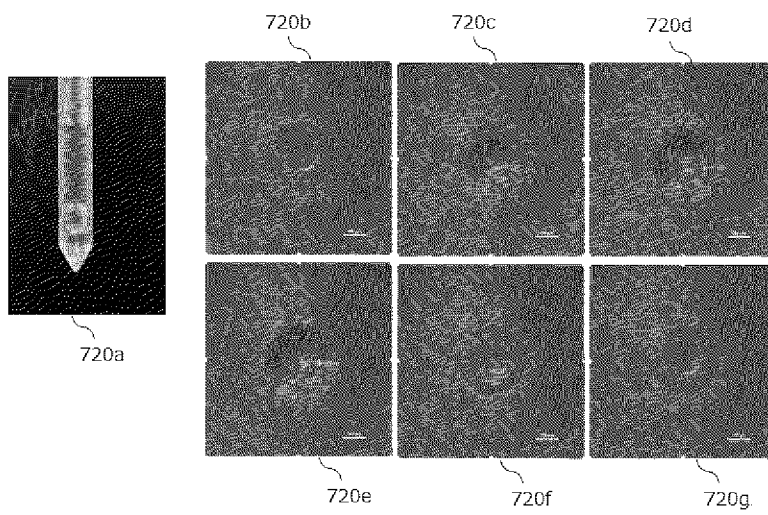
[図13I]



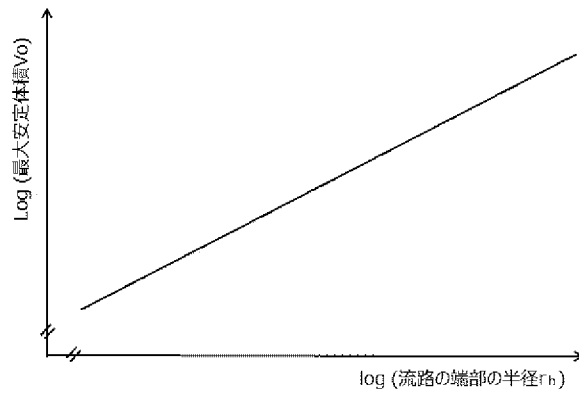
[図13J]



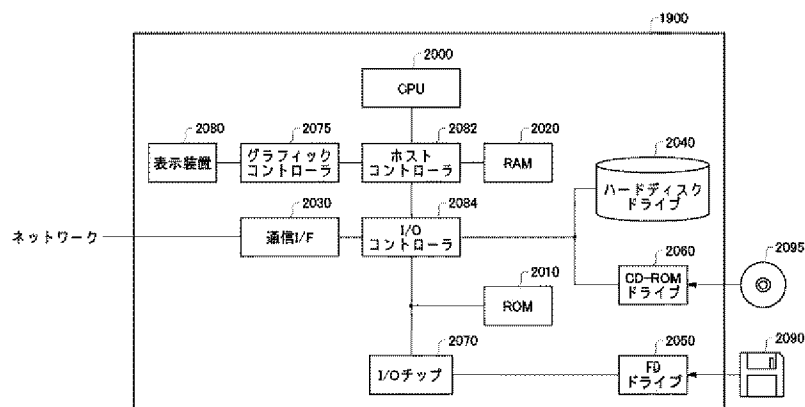
[図13K]



[図13L]



[図14]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2021/035209

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER*C12M 1/04*(2006.01)i; *C12N 1/00*(2006.01)i; *C12N 1/02*(2006.01)i

FI: C12M1/04; C12N1/02; C12N1/00 K

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)

C12M1/04; C12N1/00; C12N1/02

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); Cplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	Microfilm of the specification and drawings annexed to the request of Japanese Utility Model Application No. 110417/1989 (Laid-open No. 50900/1991) (TSUMURA & CO.) 17 May 1991 (1991-05-17), claims, page 1, 4th line from the bottom to page 2, line 3, page 4, section of [action], page 6, second paragraph, fig. 1-3	1-2, 4-5, 7-15, 18-19
A		3, 6, 16-17, 20-22
A	WO 2015/098919 A1 (SEKISUI CHEMICAL CO., LTD.) 02 July 2015 (2015-07-02)	1-22



Further documents are listed in the continuation of Box C.



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

21 October 2021

Date of mailing of the international search report

02 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/JP2021/035209

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
JP	3-50900	U1	17 May 1991	(Family: none)	
WO	2015/098919	A1	02 July 2015	TW	201529854 A

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC）） C12M 1/04(2006.01)i; C12N 1/00(2006.01)i; C12N 1/02(2006.01)i FI: C12M1/04; C12N1/02; C12N1/00 K										
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）） C12M1/04; C12N1/00; C12N1/02										
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 <table border="0"> <tr> <td>日本国実用新案公報</td> <td>1922-1996年</td> </tr> <tr> <td>日本国公開実用新案公報</td> <td>1971-2021年</td> </tr> <tr> <td>日本国実用新案登録公報</td> <td>1996-2021年</td> </tr> <tr> <td>日本国登録実用新案公報</td> <td>1994-2021年</td> </tr> </table>			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
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									
国際調査で利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); Cplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)										
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	日本国実用新案登録出願1-110417号(日本国実用新案登録出願公開3-50900号)の願書に添付した明細書及び図面の内容を撮影したマイクロフィルム（株式会社ツムラ） 17.05.1991（1991-05-17）実用新案登録請求の範囲、第1頁下から第4行-第2頁第3行、第4頁〔作用〕項、第6頁第2段落、第1図～第3図	1-2, 4-5, 7-15, 18-19								
A		3, 6, 16-17, 20-22								
A	WO 2015/098919 A1（積水化学工業株式会社）02.07.2015（2015-07-02）	1-22								
☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。 ☒ 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 21.10.2021		国際調査報告の発送日 02.11.2021								
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） 池上 京子 4N 4667 電話番号 03-3581-1101 内線 3488								

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/JP2021/035209

引用文献			公表日	パテントファミリー文献	公表日
JP	3-50900	U1	17.05.1991	(ファミリーなし)	
WO	2015/098919	A1	02.07.2015	TW	201529854 A