

解 説

バイオ用インクジェットヘッドを搭載したバイオ機器について

山口 修一*

(2016.1.8 受理)

Bio Equipments with Inkjet Heads for Bio Applications

Shuichi YAMAGUCHI*

Inkjet technology has been made a prominent development in printing letters and images.

This technology is, in essence, to quickly and precisely place functional fluid by droplet on designated positions based on digital data. In biotechnology field, various applications have been actively researched and developed, by utilizing digitally handling tiny volume of various Bio materials.

However, existing inkjet heads have many problems in handling Bio reagent which is totally different from conventional ink for printing. Therefore it is required to have dedicated purpose ink jet head for Bio.

Here in this publication, after clarifying those issues, various inkjet equipments with the inkjet heads for bio applications are introduced, as well as detailed descriptions on inkjet heads developed for bio applications.

Keywords : Inkjet, Inkjet head, Bio technology, Bio material, Digital handling, Inkjet bio equipment

インクジェット技術は文字や画像の印刷分野でめざましい発展を遂げてきた。この技術は突き詰めれば、指定した位置にデジタルデータに基づいて、機能性の液体を液滴単位で高速且つ高精度に配置していく技術である。この技術を応用して、バイオテクノロジ分野では、各種のバイオマテリアルを極微量デジタルハンドリングすることにより、様々な用途開発が近年盛んに研究されている。しかし、従来の印刷分野のインクとは異なる様々なバイオ試料液を扱う上で、従来の印刷用インクジェットヘッドでは多くの課題点を有する。そのため、バイオ用途には専用のインクジェットヘッドが求められている。本文ではこれらの課題点を明らかにした上で、バイオ用途向けに開発されたインクジェットヘッドについて解説すると共に、そのヘッドを搭載した各種のバイオ用インクジェット機器について紹介する。

キーワード：インクジェット、インクジェットヘッド、バイオテクノロジ、バイオマテリアル、デジタルハンドリング、バイオ用インクジェット機器

1. はじめに

インクジェット技術は、1980年代にコンピュータの出力機器としてプリンタへの実用化が実現し、それ以来30年以上に渡って、応用分野を広げながら発展を続けてきた。様々な分野への応用例は、拙著「インクジェット時代がきた！」¹⁾に紹介されている。特に2000年代後半に入ると文字や画像を形成するインクに代わって、導電性材料や絶縁材料、その他様々な機能性材料をインク化した液体をプリンタ用マルチノズルインクジェットヘッドでデジタルパターニングして電子デバイスを作製する、プリンテッドエレクトロニクス分野の研究が盛んになり、多くの研究成果が報告されている。具体的には液晶ディス

プレイの配向膜塗布²⁾、金属ナノ粒子液による配線形成³⁾、有機半導体の作製⁴⁾や有機薄膜太陽電池の作製⁵⁾への応用等が研究され実用化が進んだ。同じ頃バイオテクノロジ分野でも、エレクトロニクス分野同様にインクジェット技術を用いた様々な応用研究が開始された。しかしながら、エレクトロニクス分野に比べ、その成果は限定的であったが、近年バイオテクノロジ分野の用途向けに専用のインクジェットヘッドが開発され、応用分野も広がってきている。本稿ではバイオ分野へのインクジェット技術の応用研究を紹介すると共に、従来の印刷用インクジェットヘッドが有していた課題点を整理し、その課題を解決したバイオ用インクジェットヘッドについて解説すると共に、これらのヘッドを搭載した各種のインクジェット機器を紹介する。

2. バイオテクノロジ分野へのインクジェット技術の応用研究

バイオ分野における液体マテリアルとしては、試薬、DNA

* 株式会社マイクロジェット

〒399-0732 長野県塩尻市大門五番町 79-2

* MICROJET Corporation

79-2, Gobancho, Daimon, Shiojiri, Nagano, 399-0732, Japan

溶液、タンパク溶液、細胞懸濁液等がハンドリングの対象として検討されてきた。従来、これらの液体は手動式のピペットや電磁バルブ、シリングポンプ等によってハンドリングされてきたが、ハンドリングできる液体はマイクロリットルから数十ナノリットルオーダーであり、その精度も±5~10%程度に留まっていた。

DNA解析を目的としたDNAマイクロアレイの作製に於いては、基板上に高密度に検出用の合成されたDNAを配置する必要があり、従来の手法では液量が多く精度も悪いため、新しい技術が求められていた。この目的に対してはサーマルジェット方式のインクジェット技術での研究がなされ、その後実用化された⁶⁾。DNAは比較的熱に強いため、サーマルジェット技術により溶液が熱ストレスを受けてもダメージは少なく、マイクロアレイ化が実現できた。これ以外にも、バイオセンサの研究⁷⁾や、細胞の懸濁液を吐出させて三次元の構造物を作る研究⁸⁾がなされてきた。

初期の研究において一般的に使われたインクジェットヘッドはプリンタ用マルチノズルヘッドであり、これを搭載した市販の印刷用プリンタが実験装置であった。印刷用プリンタの開発は十年以上の歳月を要し、実現にあたっては多くの技術やノウハウがプリンタに詰め込まれているが、これらはあくまでも印刷用インクを前提としたものであり、扱う液体がバイオマテリアル溶液になった場合は、それに合わせた技術やノウハウが必要となる。しかしバイオ分野の研究者に於いては、インクジェット技術の研究開発が直接的な目的ではなく予算も限られているため、多くの場合、市販のマルチノズルヘッドやプリンタを使う事を余儀なくされていた。そのため最適化されていないヘッドやプリンタによる実験では信頼性や再現性が低く、バイオ分野におけるインクジェット研究は壁にぶつかっていた。

その一方でシングルノズルのインクジェットヘッドが開発され、バイオ用途とされていたが、もともとバイオ用途に開発されたというよりは、印刷用途にはノズル数が少なくて使えないがバイオ用途には使えるノズル数だったため、結果として主な用途がバイオになっていた。このシングルノズルヘッドとそのコントローラが提供されてはいたものの、このヘッドを搭載した実験用の装置は、独自に実験者自らが設計をしなければならず、インクジェット技術のノウハウや周辺技術を有しない研究者にとって、信頼性の高い装置を設計することは大きなハードルとなり、研究の障害となっていた。

次の章では、印刷用マルチノズルインクジェットヘッドをバイオ分野で使用する際の課題点について、実際にバイオ実験をする立場に立って整理してみたい。

3. バイオテクノロジ分野におけるインクジェットヘッドの課題

ここでは、印刷用マルチノズルヘッドをバイオ分野に応用する際の主な課題点を下記に挙げ、それについて解説する。

- (1) ヘッド内へ液を充填して吐出が可能となるセットアップに要する液量が多い
- (2) 多数の液種に対応してヘッドを多数搭載することがコスト的、寸法的に難しい

- (3) 高表面張力の液体が吐出できない
- (4) 液の交換時に内部を簡易的に完全に洗浄することが難しい
- (5) 接液部に接着剤や金属を使用している
- (6) 液滴体積が小さく、ノズル径も小さいため、細胞等の粒子懸濁液が吐出できない

まず(1)についてであるが、マルチノズルヘッドはインクの流入口は1カ所であっても、内部はノズル数と同数の細い流路に分岐しているため、これらの流路に液を完全に充填するためには、通常0.5mlから数ml程度の液量を要する。バイオ分野では、扱う液材は試薬をはじめとして高価な液が多い。また0.1ml以下の少量の試料を多数に分注する用途も多いため、実験のセットアップ時に要する液量が多いことは致命的である。

次に(2)であるが、各種検査用バイオチップの作製に於いては、検体試料を網羅的に検査するために、基材上には100から10000種程度の液種のマテリアルをスポットする必要がある。しかしながら、1種類の液を多数のノズルから吐出する構造となっているマルチノズルヘッドを100個以上搭載した装置を設計することは、物理的にもコスト的にも難しい。

(3)については、バイオ分野の液体マテリアルの多くは水溶液であり、表面張力が高いことが問題である。印刷用インクでは表面張力を低下させるために界面活性剤が添加されているが、色が最終的な印刷に求められる主な機能である印刷用インクに対して、バイオ用途では安易に界面活性剤を添加することはできない。そのためバイオ用ヘッドには高表面張力の液であっても安定して吐出ができることが求められる。

(4)の洗浄に於ける問題は、バイオ分野では多種類の試料液を扱う上に、高精度な分析を微量な試料で行うことから、コンタミネーションを極度に嫌うため避けて通れない。(1)でも述べたように、ヘッドの内部は複数の入り組んだ細い流路からなるため、これらの流路を完全に、且つ短時間で洗浄することは難しい。

(5)は(4)と関係するが、マルチノズルヘッドでは流路やノズルを構成する複数の部材を接着剤で貼り合わせたり、部材の一部が金属で構成されているため、これらの部位から微量の物質が溶出するため、高精度な分析に於いては問題となる。

(6)についてであるが、プリンタでは高画質化を実現すべく、年々ヘッドの小滴化が図られてきたため、現在ではほとんどのマルチヘッドは液滴量が数pL/滴程度となっている。小滴化を実現するためノズル径も20μmから50μm程度に設計されている。一方、バイオ分野で求められている最少ハンドリング液量は現状1nL程度であり、ハンドリング対象の細胞も大きさが数十μm程度であるため、プリンタ用ヘッドでは液滴が少なすぎ、ノズル径も小さすぎる。ナノリットルオーダーの液滴であればノズル径は50μm以上となり、細胞吐出の場合は100μm以上のノズル径になる。

これらの課題を解決することが、バイオ用ヘッドには求められる。筆者はこれらの課題を解決すべくバイオ用のヘッドを開発したので、これについて次の章で述べる。

この章のまとめとして、Table 1にプリンタ用ヘッドとバイオ用ヘッドに求められる特性の違いを示す。

Table 1 Required head characteristics for printer and bio technology.

Application	Required characteristics						
	Volume per droplet	Required volume for setup	Number of nozzles	Applicable surface tension	Cleaning	Head constitutional material Adhesive availability	Nozzle diameter
Printer	Picoliter	Several mL or less	Multi nozzles	Low	Possible	Resin, Metal, Si Adhesive available	50 µm or less
Bio technology	Nanoliter	0.1 µL or less	Single nozzle	High	Easy Disposable	Glass, Si Adhesive unavailable	50 µm or more More than 100 µm for cells

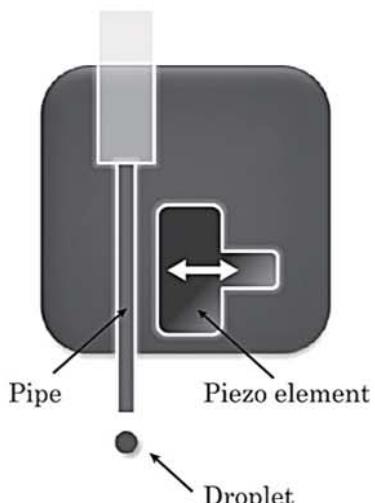
4. バイオテクノロジ用インクジェットヘッド

Fig.1 はバイオ用に開発したシングルノズルヘッド GlassJet® である。ヘッド構造としてはシングルノズルからなり、接着剤や金属を使わないガラス管からなるシームレスな構造を有する。ノズル径もバイオ用途には最大 150 µm までラインナップされている。また、従来から有ったゲールドタイプのガラスヘッドとは異なる構造を有しているため、より低コストなヘッドを実現できている。更には流路構造がシンプルであり、気泡が滞留する部位がなく、樹脂に比べて水の接触角が小さいため、気泡の付着も起こりにくく、洗浄が容易である。このヘッドの特徴を先述の課題点に照らし合わせて整理すると下記のようになる。

- (1) ヘッドのセットアップに要する液量は 0.1 mL 以下である
- (2) 小型コンパクトであり、多数の液種に対応した装置設計が可能である
- (3) 水をはじめとした高表面張力の液体が吐出できる
- (4) 内部を完全に洗浄することが可能である
- (5) 接着剤や金属は不使用なため、コンタミネーションの問題がない
- (6) ノズル径が大きいものは、細胞等の粒子懸濁液も吐出できる

これらの特徴に見られるように、従来の問題点はほぼ解決できた。しかしながら、実際の現場では様々な用途に対して検討されるため、新たな課題も出てくる。例えば血液のハンドリングを行う場合、洗浄できるからといって、血液を分析する際に、検体毎に洗浄してヘッドを使うということに対しては抵抗がある。血液検査の現場ではこれまで血液がふれる部位はディスポーザブルが原則であり、そこに洗浄して使うインクジェットヘッドを適用することは技術的には可能であっても、使う側からすると毎回確実に洗浄できている保証がなければ、生命に関係する検査をする側からすると使えない。このあたりは印刷用のプリンタの世界とは全く異なる品質に対する見方があることに留意しておかなければならない。更には、ヘッドがコンパクトだからといって 100 種類以上の試料を一度にハンドリングする機器にシングルノズルを 100 個以上搭載することは現実的ではない。

これらの課題に対する答えとして **Fig. 2** と **Fig. 3** のヘッド

**Fig. 1** GlassJet® inkjet head.**Fig. 2** PipeJet® inkjet head structure.**Fig. 3** Memjet inkjet head.

が開発された。これらのヘッドはいずれも筆者の会社が技術と販売の提携をしたドイツの BioFluidix 社が開発したヘッドである。

Fig. 2 はディスポーザブル機能を持つ PipeJet® ヘッドの概略構造を示す。ユーザでの交換が可能な樹脂パイプ部を外部からピエゾ素子により変形させて圧力波を発生させる構造となっている。液種毎にパイプ部のみ交換すればよく、洗浄の問題を解決できる上に、消耗品のコストも低減できる。ハンドリングに必要な最少液量は 0.03 mL と少なく、高価な液や少量の液を効率的にハンドリングできる。

Fig. 3 は 96 ノズルからなるシリコン製の MemsJet ヘッドである。MEMS 技術を用いて高密度に流路やノズルが形成されている。1 ノズル毎に 1 液種が吐出可能な構造となっており、96 ノズル同時に圧力を加えることができる構造となっているため、96 ノズルから液滴を一斉に吐出可能であり、96 種類の液を高速で複数箇所にスポットティングできる。96 種より少ない数でも対応可能である。また、ハンドリングに必要な液量も 1 μL と極微量であり、PipeJet® ヘッドと同様に、高価な液や少量の液を効率的にハンドリングできる。主な用途としては多種類のマテリアルを高密度に配置する DNA チップやプロテインチップの作製に用いられる。

これらの 3 種類のインクジェットヘッドの登場により、取り扱えるバイオマテリアル溶液の種類や用途は格段に広がった。

5. バイオマテリアル溶液のインクジェット吐出

ここではバイオマテリアル溶液として、細胞懸濁液の吐出を例にとって、インクジェット吐出する場合に発生する問題に対して、プリンタのインクジェット技術を適用するだけでは、解決策にはならない例について解説する。

3 章でも触れたが、プリンタ用マルチノズルヘッドのノズル径は一般的に 20 μm から 50 μm 程度であり、直径が数十 μm 程度の細胞を含んだ懸濁液を安定吐出するにはノズル径が 100 μm 以上のヘッドが必要である。従ってプリンタ用マルチノズルヘッドではなく、細胞吐出専用のヘッドが必要となる。

また、プリンタ用途では小滴化を実現するために、ノズル径を小さくする方法に加えて、ピエゾ素子の駆動方法として、引き打ちと呼ばれる手法がとられている。Fig. 4 は引き打ち法、Fig. 5 は押し打ち法による液滴形成過程を示している。引き打ちは、液滴形成の直前に圧力室の体積を増加させてメニスカスを引き込み、負圧を発生させ、その負圧が反転して正圧になるタイミングに合わせて圧力室の体積を縮小させ、正圧を重畳させる方法である。この方法では、小滴で高速の液滴が形成される上に、ピエゾ素子に印加する電圧も低電圧化できるという優れた特徴を持った手法である。ピエゾヘッドを搭載したインクジェットプリンタではほぼ全て、この駆動方法が採用されている。

一方、押し打ちは液滴形成タイミングでピエゾ素子を変形させ、圧力室の体積を減少させて正圧を発生させて液滴形成する方法である。押し打ちでは液滴の吐出スピードが数 m/s 程度と遅く、ピエゾ素子への印加電圧も高くなるデメリットがあるが、大きな体積の液滴を形成し易い。同じノズル径のヘッドで

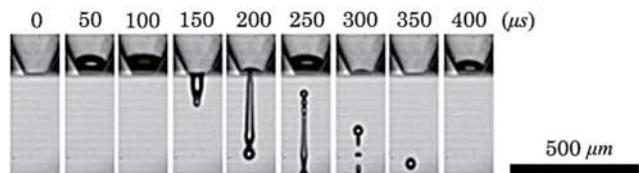


Fig. 4 Droplet formation process of Pull-Push method.

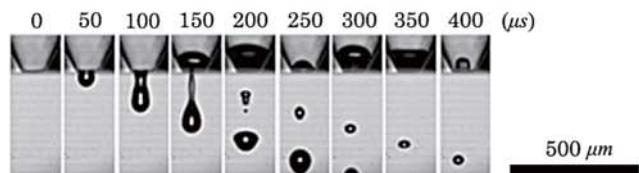


Fig. 5 Droplet formation process of Push-Pull method.

引き打ちと押し打ちを比較した場合、押し打ちは引き打ちの約 2 倍の体積の液滴を吐出できる。引き打ちは印刷用途ではメリットがある反面、液柱が複数の液滴に分離し、サテライトと呼ばれる液滴スピードが遅い微小な液滴が多数形成される。このサテライトは浮遊しやすく、高精度な分析に使用する際には大きな問題となる。また筆者らが、1 細胞の解析を目的としてシングルセルハンドリング技術を研究した際、ヘッドから吐出される 1 液滴に必ず 1 個細胞が入った状態で吐出するには、引き打ちはなく押し打ちが適していることを明らかにした⁹⁾。液滴の微小化がプリンタほど求められていないバイオ用途では、押し打ちが駆動方法として適しているケースもある。

このようにプリンタの開発で進化してきたインクジェット技術ではあるが、異分野への応用を検討する際には、これまで常識と考えられていたことにとらわれずに、本質的な目的に対して最適な方法を原点に立ち返って考えていく取り組み姿勢が重要である。

6. バイオ用各種インクジェット機器

この章では、前述したバイオ用インクジェットヘッドを搭載した様々な応用機器について、筆者の会社の製品を例にとって紹介する。

Fig. 6 は DNA やタンパク溶液等を指定位置にスポットティングする装置 LaboJet®-Bio である。バイオ用スポットティング装置に求められる機能としては、液が高価であったり稀少である場合が多いため、少量の液を吸い上げて、それを多数の位置に高精度にスポットする機能が必要である。この装置ではヘッドの先端部が露出しているため、マイクロウェルの液中にノズル先端部を浸漬させ、負圧を与えることにより、ヘッドの内部に溶液を吸い上げる機能を有している。また、複数の種類の溶液をスポット可能とするために、自動で液の入れ替えを行い、洗浄液でヘッドの内部をリーンスする機能を有している。

Fig. 7 はイムノクロマト塗布装置 ImmunoJet® である。ペーパークロマトグラフィを応用したイムノクロマト法による検査は、インフルエンザや妊娠を簡易的に検査する方法として広く普及しているが、検体と反応する補足抗体をメンブレン上に塗



Fig. 6 LaboJet®-Bio.



Fig. 8 NanoJet®.



Fig. 7 ImmunoJet®.



Fig. 9 TopSpot.

布する手段として、これまで電磁バルブによる塗布が一般的であった。この方法ではメンブレン膜上に、太さ1mm程度で抗体を塗布したものをカットして検査キットに装着し、この補足抗体とインフルエンザの抗原が結合した際の着色を利用して抗原の有無を検査する方法であり、目視によって抗原の有無を判定する。複数の補足抗体を塗布したキットではその着色位置によって抗原の種類を判定する。本装置ではインクジェットのデジタル塗布技術を利用して、塗布量をデジタル的に可変したり、抗体で文字を印刷することを可能にしている。この機能は、例えばインフルエンザのA型、B型、C型の補足抗体を1枚のメンブレンに塗布する場合、ラインではなく型の種類を表す文字をそれぞれ印刷すれば、インフルエンザの型の区別はラインの色や位置による判定ではなく、現れた文字を読み取ればよく、正確に型を判定できる。デジタル塗布により、情報を書き込めるという特徴が活かせる。

Fig. 8は数十種類程度のマテリアルをスポットティングして各種のバイオチップを作製するための装置 NanoJet®である。GlassJet®ヘッドが最大12個まで搭載でき、塗布時の各ノズル間のピッチは10μm単位で可変できるため、任意のピッチでのスポット形成やライン形成が可能である。液の吸い上げ機能

や排出機能、洗浄機能を備えているため、液種を入れ替えながら多数の試料を塗布可能である。また、チップやメンブレンを配置するエリアの面積は、生産量に合わせて任意に設計可能なため、一度に大量のチップを製造することも可能である。

Fig. 9はMemsJetヘッドを搭載したBioFluidix社のTopSpotというDNAやタンパク溶液をスポットティングする装置であり、最大96種類の試料を取り扱える。スポットティングされたドットのマトリックスピッチは標準で500μmであるが、目的に合わせてノズルピッチを設計変更可能である。

Fig. 10のBioPrinter®はバイオ用のヘッドであるGlassJet®とプリント用マルチノズルヘッドの両方が搭載されたパターニング装置である。1台でバイオマテリアル溶液と回路を形成する際に用いられるナノ金属インクなどのプリントエレクトロニクス用材料の両方をパターニングできる。例えばバイオセンサを試作する目的で、マルチノズルヘッドでナノAuインクを用いてAu電極を作製し、その後電極部に酵素溶液をスポットティングするような使い方が可能である。

上記以外にもバイオ用途として様々な機器がヨーロッパを中心として開発されている。日本はプリント分野で成功していることもあり、逆にバイオ分野での展開は遅れていると言える。



Fig. 10 BioPrinter®.

7. おわりに

エレクトロニクス分野で起きている微細化やデジタルファブリケーションの流れは、バイオ分野に於いても同様の流れがあり、これまでマイクロリットルオーダでの液体ハンドリングが中心であったが、今後はナノリットルオーダに移行しつつ、更には用途によってはピコリットルオーダでの液体のデジタルハンドリング技術が求められるであろう。インクジェット技術は、この流れの中で今後益々注目を集め、応用分野も広がっていくと考えられる。

このような中にあって、従来のプリンタを中心として発達してきたインクジェット技術をバイオ分野に適用する際には、これまでの常識にとらわれず、個々の目的にあった最適な技術を柔軟に発想して開発していくことが重要である。プリンタ分野で技術やノウハウを知得した研究者やエンジニアが、今後発展が見込めるバイオ分野へも関心を持ち、この分野へ応用範囲を広げていくことを期待している。

*1 GlassJet, PipeJet, LaboJet, ImmunoJet, NanoJet, BioPrinter は（株）マイクロジェットの登録商標です。

参考文献

- 1) S. Yamaguchi, and T. Yamaji, "Inkjetjidaigakital," kobunsha

- (2012), pp1-214 [in Japanese].
- 2) Y. Kozawa, "Technology and the prospects for mass production of the orientation film application by the ink-jet," *Display*, **14**, pp. 55-58, (2008).
- 3) M. Inada, Y. Kumashiro, H. Nakako, T. Noudou, K. Kuroda, and K. Yamamoto, "Material Technology of Conductive Wiring for Ink-jet Print," *Transactions of The Japan Institute of Electronics Packaging*, **4**, pp. 114-118, (2011).
- 4) H. Minemawari, T. Yamada, H. Matsui, J. Tsutsumi, S. Haas, R. Chiba, R. Kumai, and T. Hasegawa, "Inkjet printing of single-crystal films," *Nature*, **475**, pp. 364-367, (2011).
- 5) S.H. Eom, S. Senthilarasu, P. Uthirakumar, S.C. Yoon, J. Lim, C. Lee, H.S. Lim, J. Lee, and S. Lee, "Polymer solar cells based on inkjet-printed PEDOT : PSS layer," *Organic Electronics*, **10**, pp. 536-542, (2009).
- 6) <http://www.chem-agilent.com/contents.php?id=494>, (accessed 2016-01-07)
- 7) K. Abe, K. Suzuki, and D. Citterio, "Inkjet-Printed Microfluidic Multianalyte Chemical Sensing Paper," *Analytical Chemistry*, **80**, pp. 6928-6934, (2008).
- 8) Y. Nishiyama, M. Nakamura, C. Henmi, K. Yamaguchi, S. Mochizuki, H. Nakagawa, and K. Takiura, "Development of a three-dimensional bioprinter: construction of cell supporting structures using hydrogel and state-of-the-art inkjet technology," *Journal of Biomechanical Engineering*, **131**, pp. 035001-035006, (2009).
- 9) S. Yamaguchi, A. Ueno, Y. Akiyama, and K. Morishima, "Cell patterning through inkjet printing of one cell per droplet," *Biofabrication*, **4**, p. 045005, (2012).



山口 修一

1983年東京工業大学大学院理工学研究科（機械工学専攻）を修了。1983年エプソン株式会社（現セイコーエプソン株式会社）に入社。インクジェットヘッドの開発を担当。その後インクシステム、インク開発にも従事。1993年写真画質プリンタ MJ700V2Cの要素開発を主導。1994年社内ベンチャーにてワイドフォーマットプリンタの市場開拓を推進。1997年独立起業し、マイクロジェット社設立。代表取締役。2013年大阪大学大学院工学研究科博士後期課程（機械工学専攻）を修了。工学博士。2014年（株）3Dプリンター総研設立。代表取締役。1995年日本画像学会技術賞受賞「Mach-Jet 技術の開発」。2015年 nanotech 大賞日刊工業新聞社賞受賞。