

機関番号：13701

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009 ～ 2010

課題番号：21760192

研究課題名（和文） 滑走細菌によって駆動されるマイクロデバイスの素子設計シミュレーション

研究課題名（英文） A computer simulation for designing module structure of microdevices powered by gliding bacteria

研究代表者

新田 高洋（NITTA TAKAHIRO）

岐阜大学・工学部・助教

研究者番号：20402216

研究成果の概要（和文）：滑走細菌 *Mycoplasma mobile* によって駆動されるマイクロマシン及び Lab-on-a-Chip デバイスといったマイクロデバイスの素子設計を支援するシミュレーション技術及び素子構造の自動探索方法の開発を行った。このために、滑走細菌 *M. mobile* の滑走運動を観察し、シミュレーションに必要なパラメータの測定を行った。既存の素子内での *M. mobile* 滑走運動をシミュレーションにより再現すると、実験結果とほぼ同様の結果が得られた。また素子構造の自動探索手法として遺伝的アルゴリズムを用いた。この手法の妥当性を、我々がこれまでにシミュレーション方法を確立している、キネシン・微小管分子シャトルの系で検討した。この結果、これまでに開発された整流素子よりも高い性能の素子構造を探索することに成功した。また、これまでに作製されていない、新規の機能を有する素子構造の探索にも成功した。このことは、本探索手法の有効性を示すものである。

研究成果の概要（英文）：Purposes of this study are to develop a computer simulation which reproduced gliding movements of *Mycoplasma mobile* on micropatterned surfaces, and a searching method for efficient micropatterns. To this end, we observed gliding movements of *M. mobile* and measured parameters which are required to develop the computer simulation. Simulated movements of *M. mobile* were similar to those in experiments. In order to find efficient micropatterns, we employed a genetic algorithm. The feasibility of the method was tested with simulated gliding movements of kinesin/microtubule-based molecular shuttles, which we have established. With using this search method, a rectifier structure whose performance was the highest ever reported was designed. In addition, a module structure which had a novel functionality was successfully design. These results showed the feasibility of the search method.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	500,000	150,000	650,000
2010年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,200,000	360,000	1,560,000

研究分野：応用物理

科研費の分科・細目：機械工学・知能機械学・機械システム

キーワード：マイクロ・ナノデバイス、マイクロマシン、シミュレーション、細菌

1. 研究開始当初の背景

近年、モータータンパク質やバクテリアに

よって駆動されるマイクロマシン及びLab-on-a-Chipデバイスの研究が盛んに行われている^{1,2,3,4}。これらのデバイスはモータータンパク質やバクテリアにより駆動されるため、ポンプや電極といった外部装置がいらぬという利点がある。特に、バクテリアを用いる場合、タンパク質が基板へ吸着する際の失活などの困難を回避できること、またバクテリアの走光性などの制御機構を利用できるという利点がある⁵⁻¹¹。

滑走細菌 *M. mobile* は、マイクロデバイスの駆動に適した性質を有する。すなわち、*M. mobile* は固体表面上を滑走運動するため、微細加工を施した基板を用いることで、その運動をガイドすることができる。近年、この *M. mobile* によって駆動されるマイクロモーターが開発された⁷。

しかし、*M. mobile* の滑走運動を制御する素子性能は低い。例えば、2006年平塚らによって開発された、*M. mobile* によって駆動されるマイクロモーターの場合、動くモーターの割合が少ない⁷。これは *M. mobile* をガイドする素子構造が適切でなかったためであると考えられる。運動のガイド効率を決定する微細加工構造（素子構造）は実験による試行錯誤によって決められているのが現状であり、系統的な設計方法はない。これは *M. mobile* の素子内運動を予測する手段がないことが原因である。この問題を克服するには、シミュレーションを用いた設計が有用であると考えられる。

2. 研究の目的

本研究の目的は、滑走細菌によって駆動されるマイクロマシン及びLab-on-a-Chipデバイスの素子設計を支援するシミュレーション技術の開発である。

これまでに我々はモータータンパク質によって駆動されるLab-on-a-Chipデバイスにおける輸送機構（分子シャトル）に関する素子レベルでのシミュレーション開発を行ってきた。このとき、キネシン・微小管ならびにアクチン・ミオシン分子シャトルの運動特性の同定を行った^{12,13}。測定した運動特性を用いて、キネシン・微小管分子シャトル運動のシミュレーション開発した^{14,15}。また、アクチン・ミオシン分子シャトルについてもシミュレーションを行い、アクチン・ミオシン分子シャトルとキネシン・微小管分子シャトルの性能比較を行った¹³。これらの研究からシミュレーションが、分子シャトルの運動を制御する素子設計に有効であることを示すことが出来た。滑走細菌 *M. mobile* によって駆動されるマイクロマシン及びLab-on-a-Chipデバイスの素子設計においても、シミュレーションが有効であることが期

待される。

3. 研究の方法

3.1 マイコプラズマ・モービル滑走運動の解析

M. mobile は固体表面上を運動速度の揺らぎを伴いながら滑走運動する。蛍光標識した *M. mobile* の運動を動画に取得し、解析を行った。

M. mobile は微細加工により作製した壁に接すると、その壁に沿って運動する傾向がある。この壁がカーブしているところでは、*M. mobile* は、この壁から解離する場合がある。この解離が起る確率はカーブの曲率半径が小さい程大きいことがわかっている⁶。

3.2 マイコプラズマ・モービルの滑走運動シミュレーション

本シミュレーションでは、*M. mobile* の重心の軌跡を再現した。*M. mobile* の運動の再現には、壁と接触していない場合と、接触している場合に分けて行った。概略図を図1に示す。

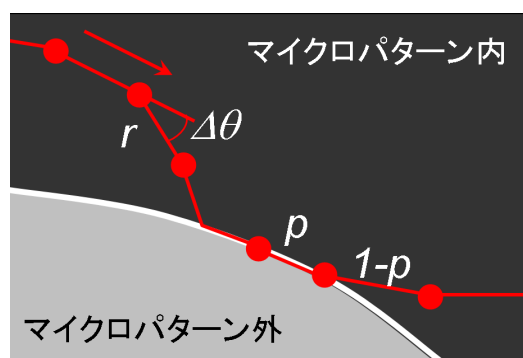


図1 シミュレーション方法の概念図。赤いマークが *M. mobile* の重心位置を示す。*M. mobile* の重心位置が平面基板上をランダムウォークする。一度、マイクロパターンの壁と接触すると、マイクロパターンの曲率に依存した確率 p で壁に沿って進むこととした。

壁と接触していないときの *M. mobile* の運動はランダムウォークするものと仮定した。*M. mobile* の重心座標と運動方向は以下の式に従って時間発展するものとした：

$$\begin{aligned} x(t + \Delta t) &= x(t) + d \cdot \cos(\theta + \Delta\theta), \\ y(t + \Delta t) &= y(t) + d \cdot \sin(\theta + \Delta\theta), \\ \theta(t + \Delta t) &= \theta(t) + \Delta\theta, \end{aligned}$$

ここで、 Δt はシミュレーションの時間間隔、 d は Δt 秒間に *M. mobile* が移動する距離、 $\Delta\theta$

は Δt 秒間の *M. mobile* の運動方向の変化である。 d と $\Delta\theta$ は確率変数であり、それぞれの平均値と分散は以下の式に従って与えられる：

$$\begin{aligned}\bar{d} &= v_{avg} \cdot \Delta t, \\ \overline{(d - \bar{d})^2} &= 2 \cdot D \cdot \Delta t, \\ \overline{\Delta\theta} &= \frac{v_{avg} \cdot \Delta t}{R}, \\ \overline{(\Delta\theta - \overline{\Delta\theta})^2} &= \frac{v_{avg} \cdot \Delta t}{L_p},\end{aligned}$$

ここで、 v_{avg} は平均移動速度、 D は移動性拡散係数、 R は軌跡の平均曲率半径、 L_p は軌跡の相関長である。これらの値は実験から求める。

M. mobile がマイクロパターン壁に接触した場合、実験観察⁶にもとづき、壁面の曲率半径 r に依存した確率 P_{sim} で、その壁面に沿って運動するものとした。この P_{sim} は実験観察から得られる P_{ex} (後述) と、シミュレーションと実験観察の時間分解能の違いを考慮した補正を行うことで以下のように求まる：

$$P_{sim} = \frac{P_{ex} - \alpha}{1 - \alpha},$$

α は一度パターン境界から解離した *M. mobile* が再度パターンに接触する確率である。この値は、シミュレーションを用いて求めた。

3. 3 遺伝的アルゴリズムを用いた素子形状探索

遺伝的アルゴリズムを用いて、高性能の素子形状を自動探索する。このために素子形状境界を 10 から 20 点の代表点を滑らかにつなぐスプライン曲線で表現した。この代表点の位置を遺伝的アルゴリズムによって操作することで、高性能の素子形状を探索する。

遺伝的アルゴリズムにおける染色体は、代表点の x および y 座標を並べたものとした。各個体の性能評価は、シミュレーションにより行う。この評価値をもとに、ルーレット・ルール又はトーナメント法により、次の世代の個体を生成する親となる 2 つの個体を選択する。選択された親は、1 点交叉または 2 点交叉することにより、新たな 2 つの個体を生成する。この操作を 1 世代 50 から 100 個体生成するまで行う。これを 500 世代繰り返す、最後の 500 世代目から最良の評価値の個体を選ぶ。

4. 研究成果

4. 1 マイコプラズマ・モービル滑走運動の解析

シミュレーションに必要なパラメータ、 v_{avg} 、 D 、 $1/R$ 、 L_p の値を得るために、平面基板上での *M. mobile* 運動を解析した。解析には、176 個体の *M. mobile* について解析を行った。

各 *M. mobile* のある時間間隔中の移動距離の平均値は時間間隔に比例して増大した。この比例定数から、この *M. mobile* の時間平均速度を求めた。*M. mobile* の時間平均速度は $3.1 \mu\text{m/s}$ ($\text{sem}=0.03 \mu\text{m/s}$) であることがわかった。一方、移動距離の分散も時間間隔に比例して増大した。この比例定数から、移動性拡散係数は $0.031 \pm 0.006 \mu\text{m}^2/\text{s}$ ($\text{mean} \pm \text{sem}$) と求まった。

また *M. mobile* の運動方向変化 ($\Delta\theta$) についても同様の解析を行った。これから $1/R=0.12 \pm 0.26 \mu\text{m}^{-1}$ ($\text{mean} \pm \text{SD}$) と $L_p=37 \pm 2 \mu\text{m}$ ($\text{mean} \pm \text{sem}$) と求まった。

M. mobile が壁に沿って進む確率 $p(r)$ は、実験観察⁶の解析を行い、得られた結果から以下の式で表されることとした：

$$P_{ex}(r) = \exp\left(-\frac{v_{avg} \cdot \Delta t}{d_0}\right),$$

ここで d_0 は解析によって得られるパラメータであり、曲率半径 r に依存する。シミュレーションにおいて、これ以外の r の値についての d_0 の値が必要な場合は、表内の値を内挿することによって求めた。

表 1 各曲率半径での d_0 の値

r (μm)	d_0 (μm)
0.05	0.027
0.25	0.28
2.5	22.1
10.0	530

4. 2 マイコプラズマ・モービルの滑走運動シミュレーション

M. mobile 滑走運動の解析から得られたパラメータの値を用いて、微小回転モータートラック⁷上での *M. mobile* 滑走運動をシミュレーションした。図 2 (A) にシミュレーションを行ったトラック形状を示す。*M. mobile* は図中左下の直線チャネルからドーナツ型トラックに進入する。

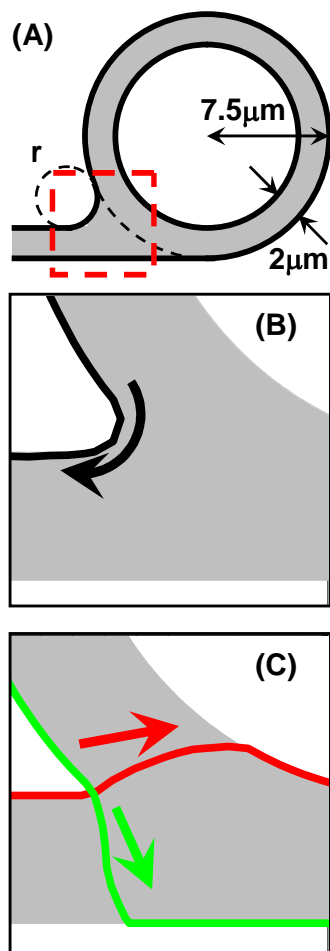


図2 (A) 微小回転モータートラックの形状。灰色の領域が *M. mobile* が運動できる領域を示す。(B) 曲率半径が $0.5\mu\text{m}$ のときの *M. mobile* の軌跡(黒線)。(C) 曲率半径が $0.05\mu\text{m}$ のときの *M. mobile* の軌跡(赤線と緑線)。(B) と (C) の画像は、それぞれ $5\mu\text{m}$ 四方の領域を示す。

直線チャンネルとドーナツ型トラックの接合部の曲率半径 (r) が $0.5\mu\text{m}$ のときは、この接合部で *M. mobile* が壁からほとんど解離せず、直線チャンネルの図中上側の壁に沿って進む *M. mobile* はそのままドーナツ型チャンネル内を時計周りに進んだ(図2 (B))。一方、直線チャンネルの図中下側の壁に沿って進む *M. mobile* はドーナツ型チャンネル内を反時計周りに進み、そのまま直線チャンネル上側の壁に沿ってドーナツ型トラックを出て行った。すなわち接合部の曲率半径 (r) が $0.5\mu\text{m}$ のときは、トラック形状の非対称性による整流効果がほとんど見られなく、ドーナツ型トラック内を 59% の *M. mobile* が反時計周りに運動した。平塚らの実験研究では接合部の曲率半

径は約 $0.5\mu\text{m}$ で、このとき 64% の *M. mobile* が意図した方向に運動した⁷。本シミュレーション結果は、この実験結果とほぼ同程度の値である。

シミュレーションにおいて、接合部の曲率半径を 50nm とすると、直線チャンネルの図中上側の壁に沿って進む *M. mobile* は接合部で壁から解離し、ドーナツ型チャンネルの内壁や外壁に接触し、それに沿って反時計回りに運動した(図2 (C) の赤線で示した軌跡)。またドーナツ型トラックを反時計回りに運動する *M. mobile* は、接合部で壁から解離し、ドーナツ型トラックの外壁に沿って再び反時計回りに運動した(図2 (C) の緑線で示した軌跡)。このときドーナツ型トラック内を反時計周りに運動する *M. mobile* の割合が 82% に上昇することがわかった。

4. 3 遺伝的アルゴリズムを用いた素子形状探索

遺伝的アルゴリズムを用いた素子形状探索方法の開発を行った。この際、我々が既にシミュレーション方法を確立しているキネシン・微小管系を用いた分子シャトルを用いて^{14, 15}、素子形状探索を行い、探索手法の有効性を検討した。

遺伝的アルゴリズムを用いた素子形状探索の有効性を検討するために、これまでに開発されている素子である、整流素子について形状探索を行い、既存の素子との性能比較を行った。評価値は、整流性能は素子の上下から同数の微小管が入ったとき、上の出口から出て行く微小管の割合とした。初期世代としてランダムな形状の素子構造を与えた。ルールト・ルールと2点交叉を用いて、5回の進化を行ったとき、初期世代では、評価値は $22\pm 1\%$ であるが、世代数が増すに従って、評価値が向上し、最終世代である 500 世代では、整流性能が $89\pm 9\%$ の個体が出現した。これは、これまでに作成された整流素子の性能を上回るものであった^{16, 17}。

整流以外の機能をもつ素子についても、高い性能の素子形状を探索することができるかどうかを確認するために、濃縮素子の探索を行った。評価は、指定した領域内に一端入った微小管が、壁との衝突による離脱や出口からの逆行によって、90% にまで減少するのにかかる時間とした。この結果、直径 $20\mu\text{m}$ の円形領域に 90% 以上の微小管を 1000 秒間とどめることができる濃縮素子を設計することに成功した。

既存の素子以外についても、素子形状探索が出来ることを示すために、遅延素子形状の探索を行った。この遅延素子とは、一斉に素子内に入った微小管を任意の時間間隔をあ

けて素子を出る、いくつかの集団に分割する素子である。このような素子は、分子シャトル輸送系のタイミングを調整する際に有用であると考えられる。この素子はこれまでは作製されたことのない、新規の素子である。今回は、一斉に素子内に入った微小管が 50 秒の間隔をあけた 3 つの集団に分割する素子の形状を設計することに成功した。この結果は、本手法が新規の機能を有する素子についても有効であることを示すものである。

参考文献

1. van den Heuvel, M. G. & Dekker, C. *Science* 317, 333-6 (2007).
2. Goel, A. & Vogel, V. *Nature Nanotechnology* 3, 465-475 (2008).
3. Ingham, C. J. & Vlieg, J. *Lab On A Chip* 8, 1604-1616 (2008).
4. Agarwal, A. & Hess, H. *Progress In Polymer Science* 35, 252-277 (2010).
5. Weibel, D. B. et al. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102, 11963-7 (2005).
6. Hiratsuka, Y., Miyata, M. & Uyeda, T. Q. *Biochem Biophys Res Commun* 331, 318-24 (2005).
7. Hiratsuka, Y., Miyata, M., Tada, T. & Uyeda, T. Q. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103, 13618-23 (2006).
8. Behkam, B. & Sitti, M. *Appl. Phys. Lett.* 90, 023902 (2007).
9. Kaehr, B. & Shear, J. B. *Lab On A Chip* 9, 2632-2637 (2009).
10. Sokolov, A., Apodaca, M. M., Grzybowski, B. A. & Aranson, I. S. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America* 107, 969-974 (2010).
11. Di Leonardo, R. et al. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America* 107, 9541-9545 (2010).
12. Nitta, T. & Hess, H. *Nano Lett* 5, 1337-42 (2005).
13. Nitta, T. et al. *Nano Letters* 8, 2305-2309 (2008).
14. Nitta, T., Tanahashi, A., Hirano, M. & Hess, H. *Lab Chip* 6, 881-5 (2006).
15. Nitta, T., Tanahashi, A. & Hirano, M. *Lab On A Chip* 10, 1447-1453 (2010).
16. Hiratsuka, Y., Tada, T., Oiwa, K., Kanayama, T. & Uyeda, T. Q. *Biophys J* 81, 1555-61 (2001).
17. van den Heuvel, M. G., Butcher, C. T., Smeets, R. M., Diez, S. & Dekker, C. *Nano Lett* 5, 1117-22 (2005).

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

- ① 新田高洋、浅野祥吾、平塚祐一、宮田真人、平野元久、“マイクロパターン基板上での *Mycoplasma mobile* 滑走運動のシミュレーション” ロボティクス・メカトロニクス講演会 2010 講演論文集、2010, pp. 2P1-B10 (1)-(4) (査読なし)
- ② Takuya Sunagawa, Akihito Tanahashi, Motohisa Hirano, Matthew E. Downs, Henry Hess, and Takahiro Nitta, “EVOLUTIONARY OPTIMIZATION OF GUIDING TRACK DESIGNS FOR MOLECULAR SHUTTLES POWERED BY KINESIN MOTORS”, *Proceedings of Thirteenth International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences*, 2009, pp207-209 (査読あり)

[学会発表] (計 4 件)

- ① 新田高洋、浅野祥吾、平塚祐一、宮田真人、平野元久、マイクロパターン基板上での *Mycoplasma mobile* 滑走運動のシミュレーション、日本機械学会ロボティクス・メカトロニクス講演会 2010、旭川
- ② Takuya Sunagawa, Akihito Tanahashi, Motohisa Hirano, Matthew Downs, Henry Hess, Takahiro Nitta, EVOLUTIONARY OPTIMIZATION OF GUIDING TRACK DESIGNS FOR MOLECULAR SHUTTLES POWERED BY KINESIN MOTORS, *Thirteenth International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences*, Jeju, Korea
- ③ Takahiro Nitta, Shogo Asano, Yuichi Hiratsuka, Motohisa Hirano, An improved simulation of *Mycoplasma mobile* movements on micropatterned surfaces, 日本生物物理学会第 47 回年会、徳島
- ④ Takuya Sunagawa, Akihito Tanahashi, Motohisa Hirano, Matthew Downs, Henry Hess, Takahiro Nitta, Module structural design for material transport system propelled by kinesin with genetic algorithm, 日本生物物理学会第 47 回年会、徳島

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称 :

発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等
なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

新田 高洋 (NITTA TAKAHIRO)

岐阜大学・工学部・助教

研究者番号：20402216

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし