

平成 26 年 6 月 20 日現在

機関番号：32657

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2013

課題番号：23651141

研究課題名(和文) 微生物のマイクロマシン利用のための作業用具及び装着技術の開発

研究課題名(英文) Development of The Operation Tool and Attachment Technology for The Microorganisms as Bio-micromachines

研究代表者

伊東 明俊 (Ito, Akitoshi)

東京電機大学・工学部・教授

研究者番号：50211743

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円、(間接経費) 900,000円

研究成果の概要(和文)：微生物を行動制御して生きたマイクロマシンとして利用するには、微生物用の作業用具を作成し、それを使う必要がある。本研究は、行動制御が可能なゾウリムシとミジンコに対して、作業用具を開発した。ゾウリムシに対しては、ポリプロピレン薄膜を使ったワッシャ状作業用具を開発し、それを取り付けることで、物体の搬送効率を向上させられることを実験的に示したが、その装着作業はとても困難で、今後解決する必要がある。ミジンコについては、接着した針で風船をパンクさせたり、ミジンコ用の注射器を作成し、それによりゼリーに薬液を注射させることに成功した。

研究成果の概要(英文)：If we want to use microorganisms as bio-micromachines, we have to develop operation tools for the microorganisms. For that purpose, we developed operation tools for Paramecia and Daphnia. Both microorganisms can be controlled by their taxis. In the case of Paramecia, we developed a washer-like operation tool made of polypropylene film. It can improve paramecium's object pushing ability by attaching the tool on paramecium. The tool attachment on paramecium, however, was too difficult and we have to develop the easier method in the future. In the case of Daphnia, we can glue operation tool on the Daphnia's shell, so the attachment is much easier than paramecium. We glued a needle on a daphnia's back, and the daphnia could puncture a balloon. We also made a injector for daphnia and attach it on daphnia. This injection installed daphnia could pour a medical fluid into a jelly. These technologies will open the door to use microorganisms as biomicromachines

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：ナノ・マイクロ化学 マイクロ・ナノデバイス

キーワード：マイクロマシン バイオテクノロジー 走性 微生物 ゾウリムシ ミジンコ 注射

1. 研究開始当初の背景

微生物をマイクロマシンとして工学・医学などへ応用しようという発想は、申請者が研究を開始する前は、U.C.Berkeley の Ron Fearing らによる研究がわずかに見られるだけであった。彼らは、ゾウリムシに微弱電場を印加し、四角形経路に沿ってゾウリムシを泳がせることに成功したが、ゾウリムシを使って物体を操作することに失敗し、研究から撤退している。

申請者は、1994年より、原生生物をその走性を利用して行動制御する研究を始め、負の電気走性を利用して微弱電場で行動制御したゾウリムシによって直径0.5mmの微小羽根車を回転駆動したり、テトラヒメナの集団を同じく電気走性を利用して操ることで、生物対流の下降流を制御し、結果的に10mmスパンのシーソーを連続駆動させたり、光走性を利用してミドリムシの大集団を走査レーザー光により自在な形に形成し、その集団により平面上の機械部品を運搬し、穴へ突起をはめ込む簡単な組み立て作業をさせたりすることに成功してきた。

このように生物がシステムの一部に組み込まれた微小機械システムを作ろうという研究は徐々に増えはじめ、東大・東北大の尾川・橋本・石川らがゾウリムシを電気走性を利用して行動制御する研究を始めたほか、東大の藤田らがマイクロ流路の弁としてツリガネソウを使う研究を行っている。また、より体が小さいバクテリアにおいても、最近日米で多くの研究が始まっている。心筋細胞をロボットアクチュエータとして使う東京農工大の森島らの研究もある。

しかしながら、微生物のためのツールを作って微生物が行える能力を拡張しようという試みは、申請者が行った後述する研究のみである。

2. 研究の目的

申請者は、微生物をマイクロマシンとして利用する目的で、微生物が持つ「走性」を利用して自在に行動制御する技術を開発してきた。しかしながら、自在に行動制御できても、微生物が行える機械的なアクションはせいぜい物を押す程度であり、押す際の効率も極めて悪い。すなわち、微生物をマイクロマシンとして使うには、微生物を行動制御するだけでなく、微生物に目的の作業をさせるための用具を持たせ、人工物と合体させる形で利用する必要がある。

本研究では、微生物に取り付けられる作業用具の大きさ、材質、構造などを検討するとともに、どのように微生物に作業用具を取り付けるか、装着技術の検討を行うことを目的とする。物理的な取り付け、化学的な接着の両方を検討する。

3. 研究の方法

ゾウリムシについては、行動制御したゾウリムシにより物体を搬送させる効率を向上させる作業用具を検討する。特に、細胞膜により構成された、柔らかいゾウリムシの体に作業用具を装着させる法を検討する。

最初に、過去に申請者が試みて一度成功した、ワッシャ状作業用具をゾウリムシに装着して搬送効率を改善する方法について、なぜその実現が困難なのか、問題点を徹底的に究明する。

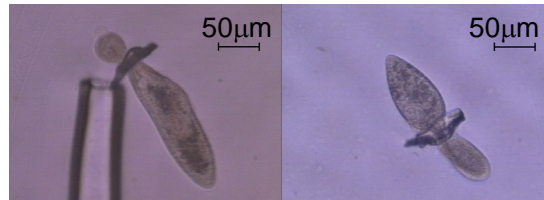


図1 ゾウリムシへの作業用具装着

特にゾウリムシの生理活性を失わせないためのワッシャ状作業用具の条件(穴径、接触部の形状、作業用具の材質、板厚など)を洗い出す。その上で、水中でゾウリムシにかかる力が小さく、かつ細胞に対する装着による負担の少ない新方式の作業用具を、試行錯誤しながら開発する。

次に、これまで試みてきた物理的な装着法ではなく、化学的な装着法について試みる。最近行動制御が可能であることが明らかになったミジンコ類に対して、外殻に接着剤で貼り付ける方式で各種の作業用具を装着し、その効果を検証する。

4. 研究成果

(1) ゾウリムシへの作業用具の装着に関しては、上述の図1に示す作業用具の装着を再現することで、かなり困難な作業であることが明らかになった。ボディサイズと作業用具の穴径の関係が極めてシビアであり、自然状態での細胞の体幅の70%前後でしか継続的に装着することができず、それよりきついと生理活性が急速に低下し、それより緩いと、ゾウリムシは作業用具から容易に抜け出した。この適性値は作業用具の淵の丸みによって変化し、丸みをつけるほど、より狭い穴径でないと固定することはできなかった。

この問題を根本から解決するため、本研究では、板よりもゾウリムシに負担の少ないであろう、ひもを素材として作業用具を製作することを検討した。

ひも状素材は、ポリプロピレンなどの各種樹脂に熱をかけて溶かし、延伸することで適性寸法にまで引き延ばして製作する。これを、ひもを結ぶ方法で、ゾウリムシに巻き付けたのち、適切な寸法に切断して、作業用具として使用しようというものである。図2に、そのための方法論を模式化したものを示す。

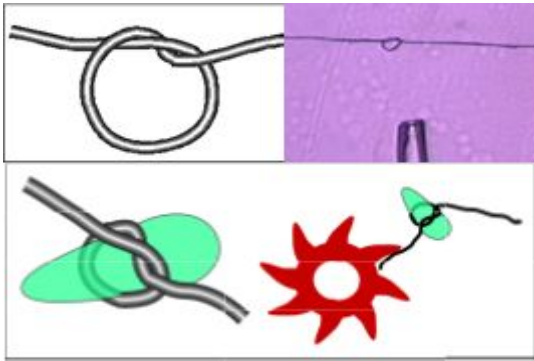


図2 ひも状作業用具の基本概念

ゾウリムシへのひも状作業用具の装着は、細胞用ホールディングピペットを用いて行った。ピペット先端にゾウリムシを固定した状態で、わっかにした繊維を締めつけていき、ゾウリムシに丁度フィットするサイズまで絞る。この状態で両端を切断し、作業用具とするものである。

このやり方で作業用具をゾウリムシに装着すること、装着したゾウリムシが自由に遊泳すること、ひも状作業用具を装着したゾウリムシを電場により行動制御できることを実験的に確認した。

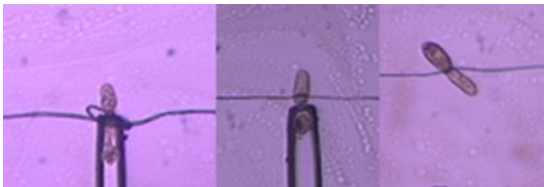


図3 ひも状作業用具の装着作業

しかしながら、やはりこのやり方は、締め付け力の調整が極めて難しいこと、物理的な締め付けによる装着という意味では、これまでのワッシャ状作業用具と変わらないことなど、基本的な問題点を解決することができなかった。

そこで、締め付けなくても固定できる作業用具として、前方に轡状のストッパーを持つ作業用具や、前方の轡の形を改良したものなどを試作したが、前者は簡単にゾウリムシが脱出し、後者は重くなり、かつ製作、装着が極めて難しくなってしまった。

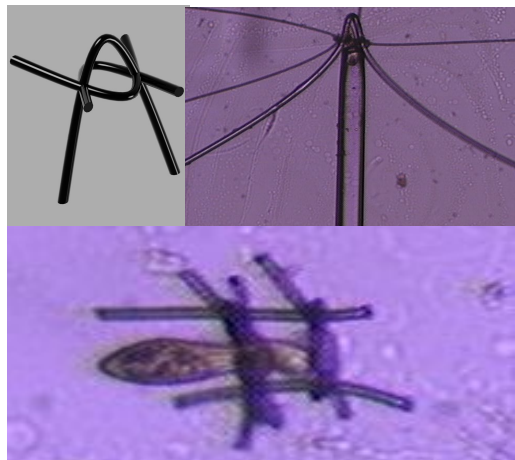


図4 轡型作業用具の開発

以上一連の研究を通して、ゾウリムシに関しては、物理的な作業用具の装着は、可能ではあるがかなり困難な課題であり、化学的な装着方法を検討した方が良いというのが、実験を通しての結論である。より実験がしやすい大型のミジンコを使った研究により、ゾウリムシにどの様に化学装着すべきかが見えてくると考えている。

(2) ミジンコへの作業用具の装着

ミジンコの場合は、青色光により光走性を使って行動制御することができ、その制御性はとても良好である。実験に用いたオオミジンコ(*Daphnia magna*)は、体長が3mm 近くあり、作業用具を製作するのも、ゾウリムシと比較してはるかに簡単である。

さらにミジンコの場合は、小型甲殻類に属し、外骨格を有するため、その殻に簡単に物体を接着できる。実際に、ミジンコの遊泳道具である第二触角の動きの調査を行う際には、オオミジンコの背中に髪の毛などを接着する方法が良く取られる。図5は、触角の反応調査のために、背中に細いテグスを接着して固定した時の様子である。この方法をベースに、図6のように、V溝に水を張ったところにミジンコを入れ、背中の水分を綿棒でふき取った状態で、用具を接着する。

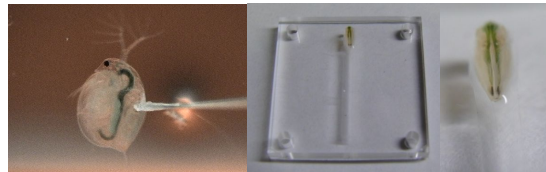


図5 固定例 図6 用具の装着台

ミジンコに実行させる作業として、ミジンコ単体では絶対にできない作業を選ぶことにした。最初の課題は、ミジンコに針を装着して、針で風船を破壊する作業を試みることにした。

当初は、ミジンコの背中に直接金属針を接着して実験を試みたが、この状態では、ミジンコは水中でバランスを崩し、うまく遊泳することができなかった。

そこで、矩形上のプラスチックを背中に接着し、これを、ミジンコの位置を水面直下で固定し、姿勢を安定させる、浮き羽根として利用し、その上部に針を接着することにした。

この状態で、最初は、直線の金属針を装着して風船の破壊を目指したが、風船近傍で水が表面張力により盛り上がっていることで、ミジンコが風船に近づけなくなり、破壊を行わせることはできなかった。

そこで、金属針を屈曲させて針の先端を水中に沈めるセッティングとし、この状態で実験をしたところ、青色光により行動制御した針装着ミジンコが、スポンジやゼリーに針を突き刺すこと、針を突き刺して風船を破壊することに成功した。

これは、道具により、微生物単体ではでき

ない機械作業を実現した例であり、今後の微生物のマイクロマシン利用を考える上で、大きな成果であると考えている。図7に、針のセッティングの様子を示す模式図と、実験時の様子を示す。

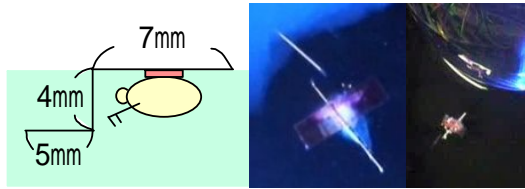


図7 ミジンコへの針の装着と風船の破壊

次の目標として、将来的な医学用途への応用を考え、ミジンコ用の注射器を開発し、これをミジンコに装着して注射作業をさせることを試みることにした。

しかしながら、実際に研究を始めると、これは現実的にはかなり困難な課題であった。

浮き羽根を付けた状態では、かなり大きな注射器を搭載しても、ミジンコは安定して遊泳することが可能である。

当初は、衝突時の衝撃で注射器内部の薬液と吐出させる計画で、開発を進めたが、ミジンコが突入する際の極めて弱い衝撃力で、薬液を突出できるようなメカニズムを作成することは困難であった。シリンジ部が細くなるほど、摩擦の影響が大きくなることも、作動させられなかった原因の一つであろうと考えている。

そこで、内部に発泡剤を装填し、シリンジから常時薬液が吐出する状態で、ゼリーなどへの薬液注入を試みることにした。しかしながら、この状態でも、大きな注射装置をミジンコの下部につけた状態では遊泳速度が遅すぎ、ゼリーに接触しても、注射器先端をゼリーに挿入することはできなかった。

そこで、発想を変えて、ミジンコの上部、空气中に注射器をセットする形にして、ゼリーに突入させたところ、薬液をゼリー内に注入することに成功した。注射器のセッティングの状況と、注入時の様子を図8に示す。

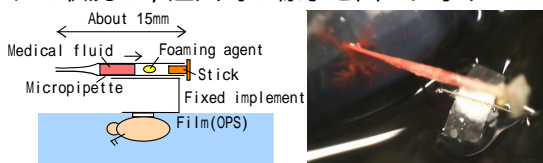


図8 ミジンコによる注射作業の実現

注射器周りの粘性抵抗がなくなり、衝撃力が強くなったことが注入成功の原因であろう。また、浮き羽根がもたらす表面張力による安定効果により、ミジンコ上部に大きな注射器を取り付けた状態でも、安定してミジンコが遊泳できることが、驚きであった。

しかしながら、以上の注射器は、実用性を考えると、全く論外といえる代物である。水中を自在に遊泳できる状態で使える、薬液吐出メカニズムを備えた注射器の開発を、今後試みていきたい。しかしながら、これは相当困難な課題であることを、覚悟している。

以上の針や注射器の実験は、浮き羽根をミジンコに装着しているため、ミジンコの位置は水面直下に固定されていた。実用的な応用を考えると、水中で自在に遊泳できる形での作業用具を実現したい。これを考える上で、水中で、ミジンコに風船膜の破壊作業をさせることを課題に選び、そのための作業用具の開発を試みた。

具体的には、水より軽いポリプロピレン製の細いロッドの先端を斜めに切断して針状とし、これをミジンコの背中に張り付けて作業用具としようというものである。

ミジンコの特長として、外骨格により比重が重く、上方への遊泳はあまり得意ではない。作業用具の装着により相対的な比重を軽くすることで、上下移動の遊泳特性も改善しようという意図も持たせている。

実験の結果、ポリプロピレンロッドの長さが長すぎると、浮き羽根のように水面で水をはじき、ミジンコを水面直下で固定する状態となった。ロッドの長さを短い方向に調節することで、ロッドの取り付け状態で水中を自在に遊泳できるようになった。この状態のミジンコを、図9に示す。

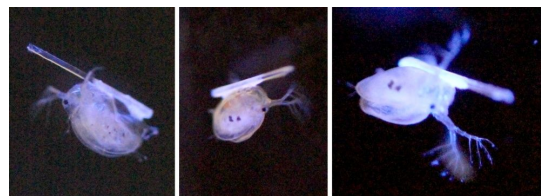


図9 水中作業用PP針の装着

また、ロッドを取り付けた状態での遊泳速度は、水中を自在遊泳できる状態で、ほぼロッドを取り付ける前の状態の遊泳速度と同じか、むしろ、ややロッドを取り付けた方が速いぐらいとなった。

さらに驚いたことに、水面直下に固定された状態では、遊泳速度が素のミジンコの2～2.5倍になった。

これらの原因は、ロッドの取り付けにより、ミジンコの姿勢が補正され、第二触角を掻いたときに前進方向への分力成分が多くなること、水面直下に固定された場合はポリプロピレンの撥水性により推進抵抗が大幅に減ることなどが原因として考えている。

しかしながら、このポリプロピレンロッドを使って水中で風船膜を破壊することはできなかった。衝撃力が足りないこと、針としては先端の鋭さにも問題があるのではないかと現時点では考えている。

今後も、水中で自在に遊泳しながら、微生物単体ではできない機械的作業を行わせるための水中作業用具の開発を続けていきたい。

以上、本研究により、微生物に、本来の能力ではできない機械的な作業を、装着した道具によりさせることに成功した結果は、バイオマイクロマシンとして微生物を使う上での大きな前進をもたらせたと考えている。

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3件)

Akitoshi Ito, Tomohiro Hirai and Masahiro Kawamata, The Fifth International Symposium of Aero Aqua Bio-mechanisms ISABMEC 2012, S25, 査読有

Akitoshi Ito, Masahiro Kawamata and Tomohiro Hirai, International Mechanical Engineering Congress and Explosion IMECE2012-87338, 査読有

Akitoshi Ito, 19th Congress of The European Society of Biomechanics, ESB2013, S-60.5, 査読有

[学会発表](計7件)

川又将弘, 伊東明俊, "オオミジンコの行動制御とその機械的利用(光走性による行動制御時の目標切り替えタイミングの検討)", 日本機械学会ロボティクス・メカトロニクス講演会 RoboMec2011 講演論文集 2P1-L11, 2011年5月28日, 岡山

平井智大, 川又将弘, 伊東明俊, "オオミジンコの行動制御とその機械的利用(オオミジンコによる注射作業の実現)", 日本機械学会ロボティクス・メカトロニクス講演会 RoboMec2012 講演論文集 1A2-R11, 2012年5月28日, 浜松

櫻村浩幸, 川又将弘, 平井智大, 伊東明俊, "オオミジンコを利用した自動物体搬送システムの構築", 日本機械学会 2012年度年次大会講演会 講演論文集 J024024, 2012年9月10日, 金沢

平井智大, 伊東明俊, "オオミジンコの行動制御とその機械的利用(オオミジンコの垂直面方向の行動制御)", 日本機械学会ロボティクス・メカトロニクス講演会 RoboMec2013 講演論文集 1A1-A13, 2013年5月23日, 筑波

吉澤久雄, 櫻村浩幸, 伊東明俊, "電場による原生生物の行動制御に関する研究(電極回転式プールによるゾウリムシの行動制御特性の改善)", 日本機械学会ロボティクス・メカトロニクス講演会 RoboMec2013 講演論文集 1A1-A14, 2013年5月23日, 筑波

吉澤久雄, 伊東明俊, "電場による原生生物の行動制御に関する研究(垂直面方向に対するゾウリムシの行動制御特性について)", 日本機械学会ロボティクス・メカトロニクス講演会 RoboMec2014 講演論文集 3A1-A04, 2014年5月28日, 富山

白井貴也, 平井智大, 伊東明俊, "カイミジンコの行動制御とその機械的利用(カイミジンコの行動制御特性に関する基礎

調査)", 日本機械学会ロボティクス・メカトロニクス講演会 RoboMec2014 講演論文集 3A1-A06, 2014年5月28日, 富山

[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
<http://www.mec.m.dendai.ac.jp>

6. 研究組織

(1) 研究代表者
伊東 明俊 (ITO, Akitoshi)
東京電機大学・工学部機械工学科・教授
研究者番号: 50211743

(2) 研究分担者
なし

(3) 連携研究者
なし