

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 18 日現在

機関番号：82626

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24560318

研究課題名(和文)光トラップ場の時空間構造の動的制御による3次元マイクロ操作の研究

研究課題名(英文) Studies on 3D micro manipulation based on the spatial-temporal control of laser trap potential

研究代表者

田中 芳夫 (TANAKA, Yoshio)

独立行政法人産業技術総合研究所・健康工学研究部門・主任研究員

研究者番号：30357454

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、光トラップ場の時空間構造を精密に実時間制御できるハイブリッド光ピンセット光学系を試作・最適化し、画像処理などの高度自動化技術と統合・融合化することで、多様な物質を3次元マイクロ操作するための基盤技術を開発した。2軸ミラーと電気式焦点可変レンズを用いた時分割同期走査による3次元多点光ピンセットの最適設計法の提案、画像認識技術との統合による3次元微粒子アレイの自動生成と幾何学変換、光多点クランプ法による珪藻のような非球状物の3次元回転などを行い、これら方法の有効性を実証した。

研究成果の概要(英文)：In this research, in order to manipulate various micro-objects based on the multi-beam optical tweezers techniques combining with intelligent control techniques such as computer vision, we have developed a hybrid optical tweezers system which can precisely control the spatial-temporal structure of laser trap potentials in real time. The demonstrated main results are the optimal design of the three-dimensional (3D) multi-beam optical tweezers based on the time-shared synchronized scanning method with a 2-axis mirror and an electrically focus-tunable lens, the full-automated assembly and subsequent geometrical transformation of 3D dynamical micro-bead arrays using image processing techniques, the controlled 3D rotation of non-spherical micro-objects like as diatoms using optical multiple-force clamps, and so forth.

研究分野：光メカトロニクス

キーワード：光ピンセット マイクロ・ナノデバイス 知能機械 画像処理

1. 研究開始当初の背景

光学顕微鏡下の非接触型マイクロ操作技術の代表であるレーザトラップ(光ピンセット)は、1970年に米国ベル研のAshkinにより初めて報告されて以来、走査法、ホログラム法、GPC法、時分割法など、1本のレーザ光で複数の対象物を操作できる様々な方法が提案され、1分子DNA操作など、ライフサイエンスを中心に適用分野が広がっている。マイクロマシン、 μ -TAS (Micro Total Analysis Systems)構成要素の制御、顕微熟練作業の自動化など、より広範囲な分野での利用を考えた時、光ピンセット操作においても、3次元作業空間での位置と姿勢の6自由度操作が本質的であり、また、大多数の対象物の並列操作も重要な課題であった。

光ピンセット操作は、光学顕微鏡下の状況を対物レンズを経由して各種カメラで観察するのと並行して、対物レンズを介してレーザ光を照射し操作を行うという特徴から、画像処理技術との相性が良く、視覚認識技術との統合による各種マイクロ作業の自動化の概念が約10年前に提案されている。しかし、認識結果に基づいたアクティブな捕捉により微粒子操作を行うという、知能機械学的アプローチによる研究は、捕捉・操作の容易な球状微粒子に関しても、研究代表者の結果などの数例に留まっていた。また、非球状微小物を捕捉から配置まで複数同時に完全自動操作した例は、MEMS技術で作ったマイクロパズルピースをGPC法で2次元に組み立てた例と、自然物である珪藻とウイスカを研究代表者らが時分割走査法による「光多点クランプ法」で2次元空間において3個同時操作した例など、極めて少数の報告があるのみであった。

2. 研究の目的

本研究では、光トラップ場の3次元構造を精密に実時間制御できる光ピンセット光学系を試作し、高度自動化技術と統合・融合化することで、光学顕微鏡下の様々な形状(球状、棒状、楕円状等)と光学的性質(屈折率、色彩等)を有する物質を3次元マイクロ操作できる基盤技術を開発する。これにより、接触型マイクロ操作技術を補完し、かつ凌駕する技術として、光ピンセットを拡張した概念である光トラップ場の制御による非接触マイクロ操作技術の確立をめざすと共に、 μ -TAS構成要素の制御、顕微熟練作業の自動化など、ライフサイエンス分野への適用可能性を検討する。

3. 研究の方法

本研究では、光ピンセットを拡張した概念である光トラップ場の時空間構造の動的制御による非接触3次元マイクロ操作技術を確立するために、以下の研究項目について検討する。

(1)ハイブリッド光ピンセット系の開発

空間光変調器(SLM)によって面単位の大域的光トラップ場を生成、制御できる一般化位相コントラスト(GPC)光学系と、2軸ミラーと電気式焦点可変レンズによる時分割走査により3次元空間内で線分単位の局所的な光トラップ場を高精度、高速に制御できる3D走査光学系の、2方式の光トラップ場制御系が既存する1台のYAGレーザ光源で併用できるハイブリッド光ピンセット光学系を設計、試作、最適化する。

(2)微粒子操作に適した時空間構造の探索と制御

項目(1)で開発したハイブリッド光ピンセット光学系を用いて、GPC光学系による勾配型、3D走査光学系による3次元線分型、両者を併用することにより初めて生成できる複合型など、これまで全く検討のなされていない大域的時空間構造の光トラップ場を形成するレーザ光を球状微粒子に対して照射し、複数微粒子を3次元空間で同時操作できるマイクロ操作法について検討する。

(3)非球状物操作に適した時空間構造の探索と制御

項目(1)で開発したハイブリッド光ピンセット光学系を用いて、非球状物に対して安定した捕捉・回転力を生成できる光トラップ場の3次元構造を検討し、その局所的構造を姿勢に応じて制御することで、非球状物の3次元姿勢を安定かつ高精度に制御できるマイクロ操作法について検討する。

4. 研究成果

(1)ハイブリッド光ピンセット系の開発

SLMによるGPC法と、2軸ミラーと電気式焦点可変レンズによる3D走査法の、2方式の光トラップ場制御法が1台のレーザ光源で併用できるハイブリッド光ピンセット光学系を設計し、YAG反射防止コーティングレンズを用いることなどで光学系を最適化した。特に、図1に示した電気式焦点可変レンズによる3D走査光学系は、時分割同期走査により4~8個程度の微粒子を簡単に3次元操作できる光学系として、ヨーロッパ光学会 J. of Optics 誌により Highlights of 2013 に選定され、国際的に高く評価された。

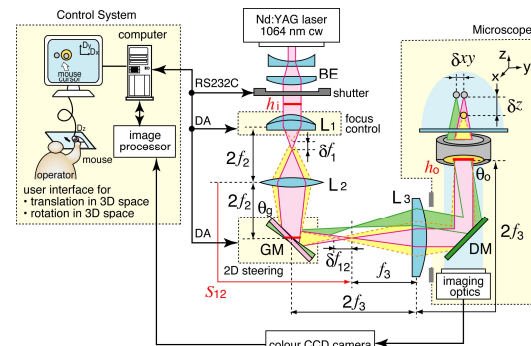


図1 3次元時分割走査光学系

(2) 微粒子操作に適した時空間構造の探索と制御

ハイブリッド光ピンセット系の2軸ガルバノミラーによるXY走査と電気式焦点可変レンズによるZ軸走査を同期して時分割走査(3D-T3S)することで、3次元マイクロ作業空間内に孤立点型光トラップ場を3次元座標を指定して、生成・制御することが可能となった。この3D-T3S法を用いて、6個のマイクロビーズを各々独立して3次元空間内で時間tの関数によって明示された軌道上を自由自在に位置制御できること(図2参照)、六面体の頂点位置に立体状に配置されたビーズをXYZ直交座標系の3軸周りに回転角度制御できること(図3参照)、比較的大きな(直径約8μm)球形微粒子1個に対し2点の孤立点型光トラップ場を形成することで微粒子中心に設定したXYZの3軸周りに自転させることができること、などを示し、本手法の有用性を実証した。これら成果を掲載した論文(ヨーロッパ光学会 J. of Optics)は先に述べたように Highlights of 2013 に選定され、光学系と共に3D-T3S法の有用性が国際的に高く評価された。

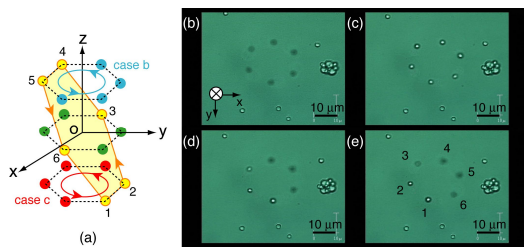


図2 時間tの関数によって明示された3次元軌道上を移動する6個の微粒子

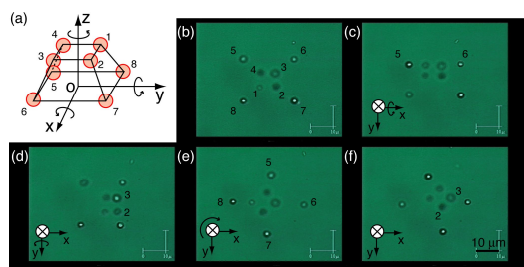


図3 六面体の頂点に配置された微粒子の3次元直交座標系の3軸(XYZ)回りの回転

また、画像処理(円ハフ変換法)による微粒子認識技術と孤立点型トラップ場の3次元時空間構造制御(3D-T3S法)の統合により、光学顕微鏡下のカバーガラス上に滴下した溶液中にランダムに分散された28個のマイクロビーズ位置をすべて検出し、各々の検出位置にGPC光学系により2次元高輝度円状パターンを投影することで、画面内のビーズをすべて同時に捕捉・制御・配列し、その後GPC光学系で動的に固定(配列)されている

ビーズの位置に、3D-T3S光学系で孤立点型のトラップ点を複数生成し、それらの3次元座標を制御することで、2次元(XY平面内)に配列された任意のビーズを取り出せること(図4参照)や、カバーガラス上に滴下した溶液中にランダムに分散された8個の微小ガラス球から、図3に示したのと同様の六面体の各頂点位置に微粒子が配置された3次元構造の動的微粒子アレイが全自動で作成でき、またこの3次元アレイは、3次元空間内において回転、並進、拡大・収縮などの幾何学変換を行えることも示した。これら結果は、次世代センシングツールと期待される動的微粒子アレイの有用性や可能性をより高めるものとする。

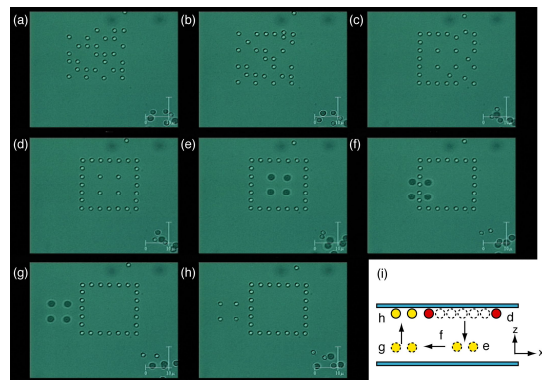


図4 画像処理技術とハイブリッド光学系の統合による動的微粒子アレイの全自動制御

(3) 非球状物操作に適した時空間構造の探索と制御

研究代表者らが2008年にOptical Express誌で提案した光多点クランプ法による非球状物のマイクロ操作法に対し、先に述べた電気式焦点可変レンズによる3D-T3S法を適用することで、レーザー光源1台の光学系でも従来の2次元から3次元へと本手法を拡張できることを明らかにした。そして、珪藻とその破片を2~4点で捕捉し、これらクランプ点間の相対距離を維持したまま3次元位置制御することで、捕捉した珪藻を3次元直交座標系のXYZ軸回りに独立して回転できること(図5参照)などを示し、拡張した本方法の有効性を実証した。この結果は、単一細胞の3次元精密操作が不可欠なライフサイエンスにおける汎用ツールとしての光トラップ技術の有用性をより高めるものとする。

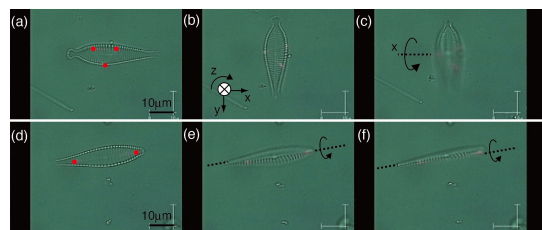


図5 3次元光多点クランプ法による珪藻の3次元回転の様子

以上、光ピンセットを拡張した概念である光トラップ場の時空間構造を精密に制御するために、GPC 光学系と3D走査光学系の併用できるハイブリッド光ピンセット装置を開発し、本装置を用いて多様な形態の光トラップ場を生成することで、球状微粒子と非球状物操作に適した時空間構造の探索と制御法の検討を行った。本研究の成果は、知能機械学やマイクロ・ナノ工学に関連する国内外の主要学会で発表すると共に国際学術誌への投稿を行った。その結果、光学分野の上位10%のインパクトファクター値を有するBiomedical Optics Express 誌への掲載やJ. of Optics 誌の Highlights of 2013 に選定されるなど、有用性や新規性が国際的に高く評価された。今後は、本研究で残された課題を精査し、より多様かつ高精度な光トラップ場を生成・制御できる光学系を開発することや、本研究では十分な検討のできなかった複合型トラップ場や紐状物の操作法などを検討することが、光トラップ場の制御による非接触マイクロ操作技術の確立を行う上で重要であるという認識の下、平成27年度から開始した新規科研究費基盤研究(C)の中で更なる研究展開を行う予定である。

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4件)

Y. Tanaka and S. Wakida, Controlled 3D rotation of biological cells using optical multiple-force clamps, Biomedical Optics Express, Vol.5(7), 2341/2348 (2014), 査読有,
DOI:10.1364/BOE.5.002341

Y. Tanaka, S. Tsutsui, and H. Kitajima, Design of hybrid optical tweezers system for controlled three-dimensional micro-manipulation, Optical Engineering, Vol.52(4), 043002 (2013), 査読有,
DOI:10.1117/1.OE.52.4.043002

Y. Tanaka, 3D multiple optical tweezers based on time-shared scanning with a fast focus tunable lens, Journal of Optics, Vol.15(2), 025708 (2013), 査読有,

DOI:10.1088/2040-8978/15/2/025708
Y. Tanaka, S. Tsutsui, and H. Kitajima, Design of hybrid optical tweezers system for automated 3D micro manipulation, Proc. of SPIE (Optical Systems Design 2012), Vol.8550, 85501X (2012), 査読有,
DOI:10.1117/12.980463

[学会発表](計6件)

Y. Tanaka and S. Wakida, 3D optical

micro-manipulation platform for biomedical application, 40th International Conference on Micro and Nano Engineering, 2014年9月25日, Lausanne (Switzerland)

田中芳夫, 脇田慎一, 3次元光ピンセットによる動的微粒子配列の自動生成と制御, ロボティクス・メカトロニクス講演会 2014, 2014年5月28日, 富山市総合体育館(富山県・富山市)

Y. Tanaka, S. Tsutsui, H. Kitajima, and S. Wakida, Dynamical arrangement of fluorescent micro-beads with a hybrid optical tweezers system, 39th International Conference on Micro and Nano Engineering, 2013年9月18日, London (United Kingdom)

Y. Tanaka, S. Tsutsui, and H. Kitajima, Design of hybrid optical tweezers system for automated 3D micro manipulation, SPIE Optical Systems Design 2012(Optical Design and Engineering V), 2012年11月27日, Barcelona (Spain)

田中芳夫, 筒井翔悟, 石川満, 北島博之, 3次元ハイブリッドマルチビーム光ピンセットシステムの試作, 日本機械学会 2012年度年次大会, 2012年9月12日, 金沢大学(石川県・金沢市)

田中芳夫, 筒井翔悟, 石川満, 北島博之, GPC-機械走査ハイブリッドマルチビーム光ピンセットシステムの試作, ロボティクス・メカトロニクス講演会 2012, 2012年5月28日, アクトシティ浜松(静岡県・浜松市)

[産業財産権]

出願状況(計1件)

名称: 微小物の3次元操作装置

発明者: 田中芳夫

権利者: 産業技術総合研究所

種類: 特許

番号: 特許願 2012-107277号

出願年月日: 平成24年5月9日

国内外の別: 国内

[その他]

ホームページ等

https://unit.aist.go.jp/hri/group/2015_nb-4/index.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田中 芳夫 (TANAKA, Yoshio)

産業技術総合研究所・健康工学研究部門・主任研究員

研究者番号: 30357454