

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 28 日現在

機関番号：17104

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24760204

研究課題名(和文) 単一珪藻のダイナミックインピーダンスセンシング

研究課題名(英文) Dynamic Sensing of Pleurosira laevis using Microrobot

研究代表者

川原 知洋 (Kawahara, Tomohiro)

九州工業大学・若手研究者フロンティア研究アカデミー・准教授

研究者番号：20575162

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円、(間接経費) 1,050,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、マイクロ流体チップ内において、単一珪藻に対して力計測機構を有するマイクロロボットによって力学的な刺激を加え、その時の珪藻の刺激応答特性を定量評価することを試みた。まず、珪藻にダイナミックな刺激を与えるために、ロボット自体に微細加工を施すことで流体抵抗を大幅に低減させ、100 Hzの駆動周波数を実現した。また、ロボットの微細構造が破損しないようにチップ内に封入する方法を新たに提案し、実際にチップを作製することでその有用性を示した。最終的には、開発したマイクロロボットを用いて単一の珪藻を刺激することに成功し、刺激量(印加力)と珪藻内の葉緑体の移動との関係性を明らかにすることに成功した。

研究成果の概要(英文)：In this research, we have developed an on-chip microrobot equipped with a force sensing structure for measurement of stimulant property of aquatic microorganisms. The untethered microrobot was composed of an Si-Ni hybrid structure constructed by micro electro mechanical systems (MEMS) technologies. The riblet surface, which is regularly arrayed V groove reduces the fluid friction was introduced to improve the driving speed of the microrobot. In addition, in order to avoid a breakage issue of the force sensor, layer fabrication method was proposed and it contributed to prevent damages on 5 um sensor part as well. Finally, the developed microrobots with a force sensor were actuated in a microfluidic chip by permanent magnets so that it can stimulate microorganisms with desired force amount under the stable environment of closed microchip. The unique property of Pleurosira laevis (P. laevis) were also evaluated by using the developed on-chip microrobots.

研究分野：工学

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：マイクロマシン 微生物 計測工学 生物・生体工学

### 1. 研究開始当初の背景

本研究で取り扱う珪藻(*P. laevis*)は、単細胞性藻類の1つであり直径 50  $\mu\text{m}$ 、長さ 100  $\mu\text{m}$  程の円筒形の構造を有している。珪藻は外部から光・電気・力学刺激を受けると、細胞内の葉緑体が核の周りに凝集し、さらに刺激を受けていない離れた個体にも凝集反応が連鎖的に伝播するというユニークな特性があることが知られている。これは、河川中において刺激を受けることのできない個体にも効率的に刺激を伝達することで、コロニー全体の成長を促すためであると考えられているが、未だその特性について明らかにされていない。特に、力学刺激による凝集については発生メカニズム自体が分かっていない(レセプターの有無や刺激伝達経路など)。従来、この現象解明のためにヒトが顕微鏡下でプローブを操作し、単一個体に力学刺激を与える研究が行われているものの、印加力と凝集反応の関係を定量的に評価することが難しかった。

### 2. 研究の目的

そこで本研究では、マイクロ流体チップ中に配置したマイクロロボットを用いて、単一珪藻に対して高速に力学的な刺激を加え、その時の珪藻のダイナミックな挙動を計測することで珪藻の機能解明及び機械インピーダンス特性を測定することを目的としている。具体的には、マイクロ流体チップ内において磁気で非接触に駆動可能なマイクロロボットを用いて単一珪藻に力を加えることで、その時の刺激に対する挙動の因果関係を定量的に評価することを目指す。さらに、高速カメラを用いて計測した印加力と変位の情報から機械インピーダンス(剛性・粘性・等価質量)特性を測定することで新たな評価指針を確立する。

### 3. 研究の方法

(1) 力印加系の高速化: 従来のマイクロロボットは位置決め分解能 1  $\mu\text{m}$ 、駆動速度は最大でも 10 mm/s 程度であった。そこで、さらに詳細に珪藻の評価を行い、かつダイナミックな計測を行うためにさらなる性能向上を目指す。具体的には、先端に力計測機構を有するマイクロツールを作製し、高速かつ高精度に駆動する方法の検討を行う。また、力センシングの精度向上のために、フレーム構造のナノ加工を行う。また、フィードバック制御によりマイクロツールの高精度位置決めを行う。最終的には、位置決め分解能 100 nm、駆動速度 100 mm/s (周波数 100 Hz)を目指す。

(2) 変位取得系の高速化: これまで変位計測は顕微鏡に取り付けた CCD カメラ (30 fps) で行っていたが、計測時にマイクロツールや珪藻の動きを捉えきれないという問題が生じていた。そこで、1,000 FPS オーダーで実時間画像処理が可能な高速ビジョンを導入し、高精度にマイクロツール位置決め制御・フレ

ーム変形計測(力計測)・対象物の応答計測を行うことを目指す。

(3) 珪藻(水生微生物・藻類)の評価: 計測した印加力と珪藻の葉緑体の凝集反応時間の関係性を評価する。その際、凝集はカメラで撮影した画像を解析することで評価を行う。刺激を行った珪藻の応答を長時間撮影し、凝集程度を評価する方法についても検討を行う。また、計測した印加力と珪藻の変形情報から機械インピーダンス特性(剛性・粘性・等価質量)を推定する。最終的にはリアルタイムでインピーダンスパラメータを推定することを目指す。

### 4. 研究成果

・マイクロロボットの高速化: Si と Ni のハイブリッド材料で作製したマイクロロボットの底面に、幅が 8  $\mu\text{m}$  の微小溝構造を加工することで、楔効果による流体摩擦の大幅な低減を試みた。この際、溝の設計パラメータを決定するために、数理モデルを構築して最適化を行うことで摩擦の低減に成功し、結果的にマイクロツール的大幅な高速化を実現し当初の目標値を達成した(最大駆動速度: 250mm/s, 最大駆動周波数: 100Hz)。また、位置決め精度についても、カメラを用いて視覚フィードバック制御を行うことでサブミクロンの精度で位置決めが可能であることを確認した。一方で、高速駆動性能を活用して、マイクロロボットを流体チップ(閉空間)の中で高速に駆動させると、渦や引き込み流れ等の流体場を形成できることを新しく発見した。さらに、この流体場を用いて細胞を回転させることができることを確認した。

・力計測センサのアセンブリ方法の検討: マイクロツール先端に作製する幅 5  $\mu\text{m}$  の力計測機構(力センサ)について、ピンセット等を用いてマイクロ流体チップに組み込むと微細部分が頻繁に壊れるという問題が生じていた。そこで、マイクロロボットをチップ内へ組み込む際、より効果的なアセンブリ方法について検討を行った。まず、ロボットを図1(左図)に示すようにレイヤーとして作製し、その後ノッチ機構によりロボット自身の力でロボットをレイヤーから切り離す方法を新たに提案した。この結果、図1(右写真)のようにマイクロ流体チップを完全にアセンブリして密封した後に、図2のようにロボットを磁石の力で切り離すことができるようになった。これにより、微小なセンサを破損させることなくロボットをチップの内部に実装できることを確認できた。さらに、レイヤーに複数個のロボットを用意しておくことで、ロボットが破損した場合は他のロボットを切り離して使用することができる。このように、切り離れたロボットがマイクロチップ内を自由自在に移動できるようになったため、ロボット自体の作業性も大幅に向上した。

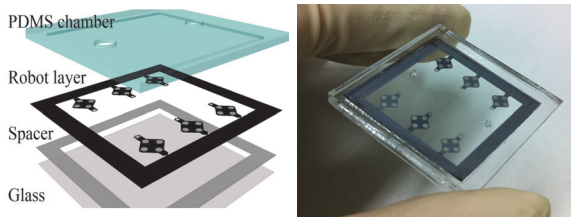


図1：チップ構造と実際に作製したもの

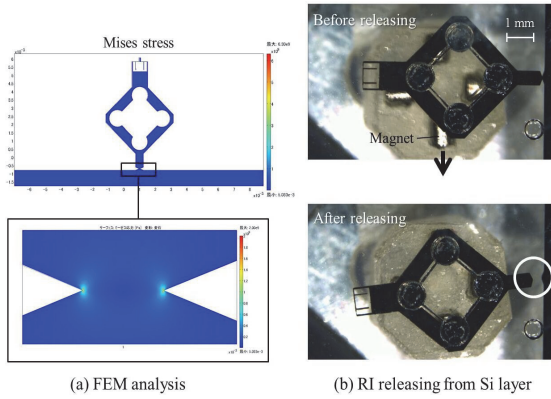


図2：切り離し機構の設計と実験の様子

・計測制御システムの構築：オンライン高速ビジョンを導入し、マイクロロボットの駆動システムと組み合わせることでシステム全体として 1,000 Hz で動作可能なプラットフォームを構築した。これにより、従来は 30Hz の上限があったシステム全体の駆動周波数を大幅に向上させることができた。

・力計測センサの高速押し付け：開発したプラットフォームを用いて、ロボットの位置を制御しながら高速に押し付ける実験を行い、5Hz で押し付けを行った場合にも力センサが壊れることなく動作することを確認した。また、そのときの力情報を計測できることを確認し、センサが十分な耐久性を有していることを確認した。一方で、珪藻に应用する際にはロボットが高速に押し付ける際に細胞の位置が移動してしまい、うまく押し付けることができない問題が発生した。今後、より高速な計測を達成するためには細胞位置のずれに応じてロボットの位置をリアルタイムに補正する技術の確立が必要となる。

・珪藻の定量評価：構築したプラットフォームを用いて珪藻の計測を行い、印加した力とそのときの珪藻の刺激応答の関連性を詳細に調査した。図3に珪藻の構造を示す。実験では、図4(a)のように単一珪藻をロボットで刺激し、その時の力計測機構の変形をカメラによって取得することで印加力の時系列データを図4(b)のように数式モデルより推定した。同時に、珪藻の刺激後の葉緑体の動作をカメラで録画した。その後、図5のように珪藻内部の葉緑体の移動を画像処理によって解析し、葉緑体の凝集の有無を調べた。結果として、図6のような結果が得られ、印加力の積分値と凝集の有無には相関が見られ

ないが、印加力の最大値との間には高い相関があることをはじめて明らかにした。結果的に、マイクロロボットを用いて珪藻の葉緑体移動が発生するために必要な印加力のオーダーをはじめて明らかにすることに成功するとともに、当該分野で著名なジャーナルにも成果が掲載された。一方で、珪藻を力学的に押し付けると弾性変形せず、脆性破壊されることが分かった。したがって、インピーダンス特性を計測する際に精度の高いパラメータを推定することが困難であった。今後はこのような新しい知見を踏まえ、珪藻の刺激応答特性に焦点を絞って研究を継続していく予定である。

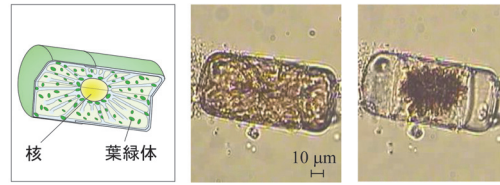


図3：珪藻の構造

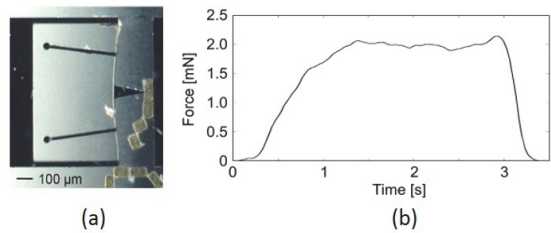


図4：珪藻力学刺激応答の計測

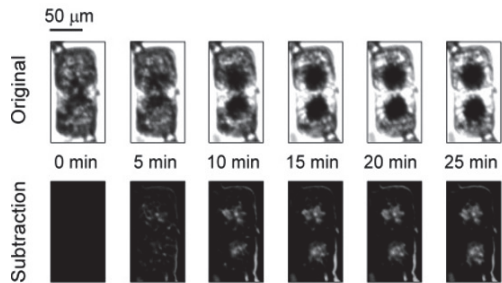


図5：珪藻刺激後の応答計測と解析

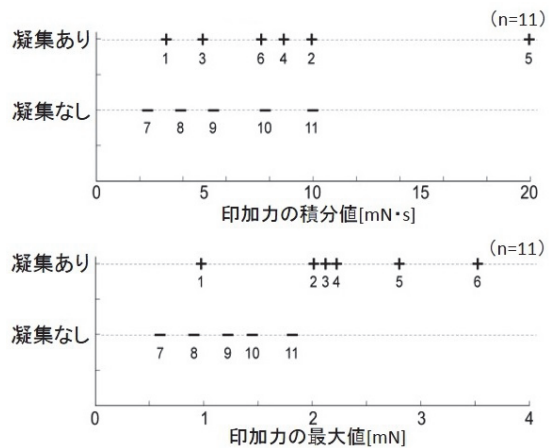


図6：印加力と葉緑体凝集との関係

・他微生物への応用：本研究で確立した技術の特徴は、密封されたマイクロ流体チップ内においても対象物を自由自在に操作でき、所望の位置に力学的に刺激を加えることができる点であり、有用性が非常に高い。したがって、将来的には他の藻類や水生微生物の刺激応答特性への応用を視野に入れて研究を展開する。

## 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)

- ① T. Kawahara, M. Sugita, M. Hagiwara, F. Arai, H. Kawano, I. Shihira-Ishikawa, and A. Miyawaki, On-Chip Microrobot for Investigating the Response of Aquatic Microorganisms to Mechanical Stimulation, Lab on a Chip, 査読有, Vol.13, No.6, 2013, pp. 1070-1078.
- ② M. Hagiwara, T. Kawahara, T. Iijima, and F. Arai, High Speed Magnetic Microrobot Actuation in a Microfluidic Chip by Fine V-Groove Surface, IEEE Transactions on Robotics, 査読有, Vol. 29, No. 2, 2013, pp. 363-372.
- ③ M. Hagiwara, T. Kawahara, and F. Arai: Local Streamline Generation by Mechanical Oscillation in a Microfluidic Chip for Noncontact Cell Manipulations, Applied Physics Letters, 査読有, Vol. 101, 2012, pp. pp. 074102-1 - 074102-5. (The Best Papers of 2012に選定)
- ④ 萩原将也, 川原知洋, 飯島徹, 新井史人, 微細V溝パターンによる磁気駆動マイクロロボットのオンチップ高速駆動, 日本ロボット学会誌, 査読有, Vol. 30, No. 7-8, 2012, pp. 727-734.

[学会発表] (計5件)

- ① T. Kawahara, F. Arai, H. Kawano, I. Shihira-Ishikawa, and A. Miyawaki, On-Chip Microrobot for Investigation of Stimulant Property of Aquatic Microorganisms, IEEE International Symposium on Micro-Nano Mechatronics and Human Science, Noyori Conference Hall (Nagoya, Japan), 2013.11.11.
- ② L. Feng, M. Hagiwara, A. Ichikawa, T. Kawahara, and F. Arai, Smooth Enucleation of Bovine Oocyte by Microrobot with Local Flow Speed Control in Microchannel, IEEE/RSJ International Conference on Intelligent Robots and Systems, Hotel Tivoli Marina Vilamoura (Algarve, Portugal), 2012.10.8.

- ③ L. Feng, M. Hagiwara, A. Ichikawa, T. Kawahara, and F. Arai, On-chip Smooth Enucleation by Hydraulic Force Control Using Magnetically Driven Microtool, 日本機械学会ロボティクス・メカトロニクス講演会'12, アクトシティ浜松 (浜松市), 2012.5.28.
- ④ T. Kawahara, M. Sugita, M. Hagiwara, Y. Yamanishi, F. Arai, H. Kawano, I. Shihira-Ishikawa, and A. Miyawaki, On-Chip Manipulation and Sensing of Microorganisms by Magnetically Driven Microtools with Force Sensing Structure, IEEE International Conference on Robotics and Automation, River Centre (Saint Paul, USA), 2012.5.17.
- ⑤ M. Hagiwara, T. Kawahara, T. Iijima, Y. Yamanishi, and F. Arai, High Speed Microrobot Actuation in a Microfluidic Chip by Levitated Structure with Riblet Surface, IEEE International Conference on Robotics and Automation, River Centre (Saint Paul, USA), 2012.5.16.

[図書] (計1件)

- ① T. Kawahara and F. Arai, InTech, Micro-Nano Robotics and Mechatronics for Biomedical Applications, T. Fukuda, T. Niimi and G. Obinata (Eds.), Micro-Nano Mechatronics - New Trends in Material, Measurement, Control, Manufacturing and Their Applications in Biomedical Engineering, 2013, pp. 77-108.

[その他]

ホームページ等

<http://www.lsse.kyutech.ac.jp/~kawahara>

<http://www.kyutech.ac.jp/ttacademy/>

受賞等

1. 2013年度 FA財団論文賞 [2013.12.13]
2. Best Paper Award, International Symposium on Micro-Nano Mechatronics and Human Sciences, [2013.11.13]
3. Best Conference Paper Award, IEEE International Conference on Robotics and Automation, [2012.5.17]

6. 研究組織

(1) 研究代表者

川原 知洋 (KAWAHARA, Tomohiro)

九州工業大学・若手研究者フロンティア研究アカデミー・准教授

研究者番号：20575162