

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 30 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24760205

研究課題名(和文) 単一ガイドロボットを用いた複数の細菌駆動マイクロロボットの自律的操作の開発

研究課題名(英文) Development of autonomous manipulation of multiple bacteria-driven microrobots using single guiderobot

研究代表者

野川 晃佑 (Nogawa, Kousuke)

名古屋大学・高等研究院・特任助教

研究者番号：30608881

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)：本研究課題では、細菌駆動マイクロロボットをDDS等実際に応用する際に有用であると考えられる“単一ガイドロボットを用いた複数の細菌駆動マイクロロボットの自律的操作”の開発を目的とした。結果として、ガイドロボットの代わりにマイクロ・ナノピペットを誘引物質の放出源として用いて提案手法のフィージビリティを実証した。本手法で用いる細菌駆動マイクロロボットとして単一菌駆動マイクロ構造体が最適であることを示し、その作製手法を確立した。また、ガイドロボットの最適設計に向け、細菌べん毛モータの特性解析を行なうために、より動的かつ任意に局所環境制御を行なうシステムを提案・構築した。

研究成果の概要(英文)：In this project, the purpose was developing the method named "autonomous manipulation of multiple bacteria-driven microrobots using single guiderobot", which might be effective when the bacteria-driven microrobots are practically applied for DDS etc. As the results, the feasibility of the proposed method was verified by using micro/nanopipettes as the attractant source instead of the guiderobot. A assembly technique of single-bacterium-driven microobjects was established, and it was shown that the bacterium-driven microobjects are suitable for the bacteria-driven microrobots in the proposed method. And, as the first step toward the optimal design of the guiderobots, more dynamic and arbitrary local environmental control system for the analysis of the characteristics of the flagellar motors was proposed and developed.

研究分野：工学

科研費の分科・細目：機械工学 知能機械・機械システム

キーワード：マイクロ・ナノメカトロニクス

1. 研究開始当初の背景

近年、人体内マイクロ・ナノ手術、操作可能なドラッグデリバリーシステム(DDS)等の革新的な技術の開発を目指して、マイクロ・ナノロボットの研究が盛んに行われ、有べん毛細菌類がマイクロロボットの駆動力として使用されているが、従来では、磁界や光といった大域的な場によって、全力で駆動する細菌駆動マイクロ構造体の運動方向を操作するにとどまっている。そこで、これまでに我々は、細菌駆動マイクロロボットのより精密な制御を目指し、ナノ・マイクロデュアルピペット局所環境制御システムを用いて外部イオン濃度を操作することにより、ナノアクチュエータとしてのべん毛モータの回転速度制御に成功し、また、細菌の付着数・位置などを制御して精密に細菌駆動マイクロロボットを組立てる手法として、光ピンセットを用いてマイクロ構造体上に単一の細菌をアセンブリする手法を開発した。

しかし、上記のような外部イオン濃度操作による駆動力の制御では、細菌に対して外部からイオンを供給する必要があるが、マイクロ・ナノ手術や DDS といった応用においては、そのイオン供給源も体内に入れる必要がある。そのためには、マイクロ・ナノロボット自体にイオン供給システムを組み込むことなどで対応する必要があるが、外部から操作可能なイオン供給システムをマイクロ・ナノロボット上に構築することは難しい。

また、マイクロ・ナノ手術や DDS 等の応用において、作業効率の向上や、搬送する試薬量を増やすことを目的に、複数の細菌駆動マイクロロボットを同時に遠隔操作・搬送したい場合に新たな問題が生じる。全てをオペレータの操作により操作する場合、現段階では、磁場などの人体外部から内部に適用可能と考えられる操作手法では大域的にしか操作することができないため、複雑に分岐する狭い血管内で複数の細菌駆動マイクロロボットを操作する状況では、全てをターゲットに向けて操作することは難しい。また、そのような事態を避けるために、ロボットを個別に導入してターゲットへ向けて操作すると、操作にかかる手間が非常に高くなる。細菌が生まれながらに有する機能である走化性(ある化学物質の濃度勾配に反応した **Biased random walk** の結果、化学物質の濃度の高い(誘引物質)もしくは薄い(忌避物質)方に遊泳すること)を利用する手法も考えられるが、細菌駆動マイクロロボットの人体への導入位置からシグナルとなる物質を放出する患部があまりに遠い場合、血中のシグナル濃度には勾配が存在せず、細菌駆動マイクロロボットを操作することが不可能となる。

2. 研究の目的

そこで、本研究課題では、上記問題点を解決する手法として“単一ガイドロボットを用いた複数の細菌駆動マイクロロボットの自

律的操作”の開発を当初の目的とした。本手法では、ガイドロボットが誘引物質を放出することにより、局所的な誘引物質の濃度勾配を生成している。その誘引物質の局所的な濃度勾配により、複数の細菌駆動マイクロロボットは、走化性に起因してガイドロボットに自律的に追従する。従って、オペレータはたった一つのガイドロボットを操作するだけで、複数の細菌駆動マイクロロボットを任意に操作することが出来る。これにより、操作にかかる手間を低減しながらも、複数の細菌駆動マイクロロボットの任意性の高い操作が可能となると考えられる。

3. 研究の方法

(1)提案手法の実行可能性の検証

先ず、ガイドロボットの代わりにマイクロ・ナノピペットを誘引物質の放出源として用いて、“単一ガイドロボットを用いた複数の細菌駆動マイクロロボットの自律的操作”の手法の妥当性・実行可能性を検証する。すなわち、細菌駆動マイクロロボットがマイクロサイズの誘引物質の放出源に対して自律的に近付くように動くこと、誘引物質の放出源の位置を操作することにより細菌群の位置を操作可能なことを確認する。

(2)細菌駆動マイクロロボットの最適化

マイクロ構造体の形状や材料、マイクロ構造体上への細菌の付着状態等を検討することにより、細菌駆動マイクロロボットの最適化を行なう。

(3)ガイドロボットの作製

形状・材料を遠隔操作という目的に対して最適化すること、材料選定・複合材料の使用などにより誘引物質を放出する速度およびタイミングを制御可能にすることなどにより、ガイドロボットの作製を目指す。

4. 研究成果

(1)提案手法のフィージビリティの実証

ガイドロボットの代わりにマイクロ・ナノピペットを誘引物質の放出源として用いて、“単一ガイドロボットを用いた複数の細菌駆動マイクロロボットの自律的操作”の手法の妥当性を確認した。すなわち、細菌駆動マイクロロボットがマイクロサイズの誘引物質の放出源に対して自律的に近付くこと(図 1)、誘引物質の放出源の位置を操作することにより細菌群の位置を操作可能なこと(図 2)を確認した。また、ガイドロボットに対して細菌駆動マイクロロボットが密集し過ぎると、血管内で詰まったりすることの原因となると考えられるが、マイクロピペットとナノピペットを用いて行った実験を比較することで、誘引物質の放出量(速度)の調整により密集度の調整が可能なることも確認した(図 3)。

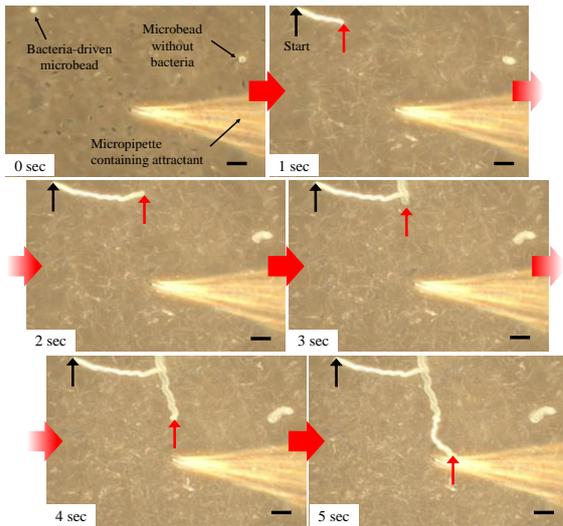


図 1 細菌駆動マイクロビーズの誘引物質源(マイクロピペット)へ向かう自発的な動き

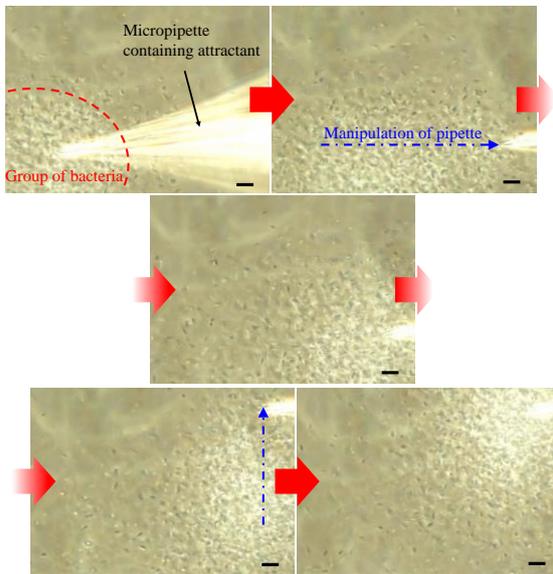


図 2 誘引物質源(マイクロピペット)の操作による細菌群の動きの操作

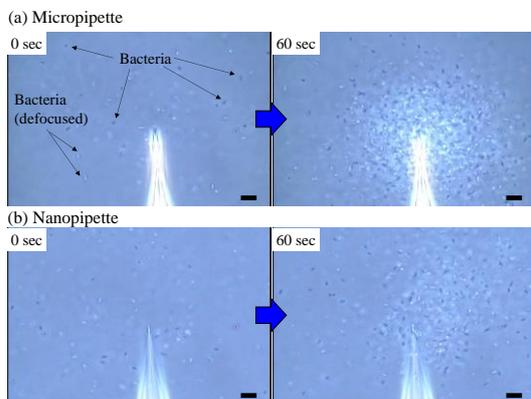


図 3 ピペット径による誘引物質の放出量(速度)の調整による密集度の調整

(2) 細菌駆動マイクロロボットの最適化

本研究課題における提案手法で操作される対象である細菌駆動マイクロロボットについて、運動を定量的に解析した。光ピンセットにより作製した単一菌駆動マイクロビーズ、および対照サンプルにおけるそれぞれのマイクロビーズの中心座標の9秒間の軌跡の一例を図4に、4サンプルのデータを基に平均二乗変位として評価したグラフを図5に示す。図4に示すように、単一菌駆動マイクロビーズは $\sim 17.7 \pm 1.9 \mu\text{m/s}$ で移動し、ブラウン運動($\sim 3.1 \pm 0.24 \mu\text{m/s}$)及びランダムに複数の菌が付着している細菌駆動マイクロビーズ($\sim 9.2 \pm 3.4 \mu\text{m/s}$)より速く運動していた。

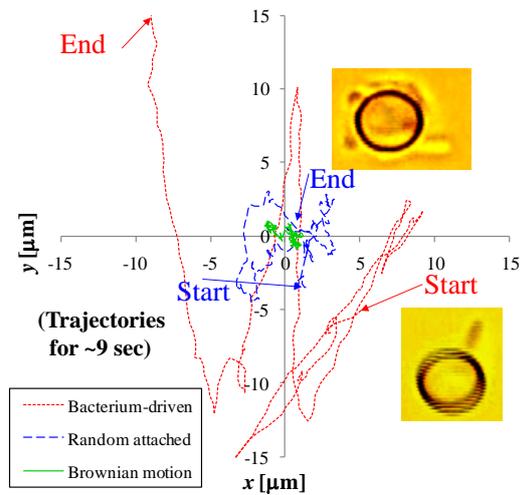


図 4 単一菌駆動マイクロビーズと対照サンプルの運動軌道(9秒間)

また、図5に示すように、平均二乗変位からも単一菌駆動ビーズが対照サンプルと比較して良く駆動していることが確認できるが、速度の違いから期待される程の平均二乗変位が得られているとは言えない。

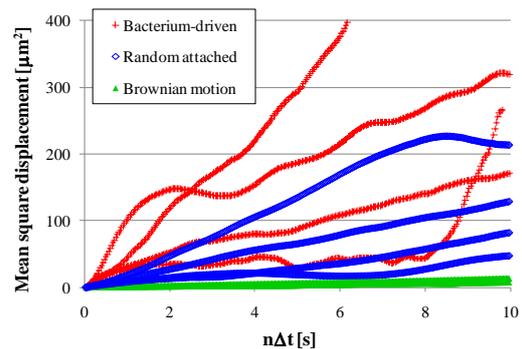


図 5 単一菌駆動マイクロビーズと対照サンプルの平均二乗変位

これは、ランダムな方向へ駆動していることに起因していると考えられるが、ここで、菌の本来持つ特性として同種の菌の自由遊泳時の方向転換頻度 $\sim 1.8 \text{ Hz}$ (Altindal et al, PLoS ONE, 2011)に着目すると、単一菌駆動マイクロビーズ駆動時の方向転換頻度は $1.85 \pm 0.27 \text{ Hz}$ と非常に近い値を示しており、単一菌体の

特性を非常に良く反映して駆動していると言える。また、ランダムに複数の菌が付着している細菌駆動マイクロビーズにおいては、明確に方向転換する様子は観察されなかった。

以上の結果は、数・位置を制御して組立てた場合のみに、効率良く細菌の生み出す駆動力を活用でき、菌本来の動きの特性を直接的に反映していることを示すものである。細菌の走化性等の特性を、細菌駆動マイクロ構造体の動きの制御に応用することを考えた場合に、複数の菌が作用する場合には各菌のバイアスランダムウォークが干渉し合い制御効率が落ちる可能性があるが、単一菌駆動マイクロ構造体ではより効率良く制御できると考えられるため、本提案手法における細菌駆動マイクロロボットとして最適であると結論付けられた。

(3) ガイドロボットの最適設計に向けた細菌べん毛モータの特性解析システムの構築

前項の通り、単一菌駆動マイクロ構造体が本手法において最適であることが示されたが、その自律的操作に最適なガイドロボットを設計するために、アクチュエータとして使用している細菌べん毛モータの特性の更なる解析が必要となった。そのため、その駆動源であるプロトン or ナトリウムイオンや誘引・忌避物質その他の化学物質の濃度変化に対する応答観察に基づく細菌べん毛モータの特性解析を行なうため、局所的なイオン・化学物質の濃度をより動的かつ任意に操作するための局所環境制御システムの開発を行なった。

具体的には、従来より任意な局所環境制御を達成するために World-to-chip interface (WtCI) を有するマイクロ流体チップとピペットを用いた局所環境制御手法を提案した(図6)。

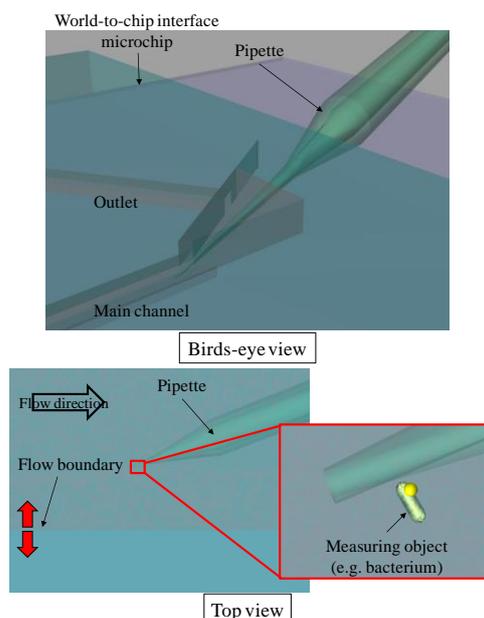


図6 WtCI マイクロ流体チップとピペットを用いた局所環境制御手法

実際に WtCI マイクロ流体チップを2段階フォトリソグラフィにより作製し、精密に制御可能なシリンジポンプを使用して局所環境制御システムを構築した。更に、層流境界面の操作による離散的濃度操作と、溶液Aの流れの層とマイクロピペットからの溶液Bの噴出の相互作用による連続的濃度操作を実験的に実証し、提案した局所環境制御手法のフィジビリティを示した。そして、少なくとも μM 以下のオーダーの分解能、およびサブミリ秒以下の時定数(応答性)という性能を発揮することが示された。本環境制御システムは、任意に生成した様々なイオン濃度変化に対する応答を解析することで、べん毛モータの特性解析はもちろん、その他生体サンプルにも広く応用可能であると考えられ、生物学の発展にも大きく寄与すると期待される。

今後は、WtCI マイクロ流体チップとピペットを用いた局所環境制御システムを自動化・改良し、実際にべん毛モータの特性解析を行い、ガイドロボットの最適設計を行なうことにより“単一ガイドロボットを用いた複数の細菌駆動マイクロロボットの自律的操作”を実現していく予定である。

5. 主な発表論文等

[学会発表] (計 5件)

- ① Kousuke Nogawa, and Fumihito Arai, “Development of Local Environmental Control System by Combination of Microfluidic Chip and Pipette”, *2014 IEEE International Conference on Robotics and Automation*, 2014年6月4日, Hong Kong Convention and Exhibition Centre
- ② 野川晃佑, 新井史人, “単一細胞解析のためのオンチップ局所環境制御システムの構築”, *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
- ③ 野川晃佑, 新井史人, “World-to-Chip Interface を有するマイクロチップとピペットによる局所環境制御”, *第14回システムインテグレーション部門講演会*, 2013年12月19日, 神戸国際会議場
- ④ Kousuke Nogawa and Fumihito Arai, “Local Environmental Control by World-to-Chip Interface Microchip and Pipette”, *2013 International Symposium on Micro-Nano Mechatronics and Human Science*, 2013年11月12日, Nagoya University
- ⑤ Kousuke Nogawa, Masaru Kojima, Masahiro Nakajima, Michio Homma, Fumihito Arai and Toshio Fukuda, “Bacterium-driven Microrobots Fabricated by Optical Tweezers”, *2012 International Symposium on Multi-scale Intelligent Systems*, 2012年07月28日, Nagoya University

6. 研究組織

(1) 研究代表者

野川 晃佑 (NOGAWA, Kousuke)

名古屋大学・高等研究院・特任助教

研究者番号：30608881