

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 2 月 10 日現在

機関番号：12605

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2010 ～ 2011

課題番号：22860020

研究課題名（和文） 昆虫の筋細胞を用いた耐環境自律駆動型マイクロロボット制御法の開発

研究課題名（英文） Control of environmentally robust and autonomously moving microrobot powered by insect muscle.

研究代表者

秋山 佳丈（AKIYAMA YOSHITAKE）

東京農工大学・大学院生物システム応用科学府・特任助教

研究者番号：80585878

研究成果の概要（和文）：本研究では、昆虫の心臓である背脈管組織を駆動源とするマイクロロボットの創成およびその制御法に関する検討を行った。シリコンゴム製のマイクロ構造体へ背脈管組織をアセンブリすることで、自律的に一定方向に移動するマイクロロボットの創成に成功した。また、オプティカルフローにより背脈管の拍動を数値化し、その値に基づき電気刺激を行うことで、背脈管の拍動を一定に維持できることを示した。

研究成果の概要（英文）：A microrobot powered by a dorsal vessel, which is a heart tissue of an insect, was fabricated and its control method was also examined. The microrobot which was fabricated by assembling the dorsal vessel to a microstructure made of silicone rubber moved autonomously in the designed direction. Next, beatings of the dorsal vessel were quantified using optical flow analysis. Electrical stimulation based on the results made the dorsal vessel beat at the constant frequency.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,260,000	378,000	1,638,000
2011 年度	1,160,000	348,000	1,508,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,420,000	726,000	3,146,000

研究分野：工学

科研費の分科・細目：知能機械学・機械システム

キーワード：マイクロロボット, 昆虫, バイオアクチュエータ

1. 研究開始当初の背景

近年、MEMS (Micro Electro Mechanical Systems) 分野の研究の進展に伴い、従来の物理法則を利用したマイクロアクチュエータだけではなく、生体部品を駆動源とする研究が注目を集めている。例としては、筋肉の駆動タンパクであるアクチン・ミオシンや細菌の鞭毛モーターなどの生体分子モーターを利用

したもの、哺乳類の筋肉細胞を利用したものが挙げられる。申請者自身も、自律的に拍動を続けるラット心筋細胞を直接駆動源として用いることにより、エネルギー変換効率が高い、培養液中のグルコース等の化学エネルギーによって駆動する、生体親和性が高くソフトである、自律的に駆動する等の従来のアクチュエータにはない特徴を持ったアクチ

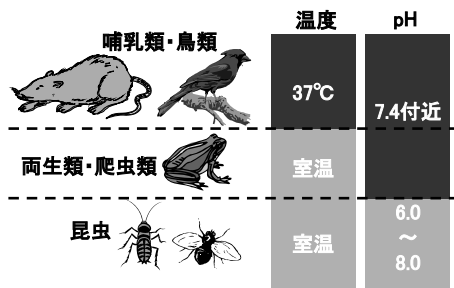


図1 昆虫細胞の特徴

ューエータが創成できるのではないかと考え、これまでに心筋を用いた自律駆動型マイクロディスプレイ等の研究を行ってきた。

しかし、哺乳類の細胞を駆動源とする以上、デバイスの駆動すなわち心筋細胞の拍動を維持するため、最適環境 (37°C、pH 7.4 付近) を保たなければならず、その結果適用範囲を狭め実用化に向けて大きな問題となっている (図1)。そこで、申請者は、室温において培養でき、培養液の pH に寛容な昆虫細胞に着目し研究を進めてきており、マイクロピラーアクチュエータをメンテナンスフリーかつ室温で 90 日以上連続駆動させることに成功した (図2)。

一方、生理学的研究において、背脈管組織は、電気刺激に応答し収縮するだけでなく、心活性ホルモンにより拍動が早まることや温度依存性があることが知られているが、これらの外部刺激に対する背脈管細胞の応答の定量的評価はほとんどない。

2. 研究の目的

本申請研究では、耐環境自律駆動型マイクロロボットの創成に向けて、外部刺激に対する

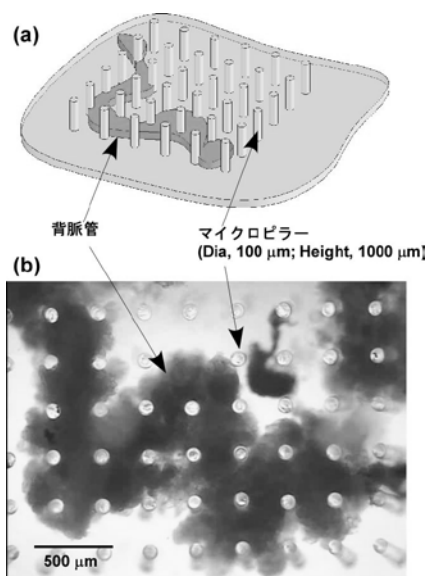


図2 マイクロピラーアクチュエータ

背脈管細胞の応答を評価し、その結果を元に背脈管細胞の収縮制御を行う。具体的には、以下の項目を目的とする。

- (1) 背脈管の自律的収縮により自律的に移動するマイクロロボットの創成。
- (2) 背脈管の電気パルス刺激に対する応答の評価
- (3) 昆虫ホルモンを用いた背脈管の自律的収縮の制御の可能性の検討。
- (4) 画像解析による背脈管細胞収縮のフィードバック制御システムの構築

3. 研究の方法

(1) 自律駆動型マイクロロボットの創成

本研究では、ミツモンキンウバもしくはキクキンウバ最終齢幼虫より摘出した背脈管を用いた。また、培養液には、TC-100 昆虫培地に、10%FBS および抗生物質を添加したものをを用いた。

背脈管の自律的収縮により変形し、一方向に移動するマイクロロボットを設計、試作し評価する (図3)。進行方向側の脚に比べ、後ろ脚が短く設計されている。背脈管が収縮することにより、前後4本の脚が中心に引き寄せられる。このとき、底面と脚との摩擦力は、前脚の方が大きくなる。背脈管が弛緩する際は、PDMS の復元力により前後の脚が元に戻る。このときは、後ろ脚と底面との摩擦力の方が大きくなる。この摩擦力の差により、構造体は脚が長い側に進むと考えられる。

まず、COMSOL Multiphysics 4.1 を使い、シリコンゴム製マイクロ構造体の変形のシミュレーションを行い、設計する。次に、PDMS モールドイングによりマイクロ構造体を作製し、背脈管組織をアセンブリすることで、マイクロロボットを作製する。

(2) 背脈管の電気パルス刺激に対する応答の評価

電気パルスを白金電極を通して培養液に流すことで、背脈管細胞への電気刺激を行った。そのセットアップを図4に示す。電気パルス刺激に対する背脈管の応答を、顕微鏡にて観察し、画像解析により評価する。

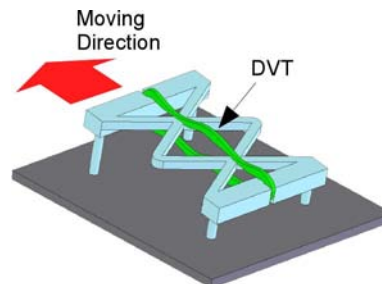


図3 マイクロロボット (DVT: 背脈管)

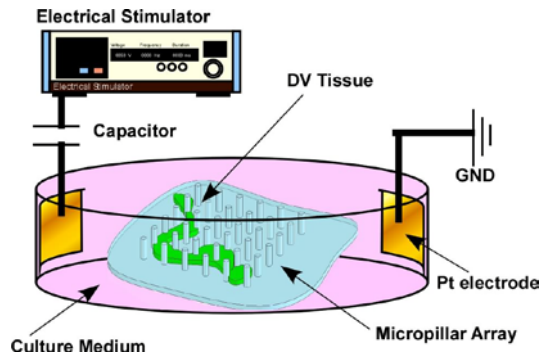


図4 電気刺激実験セットアップ

(3) ホルモンによる背脈管の自立的拍動の制御の可能性の検討

これまでに報告されている昆虫ホルモン (CCAP および Proctolin) の自立的収縮への影響の評価とそれらのホルモンによる自立的収縮制御の可能性を評価する。マイクロピラーアレイに背脈管をアSEMBリし、ピラー先端の変位を画像解析により数値化し、ホルモンの影響を定量的に評価する。

(4) オプティカルフローによるフィードバック制御

画像解析による計測と電気刺激をオプティカルフローにより筋組織の動きをオプティカルフローとして数値化し、この値に基づき制御を試みる。まず、背脈管が培養液中で自立的に拍動している様子を撮影し、これをオフラインで Lucas-kanade 法によりオプティカルフローとし、背脈管の拍動がベクトルデータとして表されていることを確認した。次に、オプティカルフローに基づきフィードバック刺激を与えるため、顕微鏡、CCD カメラ、制御用 PC、電磁刺激装置を組み合わせたシステムを構築し、制御を試みた。プログラムは、指定されたエリアのベクトルデータの平均値を求め、その結果を元にフィードバックを行う。本研究では、平均オプティカルフローの長さが閾値を超えたら、電気刺激を行う (正のフィードバック)、閾値以上になったら電気刺激を停止する (負のフィードバック) 2 通りの実験を行う。

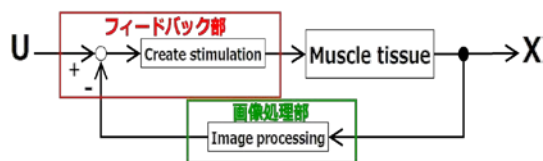


図5 システムのブロック線図

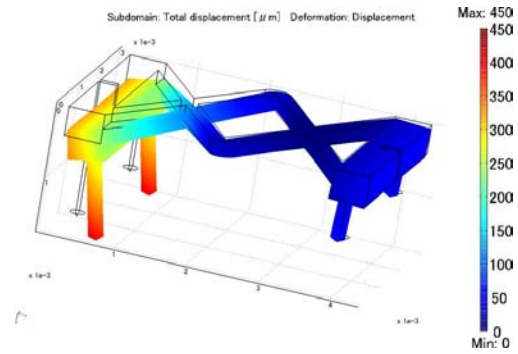


図6 変形シミュレーション

4. 研究成果

(1) 自律駆動型マイクロロボットの創成
背脈管の自立的収縮により一方向に移動するマイクロロボットの概要を図3に示す。進行方向側の脚に比べ、後ろ脚が短く設計されている。背脈管が収縮することにより、前後4本の脚が中心に引き寄せられる。このとき、底面と脚との摩擦力は、前脚の方が大きくなる。背脈管が弛緩する際は、PDMSの復元力により前後の脚が元に戻る。このときは、後ろ脚と底面との摩擦力の方が大きくなる。この摩擦力の差により、構造体は脚が長い側に進むと考えられる。

次に、前後の脚の変形量の有限要素法により線形弾性体としてシミュレーションを行った (図6)。背脈管の収縮力は $96 \mu\text{N}$ とし、PDMSのヤング率とポアソン比は、それぞれ 1.8 MPa と 0.48 とした。その結果、前脚と後脚の先端の距離は、 $420 \mu\text{m}$ 縮まった。これは、脚の直径 $200 \mu\text{m}$ よりも大きく、十分な変位だと考えられる。

PDMS モールドイングにより作製したマイクロ構造体へ背脈管をアSEMBリし、その様子を側面より観察した。背脈管が弛緩および収縮した状態のマイクロロボットの様子を図7に示す。弛緩状態と収縮状態を比較したところ、脚先端の縮小距離 $500 \mu\text{m}$ であり、シミュレーション結果とほぼ一致した。シミュレーション結果より、若干大きくなった原因としては、単純に背脈管の収縮力の個体差および背脈管がやや張力がかかった状態でアSEMBリされたため、収縮力が向上した可能性が考えられる。

最後に、このマイクロロボットを30秒間観察した。そして、前脚および後脚の位置を画像解析により求めた (図8)。その結果、30秒間に、12回収縮し $793 \mu\text{m}$ 進行していた。従って、平均移動速度は $26 \mu\text{m/s}$ となり、一回の収縮あたり平均 $66 \mu\text{m}$ 進行していることとなる。一方、収縮時に、脚先端間の距離は、 $500 \mu\text{m}$ 縮まることから、脚先端と底面との摩擦の異方性を高めることで、さらな

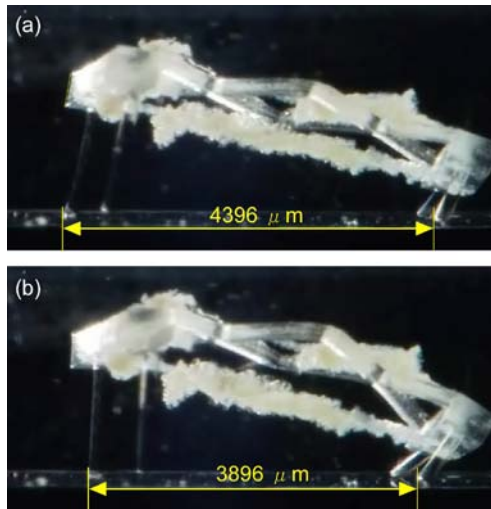


図7 側面から見たマイクロロボット

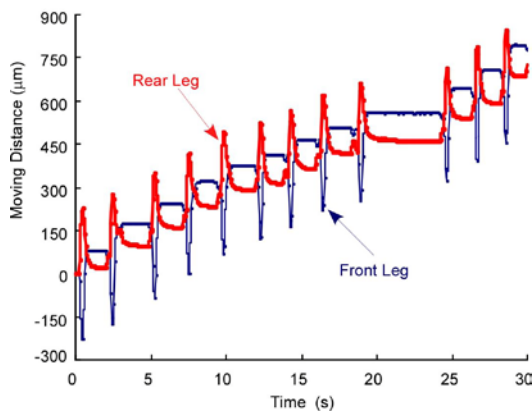


図8 前脚および後脚の移動量

る速度の向上が望める。

(2) 背脈管の電気パルス刺激に対する応答の評価

電気パルスの幅は、鱗翅目昆虫の心電位を参考にし、20 ms に固定した。その結果、10 V において十分に背脈管の収縮を引き起こすことができることを確認した。そこで、次に、0.5 から 10 Hz の周波数で刺激を与え、背脈管の収縮周波数を計測した。その結果を Table 1 に纏めた。刺激を行わない場合は、背脈管は 0.8Hz で自律的に収縮していた。次に、0.5Hz で刺激を行うと、電気刺激と同期して収縮し、さらに刺激と刺激の間で1回自律的に収縮した。その結果、1 Hz で収縮した。1 Hz の刺激に対しては、刺激に同期し 1 Hz で収縮した。しかし、2Hz の刺激に対しては、同期せず、2 回の刺激に対して 1 回収縮し、結果 1 Hz で収縮した。4Hz の刺激に対しては、3 回の刺激に対し 1 回収縮し、結果 1.33Hz で収縮した。従って、本実験における背脈管の最小収縮間隔 500 ms より大きく 750 ms 以下の間だといえる。また、10Hz においては、一

部が収縮したままの状態となる強縮状態となった。以上から、前回の収縮から 750 ms 以上の間隔を開けて、電気刺激(電圧: 10 V, パルス幅: 20 ms)を行うことで、背脈管の単収縮を引き起こすことができることを確認できた。

Table1 各刺激周波数における収縮周波数

刺激周波数	無	0.5	1	2	4	10
収縮周波数	0.8	1	1	1	1.33	強縮

単位: Hz

(3) ホルモンによる背脈管の自律的拍動の制御の可能性の検討

培養液中の CCAP および Proctolin の濃度を 10^{-8} から 10^{-5} M ま徐々に濃度を上げてゆき、その様子を観察した。その結果、CCAP には背脈管の自律的拍動を活性化する効果があることが確認できた。CCAP を 10^{-6} M となるように添加した際の背脈管拍動の継時変化を図 9 に示す。CCAP の添加により、自律的拍動の周波数が 0.11Hz から 0.62Hz に上昇した。そし

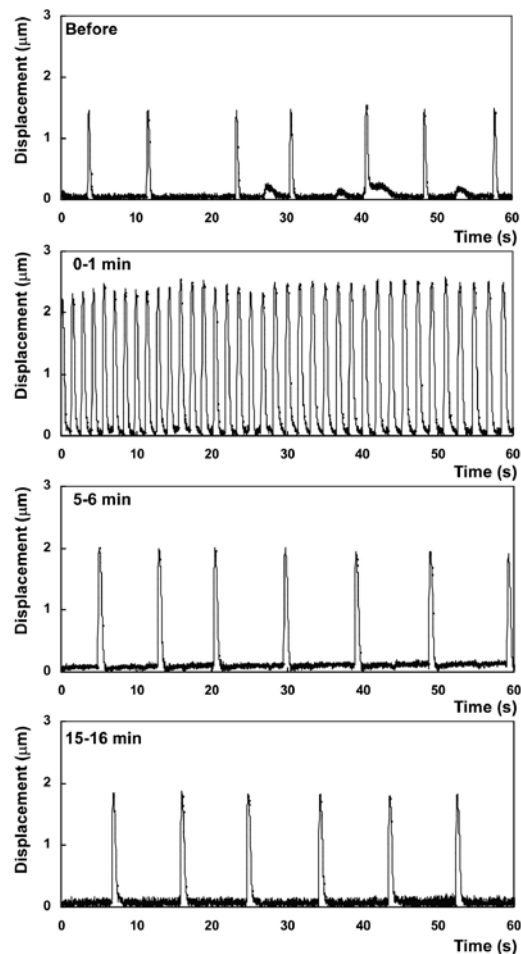


図9 CCAP 添加時の拍動の変化

て5分後には元の0.11Hzに戻った。再度、同量のCCAPを添加したところ、若干の拍動周波数は観察されたが、初回の添加に比べるとその上昇は小さかった。一方、Proctolin添加による影響は、観察されなかった。

以上のように、CCAPの添加による自律拍動の増加は観察されたが、一時的なものであり、なおかつ再度の添加は影響が少ないことから、ホルモンによる拍動周波数の制御は困難であると思われる。

(4) オプティカルフローによるフィードバック制御

正のフィードバックにおいては、背脈管の拍動は停止し、負のフィードバックにおいては、一定の拍動を続けた。正のフィードバックプログラムにおいては、背脈管が収縮中に電気刺激を与えることを意図しており、それによって背脈管組織が強縮したのではないかと考えられる。一方、負のフィードバックプログラムにおいては、背脈管が停止中に刺激することを意図しており、このプログラムにより一定の拍動を維持できることが示された。

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1件)

- ① Y. Akiyama and K. Morishima, "Label-free cell aggregation based on the magneto-Archimedes effect." *Applied Physics Letters*, **98**, 163702, 2011(査読有り).
Also Selected for *Virtual Journal of Biological Physics Research*, 21(9).
Also Selected for *Virtual Journal of Nanoscale Science & Technology*, 23(19).

[学会発表] (計6件)

- ① 富名腰敬, 清水恒志, 秋山佳丈, 星野隆行, 岩淵喜久男, 森島圭祐, "昆虫筋組織で駆動するマイクロポンプ", 第29回日本ロボット学会学術講演会論文集, 芝浦工業大学(東京), 2D1-4, 2011.9.8.
- ② 清水恒志, 秋山佳丈, 星野隆行, 岩淵喜久男, 森島圭祐, "昆虫筋細胞を駆動源とした室温環境駆動型マイクロポンプの作製", 第29回日本ロボット学会学術講演会論文集, 芝浦工業大学(東京), 2D1-6, 2011.9.8.
- ③ 清水恒志, 佐久間徹, 秋山佳丈, 富名腰敬, 星野隆行, 岩淵喜久男, 森島圭祐, "細胞ビルドアップ型ウェットナノ

ロボティクスの機能創発—大気中で駆動可能なバイオマイクロマニピュレータの創成製—", 日本機械学会ロボティクス・メカトロニクス講演会2011(ROBOMEC2011), 岡山コンベンションセンター(岡山), p. 44(1A2-E06), 2011.05.27

- ④ Y. Akiyama, K. Odaira, K. Iwabuchi, K. Morishima, "Long-term and Room Temperature Operable Bio-microrobot Powered by Insect Heart Tissue," The 24th International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS 2011), Cancun (Mexico), pp. 145-148 (2011.1.26).
- ⑤ Y. Akiyama, T. Hoshino, K. Iwabuchi, K. Morishima, "Design and Fabrication of Temperature-Tolerant Micro Bio-Robot Driven by Insect Heart Tissue", The 22th International Symposium on Micro-NanoMechatronics and Human Science (MHS 2010), Nagoya (Japan), pp. 115-120 (2010, 11.9).
- ⑥ Y. Akiyama, K. Shimizu, T. Hoshino, K. Iwabuchi, Y. Akiyama, M. Yamato, M. Okano, K. Morishima, "昆虫背脈管を駆動源とする耐環境性マイクロバイオリボットの創成と制御", 第48回(2010年度)日本生物物理学会年会, 東北大学(宮城), p. S80, 2010.09.20

[図書] (計1件)

- ① 森島圭祐, 秋山佳丈「筋細胞ビルドアップ型バイオアクチュエータの開発」(樋口俊郎, 大岡昌博編『アクチュエータ研究開発の最前線』2011, pp. 231-238.

[産業財産権]

○出願状況(計1件)

名称: スフェロイド作製装置およびスフェロイド作製方法

発明者: 秋山佳丈, 森島圭祐

権利者: 国立大学法人東京農工大学

種類: 特許

番号: 2010-210876

出願年月日: 2010年09月21日

国内外の別: 国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

秋山佳丈 (AKIYAMA YOSHITAKE)

東京農工大学・大学院生物システム応用科学府・特任助教

研究者番号: 80585878

(2) 研究分担者 なし

(3) 連携研究者 なし