

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 27 日現在

機関番号：82636

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26390051

研究課題名(和文) 2種の光受容膜タンパク質を用いたオプティカルフローセンシング技術の開発

研究課題名(英文) Development of optical-flow-sensing technology using two types of photoreceptor membrane proteins

研究代表者

笠井 克幸 (Kasai, Katsuyuki)

国立研究開発法人情報通信研究機構・未来ICT研究所フロンティア創造総合研究室・主任研究員

研究者番号：90359084

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：バクテリオロドプシン(bR)は、塩湖に生息する高度好塩菌の細胞膜から抽出して得られる光受容性の膜タンパク質である。電極と電解液界面のバクテリオロドプシンに光を照射すると時間微分応答性の光電流が得られ、光強度の変化のみに応答する信号が外部からの電源供給を受けることなく得られる。さらに、光応答特性の異なる2種のbRを組み合わせることにより、昆虫の視覚情報機能として知られているオプティカルフローの検出が可能となる。本研究では、bR変異体(D96N)と野生型とを組み合わせたアレイ型バイポーラ光センサーによるオプティカルフロー検出技術の開発を行った。

研究成果の概要(英文)：Bacteriorhodopsin (bR) is a photoreceptor membrane protein extracted from the cell membrane of Halobacterium salinarum which lives in saline lakes. Irradiation of bacteriorhodopsin on the interface of electrodes and the electrolyte generates a time-differential photocurrent, which results in a signal that responds only to changes in the intensity of light without the need for an external power supply. By using two types of bR with different optical response characteristics, the optical flow detection known as a visual information function of an insect is attained. We have developed a novel optical-flow sensing method using a bipolar photosensor array with bR wildtype and its variant (D96N).

研究分野：バイオエレクトロニクス

キーワード：バクテリオロドプシン オプティカルフロー 光受容膜タンパク質 光センサー バイオエレクトロニクス

1. 研究開始当初の背景

自律移動型ロボットでは、運動を制御するために画像処理システムの高機能化が行われてきた。ビジョンチップやスマートセンサと呼ばれる撮像デバイスでは、デジタル演算回路を用いた画像処理機能とフレーム周波数を如何に高めるかが重要となっている。しかしながら、デジタル技術のみでは限界があり、自律移動型ロボットにおける消費電力、占有空間、コストなどの制約を克服することは困難である。自律移動型ロボットにおいては運動制御に特化したシステムを構築することが重要であり、ハエなどの飛翔する昆虫に内在する視覚—運動制御機能は極めて魅力的である。昆虫の視覚系は時々刻々と変化する周囲の環境に対し柔軟に適応できる。実環境下で動作するロボットの実現には、昆虫の視覚系にあるオプティカルフロー検出機能の利用が考えられる。デジタル演算によるオプティカルフローの推定も可能であるが、上記の制約の問題がある。この問題を克服できれば、自律移動型のレスキューロボットや介護ロボット等の開発へのブレークスルーとなる。また、ミツバチ等が病気で死滅した場合の農作物の受粉を担う超小型のロボット蜂の研究が海外では進められており、その実現には超小型で省電力のオプティカルフローセンサーの開発が必要である。そこで、高度好塩菌から得られる光受容性膜タンパク質のバクテリオロドプシン (bR) を用いて、上記の制約を克服することができる斬新なオプティカルフロー検出技術の開発に着手することとした。

bRは光駆動のプロトンポンプ機能を有しており、bR薄膜を用いた光応答セルは光照射のON 或いはOFF の下で、時間微分型の光応答電流を発生する。この光応答電流は外部からの電源供給を受けることなく得られ、ヒトや動物の視覚と同様の光応答特性である。一定の光量に対しては反応せずに変化があった時のみに反応することから、物体の動きの検出などに適している。我々は、対向するガラス電極の両方を利用するバイポーラ型構造とパターンニングしたbR薄膜を組み合わせることにより人工受容野の機能構築が可能であることを示し、すでにロボットビジョンへの適用を行った。しかしながら、これまでのbRを用いた光センサーのすべての研究においては、野生型または変異体のうちの1種類のbRのみが用いられてきた。bR内部でのプロトン中継点を破壊したD96Nと呼ばれるbR変異体を光センサーに用いた我々の実験では、野生型と比べて光応答特性が約20倍遅くなることが分かっていた。この特性の違いを利用して、野生型と変異体の光応答特性の異なる2種類のbRを組み合わせ合わせたバイポーラ型光センサーを空間的に配置(アレイ化)して構築することを検討し、オプティカフローの信号が外部での演算処理なしにセンサーから直接得られること

をシミュレーションにより見出した。そこで、本研究において検証実験を行い、その基盤技術の研究開発を行うこととした。

2. 研究の目的

高度好塩菌から得られる光受容膜タンパク質バクテリオロドプシン (bR) は動物の視物質に類似した機能を有し、電極と電界液界面のbRに光を照射すると時間微分応答の光電流が得られる。本研究課題ではbRの野生型と遺伝子組み換えによる変異体の光応答特性が異なることに着目し、両者を組み合わせ合わせたバイポーラ型光センサーを構築することによりオプティカルフロー(相対運動する物体の速度場)の演算機能を有する高性能のセンサーを開発することを目的としている。

3. 研究の方法

本研究では、まずbRの最大吸収波長である568nmのレーザー光を用いて、野生型と遺伝子組換えにより特性改変した変異体(D96N)の光照射ON時の光電流応答の比較を行い、シミュレーションに必要な基本特性を測定した。さらに、バイポーラ型の光応答セルを作製して、その基本特性を評価した。これらの評価を基に、8×1画素、次に8×8画素の構造をもつアレイ型センサーの作製を行った。透明導電性のITO(Indium Tin Oxide)膜付ガラス基板にエッチングを施し、8×1画素と8×8画素のアレイ状(各アレイ4mm×4mm)に配列した電極基板を作製した。次に、作製した基板に、膜厚制御可能なディップコーティング法によるbR薄膜の作製を行った。野生型の薄膜を作製した基板と変異体の薄膜を作製した基板を対向させたバイポーラ型電気化学セルを作製し、セル内に電解液(KCl)を封入した。また、8ch及び64chの電流電圧変換増幅器(I/V Amp)の設計製作とデータ取得システム構築を行うと共に、取得した基本データに基づくシミュレーションモデルの改良を行った。シミュレーション結果に基づいて、野生型、変異体の各薄膜の膜厚を最適化した(光検出のゲインは膜厚に依存する)。最適化したアレイ型センサーとI/V Ampを用いて各アレイから得られる信号をAD変換によりデータストレージ(PC)に蓄積し、各アレイ位置を変数とするデータ解析を行った。オプティカルフロー検出の実験では、光源として液晶プロジェクターを用い、光学系を通して集光後にセンサーを照射した。任意の速度でオブジェクトを動かして光応答特性を測定し、シミュレーションの結果と比較しながらオプティカルフロー検出の原理実証を行った。その他、bR光センサーの高効率化、bR薄膜のパターンニング法についても検討を行った。

4. 研究成果

最初にbR変異体と野生型を組み合わせたバイ

ポーラ型の光応答セルを作製し、照射光に対する時間応答特性の評価を行った。bRの基底状態における吸収極大波長は570nm付近にあるため、光源として同波長のイエロー光出力が可能な光励起半導体レーザーを用いた。bRセルから出力される光電流の観測には、電流電圧変換増幅器 (IV アンプ) とオシロスコブを用いた。図1に、ディップコーティング法で作製したbR薄膜を用いたバイポーラ型光応答セルの構造を示す。対向する2枚のITO基板の両方にbR薄膜が成膜されており、0リングを用いて電解質溶液 (KCl, 0.2M, pH7.2) が封入されている。片方の基板には野生型(Wild)の薄膜を作製し、対向するもう一方の基板には変異体 (D96N) の薄膜を作製している。D96Nの光応答特性は、野生型に比べて約20倍遅くなる。これは、bR内のプロトンポンプ中継点であるAsp-96が中性のAsnに置換されて、そのプロトンの取り込みが阻害されているためである。このバイポーラ型セルに光を照射 (ON) した場合、膜を固定化した各アレイ電極から外部回路 (カソード方向) へ電流が流れ出す。その際、対向している電極間には2種のbRの光応答の違いによる差分電流が流れることになる。ディップコーティング法では基板の引き上げ速度により膜厚制御が可能であり、野生型の引き上げ速度を1mm/sec、変異体 (D96N) の引き上げ速度を4mm/secに調整した結果、図2に示すバイポーラの光電流応答特性が得られた。

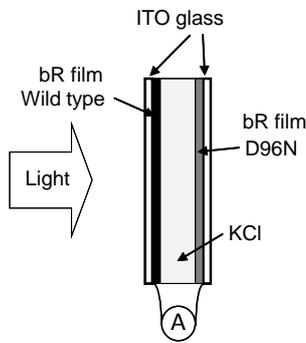


図1 野生型と変異体の2種類のbRを組み合わせたバイポーラ型光応答セル

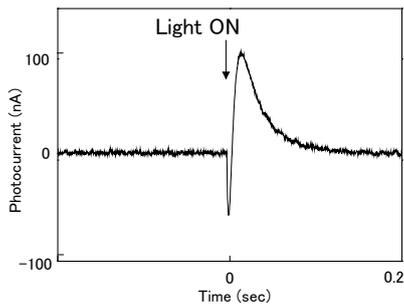


図2 バイポーラ型セルの光電流応答

上記の実験で得られたbR薄膜の作製条件を基に、8×1画素の1次元アレイ型バイポーラセンサー (画素サイズ: 4mm×4mm、間隔: 1mm) を作製し、オプティカルフロー検出の実験を行った。この実験では、プロジェクターで光を照射し、オブジェクトとして遮光板を高速ステージで動かして行った。図3に実験の構成概略図を示す。オブジェクトの速度 (V) が900mm/secの時に各画素から出力された光応答電流を図4に示す。オプティカルフローカーブは、時刻T1からT6まで (5msec間隔) の各時刻における光応答電流値を時間-空間変換することによって容易に得られる。得られたオプティカルフローカーブを図5に示す。横軸は各画素の位置を示しており、オブジェクトの移動と共にオプティカルフローカーブが動いていく様子が分かる。オブジェクトの速度を変化させて測定したオプティカルフローカーブの結果を図6に示す。速度の増加と共にオプティカルフローカーブの形が変化し、そのピーク値と幅は共に増大している。これらの結果は、シミュレーションで得られた結果と一致していた。

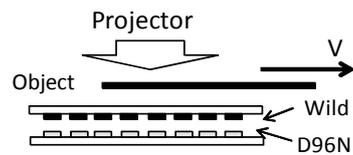


図3 オプティカルフロー検出実験の構成概略図

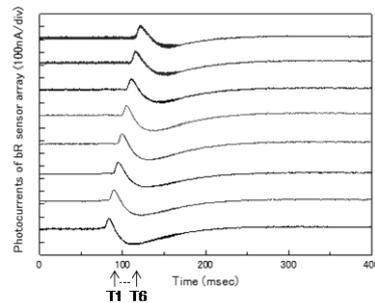


図4 8画素1次元アレイ型バイポーラセンサーの光応答電流

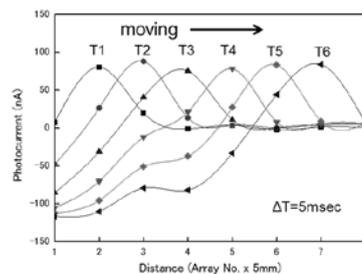


図5 1次元アレイ型センサーで得られたオプティカルフローカーブ

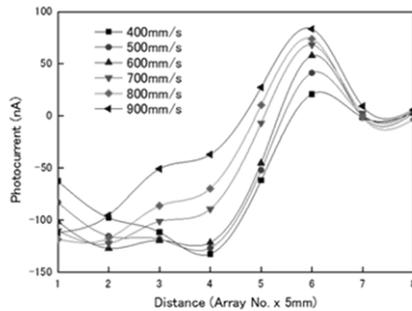


図6 各速度におけるオプティカルフローカーブ

以上の結果を基に 8×8 画素の2次元アレイ型バイポーラセンサー（画素サイズ: $4\text{mm} \times 4\text{mm}$ 、間隔: 1mm ）を作製し、同様のオプティカルフロー検出実験を行った。2次元アレイ型とした場合にはbR 薄膜作製の面積が広がるため、ディップコートによる薄膜作製時に膜厚の不均一が画素間に生じ、画素によって検出感度が違ってくるといった問題が生じた。ディップコーティングの際の引き上げ速度とbR 溶液濃度の調整を繰り返し行ってある程度の改善が得られたものの不十分であったため、各画素出力を出力振幅で規格化してデータ処理を行った。この結果、作製した2次元アレイ型bRバイポーラセンサー（ 8×8 画素）を用いて、オブジェクトの動きに対するオプティカルフローのカーブを動的に検出することができた。実験で得られた動的なオプティカルフローのある時刻におけるカーブを例として図7に示す。進行方向先端が強調され速度に応じてカーブが変化する。これらの成果については、国内学会、研究会、国際会議で報告した。併せて、バーコーティング法によるbR 薄膜作製の改善、bR 薄膜のパターニング法についても検討と実験を行った。

bRを用いた光センサーの研究についてはいくつかの研究グループによる報告があるが、従来は野生型あるいは変異体の1種類のbRのみを用いて行われてきた。本研究は、光応答特性の異なる2種類（野生型と変異体）のbRを組み合わせてセンサーを高機能化するというものである。この研究成果により、これまでデジタル技術による計算処理のみによって行われてきたオプティカルフローの検出技術に新たな技術革新がもたらされる可能性がある。自律移動型ロボットでは、その姿勢制御や周囲の障害物を検出するために様々なセンサーが組み込まれている。これらのセンシング機能を昆虫に学ぶオプティカルフローセンサーに置き換えることが可能であり、ロボットの構造が簡素化され小型化と高機能化の両立が可能となる。また、バイオ材料そのものの機能を活かして新たに高機能化したセンサー作り出すという概

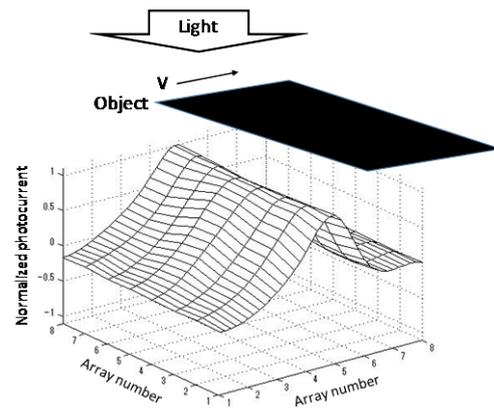


図7 2次元アレイ型センサーで得られたオプティカルフローカーブ ($V=1\text{m/sec}$)

念は、他の材料でバイオの機能を模倣するという従来のバイオミメティック技術を新たに超えるものである。低環境負荷、低コストという点からも将来性があり、関連する分野への社会的インパクトは極めて大きい。

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 5件）

1. T. Yamada, Y. Haruyama, K. Kasai, T. Kaji, Y. Tominari, S. Tanaka, A. Otomo, Fabrication of bacteriorhodopsin (bR) thin films by wire-bar coating technique and evaluation of transient photocurrent response in its bR photocells, IEICE Trans. Electron. 査読有, E100-C, 2017, pp.133-136. DOI: 10.1587/transcle.E100.C.133
2. K. Kasai, Y. Haruyama, T. Yamada, M. Akiba, T. Kaji, Y. Tominari, S. Tanaka, Y. Okada-Shudo, A. Otomo, Optical-Flow Sensing Using a Bacteriorhodopsin-based Bipolar Photosensor Array, OSA Technical Digest (online), 査読無, 2016. DOI: 10.1364/SENSORS.2016.SeW2F.2
3. Y. Haruyama, K. Kasai, T. Yamada, S. Tanaka, Y. Tominari, T. Kaji, M. Kitamura, A. Otomo, Development of UV Light Irradiation Patterning of Bacteriorhodopsin Thin Films for Biomimetic Functional Devices, Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 査読有, 16, 2016, pp. 3420-3425. DOI: 10.1166/jnn.2016.12308
4. 山田俊樹、春山喜洋、笠井克幸、梶貴博、富成征弘、田中秀吉、大友明、バーコーティング法によるバクテリオロドプシン薄膜の作製とその光応答セルの時間

微分型光応答電流の評価、電子情報通信学会技術研究報告 (IEICE Technical Report)、査読無、115、2015、pp. 47-51.
<http://ci.nii.ac.jp/naid/40020651156>

5. 笠井克幸、春山喜洋、山田俊樹、秋葉誠、梶貴博、富成征弘、田中秀吉、岡田佳子、大友明、バクテリオロドプシンを用いたオプティカルフロー検出型視覚機能の構築、電子情報通信学会技術研究報告 (IEICE Technical Report)、査読無、114、2014、pp. 33-37.
<http://ci.nii.ac.jp/naid/110009959371>

[学会発表] (計 22件)

1. H. Hasegawa, K. Kasai, T. Yamada, S. Tanaka, Y. Tominari, T. Kaji, A. Otomo, Y. Okada-Shudo, Fabrication of biomimetic sensing devices using bacteriorhodopsin via an inkjet printing method, SPIE Optics + Photonics 2017 (招待講演, 発表確定), 2017年08月6日~8月10日, San Diego (USA).
2. 長谷川裕之、笠井克幸、山田俊樹、田中秀吉、富成征弘、梶貴博、岡田佳子、大友明、インクジェット法によるバクテリオロドプシン視覚情報処理デバイスの構築 (1)、第64回応用物理学会春季学術講演会、2017年3月14日~3月17日、パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市)。
3. H. Hasegawa, K. Kasai, Y. Tominari, T. Kaji, T. Yamada, S. Tanaka, Y. Okada-Shudo, A. Otomo, Inkjet Printing of Bacteriorhodopsin for Biomimetic Photonic Devices, 12th International Conference on Nano-Molecular Electronics, 2016年12月14日~12月16日, 神戸国際会議場 (兵庫県神戸市)。
4. T. Yamada, Y. Haruyama, K. Kasai, T. Kaji, Y. Tominari, S. Tanaka, A. Otomo, Efficient differential photocurrent generation in waveguide-type bacteriorhodopsin photocells, 12th International Conference on Nano-Molecular Electronics, 2016年12月14日~12月16日, 神戸国際会議場 (兵庫県神戸市)。
5. K. Kasai, H. Hasegawa, T. Yamada, M. Akiba, Y. Tominari, T. Kaji, S. Tanaka, A. Otomo, Y. Okada-Shudo, Optical-Flow Sensing Characteristics of a Bacteriorhodopsin-Based Bipolar Photosensor Array, 12th International Conference on Nano-Molecular Electronics, 2016年12月14日~12月16日, 神戸国際会議場 (兵庫県神戸市)。
6. 田邊季正、笠井克幸、岡田佳子、光受容タンパク質を用いた単純型細胞受容野フィルターによる画像処理、日本光学会年次学術講演会、2016年10月30日~11月02日、筑波大学東京キャンパス文京校舎 (東京都文京区)。
7. 長谷川裕之、笠井克幸、山田俊樹、田中秀吉、富成征弘、梶貴博、岡田佳子、大友明、光デバイス作製を指向したインクジェット法によるバイオ材料のパターニング、第77回応用物理学会秋季学術講演会、2016年9月13日~9月16日、朱鷺メッセ (新潟県新潟市)。
8. 笠井克幸、長谷川裕之、山田俊樹、秋葉誠、富成征弘、梶貴博、田中秀吉、岡田佳子、大友明、バクテリオロドプシンを用いた2次元アレイ型バイポーラ光センサーによるオプティカルフロー検出、第77回応用物理学会秋季学術講演会、2016年9月13日~9月16日、朱鷺メッセ (新潟県新潟市)。
9. K. Kasai, Y. Haruyama, T. Yamada, M. Akiba, T. Kaji, Y. Tominari, S. Tanaka, Y. Okada-Shudo, A. Otomo, Optical-Flow Sensing Using a Bacteriorhodopsin-based Bipolar Photosensor Array, OSA Advanced Photonics Congress, 2016年7月18日~7月20日, Vancouver (Canada)。
10. T. Yamada, Y. Haruyama, K. Kasai, T. Kaji, Y. Tominari, S. Tanaka, A. Otomo, Fabrication of bacteriorhodopsin (bR) thin films by wire-bar coating technique and evaluation of transient photocurrent response in its bR photocells, 9th International Symposium on Organic Molecular Electronics, 2016年05月18日~5月20日, 新潟大学駅南キャンパス (新潟県新潟市)。
11. 宮下一馬、笠井克幸、春山喜洋、岡田佳子、バクテリオロドプシン光センサーの時間周波数特性におけるpH緩衝液効果、第63回応用物理学会春季学術講演会、2016年3月19日、東京工業大学大岡山キャンパス (東京都目黒区)。
12. 山田俊樹、春山喜洋、笠井克幸、梶貴博、富成征弘、田中秀吉、大友明、導波路型バクテリオロドプシン光応答セルによる時間微分型光応答電流の高効率化、第63回応用物理学会春季学術講演会、2016年3月19日、東京工業大学大岡山キャンパス (東京都目黒区)。
13. 向井貴之、田邊季正、小野田萌、笠井克幸、春山喜洋、岡田佳子、光受容タンパク質を用いた網膜神経節細胞受容野型フィルター素子、日本光学会年次学術講演会、2015年10月30日、筑波大学東京キャンパス文京校舎 (東京都文京区)。
14. 笠井克幸、春山喜洋、山田俊樹、秋葉誠、富成征弘、梶貴博、田中秀吉、岡田佳子、

- 大友明、バクテリオロドプシンを用いた
オプティカルフローセンシング技術の
開発 (3)、第 76 回応用物理学会秋季学
術講演会、2015 年 09 月 13 日、名古屋国
際会議場 (愛知県名古屋市)。
15. 向井貴之、本井拓馬、春山喜洋、笠井克幸、岡田佳子、タンパク質を用いた受容
野型フィルター素子による画像処理、第
62 回応用物理学会春季学術講演会、2015
年 3 月 13 日、東海大学 (神奈川県平塚
市)。
 16. 宮下一馬、田邊秀正、三藤剛、春山喜洋、
笠井克幸、岡田佳子、バクテリオロドプ
シン光センサーの pH 緩衝液定量、第 62
回応用物理学会春季学術講演会、2015
年 3 月 11 日、東海大学 (神奈川県平塚
市)。
 17. 笠井克幸、春山喜洋、山田俊樹、秋葉誠、
富成征弘、梶貴博、田中秀吉、岡田佳子、
大友明、バクテリオロドプシンを用いた
オプティカルフローセンシング技術の
開発 (2)、第 62 回応用物理学会春季学
術講演会、2015 年 3 月 11 日、東海大学
(神奈川県平塚市)。
 18. Y. Haruyama, K. Kasai, T. Yamada, S.
Tanaka, Y. Tominari, T. Kaji, M.
Kitamura, A. Otomo, Development of UV
irradiation pattering of
bacteriorhodopsin thin films for
biomimetic functional devices, 11th
International Conference on
Nano-Molecular Electronics, 2014 年
12 月 18 日, 神戸国際会議場 (兵庫県神
戸市)。
 19. T. Kaji, K. Kasai, S. Inoue, Y.
Haruyama, T. Yamada, Y. Tominari, R.
Ueda, T. Terui, S. Tanaka, A. Otomo,
Fabrication of high-efficiency
light-sensing devices using
nanostructured transparent
electrodes and bacteriorhodopsin,
11th International Conference on
Nano-Molecular Electronics, 2014 年
12 月 18 日, 神戸国際会議場 (兵庫県神
戸市)。
 20. K. Kasai, Y. Haruyama, T. Yamada, M.
Akiba, T. Kaji, Y. Tominari, S. Tanaka,
A. Otomo, Y. Okada-Shudo, Novel
Optical-Flow Sensing Method Using
Bacteriorhodopsin Wildtype and Its
Variant - Insect-Inspired Motion
Detection -, 11th International
Conference on Nano-Molecular
Electronics, 2014 年 12 月 18 日, 神戸
国際会議場 (兵庫県神戸市)。
 21. 笠井克幸、春山喜洋、山田俊樹、秋葉誠、
梶貴博、富成征弘、田中秀吉、岡田佳子、
大友明、バクテリオロドプシンを用いた
オプティカルフロー検出型視覚機能の
構築、電子情報通信学会有機エレクトロ

- ニクス研究会、2014 年 10 月 10 日、大阪
大学中之島センター (大阪府大阪市)。
22. 梶貴博、笠井克幸、井上振一郎、春山喜
洋、山田俊樹、富成征弘、上田里永子、
照井通文、田中秀吉、大友明、バクテリ
オロドプシンとナノ構造化透明電極を
用いた高効率光センシングデバイスの
作製、第 75 回応用物理学会秋季学術講
演会、2014 年 09 月 20 日、北海道大学 (北
海道札幌市)。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

笠井 克幸 (KASAI, Katsuyuki)

国立研究開発法人情報通信研究機構・未来
ICT 研究所フロンティア創造総合研究室・
主任研究員

研究者番号 : 90359084

(3) 連携研究者

岡田 佳子 (OKADA-SHUDO, Yoshiko)

電気通信大学・情報理工学 (系) 研究科・
准教授

研究者番号 : 50231212