

令和元年6月3日現在

機関番号：82626

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K05921

研究課題名(和文) 異構造光トラップ場を用いた非接触3次元マイクロ操作の高機能化と汎用化の研究

研究課題名(英文) Studies on general-purpose optical tweezers system with different optical configurations for high performance non-contact 3D micromanipulation

研究代表者

田中 芳夫 (TANAKA, Yoshio)

国立研究開発法人産業技術総合研究所・生命工学領域・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) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、光学的干渉の発生しない2組の光トラップ場の3次元時空間構造を精密に実時間制御できる2ビーム光ピンセット光学系を試作し、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、光学顕微鏡下の多様な物質を高精度に3次元マイクロ操作するための基盤技術を開発した。試作した電気式焦点可変レンズと2軸ジンバルミラーによる3D光ピンセットを2組用いる双腕光ピンセット、およびマイクロレンズアレイによる多点光ピンセットを1本のビームに組み入れた双腕光ピンセットの2種類のシステムを用いて、微粒子の多彩なパターン配置、クラスタ化、3D細胞把持ツールの自動生成など、これらシステムの有効性を実証した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で提案した2種類の光学系は、2軸走査ミラーと焦点可変レンズまたはマイクロレンズアレイという2種類の安価な市販素子を用いて、一般的な1ビーム多点光ピンセット光学系では実現の困難な大規模または複雑な3次元マイクロ操作を、光学素子1個を交換するという形で可能とする、汎用性の高い高機能な双腕型光ピンセットの構成法を提供するものである。したがって、試料の一括大量操作や3次元精密操作などが不可欠なライフサイエンス分野などにおける光ピンセットの有用性をより高めるものであり、今後、AI技術などをこのシステムへ統合することで、汎用マイクロ操作技術として、多様な分野でより一層の学術的貢献が期待できる。

研究成果の概要(英文)：In this research, in order to precisely manipulate various micro-objects in a true three-dimensional (3D) workspace, we have developed two types of dual optical tweezers (OTs) that can precisely control the spatial-temporal 3D structure of laser trap potentials in real time which were combined with intelligent control techniques such as computer vision. Using two 3D OTs system constructed by two sets of the 2-axis gimbal mirror and electrically focus-tunable lens and/or OTs system with a microlens array, we demonstrated the kaleidoscopic patterning and clustering of numerous microbeads, the automated assembling of cell-grasping tools in 3D workspace, and so forth. These dual OTs systems will open up new possibilities in the biomedical field, particularly in single cell and 3D biology.

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

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

マイクロ・ナノテクノロジー、再生医療・バイオテクノロジーにおける細胞操作など、21世紀の科学・産業技術の核となる様々な領域で、光学顕微鏡下の多様な微小物を精密かつ自動的に計測・操作する技術が重要となっている。マイクロ操作技術は、接触型と非接触型の2つに分類され、接触型はマイクロマシンプログラミングで開発されたマイクロハンドやAFMプローブを利用する方法が知られている。一方、非接触型は、微小容器中などの閉鎖空間で雑菌の混入を防止しつつ遠隔操作も可能という、ライフサイエンス分野での応用に適した特徴を有する。特に、レーザー光を用いる光ピンセットは、1970年にAshkin博士により初めて報告されて以来、走査法、ホログラム法、一般化位相コントラスト法、時分割法など、この数十年の間に1台のレーザー光源で複数対象物を同時操作できる様々な方法が提案されると共に、1分子DNA操作や細胞内の微小な力の計測など、ライフサイエンスを中心に応用分野が広がっている。(この応用分野の広がりによりAshkin博士は2018年にノーベル物理学賞を受賞した。)しかし、光ピンセットは、各種の制約から、操作対象は主にマイクロビーズや浮遊細胞などの球形微小物の2次元操作に限定され、一部の研究者のための高額実験装置に留まっていた。それ故、 μ -TASやBio-MEMS構成要素の駆動・配置、顕微鏡熟練作業の自動化など多様な分野へ適用可能領域を拡大するためには、光ピンセットマイクロ操作においても、非球状な対象物の3次元空間での6自由度操作が必要不可欠かつ本質的であり、また、画像処理などの高度自動化技術に基づいた多数の対象物の並列、高速、自動操作方法の開発の重要性が本研究代表者(電子情報通信学会誌, Vol. 85(10), 736/739, 2002)などにより指摘されていた。

2. 研究の目的

本研究では、光学的干渉の発生しない2組の光トラップ場の3次元時空間構造を精密に実時間制御できる双腕3D光ピンセットを試作し、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と光学的性質を有する物質を、高精度に3次元マイクロ操作するための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学術的確立をめざすと共に、 μ -TASやBio-MEMS構成要素の制御、顕微鏡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ことを研究目的とする。

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・双腕3D光ピンセット光学系の試作と基本性能評価

研究代表者が2011年に発表したハイブリッド光ピンセットと2013年に発表した3次元時分割多点光ピンセットの、2つのシステムに採用した走査光学系を電気式焦点可変レンズと2軸ジンバルミラーによる高精度・高速な3次元時分割同期走査(3D-T3S)を行うのに最適な光学系に改造・最適化する。この改造により、空間光変調器によって勾配型などの面単位の大域的光トラップ場を制御する一般化位相コントラスト(GPC)法と3D線分型や3D孤立点型の光トラップ場を制御する3D-T3S法の2方式を併用して生成する異構造複合型光トラップ場を制御できるハイブリッド3D光ピンセット系と、高精度な3D孤立点・走査型を2組生成し、それらを協調制御できる双腕光ピンセット系の2種類の光トラップ場3次元制御光学系を試作・開発する。その後、試作した2種類の光学・制御系について、各ビームの単独使用時の捕捉・マイクロ操作性能を入力レーザーパワーと一度に捕捉操作できる対象物の個数などにより精査する。また、既存するYAGレーザー光源を用いて構築したハイブリッド3D光ピンセット系では、GPC光学系がレーザーパワー不足等により、操作できる微小物のサイズ・形状等が極めて狭い範囲に制限されることも想定されるので、基本性能の精査と並行して、GPC光学系に代わるトラップ場生成法として、マイクロレンズアレイを用いて広域光トラップ場を生成する方法についても、その可能性を検討する。

(2)双腕光ピンセットを用いたマイクロ操作の高機能・自動化

光学構成 ~ の内、基本性能の確認できた双腕マイクロ操作光学系を用いて、画像処理で得られる対象物の姿勢等の視覚情報を利用して双腕制御(協調制御)する方法について検討する。視覚フィードバック制御系には、3D-T3S法の3D走査サーボ系と同程度の時間間隔での画像処理を用いた姿勢認識、把持力と力の作用方向の検出・推定等が必要と想定されるため、高フレームレートカメラを利用した高速な画像処理方法を検討する。また、自動化の困難な複雑な3次元マイクロ操作を実施するための双腕システムのマニュアル制御のためのユーザーインターフェースについても検討する。

4. 研究成果

(1)マイクロレンズアレイによる広域トラップ場の制御

2ビーム光ピンセットの1本のビーム系に市販のマイクロレンズアレイを組み入れることで、高価な光学デバイスである空間光変調器を用いることなく100個以上のトラップ点を生成できる多点光ピンセット光学系を考案した。また、このマイクロレンズアレイの基本格子から生成さ

れる光トラップ点を時分割同期走査することで、基本格子の整数倍の格子状光トラップ点を生成し、この時分割走査による格子状光トラップ点へ、2 ビーム光ピンセットのもう 1 本の光ピンセットビーム制御系を用いて生成した 3D 光トラップ点をマウス操作で位置制御することで、12x12 以上の格子、すなわち百数十個の微粒子からなる動的微粒子アレイなどを極めて容易に作成できることを示し、本手法の有効性を実証した(図1)。さらに、この時分割同期走査による動的微粒子アレイ作成法を、エッシャーの絵画のように任意の図形の周期パターンとして微粒子を配置し、また微粒子や細胞のクラスタを作成できる方法(図2)として拡張した。

これらの結果は、顕微鏡視野全体に分布する多数の微粒子や細胞を一括して光ピンセット操作し、また、その後にそれらを接触させることで、異なる性質を有する微粒子の凝集クラスタなどを作成する方法と、そのための安価な光ピンセット光学系の設計方法を提供するものであり、3次元バイオロジー研究などライフサイエンス分野における汎用研究ツールとしての光ピンセット技術の有用性を高めるものとする。なお、これらの研究成果は国内外の学会で研究発表すると共に、光学分野の上位 20% のインパクトファクター(IF)を有する国際誌(論文)などに掲載された。

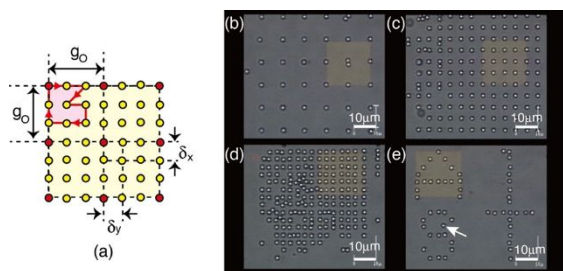


図1 高密度な動的微粒子アレイの例
(b:基本格子, c: 2倍, d: 3倍密度)

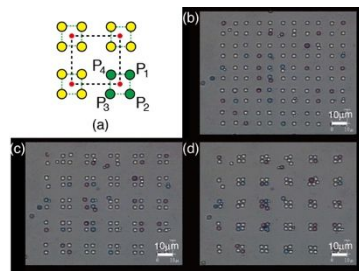


図2 2倍密度のアレイに3色の微粒子を捕捉し、クラスタを一括作成する様子

(2) エンドエフェクタを交換可能な双腕光ピンセットと全自動マイクロ操作

電気式焦点可変レンズ、2軸走査ジンバルミラー、マイクロレンズアレイの入手の容易な3種類の市販光学素子を用いて、一般的な1ビームの多点光ピンセット光学系では実施の困難な、大規模または複雑な3次元マイクロ操作を可能とする2種類の双腕多点光ピンセット光学制御系が、ロボットアームのエンドエフェクタを交換するように容易に選択交換できる光学系を提案し、双腕型光ピンセット制御システムとして試作した(図3)。この双腕システムにおいて、2組の3D-T3S法を適用し、円ハフ変換を用いた微粒子認識技術と衝突回避アルゴリズムを融合することで、数十個の微粒子を一括捕捉・3次元操作し、知恵の輪パターンや細胞把持・ねじり用の六角形状把持ツール(図4)等の作成が自動的に行えることなど、さまざまなデモ実験により、提案する双腕システムの有効性を実証した。

これらの結果は、マイクロ閉鎖空間で知恵の輪遊びや細胞のねじり操作など、これまで全く想定すらなされていない光学顕微鏡下の複雑な3次元マイクロ操作を、提案した双腕多点3次元光ピンセットで行える可能性を示すものであり、微熟練作業の自動化のみならず3次元バイオロジーなど、ライフサイエンスにおける新たな研究上の視点を切り開くための重要かつ唯一の研究ツールとして光ピンセット技術の有用性をより高めるものとする。なお、これらの研究成果は国内外の学会で研究発表すると共に、光学分野の上位 20% の IF を有する国際誌(論文)などに掲載された。

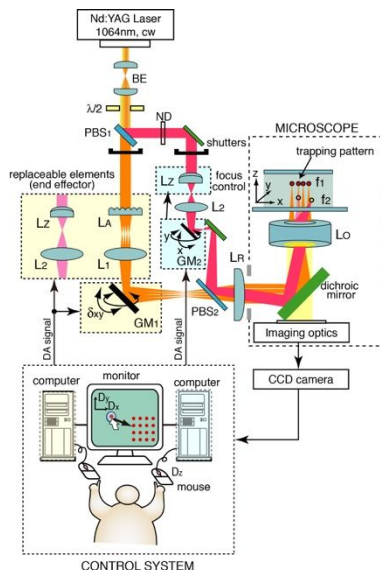


図3 試作した双腕光ピンセットの構成

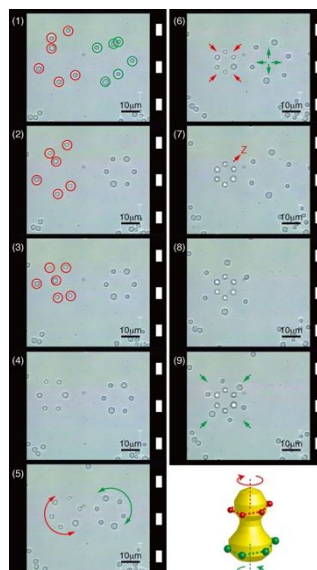


図4 3D把持・ねじり操作六角形ツール

(3) 双腕システムのユーザーインターフェイス

マウスに代わる双腕多点3次元光ピンセット操作ユーザーインターフェイスとして、安価な市販3次元指示デバイスである Leap Motion Controller (以下 LMC) の適用可能性を検討した(図5)。光ピンセットでは、時分割法などで1本のビームから、複数のトラップ点を生成でき、生成した複数のトラップ点で1個の対象を捕捉することで、多指ハンドのように剛体の姿勢を操作することもできる。微小球を操作ツールとして複雑形状の操作対象を間接トラップする場合や、多指ハンド双腕マニピュレータを協調させながら把持した対象を3D操作するような、事前の作業計画が困難である複雑操作などには、LMCをユーザーインターフェイスとして行う操作は有効と考えられた。しかし、実マイクロ作業空間での対象の精密操作に LMC を用いるには、制御ソフトウェア上の解決すべき課題が数多くある事もわかった。

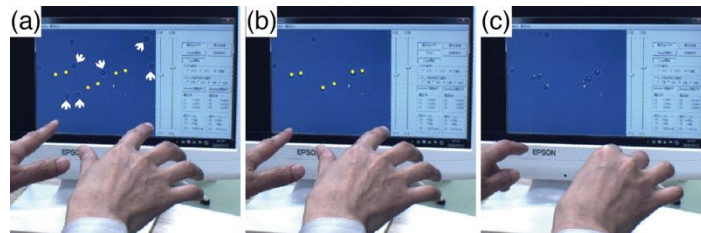


図5 両手指先による6個の微粒子の同時操作の様子

以上、2軸走査ミラーと焦点可変レンズまたはマイクロレンズアレイという2種類の安価な市販素子を用いて、一般的な1ビーム多点光ピンセット光学系では実現の困難な大規模または複雑な3次元マイクロ操作を、光学素子1個を交換するという形で可能とする、汎用性の高い高機能な双腕型光ピンセットを試作し、本装置に画像処理などの高度自動化技術を統合・融合化することで、試料の一括大量操作や3次元精密操作など、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、光ピンセットマイクロ操作技術を拡張・汎用化するための学術的基盤を築くことができた。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、欧米の国際学術誌に原著論文として3報掲載された。今後は、本研究で残された課題を精査し、より高機能かつ汎用的な双腕光ピンセット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3次元双腕操作のユーザーインターフェイスなどを研究することが、光ピンセットによる非接触マイクロ操作技術の確立とその応用分野の拡大を図る上で重要であるという認識の下、令和元年度から開始した新規科研費基盤研究(C)の中で更なる展開を行う予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計3件)

Y. Tanaka, Double-arm optical tweezer system for precise and dexterous handling of micro-objects in 3D workspace, *Optics and Lasers in Engineering*, 査読有, Vol.111, 65/70 (2018), DOI: 10.1016/j.optlaseng.2018.07.019

Y. Tanaka, Kaleidoscopic patterning of micro-objects based on software-oriented approach using dual optical tweezers with a microlens array, *Micro & Nano Letters*, 査読有, Vol.12(9), 689/692 (2017), DOI: 10.1049/mnl.2017.0116

Y. Tanaka and S. Wakida, Time-shared optical tweezers with a microlens array for dynamic microbead arrays, *Biomedical Optics Express*, 査読有, Vol.6(10), 3670/3677 (2015), DOI: 10.1364/BOE.6.003670

〔学会発表〕(計11件)

田中芳夫, 3次元双腕光ピンセットシステムによる微粒子の全自動マイクロ操作, 第35回センサ・マイクロマシンと応用システムシンポジウム, 2018

田中芳夫, 田中正人, Leap Motionを用いた双腕光ピンセットの制御(第2報 多指による多点光ピンセットの制御), 平成30年度電気関係学会四国支部連合大会, 2018

Y. Tanaka, Automated patterning and manipulation of microbeads using a dual-beam 3D optical tweezers system, IUPESM 2018 (World Congress on Medical Physics & Biomedical Engineering 2018), 2018

田中正人, 田中芳夫, Leap Motionを用いた双腕光ピンセットの制御(第1報 指先による複数対象物の指示), 平成29年度電気関係学会四国支部連合大会, 2017

田中芳夫, エンドエフェクタを交換可能な双腕光マニピュレータ, 第22回知能メカトロニクスワークショップ, 2017

Y. Tanaka, Double-arm optical manipulator with a microlens array for flexible patterning of microbeads, EMBEC '17 (European Medical and Biological Engineering Conference) & NBC '17 (Nordic-Baltic Conference on Biomedical Engineering and Medical

Physics), 2017

田中芳夫, 多様なマイクロ操作のための双腕光マニピュレータの設計, ロボティクス・メカトロニクス講演会 2017, 2017

Y. Tanaka, Kaleidoscopic patterning of microbeads using a dual optical tweezers system, MNE2016 (42nd International Conference on Micro and Nano Engineering), 2016

田中芳夫, マイクロレンズアレイを用いた3次元双腕光ピンセットの開発, 平成28年電気学会産業応用部門大会, 2016

田中芳夫, 脇田慎一, マイクロレンズアレイを用いた双腕光ピンセットシステムの試作, 第32回センサ・マイクロマシンと応用システムシンポジウム, 2015

田中芳夫, 脇田慎一, マイクロレンズアレイによる動的微粒子配列, 平成27年度電気関係学会四国支部連合大会, 2015

〔産業財産権〕

出願状況(計1件)

名称: 微粒子配列の作成および配向制御方法

発明者: 田中芳夫, 脇田慎一

権利者: 産業技術総合研究所

種類: 特許

番号: 特許願 2015-103812 号

出願年: 平成27年

国内外の別: 国内

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。