

オーガナイズドバイオモジュールの 実現に向けたゾウリムシの応答計測

Response Measurement of Paramecia for Realization of Organized Bio-Modules

学 尾川 順子 (東大) 学 奥 寛雅 (東大) 正 橋本 浩一 (東大) 正 石川 正俊 (東大)

Naoko OGAWA, Hiromasa OKU, Koichi HASHIMOTO and Masatoshi ISHIKAWA

University of Tokyo, 7-3-1, Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8656, Japan

In this Paper, we propose a novel concept named "Organized Bio-Modules," the smart microsystem composed of microorganisms with their superior sensors and actuators. We investigated the response of Paramecia for electric stimuli by the measurement using high-speed vision.

Key Words: Organized Bio-Modules, Micromachine, Paramecium, Galvanotaxis, High-Speed Vision

1 まえがき

生物にとって、環境変化の的確な感知とそれに応じた素早い行動とは死活にかかわる最重要事項であり、高性能なセンサとアクチュエータが進化の過程で獲得されてきた。特に微生物はその性能や効率の点で、既存のマイクロマシンを凌駕するといえる。この微生物が持つ優れたセンサやアクチュエータを情報処理機構と統合し、その生体機構を積極的に利用することができれば、柔軟かつ多様な機能を有する超大規模システムの実現が μm オーダで可能となる。

我々はこの観点に基づき、微生物個体をセンサとアクチュエータが統合された一行動単位 (バイオモジュール) とみなし、さらにビジュアルサーボ技術と微生物群の協調を利用して微生物群をフィードバック制御する、オーガナイズドバイオモジュール (OBM) と呼ばれるシステムを構成することを目指している。OBM が実現できれば、既存のマイクロシステムを超える高性能なシステムの構築が可能となり、医療やライフサイエンス分野への貢献が期待される。

このように微生物のセンサ及びアクチュエータをセンサフィードバックにより工学的に利用する試みは、先行研究では皆無に等しく、微生物自体の機構自体も未だ未知の部分が多い。そこで、我々は OBM 構築のための基礎的な研究に重点をおくこととし、本稿ではその第一歩として、ゾウリムシの制御モデル構築に向けた応答計測実験について報告する。

2 バイオモジュールとしてのゾウリムシ

バイオモジュールとして用いる微生物の選定には、いくつかの条件が存在する。まず、アクチュエータとして用いるためには、何らかの外部刺激により位置を制御することが必要となる。また、計測や画像処理に際し、光学顕微鏡で容易に観察できる大きさが求められる。さらに、マイクロ世界での物体のマニピュレーションに十分なパワーが出せることが望ましい。

以上を踏まえ、我々は今回、原生生物の一種であるゾウリムシ (*Paramecium caudatum*) を用いた。ゾウリムシは、溶液中に電流が流れると負極方向に向かって泳ぐという負の電気走性をはじめ、様々な刺激に対し走性を示す¹⁾ため、ゾウリムシの運動を外部刺激によって比較的容易に制御することが可能である。また、ゾウリムシは体長が約 $250 \mu\text{m}$ と、光学顕微鏡での観察が容易である。ゾウリムシによる物体のマニピュレーション例もすでに報告されており²⁾、加えて扱いが容易なことから、本研究で利用することにした。

3 ゾウリムシの応答計測

3.1 方針

ゾウリムシをオーガナイズドバイオモジュールとして制御するためには、刺激に対するゾウリムシの応答を計測し、ゾウリムシの制御モデルを構築する必要がある。一般にマイクロ世界はスケーリング則のために高周波数帯域の運動に支配されており、マイクロ世界の制御には kHz オーダでの挙動を高精度でモデル化する必要が生じる。

これまでに、生物学的観点からゾウリムシのモデルが数多く構築されているが^{3, 4)}、制御対象として制御論的観点からゾウリムシをシステム同定した研究は見当たらない。伊東は制御目的でゾウリムシの基礎特性を調べているが²⁾、制御論的モデルは確立されておらず、空間分解能、時間分解能ともに我々の目的には不十分である。

本研究では、ゾウリムシの刺激応答の kHz オーダでの計測が可能であることを示すとともに、ゾウリムシのモデル構築のための基礎データとして、電場刺激に対するステップ応答を計測する。

3.2 システム構築

システム構成を Fig.1 に示す。以下、各構成要素を説明する。

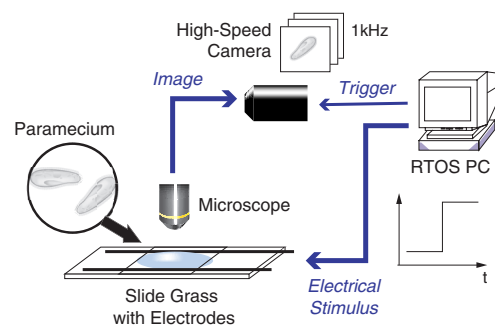


Fig. 1 System block diagram.

[計測系] ゾウリムシの応答を ms オーダで高速に撮像するために、Vision Research 社製高速カメラ Phantom V4.0 を使用している。このカメラは、 512×512 画素のモノクロ画像を $1,000 \text{ frame/s}$ で $4,084$ 枚連続して撮像でき、後述する PC からトリガを入力することにより、電場刺激に同期して撮像可能である。これを顕微鏡 OLYMPUS 社製ステージ固定式正立顕微鏡 BX50WI に装着した。

[ステップ電場入力系] 電極付きのスライドグラスにゾウリムシを培養液ごと置き、PC から電極に電圧をかけてゾウリムシ

にステップ入力を与えている．スライドガラスの画像を Fig. 2 に示す．電極は pH 変化の少ない炭素電極が望ましいため、今回はシャープペンシルの芯（硬さ 4B）で代用した．2 本の電極が互いに 10mm 離れてスライドガラスに瞬間接着剤で固定され、電極の一端は導電性接着剤により導線とつながっている．この電極に、PC（PentiumIII/800MHz）から Interface 社製 DA ボード PCI3310 を介して電圧を出力している．電圧の制御には ART-Linux を用い、1ms のサイクルタイムで実時間処理を行っている．

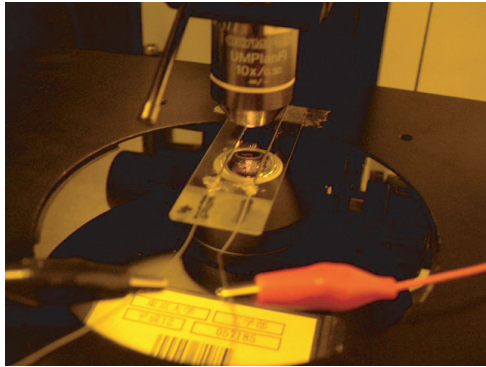


Fig. 2 Slide glass with two carbon electrodes.

3.3 計測実験

実験に使用したゾウリムシは継代後 4 日のもので、ミネラルウォーターに黄な粉を約 1g/l の割合で溶かした培養液ごと、数滴をスライドガラスに乗せた．電極間に 4.0 V の電圧を印加し、4,000 ms ごとに電圧の向きを反転させることでステップ状の刺激をゾウリムシに与えた．ゾウリムシの運動の様子は、高速カメラにより 4,084 ms にわたって撮像した．その際、電圧反転が撮像開始後 2,000 ms の時点で起こるようにトリガを調節した．

ゾウリムシ 7 個体の軌跡を Fig. 3 に示す．単位はピクセルであり、1mm は 63pixel に相当する．山なりに方向転換しているのが見てとれる．

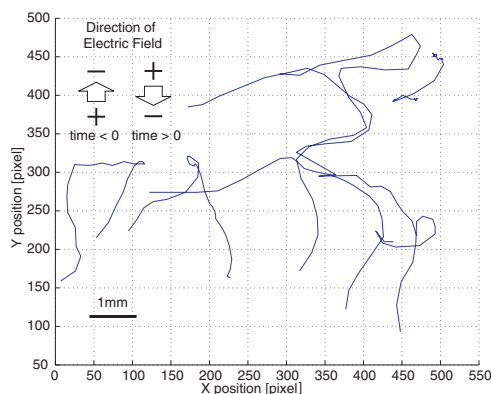


Fig. 3 Sampled trajectories of Paramecium.

電場方向のゾウリムシの変位（7 個体分）を Fig. 4 に示す．横軸は、ステップ入力に加えられた時刻を 0 としたときの時間を示し、縦軸はゾウリムシの前部の座標（電場方向）をピクセル単位で示している（1mm は 63pixel に相当）．多くの個体はステップ応答に加えられてから数十 ms の間に方向転換を行っていることがわかる．なお、方向転換を行ったゾウリムシが電場に対して水平になってから再び垂直に向くまでの時間

は、15 個体の平均が 573.4ms であるが、標準偏差が 298.1ms と大きく、個体差が大きいことがわかった．

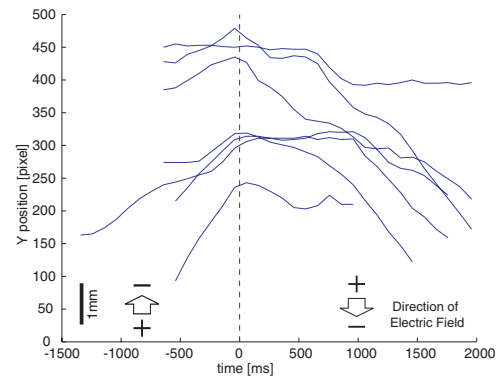


Fig. 4 Response of Paramecium for step inputs of the electrical field.

個体差には継代時期や体長がある程度影響していることが経験的にわかっている．また、溶液の pH やイオン濃度も関連している可能性がある．よってこれらのパラメータについても、今後のさらなる計測が必要である．さらに、今回はゾウリムシの深さ方向の運動により、焦点が合わなくなることがあり、正確な測定を妨げた．これについては、高速可変焦点レンズ⁵⁾が有効な解決法となると思われる．

4 むすび

オーガナイズドバイオモジュールのコンセプトを提案し、その実現に向けてゾウリムシの電場刺激に対する応答計測を行った．今後はマイクロビジュアルフィードバックシステム⁶⁾と統合し、高倍率でトラッキング⁷⁾することにより高精度の計測を実現するほか、高速撮影画像を電圧制御にフィードバックすることにより、ms オーダーでのゾウリムシの制御を実現したい．また大腸菌など、ゾウリムシ以外の生物についてもバイオモジュールとしての有用性を検討していく予定である．

参考文献

- 1) 内藤豊．単細胞動物の行動—その制御のしくみ—．UP バイオロジー 85．東京大学出版会，Dec. 1990．
- 2) A. Itoh. Motion control of protozoa for bio MEMS. *IEEE/ASME Trans. Mechatronics*, 5(2), 181-188, June 2000.
- 3) H.-D. Görtz ed. *Paramecium*. Springer-Verlag, 1988.
- 4) R. Wichterman. *The Biology of Paramecium*. Plenum Press, second edition edition, 1986.
- 5) 奥寛雅, 石川正俊. キロヘルツオーダーで応答可能な高速ビジョンチップ用可変焦点レンズの構造. *光学*, 31(10), 758-764, 2002.
- 6) 奥寛雅, 石井抱, 石川正俊. マイクロビジュアルフィードバックシステム. *電子情報通信学会論文誌 D-II*, J84-D-II(6), 994-1002, Jun. 2001.
- 7) H. Oku, I. Ishii and M. Ishikawa. Tracking a protozoon using high-speed visual feedback. *Proc. 1st Annual Int. IEEE-EMBS Special Topic Conf. Microtechnologies in Medicine & Biology*, 156-159, Oct. 2000.