

ゾウリムシ電気走性のダイナミクスモデルによるオーバランの評価

Evaluation of Overrun in Paramecium Galvanotaxis using its Dynamics Model

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

Naoko OGAWA, University of Tokyo, Naoko_Ogawa@ipc.i.u-tokyo.ac.jp, Hiromasa OKU, JST

Koichi HASHIMOTO, Tohoku University, Masatoshi ISHIKAWA, University of Tokyo

Overrun phenomenon in U-turn motions of Paramecium galvanotaxis was evaluated using the cell dynamics model for microbotic application. It shows that trajectories of cells are independent from the force by cilia of each cell, which is an appropriate nature for motion control.

Key Words: Paramecium, Micromachine, Dynamics, Galvanotaxis, Overrun

1. まえがき

近年、マイクロメートルオーダの微細な世界の計測・制御に対する要求が高まりつつあり、操作者の作業を支援し負担を軽減する自動化技術の導入が望まれている。しかし現存するマイクロマシン技術はセンサ搭載や電源供給・配線が困難などの問題から、非自律的・受動的な単独機能の実現にとどまっている。一方、微生物はその進化の過程で高性能なセンサとアクチュエータを体内に獲得してきた。もし微生物の生理機構にはたらきかけてその特性を制御できれば、既存のシステムを超える様々な機能が実現できる可能性がある。我々はこの観点から、微生物個体を高機能マイクロマシンとみなして制御することを目指している^(1,2)。

微生物のマイクロマシン応用において、アクチュエーション技術の確立は最重要課題であり、非侵襲、非接触な運動制御技術として電気走性の利用が有用である。これまでゾウリムシに対し、電気走性を利用したごく単純な運動制御が行われている^(3,2,4)。しかし、これらは経験則に基づいた制御のため、制御性能に限界があった。例えば、ゾウリムシの向きを変えるために電気刺激を変化させてから、実際にゾウリムシがその方向へ向くまでには、数百～数千ミリ秒程度かかることがわかっており⁽¹⁾、実際の運動制御実験において、この時間遅れのためにゾウリムシが行き過ぎてしまう(オーバラン)などの問題を引き起こしている^(3,2)。

これに対し、ゾウリムシをロボティクスの枠組から議論することで、より高度な制御が可能になると考えられる。そのためには、ゾウリムシの物理的なダイナミクスを把握し、数学的に表現することが必要である。しかしこのようなロボティクスの観点からゾウリムシの電気走性をモデル化した例はこれまでに見当たらず、従来のゾウリムシモデルは生理学的なものがほとんどであった。数少ない物理モデルとしては杉野らのモデルがあるが、電場の存在は仮定していない⁽⁵⁾。坂根ら、平野らは化学走性、機械走性に対してモデルを構築したが、電気走性は原理的に大きく異なる現象なので、適用が不可能である^(6,7)。Itohは原生生物の制御の先駆者であるが、制御手法は経験則から導かれたファジールールにとどまっていた⁽³⁾。ゾウリムシ電気走性を物理的に扱った稀な例であるRobertsのモデルは、実データとの比較等によるモデルの検証がほとんどなく妥当性が不透明である⁽⁸⁾。そこで、著者らはゾウリムシの電気走性のダイナミクスモデルを構築し、実際のゾウリムシの行動

と比較してその振舞いが定性的に妥当であること、陰極への遊泳やUターン行動などが再現されることを確認した⁽⁹⁾。

本稿では、構築したダイナミクスモデルを用いてゾウリムシのオーバランを数値実験により評価する。そして、ゾウリムシの軌跡が未知パラメータである繊毛の推進力に依存しないことを示し、位置制御にとって望ましい性質であることを示す。

2. ゾウリムシとその電気走性

ゾウリムシ(*Paramecium caudatum*)は淡水に棲む原生生物の一種で、体長200～250 μm ほどの楕円体形の単細胞生物である⁽¹⁰⁾。ゾウリムシは体表面に無数に生えている繊毛を繰り返し動かす(これを繊毛打という)ことで水を後方に押し、その反作用で水中を遊泳する⁽¹¹⁾。

ゾウリムシのこの繊毛運動は、細胞の膜電位の変化とそれに伴うイオン濃度変化によって制御されている。したがって、もし細胞外部に電場をかけると、膜電位の変動により繊毛運動が変化し、ゾウリムシの運動に影響が生じる。具体的には、ゾウリムシは陰極に向かって泳ぐようになる。これを負の電気走性という。

電場の中におかれたゾウリムシを観察すると、特徴的な繊毛反応がみられる。図1のように、電場方向に垂直な平面をやや陰極よりに置いてゾウリムシを二分したと考えると、陽極側の繊毛は激しく打ち出し(繊毛打強化)、陰極側の繊毛は逆向きに激しく打ち出す(繊毛打逆転)。これはLudloff現象と呼ばれ、これによってゾウリムシの負の電気走性は定性的に説明される⁽¹²⁾。すなわち、図1の網掛け部分における繊毛打方向の不均衡により生じる回転力が、ゾウリムシを陰極に向かわせることとなる(その他の部分の繊毛運動は左右対称であるため、回転には寄与しない)。

3. ゾウリムシ電気走性のダイナミクスモデル

著者らの構築したゾウリムシのダイナミクスモデルについて概観する。詳細は文献⁽⁹⁾を参照されたい。

3.1 仮定

本論文では物理的要因のみを扱い、電気化学的・生理学的要因はブラックボックスとして扱うものとする。また、電気走性の本質ではない体軸周りの回転運動や細胞口周りの回転運動^(13,5)はモデルから除外することにし、併合は考察の対象としない。これにより、ゾウリムシの運動はゾウリムシの体軸と電

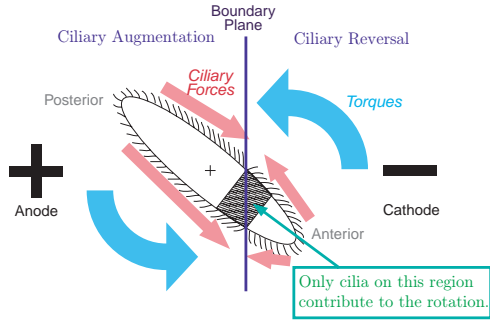


Fig. 1 Qualitative explanation for galvanotaxis.

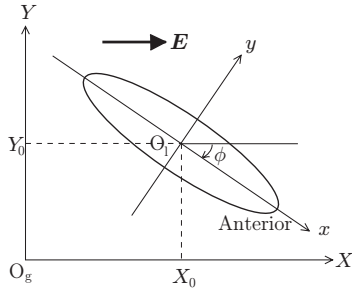


Fig. 2 Relation between the global coordinate system (X, Y) and the local coordinate system (x, y) .

場ベクトル E とを含む平面内で記述できる．以下では，運動をこの 2 次元平面内に限定して考える．また繊毛運動がこの平面に関して対称とみなせることから，以下では細胞の 3 次元の分布を無視し，2 次元的な楕円として考える．

電場に平行な平面上に，図 2 のように，グローバル座標系 (X, Y) およびローカル座標系 (x, y) を準備する．グローバル座標系は外界に，ローカル座標系は細胞に固定されている．さらにグローバル座標におけるゾウリムシ体軸の角度を ϕ とする（図 2 では後述の説明の便宜上， $\phi < 0$ となっている）．

以下では，ゾウリムシを長径 $2L$ ，短径 $2R$ ($L > R$) の楕円とみなす．これによりゾウリムシはローカル座標系において楕円 $\mathcal{E}: x^2/L^2 + y^2/R^2 = 1$ で表される．

繊毛は，楕円周上に線密度 n で一様に分布しているものとし，繊毛の向きは，正転時には接線方向後方，逆転時には接線方向前方を向いているとする．電場印加時には，Ludloff 現象により電場に垂直な面（以下，繊毛打境界面）を境に，陰極側で逆転，陽極側で正転が起こるとする．繊毛打境界面は，楕円中心から陰極方向に距離 l ($l < R$) の位置に形成されるとする．繊毛打頻度は均一とし，電場のない状態（以下，定常状態）での値を φ_0 とする．電場 E 印加時には繊毛打頻度は $\varphi = (1 + \beta E)\varphi_0$ に増大するものとする ($\beta > 0$)．定常状態で繊毛 1 本が生む推進力 f_0 は繊毛打頻度 φ_0 に比例し， $f_0 = \alpha\varphi_0$ と仮定する．また，電場印加時の力として， $f = \alpha\varphi = (1 + \beta E)f_0$ とする．

3.2 トルクの見積り

電場中のゾウリムシが陰極の方向へ泳いでいくのは，繊毛打方向の非対称性により回転トルクが生じるためである．本節ではこのトルクを見積もる．

図 3 のように，ローカル座標系におけるゾウリムシ楕円 \mathcal{E} を考える．

いま，計算を簡単にするために，ローカル座標系における電

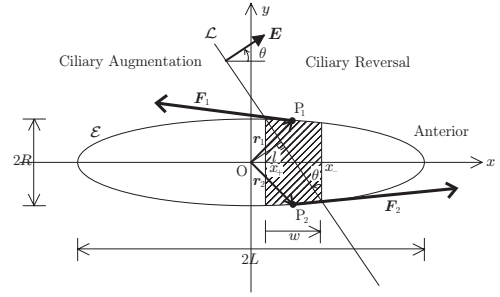


Fig. 3 Parameters in the local coordinate system.

場ベクトルの角度として θ を導入すると， $\theta = -\phi$ である．このとき繊毛打境界面は，直線 $L: y = -x/\tan\theta + l/\sin\theta$ で表されることになる．

繊毛打方向の非対称性は，この繊毛打境界面と楕円の交差する台形状の部分（図 3 の網掛け部分）にのみ生じ，その他の部分の繊毛が生み出す推進力は回転にはいっさい寄与しない．そこで，以下ではこの台形部分上の繊毛による推進力についてのみ考える．

台形部分の上辺と下辺にあたる垂直な 2 直線の x 座標は，楕円 \mathcal{E} と直線 L の 2 式より y を消去して得られる 2 解 x_-, x_+ で表される．ここでは y 座標が大きい方の点の x 座標を x_+ ，小さい方の点の x 座標を x_- とする．

さて，回転を生み出す力については，本来は各繊毛の微小な力を考慮する必要があるが，ここではそれらの合力を考え，簡単のため，力の作用点は台形の高さの midpoint $P_1(x_a, y_a), P_2(x_a, -y_a)$ とし ($y_a \geq 0$)，力の向きはその点での楕円接線の向きとする．また， $r_1 = \overrightarrow{OP_1}$ ， $r_2 = \overrightarrow{OP_2}$ とする．

作用点 $(x_a, \pm y_a)$ における各接線の傾き m は $m = \pm R^2 x_a / L^2 y_a$ となり，正規化された接線ベクトルは $(1/\sqrt{1+m^2}, m/\sqrt{1+m^2})$ となる．これらのうち，点 P_1 での接線ベクトルを m_1 ，点 P_2 での接線ベクトルを m_2 とする．

ここから，点 P_1, P_2 における単位力ベクトル e_1, e_2 は，繊毛打方向を考慮して， $e_1 = -m_1$ （繊毛打反転）， $e_2 = m_2$ （繊毛打正転）で表される．

また，力の大きさが繊毛本数 n に比例し，繊毛本数が台形部分の幅（符号付きの値 $\cdot \theta$ と同符号） $w = x_- - x_+$ に比例すると仮定すれば，点 P_1, P_2 における推進力ベクトル F_1, F_2 は， $F_1 = fwn e_1$ ， $F_2 = fwn e_2$ で与えられる．

よって，ゾウリムシの力学的な重心が楕円中心にあると仮定すると，点 P_1, P_2 におけるトルクは， $\tau_1 = r_1 \times F_1$ ， $\tau_2 = r_2 \times F_2$ で与えられる．ただし，外積の計算においては，各ベクトルは 3 次元として扱われている．ゾウリムシを回転させるトルク τ は，これらの和 $\tau_1 + \tau_2$ で与えられる． τ は明らかに z 成分以外は 0 であるので，以下では z 成分 τ_z のみを単にトルクと呼ぶ．

最終的に τ_z に $\phi = -\theta$ を代入して，グローバル座標系での表記に直すと，

$$\tau_z(\phi) = -\frac{4LR^2 fns\sqrt{L^2 c^2 + R^2 s^2 - l^2}}{\sqrt{L^4 c^4 + 2L^2 R^2 c^2 s^2 + R^4 s^4 - L^2 l^2 c^2 + R^2 l^2 c^2}}$$

となる．ただし $s = \sin\phi$ ， $c = \cos\phi$ である．これが，角度 ϕ のゾウリムシに生じるトルクの大きさを表す．

3.3 ゾウリムシの運動方程式

前節で見積もったトルクを用いて、ゾウリムシの運動方程式を議論する。

ゾウリムシの存在するマイクロメートルオーダの世界では、流体の慣性抵抗はほとんど無視することができ、代わって粘性抵抗が支配的になることから、Stokes の法則が利用できる。

並進力の運動方程式については、楕円体の粘性抵抗の理論的な評価が難しいため、以下では球の粘性抵抗の式を代用して粘性を見積もる。繊毛のうち推進力として作用するのは台形部分以外の部分であり、このうち繊毛正転部分の体軸方向の長さは $L + x_+$ 、逆転部分の長さは $L - x_-$ となる。双方の部分の力が相殺して残った力が推進力となる。力が体軸方向の長さに比例するという近似をおけば、体軸方向の推進力は $F = 2fn|x_a|e_x$ と求まる。これによりゾウリムシの運動方程式は、 $M\ddot{X} + D\dot{X} = F$ と概算できる。ここで $X = (X, Y)^t$ はゾウリムシの位置、 $e_x = \frac{X}{|X|} = (\cos \phi, \sin \phi)^t$ は体軸方向の単位ベクトル、 $D = 6\pi\mu R$ は並進運動の粘性摩擦係数、 μ は水の粘度、 $M = \rho V$ は質量、 ρ は細胞密度、 $V = 4\pi LR^2/3$ は体積である。

次に回転に関する運動方程式を導出する。前述のように楕円体の粘性抵抗の理論的な評価は難しいため、ここでも球に対する Stokes の式を代用する。回転の方程式は $I\ddot{\phi} + D'\dot{\phi} = \tau(\phi)$ となる。ここで、 $I = \pi M(R^2 + L^2)/5$ は楕円体の慣性モーメント、 $D' = \delta\pi\mu L^3$ は粘性摩擦係数、 δ は係数パラメータ (実測値より推定) である。

並進の運動方程式と回転の運動方程式を統合して、以下の式を得る。ただし、 $y = (X, Y, \dot{X}, \dot{Y}, \phi, \dot{\phi})^t$ である。

$$\dot{y} = Ay + B(y) \quad (1)$$

$$A = \begin{pmatrix} 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & -D/M & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & -D/M & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & -D'/I \end{pmatrix} \quad (2)$$

$$B(y) = \left(0, 0, \frac{P}{M} \cos \phi, \frac{P}{M} \sin \phi, 0, \frac{\tau_z(\phi)}{I} \right)^t$$

$$\text{where } P = 2fn|x_a|$$

4. オーバランの評価

これまで既に開ループ制御による往復運動や、閉ループ制御によるゾウリムシのトラッピングが報告されている⁽²⁾。しかし、ゾウリムシの向きを変えるために電気刺激を変化させてから、実際にゾウリムシがその方向へ向くまでには、数百～数千ミリ秒程度かかることがわかった⁽¹⁾。このため、実際の運動制御実験において、この時間遅れのためにゾウリムシがかなりの距離を行き過ぎてしまう、トラップ領域から大きくはみ出してしまふ、などの問題を引き起こしている⁽²⁾。そこで、以下ではダイナミクスモデルを用いてこの問題を検討する。

図4は、ゾウリムシが電気刺激の反転によってUターンするようすを描いたものである。

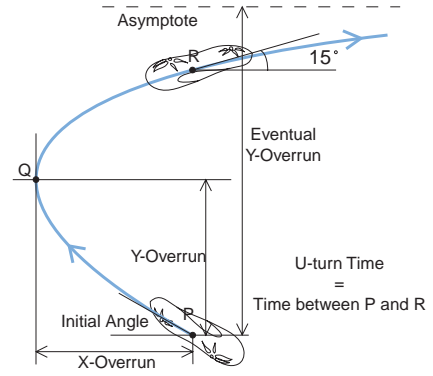


Fig. 4 Definition of overrun.

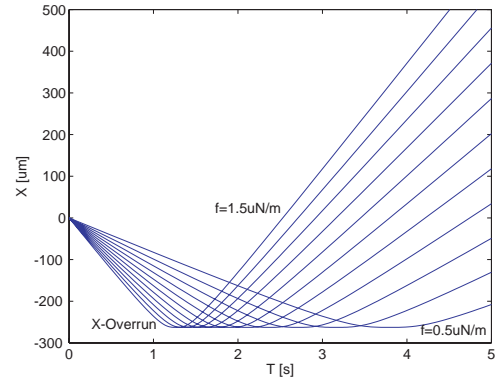


Fig. 5 Time sequences of X positions for various f_0n .

ゾウリムシは電気刺激が反転されたその場 (P 点) で U ターン運動するのではなく、かなりの距離を行き過ぎてから U ターンする (Q 点)。そこで、電場方向 (X 方向) に行き過ぎた量を X 方向の「オーバーラン」として定義する。また、同じく刺激反転地点 (P 点) からこの地点 (Q 点) までの Y 方向の変位を、 Y 方向の「オーバーラン」として定義する。

以下ではオーバーランをモデルによって検証するため、数値実験を行った。数値実験には数値解析ソフトウェア MATLAB 7 (MathWorks 社) を使用した。

具体的には、電場に対して 30° で入射したゾウリムシ ($\phi = -150^\circ$) に対し、U ターンの突端 (Q 点) までの X 変位を数値実験により求めて X 方向のオーバーランとした。なお、入射角の値 30° は、電圧印加時に螺旋運動の振れ幅がほぼ 30° 付近まで増大するという実験結果に基づいている。構築されたモデルによれば、入射角が 90° に近づくにつれてゾウリムシを回転させるトルクが増大するため、 30° で入射したゾウリムシがそのまま回転運動に移行することはほぼ必至であり、U ターンの初期値として妥当と判断した。パラメータの設定は文献⁽⁹⁾と同じとした。また、繊毛の出す力である f_0n は、実測値から大まかに推定できるものの厳密な測定は非常に困難であり、個体差も現れやすい。そこで、妥当な範囲内で値を変化させて結果を比較することとした。

さまざまな f_0n に対する X 変位の時間的推移を図5に示す。カーブの底が X 方向オーバーランを表している。地点 Q に行き着くまでの時間は繊毛の出す力 f_0n によって変化するが、その行き着く先の X 座標は一定とみなせることがわかる。また、オーバーランのオーダは実測値とほぼ一致している⁽²⁾。

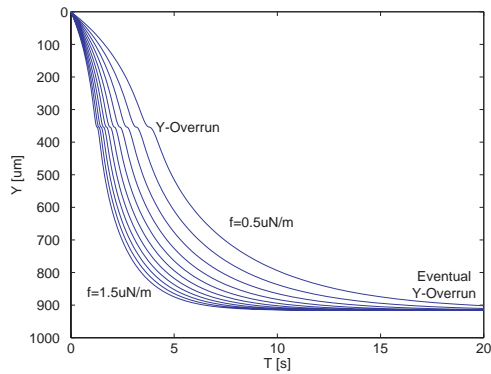


Fig. 6 Time sequences of Y positions for various f_{0n} .

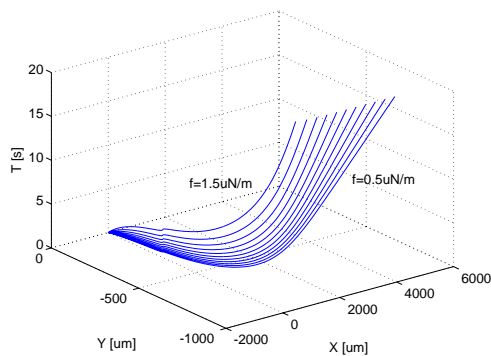


Fig. 7 Relation among X position, Y position and time t .

次に、同様にして Y 方向のオーバーランについて調べる。さまざまな f_{0n} に対する Y 変位の時間的推移を図 6 に示す。カーブの傾きがいったん 0 になる地点が Y 方向オーバーランを表している。 X 方向と同様に、繊毛の出す力 f_{0n} にほとんど依存していないことがわかる。またカーブの終端をみると、地点 Q に行き着くまでの時間は繊毛の出す力 f_{0n} によって変化するが、その行き着く先の X 座標は一定とみなすことができる。

以上のように、 X 方向、 Y 方向ともに、オーバーランは繊毛の出す力に依存せず、ほぼ一定であることがわかった。ここから、オーバーランという部分的な指標に限らず、軌跡全体が繊毛の出す力に依存しないのではと考え、この仮説を検証することにした。図 5 と図 6 から X 変位、 Y 変位、時間 t の 3 変数の関係をまとめて 3 次元表示したものが図 7 であり、さらにそれを XY 平面に射影して、複数の軌跡を重ねて表示したのが図 8 である。軌跡が重なっており、異なる f_{0n} に対して軌跡はほぼ同一であることがわかる。

以上の結果より、少なくとも U ターン行動に関しては、ゾウリムシの繊毛の出す力の差異は軌跡にほとんど影響しないことがわかった。

ここから、次のようなことが言える。まず、ゾウリムシの制御において位置のみを考える場合には、各個体の繊毛の出す力というパラメータを考慮する必要がない。繊毛の出す力の同定は非常に困難であるため、これは大きな利点である。同時に、各個体の繊毛にみられる個体差を考慮しなくてもよくなるため、オーバーランに対してアプリオリに対策を講じることが可能となる。さらにゾウリムシの軌跡を考える際、位置に関してはダイナミクスがほとんど影響せず、キネマティクスのみを扱えば十分である。これにより、制御則や軌道計画が簡

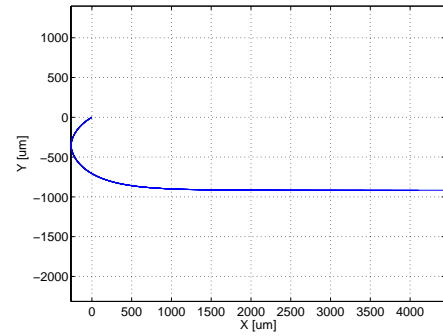


Fig. 8 Projection of Fig. 7 onto the XY plane.

単になる可能性がある。

5. むすび

本稿では、ゾウリムシ電気走性のダイナミクスモデルを用いてオーバーラン現象を数値実験により評価し、ゾウリムシの軌跡が未知パラメータである繊毛の推進力に依存しないことを示し、位置制御にとって望ましい性質であることを示した。

文 献

- (1) 尾川順子, 奥寛雅, 橋本浩一, 石川正俊. 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. 日本機械学会ロボティクス・メカトロニクス講演会 2003 (ROBOMEC'03) 講演論文集, 2P2-3F-E3, May 2003.
- (2) N. Ogawa, H. Oku, K. Hashimoto and M. Ishikawa. Motile cell galvanotaxis control using high-speed tracking system. *Proc. 2004 IEEE Int. Conf. Robotics and Automation (ICRA 2004)*, 1646-1651, Apr. 2004.
- (3) A. Itoh. Motion control of protozoa for bio MEMS. *IEEE/ASME Trans. Mechatronics*, 5(2), 181-188, June 2000.
- (4) 山根淳, 尾川順子, 奥寛雅, 橋本浩一, 石川正俊. ゾウリムシの運動制御のための電流制御型電気刺激デバイス. 日本機械学会ロボティクス・メカトロニクス講演会 2004 (ROBOMEC'04) 講演論文集, 1A1-H-28, Jun. 2004.
- (5) 杉野一行, 内藤豊. ゾウリムシの遊泳軌跡の測定法—遊泳軌跡からの繊毛活性の推定—. *生体の科学*, 39(5), 485-490, 1988.
- (6) 坂根彰, 橋上幸治, 辻敏夫, 大竹久夫, 金子真. Hodgkin-Huxley 方程式に基づくゾウリムシの走性モデル. 日本機械学会ロボティクス・メカトロニクス講演会 '01 講演論文集, 2P2-B9, Jul. 2001.
- (7) 平野旭, 辻敏夫, 田中良幸, 大竹久夫, 滝口昇. ゾウリムシの走性シミュレーション. ソフトウェアバイオロジー, No. 3. 化学工学会バイオ部会生物情報分野専門分科会, 84-90, Mar. 2004.
- (8) A. M. Roberts. Motion of *Paramecium* in static electric and magnetic fields. *J. Theoretical Biology*, 27, 97-106, 1970.
- (9) N. Ogawa, H. Oku, K. Hashimoto and M. Ishikawa. Dynamics model of paramecium galvanotaxis for microrobotic application. *Proc. 2005 IEEE Int. Conf. Robotics and Automation (ICRA 2005)*, Apr. 2005 (to appear).
- (10) 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.
- (11) 内藤豊. ゾウリムシの運動—繊毛運動とその膜電気現象による制御について—. *蛋白質・核酸・酵素*, 28(5), 567-584, 1983.
- (12) K. Ludloff. Untersuchungen über den Galvanotropismus. *Archiv für die Gesamte Physiologie*, 59, 525-554, 1895.
- (13) Y. Naitoh and K. Sugino. Ciliary movement and its control in *Paramecium*. *J. Protozool.*, 31(1), 31-40, 1984.