

令和 3 年度 防衛装備庁
安全保障技術研究推進制度

研究成果報告書

細胞が持つやわらかい車輪の 回転メカニズムの解明と移動体への応用

令和 4 年 4 月

山口大学

本報告書は、防衛装備庁の安全保障技術研究推進制度による委託業務として、山口大学が実施した令和3年度「細胞が持つやわらかい車輪の回転メカニズムの解明と移動体への応用」の成果を取りまとめたものです。

1. 委託業務の目的

1. 1 研究課題の最終目標

最近研究代表者らは、魚類表皮細胞が移動するとき細胞体内でストレスファイバが車輪のように回転する事実を発見した。一方で、動力源や詳細な構造など回転する動作原理は未だ不明である。そこで本研究では、この車輪様構造の動作原理の解明を目標とする。すなわち、アメーバ細胞の中で、車輪を構成する個々のストレスファイバの収縮という直線運動が車輪の回転運動に変換される動作原理の仮説の証明を目指す。そのための第一の目標として、アメーバ運動している生細胞中で収縮するそれぞれのストレスファイバの張力測定、車輪の回転運動の3次元動画記録などを行い、両者の関係解明を目指す。第二の目標として、ストレスファイバの収縮という直線運動が回転運動に変換される車輪ロボットのプロトタイプ製作し、直線収縮運動と基盤の粘着性の関係によって回転運動を人工的に生成させることを目指す。

1. 2 最終目標を実現するために克服又は解明すべき要素課題

最終目標の第一の目標で示したストレスファイバの回転運動の3次元動画記録では、アメーバ細胞内にストレスファイバに特異的に結合する蛍光色素を導入してファイバを染色し、励起光を照射することで可視化する。この方法には以下の2つの克服すべき要素課題(1)(2)が存在する。最終目標の第二の目標で示した車輪ロボットのプロトタイプ製作では、形状記憶合金のコイルをやわらかい芯材の周りに配置させる必要がある。そのため、ロボットの駆動を実現させるために、以下の克服すべき要素課題(3)が存在する。

(1) 光ダメージによる細胞の弱体化の克服

励起光の照射によって細胞が弱体化し、ストレスファイバ1回転程度でアメーバ運動を停止してしまう問題点がある。

(2) 細胞内のストレスファイバの退色の軽減

細胞が弱体化しない場合でも、励起光の照射により短時間で蛍光色素が退色し、ストレスファイバが1回転以上回転する3次元動画記録ができないという問題点がある。(1)(2)を克服するために、光ダメージの極力少ない3次元動画記録手法を確立する必要がある。

(3) 車輪の“やわらかい”芯材の粘弾性の最適化

アメーバ細胞内部のストレスファイバに囲まれた細胞質の粘弾性が未知なため、ロボットの車輪の芯材の最適な粘弾性は不明である。したがって、芯材の粘弾性の最適化が必要である。

1. 3 要素課題に対する実施項目及び体制

(1) 3次元動画記録手法の確立とライブイメージング

要素課題(1)(2)を克服するために、光ダメージの極力少ない3次元動画記録手法を確立する。光ダメージの少ない顕微鏡法としてライトシート顕微鏡法が知られている。ライトシート顕微鏡法とは、シート状に拡散した照明光を対物レンズと垂直な方向から照射する方法である。照明光が観察したい焦点面のみに照射されるため、細胞の光ダメージや蛍光色素の退色を飛躍的に軽減できる。ただし、現在、一般的に普及しているライトシート顕微鏡の対物レンズの倍率は最大40倍である。細胞のストレスファイバの回転を定量的に解析するためには100倍程度もしくは60倍程度の倍率が望ましい。本項目では、倒立顕微鏡のステージ横から照明光を照射する仕様で、100倍もしくは60倍の対物レンズで観察可能なライトシート顕微鏡光学系の構築を実施する。確立後、この光学系、もしくは、従来の共焦点顕微鏡で励起光を極力減少させた光学系を用いてストレスファイバの回転を記録、解析する。同時に車輪を構成する各ストレスファイバの張力分布を弾性基盤の上で細胞を這わせる方法で計測する。

(2) 車輪のやわらかい芯材の粘弾性の最適化と車輪ロボットの試作

要素課題(3)に示す車輪のやわらかい芯材の粘弾性の最適化のために、様々な粘弾性、形状、大きさの芯材を試作する。芯材には、ウレタンゲルやシリコンゲルなどの粘弾性を調節可能なゲル様の材料を用いる。様々な粘弾性、形状、大きさを持つ芯材の周りに、ラグビーボールの縫い目のように形状記憶合金などを利用したソフトアクチュエータを配置し、これを車輪ロボットとする。車輪ロボットの回転を確認することにより、芯材の弾性率の最適化の評価を実施する。同時に、回転角速度と移動速度を測定し、最終目標の達成を目指す。

(3) プロジェクトの総合的推進

週一回、研究代表者主催の研究室でミーティングを実施し、3次元動画記録法の確立、生物学的実験、車輪ロボットの試作の進捗状況を確認する。本申請研究の研究実施者は代表者のみであるが、代表者が実施する研究を補助するために技術補佐員を1名雇用予定である。当該技術補佐員は代表者主催の同一研究室に所属させ、常時、情報共有する。さらに、必要に応じて、ロボット製作、ライトシート顕微鏡に関する有識者を代表者が訪問して助言を仰ぎ、プロジェクトの推進に努める。

2. 研究開始時に設定した研究目標の達成度

本研究の最大の目標は、魚類表皮ケラトサイトの細胞内に存在するストレスファイバの直線的な収縮が細胞体の回転運動に変換されるメカニズムの解明であるが、これは、収縮によって細胞体に変形し基盤を押すことであると達成できた。

目標の内訳として第一の目標として掲げた、生細胞中で収縮するストレスファイバと細胞体の回転の関係解明については、細胞の詳細な基盤への牽引力測定と基盤を押す3次元動画記録によって十分に達成できた。また、第二の目標とした車輪ロボットの製作と回転運動を人工的に生成についても十分に達成し、その運動メカニズムも明らかにすることができた。そのため、

上述の最大の目標の達成に至ることができた。

3. 委託業務における研究の方法及び成果

3. 1 次元動画記録手法の確立とライブイメージング

(1) 光学系の確立

従来の共焦点レーザー顕微鏡による観察法を改善させ、ストレスファイバの回転を長時間観察することに成功した。すなわち、ストレスファイバを可視化させるために蛍光色素 Alexa-phalloidin を用いるが、蛍光色素の退色防止剤 ProLongLive を1%添加すること、撮影間隔を5秒から10秒に延長すること等の工夫により、ストレスファイバ回転の撮影時間を1/4回転程度から1回転まで延長できた。

(2) ストレスファイバの回転とストレスファイバの収縮力の同時記録

蛍光ビーズを多数表面に接着させたシリコン基盤上に細胞を接着させ、アメーバ運動させる。蛍光ビーズの水平方向の変位からストレスファイバの収縮力を可視化することに成功した(図1)。

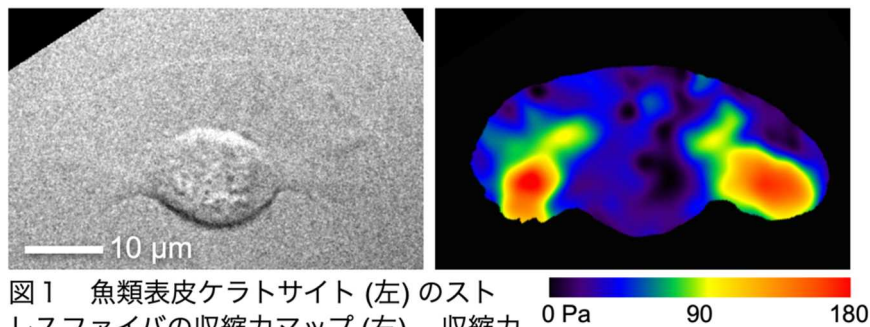


図1 魚類表皮ケラトサイト(左)のストレスファイバの収縮力マップ(右)。収縮力は基質に生じた牽引力で評価している。

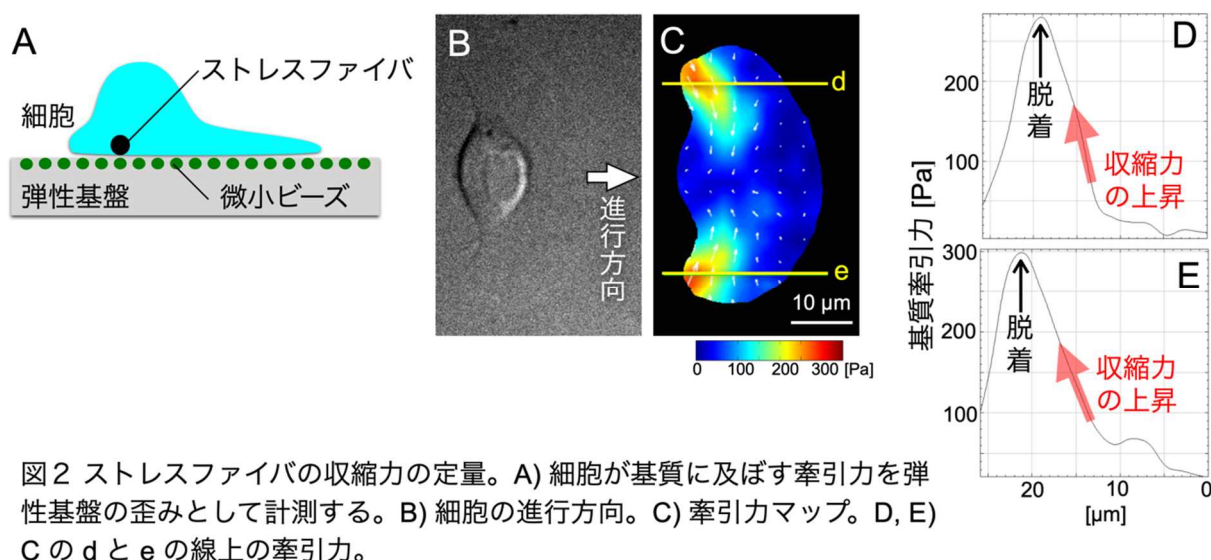
(3) ストレスファイバの回転の定量

共焦点レーザー顕微鏡を用いて、ストレスファイバの回転を撮影した。撮影のために、ファイバをAlexa phalloidinという蛍光色素で染色、可視化した。ファイバが $0.2 \times 2\pi \text{ rad/min}$ で回転する様子を定量できた。ファイバの収縮と回転の連関を見るために長時間の精密な定量が必要である。SPY555という新しい色素が、退色が少なく、長時間の撮影に耐えることを確認した。今後この色素を用いてさらなる計測・解析を行う。

(4) ストレスファイバの収縮力の定量

ケラトサイト細胞の牽引力を、弾性基盤を用いて計測した(図2A)。牽引力は、ストレスファイバの両端と推察できる箇所、細胞の進行方向(図2B)とはほぼ垂直な、細胞の重心向きに左右対称に出力されていた(図2C)。牽引力の強さの空間的な分布を見積もると(図2D, E)、進行方向前方から後方に向かって強くなり、細胞後端で最大になった。最大値は 300 Pa 程度で、最大値を出力した直後に細胞は基盤から脱着した。

これは、提案している収縮が回転に変換される機構のモデルによく合致している。



3. 2 車輪のやわらかい芯材の粘弾性の最適化と車輪ロボットの試作

(1) 車輪ロボットの本体形状の作成

シリコーンゲル (CY52-276,ダウコーニング) を用いて疑似細胞体を作成し、形状記憶合金のコイル (BMX150, TOKI Corp.) を4本配列させ、車輪ロボット円柱形のプロトタイプを作成した(図3)。車輪ロボットの大きさは直径 14 mm, 横幅 60 mmで、疑似細胞体のヤング率は 13.8 kPa とした。



図3 車輪ロボットのプロトタイプ

(2) 車輪ロボットを駆動させる制御回路製作と形状の検討

車輪ロボットとして直径 14 mm、長さ 30 mm のヤング率 5.3 kPa の弾性シリコーン円柱が最適であった。これに、長さ方向に1本の形状記憶合金のコイルを配置させ、車輪ロボットのプロトタイプを作成した(図4A)。コイルの電気抵抗は 4 ohm/cm で、300 mA までの電流に耐える。コイルに矩形波の電圧を与えるための可変の電源回路を作成し、その電源回路から 1.25 V の電圧の矩形波を与えた。プロトタイプがコイルの10%程度の収縮に伴い、30°程度回転することを確認した(図4B, C)。

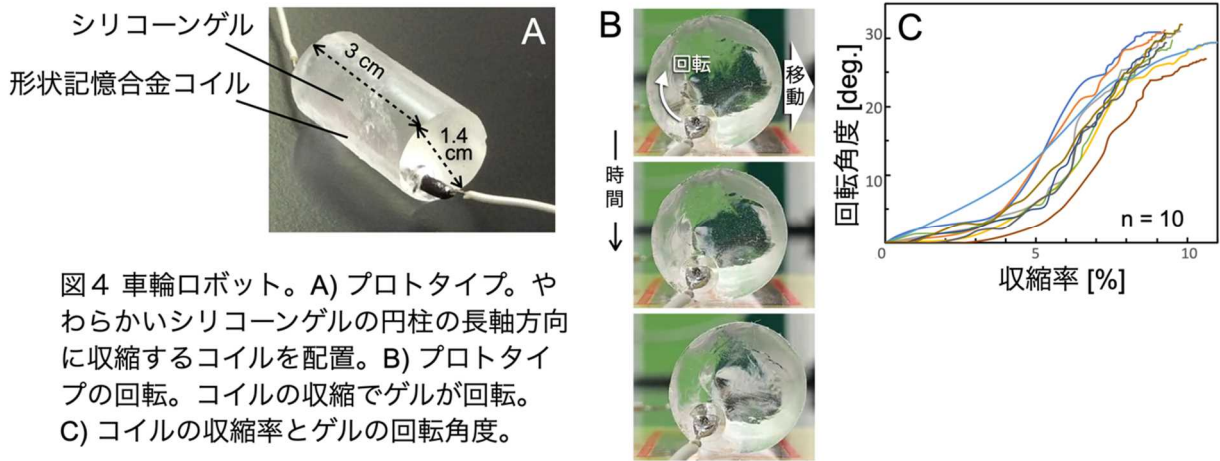


図4 車輪ロボット。A) プロトタイプ。やわらかいシリコンゲルの円柱の長軸方向に収縮するコイルを配置。B) プロトタイプの回転。コイルの収縮でゲルが回転。C) コイルの収縮率とゲルの回転角度。

車輪ロボットの回転時の形状や回転速度の詳細な測定により、円柱の変形によって (I) 基盤を押すこと、または (II) 重心がずれることが回転の原因であることが予測された。

(3) 車輪ロボットの回転メカニズムの決定

上記項目で予測された車輪ロボットの回転の原因が (I) 基盤を押すこと、または (II) 重心がずれることのうち、(I) 基盤を押すことであることを決定した。

車輪ロボットはコイルの位置を鉛直下方向から 15 度後方に配置したときに最大回転角度を示した。そこで、コイルを 15 度後方に配置させ、基盤のへりに設置した (図5A)。この時、ロボットが基盤を押す方向は鉛直真下方向ではなく、15 度後方となる。この条件でコイルを収縮させると、ロボットは全く回転を示さなかった (図5B)。

ロボットの変形から重心の移動方向と距離を見積もり、移動後の重心の位置を推定した。重心位置の変異の推定から、基盤を約 1 度回転させると重心が鉛直真上に移動させることができることがわかった (図5C)。そこで、基盤を約 1 度回転させた斜面をロボットが登ることができるか検討した。ロボットはこの斜面を登ることができた (図5D)。

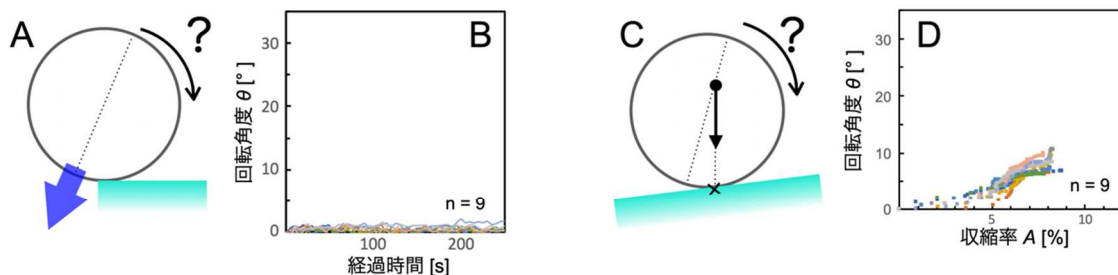


図5 車輪ロボットの回転原因の決定。A) 基盤を押せない条件でロボットを設置。B) A の条件ではロボットは回転できない。C) 重心の移動をキャンセルする条件でロボットを設置。D) C の条件でロボットは回転した。

この結果は車輪ロボットがコイルの収縮により変形し、その変形によって基盤を押すことで回転を実現させていることを強く示唆している。そこで、車輪ロボットを極めて柔らかい弾性基質 (ヤング率 5.1 Pa) 上で運動させ (図6)、車輪ロボットが基盤を押し弾性基盤を変形させ

るか測定した。弾性基盤は最大 0.3 mm 下向きに変形した。これらの事実から車輪ロボットはコイルの直線的な収縮により変形し、この変形によって基盤を押すことで回転運動を引き起こしていることがわかった。

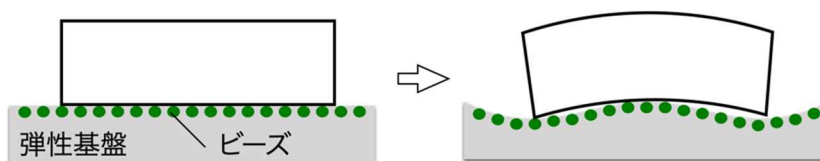


図6 車輪ロボットの基盤を押す力の測定。

さらに車輪ロボットの運動特性が実際の細胞のケラトサイトに類似するものか検討するために、車輪ロボットが基盤に水平方向に及ぼす基質牽引力を測定し、ケラトサイトの牽引力分布(図1, 2C)との類似性を確認した。すなわち、車輪ロボットはその後方の左右両端で内向きに牽引力を発揮していたが(図7)、これはケラトサイトの牽引力の分布(図1, 2C)と一致している。

これらの実験結果から、ケラトサイトの細胞体内でストレスファイバの直線的な収縮が細胞体の回転運動に変換されるメカニズムは、ストレスファイバの収縮で変形した細胞体が、その変形によって基盤を押すことだと推察できる。

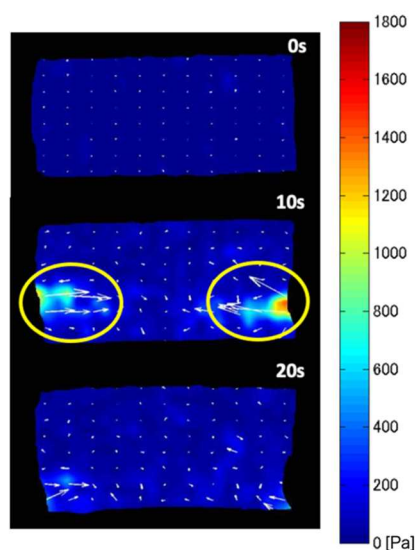


図7 車輪ロボットの水平方向の牽引力

(4) 連続回転する車輪ロボットの製作

本研究の最も大きな目標は運動性細胞の中でストレスファイバの直線的な収縮が回転運動に変換されるメカニズムを解明することであった。その目標のための車輪ロボットであれば、収縮コイルは1本で十分である。しかし、応用展開を考えた時、複数のコイルが実装され連続回転する車輪ロボットの製作とその回転動作の確認が望ましい。そこで、コイルを3本実装した車輪ロボットを製作した(図8)。それぞれのコイルに順次電流を流しコイルを収縮させることで、持続的に回転動作を行わせることに成功した。

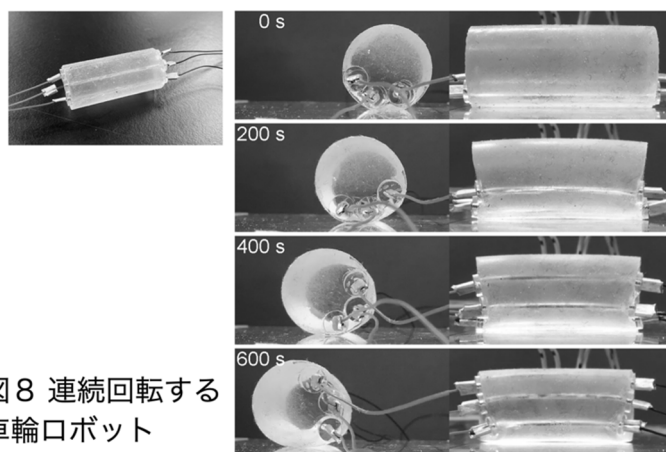


図8 連続回転する車輪ロボット

4. 委託業務全体の成果

4. 1 計画時に想定していなかった成果（副次的成果）や、目標を超える成果

3. 2 (3) より、ケラトサイト細胞体内でストレスファイバの直線収縮が細胞体の回転運動に変換されるメカニズムが、細胞体が基盤を押すことであると予測される。この予測が正しいことをケラトサイトが基質を下向きに押すことを確かめることで確認した。本項目は、細胞の運動の3次元記録が必要であり、3. 1 (1) の共焦点レーザー顕微鏡によって測定することができた。

ケラトサイト細胞を表面に蛍光ビーズで染色したヤング率 100 Pa のシリコン基盤上で這わせ、ケラトサイトの運動を微分干渉顕微鏡、シリコン基盤のひずみに伴う蛍光ビーズの変位を共焦点光学系で同時に取得した。すると、ケラトサイトの移動に伴い、細胞体の後方で基盤が $0.3 \mu\text{m}$ くぼむことが確認できた。この結果は、ケラトサイトが確かに、基盤を押していることを示している。

4. 2 研究課題の発展性（間接的成果を含む）

制御装置を内包した回轉移動体の製作

上述の3. 2 (4) で3つのコイルを実装した車輪ロボットを製作し連続回轉動作に成功した。しかし3. 2 (4) の方法でコイルを全周に渡って実装しても(図9A)、それぞれのコイルを収縮させるために電流を流すための導線が存在し、回轉によってその導線がよじれるため永続的な連続回轉は不可能である。しかし、電源とコイルへの導線及びコイルに電流を順次適切な波形で流すプログラムの書かれたマイクロコンピュータを全て内包したロボット(図9B)を製作すれば永続的な連続回轉が可能になる。本研究で製作し回轉動作を実現した車輪ロボットの直径14 mm、長さ30 mmという大きさではこれを実現することは難しいが、長さにして2倍、体積にして8倍程度の大きさであれば、単4乾電池を電源として実現できるかもしれない。

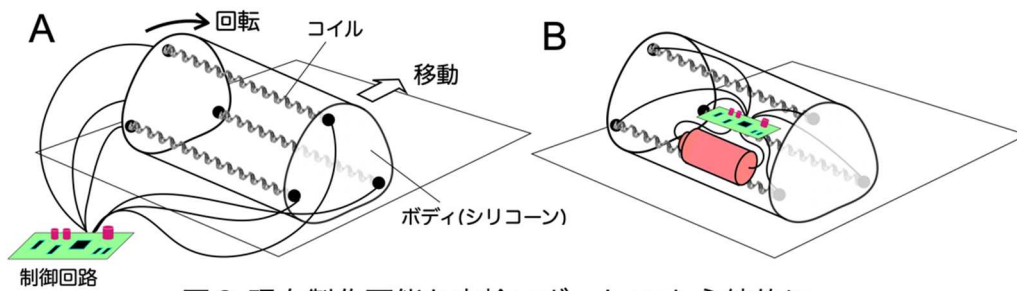


図9 現在製作可能な車輪ロボット(A)と永続的に連続回転する車輪ロボット(B)

5. プロジェクトの総合的推進

5. 1 研究実施体制とマネジメント

該当なし

5. 2 経費の効率的執行

該当なし

6. まとめ、今後の予定

本研究では、魚類表皮細胞ケラトサイトのストレスファイバを通電によって収縮するコイルとし細胞体を弾性材料として、ケラトサイトのアメーバ運動を模した車輪ロボットを製作した。車輪ロボットはコイルの収縮によって回転動作を行い、移動運動を実現した。ケラトサイトがアメーバ運動するときに基盤に発揮する牽引力と、製作した車輪ロボットの牽引力は同じ分布を示した。また、車輪ロボットはコイルの収縮によって弾性体に変形し基盤を押すことが直動回転変換の本質であった。この事実からケラトサイトも同じメカニズムでストレスファイバの直線収縮を細胞体の回転に変換していると予測された。この予測を裏付けるようにケラトサイトが基盤を押している事実が3次元の顕微鏡観察によって明らかになった。本研究成果は物理的・機械的な実験と生物学実験が極めて有効に融合した学際的な研究成果である。できるだけ速やかにこれらの成果を学術論文として発表する予定である。

本研究では、ケラトサイトという細胞内で行われる直動回転変換メカニズムを明らかにするという最大の目標は達成できたと考えるが、さらにこの生命現象を応用展開すべく、4. 2で述べた制御装置を内包した回転移動体の製作を予定している。

7. 研究発表、知的財産権等の状況

(1) 研究発表等の状況

種別	件数
学術論文	該当なし
学会発表	2件
展示・講演	該当なし
雑誌・図書	該当なし
プレス	該当なし
その他	該当なし

(2) 知的財産権等の状況

該当なし

(3) その他特記事項

該当なし