



Microrobotic Platform for Observing Stimulus Response of Single Motile Microorganism

著者	Ahmad Belal
発行年	2019-09-20
その他のタイトル	単一運動性微生物の刺激応答計測のためのマイクロロボティックプラットフォーム
学位授与番号	17104甲生工第355号
URL	http://hdl.handle.net/10228/00007473

氏名・（本籍）	AHMAD BELAL（パレスチナ）		
学位の種類	博士（工学）		
学位記番号	生工博甲第355号		
学位授与の日付	令和元年 9 月 20 日		
学位授与の条件	学位規則第4条第1項該当		
学位論文題目	Microrobotic Platform for Observing Stimulus Response of Single Motile Microorganism（単一運動性微生物の刺激応答計測のためのマイクロロボティックプラットフォーム）		
論文審査委員会	委員長	教授	安田 隆
		〃	山西 陽子
		准教授	高嶋 一登
		〃	川原 知洋

学位論文内容の要旨

本論文は、水中を遊泳する単一の運動性微生物を固定化することなく、経時的な観察を行いながら様々な刺激を加えるためのプラットフォームの構築を主な目的としている。例えば、バイオ燃料分野においてはより効率的に微生物を成長させるための刺激方法やその因子に関する調査が求められている。また、脳科学分野においては単純な行動様式を示す微生物を用いた学習や運動の機序解明が期待されている。しかしながら、運動性微生物は鞭毛や繊毛によって移動を行うため、顕微鏡下での観察や操作が難しく単一細胞レベルでの調査が極めて困難である。したがって、従来は薬剤を用いたり、基板に直接固定化することにより微生物の運動性を低下させて機能評価を行う方法が主流であったが、微生物本来の運動機能が変化してしまうという大きな問題があった。これに対して、本論文では体長が 100 μm レベルの運動性微生物を対象とし、より自然な状態で微生物を遊泳させながら刺激応答計測を行うことのできるプラットフォームの構築を試みている。このようなプラットフォームを実現するためには、微生物の観察と操作（刺激）の両方に求められる仕様を同時に満足するようなシステム設計や統合方法が必要となる。本論文では、まず、高速かつロバストな画像処理方法によって、マイクロ流体チップ中を移動する対象物を高倍率かつ継続的に追跡するシステムを構築し、その性能を明らかにした。次に、外部連結されたマイクロツール先端を流体中で精密位置決めする方法とその有効性の検証を行った。最終的にこれらを統合し、運動性微生物を遊泳させながら刺激を行い、その際のダイナミックな刺激応答を捉えることに成功した。

本論文は以下の5章より構成されている。

第1章では、研究背景、従来研究、研究目的、論文の構成が述べられている。

第2章では、遊泳する微生物を顕微鏡視野一杯に拡大しながら連続的に観察を行うためのプラットフォームの概要が報告されている。まず、厚みを精密に制御したマイクロ流体チップにより微生物同士の重なりを制限する方策を講じた上で、高速オンラインビジョンと高速電動ステージにより顕微鏡下で高速移動する対象を追跡するためのシステム構成が述べられている。また、追跡中に外乱（他の微生物、気泡、マイクロツール等）が画像データに混入した場合でも、対象物追跡が維持できる頑健かつ低計算コストな画像処理アルゴリズムが提案され、数 ms の周期でシステム全体を制御できることが示された。この結果として、移動速度が 10 mm/s 程度の対象物であれば、顕微鏡の最大観察倍率（1400 倍）でも対象物追跡が可能であることが実験的に明らかにされた。

第3章では、遊泳する単一微生物に刺激や操作を加えるためのプラットフォームの概要が報告されている。太径のツールを流体中で移動させると流れが生じて微生物が移動してしまうが、逆に細径のツールの場合はツール自体が流体力で変形してしまい位置決めが難しい。そこで、金属製の細径マイクロツールに対して、マイクロチップの外側から永久磁石を用いて反力を加えることで、ツールの先端位置決め精度を向上させる補償方法を提案し、所望の反力を得るための磁石個数や配置方法について、数理モデル及び実験の両面からの検討が行われている。その結果、マイクロ流体チップ内において外径 50 μm の金属パイプ先端を約 200 μm の精度で位置決めできることが実験的に明らかにされた。

第4章では、第2章及び第3章で示されたシステムを統合したプラットフォームの概要について示されている。最終的には、構築したプラットフォームをモデル生物の一種であるゾウリムシに応用し、高観察倍率で30分以上の追跡が可能であることが示された。さらに、追跡を行いながら、1本もしくは2本のマイクロツールを用いることで局所的な力学刺激や電気刺激を行った際の微生物の反射運動を、5 ms 以下の時間分解能、かつ、5 μm 以下の空間分解能で観察できることが示されている。

第5章では、本論文の結論、及び今後の課題と展望が述べられている。

学位論文審査の結果の要旨

本論文に関し、審査委員及び公聴会出席者から、刺激に必要なマイクロツールの位置決め精度、力学刺激における刺激面積の重要性、力学刺激に対する応答の微視的メカニズム、より細かいツールによる刺激の可能性、薬剤を用いた化学刺激の可能性、他の微生物への適用方法等について様々な質問がなされたが、いずれの質問に対しても論文提出者から明快な回答が得られ、質問者の理解を得るに至った。

以上により、論文審査及び最終試験の結果に基づき、審査委員会において慎重に審査した結果、本論文が博士（工学）の学位に十分値するものであると判断した。