

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 22 日現在

機関番号：12102

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2018～2019

課題番号：18K18968

研究課題名(和文)人工微小構造体への運動機能の付与と集団運動の制御

研究課題名(英文)Functionalization and control of grouping motion of artificial microobjects

研究代表者

鈴木 博章(Suzuki, Hiroaki)

筑波大学・数理工学系・教授

研究者番号：20282337

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,800,000円

研究成果の概要(和文)：当研究グループでは、過酸化水素等の化学物質を燃料として、自立的に運動する人工的微生物の研究を進めてきたが、本研究ではこれを発展させ、微小構造体の集合運動を化学的に誘起することを試みた。まず、表面に正負の電荷を有するポリスチレンビーズを用い、金微小電極を用いて、水の電気分解により水素イオン、水酸化物イオンの濃度勾配を形成し、挙動の変化を調べた。その結果、電位、ビーズの表面電荷の正負に応じて、ビーズ集団の集合・離散挙動が確認された。また、過酸化水素を用いた場合には、より小さい印加電圧で、集合・離散挙動が認められた。さらに、ビーズ集団を微小電極間で順次移動させることにも成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、様々なスケールで生命体を模倣しようとする試みが進められているが、今回の研究で目指したのは、マイクロメートルオーダーの物体に生命的な挙動をさせるものである。実際に化学物質の局所的な濃度変化により、マイクロビーズを集合・離散させることができた。本研究は人工構造体により、走化性という微生物的挙動をもとにした集合・離散運動を実現するという学術的な興味からスタートしたが、将来的には、多様な分野への応用を目指した高感度バイオセンシングへの応用も可能と思われる。

研究成果の概要(英文)：We have fabricated micromotors that behave like bacteria. As a next step, grouping motion was realized by chemical stimuli. Positively and negatively charged polystyrene beads were prepared. A cell to observe the movement of microbeads was made with a glass substrate with gold microelectrodes and a transparent ITO electrode plate along with a poly(dimethylsiloxane) container. When the pH around the microelectrodes was changed by the electrolysis of water using the microelectrode, the microbeads approached to and moved away from the microelectrode depending on the polarity of the potential applied to the microelectrode. The same experiment was conducted by reducing and oxidizing hydrogen peroxide. In this case, the same grouping behavior was observed with lower applied potentials, suggesting that the movement of the microbeads was caused by local electric field gradient formed around the microelectrode.

研究分野：センサ・マイクロマシン

キーワード：マイクロモータ 微小電極 電極反応 濃度勾配 局所電場 集団運動

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

生命体を模倣する試みは夢のあるテーマであり、従来から様々なスケールで行われてきた。2016年のノーベル化学賞は分子機械に対して与えられたが、これ以外にも、人のように歩くDNA等の生体模倣的なものも報告されている。一方、mmの領域では、人工筋肉の研究に代表されるアクチュエータの研究が活発に進められてきた。cm~mの領域では、種々のロボットが開発されてきた。これらに対し、nm~ μm の領域では、近年、燃料物質存在下で自立的に運動する人工微生物(マイクロ/ナノモータ)の研究が、世界的に活発に進められてきた。¹

その研究の先駆けとなるのが、ペンシルバニア州立大学のグループにより発表されたマイクロモータである。これは半分が金、半分が白金の長さ数 μm のロッド状をしている。この構造は多孔質アルミナを型として、金と白金を順次メッキし、型を溶解・除去することにより作製することができる。この構造体を高濃度過酸化水素溶液中に分散させると、金、白金のそれぞれの側で過酸化水素の還元と酸化が同時に進行し、両末端間で生成されたイオンの濃度勾配により局所電場が形成される。これに伴うロッド表面で発生する電気浸透流の反作用でマイクロモータは自発的に運動する。その様子は、あたかも微生物が水溶液中を泳ぎ回っているようである。動作方式としては、同様に1つの構造体の異なる金属上で酸化・還元を進行させ、酸素等のガスバブルを噴射して進行するタイプのマイクロモータもカリフォルニア大学サンディエゴ校のグループを中心に報告されている。さらに、単純に運動機能を実現するだけでなく、薬物等を利用し、必要に応じて放出する高度な機能を有するものも近年報告されるようになった。

研究代表者のグループでも、マイクロモータの研究を10年ほど前から進めてきた。これまでの研究では、過酸化水素その他の燃料存在下で、2種類の金属で構成されるロッド状あるいは球状の構造体に並進、屈曲、回転運動をさせたり、溶液中の大腸菌等を捕獲させることに重点を置いてきた。^{2,4}ここで、次の段階の一つの方向性として、集合体の挙動の人工的な制御が考えられる。単純に微小構造体の集合・離散を行うのであれば、誘電泳動等でも可能であるが、本研究では、化学物質濃度にしたがって、走化性的な挙動を示した上での集合・離散挙動の発現を目指した。

2. 研究の目的

上に述べたように、比較的大きいスケールでは、ロボットに見られるように、生命体的なものが既に実現されている。しかし、これらは機械工学、電子工学の延長にあるもので、化学的なものではない。スケールが μm からnmへと微小化されるにつれ、化学反応に基づく駆動が支配的になる。生命体中には無数の超高性能、超高機能のナノマシンが当然のように存在する。しかし、これと同レベルのものを人工的に実現するのは、現在の最先端技術をもってしても全く不可能である。しかし、これは科学者の興味を掻き立てるチャレンジングなテーマである。今後、何らかの技術的なブレークスルーもあると予想されるが、最終的なゴールは数十年、あるいは数百年先かもしれない。途方もなく挑戦的な課題である。上記の多くの試みは、この究極的な目標に向けての第一歩である。先は長い、が、一步一步着実にノウハウを蓄積することにより、最終的には生体中のナノマシンに匹敵する高性能人工ナノマシンも実現されうるものと信じる。

本研究もその流れの中に位置づけられるが、単一の微小構造体に生命体的な性質を付与するだけでなく、これを発展させ、走化性という微生物的な性質に着目し、微小構造体集団に、集合・離散挙動を発現させることを目指した。

3. 研究の方法

本研究の主要課題は、化学物質に対する走化性発現による、人工微小構造体の集団運動制御である。化学物質濃度勾配を局所的に形成するにあたり、水の電気分解や過酸化水素等の電極活物質の酸化・還元等の微小電極上での電極反応を利用した。反応生成物の量は、微小電極に印加する電位を調節することにより変えることができる。本研究では微小構造体としてマイクロビーズを用いたが、ビーズを懸濁した溶液のイオン強度、物質濃度を低く抑えれば、ビーズは電極反応により生成された物質、イオンの濃度勾配あるいはイオンによる局所電場の影響を受けて、拡散泳動、電気泳動の効果により、ビーズ表面の電荷に応じて電極に向かうあるいは遠ざかる挙動を示すことが予想される。

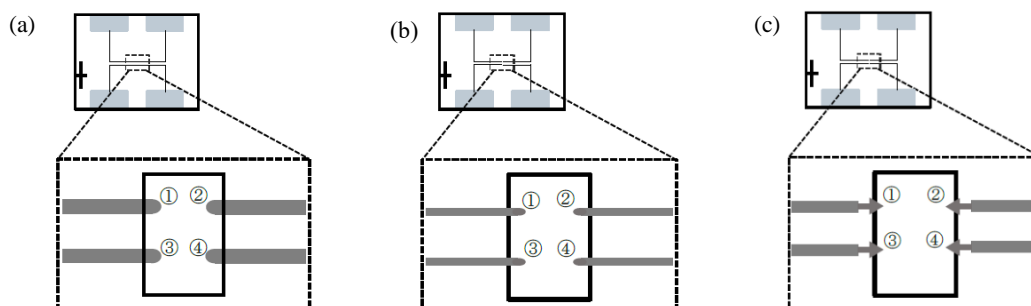
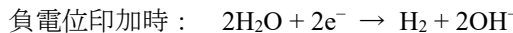


図1 使用した微小電極アレイ. (a) 50 μm 、(b) 20 μm 、(c) 矢印状.

マイクロビーズとしては、コアフロント社製の直径 $6\ \mu\text{m}$ のポリスチレンビーズを使用した。表面に正電荷(NR_3^+)を有するもの、負電荷(SO_3^-)を有するもの、および電荷を有しないものを使用した。図1に実験に使用した微小電極のレイアウトを示す。 $50\ \mu\text{m}$ 、 $20\ \mu\text{m}$ の円形に近い電極アレイの他、矢印状にして、先を尖らせたものも作製した。これらはガラス基板上にスパッタリングとリフトオフにより形成した。マイクロビーズの集合・離散挙動の観察に際しては、顕微鏡のステージ上に、この電極を形成した基板上に懸濁液を収容する区画を置いたデバイスを設置し、微小電極電位をポテンシオスタットで制御しながら、微粒子の運動を観察した。実験は常温で行った。

微小電極上で水の電気分解を行う場合、以下の電極反応が進行する。



負電位印加時には H_2 、 OH^- が、正電位印加時には O_2 、 H^+ が生成し、これらが電極表面から周辺部に拡散し、濃度勾配が形成される。特にイオンにより、電極近傍に局所電場が形成される。その方向は電極間に電位差を与えた場合に生じる電場の向きと同じになる。これらの電場は、水中に電解質を加えることにより小さくなる。

本研究では、一様に帯電しているマイクロビーズのみならず、片面に酸化チタンを形成したいわゆるヤヌス粒子も使い、集合・離散挙動を調べた。ヤヌス粒子の作製にはスパッタリング法を用いた(図2)。無修飾のポリスチレンビーズを水中に懸濁・分散させ、これをマイクロピペットで採取して、ガラス基板上に滴下し、水分を蒸発させた。ビーズ濃度を適度に調節すれば、お互いに積層することはなく、分散された形で基板上に並ぶ。この状態の基板をスパッタリング装置に入れ、ビーズ片面にチタンを堆積させた(図2)。その後、プラズマ酸化により、チタン表面に酸化チタンを形成し、ビーズを再度水溶液中に分散させた。

マイクロビーズの挙動の観察は、これらを収容するセルを顕微鏡上に置き、紫外線を照射することにより行った。セルは直径 $100\ \mu\text{m}$ の4個の白金電極アレイを形成したガラス基板と銀/塩化銀電極を形成したガラス基板とから構成される。このフローセル中にマイクロビーズを含む溶液を導入し、ポテンシオスタットにより、銀/塩化銀電極に対し、それぞれの白金電極に $-1.0\ \text{V}$ を印加した。

注1) ヤヌス：ローマ神話に登場する出入り口と扉の守護神。前と後ろに反対向きの2つの顔を持つ双面神。

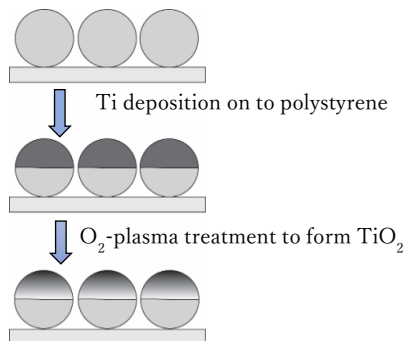


図2 酸化チタン/ポリスチレンヤヌス粒子の作製

4. 研究成果

まず、全面に一様に電荷を有するマイクロビーズを用いて、その挙動を調べた。純水を用いて原液を10倍希釈したマイクロビーズを使用し、 $50\ \mu\text{m}$ の微小電極と $20\ \mu\text{m}$ の微小電極を用いて正電荷を有するマイクロビーズの集合・離散運動の観察を行った。 $\pm 1.7\ \text{V}$ の電圧印加により微小電極上で水の電気分解を起こした結果、 $-1.7\ \text{V}$ 印加時にはマイクロビーズは微小電極へ集合し、 $+1.7\ \text{V}$ 印加時には、微小電極から離散してゆく挙動が明瞭に確認された(図3)。同様の挙動は $20\ \mu\text{m}$ の微小電極でも認められた。また、マイクロビーズの集合・離散の範囲は $20\ \mu\text{m}$ の微小電極よりも $50\ \mu\text{m}$ の微小電極デバイスを用いた場合の方が大きいことが確認された。同様の実験は、さらに小さい $5\ \mu\text{m}$ の微小電極を用いて行うことも試みたが、同様の挙動を観察することは困難であった。

次に、 $50\ \mu\text{m}$ の微小電極を用いて負電荷を有するマイクロビーズの集合・離散運動について調べた。正電荷を有するマイクロビーズの場合と同様、 $\pm 1.7\ \text{V}$ の電圧を印加した際に、マイクロビーズの明瞭な集合・離散運動が確認された。印加する電位の極性と、集合・離散の方向の関係は、正電荷を有するマイクロビーズの場合と逆になった。 $-1.7\ \text{V}$ 印加時にはマイクロビーズは微小電極から離散し、 $+1.7\ \text{V}$ 印加時には、微小電極へ集合する挙動が明瞭に確認された(図4)。

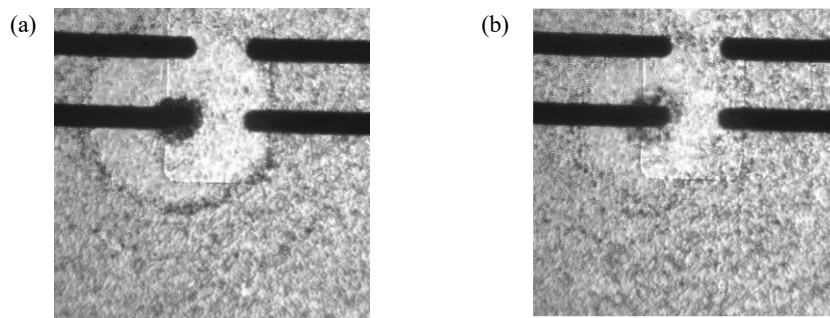


図3 純水中における $\pm 1.7\text{V}$ 印加時の正電荷を有するマイクロビーズの集合・分散挙動。50 μm の微小電極を使用。(a)集合運動。(b)分散運動。

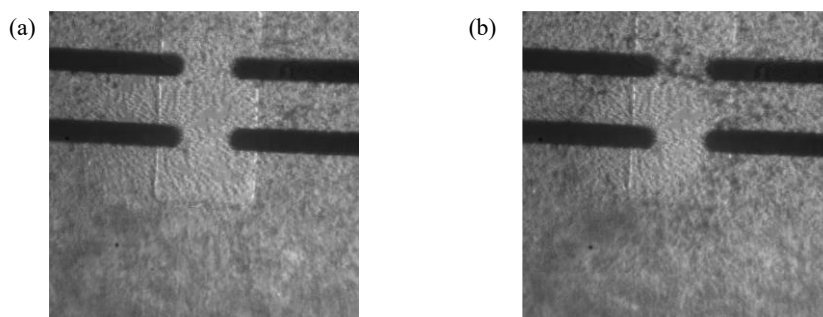


図4 純水中における $\pm 1.7\text{V}$ 印加時の負電荷を有するマイクロビーズの集合・分散挙動。50 μm の微小電極を使用。(a)集合運動。(b)分散運動。

次に、電解質を加える影響について調べた。マイクロビーズ懸濁液は、0.1 M KCl 水溶液、0.1 M CH_3COONa 水溶液を用いて、原液を10倍に希釈することにより調整した。直径50 μm の微小電極を用いて正電荷を有するマイクロビーズの集合・分散挙動を調べた。 $\pm 1.7\text{V}$ の電圧を印加した場合、マイクロビーズの集合・分散運動は、純水中と比べ、顕著に小さくなった。電解質の添加により、微小電極付近の局所電位勾配は減少することが予想されるが、これらの結果は、マイクロビーズの集合・分散運動が、明らかに微小電極周辺の局所電場に依存したものであることを示している。

上記の実験においては、微小電極近傍で水の電気分解に伴い生成される H^+ 、 OH^- イオンにより形成される局所電場により、集合・分散運動を誘起することを意図していた。しかし、この場合、これらのイオンにより形成される局所電場に加え、電極間に電圧を印加したことによる電場もあり、後者により集合・分散運動が生じている可能性も否定できない。そこで、水の電気分解以外の電極反応を利用して、局所電場を形成することを検討した。ここでは、0.1 M 過酸化水素水溶液を用いて、懸濁液の原液を10倍に希釈したものを用意し、微小電極に $\pm 0.8\text{V}$ の電位を印加した。

水の電気分解を用いた場合と同様、この場合も微粒子の集合・分散挙動が認められた(図5)。しかし、過酸化水素を用いた場合には、水の電気分解を用いた場合と比べて顕著に小さい印加電位で明瞭な変化が認められた。この結果より、電気泳動による運動よりも、反応生成物の拡散に伴い発生する局所電場の形成がより有効に効いているものと考えられる。

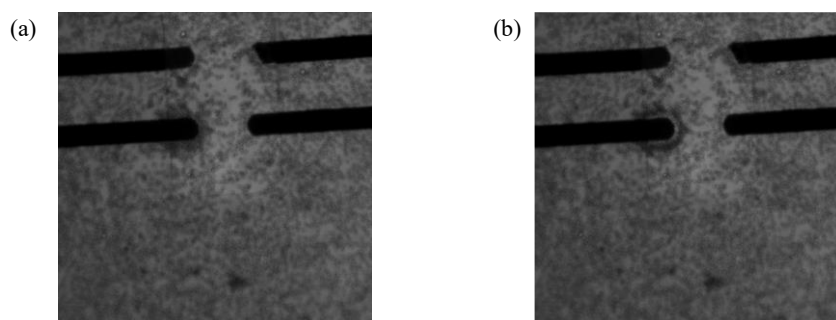


図5 0.1 M 過酸化水素水溶液中で50 μm の微小電極に $\pm 0.8\text{V}$ 印加時の正電荷を有するマイクロビーズの集合・分散挙動。(a)集合運動。(b)分散運動。

次のステップとして、電極の先端部が三角形状の微小電極を用いて、正電荷を有するマイクロビーズ集団の微小電極間移動を行った。2つの微小電極を用い、 ± 1.5 Vの電位を切り替えることにより、一方の微小電極に集合していた粒子をもう一方の微小電極へ移動させることができた。

これまでの実験は、表面全体が一様に帯電したマイクロビーズを用いて行ったが、自立的運動機能、バイオセンシングへの応用、高次構造の構築を考慮した場合、マイクロビーズの一部に何等かの機能を持たせられるのが好ましい。そこで、化学修飾していないマイクロビーズの片面に酸化チタン層を形成した構造体を用い、光刺激に対する挙動を調べた。酸化チタンは光半導体触媒で、これを用いると、光照射により酸化・還元反応を引き起こすことができる。

まず、このマイクロビーズを用い、紫外線照射による集団運動の誘起を試みた。過酸化水素を燃料として加えた溶液中にマイクロビーズを分散させると、これらは直径約 50 μm の集合体を形成して凝集した。その後、紫外線を照射すると、反応生成物の拡散泳動およびそれにより形成される局所電場により、ビーズ同士は離散した (図6)。この挙動は観察用セルに用いた基板の表面電荷にも大きく依存した。実際、負に帯電したアクリル(PMMA)基板を用いた場合には、明瞭な集合・離散挙動が確認された。

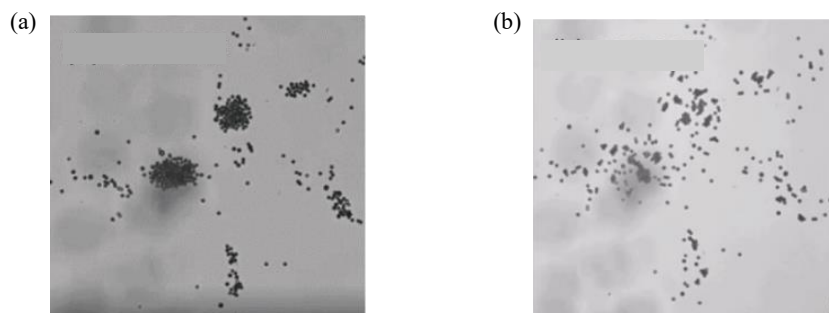


図6 紫外線照射に伴うマイクロビーズの挙動の変化。(a)紫外線照射を行わない場合。(b)紫外線照射を行った場合。

次に、これらのマイクロビーズの集団的な移動を実現するため、微小電極の一つに電位を印加すると、マイクロビーズが電極に向かって移動するのが確認された。次に電位を別の電極に印加すると、マイクロビーズの集団はその電極に向かって移動した。同様の操作を繰り返すと、次の電極に向かって、順次移動した。また、それぞれの電極の電位を負から正に変化させると、マイクロビーズの集団は電極から遠ざかるような挙動を示した。

当初、この技術を用いて、様々な表面を有するビーズの自己組織化を試みることも検討していた。先が尖った微小電極上に、一部が疎水性になった構造体、あるいは一部に磁性体を形成した微小構造体を形成させれば、電極への電位印加をやめた後も、離散しない微小構造体のクラスターができるものと思われる。また、これを基礎とし、さらに高次の構造体を構築することも可能になると思われる。しかし、今回実施した研究で、微小電極のサイズが大きい場合は明瞭なビーズの集合・離散が観察されたが、電極が微小化されるにつれ、集合・離散を引き起こすことが技術的に極めて困難になることが明らかになった。これは、電極反応により形成される反応生成物の分布が小さくなり、局所電場の広がり電極のごく近傍に限定されてしまうことによるものと考えられた (逆に、これにより、電極間の電圧印加による電気泳動による移動が支配的でないこともわかる)。技術的な困難を克服し、この点についても今後検討してゆきたい。また、このような集合・離散挙動はバイオセンシングへも応用可能と思われる。この点についても今後検討を進めてゆきたい。

参考文献

1. Wang, H.; Pumera, M., Fabrication of micro/nanoscale motors. *Chem. Rev.* **2015**, *115*, 8704 - 8735.
2. Yoshizumi, Y.; Honegger, T.; Berton, K.; Suzuki, H.; Peyrade, D., Trajectory control of self-propelled micromotors using AC electrokinetics. *Small* **2015**, *11* (42), 5630 - 5635.
3. Yoshizumi, Y.; Okubo, K.; Yokokawa, M.; Suzuki, H., Programmed transport and release of cells by self-propelled micromotors. *Langmuir* **2016**, *32*, 9381 - 9388.
4. Yoshizumi, Y.; Suzuki, H., Self-propelled metal-polymer hybrid micromachines with bending and rotational motions. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **2017**, *9*, 21355 - 21361.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 鷲田桂悟、椎名瞳、馬成睿、Md Mohosin Rana、佐藤達哉、佐藤優成、鈴木博章
2. 発表標題 化学的原理による人工微生物の集団運動制御
3. 学会等名 第36回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----