

PRESS RELEASE

2022 年 7 月 19 日

理化学研究所

農研機構

奈良先端科学技術大学院大学

ネムリユスリカ幼虫を用いた生存圏探索デバイス

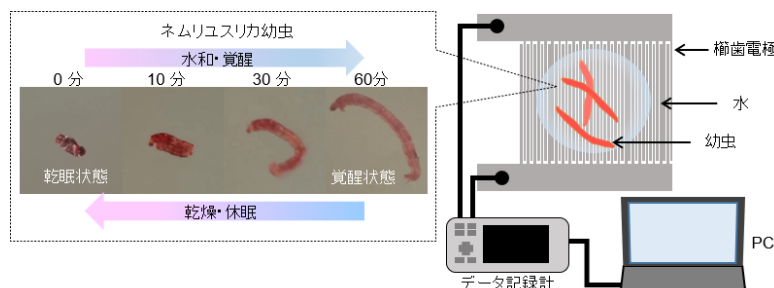
—乾燥耐性生物を用いた環境センシング—

理化学研究所（理研）生命機能科学研究センター集積バイオデバイス研究チーム田中陽チームリーダー、生命医科学研究センタートランスクリプトーム研究チームグセフ・オレグ客員主管研究員、農業・食品産業技術総合研究機構（農研機構）の黄川田隆洋主席研究員、奈良先端科学技術大学院大学先端科学技術研究科物質創成科学領域生体プロセス工学研究室のヤリケン・ヤシャイラ准教授らの共同研究グループは、宇宙などの過酷な状況でも無代謝休眠の状態でも生きられる乾燥耐性生物ネムリユスリカ^[1]幼虫を用いて、生物生存に適した環境での覚醒時の動きを電氣的に捉えて環境センシングする生存圏探索デバイスを開発しました。

本デバイスは、さまざまな場所での環境モニタリングに用いることができ、砂漠や極地といった地球上のほか、宇宙での生存圏探索にも使える可能性があります。

今回、共同研究グループは、幼虫時に乾燥状態になると乾燥無代謝休眠（乾眠）^[2]状態をとるネムリユスリカの性質を利用して、生存環境が整った時点で覚醒したときの微小な動きを検出できる微小デバイスを開発しました。これは、振動による環境発電^[3]の技術を応用し、微細加工技術^[4]でネムリユスリカ幼虫の小さな動きを電氣的にセンシングできるようにしたものです。この電流の変動からネムリユスリカ幼虫の動きを周波数として計測し、実際に温度や pH の変化に応じて周波数が変わることを確認しました。計測対象ごとにセンサーを用いなくても、複数のパラメータを同じデバイスで計測できるため小型化も可能で、しかも無電力でセンシングできるため、長期の給電や通信が難しい極端環境でのモニタリングに極めて適したデバイスです。

本研究は、オンライン科学雑誌『*iScience*』（7 月 20 日付：日本時間 7 月 21 日）に掲載されます。



覚醒したネムリユスリカ幼虫の動きを微小電極でセンシングする生存圏探索デバイス

背景

人類の発展にとって生存圏を探ること、作り出すことは重要です。例えば、砂漠や荒れ地の緑地化、極地での生存圏確保、そして将来的には宇宙での生存圏探索といったシーンにおいて、生物生存環境の計測は欠かせません。生存圏の探索には、水・空気・温度・化学環境などさまざまなパラメータを計測する必要があります。しかし、従来のセンサーは基本的に一つのセンサーで一つのパラメータのみの探査にとどまるため、多数のセンサーを持っていく必要があります。しかも計測対象ではない未知のパラメータが生物生存に関与している可能性も否定できません。一番確実なのは、生物を実際にその環境に置き、生存できるかどうかを試してみることですが、そもそも過酷な環境で生きられる生物はほとんどなく、長期の探索も難しいという問題があります。

そこで、今回、共同研究グループは「ネムリユスリカ」という乾燥耐性生物に着目しました^{注1)}。ネムリユスリカはアフリカの半乾燥地帯に生息する昆虫で、その幼虫は、乾季になると動きを止め、乾眠状態になりますが、一定の水と温度があれば覚醒します(図 1a)。しかも乾眠状態では、宇宙空間に一定期間(最長で 2.5 年)放出しても、その後再覚醒することも分かっています。この性質を利用して、生存圏が見つければ覚醒し、動き出したことを検知する、生存圏探索バイオセンサーができないかと着想しました。

動きをモニタリングするには通常はカメラを用いますが、常時電力が必要となり、宇宙など電力の供給ができない場所での長期使用は現実的ではありません。そこで、微細加工技術を利用した環境発電技術を用い、生物の動きによる発電を利用することで、無電力でも小さな動きを捉えられないかと考えました。特徴的な生物の動きを電気に変換し、これに対応するシグナルが入力されれば、モニタリングを開始・通信するようなシステムを構築することで必要な電力を最小限に抑え、長期的なモニタリングが可能となります。これは、田中陽チームリーダーらがこれまでに進めてきた生物機械融合デバイス^{注2、3)}の新たな展開でもあります。

以上の発想に基づき、本研究では、まず映像データからネムリユスリカ幼虫の動きを把握し、次にデバイスを用いたネムリユスリカ幼虫の動きのモニタリング実証、さらに環境センシングの例として、温度・pH による信号の変化を確認しました。

注 1) 2018 年 3 月 8 日プレスリリース「極限的な乾燥耐性をつかさどる制御因子を同定」

https://www.riken.jp/press/2018/20180308_1/

注 2) 2016 年 10 月 17 日プレスリリース「ミミズの筋肉を搭載した小型ポンプを開発」

https://www.riken.jp/press/2016/20161017_1/

注 3) 2022 年 5 月 23 日プレスリリース「オジギソウ駆動型バルブ」

https://www.riken.jp/press/2022/20220523_3/

研究手法と成果

乾燥無代謝休眠（乾眠）状態のネムリユスリカ幼虫は、水を与えると通常 1 時間以内に覚醒し、動き出します（図 1a）。ただし、この動きの振幅は 1~2mm 以下と小さく、これを捉えるため、幅 80 マイクロメートル（ μm 、 $1\mu\text{m}$ は 100 万分の 1 メートル）、隙間 $40\mu\text{m}$ の櫛歯型の電極をデザインしました（図 1b）。電気信号は外部のデータ記録計に接続して計測・記録し、PC 上でこれを制御します。ネムリユスリカ幼虫の表面は水中で負に帯電しているため、この微小電極上でネムリユスリカ幼虫が動くと、その動きに応じて電極上の電荷が移動して、電流が発生します。この電流の変動から、幼虫の動きの周波数を測定できます（図 1c）。

また、ネムリユスリカ幼虫は電極サイズから見れば比較的大きく、また個体差が大きいいため、集団での平均的な動きを捉える必要があります。そのため、大面積をカバーできる電極設計とし、10 匹を電極上に設置した直径 1cm のプールに入れる構造としました。

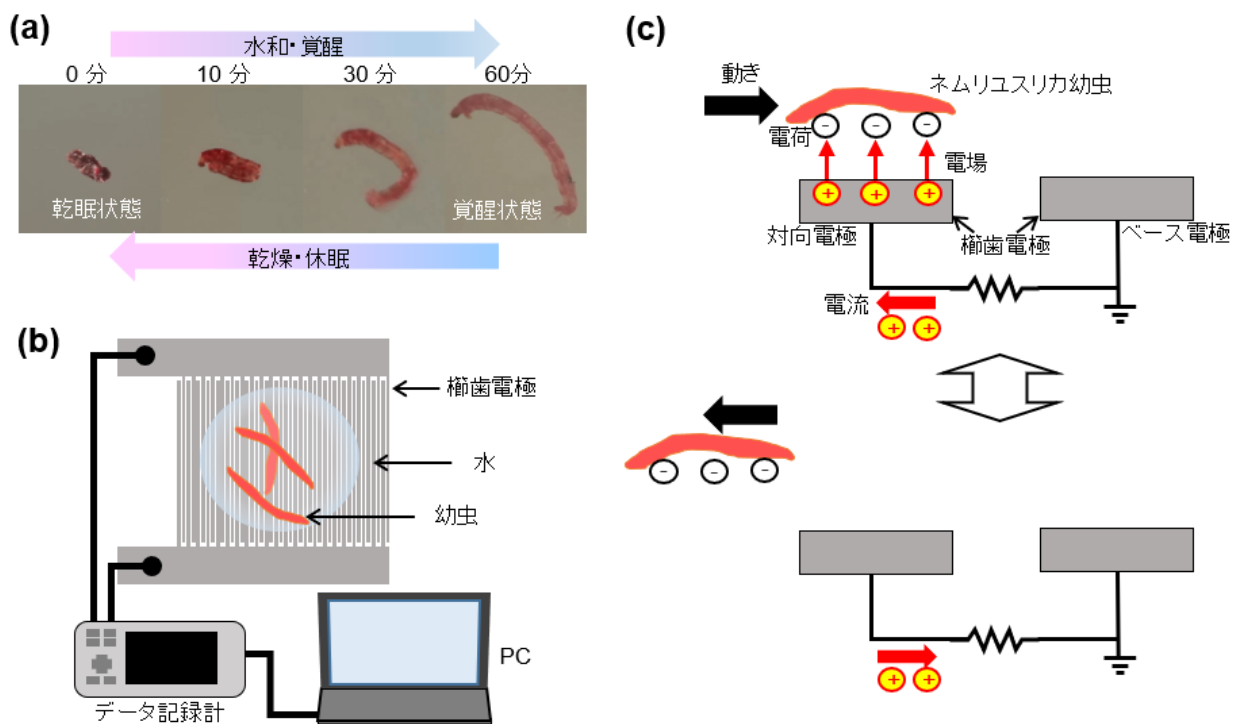


図 1 デバイスのデザインと原理

- (a) 乾眠状態から覚醒状態へ、またその逆のプロセス中のネムリユスリカ幼虫の様子を示した写真。
- (b) デバイスのデザインと実験セットアップ。
- (c) ネムリユスリカ幼虫の動きによる発電とそれによる動きのセンシングの原理。櫛歯電極上でネムリユスリカ幼虫が動くと、その動きに応じて電極上の電荷が移動し、電流が発生する。

まず、デバイスでの実験前にネムリユスリカ幼虫がどのような動きをするか、画像から大まかに把握する実験を行いました。実験は 24 個の穴（ウェル）を持

つウェルプレートを用いて、各ウェルに 1 匹ずつ乾眠状態のネムリユスリカ幼虫と 15mL の水を入れ、ヒーターの上に乗せて上方からビデオカメラで 30 分ごと 8 時間後まで動画撮影し、各時間での挙動を解析しました(図 2a, b)。また、同じ実験を 10~50°C の温度範囲で、10°C 刻みで測定を行い、温度での違いも検証しました。

その結果、20~40°C の条件では、3 時間以内に半数以上が覚醒し、30°C で覚醒率が最も高くなりました。また、最もよく(速く)動いた個体の周波数は、覚醒数と同様の温度・経過時間に従う傾向のグラフとなりましたが、2 時間以降では動きはあまり変わらないか、やや落ちる傾向にあり、動きの周波数は最大で約 2.5Hz (1 秒間に約 2.5 回の振動) となりました(図 2c, d)。以上の実験から、動きの個体差が大きいため、温度などのセンサーとして用いるには、複数のネムリユスリカ幼虫を用いる必要があることが分かりました。

また、ネムリユスリカ幼虫をすりつぶし、電気泳動光散乱測定法^[5]によりネムリユスリカ幼虫の表面電位を測定したところ、-21mV となり、確かに一定の負電荷を持っていることが明らかになりました。

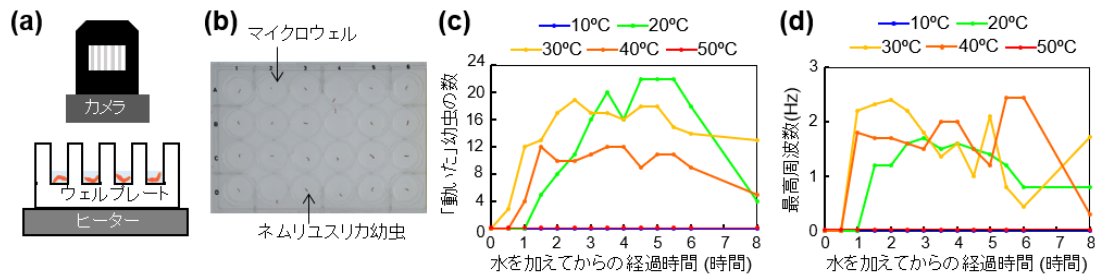


図 2 画像によるネムリユスリカ幼虫の挙動把握実験

- (a) 実験セットアップの断面図。カメラは全 24 ウェルが視野に入るようにルーズで撮影。
- (b) カメラによる撮影画像。
- (c) カメラ画像中 24 匹のネムリユスリカ幼虫のうち、動いていた個数の各温度での時間変化。
- (d) カメラ画像中 24 匹のネムリユスリカ幼虫のうち、最もよく(速く)動いていた個体の各温度での周波数(最高周波数)の時間変化。

以上の結果に基づき、ネムリユスリカ幼虫の動きをビデオカメラの代わりに電気信号で捉えるデバイスを作製し、実験を行いました。ニッケルを用いて、微小櫛歯型電極をガラス基板上でリフトオフ法^[6]により作製し、断線や絶縁破壊などが無いことを目視および電気測定により確認しました(図 3a, b)。このデバイス上のプールに乾眠状態のネムリユスリカ幼虫を 10 匹入れ、水を入れてネムリユスリカ幼虫の動きを電気信号のデータ記録で確認しました(図 3c, d)。

まず先述した動画撮影の結果から、最もよく動く条件である 30°C、加水 2 時間後でデータを取得しました。電圧の時間変化を見ると、水のみを入れた対照データに比べ、ネムリユスリカ幼虫を入れたものでは明らかに波が見えており、その電圧の振幅は約 0.11mV でした(図 3e)。デバイスの抵抗値から計算した電流値は 720 ナノアンペア (nA、1nA は 10 億分の 1 アンペア)、発電量は 80 ピ

コワット (pW、1pW は 1 兆分の 1 ワット) となります。この結果より、幼虫の動きによる発電が実証できたといえます。ただし、電気信号は小さく、電気信号データのみではネムリユスリカ幼虫の特徴ある動きを捉えられているかの判別が難しいという問題がありました。

そこで、電圧データがどのような周波数特徴を持っているかを示すために、高速フーリエ変換^[7]を行いました。すると、画像データでの特徴と一致する 1~2Hz のところにピークを持つスペクトルが得られました (図 3f)。以上より、今回得られた電圧は確かにネムリユスリカ幼虫の動きを捉えたものだと判断できました。

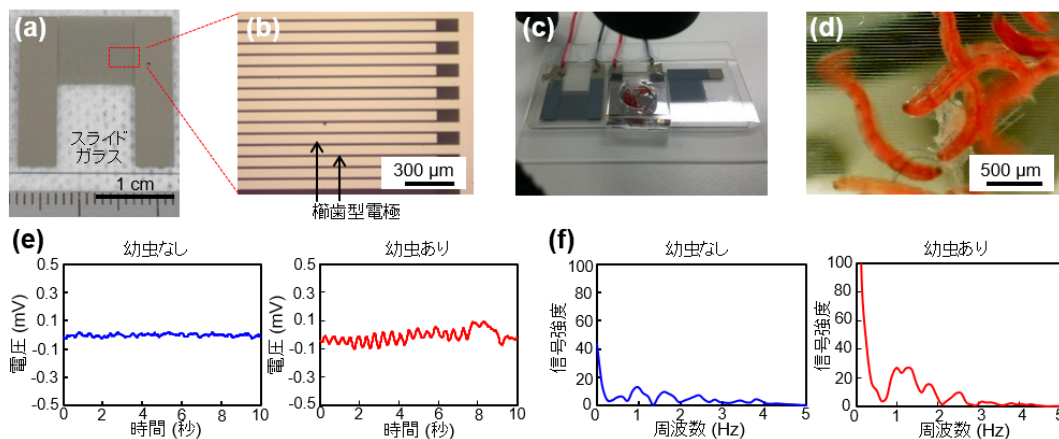


図 3 ネムリユスリカ幼虫の運動による発電実証実験

- (a) スライドガラス上に作製した 1 ペアの櫛歯型電極の全体写真。
- (b) 櫛歯電極の拡大写真。肌色部分が電極、黒色部分はガラス。
- (c) プール内にネムリユスリカ幼虫と水を入れた状態のデバイス全体写真。
- (d) プール内で覚醒後、櫛歯型電極上で動いているネムリユスリカ幼虫の写真。
- (e) ネムリユスリカ幼虫がない状態 (左)、および動いているネムリユスリカ幼虫が 10 匹いる状態 (右) での電極間電圧の時間変化。サンプリングレートは 0.001 秒だが、ノイズ除去のため 0.2 秒ごとの移動平均を表示。
- (f) ネムリユスリカ幼虫がない状態 (左)、および動いているネムリユスリカ幼虫が 10 匹いる状態 (右) で取得した電圧時間変化を高速フーリエ変換したもの。縦軸 (信号強度) は横軸の周波数成分の分布を表す。

次に、このデバイスを用いた環境センシングの例として、温度および pH をモニタリングできることを実証する実験を行いました。まず、映像で捉えられた温度別のネムリユスリカ幼虫の動きの大きな違いを、デバイスを用いて的確に捉えられるかを検証しました。10℃、20℃、30℃、40℃、50℃の各温度の水を加えて 2 時間後のフーリエ変換後のデータを見ると、30℃で全体的に値が大きくなっていることが分かりました (図 4a)。

ただし、この「全体的に大きい」を活動量として定量的に表すには、さらに別の処理が必要となります。ここでは、ノイズの影響が大きくバックグラウンドが高く出てしまうため 0.2Hz 以下の値はカットし、映像からネムリユスリカ幼虫の動きの周波数の上限と考えられる 4Hz までの間の周波数で積分をとり、これ

を「活動量」と定義しました（図 4b）。活動量を温度ごとにプロットすると、映像からのデータと同様に 30°C で明確にピークが見られたほか、40°C での微妙な活動量なども数値化・グラフ化できました（図 4c）。以上より、デバイスにより活動量を指標として評価できるとともに、温度センシングに利用できることが分かりました。

さらに、本デバイスを物理パラメータの一つである温度だけでなく、化学パラメータの一つである pH のセンシングにも利用できないかと考えました。緩衝液^[8]を用いて、pH2 から pH13 まで 1 または 2 刻みで変えたときのフーリエ変換のグラフ（図 4d）、および活動量のグラフ（図 4e）より、pH=7 付近でピークが見られ、また酸性の方がアルカリ性より若干耐性があることが分かりました。以上より、化学センサーとして使える可能性も実証できたといえます。

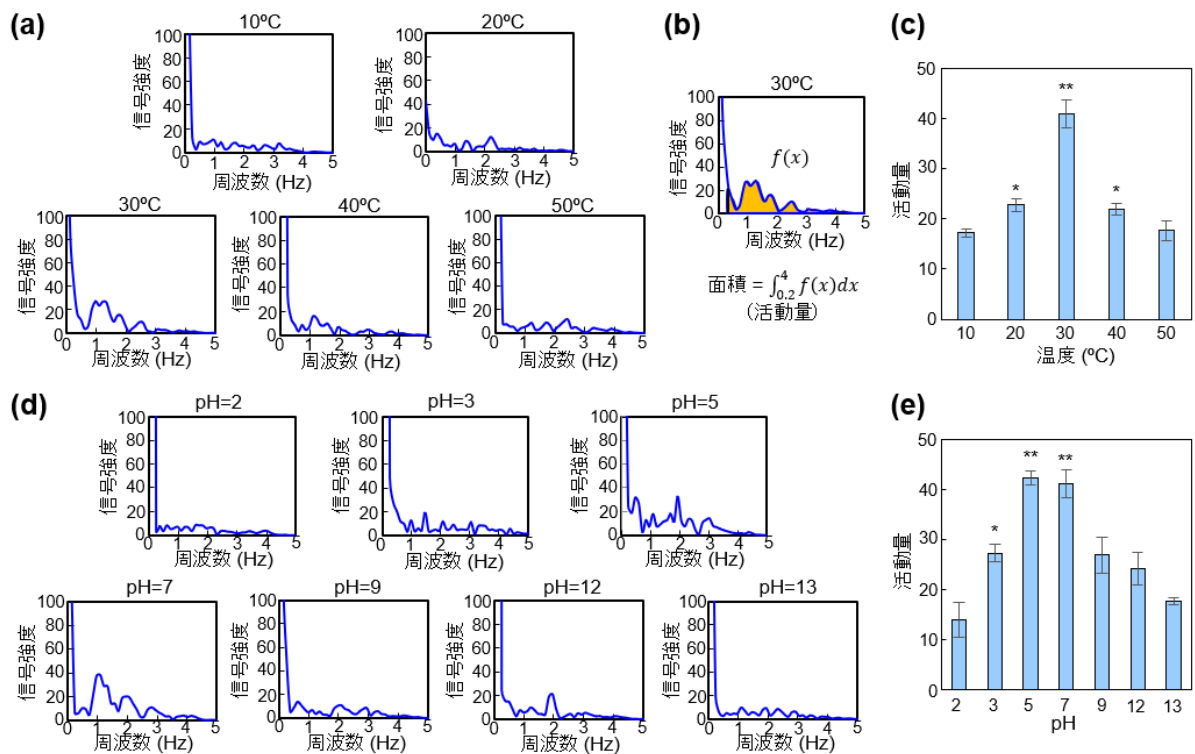


図 4 温度および pH のセンシング実証実験

- (a) 各温度でのデバイスに乾眠状態のネムリユスリカ幼虫および水を加え、1 時間後の電位時間変化データを高速フーリエ変換したグラフ。
- (b) ネムリユスリカ幼虫の「活動量」の定義の説明。高速フーリエ変換データを 0.5~4 Hz の間で積分したもの（グラフの橙色の部分の面積）。
- (c) 温度と活動量の関係。プロットは 3 回測定の実験値でエラーバーは土標準誤差。
*：有意確率 $p < 0.05$ 、**：有意確率 $p < 0.01$ で対照（10°C のデータ）に対して有意差あり。
- (d) 各 pH 条件でデバイスに乾眠状態のネムリユスリカ幼虫および pH 調整済みの緩衝液を加え、1 時間後の電位時間変化データを高速フーリエ変換したグラフ。なお pH=2 は、全ての個体が活動しない対照実験。
- (e) pH と活動量の関係。プロットは 3 回測定の実験値でエラーバーは土標準誤差。
*：有意確率 $p < 0.05$ 、**：有意確率 $p < 0.01$ で対照（pH=2 のデータ）に対して有意差あり。

今後の期待

今回開発したデバイスは、生物機械融合デバイスとしては発電デバイス的一种ですが、発電量は 80pW と非常に小さいものです。従って、それ単独でロガーや解析システム、通信などのデバイスへの給電まで行うのは困難ですが、スタンバイ状態の機器始動のトリガーとしては使える可能性が十分にあります。通常の状態では電力をほとんど使わない状態で待機して、ネムリユスリカ幼虫が動き出したらモニタリングや解析をして、通信するというシステムなら最小限の電力で済み、小型の電池でも数年間もたせることは可能と考えられます。

また今回のデバイスは、生物の多様なセンシング能力を「動き」という発現系に落とし込み、これを電気信号という一つのパラメータで検出できるという特徴があり、さまざまなパラメータを同時に検出できる可能性もあります。そのためには今後データを増やし、機械学習^[9]を用いて環境パラメータと信号の相関を紐づけていくことが課題となります。

以上のような課題を解決することで、本デバイスは、宇宙のみならず、地球上でも水・温度・化学状態などの検出デバイスとして環境のモニタリングや生存圏の探索への応用が期待できます。

論文情報

<タイトル>

Anhydrobiotic chironomid larval motion-based multi-sensing microdevice for exploration of survivable locations

<著者名>

Yo Tanaka, Doudou Ma, Satoshi Amaya, Yusufu Aishan, Yigang Shen, Shun-ichi Funano, Tao Tang, Yoichiro Hosokawa, Oleg Gusev, Takashi Okuda, Takahiro Kikawada, Yaxiaer Yalikun

<雑誌>

iScience

<DOI>

10.1016/j.isci.2022.104639

補足説明

[1] ネムリユスリカ

干からびても死ぬことなく、水をかけると成長を再開する能力を持つ昆虫。この乾燥耐性は、幼虫期のみ認められる。ナイジェリアなどのアフリカ北部の半乾燥地帯(サヘル地帯)の水たまりに生息する。学名は、*Polypedilum vanderplanki*。

[2] 乾燥無代謝休眠(乾眠)

干からびても死なない能力。英語では、anhydrobiosis(“水がない状態の生命”の意味)と呼ばれる。ネムリユスリカ以外では、細菌、酵母、カビの孢子、線虫、ワムシ、

クマムシ、アルテミアの耐久卵、植物の種子、復活草などに認められる。脊椎動物には、この能力を持つ生物は存在しない。

[3] 環境発電

熱や光、振動、電磁波などのエネルギーを電力に変換する発電方法。エネルギーハーベスティング (Energy Harvesting) とも呼ばれる。多数の小型センサーの電源として期待されており、電池の交換が不要なので半永久的に使用でき、環境にも優しいという特徴がある。本研究では振動発電法を応用している。

[4] 微細加工技術

光や電子線などを用いることで、半導体や金属、ガラスなどを精密に加工する技術でコンピュータの素子作製などに使われる。髪の毛や蚊の針の太さ (10~100 μ m) と同じか、それ以下の構造物を作製できる。

[5] 電気泳動光散乱測定法

表面電位測定法の一つ。粒子分散溶液に電場をかけた際に、等速で移動する分散質の速度を散乱される光から測定することで、粒子の電位を計測する。

[6] リフトオフ法

光照射することで溶解する性質を持つフォトリジストを塗布・露光した後の基板に金属を成膜し、その後剥離液によってレジストを除去することで、基板上のパターンニング領域にのみ、金属を残す手法。微細加工プロセスとしてよく用いられる。

[7] フーリエ変換

周期的な変動成分を持つ実験データの波形を周波数成分に分解して表示するデータ処理の手法。周波数ごとの信号の大きさをスペクトル (強度分布) で表す。今回用いた高速フーリエ変換は、データ個数を 2 の n 乗個に制限することで処理速度を速めたものである。

[8] 緩衝液

外から少量の酸や塩基を加えても pH が大きく変化しないようにした溶液のこと。

[9] 機械学習

膨大なデータをコンピュータに入力し、その中にある既知の特徴を繰り返しコンピュータに学習させるか、もしくはデータそのものからコンピュータに規則性を発見させることで、未知のデータに対する解答を自動で得る手法。



共同研究グループ

理化学研究所

生命機能科学研究センター 集積バイオデバイス研究チーム

チームリーダー	田中 陽	(タナカ・ヨウ)
大学院生リサーチ・アソシエイト	マ・トウトウ	(Ma Doudou)
技師 (研究当時)	天谷 諭	(アマヤ・サトシ)
大学院生リサーチ・アソシエイト (研究当時)	アイサン・ユスフ	(Aishan Yusufu)
客員研究員	シン・キゴウ	(Shen Yigang)
客員研究員	船野 俊一	(フナノ・シュンイチ)

生命医科学研究センター トランスクリプトーム研究チーム

客員主管研究員	グセフ・オレグ	(Gusev Oleg)
---------	---------	--------------

農研機構 生物機能利用研究部門 生物素材開発研究領域

機能利用開発グループ

主席研究員	黄川田 隆洋	(キカワダ・タカヒロ)
主席研究員 (研究当時)	奥田 隆	(オクダ・タカシ)

奈良先端科学技術大学院大学 先端科学技術研究科 物質創成科学領域

生体プロセス工学研究室

大学院生	タン・タオ	(Tang Tao)
教授	細川 陽一郎	(ホソカワ・ヨウイチロウ)
准教授	ヤリクン・ヤシャイラ	(Yalikun Yaxiaer)

研究支援

本研究は、理化学研究所運営費交付金（生命機能科学研究）、同バトンゾーン研究推進プログラムエンジニアリングネットワーク制度により実施し、日本学術振興会（JSPS）科学研究費助成事業挑戦的研究（萌芽）「生物と機械のハイブリッドロボットによる海底・宇宙探索（研究代表者：田中陽）」などによる支援を受けて行われました。

発表者・機関窓口

<発表者> ※研究内容については発表者にお問い合わせください。

理化学研究所

生命機能科学研究センター 集積バイオデバイス研究チーム
チームリーダー 田中 陽 (タナカ・ヨウ)
生命医科学研究センター トランスクリプトーム研究チーム
客員主管研究員 グセフ・オレグ (Gusev Oleg)

農研機構

主席研究員 黄川田 隆洋 (キカワダ・タカヒロ)

奈良先端科学技術大学院大学

先端科学技術研究科 物質創成科学領域 生体プロセス工学研究室
准教授 ヤリクン・ヤシャイラ (Yalikun Yaxiaer)



田中 陽

<機関窓口>

理化学研究所 広報室 報道担当

E-mail: ex-press[at]riken.jp

農研機構 本部広報部広報課 報道チーム

TEL: 029-838-6005

Email: nias-koho[at]ml.affrc.go.jp

奈良先端科学技術大学院大学 企画総務課 渉外企画係

TEL: 0743-72-5026/5063 FAX: 0743-72-5011

Email: s-kikaku [at] ad.naist.jp

※上記の[at]は@に置き換えてください。