E-1

微生物培養の塗抹動作の定量化を目的とした軌跡の追跡とロボットアームによる塗抹
Trajectory Tracking and Robot Arm Spread for Quantification of Spread Behavior of Microbial Cultivation

○吉田翔[1]，坂本裕紀[1]，岩淵範之[2]，内木場文男[3]，金子美泉[3]
*Kakeru Yoshida[1], Hiroki Sakamoto[1], Noriyuki Iwabuchi[2], Fumio Uchikoba[3], Minami Kaneko[3]

Abstract: The microbial cultivation is a very important operation in microbiological research. Experiments of microbial cultivation are generally performed by human, but there have been reports of cases in which the microorganisms obtained differ depending on the operator. Individual differences in the spread process are thought to be a factor, but the conditions that affect the microbial cultivation results have not been clarified. Therefore, in this study, we focused on the trajectory during the spread and analyzed the spread movements of skilled workers to clarify the influence on microbial cultivation. In addition, a robotic arm was developed to enable reproducible spread.

１．緒言

微生物はその存在を確認されてから現在に至るまで，様々な場面で私達の暮らしに恩恵を与えてきた．現代ではバイオレメディエーション技術[1]も盛んに研究されている．微生物を上記のような研究に用いるには大量のサンプルが必要となる．しかし，自然界には微生物が混在しているため，所望の微生物のみを狙って採取することはできない．そこで，培養により増殖，単離する必要がある．微生物培養では，主に寒天を培地として利用する．その際，餌となる栄養素や温度，湿度や pH などの環境要因を検討し，有用微生物の単離を目指すことが微生物研究の中の 1 つの大きなテーマになっている．しかしながら，現在培養されている微生物は地球上に存在している微生物の 1%以下とされ[2]，ほとんどの微生物の培養方法は確立されていない．

このような現状の中で我々は，作業者によって培養結果に差が生じる事例を確認した．ここでいう差とは

・培養される微生物の種類の差
・培養されるコロニーの数の差

の 2 点である．培養には複数の工程があり，その内の 1 つが塗抹である．塗抹はスプレッダーという棒状の器具を用いて，手作業で行うのが一般的で，作業者によって軌跡や速度，かける圧力などが異なっており，定量化されていない．また，再現性が低いことから培養結果に差が生じる原因を特定することは困難だといえる．

塗抹要素を定量化し，培養結果への影響を明らかにすることで，新たな有用微生物の単離が可能な培養方法の発見が期待できる．そこで本研究ではスプレッダーの軌跡に着目し，軌跡が培養結果にどのような影響を及ぼすのかを明確にすることを目標とする．そのために，熟練者による塗抹動作を解析し，定量化に必要な条件を考察した．また，条件ごとの比較を行うために再現性が重要であるからことから，塗抹動作を機械化するロボットアームの開発を行った．

２．軌跡の追跡及びロボットアームによる塗抹

スプレッダーの追跡を OpenCV を用いたカラートラッキングにより行った．撮影環境を Figure 1 に示す．スプレッダーの根元に赤い目印を付け，その箇所を追跡し，1 秒当たり，30 回ロプットし軌跡の可視化を行った．

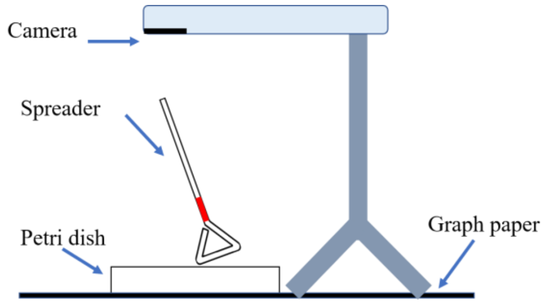

Figure 1. Shooting environment

本実験では熟練者の塗抹動作を培地の入ったシャーレの回転あり，回転なしの 2 種類用意し，それぞれ 30 秒間追跡を行った．

また，再現性のある塗抹を行うためロボットアームの開発を行った．設計したロボットアームの概要を Figure 2 に示す. 肩を除く人間の腕の自由度を 5 として，それに相当する 5 自由度として設計した.

本実験ではスプレッダーの動作として楕円，ひし形，直線の 3 種類の軌跡を用意し，大腸菌を用いて菌液塗

1：日大理工・院（前）・精機 2：日大生物資源科学部・教員 3：日大理工・教員・精機

抹実験を行った．塗抹時のシャーレの回転速度はすべて一定で，それぞれの軌跡を 10 回繰り返している．また，熟練者が塗抹したものとの比較も行った．

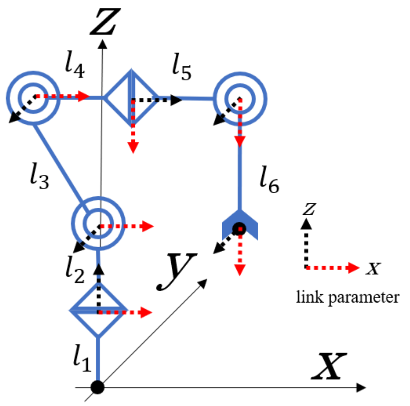

Figure 2. Schematic diagram of the robot arm

３．結果

３．１　軌跡の可視化

熟練者の軌跡を可視化した結果を Figure 3 に示す．

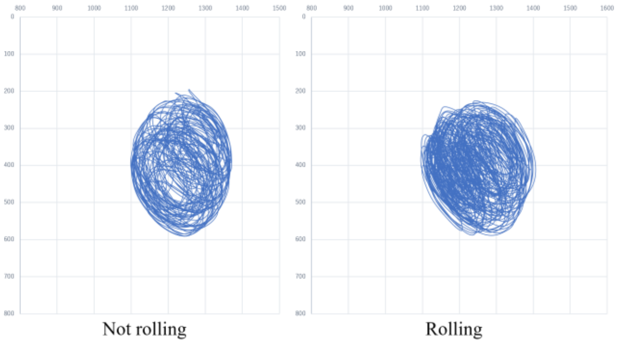

Figure 3. Trajectory of Skilled Workers

シャーレが回転している場合としていない場合では，軌跡に大きな差は見られなかった。回転ありで生じている左右のズレは、培地が固定されていないために生じている。また，塗抹中は小さく円状にスプレッダーを動かしており，最終的に大きな楕円を描いて全体へ塗り広げていることが分った．

３．２　ロボットアームによる菌液塗抹

熟練者とロボットアームによる塗抹結果を Figure 5 に示す．熟練者の軌跡が楕円を描いていることから，楕円とそれに類似したひし形の軌跡を使った際に手作業と同等の結果が得られたと考えられる．このことからロボットアームを用いることで，作業者に寄らず，再現性のある塗抹が可能だといえる．また，直線の場合は塗抹の段階で培地を削ってしまい，大腸菌が全体へ増殖していない．これはシャーレの回転に対して直線的な動きのため，負荷が強くかかり培地が削れてしまったと考えられる．

Figure 4. Spread results from different trajectories

このことから，直線的な動きを含むひし形の場合，楕円より負荷がかかっており，増殖しやすい大腸菌以外の微生物に対しては影響を及ぼす可能性がある．

４．結言

本実験では軌跡の可視化及びロボットアームによる菌液塗抹を行った．軌跡の可視化では熟練者は細かく円を描きながらスプレッダーを動かしていることが分かった．ロボットアームの塗抹では楕円とひし形を用いた際に熟練者の塗抹結果を再現することができた．しかし，大腸菌以外に対しても同様に影響がないかどうかは分からない．そのため，今後は既知の微生物以外を用いた塗抹を通して，軌跡が培養に与える影響を確認していく必要がある．

５．　参考文献

[1] 石川洋二:「油汚染土のバイオレメディエーション」，環境科学会誌，20，5，381-388，2007.

[2] 青井義輝：「培養できない微生物とは？どうしたら培養できるのか？-培養方法の革新-」，環境バイオテクノロジー，16，1，59，2016.