



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Engineering

journal homepage: www.elsevier.com/locate/eng



Research
Robotics—Review

类生命机器人发展与未来挑战

张闯^{a,b}, 王文学^{a,*}, 席宁^c, 王越超^a, 刘连庆^{a,*}

^a State Key Laboratory of Robotics, Shenyang Institute of Automation, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, China

^b University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

^c Emerging Technologies Institute, Department of Industrial and Manufacturing Systems Engineering, University of Hong Kong, Pokfulam, Hong Kong, China

ARTICLE INFO

Article history:

Received 23 November 2017

Revised 9 February 2018

Accepted 21 March 2018

Available online 17 July 2018

关键词

类生命机器人
融合机器人
生物驱动器
心肌细胞
肌肉细胞

摘要

类生命机器人由活体生物系统与传统机电系统深度有机融合而成,具有高能量效率、高本质安全性、高灵敏度以及可自修复等潜在优点。由于类生命机器人具有单独生命体或者以机电系统为主体的传统机器人系统所不具备的特性,因此对其的研究已成为当今的热点,并且在近些年的研究中取得了一定的重要成果。本文系统地总结了类生命机器人的发展。首先,讨论了类生命机器人的潜在发展趋势。然后,回顾了现有类生命机器人的性能,其中包括机器人简单的运动以及运动速度和方向的控制特性。接下来讨论了现有类生命机器人所使用的活体生物材料和非生命材料以及相应的加工制造方法。而后,回顾了现有类生命机器人所采用的控制方法,其中包括物理及化学控制方法。最后,讨论了类生命机器人未来发展中在感知、驱动、智能、活体生物材料、非生命材料、控制方法及信息技术等方面所面临的关键挑战。

© 2018 THE AUTHORS. Published by Elsevier LTD on behalf of Chinese Academy of Engineering and Higher Education Press Limited Company This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

1. 引言

近些年来,随着社会需求的不断提高,机器人已成为现代社会不可或缺的一部分,并且在不同的领域扮演着重要的角色。在20世纪50年代,第一代以液压驱动系统为主体的工业机器人问世。而后,随着机电技术与信息技术的发展,以机电系统为主体的工业机器人得到广泛应用[1]。同时,包括医疗机器人[2]、服务机器人[3,4]、仿生机器人[5]及仿人机器人[6]在内的不同种类机器人吸引了众多研究者的目光。

然而,尽管经过数十年的努力,一些阻碍机器人发展的关键性问题仍然没有得到很好的解决。目前大多数

机器人均由机电系统组成,其主要驱动力由电能转换而来,因此大幅度降低了系统的能量利用率。有报道指出,传统的机电系统在能量转换过程中会产生大量的热损失,因此有效机械能仅占所消耗全部能量的30%以下[7]。此外,大多数基于机电系统的传统机器人由金属、导线以及其他硬质材料所构成。这意味着使用这些人工材料和结构的机器人可能缺乏本质安全性、灵活性以及在人机交互应用中的适应性。

生命材料本身具有很多优点是人工材料难以达到的。例如,对于人机协同作业来说,大多数生物材料具有所需的柔软性和安全性[8]。并且,生物肌肉可以直接利用化学能,因此,只要在其所处环境中提供合适的

* Corresponding author.

E-mail address: wangwenxue@sia.cn (W. Wang), lqliu@sia.cn (L. Liu).

营养, 这些生物肌肉就可以将化学能直接以较高的效率 ($\geq 50\%$) 转换为运动所需的机械能[9], 而这么高的能量利用率是电动机等非生命驱动器难以达到的[7,10]。同时, 活体生物材料还具有环境自适应、自修复和自组装功能。除了在驱动方面以外, 活体生物材料在感知和智能方面也同样具有显著的优势, 以现有的科技水平, 这些巧妙的系统是很难用人工材料复制的[11]。

因此, 将生命系统与机电系统在分子、细胞和组织尺度进行深度有机融合, 形成一种新的类生命机器人系统有望集生命体的优点 (如高能量效率[10]、高功率质量比[12]及高能量密度[8]) 和机电系统的优势 (如高精度性[13]、高强度、良好的可重复性和可控性[14]) 于一身 (图1)。由于这种类生命机器人系统具有比以机电系统为主体的传统机器人更为优越的特性, 因此发展这种新类型的类生命机器人 (也被成为生物机器人、生物融合机器人、生物驱动器等) 研究已经成为当今机器人领域的研究热点, 并且在过去十年中取得了重要的突破。

在本文中我们回顾了现有的类生命机器人的相关研究, 包括心肌细胞驱动机器人、骨骼肌细胞驱动机器人以及游动细胞驱动机器人, 并且我们分别从不同的角度

总结了类生命机器人的发展。首先, 关于类生命机器人性能的不断拓展, 我们做了详细的总结。类生命机器人的功能随着材料、加工方法和控制方法的进步而不断发展。并且, 针对于应用于类生命机器人的活体生物材料的特性我们做了详细的总结, 包括细胞驱动力、生物材料的尺寸以及活体材料的可控性。而由于类生命机器人所采用的非生命材料不但关乎活体生命材料的性质, 如细胞分化、驱动力及生长状态, 同时也影响整个类生命机器人的性能, 如运动速度、执行力及操控性能。因此本文对目前应用于类生命机器人的非生命材料进行了详细的总结。而后, 本文针对于目前类生命机器人所采用的控制方法, 如电脉冲刺激、光刺激、温度刺激和化学刺激进行分析, 并分别对各种控制方法的特性进行详细讨论。此外, 针对于不同类型的类生命机器人, 如行走机器人、游动机器人以及操作机器人, 本文也做了详细的总结。最后, 本文详细讨论了类生命机器人未来发展中的潜在挑战。

2. 类生命机器人发展回顾

在过去的十几年间, 研究者经过不断的努力, 使得

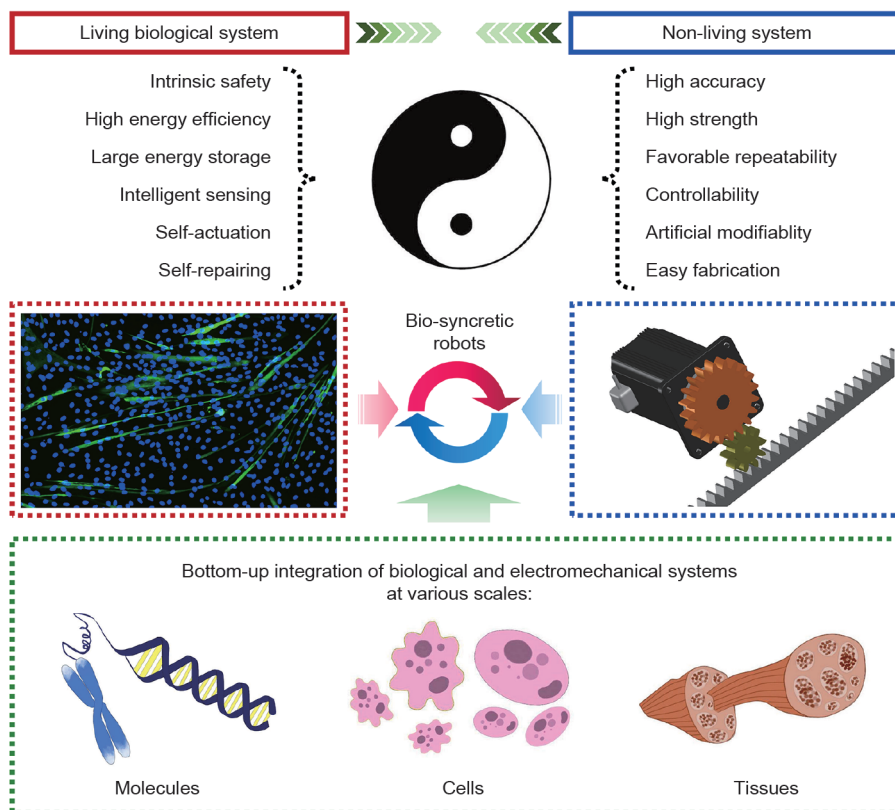


图1. 活体生物系统与机电系统在不同尺度的深度有机融合形成类生命机器人系统。

类生命机器人研究领域取得了快速的发展。其中一类最为简单的类生命机器人，基于其非对称结构，在具有自发收缩性的心肌细胞驱动下可实现单一方向的运动[15]。随后，采用收缩可控的活体生物材料，使得类生命机器人具有单一的运动可控性。近年来，为了使类生命机器人具有一定的执行功能，通过引入机器人设计方法和控制理论，使类生命机器人的运动速度和方向具有可控性。表1详细列举了心肌和骨骼肌细胞驱动类生命机器人的发展历程[15–31]。

可执行简单的自发运动的类生命机器人由具有自发运动特性的活体生物材料驱动，如哺乳动物心肌细胞

[15,21,26]和昆虫背血管组织[17,19,20]。美国加州大学洛杉矶分校的研究者通过采用可自主收缩的心肌细胞作为驱动单元，实现了可进行简单自主运动的类生命机器人雏形[15]。这款类生命机器人本体结构为采用单晶刻蚀的方法得到的硅骨架，并在硅表面覆盖一层铬/金薄膜，近而将心肌细胞培养在金属表面，实现驱动微结构运动。该机器人的腿部结构尺寸为138 μm 长、40 μm 宽、20 nm/300 nm（铬/金）厚。利用N-异丙基丙烯酰胺可阻止细胞贴壁生长的性质实现心肌细胞在金属薄膜上的图形化排列生长，从而产生更大的收缩合力（可达14 $\text{mN}\cdot\text{mm}^{-2}$ ）。将心肌细胞与机器人本体结构在细

表1 基于肌肉细胞的类生命机器人的发展

Time	Description	Biomaterials	Non-living materials	Functions	Parameters	Partial control methods	Ref.
2005	Walker	Cardiomyocytes	Silicon,Cr/Au	Walking, spontaneity	Speed: 38 $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$	No control	[15]
2007	3D film	Cardiomyocytes	PDMS	Gripping, pumping, walking, swimming, spontaneity	Speed: 3 $\text{mm}\cdot\text{min}^{-1}$ Force: 4 $\text{mN}\cdot\text{mm}^{-2}$	Electric control	[16]
2009	Manipulator	DV tissue	PDMS	Deflection, robustness, spontaneity, working in air	Deflection: 60 μm Force: 100 μN Frequency: 0.5 Hz	No control	[17]
2011	Device	C2C12	Silicon, collagen	Displacement	Displacement: 8 μm	Electric control	[18]
2012	Walker	DV tissue	PDMS	Walking, robustness, spontaneity	Speed: 3.5 $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ Force: 20 μN	No control	[19]
2012	Walker	DV tissue	PDMS	Walking, robustness, spontaneity	Speed: 532 $\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$	Chemical control	[20]
2012	Walker	Cardiomyocytes	Hydrogel	Walking, spontaneity	Speed: 236 $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$	No control	[21]
2012	Swimmer	Cardiomyocytes	PDMS	Swimming, spontaneity	Speed: 2.4 $\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$	Electric control	[22]
2013	Manipulator	C2C12	PDMS, Gelatin	Deflection	Deflection: 5 μm	Human skin electrical signal control	[23]
2013	Manipulator	DV tissue	PDMS	Deflection, robustness, spontaneity, working in air	Deflection: 250 μm Working 5 days in air	No control	[24]
2014	Walker	Optogenetics C2C12	Hydrogel, Matrigel, fibrin collagen	Walking	Speed: 156 $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$	Optical control	[25]
2014	Swimmer	Cardiomyocytes	PDMS	Movement in a low Reynolds number environment, spontaneity	Speed: 81 $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$	No control	[26]
2016	Swimmer	Cardiomyocytes	PDMS, micro-balloons, nickel powder, magnetic particles	Swimming, spontaneity, stability	Speed: 142 $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$	No control	[27]
2016	Swimmer	I2 muscle from the buccal mass of <i>Aplysia</i>	Photocurable resin, Collagen isolated from the <i>Aplysia</i> skin	Swimming	Speed: 4.3 $\text{mm}\cdot\text{min}^{-1}$ Force: 58.5 mN	Electric control	[28]
2016	Walker	Optogenetics C2C12	Hydrogel, Matrigel, fibrin collagen	Walking	Speed: 310 $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$	Optical control	[29]
2016	Swimmer	Optogenetics cardiomyocytes	Sylgard 184, Sylgard 527, Au	Swimming, turning, spontaneity	Speed: 3.2 $\text{mm}\cdot\text{s}^{-1}$ Distance: 250 mm	Optical control	[30]
2017	Walker	Neuromuscular tissue circuits from <i>Aplysia californica</i>	Photocurable resin	Walking	Speed: 0.54 $\text{cm}\cdot\text{min}^{-1}$	Electric and nervous system control	[31]

PDMS: polydimethylsiloxane; DV: dorsal vessel.

胞培养箱中共同培养3天后,使类生命机器人冷却至室温,利用温敏水凝胶(PNIPAAm)从37℃降至室温由凝胶态变为液态的特性,实现类生命机器人脱离基底而被释放。进而,类生命机器人在活体心肌细胞的收缩运动驱动下可实现自主行走运动,其最大运动速率可达 $38\ \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$,平均步频为1.8 Hz。而后,日本大阪大学的研究者展示了一款多足的可自主行走的类生命机器人。这种机器人由可自发产生收缩运动的活体昆虫背血管组织驱动,并且这种活体生物材料具有广泛的温度适应性,从而拓宽了类生命机器人的应用环境[19]。该类生命机器人由采用铸造方法得到的聚二甲基硅氧烷(PDMS)结构与取自于尺蠖的昆虫背血管组织装配而成,其总体尺寸为12.5 mm长、1.35 mm宽、0.2 mm厚。当将整个类生命机器人在培养基中培养10天后,该活体背血管组织可产生自发、有节律的跳动,其收缩力可达 $20\ \mu\text{N}$,在此驱动力作用下类生命机器人可以 $3.5\ \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ 的速率行走。

动作可受外界刺激控制的生物材料,如心肌细胞[30]和骨骼肌细胞[25,29],其收缩力、频率和幅值可由外界物理化学因素所控制,因此可作为受控活体生物驱动器实现运动可控的类生命机器人。基于活体生物材料本身的或修饰的特性,电脉冲刺激[22]、光刺激[29,30]、化学刺激[32,33]以及磁场刺激[34,35]等不同方法可应用于类生命机器人的控制研究。例如,美国哈佛大学的研究者展示了一款有心肌细胞组织和PDMS薄膜所组成的类生命机器人[16]。为通过控制细胞在二维平面的空间分布提高心肌细胞组织的驱动性能,他们采用了细胞外基质蛋白(纤维连接素蛋白)使细胞在PDMS薄膜上图形化生长。此外,他们还采用了温敏水凝胶(PIPAAm)来实现薄膜从基底的自动释放,从而形成三维类生命机器人。在以幅值为10 V、脉宽为10 ms的电脉冲刺激作为控制信号时,该心肌细胞组织层能够产生 $4\ \mu\text{N}\cdot\text{mm}^{-2}$ 的收缩力,从而驱动类生命机器人展示多种不同的功能,如抓取、泵液、行走及以 $3\ \text{mm}\cdot\text{min}^{-1}$ 的速率游动。而后,美国伊利诺伊大学香槟分校的研究者采用骨骼肌组织工程技术实现了一款运动可由外加电脉冲控制的骨骼肌驱动类生命机器人[25]。他们根据机器人的设计尺寸及所需求的水凝胶材料性能,采用三维立体光固化打印技术实现了类生命机器人本体结构制作。为增强组织工程骨骼肌的驱动性能,研究者在细胞培养过程中加入了胶原蛋白、纤维蛋白细胞外基质蛋白、胰岛素样生长因子,从而提高骨骼肌的增长和分化。当成肌细胞分化

形成可收缩运动的肌管组织后,在外界电脉冲刺激的控制下,组织工程骨骼肌中的肌管可产生受控的收缩力,从而驱动类生命机器人以 $156\ \mu\text{N}\cdot\text{s}^{-1}$ 的最大速率行走。此外,他们还通过建模与仿真的方法研究了不同设计参数的类生命机器人的运动机理和性能。

而最近,研究者开始尝试完全通过生物物理机制控制类生命机器人的运动方向的研究[30,36,37]。例如,哈佛大学的研究者根据鳐鱼的解剖学和形态学结构制作了一款由心肌细胞组织驱动的仿生类生命机器人[30]。该组织工程的仿生鳐鱼能够在光刺激控制下进行游动和转弯。为实现类生命机器人的仿生结构,该研究采用了多层不同配比的PDMS薄膜与金属骨架相结合,其中金属骨架的作用是提高机器人结构的形状保持特性。为模拟鳐鱼的游动特性,根据鳐鱼的肌肉组织结构,他们采用微米印章技术在仿生鳐鱼的鱼鳍上图形化覆盖纤维连接素蛋白,从而使细胞图像化生长,实现特定回路的心肌细胞组织。将心肌细胞与该仿生机器人结构共同培养直至心肌细胞形成可自主节律跳动的组织,通过溶解葡聚糖牺牲层实现类生命机器人的无损释放。进而,通过控制在仿生机器人鱼鳍上的光刺激位置使得该机器人能够进行避障游动。

3. 类生命机器人所采用的活体生物材料

为充分利用生命体的特殊性能,不同活体生物材料已经被应用于类生命机器人研究中,从而实现类生命机器人优越功能,如驱动[7,8,38-40]、感知[34,35]及能量供给[41]。在现有的类生命机器人研究中,常用的活体生物材料有心肌细胞[15,16,21,22,26,27,30]、骨骼肌细胞[18,25,29,42]、昆虫背血管组织[17,19,20,23,33]、鞭毛型游动微生物[36,37,43-47]以及其他可驱动生物材料[11,28,31]。针对于各自的应用场景,每种生物材料都有其独特的性能。

3.1. 心肌细胞

心肌细胞具有自发收缩的特性,其主要由肌纤维膜上特殊离子通道中的一系列特殊离子流产生的电刺激所引发[48]。一个成熟的心肌细胞的长度可达 $100\ \mu\text{m}$,一个心肌细胞层的长度可达到毫米甚至厘米量级。一旦单个心肌细胞之间生长至发生接触,细胞之间的闰盘将连接细胞间的动作电位,从而实现多细胞同时自发收缩跳动[7,49]。单个心肌细胞收缩力最少可达 $1\ \mu\text{N}$ [50-53],

而心肌细胞簇能够产生1~4 kPa的收缩应力[16],其相当于活体心肌所产生的应力。研究表明,心肌细胞组织的收缩力与心肌细胞的密度有关[54]。然而,为了心肌细胞产生更大的驱动力,需要采用基质胶和水凝胶等生物兼容性材料,使心肌细胞形成工程化三维肌肉组织[55-62]。除自发收缩运动之外,心肌细胞的收缩频率和收缩力也可由不同外界刺激因素所控制,如电脉冲刺激[63,64]、光刺激[30,65-67]及化学刺激[68-73]。介于单个心肌细胞的尺寸为100 μm 左右,以及其具有可自主收缩的特性,单个心肌细胞可作为百微米级尺度微型机器人的在体驱动器。例如,美国伊利诺伊大学香槟分校的研究者制作了一款由可自发运动的心肌细胞驱动的可在低雷诺数液体环境游动的微型自驱动类生命游动机器人[26]。为获得微型仿生精子机器人本体结构,他们采用了独特的加工方法:首先,采用干法刻蚀技术在硅片上形成微结构模具,然后,利用毛细牵引力将未固化的PDMS溶液灌入模具中[74]。烘烤过后,硅模具与PDMS结构一同浸泡在酒精中,利于软体微结构从模具中释放。然后,将PDMS微结构从模具中手动剥离,并将其转移至35 mm无菌培养皿中。为使仿生类生命机器人具有活体精子的游动特性,研究者采用明胶掩模、纤维连接素蛋白和F127凝胶实现PDMS微结构的选择性功能化处理,从而实现心肌细胞在微结构上的选择性黏附,进而达到定点驱动的目的。当心肌细胞与PDMS微结构共培养2~3天后,心肌细胞可产生自发收缩运动,从而驱动微型仿生类生命游动机器人以最大 $81 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ 的速率游动。由于心肌细胞可以在没有任何外界辅助的情况下产生自发、有节律的收缩运动,因此利用心肌细胞制造类生命机器人是相对容易的[25]。但是同样也是因为心肌细胞可以自发收缩,使得精准控制其收缩时间及幅值成为困难,因此也影响心肌细胞驱动类生命机器人的运动控制[27]。

3.2. 骨骼肌细胞

骨骼肌可以在神经系统刺激或者是外界电脉冲刺激的情况下产生收缩力[75]。因此,研究者已将电脉冲刺激引用到组织工程骨骼肌驱动类生命机器人的控制研究中[76]。骨骼肌细胞可以产生比心肌细胞更大的收缩力[18],其驱动力可达400 μN [25,29]。通常情况下,可产生收缩力的肌管是由成肌细胞在马血清的诱导下分化而成的[77-79]。为提高活体生物材料的收缩力,研究者已采用多种不同的方法提高组织工程骨骼肌的分化和收

缩特性,如电脉冲刺激[64,79-81]、物理刺激[82-85]、光遗传学处理及刺激[42,86,87]、化学刺激[88]、磁场刺激[89-91]以及生物调节[92]。这些研究表明,以上所提到的这些方法可以提高肌管的分化效率、肌管排列性、肌管收缩力以及肌管的成熟度。例如,日本东北大学的研究者提出一种插指式铂金电极,从而提高工程化肌肉组织的生长[80]。为得到三维排列的工程化肌肉组织,他们在铂金电极基底上加工了带有微沟道的合成水凝胶结构。细胞与电极共同培养后,采用幅值为6 V、频率为1 Hz、宽度为10 ms的电脉冲进行持续一天的刺激,而后对所分化得到的肌管进行性能及基因表达的量与分析。实验结果表明,相比于传统的铂丝电极,他们所提出的铂金插指式电极基底更有助于工程化骨骼肌组织的生长及成熟。尤其在肌管的排列性方面,采用所提出的插指电极所诱导的肌管具有较高的排列性(约为80%),而采用传统的铂丝电极所诱导的肌管则具有较低的排列性(约为65%)。此外,与传统铂丝电极相比,采用所提出的插指式电极所诱导的肌管具有更大的覆盖面积、更长的肌管长度、更多的肌肉转录因子以及更多的肌肉标志性蛋白。由于工程化的骨骼肌组织具有较心肌细胞更大的尺寸、更强的收缩力以及更好的控制特性,现已有研究者进行采用骨骼肌细胞驱动厘米尺度的类生命机器人研究[18,25,29]。哺乳动物细胞需要严格的生存环境[11],如无菌的培养箱、37℃的环境温度、pH值为7.4的液体环境、5%二氧化碳的气体环境。并且为保持足够的养分,培养基需频繁更换[20,93,94]。

3.3. 背血管组织

背血管组织是另一种可以作为类生命机器人生物驱动器的活体生命材料。这种生物材料能够进行自发、有节律的收缩,也可以在外界条件刺激下控制收缩,并且它们不需要像培养哺乳动物细胞那样严格的条件[33]。此外,背血管组织的环境适应性和鲁棒性较强的特性有益于类生命机器人研究。正如之前的研究显示,背血管组织能够在不更换培养基的情况下生存90天[95],并且能够在5~40℃的环境中保持它们的收缩特性[94,96]。背血管组织与哺乳动物骨骼肌细胞性质相似,都可以自发收缩并且满足类生命机器人对控制性能的要求。相关研究已经展示了昆虫背血管组织可以被外界电脉冲刺激所控制[23,97]。单个背血管组织的尺度可达到厘米级[20],并且它的收缩力可达100 μN [17,98]。由于其尺寸特性、收缩力、鲁棒性以及控制特性,昆虫背血管组织

已经被作为活体生物驱动器广泛应用到类生命机器人研究中[19,20,24,32,94,97,99-101]。例如,日本大阪大学的研究者发明了一种由封装的昆虫背血管组织驱动的可在空气环境工作的类生命操作器[24]。该类生命操作器包含一个微镊子、一个微腔室和一个活体背血管组织。其中,微镊子和微腔室由PDMS制作而成。作为执行器,微镊子在装配到其上的背血管组织驱动力的作用下来操纵物体。微腔室用来固定微镊子,以及存储培养基(40 μL)维持活体组织的生命。为最大化延长活体背血管组织的使用寿命,研究者采用石蜡封装微腔室,减少培养基受外界的影响。在活体组织收缩力的驱动下,微镊子尖端距离变化为250 μm 。当使用该类生命为操作器抓取一个直径为250 μm 的PDMS环形结构时,在活体组织驱动下,该环的横向形变为48 μm 、纵向形变为37 μm 。并且,他们所提出的这种类生命操作器可在空气中工作长达5天。

3.4. 微生物

微生物具有自驱动和自感知外界刺激而产生响应的功能,因此可以作为类生命机器人的活体生物驱动器[11]。许多种类的微生物已经被应用于类生命机器人的研究中,其中包括鞭毛细菌(如大肠杆菌、灵杆菌、鼠伤寒沙门氏菌)、滑动细菌(如运动支原体)、原生动物(如草履虫、沟钟虫及四膜虫)和藻类(如莱茵衣藻)等[11,36]。这些可运动的微生物可以依靠自身的动力在液体环境中游动,或在基底移动。它们的分子马达通过消耗环境中简单的营养(如葡萄糖)就可以产生充沛的动力[9,49]。此外,基于不同微生物对外界环境刺激的响应特性,单个或群体微生物的运动可由不同的方法所控制。目前,多种不同的刺激方法已被应用到不同种类微生物运动的控制研究中,如化学刺激、磁场刺激、电场刺激、光刺激、温度刺激及氧刺激[102]。基于微生物的类生命机器人除了具有尺寸小、运动可控外,其最主要的优点在于采用微生物作为活体生物驱动器可在广泛的环境条件中生存。例如,一些种类的微生物能够承受很高的温度(大于100 $^{\circ}\text{C}$),一些能够生存于较为广泛的酸碱度环境(pH 2~11.5)[103]。由于微生物拥有很多优点,包括它们具有很小的尺度、强劲的游动力、很好的可控性、超强的生存能力以及较高的能量利用效率,很多研究者已将微生物应用到不同领域的研究中,如生物化学探测[104-109]、操纵微小物体[36,44-46,110-112]以及药物运输[102,109,113-115]。例如,韩国全南大学

的研究者研发了一款针对于抗癌药物输送的鞭毛细菌驱动微型类生命生物医药机器人[115]。他们采用微流控与紫外线固化相结合的技术实现聚乙二醇(PEG)类生命机器人微球的制作。为使该基于活体细菌的类生命微型机器人具有较高的运动速率,研究者对微球表面进行选择性的处理,从而实现细菌在微球表面的选择性黏附,而形成单一方向的有效驱动,具体步骤如下:首先,利用微球与琼脂糖胶密度差异的性质,使微球半浸没在胶体中;然后将未固化的PDMS倒入容器中,覆盖琼脂糖胶及微球;待PDMS加热固化后,取出PDMS及附着其上的微球,并将它们浸泡在多聚赖氨酸溶液中,从而实现半个微球表面的修饰。由于细菌与疏水的PEG不产生黏附效应,因此这种鼠伤寒杆菌只黏附于经过多聚赖氨酸处理的微球表面。在游动细菌的驱动下,这种经过表面选择性处理的微型类生命机器人的游动速率为经过表面处理的微型机器人的12.33倍,是表面完全处理的微型机器人的7.4倍。

4. 应用于类生命机器人的非生命材料及相应的加工方法

非生命材料作为类生命机器人的重要组成部分,为活体生命材料提供支撑、生长环境以及黏附表面。之前的相关研究已经表明,类生命机器人的非生命材料机械特性影响机器人的整体性能,如浮动[27]、形变[25]及运动速度[30]。并且,非生命材料的微结构、杨氏模量、亲水性、生物相容性以及电导性等性质均影响活体生物材料的生长状态,如黏附性[15,26,36,109,114-116]、增值特性[29]、分化特性[25,59,65,80,82,117-119]、排列性[16,22,30,120]以及肌细胞收缩特性[63,73,82,84,121-123]。例如,加拿大多伦多大学的研究者描述了基底硬度对心肌细胞形貌及功能的影响[124]。根据真实的大鼠心肌组织的机械特性(4~46.2 kPa),将提取于新生大鼠的心肌细胞培养至采用蛋白修饰的具有不同杨氏模量(3、22、50和144 kPa)的聚丙烯酰胺基底以及采用蛋白覆盖的玻璃基底(假设硬度无限大)。培养120 h后,生长在中等硬度(与真实成年大鼠心肌组织硬度22~50 kPa相似)的基底上的细胞具有较好的细胞形态、功能以及分化特性,如具有很好的条纹状形貌、具有合理的兴奋阈值、具有较好的细胞伸长量以及具有更大的细胞收缩力。

常见的用于类生命机器人研究中的非生命材料包

括结构材料（如PDMS[16,17,19,20,22,24,26,27,30]、水凝胶[21,25,29]、树脂材料[28,36,46,114]和SU-8[125]）及生长材料（如基质胶[25]、纤维蛋白原[78,84,85,126,127]、纤维链接素蛋白[16,22,30]和胶原蛋白[60,128]）。不同的非生命材料具有不同的机械和生物特性，从而它们需要不同的加工制造方法。PDMS被广泛应用于类生命机器人的研究中，由于它的硬度可以根据肌肉组织的硬度（大约10 kPa[25]）而进行调节，并且针对PDMS的制造方法也较为广泛而简单。通常所采用的PDMS结构都是由聚合体与固化剂以10:1的比例混合成混合液经加热固化而形成；而所得的PDMS结构的杨氏模量可由不同的条件所调节，如凝聚体与固化剂的比例、加热温度、固化时间[129,130]。通常所采用的制造PDMS结构的方法有以下几种：铸造方法[17,19,20,24,26]、表面旋涂方法[27,30]、切割薄膜方法[16,22]以及3D打印方法[73]。并且PDMS的生物兼容性和亲水性可以采用表面修饰生长材料或者表面氧等粒子处理的方法调节[54]。例如，美国路易斯安那州立大学的研究者加工了一款由活体心肌细胞驱动PDMS薄膜运动的微型游动机器人[27]。该机器人采用的是基于鱼鳍的驱动原理，并且可以通过维持自身的重心和淹没深度在没有外力作用下保持在水中稳定游动。该款机器人主要由一个双层PDMS结构所组成的三角形头部和一个布满活体心肌细胞的尾部薄膜所组成。在心肌细胞的收缩力的作用下，PDMS薄膜与水之间产生相互作用力，从而可以产生最大速率为 $142 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ 的平稳抗干扰游动。

具有生物兼容性的水凝胶是类生命机器人发展中的另一种重要非生物材料。随着3D立体光刻打印技术的发展，可以采用紫外激光或者其他类型的激光根据所设计的3D结构对光诱导聚合物水凝胶液体进行逐层有选择性的固化[131,132]。为了满足活体生物材料所需的物理及生物环境的需求，可以通过调节聚合物和交联剂的分子结构改变水凝胶的杨氏模量，其化学性质可以通过3D打印机进行空间调控[133]。并且，水凝胶的多孔性可以实现必要的营养和气体渗透，从而使活体生命材料在其表面或者内部生长。此外，水凝胶材料的微结构有助于细胞的增值和分化[134,135]。考虑到水凝胶材料的众多优点，已有很多科学家尝试使用不同的水凝胶材料制作类生命机器人的本体结构[21,25,29,37,131]。例如，美国伊利诺伊大学香槟分校的研究者采用3D立体光刻打印技术制作了一款名为“Bio-Bot”的可移动类生命机器人，其主要由水凝胶和活体心肌细胞所组成[21]。

该款机器人的主要结构包括作为驱动器的“尾巴”和用来实现非对称结构而产生单方向运动的“腿”。活体心肌细胞被种植在尾部结构，在产生自发的同步收缩运动时驱动尾部结构进行弯曲运动，从而为类生命机器人提供驱动力。在活体心肌细胞以平均1.5 Hz的频率驱动下，该类生命机器人能够以最大 $236 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ 的速率向前运动。

通过结合多种不同性质的材料，如硬质材料、软体材料以及导电材料，可促进提高机器人在感知、智能及驱动方面的功能。因此，科学家发明了多种材料复合3D打印技术，用来促进类生命机器人的发展。例如，美国哈佛大学的研究者采用3D打印机制作了一种由多种非生命材料与活体心肌细胞相结合的器件[73]。根据器件的功能要求，其中的非生命结构本体由六种不同功能的墨水组成，包括压电材料、高导电率材料以及具有生物兼容性的软体材料。该器件的非生命体结构可以在不影响活体心肌细胞生长状态的情况下被细胞所驱动。因此，这种多种材料复合3D打印技术可被应用于未来的类生命机器人研究工作中。为使类生命机器人具有更广泛的功能、更多新材料及新加工方法，智能材料、4D打印技术等急需被应用到类生命机器人的研究之中。

5. 类生命机器人的控制方法

可控性是可执行任务的类生命机器人的重要属性，例如，在人为控制下或系统自动控制下机器人完成传递、操作及导航等工作任务。通常情况下，根据活体生物材料的固有特性，通过结合感知及外力等不同的控制方法，可实现类生命机器人的运动控制。

基于活体生物材料的固有特性的类生命机器人控制方法主要利用生物体本身的生物物理特性而实现。很多生物细胞或者组织对外界因素产生应答反应，如机械力及应力[136–138]、化学梯度场、电刺激[22,73,80]、光刺激[29,30,66,86]以及磁场[34,35,90]。在动物体控制肌肉细胞或者组织产生收缩运动的过程中，神经刺激是主要的控制因素之一[31,139,140]。并且采用电脉冲刺激可以模拟神经信号对肌肉的刺激控制，从而重建肌肉细胞或组织的兴奋——收缩过程[75,141]。因此，在近些年来很多研究者均采用电脉冲刺激的方法促进类生命机器人的发展。这种电脉冲刺激方式能够优化活体生命材料的状态；促进细胞的增值、成熟以及分化；控制肌细胞或组织的收缩运动（收缩频率和力）；并且可以控制细菌等微生物的运动方向。之前的研究工作已经展示

了电刺激对心肌细胞的影响,可以实现优化细胞的形态及功能[124]。此外,电脉冲刺激的应用可以实现培养超过8天的心肌细胞产生同步收缩运动[142]。例如,美国加州理工学院的研究者采用逆向工程的研究方法制作了一个可以由电脉冲刺激控制的类生命机器人——仿生水母[22]。这个微型游动机器人由一个PDMS薄膜及一层活体心肌细胞组成,其中心肌细胞的收缩力为机器人提供驱动力。为模拟真实活体水母的游动模式,研究者采用计算机仿真的方法对该款机器人进行结构设计。他们通过定量地模拟真实水母的本体结构、运动动力学以及动物与液体之间的相互作用,实现类生命机器人的仿生游动。在活体细胞的驱动下,该类生命机器人能够实现近乎真实水母的游动模式,并且其游动速度能够被外界电脉冲刺激所控制。在频率为1 Hz、电场强度为 $2.5 \text{ V} \cdot \text{cm}^{-1}$ 、脉宽为10 ms的电脉冲刺激下,该类生命机器人能够以高达 $2.4 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$ 的速率进行游动。虽然电脉冲刺激在促进及控制类生命机器人中的活体生命材料中得到了广泛的应用,并且这种电脉冲刺激具有较高的时间分辨率,但是电场在液体中传导的空间分辨率较差。而电脉冲刺激的空间分辨率只取决于电极与生物材料之间的距离[63]。因此,要想解决空间分辨率低的问题,需要将刺激电极集成至基底,或要求刺激电极与被控制的细胞或组织直接接触。然而,这种方法需要使用柔性电极集成的方法,并且可能伤害活体生物材料。

光控制,作为位置精确可控且对被控生物体无损的控制方法也被广泛应用于类生命机器人的研究之中。光控制方法可被直接应用于趋光性活体生物材料的运动控制,如藻类细胞和趋光性细菌的运动控制。根据这种活体生物体的光控制特性,我们在之前的工作中搭建了可对微小物体进行自由且精确操作的生物镊系统。该系统的操作力由微小光斑所诱导的局部高密度趋光性藻类细胞的游动合力所形成[37]。在这项工作中,活体莱茵衣藻和实球藻提供操作驱动力,波长为500 nm的光源控制藻类细胞群体运动,从而实现操作运动的精确控制。并且在该工作中,我们提出了两种不同的操作模式:光斑诱导的操作模式以及被操作物体本体结构诱导的操作模式。在第一种操作模式下,被操作微小物体能够在生物驱动力的作用下,沿着控制光斑的运动轨迹所移动;在第二种操作模式下,被操作微小物体在光斑诱导的局部高密度游动细胞的驱动力下,根据自身的结构非对称性而产生转动及移动运动。实验表明,被操作的微小物体能够在微生物的驱动下进行最大速率为 $7.59 \text{ } \mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ 的移

动及最大角速度为 $0.032 \text{ rad} \cdot \text{s}^{-1}$ 的转动。

除了具有趋光性的活体生物材料能够很容易实现光控运动之外,其他的生物细胞和组织,如心肌细胞和骨骼肌细胞,在光遗传学的帮助下同样可以产生光控制特性。光遗传学使得研究者可以通过基因工程的方法使细胞表达光敏蛋白质,从而使肌肉细胞或组织实现时间及空间可控的驱动性质[65,86,87]。因为光可以被聚焦于肌细胞或组织的不同位置,从而可以实现有选择地控制活体生物材料的收缩运动。之前的一项研究表明,经过光遗传学处理的肌细胞在光强为 $0.12 \text{ mW} \cdot \text{mm}^{-2}$ 、脉宽为100 ms的蓝光刺激下所产生的收缩运动模式及幅度与肌肉细胞在强度为 $0.8 \text{ V} \cdot \text{mm}^{-1}$ 、脉宽为100 ms的电刺激下所产生的运动性质相似[87]。并且,大部分经过光遗传学处理的细胞、肌细胞以及组织对于光刺激具有很快的响应速度(约为几十毫秒)[36,86,87]。应用光遗传学及光控制方法,研究者已初步实现了活体心肌细胞[30,65]及骨骼肌细胞[29,86,143]驱动类生命机器人的简单运动控制。例如,美国伊利诺伊大学香槟分校的研究者研制了一款由非侵入式光控制的骨骼肌细胞驱动微型类生命机器人——Bio-Bot[29]。该机器人由3D打印的水凝胶本体结构及包含多根肌管的微型肌肉组织所构成。为使该类生命机器人具有光可控性,研究者采用现有的光遗传学技术实现成肌细胞表达光敏感离子通道ChR2。而后,他们将转染后的成肌细胞、纤维蛋白原、凝血酶以及基质胶相混合,进而形成3D肌肉组织。在光刺激下,该骨骼肌微组织可以产生高达 $300 \text{ } \mu\text{N}$ (0.56 kPa)的拉伸力。当将该骨骼肌微组织装配到3D打印所形成的水凝胶本体结构时,在光刺激下该类生命机器人实现最大速率为 $310 \text{ } \mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ 的运动以及角速度为 $2 \text{ (}^\circ\text{)} \cdot \text{s}^{-1}$ 的2D转动运动。

由于光刺激的控制方法具有较高的时间和空间的分辨率,因此被广泛研究并应用于类生命机器人的发展之中,但是仍然存在一些制约着其在类生命机器人控制方法研究中的关键问题。例如,用于刺激控制的会聚光可能会伤害活体生物材料[144];并且,有些光源,如紫外线,具有伤害细胞和微生物等活体生物材料的DNA或蛋白质的危险。因此,将某些特殊光源的光刺激应用于类生命机器人的控制中应限制曝光时间在一个很小的时间尺度内[145]。并且,有研究表明470 nm波长的光在生物组织中的有效穿透力小于740 nm[146,147]。因此,控制光无法穿透像身体一样不透明的屏障。

化学刺激作为另一种应用于类生命机器人的控制方

法同样被广泛研究。由于病变细胞的代谢不同于正常细胞而会改变身体中病灶附近的微环境[109], 受此启发, 应用活体生物材料对化学刺激的应答效应有望实现具有自动控制功能的体内介入诊疗类生命机器人。为研究类生命机器人的化学刺激控制方法, 多种药物已经被应用于骨骼肌细胞、组织[71]和心肌细胞[148]的收缩频率和幅度, 以及细菌的游动速度及方向的控制研究中[109,114]。例如, 韩国全南国立大学的研究者为实现基于细菌的肿瘤诊断、主动药物输送与靶向治疗, 研制了一种类生命细菌机器人[109]。该微型类生命机器人的主体由细菌驱动的微米颗粒所构成, 其驱动力来源于有选择性地黏附于经牛血清白蛋白(BSA)图形化处理的聚苯乙烯(PS)小球上的鞭毛细菌(鼠伤寒沙门氏菌)所提供。实验结果表明, 大量的细菌有选择地仅黏附于PS小球没有经过表面处理的一侧。此微纳机器人可以感知环境中的化学梯度, 从而规划自身的运动方向。在实验中, 将众多该机器人放置于两端分别含有细菌化学引诱物(天冬氨酸)和细菌化学排斥物(硫酸镍)的微流控管道中。结果显示, 类生命微纳机器人能够根据化学梯度刺激在活体细菌的驱动下向天冬氨酸一端游动。然而, 化学刺激控制方法的时间和空间分辨率都很低, 并且具有潜在的毒性作用, 因此限制了其在类生命机器人控制方面的应用。此外, 当类生命机器人距化学源较远时, 随着扩散距离的增加, 化学浓度将快速降低, 从而减弱了其控制作用。

磁力控制方法具有无毒性、非接触以及高穿透力等优点。因此, 磁场被广泛应用于蛋白质分子[35]、细胞和线虫[34]等活体生物材料的行为控制, 以及磁性细菌[102,149-152]的运动方向和速度控制研究中。例如, 加拿大生物医学工程研究所的研究者展示了细菌(MC-1)的运动速度、方向及行为可由闭环计算机系统所控制[152]。此外, 采用远磁场所产生的外力可以控制镶嵌在类生命机器人内部的微纳磁性颗粒, 从而控制类生命机器人的运动速度及辅助活体生物材料实现驱动[153,154]。并且, 远磁场也可以用于控制类生命机器人的运动方向[116,155]。例如, 美国卡内基梅隆大学的研究者展示了采用远磁场方法实现类生命微纳机器人的运动控制[116]。该类生命微纳游动机器人由众多灵杆菌黏附于直径为6 μm 、具有超顺磁性的颗粒构成。其中, 活体细菌提供类生命机器人的驱动力, 磁性颗粒在远磁场的控制下为类生命机器人提供运动控制力。进而通过研究磁性控制参数与类生命机器人的运动性能之间的关

系进行磁力控制方法的优化。在这项研究中, 一个小于10 mT的磁场可控制该类生命机器人以最大为7.3 $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ 的速率实现任意2D轨迹运动。然而, 磁性控制方法需要采用复杂的控制算法才能实现精准控制。

虽然为了提升类生命机器人的整体性能, 目前有很多控制方法被探索, 但是每种控制方法都存在着一一定的缺陷, 从而限制了其在类生命机器人研究中的应用。因此, 为解决类生命机器人在复杂工作环境中的控制难题, 结合生命科学和工程技术的采用新的驱动机理及工具的控制方法急需被开发。

6. 类生命机器人发展所面临的挑战

微机电系统、微纳加工技术、生命科学等众多学科领域的发展均促进类生命机器人领域的研究。目前活体生物材料与非生命材料的简单结合研究已初步实现。相关研究已经展示了许多由生命材料驱动的具有移动、转动以及操作等简单功能的类生命机器人。然而, 仍然存在着许多急需解决的制约着类生命机器人进一步发展的重大挑战。潜在的重大问题如下。

6.1. 类生命机器人的类生命感知与智能研究的缺乏

感知、智能与驱动是机器人的主要功能, 而对于未来的类生命机器人也应该包含着三大主要因素。然而, 目前有关类生命机器人的大部分研究仅聚焦于类生命机器人在活体生物材料的驱动下的简单运动功能的实现。很少有关于采用活体生物材料实现信息感知获取, 以及采用生命体本身特性实现机器人智能功能的研究。因此, 基于在类生命驱动研究中采用活体心肌细胞和骨骼肌细胞作为驱动单元同样的原理, 更多地采用活体生命材料实现类生命机器人感知与智能功能的研究需要被探索。从而使未来的类生命机器人具有高性能的感知、智能与驱动功能。

6.2. 类生命机器人活体生物材料的缺乏

活体生物材料是类生命机器人的重要组成部分, 是实现如感知、智能和驱动等功能的主要单元。因此, 活体生物材料的性质决定着类生命机器人的主要性能指标。然而, 活体生物细胞或组织的获取始终是制约着类生命机器人发展的难题。例如, 在目前的研究所采用的心肌细胞大部分来源于新生大鼠的原代心肌细胞培养。因此, 可使用的心肌细胞数量取决于新生大鼠的数

量。再如，蛇的夹窝具有高灵敏度红外感知功能，可用于实现未来类生命机器人的高性能感知系统。但是，每条蛇仅有两个夹窝，并且在活体样本处理过程中夹窝很容易被损坏。并且，为实现多能性类生命机器人，如嗅觉、记忆以及学习等功能，新的活体生命材料及技术急需被开发。因此，为促进类生命机器人进一步发展，对于具有驱动、感知等功能的活体生命材料的研究应引入新的科技手段，如生物融合及基因工程的技术。

6.3. 类生命机器人活体生物材料的长期生命维持技术的缺乏

大多数活体生命材料均为湿性材料，需被浸泡于适当的培养基中，从而维持它们的生物活性，因此限制了类生命机器人在复杂环境中的应用。当类生命机器人在空气中工作时，其中生物材料所处的环境应具有充足的养分、合适的温度、气体以及无菌等特性。在自然界生物体内，皮肤和循环系统能够为生物材料提供必要的保护及生命维持养分。

然而，为类生命机器人制作类似于皮肤的智能材料以及人造毛细血管是非常困难的。并且，新陈代谢所产生的热量同样需要被提取再利用。因此，为实现类生命机器人的进一步发展，类生命机器人本体结构及生命体所需的培养环境的新型材料及相应的加工方法（如智能生物材料、4D打印技术以及恒温系统等）急需被探索。

6.4. 类生命机器人的控制方法缺陷

控制性能是机器人的主要评价指标之一，很多研究团队已经采用光、电以及化学等方法实现了类生命机器人的简单运动控制。然而，现有的控制方法大多存在应用弊端。例如，基于动作电位传导的电脉冲控制方法具有较低的空间分辨率；并且如果采用接触电极的方法进行控制位置精度的提升可能会对活体生物细胞产生伤害；光控制的方法需要应用于透明的介质环境；采用扩散原理的化学刺激控制具有较低的时间和空间分辨率；磁场控制需要较为笨重的外部设置以及复杂的计算机控制算法。因此，可应用于多重复杂环境的类生命机器人通用控制方法急需被探索。

6.5. 类生命机器人信息获取、处理及信息接口技术的缺乏

信息获取、传递以及处理等信息技术是智能机器人的主要因素之一。机器人信息获取模块所采集的信息需要被无损地传递给机器人智能模块进行处理及记录。进

而，信息被传递给输出模块实现机器人执行器的运动控制。因此，智能机器人的信息接口技术是机器人关键技术。然而，目前有关类生命机器人的工作很少有聚焦于机器人信息技术方面的研究。信息技术的引入将有可能促进类生命机器人的高速发展。此外，类生命机器人感知模块、信息处理单元以及驱动执行器的集成研究也将是未来类生命机器人所面临的重大挑战。

7. 总结

类生命机器人融合生命体和非生命机电系统的优势，由于其具有潜在的高能量效率、高本质安全性以及高灵敏度等特性，可能成为新一代机器人的发展方向。本文从功能、活体生物材料、非生命材料以及控制方法研究方面分别讨论了类生命机器人的发展。同时，从感知、智能、生命和非生命材料、控制方法以及信息处理技术方面分别讨论了未来类生命机器人发展中可能面临的重要挑战。本文仅提到了有关类生命机器人研究的部分工作；此外，细胞培养、组织工程、光遗传学、微纳制作、3D打印以及微机电系统等领域的研究同样为类生命机器人的发展做出了重大贡献。探索类生命机器人发展的机遇及克服所面临的挑战需要机器人、机电、生物、医药和化学等众多学科领域的共同发展。虽然目前所研究的大部分类生命机器人仅局限于毫米和微米尺度，但是较传统微纳机器人具有显著的优势。例如，心肌细胞具有直接利用环境中的化学能而产生自驱动的特性；这将为解决微小机器人在特殊工作环境中（如人体）的能量供给和控制问题提供新的思路。未来的类生命机器人将具备多重功能特点，如本质安全性强、感知灵敏度高、信息处理速度快、智能程度高以及自修复能力强等，从而可以在不同的领域为人类服务。

致谢

本工作由国家自然科学基金（61673372, 61522312, 91748212, 61433017）、中国科学院前沿科学重点研究计划（QYZDB-SSW-JSC008）以及CAS/SAFEA 创新团队国际合作计划支持。

Compliance with ethics guidelines

Chuang Zhang, Wenxue Wang, Ning Xi, Yuechao

Wang, and Lianqing Liu declare that they have no conflict of interest or financial conflicts to disclose.

References

- [1] Rigelsford J. Industrial robotics: technology, programming and application. *Ind Rob* 1999;26(1).
- [2] Dogangil G, Davies BL, Rodriguez y Baena F. A review of medical robotics for minimally invasive soft tissue surgery. *Proc Inst Mech Eng H* 2010;224(5):653–79.
- [3] Habib MK. Service robots in humanitarian landmine clearance. *Science* 1954;120(3120):604.
- [4] Park JS, Kim JH, Oh YH. Feature vector classification based speech emotion recognition for service robots. *IEEE Trans Consum Electron* 2009;55(3):1590–6.
- [5] Mbemmo E, Chen Z, Shatara S, Tan X. Modeling of biomimetic robotic fish propelled by an ionic polymer-metal composite actuator. In: *Proceedings of 2008 IEEE International Conference on Robotics and Automation*; 2008 May 19–23; Pasadena, CA, USA. 2008. p. 689–94.
- [6] Hirai K, Hirose M, Haikawa Y, Takenaka T. The development of Honda humanoid robot. *IEEE Int Conf Robot Autom* 1998;2:1321–6.
- [7] Chan V, Asada HH, Bashir R. Utilization and control of bioactuators across multiple length scales. *Lab Chip* 2014;14(4):653–70.
- [8] Ricotti L, Mencias A. Bio-hybrid muscle cell-based actuators. *Biomed Microdevices* 2012;14(6):987–98.
- [9] Darnton N, Turner L, Breuer K, Berg HC. Moving fluid with bacterial carpets. *Biophys J* 2004;86(3):1863–70.
- [10] Wang W, Duan W, Ahmed S, Mallouk TE, Sen A. Small power: autonomous nano- and micromotors propelled by self-generated gradients. *Nano Today* 2013;8(5):531–54.
- [11] Carlsen RW, Sitti M. Bio-hybrid cell-based actuators for microsystems. *Small* 2014;10(19):3831–51.
- [12] Carlson FD, Wilkie DR. *Muscle physiology*. Upper Saddle River: Prentice-Hall; 1974.
- [13] Jin M, Lee J, Chang PH, Choi C. Practical nonsingular terminal sliding-mode control of robot manipulators for high-accuracy tracking control. *IEEE Trans Ind Electron* 2009;56(9):3593–601.
- [14] Blanchard CZ, Waldrop GL. Modeling, identification, and control of a pneumatically actuated, force controllable robot. *IEEE Trans Rob Autom* 1981;45 Pt 1(5):732–42.
- [15] Xi J, Schmidt JJ, Montemagno CD. Self-assembled microdevices driven by muscle. *Nat Mater* 2005;4(2):180–4.
- [16] Feinberg AW, Feigel A, Shevkopylas SS, Sheehy S, Whitesides GM, Parker KK. Muscular thin films for building actuators and powering devices. *Science* 2007;317(5843):1366–70.
- [17] Touyama Y, Hoshino T, Iwabuchi K, Morishima K. Micro-encapsulation of bioactuator using insect dorsal vessel. In: *Proceedings of 2009 International Symposium on Micro-NanoMechatronics and Human Science*; 2009 Nov 8–11; Nagoya, Japan. New York: IEEE; 2009. p. 644–9.
- [18] Fujita H, Dau VT, Shimizu K, Hatsuda R, Sugiyama S, Nagamori E. Designing of a Si-MEMS device with an integrated skeletal muscle cell-based bio-actuator. *Biomed Microdevices* 2011;13(1):123–9.
- [19] Akiyama Y, Hoshino T, Iwabuchi K, Morishima K. Room temperature operable autonomously moving bio-microrobot powered by insect dorsal vessel tissue. *PLoS One* 2012;7(7):e38274.
- [20] Akiyama Y, Odaira K, Sakiyama K, Hoshino T, Iwabuchi K, Morishima K. Rapidly-moving insect muscle-powered microrobot and its chemical acceleration. *Biomed Microdevices* 2012;14(6):979–86.
- [21] Chan V, Park K, Collens MB, Kong H, Saif TA, Bashir R. Development of miniaturized walking biological machines. *Sci Rep* 2012;2(1):857.
- [22] Nawroth JC, Lee H, Feinberg AW, Ripplinger CM, McCain ML, Grosberg A, et al. A tissue-engineered jellyfish with biomimetic propulsion. *Nat Biotechnol* 2012;30(8):792–7.
- [23] Kabumoto K, Hoshino T, Akiyama Y, Morishima K. Voluntary movement controlled by the surface EMG signal for tissue-engineered skeletal muscle on a gripping tool. *Tissue Eng Part A* 2013;19(15–16):1695–703.
- [24] Akiyama Y, Sakuma T, Funakoshi K, Hoshino T, Iwabuchi K, Morishima K. Atmospheric-operable bioactuator powered by insect muscle packaged with medium. *Lab Chip* 2013;13(24):4870–80.
- [25] Cvetkovic C, Raman R, Chan V, Williams BJ, Tolish M, Bajaj P, et al. Three-dimensionally printed biological machines powered by skeletal muscle. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014;111(28):10125–30.
- [26] Williams BJ, Anand SV, Rajagopalan J, Saif MT. A self-propelled biohybrid swimmer at low Reynolds number. *Nat Commun* 2014;5:3081.
- [27] Holley MT, Nagarajan N, Danielson C, Zorlutuna P, Park K. Development and characterization of muscle-based actuators for self-stabilizing swimming biorobots. *Lab Chip* 2016;16(18):3473–84.
- [28] Webster VA, Chapin KJ, Hawley EL, Patel JM, Akkus O, Chiel HJ. *Aplysia californica* as a novel source of material for biohybrid robots and organic machines. In: Lepora N, Mura A, Mangan M, Verschure P, Desmulliez M, Prescott T, editors. *Biomimetic and biohybrid systems. Living machines* 2016. Cham: Springer; 2016. p. 365–74.
- [29] Raman R, Cvetkovic C, Uzel SG, Platt RJ, Sengupta P, Kamm RD, et al. Optogenetic skeletal muscle-powered adaptive biological machines. *Proc Natl Acad Sci USA* 2016;113(13):3497–502.
- [30] Park SJ, Gazzola M, Park KS, Park S, Di Santo V, Blevins EL, et al. Phototactic guidance of a tissue-engineered soft-robotic ray. *Science* 2016;353(6295):158–62.
- [31] Webster VA, Young FR, Patel JM, Scariano GN, Akkus O, Gurkan UA. 3D-printed biohybrid robots powered by neuromuscular tissue circuits from *Aplysia californica*. In: Mangan M, Cutkosky M, Mura A, Verschure P, Prescott T, Lepora N, editors. *Biomimetic and biohybrid systems. Living machines* 2017. Cham: Springer; 2017. p. 475–86.
- [32] Akiyama Y, Iwabuchi K, Furukawa Y, Morishima K. Biological contractile regulation of micropillar actuator driven by insect dorsal vessel tissue. In: *Proceedings of the 2nd IEEE RAS & EMBS International Conference on Biomedical Robotics and Biomechatronics*; 2008 Oct 19–22; Scottsdale, AZ, USA. New York: IEEE; 2008. p. 501–5.
- [33] Uesugi K, Shimizu K, Akiyama Y, Hoshino T, Iwabuchi K, Morishima K. Contractile performance and controllability of insect muscle-powered bioactuator with different stimulation strategies for soft robotics. *Soft Robot* 2016;3(1):13–22.
- [34] Long X, Ye J, Zhao D, Zhang SJ. Magnetogenetics: remote non-invasive magnetic activation of neuronal activity with a magnetoreceptor. *Sci Bull* 2015;60(24):2107–19.
- [35] Qin S, Yin H, Yang C, Dou Y, Liu Z, Zhang P, et al. A magnetic protein biocompass. *Nat Mater* 2016;15(2):217–26.
- [36] Weibel DB, Garstecki P, Ryan D, DiLuzio WR, Mayer M, Seto JE, et al. Microcoax: microorganisms to move microscale loads. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005;102(34):11963–7.
- [37] Zhang C, Xie SX, Wang WX, Xi N, Wang YC, Liu LQ. Bio-syncretic tweezers actuated by microorganisms: modeling and analysis. *Soft Matter* 2016;12(36):7485–94.
- [38] Pilarek M, Neubauer P, Marx U. Biological cardio-micro-pumps for microbio-reactors and analytical micro-systems. *Sens Actuators B Chem* 2011;156(2):517–26.
- [39] Shimizu K, Fujita H, Nagamori E. Evaluation systems of generated forces of skeletal muscle cell-based bio-actuators. *J Biosci Bioeng* 2013;115(2):115–21.
- [40] Magdanz V, Medina-Sánchez M, Schwarz L, Xu H, Elgeti J, Schmidt OG. Spermatozoa as functional components of robotic microswimmers. *Adv Mater* 2017;29(24):1606301.
- [41] Liu X, Wang X. Cardiomyocytes driven piezoelectric nanofiber generator with anisotropic enhancement. In: *Proceedings of the 29th International Conference on Micro Electro Mechanical Systems*; 2016 Jan 24–28; Shanghai, China. New York: IEEE; 2016. p. 1189–92.
- [42] Raman R, Grant L, Seo Y, Cvetkovic C, Gapinske M, Palasz A, et al. Damage, healing, and remodeling in optogenetic skeletal muscle bioactuators. *Adv Healthc Mater* 2017;6(12):1700030.
- [43] Turner L, Zhang R, Darnton NC, Berg HC. Visualization of flagella during bacterial swarming. *J Bacteriol* 2010;192(13):3259–67.
- [44] Miyamoto T, Kojima M, Nakajima M, Homma M, Fukuda T. Rotation of bacteria sheet driven micro gear in open micro channel. In: *Proceedings of 2012 IEEE International Conference on Robotics and Automation*; 2012 May 14–18; Saint Paul, MN, USA. New York: IEEE; 2012. p. 4080–5.
- [45] Steager EB, Sakar MS, Kim DH, Kumar V, Pappas GJ, Kim MJ. Electrokinetic and optical control of bacterial microrobots. *J Micromech Microeng* 2011;21(3):035001.
- [46] Sokolov A, Apodaca MM, Grzybowski BA, Aranson IS. Swimming bacteria power microscopic gears. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010;107(3):969–74.
- [47] Stantton MM, Park BW, Miguel-López A, Ma X, Sitti M, Sánchez S. Biohybrid microtube swimmers driven by single captured bacteria. *Small* 2017;13(19):1603679.
- [48] Nerbonne JM, Kass RS. Molecular physiology of cardiac repolarization. *Physiol Rev* 2005;85(4):1205–53.
- [49] Tanaka Y, Sato K, Shimizu T, Yamato M, Okano T, Kitamori T. Biological cells on microchips: new technologies and applications. *Biosens Bioelectron* 2007;23(4):449–58.
- [50] Yasuda SI, Sugiura S, Kobayakawa N, Fujita H, Yamashita H, Katoh K, et al. A novel method to study contraction characteristics of a single cardiac myocyte using carbon fibers. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001;281(3):1442–6.
- [51] Nishimura S, Yasuda S, Katoh M, Yamada KP, Yamashita H, Saeki Y, et al. Single cell mechanics of rat cardiomyocytes under isometric, unloaded, and physiologically loaded conditions. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2004;287(1):196–202.
- [52] Yin S, Zhang X, Zhan C, Wu J, Xu J, Cheung J. Measuring single cardiac myocyte contractile force via moving a magnetic bead. *Biophys J* 2005;88(2):1489–95.
- [53] Addae-Mensah KA, Wikswo JP. Measurement techniques for cellular biomechanics in vitro. *Exp Biol Med* 2008;233(7):792–809.
- [54] Zhang C, Wang J, Wang W, Xi N, Wang Y, Liu L. Modeling and analysis of biosyncretic micro-swimmers for cardiomyocyte-based actuation. *Bioinspir Biomim* 2016;11(5):056006.
- [55] Zimmermann WH, Melnychenko I, Eschenhagen T. Engineered heart tissue for regeneration of diseased hearts. *Biomaterials* 2004;25(9):1639–47.

- [56] Baar K, Birla R, Boluyt MO, Borschel GH, Arruda EM, Dennis RG. Self-organization of rat cardiac cells into contractile 3D cardiac tissue. *FASEB J* 2005;19(2):275-7.
- [57] Radisic M, Park H, Martens TP, Salazar-Lazaro JE, Geng W, Wang Y, et al. Pre-treatment of synthetic elastomeric scaffolds by cardiac fibroblasts improves engineered heart tissue. *J Biomed Mater Res A* 2008;86A(3):713-24.
- [58] Tandon N, Cannizzaro C, Chao PH, Maidhof R, Marsano A, Au HT, et al. Electrical stimulation systems for cardiac tissue engineering. *Nat Protoc* 2009;4(2):155-73.
- [59] Shin SR, Jung SM, Zalabany M, Kim K, Zorlutuna P, Kim SB, et al. Carbonnanotube-embedded hydrogel sheets for engineering cardiac constructs and bioactuators. *ACS Nano* 2013;7(3):2369-80.
- [60] Eschenhagen T, Fink C, Remmers U, Scholz H, Wattochow J, Weil J, et al. Three-dimensional reconstitution of embryonic cardiomyocytes in a collagen matrix: a new heart muscle model system. *FASEB J* 1997;11(8):683-94.
- [61] Zimmermann WH, Fink C, Kralisch D, Remmers U, Weil J, Eschenhagen T. Three-dimensional engineered heart tissue from neonatal rat cardiac myocytes. *Biotechnol Bioeng* 2000;68(1):106-14.
- [62] Tobita K, Liu LJ, Janczewski AM, Tinney JP, Nonemaker JM, Augustine S, et al. Engineered early embryonic cardiac tissue retains proliferative and contractile properties of developing embryonic myocardium. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006;291(4):H1829-37.
- [63] Nagamine K, Kawashima T, Sekine S, Ido Y, Kanzaki M, Nishizawa M. Spatiotemporally controlled contraction of micropatterned skeletal muscle cells on a hydrogel sheet. *Lab Chip* 2011;11(3):513-7.
- [64] Ahadian S, Ostrovidov S, Hosseini V, Kaji H, Ramalingam M, Bae H, et al. Electrical stimulation as a biomimicry tool for regulating muscle cell behavior. *Organogenesis* 2013;9(2):87-92.
- [65] Chan V, Neal DM, Uzel SG, Kim H, Bashir R, Asada HH. Fabrication and characterization of optogenetic, multi-strip cardiac muscles. *Lab Chip* 2015;15(10):2258-68.
- [66] Asano T, Ishizuka T, Morishima K, Yawo H. Optogenetic induction of contractile ability in immature C2C12 myotubes. *Sci Rep* 2015;5(1):8317.
- [67] Bruegmann T, van Bremen T, Vogt CC, Send T, Fleischmann BK, Sasse P. Optogenetic control of contractile function in skeletal muscle. *Nat Commun* 2015;6(1):7153.
- [68] Alford PW, Feinberg AW, Sheehy SP, Parker KK. Biohybrid thin films for measuring contractility in engineered cardiovascular muscle. *Biomaterials* 2010;31(13):3613-21.
- [69] Grosberg A, Alford PW, McCain ML, Parker KK. Ensembles of engineered cardiac tissues for physiological and pharmacological study: heart on a chip. *Lab Chip* 2011;11(24):4165-73.
- [70] Benam KH, Dauth S, Hassell B, Herland A, Jain A, Jang KJ, et al. Engineered in vitro disease models. *Annu Rev Pathol* 2015;10(1):195-262.
- [71] Tanaka Y, Sato K, Shimizu T, Yamato M, Okano T, Manabe I, et al. Demonstration of a bio-microactuator powered by vascular smooth muscle cells coupled to polymer micropillars. *Lab Chip* 2008;8(1):58-61.
- [72] Shoji K, Akiyama Y, Suzuki M, Hoshino T, Nakamura N, Ohno H, et al. Insect biofuel cells using trehalose included in insect hemolymph leading to an insect-mountable biofuel cell. *Biomed Microdevices* 2012;14(6):1063-8.
- [73] Lind JU, Busbee TA, Valentine AD, Pasqualini FS, Yuan H, Yadid M, et al. Instrumented cardiac microphysiological devices via multimaterial three-dimensional printing. *Nat Mater* 2017;16(3):303-8.
- [74] Rajagopalan J, Saif MTA. Fabrication of freestanding 1D PDMS microstructures using capillary micromolding. *J Microelectromech Syst* 2013;22(5):992-4.
- [75] Hill JA, Olson EN, editors. *Muscle: fundamental biology and mechanisms of disease*. Cambridge: Academic Press; 2012.
- [76] Gutmann E, Gutmman L. Effect of electrotherapy on denervated muscles in rabbits. *Br Med Bull* 1943;239(7):169-70.
- [77] Vandenberg H, Shansky J, Benesch-Lee F, Skelly K, Spinazzola JM, Saponjian Y, et al. Automated drug screening with contractile muscle tissue engineered from dystrophic myoblasts. *FASEB J* 2009;23(10):3325-34.
- [78] Martin NR, Passey SL, Player DJ, Mudera V, Baar K, Greensmith L, et al. Neuromuscular junction formation in tissue-engineered skeletal muscle augments contractile function and improves cytoskeletal organization. *Tissue Eng Part A* 2015;21(19-20):2595-604.
- [79] Donnelly K, Khodabukus A, Philip A, Deldicque L, Dennis RG, Baar K. A novel bioreactor for stimulating skeletal muscle in vitro. *Tissue Eng Part C Methods* 2010;16(4):711-8.
- [80] Ahadian S, Ramón-Azcón J, Ostrovidov S, Camci-Unal G, Hosseini V, Kaji H, et al. Interdigitated array of Pt electrodes for electrical stimulation and engineering of aligned muscle tissue. *Lab Chip* 2012;12(18):3491-503.
- [81] Khodabukus A, Baar K. Defined electrical stimulation emphasizing excitability for the development and testing of engineered skeletal muscle. *Tissue Eng Part C Methods* 2012;18(5):349-57.
- [82] Hosseini V, Ahadian S, Ostrovidov S, Camci-Unal G, Chen S, Kaji H, et al. Engineered contractile skeletal muscle tissue on a microgrooved methacrylated gelatin substrate. *Tissue Eng Part A* 2012;18(23-24):2453-65.
- [83] Baar K, Esser E. Phosphorylation of p70S6k correlates with increased skeletal muscle mass following resistance exercise. *Am J Physiol* 1999;276(1):C120-7.
- [84] Khodabukus A, Baar K. Regulating fibrinolysis to engineer skeletal muscle from the C2C12 cell line. *Tissue Eng Part C Methods* 2009;15(3):501-11.
- [85] Nagamine K, Kawashima T, Ishibashi T, Kaji H, Kanzaki M, Nishizawa M. Micropatterning contractile C2C12 myotubes embedded in a fibrin gel. *Biotechnol Bioeng* 2010;105(6):1161-7.
- [86] Sakar MS, Neal D, Boudou T, Borochin MA, Li Y, Weiss R, et al. Formation and optogenetic control of engineered 3D skeletal muscle bioactuators. *Lab Chip* 2012;12(23):4976-85.
- [87] Asano T, Ishizuka T, Yawo H. Optically controlled contraction of photosensitive skeletal muscle cells. *Biotechnol Bioeng* 2012;109(1):199-204.
- [88] Romanazzo S, Forte G, Morishima K, Taniguchi A. IL-12 involvement in myogenic differentiation of C2C12 in vitro. *Biomater Sci* 2015;3(3):469-79.
- [89] Yuge L, Kataoka K. Differentiation of myoblasts is accelerated in culture in a magnetic field. *Vitro Cell Dev Biol Anim* 2000;36(6):383-6.
- [90] Yamamoto Y, Ito A, Kawabe Y, Fujita H, Nagamori E, Kamihira M. Magnetic force-based tissue engineering of skeletal muscle. *J Biotechnol* 2010;150(Suppl):441.
- [91] Fujita H, Shimizu K, Yamamoto Y, Ito A, Kamihira M, Nagamori E. Fabrication of scaffold-free contractile skeletal muscle tissue using magnetite-incorporated myogenic C2C12 cells. *J Tissue Eng Regen Med* 2010;4(6):437-43.
- [92] Callis TE, Deng Z, Chen JF, Wang DZ. Muscling through the microRNA world. *Exp Biol Med* 2008;233(2):131-8.
- [93] Duffy RM, Feinberg AW. Engineered skeletal muscle tissue for soft robotics: fabrication strategies, current applications, and future challenges. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol* 2014;6(2):178-95.
- [94] Akiyama Y, Iwabuchi K, Furukawa Y, Morishima K. Culture of insect cells contracting spontaneously; research moving toward an environmentally robust hybrid robotic system. *J Biotechnol* 2008;133(2):261-6.
- [95] Akiyama Y, Iwabuchi K, Furukawa Y, Morishima K. Fabrication and evaluation of temperature-tolerant bioactuator driven by insect heart cells. In: *Proceedings of the Twelfth International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences*; 2008 Oct 12-16; San Diego, CA, USA; 2008. p. 1669-71.
- [96] Baryshyan AL, Woods W, Trimmer BA, Kaplan DL. Isolation and maintenance-free culture of contractile myotubes from *Manduca sexta* embryos. *PLoS One* 2012;7(2):e31598.
- [97] Akiyama Y, Iwabuchi K, Furukawa Y, Morishima K. Electrical stimulation of cultured lepidopteran dorsal vessel tissue: an experiment for development of bioactuators. *In Vitro Cell Dev Biol Anim* 2010;46(5):411-5.
- [98] Shimizu K, Takayuki H, Akiyama Y, Iwabuchi K, Akiyama Y, Yamato M, et al. Multi-scale reconstruction and performance of insect muscle powered bioactuator from tissue to cell sheet. In: *Proceedings of the 3rd IEEE RAS & EMBS International Conference on Biomedical Robotics and Biomechanics*; 2010 Sep 26-29; Tokyo, Japan. New York: IEEE; 2010. p. 425-30.
- [99] Baryshyan AL, Domigan LJ, Hunt B, Trimmer BA, Kaplan DL. Self-assembled insect muscle bioactuators with long term function under a range of environmental conditions. *RSC Adv* 2014;4(75):39962-8.
- [100] Akiyama Y, Iwabuchi K, Furukawa Y, Morishima K. Long-term and room temperature operable bioactuator powered by insect dorsal vessel tissue. *Lab Chip* 2009;9(1):140-4.
- [101] Ejaz A, Lange AB. Peptidergic control of the heart of the stick insect, *Baculum extradentatum*. *Peptides* 2008;29(2):214-25.
- [102] Martel S. Bacterial microsystems and microrobots. *Biomed Microdevices* 2012;14(6):1033-45.
- [103] Kristjánsson JK, Hreggvidsson GO. Ecology and habitats of extremophiles. *World J Microbiol Biotechnol* 1995;11(1):17-25.
- [104] Borghol N, Mora L, Jouenne T, Jaffeiz-Renault N, Sakly N, Duncan AC, et al. Monitoring of *E. coli* immobilization on modified gold electrode: a new bacteria-based glucose sensor. *Biotechnol. Bioprocess Eng* 2010;15(2): 220-8.
- [105] Brayner R, Couté A, Livage J, Perrette C, Sicard C. Micro-algal biosensors. *Anal Bioanal Chem* 2011;401(2):581-97.
- [106] Rantala A, Utriainen M, Kaushik N, Virta M, Välimaa AL, Karp M. Luminescent bacteria-based sensing method for methylmercury specific determination. *Anal Bioanal Chem* 2011;400(4):1041-9.
- [107] Su M, Ma L, Li T, Liu D, Wang Z. A microarray-based resonance light scattering assay for detecting thrombin generation in human plasma by gold nanoparticle probes. *Anal Methods* 2013;5(21):5895-8.
- [108] Souiri M, Gammoudi I, Ouada HB, Mora L, Jouenne T, Jaffeiz-Renault N, et al. *Escherichia coli*-functionalized magnetic nanobeads as an ultrasensitive biosensor for heavy metals. *Procedia Chem* 2009;1(1):1027-30.
- [109] Park D, Park SJ, Cho S, Lee Y, Lee YK, Min JJ, et al. Motility analysis of bacteria-based microrobot (bacteriobot) using chemical gradient microchamber. *Biotechnol Bioeng* 2014;111(1):134-43.
- [110] Steager E, Kim CB, Patel J, Bith S, Naik C, Reber L, et al. Control of microfabricated structures powered by flagellated bacteria using phototaxis. *Appl Phys Lett* 2007;90(26):263901-3.
- [111] Sitti M. Miniature devices: voyage of the microrobots. *Nature* 2009;458(7242):1121-2.
- [112] Trivedi RR, Maeda R, Abbott NL, Spagnolie SE, Weibel DB. Bacterial transport of colloids in liquid crystalline environments. *Soft Matter* 2015;11(43):8404-8.
- [113] Zhang Z, Li Z, Yu W, Li K, Xie Z. Development of a biomedical micro/nano robot for drug delivery. *J Nanosci Nanotechnol* 2015;15(4):3126-9.
- [114] Park SJ, Park SH, Cho S, Kim DM, Lee Y, Ko SY, et al. New paradigm for tumor theranostic methodology using bacteria-based microrobot. *Sci Rep* 2013;3(1):3394.
- [115] Cho S, Park SJ, Ko SY, Park JO, Park S. Development of bacteria-based microrobot using biocompatible poly(ethylene glycol). *Biomed Microdevices*

- 2012;14(6):1019–25.
- [116] Carlsen RW, Edwards MR, Zhuang J, Pacoret C, Sitti M. Magnetic steering control of multi-cellular bio-hybrid microswimmers. *Lab Chip* 2014;14(19):3850–9.
- [117] Kim MJ, Lee JH, Shin YC, Jin L, Hong SW, Han DW, et al. Stimulated myogenic differentiation of C2C12 murine myoblasts by using graphene oxide. *J Korean Phys Soc* 2015;67(11):1910–4.
- [118] Bajaj P, Reddy Jr B, Millet L, Wei C, Zorlutuna P, Bao G, et al. Patterning the differentiation of C2C12 skeletal myoblasts. *Integr Biol* 2011;3(9):897–909.
- [119] Takayama Y, Wagatsuma A, Hoshino T, Mabuchi K. Simple micropatterning method for enhancing fusion efficiency and responsiveness to electrical stimulation of C2C12 myotubes. *Biotechnol Prog* 2015;31(1):220–5.
- [120] Anand SV, Saif TA. Emergent dynamics of cardiomyocyte clusters on deformable polymeric substrates. *Extrem Mech Lett* 2016;8:1–5.
- [121] Kim DH, Park J, Suh KY, Kim P, Choi SK, Ryu S, et al. Fabrication of patterned micromuscles with high activity for powering biohybrid microdevices. *Sens Actuators B Chem* 2006;117(2):391–400.
- [122] Sato M, Ito A, Kawabe Y, Nagamori E, Kamihira M. Enhanced contractile force generation by artificial skeletal muscle tissues using IGF-I gene-engineered myoblast cells. *J Biosci Bioeng* 2011;112(3):273–8.
- [123] Yoon J, Eyster TW, Misra AC, Lahann J. Cardiomyocyte-driven actuation in biohybrid microcylinders. *Adv Mater* 2015;27(30):4509–15.
- [124] Bhana B, Iyer RK, Chen WL, Zhao R, Sider KL, Likhitanichkul M, et al. Influence of substrate stiffness on the phenotype of heart cells. *Biotechnol Bioeng* 2010;105(6):1148–60.
- [125] Kim S, Qiu F, Kim S, Ghanbari A, Moon C, Zhang L, et al. Fabrication and characterization of magnetic microrobots for three-dimensional cell culture and targeted transportation. *Adv Mater* 2013;25(41):5863–8.
- [126] Huang YC, Dennis RG, Larkin L, Baar K. Rapid formation of functional muscle in vitro using fibrin gels. *J Appl Physiol* 2005;98(2):706–13.
- [127] Lee YB, Polio S, Lee W, Dai G, Menon L, Carroll RS, et al. Bio-printing of collagen and VEGF-releasing fibrin gel scaffolds for neural stem cell culture. *Exp Neurol* 2010;223(2):645–52.
- [128] Webster VA, Hawley EL, Akkus O, Chiel HJ, Quinn RD. Skeletal muscle powered living machines utilizing electrocompact and aligned collagen scaffolds [abstract]. In: Proceedings of the 10th World Biomaterials Congress; 2016 May 17–22; Montreal, QC, Canada; 2016.
- [129] Armani D, Liu C, Aluru N. Re-configurable fluid circuits by PDMS elastomer micromachining. In: Proceedings of the Twelfth IEEE International Conference on Micro Electro Mechanical Systems; 1999 Jan 17–21; Orlando, FL, USA. New York: IEEE; 1999. p. 222–7.
- [130] Fuard D, Tzvetkova-Chevolleau T, Decossas S, Tracqui P, Schiavone P. Optimization of polydimethylsiloxane (PDMS) substrates for studying cellular adhesion and motility. *Microelectron Eng* 2008;85(5–6): 1289–93.
- [131] Chan V, Jeong JH, Bajaj P, Collens M, Saif T, Kong H, et al. Multi-material bio-fabrication of hydrogel cantilevers and actuators with stereolithography. *Lab Chip* 2012;12(1):88–98.
- [132] Stanton MM, Trichet-Paredes C, Sánchez S. Applications of three-dimensional (3D) printing for microswimmers and bio-hybrid robotics. *Lab Chip* 2015;15(7):1634–7.
- [133] Chan V, Collens MB, Jeong JH, Park K, Kong H, Bashir R. Directed cell growth and alignment on protein-patterned 3D hydrogels with stereolithography. *Virtual Phys Prototyp* 2012;7(3):219–28.
- [134] Sasaki J, Asoh TA, Matsumoto T, Egusa H, Sohmura T, Alsberg E, et al. Fabrication of three-dimensional cell constructs using temperature-responsive hydrogel. *Tissue Eng Part A* 2010;16(8):2497–504.
- [135] Fedorovich NE, Kuipers E, Gawlitta D, Dhert WJA, Alblas J. Scaffold porosity and oxygenation of printed hydrogel constructs affect functionality of embedded osteogenic progenitors. *Tissue Eng Part A* 2011;17(19–20):2473–86.
- [136] Lu L, Mende M, Yang X, Körber HF, Schnittler HJ, Weinert S, et al. Design and validation of a bioreactor for simulating the cardiac niche: a system incorporating cyclic stretch, electrical stimulation, and constant perfusion. *Tissue Eng Part A* 2013;19(3–4):403–14.
- [137] Lisy O, Redfield MM, Jovanovic S, Jougasaki M, Jovanovic A, Leskinen H, et al. Mechanical unloading versus neurohumoral stimulation on myocardial structure and endocrine function in vivo. *Circulation* 2000;102(3):338–43.
- [138] Shimizu M, Miyasaka K, Miyamoto K, Asano T, Yoshinobu T, Yawo H, et al. Muscle tissue actuator driven with light-gated ion channels channelrhodopsin. *Procedia CIRP* 2013;5:169–74.
- [139] Salmons S, Sréter FA. Significance of impulse activity in the transformation of skeletal muscle type. *Nature* 1976;263(5572):30–4.
- [140] Yadid M, Sela G, Amiad Pavlov D, Landesberg A. Adaptive control of cardiac contraction to changes in loading: from theory of sarcomere dynamics to whole-heart function. *Pflügers Arch* 2011;462(1):49–60.
- [141] Suhr J, Koratkar N, Keblinski P, Ajayan P. Viscoelasticity in carbon nanotube composites. *Nat Mater* 2005;4(2):134–7.
- [142] Radisic M, Park H, Shing H, Consi T, Schoen FJ, Langer R, et al. Functional assembly of engineered myocardium by electrical stimulation of cardiac myocytes cultured on scaffolds. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101(52):18129–34.
- [143] Asano T, Ishizuka T, Yawo H, Morishima K. Optically controllable muscle for cell-based microdevice. In: Proceedings of 2014 International Symposium on Micro-NanoMechatronics and Human Science; 2014 Nov 10–12; Nagoya, Japan. New York: IEEE; 2014. p. 1–3.
- [144] Frigault MM, Lacoste J, Swift JL, Brown CM. Live-cell microscopy—tips and tools. *J Cell Sci* 2009;122(6):753–67.
- [145] Sinha RP, Häder DP. UV-induced DNA damage and repair: a review. *Photochem Photobiol Sci* 2002;1(4):225–36.
- [146] Barolet D. Light-emitting diodes (LEDs) in dermatology. *Semin Cutan Med Surg* 2008;27(4):227–38.
- [147] Moreira MC, Prado R, Campos A. Application of high brightness LEDs in the human tissue and its therapeutic response. In: Gargiulo G, editor. Applied biomedical engineering. Rijeka: InTech; 2011. p. 3–20.
- [148] Horiguchi H, Imagawa K, Hoshino T, Akiyama Y, Morishima K. Fabrication and evaluation of reconstructed cardiac tissue and its application to bio-actuated microdevices. *IEEE Trans Nanobiosci* 2009;8(4):349–55.
- [149] Chen Y, Kosmas P, Martel S. A feasibility study for microwave breast cancer detection using contrast-agent-loaded bacterial microbots. *Int J Antennas Propag* 2013;2:1–11.
- [150] Martel S, Tremblay CC, Ngakeng S, Langlois G. Controlled manipulation and actuation of micro-objects with magnetotactic bacteria. *Appl Phys Lett* 2006;89(23):233904.
- [151] Ma Q, Chen C, Wei S, Chen C, Wu LF, Song T. Construction and operation of a microrobot based on magnetotactic bacteria in a microfluidic chip. *Biomicrofluidics* 2012;6(2):024107.
- [152] Martel S, Mohammadi M, Felfoul O, Lu Z, Pouponneau P. Flagellated magnetotactic bacteria as controlled MRI-trackable propulsion and steering systems for medical nanorobots operating in the human microvasculature. *Int J Robot Res* 2009;28(4):571–82.
- [153] Zhang C, Wang W, Xi N, Wang Y, Liu L. A bio-syncretic micro-swimmer assisted by magnetism. In: Proceedings of 2015 International Conference on Manipulation, Manufacturing and Measurement on the Nanoscale; 2015 Oct 5–9; Changchun, China. New York: IEEE; 2015. p. 16–21.
- [154] Dreyfus R, Baudry J, Roper ML, Fermigier M, Stone HA, Bibette J. Microscopic artificial swimmers. *Nature* 2005;437(7060):862–5.
- [155] Kim DH, Cheang UK, Kohidai L, Byun D, Kim MJ. Artificial magnetotactic motion control of *Tetrahymena pyriformis* using ferromagnetic nanoparticles: a tool for fabrication of microbiorobots. *Appl Phys Lett* 2010;97(17):173702.