

Research  
Robotics—Article

## 一种使用光学可控生物致动器的微蠕动泵

Eitaro Yamatsuta<sup>a</sup>, Sze Ping Beh<sup>a</sup>, Kaoru Uesugi<sup>a</sup>, Hidenobu Tsujimura<sup>b</sup>, Keisuke Morishima<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Department of Mechanical Engineering, Osaka University, Osaka 565-0871, Japan

<sup>b</sup> Department of Applied Biological Sciences, Tokyo University of Agriculture and Technology, Tokyo 183-8509, Japan

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 28 December 2017

Revised 2 August 2018

Accepted 7 November 2018

Available online 7 May 2019

#### 关键词

管状结构  
生物致动器  
蠕动泵  
光遗传学  
生物材料  
肌肉致动器  
组织工程  
软机器人

### 摘要

蠕动在自然界中广泛存在, 这种将营养输送到身体各个部位的泵送活动在消化系统中是重要的。在本文中, 我们提出了一种由肌肉驱动的管状微型泵, 这种微型泵可以用于蠕动输送。我们利用在骨骼肌细胞膜上表达光敏感通道-2 (ChR2) 的果蝇幼虫获得具有光响应性的肌肉组织。幼虫在蓝光刺激下强制性地表现出肌肉收缩。在改变传播光刺激的速度度的同时, 我们观察到收缩的肌肉组织表面出现了位移。我们通过将幼虫解剖成管状结构以获得蠕动泵。解剖得到的管状结构的平均内径约为400  $\mu\text{m}$ , 平均外径约为750  $\mu\text{m}$ 。可以用相同的蓝光刺激来控制这些管状结构的收缩。为了观察内部流动, 我们将微珠放入蠕动泵中, 并确认泵可以以120  $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ 的速度输送微珠。

© 2019 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

使用活体肌肉产生动力的生物致动器作为一种不同形式的致动器而受到广泛关注[1–10]。由于其使用以三磷酸腺苷 (ATP) 的形式存在的化学能, 生物致动器可以在不提供额外能量或气压的情况下被驱动。与其他类型的致动器相比, 这种类型的致动器本身更小而且更轻, 并具有更高的能效[11]。在生物致动器的研究中, 电刺激[12]或化学刺激[13]已被用于控制肌肉收缩。但是, 这些刺激会导致整个肌肉组织范围内的收缩, 因此它们不适用于达成复杂的运动。

为了迅速地控制部分肌肉收缩, 提出了由具有高时间和空间分辨率的光作为触发收缩的刺激[14–17]。用于实现这一目的的遗传工具被称为光遗传学工具[18,19], 它们的应用使肌肉对光刺激作出反应成为可能[20,21]。

蠕动是多细胞生物消化系统的一项重要运动, 通过蠕动, 营养物质可以被输送到整个身体。通过改变消化系统中管状结构的形状, 这些管状结构可以输送柔软的材料而不会破坏材料的形状。此外, 材料和结构之间较大的接触面积可以有效且高效地同化食物 (材料)。在工业应用情境中, 蠕动对于在运输物体的过程中消除

\* Corresponding author.

E-mail address: [morishima@mech.eng.osaka-u.ac.jp](mailto:morishima@mech.eng.osaka-u.ac.jp) (K. Morishima).

外部暴露的风险也有应用价值。一些研究报道了其使用伺服电动机[22]、气动致动器[23]、磁场[24]、形状记忆合金致动器[25,26]和静电致动器[27]成功复制了蠕动。管是多细胞生物的重要结构，而蠕动是有机体通过进化获得的能力。我们认为通过使用生物致动器再现蠕动运动，可以在创建更集成的组织工程软机器人方面取得突破。

在这项工作中，我们设计、制造并测试了由具有光响应性的黑腹果蝇 (*Drosophila melanogaster*) 幼虫肌肉驱动的微蠕动物管 (图1)。之所以选择这些幼虫，是因为它们在运动中采用了蠕动运动这一状态，因此我们认为它们的肌肉结构会针对蠕动进行优化。此外，已经建立了黑腹果蝇转基因转移的方法，这些果蝇可以在短时间内繁殖，使实验可以获得大量的此类幼虫。

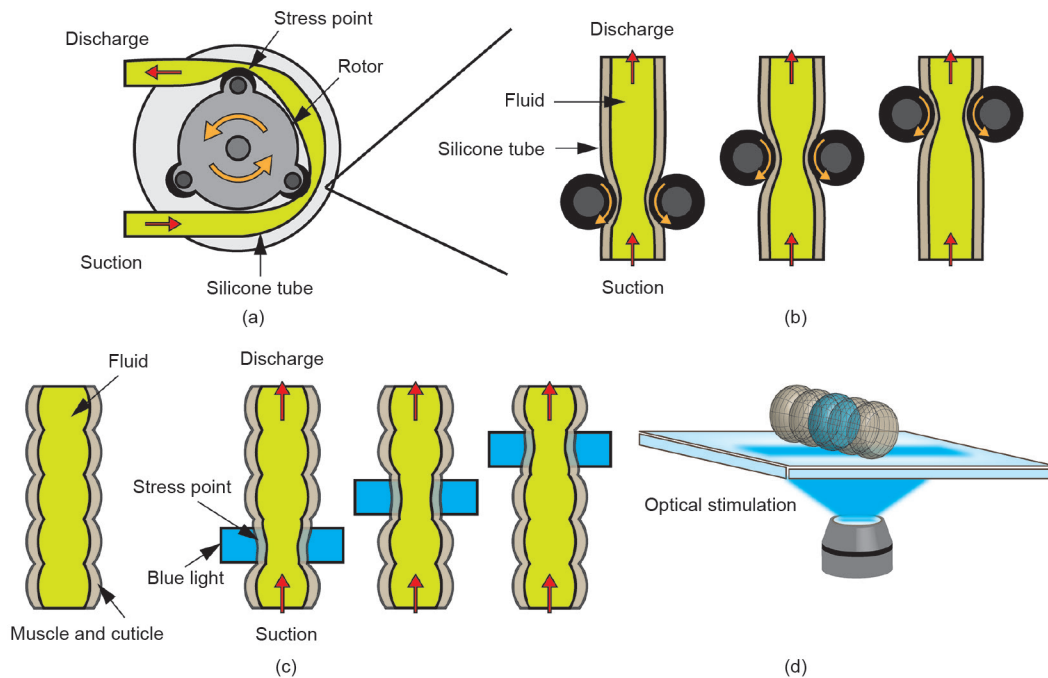
首先，使用转基因方法，在幼虫肌肉组织上表达光敏感通道-2 (ChR2)，以通过光刺激控制肌肉收缩。ChR2是一种光门控阳离子通道，可对蓝光刺激做出反应并增加阳离子进入细胞的流量，从而触发动作电位，以引起肌肉收缩。我们通过测试移动表面观察幼虫的蠕动，以了解其对蓝光刺激的表现。在改变传播光刺激的速度时，我们检查了幼虫肌肉表面的收缩位移。

然后计算累积流速和最佳速度。最后，为了重现蠕动，我们通过分离头部和尾部并移除管内容物，使用表达ChR2的黑腹果蝇幼虫的活体肌肉制作了一个微管。尽管经过切除的管状结构已经作为生物死亡，但它仍然可以作为组织存活，并且仍然存在收缩能力。为了观察管状结构的内部流动，我们将微珠引入微管中，并通过控制微管的蠕动运动来测量它们的传送速度。

## 2. 材料和方法

### 2.1. 获得具有光响应能力的幼虫

为了制造光响应性生物致动器，我们使用黑腹果蝇 (野生种, Canton-S第三龄) 幼虫作为材料。我们访问了具有黑腹果蝇幼虫细胞的靶向遗传特性的GAL4/UAS系统[28]，如图2所示。在GAL4系统上具有肌细胞增强因子-2 (Mef2) 的成年雄性黑腹果蝇 (GAL4-Mef2) 和在UAS标签上具有ChR2的成年未交配雌性黑腹果蝇 (UAS-H134R-ChR2 [29])，被置于含有食物的玻璃瓶中交配，玻璃瓶中的食物包括光敏剂全反式视黄醛 (all-trans-retinal, ATR, Sigma-Aldrich)。为了获得未交配的雌性黑腹果蝇，雄性和雌性果蝇必须在其孵化后的



**图1.** 蠕动物管的流动产生机理。(a)、(b) 工业蠕动物管，具有如 (a) 所示的典型结构细节和如 (b) 所示的简化模型；(c)、(d) 生物致动器蠕动物管，具有如 (c) 所示的简化运动机制和如 (d) 所示的实验概念。对于工业泵，其转子将应力施加在硅树脂管表面上并以此产生内部流动。对于生物致动器蠕动物管，光刺激引起肌肉收缩并产生内部流动。在光刺激时，这个通过组织工程产生的蠕动物管诱导连续的肌肉激活，逐渐改变刺激区域，以产生收缩的运动。并可以通过在左右肌肉之间产生不对称的起伏运动来改变流动方向。

7 h内分开。全反式视黄醛在利用ChR2中是必不可少的，因为昆虫不会在体内产生全反式视黄醛。交配后，雌性在两天内产卵。虫卵在一天内被孵化出来，五天后，我们在幼虫变成蛹之前获得了发育成熟的幼虫。整个过程在室温（25 °C）下进行。通过使用荧光显微镜（BZ-X710, Keyence），观察表达位置与ChR2相同（图3）的mCherry的红色荧光，证实了幼虫肌肉细胞中ChR2的表达。表达的成功率为100%（ $n = 18$ ）。

## 2.2. 获得管状结构

通过解剖，从表达ChR2的幼虫中切下用于制作生

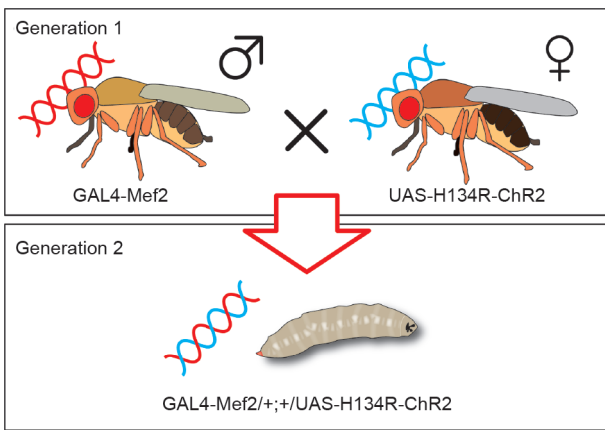


图2. 展示了如何在幼虫的肌肉细胞上获得具有所需遗传特性的GAL4/UAS系统。将携带GAL4-肌细胞增强因子-2 (Mef2)的成年雄性和携带UAS-H134R-ChR2的成年雌性交配以获得幼虫。在GAL4系统上有Mef2 (GAL4-Mef2)的雄性黑腹果蝇与在UAS标签上有ChR2 (UAS-H134R-ChR2)的成年未交配雌性黑腹果蝇在含有食物的瓶子里交配，食物包含全反式视黄醛。得到的幼虫在所有肌细胞上都有H134R-ChR2。

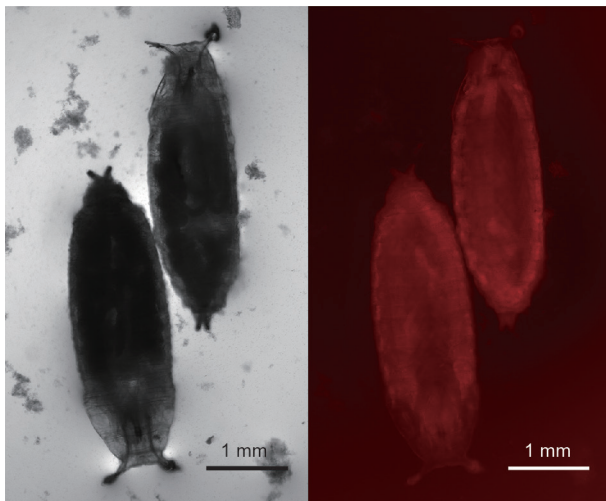


图3. 来自表达ChR2的幼虫的mCherry的荧光图像。通过比较左右图像，我们观察了基因表达的位置。在右图中观察到幼虫全身肌肉的红色荧光。

物致动器的微管（图4）。我们用不锈钢一次性手术刀片（Kai Medical）切断幼虫的头部和尾部，并抽出管内容物。该管由角质层和附着于角质层的肌肉组织组成。将切下的管保存在Schneider昆虫培养基（S0146, Sigma-Aldrich）中。幼虫的主要神经系统被切断，在此过程中没有发生自发收缩。如第2.1节所述，使用荧光显微镜直接观察这些微管及其横截面。通过用蓝光刺激观察表面上的收缩来验证管的光响应性。表达的成功率为60%（ $n = 5$ ）。

## 2.3. 设置光刺激

实验使用的黑腹果蝇幼虫会对蓝光刺激（ $\lambda = 466 \text{ nm}$ ）做出反应，产生强制性的肌肉收缩。由于幼虫的收缩根据光强度而变化，因此一个均匀的照射场是有必要的。我们用几件设备设置了光刺激装置：倒置显微镜（Ti-U, 尼康），带物镜（4倍放大倍率，孔径数值0.13, 尼康）；数码镜装置（DMD）投影仪（DLP Light Commander, 德州仪器）；平凸透镜（直径= 25 mm,  $f = 50 \text{ mm}$ , Sigma Koki）和消色差透镜（直径= 25 mm,  $f = 100 \text{ mm}$ , Sigma Koki），如图5所示。实验在显微镜载物台上刺激幼虫组织。载物台上的蓝光的功率密度为 $2.0 \text{ mW} \cdot \text{mm}^{-2}$ 。如图6所示，刺激区域的传输速度得到控制。使用绘图软件（Microsoft Paint, Microsoft）准备每种刺激模式，每个图像都作为位图图形输出，该组图像被输入控制软件以控制投影仪，通过改变图像出现频率来影响光传播的速度。我们的系统时间分辨率小于1 ms，空间分辨率高达 $20 \mu\text{m}$ 。为了记录运动图像，我

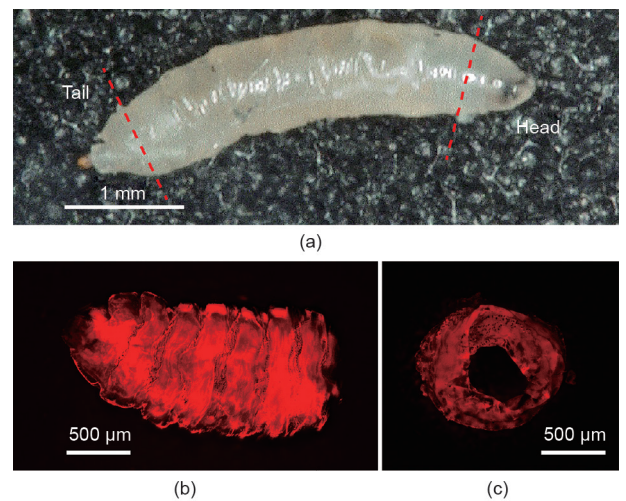


图4. 从黑腹果蝇幼虫中获得活体肌肉组织的管状结构。(a) 切断头部和尾部，取出所有内脏；(b) 管结构的侧视图，其头端位于右侧；(c) 管状结构的局部横截面。



们安装了电影摄像机（FASTCAM SA3, Photron）。

## 2.4. 内部流动的可视化

为了观察内部流动情况，我们采用微珠实验（即在水中平均直径为 $99.5\ \mu\text{m} \pm 1.5\ \mu\text{m}$ 的聚合物微球，4310A，杜克生物科学公司，批号为30911）。微珠在Schneider昆虫培养基中扩散，并用微量移液管吸取注入微型蠕动管。通过图5所示的实验装置控制和观察蠕动泵送作用。

## 3. 结果和讨论

### 3.1. 测量管结构

我们使用荧光观察微型蠕动管。管结构的平均长度为 $1342\ \mu\text{m}$  ( $n = 6$ )，内径为 $423\ \mu\text{m}$ ，外径为 $790\ \mu\text{m}$  ( $n = 6$ )。幼虫原本长度大于 $3\ \text{mm}$ ，但解剖后消除了内部压力使得整个组织收缩。这些尺寸在标准大气压下测量，但是由于蠕动管是柔软的，可以通过拉伸来将它们展平。

### 3.2. 测量肌肉收缩

我们使用2.3节中描述的设置采集了运动图像。每个刺激模式由黑色矩形（ $648\ \text{像素} \times 864\ \text{像素}$ ）和白色矩形（ $42\ \text{像素} \times 864\ \text{像素}$ ）组合而成，如图6所示。我们使用36个图像作为刺激模式。对于36个图像， $36\ \text{Hz}$ 的频率使得每个周期长为 $1\ \text{s}$ 。通过这种刺激，我们控制了肌肉组织的蠕动，如图7中的延时图像和补充材料中

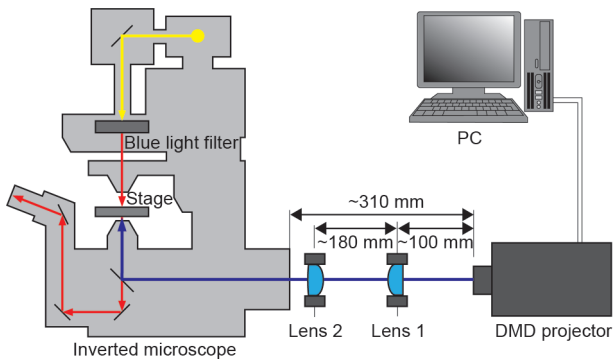


图5. 光刺激的实验装置。“透镜1”表示平凸透镜（直径=  $25\ \text{mm}$ ， $f = 50\ \text{mm}$ ），“透镜2”表示消色差透镜（直径=  $25\ \text{mm}$ ， $f = 100\ \text{mm}$ ）。从DMD投影仪镜头到镜头1的距离约为 $100\ \text{mm}$ ，从镜头1到镜头2的距离约为 $180\ \text{mm}$ 。从投影仪到显微镜入口口的总距离约为 $310\ \text{mm}$ 。在粗略设置之后对这些距离进行微调，使光聚焦在显微镜载物台上。从个人计算机输入的模式被反射到DMD投影仪照射图案上。紫色箭头表示图案化光刺激的路径。黄色和红色箭头表示来自显微镜光源的光的路径。黄色箭头表示白光，红色箭头表示通过滤光器排除蓝色光谱的白光。

提供的影像（Movie S1）所示。当刺激的传播方向改变时（Movie S2 in the Supplementary data），微管表现出收缩的往复运动。如果没有这种控制，幼虫的蠕动周期本质上是单向的。因此，该结果表明收缩确实是由光刺激引起的。将刺激区域的宽度固定为 $400\ \mu\text{m}$ 的同时，改变光刺激传播的速度，我们通过观察表面位移（ $\Delta x$ ）来研究蠕动泵送作用，如图8所示。刺激区域的传播速度从 $0$ 到 $500\ \mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ 进行调整，其中， $0\ \mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ 意味着没有传播的刺激。随着传播速度的增加，收缩位移变小，如图9（a）所示。这种变化可能是因为肌肉收缩是由ChR2诱导的阳离子流引起的。在这种情况下，ChR2没有足够的能量来收缩整个组织。为了获得通过高传播速度得到肌肉上更大的位移，需要更强大的能量。

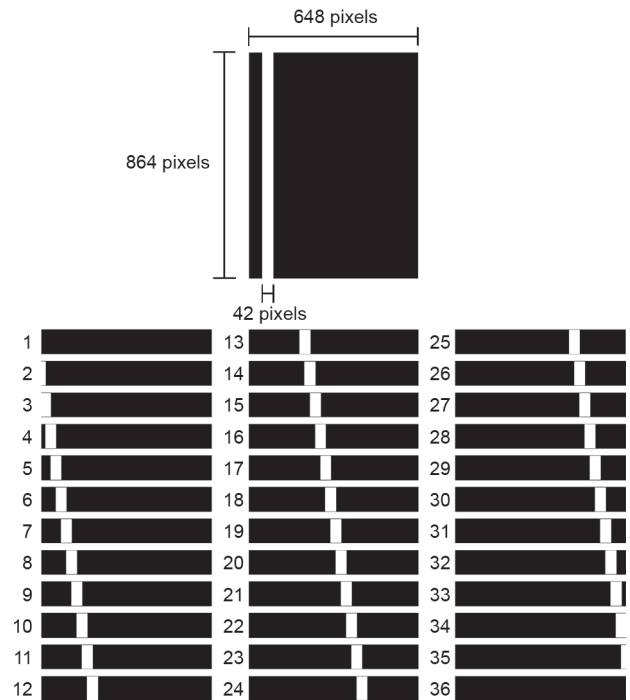


图6. 一组用于控制蠕动泵送动作的输入模式。步数、输送速度和刺激区域宽度任意改变。每个刺激图案由用于背景黑色矩形（ $648\ \text{像素} \times 864\ \text{像素}$ ）和用于光区域的白色矩形（ $42\ \text{像素} \times 864\ \text{像素}$ ）的组合组成，使用画图软件制作。每个图像都作为位图图形输出。这组图像被输入了控制软件。一个刺激波共包含36个图像。

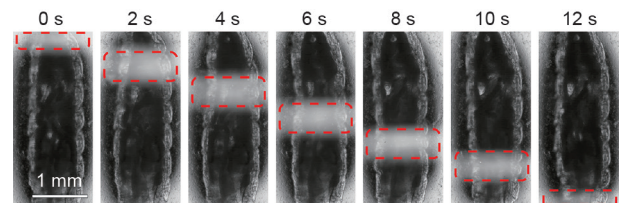


图7. 延时图像：由光刺激控制的强制收缩的蠕动循环。红色矩形表示光刺激区域。在这些图像中，输出频率为 $3\ \text{Hz}$ ，持续 $12\ \text{s}$ 。蠕动管表面上的收缩区域对应于刺激区域。

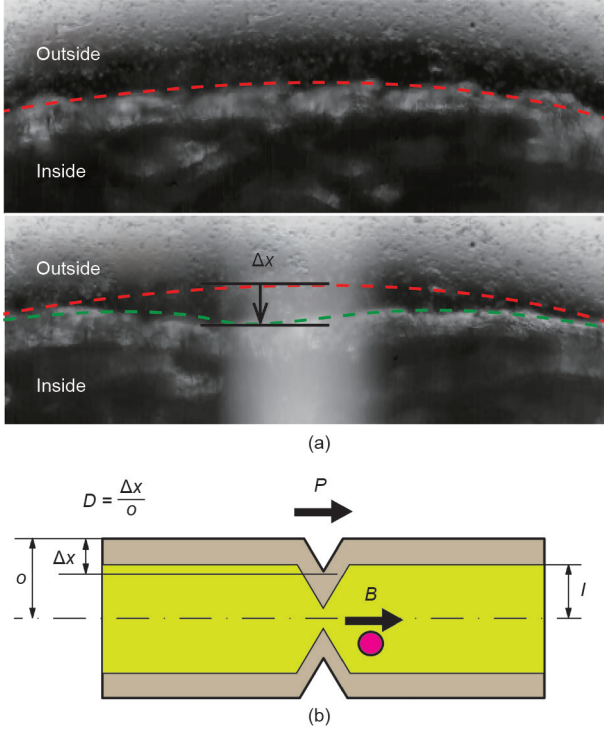


图8. (a) 观察到的表面位移。 $\Delta x$ 表示距初始表面线的位移。在下图中，组织暴露于光刺激。(b) 原理图。用于计算基于细胞流体驱动性能的参数。表面位移体积通过公式 (1) 计算。其中， $V$ 是流量， $I$ 是管的内半径， $D$ 是位移速率。组织表面上的位移速率等于位移除以体半径 ( $o$ )。 $P$ 是光刺激的传播速度， $B$ 是观察到的微珠的速度。

我们计算了诱导流量作为表面收缩的体积。使用公式 (1) 计算表面位移体积。其中， $V$ 是流量， $I$ 是管的内半径， $D$ 是位移速率。组织表面上的位移速率等于位移 (图8中的 $\Delta x$ ) 除以体半径 [图8 (b)]。

$$\Delta V = 2\pi I^2 DP \quad (1)$$

由 $\Delta V$ 表示的尺寸是每单位时间的体积变化。选择有最大 $\Delta V$ 的传播速度作为最佳速度。

接下来，我们通过公式 (1) 计算流量。如图9 (b) 所示，当光刺激的传播速率为 $400 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ 时，获得最高流速。

### 3.3. 通过微型输送管的蠕动演示流体驱动

我们采集了输送管的运动图像。为了控制蠕动泵送，我们使用12个图像作为刺激光波，如图10所示。每个刺激模式由作为背景的黑色矩形 ( $1024 \text{像素} \times 768 \text{像素}$ ) 和作为亮区的两个白色矩形 ( $75 \text{像素} \times 768 \text{像素}$ ) 组合而成，并使用Paint软件制备。每个图像都以位图形式输出。将该组图像输入控制软件以控制投影

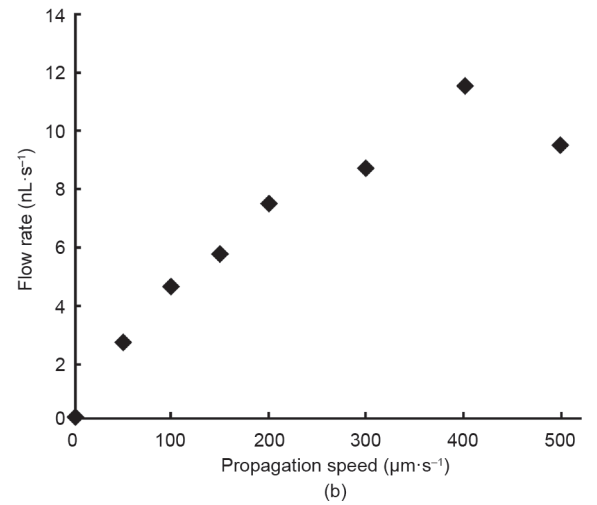
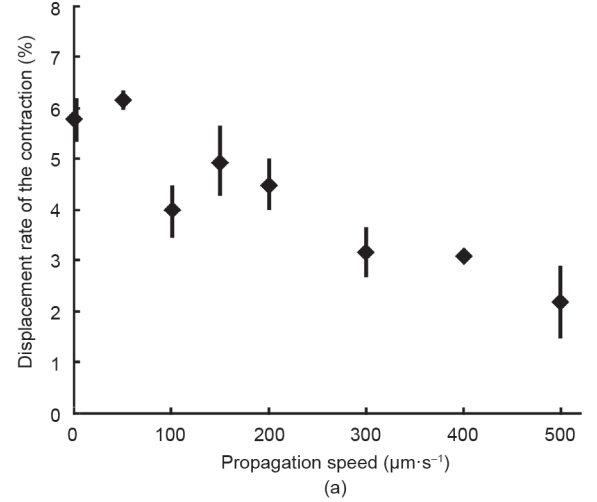


图9. (a) 位移速率和光刺激传播速度的关系。误差棒显示标准差。(b) 根据公式 (1) 中的传播速度和位移速率计算流速， $0 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ 是指没有传播的刺激 ( $n = 3$ )。

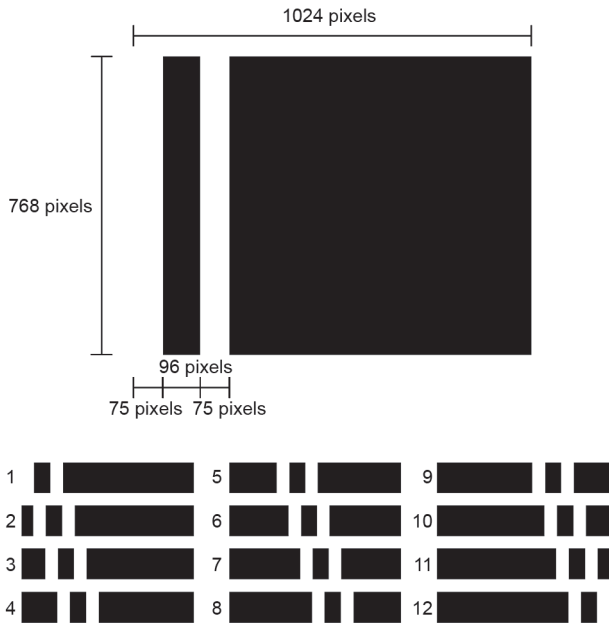
仪。通过控制管的蠕动泵送作用，我们顺利地输送了微珠，如图11所示和补充材料中提供的影像 (Movie S3)。当刺激区域的宽度固定为 $400 \mu\text{m}$ 并且传播速度固定为 $400 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ 时，微珠以 $120 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ 的平均速度传输。

使用公式 (2) 计算实验流量。其中， $V$ ， $I$ 和 $D$ 与公式 (1) 中的各项相同， $B$ 是输送微珠的速度 [图8 (b)]。

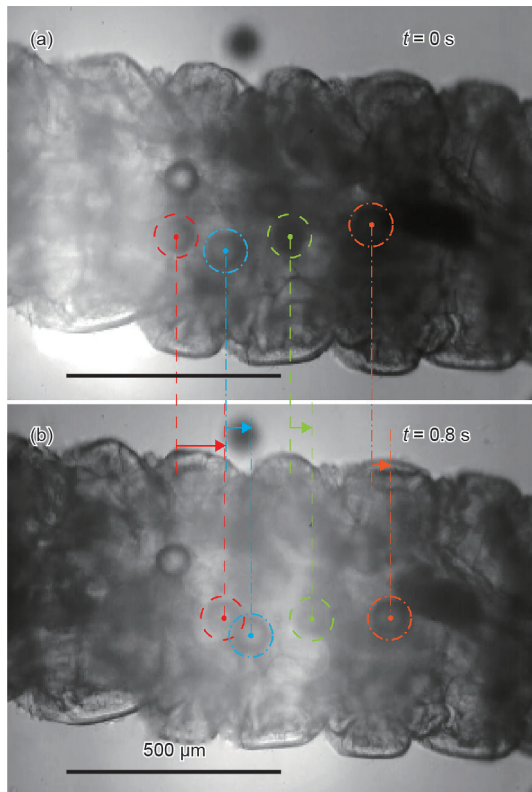
$$\Delta V = \pi I^2 DB \quad (2)$$

当 $B$ 等于 $120 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ 时，我们使用公式 (2) 计算实验流速为 $6 \text{ nL}\cdot\text{s}^{-1}$ 。该值小于从公式 (1) 计算得到的值 $12 \text{ nL}\cdot\text{s}^{-1}$ 。导致这种差异的一个原因可能是输送管表面不光滑。

然后，我们将估计所得的性能与先前报道的基于细胞或组织的生物微型泵进行比较。与另一个报道中使



**图10.** 用于控制蠕动泵送作用的一组输入模式。每个刺激模式都由用于背景的黑色矩形（1024像素×768像素）和作为亮区的两个白色矩形（75像素×768像素）组合而成，并且使用Paint软件制备。每个图像都以位图形式输出。将这组图像输入控制软件。刺激光波包括12个图像。



**图11.** 运输微珠时的延时图像。微珠位置的变化表明微珠运输的过程。通过将位移除以时间来计算管内流体的流速。(a) 光刺激到达最左边的微珠；(b) 0.8 s后拍摄的图像，其中，每个虚线圆圈表示该瞬间微珠的位置。相同的颜色表示同一个微珠。传播光刺激的速度为 $0.5 \text{ mm}\cdot\text{s}^{-1}$ 。

用心肌细胞片（ $2 \text{ nL}\cdot\text{min}^{-1}$ ）[1]的泵相比，我们目前的流速高出180倍。与基于膜的聚二甲基硅氧烷（PDMS）泵（ $0.226 \text{ nL}\cdot\text{min}^{-1}$ ）相比[30]，我们的流速高出1800倍。这些泵的大小各不相同，来源于幼虫的肌肉组织能力也十分不一样。我们在不使用任何人工瓣膜或其他软材料的情况下获得了稳定的流量。由于我们的输送管只由生物材料组成，因此能量浪费更少。

## 4. 结论

在这项工作中，我们使用生物驱动器制造了一个微型蠕动管，其中把黑腹果蝇幼虫肌肉组织表达的ChR2作为材料。通过组合倒置显微镜、DMD投影仪和两个镜头，我们能够同时控制蠕动泵送作用以及观察它。通过蓝光刺激诱导蠕动泵送作用。光刺激对组织造成的损害相比其他类型的刺激更小，包括化学刺激和电刺激。我们使用从微型蠕动管表面上观察到的位移计算而得的流量来研究光传播的最佳速度。在我们的实验条件下，最佳传播速度为 $400 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ 。如果使用更强的光源，则可以获得更好的肌肉收缩和更高的流速。我们成功地以 $120 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ 的速度输送微珠，并计算出流量为 $12 \text{ nL}\cdot\text{s}^{-1}$ 。

生物驱动器的研究仅限于基于膜的动物，如水母或黄貂鱼[3,17]。为了获得大的三维结构，必须引入管状结构用于能量循环。因此，本研究中的管状组织结构代表了更多集成生物器开发的一个进步。

## Acknowledgements

The present work was supported by Grant-in-Aid for Japan Society for the Promotion of Science (JSPS) Fellow (17J01742), JSPS, MEXT KAKENHI (21676002, 23111705, 26249027, and 17H01254), and the Industrial Technology Research Grant Program from the New Energy and Industrial Technology Development Organization (NEDO) of Japan.

## Compliance with ethics guidelines

Eitaro Yamatsuta, Sze Ping Beh, Kaoru Uesugi, Hide-nobu Tsujimura, and Keisuke Morishima declare that they have no conflict of interest or financial conflicts to disclose.

## Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.eng.2018.11.033>.

## References

- [1] Tanaka Y, Morishima K, Shimizu T, Kikuchi A, Yamato M, Okano T, et al. An actuated pump on-chip powered by cultured cardiomyocytes. *Lab Chip* 2006;6 (3):362–8.
- [2] 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.
- [3] 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.
- [4] Chan V, Park K, Collens MB, Kong H, Saif TA, Bashir R. Development of miniaturized walking biological machines. *Sci Rep* 2012;2:857.
- [5] Chan V, Jeong JH, Bajaj P, Collens M, Saif T, Kong H, et al. Multi-material biofabrication of hydrogel cantilevers and actuators with stereolithography. *Lab Chip* 2012;12(1):88–98.
- [6] Kim J, Park J, Yang S, Baek J, Kim B, Lee SH, et al. Establishment of a fabrication method for a long-term actuated hybrid cell robot. *Lab Chip* 2007;7 (11):1504–8.
- [7] Xi J, Schmidt JJ, Montemagno CD. Self-assembled microdevices driven by muscle. *Nat Mater* 2005;4(2):180–4.
- [8] Fujita H, Shimizu K, Nagamori E. Novel method for measuring active tension generation by C2C12 myotube using UV-crosslinked collagen film. *Biotechnol Bioeng* 2010;106(3):482–9.
- [9] Morimoto Y, Kato-Negishi M, Onoe H, Takeuchi S. Three-dimensional neuronmuscle constructs with neuromuscular junctions. *Biomaterials* 2013;34 (37):9413–9.
- [10] Caldwell DG. Natural and artificial muscle elements as robot actuators. *Mechatronics* 1993;3(3):269–83.
- [11] Hunter IW, Lafontaine S. A comparison of muscle with artificial actuators. In: *Proceedings of Technical Digest IEEE Solid-State Sensor and Actuator Workshop*; 1992 Jun 22–25; Hilton Head Island, SC, USA. Piscataway: IEEE; 1992. p. 178–85.
- [12] Akiyama Y, Odaira K, Sakiyama K, Hoshino T, Iwabuchi K, Morishima K. Rapidly-moving insect muscle-powered microrobot and its chemical acceleration. *Biomed Microdev* 2012;14(6):979–86.
- [13] 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-Animal* 2010;46:411–5.
- [14] 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.
- [15] Beh SP, Hirooka M, Hoshino T, Hoshino K, Akiyama Y, Tsujimura H, et al. Visual servo of muscle-powered optogenetic bioactuator. In: *Proceedings of 2013 Transducers & Eurosensors XXVII: the 17th International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems*; 2013 Jun 16–20; Barcelona, Spain. Piscataway: IEEE; 2013. p. 1444–7.
- [16] Yamatsuta E, Beh SP, Morishima K. Living peristaltic micro conveyor tube of optogenetically controllable bioactuator. In: *Proceedings of the 18th International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems*; 2015 Jun 21–25; Anchorage, AK, USA. Piscataway: IEEE; 2015. p. 827–30.
- [17] 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.
- [18] Boyden ES, Zhang F, Bamberg E, Nagel G, Deisseroth K. Millisecond-timescale, genetically targeted optical control of neural activity. *Nat Neurosci* 2005;8 (9):1263–8.
- [19] Zhang F, Aravanis AM, Adamantidis A, de Lecea L, Deisseroth K. Circuitbreakers: optical technologies for probing neural signals and systems. *Nat Rev Neurosci* 2007;8(8):577–81. Erratum in: *Nat Rev Neurosci* 2007;8(9):732.
- [20] Shimizu M, Yawata S, Miyamoto K, Miyasaka K, Asano T, Yoshinobu T, et al. Toward biorobotic systems with muscle cell actuators. In: *Proceedings of the 5th International Symposium on Adaptive Motion of Animals and Machines*; 2011 Oct 11–14; Hyogo, Japan; 2011. p. 87–8.
- [21] Asano T, Ishizuka T, Morishima K, Yawo H. Optogenetic induction of contractile ability in immature C2C12 myotubes. *Sci Rep* 2015;5:8317.
- [22] Nakamura T, Iwanaga T. Locomotion strategy for a peristaltic crawling robot in a 2-dimensional space. In: *Proceedings of 2008 IEEE International Conference on Robotics and Automation*; 2008 May 19–23; Pasadena, CA, USA. Piscataway: IEEE; 2008. p. 238–43.
- [23] Kishi T, Ikeuchi M, Nakamura T. Development of a peristaltic crawling inspection robot for 1-inch gas pipes with continuous elbows. In: *Proceedings of 2013 IEEE/RSJ International Conference on Intelligent Robots and Systems*; 2013 Nov 3–7; Tokyo, Japan. Piscataway: IEEE; 2013. p. 3297–302.
- [24] Saga N, Nakamura T. Development of a peristaltic crawling robot using magnetic fluid on the basis of the locomotion mechanism of the earthworm. *Smart Mater Struct* 2004;13(3):566–9.
- [25] Seok S, Onal CD, Wood R, Rus D, Kim S. Peristaltic locomotion with antagonistic actuators in soft robotics. In: *Proceedings of 2010 IEEE International Conference on Robotics and Automation*; 2010 May 3–7; Anchorage, AK, USA. Piscataway: IEEE; 2010. p. 3282–7.
- [26] Menciassi A, Gorini S, Pernorio G, Dario P. A SMA actuated artificial earthworm. In: *Proceedings of 2004 IEEE International Conference on Robotics and Automation*; 2004 Apr 26–May 1; New Orleans, LA, USA. Piscataway: IEEE; 2004. p. 3282–7.
- [27] Xie J, Shih J, Lin Q, Yang B, Tai YC. Surface micromachined electrostatically actuated micro peristaltic pump. *Lab Chip* 2004;4(5):495–501.
- [28] Orfanos Z. Transgenic tools for Drosophila muscle research. *J Muscle Res Cell Motil* 2008;29(6–8):185–8.
- [29] Pulver SR, Pashkovski SL, Hornstein NJ, Garrity PA, Griffith LC. Temporal dynamics of neuronal activation by channelrhodopsin-2 and TRPA1 determine behavioral output in *Drosophila* larvae. *J Neurophysiol* 2009;101(6):3075–88.
- [30] Park J, Kim IC, Baek J, Cha M, Kim J, Park S, et al. Micro pumping with cardiomyocyte-polymer hybrid. *Lab Chip* 2007;7(10):1367–70.