培養骨格筋をアクチュエータとした泳動ロボットの作製

松下 和磨^{*1}, 森本 雄矢^{*1,*2}, 竹内 昌治^{*1,*2,*3}

A swimming robot actuated by cultured skeletal muscle tissue

Kazuma MATSUSHITA^{*1}, Yuya MORIMOTO^{*1,*2} and Shoji TAKEUCHI^{*1,*2,*3}^{*1}Department of Mechano-Informatics, Faculty of Engineering, The University of Tokyo
7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8656, Japan^{*2}Department of Mechano-Informatics, Graduate School of Information Science and Technology, The University of Tokyo
7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8656, Japan^{*3}International Research Center for Neurointelligence (WPI-IRCN), the University of Tokyo Institutes for Advanced Study (UTIAS), The University of Tokyo
7-3-1 Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-0033, Japan

Received: 11 May 2020; Revised: 3 August 2020; Accepted: 29 September 2020

Abstract

Biohybrid robots composed of synthetic skeletons and living components have recently gained interests as a solution to engineering biological dynamic systems. Among the living components, muscle tissues are used as actuators for biohybrid robots, resulting in vitro reproduction of various movements. Especially, swimming robots containing living muscle tissues or cardiomyocytes have been proposed as representative examples of biohybrid robots. However, these robots have limitations on reproducibility and controllability due to individual differences between each explanted living muscle tissues and the self-contraction of cardiomyocytes, respectively. To solve the issue, a swimming robot with cultured skeletal muscle tissue is required since it allows to control the shape and contraction of the cultured tissue. In this paper, we propose the construction method of a swimming robot with cultured skeletal muscle tissue. Our method can prevent spontaneous shrinkage before transferring the tissue from an appropriate culture substrate for tissue formation to the swimming robot. Using the method, we succeeded in the preparation of a swimming robot with three different robot skeleton and skeletal muscle tissues cultured under the same condition, regardless of the spontaneous shrinkage during culture. As a result, we obtained the relationship between shapes of robot skeletons and propulsion of the robot and confirmed that the robot can move forward by shaking a tail fin. We believe that the method for integrating skeletal muscle tissues with the synthetic skeleton will be useful for the easy preparation of biohybrid robots and devices.

Keywords : Biohybrid robot, Bioactuator, 3D culture, Bioengineering, Soft robotics

1. 緒 言

近年、バイオハイブリッドロボットと呼ばれる、生体材料と人工物を組み合わせて作製されたロボットが注目を集めている。中でも、筋組織をアクチュエータとして利用することで、把持(Akiyama et al., 2013), 運搬(Morimoto et al., 2018), 歩行(Pagan-Diaz et al., 2018), 泳動(Williams et al., 2014)(Nawroth et al., 2012)などの様々な作業が可能なバイオハイブリッドロボットが提案されてきた。筋組織は液中でしか活動できないため、このような筋駆動型バイオハイブリッドロボットの中でも特に泳動ロボットが盛んに研究されており、鞭毛(Williams et al., 2014), クラゲ(Nawroth et al., 2012), 魚(Herr and Dennis, 2004), エイ(Park et al., 2016)などの生物の駆動原理を模倣した効率的な泳動を再現する試みが多数なされてきた。これらの泳動ロボットは、生体から摘出した筋組織をそのままアクチュエータとしたロボットと、培養した心筋細胞をアクチュエータとしたロボットに分けられる。しかしながら、摘出した筋組織を用いると、長さや収縮力等に個体差があるためロボットの再現性が乏しいという課題があった。

No.20-00180 [DOI:10.1299/transjsme.20-00180], J-STAGE Advance Publication date : 8 October, 2020

^{*1} 学生員, 東京大学 工学部 (〒113-8656 東京都文京区本郷 7-3-1)^{*2} 正員, 東京大学大学院 情報理工学系研究科^{*3} 正員, 東京大学 ニューロインテリジェンス国際研究機構

E-mail of corresponding author: takeuchi@hybrid.t.u-tokyo.ac.jp

Fig. 1 Conceptual image of a swimming robot powered by a cultured skeletal muscle tissue. When application of electrical stimulation to the skeletal muscle tissue induces its contractions, the robot can generate propulsion by shaking its tail fin.

Fig. 2 Fabrication process of a cultured skeletal muscle tissue.

一方、培養した心筋細胞を用いると、周期的な自発収縮のために、汎用的な移動ロボットに必要な不可欠であるオンオフ制御ができないという課題があった。これらの課題の解決には、同一培養条件で個体差が少なく作製でき、電気刺激にてオンオフ制御が可能な培養骨格筋組織をアクチュエータとする泳動ロボットの実現が必要である。これまでも培養骨格筋組織は、ゲルと細胞を混和してゲル内で立体的に細胞培養することで形成されてきた (Morimoto et al., 2019) (Morimoto et al., 2020) (Sakar et al., 2012)。この培養骨格筋組織は収縮運動を行っていない時にも有している牽引力(受動的張力)に対抗する力が負荷されていないと収縮特性を失う性質があり、組織長が変化しないように両端部を固定した状態での培養が適していることが知られている。そのため、培養骨格筋組織をアクチュエータとする際には培養時の組織長の維持とロボットの駆動性の両立が可能な骨格筋組織培養用ロボット骨格の設計 (Cvetkovic et al., 2014) (Raman et al., 2016) または培養時のロボット骨格の変形を防止する治具の設置 (Morimoto et al., 2018) が必要であり、ロボットの寸法や構造に制限があった。

そこで本研究では、別々に準備した培養骨格筋組織とロボット骨格を統合することにより駆動する泳動ロボットを提案する(図 1)。ピラーと突起部を有するアンカにて培養骨格筋組織の両端部を固定し、突起部と適合する溝が設けられた硬い培養台にアンカを設置することで、牽引力に対抗する力を負荷しながら骨格筋組織を培養することができる。その後、同じく溝が設けられたロボット骨格にアンカを設置することで、ロボット骨格の設計に依らずに培養骨格筋組織をロボットに搭載可能になる。ここで、提案の方法で作製した培養骨格筋組織付き泳動ロボットが動作可能であることを明らかにするため、周期的な電気刺激を骨格筋組織に与えて筋組織の収縮と弛緩を繰り返すことで、尾ひれの振動による泳動が可能となることを示す。

Fig. 3 Device with cantilevers for measuring contractile displacement of a skeletal muscle tissue. Yellow ellipse indicates contact area between the cantilever and the anchor.

Fig. 4 The design of the robot skeleton. s is the length of the curve of the tail fin.

2. 実験手法

本章では、筋組織およびロボットの作製、評価の手法について述べる。

2・1 培養骨格筋組織の作製および評価手法

筋芽細胞の調整は、東京大学大学院医学系研究科動物実験委員会の承認を得て、東京大学動物実験実施規則に基づき行われた。哺乳 1 日齢のラットの後肢から採取した骨格筋を、II 型コラゲナーゼ(Invitrogen)を含有した Hank's バッファ中で細砕することで、筋芽細胞を入手した。

培養骨格筋組織は、硬い培養台とアンカから構成される培養デバイス上で、筋芽細胞をマトリゲル(Matrigel Matrix, 356231, Corning)中で培養することで作製した(図 2)。培養台は、3D プリンタ(Agilista-3200, Keyence)で作製した鋳型にパリレンを蒸着させた後、鋳型内にてポリジメチルシロキサン(PDMS)を硬化させた。鋳型から PDMS の培養台を取り外した後、パリレンを蒸着させ、細胞の接着を防ぐために、2-メタクリロイルオキシエチルホスホリルコリン(MPC)ポリマー溶液(99.5%エタノール, 0.5%MPC ポリマー)(LIPIDURE-CM5206, NOF CORPORATION)を表面に滴下し、100 °C で 15 分間熱することでコートした。アンカは、光造形装置(DWS, Sea Force Co., Ltd)により作製し、パリレンを蒸着させた後、細胞の接着を促すためにフィブロネクチン(Fibronectin, Bolvine, Stabilized)を表面に滴下し 24 時間静置することでコートした。

次に、培養デバイス上にて筋芽細胞含有(1.0×10^8 cells/mL)のマトリゲル溶液を、インキュベータ(37 °C, CO₂ 濃度 5%)内で 30 分間静置することでゲル化させた。その後、増殖培地(ダルベッコ改変イーグル培地(DMEM) 高グルコース(D5796, Sigma-Aldrich), 10%ウシ胎児血清(FB-1365/500, Biosera), 1%ペニシリン-ストレプトマイシン(P/S, Sigma-Aldrich))に浸し、2 日目以降は分化培地(DMEM 低グルコース(041-29775, Wako), 2%ウマ血清(HS, 2147675, Gibco), 1%P/S)を用いて、マトリゲル内での筋芽細胞の培養を行った。なお、2 日ごとに培地の交換を行った。

Fig. 5 Procedures to assemble a swimming robot with a skeletal muscle tissue.

Fig. 6 Top and lateral views of the cultured skeletal muscle tissue (Day 0 and Day 6). Scale bar, 1 mm. White dashed lines indicate edges of Matrigel (containing myoblasts) and skeletal muscle tissue, respectively.

形成した培養骨格筋組織の評価では、カンチレバーを有する収縮量測定デバイスを用いて、筋組織の牽引力に対抗する力を負荷した状態で筋組織の収縮量を測定した(図3)。1対の金電極を介して培養骨格筋組織に電気刺激のパルス波をファンクションジェネレータ(WF1968, NF CORPORATION)からピエゾドライバ(M-2629B-2ch, MESS-TEK Co., Ltd)を介して与え、筋組織の収縮に伴って引き起こされるカンチレバー先端のたわみを顕微鏡下で計測した。両端にカンチレバーがあるため、たわみの2倍が筋組織の収縮量になると推定した。

2・2 泳動ロボットの作製および評価手法

泳動ロボットは、尾ひれを有するロボット骨格、培養骨格筋組織とアンカからなるアクチュエータ、浮き、固定針から構成される。ロボット骨格は図4に示す寸法にて設計し、尾ひれの曲面形状を変化させたロボットA、ロボットB、ロボットCの3種類の骨格を作製した。ロボット骨格とアンカのはめ合いについては、中間ばめとすることであそびを極力無くし、ロボットが動作できるよう設計した。これらの骨格は、鋳型を光造形装置によ

Fig. 7 Change of (a) width and (b) height of cultured skeletal muscle tissues ($n = 6$).

Fig. 8 Contractile displacement of cultured skeletal muscle tissue. (a) Temporal variation of the contractile displacement (Day 8) depending on different electrical frequencies applied (electrical field 2.5 V/mm, duration 20 ms). Arrows indicate the timing when electrical stimulation is applied. (b) Relationship between contractile displacement and electrical field applied to the cultured skeletal muscle tissue (frequency 1 Hz, duration 20 ms).

り作製した後パイレックスを蒸着し、鋳型内でPDMSを100℃で15分間熱して硬化させることで作製した。浮きはスタイロフォームのブロックを切断することで作製した。このとき、スタイロフォームの寸法は、およそ長さ25 mm×幅5 mm×高さ2 mmであり、泳動ロボットが傾かず、水平に浮くことができるようスタイロフォームの厚みを都度調整した。泳動ロボットの構築は、まず、分化培地中で培養骨格筋組織を培養台からロボット本体に移し替え、その後、ロボットを反転させ、浮きを固定針でロボット本体に設置することで行った(図5)。

次に、ロボット内の骨格筋組織に電気刺激を与え、そのときのロボットの動作を水平方向および鉛直下方向からデジタルカメラおよび顕微鏡で観察し、ロボット尾ひれの変形およびロボットの移動量を測定した。電気刺激は収縮量測定実験と同様に、ロボットの周囲を満たす培地内で1対の金電極を介して与えた。ここでは、長時間の連続駆動による骨格筋組織の収縮特性の変化を避けるため、ロボット1台に対して電気刺激を与える時間は最大で10分間とした。

3. 結果および考察

本章では、前章で述べた各実験結果について述べ、各々について考察を行う。

Fig. 9 Images of swimming robot skeletons. Each robot skeleton has a different tail fin shape. Scale bar, 5 mm.

Fig. 10 Image of a swimming robot. Scale bar, 5 mm. Note that the top of the float was completely exposed above the liquid surface.

3・1 収縮量測定結果

本研究で提案した突起部を有するアンカと溝を有する培養台を用いて、筋芽細胞含有のマトリゲル溶液をゲル化した直後の様子と、筋芽細胞を6日間培養した様子を図6に示す。突起部と溝の嵌合によってアンカを固定した場合でも、従来研究と同様に骨格筋組織の形成が可能であることが確認された。また、培養日数が進むにつれ、骨格筋組織の形状が変化することが確認された。骨格筋組織の幅は、培養6日目において、培養0日目の50%まで小さくなり($n=6$)、これはアンカのピラーと同程度の幅であった(図7(a))。一方、骨格筋組織の厚さは、培養6日目において、培養0日目の160%まで大きくなった($n=6$) (図7(b))。この厚さが大きくなった割合は、骨格筋組織の幅が小さくなった割合の逆数に近く、幅が小さくなった分だけ厚さが増したと考えられる。よって、本研究の手法で作製した骨格筋組織は、培養が進むにつれ、骨格筋組織の幅はアンカのピラーが配置されている幅と同程度、厚さは幅が小さくなった割合の逆数程度の割合まで大きくなるという特性を持つことが示唆された。

この培養6日目の骨格筋組織をカンチレバー付き測定デバイスに設置した状態で、電気刺激(電場: 2.5 V/mm, 時間: 20 ms, 頻度: 1 Hz)を筋組織に与えると、筋組織の収縮運動によりカンチレバーがたわむことを確認した。続いて、作製した培養骨格筋組織がオンオフ制御可能であることを確認するため、周波数を変化させたときの収縮力の応答について評価を行った(図8(a))。0.5, 1.0, 2.0 Hzのいずれの周波数においても、電気刺激を与えたときのみ筋組織が収縮することが確認できた。このことから、作製した培養骨格筋組織がオンオフ制御可能であり、泳動ロボットのアクチュエータとして使用可能であることが分かった。次に、電場の大きさを変化させたときの収縮力の応答について評価を行った(図8(b))。培養6日目、培養8日目の培養骨格筋組織ともに、電場の大きさが0.4 V/mmを超えると急激に収縮量が立ち上がり、さらに電場が大きくなると一定の値に収束する傾向が見ら

Fig. 11 Fin deformation of swimming robots when electrical stimulation was applied (electrical field, 2.5 V/mm; frequency, 1 Hz; duration, 20 ms) to skeletal muscle tissues. (a) Sequential images of fin deformation (robot B). Scale bar, 5 mm. (b) Angular displacement of tail fin. Red arrows indicate the time when electrical stimulation was applied. (c) Comparison of angular displacement between swimming robots with different tail fin shapes ($n = 3$).

れた. この電場の大きさと収縮能の関係は先行研究でも報告されており (Morimoto et al., 2018) (Dennis and Kosnik, 2000), 提案の方法でも適切に骨格筋組織の培養が達成されたことを示唆している. また, 培養 6 日目と培養 8 日目の骨格筋組織を比較すると, 先行研究と同様に (Morimoto et al., 2018), 培養 8 日目の筋組織の方が高い収縮能を示した. 以上の結果から, 本研究で提案した方法においても, 培養の経過に応じて骨格筋組織が成熟していくことが示唆された.

3・2 泳動ロボット動作評価

作製した 3 種類の泳動ロボット骨格を図 9 に示す. このロボット骨格は尾ひれの形状が異なっており, 幅と長さは同じであるが端の厚みがロボット骨格 A は 3.1 mm, ロボット骨格 B は 2.7 mm, ロボット骨格 C は 2.2 mm, 曲線部の長さ s がロボット骨格 A は 10.3 mm, ロボット骨格 B は 10.2 mm, ロボット骨格 C は 10.1 mm になっている. この骨格を用いて, 泳動ロボットを提案手法によって構築し, 骨格筋組織が培養台から泳動ロボットに搭載可能であることを確認した (図 10). 本結果から泳動ロボットに搭載された骨格筋組織の交換が可能であることも示唆され, 本研究の提案手法を用いて汎用性の高い泳動ロボットの作製も可能であると考えられる.

泳動ロボットに電気刺激 (電場: 2.5 V/mm, 時間: 20 ms, 頻度: 1 Hz) を与えたときの尾ひれの変位角の変化について測定を行った. 3 種類の泳動ロボット全てについて尾ひれが電気刺激にあわせて沈み, 往復運動を行うことが確認された (図 11). このとき, 電気刺激の前後における尾ひれの最大変位角の平均値は, ロボット A で約 1.3 deg, ロボット B で約 2.0 deg, ロボット C で約 1.4 deg を記録した ($n = 3$). また, この結果は異なる場所で形成した培養骨格筋組織を取り外してロボット骨格に移動させても, アクチュエータとして培養骨格筋組織が利用可能であ

Fig. 12 Displacement of swimming robots under applied electrical stimulation (electrical field 2.5 V/mm, frequency 1 Hz, duration 20 ms). (a) Sequential images indicating the movement of head anchor of the robot C. Scale bar, 500 μm . (b) Moving distance of the robots. Average moving speed of the robot C was 30 $\mu\text{m}/\text{min}$.

ることを示している. この方法により同一培養条件にて作製した骨格筋組織をロボット骨格に取り付けることができるため, ロボット骨格上で組織培養した際に起こる骨格の寸法や形状が骨格筋組織の培養に与える影響を考慮する必要がなく, 筋収縮とロボット骨格の変形の関係のみを評価するのに適していると考えられる.

これらの泳動ロボットに電気刺激(電場: 2.5 V/mm, 時間: 20 ms, 頻度: 1 Hz)を負荷し続け 10 分間連続で動かしたところ, ロボット C のみが前進した(図 12). ロボット C は 10 分間で 300 μm 前進し, 平均速度は 30 $\mu\text{m}/\text{min}$ を記録した. 本結果は, 異なる場所で形成した培養骨格筋組織を移植した泳動ロボットにおいても連続出力できることを示唆しており, 当該方法によって様々な形状や寸法のロボット骨格を有する泳動ロボットを構築可能になることが期待できる.

一方, 前進したロボット C と, 前進しなかったロボット A およびロボット B を比較すると, ロボット C のみが前進した要因として尾ひれの姿勢が最も適切であったことが挙げられる. 本研究で作製した泳動ロボットの材質は PDMS と軟らかく, 尾ひれが自重により沈み込むことが観察された. 沈み込みの際の水平からの変位角はロボット A で 4.5 度, ロボット B で 4.3 度, ロボット C で 4.0 度であった. 尾ひれが水平な姿勢であれば, ロボットが主として前進方向の推進力を得ることができるが, 尾ひれが鉛直な姿勢だとロボットは前進方向に対して垂直な方向の推進力を得る. そのため, 沈み込んでしまった尾ひれは前進方向の推進力を満足に得ることができなかったと考えられる. 本研究で用いた 3 つの泳動ロボットの内, ロボット C の尾ひれの体積は, ロボット A の 59%, ロボット B の 72% と最も小さく, 自重による尾ひれの沈み込みも小さかった. そのため, 3 つの泳動ロボットのうち, 尾ひれが最も水平に近い姿勢が取れたロボット C のみが前進したと考えられる. 続いて, ロボット尾ひれの最大変位角の観点から比較すると, 変位角は, ロボット B, ロボット C, ロボット A の順に大きかった(図 11(c)). 変位角が大きいほどロボットの移動量が大きくなると考えられるが, ロボット C は比較的変位角が大きいにも関わらず唯一前進した. この原因として, 先ほど述べた尾ひれの姿勢の影響の方が, 変位角の影響より大きいことが挙げられる. よって, 本研究においては, ロボットの変位角はロボットの前進のしやすさに有意な影響を与えなかったと考えられる. 尾ひれの沈み込みと変位角の観点から, 尾ひれの形状を最適化することで更に高速で前進する泳動ロボットが構築可能になると考えられる.

具体的な尾ひれの形状の改善点として, 尾ひれをさらに薄く, あるいは短くすることで尾ひれの沈み込みを小

さくすることが挙げられる。また、ロボットのスケールに対する骨格筋組織の収縮力を上げることも、泳動ロボットの前進速度を高めるのに有効な手法である。骨格筋組織の収縮力は骨格筋組織の断面積に比例するが、骨格筋組織の断面積をこれ以上大きくすることは、骨格筋組織の内部壊死を引き起こす可能性があり困難である。本研究では筋芽細胞を 5 mm 幅のマトリゲルブロックの中で培養して骨格筋組織を構築したが、ゲルを加工して幅 0.5 mm の筋芽細胞含有マトリゲルブロックをモジュールとする集積体の中で培養することで、高い収縮力を有する骨格筋組織が構築できることが知られている(Morimoto et al., 2018)。この収縮力の高い骨格筋組織を用いることでも、更に泳動ロボットの前進速度を高められると期待される。加えて、本研究で用いたロボット骨格の材質は粘性を有する PDMS であったため、ロボット骨格の変形を理論的に解析することが困難であった。今後、ロボット骨格の材質を変更するとともに、シミュレーション等を用いた泳動ロボットの動作解析により、機械的なエネルギー損失およびロボット骨格の持つ弾性から得られる尾ひれの復元力を求め、その考察をもとに泳動ロボットの設計を行うことで、泳動ロボットの泳動効率を高めることも期待できる。

4. 結 言

本研究では、筋芽細胞を 3 次元培養することで培養骨格筋組織を作製し、この骨格筋組織をアンカごとロボット骨格へ移植することで、筋収縮による無関節のロボットの泳動を実現した。取り外し可能なアンカ上で筋芽細胞を培養することで、電気刺激によって収縮をオンオフ制御可能な骨格筋組織を作製可能ことが確認された。この骨格筋組織をアンカごと取り外してロボット骨格に移動させることで、収縮能を失うことなく骨格筋組織をロボット骨格上に設置することに成功した。本方法は同一培養条件で準備した骨格筋組織をロボット骨格に搭載できるため、ロボット骨格上で骨格筋組織を培養する方法で必要なロボット骨格の形状と培養骨格筋組織の収縮能の関係を検討する必要がなく、同じ収縮能を有した骨格筋組織でのロボットの駆動を評価可能となる。その結果、本研究では尾ひれの形状が培養骨格筋組織をアクチュエータとする泳動ロボットの駆動特性に影響を与えることを明らかにし、尾ひれを薄くすることで泳動ロボットが前進可能となることを見出した。本研究で提案した方法は泳動ロボットに限らず、様々な形状をしたロボット骨格やデバイスに搭載する方法として広く応用されていくことが期待される。

謝 辞

本研究にあたり、細胞採取の手助けをしていただいた野上こずえさんに謝意を表する。本研究の一部は、JST 未来社会創造事業 JPMJMI18CE ならびに JSPS 科研費 16H06329 および 19H05322 の助成を受けて実施された。

References

- Akiyama, Y., Sakuma, T., Funakoshi, K., Hoshino, T., Iwabuchi, K. and Morishima, K., Atmospheric-operable bioactuator powered by insect muscle packaged with medium, *Lab on a Chip*, Vol.13, No.24 (2013), pp.4870-4880.
- Cvetkovic, C., Raman, R., Chan, V., Williams, B. J., Tolish, M., Bajaj, P., Sakar, M. S., Asada, H. H., Saif, M. T. A. and Bashir, R., Three-dimensionally printed biological machines powered by skeletal muscle, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Vol.111, No.28 (2014), pp.10125-10130.
- Dennis, R. G. and Kosnik, P. E., Excitability and isometric contractile properties of mammalian skeletal muscle constructs engineered in vitro, *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Animal*, Vol.36, No.5 (2000), pp.327-335.
- Herr, H. and Dennis, R. G., A swimming robot actuated by living muscle tissue, *Journal of Neuroengineering and Rehabilitation*, Vol.1, No.6 (2004).
- Morimoto, Y., Onoe, H. and Takeuchi, S., Biohybrid robot powered by an antagonistic pair of skeletal muscle tissues, *Science Robotics*, Vol.3, No.18 (2018), eaat4440.
- Morimoto, Y., Onoe, H. and Takeuchi, S., Biohybrid device with antagonistic skeletal muscle tissue for measurement of contractile force, *Advanced Robotics*, Vol.33, No.5 (2019), pp.208-218.
- Morimoto, Y., Onoe, H. and Takeuchi, S., Biohybrid robot with skeletal muscle tissue covered with a collagen structure for moving in air, *APL Bioengineering*, Vol.4, No.2 (2020), 026101.

- Nawroth, J. C., Lee, H., Feinberg, A. W., Ripplinger, C. M., McCain, M. L., Grosberg, A., Dabiri, J. O. and Parker, K. K., A tissue-engineered jellyfish with biomimetic propulsion, *Nature Biotechnology*, Vol.30, No.8 (2012), pp.792-797.
- Pagan-Diaz, G. J., Zhang, X., Grant, L., Kim, Y., Aydin, O., Cvetkovic, C., Ko, E., Solomon, E., Hollis, J., Kong, H., Saif, T., Gazzola, M. and Bashir, R., Simulation and fabrication of stronger, larger, and faster walking biohybrid machines, *Advanced Functional Materials*, Vol.28, No.23 (2018), 1801145.
- Park, S. J., Gazzola, M., Park, K. S., Park, S., Di Santo, V., Blevins, E. L., Lind, J. U., Campbell, P. H., Dauth, S., Capulli, A. K., Pasqualini, F. S., Ahn, S., Cho, A., Yuan, H., Maoz, B. M., Vijaykumar, R., Choi, J. W., Deisseroth, K., Lauder, G. V., Mahadevan, L. and Parker, K. K., Phototactic guidance of a tissue-engineered soft-robotic ray, *Science*, Vol.353, No.6295 (2016), pp.158-162.
- Raman, R., Cvetkovic, C., Uzel, S. G., Platt, R. J., Sengupta, P., Kamm, R. D. and Bashir, R., Optogenetic skeletal muscle-powered adaptive biological machines, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Vol.113, No.13 (2016), pp.3497-3502.
- Sakar, M. S., Neal, D., Boudou, T., Borochin, M. A., Li, Y., Weiss, R., Kamm, R. D., Chen, C. S. and Asada, H. H., Formation and optogenetic control of engineered 3D skeletal muscle bioactuators, *Lab on a Chip*, Vol.12, No.23 (2012), pp.4976-4985.
- Williams, B. J., Anand, S. V., Rajagopalan, J. and Saif, M. T. A., A self-propelled biohybrid swimmer at low Reynolds number, *Nature Communications*, Vol.5, No.1 (2014), pp.1-8.