

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 3 日現在

機関番号：17102

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25560201

研究課題名(和文) ナノ材料工学と組織工学の融合による細胞型バイオ燃料電池の創製研究

研究課題名(英文) Development of cellular bio-fuel cell by combining nano-material and tissue engineerings

研究代表者

東藤 貢 (Todo, Mitsugu)

九州大学・応用力学研究所・准教授

研究者番号：80274538

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：導電性に優れるカーボンナノチューブCNTを生体ポリマーcollagenに分散させ多孔質化したCNT/collagen多孔体に酵素を分散させることで、酵素型バイオ燃料電池用の新規電極材料の開発に成功した。しかし、構造安定性に問題があるため、collagenに架橋反応を導入した構造安定型CNT/collagen電極材料を開発した。さらに、セルロース膜で電極全体を覆うことで酵素の流出を制御した新電極材料を開発し、安定した発電特性を持つバイオ燃料電池の開発に成功した。

研究成果の概要(英文)：Carbon nanotubes with excellent electroconductivity were distributed in biopolymer collagen to fabricate CNT/collagen composites and porous structures of the composites with enzymes were developed for electrodes of bio-fuel cell. Because of the structural unstability of the electrodes, chemical cross-linking was introduced into the collagen phases. Furthermore, cellulose film coating was used to develop new electrode materials without drain of enzymes. Finally, the cellulose cated CNT/collagen porous materials with enzymes were successfully used as electrodes of a bio-fuel cell and stable electric generation was obtained by the cell.

研究分野：生体材料学

キーワード：バイオ燃料電池 複合材料 多孔質材料 カーボンナノチューブ 酵素発電

1. 研究開始当初の背景

現在、ペースメーカーや埋込型人工心臓等の体内埋込型医療機器の電力源としては、リチウム電池等の化学電池が使用されている。しかし、化学電池には生体に対して毒性を示すものが燃料として使用されており、安全性の点で問題があるために、生体に優しい電力源の開発が望まれている。化学電池に代わるものとして、近年、生体内に豊富に存在するグルコース(ブドウ糖)を燃料として発電するバイオ燃料電池が注目されるようになった。バイオ燃料電池は、正極において生体酵素を用いてグルコースを分解することで電子を取り出し、負極では酸素と水素を結合させて水を生成させる酸化還元反応を利用して発電する電池であり、安全性が高く化学電池よりも小型化も可能である。しかし、実際に生体内での発電実験が行われたのは最近のことであり、医療用燃料電池としては、未だ発展途上の段階である。他方、酵素ではなく細胞の一種であるマクロファージでグルコースを分解させる「細胞型バイオ燃料電池」の可能性が簡単な実験系で示されている。一方、本研究代表者は、骨再生医療への応用を目的として、複合系多孔質材料の開発、間葉系幹細胞とのハイブリッド化による人工骨組織の創製研究を進めているが、これまでに開発した技術がバイオ燃料電池の開発研究に応用できることを見出し、新しいバイオ燃料電池の基礎技術を確立することを考案した。

2. 研究の目的

本研究の目的は、ナノ複合系多孔質材料に細胞をハイブリッド化した電極を作製し、細胞によりグルコースを分解することで発電する細胞型バイオ燃料電池の技術的基盤を確立することである。第一の目的は、カーボンナノチューブ、生分解性ポリマーおよびバイオセラミックスを複合化しナノ構造を制御した多孔質材料の設計・製造技術の確立である。次に、開発した多孔質材料に造血幹細胞を播種しマクロファージに分化させたハイブリッド型電極を作製し、PBS溶液を燃料として発電実験を行い、発電特性を最適化する。最終的には、細胞燃料電池のプロトタイプを試作することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 複合系多孔質材料の作製と評価

材料作製方法

原料は生体高分子コラーゲン、カーボンナノチューブCNT、2種類の酵素グルコースオキシダーゼ(負極用)とラッカーゼ(正極用)であり、固液相分離法と凍結乾燥法を応用して多孔質構造を作製した。コラーゲン溶液中にCNTを2wt%または3wt%および酵素を分散させ、シリコンゴム型に流し込み-80℃で予備凍結後、-50℃で凍結乾燥を行った。この

CNT/collagenを用いて作製した電極材料を電極Aと呼ぶ。

次にコラーゲンの多孔質構造をより強固にするために架橋処理を行った材料を作製した。CNT/collagen多孔体を作製後グルタルアルデヒド雰囲気中で架橋処理を施した。酵素が抗力を失うために、架橋処理後に酵素を含むPBS溶液を内部に浸透させた。この電極材料を電極Bと呼ぶ。

次に酵素の流出を防ぐのを目的として、電極Bをセルロースフィルムで覆った電極Cを作製した。

微視構造と気孔率の評価

上述の3種類の複合材料について電界放射形走査微鏡(FE-SEM)を用いて多孔質構造を観察し、微視構造について調査した。また、体積、質量、各成分の密度より気孔率を評価した。

(2) 生体酵素型バイオ燃料電池の試作と評価
上述の3種類の材料を電極材料としてバイオ燃料電池を作製し、発電実験を行った。図1に燃料電池の概略図を示す。緩衝液としては、PBSにグルコースを0.005mol/l混ぜたものを使用し、電圧の時間依存性を記録した。

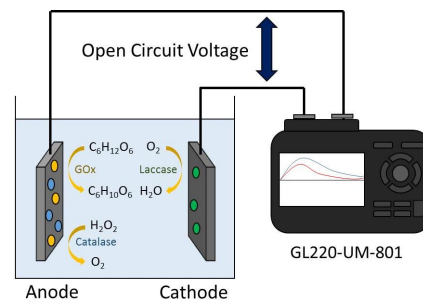


図1 バイオ燃料電池の概略図

(3) 細胞培養実験

細胞型バイオ燃料電池開発のための基礎研究として、マクロファージの分化培養実験を行った。用いた細胞はマクロファージ様細胞THP-1であり、培地はRPMI1640、10%PBS、1%penicillin-streptomycinの混合溶液である。最長60時間程度で培養し顕微鏡観察を行った。

細胞培養実験と評価

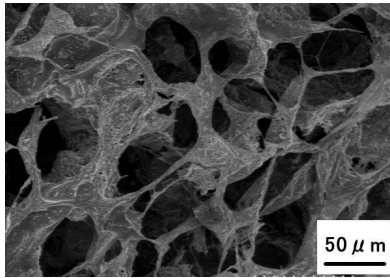
ラット間葉系幹細胞をscaffoldに播種後、骨芽細胞分化誘導剤を加えて一定期間培養し、細胞数、ALP活性について評価した。また、圧縮試験を行い圧縮弾性率に及ぼす細胞の増殖と細胞外マトリックスの影響について検討した。また、scaffoldの微視構造、細胞外マトリックスの形成挙動を調べるためにFE-SEMによる観察を行った。

4. 研究成果

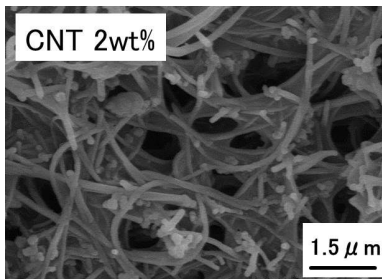
(1) 複合電極材料の特性

図2にCNT/collagen多孔体の微視構造のSEM画像を示す。良好な連通多孔質構造が形成されており、またナノサイズのCNTがコラーゲンマトリックス中に分散していることがわかる。CNTの分散状態は良好である。

多孔体の気孔率は、CNT2, 3, 4wt%に対してそれぞれ96.3, 95.8, 94.7%であり、CNT含有率が増加すると減少する傾向にあった。



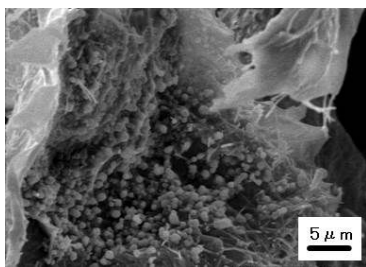
(a) 多孔質構造



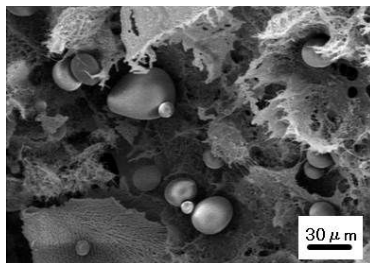
(b) CNTの分散状態

図2 CNT/collagenの微視構造

図3に電極Bにおける酵素の付着状態を示す。電極Bではコラーゲンを架橋させているために酵素を内部に分散させることができず、表面に凝集させているのみである。正極のラッカーゼの方が負極のグルコースオキシダーゼよりも粒径が小さい。



(a) 正極



(b) 負極

図3 酵素の付着状態

図4に電極C用に開発したセルロールで覆われたCNT/collagen多孔体のSEM画像を示す。左方にみられるのがセルロースであり、collagenとの接着性も良好であることがわかる。

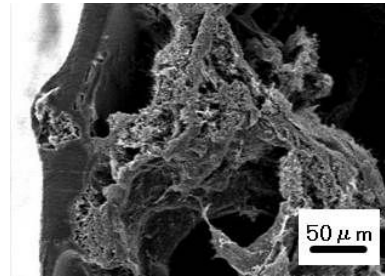


図4 セルロースで覆われた複合材料

(2) バイオ燃料電池の発電特性

電極A (CNT2wt%, 酵素5mgと10mg)を用いて作製した燃料電池Aの発電特性を図5に示す。作製した多孔質電極間において酵素とCNTの働きにより酸化還元反応が順調に行われていることが確認できた。20~30minで発電量は最大となり、その後60minあたりまで大きく低下していく。このような急峻な電圧低下は未架橋のコラーゲンが簡単に崩壊するためである。

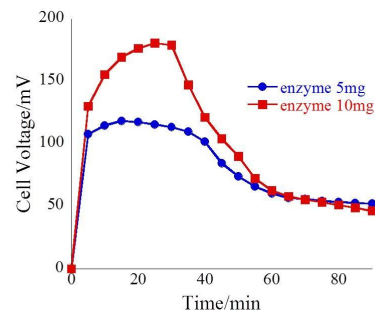


図5 燃料電池Aの発電特性

電極Bを用いて作製した燃料電池Bの発電特性を燃料電池Aの結果と共に図6に示す。Aに比べてBの最大発電量は低い値を示しているが、これは図3に示すように電極Bにおける酵素の含有状態が多孔体表面での凝着であり、容易に流出してしまうからである。

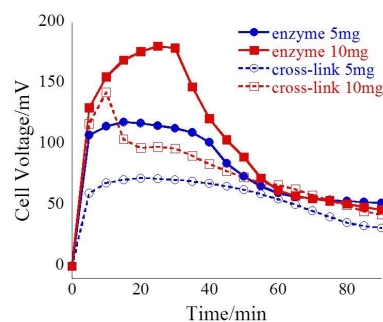


図6 燃料電池Bの発電特性

電極Cを用いて作製した燃料電池Cの発電特性を図7に示す。比較のために燃料電池Bの結果も合わせて示す。セルロースフィルムの効果により発電量の持続性を獲得したが、最大発電量は低下した。

最大発電量の向上には酵素量を増やすことが有効であり、酵素量を50mgにした場合の発電量を10mgの場合と共に図8に示す。酵素量を5倍に増加させると発電量は2倍程度に向上している。

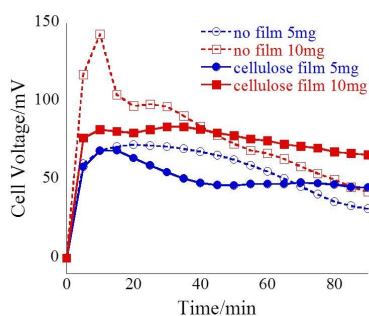


図7 燃料電池Cの発電特性

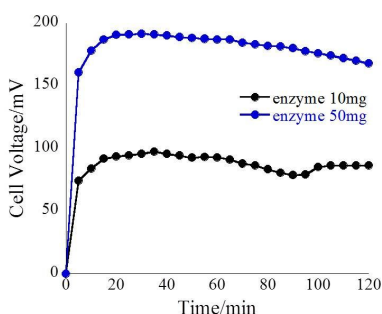


図8 燃料電池Cの発電特性に及ぼす酵素量の影響

(3) マクロファージの生成状態

マクロファージ様細胞 THP-1 を60時間培養した状態を図9に示す。多核化し巨大化した細胞がマクロファージであり、順調にマクロファージへの分化が進んだことが分かる。

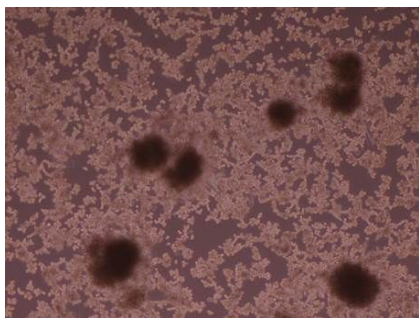


図9 マクロファージの生成状態

(4) まとめ

酵素型バイオ燃料電池の電極材料として、CNTを分散させたcollagen多孔体の開発に成功した。未架橋のCNT/collagenでは酵素の内部への分散導入が容易であるが、構造の崩壊が生じるために架橋構造を導入した。しか

し、酵素の流出が生じたためにセルロースで覆った電極材料を新たに考案し、発電量の持続性を確認した。次の研究では、酵素の代わりにマクロファージを導入した細胞型バイオ燃料電池の開発を進める予定である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計1件)

Mitsugu Todo, Kentaro Yamauchi and Takaaki Arahira, Development and characterization of CNT/biopolymer electrodes for bio-fuel cell, IFMBE Proceedings, The 15th International Conference on Biomedical Engineering, 査読有, 43, 2014, 865-867.

〔学会発表〕(計3件)

Mistugu Todo, Kentaro Yamauchi and Takaaki Arahira, Development and characterization of CNT/biopolymer electrodes for bio-fuel cell, The 15th International Conference on Biomedical Engineering, 2013年12月5日, Singapore

山内健太郎, 東藤貢, 荒平高章, 藤野茂, CNT分散バイオポリマー多孔体を電極材料とするバイオ燃料電池の創製と評価, 第35回日本バイオマテリアル学会, 2013年11月25日, 東京

東藤貢, 山内健太郎, CNT/生体ポリマー多孔質複合材料の創製とバイオ燃料電池への応用, 第38回複合材料シンポジウム, 2013年9月24日, 鹿児島

6. 研究組織

(1) 研究代表者

東藤 貢 (TODO MITSUGU)

九州大学・応用力学研究所・准教授

研究者番号: 80274538