

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 1 日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2013～2017

課題番号：25709081

研究課題名(和文)シビレイを用いたATP駆動型発電機の開発

研究課題名(英文)Development of ATP-based power generator using electric ray

研究代表者

田中 陽(Tanaka, Yo)

国立研究開発法人理化学研究所・生命システム研究センター・ユニットリーダー

研究者番号：40532271

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 18,100,000円

研究成果の概要(和文)：火力や原子力等の既存の方法に代わる、クリーンで安全かつエネルギー効率の高い発電機の開発は急務である。そこで近年、生物機能に着目し、酸化還元酵素を利用したグルコースのみで発電するバイオ燃料電池が開発されているが、従来の発電法に比べて出力性能に劣る。一方、研究代表者は、強力な電気を発生する器官を有する電気魚に着目し、その生体特有の高機能な構造を直接組み込んだ高機能なATP発電機を実現することを着想した。そのためには、シビレイの発電機構のデバイスへの集積化が必須である。以上をふまえて、本研究では、デバイス加工技術を用いて集積化したシビレイ発電機構をベースとした発電機を開発した。

研究成果の概要(英文)：Alternative electric power generation methods over conventional thermal power or nuclear generation are required. Recently, glucose fuels cells exploiting enzymes focusing on biological functions have been reported. However, the power density is not better than conventional methods. On the other hand, we focused on electric fish which have organs generating strong electricity to realize efficient ATP-based electric power generator incorporating power generating function onto devices. Based on this concept, we developed an electric power generator integrating electric organ using device fabrication technology.

研究分野：生命機能利用デバイス

キーワード：電気魚 ATP コンデンサ 発電機 神経系 組織工学 流体工学 導電布

1. 研究開始当初の背景

一般によく知られている、火力や原子力といった既存の発電方法に代わる、クリーンで安全な発電手法の開発は現代のグローバルな規模での喫緊の課題である。しかしながら、水力や風力、地熱、あるいは太陽光などといった自然依存型発電は、地形や自然状況に左右され、安定供給が難しいという現実がある。やはり、これらとは別に、常時供給可能な発電システムが求められている。

そこで、きわめてクリーンで安全、かつ安定的な電力供給手段として、生物の機能を利用するという発電方法が近年注目を集めている。代表例として、微生物のもつ酸化還元酵素を電極に組み込み、グルコースから直接電子を取り出して発電するバイオ燃料電池 (Kendall, *Nat. Mater.*, **1**, 211 (2002)) や、微生物から直接電気を取り出す微生物燃料電池 (Kato *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **109**, 10042 (2012)) などがある。燃料が安価で大量生産可能などという特徴があるため、比較的大規模な発電システムにつながる技術としても期待はされているが、最適化には時間を要するため、出力性能は現状必ずしも十分ではなく、最高でも  $10 \text{ mW/cm}^2$  程度にとどまっているのが実際である。

これに対して、シビレイに代表される強電気魚は、同じくグルコースを動力源としながらも、きわめて効率的な発電システムをその体内で実現している。図1のように、グルコース分解により合成される、Adenosine triphosphate (ATP)の化学エネルギーを使って発電細胞膜表面にある膜タンパクの一種であるイオンポンプで細胞内のナトリウムイオンをくみ出し(通常時)、シナプス小胞に格納された神経伝達物質アセチルコリンが細胞外に放出され、その刺激によって一気にナトリウムイオンが細胞内に流入し、電流が発生(興奮時)した後アセチルコリンは分解酵素により速やかに分解される。発電器官では、このタンパクが細胞膜上にきわめて多数集積化されていることで電流密度を増し、細胞が直列に大量に積層することで電圧を稼いでおり、出力性能は一瞬(およそ 0.01 秒)ではあるが、一匹当たりとして最大発電量 10 kW 以上、密度として  $100 \text{ W/cm}^2$  を実現している。このような精緻な構造は生物の進化の中で最適化されてきたものとみられ、むろん人工的に作製することはできず、天然にしか存在しない。

一方で、代表研究者らはこれまで、化学エネルギーから力学エネルギーへの高効率変換機能をもった柔軟な生体材料である心筋細胞・組織を素子として利用し、マイクロ・ナノ加工技術との融合により従来の電力駆動型デバイスとは根本的に異なるアクチュエータを創作してきた (Tanaka *et al.*, *Lab Chip*, **6**, 362

(2006), Tanaka *et al.*, *Biosens. Bioelectron.*, **23**, 449 (2007) など)。これまでの成果は、当該分野の一流誌をはじめとした科学誌および新聞等でも度々取り上げられた他、心筋遊泳ロボット (Feinberg *et al.*, *Science* **317**, 1366 (2007)) や昆虫心筋ロボット (Akiyama *et al.*, *Lab Chip* **9**, 104 (2009)) など、申請者の研究に触発され、引用した同類の研究も多数報告され、この分野のバイオニオ的立場にある。

2. 研究の目的

本研究は、上記のような、これまでに培ってきた微細加工ならびに細胞・組織機能の微小流体デバイスへの実装技術の応用により、シビレイ発電のベースとなっている電気器官をデバイス搭載するというものである。神経代替制御系の人工的構築により、高効率な ATP 発電システムが実現できるのではないかと着想した。シリンジ針を代替神経系に見立て、電気器官にシリンジ針を刺し通し、流体からの圧力によって、アセチルコリンを器官全体に行き渡らせることで刺激するというような方法を考えた(図1C)。

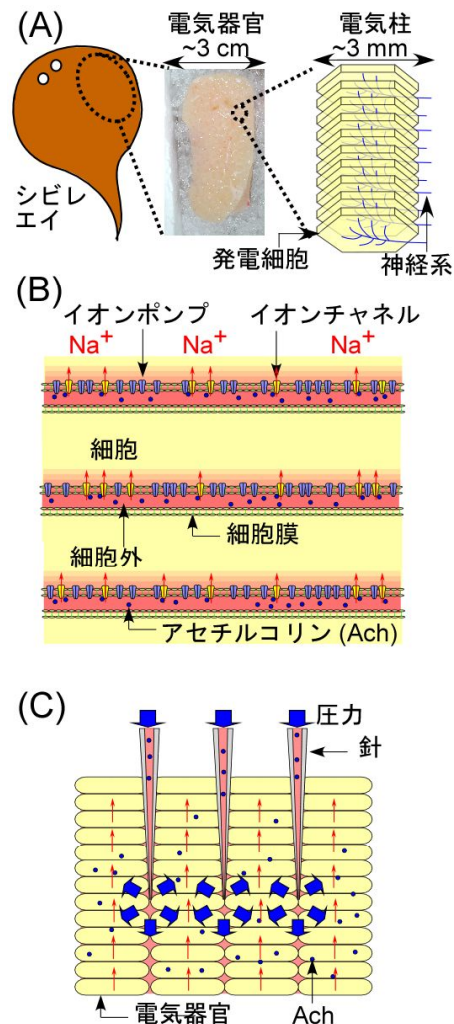


図1. 電気器官と発電原理および発電機のしくみ. (A)シビレイとその電気器官の構造 (B)化学刺激による発電原理断面図. (C)圧力を用いた代替神経系による発電.

なお、天然のイオン発電機構の利用という観点で歴史的に俯瞰すれば、紀元前5世紀の古代ギリシャ時代にはすでに電気魚が痛風や頭痛の鎮痛用に使用されていたという記録があるが、この発電機能を人為的に制御するのは現在に至るまで困難であった。本着想は、この観点においても制御性という面で画期的である。

### 3. 研究の方法

以上を踏まえ、本研究では、(1)デバイス作製のための基礎的な知見を得るため、生体個体シブレエイの物理刺激による電気応答の測定、(2)シブレエイより摘出した電気器官の電氣的な応答の測定、ならびに(3)電気器官を搭載した発電デバイスプロトタイプの試作と実証、を行った。詳細を以下に記す。

### 4. 研究成果

まずはじめに、実際に個体としてのシブレエイがどれくらいの電気を発生しているのかを測定した。シブレエイ生体(個体)への物理的な刺激による発電性能の測定実験を行った。捕獲後数日以内の新鮮なシブレエイを用いて、電気器官周辺部に電気を通す布、導電布を貼付し、頭部を手で継続的に圧迫刺激することによって発生する電氣的な応答を計測した。

その結果として、0.01秒以下というきわめて短い時間ながら、パルス的な電流が測定された。ピーク電圧としては約19V、ピーク電流としては約8Aであった。また、このようなパルス的な電流を利用することによって、シブレエイに直接接続することで低電流駆動型のLEDの点灯や、コンデンサへの蓄電が実証できた。さらに、コンデンサに溜まった蓄電エネルギーを使うことにより、LEDを比較的長時間(10秒以上)点灯させることや、簡単な小型モーターのついたおもちゃのミニカーを駆動させることに成功した。さらに、通信機を取り付けて、電波を用いた通信ができることも併せて実証できた。このように、シブレエイの電気を扱うことで電気器具が実際に機能することを示すことにより、シブレエイが大きな電力を発生していることを確認することができた。

これに続いて、シブレエイ個体から取り出した電気器官への外部からの化学的な刺激による発電性能の測定実験を行った。シブレエイから取り出した電気器官は、人工脳髄液(Artificial cerebrospinal fluid: ACSF)の中に浸漬しておくことで一時保存した後、これをACSF液から取り出したのちに導電布で挟み込み、器官の上下、それぞれに電極をつないだ。正極側(背側)からシリンジ針を7本刺しこみ、シリンジ一本あたり、約0.25mlのアセチルコリン溶液を、手動で一気に入注して、電氣的な

応答を測定器で計測した。このとき、アセチルコリン溶液の溶媒としてはACSFを使用し、アセチルコリンの濃度としては、1mMであった。その結果として、ピーク電圧としてはおよそ91mV、ピーク電流としてはおよそ0.25mAと低いものの、生体の場合(およそ0.01秒)よりも非常に長い、1分間以上もの長時間、電流が継続して流れることが確認された。

また、同じ大きさの器官に刺す針の本数を20本に増やすことで、ピーク電圧は変わらないものの、ピーク電流はおよそ0.64mAと針本数におよそ比例する形で増大することが確認された。これにより、指す針の本数を増やす、すなわち並列化をすることにより、電流値を増やすことができるということが実証された。

対照実験として、アセチルコリンを含まないACSFを電気器官内に注入したところ、電流が発生しなかった。よって、この現象は、アセチルコリンが組織内で拡散することにより起こるものと考えられる。また、電気器官をACSFで洗浄することで、繰り返し同様の反応が得られた。さらに、電気器官をACSFに浸しておくことで、1日以上経過した後も発電量は下がるものの、電流が発生することが確認された。こうして、電気器官が、個体より摘出された後も、一定時間はその電気発生機能を保ち、繰り返し使用することが可能であることが明らかになった。この実験により、化学的刺激によるコントロール型発電システムの基礎原理が実証されたといえる。

次に、電気器官をデバイスに組み込んだ発電機プロトタイプの作製・実証実験を行った。上記の発電方法では、発電自体は可能ではあるが、電気器官のサイズが必ずしも一定ではない。さらに、シリンジ針を、支持体なく電気器官に刺しているため、シリンジ針が動きやすい不安定な状態となっていた。そのため、電気器官の大きさに依存する電圧・電流が電気器官ごとに安定せず、またシリンジ針が動くことによりノイズが発生するという問題があった。

これらの問題を解決するには、一定サイズのデバイスに電気器官を組み込むことが必要であった。そこで、電気器官を約3cm角の直方体に近い形状にカットを行い、これをアルミやシリコンゴムで作製した容器に固定し、発生電力の安定化ならびに直列による電圧増強が可能かどうかについて調べた。

その結果、16個のデバイスを直列に接続することにより(図2A)、ピーク電流としては約0.25mAと単体の場合とほぼ変わらないものの、ピーク電圧としては約1.5Vと、ほぼ単体の16倍となることが確認できた(図2B)。

この結果に基づき、コンデンサへの蓄電実験を行った。一般的に、電力で仕事をするた

めには、常時一定の電力が供給されることが必要である。しかしながら、このデバイスで発電を行った場合においては、発生電力はアセチルコリンを注入した直後から徐々に低下することになる。そのため、このデバイスで発電した電力を何らかの仕事に使用するためには、蓄電が必要になる。そこで、デバイスを含む簡易なアナログ電気回路をブレッドボード上に構成し、蓄電することを試みた。その結果として、発電後、コンデンサの電圧が上昇し、それが一定(約 40 mV)に保たれたことから、電力を、電池のように一定の電圧で供給できるという可能性が示された(図 2C)。

本研究の成果は、ヒトをはじめとして、生物・生体を動かすもとなっている化学エネルギーである、ATP エネルギーのみで実現できる高効率発電機に向けた第一歩であると位

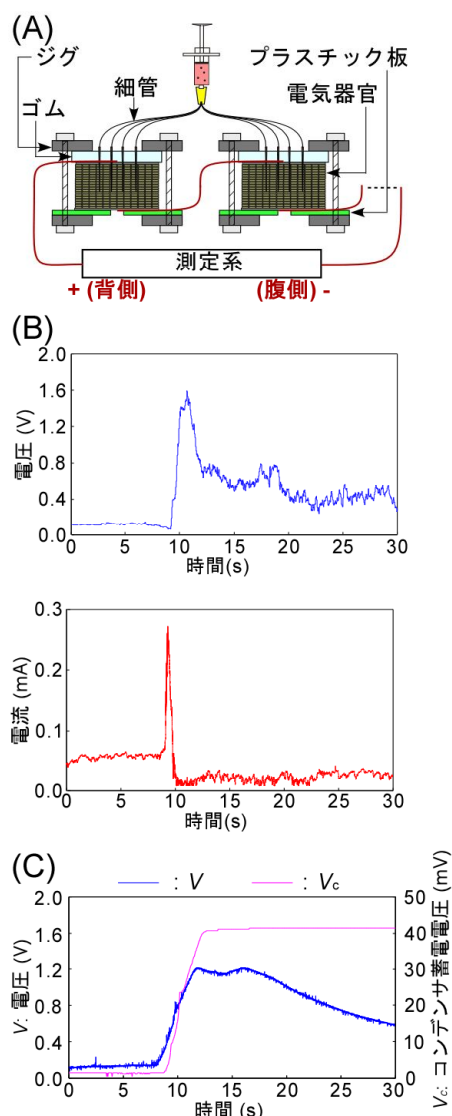


図 2. 電気器官直列発電ユニットを用いた発電デバイス. (A) 直列デバイスの原理図. 3 cm 角にカットした電気器官に電極をつなぎデバイス化. このデバイスを直列に接続. (B) 電圧と電流の測定結果 (注入は  $t = 10$  s). ピーク電圧 1.5 V, ピーク電流 0.25 mA. (C) 発電電圧 ( $V$ , 青線) とコンデンサ蓄電電圧 ( $V_c$ , 紫線).

置付けられると考えられる。しかしながら、シビレイはむしろ安定大量に、かつ常時入手できるものではない。したがって、実用化に向けては、電気器官に相当するものを人工的に構築する必要があるといえるであろう。すなわち、細胞膜や膜タンパク質の再構成手法とマイクロ・ナノ流体技術を融合し、分子からボトムアップ的に細胞機構を再構築し、発電細胞と同様の材料を創出するというのが考えられる。また、燃料となる ATP を、いかに大量に供給できるかという問題も解決していかなければならない。この問題に対しては、例えば、セルロースを遺伝子組換えバクテリアに分解させることにより、ATP を合成させることができれば、一般の植物を原料にすることなどが解決法の一案として考えられる。

ATP は生物には必ず含まれものであり、生物が居るところ、あるいは関連するところ、ありとあらゆる場所に存在するものであることから、将来的な構想としては、このようなデバイスは、生体内はもちろんのこと、食物や排水など、様々な環境下において存在する ATP やグルコースを利用した、微小エネルギー駆動型の環境発電機やセンサーなどとしても、様々な応用が考えられる。

## 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 12 件) すべて査読有

Shun-ichi Funano, Nobutoshi Ota, Asako Sato, Yo Tanaka

“A method of packaging molecule/cell-patterns in an open space into a glass microfluidic channel by combining pressure-based low/room temperature bonding and fluorosilane patterning”  
Chemical Communications, 53, 11193-11196 (2017)

Yo Tanaka

“Development of integrated microfluidic devices for next-generation bioanalysis”  
Bunseki Kagaku, 66, 487-494 (2017)

Shun-ichi Funano, Nobuyuki Tanaka, Yo Tanaka

“Analysis of long-term morphological changes of micro patterned molecules and cells on PDMS and glass surfaces”  
Analytical Sciences, 33, 723-725 (2017)

Nobuyuki Tanaka, Tadahiro Yamashita, Asako Sato, Viola Vogel, Yo Tanaka

“Simple agarose micro-confinement array and machine-learning-based classification for analyzing the patterned differentiation of mesenchymal stem cells”  
PLoS ONE, 12, e0173647 (2017)

Shun-ichi Funano, Nobutoshi Ota, Asako Sato,

Yo Tanaka

“Development of a microchannel fabrication method keeping cell or molecule patterning formed in an open space using low/room temperature glass bonding”

Proceeding of Micro Total Analysis Systems 2017, 327-328 (2017)

Yo Tanaka, Shun-ichi Funano, Yohei Nishizawa, Norihiro Kamamichi, Masahiro Nishinaka, Takehiko Kitamori

“An electric generator using living Torpedo electric organs controlled by fluid pressure-based alternative nervous systems”

Scientific Reports, 6, 25899 (2016)

Nobuyuki Tanaka, Hiroyuki Moriguchi, Asako Sato, Takayuki Kawai, Kenta Shimba, Yasuhiko Jimbo, Yo Tanaka

“Microcasting with agarose gel via degassed polydimethylsiloxane molds for repellency-guided cell patterning”

RSC Advances, 6, 54754-54762 (2016)

Shun-ichi Funano, Nobuyuki Tanaka, Yo Tanaka

“Vapor-based micro/nano-partitioning of fluorofunctional group immobilization for long-term stable cell patterning”

RSC Advances, 6, 96306-96313 (2016)

Yo Tanaka, Tadahiro Yamashita, Viola Vogel

“Self-organized 3D bridging of cardiomyocytes toward creation of ultra small cell-driven pumps integrated in microstructure”

Proceeding of Micro Total Analysis Systems 2015, 1773-1775 (2015)

Yo Tanaka, Yohei Nishizawa, Norihiro Kamamichi, Masahiro Nishinaka, Takehiko Kitamori

“Electric generation using electric organs of electric rays by chemical stimulation”

Proceeding of IEEE Transducers 2015, 945-948 (2015)

Takayuki Kawai, Hiroyuki Moriguchi, Yo Tanaka

“Simple valves on a PDMS microchip bonded via patterned oxygen plasma”

Proceeding of IEEE Transducers 2015, 1782-1785 (2015)

Hideaki Fujita, Yo Tanaka

“Investigation of scaffold materials for a bio-micropump using iPS cell derived cardiomyocytes”

Proceeding of IEEE Transducers 2015, 2136-2139 (2015)

[学会発表](計12件)

船野俊一, 太田亘俊, 佐藤麻子, 田中陽

“ガラス製マイクロ流体チップ内への生体材料のパッケージング方法”

日本化学会第98春季年会, 千葉県船橋市, 2018年3月23日

Shun-ichi Funano, Nobutoshi Ota, Asako Sato,

Yo Tanaka

“Development of a microchannel fabrication method keeping cell or molecule patterning formed in an open space using low/room temperature glass bonding”

21st International Conference on Miniaturized Chemical and Biochemical Analysis Systems ( $\mu$ TAS) (Savannah, Georgia, USA, 10th, Oct. 2017)

Yo Tanaka, Hideaki Fujita

“Stem cell based bio-actuated microsystem for a micropump using a thin polymer membrane”

International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2015 (Pacifichem 2015) (Honolulu, Hawaii, USA, 18th, Dec. 2015)

田中信行, 森口裕之, 佐藤麻子, 川井隆之, 田中陽

“マイクロ流路残留圧力を利用したゲルキャストリング”

化学とマイクロ・ナノシステム学会第32回研究会, 福岡県北九州市, 2015年11月26日

佐藤麻子, 辻井綾香, Yalikul Yaxiaer, 森口裕之, 人羅久子, 大浪修一, 田中陽

“マイクロ流路残留圧力を利用したゲルキャストリング”

化学とマイクロ・ナノシステム学会第32回研究会, 福岡県北九州市, 2015年11月26日

Yo Tanaka, Tadahiro Yamashita, Viola Vogel

“Self-organized 3D bridging of cardiomyocytes toward creation of ultra small cell-driven pumps integrated in microstructure”

19th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences ( $\mu$ TAS) (Gyeongju, Korea, 26th Oct. 2015)

Yo Tanaka

“Micro fluidic chip and glass microfluidic control devices”

第76回応用物理学会秋季学術講演会, 愛知県名古屋市, 2015年9月15日

Yo Tanaka, Yohei Nishizawa, Norihiro Kamamichi, Masahiro Nishinaka, Takehiko Kitamori

“Electric generation using electric organs of electric rays by chemical stimulation”

18th International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems (Transducers) (Anchorage, Alaska, USA, 25th Jun. 2015)

Takayuki Kawai, Hiroyuki Moriguchi, Yo Tanaka

“Simple valves on a PDMS microchip bonded via patterned oxygen plasma”

18th International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems (Transducers) (Anchorage, Alaska, USA, 22nd Jun. 2015)

Hideaki Fujita, Yo Tanaka

“Investigation of scaffold materials for a bio-micropump using iPS cell derived cardiomyocytes”

18th International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems (Transducers) (Anchorage, Alaska, USA, 22nd Jun. 2015)

Hiroyuki Moriguchi, Takayuki Kawai, Yo Tanaka

“Development of a simple PDMS valve fabricated by oxygen plasma patterning with an aluminum sacrificial layer”

7th International Symposium on Microchemistry and Microsystems (ISMM2015) (Kyoto, Japan, 9th Jun. 2015)

Yo Tanaka

“Valves and pumps on glass microfluidic chips using flexibility of ultra thin glass”

BIT's 4th Annual Conference and EXPO of AnalytiX 2015 (Nanjing, China, 27th Apr. 2015)

〔図書〕(計2件)

田中陽

“シビレイ電気器官を用いた発電機の創成”

クリーンエネルギー (日本工業出版), 25, 13-15 (2016)

田中陽

“細胞機能搭載型マイクロ流体デバイス”

バイオチップの基礎と応用 -原理から最新の研究・開発動向まで- (シーエムシー出版), 256-265 (2015)

〔産業財産権〕

出願状況 (計1件)

名称：マイクロ流路デバイス及びその製造方法

発明者：船野俊一，太田亘俊，田中陽

権利者：国立研究開発法人理化学研究所

種類：特許

番号：特願 2017-182295

出願年月日：2017年9月22日

国内外の別：国内

取得状況 (計1件)

名称：細胞膜片を備えた発電素子および発電デバイス

発明者：田中陽，北森武彦，西中正弘

権利者：国立研究開発法人理化学研究所

種類：特許

番号：特許第 6066312 号

取得年月日：2017年1月6日

国内外の別：国内

〔その他〕

研究代表者(PI)研究室ホームページ：

<http://www.qbic.riken.jp/ibd/jpn/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田中 陽 (TANAKA, Yo)

国立研究開発法人理化学研究所・生命システム研究センター・ユニットリーダー

研究者番号：40532271