

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月11日現在

機関番号：12602

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2009～2011

課題番号：21650041

研究課題名（和文） 溶液成分を知覚し、その化学エネルギーにて自立的拍動輸送を行う送液チューブシステム

研究課題名（英文） Autonomous flowing tube system for chemical solution propelled by its self-energy

研究代表者

三林 浩二 (MITSUBAYASHI KOHJI)

東京医科歯科大学・生体材料工学研究所・教授

研究者番号：40307236

研究成果の概要（和文）：血糖成分であるグルコースを対象として、その化学エネルギーを力学エネルギーに変換する減圧素子を構築し、その減圧素子と逆止弁などを組み込んだ反応セルを構築し、グルコース溶液自身を自立的に送液するシステムを構築した。構築した減圧素子は、グルコース濃度に応じた減圧特性を示し、付加したグルコースの化学エネルギーを機械エネルギーに直接的に変換することに成功した。また開発した送液システムにおいて、そのグルコース溶液自身を自立的に送液（約25 μ l/分）することが可能であった。

研究成果の概要（英文）：Novel chemo-mechanical energy conversion device for glucose as blood sugar was constructed using a glucose oxidase immobilized membrane. And an autonomous flowing system for glucose solution was fabricated by applying the device to a reaction cell with some valves. As the results, the novel energy conversion device indicated a decompression behavior which has a linear relationship with the concentration of glucose. The flowing system streamed with glucose solution (approx. 25 μ l/min) by its self-energy successfully.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|---------|--------|---------|
| 2009年度 | 1200000 | 0 | 1200000 |
| 2010年度 | 900000 | 0 | 900000 |
| 2011年度 | 900000 | 270000 | 1170000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3000000 | 270000 | 3270000 |

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：情報学 ・ 知覚情報処理・知能ロボティクス

キーワード：化学エネルギー、酵素、反応セル、グルコース、隔膜、減圧、チューブ、送液

1. 研究開始当初の背景

近年、人間型ロボットの研究開発が盛んに行われている。また筋電駆動型義手やパワーアシストシステムなど、生体機能を補うロボット技術が多数開発され、既存の機械・電気装置を利用することで、人の機能を模倣した人工物が構築されている。21世紀においては、生体に近い、もしくは生体と有機的な結合(融合)が可能な新規なメカニズム及びシス

テムが求められている。すでに上述の人工物でも、筋電や脳神経電位等により被験者の意向を反映し、骨格筋の機能を補助することが可能となりつつあり、「制御系の領域」では生体と人工物の融合が始まっている。

しかしながら「アクチュエータの材料」や「エネルギー変換」においては、生体との融合技術はほとんど進んでいない。例えば、既存のロボットは金属やセラミックスのよう

な無機的な装置で、電気エネルギーを動力源としており、材料及びエネルギーの面で生体との融合は図れていない。つまり、生体と融合できる素材（有機材料、生体適合性材料など）や、ブドウ糖や脂肪などの生体の化学エネルギーを利用する運動機構（エネルギー変換）により構築される「有機ロボティクス」の研究は世界的にも無着手であり、取り組むべきテーマであると考えた。

我々はこれまでに酵素や微生物などの生体触媒を有機材料と組み合わせることで、化学成分（過酸化水素： H_2O_2 ）を認識し、その化学エネルギーを直接的に機械エネルギー（圧力増加）へと常温にて変換する新規な駆動機構「有機エンジン」を世界に先駆けて開発した（特定領域研究：平成 19-20 年度）。この有機エンジンの技術を発展させ、ブドウ糖のような生体成分を認識し、そのエネルギーを利用して駆動する有機系アクチュエータが開発できれば、材料及びエネルギー機構において生物に近く、生体への融合性に優れた有機的なシステムが開発できる。

本研究課題では、生物における最も基礎的な駆動機能である血液輸送アクチュエータを構築することを目標とした。単に、生体エネルギー成分：ATP（アデノシン三リン酸）で駆動する心臓を模倣するのではなく、血液中に安定して存在するブドウ糖を認識し、その化学エネルギーを使って自立的な拍動により、血液（ブドウ糖溶液）自体を輸送するインテリジェントなチューブ型アクチュエータ（人工拍動血管）を具現化することが最終目標とした。

2. 研究の目的

本研究課題では、生体エネルギーであるブドウ糖を認識し、そのエネルギーにて溶液自体の輸送を行うものであり、まずブドウ糖（グルコース）のエネルギーを利用した化学・力学エネルギー変換機構（減圧）を構築し、その減圧変換特性を調べ、次にグルコース溶液の自立輸送システムを、上記の減圧機構や逆止弁など反応セルに組み込み作製する。そして機能性高分子チューブに上記アクチュエータシステムを一体化することで、溶液エネルギーを知覚し、自立的に輸送するチューブアクチュエータとして具現化する。

本研究の特徴は、有機材料でのアクチュエータ構築、生体成分の選択的知覚、体液成分の化学・力学エネルギー変換、エネルギー溶液自体の自立輸送である。これまでに筋肉などの運動性タンパク質を使ったアクチュエータの基礎研究は行われているが、十分な駆動力は得られていない。本研究では血糖成分であるブドウ糖を利用し、実用的な駆動力を発生する新規なアクチュエータを開発する。なお本研究では輸送チューブを構築するが、

将来には骨格筋や臓器の開発へと展開できる。さらに他の生体成分や、環境汚染物や食品成分を使ったシステムの展開も可能で、安全かつ安心な新しいエネルギー機構として、環境&食品を含むあらゆる分野への展開が考えられる。

3. 研究の方法

本研究課題は、21 世紀のロボティクス研究を先導する「人に近く、生体への融和」と意図した有機アクチュエータの基礎研究となるものである。この有機アクチュエータでは、有機材料にてデバイスを構築し、生体成分を選択的知覚すると共に、その化学エネルギーを力学エネルギー変換することに特徴がある。本研究では、最も重要な生体エネルギーであり、体内外において安定して存在し、体外からの補給により摂取できるブドウ糖（グルコース）を対象とした有機アクチュエータをグルコース酸化酵素（glucose oxidase : GOD）を利用し開発する。またアクチュエータの種類としては、生命の誕生から最期の時まで駆動し続け、生命活動において最も重要な循環器（心臓・血管・リンパ管）の血液輸送をイメージした自立拍動式のチューブ型アクチュエータとして構築する。

そこで、これまでに有機高分子材料や生体材料（酵素、微生物）を用い、生体成分を計測できる多様なバイオセンサを開発してきた。またバイオデバイス技術を駆使することで、過酸化水素（ H_2O_2 ）を対象成分とし、その化学エネルギーを力学エネルギーに変換する「有機エンジン」（特定領域研究「ブレイクスルーを生み出す次世代アクチュエータ」（平成 19-20 年度））を開発することに成功している。そこで本成果を一層発展させ、以下ステップ（①-④）により、生体成分グルコースを対象としたアクチュエータの開発を進めた。

まず①透析セルに GOD 酵素固定化膜を隔膜として減圧デバイスを構築し、「高感度デジタル微差圧計」を利用し、能動的な減圧特性を評価し、②アクチュエータ特性の要となる GOD 酵素膜の最適な作製を生化学手法及びプロセス技術にて検討した。さらに③酵素膜の減圧特性を考慮し、「セル作製用レーザー加工機」を利用して、酵素膜及び減圧ダイアフラム、逆止弁を一体化したセルを設計及び加工し、自立拍動の骨格システムを開発した。最後に④本システムをチューブ型拍動アクチュエータの開発を試みた。

まず① GOD 酵素膜を隔膜として減圧デバイスを構築し、本デバイスの能動的な減圧特性を調べ、さらに②アクチュエータ特性の要となる GOD 膜の最適化を生化学手法及びプロセス技術にて検討した。GOD 酵素は生化学分析に用いられる一般的なタンパク

質で、常温にてグルコースの酸化反応を行うことができる。反応式からもわかるように、グルコースの酸化反応において酸素を消費して、gluconic acid と過酸化水素を生成する。無機触媒では高温条件での反応が一般的であるのに対して、生体触媒では生体内の円滑な反応を行うことから、常温での触媒反応が可能で、特にGODは触媒反応の比活性が数百U/mg と際立って高く、グルコース分子の存在下で急速な触媒反応にて、大量に酸素を消費する。

つまり、このGODによる高い触媒反応にて酸素ガスまでも消費することで、密閉セル内での減圧が可能となる。つまり減圧システムでは、GOD酵素の固定化膜（GOD膜）を隔膜とし、セルの下部にグルコース溶液を送液し、セル上部に大気（もしくは酸素ガス）を充填して作製する。これにより、GOD膜近傍ではグルコースの触媒反応が発生し、セル上部にて酸素分子が取り込まれ、能動的な減圧が生じる。

①そこでGOD酵素膜を隔膜とする減圧システムを構築し、特性を調べた。減圧システムの構築では、まずGOD酵素を親水性の多孔質膜に固定化したGOD酵素膜を、購入済のフロー型透析セル（FA-10）の隔膜として挟み込む。作製したフロー透析セルの下部に、濃度の異なるグルコース溶液を送液する。また「高感度デジタル微差圧計（0～±5kPa, ±0.5%FS）」を上部セルに組み込むことで、セル内の減圧変化をモニタリングし、応答性やグルコース濃度に対する特性変化を調べた。②減圧システムでの重要な働きを示す「GOD酵素膜」について、触媒反応のための膜として、また減圧デバイスでの隔膜としての機能の最適化を行った。酵素の固定化では、★GOD酵素の高い活性を維持するために光架橋性樹脂（PVA-SbQ）による包括固定法を採用し、★膜の母材としては薄膜の親水性膜として、孔径 25Å の透析膜を利用した。これにより高い酵素活性を維持しながら、セル下部のグルコース分子を膜内に透過させ、且つ触媒反応に必要な酸素分子をセル上部より親水性の透析膜に取り込む。各種条件で作製したGOD膜を減圧システムに組み込み、減圧特性を調べながら、最適化を図った。

先に得られた減圧特性の結果を踏まえ、減圧にて自立的に拍動するアクチュエータ・セルを構築した。新規のセルにはGOD膜のほか、減圧により変形するダイアフラム、3個の逆止弁を取り付けた。これらにより、酵素反応での減圧にて溶液自体をセル内部に流入させ、減圧が一定圧に達すると3つの逆止弁を開閉することで、セル内部の溶液が送液される。これにより溶液の化学エネルギーを利用し、拍動による断続的な送液が可能となる。

開発では、GOD酵素膜及び可変ダイアフラムをセル内に一体化するために、「セル作製用レーザー加工機」を用いて、セル上部と下部をプラスチック母材より加工成形すると共に、酵素膜の減圧による変形を抑える「メッシュ板」、可変ダイアフラムの過剰変形を抑制する「押さえ板」などを「レーザー加工機」にて作製した。また低圧で駆動する3個の逆止弁も高分子膜で作製し、セルへの一体成形を図った。そして本セルにて自立的な拍動による溶液輸送を確認し、その特性を調べた。

④セルで構築した自立拍動システムをチューブ形状とし、チューブ型アクチュエータへと試みた。本研究では生体成分をエネルギーとするだけではなく、生体への適合性に優れたシステムとして構築することが重要である。つまりプラスチックのセルではなく、本当の血管のように柔軟性に優れたチューブを利用したアクチュエータの構築を試みた。特に酵素膜については既存の平らな膜ではなく、チューブ形状に均一なGOD酵素膜を成膜する必要がある、「チューブ用タンパク質コーター」を用いて、チューブ状にGOD膜の固定化を実施した。

4. 研究成果

GOD酵素膜を隔膜として減圧デバイスを構築し、本デバイスの能動的な減圧特性を調べた。GOD酵素は生化学分析に用いられる一般的なタンパク質で、常温にてグルコースの酸化反応を行うことができる。グルコースの酸化反応において酸素を消費して、gluconic acid と過酸化水素を生成する。無機触媒では高温条件での反応が一般的であるのに対して、生体触媒では生体内の円滑な反応を行うことから、常温での触媒反応が可能で、特にGODは触媒反応の比活性が数百U/mg と際立って高く、グルコース分子の存在下で急速な触媒反応にて、大量に酸素を消費する。このGODによる高い触媒反応にて酸素ガスまでも消費することで、密閉セル内での減圧が可能となる。そこで、減圧システムでは、GOD酵素の固定化膜（GOD膜）を隔膜とし、セルの下部にグルコース溶液を送液し、セル上部に大気（もしくは酸素ガス）を充填して作製した。実際には、まずGOD酵素を親水性の多孔質膜に固定化したGOD酵素膜を、購入済のフロー型透析セル（FA-10）の隔膜として挟み込む。次に、作製したフロー透析セルの下部に、濃度の異なるグルコース溶液を送液する。また新規導入した「高感度デジタル微差圧計（0～±5kPa, ±0.5%FS）」を上部セルに組み込むことで、セル内の減圧変化をモニタリングし、応答性やグルコース濃度に対する特性変化を調べた。実験の結果、セル下部にグルコース溶液

を送液することで、上部セルの減圧が確認され、グルコース濃度に応じた減圧速度が得られた。本結果は、化学成分を認識してそのエネルギーを利用し減圧を導く、新規な化学-力学変換素子であり、本研究「自立的拍動輸送を行う送液チューブシステム」の可能性を強く示唆する成果であった。

先に得られた減圧特性の結果を踏まえ、減圧にて自立的に拍動するアクチュエータ・セルを構築した。これまでに、GOD酵素膜を隔膜として減圧デバイスを構築し、本デバイスの能動的な減圧特性を調べたところ、セル下部にグルコース溶液を送液することで、上部セルの減圧が確認され、グルコース濃度に応じた減圧速度が得られ、化学成分を認識してそのエネルギーを利用し減圧を導く、新規な化学-力学変換素子であることが示された。そこでこの機構をもとに自立的には駆動するアクチュエータの作製を進めた。

新規のアクチュエータ・セルにはGOD膜のほか、減圧により変形するダイアフラム、3個の逆止弁を取り付けた。これらにより、酵素反応での減圧にて溶液自体をセル内部に流入させ、減圧が一定圧に達すると3つの逆止弁を開閉することで、セル内部の溶液が送液された。これにより溶液の化学エネルギーを利用し、拍動による断続的な送液が可能となる。

開発では、GOD酵素膜及び可変ダイアフラムをセル内に一体化するために、「セル作製用レーザー加工機」を導入し、セル上部と下部をプラスチック母材より加工成形すると共に、酵素膜の減圧による変形を抑える「メッシュ板」、可変ダイアフラムの過剰変形を抑制する「押さえ板」などを「レーザー加工機」にて作製した。また低圧で駆動する3個の逆止弁も高分子膜で作製し、セルへの一体成形を図った。作製したアクチュエータ・セルについて、特性評価の実験系を構築し送液性能を調べたところ、自立的な拍動による溶液輸送が可能であった。

さらに作製したアクチュエータ・セルについて、特性を評価した。本システムでは、下部セルにグルコース溶液を送液することで酵素反応により上部セルの酸素が消費され、減圧に伴いポリウレタンゴムが変形し、グルコース溶液が下部セルに流入する。次いでポンプ上部セルの内圧を解放するとゴムシート形状が回復し、弁を制御することでグルコース溶液を自立的に吐出する。この一連の駆動機序をポンプ上部セルの内圧変化とブドウ糖溶液(100.0mmol/l)の送液量を経時計測することで評価した。その結果、圧力制御システムにより、グルコースの付加による圧力減少が観察され、グルコース濃度と圧力減少速度との間に高い線形性が確認され、グルコース濃度による圧力制御が可能であった。そ

して作製したセルのポンプ特性を送液したグルコース溶液量と、上部セル内の差圧の時間変化として示したところ、グルコースの付加によりセル内の差圧が下降し、6分後に圧力解放することで差圧がゼロに戻り、ゴムシート変形分のグルコース溶液を吐出(約25 μ l/分)することができた。つまり開発したセルシステムでは、付加したグルコースの化学エネルギーを機械エネルギーに直接的に変換し、グルコース溶液自身を自立的に送液することが可能であった。

最後に、開発したシステムをチューブ形状とし、チューブ型アクチュエータへの改良を進めた。つまりプラスチックのセルではなく、本当の血管のように柔軟性に優れたチューブにて送液を試みるため、酵素膜についてはこれまでの平らな膜ではなく、チューブ形状などの3次元構造物にGOD酵素膜作製を、タンパク質コーターを用いて実施した。しかしながらチューブ材への酵素の均一固定は可能であるものの、グルコース溶液の送液により、チューブ膜が膨潤し変形することで、エネルギー変換に必要な十分な減圧力が得られなかった。

以上、本研究課題では、開発したセルシステムにおいて、付加したグルコースの化学エネルギーを機械エネルギーに直接的に変換することに成功し、そのグルコース溶液自身を自立的に送液することが可能なシステムを構築した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計6件)

- ① M.X. Chu, D. Takahashi, T. Arakawa, H. Kudo, K. Sano, S. Sawada, Y. Iwasaki, K. Akiyoshi, M. Mochizuki, K. Mitsubayashi, Biomedical soft contact-lens sensor for in-situ ocular biomonitoring of tear contents, *Biomedical Microdevices*, 13, 2011, 306-611
- ② M.X. Chu, K. Miyajima, D. Takahashi, T. Arakawa, K. Sano, S. Sawada, H. Kudo, Y. Iwasaki, K. Akiyoshi, M. Mochizuki, K. Mitsubayashi, Soft contact lens biosensor for in situ monitoring of tear glucose as non-invasive blood sugar assessment, *Talanta* 83 (2011) 960-965.
- ③ R. Kato, M. Munkhjapgal, D. Takahashi, T. Arakawa, H. Kudo, K. Mitsubayashi, An autonomous drug-release system based on chemo-mechanical energy conversion "Organic Engine" for feedback control of blood glucose, *Biosensors and Bioelectronics*, 26, 2010, 1455-1459.
- ④ S. Iguchi, M.K. Chu, D. Takahashi, T. Arakawa, H. Kudo, K. Mitsubayashi, Soft-MEMS glucose sensor with functional

polymers, Journal of Photopolymer Science and Technology, 23, 2010, 167-170.

- ⑤ K. Mitsubayashi, T. Ohgoshi, T. Okamoto, Y. Wakabayashi, M. Kozuka, K. Miyajima, H. Saito, H. Kudo, Tonometric biosensor with a differential pressure sensor for chemo-mechanical measurement of glucose, Biosens Bioelectron, 24, 2009, 1518-1521.
- ⑥ M.X. Chu, H. Kudo, T. Shirai, K. Miyajima, H. Saito, N. Morimoto, K. Yano, Y. Iwasaki, K. Akiyoshi, K. Mitsubayashi, A soft and flexible biosensor using a phospholipid polymer for continuous glucose monitoring, Biomed Microdevices, 11, 2009, 837-842.

[学会発表] (計 7 件)

- ① Munkhjargal M, Kato R, Miyajima K, Arakawa T, Kudo H, Mitsubayashi K, Bio-inspired self-regulation system of glucose level with chemo-mechanical energy conversion bio-membrane, International Bionic Engineering Conference 2011, Sept 18, 2011, Boston, USA
- ② K. Mitsubayashi, Autonomous Biosensors & BioSystem with Organic Engine (Bio-energetic intelligent function using artificial active transportation), 6th Sweden-Japan Workshop on BioNano Technology, May 12, 2010, Mishima, Japan.
- ③ R. Kato, D. Takahashi, T. Arakawa, H. Kudo, K. Mitsubayashi, Bio-energetic self-regulation system of glucose level with chemo-mechanical drug release function, 20th Anniv. meeting of World Congress on Biosensors, May 26, 2010, Glasgow, UK.
- ④ M. Munkhjargal, R. Kato, D. Takahashi, T. Arakawa, H. Kudo, K. Mitsubayashi, An autonomous drug-release system based on chemo-mechanical energy conversion for blood sugar control, Pacificchem 2010, Dec. 15, 2010, Honolulu, USA.
- ⑤ K. Mitsubayashi, Bio-transducers for biomedical applications, 2009 International Conference on Solid State Devices and Materials (SSDM 2009), Oct. 7, 2009, Sendai, Japan.
- ⑥ T. Okamoto, D. Takahashi, T. Arakawa, H. Kudo, K. Mitsubayashi, Intelligent kinetic biosensors with visible motions to target analyte, First Bio-Sensing Technology Conference, Nov. 12, 2009, Bristol, UK.
- ⑦ Y. Wakabayashi, T. Okamoto, K. Miyajima, D. Takahashi, T. Arakawa, H. Kudo, K. Mitsubayashi, Kinetic Biosensors with Intelligent Visible Motions for Chemical

Analytes, Euroanalysis 2009, Sept. 6, 2009, Innsbruck, Austria.

[図書] (計 1 件)

- ① (分筆) 工藤寛之、三林浩二, 「第 17 章 次世代医療・ヘルスケアのためのウェアラブルセンサ」、「ヘルスケアとバイオ医療のための先端デバイス機器 (監修: 三林浩二)」, CMC 出版、2009 年、東京.

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

三林 浩二 (KOHJI MITSUBAYASHI)
東京医科歯科大学・生体材料工学研究所・教授

研究者番号: 40307236

(2) 研究分担者

工藤 寛之 (HIROYUKI KUDO)
東京医科歯科大学・生体材料工学研究所・講師

研究者番号: 70329118

宮島 久美子 (KUMIKO MIYAJIMA)
東京医科歯科大学・生体材料工学研究所・技術職員

研究者番号: 10516298

高橋 大志 (DAISHI TAKAHASHI)
東京医科歯科大学・生体材料工学研究所・特任助教

研究者番号: 50409637

齋藤 浩一 (HIROKAZU SAITO)
東京工業高等専門学校・機械工学科・准教授

研究者番号: 00205668