

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 5 月 26 日現在

機関番号：82401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2014

課題番号：23651133

研究課題名(和文)シビレイの細胞を用いたバイオマイクロ発電デバイスの開発

研究課題名(英文)Development of bio-micro generation device using electrocytes of electric ray

研究代表者

田中 陽 (Tanaka, Yo)

独立行政法人理化学研究所・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) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：細胞は、マイクロサイズにきわめて多彩かつ高度な機能が集約されており、これを細胞のサイズに合わせた人工的なデバイスに集積化することにより、現在の技術では実現不可能な画期的なシステムを創成できる可能性を秘めている。本課題では、強力な電気を発生する器官を有する特殊な生物である電気魚の発電機能に着目した。発電細胞の利用により、従来の燃料電池とは全く異なる原理の化学エネルギーから電気エネルギーへの直接変換システムが実現可能との着想の下、発電細胞を集積化した発電システムの基盤創成を目的とし、シビレイ捕獲量調査、個体シビレイの電力測定、化学刺激および物理刺激による発電を実証した。

研究成果の概要(英文)：Biological cells have many kinds of functions. By integrating them onto artificial devices accommodated to cell size, novel systems that cannot be realized by current device technology. In this theme, we focused on power generating functions of electric fish that can generate strong currency. By exploiting electrocytes, direct converting system from chemical energy into electrical energy that is far different from conventional fuel cells will be realized. Based on this concept, we have achieved fundamental technology of generating system including investigation of amount of available electric fish per season, power measurement of electric ray itself, and power generation by chemical and physical stimuli.

研究分野：複合新領域

キーワード：シビレイ エネルギーデバイス 神経 発電器官 マイクロ・ナノデバイス 生体機能利用 生物・生体工学 細胞・組織

### 1. 研究開始当初の背景

生物の基本単位である細胞は、マイクロサイズにきわめて多彩かつ高度な機能が集約されている。一方、近年の微細加工技術の発展により、髪の毛の太さかそれ以下のきわめて微細な流路や構造物を作製し、また微小空間内で流体を操作することが可能となっており、このような細胞のサイズに適合した人工的なデバイスに細胞の機能を集積化・搭載することにより、現在の技術では実現不可能もしくは非常に複雑となってしまう、画期的なシステムを創成できる可能性を秘めているといえる。研究代表者はこれまでに心筋細胞ポンプや疑似血管デバイスなどの様々な細胞機能とマイクロデバイスを融合した革新的原理の細胞デバイスを創製してきたが、それらの技術をベースとして、本課題では、強力な電気を発生する器官を有する特殊な生物である電気魚（シビレエイ）の発電機能に着目した。発電細胞を利用することにより、従来の燃料電池とは全く異なる原理の化学エネルギーから電気エネルギーへの直接変換システムが実現可能と考えられる。しかしながら、本デバイス実現のためには、まず発電細胞の保存法を確立し、発電の特性評価を行うとともに、発電制御法を確立する必要がある。

### 2. 研究の目的

以上の背景をふまえて、本研究の目的は、発電細胞を集積化した発電システムの基盤創成とした。

### 3. 研究の方法

目的を達成するため、具体的には、(1)実験の基礎となるシビレエイの季節ごとの捕獲量調査、(2)シビレエイの発生電力の測定、(3)シビレエイから取り出した電気器官の化学的・物理的刺激による発電の実証、に取り組んだ。

### 4. 研究成果

上記の3課題について、個別の成果について以下記述する。

#### (1) 実験の基礎となるシビレエイの季節ごとの捕獲量調査

現在知られている発電細胞をもつ強電気魚としては、デンキウナギ・デンキナマズ・シビレエイの3種が知られている。この中で、シビレエイは、他の2種に比べて電圧は劣るものの（電流は、海中においては電気抵抗が小さいため、高い）、国内における材料の入手容易さや実験の安全性を考慮すれば、最も実験に適していると考えられる。発電器官の基礎評価のために器官切除・測定法を確立する必要があるが、これまでは発電デバイスへの利用はおろか、その発電細胞培養法ないし保存法すら確立されていない。またそれ以前の段階として、実際にどの程度の電力を発生するのかを把握するために生の個体シビレ

エイの電気的特性の測定が必要であるが、そもそもシビレエイは日本近海に生息するとはいっても、一般的な市場に出回るものではないので、その入手方法から確立する必要があった。

そこで今回、三重県・熊野灘の業者に委託して食用魚に併せて意図せず捕獲されるシビレエイを特別に一時確保し、供給していただくことになった。しかし、輸送して実験する場合、発送後一日ではまだわずかに自発電流が測定されたがそれ以降では、全く計測されず、少なくとも一日前に捕獲されたエイを使う必要があることがわかった。ところが、エイは時期によって採れる量に相当の違いがあることが判明し、実験計画以前の段階として、まずはどの時期にどれだけ採れるのかを調査する必要に迫られた。

そこで、業者を介し、熊野灘の5漁港において、1, 4, 7, 10月において1月間毎日捕獲量調査を行った。結果、冬季～春季である1, 4月においてはほぼ毎日採れ、数も数十に上る日が多い一方、7月途中から10月途中までは採れる日が極端に少なくなることがわかった。これは、夏季はシビレエイが低温になるより深い沖合に移動することによるものと考えられる。以上より、夏季～秋季にかけては、実験自体が非常に難しくなることが明らかになり、年間の実験計画の指針が立てられるようになった。

#### (2) シビレエイの発生電力の測定

シビレエイは捕獲後数日以内、かつ輸送前の新鮮なものを用いた。すなわち、輸送によりダメージを受けて発生電力が落ちると考えられるため、漁港に赴いて実験を行った。生体シビレエイの電気計測のために電気器官周辺部に柔らかく破れにくく、かつエイに貼りつきやすい金属ファイバー製の導電布をエイの背中側・腹側両面に貼付して電極を接続し、頭部を手で刺激してその応答を、オシロスコープを用いて計測した。結果として、図1に示すように、きわめて短時間（～10ms）ながらパルス状の電流が測定され、ピーク電圧20V、電流2.6Aであった。これはこれまでに報告のあるシビレエイの発生電力に近いものである。

また、この電気をコンデンサに貯め、LEDの点灯を実証し、何らかの仕事をさせることが可能であることも併せて示し、実験に用いたシビレエイが十分な発電能力を有していることが確認された。

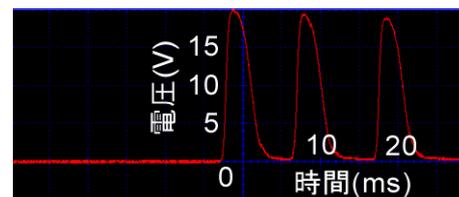


図1 生体シビレエイの物理刺激による発生電圧測定結果

(3) シビレエイから取り出した電気器官の化学的・物理的刺激による発電の実証

以上で得られた知見をもとに、発電細胞の保存ならびに電気特性評価に取り組んだ。これまで、シビレエイ発電器官から取り出した発電細胞を培養ないし生きたまま一定期間保存できたという報告はなく、ゆえに発電細胞の電気生理学的特性は明らかになっておらず、発電デバイスの具体的な設計のためにはまずこれを測定する必要がある。なお、こちらは輸送したシビレエイを用いて実験を行った。

具体的には、まず保存液として、このような神経系の組織に対しては通常は人工脳髄液 (ACSF) が用いられるが、生物種によって用いられる組成は異なる。ここでは、シビレエイに比較的近いと思われる、魚類であるアンコウに対して実績のあるものを用いて酸素バブリングした ACSF を用いた。細胞に栄養を与えるため、ACSF にはグルコースも加えた。

発電器官および発電細胞の電気特性の測定には、ガラス基板上に多数の微細電極を配し、細胞外の電位を一定の広さの領域で測ることが可能な多点同時細胞外電位測定システム MED64 を使い、電気柱約 1 個分をくりぬき、非常に薄く切り取った急性スライスを作成して神経刺激物質であるアセチルコリンを生理的濃度よりも十分濃い濃度である 1  $\mu\text{M}$  に調整した ACSF を還流装置で流して測定を行った。

その結果、100  $\mu\text{V}$  程度のスパイク信号が検出され、細胞・組織の生存ならびに電気的特性が明らかになった。おおよそ 1 細胞あたり 100  $\mu\text{V}$  程度の細胞外電位というのは、発電細胞が、膜タンパクが非常に多く集積し、また形状が平坦になったきわめて特殊な細胞であり、神経細胞自体の発電電位がおおよそ 100 mV オーダー、そして細胞外では電位が 1/1000 になるといわれることを考えれば妥当な値といえるが、これを実際に確認できたこと、さらには酸素バブリングした ACSF 浸漬で一定時間 (数時間程度) 確実に生存を保ったことが証明できたことも、新たな成果であるといえる。

また、電気器官を脳および神経ごと取り出し、むき出しになった神経叢 (神経が集約した塊上になった部分) を、ピンセットを用いて接触し、物理的に刺激することで、数 V のスパイク上の電圧発生を確認できた。しかしながら、強く接触した場合は神経叢が崩れてしまう場合が多く、安定的に電気を得ることはきわめて難しく、化学刺激に比べてデバイス構築は難しいといえる。

以上の検証実験により、シビレエイの発電細胞および器官としての生存ならびに電気的特性が明らかになり、発電デバイス構築に向けた基礎的知見が得られたといえる。

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

- ① Yo Tanaka, Hideaki Fujita  
“Fluid driving system for a micropump by differentiating iPS cells into cardiomyocytes on a tent-like structure”  
Sensors and Actuators B: Chemical, 210(1), 267-272 (2015)  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.snb.2014.12.069>
- ② Yo Tanaka, Yoshihiro Shimizu  
“Integration of a reconstituted cell-free protein-synthesis system on a glass microchip”  
Analytical Sciences, 31(2), 67-71 (2015)  
<http://dx.doi.org/10.2116/analsci.31.67>
- ③ Hiroyuki Moriguchi, Takayuki Kawai, Yo Tanaka  
“Simple bilayer on-chip valves using reversible sealability of PDMS”  
RSC Advances, 5(7), 5237-5243 (2015)  
<http://dx.doi.org/10.1039/C4RA10300A>
- ④ Yo Tanaka  
“A few micrometer sized glass filter fabricated by plasma etching on an ultra thin glass sheet”  
Proceeding of Micro Total Analysis Systems 2014, 1683-1685 (2014)
- ⑤ Yo Tanaka, Yoshihiro Shimizu  
“Integration of cell-free protein-synthesis system on a glass microchip using continuous flow”  
Proceeding of Micro Total Analysis Systems 2014, 912-914 (2014)
- ⑥ Yo Tanaka  
“A peristaltic pump integrated on a 100% glass microchip using computer controlled piezoelectric actuators”  
Micromachines, 5(2), 289-299 (2014)  
<http://dx.doi.org/10.3390/mi5020289>
- ⑦ Yo Tanaka  
“Electric actuating valves incorporated into an all glass-based microchip exploiting the flexibility of ultra thin glass”  
RSC Advances, 3(26), 10213-10220 (2013)  
<http://dx.doi.org/10.1039/C3RA41218K>
- ⑧ Yo Tanaka, Tomohiro Fujikawa, Yutaka Kazoe, Takehiko Kitamori  
“An active valve incorporated into a microchip using a high strain electroactive polymer”  
Sensors and Actuators B: Chemical, 184(31), 163-169 (2013)  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.snb.2013.04.025>
- ⑨ Yo Tanaka  
“Totally glass-based microchips with valves and pumps using flexibility of ultra thin glass”  
Proceeding of Micro Total Analysis Systems 2013, 1475-1477 (2013)
- ⑩ Yo Tanaka, Kihoon Jang, Jun Wakabayashi, Reina Ishii, Kae Sato, Kazuma Mawatari, Mats Nilsson, Takehiko Kitamori

“Shallow antibody-coated microchannel based selective cell capture and analysis”  
Proceeding of Micro Total Analysis Systems 2013, 359-361 (2013)

⑩ Kihoon Jang, Yo Tanaka, Jun Wakabayashi, Reina Ishii, Kae Sato, Kazuma Mawatari, Mats Nilsson, Takehiko Kitamori

“Selective cell capture and analysis using shallow antibody-coated microchannels”  
Biomicrofluidics 6(4), 044117 (2012)  
<http://dx.doi.org/10.1063/1.4771968>

⑪ Yo Tanaka

“All glass-based actuator for valves and pumps using ultra thin glass membrane and piezo actuators”  
Proceeding of Micro Total Analysis Systems 2012, 1273-1275 (2012)

[学会発表] (計 11 件)

① Yo Tanaka

“A few micrometer sized glass filter fabricated by plasma etching on an ultra thin glass sheet”  
18th International Conference on Miniaturized Chemical and Biochemical Analysis Systems ( $\mu$ TAS) (San Antonio, USA, 29, Oct. 2014)

② Yo Tanaka, Yoshihiro Shimizu

“Integration of cell-free protein-synthesis system on a glass microchip using continuous flow”  
18th International Conference on Miniaturized Chemical and Biochemical Analysis Systems ( $\mu$ TAS) (San Antonio, USA, 29, Oct. 2014)

③ 西澤陽平, 釜道紀浩, 西中正弘, 北森武彦, 田中陽

“シビレエイ電気器官を用いた発電機の開発にむけた細胞・器官特性測定”  
第 30 回化学とマイクロ・ナノシステム学会, 札幌, 北海道, 2014/10/3

④ 田中陽

“超薄板ガラスを用いた微細ガラスフィルター構造の作製”  
第 30 回化学とマイクロ・ナノシステム研究会, 札幌, 北海道, 2014/10/3

⑤ 森口裕之, 川井隆之, 神田元紀, 山田陸裕, 上田泰己, 田中陽

“酸素プラズマパターンニングを利用したシンプルな PDMS バルブの開発”  
第 30 回化学とマイクロ・ナノシステム研究会, 札幌, 北海道, 2014/10/2

⑥ 辻井綾香, 森口裕之, 人羅久子, 大津修一, 田中陽

“C. elegans 用人工卵殻の開発”  
第 30 回化学とマイクロ・ナノシステム研究会, 札幌, 北海道, 2014/10/2

⑦ Yo Tanaka

“Microfluidic devices in totally glass microchips using flexible ultra thin glass”  
2014 EMN Summer meeting (Energy Material Nanotechnology) (The Westin Resort & Spa, Cancun, Mexico, 9, June 2014)

⑧ Yo Tanaka

“An active valve incorporated into a microchip using a high strain electroactive polymer”  
BIT's 3rd Annual Conference and EXPO of AnalytiX 2014 (Dalian World Expo Center, China, 27, Apr. 2014)

⑨ Yo Tanaka

“Totally glass-based microchips with valves and pumps using flexibility of ultra thin glass”  
17th International Conference on Miniaturized Chemical and Biochemical Analysis Systems ( $\mu$ TAS) (Freiburg, Germany, 29, Oct. 2013)

⑩ Yo Tanaka, Kihoon Jang, Jun Wakabayashi, Reina Ishii, Kae Sato, Kazuma Mawatari, Mats Nilsson, Takehiko Kitamori

“Shallow antibody-coated microchannel based selective cell capture and analysis”  
17th International Conference on Miniaturized Chemical and Biochemical Analysis Systems ( $\mu$ TAS) (Freiburg, Germany, 28, Oct. 2013)

⑪ Yo Tanaka

“All glass-based actuator for valves and pumps using ultra thin glass membrane and piezo actuators”  
16th International Conference on Miniaturized Chemical and Biochemical Analysis Systems ( $\mu$ TAS) (Ginowan, Japan, 30, Oct. 2012)

[産業財産権]

○出願状況 (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: 独立行政法人理化学研究所, 東京大学

種類: 特許

番号: JP2013-076541

出願年月日: 2013 年 3 月 28 日

国内外の別: 国内

○取得状況 (計 1 件)

名称: Fluid-controlling device for microchip and use thereof

発明者: Yo Tanaka, Hiroki R. Ueda

権利者: 独立行政法人理化学研究所

種類: 特許

番号: US13/933160

出願年月日: 2013 年 7 月 2 日

取得年月日: 2015 年 5 月 11 日

国内外の別: 国外

[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)

独立行政法人理化学研究所・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