

研究終了報告書

「超微小反応場を応用したバイオ電池材料の創出」

研究期間：2021年10月～2024年3月

研究者：田中 大器

1. 研究のねらい

近年、スマートフォン、スマートウォッチ等のモバイル端末や電気自動車、ペースメーカーなど幅広い分野で二次電池が使用されている。現在実用化されている二次電池として最もエネルギー密度が高く広く普及している電池としてリチウムイオン電池があるが、熱暴走による発火やレアメタルの使用、材料自体に毒性があるなど様々な問題点を有する。今後 IoT 社会へと移行するなかで、安全かつ高効率な電池の需要が世界的に高まるのは確実である。そこで本研究では、リチウムイオン電池よりも小型かつ安全で高効率なバイオ電池 (biofuel cell、BFC) の材料に関する基盤技術の確立を目指す。

現在の合成化学では、反応性の低い合成スキームに対して、熱、触媒、試薬濃度、光、反応時間および反応経路等の工夫により合成法を構築している。しかし、従来の合成方法は大きなエネルギーを必要とし、貴重試薬の大量消費(収率の低さ)、環境汚染等の問題を抱えている。そこで本研究では、超微小反応場での化学反応の特異性を応用した材料合成法を提案する。マイクロスケールの化学反応は従来法と比較して反応速度が1万倍以上早くなったり、pH 濃度の条件が1/10以下に変化したりするなど特異的な現象が発現する。本研究では、マイクロスケールの化学反応の特異性を材料合成に応用するとともに、さらに反応場のスケール小さくしてナノスケールで化学反応を行う。さらに流体デバイス内の化学反応を反応直後からリアルタイム観察・分析・解析することにより微小スケールでの材料合成がどのように進行するのか明らかにする。高効率BFCの材料としては、酵素(タンパク質)の内部にメディエータとなる金属錯体を内包することで電力損失の小さい高効率なBFC材料の創出を目指す。しかし、従来のBFC材料の合成法では使用する溶媒やpHの影響によるタンパク質の変性、さらには金属錯体自体の立体障害で反応速度が遅く収率が低くなり大量の試薬を無駄にする等の多くの問題を抱えている。そこで本研究では化学反応の特異性が発現するマイクロからナノスケールで材料合成を行う。超微小空間に閉じ込められた化学種はプロトン移動度や誘電率が変化し、立体構造や分子自体の電子状態の変移が起因となり化学結合状態が変化することが知られている。これらの超微小反応場特有の性質が作用することによって活性化エネルギーの低減が期待できる。

2. 研究成果

(1) 概要

本研究では、MEMS (Micro Electro Mechanical Systems) 技術を応用することでBFC材料合成に最適な材料合成場の創出を行った。具体的には、シングルマイクロスケールの化学合成場の創出、マイクロスケールでの材料合成、微小反応場に特化した光学分析機器の開発および撥水デバイス上の材料合成手法の確立の3つの研究開発を行った。

シングルマイクロスケールの化学合成場の創出では、超微小反応場を実現するためにマイクロデバイスを用いたテーリング現象を応用した。テーリング現象とは50 μm 程度のマザードロップレ

ット(MoD)から引きずられるようにシングルマイクロドロプレット(S-MD)が生成する現象である。本研究ではデバイスデザインにブランチ構造を取り入れることでテーリング現象を安定させて 1 から 4 μm の超微小な液滴の生成制御に成功した。

微小反応場に特化した光学分析機器の開発では、光波長 200-300 nm に励起波長をもつ金属錯体の分析が可能な蛍光分析器を開発した。紫外光を用いた蛍光分析は集光レンズ等に光が吸収されやすく困難である。本研究では、集光レンズや反射ミラーをできるだけ取り除き、レンズに石英を用いることでマイクロデバイスに特化した紫外蛍光分析装置を開発した。当該装置は特許性が高く出願準備中である。

撥水デバイス上の材料合成手法の確立では、直径 100 μm 程度の傘型構造のピラーアレイデバイスを作製した。当該デバイスは PDMS (poly-dimethylsiloxane) シート上に感光性樹脂である SU-8 を用いることで微細なパターンを形成しているためフレキシブルである。微細な傘型構造により撥水能を有しているため、水以外のメタノールやアセトンに対しても撥水性がある。本研究では、撥水デバイス上のマイクロ液滴中で BFC 材料の合成と結晶化を試みた。これまでのマイクロデバイスを用いた化学合成は生成物の取り出しは可能であったが壊れやすいタンパク質の結晶は取り出せなかった。本研究は撥水デバイス上で合成と結晶化を行うことで壊れやすい BFC 材料結晶を容易に取り出せる手法を確立した。

(2) 詳細

(2)-1 「シングルマイクロスケールの化学合成場の創出」

当該研究では、材料合成に適したデバイス設計及び作製、シングルミクロンの液滴の安定生成技術を構築した。図 1 に実験の概要を示す。BFC 電池の材料合成の溶媒は、メタノールなどの有機溶媒が用いられるため水以外の超微小液滴の安定生成は必須の技術である。BFC 材料の合成で使われる錯体化学反応の溶媒はメタノールなどの有機溶媒が多用される。S-MD を BFC 材料合成に応用するには有機溶媒での S-MD 化技術の確立が必須となる。本研究では BFC 材料合成の基盤となるメタノールの S-MD 化技術を検討した。

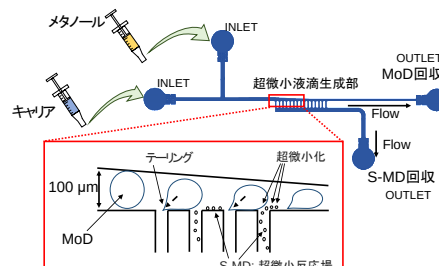


図 1. S-MD 生成実験の概要

(2)-2 「マイクロスケールでの材料合成」

当該研究では BFC 材料の基となるアミノ酸を付加させた金属錯体の合成に挑戦した。アミノ酸を金属錯体に付加させる材料合成は反応性が低く合成が困難である。当該研究では層流型マイクロ流体デバイス

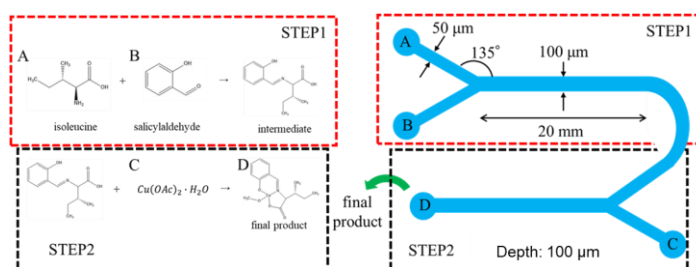


図 2. マイクロデバイスによるアミノ酸付加金属錯体の合成

を応用することで効率的にアミノ酸付加金属錯体の合成に成功した。図 2 はアミノ酸付加金属

錯体の合成スキームとマイクロ流体デバイスのデバイスデザイン及び流路サイズを示している。STEP1 及び STEP2 の合成を全てマイクロ流体デバイスで実施して生成物は赤外分光法 (IR)、紫外可視分光分析 (UV-vis) 及び質量分析 (MS) を行い目的の電池材料が合成されていることを確認した。従来法では 4 時間 40°C の合成条件が必須であったスキームに対して 10 秒以下かつ室温 (23°C) で合成に成功した。当該研究成果によって材料合成に必要な熱エネルギーをゼロにすることに成功した。

(2)-3 「マイクロ流体デバイス中での蛍光分析装置の開発」

当該研究ではマイクロ流体デバイス中で合成した BFC 材料の蛍光分析を目的として微小領域の分析が可能な蛍光分析装置を開発した。図 3 は蛍光分析器の概要である。マイクロ流体デバイスに励起光を照射して化学反応に伴う蛍光波長の強度変化を検出する。微小中での蛍光発光は強度が非

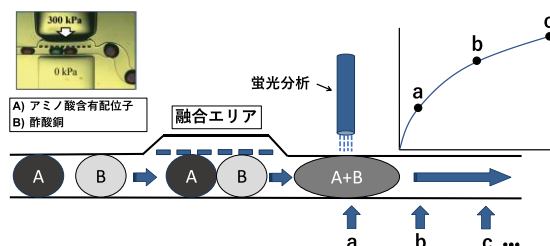


図 3. 化学反応のリアルタイム蛍光分析

常に小さく検出が困難なため検出部には光電子増倍管を使用した。さらに光波長 300 nm 付近の励起光を使用するため集光レンズには石英を用いた。

(2)-4 「撥水デバイス上での材料合成」

本研究では微小液中での化学反応の特徴を応用することで、反応性の低い化学合成を超撥水性ピラーアレイデバイス上で実施し効率的な化学合成を行った。さらにハイスピードカメラで化学反応過程の観察を行い金属錯体の錯形成過程と反応時間を明らかにした。本研究の概要を図 5 に示す。マイクロピペットを用いて定量的に試薬を滴下することで微量での化学反応実験が可能になった。さらに、超撥水面での化学合成なので合成された化合物は全て回収可能である。

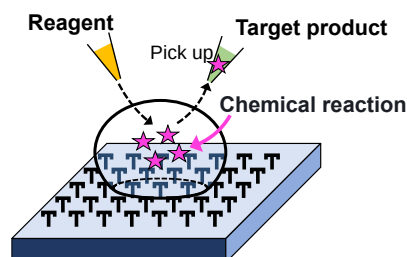


図 5. 本研究の概要

当該研究では BFC 材料となる金属錯体の合成とタンパク質へのドッキング・結晶化を全て撥水デバイス上で実施した。これにより壊れやすいタンパク質結晶を容易に取り出すことが可能になった。図 6 は撥水デバイスの外観と撥水面の光学顕微鏡像である。撥水面は直径 100 μm の傘型ピラーアレイ構造となっており水の他にアルコールやクロロホルムなど有機溶媒の撥水能も有しているため様々な材料合成に応用可能である。本デバイスは SU-8 (ネガ型レジスト) を応用することで作製プロセスの簡便化にも成功した。

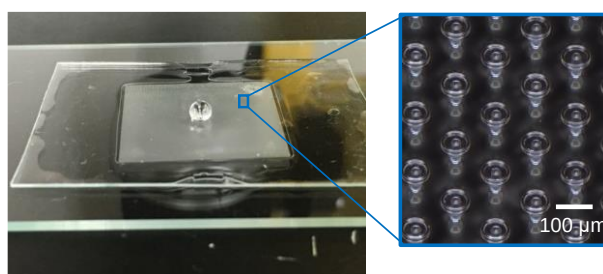


図 6. 撥水デバイスの概要と光学顕微鏡像

3. 今後の展開

ACT-Xでは微小スケールの化学反応場を利用することでBFC材料合成法の基盤を構築した。今後は、ACT-Xでの研究成果を軸としてさらに微小合成場であるナノ空間の特異性を利用することで新規材料合成に挑戦する。ACT-Xで培った微小合成場での高効率合成技術をさらにスケールダウンすることで、金属錯体含有ラッカーゼなどの合成困難な化合物の合成を目指す。これまでのBFC材料の合成法では、タンパク質や金属錯体自体の立体障害の影響でタンパク質に金属錯体を内包させることが難しく高効率なBFC材料の合成は実現されていない。今後の研究展開としては、5年以内に超微小空間での化学合成技術を確認し、新しい材料合成技術の創出を目指していく。

4. 自己評価

(1) 研究目的の達成状況

本研究の目的である「BFC材料合成の基盤技術の確立」については、MEMS技術を材料合成に応用することで達成した。BFC材料となるアミノ酸付加金属錯体の合成は、分子の立体障害などの影響で反応性が低く合成が困難であったが、マイクロデバイスを応用することで化学反応を促進させて新しい材料合成手法を確認した。さらに、マイクロスケール中での光学分析が可能な蛍光分析器を開発した。当該分析機器は、微小中で合成された材料の同定や化学反応過程の分析に応用可能である。

(2) 研究の進め方(研究実施体制及び研究費執行状況)

研究実施体制は、研究代表者が主となり進めた。ACT-Xは個人型の研究ではあるが、研究総括及びアドバイザーと研究の方向性や結果に対する考察など幅広い議論を重ねながら研究を進めた。当該研究テーマは応用範囲が広く研究が発散する恐れがあったが、研究総括及びアドバイザーからの的確な助言により重要な実験に集中することができ、著名な国際会議にて口頭発表で採択されるなどインパクトの高い研究成果を上げることができた。研究の実施は、早稲田大学ナノテクノロジーリサーチセンターでマイクロデバイスの作製から流体・合成実験、化合物の分析までを行った。研究費の執行は、主に材料合成試薬やマイクロデバイス作製の材料、蛍光分析装置の部品の購入費や早稲田大学のARIM(Advanced Research Infrastructure for Materials and Nanotechnology in Japan)拠点である共用機器の利用料などに支出した。

(3) 研究成果の科学技術及び社会・経済への波及効果

本研究では、BFCの材料となるアミノ酸付加金属錯体の合成や金属錯体とタンパク質のドッキングに成功した。アミノ酸付加金属錯体の合成は反応性が低く従来法では熱攪拌が必須であったが、マイクロスケールでの高効率合成を応用することで熱を加えることなく瞬時に合成する手法を確認した。当該の合成手法は、BFC合成の他にも従来法では反応性が低く実現していない機能性材料の合成化学を飛躍的に発展させる。また、熱エネルギーを使用せずに高効率材料合成が行えるため低炭素社会の実現や省エネルギー合成への基礎基盤となる研究成果である。

5. 主な研究成果リスト

(1) 代表的な論文(原著論文)発表

研究期間累積件数: 2件

1. Masashi Kobayashi, Takashiro Akitsu, Masahiro Furuya, Tetsushi Sekiguchi, Shuichi Shoji, Takashi Tanii and Daiki Tanaka, “Efficient Synthesis of a Schiff Base Copper(II) Complex Using a Microfluidic Device”, *Micromachines*, 2023, 14, 890.

当該研究では Y 字型のマイクロ流体デバイスを用いて BFC 材料の基となるアミノ酸付加金属錯体の合成を行った。アミノ酸を金属錯体に付加させる合成反応は反応性が低く従来法では 4 時間 40℃の熱攪拌が必須であったが、当該研究では 10 秒以下かつ室温下(23℃)での合成に成功した。

2. Daiki Tanaka, Junichi Ishihara, Hiroki Takahashi, Masashi Kobayashi, Aya Miyazaki, Satsuki Kajiya, Risa Fujita, Naoki Maekawa, Yuriko Yamazaki, Akiko Takaya, Yuumi Nakamura, Masahiro Furuya, Tetsushi Sekiguchi, Shuichi Shoji, “High-Efficiency Single-Cell Containment Microdevices Based on Fluid Control”, *Micromachines* 2023, 14, 1027

当該の研究は、ACT-X で開発した微小液滴生成デバイスのバイオ応用である。櫛歯型のブランチ構造を流量コントロールに利用することで効率的なシングルセルの格納および培養に成功した。当該デバイスを用いることでシングルセルレベルの細胞解析が容易に行えるようになった。

(2) 特許出願

研究期間全出願件数: 0 件(特許公開前のものは件数にのみ含む)

(3) その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

- [1]. **Daiki Tanaka**, Masashi Kobayashi, Risa Fujita, Takashiro Akitsu, Takashi Tanii, Masahiro Furuya, Tetsushi Sekiguchi, Shuichi Shoji, “SYNTHESIS AND ISOLATION OF METAL COMPLEX-CONTAINING PROTEINS BY SUPER WATER REPELLENT DOUBLY REENTRANT STRUCTURE UMBRELLA PILLAR ARRAY”, The 27th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences (μ TAS 2023) 2023/10/16/, Katowice Poland, Oral
- [2]. **田中大器**、小林雅史、関口哲志、古谷正裕、谷井孝至、秋津貴城、庄子習一、超撥水性傘型ピラーアレイデバイスを応用した化学合成と反応過程の観察、第40回「センサ・マイクロマシンと応用システム」シンポジウム、2023/11/6、熊本、口頭発表
- [3]. 第12回新化学技術研究奨励賞 2023 受賞、ナノスケールで発現する特異的な化学反応解析デバイスの開発、公益社団法人新化学技術促進協会