

研究報告集

第6集

2024年9月

一般財団法人 サムコ科学技術振興財団

The Samco Foundation

研究報告集 第6集発刊によせて

一般財団法人 サムコ科学技術振興財団
理事長 辻 理

この度、第6回（2022年度）研究助成金を贈呈した研究者の方々による研究成果を収録した「研究報告集」を発刊いたしました。ご高覧いただければ幸いです。

2016年4月1日、サムコ株式会社の掲げる「薄膜技術で世界の産業科学に貢献する」という基本理念の下、新たな薄膜技術分野へ挑戦する次世代の研究者、学生、技術者の研究開発に対し助成、顕彰を行い、広く世界に通用する基礎・応用研究及び人材育成に支援することを願い、一般財団法人 サムコ科学技術振興財団を設立いたしました。研究助成事業は本年で第8回を迎え、第1回から合わせて総勢49名に総額9,800万円を助成するに至っております。これも、ひとえに皆様方のご理解とご協力の賜物と厚くお礼申し上げます。また、審査に携われました村上正紀選考委員長を始めとする選考委員の先生方には、心よりお礼を申し上げます。

振り返れば、第6回目となる研究助成の募集には、新型コロナウイルス感染症の影響が世界中で残る中、全国の大学等高等研究機関、公的研究機関に所属する82名の研究者から応募があり、引き続き、薄膜・表面・界面に関する若手研究者の期待の大きさを感じました。その研究レベルは非常に高く、選考委員による審査も困難を極めましたが、最終6名の受領者を採択させていただきました。受領者6名の皆様には、2022年9月14日、京都市リサーチパークにて開催した“第6回 研究助成金贈呈式および記念講演”にて研究助成金を贈呈いたしました。助成期間を終了された受領者の皆様には、研究助成金を最大限に活用し、当財団の受領者に相応しい研究成果を残していただいたことを大変嬉しく思います。また、垂直共振器面発光レーザー（VCSEL）の発明者である東京工業大学 元学長で名誉教授の伊賀健一様を講師にお迎えした記念講演では、「面発光レーザーが拓く世界」をテーマに、受領者の皆様へ熱いエールを頂戴いたしました。受領者の更なる研究の推進、成果の普及に努められることを大いに期待しております。

当財団では、引き続き、薄膜・表面・界面に関する科学技術を対象とした研究助成事業を行っております。今後とも薄膜技術分野へ挑戦する次世代の若手研究者の皆様の一助となれるような活動を行っていく所存であります。皆様の一層のご指導とご支援をお願い申し上げます。

2024年9月

第 6 回 研究助成の選考にあたって

一般財団法人 サムコ科学技術振興財団
選考委員長 村上 正紀

この度、第 6 回 研究助成金の受領者の方々による「研究報告集」を発刊できたことを大変喜ばしく思います。

第 6 回の選考にあたっては、下記 8 名の選考委員で審査させていただきました。

第 6 回研究助成の募集時は新型コロナウイルス感染症が世界的に流行した状況ではありましたが、全国 40 の研究機関から 82 名もの応募がありました。申請された研究内容はどれも将来を見越した画期的な提案が多く、大変厳しい審査となりましたが、その中でも特に独創的なテーマである 6 件を採択いたしました。

受領者の皆様が今後も新しい分野に果敢に挑戦し、更なる独創的な研究成果に繋がることを大いに期待しております。

第 6 回 研究助成 選考委員（8 名）

選考委員長	村上 正紀	立命館大学 特別研究フェロー 京都大学 名誉教授
選考副委員長	辻 理	サムコ株式会社 代表取締役会長
委員	鈴木 彰	京都工芸繊維大学 産学公連携推進センター 特任教授
委員	川上 養一	京都大学大学院 工学研究科 教授
委員	堀 勝	名古屋大学 低温プラズマ科学研究センター 特任教授 名古屋大学 名誉教授
委員	年吉 洋	東京大学生産技術研究所 所長 教授
委員	小山二三夫	東京工業大学 科学技術創成研究院 特任教授 東京工業大学 名誉教授
委員	森井 孝	京都光華女子大学 健康科学部 教授 京都大学 名誉教授

(所属は 2024 年 7 月時点)

目 次

第 6 回 (2022 年度) 研究成果報告書 (6 件)

- トップダウンアプローチによる 3 次元コンタクト/2 次元チャネルのハイブリッド構造を用いた WSe₂ CMOSFET の研究 1
東京工業大学 科学技術創成研究院 未来産業技術研究所 助教 川那子 高暢
- 半導体 MOF 薄膜の作製技術確立 9
関西学院大学 理学部 化学科 教授 田中 大輔
- 機械学習を用いたバイオマテリアルの表面特性によるマクロフェージ分極への影響の解明 19
芝浦工業大学 システム理工学部 生命科学科 准教授 中村 奈緒子
- タンパク質ハイドロゲル薄膜を用いたミトコンドリアの保護技術開発 30
京都大学 白眉センター/大学院工学研究科 合成・生物化学専攻
特定准教授 中村 秀樹
- 自己組織化エレクトレットを用いた集積化静電 MEMS 振動エネルギーハーベスタの開発 37
立命館大学大学院 理工学研究科 機械システム専攻 准教授 山根 大輔
- あらゆる材料に生体組織親和性を付与するアパタイト極限薄膜コーティングの開発 49
東京医科歯科大学 生体材料工学研究所 准教授 横井 太史

第 6 回（2022 年度）
研究成果報告書

研究課題 Research Project	トップダウンアプローチによる 3 次元コンタクト/2 次元チャネルのハイブリッド構造を用いた WSe ₂ CMOSFET の研究 WSe ₂ CMOSFET based on hybrid structure consisting of 3D contact and 2D channel by top-down approach.		
研究代表者 Research leader	川那子 高暢 Takamasa Kawanago		
所属機関名 Affiliation	東京工業大学 科学技術創成研究院 未来産業 技術研究所 Laboratory for Future Interdisciplinary Research of Science and Technology (FIRST), Institute of Innovative Research (IIR), Tokyo Institute of Technology	役職名 Position	助教 Assistant Professor

・研究概要 (Abstract)

本研究では遷移金属ダイカルコゲナイド(TMDC)を用いた相補型金属-絶縁膜-半導体電界効果トランジスタ(CMOSFET)のソース/ドレイン領域を 3 次元(3D)構造、チャネル領域を 2 次元(2D)構造とする 3D/2D ハイブリッド構造を提案し、このコンセプトに基づいた CMOSFET 及び CMOS 回路応用を目的とする。ソース/ドレイン領域を 3D 化するとバンドギャップの減少及び低抵抗化によって On 電流が向上する。一方、チャネル領域を 2D 化するとバンドギャップの増加及びゲートの制御性向上によってサブスレッショルドスロープが改善し、Off 電流も低下する。本研究では 3D/2D 領域をエッチングによって創り分けるトップダウンアプローチにより、従来の均一な TMDC 膜によるデバイス構造を完全に捨て去る。そしてこれまでの研究の延長線上には全く無い TMDC の 3D/2D ハイブリッド構造の CMOSFET 応用へと展開する。

This study proposed a 3D/2D hybrid structure consisting of 3-dimensional source/drain region and 2-dimensional channel region in Complimentary Metal-Oxide-Semiconductor Field-Effect Transistor (CMOSFET) using transition metal dichalcogenides. Furthermore, this study addressed an application to CMOS device and circuit based on this concept. The source/drain region constructed from the 3D structure with TMDC improves the on-current due to reduction of bandgap and lowering contact resistance. On the other hand, the channel region prepared by the 2D structure with TMDC enables the steeper subthreshold slope and lower off-current associated with the improvement of gate controllability and increase in bandgap of TMDC. In this study, the 3D/2D hybrid structure is fabricated by top-down approach with etching process in contrast to the conventional device structure with uniform TMDC. Also, CMOSFET based on 3D/2D hybrid structure with TMDC is developed.

・研究目的

本研究では合金及び化合物金属をソース/ドレイン (S/D)電極に用いるコンタクト技術を開発し、チャネルにドーピングをしないドーピングフリーの作製プロセスによって二セレン化タングステ

ン(WSe₂)を用いた相補型金属酸化物半導体 (CMOS)インバータを実現するコンセプトを実験的に実証した。S/D コンタクトに適用したアルミニウム-スカンジウム合金 (AlSc) 及びタングステン酸化物 (WO_x) の仕事関数 (WF)は、それぞれ WSe₂ の伝導帯下端と価電子帯上端に隣接するため、WSe₂への電子と正孔の効率的な注入が可能になり n型及びp型FETとして動作する。さらにWSe₂チャンネルの上部と下部の両方にゲート絶縁膜とゲート電極から成るゲートスタックを作製するデュアルゲートバイアスアーキテクチャを使用する事で、デバイス作製後でもFETの電気的特性とCMOSインバータの性能を改善した。AlSc および WO_x 用いた S/D コンタクトをデュアルゲートバイアスアーキテクチャと組み合わせて利用することで、試作したWSe₂ CMOSインバータは、電源電圧(V_{dd})1V以上で先行研究の報告よりも高い利得を実現した。さらに作製したWSe₂ CMOSインバータはV_{dd}が0.5Vの超低電圧でも動作する事を実証した。本研究は遷移金属ダイカルコゲナイドを用いたデバイスおよび回路応用に重要な一歩を築いている。

・研究内容・成果

遷移金属ダイカルコゲナイド(TMDC)は2次元(2D)層状結晶に起因する未結合手の無い表面構造と層数に依存するバンドギャップを有する事から、次世代低消費電力エレクトロニクスに向けた電界効果トランジスタ(FET)のチャンネル材料として期待されている[1]。特にn型とp型の一对のペアから成るCMOSインバータは半導体集積回路の基本最小構成素子であるため[2]、半導体TMDCを用いてn型とp型FETを実現しCMOSインバータを実装する事は非常に重要である[3]。様々な半導体TMDCの中でも二セレン化タングステン(WSe₂)は、電子と正孔の有効質量がほぼ同程度であり、極薄膜領域でも高い移動度を示し、両極性伝導を有する事からCMOSインバータを構成する有力なチャンネル材料の候補である[4-7]。

WSe₂ CMOSインバータの実現に向けた課題の1つは、n型とp型FETの両方を動作させるための適切なソース/ドレイン(S/D)コンタクト電極を開発する事である。図1にWSe₂といくつかの元素金属のバンドアライメントを示す[8]。WSe₂のバンドギャップは層数の増加とともに減少するため、多層WSe₂では金属とWSe₂の間の障壁高さが減少する[8],[9]。その結果、S/DからWSe₂への効率的なキャリア注入とFETのドレイン電流が向上するため、多層WSe₂の方が単層WSe₂よりもS/Dコンタクト形成に適している[9]。図1にあるようにn型及びp型動作には、S/D金属の仕事関数(WF)を伝導帯下端(CBM)及び価電子帯上端(VBM)の近傍にそれぞれ揃える必要がある[8]。n型FET動作の場合、多層WSe₂のCBMは3.5 eVと非常に小さく、代表的な低WF金属のアルミニウム(Al)(4.1 eV)であってもWSe₂のミッドギャップ値に相当する[8]。故にn型FETの動作には、AlよりもWFの低い金属を適用する必要があるが、WFが4 eV未満の金属は化学的に不安定で、反応性が高く、容易に酸化される[10]。従って、n型WSe₂FET動作にはAlよりもWFが低く且つ化学的安定性を備えた金属を用いる必要がある。p型FET動作の場合、多層WSe₂のバンドギャップは1.33 eVであるため、多層WSe₂のVBMは4.83 eVとなる[8]。一見すると、高WFのニッケル(Ni)またはパラジウム(Pd)がp型FETの動作に適しているが、S/DコンタクトとしてNiやPdを用いたFETでも両極性特性が報

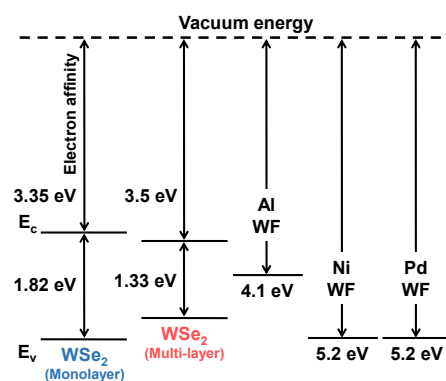


Fig. 1. Band alignment of WSe₂ and several elemental metals.

告されている[11]。従って、安定した p 型 WSe₂ FET 動作には適切な S/D コンタクトを開発する事が重要である。

本研究では、n 型及び p 型 WSe₂ FET の S/D コンタクトに合金及び化合物金属を使用する事で上記の問題に取り組んだ。金属材料の様々な特性(WF、接着強度、化学的安定性など)は、合金や化合物金属の組成比や作製方法によって人工的に調整できると考えられる[12]。本研究では、n 型 WSe₂ FET の S/D コンタクトにアルミニウム-スカンジウム合金(AlSc)を使用した。単一元素金属の Al 及び Sc とは対照的に、合金化された AlSc は材料特性が著しく向上し、低抵抗率、高い熱安定性、酸化に対する高い耐性を示す[13]。加えて合金化された AlSc の WF は Al の WF より低く、Al(4.1 eV)と Sc(3.5 eV)の WF の中間にあると推測される[14]。一方、本研究では p 型 WSe₂ FET の S/D コンタクトに遷移金属酸化物である酸化タングステン(WO_x)を用いる。WO_x は非常に高い WF(5.3 ~ 6.5 eV)を示すため、光起電力デバイスの正孔選択層に用いられる[15]。更に WSe₂ 表面を UV オゾン酸化する事で、高い電気伝導性を備えた WO_x の形成が報告されている[16]。故に WSe₂ 表面に WO_x を形成する事で、p 型 WSe₂ FET の S/D コンタクトに適用できると考えられる。2次元材料はチャンネル膜厚と熱処理温度の制限により、従来のバルク Si で用いられるイオン注入によるドーピング技術と互換性が無いため[17],[18]、本研究ではイオン注入によるドーピング技術を用いないドーピングフリープロセスによって n 型及び p 型 WSe₂ FET を作製した。

本研究で作製したデバイスの断面図とコンセプトを図 2 に示す。バックゲート構造を用いて WSe₂ FET の電気特性を評価したが、デバイス作製後にデバイス特性の変調が可能なデュアルゲート動作にトップゲート構造も作製した[19]。作製した WSe₂ FET の作製プロセスと光学顕微鏡像

を図 3 に示す。高濃度 p 型シリコン基板(p⁺-Si)を熱酸化して、バックゲートアーキテクチャ用の厚さ 20 nm の二酸化シリコン(SiO₂)ゲート絶縁膜を形成した。機械的に剥離された厚さ 50 nm の WSe₂ を PDMS とマイクロマニピュレーターを使用して基板に転写した[20]。この転写された 50 nm の WSe₂ は、バンドギャップ 1.33 eV のバルク WSe₂ と見なすのに十分な厚さである。次に、200°C で酸化剤に H₂O を用いた原子層堆積(ALD)によって、WSe₂ 表面上に厚さ 15 nm の Al₂O₃ パッシベーション層を形成した。続いてコンタクトホールを開口し S/D コンタクトを形成した。n 型 WSe₂ FET 用には RF スパッタリングにより膜厚 30 nm の AlSc(スパッタリングターゲットの組成比 Al_{0.57}Sc_{0.43})を堆積した。p 型 WSe₂ FET にはラジカル酸化により WSe₂ 表面に WO_x を形成し、その後 RF スパッタリングにより Ni を堆積した。S/D 電極のパターニング後、Al₂O₃ 上に Al トップゲートを作製した。最後に、フォーミングガス(H₂:N₂=3%:97%)雰囲気中で

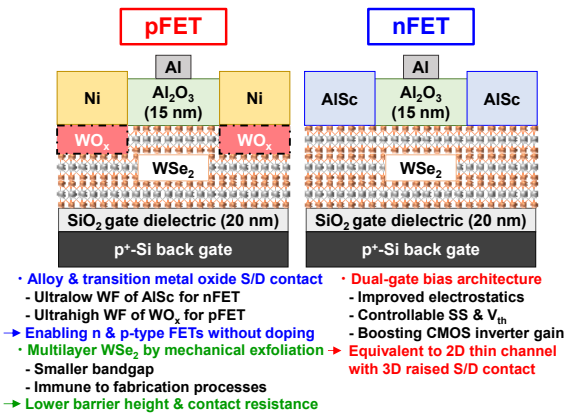


Fig. 2. Schematic cross-sectional views and device concepts in this study.

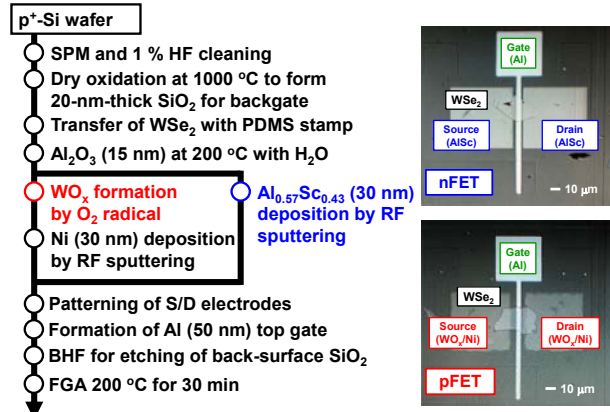


Fig. 3. Fabrication process and optical image of fabricated WSe₂ FET.

200°C の熱処理(FGA)を 30 分間行った。S-D 間のゲート長(L_{bg})は 25 μm 、トップゲート長(L_{tg})は 5 μm であった。n 型及び p 型 FET のゲート幅は、光学顕微鏡によりそれぞれ 19 μm および 26 μm であった。

まず SiO_2 ゲート絶縁膜と n 型 Si 基板を用いた MOS キャパシタ(MOSCAP)を使用して $\text{Al}_{0.57}\text{Sc}_{0.43}$ の WF を求めた[21]。 SiO_2 内の固定電荷と SiO_2/Si 界面の捕獲準位がフラットバンド電圧(V_{FB})に及ぼす影響は 50 mV 未満と無視できるほど小さいため[2]、基本的に SiO_2/Si MOSCAP の V_{FB} はメタルゲートの WF と Si 基板のフェルミ準位の差によって決定される。従って、 V_{FB} は式(1)のように表される[2]。

$$V_{FB} = \phi_m - \phi_s \quad (1)$$

ここで ϕ_m はメタルゲートの WF、 ϕ_s は Si 基板のフェルミポテンシャルである。Si 基板のフェルミポテンシャル ϕ_s は 式(2)のように表される[2]。

$$\phi_s = -\frac{E_f}{q} \quad (2)$$

ここで q は素電荷、 E_f は Si 基板のフェルミ準位である。n 型 Si 基板のフェルミ準位 E_f は式(3)のように表される[2]。

$$E_f - E_i = kT \ln \left(\frac{N_{sub}}{n_i} \right) \quad (3)$$

ここで E_i は真性フェルミ準位、 k はボルツマン定数、 T は温度、 N_{sub} は基板不純物濃度、 n_i は真性キャリア密度である。WF は測定された V_{FB} を使用し、式(1)、(2)、(3)を解く事で求められる。図 4(a)に、 $\text{Al}_{0.57}\text{Sc}_{0.43}$ ゲートを用いた SiO_2/Si MOSCAP の C-V 特性を示す。参考として Al ゲートの C-V 特性も図 4(a)と一緒に示す。n 型 Si の基板不純物濃度は $3 \times 10^{15} \text{ cm}^{-3}$ である。C-V 特性のヒステリシスは、AlSc ゲートと Al ゲートの両方で 50 mV 未満であった。低 WF 金属は、C-V 特性に負方向への V_{FB} シフトを引き起こす。AlSc ゲートの C-V 特性は、Al ゲートのものと比較して負方向にシフトした。この結果は、AlSc の WF が Al の WF よりも低いことを示唆している。式(1)、(2)、(3)を解くと $\text{Al}_{0.57}\text{Sc}_{0.43}$ の WF は 3.84 eV と

求められた。上述したように AlSc の WF は、WF が 4.1 eV の Al よりも低くなり、AlSc は化学的に安定且つ低仕事関数という相反する特性を満たす。

次に、ラジカル酸化によって形成された WO_x 層をバックゲート FET で評価した。転写された WSe_2 表面を酸素ラジカルによって酸化し最表面に WO_x を形成した。その後 RF スパッタリングにより Ni 金

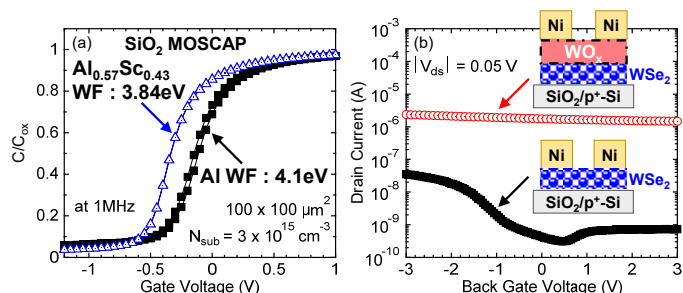


Fig. 4. (a) C-V characteristics of SiO_2/Si MOSCAP with $\text{Al}_{0.57}\text{Sc}_{0.43}$ and Al gate. (b) I_d - V_g characteristics of WSe_2 FET with and without WO_x layer.

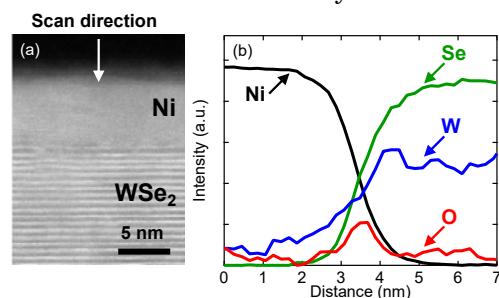


Fig. 5. (a) TEM image and (b) EELS profiles of the $\text{Ni}/\text{WO}_x/\text{WSe}_2$ contact interface in p-type FET.

属を成膜し、S/D 電極を形成した。WO_xを形成しない従来の WSe₂も比較試料として作製した。図 4(b)に I_d-V_g特性に対する WO_x層の影響を示す。WO_x層のない従来の WSe₂ FET では両極性特性が観測され、以前の報告と一致する。一方、WO_x層を形成した FET のドレイン電流は、印加されるバックゲート電圧に関係なくほぼ一定である。この結果は、ラジカル酸化によって形成された WO_x層が高濃度にドーパされた縮退半導体または金属のような導電性を示す事を意味する[16]。同様の実験結果は、WSe₂表面上に UV オゾン酸化で形成した WO_x層でも報告されている[16]。

続いて、断面透過型電子顕微鏡(TEM)及び電子エネルギー損失分光法(EELS)を用いて S/D コンタクト構造を分析した。図 5(a)に p 型 FET の Ni/WO_x/WSe₂コンタクト界面の TEM 像を示す。また図 5(b)に EELS 分析により得られた各種元素(酸素(O)、タングステン(W)、セレン(Se)、および Ni)の強度プロファイルを経験の関数として示す。Ni と WSe₂ チャンネルの間に非晶質構造の WO_xが観測され[22]、その膜厚は約 1.5 nm と求められた。TEM 観察や EELS プロファイルから、WO_x/WSe₂ 界面に構造遷移層は観測されなかった。

図 6(a)に、AlSc 及び WO_x を S/D コンタクトに用いた WSe₂ FET のバックゲート動作の I_d-V_g特性を示す。Ni S/D コンタクトを用いた WSe₂ FET の両極性特性も比較として同時に示す。AlSc と WO_x を S/D コンタクトに適用する事で、n 型及び p 型 WSe₂ FET の動作実証に成功した。本研究で作製された WSe₂ FET の電子および正孔の移動度(接触抵抗を含む)は、それぞれ 10 及び 23 cm²/Vs であった[23]。これらの結果は以前の研究とほぼ一致している。n 型 FET のドレイン電流は p 型 FET に比べて低い。図 6(b)に WSe₂ と AlSc 及び WO_x との間のバンドアライメントを示す。WO_x の仕事関数は参考文献[15]の値を用いた。図 6(b)に示すように n 型 FET のドレイン電流の低下は、WSe₂ と AlSc の障壁高さが WO_x よりも大きい事に関連していると考えられる。一方、p 型 FET のサブスレッショルドスロープ(SS)は n 型 FET に比べて劣化している。チャンネル層の厚さが増加するにつれて SS も増加するため、この高い SS は WSe₂ の厚さの違いから生じたもの

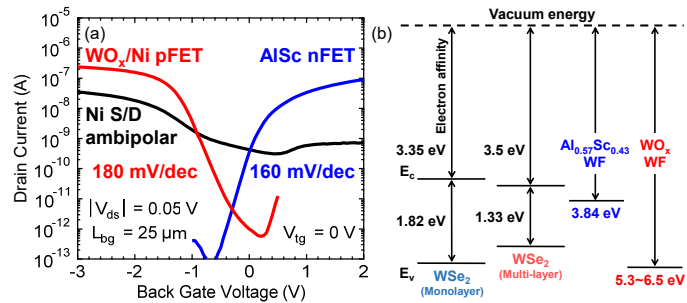


Fig. 6. (a) Back gate operation of I_d-V_g characteristics in WSe₂ FET with AlSc and WO_x S/D contacts. Ambipolar characteristic with Ni S/D contact was also shown. (b) Expected band alignment between WSe₂ and S/D contact metals with AlSc and WO_x.

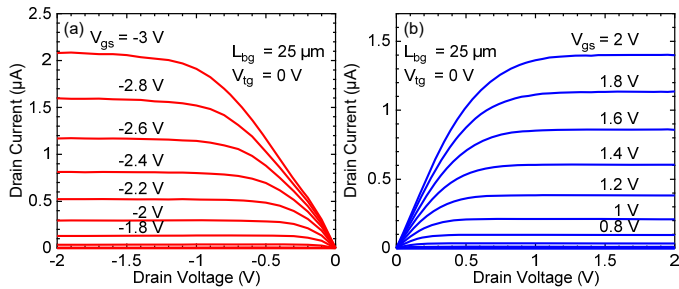


Fig. 7. Back gate operation of I_d-V_d characteristics in WSe₂ FET with (a) WO_x and (b) AlSc S/D contacts.

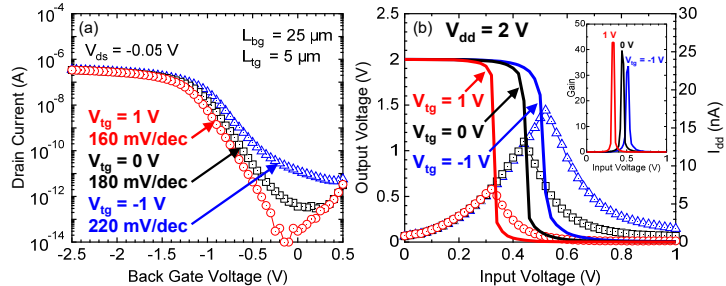


Fig. 8. (a) I_d-V_g characteristics of p-type FET and (b) Transfer characteristics of CMOS inverter as a function of the back gate voltage for various top gate (V_{tg}) values of p-type FET. CMOS inverter gain as a function of the back gate voltage for various top gate (V_{tg}) values of p-type FET is also shown in the inset of Fig. 8(b).

と考えられる[24]。バックゲート動作による I_d - V_d 特性を図 7(a)、(b)に示す。図 7(a)及び(b)に示すように、低ドレイン電圧におけるドレイン電流の線形依存性が明確に観測された。これらの結果は、AlSc 及び WO_x の S/D コンタクトによってオーミック特性が得られた事を示唆している[21]。

上述のように、トップゲートとバックゲートから構成されるデュアルゲートバイアスアーキテクチャにより、デバイス作製後でも電気特性の変調が可能になる[19]。図 8(a)に、様々なトップゲート(V_{tg})バイアス印加におけるバックゲート電圧の関数として p 型 FET の I_d - V_g 特性を示す。図 8(a)に示すように、デュアルゲートバイアスアーキテクチャにより、閾値電圧(V_{th})と SS をデバイス作製後に制御した。pFET の SS の劣化は適切なトップゲートバイアスを印加する事で改善され、p 型 FET の SS を n 型 FET の SS と同等の 160mV/dec に制御する事ができた。トップゲートに正のバイアスを印加する事によってトップゲート直下の空乏層幅が増加する。この空乏層幅の増加は、チャンネル層の物理的厚さの減少に対応し、その結果として SS が改善される。Al トップゲートはゲート電極と S/D コンタクトの間にオーバーラップすることなく形成されているため、この構造は Raised S/D 領域を有する Silicon-On-Thin-Box(SOTB) MOSFET の構造に類似している[19]。n 型と p 型の両方の WSe_2 FET 動作が実証されたので、CMOS インバータの特性を調べる事は非常に重要である。図 8(b)に、p 型 FET の様々なトップゲート値に対するバックゲート電圧の関数としての CMOS インバータの伝達特性を示す。n 型 FET の SS を 160 mV/dec に維持するために、n 型 FET のトップゲート電圧は 0 V にバイアスした。作製した n 型及び p 型 WSe_2 FET を用いて CMOS インバータの動作に成功した。CMOS インバータの貫通電流(I_{dd})と p 型 FET のトップゲートバイアスの関数としての CMOS インバータゲインを図 8(b)とその挿入図にそれぞれ示す。CMOS インバータのゲインは、 $Gain = dV_{out}/dV_{in}$ として求められる[2]。今回の実験で I_{dd} の減少とゲインの増加が実証された。これらの結果は、トップゲートに正バイアスを印加することにより p 型 FET のサブスレッショルド特性が改善され、その結果 n 型と p 型 FET の対称な I_d - V_g 特性が得られたものと考えられる。デュアルゲートバイアスアーキテクチャにより、デバイス作製

後の CMOS インバータの性能向上を実証した。図 9(a)と(b)に CMOS インバータの伝達特性とゲインを電源電圧(V_{dd})の関数としてそれぞれ示す。合金および化合物金属の S/D コンタクトにより、低電源電圧 0.5V 動作の WSe_2 CMOS インバータを実現した。

最後に本研究で作製した WSe_2 CMOS インバータの電源電圧の関数としてのゲインと先行研究から入手した他の WSe_2 CMOS インバータのゲインを図 10 にまとめて示す[23]、[25]、

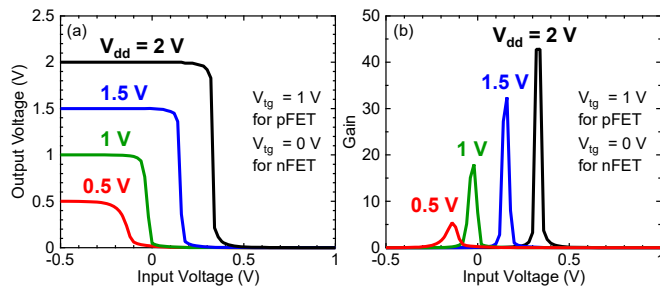


Fig. 9. (a) Transfer characteristics and (b) gain of CMOS inverter as functions of power supply voltage (V_{dd}).

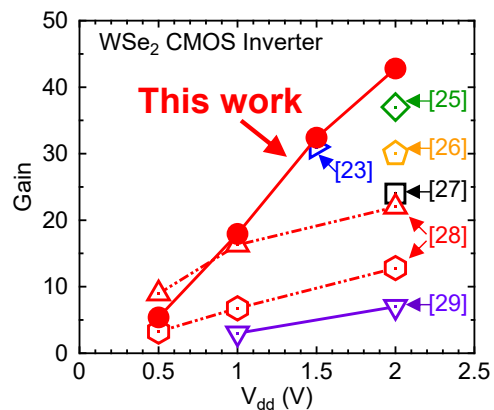


Fig. 10. Gain as a function of supply voltage (V_{dd}) of fabricated WSe_2 CMOS inverter in this study along with other those of WSe_2 CMOS inverters from the literatures.

[26]、[27]、[28]、[29]。作製した CMOS インバータは、 V_{dd} が 1 V 以上で文献記載のものよりも高い利得が得られた。

・今後の取り組み・まとめ

本研究では、S/D コンタクトとして合金や化合物金属を用いたドーピングフリー WSe₂ CMOS インバータを実現するためのコンセプトを実証した。AlSc 及び WO_x を用いた S/D コンタクトによって、n 型と p 型の両方の WSe₂ FET 動作に成功した。 V_{th} 及び SS を含む FET 特性は、デュアルゲートバイアスアーキテクチャを使用することでデバイス作製後でも制御が可能である。本研究で確立された S/D コンタクトとデュアルゲートバイアスアーキテクチャによって、高ゲインの WSe₂ CMOS インバータの動作を実験的に実証した。更に作製した WSe₂ CMOS インバータは 0.5 V という低 V_{dd} での動作にも成功した。本研究は TMDC を用いた CMOS デバイス及び回路の研究開発に重要な一步を築いている。本研究で作製した CMOS インバータのゲインは 0.5 V の低い V_{dd} では 5 に制限され、以前の我々の研究よりも低かった。この小さな利得は、バックゲート構造の厚さ 20 nm の SiO₂ 層が原因である。今後は SiO₂ の薄膜化や高誘電率(SiO₂ よりも高い誘電率)ゲート絶縁膜を用いる予定である。また WSe₂ FET の S/D コンタクトに使用する合金や化合物金属の組成比や作製方法を適切に設定することにより、CMOS インバータ特性をさらに向上させることができる。特に、より高い Sc 濃度を有する AlSc 合金は、Al_{0.57}Sc_{0.43} の 3.84 eV よりも更に低い WF を示す事が予想される。その結果、障壁高さの減少により n 型 FET のドレイン電流が増加すると考えられる。これらは今後の残された課題である[30]。

・謝辞

本研究を進めるにあたり、ご支援を賜りました一般財団法人サムコ科学技術振興財団に心より感謝申し上げます。

・参考文献

- 1) Q. H. Wang et al., Nat. Nanotechnol. vol. 7, pp. 699–712, Nov. (2012).
- 2) Y. Taur and T. H. Ning, “Fundamentals of Modern VLSI Devices,” Cambridge University Press, Cambridge, MA, 1998, pp. 1–469.
- 3) Z. Ahmed et al., in Proceedings of the IEEE International Electron Devices Meeting, San Francisco, CA, USA, pp. 465–468, Dec. (2020).
- 4) B. Radisavljevic et al., Nat. Nanotechnol. vol. 6, pp. 147–150, Jan. (2011).
- 5) G. Fiori et al., Nat. Nanotechnol. vol. 9, pp. 768–779, Oct. (2014).
- 6) V. Podzorov et al., Appl. Phys. Lett., vol. 84, no. 17, 26, pp. 3301–3303, Apr. (2004).
- 7) D. Akinwande et al., Nature, vol. 573, pp. 507–518, Sep. (2019).
- 8) D. S. Schulman et al., Chem. Soc. Rev. vol. 47, no. 9, pp. 3037–3058, Mar. (2018).
- 9) Y. Liu et al., Chem. Soc. Rev. vol. 47, pp. 6388–6409, Aug. (2018).
- 10) C. G. Tang et al., Nature, vol. 573, pp. 519–525, Sep. (2019).
- 11) S. Das and J. Appenzeller, Appl. Phys. Lett., vol. 103, pp. 103501, Sep, (2013).
- 12) K. Ohmori et al., J. Appl. Phys. Vol. 101, pp. 084118, Apr. (2007).

- 13) S.-I. Ogawa and H. Nishimura, in Proceedings of the IEEE International Electron Devices Meeting, Washington, DC, USA, pp. 277–280, Dec. (1991).
- 14) M. Hasan et al., Appl. Phys. Lett., vol. 90, pp. 103510, Mar. (2007).
- 15) H. Ali et al., Sci. Rep., vol. 8, pp. 12651, Aug. (2018).
- 16) A. Borah et al., ACS Appl. Electron. Mater., vol. 3, pp. 2941–2947, Jun. (2021).
- 17) G. Gupta et al., IEEE TED, Vol. 64, No. 8, pp. 3044–3055, Aug. (2017).
- 18) S. Cristoloveanu et al., Solid-State Electronics, Vol. 155, pp. 32–43, May, (2019).
- 19) R. Tsuchiya et al., in Proceedings of the IEEE International Electron Devices Meeting, Washington, DC, USA, pp. 475–478, Dec. (2007).
- 20) T. Kawanago and S. Oda, Appl. Phys. Lett. vol. 108, pp. 041605, Jan. (2016).
- 21) S. M. Sze, Physics of Semiconductor Devices, 3rd ed. Wiley, New York, 2007, pp. 1–815.
- 22) M. Juelsholt et al., Nanoscale, 13, pp. 20144–20156, Nov. (2021).
- 23) L. Kong et al., Nat. Commun. vol. 11, pp. 1866, Apr. (2020).
- 24) N. Fang and K. Nagashio, ACS Appl. Mater. Interfaces, vol. 10, pp. 32355–32364, Aug. (2018).
- 25) L. Yu et al., Nano Lett. vol. 15, pp. 4928–4934, Jul. (2015).
- 26) W.-M. Kang et al., Semicond. Sci. Technol. vol. 31, no. 10, pp. 105001, Sep. (2016).
- 27) C.-S. Pang and Z. Chen, 2018 76th Device Research Conf. (DRC), Santa Barbara, CA, USA, pp. 231–232, Aug. (2018).
- 28) T. Kawanago et al., Jpn. J. Appl. Phys. vol. 61, pp. SC1004, Feb. (2022).
- 29) M. Tosun et al., ACS Nano. vol. 8, no. 5, pp. 4948–4953, Mar. (2014).
- 30) T. Kawanago et al., IEEE J-EDS, vol. 11, pp. 15–21, Nov. (2023).

• 発表論文 • 特許出願等

- 1) T. Kawanago, R. Kajikawa, K. Mizutani, S.-L. Tsai, I. Muneta, T. Hoshii, K. Kakushima, K. Tsutsui, H. Wakabayashi, “Doping-Free Complementary Metal-Oxide-Semiconductor Inverter Based on N-Type and P-Type Tungsten Diselenide Field-Effect Transistors With Aluminum-Scandium Alloy and Tungsten Oxide for Source/Drain Contact”, *IEEE Journal of the Electron Devices Society*, vol. 11, pp. 15–21, Nov. 2022.

研究課題 Research Project	半導体 MOF 薄膜の作製技術確立 Development of semiconductive MOF thin films		
研究代表者 Research leader	田中 大輔 Daisuke Tanaka		
所属機関名 Affiliation	関西学院大学 Kwansei Gakuin University	役職名 Position	教授 Professor

・研究概要 (Abstract)

金属有機構造体 (MOF) は、金属イオンが有機配位子で連結された多孔性フレームワークを有する物質群であり、吸着材料としての実用化がすでに始まっている。一方で、これまでに合成法が確立されている MOF のほとんどはワイドバンドギャップの絶縁体であった。このことは、MOF の電子物性を設計する際の大きな制約となっていた。本研究では、研究代表者が開発した半導体 MOF の結晶化技術と薄膜作製技術を統合し、優れた電子物性が期待されるが合成は困難であると考えられてきた、硫黄を配位元素とする半導体 MOF の薄膜作製技術を確立し、機能探索を行う。このような材料は、低次元無機半導体の周期構造に由来する特異な電子状態の実現が期待できることに加え、構造中の電子的に活性な部位に細孔を通じて分子やイオンが外部からアクセス可能になるため、薄膜化による触媒や電極材料などの、エネルギー変換・貯蔵材料としての応用が期待できる。特に、光電気化学触媒への応用を志向して金属基板上に半導体 MOF 薄膜を作製する技術の開発を行った。

Metal-organic frameworks (MOFs) are a group of materials with a porous framework in which metal ions are linked by organic ligands, and their practical application as adsorbents has already started. On the other hand, most MOFs for which synthetic methods have been established are wide bandgap insulators. This has been a major limitation in designing the electronic properties of MOFs. In this study, we integrate the crystallization techniques of semiconductive MOF and thin film fabrication techniques developed by the Research Leader to establish a thin film fabrication technique for semiconductor MOFs with sulfur as the coordinating element, which are expected to have excellent electronic properties although they have been considered difficult to synthesize. Such materials are expected to realize unique electronic states derived from the periodic structure of low-dimensional inorganic semiconductors, and to be applied as energy conversion and storage materials, such as catalysts and electrode materials, through thin film fabrication, because electronically active sites in the structure can be accessed by molecules and ions from the outside through pores. In particular, we have developed a technique to fabricate semiconducting MOF thin films on metal substrates with the aim of applying them to photoelectrochemical catalysts.

・研究目的

配位高分子 (Coordination Polymers; CPs) 及び金属有機構造体 (Metal-Organic Frameworks; MOFs) は金属イオンと配位子が無限架橋することにより形成される結晶性材料である。CPs / MOFs は高い多孔性や構造多様性などの特徴を有し、気体貯蔵・分離、触媒、センサーなどの多機能材料として注目を浴びている。一方、MOF-5 や UiO-66 に代表される一般的な CPs / MOFs では、主に架橋カルボン酸イオンの酸素が金属の配位原子となる。その結果、このような CPs / MOFs のバンド構造は分散が小さく、大きなバンドギャップを有し、半導体としての応用はほとんど検討されていなかった。そこで近年、硫黄を配位元素とした含硫黄 CPs / MOFs (S-CPs / MOFs) が注目を浴びている。S-CPs / MOFs は硫黄の 3p 軌道の電子がバンド形成に寄与するため、酸素の 2p 軌道を用いた従来型の CPs / MOFs と比較しバンドギャップを狭める効果が期待される。また、より広がった原子軌道を有するため、酸素を配位元素とした場合と比較して、分散の大きなバンド構造を形成する。その結果、S-CPs / MOFs は可視光吸収や高いキャリア移動度などの優れた半導体特性を実現でき、新たな応用展開が可能となる。

本研究では S-CPs / MOFs の有する半導体特性を利用した光触媒性能に着目して薄膜作製を目指した。S-CPs / MOFs を用いた光触媒材料はバンドギャップの狭さより可視光吸収特性を有しており、可視光照射下での電子移動が可能となる。そのため太陽光の高効率な利用が可能となり、優れた光触媒特性の実現が期待される。本研究では特に、光電気化学触媒材料としての応用を見据えて金属基板上での含硫黄配位高分子の薄膜化を試みた。

・研究内容・成果

1. 物質の選定

近年、CPs / MOFs に電気伝導性を付与し、化学センサーや光学デバイス、触媒などへ応用するためのデバイスを構築する技術の需要が高まっている。実際に CPs / MOFs からなるデバイスを作製するためには材料の薄膜化技術が必要となるため、過去には SAM 法 (Self-Assembled Monolayer) や LbL 法 (Layer-by-Layer 法) など多くの CPs / MOFs 薄膜作製法が検討されてきた。CPs / MOFs 結晶の電気伝導性を利用した薄膜デバイスでは、薄膜結晶の配向性がデバイスの性能に大きな影響を与える。よって CPs / MOFs デバイスを作成するためには、高い電気伝導性を有する CPs / MOFs 材料の開発と同様に、高い配向性を有する均一な CPs / MOFs 薄膜の作製が重要である。しかし、電気伝導性を有した CPs / MOFs を薄膜化した報告例は少なく、特に配向性を維持した薄膜の作製に関する研究は、ある特定の 2 次元ナノシート構造を有する MOFs などに限られていた。本研究では高い電気伝導性を示す CPs / MOFs 材料として硫黄を配位元素とした S-CPs / MOFs に着目した。その中でも、我々が開発した S-CPs である $[\text{Ag}_2(\text{tadt})]_n$ (KGF-13, (tadt²⁻ = 1,3,4-thiadiazole-2,5-dithiolate)) は結晶構造中に $[-\text{Ag}-\text{S}]_n$ ナノリボン構造を形成しており、TRMC 測定から高いキャリア輸送特性を示すことが明らかとなっている。さらに半導体 CPs / MOFs 材料の中でもトップクラスの光伝導特性を示すことが明らかとなっており、光触媒材料としての応用も期待される。本研究では KGF-13 の応用を見据え、銀基板を原料に用いて基板上に直接 KGF-13 薄膜を作製する手法を開発した。実際の実験では、電解合成により $\text{Ag}(0) \rightarrow \text{Ag}(I)$ へと変化させ、 K_2tadt (tadt²⁻ = 1,3,4-thiadiazole-2,5-dithiolate) 溶液中にて加熱を行うことで KGF-13 薄膜を作製した(図 1)。

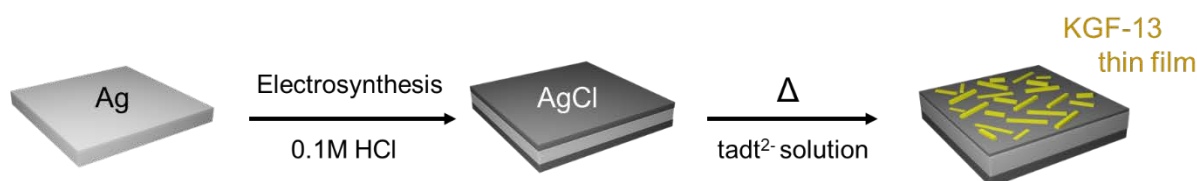


図1 KGF-13の薄膜化手法

薄膜の生成はPXRD測定及びSEMを用いて確認し、面内・面外XRD測定によりKGF-13薄膜が面内方向への配向性を有していることを確認した。さらに、銀を金属源とした6種類のAg-S-CPs薄膜化に成功し本薄膜化手法の汎用性を実証した。また、鉛基板を原料にした薄膜作製にも試みた。

2. KGF-13の結晶構造と性質

粉末のKGF-13はトリフルオロ酢酸銀と K_2tadt を用いて、水/アセトンの混合溶媒により80°Cのソルボサーマル法で合成して黄色の針状の単結晶として得ることができる。単結晶X線回折測定により、KGF-13は単斜晶空間群 $P2_1/n$ で結晶化することがわかった。非対称ユニットは、 $tadt^{2-}$ 配位子のS原子とN原子が配位した結晶学的に非等価な4つのAg(I)が3配位または4配位構造をとっている。全ての $tadt^{2-}$ 配位子が脱プロトン化され、KGF-13は $[Ag_2(tadt)]_n$ の組成を持つ。IRスペクトルでは、3100–2900 cm^{-1} 領域に N_{ring-H} 伸縮に対応する弱い吸収帯が観測されなかった。このことは、 $tadt$ 配位子のチアジアゾール環の窒素原子に水素が結合していないことを示唆している。近接したAg-Ag間の距離は3.07–3.08 Åであり、Ag-S結合の長さは2.49–2.85 Å、Ag-N結合の長さは2.21–2.85 Åである。 $tadt^{2-}$ 配位子はS1が μ_2-S 原子で、他のS3, S4, S6が μ_3-S 原子であり、銀イオンと結合して銀–硫黄ネットワークを形成している。具体的には、結晶学的に非等価な4種の銀イオンが硫黄原子を頂点共有して4列に配列して1つのユニットを形成し、そのユニットが硫黄原子の頂点共有により b 軸方向に連結して1次元 $(-Ag-S)_n$ のナノリボンを形成する。それぞれの1次元 $(-Ag-S)_n$ ナノリボンは、チアジアゾール環によって連結され、3次元構造を形成している。単結晶XRD測定により、針状結晶の長軸方向が格子の b 軸方向と一致し、針状結晶の長軸方向に沿って $(-Ag-S)_n$ のナノリボンが形成されていることも明らかとなっている。

CASTEPを用いた第一原理計算から、KGF-13のHOMOは銀、硫黄、窒素に、LUMOはチアジアゾール環の炭素と硫黄に位置していることがわかった。また、PDOSはHOMOに対する銀–硫黄の寄与が大きいことを示していた。バンド構造では、HOMOの分散が非常に大きく(0.7 eV以上)、LUMOの分散は小さい(0.2 eV以下)ことがわかった。バンド図において分散の大きいG–Y, A–B, D–E方向は結晶構造の b 軸方向に対応しており、このバンド構造は $(-Ag-S)_n$ ナノリボンが一次元の正孔輸送能を持つことを強く示唆している。

KGF-13の光導電性を評価するために、時間分解マイクロ波導電率(TRMC)測定を行った。KGF-13粉末の $\varphi\Sigma\mu$ (φ = 電荷キャリア生成の量子収率、 $\Sigma\mu$ = 正孔および電子移動度の和)の最大値はKGF-13は $1.3 \times 10^{-3} cm^2 V^{-1} s^{-1}$ と、一般的に知られている含硫黄配位高分子に比べ、10倍以上の大きな値であることも明らかになっている。

3. KGF-13の薄膜作製

KGF-13 薄膜は、上述の KGF-13 のバルク合成法を基に合成法の最適化を行った。100 mM K_2tadt 溶液（水 / アセトニトリル = 1 / 1 混合溶媒にて調製）8 mL に表面を AgCl でコートした Ag 板（1×1 cm）を浸して 80 °C、48 時間密閉容器で加熱した。その結果、黄色結晶に被覆された金属基板が得られた。粉末 X 線回折（PXRD）測定を行ったところ、得られた回折は KGF-13 の結晶構造から予測されるシミュレーションパターンと良い一致を示したため、析出した黄色結晶を KGF-13 と同定した（図 2a）。

基板表面の形状を走査型電子顕微鏡（SEM）にて観察したところ、結晶が一様に分布しており、析出した KGF-13 結晶が薄膜を形成していることが確認された（図 2b）。また、断面の SEM から平均膜厚は約 10 μm であることが明らかとなった（図 2c）。

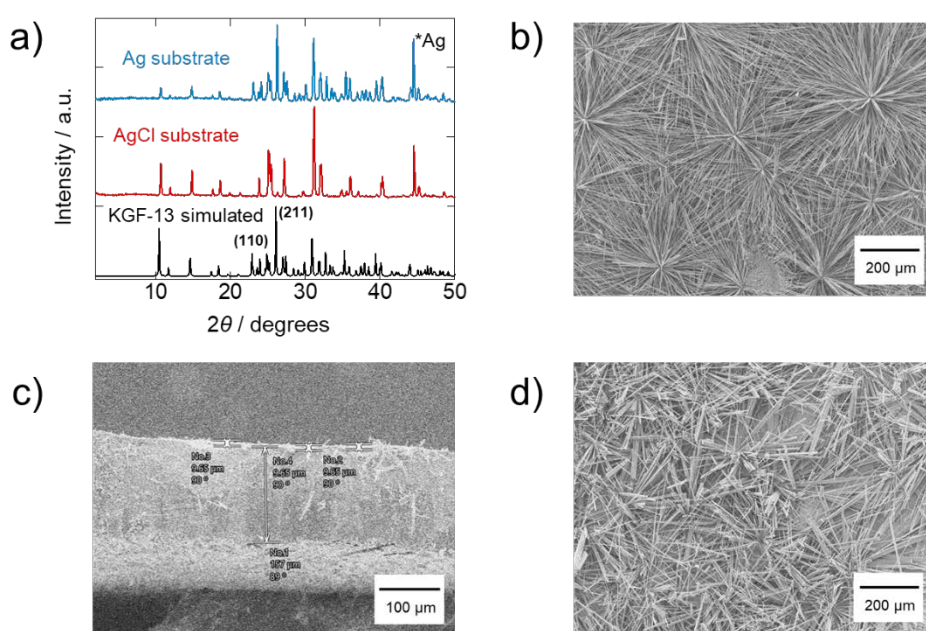


図 2 KGF-13 薄膜の a) PXRD パターン及び b) SEM 像 c) 薄膜断面及び d) Ag(0)基板を用いて作製した KGF-13 薄膜の SEM 像

基板の価数による影響を調査するため、表面を処理していない 0 価の Ag 板を用いた対照実験も併せて行った。その結果、0 価の Ag 板においても KGF-13 結晶の析出が確認できたが、1 価の AgCl 基板を用いた場合と比較し結晶の分布がまばらで、得られた結晶のサイズも増大していた（図 2d）。この結晶サイズの違いは基板の価数を 0 価にすることで金属イオンの放出速度が低下して、核形成が抑制されることに起因していると考えられる。

4. KGF-13 薄膜における配向性評価

前節にて KGF-13 薄膜における PXRD 測定を行った結果、シミュレーションパターンと良い一致を示すことが確認された。しかし、詳細を確認すると KGF-13 の *b* 軸方向に対応する (110) 面や (211) 面のピークの消失が見受けられた。また、SEM 像でも基板上に生成する結晶はすべて長軸が基板と平行になっていることが確認された。これらの結果より薄膜結晶が配向性を有する可能性が示唆されたため、面内・面外 X 線回折（XRD）測定により配向性評価を行った。

XRD 測定の結果、KGF-13 薄膜は 0 価、1 価の金属基板どちらを用いた場合でも配向性を有していることが確認された (図 3)。In-plane 及び Out-of-plane でそれぞれ観測されたピークにおける結晶面を検討したところ、Out-of-plane にて消失した b 軸方向に対応するピークが In-plane にて観測された。よって、金属基板の表面と平行に KGF-13 の b 軸が配向していることが明らかとなった。

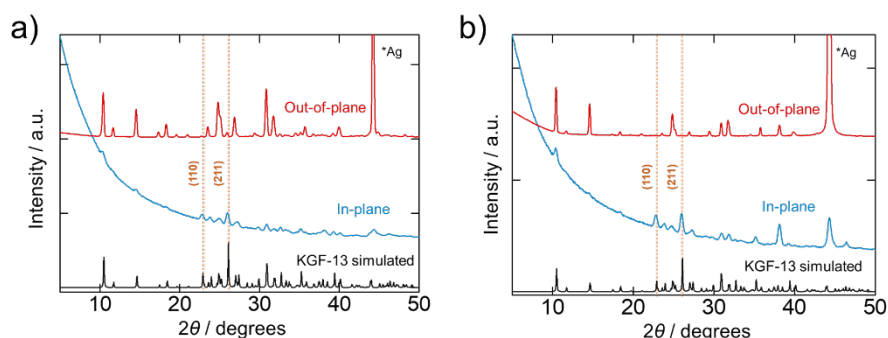


図 3 a) 0 価及び b) 1 価の金属基板にて作製した KGF-13 薄膜の面内・面外 XRD 測定

第一原理計算の結果より、KGF-13 は b 軸方向に存在する $[-Ag-S]_n$ ナノリボンに沿って高いキャリア輸送特性を示すことが報告されている。これらの結果より、KGF-13 薄膜は面内方向への伝導性を利用したデバイスへの応用が期待される。

5. 配位子濃度の変化による KGF-13, 36 の作り分け

配位子濃度の影響を検討するため、4 種類の濃度 (50、100、200、300 mM) の K_2tadt 溶液を調製し薄膜作製を行った。得られた薄膜の SEM 観察を行ったところ、50、100 mM では針状結晶、200、300 mM ではプレート状結晶 (図 4a) の析出が確認された。結晶のモルフォロジーに変化が見られたため PXRD 測定にて結晶の同定を行ったところ、配位子濃度 50、100 mM にて得られた針状結晶は KGF-13 であることが確認された。一方、濃度 200、300 mM にて得られたプレート状結晶は KGF-13 のシミュレーションパターンと一致せず、新規化合物の生成が示唆された (図 4b)。

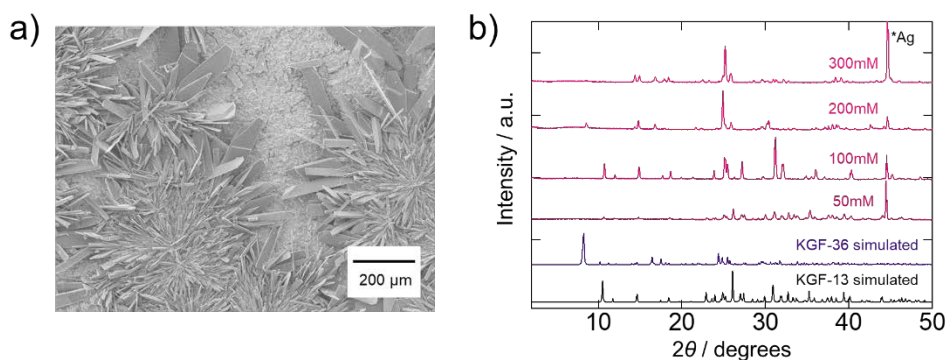


図 4 a) KGF-36 薄膜の SEM 画像 b) 濃度による PXRD パターンの変化

これらの結果を踏まえ、薄膜基板から結晶を剥離し単結晶 XRD 測定を行った。XRD 測定の結果、プレート状結晶は $[\text{Ag}_4\text{H}_2(\text{tadt})_3]_n$ (KGF-36) の組成を有する新規 S-CPs であることが明らかとなった。KGF-36 は三斜晶系空間群にて結晶化し、 $[-\text{Ag}-\text{S}]_n$ のネットワークを有する 3D-CPs である。KGF-36 は現時点で、基板を用いない均一な溶液中での合成条件が見つかっていない。KGF-36 は薄膜界面でのみ合成が可能であることから、本結果は基板を用いた界面合成が、未知の結晶相を探索するための新たな足場となりうることを示唆している。

KGF-13、36 の組成を比較すると、KGF-13 は $[\text{Ag}_2(\text{tadt})]_n$ に示すように金属と配位子が 2 : 1 の比率で含まれている。一方、KGF-36 ではその比率が 4 : 3 となり tadt の割合が増加したことが確認できる。この結果は、配位子濃度が高いほど tadt 比率の高い組成を有する物質が合成された結果と整合性がある。

6. KGF-12 の薄膜作製

金属塩や配位子に含まれるカウンターカチオンを変更することにより、Ag と tadt^2 からなる KGF-12 $[\text{Ag}(\text{Htadt})]_n$ が合成可能であることが明らかとなっている。そこで本研究においても配位子を K_2tadt から H_2tadt へと変更し、KGF-12 薄膜の作製を試みた。薄膜化の条件は KGF-12 のバルク合成法の反応条件を基に最適化を行った。

濃度 100 mM の H_2tadt 溶液 (水 / アセトニトリル = 1 / 1 混合溶媒にて調製) 8 mL に AgCl 板 (1×1 cm) を加えて 80 °C、48 時間密閉容器内で加熱した。得られた薄膜の PXRD 測定を行ったところ、KGF-12 のシミュレーションパターンと良い一致を示し、析出した黄色結晶は KGF-12 であることが確認された (図 5)。KGF-13 と KGF-36 も併せると、本研究では銀と tadt 配位子を用いた 3 種類の Ag-S-CPs 薄膜の作り分けに成功した。

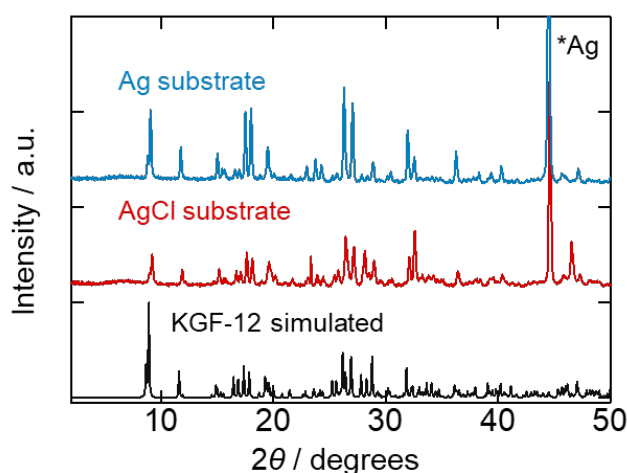


図 5 KGF-12 薄膜の PXRD 測定

基板表面の形状について SEM 観察を行ったところ、析出した KGF-12 結晶が凝集し基板上に一樣に分布した薄膜を形成していることが確認された (図 6a)。対照実験として 0 価の Ag 板を用いた合成を行ったところ、KGF-12 においても顕著なサイズの増大が確認された (図 6b)。

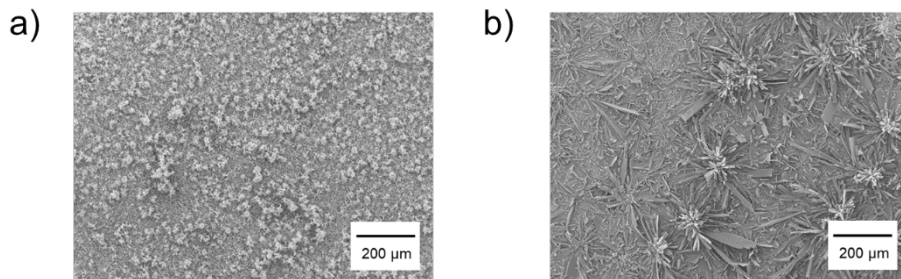


図 6 a) AgCl 基板及び b) Ag 基板を用いて作製した KGF-12 薄膜の SEM 画像

さらに KGF-12 薄膜の配向性を調査するため、面内・面外 XRD 測定を行った。その結果 0 価、1 価の金属基板どちらを用いた場合においても、In-Plane 方向における顕著なピークは確認されなかった (図 7)。このことから、KGF-12 薄膜は配向性を有しておらず結晶が基板上にランダムに析出していることが明らかとなった。

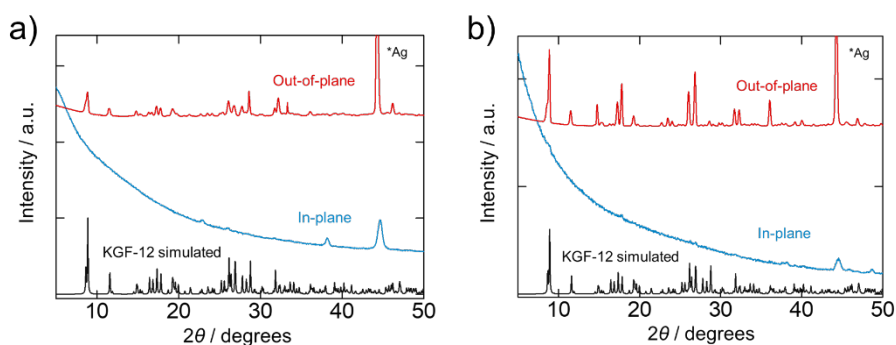


図 7 a) AgCl 基板及び b) Ag 基板にて作製した KGF-12 薄膜の面内・面外 XRD 測定

7. ttc 配位子を用いた汎用性評価

本薄膜化手法の汎用性を実証するため、 ttc^3- (Trithiocyanate) 配位子を用いた 3 種類の Ag-S-CPs、KGF-6 $[\text{Ag}_2\text{H}(\text{ttc})]_n$ 、KGF-7 $[\text{AgH}_2(\text{ttc})]_n$ 、KGF-8 $[\text{Ag}_3(\text{ttc})]_n$ の薄膜化を試みた (図 8) ¹。

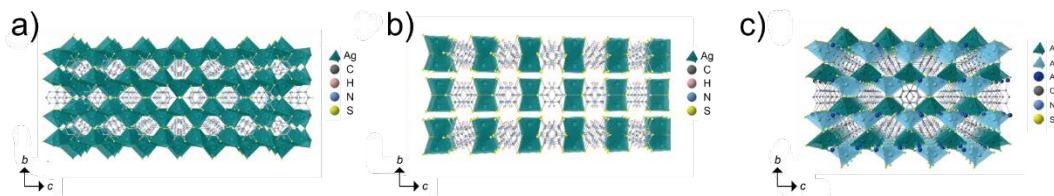


図 8 a) KGF-6、b) KGF-7、c) KGF-8 の結晶構造

濃度 100 mM の H_3ttc 溶液 (水 / アセトニトリル = 1 / 1 混合溶媒にて調製) 8 mL に AgCl 板 (1×1 cm) を加えて 65 °C、36 時間密閉容器中で加熱したところ、KGF-7 薄膜の作製が確認された (図 9b)。一方、同様の条件にて配位子濃度を 10 mM へと変更すると、KGF-6 薄膜が作製された (図 9a)。これは配位子濃度が高いと組成における配位子の割合が多くなる仮説と一致しており、

濃度による作り分けの汎用性を裏付ける結果であった。さらに配位子を Na_3ttc に変更すると、KGF-8 薄膜の作製が確認された (図 9c)。KGF-8 は構造中にプロトンを含んでいないため、その選択的な合成には配位子中にプロトンを含まないナトリウム塩を原料とする必要があったと解釈することができる。これらの結果より 6 種類の Ag-S-CPs 薄膜の作製が確認され、銀を含む S-CPs の薄膜化手法としての高い汎用性を実証することができた (表 1)。

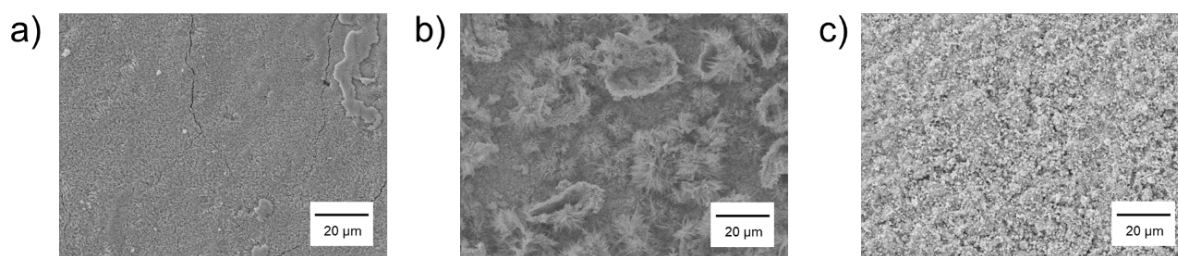


図 9 a) KGF-6、b) KGF-7、c) KGF-8 薄膜の SEM 画像

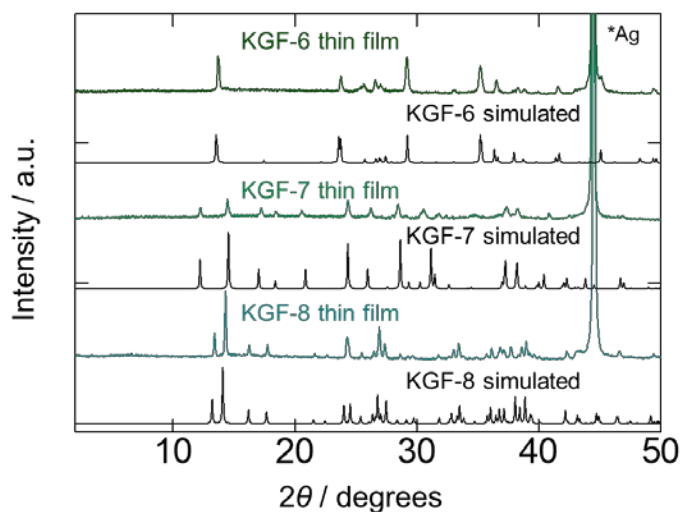


図 10 KGF-6, 7, 8 の PXRD パターン

表 1 Ag-S-CPs 薄膜一覧

	H_2tadt	K_2tadt	H_3ttc	Na_3ttc
Ag	KGF-12	KGF-13 (~100 mM)	—	KGF-8
AgCl	KGF-12	KGF-13 (~100 mM) KGF-36 (200 mM~)	KGF-6 (10 mM) KGF-7 (100 mM)	KGF-8

8. 鉛板を用いた汎用性評価

ここまでの薄膜の作製は銀イオンからなる CPs に限定されていた。さらに本手法の汎用性を実証するため、鉛板を用いて実験を行った。16mL テフロン容器中で Pb 板をアセトン 4.0mL と水 4.0mL に溶解した H_2tadt 溶液に浸漬し、さらにステンレス容器で密閉した。密閉した容器を 100°C で 48 時間加熱した後 12 時間かけて 30°C まで降温した。Pb 基板には黄色針状結晶粉末が生成しており、それをアセトンで 3 回洗浄した。その後 X 線回折 (PXRD) 測定及び走査型電子顕微鏡 (SEM) 観察にて評価した。また、生成した結晶を単結晶 X 線回折 (SCXRD) 測定を行った。PXRD 測定より、Pb 基板上に得られた黄色針状結晶が $[\text{Pb}_2(\text{Htadt})_2(\text{tadt})]$ の組成を持つ KGF-17 であることが確認された。SEM 画像より、一般的な金属イオンとの溶液中で反応により生成する結晶と比較すると、結晶サイズがおよそ 5 倍に増大していることが明らかとなった。単結晶 X 線構造解析により得られた ORTEP 図からは温度因子による異常な異方性が解消していることを示唆している。 R 値、重み付き R 値、GOF を金属イオンとの反応による結晶の測定結果と比較した結果、すべての値において改善が見られ、ICUr ジャーナルが定める最も重大な問題とされるレベル A の警告は消失した。これらの結果は、本研究で合成された結晶は一般的な均一溶液合成で得られる結晶と比較し、単結晶性が高いことを示唆している²。

一方、 H_2tadt の代わりに K_2tadt を Pb 板とアセトン/水混合溶媒中で密閉して加熱した。Pb 基板上に生成した黄色針状結晶はアセトンで 3 回洗浄した。その後粉末 X 線回折 (PXRD) 測定により同定し、走査型電子顕微鏡 (SEM) 観察にて結晶サイズを評価した。PXRD の結果、得られた結晶は $[\text{Pb}(\text{tadt})]$ の組成を有する KGF-9 であることが明らかとなった³。プロトンを含む H_2tadt を原料に用いると、構造中にプロトンをカチオンとして含んだ KGF-17 が合成され、 K_2tadt を用いると、構造中にプロトンを含まない KGF-9 が合成されたことは、合成条件と生成物に整合性があり、本手法が溶液中と変わらない汎用性で結晶多型を制御することが可能であることを示唆している。

また、各種ベンゼンチオール誘導体と鉛基板の反応についても評価を行った。Pb 板をメタノール/水混合溶媒中に溶解させた 2-Methoxybenzenethiol (*o*-HSPhOMe) に浸漬し、ステンレス容器で密閉した。密閉した容器を加熱して、得られた Pb 基板ごとメタノールで洗浄した。Pb 基板上に生成した結晶は粉末 X 線回折 (PXRD) 測定と走査型電子顕微鏡 (SEM) 観察にて結晶を観察した。すると、基板上に析出した結晶は、 $[\text{Pb}(\text{o-SPhOMe})_2]$ の組成を持つ KGF-32 であった⁴。同様に、3-Methoxybenzenethiol (*m*-HSPhOMe)、4-Methoxybenzenethiol (*p*-HSPhOMe) を配位子として用いると、KGF-32 と同様の組成を持つ KGF-33 と KGF-34 を合成⁴することが可能であることも見出しており、本手法の汎用性の高さを実証した。

・今後の取り組み・まとめ

本研究では AgCl 板と K_2tadt を用い、高い光伝導特性を有する Ag-S-CPs である KGF-13 の薄膜化を行った。金属基板の表面を 1 価の AgCl にすることで、速やかな核形成反応が進行し、均一な薄膜化が確認された。一方、0 価の Ag 板を用いた薄膜化では核が徐放されることによる結晶サイズの増大が確認され、薄膜結晶のサイズ制御が可能であることが示唆された。また、面内・面外 XRD 測定により、作製した薄膜結晶が b 軸に沿った面内配向性を有していることが明らかとなり、面内方向への伝導性を利用したデバイスへの応用が期待される結果となった。さらに配位子濃度を

変更することにより Ag-S-CPs の作り分けが可能となり、薄膜界面でのみ得られる新規 Ag-S-CPs $[\text{Ag}_4\text{H}_2(\text{tadt})_3]_n$ (KGF-36) の合成に成功した。また、配位子の変更により 6 種類の Ag-S-CPs 薄膜化に成功し、本手法の汎用性を裏付ける結果を得ることができた。さらに、金属を鉛に変えても高い汎用性で本手法により薄膜を作製することが可能であることを見出した。本成果は光伝導特性の高い CPs / MOFs の実用化を行うにあたり、デバイス作製に向けた薄膜化手法の 1 つとして今後の応用が期待される。

本手法によって得られた化合物の中には、現時点では均一な溶液では合成に成功していない新物質があることを明らかとした。また、合成条件によっては得られる単結晶の質が均一な溶液より高いことも見出している。これらの成果は、本手法が単なる薄膜の合成のみならず、新物質の開発や高品質な単結晶の作成にも応用が可能であることを示唆している。

今後は、開発した薄膜を光電気触媒として利用可能か検討していく。近年新たな光触媒材料の 1 つとして CPs / MOFs が注目を集めている。CPs / MOFs を用いた光触媒材料は多孔性による性能の向上や熱的・化学的安定性、また不均一系であるため再利用が可能な点などから盛んに研究が行われている。一方、多くの CPs / MOFs 系光触媒は大きなバンドギャップを有するため、可視光照射下での触媒反応の進行には適しておらず、その応用が制限されていた。本研究で薄膜化に成功した含硫黄半導体 CPs は可視光吸収と優れた輸送特性を有しており、新たな光触媒材料として注目されている。実際、本研究で薄膜化に成功した KF-9 は、犠牲還元剤存在条件の下、光照射により CO_2 を高選択的にギ酸に変換することが明らかとなっている。今後は、薄膜を各種触媒として用いることを検討し、新しい二酸化炭素還元触媒を開発して、カーボンニュートラル実現を目指す。

・謝辞

本研究を進めるにあたり、ご支援を賜りました一般財団法人サムコ科学技術振興財団に心より感謝申し上げます。薄膜 X 線回折測定では、大阪公立大学の高橋雅英教授と岡田健司准教授のご協力に感謝申し上げます。また、本研究を遂行する上で、本学卒業生の本郷佐和氏と上野美早紀が大きな貢献を果たした。この場を借りてお礼申し上げます。

・参考文献

1. T. Wakiya, Y. Kamakura, H. Shibahara, K. Ogasawara, A. Saeki, R. Nishikubo, A. Inokuchi, H. Yoshikawa, D. Tanaka*, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2021, 60, 23217-23224.
2. C. Suppaso, Y. Kamakura, M. Ueno, S. Hongo, R. Akiyoshi, F. Ishiwari, A. Saeki, D. Tanaka*, K. Maeda*, *Solar RRL* 2024, 8, 2300710.
3. Y. Kamakura, C. Sakura, A. Saeki, S. Masaoka, A. Fukui, D. Kiriya, K. Ogasawara, H. Yoshikawa, D. Tanaka*, *Inorg. Chem.* 2021, 60, 5436-5441.
4. R. Akiyoshi*, A. Saeki, K. Ogasawara, D. Tanaka*, *J. Mater. Chem. C* 2024, 12, 1958-1964.

・発表論文・特許出願等

1. C. Suppaso, Y. Kamakura, M. Ueno, S. Hongo, R. Akiyoshi, F. Ishiwari, A. Saeki, D. Tanaka*, K. Maeda*, *Solar RRL* 2024, 8, 2300710.
2. R. Akiyoshi*, A. Saeki, K. Ogasawara, D. Tanaka*, *J. Mater. Chem. C* 2024, 12, 1958-1964.

研究課題 Research Project	機械学習を用いたバイオマテリアルの表面特性によるマクロファージ分極への影響の解明 Elucidating the Effects of Biomaterial Surface Properties on Macrophage Polarization Using Machine Learning		
研究代表者 Research leader	中村奈緒子 Naoko Nakamura		
所属機関名 Affiliation	芝浦工業大学 Shibaura Institute of Technology	役職名 Position	准教授 Associate Professor
共同研究者 Collaborator	木村剛 Tsuyoshi Kimura		
所属機関名 Affiliation	東京医科歯科大学 Tokyo Medical and Dental University	役職名 Position	准教授 Associate Professor
共同研究者 Collaborator	新熊亮一 Ryoichi Shinkuma		
所属機関名 Affiliation	芝浦工業大学 Shibaura Institute of Technology	役職名 Position	教授 Professor

・研究概要 (Abstract)

人工臓器や再生医療用材料に用いられるバイオマテリアルが生体内で適切に機能するためには、バイオマテリアルに対する炎症が早期に収束して組織修復に向かう必要があり、そのプロセスではマクロファージが重要な役割を担っている。本研究課題では「バイオマテリアルの表面特性に対するマクロファージ分極への影響の解明」を目指した。バイオマテリアルの表面特性に関する複数のデータとマクロファージの分極の関係性を複合的に解析するために、機械学習を導入した。バイオマテリアルの表面特性と細胞応答性の関係性を解明することで、新規のバイオマテリアルの炎症性予測が可能となり、バイオマテリアルの設計指針の構築につながると考える。本研究では、表面形状と硬さを変化させた種々の培養基材を作製し、培養基材上におけるマクロファージの分極状態を明らかにすること、さらに AI 技術によるバイオマテリアルに対するマクロファージ分極を推測するモデルを構築することを目的とした。

In order for biomaterials used for artificial organs and regenerative medicine materials to function properly in vivo, inflammation against the biomaterials must subside quickly and lead to tissue repair, and macrophages play an important role in this process. In this research project, we aimed to "elucidate the effects of surface properties of biomaterials on macrophage polarization. Machine learning was introduced to analyze the relationship between macrophage polarization and multiple data on the surface properties of biomaterials. We believe that elucidating the relationship between surface properties of biomaterials and cellular responsiveness will enable the prediction of inflammatory properties of novel biomaterials and lead to the construction of design guidelines for biomaterials. The objectives of this study were to fabricate various culture substrates with different surface shapes and hardnesses, to clarify the polarization state of macrophages on the culture substrates, and to construct a model to infer macrophage polarization against biomaterials using AI technology.

・研究目的

人工臓器や再生医療用足場材料などの生体内に移植されるバイオマテリアルは、マクロファージなどの作用により、生体の炎症反応の一種である異物反応を引き起こすことが知られている。マクロファージは異物を貪食して細胞内小胞で破壊し、種々のサイトカインを放出して炎症を惹起する。一方、生体内のバイオマテリアルが大きい場合は貪食できず、バイオマテリアルの周りを取り囲み、融合して多核巨細胞となり、炎症を促進する。このような炎症促進作用を示すマクロファージを **M1** マクロファージという。炎症が沈静化する際には、**M2** マクロファージに分極し、炎症抑制や組織修復を導くことがわかってきた (**Figure 1**)。そのため、バイオマテリアルの生体適合性を明らかにするための炎症性評価の一つとして、マクロファージの生体外培養による分極評価が行われている。現時点では、バイオマテリアルのどのような特性が **M1/M2** マクロファージへの分極を誘導するのかは明らかになっておらず、目的の生体内反応を導くバイオマテリアルの開発のためにはトライアルアンドエラーで繰り返し評価しなければならない。

バイオマテリアルの特性とマクロファージの分極の関係性が明らかになれば、目的とするマクロファージの応答性を旨としたバイオマテリアルの開発が可能となるため、バイオマテリアルの表面特性に対するマクロファージの分極の関係性の解明が必要とされている。しかしながら、バイオマテリアルの表面特性には、表面粗さ、表面組成など様々な要素があり、ある一つの要素のみが分極に影響を与えているとは限らず、その関係性は単純なグラフで表現できるものではない可能性が高い。したがって、この関係性を明らかにするためには、バイオマテリアルの表面特性に関するデータを網羅的に収集し、さらに、それらを複合的に解析する必要があり、その困難さから実現には至っていないのが現状である。バイオマテリアルの表面特性とマクロファージの分極の関係性の解明ができれば、バイオマテリアルに対するマクロファージの応答性を制御することが可能となる。そのため、バイオマテリアルの表面特性に対するマクロファージの分極の関係性の解明が必要である。本研究では、表表面形状と硬さを変化させた種々の培養基材を作製し、培養基材上におけるマクロファージの分極状態を明らかにすること、さらに AI 技術によるバイオマテリアルに対するマクロファージ分極の推測を行うことを目的とした。

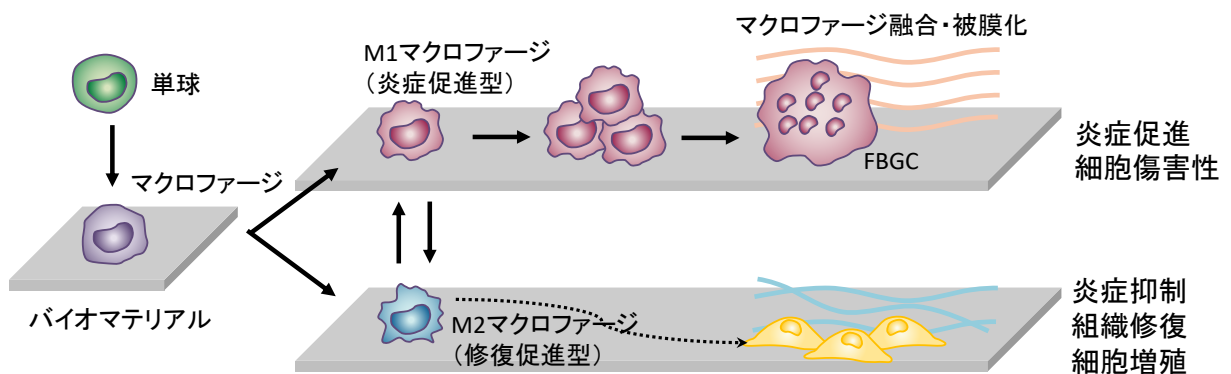


Figure 1 バイオマテリアルにおけるマクロファージの分極

・研究内容・成果

<研究内容>

マクロファージの分極状態はバイオマテリアルの生体適合性を調べるうえで重要な要素である。マクロファージは未分極状態の M0 マクロファージから炎症促進型の M1 マクロファージや炎症抑制型の M2 マクロファージに分極する。M1 マクロファージは炎症を促進させ、異物反応を引き起こす。一方で、引き起こされた炎症は、M2 マクロファージによって沈静化され、組織修復に向かう。マクロファージの分極状態は細胞形状の変化と関係しており、M1 マクロファージは丸く扁平化して、M2 マクロファージは伸長した形状を示したことが報告されている。また、Frances Y らはマイクロパターニング法を用いてバイオマテリアルの表面形状を変化させ、マクロファージの形状を直接制御して伸長させた。マクロファージを伸長させることがマクロファージの炎症抑制型への分極を促進することが明らかになった。このように、バイオマテリアルの表面特性がマクロファージの分極に大きく影響を与える。マクロファージの分極を制御するうえで、マクロファージが接着するバイオマテリアルの表面特性が重要となる。また、Luu TU らはバイオマテリアルの形状を変化させ、Sridharan R らはバイオマテリアルの硬さを変化させてマクロファージの分極を評価した。現時点で行われている研究はこれらの研究と同じように、バイオマテリアルの表面特性の一つのみに着目してマクロファージの分極を評価している。しかし、バイオマテリアルの表面特性の中の一つのみがマクロファージの分極に影響を与えているとは考えづらく、表面形状、硬さ、表面組成など様々な要素が複合的に影響を与えていると考えられる。そのため、マクロファージの分極とバイオマテリアルの表面特性の関係を明らかにするためには、様々な表面特性を網羅的に考慮する必要がある。

本研究課題では、バイオマテリアル表面特性によるマクロファージ分極への影響の解明を目的とした網羅的なデータの「複合的な解析」の課題を解決するため、AI 技術を導入する。これまで、一つあるいは少数の評価手法で得られた表面特性のデータに対する細胞応答の関係性を明らかにするアプローチが主であった。これに対し、AI 技術を導入することで、複数の表面特性データを複合的に学習させることができ、マクロファージの分極が未知の材料に対し、その表面特性からマクロファージの分極を推測することが可能となると考える (Figure 2)。

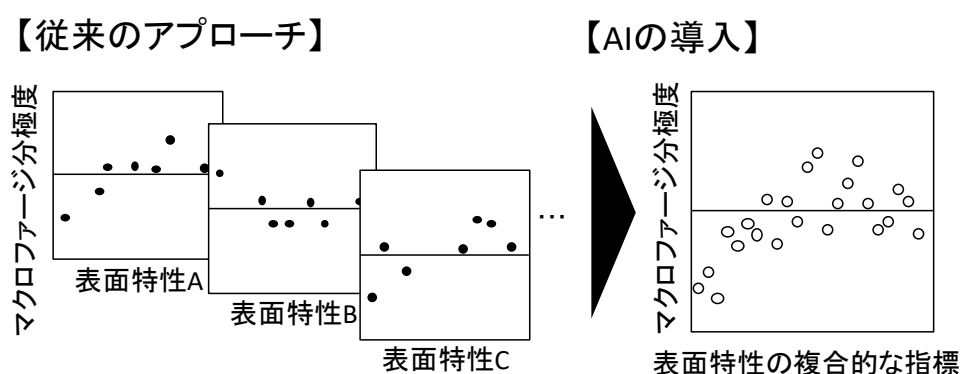


Figure 2 バイオマテリアルの表面特性とマクロファージ分極の関係性

本研究課題では、下記の①～③の項目の実験計画を立て、実施した (Figure 3)。

- ① 種々のバイオマテリアル上のマクロファージの分極評価 (データセット作成)

種々のバイオマテリアルとして表面構造を段階的に変化させたシリコン樹脂の培養担体を作製し、表面組成や表面粗さのデータを取得する。生体の表面構造を模倣したポジティブコントロールとなる材料として、生体組織に近い表面構造を有する脱細胞組織を調製し、シリコン樹脂に表面構造を転写した培養担体を作製する。これらの表面特性を網羅的に収集する。また、これらに対するマクロファージの分極のデータを収集する。

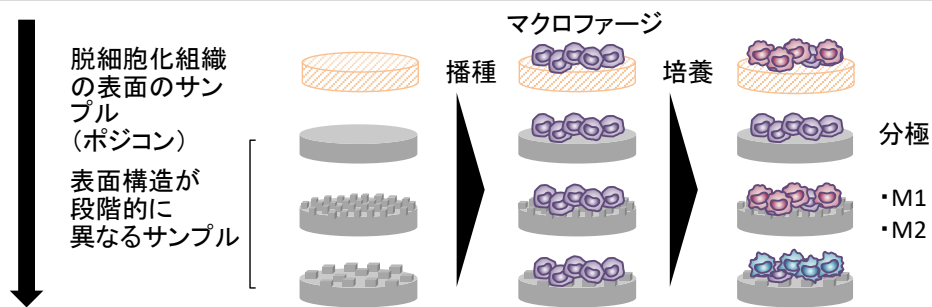
② バイオマテリアルに対するマクロファージ分極の推測 (機械学習の構築と学習・評価)

上記①で取得したデータを用いて機械学習を行い、バイオマテリアルに対するマクロファージの応答性予測の実行可能性を明らかにする。評価用データセットとしてマクロファージの応答性が未知のサンプルの材料特性を用い、未知サンプルに対するマクロファージ応答性を機械学習で推測する。

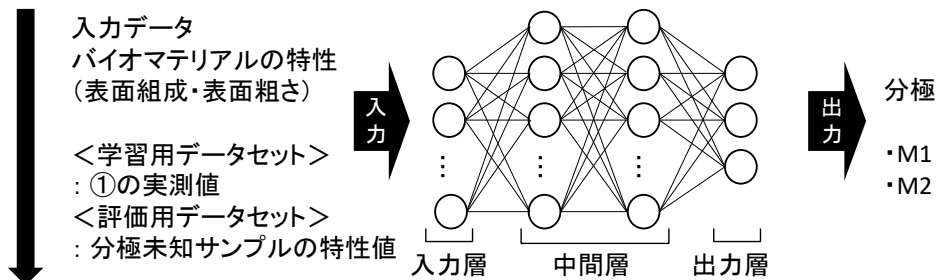
③ バイオマテリアルとマクロファージの関係性の解明

得られたデータを元にマクロファージの分極度とバイオマテリアルの表面特性の複合的な指標との関係性を明らかにする。

①種々のバイオマテリアル上のマクロファージの分極評価(データセット作成)



②バイオマテリアルに対するマクロファージ分極の推測 (機械学習の構築と学習・評価)



③バイオマテリアルとマクロファージの関係性の解明

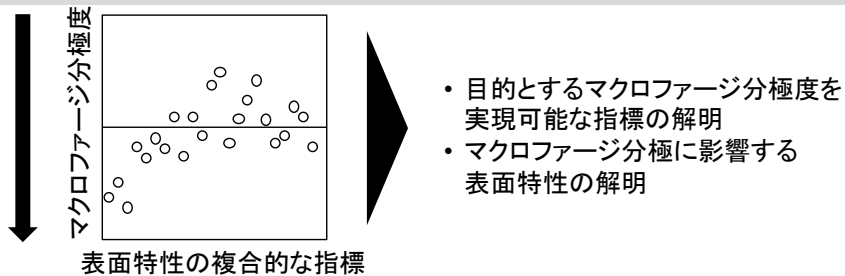


Figure 3 研究スキーム

<研究成果>

① 種々のバイオマテリアル上のマクロファージの分極評価 (データセット作成)

1.1 脱細胞化組織の調製

Wistar ラットから小腸を摘出後、生理食塩水を 500 ml 流し、小腸内腔を洗浄した。Table 1 の条件で小腸を Triton 溶液、DNase 溶液の順に浸漬させ、小腸から細胞を除去した。パラフィン切片を作製し、HE 染色により、小腸からの細胞除去を評価した。また、脱細胞化小腸を凍結乾燥させ、走査型電子顕微鏡 (SEM) で観察し、小腸基底膜の形状を評価した。

Table 1 脱細胞化条件

名称	Triton濃度	Triton溶液 浸漬時間	Dnase溶液濃度	Dnase溶液 浸漬時間
Triton-90min	0.50%	90 min	$2.0 \times 10^{-2}\%$	3 days
Triton-270min	0.50%	270 min	$2.0 \times 10^{-2}\%$	3 days

Untreated では絨毛側面や陰窩の中に細胞が存在したが、Triton-90min、Triton-270min では細胞がほとんど確認されなかった。このことから、ラット小腸を脱細胞化することができたと言える。Figure 4 より、脱細胞化前後で絨毛や陰窩のマイクロスケール構造が保持されていたことが確認された。また、絨毛表面に直径 100 nm 程度の粒状の構造が確認された。この構造は Untreated で最も多く確認され、Triton の浸漬時間が長いほど減少した。小腸の基底膜にはラミニンやコラーゲンによるナノスケール構造が存在することが知れており、Wang らは類似したナノスケール構造を保有したコラーゲン膜の開発を報告している。Fig. 3 で観察された絨毛表面の粒状の構造は先行研究で報告されているナノスケール構造と類似していた。また、粒状構造は Untreated で最も多く確認され、Triton 溶液の浸漬時間が長いほど減少した。Triton は界面活性剤の一種であり、界面活性剤はタンパク質を溶解することが知られている。よって、Triton 溶液の浸漬時間の増加に伴い、ラミニンやコラーゲン等の基底膜成分が溶解され、その結果粒状構造が減少したと考えられる。以上のことから、本研究で確認された粒状構造は基底膜成分である可能性が示され、基底膜残存性の異なる脱細胞化小腸を作製できたことが示唆された。

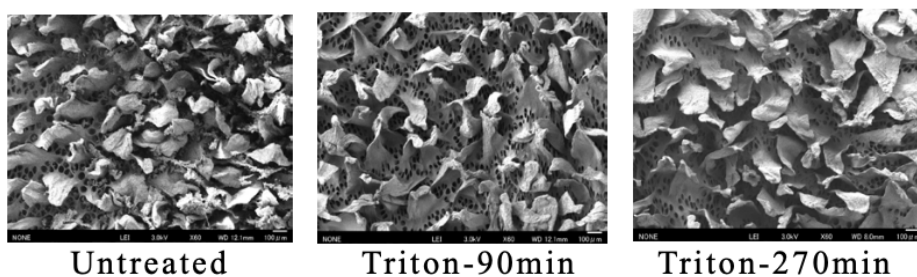


Figure 4 小腸内腔表面の SEM 画像

1.2 表面構造が段階的に異なるサンプルの調製

ポリジメチルシロキサン (PDMS) を使用してマクロファージの培養基材の作製を行った。ポリメタクリル酸メチル樹脂 (PMMA) をコーティングしたシリコンウェーハ (Si) を加工して鋳型を作製し、PDMS を流し込み培養基材を作製した。

鋳型の作製過程を Figure5 に示す。まずは、スピコーターを使用して 5000 rpm で Si に 2

μm の厚さで PMMA をコーティングした。PMMA をコーティングした Si にプロトンビームライティング (PBW) で形状を形成した。PBW はあらかじめ加工したい形状を図形ファイルとして作成して、それをプロトンビームライターに読み込ませることで加工の形状や位置を指定した。本研究では、円を並べた図形ファイルを作製した。円は直径が $1\ \mu\text{m}$ で一つの円の端から隣の円の端までの間隔を、 $0.5, 1, 2, 4\ \mu\text{m}$ と変化させた 4 つのパターンでファイルを作製した。よって鋳型は円柱状の溝を直径 $1\ \mu\text{m}$ 、深さ $2\ \mu\text{m}$ で、 $0.5, 1, 2, 4\ \mu\text{m}$ の間隔で形成する設計をした。加工は $1.7\ \text{MeV}$ のプロトンビームを照射し、 $200\ \mu\text{m} \times 200\ \mu\text{m}$ の範囲で行った。PBW 後の鋳型はイソプロピルアルコールと水を 7:3 の割合で混合した液体に 10 分間入れ、その後水で洗浄した。

作製した鋳型の評価するために、レーザー顕微鏡 (OLS4000, OLYMPUS) を用いて、鋳型の表面形状を観察した。さらに、卓上型引張圧縮試験機 (MCT-2150, A&D) を用いて引張試験を行い、荷重と移動量を得て、弾性率を算出した。

作製した鋳型のレーザー顕微鏡画像を Figure 6 に示す。円柱状の溝の間隔が $0.5\ \mu\text{m}$ と $1\ \mu\text{m}$ の鋳型は加工によって Si にコーティングした PMMA が剥がれてしまい、全体的に Si が露出してしまっていることが確認された。また、円柱状の溝の間隔が $2\ \mu\text{m}$ と $4\ \mu\text{m}$ の鋳型は不均一な加工に見える部分もあったが、広い範囲で設計通りの加工が確認できた。

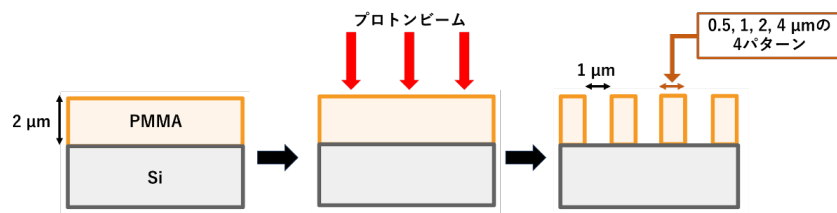


Figure 5 鋳型の作製

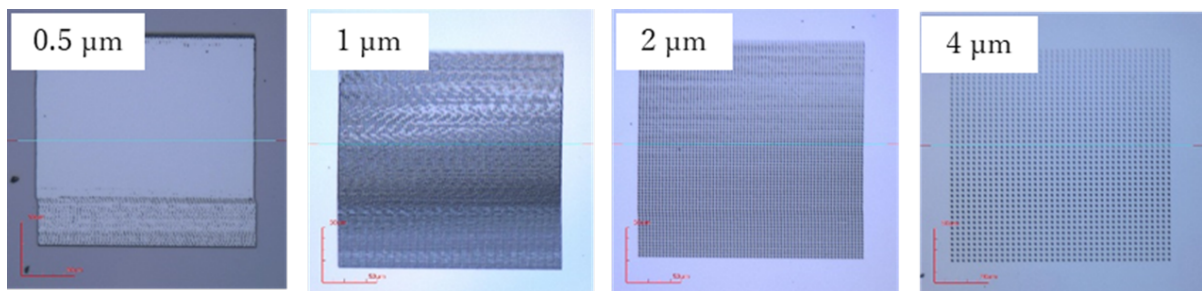


Figure 6 鋳型のレーザー顕微鏡画像

PDMS 足場の作製過程を Figure 7 に示す。PDMS は SYLGARD™ 184 Silicone Elastomer の主剤と硬化剤を混ぜ合わせ、減圧下で 30 分脱気し、 70°C 下で 2 時間静置すると硬化して培養基材とした。PDMS は主剤と硬化剤の混ぜる割合を変えることで硬さを変化させることが可能である。主剤 $5000\ \text{mg}$ に対して、硬化剤の量が $300\ \text{mg}$ の PDMS を PDMS_S、 $500\ \text{mg}$ の PDMS を PDMS_M、 $700\ \text{mg}$ の PDMS を PDMS_H とした。また、作製した鋳型を用いて PDMS 足場の表面形状を変化させた。鋳型の形状を PDMS に転写することで、PDMS 足場表面には直径 $1\ \mu\text{m}$ 、高さ $2\ \mu\text{m}$ 、間隔が $0.5, 1, 2, 4\ \mu\text{m}$ の円柱状の突起のある、形状が段階的に変化した培養基材を作製する予定であったが、 $0.5\ \mu\text{m}$ と $1\ \mu\text{m}$ の鋳型は使用せず、溝の間隔が $2\ \mu\text{m}$ と $4\ \mu\text{m}$ の鋳型を使用し、2 通りの形状と、3 通りの硬さを組み合わせて 6 通りの PDMS 足場の作製を行った。

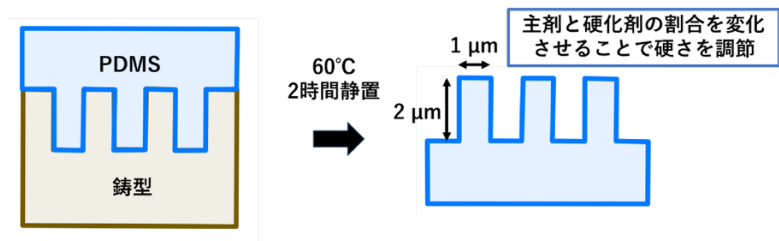


Figure 7 PDMS 足場の作製

作製した鑄型の形状を PDMS 足場に転写できているか SEM 画像から評価した。また、PDMS 足場の表面形状を定量的な評価をするためにレーザー顕微鏡を用いて作製した PDMS を観察した。硬さを変化させ、鑄型の形状を転写した PDMS 足場の SEM 画像を Figure 8 に示す。鑄型で設計通りの加工が確認できた部分は PDMS においても設計通りの突起が確認できた。PDMS 足場のレーザー顕微鏡画像を Figure 9 に示す。設計通りの形状をしていた部分は、突起の間隔が $2\ \mu\text{m}$ と $4\ \mu\text{m}$ の PDMS ともに突起の高さが $2\ \mu\text{m}$ であることが確認できた。

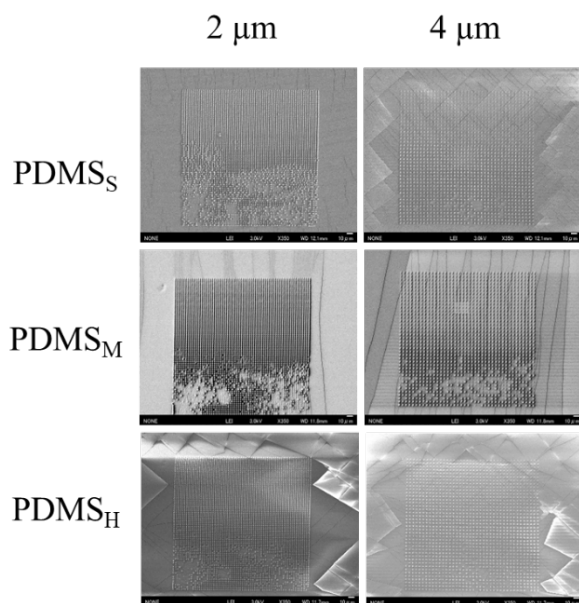


Figure 8 PDMS 足場の SEM 画像

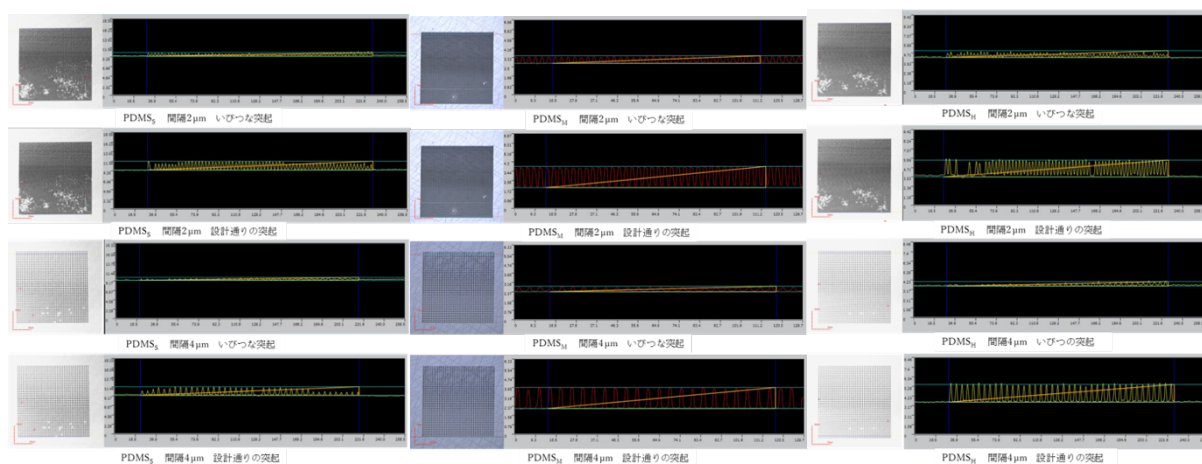


Figure 9 PDMS 足場のレーザー顕微鏡画像

1.3 マクロファージの播種

作製した PDMS の上で細胞培養を行うための前処理として、接着タンパク質であるコラーゲンのコーティングを行った。PDMS を 6 well plate に設置して、5 mg/mL のコラーゲン溶液を 0.001M の HCl で 6 倍希釈をして作製した溶液を 1 well 当たり 2 mL ずつ添加し、37°C で 1 時間インキュベートし、その後洗浄した。各サンプル上に 1.0×10^5 cells/well の密度で J774A.1 を播種し、24 時間インキュベートした。

脱細胞化小腸上に播種した細胞は、接着せずに、死んでいることがわかった。これは、脱細胞化工程で使用した界面活性剤の残存の影響であると考えられた。

PDMS 上で培養した細胞を SEM で撮影した結果を Figure 10 に示す。突起の形成された領域には細胞が密集していることがわかった。PDMS_S 上の細胞はその他の硬さの PDMS と比べてより密集していた。PDMS_M 上の細胞は突起の間隔に関わらず細胞は円形で扁平であった。PDMS_H はその他の硬さの PDMS と比べると伸展した細胞が多かった。突起の間隔が 2 μm と 4 μm を比べると、4 μm の PDMS 上の方が伸長していたり星形になっていたりする細胞の数が多いことがわかった。また、細胞は突起に向けて仮足を伸ばしていることがわかった。

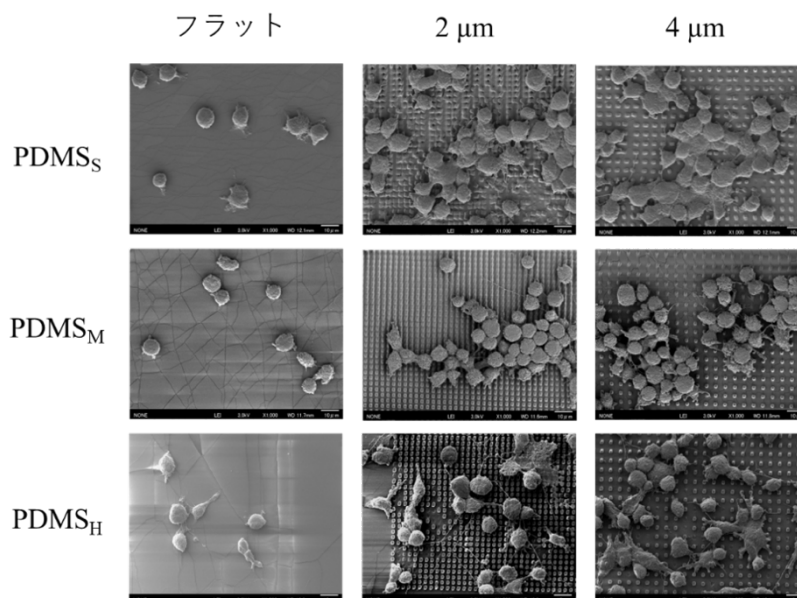


Figure 10 PDMS 足場上の細胞の SEM 画像

コントロールとして M1 マクロファージ、M2 マクロファージに分極を誘導した細胞と未処理の細胞の免疫蛍光染色画像を得た。M1 マーカーの iNOS が M1 で発現して、M2 では発現していなかった。また M2 マーカーである CD206 が M2 では発現しており、M1 では発現していなかったことより、同条件にて染色された PDMS 足場上の細胞の免疫蛍光染色画像を Figure 11、Figure 12 に示す。突起のある部位に細胞が密集しており、フラットな表面上に接着した細胞と比較して、M1 マーカーである iNOS が発現している細胞が多かった。また、M2 マーカーである CD206 はどの条件においても発現していなかった。PDMS 足場の硬さによって iNOS の発現が異なり、柔らかいほど多くの細胞が M1 へ分極していた。PDMS 足場の表面形状による iNOS の発現の違いは確認できなかった。PDMS の硬さや表面形状が PDMS 上の細胞の形状に影響を与えていることがわかった。フラットな PDMS と比べて突起の形成された領域では多くの細胞が接着し、突起が

細胞の接着に影響を与えていると考えた。また、PDMS が柔らかいほど細胞が密集していることが確認できた。PDMS が硬くなるほどマクロファージの仮足は周囲の突起に伸ばされ、マクロファージは伸展した形状になることがわかった。スリッド上の微細な表面を用いた先行研究では細胞の一方向への伸長が報告されていたが、本研究の突起に接着した細胞はランダムに伸展していた。培養基材の硬さや表面形状を変化させることで細胞の接着挙動を制御できると考えた。PDMS 上の細胞は M1 マーカーの iNOS が発現していることが確認でき、M2 マーカーの CD206 はどの条件でも発現していないことがわかった。培養基材の硬さが柔らかくなるほど多くの細胞が接着するため、柔らかいほど M1 へ分極している細胞が多くなったと考えた。また、スリッド上の微細な表面を用いた先行研究では細胞の一方向への伸長は M2 への分極を誘導することが報告されていたが、本研究の突起に接着してランダムに伸展した細胞は M2 ではなく M1 へ分極しており、伸展した細胞の形状や伸長の程度が分極に影響を与えていると考えた。

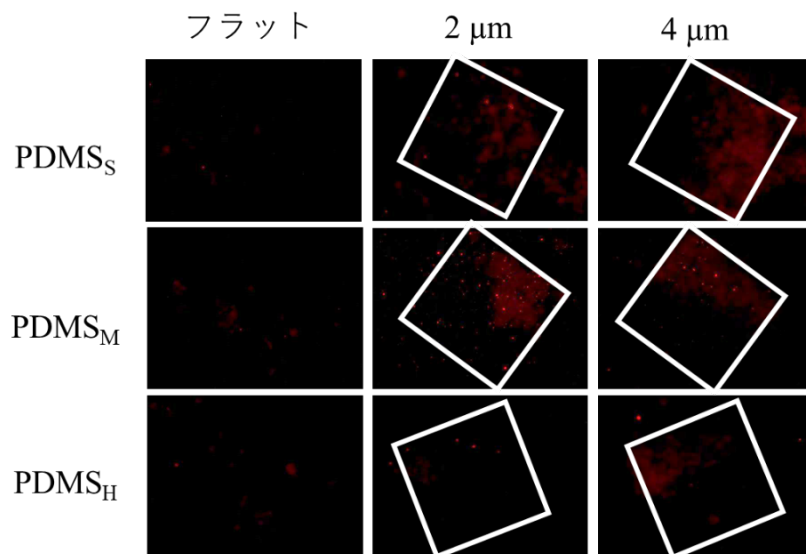


Figure 11 PDMS 上の iNOS 蛍光染色画像 (明るさ+40%, コントラスト-40%)

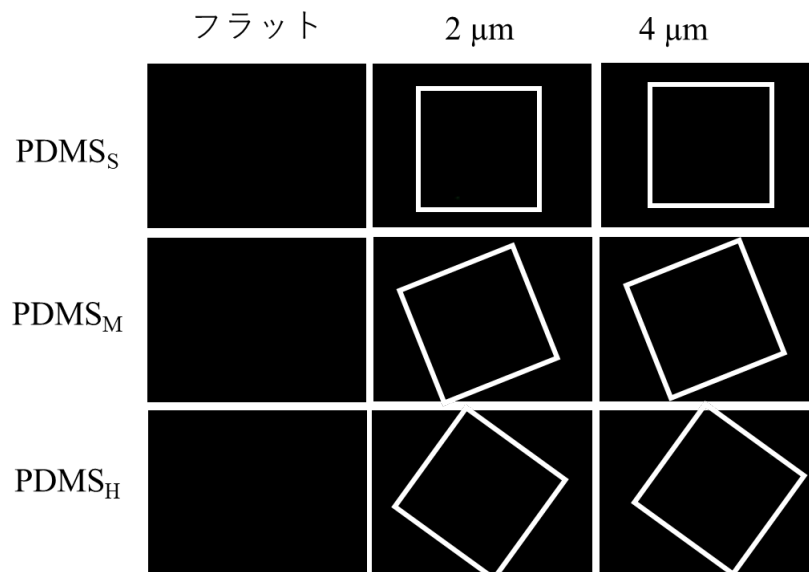


Figure 12 PDMS 上の CD206 蛍光染色画像 (明るさ+40%, コントラスト-40%)

② バイオマテリアルに対するマクロファーシジ分極の推測（機械学習の構築と学習・評価）

上記①で取得したデータを用いて機械学習を行い、バイオマテリアルに対するマクロファーシジの応答性予測の実行可能性を明らかにすることを目的とした。評価用データセットとしてマクロファーシジの応答性が未知のサンプルの材料特性を用い、未知サンプルに対するマクロファーシジ応答性を機械学習で推測するシステムを構築した。脱細胞化小腸上の細胞は死滅したため、今回のシステム構築には使用しなかった。また、本研究で作製した PDMS 足場上で培養したマクロファーシジは M1 のみに分極したため、Luu, T.U.らの論文で報告されていた足場と分極の情報も利用することとした。しかしながら、Luu, T.U.らの報告には硬さ情報が含まれていなかったため、今回のモデルの構築には、形状の情報のみを用いた。

バイオマテリアル上の突起の直径、突起と突起の x 軸方向の間隔、y 軸方向の間隔の 3 つの特徴量からマクロファーシジの表現型 M1、M2 の 2 つのクラスに分類するためのロジスティック回路モデルを作製した。学習用のデータの作製として、特徴量の実際のデータをそれぞれ変数に読み込ませ、その後、特徴量を結合して特徴量行列 feature を作製した。M1 と M2 のクラスラベルは、変数に読み込ませた後、学習のために M1 は 0、M2 は 1 として数値化した。学習用のデータ feature とクラスラベル labels を使ってモデルの学習を行い、新しいデータをどちらかのクラスに分類するための最適な予測モデルの構築を行った。架空の特徴量の数値を入力した場合に、入力された数値から予測を行い、M1 および M2 のどちらかのクラスを表示するシステムを構築できた。

・今後の取り組み・まとめ

本研究では、表面形状と硬さを変化させた種々の培養基材を作製し、培養基材上におけるマクロファーシジの分極状態を明らかにすること、さらに AI 技術によるバイオマテリアルに対するマクロファーシジ分極の推測を行うことを目的とした。培養基材のポジティブコントロールとして表面に特徴的な凹凸を有する脱細胞化小腸を調製したが、薬剤の影響によりマクロファーシジの分極の評価までには至らなかった。脱細胞化組織の調製に関して今後さらに条件検討を行い、生体内での環境を模倣した表面のデータの取得を行う予定である。また、小腸だけでなく、マクロファーシジなどの免疫系が関与する組織を中心に、組織の種類を増やす予定である。表面構造が段階的に異なるサンプルとして、形状と硬さを段階的に変化させた培養基材の作製を行い、作製した培養基材上でマクロファーシジを培養して細胞の挙動を評価した。表面形状や硬さの複数のパラメータにより、細胞の形状や凝集の挙動が異なることがわかり、一定のデータは得られたと考える。一方、プロトンビームを用いた微細加工の制限により、形状のパターンが 2 種類のみしか作製できず、かつ、マクロファーシジ分極も M1 に偏ってしまう結果となった。分極を推測する学習モデルの構築には情報が不足していると考えており、現在、異なる手法で PDMS 足場の作製に取り組んでいる。また、今後は、間隔の異なるピラー形状だけでなく、先行研究で報告されているようなスリット状などの形状も作製する予定である。さらに、本研究では、足場表面にコラーゲンコーティングを行ったものの、細胞接着のためのコーティングにはコラーゲンの他にラミニンやビトロネクチンなどの種々のタンパク質が用いられているため、成分に関しても種類を増やす予定である。本研究では、分極を推測可能な予測モデルの構築にあたり、形状のみを入力データとして用いるに留まっている。材料特性の複合的な指標からの予測には至っておらず、マクロファーシジの分極度とバイオマテリアルの表面特性の複合的な指標との関係性を今後明らかにする予定であ

る。形状パターンや硬さ、表面の成分等の種類を増やし、複数の指標を学習されることにより、より正確な予測が可能になると考える。また、形状パターンや硬さ、表面の成分等を示す情報として、どのようなデータが特徴量として重要であるかを分析することにより、マクロフェージ分極に影響する表面特性の重要度を明らかにすることが可能になると考える。

・謝辞

本研究を進めるにあたり、ご支援を賜りました一般財団法人サムコ科学技術振興財団に心より感謝申し上げます。

・参考文献

- 1) Frances Y. McWhorter et al., Modulation of macrophage phenotype by cell shape, PNAS, 2013, 110(43),17253-17258
- 2) Luu, T.U., et al., Micro- and Nanopatterned Topographical Cues for Regulating Macrophage Cell Shape and Phenotype, ACS Applied Materials and Interfaces, 2015, 7(51), 28665-28672
- 3) Sridharan, R., et al., Material stiffness influences the polarization state, function and migration mode of macrophages, Acta Biomaterialia, 2019, 89, 47-59

・発表論文・特許出願等

- 1) 植松大, Nitipon Puttaraksa, 西川宏之, 中村奈緒子. 材料の表面形状と硬さのマクロフェージ分極への影響の解明に関する研究, ライフサポート学会第 33 回フロンティア講演会, 埼玉, 3月 6-7 日, 2024
- 2) 植松大, 帆足和希, 樋口亮平, Nitipon Puttaraksa, 西川宏之, 中村奈緒子. 機械学習を用いた硬さの異なる基材上のマクロフェージの表現型識別, 第 23 回日本再生医療学会総会, 新潟, 3月 21-23 日, 2024 ※優秀演題賞受賞

研究課題 Research Project	タンパク質ハイドロゲル薄膜を用いたミトコンドリアの保護技術開発 Protection of <i>in situ</i> mitochondria with protein hydrogel layers		
研究代表者 Research leader	中村 秀樹 Hideki Nakamura		
所属機関名 Affiliation	京都大学 Kyoto University	役職名 Position	特定准教授 Associate Professor

・研究概要 (Abstract)

われわれの細胞の内部には無数の構造体が詰まっている。これらの中でも細胞内小器官は生命維持に必須の役割を担い、多くの疾患で機能不全が見られることから治療標的の候補として期待される。しかし、細胞内小器官の働きを精密に測定・制御することは未だ困難であり、新たな治療戦略開発の障壁となっている。その最大の要因は、細胞内小器官をそのままの形で細胞外に取り出すことが難しいことにある。そこで本研究では、申請者の先行研究結果を基に、細胞内小器官を生きのままハイドロゲル薄膜で保護する技術を開発する。ゲル薄膜の保護作用によりミトコンドリアなどの小器官を生理的条件下のまま単離することを可能にし、細胞内小器官研究の新たな地平を拓く。

Cell, the minimal unit of life, is packed with countless micrometer-sized structures. Among them, intracellular organelles play essential roles in maintaining life. They are dysfunctional in many diseases, and thus are promising therapeutic targets. However, precise measurement of the functions of most intracellular organelles is still out of reach, which makes it challenging to develop new therapeutic strategies. The most urgent technical challenge is to isolate intracellular organelles of interest from the cell in their intact forms. In the current research, I will develop a technology to protect intracellular organelles with a thin hydrogel film surrounding them, based on the applicant's previous results. The protective effect would enable isolation of organelles such as mitochondria with intact morphology and function, pioneering novel analyses of intracellular organelles.

・研究目的

本研究では、細胞内小器官の代表例であるミトコンドリアを標的に、細胞内小器官を生き細胞内部での状態を保ったまま単離する技術の開発を目指す。申請者の先行研究結果を基に、タンパク質の“ハイドロゲル薄膜”を用いてミトコンドリアを選択的に保護することで、細胞の破碎・溶解プロセスにおけるミトコンドリアのダメージを最小化することを基本戦略とする。

本研究では、タンパク質でできたハイドロゲル薄膜を利用したミトコンドリア単離技術の開発を目指す。研究助成期間内ではまずその第一歩として、以下の2つの課題を達成する。

課題①：生きた細胞内のミトコンドリア表面をタンパク質ハイドロゲル薄膜で覆う技術の開発

本研究では、iPOLYMER ポリペプチド鎖のうち一方もしくは両方をミトコンドリア表面に移行させた状態でハイドロゲルを形成させ、ミトコンドリア表面をハイドロゲル薄膜で覆う技術を開発す

る。iPOLYMER と並行して、タンパク質間を共有結合で架橋する他の技術を用いたハイドロゲル薄膜についても検討する。蛍光ライブセルイメージングによってミトコンドリアとその表面に形成されるハイドロゲルを観察し、ハイドロゲル薄膜の形成を確認する。

課題②：ハイドロゲル薄膜による被覆がミトコンドリアに与える影響の検討

ハイドロゲル薄膜によるミトコンドリアの被覆は、ミトコンドリアを保護するというプラスの効果だけでなく、その機能や形態を変化させてしまうというマイナスの効果を生む可能性も否定できない。そこで本研究では、単にハイドロゲル薄膜でミトコンドリアを覆うだけではなく、覆われたミトコンドリアが正常に機能しているかどうかを検証する。

・研究内容・成果

先行研究において、生きた細胞内にタンパク質を素材とするハイドロゲル凝縮体を刺激依存的に形成する技術 iPOLYMER を発表した(Nakamura, Lee et al, *Nat. Mat.* 2018)。iPOLYMER は、小分子化合物や光刺激依存的にヘテロ二量体を形成する2つのタンパク質をそれぞれタンデムに連結した2つのポリペプチド鎖を用いる。細胞外からの刺激に応答して、iPOLYMER ポリペプチド鎖は分子ネットワークを形成し、生きた細胞に顕微鏡観察可能なマイクロメートルサイズのハイドロゲル凝縮体を生じる。先行研究では、mRNA 結合ドメインを iPOLYMER ペプチド鎖に融合し機能化することで、ストレス条件下で細胞質内に形成される生理的凝縮体、ストレス顆粒の人工的な再構成に成功した。

しかし iPOLYMER は比較的凝縮体形成の効率が低く、細胞質という細胞内最大のコンパートメント内では細胞間での凝集体形成効率のばらつきが大きいという問題があった。この問題を回避する方法として、iPOLYMER ポリペプチド鎖の一方、もしくは両方を生体膜のような2次元空間に濃縮するシステムを用いるという着想を得た。このような濃縮によって、ポリペプチド鎖同士の遭遇確率は増大し、実効的なポリペプチド鎖濃度を飛躍的に上昇させることができる。この濃度上昇を利用して凝集体形成の効率を改善し、同時に2次元的なハイドロゲル薄膜を形成することで、従来の不定形な3次元凝縮体とは違った応用が可能となると考えた。

本研究ではこのアイデアを実証するための実験系として、ミトコンドリア外膜へのタンパク質集積を用いる。ミトコンドリアは、細胞のエネルギー代謝などの重要な機能を有する古典的オルガネラであり、ミトコンドリア病と称する一群の疾患群において顕著な機能低下が見られることから、疾患の理解や治療戦略開発において重要なターゲットである。しかし現状では、ミトコンドリアの機能を、自由度の高い試験管内の実験系での精密に解析することは実現されていない。最大の技術的障壁は、ミトコンドリアの細胞内における形態や分子構成、機能を保ったまま分離・精製することができない点にある。ミトコンドリアの単離は、通常温和な条件で細胞を溶解もしくは破碎してから、細胞抽出液を遠心分離することで行う。ところが、細胞の溶解・破碎のプロセスでミトコンドリアそのものの膜も破壊されてしまい、単離されたミトコンドリアの形態や機能は細胞内と大きく異なる。

そこで本研究では、この精製過程において、ミトコンドリアを物理的に保護することでミトコンドリアの形態・機能を保持したままの精製を実現することを目標とした。具体的には、前述の iPOLYMER や新規開発技術を用いて、ミトコンドリア表面にタンパク質のハイドロゲル薄膜を形成する実験系を確立する。ミトコンドリア外膜の表面にハイドロゲルの素材となるタンパク質を集

積させ、膜上での凝縮体形成を促進することでハイドロゲル薄膜形成を実現しようと構想した。

まず、前述の iPOLYMER のうち、精製過程を通じたハイドロゲル構造の維持が容易と考えられる小分子化合物刺激を用いたものを用いて、ミトコンドリアの外膜上にハイドロゲル凝縮体を形成することが可能かを実験的に検証した。この系では、EYFP-FKBPx5 と mCherry-FRBx5 をハイドロゲルの素材となるポリペプチド鎖として用いた。小分子化合物ラパマイシンを細胞外から添加すると、FKBP と FRB が刺激依存的にヘテロ二量体を形成し、ハイドロゲル凝縮体を形成する。2つのポリペプチド鎖を細胞質全体に発現させて刺激を加えた場合、細胞質に不定形の凝縮体が多数形成されるのが観察される。形成された凝縮体は、2つのポリペプチド鎖に融合した蛍光タンパク質 EYFP・mCherry の蛍光観察で確認することができる。

上記のポリペプチド鎖をミトコンドリア外膜上に集積させる方法として、本研究では現在までに2つの方法を検討している。ひとつは、ポリペプチド鎖に直接ミトコンドリア外膜への局在シグナル配列を融合するという方法である。局在シグナル配列として、本研究ではミトコンドリア外膜に局在するタンパク質 Tom20 の N-末端付近の配列（以降では Tom- と記載）を利用する。この方法の利点は、細胞に該当タンパク質を発現させるだけで自動的にミトコンドリア外膜にタンパク質が局在するという簡便さにある。一方で、シグナル配列をもつタンパク質の発現レベルは、概して細胞質全体に同じタンパク質を発現した場合と比べて有意に低い。このため、ハイドロゲルの素材となるタンパク質の量がミトコンドリア表面全体を覆うハイドロゲル薄膜を形成するために十分でなく、結果としてミトコンドリアを保護するという目標は達成されない可能性がある。この問題を回避するのがもうひとつの方法である。この方法では、蛍光タンパク質 GFP に対する単一ドメイン抗体由来タンパク質、GFP ナノボディ（以降 GBP = GFP binding protein と記載）を用いる。GBP は、GFP 由来の蛍光タンパク質である EYFP と特異的かつ安定に結合する一方で、GFP とは異なる由来の mCherry には結合しない。このため、ミトコンドリアに局在する Tom-GBP を発現した細胞において、EYFP-FKBPx5 はミトコンドリア外膜上の Tom-GBP にトラップされて集積する一方で、mCherry-FRBx5 は Tom-GBP と直接結合することはない。さらに、EYFP-FKBPx5 は細胞質全体に発現しているため、タンパク質の総量は最大限担保される。

細胞内に Tom-GBP・EYFP-FKBPx5・mCherry-FRBx5 を発現させ、24~48 時間後に小分子化合物ラパマイシンで刺激して共焦点顕微鏡で観察する実験を行った。本研究では、タンパク質発現レベルの高さと、細胞内構造の可視化が容易であることからアフリカミドリザル由来の細胞株 COS-7 細胞を用いた。対照群として、ラパマイシンストックの溶媒である DMSO のみを添加した群では、予想されたように EYFP-FKBPx5 の一部がミトコンドリア上に集積し、細胞質の一樣なシグナルに比べ強い EYFP の蛍光シグナルがミトコンドリア上に観察された。一方、mCherry-FRBx5 は細胞質全体に一樣に分布しており、ミトコンドリア上への集積は観察されなかった。これに対して、ラパマイシン投与群では、EYFP・mCherry の蛍光シグナルがともにミトコンドリア上に集積する傾向が見られた。前述のように mCherry-FRBx5 はミトコンドリア外膜上の Tom-GBP と直接の相互作用持たないことから、この結果は EYFP-FKBPx5 と mCherry-FRBx5 がミトコンドリア外膜上で凝縮体を形成したことを示唆する。上記の3つのタンパク質に加えて、ミトコンドリアの形態マーカー（Tom-ECFP もしくは Su9-ECFP）を用いた実験で、EYFP と mCherry のシグナルがミトコンドリアマーカーの画像とよく一致することから、多くの細胞でミトコンドリア全体がハイドロゲル薄膜で覆われている可能性は十分にある。現在、このハイドロゲル薄膜の膜

上でのダイナミクスを測定することで、実際にミトコンドリア全体が安定な薄膜で被覆されているかどうか検証をすすめている。

以上の結果から、先行研究で開発した技術 **iPOLYMER** を用いてミトコンドリア表面にハイドロゲル薄膜を形成する技術の実現に大きく近づく結果を得ることができた。しかし、**iPOLYMER** によるハイドロゲルは、ミトコンドリア精製の過程で **FKBP・FRB** 間の解離がある程度起こると考えられることから、ハイドロゲル薄膜が十分に安定せず、保護作用が持続しない可能性がある。この問題を解決するためには、実質的には不可逆な結合を介してポリペプチド鎖を架橋し、不可逆的なハイドロゲル薄膜をつくる技術の開発が望ましい。

そこで本研究では、タンパク質間に共有結合を形成する技術を用いてハイドロゲルをつくる新規技術の開発にも並行して取り組んだ。いくつかある技術のうち、本研究で特に着目したのが **SpyTag/SpyCatcher** システムである(Zakeri et al, *PNAS*, 2012)。この技術は、14 アミノ酸残基の短いペプチドである **SpyTag** と、分子量 12 kDa の小さなタンパク質である **SpyCatcher** から成り、これら 2つを混合するだけで結合し、両者の間には自然に共有結合（イソペプチド結合）が形成される。この結合反応は、幅広い pH、温度、およびバッファー条件で再現性よく起こることが知られている。この技術の大きな利点は、①生きた細胞内でイソペプチド結合が形成されること、②タンパク質側鎖間で反応が起こることから、ひとつのタンパク質鎖内に複数の反応点=架橋点をデザインできることである。

まず、**SpyCatcher** と **SpyTag** をそれぞれタンデムに連結したポリペプチド鎖 **SpyCatcher x5** と **SpyTag x5** のプラスミドを構築し、COS-7 細胞の細胞質に発現した（図 1）。二つのポリペプチド鎖はそれぞれ蛍光タンパク質 **EYFP・mCherry** で蛍光標識されており（**EYFP-SpyCatcher x5・mCherry-SpyTag x5**）、細胞内での局在を顕微鏡観察することができる。この実験は、**SpyCatcher** と **SpyTag** の反応が、細胞質での両者の濃度範囲においてどの程度の速度で起こるのかを定性的に見積もることを目的とした。2つのポリペプチド鎖を単に発現させるだけで瞬時に巨視的な凝縮体が形成されてしまうのであれば、前述のように膜上に集積することで反応を加速するという戦略を適用することは難しいからである。

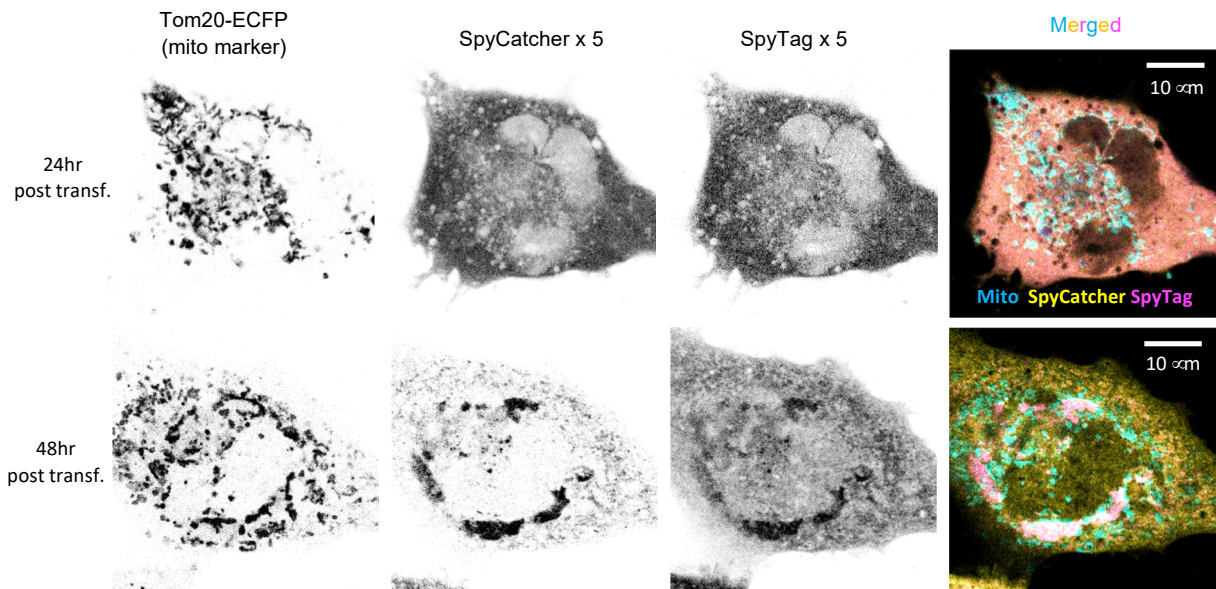


図 1： SpyTag/SpyCatcher を用いた新規細胞内凝縮体形成技術の開発

トランスフェクション後 24 時間に共焦点顕微鏡による観察を行ったところ、EYFP・mCherry の蛍光シグナルは細胞全体に一樣に分布しており、2つのポリペプチド鎖は少なくとも 24 時間以内には巨視的な凝縮体を形成していないことが分かった (図 1 上段)。この結果から、分から時間程度の時間スケールで凝縮体形成を操作する実験系を確立することができれば、十分にミトコンドリアを保護するハイドロゲル薄膜の形成と、将来的なミトコンドリア単離精製への応用が可能と考えられる。

さらに長い時間スケールでのポリペプチド鎖の挙動を明らかにするため、トランスフェクション後 48 時間でも顕微鏡観察を行った。この時点では、一部の細胞で EYFP と mCherry が周囲に比べて高いシグナル強度で共局在した構造が確認された (図 1 下段)。つまり 48 時間後には、2つのポリペプチド間で SpyCatcher・SpyTag 間のイソペプチド結合が形成され、巨視的な凝縮体となっていることが分かる。これらのシグナルは細胞核を取り巻く核周辺領域に存在していた。この細胞内局在が、単純にハイドロゲル凝縮体が成長して、厚みのある核周辺の細胞質にしか格納できなくなった結果か、それとも細胞自体が通常は見られない凝縮体の形成を何らかの機構で感知・反応して核周辺に「回収」した結果かは今後の検討を要する問題である。

以上の結果から、SpyTag/SpyCatcher システムを基盤とする新規技術は、生きた細胞内という環境において巨視的な凝縮体を形成することが示唆された。より詳細かつ正確な理解のためには、形成された凝縮体がハイドロゲル特性を有するかなど、今後より厳密な解析が必要である。

膜表面上への素材タンパク質の集積という前述の戦略によって、この新規技術による凝縮体形成の効率化にも適用され得るのかを探るため、さらに予備的な実験を行った。ここでは、Tom20 タンパク質の N-末端配列を利用して、一方のポリペプチド鎖をミトコンドリア外膜上に局在させる手法を用いた。COS-7 細胞に Tom-EYFP-SpyCatcher x5・mCherry-SpyTag x5、さらに独立なミトコンドリア形態マーカーである Tom-ECFP を共発現し、24 時間後に蛍光観察を行った。

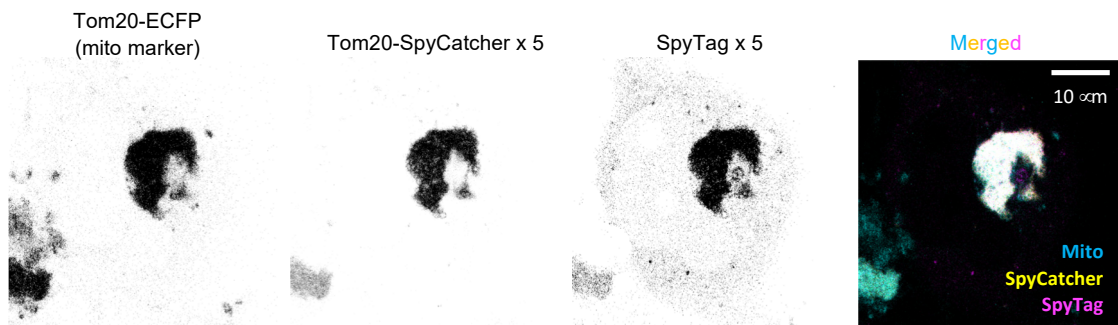


図 2： SpyTag/SpyCatcher 凝縮体のミトコンドリア膜上における形成

観察の結果、大部分の細胞において Tom-EYFP-SpyCatcher x5 と mCherry-SpyTag x5 は細胞核に隣接する核周辺領域の一箇所に固まって共局在し、周囲の細胞質からのシグナルは非常に低いことが分かった (図 2)。2つの SpyCatcher・SpyTag ポリペプチド鎖のうち局在化配列 Tom-によってミトコンドリアに直接集積されているのは Tom-EYFP-SpyCatcher x5 のみであることから、mCherry-SpyTag x5 の共局在は SpyCatcher-SpyTag 間のイソペプチド結合による凝縮体形成が起こっていることを示唆する。さらに、この凝縮体形成が細胞質全体に 2つのポリペプチド鎖を発現した実験では巨視的な凝縮体が見られないトランスフェクション後 24 時間の時点で明確に確認で

きることから、一方のポリペプチド鎖をミトコンドリア外膜上に集積させることで凝縮体形成過程が加速されていることが分かる。今後は、膜上への集積過程の時空間解像度を上げてより詳細な検討を行うため、小分子化合物や光刺激によるタンパク質ヘテロ二量体化技術を用いたミトコンドリア外膜上へのポリペプチド鎖集積を採用してさらなる解析を行う予定である。

興味深いのは、**SpyTag/SpyCatcher** ポリペプチド鎖との間に直接の相互作用を持たないミトコンドリア形態マーカー、**Tom-ECFP** の蛍光シグナル分布が、上記の凝縮体とほぼ完全に一致するという点である。現在のところ何が起きているか十分に理解できていないが、細胞がミトコンドリア表面で **SpyTag/SpyCatcher** による凝縮体が形成されたことを何らかの形で検知して、ミトコンドリア自体が核周辺領域に集める機構が作用しているのではないかと解釈している。この現象はミトコンドリア単離精製への応用に大きく影響しうることから、今後の研究を通じて理解を深めていく必要があると考えている。

以上の結果から、本研究で得られた成果を以下にまとめる。

1. 先行研究で開発した技術 **iPOLYMER** を、タンパク質の膜上への集積と組み合わせることで、ミトコンドリア外膜上で水ゲル薄膜を形成する実験系の開発に成功したことを示唆する結果を得た。
2. **SpyTag/SpyCatcher** システムを基盤として、共有結合によるより安定な凝縮体を形成する新規技術を開発し、このシステムが生きた細胞内で動作しうること、膜上への集積による凝縮過程の効率化という戦略との組み合わせが可能であること、を示唆する結果を得た。
3. 一部の実験において、ミトコンドリアでの凝縮体形成が、細胞によるミトコンドリアの「回収」を誘起する可能性を示唆する結果を得た。

・今後の取り組み・まとめ

本研究の成果を受けて、今後解明すべき点を以下に挙げる。

1. 本研究で開発した **iPOLYMER** を用いたミトコンドリア被覆水ゲル薄膜形成技術について、現段階では形成された凝縮体の安定性、もしくは実際に水ゲルとしての特性を有するかという点は検討されていない。
2. 同じく本研究で開発した **SpyTag/SpyCatcher** を用いた水ゲル薄膜形成技術についても、1と同様に凝縮体の物性は検討できていない。
3. 特に **SpyTag/SpyCatcher** を用いた実験系で、ミトコンドリア表面で凝縮体形成を行った時、ミトコンドリアが細胞内の局所に「回収」されるという現象が見られたが、この現象の詳細は不明である。

これらの疑問を解消するため、今後以下のような実験的検討を行う。番号は上記の疑問点に対応している。

- ① **iPOLYMER** 実験系において、形成された凝縮体上の蛍光タンパク質 **EYFP** および **mCherry** を標的に、蛍光退色法 (**FRAP**) 実験を行い、ポリペプチド鎖のターンオーバーを定量化する。志向するミトコンドリア保護に資する水ゲル薄膜としての性能を有するためには、蛍光回復が遅く安定な水ゲルであることが必須である。対照群として一方のポリペプチド鎖を **FKBP** もしくは **FRB** のタンデム結合ではなく、単一ドメインとしたものを用いる。
- ② **SpyTag/SpyCatcher** 実験系では、まずミトコンドリア膜上への集積の方法を検討し、より時間

分解能の高い方法で一方、もしくは両方のポリペプチド鎖を刺激依存的に集積させる実験系を確立する。この実験系を用いて、①と同様の FRAP 実験を行い、安定な凝縮体膜が形成されていることを確認する。並行して、精製タンパク質や細胞から単離した凝縮体を用いた *in vitro* 実験を行い、本当にハイドロゲル様の凝縮体が形成されていることを確認する。

③ この実験系において、オートファジーマーカー LC3 や p62 に対する免疫染色、電子顕微鏡による膜構造の有無などの解析を行い、「回収」されたミトコンドリアの生物学的な状態を理解する。もしこの現象が、ハイドロゲル薄膜で保護したミトコンドリアの単離・精製過程に影響すると予想される場合、抑制剤などの使用によりこの影響を解消する方法を考察する。

これら、より詳細な現象の解析と並行して、ミトコンドリア表面での凝縮体形成を誘導した実験系において、実際にミトコンドリア単離・精製操作を行い、単離されてくるミトコンドリアの形態・機能の検討を行う。一般的なプロトコルに加えて、Streptolysin O や Lysteriolysin O などのタンパク質性の pore-forming toxin を用いたプロトコルを検討し、できる限り生きた細胞内の状態に近い形でミトコンドリアを単離・精製する技術を開発する。

・謝辞

本研究を進めるにあたり、ご支援を賜りました一般財団法人サムコ科学技術振興財団に心より感謝申し上げます。本研究で開発した実験系は、技術として萌芽期にあり、将来的な発展性を長期的な視点で評価していただきご支援いただいたことで初めて開発が可能となりました。

また、本研究を遂行する研究環境を提供していただいた、京都大学工学研究科の浜地格教授・同野中洋特定准教授に感謝します。

・参考文献

"Intracellular production of hydrogels and synthetic RNA granules by multivalent interactions"

Nakamura H*, Lee AA*, Afshar AS, Watanabe S, Rho E, Razavi S, Suarez A, Lin Y-C, Tanigawa M, Huang B, DeRose R, Bobb D, Hong W, Gabelli SB, Goutsias J, Inoue T. (*equally contributed)
Nature Materials (2018), 17(10):79-89, doi: 10.1038/nmat5006.

"Peptide tag forming a rapid covalent bond to a protein, through engineering a bacterial adhesin"

Zakeri H, Fierer JO, Celik E, Chittock EC, Schwartz-Linek U, Moy VT, Howarth M
PNAS (2012), 109(12):E690-697, doi: 10.1073/pnas.1115485109.

研究課題 Research Project	自己組織化エレクトレットを用いた集積化静電MEMS振動エネルギーハーベスタの開発 Development of Integrated Electrostatic MEMS Vibration Energy Harvesters with Self-Assembled Electrets		
研究代表者 Research leader	山根 大輔 Daisuke Yamane		
所属機関名 Affiliation	立命館大学 大学院理工学研究科 Ritsumeikan University, Graduate School of Science and Engineering	役職名 Position	准教授 Associate Professor
共同研究者 Collaborator	田中 有弥 Yuya Tanaka		
所属機関名 Affiliation	群馬大学 大学院理工学府 Graduate School of Science and Technology, Gunma University	役職名 Position	准教授 Associate Professor

・研究概要 (Abstract)

本研究の目的は「集積化静電 MEMS 振動エネルギーハーベスタ技術の創出」であり、荷電処理不要の自己組織化エレクトレットを用いて、静電型の微小電気機械システム (MEMS) 振動発電素子 (振動エネルギーハーベスタ)、センサ、集積回路 (LSI) などを半導体微細加工プロセスで同一基板上にワンチップ化する基盤技術の開拓を目指す。サイバー・フィジカル・システム実現へ向けて小型無線センサ端末の爆発的な増加が進む近年、昼夜/屋内外を問わず自己給電可能なセンサ端末の汎用化・生産性向上は必須である。これまでに、任意の LSI 上に半導体プロセスで静電 MEMS 振動エネルギーハーベスタをワンチップ集積する技術は国内外に前例がなく、本提案は世界に先駆けた研究である。本研究の将来展開として、チップレベルでセンサ・回路・エネルギーハーベスタを融合し、あらゆる生活環境下で自己給電・自律動作を実現する学問領域「集積化 MEMS エネルギーハーベスティング」を構築する。

The objective of this research is to create integrated electrostatic MEMS vibration energy harvester technology. We aim to develop a fundamental technology to integrate electrostatic micro-electromechanical systems (MEMS) vibration energy harvesters, sensors, and integrated circuits (LSI) into a single chip on the same substrate using semiconductor microfabrication processes, using self-assembled electrets that do not require any charging process. Recently, the number of small wireless sensor nodes has been exploding toward the realization of cyber-physical systems, and it is necessary to achieve versatility and productivity in sensor nodes that can be self-powered day and night, indoors and outdoors. There has been no previous technology in either domestic or overseas to integrate an electrostatic MEMS vibration energy harvester on a single chip in a semiconductor process on arbitrary LSIs, and

this proposal is a world-leading project. As a future development of this research, we will establish "Integrated MEMS Energy Harvesting," a field of academic study that integrates sensors, circuits, and energy harvesters at the chip level to realize self-powered and autonomous operation under all kinds of living environments.

・研究目的

近い将来に予想される 1 兆個規模のセンサ社会において、大量のセンサ端末に有線給電や電池搭載・交換作業は非現実的なため、小型無線 IoT センサ端末用に電池・配線・利用環境がフリーで回収不要の自己給電技術が不可欠である。

そこで近年、微小環境エネルギーを収集し、昼夜問わず屋内外で発電可能な環境振動発電素子（振動エネルギーハーベスタ）が注目されている。なかでも、半導体微細加工技術を用いる微小電気機械システム（MEMS）振動エネルギーハーベスタは素子小型化が可能であり、世界的に研究・開発が活発である[1]。

従来の静電 MEMS 振動エネルギーハーベスタは、エレクトレットの成膜や荷電処理時に高温や高電圧の印加が必要であり、一般的な集積回路（LSI）や半導体/MEMS センサと同一基板上に製造し、ワンチップ集積化することが困難であった。

本申請に先立ち、申請者らは、自己組織化エレクトレット（SAE）[2]を用いた静電 MEMS 振動エネルギーハーベスタである SAE-MEMS エネルギーハーベスタの発電実証に成功した[3]。SAE は荷電処理が一切不要のエレクトレットであり、常温の半導体プロセスで形成できる。今後は提案素子に最適なエレクトレット材料の選定が必要である。また、発電出力向上のための SAE 厚膜化技術や、SAE 電界分布の解明・モデル化、および、SAE 膜形状の制御によるエネルギーハーベスタ設計技術の確立も必要である。そこで、本研究の目的は「集積化静電 MEMS 振動エネルギーハーベスタ技術の創出」とし、当該研究期間中の目標は「集積化静電 MEMS 振動エネルギーハーベスタの設計技術の創出」とした。

・研究内容・成果

●研究項目 1：SAE 形状・表面電位の評価サンプルの設計・試作・評価

【提案手法】

各種基板上に装着および脱離可能なスルーホール構造を用いて、マイクロパターン SAE（マイクロ SAE）の表面形状や表面電位を評価する。

【成果概要】

これまでは、スルーホール構造が MEMS 素子に組み込まれて基板と接着していたため、マイクロ SAE を直接観測することができなかった。そこで本研究では、SAE 成膜後にスルーホール構造を取り外して SAE 膜を直接観察・評価可能なテストチップ（図 1）を新たに提案・開発した。スルーホール構造は、薄膜化した Si 基板にシリコン深堀加工で貫通孔（スルーホール）を形成して実現した。スルーホールは正方形形状として、その寸法や隣接するスルーホールとの距離を変えたサンプルを複数個試作した。スルーホール構造と基板は、ポリイミド製のスペーサを介して接着膜で固定した。基板は Si 基板以外にも透明電極膜（ITO：酸化インジウムスズ）を成膜したガラス基

板も用いた。SAE 成膜以外の製造工程は、立命館大学内のクリーンルームおよび半導体微細加工装置などを用いて実施した。ここで、本助成金を用いて、真空装置の増設、半導体微細加工装置の機能追加、実験試薬・Si ウェハ・各種消耗品の購入を実施し、実験を滞りなく進めることができた。SAE の成膜は、群馬大学の真空蒸着装置（共同研究者・群馬大学 田中が所有）を利用した。SAE 蒸着後の表面電位は、群馬大学のケルビンプローブ（共同研究者・群馬大学 田中が所有）を用いて評価した。表面電位を精密測定するため、テストチップは蒸着装置と接続したグローブボックス（ケルビンプローブ用チャンバとも接続している）を介してケルビンプローブ評価系へ搬送し、大気や紫外線への曝露を防いだ。また、表面電位評価後のマイクロ SAE について、立命館大学の電子顕微鏡（SEM）やレーザ顕微鏡を用いて表面形状を評価した。ここで、SAE は透明材料であるため、SAE 上に SAE 膜厚より十分薄い Al を成膜し、各種顕微鏡を用いた観察を可能とした。

成果①：テストチップを用いて、スルーホール構造でパターニングしたマイクロ SAE の表面形状の顕微鏡観察に初めて成功した[4,5]（図 2）。正方形のスルーホール形状を転写したマイクロ SAE 膜が形成されていることがわかる。スルーホール寸法とマイクロ SAE 膜寸法に差が生じている。例えば、サンプル B はサンプル A と比較してスルーホールの間隔が半分であり、成膜したマイクロ SAE の一部が重なっていることがわかる。隣接するマイクロ SAE が重なり合うことは必ずしも欠点ではなく、この構造を活かしたデバイス設計も可能である。このようなスルーホール寸法とマイクロ SAE 寸法の差異は、蒸着時のテストチップの位置や蒸着装置の回転機構などにより予測可能であることも本実験で明らかにした。今回、レーザ

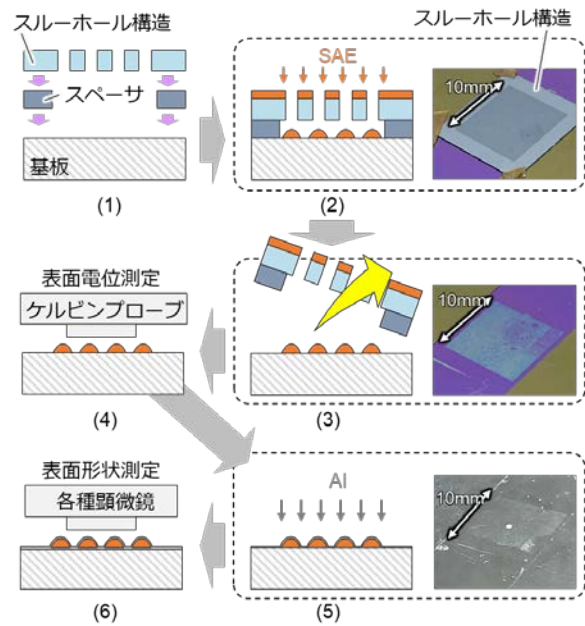


図 1. テストチップ試作・評価の概要

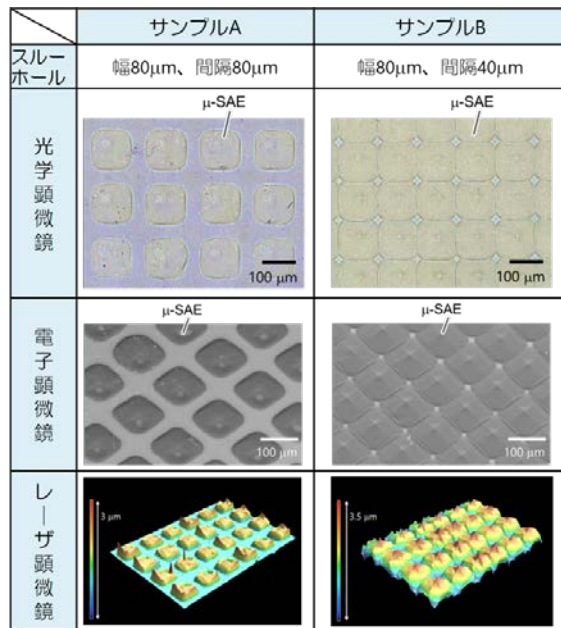


図 2. マイクロ SAE 観察結果

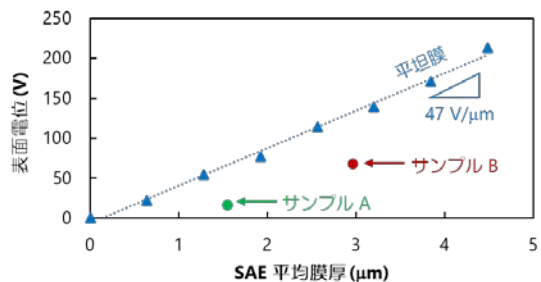


図 3. SAE 表面電位測定結果

顕微鏡も用いることで、スルーホール構造を介して成膜したマイクロ SAE の表面プロファイルも定量的に取得できた。これまでは MEMS 内に形成されたマイクロ SAE の形状を予想してデバイス設計を進めていたが、本成果により、従来よりも正確な SAE-MEMS エナジーハーベスタ設計が可能となる。また、平均膜厚の異なるマイクロ SAE を試作・評価することで、マイクロ SAE の平均膜厚と表面電位が比例関係であることを示唆する実験結果も得た。これは、マイクロ SAE について、平坦膜と同様に、膜厚と表面電位が比例する可能性を示す重要な知見である。一般に、エレクトレット表面電位の増大とともに、エレクトレット型エナジーハーベスタの出力電力は増大するため、出力電力増大に向けた見通しを得た。

成果②：マイクロ SAE の実効表面電位の直接評価に初めて成功した[4,5] (図 3)。ここで表面電位の直接評価とは、ケルビンプローブなどの表面電位測定装置をマイクロ SAE 膜の直上に設置し、表面電位を測定することである。これまでは SAE-MEMS エナジーハーベスタに外部振動を印加し、可動電極と固定電極の間の負荷抵抗に流れる誘導電流（エナジーハーベスタが発電する際に生じる電流）を観測することで、間接的に SAE 表面電位を評価していた。本成果により、マイクロ SAE の実効表面電位と表面形状・膜厚の関係をより詳細に評価可能であり、SAE-MEMS エナジーハーベスタの精密設計への見通しを得た。また、例えばサンプル B の実効表面電位は実測値 68.2 V であり、SAE が従来の振動発電向けエレクトレットと同等の電気性能を有することも実験的に明らかにした。

【本項目に関する成果発表】

主要成果は原著論文 *Sensors and Materials* (2023 年 5 月公開) で発表した。また、関連成果は、国際会議 244th ECS Meeting (招待講演、2023 年 10 月)、エナジーハーベスタのフラグシップ会議である国際会議 PowerMEMS2022、PowerMEMS2023 (2023 年 12 月)、国際会議 IEEE 19th International Symposium on Electrets (ISE19) (2023 年 9 月)、国内会議 (2023 年 11 月の電気学会・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 年 11 月の機械学会・第 14 回マイクロ・ナノ工学シンポジウム、2023 年 9 月の機械学会 2023 年度年次大会、2023 年 8 月の応用物理学会集積化 MEMS 技術研究会 第 14 回集積化 MEMS 技術研究ワークショップ、2023 年 3 月の第 70 回応用物理学会春季学術講演会、2022 年 11 月の機械学会・第 13 回マイクロ・ナノ工学シンポジウム) で発表済みである。

●研究項目 2：SAE の材料選定・厚膜化

【提案手法】

本申請前まで利用していた精製済みの SAE 材料に加え、未精製の SAE 材料の利用可能性を検討する。また、表面電位増大すなわちエナジーハーベスタ発電量増大に向けて、SAE の厚膜化を実施する。

【成果概要】

我々の研究グループでは、本研究提案の採択までは主に Alq₃ という SAE 材料を用いていた。Alq₃ は有機エレクトロルミネッセンス (EL) 用発光材料として広く知られており、有機 EL 用途などで

は精製済み Alq₃を用いることが一般的であった。未精製の Alq₃は、精製済みの Alq₃と比較して、材料コストが一桁程度低くなる。しかしながら、未精製の Alq₃の表面電位評価の報告例はなく、エネルギーハーベスタへの応用例もなかった。そこで本研究では、未精製の Alq₃を用いた SAE 膜およびマイクロ SAE 膜を作製・評価し、SAE-MEMS エネルギーハーベスタの低コスト化・量産化を検討した。未精製の Alq₃を用いた実験結果の一例を図 3 に示す。この実験結果より、SAE 膜厚と表面電位の比例係数[4,6]は未精製の Alq₃と同等[2]であった。

次に、SAE 厚膜化を実施した。従来の SAE は膜厚 1 μm 以下で実験報告されていたが、今回は図 3 にも示すように、1 μm 以上の SAE 膜を成膜し、厚膜化した状態でも表面電位が膜厚に比例することを実験的に明らかにした。今回、SAE 平坦膜で 4.48 μm を成膜した際、表面電位の実測値が 200 V を超えた[4]。これは我々が知る限り、既報告の SAE 表面電位について、現時点で最も高い値であり、エネルギーハーベスタ応用時には、MEMS 素子としてサブミリ～ミリワット級の発電性能が得られることを示唆している。また、今回の SAE 厚膜化実験では、未精製の Alq₃を SAE 材料に用いたことにより、本研究予算内で実験を実施できた。また、厚膜 SAE を形成するために、蒸着装置や蒸着プロセスも微修正した。したがって、材料検討と製造プロセスの見直しにより、SAE 厚膜化を実現した。以上の成果により、未精製の Alq₃を用いることで、エネルギーハーベスタ用 SAE 材料の低コスト化および量産化について実現見通しを得た。さらに、SAE の厚膜化を実施し、厚膜状態での表面電位と膜厚の関係を明らかにすることで、エネルギーハーベスタの高出力化への見通しを得た。

【本項目に関する成果発表】

主要成果は原著論文 *Sensors and Materials* (2023 年 5 月公開) で発表した。また、関連成果は、国際会議 244th ECS Meeting (招待講演、2023 年 10 月)、国際会議 PowerMEMS2023 (2023 年 12 月)、国際会議 ISE19 (2023 年 9 月)、国内会議 (2023 年 11 月の電気学会・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 年 11 月の機械学会・第 14 回マイクロ・ナノ工学シンポジウム、2023 年 9 月の機械学会 2023 年度年次大会、2023 年 8 月の応用物理学会集積化 MEMS 技術研究会 第 14 回集積化 MEMS 技術研究ワークショップ) で発表済みである。

●研究項目 3 : SAE 電界分布のモデル化、SAE-MEMS エネルギーハーベスタ設計技術

【提案手法】

有限要素法シミュレータを用いて、SAE の電界分布解析を実施とする。また、デバイス設計のための等価回路モデルを構築し、回路シミュレータ上に実装する。

【研究結果】

有限要素法を用いたシミュレータ (COMSOL Multiphysics 6.1) を利用して、マイクロ SAE を直方体近似した解析モデルを作成し、表面電位を評価した (図 4)。今回、本助成金を用いて、シミュレータの保守などを実施できたことで、実験を滞りなく進めることができた。図 4 では、SAE 平坦膜 (基板全面に均一な厚さの SAE を成膜) と、マイクロ SAE の解析結果を示している。SAE 膜の上面から 300 μm の位置は、実際の SAE 表面電位測定でケルビンプローブが設置される高さである。シミュレーション結果と実測結果を比較し、単純化したモデル形状であっても、表面電位を概算できることを明らかにした。本成果により、例えば、SAE 膜近傍に設置した MEMS 可動電

極付近の電位も解析可能であるため、SAE-MEMS エナジーハーベスタのより精密な設計が可能となる。また、SAE-MEMS エナジーハーベスタの等価回路モデルも構築し、回路シミュレータである LTspice(無償ソフトウェア、Analog Devices 社)(図5)や Virtuoso(有償ソフトウェア、Cadence 社) 上に実装した[7,8]。図5に示すように、機械的な要素を複数の機能ブロックに分解し、各ブロックの解析モデルを等価回路として回路シミュレータ上に構築した。機械素子の設計パラメータを用いたパラメトリック解析なども可能であり、機械構造の最適化にも役立つ。図5ではエナジーハーベスタの後段に負荷抵抗のみを接続した例を示しているが、後段には任意の電気電子回路を接続して解析可能である。回路シミュレータ上に機械素子の等価回路を実装することで、エナジーハーベスタの機械的挙動(主に MEMS 素子に関係)と電氣的挙動(主に周辺回路に関係)を統合して解析可能である。実装した等価回路を用いたシミュレーション結果と、実デバイスの実測値を比較した結果、等価回路モデルの妥当性を確認できた。本成果により、エナジーハーベスタとその周辺電源管理回路を同一シミュレータ上で同時に解析可能であり、エナジーハーベスタの最適設計へ有用である。

さらに、本項目に関連する研究開発として、SAE-MEMS エナジーハーベスタの周辺回路技術も検討した。例えば、エナジーハーベスタから出力される電力が非常に小さく、出力電圧の振幅が後段の整流回路の閾値(トランジスタやダイオードの閾値)以下の場合、エナジーハーベスタで生成した電力は回収できない。そこで、従来の Si トランジスタやダイオードよりも低い閾値電圧を有し、かつ、後段回路で利用可能な電圧まで昇圧可能な低閾値整流昇圧回路を設計・試作した。提案回路は、180 nm の CMOS (Complementary Metal Oxide Semiconductor) プロセスを用いて、学外のファウンダリを利用して試作した。試作回路はセラミックパッケージに実装し、プリント基板を用いた専用の評価ボードを設計・試作して、計測装置と接続した。バッファ回路など、一部の周辺回路はユニバーサル基板等を用いて別途自作した。評価の結果、外部電源なし、すなわち、エナジーハーベスタの出力電流のみを入力として、提案した整流昇圧回路が動作することを実験的に確認した。整流昇圧回路の閾値についても、設計値と同等の実測結果を得た。現在、より詳細な評価を実施中である。本回路を用いることで、従来の振動エナジーハーベスタでは電力回収困難な極微弱の環境振動下でも、電力回収できる見通しを得た。

【本項目に関する成果発表】

主要成果は原著論文 IEEJ Transactions on Electrical and Electronic Engineering E (2023 年 12 月)、Sensors and Materials (2023 年 5 月公開) で発表した。また、関連成果は、国際会議 244th ECS Meeting (招待講演、2023 年 10 月)、国際会議 PowerMEMS2023 (2023 年 12 月)、国際会議 MNC2023 (2023 年 11 月)、MNC2022 (2023

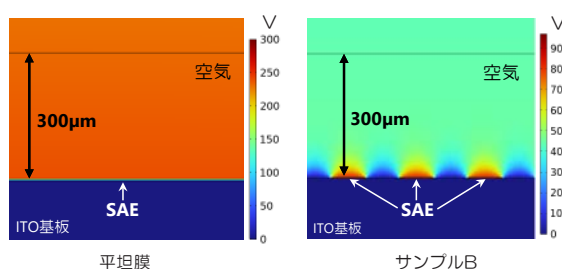


図4. SAE 電界分布解析の例

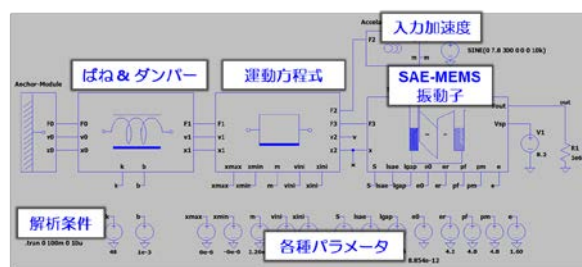


図5. SAE-MEMS 等価回路モデル

年 11 月)、国際会議 ISE19 (2023 年 9 月)、MEMS 分野のフラグシップ会議である国際会議 Transducers2023 (2023 年 6 月)、国内会議 (2023 年 11 月の応用物理学会 集積化 MEMS 技術研究会 第 15 回集積化 MEMS シンポジウム、2023 年 8 月の応用物理学会集積化 MEMS 技術研究会 第 14 回集積化 MEMS 技術研究ワークショップ) で発表済みである。

・今後の取り組み・まとめ

本研究では、荷電処理不要のエレクトレットである SAE を用いた新しい静電型 MEMS エナジーハーベスタの開発を目指した。研究目的は「集積化静電 MEMS 振動エナジーハーベスタ技術の創出」として、当該研究期間中の目標を「集積化静電 MEMS 振動エナジーハーベスタの設計技術の創出」と定めた。目標達成に向け、主に以下の三項目を実施した。

- ① SAE 形状・表面電位の評価サンプルの設計・試作・評価
- ② SAE の材料選定・厚膜化
- ③ SAE 電界分布のモデル化、SAE-MEMS エナジーハーベスタ設計技術

研究項目①では、マイクロ SAE の表面形状の顕微鏡観察と実効表面電位の直接評価に初めて成功した。また、マイクロ SAE の平均膜厚と表面電位が比例関係であることを示唆する実験結果も得た。本成果により、SAE-MEMS エナジーハーベスタの精密設計、および、出力電力増大に向けた見通しを得た。

研究項目②では、未精製の Alq_3 が精製済み Alq_3 と同程度の表面電位を有することを実験的に明らかにした。さらに、1 μm 以上の SAE 膜を成膜し、表面電位 200 V 以上の世界トップレベルの SAE 表面電位を実現した。本成果により、エナジーハーベスタ用 SAE 材料の低コスト化と量産化、および、エナジーハーベスタの高出力化への見通しを得た。

研究項目③では、有限要素法を用いたシミュレータを利用して、マイクロ SAE の簡易な解析モデルを作成し、実験結果と比較して妥当性を確認した。また、SAE-MEMS エナジーハーベスタの等価回路モデルも構築し、回路シミュレータ上に実装した。実装した等価回路を用いたシミュレーション結果について、実デバイスの実測値を比較した結果、等価回路モデルの妥当性を確認した。本成果により、有限要素法シミュレータによる MEMS 可動電極付近の電位解析も取り入れることで、SAE-MEMS エナジーハーベスタの精密な設計が可能になる。さらに、エナジーハーベスタとその周辺電源管理回路を同一回路シミュレータ上で同時に解析することで、エナジーハーベスタの最適設計の見通しも得た。

また、研究項目①～③で得た知見・技術の水平展開として、電気二重層エレクトレットを用いたエナジーハーベスタの開発[9]や、プラスチック光ファイバのセンサ応用に向けたマイクロ加工技術の開発[10]も行った。

以上より、任意の LSI 上に半導体プロセスで静電 MEMS 振動エナジーハーベスタをワンチップ集積する基盤技術について、世界に先駆けた研究成果を得た。

今後は、研究項目①～③で得た知見を利用し、MEMS エナジーハーベスタのプロトタイプを試作・評価する。プロトタイプの改良の過程で、周辺 LSI のエナジーハーベスタ基板上への集積化も実施する。また、2023 年 5 月に特許出願したエレクトレットの特性調整方法に関する新技術等も用いることで、更なる性能改善や生産性向上についても検討する。

・謝辞

本研究を進めるにあたり、一般財団法人サムコ科学技術振興財団より多大なご支援を賜わり、当初目標を達成することができました。心より感謝申し上げます。

・参考文献

- [1] H. Akinaga, *Jpn. J. Appl. Phys.* **59**, 110201 (2020).
- [2] Y. Tanaka, N. Matsuura, and H. Ishii, *Sci. Rep.* **10**, 6648 (2020).
- [3] D. Yamane, H. Kayaguchi, K. Kawashima, H. Ishii, and Y. Tanaka, *Appl. Phys. Lett.* **119**, 254102 (2021).
- [4] D. Yamane, K. Kawashima, R. Sugimoto, R. Li, H. Kayaguchi, K. Kurihara, H. Ishii, and Y. Tanaka, *Sens. Mater.* **35**, 1985 (2023).
- [5] R. Sugimoto, R. Li, Y. Tanaka, and D. Yamane, in *Proc. The IEEE 19th International Symposium on Electrets (ISE19)*, September 18-22, 2023, Linz, Austria, p. 40.
- [6] R. Li, S. Hosoi, K. Kakuno, Y. Sunagawa, A. Jingu, R. Koike, R. Sugimoto, Y. Tanaka, and D. Yamane, in *Proc. The 22nd International Conference on Micro and Nanotechnology for Power Generation and Energy Conversion Applications (PowerMEMS 2023)*, December 11-14, 2023, Abu Dhabi, UAE, pp. 45-47.
- [7] K. Tokuno, S. Kinoshita, F. Sugitani, T. Sono, Y. Tanaka, and D. Yamane, in *Proc. The 22nd International Conference on Micro and Nanotechnology for Power Generation and Energy Conversion Applications (PowerMEMS 2023)*, December 11-14, 2023, Abu Dhabi, UAE, pp. 274-276.
- [8] K. Tokuno, S. Kinoshita, H. Kayaguchi, K. Kurihara, H. Ishii, Y. Tanaka, and D. Yamane, *IEEJ Tras. Electr. Electron. Eng.*, **19**, (online published: Dec. 27, 2023)
- [9] K. Nota, K. Tamura, K. Miwa, S. Ono, and D. Yamane, *IEEJ Tras. Electr. Electron. Eng.*, **18**, 1229 (2023).
- [10] T. Nakanishi, A. Kato, Y. Wada, R. Nakashima, C. Zhao, C.-Y. Lo, K. Nakamura, H. Lee, Y. Mizuno, and D. Yamane, *Jpn J. Appl. Phys.*, **63**, 028003 (2024).

・発表論文・特許出願等

【特許出願】

- [1] 出願番号：特願 2023-080453

名称：「エレクトレットを備えるデバイスの特性調整方法、デバイスの製造方法、及び、エレクトレット」

発明者：山根 大輔、田中 有弥

出願人：学校法人立命館、国立大学法人群馬大学

出願日：2023年5月15日

【査読付原著論文】

- [2] Takuto Nakanishi, Akihito Kato, Yuji Wada, Ryo Nakashima, Chenxu Zhao, Cheng-Yao

Lo, Kentaro Nakamura, Heeyoung Lee, Yosuke Mizuno, and Daisuke Yamane, “Multimode interference-based strain sensing using micro dry-etched perfluorinated polymer optical fibers,” *Japanese Journal of Applied Physics*, 63, 028003 (2024).

DOI: <https://doi.org/10.35848/1347-4065/ad1e9e>

- [3] Kyosuke Tokuno, Shohei Kinoshita, Hideyuki Kayaguchi, Keisuke Kurihara, Hisao Ishii, Yuya Tanaka, and Daisuke Yamane, “Circuit Simulator Implementation of an Equivalent Circuit Model of Self-Assembled Electret Vibrational Energy Harvesters Based on an Energy Diagram,” *IEEEJ Transactions on Electrical and Electronic Engineering E (Sensors and Micromachines)*, Vol. 19, No. 5, (Accepted: Dec. 4, 2023, online published: Dec. 27, 2023).

DOI: <https://doi.org/10.1002/tee.23982>

- [4] Keigo Nota, Kentaro Tamura, Kazumoto Miwa, Shimpei Ono, and Daisuke Yamane, “Demonstration of Non-Contact Out-of-Plane Vibration Energy Harvesting using an Electric-Double-Layer Electret,” *IEEEJ Transactions on Electrical and Electronic Engineering*, vol. 18, issue 7, pp. 1229-1231, July 2023 (Available online: March 2, 2023).

DOI: <https://doi.org/10.1002/tee.23795>

- [5] Daisuke Yamane, Kosuke Kawashima, Reiki Sugimoto, Ruichen Li, Hideyuki Kayaguchi, Keisuke Kurihara, Hisao Ishii, and Yuya Tanaka, “Observation of Surface Potential of Micropatterned Self-assembled Electrets for MEMS Vibrational Energy Harvesters,” *Sensors and Materials*, vol. 35, no.6, pp. 1985-1993, June 27, 2023.

DOI: <https://doi.org/10.18494/SAM4400>

【招待講演】

- [6] Daisuke Yamane and Yuya Tanaka, “SAE-MEMS Technology for Electrostatic Vibrational Energy Harvesters,” in *Proc. 244th ECS Meeting, Gothenburg, Sweden, October 8-12, 2023*.

【国際会議発表】

- [7] Ruichen Li, Satoru Hosoi, Kyoichi Kakuno Yuichiro Sunagawa, Ayato Jingu, Ryo Koike, Reiki Sugimoto, Yuya Tanaka and Daisuke Yamane, “INVESTIGATION OF THE RELATIONSHIP BETWEEN SURFACE POTENTIAL AND FILM THICKNESS OF MICRO-PATTERNED SELF-ASSEMBLED ELECTRETS,” in *Proc. The 22nd International Conference on Micro and Nanotechnology for Power Generation and Energy Conversion Applications (PowerMEMS 2023), December 11-14, 2023, Abu Dhabi, UAE, pp. 45-47. (Oral)*
- [8] Kyosuke Tokuno, Shohei Kinoshita, Fumihisa Sugitani, Toshiki Sono, Yuya Tanaka and Daisuke Yamane, “AN EQUIVALENT CIRCUIT MODEL OF SELF-ASSEMBLED ELECTRET MEMS VIBRATION ENERGY HARVESTERS BASED ON AN ENERGY DIAGRAM IN HARDWARE DESCRIPTION LANGUAGE,” in *Proc. The 22nd*

International Conference on Micro and Nanotechnology for Power Generation and Energy Conversion Applications (PowerMEMS 2023), December 11-14, 2023, Abu Dhabi, UAE, pp. 274-276. (Poster)

- [9] Kyosuke Tokuno, Shohei Kinoshita, Fumihisa Sugitani, Toshiki Sono, Yuya Tanaka and Daisuke Yamane, “A Simulation Platform for SAE-MEMS Vibration Energy Harvesters using Hardware Description Language on a Circuit Simulator,” in Proc. 36th International Microprocesses and Nanotechnology Conference (MNC2023), November 14-17, 2023, Keio Plaza Hotel Sapporo, Hokkaido, Japan, 17D-2-3. (Oral)
- [10] Reiki Sugimoto, Ruichen Li, Yuya Tanaka, and Daisuke Yamane, “Evaluation of Micropatterned Self-Assembled Electrets for MEMS Devices,” in Proc. The IEEE 19th International Symposium on Electrets (ISE19), September 18-22, 2023, Linz, Austria, p. 40. (Oral)
- [11] Kyosuke Tokuno, Shohei Kinoshita, Hideyuki Kayaguchi, Keisuke Kurihara, Hisao Ishii, Yuya Tanaka, and Daisuke Yamane, “CIRCUIT SIMULATOR IMPLEMENTATION OF AN EQUIVALENT CIRCUIT MODEL OF SELF-ASSEMBLED ELECTRET VIBRATIONAL ENERGY HARVESTERS BASED ON AN ENERGY DIAGRAM,” in Proc. The 22nd International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems (TRANSDUCERS 2023), June 25-29, 2023, Kyoto, Japan, pp. 1224-1227. (Poster)
- [12] Kosuke Kawashima, Reiki Sugimoto, Ruichen Li, Hideyuki Kayaguchi, Keisuke Kurihara, Hisao Ishii, Yuya Tanaka, and Daisuke Yamane, “Direct Measurement of the Surface Potential of Micro-Patterned Self-Assembled Electrets for MEMS Vibrational Energy Harvesters,” in Proc. The 21st International Conference on Micro and Nanotechnology for Power Generation and Energy Conversion Applications (PowerMEMS 2022), December 12- 15, 2022, Salt Lake City, UTAH, USA, pp. 307-308. (LateNews, short presentation & poster)
- [13] Kyosuke Tokuno, Takahiro Naganawa, Shohei Kinoshita, Yuya Tanaka and Daisuke Yamane, “A Simulation Environment for SAE-MEMS Vibration Energy Harvesters using Electric Circuit Simulator,” in Proc. 35th International Microprocesses and Nanotechnology Conference (MNC2022), November 8-11, 2022, JR Hotel Clement Tokushima, Tokushima, Japan, 10C-3-2. (Oral)

【国内会議発表】

- [14] 砂川 優一郎, 角野 響一, 細井 覚, 李 睿宸, 杉本 滯貴, 神宮 彩人, 伊藤 蒼生, 田中 有弥, 山根 大輔, 「自己組織化エレクトレット形成のための微細キャビティ構造を有する MEMS 環境振動発電素子に関する研究」第 71 回応用物理学会春季学術講演会, 2024 年 3 月 22 日-25 日, 東京都市大学 世田谷キャンパス+オンライン[24a-12B-5].
- [15] 井上 岳, 井口 龍司, 田中 有弥, 山根 大輔, 「自己組織化エレクトレットを用いた MEMS アクチュエータのプルイン特性に関する検討」第 71 回応用物理学会春季学術講演会, 2024

- 年 3 月 22 日－25 日, 東京都市大学 世田谷キャンパス+オンライン[24p-P13-2].
- [16] 李 睿宸, 杉本 滯貴, 田中 有弥, 山根 大輔, 「MEMS 環境振動発電応用に向けた自己組織化エレクトレットのマイクロパターン化技術と表面電位評価」電気学会・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 年 11 月 6 日－9 日, 熊本県熊本市 熊本城ホール[6P3-C-4]. (口頭発表)
- [17] 角野 響一, 砂川 優一朗, 細井 覚, 李 睿宸, 杉本 滯貴, 田中 有弥, 山根 大輔, 「マイクロパターン化した自己組織化エレクトレットの電界シミュレーションに関する検討」日本機械学会マイクロ・ナノ工学部門・第 14 回マイクロ・ナノ工学シンポジウム, 2023 年 11 月 6 日－9 日, 熊本県熊本市 熊本城ホール[7P2-PN-55]. (ポスター発表)
- [18] 杉本 滯貴, 李 睿宸, 角野 響一, 砂川 優一朗, 細井 覚, 田中 有弥, 山根 大輔, 「自己組織化エレクトレット微細パターン膜の表面電位増大に向けた検討」日本機械学会マイクロ・ナノ工学部門・第 14 回マイクロ・ナノ工学シンポジウム, 2023 年 11 月 6 日－9 日, 熊本県熊本市 熊本城ホール[8P2-PN-45]. (ポスター発表)
- [19] 木下 翔平, 得能 京介, 杉谷 文恒, 曾野 記生, 山根 大輔, 「環境振動発電応用に向けた整流昇圧回路の開発」応用物理学会 集積化 MEMS 技術研究会 第 15 回集積化 MEMS シンポジウム, 2023 年 11 月 6 日－9 日, 熊本県熊本市 熊本城ホール[8P2-PM-3]. (ポスター発表)
- [20] 得能 京介, 木下 翔平, 栢口 英之, 栗原 啓輔, 石井 久夫, 田中 有弥, 山根 大輔, 「エネルギー図に基づいた SAE-MEMS VEH 等価回路モデルの実装」応用物理学会 集積化 MEMS 技術研究会 第 15 回集積化 MEMS シンポジウム, 2023 年 11 月 6 日－9 日, 熊本県熊本市 熊本城ホール[8P2-PM-4]. (ポスター発表)
- [21] 李 睿宸, 杉本 滯貴, 川島 康介, 田中 有弥, 山根 大輔, 「マイクロパターン化した自己組織化エレクトレットの電気特性に関する検討」日本機械学会 2023 年度年次大会, 2023 年 9 月 3 日－6 日, 東京都立大学, 南大沢キャンパス[J224p-05]. (ポスター発表)
- [22] 木下 翔平, 得能 京介, 杉谷 文恒, 曾野 記生, 山根 大輔, 「振動エネルギーハーベスタ応用に向けた整流昇圧回路の検討」応用物理学会集積化 MEMS 技術研究会 第 14 回集積化 MEMS 技術研究ワークショップ, 2023 年 8 月 2 日, (株)ミライズテクノロジーズ/オンライン, 愛知県日進市, P16. (ショートプレゼン+ポスター発表)
- [23] 細井 覚, 角野 響一, 砂川 優一朗, 李 睿宸, 杉本 滯貴, 田中 有弥, 山根 大輔, 「自己組織化エレクトレット微細パターン膜の評価デバイスの検討」応用物理学会集積化 MEMS 技術研究会 第 14 回集積化 MEMS 技術研究ワークショップ, 2023 年 8 月 2 日, (株)ミライズテクノロジーズ/オンライン, 愛知県日進市, P15. (ショートプレゼン+ポスター発表)
- [24] 杉本 滯貴, 川島 康介, 李 睿宸, 栢口 英之, 栗原 啓輔, 石井 久夫, 田中 有弥, 山根 大輔, 「MEMS 振動発電応用に向けた自己組織化エレクトレットの電気特性に関する検討」第 70 回応用物理学会春季学術講演会, 2023 年 3 月 15 日－18 日, 上智大学 四谷キャンパス+オンライン[16a-D215-1]. (口頭発表)
- [25] 李 睿宸, 杉本 滯貴, 川島 康介, 田中 有弥, 山根 大輔, 「自己組織化エレクトレットの 3 次元電界特性に関する検討」日本機械学会マイクロ・ナノ工学部門・第 13 回マイクロ・ナノ工学シンポジウム, 2022 年 11 月 14 日－16 日, 徳島県徳島市 アスティ徳島 (徳島県立産業観光交流センター) [16P2-PN-4]. (ポスター発表)

- [26] 杉本 滯貴, 李 睿宸, 川島 康介, 田中 有弥, 山根 大輔, 「自己組織化エレクトレットを用いた MEMS 振動エネルギーハーベスタの高出力化の検討」日本機械学会マイクロ・ナノ工学部門・第13回マイクロ・ナノ工学シンポジウム, 2022年11月14日-16日, 徳島県徳島市 アスティ徳島 (徳島県立産業観光交流センター) [15P2-PN-10]. (ポスター発表)

研究課題 Research Project	あらゆる材料に生体組織親和性を付与するアパタイト極限薄膜コーティングの開発 Development of ultra-thin apatite coating with biocompatibility		
研究代表者 Research leader	横井太史 Taishi Yokoi		
所属機関名 Affiliation	東京医科歯科大学 Tokyo Medical and Dental University	役職名 Position	准教授 Associate professor
共同研究者 Collaborator	原光生 Mitsuo Hara		
所属機関名 Affiliation	名古屋大学 Nagoya University	役職名 Position	助教 Assistant professor

・研究概要 (Abstract)

アパタイトなどのリン酸カルシウム系化合物は優れた生体組織適合性を示す。そのため、この性質を付与する目的で様々なバイオマテリアル（人工関節など）にリン酸カルシウムコーティングが行われている。ただし、厚いコーティングには剥離の懸念がある。そこで、本研究では層状構造を有するリン酸八カルシウム系化合物からナノシートを作製し、その基板上へのコーティングを試みた。その結果、リン酸八カルシウム系化合物の剪断力による物理的なデラミネーションは困難であることが分かった。一方で、リン酸八カルシウム系化合物が柔軟性を持つことを見出し、100 nm 程度のリン酸八カルシウムを曲面上にコーティングできることを明らかにした。本研究の成果は、様々なバイオマテリアルに極薄の生体適合性コーティングを形成する新しい技術として期待される。

Calcium phosphate compounds such as apatite exhibit excellent hard and soft tissue compatibility. Hence, various biomaterials (such as artificial joints) are coated with calcium phosphate to impart this property. However, there are concerns about peeling with thick calcium phosphate coatings. Therefore, in this study, we tried to create nanosheets from an octacalcium phosphate-related compounds with a layered structure and attempted to coat them on substrates. As a result, it was found that physical delamination of the octacalcium phosphate compounds by shearing force is difficult. On the other hand, we discovered that the octacalcium phosphate compound crystals have flexibility, and clarified that the octacalcium phosphate crystals with 100 nm thick can be coated on curved surfaces. These results of this study are expected as a new technology for forming ultra-thin biocompatible coatings on various biomaterials.

・研究目的

アパタイト ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) は骨や歯の無機主成分であり、硬組織だけでなく軟組織に

対しても優れた適合性を示す。そのため、生体組織適合性を付与する目的でチタン製人工股関節やシリコンゴム製経皮端子にアパタイトコーティングが行われ、精力的に研究が進められると同時に一部は実用化されている。セラミックスコーティングには剥離の問題がつきものであり、アパタイトコーティングもこの問題に直面している。例えば、先述の人工股関節にプラズマ溶射で作製した 100 μm 程度の厚いコーティングは容易に剥がれてしまう。そのため、剥がれないアパタイトコーティングの開発が強く求められている。この剥離を防ぐためにはコーティングを薄くすることが有効である。薄いアパタイトコーティングを作製する方法としてゾルーゲル法が検討されている。しかしながら、ゾルーゲル法では、コーティング過程で膜の収縮が生じるため、100 nm 以下の均一なアパタイトコーティングの作製は極めて困難である。したがって、従来は検討されてこなかった新しいアプローチによる薄くて剥がれないアパタイト極限薄膜コーティングプロセスの開発が強く求められている。

無機層状化合物（例えば、雲母など）は物理的あるいは化学的に剥離（デラミネーション）することによってナノシート化することができる。このときに得られるナノシートの厚さは 1 nm 程度と極めて薄い。リン酸カルシウム系化合物の一種であるリン酸八カルシウム（OCP, $\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ）は無機層状化合物の一種である。OCP はアパタイト層と水和層が積層した層状構造を持つ。OCP を雲母のようにデラミネーションできれば、アパタイトナノシートを得られると期待される。

本研究ではあらゆる材料に生体組織親和性を付与するアパタイト極限薄膜コーティングの開発を目指し、その第一段階である OCP をデラミネーションに挑戦する。

・研究内容・成果

①カルボン酸含有 OCP の合成、デラミネーションとコーティング作製

無機層状化合物（代表的にはハイドロタルサイトや層状チタン酸塩など）のデラミネーションは、層間に大きなアニオンやカチオンを導入して無機層間の結合力を弱めることで生じる。デラミネーションが自発的に起きる場合と、何らかの外力（剪断力など）が必要な場合がある。OCP は無機層状化合物の一種であると考えられているものの、これまでにデラミネーションに成功した例は無い。そこで本研究では最初に OCP の層間にカルボン酸を導入し、層間距離を拡大することによって層間の結合力を弱め、その後、剪断力によるデラミネーションを試みた。

層間拡張材として、OCP に導入可能な代表的なカルボン酸であるコハク酸（ $\text{HOOC}(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$ 、東京化成工業株式会社、99%）とスベリン酸（ $\text{HOOC}(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$ 、東京化成工業株式会社、99%）を用いることにした。25 mass%アンモニア水（富士フイルム和光純薬株式会社）を用いて pH を 5.5 に調節した当該カルボン酸水溶液（100 mM）100 mL に炭酸カルシウム 8 mmol（ナカライテスク株式会社、99.5%）とリン酸 5 mmol（富士フイルム和光純薬株式会社、85%水溶液）を加え、60 $^{\circ}\text{C}$ で 3 時間反応させた。生成した粉末を吸引ろ過で回収し、超純水とエタノールで洗浄したあとで 40 $^{\circ}\text{C}$ のオープン中で十分に乾燥させた。

OCP へのコハク酸およびスベリン酸の導入は X 線回折分析（株式会社リガク、MiniFlex600）によって（100）面間隔の増大（すなわち、100 回折線の低角度側へのシフト）から確認することができる。そこで、X 線回折分析で合成した試料の（100）面間隔を測定した。本測定で

は Cu K α 線 (1.5405 Å) を測定に用いた。また測定の際には内部標準物質としてフッ素金雲母 (トピー工業株式会社) を 20 mass% となるように加え、これの回折ピーク位置を基準としてピーク位置を補正してから面間隔の算出を行った。回折ピーク位置と測定に使用した X 線の波長を用いて、ブラッグの式から面間隔を求めた。その結果、コハク酸含有 OCP の (100) 面間隔は 2.1 nm、スベリン酸含有 OCP の (100) 面間隔は 2.6 nm であった。これらは報告値とよく一致していた。

加えて、フーリエ変換赤外分光分析 (日本分光株式会社、FT/IR-6200) で測定した吸収スペクトル (KBr 錠剤法) において、これらのカルボン酸のカルボキシ基由来の吸収ピークが 1550 および 1450 cm⁻¹ 近傍に検出された。また、スベリン酸含有 OCP においては 3000 cm⁻¹ 近傍にメチレン基由来の吸収ピークも検出された。

X 線回折分析と赤外分光分析の結果から、目的とするコハク酸含有 OCP ならびにスベリン酸含有 OCP を合成することができたとと言える。

得られたコハク酸およびスベリン酸含有 OCP (250 mg) を 100 mL のエタノールおよびホルムアミドに分散させ、振盪機 (DLAB、デジタルシェーカー SK-O180-Pro) を用いて 5 日もしくは 10 日間激しく振盪 (600 rpm) した。所定期間振盪後、懸濁液は白濁しており、デラミネーションが起きていたとしても完全ではないことが分かった。そこで、振盪終了後、懸濁液を 24 時間程度静置して粗大粒子を沈殿させ、透明な上澄みを回収した。回収後した上澄み液においてはチンダル現象が観察された (図 1)。チンダル現象はコロイド溶液において観察される。このことから、この上澄み液は透明に見えるものの、液中には微粒子が分散していることが期待された。そこで、得られたコロイド溶液中の粒子を原子間力顕微鏡 (株式会社日立ハイテク、AFM100Plus) にて観察した。

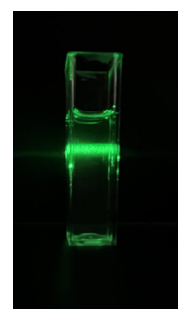


図 1. コハク酸含有 OCP をエタノールに分散させて 10 日間振盪した試料から回収した上澄み液において観察されたチンダル現象。

代表的な試料として、コハク酸含有 OCP をエタノールに分散させて 10 日間振盪した試料の原子間力顕微鏡像を図 2 に示す。原子間力顕微鏡測定においては試料懸濁液を雲母 (15×15 mm、株式会社アライアンスバイオシステムズ、01869-CA) もしくは単結晶シリコン基板上 (5×5 mm、株式会社アライアンスバイオシステムズ、4136SC) に滴下し、それをスピコート (株式会社共和理研、K-359S1、1000 rpm) して観察用試料を作製した。SiC 製カンチレバー (株式会社日立ハイテク、SI-DF40P2) を用い、測定はダイナミックモードで行った。OCP 結晶の形態はリボン状であり、幅は数 100 nm、長さは 10 μm 程度であることが分かった。結晶の厚さを調べるために図 2 中の A-B 間における高さプロファイルを調べた結果、結晶の厚さは 50 nm 程度であることが分かった。また、他の結晶についても厚さを調べた結果、同サンプルの結晶の厚さは 40~150 nm であることが分かった。加えて、大きな粒子ほど厚さも大きいことが分かった。また、想定していた 1 nm 程度のナノシートは観察されなかった。さらに、エタノールに分散して 5 日間振盪した試料、ならびにホルムアミドに分散して 5 日もしくは 10 日間振盪した試料でも同様に 1 nm 程度のナノシートは観察されなかった。チンダル現象が

観察されたにも関わらずナノシートが観察されなかったのは、振盪の剪断力によるデラミネーションが起こらなかったことに加え、OCP 結晶が非常に薄いため、沈降に時間を要し、比較的大きな粒子が上澄み液中に分散していたものと考えられる。

次にスベリン酸含有 OCP をエタノールもしくはホルムアミドに分散させて 5 日間もしくは 10 日間振盪した試料についても原子間力顕微鏡像で形態観察を行った。結晶の形態はコハク酸含有 OCP と同様にリボン状もしくは板状であり、幅と長さともにコハク酸含有 OCP と同程度であることが分かった。結晶の厚さは 100 nm 前後であり、これについてもコハク酸含有 OCP とほぼ同じであった。また、想定していた 1 nm 程度のナノシートは観察されなかった。

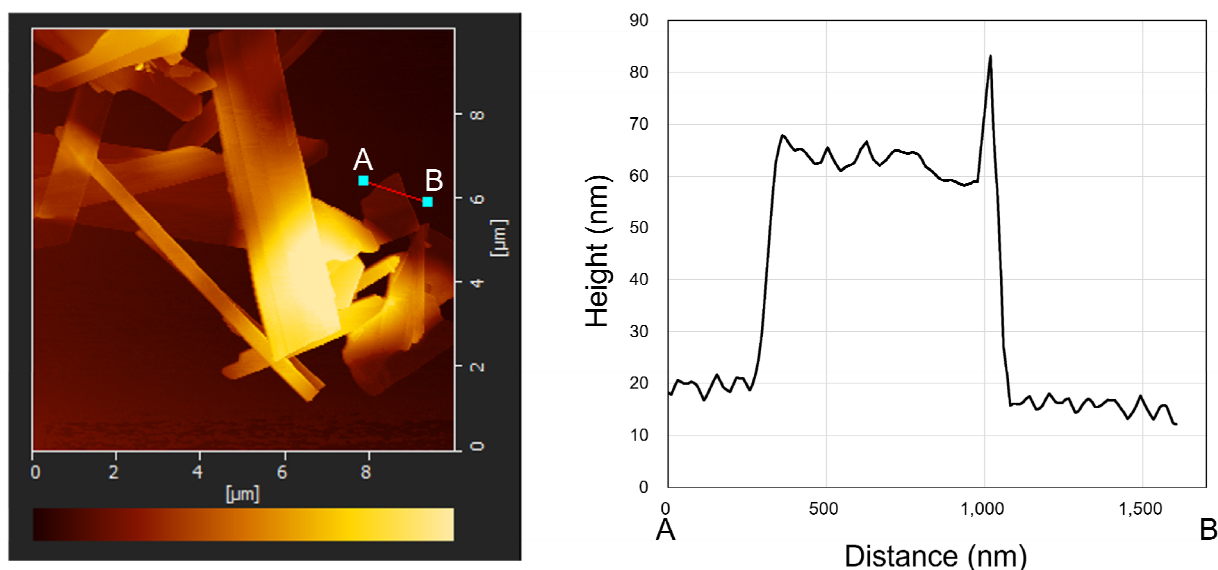


図 2. (左) コハク酸含有 OCP をエタノールに分散させて 10 日間振盪した試料の原子間力顕微鏡像 (ここでは Si 基板を使用)、および (右) A-B 間の高さプロファイル. 測定した OCP 結晶の厚さは約 40 nm であることが分かる.

上記の実験結果から、カルボン酸含有 OCP 結晶中のカルボン酸を介した層間の化学結合はハイドロタルサイトや層状チタン酸塩などの一般的な層状化合物よりも強固であり、振盪の剪断力によるデラミネーションは困難であることが分かった。「OCP の層間の結合は通常の層状物質のような弱いものではなく、イオン性である」と述べている文献もあり、これが原因でカルボン酸を層間に導入してもこの層間結合力を十分には弱めることができず、結果としてデラミネーションできなかったものと考えられる。

デラミネーションは困難であったものの、これまでの原子間力顕微鏡による観察によって興味深い結果を得ることができた。それは、「OCP 系材料は柔らかい」ということである。

図 3 に粒子が折り重なっている部分の原子間力顕微鏡像を示す。A、B、C は 1 個の単結晶粒子上の点である。もし、粒子が全く変形しなければ、高さは $A=B=C$ 、 $A < B < C$ もしくは $A > B > C$ となるはずである。しかし、図 3 では明らかに B の位置が A や C に比べて低くなっている。これはこの粒子が下に突のように湾曲していることを意味している。つまり、OCP 系材料は柔らかい可能性がある。図 3 はコハク酸含有 OCP であるが、スベリン酸含有 OCP

およびカルボン酸を含有していない OCP でさえも同様の現象は観察された。（*現在、我々が所有している原子間力顕微鏡は力学的特性を評価する機能が無いため、硬さやヤング率の測定については今後の検討課題である。）

もし、OCP 粒子が柔らかければ、平面だけでなく、曲面にもコーティングできると期待される。そこで、先述の上澄み液に白金線（株式会社ニラコ）を浸漬し、それをゆっくりと引き上げることで OCP 粒子の白金線上へのコーティングを試みた。白金線の表面を走査電子顕微鏡（日本電子株式会社、JSM-IT200LA）で観察した結果を図 4 に示す。コーティング前の白金線の表面は平滑であったが、コーティング後には OCP 微粒子が不着している様子が観察された。つまり、曲率半径 $250\ \mu\text{m}$ の曲面には問題無く粒子をコーティングできることが示された。また、部分的に OCP 粒子の凝集体が観察された。このような粒子の凝集は、OCP を分散させていた溶媒の蒸発過程で粒子が部分で気集まったために生じたと考えられる。

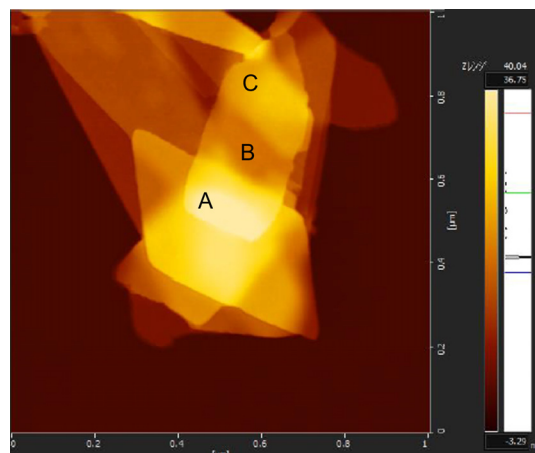


図 3. 粒子が折り重なった部分の原子間力顕微鏡像. A、B、C はそれぞれ 1 個の単結晶状の位置であるが、A と C が高く、B の位置は谷であることが分かる。

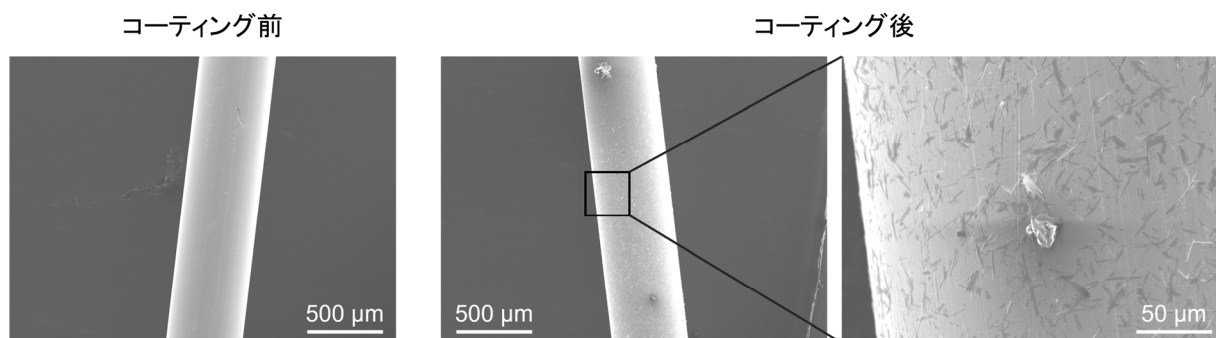


図 4. 直径 $500\ \mu\text{m}$ の白金線への OCP 粒子のコーティング。

次に、さらに細い白金線（直径 $100\ \mu\text{m}$ ）へのコーティングを試みた。白金線の表面を走査電子顕微鏡で観察した結果を図 5 に示す。コーティング前の白金線は直径 $500\ \mu\text{m}$ の白金線と同様に平滑であったが、コーティング後には OCP 粒子が不着している様子が観察された。さらに興味深いことに、図 5 のコーティング後の写真中の赤の矢印で示した通り、白金線に沿って OCP 粒子が曲がりながら白金線に巻き付くように不着している様子が観察された。これは、図 3 で示したように、OCP 粒子が変形可能な柔らかさを持っているためであると考えられる。つまり、曲率半径 $50\ \mu\text{m}$ の曲面には粒子をコーティングできることが実証された。

したがって、本研究では OCP 粒子のデラミネーションは困難であったものの、OCP 粒子の原子間力顕微鏡観察結果から OCP 粒子は通常のセラミックスに見られないような柔軟性を有

している可能性を見出し、その性質を活かして直径 100 μm の極めて細い白金線上（つまり、小さな曲率半径を持つ部材）に 100 nm 程度の厚さの OCP 粒子をコーティングできることを明らかにした。

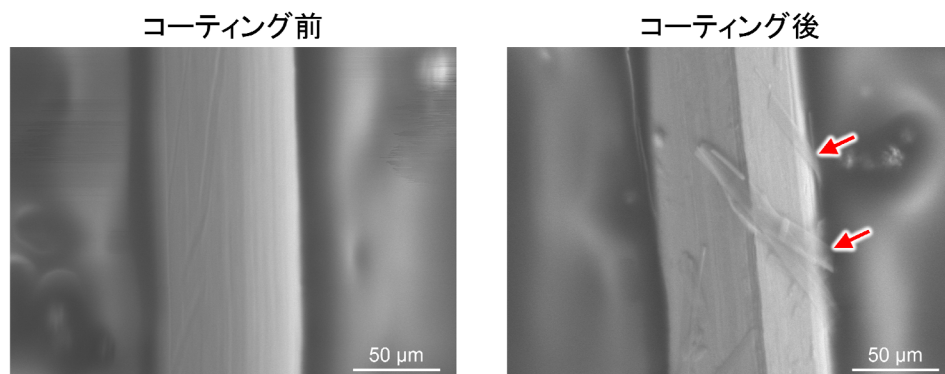


図 5. 直径 100 μm の白金線への OCP 粒子のコーティング. コーティング後の写真中の赤色の矢印部分において、OCP 粒子が白金線に巻き付いていることが分かる。

②その他のカルボン酸含有 OCP の合成

①の研究において、OCP のデラミネーションが困難であったことから、コハク酸やスベリン酸以外のカルボン酸を導入した OCP を用いてデラミネーションに挑戦したいと考え、スベリン酸に類似した化学構造を有する 3,3'-ジチオジプロピオン酸 ($\text{HOOC}(\text{CH}_2)_2\text{SS}(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$) の OCP への導入を試みた。3,3'-ジチオジプロピオン酸の化学構造をスベリン酸と比較して図 6 に示す。この分子の特徴は S-S 結合を主鎖骨格に有していることであり、この部分の結合角により OCP 結晶中において折れ曲がり構造を持ち、それによって層間の構造が乱れてスベリン酸を導入した場合よりも層間結合力を低下できるのではないかと考えた。

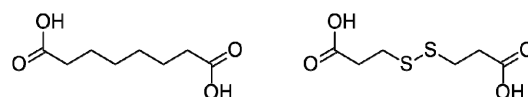


図 6. 左：スベリン酸、右：3,3'-ジチオジプロピオン酸の分子構造。

25 mass%アンモニア水を用いて pH を 5.5 に調節した種々の濃度の 3,3'-ジチオジプロピオン酸（東京化成工業株式会社、99%）水溶液（100、250、400 mM）100 mL に炭酸カルシウム 8 mmol とリン酸 5 mmol を加え、60 $^{\circ}\text{C}$ で 3 時間反応させた。生成した粉末を吸引ろ過で回収し、超純水とエタノールで洗浄したあとで十分に乾燥させた。

OCP への 3,3'-ジチオジプロピオン酸の導入を X 線回折分析によって調べた。その結果、3,3'-ジチオジプロピオン酸 100 mM で合成した試料では、3,3'-ジチオジプロピオン酸が導入された OCP と導入されていない OCP の混合物であった。3,3'-ジチオジプロピオン酸 100 mM で合成した試料では 3,3'-ジチオジプロピオン酸が導入された OCP のほぼ単相試料が得られた。一方、3,3'-ジチオジプロピオン酸濃度を 400 mM まで上昇させると、OCP は生成しなかった。また生成物は結晶性物質であったが、結晶相を同定することができなかった。そこで、以下では、3,3'-ジチオジプロピオン酸 250 mM で合成した試料を分析に用いた。

上記試料の(100)面間隔を測定した。その結果、3,3'-ジチオジプロピオン酸含有 OCP の(100)

面間隔は 2.5 nm であった。この値はスベリン酸含有 OCP の (100) 面間隔 (2.6 nm) よりも若干小さい値であった。また、赤外分光分析で測定した吸収スペクトルにおいて、これらの 3,3'-ジチオジプロピオン酸のカルボキシ基由来の吸収ピークが 1550 および 1450 cm^{-1} 近傍に検出された。さらに、ラマン分光分析 (レニショー、inVia ラマン顕微鏡、レーザー波長 : 785 nm) にて OCP に導入された 3,3'-ジチオジプロピオン酸の S-S 結合のピークが 510 cm^{-1} 近傍に検出された。以上の結果から、3,3'-ジチオジプロピオン酸含有 OCP の合成に成功したと言える。

先述の X 線回折分析による (100) 面間隔の測定の結果、3,3'-ジチオジプロピオン酸含有 OCP の (100) 面間隔はスベリン酸含有 OCP の (100) 面間隔よりも 0.1 nm 小さかった。この原因は層間における分子の立体構造にあると考えられる。ただし、カルボン酸含有 OCP に関して詳細な原子配置が不明であることから、層間に導入されたカルボン酸の安定構造の計算が困難であった。そこで、universal force field method を用いて真空中におけるカルボン酸の安定構造を計算し、それに基づいて (100) 面間隔の相違の原因の解明に臨んだ。スベリン酸と 3,3'-ジチオジプロピオン酸の安定構造の計算結果を図 7 に示す。

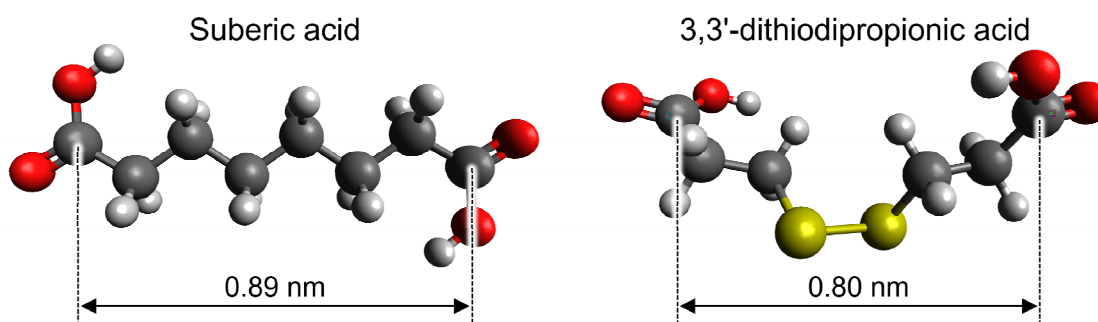


図 7. universal force field method を用いて計算した (左) スベリン酸と (右) 3,3'-ジチオジプロピオン酸の分子構造。3,3'-ジチオジプロピオン酸の黄色の球は硫黄原子を表している。C-S-S-C 結合が特有の捻じれ構造を持っていることが分かる。

OCP の層間において、カルボン酸分子は a 軸に平行に導入されていると考えられている。そのため、X 線回折分析で (100) 面間隔の増大を調べることで、OCP 層間へのカルボン酸導入を確認できるのである。図 7 を見ると、層間距離を決める主鎖骨格の長さ (ここではカルボン酸の両末端のカルボキシ基の炭素原子間の距離を主鎖骨格の長さ) は 3,3'-ジチオジプロピオン酸の方がスベリン酸よりも 0.09 nm 短いことが分かる。この値は X 線回折で求めた (100) 面間隔の差 (=0.1 nm) とほぼ一致する。このことから、3,3'-ジチオジプロピオン酸は OCP の層間において図 7 に示したような折れ曲がり構造を取っていることが強く示唆された。

以上の結果から、3,3'-ジチオジプロピオン酸を OCP に導入できることを初めて見出し、また OCP 層間における立体構造の推定に成功した。

・今後の取り組み・まとめ

本研究ではあらゆる材料に生体組織親和性を付与するアパタイト極限薄膜コーティングの開発を目指し、その第一段階である OCP のデラミネーションに挑戦した。その結果、コハク

酸およびスベリン酸を層間に導入した OCP の合成に成功した。また、原子間力顕微鏡でこれらのジカルボン酸含有 OCP の厚さを測定した結果、100 nm 程度の厚さを有することが分かった。

得られたカルボン酸含有 OCP をエタノールおよびホルムアミドに分散させ、それをシェーカーで激しく攪拌することによって剪断力による物理的なデラミネーションを試みた。しかしながら、ナノシートの生成は観察されなかった。このことから、カルボン酸含有 OCP 結晶中層間の化学結合はハイドロタルサイトや層状チタン酸などの一般的な無機層状化合物よりも強固であり、剪断力による物理的なデラミネーションは困難であることが分かった。

しかし、原子間力顕微鏡による観察結果から、OCP 結晶は柔軟性がある可能性が示唆された。これは OCP を曲面などにもコーティングできる可能性を意味している。そこで、直径 500 および 100 μm の白金線を用いて、この表面への OCP 粒子のコーティングを試みた。その結果、直径 500 μm の白金線上にコーティングすることができた。また、直径 100 μm の白金線上にコーティングした場合には、OCP 粒子が白金線に巻き付くようにコーティングされることが分かった。これは、OCP 粒子が柔軟性を有しているためと考えられる。このことから、OCP 粒子を用いた 100 nm 程度のコーティングを曲面上にも形成できる可能性が強く示唆された。

一方で先述のカルボン酸類含有 OCP においてデラミネーションが困難であったことから、層間構造が乱れ、層間結合力が弱くなると期待されるカルボン酸（具体的には 3,3'-ジチオジプロピオン酸）を導入した OCP の合成を試みた。当該カルボン酸含有 OCP の合成例はこれまでに無かったものの、本研究では合成条件を適切に調節することで同カルボン酸を導入した OCP の合成に成功した。カルボン酸の導入は X 線回折、赤外分光分析およびラマン分光分析によって確認された。また、スベリン酸が層間で直線構造をとるのに対し、3,3'-ジチオジプロピオン酸は折れ曲がり構造をとることが分子の安定構造の計算結果と、X 線回折の層間距離間隔の関係から明らかとなった。すなわち、層間において従来のカルボン酸よりも乱れた構造をとる可能性が示唆された。

今後の研究においては、今回採用した振盪攪拌による剪断力よりもさらに強力な超音波破碎機などの物理的方法あるいは、全く別の化学的な方法によって OCP のデラミネーションを達成し、あらゆる材料に生体組織親和性を付与するアパタイト極限薄膜コーティングの開発に取り組みたいと考えている。

・謝辞

本研究を進めるにあたり、ご支援を賜りました一般財団法人サムコ科学技術振興財団に心より感謝申し上げます。

研究報告集 第6集

2024年9月1日発刊

発行者 一般財団法人 サムコ科学技術振興財団

The Samco Foundation

〒612-8443 京都市伏見区竹田藁屋町 36 番地 サムコ株式会社内

TEL : 075-621-0711 FAX : 075-621-0936

E-mail : samco-stf@samco.co.jp

<https://www.samco.co.jp/foundation/>
