

令和 4 年 6 月 27 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K05407

研究課題名(和文) バイオルミネセンスを駆動力とした無機ナノシートの光機能制御

研究課題名(英文) Manipulation of Photofunctions of Inorganic Nanosheets Induced by Bioluminescence

研究代表者

鎌田 海 (KAMADA, KAI)

長崎大学・工学研究科・准教授

研究者番号：90315284

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：微弱な生物発光を吸収した半導体ナノシートによる新規物質変換プロセス(光触媒反応系)の可能性を検討した。ナノシートとしては紫外から可視光線を含む生物発光を吸収可能な硫化物あるいは酸化物の薄片状物質を触媒として用いた。酸化還元酵素が引き起こす生物発光のエネルギーはナノシートに伝達し、共存する貴金属イオンを還元できることがわかった。つまり、ナノシートを介して生物発光のエネルギーを物質変換に利用できることを明らかにした。

一方、蛍光性半導体ナノシートを用いたバイオイメージングについては、蛍光性ナノシートの合成には成功したが、特定の生体組織を画像化できる程度の強い蛍光強度を得ることができなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでの光触媒では光源として強い光を放つ外部光源や太陽光の利用を想定していた。本研究ではこれらと比較して極めて低い強度の光源である生物発光を効率的に利用して物質変換につなげる技術を生み出した。とりわけ、この光触媒反応では、主にタンパク質や酵素が引き起こす化学反応に伴って放出する光を利用するため、これらの生体分子1つ1つを微小な光源と考えれば、反応溶液全体に光エネルギーが均等に行き渡ること、反応効率の向上が見込まれる。また、外部からの光照射を要しないため、夜間や光の届かない空間など、時空間の制限にとらわれることなく光触媒反応を起こせるという特長を見出すことができる。

研究成果の概要(英文)：A novel photocatalytic reaction system was proposed in the present study, where semiconductor nanosheets and weak bioluminescence were utilized as photocatalysts and light source, respectively. The bioluminescence originated from biochemical reactions of enzymes of proteins excites the semiconductor nanosheets, then the nanosheets can oxidize and reduce reactants. More concretely, it was demonstrated that noble metal cations were reduced to metal nanoparticles in the presence of the nanosheets exposed to bioluminescence.

In contrast, although bioimaging employing fluorescent semiconductor nanosheets was also attempted. The titanate-based fluorescent nanosheets was successfully fabricated, but the emission strength was insufficient for bioimaging.

研究分野：無機材料化学

キーワード：酵素 ナノシート 光触媒 蛍光 バイオイメージング

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 無機半導体の光機能性は多様であり、光エネルギー(電磁波)を電気エネルギーに変換する光電変換(例えば、太陽電池)や化学エネルギーに変換する光触媒、あるいは長波長光を生じる蛍光やリン光が代表的かつ実用的な機能である。このような無機半導体の光機能を利用するためには、必然的に外部からの光照射を要する。

(2) 既存の研究思想の範囲内では「光照射」は必須のトリガーであり、これなしで機能を引き出すことは不可能であるため欠点とは捉えられていない。しかし、例えば太陽光を励起源とする光触媒では光の到達しない空間や夜間では機能を発揮できない。また、蛍光バイオイメージングでは外部光励起と最終的にこの励起光を除去して蛍光のみを認識する仕組みが必要となる。このような外部光源による弊害を回避しつつ時空間に制限されることなく無機半導体の光機能を活用する手法を確立できれば、無機半導体の可能性は大きく展開すると考えられる。

2. 研究の目的

(1) 本研究ではいくつかの発光生体分子(酵素・タンパク質)が温和な環境下で発光反応を引き起こすことに着目した。すなわち、発光生体分子から発生する光エネルギーを半導体に遷移させることができれば、外部からの光エネルギーの投入なしに、例えばそれが暗闇の中であっても無機半導体の光機能を利用できると考えられる。さらに、発光生体分子とりわけ生体高分子触媒である酵素は発光基質が存在する限り光を放出するため、基質の供給をやめない限り、持続的な光機能の発現が期待できると考えた。このように発光生体分子と無機半導体を分子レベルで結合し、同一の反応系内に共存させれば、外部光源と比較して微弱なバイオルミネセンスであっても高い光利用効率で無機半導体の光機能を誘導できる可能性があるとして着想した。

(2) そこで、これまでに試みられたことのない生体分子由来の発光を内部光源として活用し、無機半導体の光機能を発現させ、無機-バイオ複合体の新たな側面を切り拓くことを目的とする。これまでの研究知見より、無機層状半導体の層間に生体分子を挿入することは容易であると考えられる。この場合、層状物質により部分的に被覆(保護)される一方、生体分子の機能を発揮するために必要な外界との物質移動経路を2次元層間方向に残した状態で安定化を確保しており、活性の維持・耐久性の向上・光機能性の発現が同時に実現するという意義をもつ。よって、本研究は発光生体分子由来の光エネルギーのみを励起源として無機半導体を示す潜在的な光機能すなわち「光触媒能」あるいは「蛍光能」の発現を実証することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 発光生体分子と無機層状半導体の結合は次の手順で実施した。金属イオンの加水分解反応によって合成した無機層状半導体コロイド溶液(剥離ナノシート)に発光生体分子を加え、静電的相互作用によって自発的に交互積層させる。従って、発光生体分子および層状半導体の等電点の差を利用して互いに反対符号の表面電荷をもつ適切なpHを選択した。

(2) はじめに、「発光生体分子-無機層状半導体を用いた自己光源型光触媒の開発」に取り組んだ(Fig. 1)。これまでイメージングやセンシングのみに利用されてきた生物発光を層状半導体の励起源に用い、その光触媒活性を評価した。内部光源である発光生体分子は通常の光触媒試験に用いられる外部光源と比較して光エネルギーが弱いという問題点があった。しかし、無機層状半導体と発光生体分子は分子レベルで結合しているため微弱光であっても効率的に吸収されると予想した。層状半導体としては硫化モリブデンあるいは酸化チタンをベースとしたナノシート(層状薄片)を用いた。生物発光としては酸化還元酵素ペルオキシダーゼによるルミノール発光を利用した。光触媒反応として貴金属イオンの光還元をモデルとして、可能性を検討した。

(3) 無機半導体の蛍光能を引き出すために、層状チタン酸に希土類イオンをドーピングしたナノシートを合成した(Fig. 2)。紫外光励起のもとでの蛍光強度の測定および前述の生物発光を引き起こす環境下に合成し

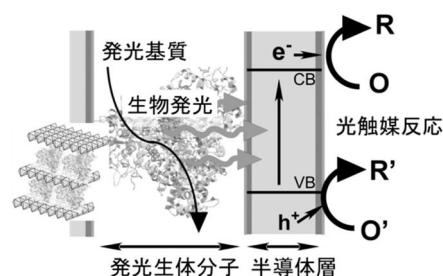


Fig. 1 Photocatalytic reaction induced by bioluminescence from photoproteins in layered semiconductor.

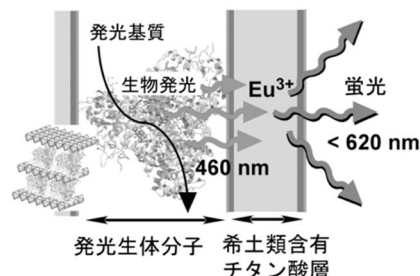


Fig. 2 Photoprotein-induced fluorescence of titanate layers doped with rare earth.

た蛍光ナノシートを暴露することで、生物発光によりナノシートの蛍光検出が可能か調査した。

4. 研究成果

(1) はじめに、生物発光は主に可視光線で構成されるため、可視光で励起可能な半導体として硫化モリブデン(MoS_2)を選択した。 MoS_2 のバルク結晶を剥離して硫化モリブデンナノシート(MoS_2 NS)の懸濁液を作製した。この懸濁液の光吸収スペクトルを測定したところ、可視光波長領域で光吸収が見られ、可視光駆動型半導体光触媒として機能することが示唆された。引き続き、合成した MoS_2 NSを用い、生物発光によって MoS_2 NSが光触媒として駆動するか検討した。バイオルミネセンスとして酸化還元酵素ペルオキシダーゼにより触媒されるルミノール発光を、また、モデル光触媒反応として貴金属イオン(白金、銀)の光還元反応を利用した。ルミノール発光のエネルギーを MoS_2 NSが吸収し、 MoS_2 NS内の励起電子が貴金属イオンを還元し、貴金属微粒子として MoS_2 NS表面に析出すると予想された。その結果、 MoS_2 NSを光触媒として用いた場合、ルミノール発光の有無に関係なく貴金属元素が MoS_2 NS表面に析出し、 MoS_2 NSが光触媒として機能しなかった。これは、 MoS_2 NSに含まれる Mo^{4+} が光エネルギーとは無関係に貴金属イオンを還元し、同時に自身は安定な Mo^{6+} に変化したためと考えられた。

(2)そこで、代替の無機ナノシートとして化学的に安定な酸化物ナノシートを使い、同様の実験を実施した。ここでは鉄チタン酸ナノシート($\text{Fe}_{0.8}\text{Ti}_{1.2}\text{O}_4^{2-}$ 、FTO NS)を使用した。ルミノール発光の下で貴金属イオンの光還元実験を行うと、反応後にFTO NSの表面に貴金属の析出が見られた。以上の結果より、FTO NSを用いることでバイオルミネセンスにより光触媒的貴金属イオンの還元反応が実現することが明らかとなった。

(3) さらに微弱な生物発光を効率よく吸収するナノシートとして、従前のFTO NSに対して、一部の鉄をコバルトで置換した鉄コバルトチタン酸ナノシート(FCTO NS)を合成した。黄褐色のFTO NSに対してFCTO NSは暗褐色であり、広い波長領域の光吸収特性を示した。FCTO NSを用いて貴金属イオンの光還元反応を実施した結果、白金の光還元量はFTO NS < FCTO NSとなり、光吸収特性の改善による活性向上を確認した。さらに、反応系に添加した犠牲剤メタノールの濃度変化を追跡した結果、時間とともに濃度は直線的に減少した。よって、自己光源型光触媒では貴金属イオンの光還元とメタノールの光酸化の同時進行が明らかとなった。

(4)本研究のもう一つの柱である「発光生体分子-蛍光性層状半導体を用いた蛍光イメージング法の開発」を検討した。ユーロピウム含有蛍光性チタン酸ナノシート(ETNS)に発光反応を触媒するタンパク質を結合し、特定細胞(HeLa 細胞)に対する標的性向上のために葉酸で修飾した。結果的に、葉酸受容体を持つHeLa 細胞表面へのナノシートの集積を確認したが、ETNS 蛍光が弱いため、細胞分布の蛍光画像化は現有の顕微鏡下では困難であった。

(5) 研究期間全体を通じて本研究では以下の知見を得ることができた。自己光源型光触媒について、可視光応答性の光触媒ナノシートを用いることで、微弱な生物発光を光源とした光触媒反応が実現した。ナノシートの光吸収特性や表面反応性に光触媒活性が影響を受け、特に安定な酸化物で可視光応答領域の広いナノシートが適切であった。一方、蛍光性層状半導体によるバイオイメージングの検討では、現時点ではナノシート由来の蛍光強度が低いいため、蛍光像として特定細胞の分布を画像化することは困難であった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 SOH Nobuaki, KAMADA Kai	4. 巻 70
2. 論文標題 Development of Hybrid Materials Composed of Proteins and Inorganic Nanosheets and Their Application to Analytical Chemistry	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BUNSEKI KAGAKU	6. 最初と最後の頁 83 ~ 92
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/bunsekikagaku.70.83	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kamada Kai	4. 巻 280
2. 論文標題 Photo-manipulation of activity of enzymes bound to inorganic nanomaterials	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Solid State Chemistry	6. 最初と最後の頁 120996 ~ 120996
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jssc.2019.120996	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Miharu Katori, Mizuki Watanabe, Hideaki Tanaka, Seika Yakushiji, Toshihisa Ueda, Kai Kamada, Nobuaki Soh	4. 巻 38
2. 論文標題 Development of enzyme/titanate nanosheet complex coated with molecularly imprinted polydopamine for colorimetric quercetin assay	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Analytical Sciences	6. 最初と最後の頁 777-785
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s44211-022-00094-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 KATORI Miharu, MINAMIKAWA Tomoka, UEDA Toshihisa, KAMADA Kai, SOH Nobuaki	4. 巻 71
2. 論文標題 Development of a Complex Material Composed of Enzymes-Inorganic Nanosheets-Magnetic Beads for Coupled Enzyme Reaction and Its Application to Glucose Detection	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 BUNSEKI KAGAKU	6. 最初と最後の頁 159 ~ 166
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2116/bunsekikagaku.71.159	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamada Akane, Onodera Gen, Kimura Masanari, Kamada Kai	4. 巻 10
2. 論文標題 Stabilization of -ZrP ceramic nanosheets adsorbing quaternary ammonium ions in organic solvents and their application as a stable solid support for lipase catalyzing stereospecific synthetic reactions	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Asian Ceramic Societies	6. 最初と最後の頁 1~8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/21870764.2022.2051125	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 鎌田海
2. 発表標題 生体分子と無機半導体の複合材料の創製と光機能
3. 学会等名 CIREn電気化学研究分科会2020年度第1回講演会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鎌田海, Yue Gaofan, 上田太郎, 兵頭健生, 清水康博
2. 発表標題 バイオルミネセンスをエネルギー源とする半導体光触媒反応の可能性試験
3. 学会等名 日本セラミックス協会九州支部秋季研究発表会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------