

令和 4 年 6 月 3 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K22345

研究課題名(和文) 生体分子を用いた黄鉄鉱ナノ粒子の合成法の開発と応用

研究課題名(英文) Application and development of synthesis for pyrite nanoparticles using biomolecules

研究代表者

鈴木 道生 (Suzuki, Michio)

東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・教授

研究者番号：10647655

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,900,000円

研究成果の概要(和文)：熱水噴出孔に生息するウロコフネタマガイは硫化鉄(greigiteとpyrite)から成る黒い貝殻と鱗を有している。硫化鉄は蓄電池や太陽光発電に有望な材料として期待されているが、合成が困難なことで知られている。ウロコタマフネガイの貝殻の硫化鉄層からヘムタンパク質を同定し、in vitroの水溶液の実験系に用いたところ、80℃でpyriteの球状のナノ粒子を合成可能であることを見出した。この結果は、環境に優しく副産物も少ない系でpyriteナノ粒子を合成可能であることを示している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

黄鉄鉱は蓄電池や太陽光発電の材料に期待される材料で、鉄と硫黄というありふれた元素から構成され、安全性も高く環境に優しい素材として期待されている。しかしながら、合成が困難なことから工業的には利用されていない。黄鉄鉱ナノ粒子を温和な生理条件で合成可能なウロコフネタマガイ由来の生体分子を応用して効率的に安定した黄鉄鉱ナノ粒子を合成する手法を開発した本研究は、持続可能な社会の構築に向けて重要な成果であると言える。

研究成果の概要(英文)：The gastropod of scaly foot (*Chrysomallon squamiferum*) living in the deep sea around the thermal vents has a black shell and scales on the foot. The components of black materials are the nanoparticles of iron sulfide such as greigite and pyrite. Although the nanoparticle of pyrite will be used for the materials for solar panel, it is really difficult to synthesize the stable and sphere nanoparticles in vitro. We extracted the organic molecules interacting with nano-pyrite in the scaly foot to apply the development of synthetic method for the pyrite nanoparticle. Heme protein (HP) was identified from the iron sulfide layer outside the shell. When the HP was added to the solution containing ferric ion, sulfide ion and sulfur under the reduced condition at 80°C, the pyrite nanoparticles with complete sphere shape were formed. These results suggest that the materials for solar cells can be produced with low cost and energy at eco-friendly conditions.

研究分野：バイオミネラリゼーション

キーワード：バイオミネラリゼーション 黄鉄鉱 ウロコフネタマガイ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

黄鉄鉱 (FeS₂) は患者の黄金と呼ばれ、地殻中にも多量に含まれることが知られている。黄鉄鉱のナノ粒子は硫黄原子の相互作用の効果により優秀な電子のエネルギバンドギャップを持つことから、蓄電池や太陽光発電に利用できる材料として注目されている。また、鉄と硫黄という普遍的に存在する元素から構成されることから、合成のために必要な素材も容易に準備が可能であり、環境に負荷をかけず安価に製造が可能なのではないかと期待されている。これまでに黄鉄鉱ナノ粒子を合成したという報告は数多くあるが、どれも高温・高圧条件下で多量の有機溶媒を使用し、さらに合成した黄鉄鉱ナノ粒子も大気中では酸化され易く安定性が悪いなど、多くの問題点があることから実用化は困難であった。

2. 研究の目的

本研究ではウロコフネタマガイ (*Chrysomallon squamiferum*) が硫化鉄の殻と鱗の中に多くの黄鉄鉱ナノ粒子が含まれることに着目し、黄鉄鉱ナノ粒子を生成する機構がウロコフネタマガイの生体内にあると考えた。そこで、ウロコフネタマガイの生体内より黄鉄鉱の安定化およびナノ化に寄与する分子を見出し、より粒径の小さい黄鉄鉱ナノ粒子を、より効率よく、大量に合成する手法を検討し、太陽光発電のデバイス開発に応用することを目的とした。

3. 研究の方法

ウロコフネタマガイの外殻は、内側から炭酸カルシウム層、有機物層、硫化鉄層の三層で構成されている。外殻の硫化鉄層から有機物を抽出するため、まず 1 M 酢酸を用いて炭酸カルシウム層および有機物層を溶解した。その後、酢酸不溶である硫化鉄層に対して、SDS/DTT を添加し加熱することで硫化鉄層内の有機物を変性し可溶化させた。これらの操作により、硫化鉄層の pyrite がナノ粒子として分散したことから、得られた外殻由来の抽出液中には pyrite のナノ化を保持する成分が含まれると考え、成分の解析を行った。その成分と共通する骨格を有する有機分子を用いて、*in vitro* の系により黄鉄鉱ナノ粒子の合成を試みた。有機分子濃度、鉄の化学形態、濃度、硫化物濃度、硫黄濃度、時間、温度などの条件を検討し最適な条件の検討を行った。検討した最適条件を用いて、生体有機分子のどの構造が黄鉄鉱の安定化とナノ化に寄与するのか、構造活性相関の研究を行った。

4. 研究成果

4-1. ウロコフネタマガイ外殻由来タンパクの解析

貝殻の硫化鉄層からの抽出液に対し SDS-PAGE を行ったところ炭酸カルシウムおよび有機物層の酸可溶性成分には無い硫化鉄層に特異的なバンドが見出された。この硫化鉄層特異的なバンドは、硫化鉄層の構成に関与していると考えられたため、このバンドをトリプシンでゲル内消化を行い、LC-MS/MS による配列解析を行った。ウロコフネタマガイの transcriptome data により得られたアミノ酸配列データベースを用いて同定した配列に対し相同性の高いタンパクを検索した結果、ヘム関連のタンパク質であることが示された。

4-2. ヘムタンパク質を利用した pyrite ナノ粒子の合成と評価

まず、ヘムタンパク質を用いて pyrite ナノ粒子合成法の開発を行った。ヘムタンパク質を含む溶液に鉄イオンと硫化物イオン、硫黄粉末を特定の条件で加えることで温和な条件下での pyrite ナノ粒子合成法の開発に成功した。さらに、pyrite ナノ粒子の薄膜基板を作製し、太陽光発電の原理に近い半導体の評価系であるフォトルミネッセンス測定を行った。測定の結果、合成された pyrite ナノ粒子は約 0.9 eV の間接バンドギャップおよび約 2 eV の直接バンドギャップを持ち、太陽光発電における半導体材料として応用できる可能性が示唆された。

4-3. pyrite ナノ粒子合成系におけるヘムタンパク質の機能解析

合成した pyrite ナノ粒子を溶解し、抽出されたヘムタンパク質を SDS-PAGE で分析したところ、分解されていることが判明した。このことからヘムタンパク質の特定の部分構造が pyrite ナノ粒子の合成に関与している可能性が示唆された。そこで、ヘムタンパク質の構造活性相関を解明するために、鉄の結合に関わっていると考えられるヘミンとヘムを持たないアポタンパク質をそれぞれ用いたところ、ヘミンでは一部 pyrite ナノ粒子が合成されたのに対し、アポタンパク質では pyrite マイクロ粒子が合成された。次に、ヘムタンパク質のトリプシン消化産物を逆相 HPLC で分離した画分を用いて pyrite ナノ粒子を合成した。pyrite ナノ粒子合成活性を持つ画分を MALDI-TOF-MS で分析したところ、pyrite ナノ粒子の合成に関与しているヘムとの結合が考えられるヒスチジンやアスパラギン酸を含むペプチドの同定に成功した。同定されたペプチドを人工合成し、pyrite ナノ粒子合成に用いたところ pyrite ナノ粒子が合成できる濃度範囲が広く、ヘムタンパク質全長よりも優秀な分散剤であることが示された。さらにヘム結合部位と考えられるアミノ酸を変異させたペプチドの変異体を作製し、pyrite ナノ粒子合成法に供した。

ヒスチジンやアスパラギン酸を変異させることで合成された pyrite ナノ粒子の粒子径が大きくなることから、pyrite ナノ粒子合成活性が減衰することが示された。このことからヘムがアミノ酸配列に結合することが重要であることが示された。以上のことからヘムは鉄と結合することでアミノ酸配列を pyrite ナノ粒子の周囲に集める働きをしており、ヘムタンパク質のアミノ酸配列は水溶性の溶液中で pyrite 表面に界面を形成し、球状形態の維持に寄与していることが示された。

4-4. まとめ

本研究ではヘムタンパク質を利用することで温和な条件における pyrite ナノ粒子合成法の開発に成功した。合成された pyrite ナノ粒子が直接バンドギャップを持つことが示唆された。太陽光発電に用いられているシリコンよりもエネルギー効率が良いことから太陽光発電の材料としての応用が期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名	小泉京平、山下達也、Logu Thirumalaisamy、金明玉、Ahsan M. Nazmul、岡田至崇、奥村大河、富永依里子、鈴木庸平、鈴木道生
2. 発表標題	生体高分子により合成したパイライトナノ粒子の大量合成の検討と性状解析
3. 学会等名	日本農芸化学会関東支部 2021 年度大会
4. 発表年	2021年

1. 発表者名	○小泉京平、山下達也、Logu Thirumalaisamy、金明玉、Ahsan Nazmul、岡田至崇、奥村大河、富永依里子、鈴木庸平、鈴木道生
2. 発表標題	ミオグロビンにより合成した Pyrite ナノ粒子の性状解析と大量合成の検討及びミオグロビンの機能部位の探索
3. 学会等名	第 16 回バ イオミネラリゼーションワークショップ
4. 発表年	2021年

1. 発表者名	○山下達也、松田大輝、岡田至崇、アーサンナズムル、鈴木庸平、鈴木道生
2. 発表標題	半導体特性を持つ黄鉄鉱ナノ粒子のヘムタンパク質を用いた合成メカニズムの解明
3. 学会等名	日本農芸化学会2020年度（令和2年度）大会
4. 発表年	2020年

1. 発表者名	○Tatsuya Yamashita, Hiroki Matsuda, Yohey Suzuki, Nazmul Ahsan, Yoshitaka Okada, ○Michio Suzuki.
2. 発表標題	Synthesis of pyrite nanoparticles using the matrix protein from the scalyfoot, <i>Chrysomallon squamiferum</i> .
3. 学会等名	15th International Symposium on Biomineralization (国際学会)
4. 発表年	2019年

1. 発表者名 ○山下達也、松田大輝、岡田至崇、アーサンナズムル、鈴木庸平、鈴木道生
2. 発表標題 半導体特性を持つ黄鉄鉱ナノ粒子のヘムタンパク質を用いた合成メカニズムの解明
3. 学会等名 日本農芸化学会2020年度（令和2年度）大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 ○山下達也、松田大輝、アーサンナズムル、岡田至崇、鈴木庸平、鈴木道生
2. 発表標題 ウロコフネタマガイ由来の有機高分子を利用したpyriteナノ粒子の合
3. 学会等名 第14回バイオミネラリゼーションワークショップ
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>東京大学大学院農学生命科学研究科 分析化学研究室 http://park.itc.u-tokyo.ac.jp/analchem/</p>
--

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
研究分担者	鈴木 庸平 (Suzuki Yohey) (00359168)	東京大学・大学院理学系研究科(理学部)・准教授 (12601)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究 分 担 者	アーサン ナズムル (Ahsan Nazmul) (00422345)	東京大学・先端科学技術研究センター・特任准教授 (12601)	

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