

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：15401

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2022

課題番号：21K18911

研究課題名（和文）細菌が行う電子・イオンの授受による半導体結晶形成機構の解明と制御

研究課題名（英文）Elucidation and control of formation mechanism for semiconductor crystals on the basis of transfer of electrons and ions performed by bacteria

研究代表者

富永 依里子（Tominaga, Yoriko）

広島大学・先進理工系科学研究科（先）・准教授

研究者番号：40634936

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、細菌の呼吸鎖（電子伝達系）における金属イオンの酸化還元反応を活用し、常温常圧で化合物半導体の結晶成長技術を実現するためのメカニズムの解明を目的とした。様々な細菌をはじめとする生物が形成した種々の硫化物半導体やセレン系化合物、As含有合成物の結晶学的特性を測定し、それらの生物がどのように結晶やアモルファスを合成しているか考察した。As含有合成物に対しては、細菌によるIn, Ga, Asの回収率を算出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究結果によって、細菌のような生物がPbやAs, Seといった各種有害物質を回収することが確認できた。また、これらの元素で構成された合成物が結晶になっていたり、バンドギャップを有して半導体特性を発現したりすることも明らかになった。この現象を用いることで、様々な環境から安全かつ低コストで細菌を用いて希少金属や半導体構成元素を回収できる可能性がある。今後は、こうした合成反応に対する細菌の作用をより詳しく調べ、高品質結晶の形成にフィードバックする必要がある。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was to elucidate the mechanism for realizing the crystal growth technique of compound semiconductors at room temperature and pressure by utilizing the redox reaction of metal ions in the bacterial respiratory chain (electron transfer system). We measured the crystallographic properties of various sulfide semiconductors, selenium compounds, and As-containing materials formed by various bacteria and other organisms, and discussed how these organisms synthesize crystals and amorphous materials. For As-containing compounds, the recovery rates of In, Ga, and As by the bacteria were calculated.

研究分野：結晶工学、応用物性、電子・電気材料工学

キーワード：バイオミネラリゼーション 細菌 化合物半導体 結晶成長

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

バイオミネラリゼーション分野では、重金属イオンを体表面に吸着あるいは体内に取り込み、酸化還元反応や化合物合成反応を介して重金属を排出(沈着)する微生物の性質が知られている。微生物が有する様々な代謝物や呼吸鎖における電子伝達系の働きによって金属イオンなどが還元されることによると考えられているが、詳細は不明である。研究代表者(富永)と分担者(岡村)は、硫化鉛(PbS)や一部が結晶のInGaAsを水溶液中で合成する細菌叢をこれまでに得ている[1]。分担者の阪口もCdSeやCdTeを合成する細菌を得ている[2]。代表者らのこれまでの研究において、例えばPbSの場合、細菌体の最表面からPbSが沈着している様子を透過電子顕微鏡(TEM)観察で確認している。PbSやCdSのような硫化物の場合、硫酸還元菌が水溶液中の硫酸イオンを呼吸鎖で還元して硫化物イオンを排出し、それが水溶液中の Pb^{2+} や Cd^{2+} と結合することでPbSやCdSが沈着すると考えられている。しかし、InGaAsやCdTeのような金属・半金属元素を構成原子とする化合物半導体の場合、菌体最表層に存在している有機分子からのIn、Ga、As、Cd、Teの各種重金属沈着過程とInGaAsやCdTe等の形成に至る過程は解明されていない。これまでに金属ナノ粒子の生成に着目した報告はみられるが、細菌のような微生物が重金属を沈着する現象を金属・半金属元素で構成された半導体の合成技術として利用するという着眼点はほとんど無い。金属ナノ粒子の場合であっても、その生成機構の解明に着目したのも極めて少ない。

2. 研究の目的

そこで本研究では、細菌の呼吸鎖(電子伝達系)における金属イオンの酸化還元反応を活用し、常温常圧で化合物半導体の結晶成長技術を実現するためのメカニズムの解明を目的とした。細菌を介した重金属の沈着機構と常温常圧・水溶液中での結晶化の過程を明らかにし、細菌が行う電子・イオンの授受による結晶形成を制御可能とすることに挑戦した。

3. 研究の方法

当該研究期間、代表者の富永と分担者の岡村は主に、PbS結晶やAs含有物質を合成する細菌叢を用いて試料を合成した。試料を合成している期間の細菌の増殖の確認には光電比色計を用い、使用した細菌叢の菌叢解析も行った。培養後の菌液を遠心分離し、その上清の金属イオン濃度を誘導結合プラズマ発光分光分析装置(ICP-OES)で測定することで細菌によって各種重金属イオンが回収されている確認に努めた。分担者の阪口は、セレン(Se)系物質を沈着する微生物を用いた。合成した試料は、いずれの場合もTEMやTEM付属のエネルギー分散型X線分光法(EDS)X線回折(XRD)法などを用いて観察や結晶学的特性を測定した。また、代表者が分担者(鈴木)からウロコフネタマガイが形成した黄鉄鉱(FeS_2)およびその関連試料を受け取り、タングステンハロゲンランプを光源として分光器とInGaAs CCD検出器を用いて代表者の所属機関に新たに光吸収測定系を構築した。その際、光吸収測定用の試料ホルダを自作した。代表者と分担者(岡村)が得た細菌が合成したPbSの基礎特性と細菌の種類に関する知見を得るため、硫化ナトリウムと酢酸鉛で無機的に合成したPbSの基礎特性と比較したり、市販の単菌を購入し、Pb耐性や物質合成の様子を、有している細菌叢の場合と同様に評価したりした。

4. 研究成果

- (1) (担当: 富永、岡村) 図1に、細菌が合成したPbSと無機的に合成したPbSのXRDカーブを示す。細菌合成、無機合成、どちらの場合も 20° - 70° の角度範囲で測定したところ、PbS(方鉛鉱)の各結晶面由来の回折ピークがみられることがデータベースとの比較で確認できた。図1はその中の(200)面由来の回折ピークの一例である。図1より、細菌が合成したPbSの回折カーブの半値幅は無機的に合成したPbSのものより小さく、回折強度も前者のものの方が後者のものよりも大きいことがわかる。この可能性として二つ考えられ、一つは細菌が合成したPbS結晶の方が無機的に合成したものよりも結晶性が良いこと、もう一つは、シェラーの式より、細菌が合成したPbSの結晶子サイズが無機的に合成した場合よりも大きいことが挙げられる。しかし結晶子サイズに関しては、図1に示した結果は実験室系の粉末XRD装置で測定したものであり、厳密に議論することは現時点では困難と認識している。結論を導くには、放射光XRD測定などを用いた精緻な解析が必要である。

- (2) 上記(1)の結果から、細菌が合成したPbSの結晶性や結晶子サイズを決めている要因を明らかにするための実験をまずは研究代表者の所属機関内で行うべく、PbS結晶を合成する細菌叢の培養の仕方を工夫した。本報告書は公開文書のため、ここでは詳細は割愛するが、同一の菌叢であっても、培養の仕方によって、結果的に、PbSの薄膜結晶(次頁図2)と球状微結晶という結晶の面積の差となって現

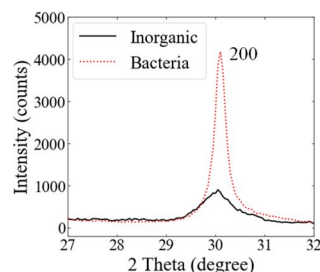


図1. 細菌が合成したPbSと無機的に合成したPbSのXRDカーブ。

れる傾向が得られた。分担者の岡村と代表者の富永は、こうした結晶の面積の差が単菌ではなく菌叢を用いていることによって生じている可能性を考えた。現状、有している細菌叢を構成している細菌を単菌分離するのが困難であるため、菌叢解析を行い、解析によって明らかになった細菌種の単菌をカルチャーコレクションから購入し、本研究で用いている培地と試薬を用いて培地と Pb に対する耐性の有無をそれぞれ確認した。図 3 にその結果を示す。図 3(a) は、用いた培地で購入した単菌を培養した時の光電比色計を用いて測定した OD 値の 7 日間の変化を示している。本報告書が公開文書のため、ここでも具体的な菌種名と培地の種類の記載を割愛するが、購入した単菌の場合、用いた培地で増殖が確認できたのは菌種 D のみであり、その増加量は、今回の 7 日間ではわずかであることが図 3(a) から見て取れる。図 3(a) の挿入図は 6 日目の様子为例として菌種 C と菌種 D を培養した試験管の外観写真で、肉眼でも菌種 D を含んだ培地は着色していることが確認できる。菌種 C を含んだ培地は無色透明のまま変化せず、これは菌種 A と菌種 B の場合も同様であった。肉眼で確認した様子と OD 値の結果が一致していた。図 3(b) は、同一の培地で菌種 D に Pb^{2+} を添加して 7 日間培養した時の OD 値の変化を示している。この変化から、菌種 D は Pb^{2+} 存在下でもわずかではあるが増殖していると考えられる。これらの購入した単菌の培養の様子から、前述の細菌叢を用いて得た PbS の薄膜結晶 (図 2) や球状微結晶は、菌種 D が主に形成していた可能性がある。あるいは、菌種 A-C であっても、試験管内でこれらを混ぜた環境にし、菌叢にすれば培地耐性や Pb 耐性が発現する可能性も挙げられる。また、図 3 の結果は本研究期間内のものであり、更に長い時間をかけて各単菌に培地や Pb 耐性をもたせることができれば、細菌の PbS 合成に対する関与をより細かく議論することができる。いずれの場合であっても、代表者と分担者 (岡村) が用いている細菌による PbS の合成に関与する細菌種が明らかになったことで、その菌種の呼吸鎖の機構を、既に解明されている部分も含めて足掛かりに、詳しく考察することで、PbS が薄膜になったり球状微結晶になったりする原因を明らかにすることができると代表者は考えている。本研究期間の 1 年半で次の研究方針を立てることができた。

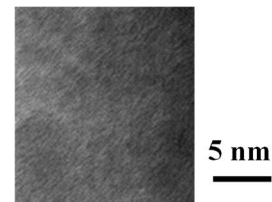


図 2. 細菌が合成した薄膜 PbS 結晶の TEM 像。

- (3) (担当: 富永、岡村) Ga, In, As に耐性のある 2 種類の光合成細菌叢を用い、ねじ口試験管にて In, Ga, As, InGa, GaAs, InAs, InGaAs の計 7 種類の組み合わせとなるよう各金属イオンを添加し、常温・蛍光灯下で 15 日間静置培養を行った。培養後に TEM を用いて菌体の形態および合成物の局在性を観察した。参照試料には、培地に Ga, In, As のみをそれぞれ添加したものをを用いた。TEM 観察の結果、細菌体の外側に合成物が確認でき、TEM 装置付属のエネルギー分散型 X 線分光法で合成物に Ga, In, As が含まれていることを確認した。その上で、ICP 測定によって、有している光合成細菌叢による Ga, In, As の各回収率を算出することができた。しかし、透過型電子顕微鏡を用いた観察の結果、GaAs 系の化合物が合成されているのではなく、Ga 単体の結晶などになっていることが判明した。GaAs 系化合物を細菌に合成させるための工夫が必要である。原著論文公表前のため、ここでは図面を含むこれ以上の詳細は割愛する。
- (4) 分担者の阪口は、これまで海洋環境・海洋生物からセレン・テルオキサニオン還元能を有する微生物の探索を行ってきており、いくつかの分離株を獲得することに成功している。本研究期間においては、好気条件におけるセレン酸還元能が高い KND-1 株による常温・常圧下での含セレン重金属微粒子の形成について実験を行った。亜セレン酸と Pb^{2+} を添加した培地に菌体を摂取し、室温で静置培養することで得られた生成物の元素解析を TEM および EDS を用いて行った。その結果、生成物は、セレン及び鉛で構成され、アモルファスもしくは結晶性のセレン化鉛 ($PbSe$) が形成されていることが電子線回折像から明らかになった。この生成物の結晶化度を増加させることを目的として、研究代表者 (富永) の所属機関に本

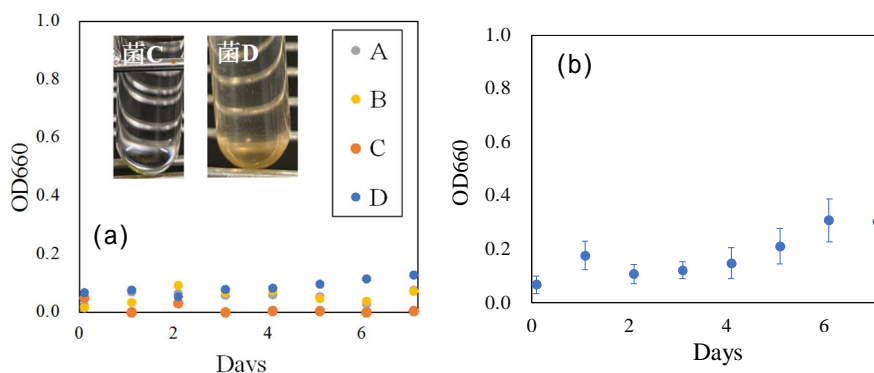


図 3. 購入した単菌の増殖曲線. (a) 本研究で使用した培地での培養時、(b) Pb を添加して培養した時。

研究予算で導入した熱処理炉を用い、生成物を窒素雰囲気下で 200°C から 300°C まで加熱したところ、加熱に伴い Se の含有量が減少する傾向が見られた。これは、Se の蒸気圧が高い[3] ことに起因すると考えられる。よって、セレン系化合物においては、少なくとも窒素雰囲気を用いる場合はなるべく熱処理は避け、微生物による合成のみで結晶化度を増加させられるよう、培養の工夫を行った方が良いと考えた。

- (5) 分担者の鈴木は、これまでウロコフネタマガイが有する黄鉄鉱 (FeS_2) に関する研究を行い、その電子材料としての特性を明らかにすべく、 FeS_2 および関連する Fe 系化合物の XRD 測定や TEM 観察、走査電子顕微鏡観察を行ってきた。当該研究期間において、代表者(富永)は、分担者(鈴木)から提供を受けた FeS_2 の光吸収端が測定できるように、代表者所属機関に近赤外域の光吸収測定系を構築した。図 4 は、構築した光吸収測定系にてメーカー製の InP 基板を測定した結果である。用いた InGaAs CCD 検出器の短波長側の感度により、InP の本来のバンドギャップよりやや長波長の 950 nm に顕著な光吸収がみられるが、これよりも長波長側では平坦なスペクトル形状が得られている。この測定系を用い、代表者は近赤外域での FeS_2 の光吸収測定を行った。当該結果は分担者(鈴木)の実験の一助となり、最終的に原著論文[4]発表へと発展した。

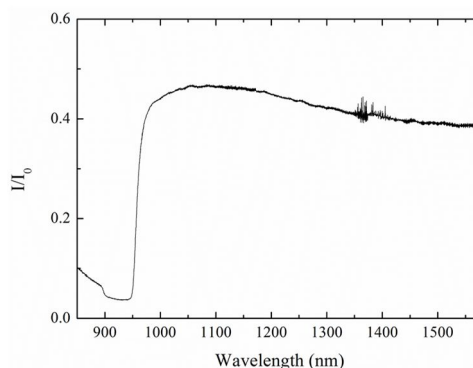


図 4. 代表者が構築した光吸収測定系で InP 基板を測定した場合のタングステンハロゲンランプ光のスペクトル。

代表者所属機関に近赤外域の光吸収測定系を構築した。図 4 は、構築した光吸収測定系にてメーカー製の InP 基板を測定した結果である。用いた InGaAs CCD 検出器の短波長側の感度により、InP の本来のバンドギャップよりやや長波長の 950 nm に顕著な光吸収がみられるが、これよりも長波長側では平坦なスペクトル形状が得られている。この測定系を用い、代表者は近赤外域での FeS_2 の光吸収測定を行った。当該結果は分担者(鈴木)の実験の一助となり、最終的に原著論文[4]発表へと発展した。

<引用文献>

- [1] 岡村好子、富永依里子、清水稜、特許第 7095871 号、2022 年。
- [2] 山澤哲、阪口利文、木村博美、有馬寿英、岡村好子、伊藤圭二郎、特許第 6602572 号、2019 年。
- [3] 大石正和、大森健三、藤井義弘、斉藤博、岡山理科大学紀要 A、自然科学、21、33、1985 年。
- [4] T. Yamashita, H. Matsuda, K. Koizumi, L. Thirumalaisamy, M. Kim, L. Negishi, H. Kurumizaka, Y. Tominaga, Y. Takagi, K. Takai, T. Okumura, H. Katayama, M. Horitani, N. Ahsan, Y. Okada, K. Nagata, Y. Suzuki, M. Suzuki, Acta Biomaterialia, **162**, 110 (2023).

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Yamashita Tatsuya, Matsuda Hiroki, Koizumi Kyohei, Thirumalaisamy Logu, Kim Myeongok, Negishi Lumi, Kurumizaka Hitoshi, Tominaga Yoriko, Takagi Yoshihiro, Takai Ken, Okumura Taiga, Katayama Hidekazu, Horitani Masaki, Ahsan Nazmul, Okada Yoshitaka, Nagata Koji, Suzuki Yohey, Suzuki Michio	4. 巻 162
2. 論文標題 Heme protein identified from scaly-foot gastropod can synthesize pyrite (FeS ₂) nanoparticles	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Acta Biomaterialia	6. 最初と最後の頁 110 ~ 119
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.actbio.2023.03.005	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 -

〔学会発表〕 計14件（うち招待講演 5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バ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 富永依里子
2. 発表標題 海洋細菌に化合物半導体結晶を合成させる技術
3. 学会等名 科学技術振興機構 広島大学 新技術説明会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 小西拓実、村上智哉、岡村好子、富永依里子
2. 発表標題 Crystalline quality of biogenic PbS depending on period of culture term
3. 学会等名 第40回電子材料シンポジウム (EMS-40)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 村上智哉、富永依里子、岡村好子
2. 発表標題 バイオプロセスを用いたアンチモン化合物合成の試み
3. 学会等名 第73回日本生物工学会大会 (2021)
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 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 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 小西拓実、村上智哉、岡村好子、富永依里子
2. 発表標題 培養時間による PbS の粒径制御
3. 学会等名 薄膜材料デバイス研究会 第18回研究集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takumi Konishi, Tomoya Murakami, Yoshiko Okamura, and Yoriko Tominaga
2. 発表標題 Thin-Film Crystalline and Spherical Nanocrystalline Biogenic PbS
3. 学会等名 2022 Materials Research Society (MRS) Spring Meeting (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小川岳紘、豊田達哉、岡村好子、富永依里子、前田誠、阪口利文
2. 発表標題 Shewanella sp. KND-1株におけるPbSeナノ微粒子の形成
3. 学会等名 第22回マリンバイオテクノロジー学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 富永依里子
2. 発表標題 III-V族化合物半導体の新規結晶成長方法の開拓 -バイオプロセスでどこまでできるのか-
3. 学会等名 県立広島大学 大学院生命システム科学専攻 生命科学特別講義（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 富永依里子
2. 発表標題 資源循環系の構築に向けた海洋細菌による化合物半導体の合成
3. 学会等名 キヤノン財団主催第一回講演会：微生物は縁の下の力持ち -サステナブルな未来をつくる微生物の不思議を考える-（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 椋木亜美、小西拓実、岡村好子、富永依里子
2. 発表標題 海洋性細菌による In, Ga, As の回収
3. 学会等名 第41回電子材料シンポジウム（EMS-41）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 富永依里子
2. 発表標題 様々な結晶成長 -Bi系III-V族半導体半金属混晶の分子線エピタキシャル成長から細菌を用いたGaAs系III-V族化合物半導体混晶まで-
3. 学会等名 2022年度 新結晶成長学シンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 富永依里子
2. 発表標題 海洋細菌を用いた化合物半導体の結晶成長
3. 学会等名 日本地球惑星科学連合2023年大会 (招待講演)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 富永依里子
2. 発表標題 化合物半導体結晶はいかに紡ぎ出されるのか - 超高真空中と細菌からと - そしてその応用展開
3. 学会等名 日本学術会議結晶学分科会、同IUCr分科会主催 公開WEBシンポジウム『基礎科学が導くSDGs達成への道 ~結晶&生命&技術革新~』 (招待講演)
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>広島大学 研究者総覧: 富永依里子 https://seeds.office.hiroshima-u.ac.jp/profile/ja.9797704fc927298d520e17560c007669.html Yoriko Tominaga personal website https://sites.google.com/view/yorikotominaga-crystalg/home</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	岡村 好子 (Okamura Yoshiko) (80405513)	広島大学・統合生命科学研究科(先)・教授 (15401)	
研究分担者	阪口 利文 (Sakaguchi Toshifumi) (10272999)	県立広島大学・生命環境学部・教授 (25406)	
研究分担者	鈴木 道生 (Suzuki Michio) (10647655)	東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・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