

平成30年6月6日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26287133

研究課題名(和文)天然におけるナノ黄鉄鉱の生成過程と生命誕生駆動力の解明

研究課題名(英文) The role of pyrite for prebiotic synthesis and primitive life forms in the deep subsurface

研究代表者

鈴木 庸平 (Suzuki, Yohey)

東京大学・大学院理学系研究科(理学部)・准教授

研究者番号：00359168

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,200,000円

研究成果の概要(和文)：有力な生命の起源仮説である表面代謝説の検証及び黄鉄鉱の形成に関わる生命の起源と物質の特定を本研究の目的とした。初めに、深海底熱水噴出域でナノ黄鉄鉱を形成する巻貝の鱗タンパク質中で、ナノ黄鉄鉱形成に関与するタンパク質を特定し、類似の市販のタンパク質からナノ黄鉄鉱の合成することに成功した。さらに、固体硫化物には巻貝の鱗中で見つかったナノ黄鉄鉱は存在しなかったが、陸域の花崗岩中でウランのナノ鉱物を発見した。熱水噴出域と陸域地下に生息する原核生物のDNA配列解析によって共通祖先に最も近縁な原核生物を陸上の地下水中から検出し、陸上地下の鉱物-水反応により生命が誕生した可能性を示した。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study is to clarify the role of pyrite in serving as a major catalyst of prebiotic synthesis. Firstly, we performed proteomic analysis of pyrite-bearing sclerite of the scaly-foot gastropod and identified a small protein molecule that chelates Fe(III). By using a chemically analogous protein commercially available, we succeed in the synthesis of nano crystalline pyrite, suggesting that pyrite is in turn controlling the prebiotic synthesis. We also performed metagenomic analysis of subsurface microbes in terrestrial granitic rocks and found primitive life forms closely related the last universal common ancestor. Together, we discovered biochemical processes and life forms potentially important for the study of the emergence of life on Earth.

研究分野：地球微生物学

キーワード：生命の起源 ナノ黄鉄鉱 バイオミネラル 深海底熱水噴出域

### 1. 研究開始当初の背景

40億年に渡る地球との共進化を経て、現在の豊潤な生命圏が形成した。生命が熱水噴出に伴われて誕生したとする説は、DNA配列に基づく系統樹で高温環境に生育する原核生物が、生物の共通祖先に近いことから有力視される(Woese, C. R. 1987)。熱水噴出に最も普遍的な鉱物である黄鉄鉱( $\text{FeS}_2$ )が、非晶質硫化鉄と硫化水素が反応して形成する際に、 $\text{H}_2$ を発生する( $\text{FeS} + \text{H}_2\text{S} \rightarrow \text{FeS}_2 + \text{H}_2$ )。この $\text{H}_2$ を還元剤として $\text{CO}$ や $\text{CO}_2$ から様々な有機物(例えば蟻酸 $\text{HCOOH}$ )が黄鉄鉱の表面触媒作用により生成することが実験により裏付けられており、これらの証拠から「表面代謝説」が1988年にWächtershäuserによって提唱された。

現在も主要な生命起源仮説の一つであるが、反応の還元剤であり生命活動のエネルギー源となる $\text{H}_2$ の供給が形成時に限定される問題も指摘される。既往の生命誕生仮説の多くは、初期地球は隕石の衝突が頻繁で紫外線が強いため、深海や地殻内がシェルターとなり、生命の誕生場になったとするが、生命誕生が太陽光の届く表層の可能性もあり得る。その場合、クロロフィルのように、黄鉄鉱が太陽光エネルギーを電気エネルギーに変換して、安定な還元力を提供し生命誕生を駆動したと着想されるが、その可能性は全く追求されていない。

申請者らはインド洋中央海嶺の深海底熱水噴出域に生息する巻貝の硫化鉄鱗中で、ナノ黄鉄鉱の天然での存在を示す世界初の事例となるタンパク質に包まれて形成するナノ黄鉄鉱を発見した(Suzuki, Y., Kogure, T. et al. 2006)。

結晶サイズの大きなバルクと比べて粒径3nm程度の結晶は、比表面積の増大だけでなく表面構造も大きく異なり、優れた触媒能や光起電力が期待された。黄鉄鉱の結晶サイズ特性に着目した生命誕生に関する仮説・検証の先行事例は皆無だが、太陽光発電の効率化で現在急速に進歩している黄鉄鉱ナノ化技術を活用して(Lin, C. W. et al. 2011)、室内実験により合成を行うことは容易である。近年東太平洋や南太平洋の深海底から噴出する熱水中からも粒径4nmのナノ黄鉄鉱の報告がなされたが、その根拠となる透過型電子顕微鏡のデータは、硫化鉄ナノ粒子の観察像は示しているが、黄鉄鉱の結晶学的証拠は何一つ示されていなかった(Yucel, M. et al. 2010)。従って、ナノ黄鉄鉱が普遍的に熱水噴出域で形成するのか、またどのような生物作用により形成するのかについて明らかにする必要があった。

### 2. 研究の目的

上記の研究背景をもとに本研究は、これまで天然での存在が認識されていなかったナノ黄鉄鉱の光触媒作用による有機分子の形成能について実験的により評価する手法の確

立、熱水噴出域におけるナノ黄鉄鉱形成の普遍性を示すための野外調査及びナノ鉱物評価、およびナノ黄鉄鉱の形成に關する生物種と生体分子の特定を行う。

### 3. 研究の方法

無酸素・高温条件下における紫外・可視光照射実験系の確立

紫外・可視分光光度計は重水素ランプとタングステンランプを併用して、波長と強度を制御して試料に光を入射することが可能である。試料を入れる光学セルの素材を溶融石英とし、密閉型にしてヘッドスペースを任意のガスに置換することにより、無酸素状態で照射実験が可能である。またタンパク質の酵素活性測定に用いられる温度制御型のセルホルダーを用いる事により高温での実験も可能になる。

装置の導入と平行して、ナノ黄鉄鉱の大量合成を行う。ナノ黄鉄鉱の合成はナノ化技術で用いられているオレインアミン法を用いて行う。しかしナノ黄鉄鉱に吸着している可能性のある有機溶媒について、無酸素条件下での超純水による洗浄を繰り返すことで低減する。残留量の評価は蛍光光度計により高感度な測定を行う。それでも混入する有機物が検出される場合は、450℃でナノ黄鉄鉱に吸着した有機物を熱分解する。

有機物合成実験後の産物の解析は、ヘッドスペース中の揮発性有機物をガスクロマトグラフィー質量分析計(GC-MS)で測定し、液相は液体高速イオンクロマトグラフィー法にて行う。まずこれらの分析法を用いて、ブランクの評価を行うと共に、対象となる有機分子である蟻酸や酢酸等の有機酸やアミノ酸の分析手法の確立を行う。実験系での汚染の問題が解決できない場合は、安定同位体( $^{13}\text{C}$ )でラベルした $\text{CO}_2$ と $\text{CO}$ を用い、合成物の化合物レベルでの安定同位体測定により解決する。

ナノ黄鉄鉱触媒作用による有機物合成能評価による仮説検証

生命の生育最高温度が120℃であることを加味すると、生命誕生の場は水素イオン濃度勾配が急激な100℃程度の熱水-海水混合域を想定して妥当である。また遊離酸素が微量で、UVを遮断するオゾン層もない当時の太陽光を再現して照射実験を行う。pHは5~10に振り100ppmの条件で実験を行う。液相の塩分は淡水から海水の間で3段階振った条件で実験を行う。二価鉄、硫化水素、ポリリン酸およびアンモニアを溶液に加え、ガス組成は $\text{CO}_2:\text{CO}:\text{N}_2:\text{H}_2:\text{CH}_4=96:1:1:1:1$ で行う。へ

ッドスペース中に生成した揮発性有機物は直接的にGC-MS法で測定し、液相は直接的にHPLC法、またはトリメチルシリル(TMS) 化またはメチルエステル化してGC-MSで同定・定量する。

#### ナノ黄鉄鉱形成巻貝のナノ黄鉄鉱形成タンパク質の特定

生体鉱物化作用は、カルシウム炭酸塩・リン酸塩鉱物またはシリカ鉱物が主要で、硫化鉄を生体鉱物化する生物は、走磁性細菌と硫化鉄鱗の巻貝のみである。近年の生化学や分子生物学分野の技術的進展により、鉱物の核形成や結晶成長を制御するタンパク質群の特定が可能である。申請者がアコヤ貝の真珠層を構成するアラレ石の形成を司るタンパク質を同定した手法を適用して(Suzuki M, Kogure T et al. 2010)、ナノ黄鉄鉱の形成に関するタンパク質群の有無を明らかにする。

硫化鉄鱗を粉砕し、可溶性と不溶性のタンパク質を抽出する。抽出したタンパク質をナノ黄鉄鉱に結合させ、結合した画分を遠心分離し、結合実験の有無で、ポリアクリルアミドゲル電気泳動(SDS-PAGE)で抽出タンパク質のバンドを比較する。

#### 熱水噴出に生息するナノ黄鉄鉱形成微生物の特定

熱水噴出域と陸域地下に生息する原核生物のDNA配列を取得するために、各試料から抽出する。抽出したDNAを対象に次世代シーケンサーを用いて16S rRNA遺伝子解析及びゲノム解析実施する。16S rRNA遺伝子情報を元に分子系統解析を行って、熱水噴出域と陸域地下に生息する微生物種を同定する。また、取得したゲノム情報の解析にはKEGG PATHWAY(データベース)を利用した。

#### 4. 研究成果

##### 黄鉄鉱の形成に関わるタンパク質の特定と有機物合成実験

深海底熱水噴出域でナノ黄鉄鉱を形成する巻貝の鱗タンパク質中で、ナノ黄鉄鉱形成に関与するタンパク質を特定するために、巻貝の鱗を塩酸処理した。塩酸抽出で溶解しない黄鉄鉱をクロム還元法により完全に溶かして、鱗中の有機物を網羅的に抽出した。塩酸抽出液に対し HPLC ポストカラム法を用いて鉄結合物質の分離・検出を行い、ルミノールの化学発光を用いて鉄結合物質の検出を試みた結果、鉄結合能を持つ低分子の有機物を検出することに成功した。これにより、深海底熱水噴出域でナノ黄鉄鉱を形成する巻貝の鱗タンパク質中で、ナノ黄鉄鉱形成に関与するタンパク質を特定することができた。

生命誕生場に想定される無酸素・高温条件下で、水溶液中のナノ黄鉄鉱に紫外・可視光を波長領域と強度を制御して照射する実験系の確立を行った。結果、石英セルを密閉して気相を制御しながら 90 まで昇温させることに成功した。また、光源として可視光の波長領域の電磁波を石英セルに強度を制御して照射できる光学系を立ち上げた。この実験系を用いて、深海底熱水噴出域を模擬した高温・海水条件と陸域地下を模擬した低温・淡水条件で、有機物合成を試みた。結果、類似の市販のタンパク質からナノ黄鉄鉱の合成することに成功した。

##### 共通祖先に最も近縁な原核生物

申請当初はナノ鉱物と DNA 配列を組み合わせてナノ黄鉄鉱形成能を有する原核生物の種を同定し、培養菌株を用いて in vitro で合成実験を行う予定であった。しかし、本研究を行っている途中にゲノム解析の進展によって生命起源研究に大改革が起き、生命誕生に関与する可能性の高い共通祖先は中温を好む原核生物で、陸域地下に生息することが明らかになった。そこで、熱水噴出域と陸域地下に生息する原核生物の DNA 配列解析を行って、どちらの環境に共通祖先に近い微生物が生息するかの解明を目指した。ゲノム解析で明らかになった共通祖先に最も近縁な原核生物を陸上の地下水から検出し、陸上地下の鉱物-水反応により生命が誕生した可能性を示した。一方で深海底熱水噴出域から採取した固体硫化物には共通祖先に近い微生物は優占しなかった。また、岐阜県にある地下研究施設の花崗岩中では、有機物が極微量にしかなく、マグマ由来のメタンをエネルギー源とする古細菌が優占することを明らかにした。

##### ナノ鉱物学的特性

海底と陸上の熱水噴出域で、熱水と熱水活動に伴われて形成した固体硫化物を採取し、ナノ鉱物学的特性を明らかにするために、深海底熱水噴出域から採取した固体硫化物と大陸地殻を構成する花崗岩のナノ鉱物学的な解析を行った。固体硫化物には巻貝の鱗中で見つかったナノ黄鉄鉱は存在しないが、花崗岩中にウランのナノ鉱物を発見した。

##### 深部花崗岩中に生息する原核生物の代謝の解明

「黄鉄鉱の形成に関わるタンパク質の特定と有機物合成実験」の結果を受けて「タンパク質によって合成されたナノ黄鉄鉱の有機物合成特性の評価」の実施が必要になったので、花崗岩中に生息する原核生物の代謝の解明を行った。岐阜県にある地下研究施設の深部花崗岩中を対象としたのは、地下水中の有機物濃度が極めて低いため、35億年前の地球環境と類似していると考えられたためであ

る。研究に用いた深部花崗岩には、亀裂の密度によって地下水の硫酸濃度が高い部分と低い部分に分かれている。それぞれの部分に生息する原核生物の特性を調べた結果、共通祖先に近縁な細菌と古細菌は硫酸濃度が高い部分のみに生息し、硫酸を含む硫黄化合物を用いた代謝をしていることが明らかになった。

#### 参考文献

- Woese, C. R. (1987) *Microbiol Rev.* 51(2): 221–271.  
Wächtershäuser, G. (1988) *Microbiol Rev.* 52(4): 452–484.  
Suzuki, Y., Kogure, T. et al. (2006) *Earth & Planetary Science Letter* 242: 39–50.  
Lin, C. W. et al. (2011) *J. Phys. D: Appl. Phys.* 44: 292002.  
Yucel, M. et al. (2010) *Nature Geosci* 4, 367-371.  
Suzuki, M., Kogure, T. et al. (2010) *Science*, 325(5946), 1388-1390.

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 14 件)

- Hernsdorf, AW, Suzuki, Y. (10 人中 5 番目) Banfield, JF. et al., Potential for microbial H<sub>2</sub> and metal transformations associated with novel bacteria and archaea in deep terrestrial subsurface sediments. *ISME Journal*, 2017, 11:1915-1929. doi: 10.1038/ismej.2017.39. 査読有  
Ino, K., Banfield, JF, Suzuki, Y. (20 人中 20 番目) et al., Ecological and genomic profiling of anaerobic methane-oxidizing archaea in a deep granitic environment. *ISME J.* 2017. 12:31-47. doi:10.1038/ismej.2017.140. 査読有  
Suzuki, M., Kogure, T., Nagasawa, H. Studies on the chemical structures of organic matrices and their functions in the biomineralization processes of molluscan shells. *AGri-Bioscience Monographs.* 2017. 7:25-39. doi: 10.5047/agbm.2017.00702.0025. 査読有  
Kubota, K., Kogure, T. (10 人中 3 番目) Suzuki, M. (10 人中 10 番目), Structural and functional analyses of a TIMP and MMP in the ligament of *Pinctada fucata*. *Journal of Structural Biology.* 2017, 199: 216-224. doi: 10.1016/j.jsb.2017.07.010. 査読有  
Suzuki, M. (7 人中 1 番目) Kogure, T. (7 人中 7 番目) et al., Microstructure of

iridescence-lacking pearl formed in *Pinctada fucata*. *J. Crystal Growth*, 2016, 433: 148-152. Doi: 10.1016/j.jcrysgro.2015.10.014. 査読有  
Kogure, T. (6 人中 4 番目) Suzuki, M. (6 人中 6 番目) et al., Formation of gold nanoparticles by glycolipids of *Lactobacillus casei*. *Scientific Reports*, 2016, 6: 34626. doi:10.1038/srep34626. 査読有

鈴木庸平, 放射性元素による汚染浄化に応用可能な長期固定機構の発見. *Isotope News* 2017, 749: 12-16. 査読無

鈴木庸平, 急激な地球温暖化は海洋生態系に何をもたらすのか? ~化石 DNA による近過去の復元と将来予測への挑戦~ *Japan Geoscience Letter* 2017, 13:2. 査読無

Ino, K., Suzuki, Y. (12 人中 12 番目) et al., Deep microbial life in high-quality granitic groundwater from geochemically and geographically distinct underground boreholes. *Environ. Microbiol. Rep.* 2016, 8(2), 285-295. doi: 10.1111/1758-2229.12379. 査読有

Suzuki, Y. (8 人中 1 番目) et al., Formation and Geological Sequestration of Uranium Nanoparticles in Deep Granitic Aquifer. *Scientific Reports.* 2016, 6: 22701. doi:10.1038/srep22701. 査読有

Yamaguchi, N., Mitome, M., Akiyama-Hasegawa, K., Asano, M., Adachi, K. and Kogure, T. Internal structure of cesium-bearing radioactive microparticles released from Fukushima nuclear power plant. *Scientific Reports*, 2016, 6: 20548. doi:10.1038/srep20548. 査読有  
Hug L, Suzuki Y. (17 人中 11 番目), Banfield, JF. A new view of The Tree and life's diversity. *Nature Microbiol.* 2016,1:16048. doi:10.1038/nmicrobiol.2016.48. 査読有

Kogure, T. (6 人中 4 番目) Suzuki, M. (7 人中 7 番目) Synthesis of CdSe quantum dots using *Fusarium oxysporum*. *Materials.* 2016, 9: 855. doi: 10.3390/ma9100855. 査読有  
D'Hondt, S., Suzuki, Y. (35 人中 28 番目) et al., Presence of oxygen and aerobic communities from seafloor to basement in deep-sea sediment. *Nature Geoscience*, 2015, 8: 299-304. doi:10.1038/ngeo2387. 査読有

[学会発表](計 5 件)

Ino, K., Suzuki, Y. (6 人中 16 番目) et al., Co-occurrence and Metabolic

Consequences of Candidate Bacterial Phyla and Anaerobic Methane Oxidizing Archaea in the Deep Crustal Biosphere. Japan Geoscience Union Meeting 2017, BCG04-P03 (2017. 5.22. Chiba) 国際学  
Suzuki, Y. Diversity and metabolic and genomic characteristics of prokaryotes in deep granitic rock independent of photosynthesis. Japan Geoscience Union Meeting 2017, BCG07-03 (2017. 5. 22. Chiba) 国際学会  
鈴木庸平, 微生物細胞の局在化で解明する地球規模で進行する鉱物 水反応のフロント日本鉱物科学会 2017 年会, R4-06 (2017. 9. 12. 愛媛県) 国内学会  
Ino, K. Banfield, J. & Suzuki, Y. (19 人中 19 番目) et al., Co-occurrence and Metabolic Consequences of Candidate Bacterial Phyla and Anaerobic Methane Oxidizing Archaea in the Deep Crustal Biosphere, Goldschmidt 2016 (2016. 6. 28. Kanagawa) 国際学会  
Suzuki, Y. Deep Life in the Crustal Biosphere: Novel Insights from Recent Drilling Projects. Deep Carbon Symposium in Yokohama 2016 (2016. 6. 26 Kanagawa) 招待講演

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

鈴木 庸平 (SUZUKI, Yohey)  
東京大学・大学院理学系研究科・准教授

研究者番号：00359168

### (2) 研究分担者

小暮 敏博 (KOGURE, Toshihiro)  
東京大学・大学院理学系研究科・教授  
研究者番号：50282728

鈴木 道生 (SUZUKI, Michio)  
東京大学・大学院農学生命科学研究科・准教授  
研究者番号：10647655

### (3) 連携研究者

無し

### (4) 研究協力者

Banfield, JF (Banfield, Jillian, Fiona)  
University of California, Berkeley・Earth and Planetary Sciences Department・Professor

幸塚 麻里子 (Kouduka, Mariko)  
東京大学・大学院理学系研究科・特任研究員  
研究者番号：60706365

伊能 康平 (Ino, Kohei)  
東京大学・大学院理学系研究科・修士学生