

(様式第4号)

小角X線散乱を用いたバイオ起源ナノ粒子の階層構造の解析 Small angle X-ray scattering analysis on structural hierarchy of the biogenic nanoparticles.

著者氏名大貫敏彦¹、宇都宮聡²、仲松有紀²

Toshihiko Ohnuki, Satoshi Utsunomiya, Yuki Nakamatsu

著者所属¹日本原子力研究開発機構先端基礎研究センター

Advanced Science research Center, JAEA

²九州大学、化学科

Kyushu University, Department of Chemistry

※長期利用課題は、実施課題名の末尾に期を表す(I)、(II)、(III)を追記すること。

1. 概要

Ybを溶解した水溶液と接触した酵母細胞のSAXSプロファイルを測定した。48時間接触した細胞のSAXSプロファイルは2時間接触した細胞のプロファイルとは異なった。この結果は、SEM解析で得られたYbの吸着からナノ粒子化の結果と調和的である。

(English)

SAXS profiles of the yeast cells after exposure to Yb solution for 2 and 48 hours. The SAXS profile of the cells of 48 hours exposure was different from that of 2 hours exposure. This result is an evidence of the chemical states change of Yb at cell surface from adsorbed one to nano-particle formation estimated by SEM analysis.

2. 背景と研究目的：

地殻表層中における元素は地下水中を移行する。その際、元素は無機構成物質及び有機抗生物質と相互作用を繰り返す。我々は、無機構成物質の中でも環境に普遍的存在し、また有害重金属と高い親和性を示す、微生物をターゲットして希土類元素などとの相互作用を調べている。これらの研究の中で、微生物細胞表面で希土類元素が細胞内から排出されるリン酸と結合してナノ粒子を生成することを見いだした。一方、微生物がない系では1 μ m以上の沈殿物が形成されることから、微生物細胞で特異的に起こる反応であると考えている。さらに、細胞表面に濃集した希土類元素の配位構造をXAFSにより解析した結果、細胞表面の官能基に吸着した希土類元素がその化学状態を変えて鉱物化することも明らかにしている。

細胞表面に生成したバイオ起源のナノ粒子の物理化学的特性を明らかにするためには、ナノ粒子の階層構造を知ることが重要である。シンクロトロン光を用いた微小角X線散乱解析(SAXS)はナノ粒子の階層構造を解析するための有効な手段である。

本研究は、バイオ反応場において発現する機能として、アクチノイドのナノ粒子生成機構を生体分子レベルで解明することを最終的な目的とする。そのため、微生物及び生体分子系と相互作用した結果生成する希土類元素等の重元素のナノ粒子の階層構造をX線小角散乱により明らかにする。

バイオ起源のナノ粒子の生成機構はこれまで不明であった。その理由として、粒子サイズが小さいために解析手段がほとんどないことである。特に、ある特定のナノスケールの構造を残したまま粒子

が凝集する証拠を得ることができれば、バイオ起源のナノ粒子成長に關与するタンパク質などの核の存在を示唆するものとなる。

今回の実験の特色は微生物細胞表面に成長した希土類元素ナノ粒子の階層構造を九州大学グループの開発した遠隔操作反応セルにより実験を行う点であり、バイオ起源ナノ粒子の生成機構を明らかにする上で重要な階層構造の有無を明らかにする点が特徴的であると考えられる。

3. 実験内容 (試料、実験方法の説明)

実験で用いた微生物は酵母である。あらかじめ培養した酵母を Yb (0.1mmol/L) を溶解した水溶液に添加し、pH を 5 に調整した。水溶液試料を一定時間静置後、溶液と固相を遠心分離により分離して、水溶液中の Yb 濃度を ICP-AES により測定した。酵母細胞を回収した。回収した酵母試料をキャピラリー管に封入し、小角散乱実験のための試料とした。また、細胞表面に生成したナノ粒子を調べるため、酵母試料を走査型電子顕微鏡により解析した。小角散乱実験は、佐賀大学シンクロトン光応用研究センターの Saga-LS の BL-11 において行った。

4. 実験結果と考察

REE 濃度は酵母と接触後減少した。SEM による分析の結果、42 時間以上接触した酵母細胞表面に Yb と P を含む大きさが 50-200nm の沈殿物(希土類リン酸塩ナノ鉱物)が生成していることを確認した(Fig. 1)

(Jiang, 2010)。一方、2 時間後の酵母細胞には Yb は検出されるものの、沈殿物は認められなかった。

Yb 溶液に 2 時間及び 48 時間浸漬した酵母試料の SAXS プロファイル及びイメージを Fig.2 に示す。Fig.2 から 48 時間接触した試料の XAFS プロファイルは、2 時間接触

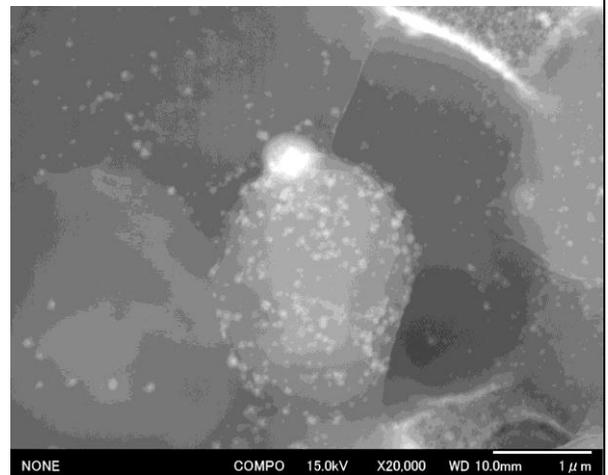


Fig.1 Yb 溶液と 48 時間接触した酵母の反射電子像。

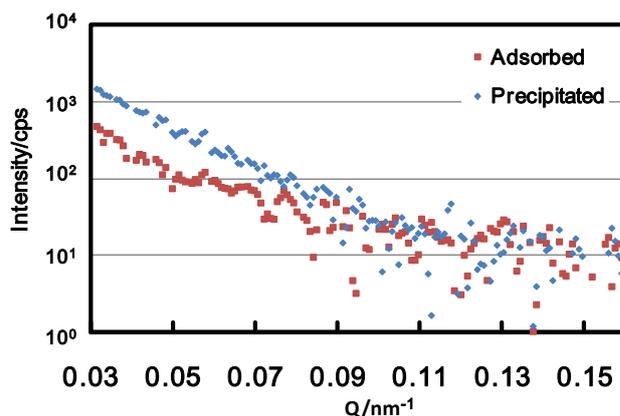
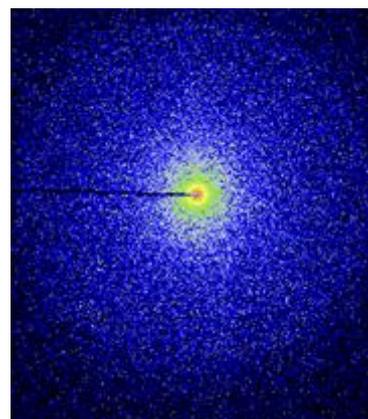


Fig.2 酵母の SAXS プロファイル及びイメージ



した試料のプロファイルと異なることが分かる。SAXS の結果は、細胞表面に吸着した Yb の化学状態が変化してナノ粒子が生成したことを示唆する SEM の解析結果と調和的である。

5. 今後の課題：

SAXS プロファイルのカウントが充分ではないために、統計誤差による変動が大きかった。微弱な回折 X 線を捉えられる高感度の検出システムなどを用いて測定すること、あるいは測定時間を高めて統計誤差を減少させる工夫が必要である。

6. 論文発表状況・特許状況

特になし

7. 参考文献

Mingyu Jiang, Toshihiko Ohnuki, Naofumi Kozai, Kazuya Tanaka, Yoshinori Suzuki, Fuminori Sakamoto, Eigo Kamiishi, Satoshi Utsunomiya, Biological nano-mineralization of Ce phosphate by *Saccharomyces cerevisiae*, Chemical Geology, 2010, 277, 61-69.

8. キーワード（試料及び実験方法を特定する用語を2～3）

（例）

・蛍光 X 線

物質を X 線で照射したときに原子の内殻軌道の電子を励起放出し、この空準位に高い準位の電子が移るときに放射される特性 X 線のこと。

・酵母

真核単細胞生物。発酵、醸造などに用いられる。ゲノムが解析されていることからモデル微生物として用いられる。

・希土類リン酸塩鉱物

希土類とリン酸が結合して形成される鉱物、溶解度が小さいために溶液中で容易に沈殿し、数ミクロンの大きさになる。一方、微生物細胞表面では、100nm 程度のナノ粒子を形成する。