

公益財団法人発酵研究所 第14回 助成研究報告

大型研究助成 O-4

バイオ合成による環境適合型 半導体製造技術基盤の構築: 細菌による多様なカルコゲン代謝機構の 解明と合理的活用法の検討

池 道彦

大阪大学大学院工学研究科
環境エネルギー工学専攻

共同研究者: 井上 大介 (大阪大学大学院工学研究科)
黒田 真史 (" " ・現 常葉大学社会環境学部)

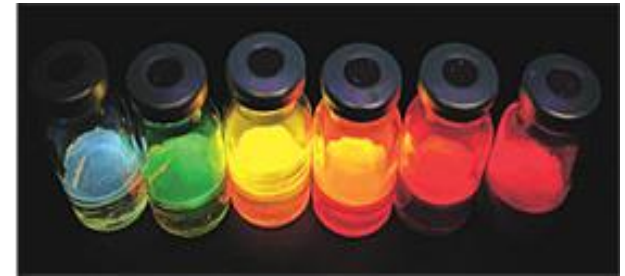
半導体ナノ粒子合成法の問題点

半導体ナノ粒子

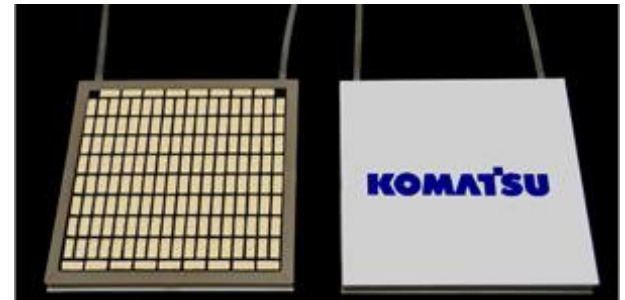
光学的・電氣的に他の材料にない特性

先端産業で広範な用途

発光素子、熱電変換材料、太陽電池、
エレクトロニクス・フォトニクス、
バイオイメージング 等



<http://www.sigmaaldrich.com/materials-science/nanomaterials/lumidots.html>



<http://www.kelk.co.jp/news/090128.html>

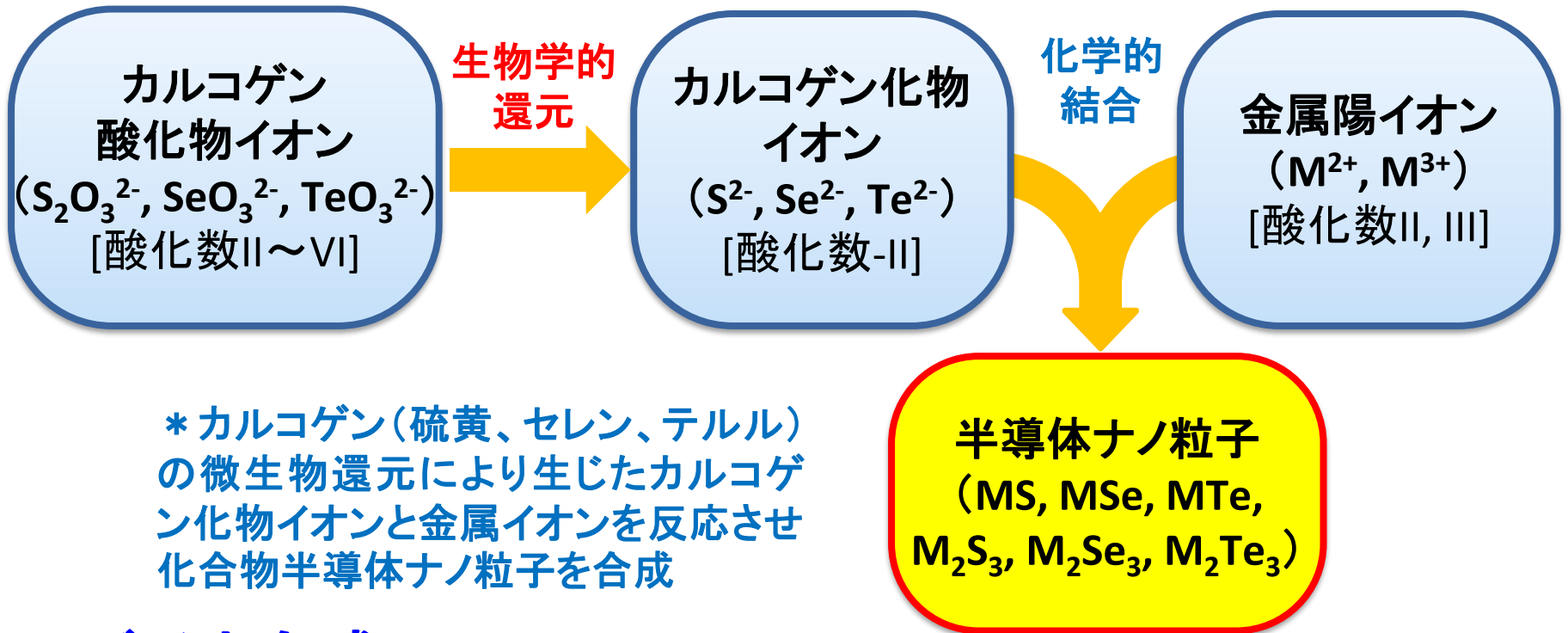
既存の合成法の問題点

(化学合成(ホットソープ法)／微粉碎化(ミル))

- ・有害な薬品(有機リン溶媒)の使用
- ・高温での反応や微粉碎化での高エネルギー消費

→ 低環境負荷・省エネ型合成法のニーズ

半導体ナノ粒子(カルコゲン系)のバイオ合成



バイオ合成のメリット

グリーンプロダクション(低環境負荷・省エネ)

有害な薬品を使用せず、常温常圧で進行する合成反応

化学合成とは異なる特性を有する粒子の合成(生体適合性等)

バイオ合成独特の形状や結晶性、タンパクによる表面の被覆

本研究の目的

カルコゲン系半導体のバイオ合成基盤の構築

- ・好気条件下で活発なカルコゲン代謝能力を持つ細菌の半導体合成能の評価
- ・多様なカルコゲン系（硫化物・セレン化物・テルル化物）半導体合成の実証
- ・カルコゲン系半導体のバイオ合成機構の推定

カルコゲン系半導体バイオ合成研究の現状

- ・遺伝子組換え大腸菌や酵母などのモデル微生物による合成報告が主であり、実用的な合成微生物の報告は皆無
- ・硫化物半導体の報告が主で、セレン化物半導体、テルル化物半導体合成の報告はかなり限定的
- ・カルコゲンの対イオンとしては、カドミウムが殆どであり、他の金属との化合物の合成は僅か（亜鉛、鉛等）

(Mal et al., RSC Adv., 6, 41477-, 2016)

使用したカルコゲン代謝細菌と合成条件

半導体合成能を試験した主なカルコゲン代謝細菌株

菌株名	代謝可能なカルコゲン	文献
<i>Lysinibacillus</i> sp. HM1	S(II)	特開2020-054302
<i>Stenotrophomonas</i> sp. HM2	S(II)	特開2020-054302
<i>Pseudomonas stutzeri</i> NT-I	Se(IV) Se(VI) Te(IV)	Kuroda <i>et al.</i> , 2011 ^{*1}
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> RB	Se(IV) Te(IV)	Ayano <i>et al.</i> , 2013 ^{*2}
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> TI-1	Se(IV) Te(IV)	Kagami <i>et al.</i> , 2012 ^{*3}
<i>Ochrobactrum anthropi</i> TI-2	Se(IV) Te(IV)	Kagami <i>et al.</i> , 2012 ^{*3}
<i>Ochrobactrum anthropi</i> TI-3	Se(IV) Te(IV)	Kagami <i>et al.</i> , 2012 ^{*3}

* ハンドリングが容易で効率的な好氣的カルコゲン代謝を利用

*1: JBB, 112(3) 295-, *2: JBB, 177(8) 567-, *3: Waste Biomass Valorization 3(4) 409-

半導体合成試験の基本条件

無機塩培地 + 乳酸 / TSB (Trypticase Soy Broth)

+ チオ硫酸(S(III)) / 亜セレン酸(Se(IV)) / 亜テルル酸(Te(IV)) (1.0 ~ 1.5 mM)

+ 各種金属イオン (1.0 mM) + ニトリロ三酢酸 (20 mM) : キレート剤

好気振盪培養 (28°C)

カルコゲン系半導体合成のスペクトル(1)

半導体合成が確認されたカルコゲンと金属種の組合せ(+)

金属種	カルコゲン種		
	S	Se	Te
Cd(II)	+	+	—
Bi(III)	+	+	—
Cu(II)	+	—	—
Zn(II)	+	—	—
Pb(II)	+	—	—

* 何れのカルコゲンに対しても半導体合成が確認できなかった金属

Sc(III) V(III) Cr(III) Mn(II)
Fe(III) Co(II) Ni(II) Ga(III)
In(III) Sb(III)

- ・S系では、比較的幅広い金属種と半導体合成が行われた。
- ・Se系では、S系に比べて半導体合成が可能な金属種が限定された(Cd、Bi)。
- ・Te系では、いずれの金属に対しても明確な半導体合成が認められなかった。

→ カルコゲン還元物と金属の単純な化合物ではない合成機構？

カルコゲン系半導体合成のスペクトル(2)

半導体合成能を示した細菌株

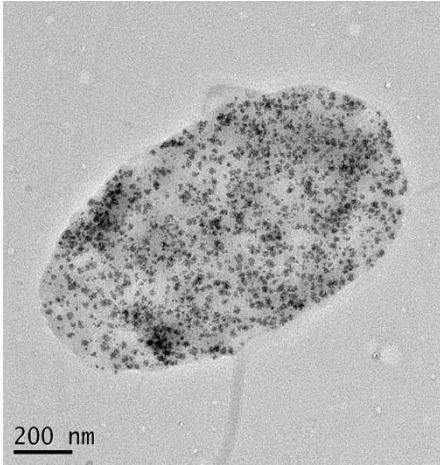
分類	菌株名	合成した半導体
S代謝菌	<i>Lysinibacillus</i> sp. HM1	CdS CuS ZnS
	<i>Stenotrophomonas</i> sp. HM2	CdS BiS CuS PbS
Se代謝菌	<i>Pseudomonas stutzeri</i> NT-1	CdSe Bi ₂ Se ₃
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> RB	CdSe Bi ₂ Se ₃
Te代謝菌	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> TI-1	Bi ₂ Se ₃
	<i>Ochrobactrum anthropi</i> TI-2	Bi ₂ Se ₃
	<i>Ochrobactrum anthropi</i> TI-3	Bi ₂ Se ₃

- ・S代謝菌にはSe、Teの効率的還元能はなく、Se系、Te系の半導体を合成することはできなかった。
- ・Se代謝菌はTeも還元することができ、Te代謝菌はSeも還元することができたが、Se系の半導体のみの合成能を示し、明確なTe系半導体の合成能を示さなかった。Se系半導体合成はSeの揮発化能の高い菌株で効果的に行われた。

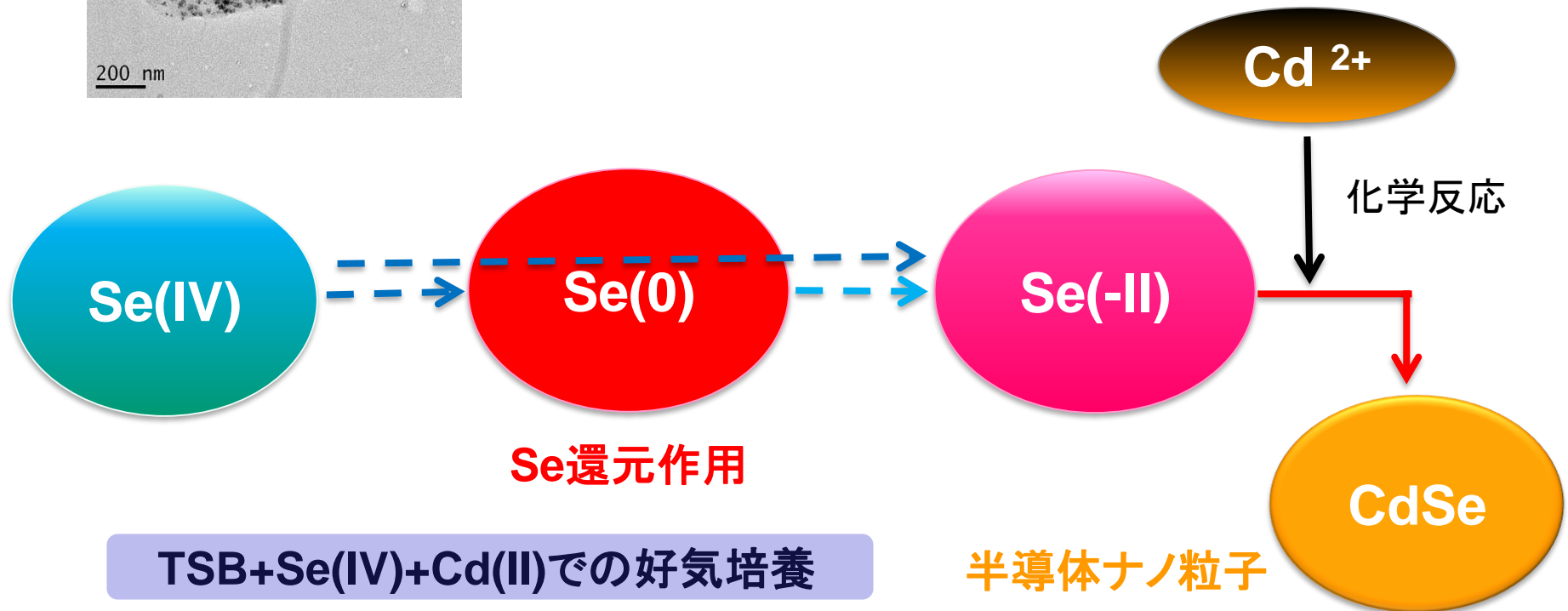
→ カルコゲン元素種ごとに効率的な代謝菌を選定する必要性

P. aeruginosa RBによるCdSe合成(1)

P. aeruginosa RB株

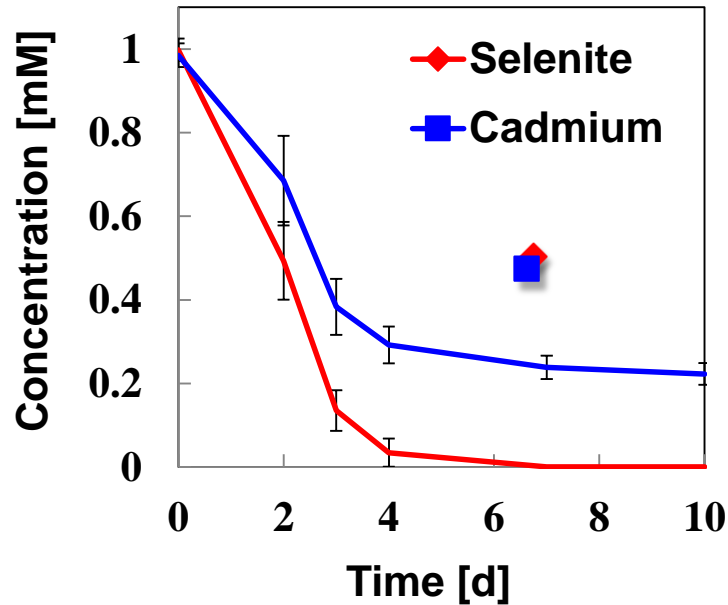


- ・高濃度Cdへの耐性を有し、Se(IV)を効率的に還元し、Se(0)粒子、Se(-II)、揮発化Se(メチル化物)を生成
- ・One-pot(Se(IV)、Cd共存下)でCdSeの合成



P. aeruginosa RBによるCdSe合成(2)

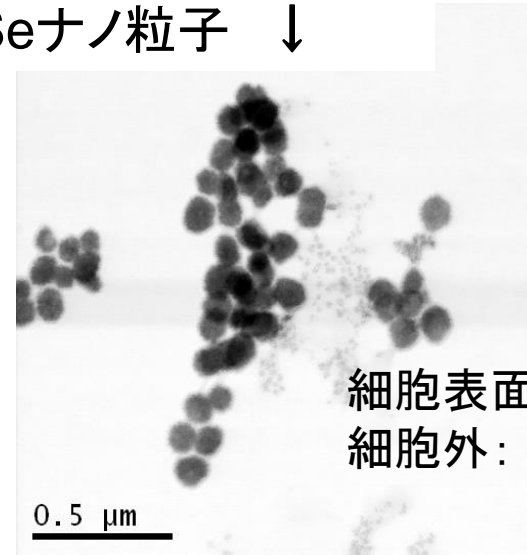
RB株によるCdSe合成



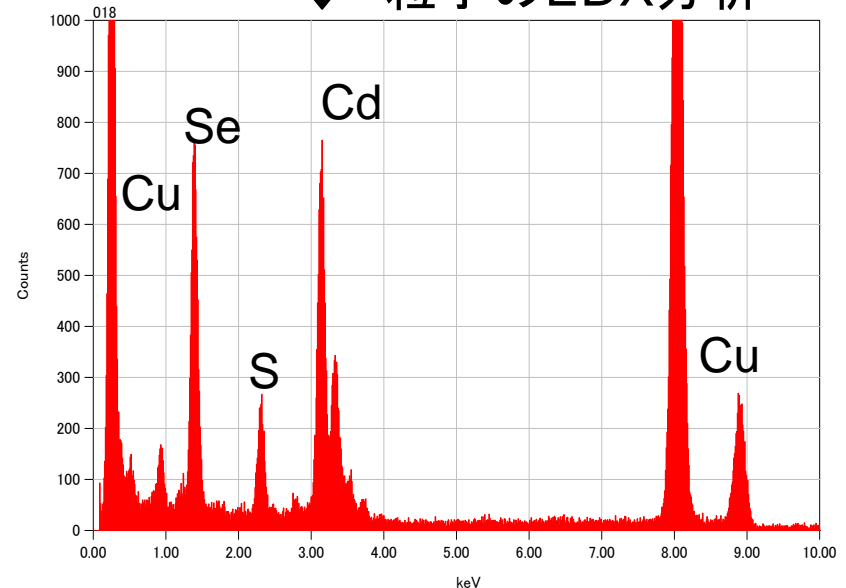
- ・Se(IV)とCd(II)の同調的な除去
- ・Se/Cd \doteq 1のナノ粒子形成

→ CdSeナノ粒子合成の確認

CdSeナノ粒子 ↓

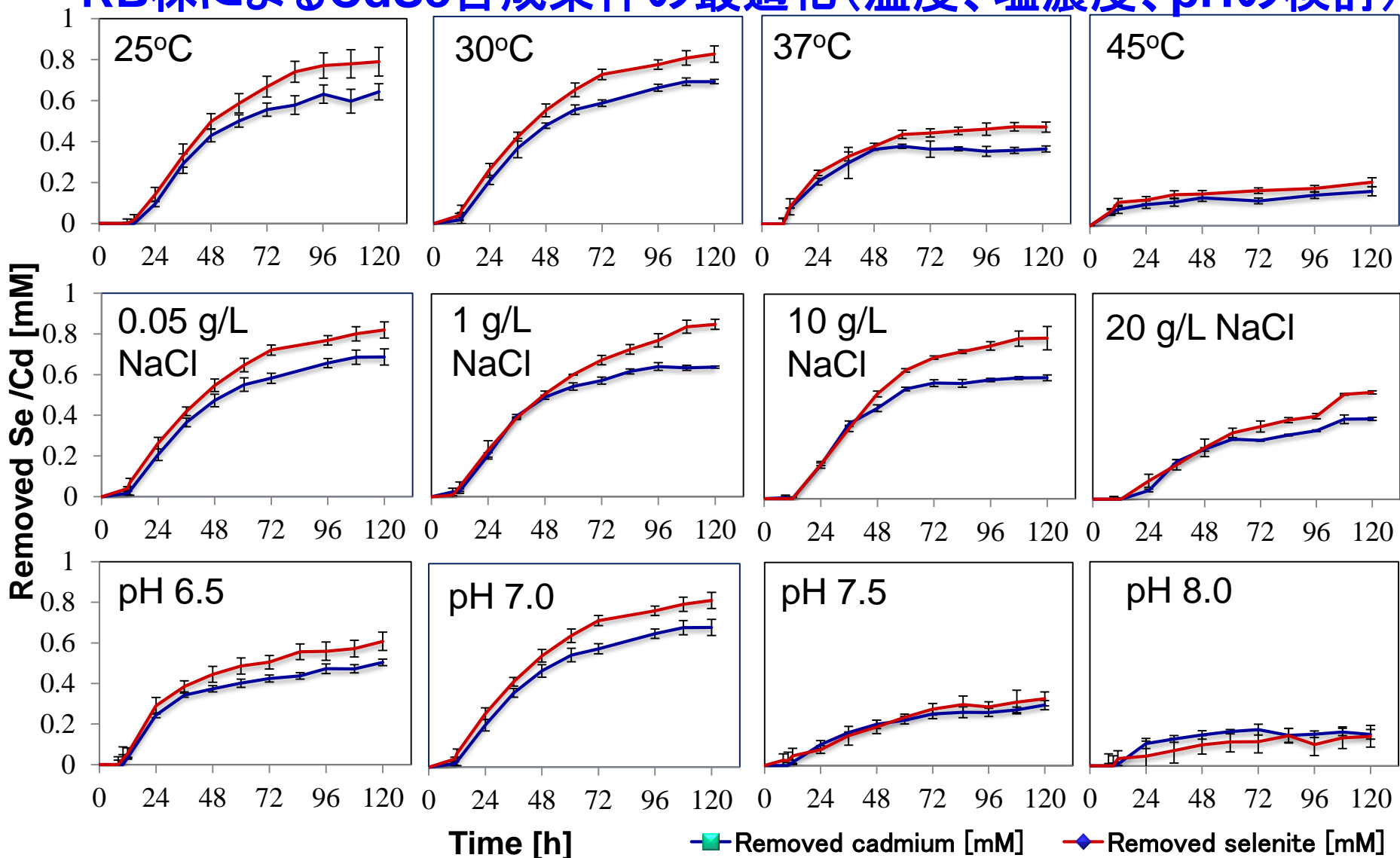


↓ 粒子のEDX分析



P. aeruginosa RBによるCdSe合成(3)

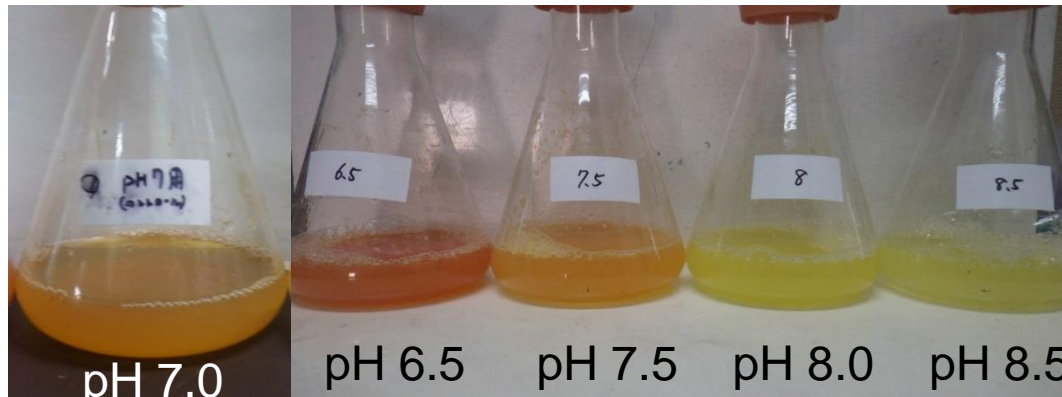
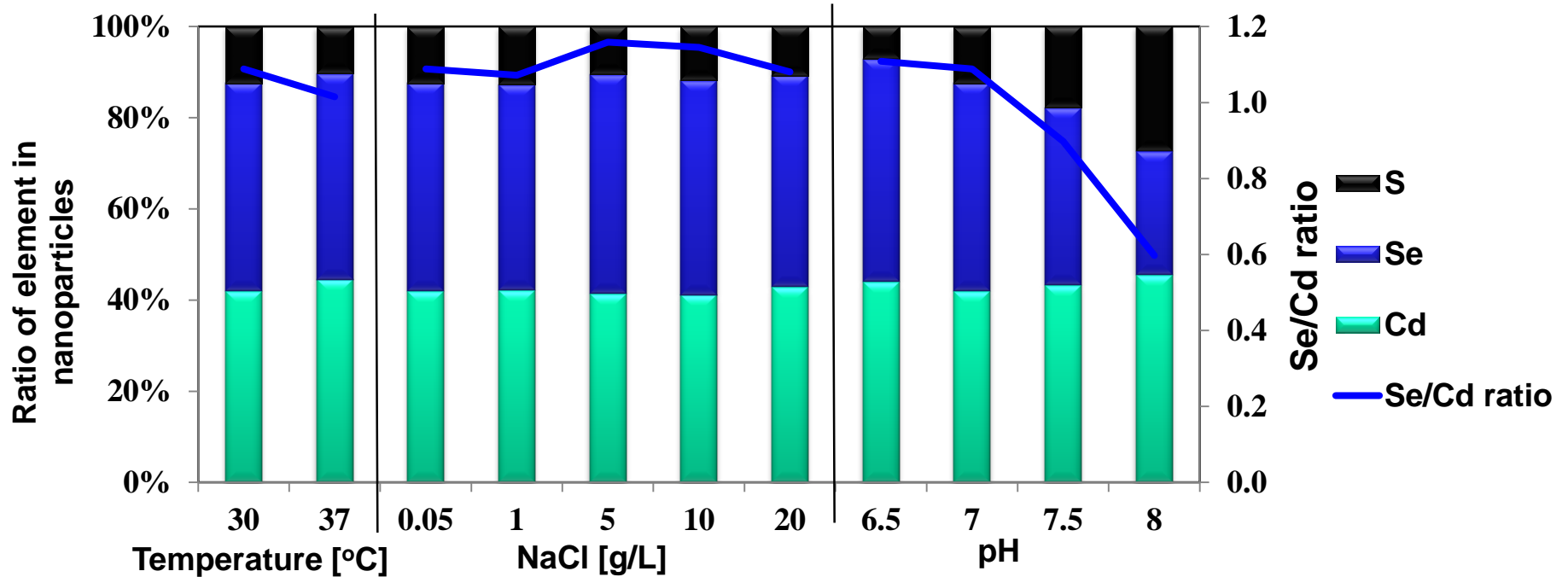
RB株によるCdSe合成条件の最適化(温度、塩濃度、pHの検討)



→ 安定したSe/Cd≒1での合成には 48 h までの回収が適正

P. aeruginosa RBによるCdSe合成(4)

RB株により合成されたナノ粒子の組成



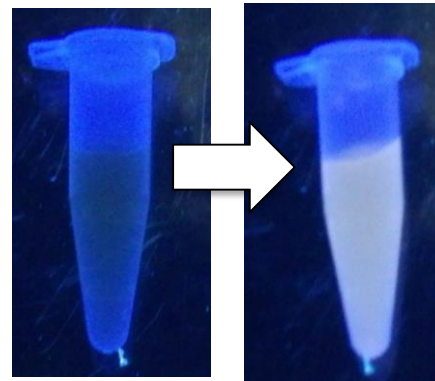
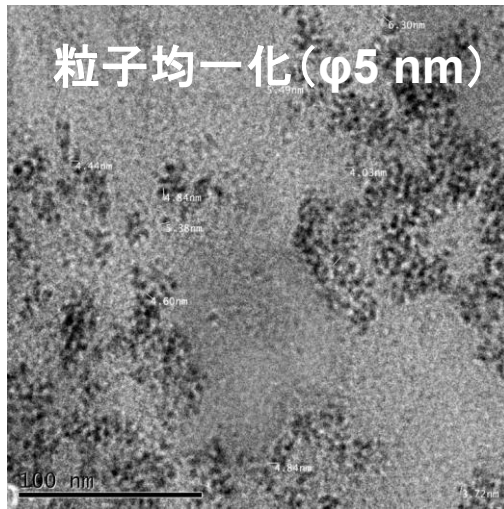
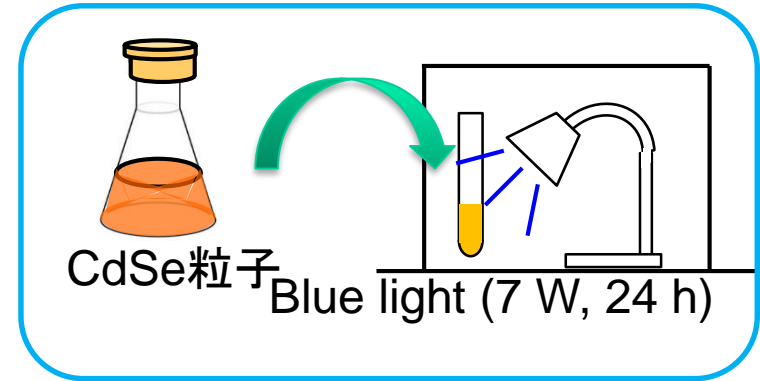
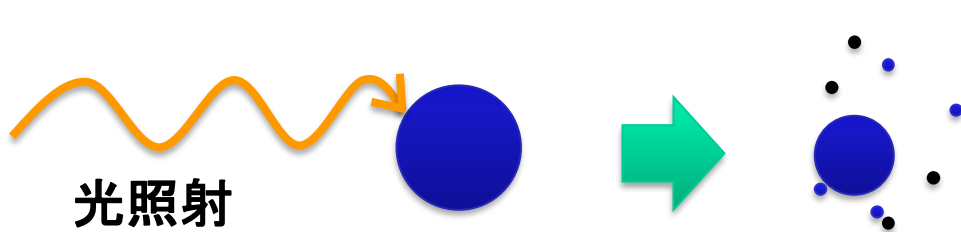
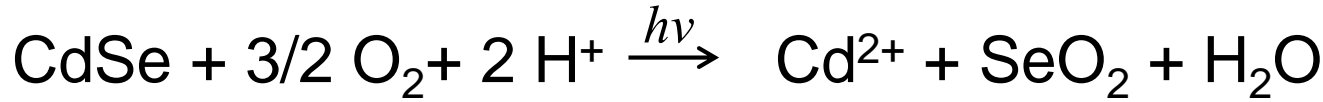
↑ pHを高めるとSの比率が増加(TSB由来)

← 生成粒子の色調変化

→ pH制御による三元素系半導体 $\text{CdS}_x\text{Se}_{(1-x)}$ 合成の可能性

P. aeruginosa RBによるCdSe合成(5)

サイズ選択的フォトエッチングによるpost-processing

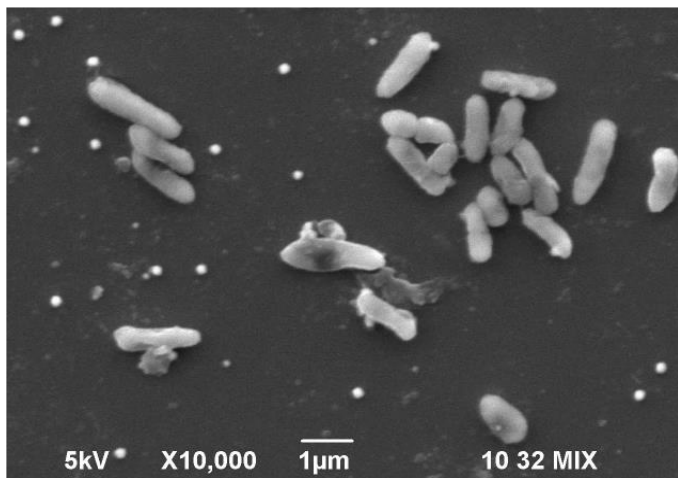


- ・生成したCdSeナノ粒子に青色LED光を照射することで、粒子径φ5 nmに均一化
- ・エッチング後、ナノ粒子の黄色蛍光発光を確認(量子ドットの特性)

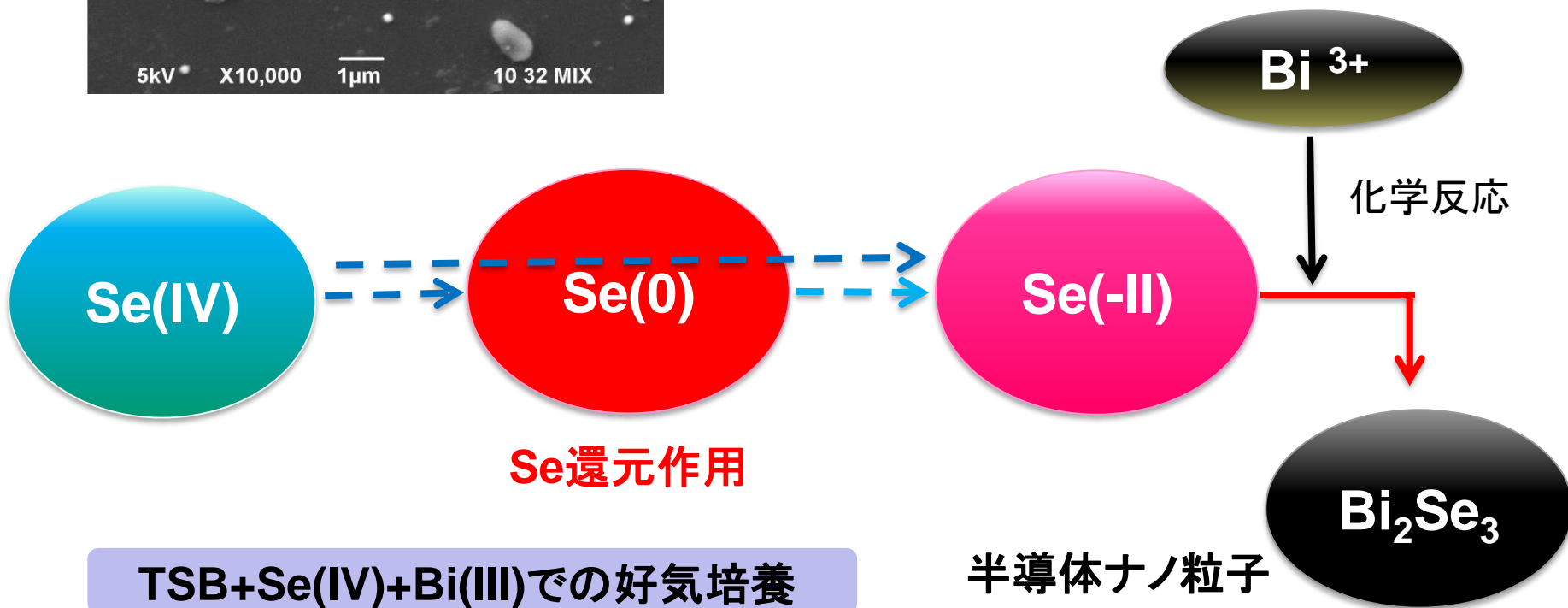
→ post-processingにより実用可能なCdSeナノ粒子へと加工

P. stutzeri NT-1による Bi_2Se_3 合成(1)

P. stutzeri NT-1株

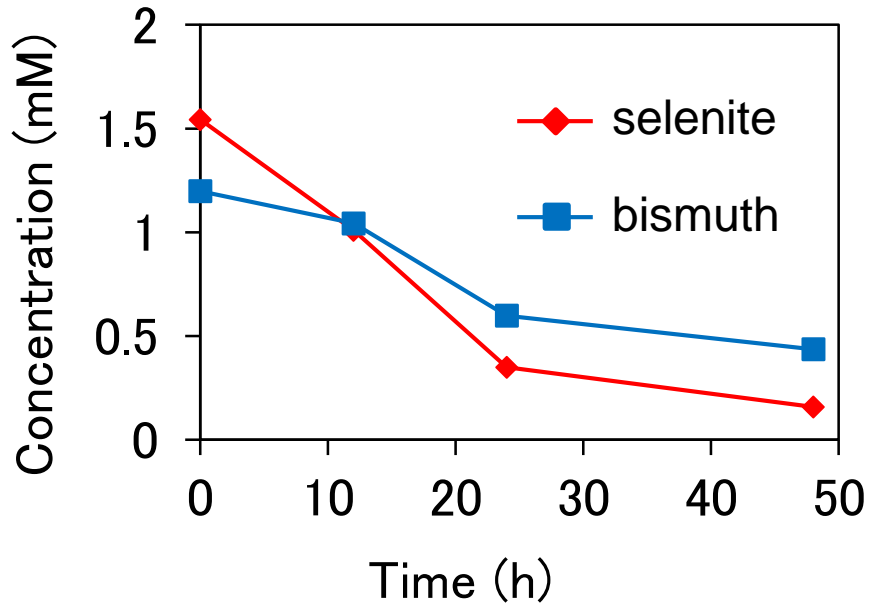


- ・好気下で極めて効率的に、 Se(IV) を還元し、 Se(0) 粒子、さらに Se(-II) 、揮発化 Se (メチル化物)を生成
- ・初の Bi_2Se_3 バイオ合成



P. stutzeri NT-Iによる Bi_2Se_3 合成(2)

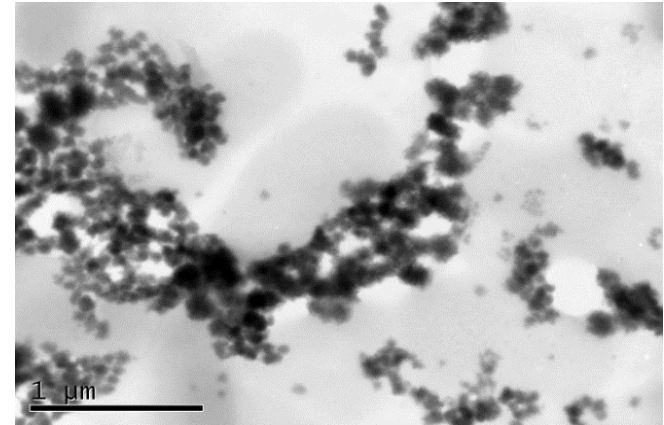
NT-I株による Bi_2Se_3 合成



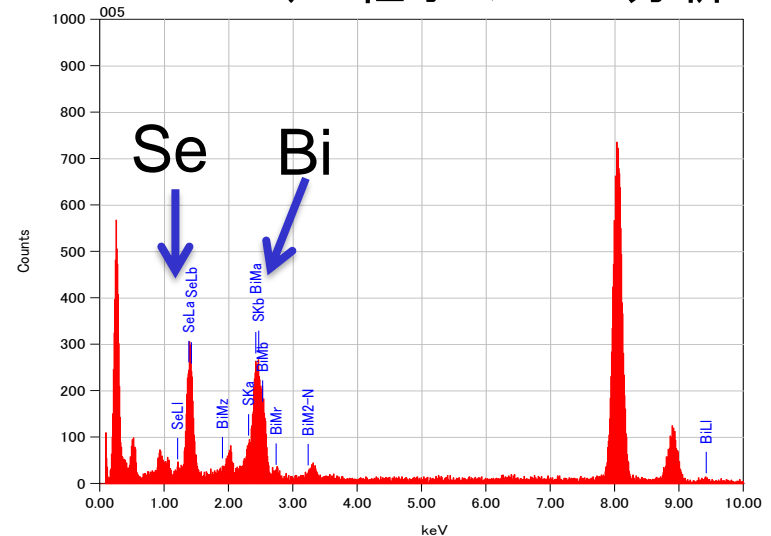
- Se(IV)とBi(III)の同調的な除去
- Se/Bi \doteq 1.5のナノ粒子形成

→ Bi_2Se_3 ナノ粒子合成の確認

Bi_2Se_3 ナノ粒子 ↓ ϕ ca. 50 nm

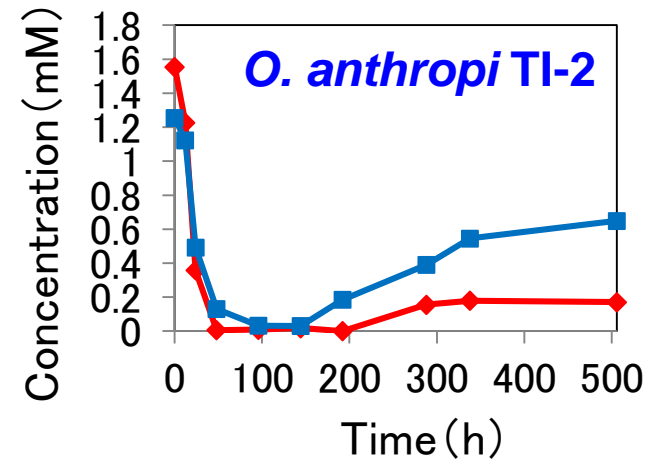
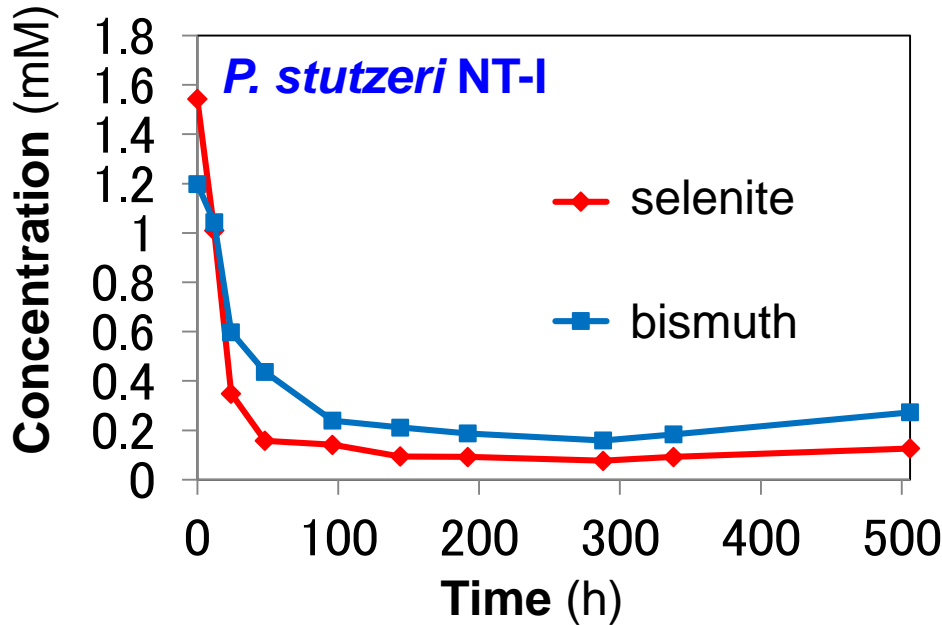


↓ 粒子のEDX分析



P. stutzeri NT-Iによる Bi_2Se_3 合成(3)

NT-I株による Bi_2Se_3 合成の安定性

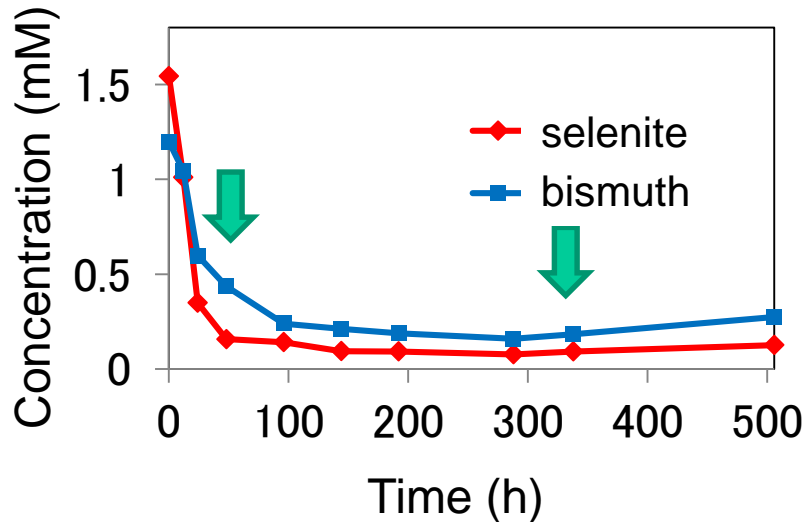


・NT-I株が生成した Bi_2Se_3 粒子は長時間の培養継続においても安定に固相に存在していたが、TI-2株(他のTe代謝菌)ではBiの再溶解を観察

→ Bi_2Se_3 合成におけるNT-I株の優位性

P. stutzeri NT-Iによる Bi_2Se_3 合成(4)

NT-I株により合成されたナノ粒子の組成の変化



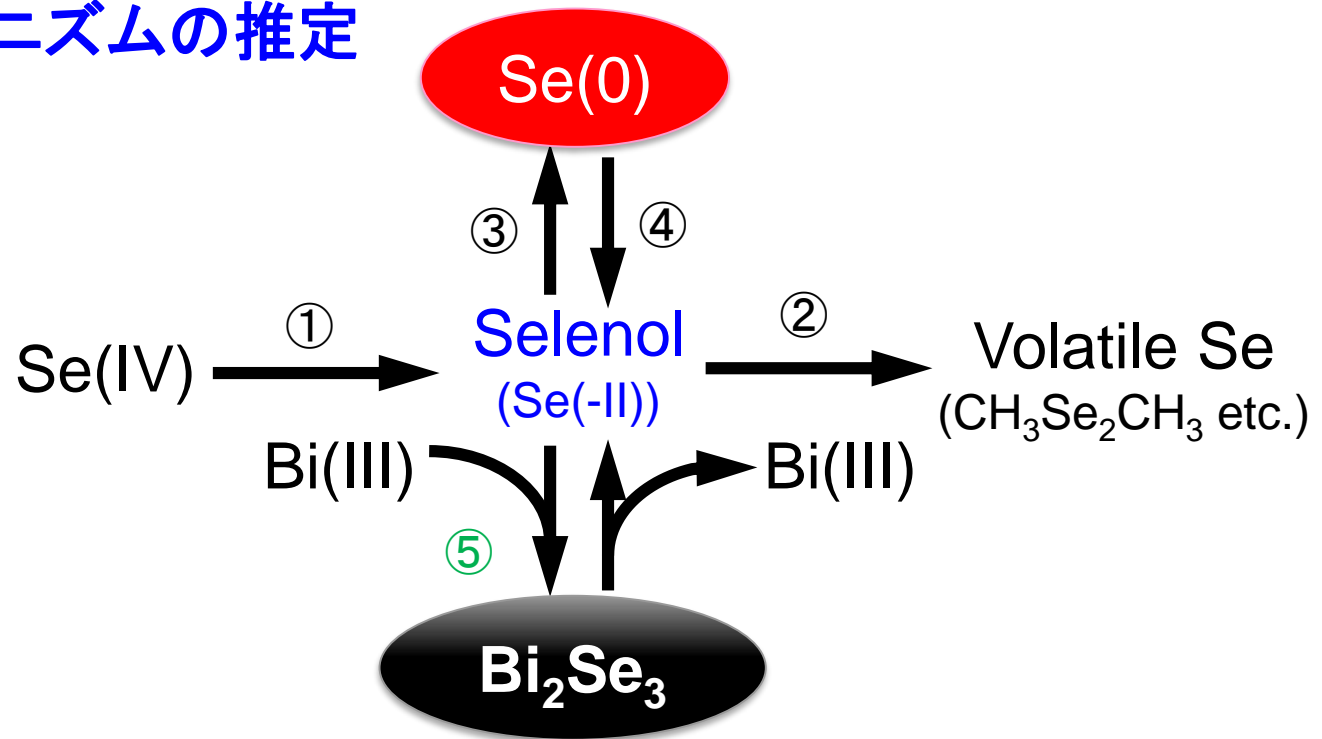
元素	培養時間 (h)	
	48	336
Se	60.6	54.3
Bi	39.4	33.4
S	0	11.8

- ・48時間後には、生成粒子はSを含まず、ほぼ Bi_2Se_3 の理論値 (Se/Bi比: 1.5) でSe、Biを含有
- ・336時間後には、S(TSB由来)を11.8%含有

→ 三元素系半導体 $\text{Bi}_2\text{S}_x\text{Se}_{(3-x)}$ 合成の可能性

P. stutzeri NT-1による Bi_2Se_3 合成(5)

Bi_2Se_3 合成メカニズムの推定



- ①→② 同化型 Se(IV) 還元: セレノール基(セレン化水素、セレノシステイン等)生成
→揮発性 Se (メチル化物)の生成
- ③/④ セレノール基の化学酸化による Se(0) の生成/微生物還元による溶解
- ⑤ セレノール基と Bi(III) の結合による Bi_2Se_3 の生成

→ Se 揮発化経路上の中間代謝物として生じる“セレノール”が
関与する化学反応により Se 系半導体ナノ粒子が形成

成果のまとめ

本研究により得られた成果

- ・硫黄系 (CuS, ZnS, Bi₂S₃, CdS, PbS)、セレン系 (Bi₂Se₃, CdSe) の各種半導体ナノ粒子の合成に成功
- ・Bi₂Se₃のバイオ合成は本研究が初の報告
- ・Cd-S-Se, Bi-S-Se等の三元素系半導体ナノ粒子合成の可能性
- ・テルル系半導体の合成は困難
- ・好氣的カルコゲン代謝細菌 (特に揮発化作用を有する細菌) は半導体ナノ粒子のバイオ合成触媒として有望

課題

- ・テルル系半導体ナノ粒子のバイオ合成実現に向けた、好氣的テルル代謝細菌の新規獲得とテルル代謝経路の解明
- ・粒径や組成を厳密に制御可能な培養法の確立

謝 辞

本研究には、予備段階も含め、下記の多くの研究者に参画いただきました。謝意を表します。

西川 宏 博士（大阪大学接合科学研究所 教授）

大石 佑治 博士（大阪大学大学院工学研究科 助教）

阪口 利文 博士（広島県立大学生命環境学部 教授）

惣田 訓 博士（立命館大学理工学部 教授）

鏡 つばさ 博士（栗田工業株式会社）

綾野 裕之 博士（栗田工業株式会社）