

共同研究・受託研究課題名：ミネラルナノ粒子による高度細胞増殖技術の開発とそのメカニズム解析 (A-STEP育成)
研究代表者(所属)：徳本 勇人(大阪公大・理学系研究科)

発表タイトル：ナノ粒子の溶解性制御による植物細胞の増殖促進

○倉橋健介¹, 岩崎哲史², 齊藤文靖³, 徳本勇人⁴

所属： 1 大阪公大高専, 2 神戸大・バイオシグナル, 3 大阪公大・工学系研究科, 4 大阪公大・理学系研究科

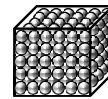
キーワード：水耕栽培, ミネラル供給, ナノ粒子, 徐放性制御, 凝集性制御

要 旨

酸化亜鉛ナノ粒子 (ZnO NPs) は化粧品などで大量に利用されており、使用後、環境中へ放出されている。既往研究では、ZnO NPsを藻類に投与した場合、細胞周辺でのZnO NPsの凝集によって、細胞内へのミネラル供給が促進し、ある特定の濃度では細胞数が増加することを見出した。このナノ粒子の高い凝集性を利用すれば、水耕栽培において攪拌などの機械的操作なくミネラルを供給し、エネルギー削減につながると期待されるが、それには凝集などナノ粒子と細胞の相互作用を理解し、ミネラル吸収速度と成長速度を一致させる必要がある。そこで本研究では、シリカコーティングを用いて溶解速度を制御したZnO NPsを調製し、藻類へ投与する際の溶解速度の最適化を試みた。

ミネラルナノ粒子による植物細胞の成長促進

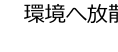
ナノ粒子の特徴



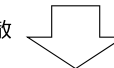
ナノ粒子
(~100 nm)

➤ 高比表面積化
→ 反応速度の増加

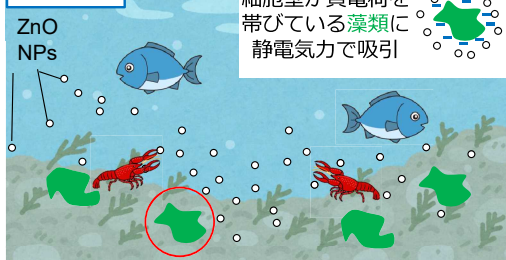
主に化粧品に含まれるZnO NPs
(は約595 t/年使用)



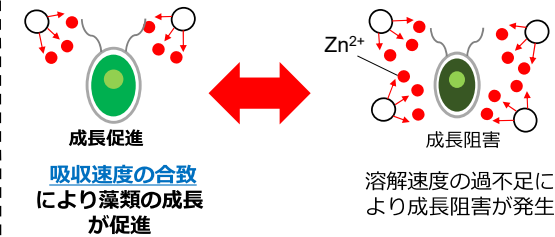
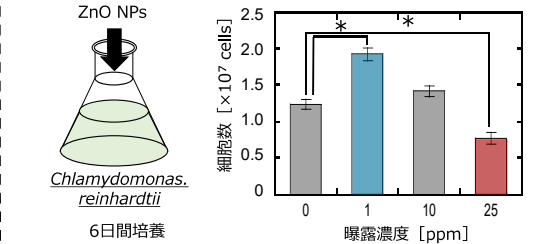
環境へ放散



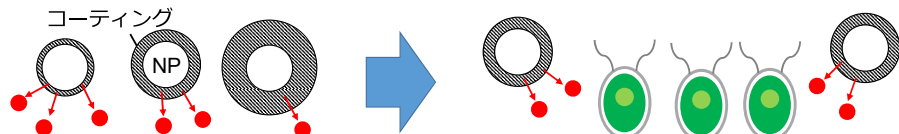
水棲環境



ZnO NPsが藻類にもたらす影響



コーティング粒子を用いた最適溶解速度のスクリーニング ギャルゲル法を用いたコーティング粒子の調製

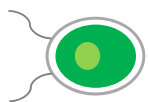


コーティング粒子(CNPs)は膜厚の増加に伴う溶解速度の制御ができる

藻類の成長を促進する最適溶解速度を導く

使用微生物

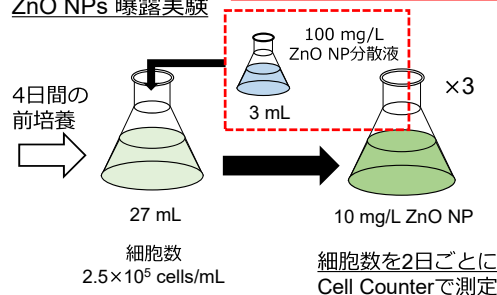
真核微細藻類 (*Chlamydomonas reinhardtii*)



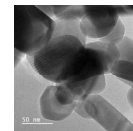
培養条件
温度: 22°C
光強度: 100 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$
明暗周期: 10 h / 14 h
専用培地: TAP培地

ZnO NPs 曝露実験

コーティングにより溶解性を操作

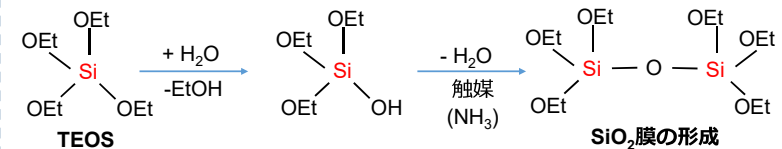


使用したZnO NPs(TEM像)



公称径34 nm
の市販品

SiO₂膜を常温かつ安価で容易にコーティング可能なゾルゲル法



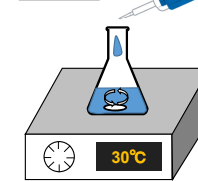
Step 1

ZnO NPs 0.5 g
溶液A
(エタノール、純水、NH₃)



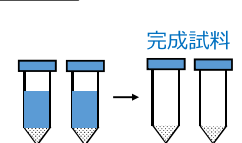
ZnO NPsと溶液Aを混合し、超音波洗浄機で30分分散

Step 2



攪拌しながらSi源のTEOSを添加し0.5~8 時間反応させる

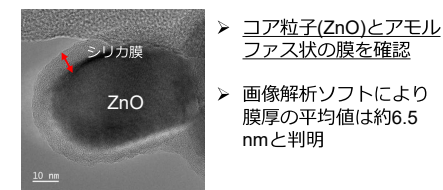
Step 3



懸濁液を遠心分離後、蒸留水で2回洗浄し、一晚乾燥させ粒子を回収

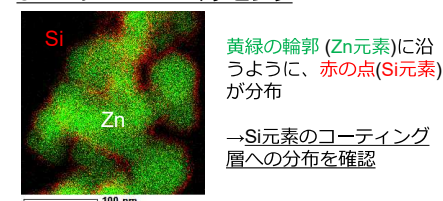
反応条件によるコーティング膜厚の制御

CNPのTEM像
(TEOS濃度: 0.02 M, 反応時間: 0.5時間)



- コア粒子(ZnO)とアモルファス状の膜を確認
- 画像解析ソフトにより膜厚の平均値は約6.5 nmと判明

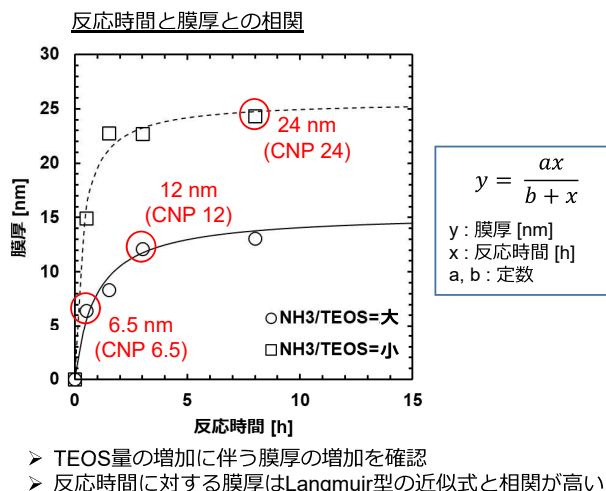
CNPのTEM-EDSマッピング



黄緑の輪郭 (Zn元素) に沿うように、赤の点 (Si元素) が分布

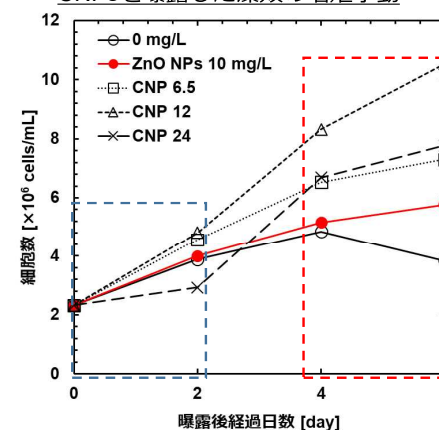
→ Si元素のコーティング層への分布を確認

3種の膜厚を有するCNPの溶解挙動と藻類に曝露した際の細胞増殖挙動を解析



コーティングによる成長速度への影響

CNPを曝露した藻類の増殖挙動



CNP曝露後 2日までの期間

コーティングしないZnO NPsを基準とすると

CNP 6.5, CNP 12 ↑ CNP 24 ↓

- 12 nm以下の膜厚では細胞数が増加
- 24 nmの膜厚では細胞数が減少

CNP曝露後 2日～6日までの期間

コーティングしないZnO NPsを基準とすると

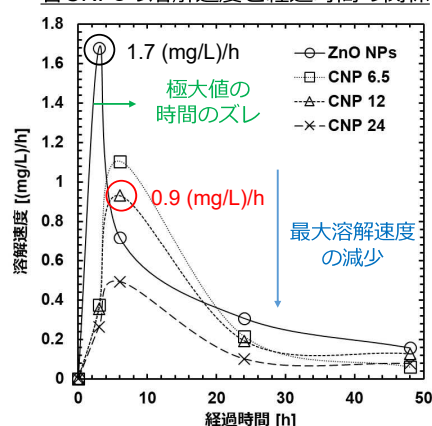
CNP 6.5, CNP 12, CNP 24 ↑

- 全てのCNPにおいてZnO NPsを曝露した場合よりも細胞数が増加
- 細胞数が最も増加したのはCNP 12だった

細胞数が最も増加したCNP 12から、藻類の成長に最適な溶解速度を求めた

ZnO NPs最適溶解速度の推算

各CNPの溶解速度と経過時間の関係



Noyes-Whitneyの式

$$\frac{dC}{dt} = k \frac{3w}{\rho r} (C_s - C)$$

C: 試料の液中濃度 [mg/L], t: 時間 [h]
k: 溶解速度定数 [m² · h⁻¹], C_s: 固体の溶解度 [mg/L]
w: 試料の質量 [mg], ρ: 試料の密度 [mg/m³], r: 粒径 [m]

同重量濃度の粒子を液中に添加した際、
粒子全体の表面積は 粒子の粒径(r) に反比例する



$$\alpha \text{ [nm]} = 34 \text{ [nm]} \times \frac{\text{ZnO NPsの溶解速度 [(mg/L)/h]}}{\text{CNP 12の溶解速度 [(mg/L)/h]}}$$

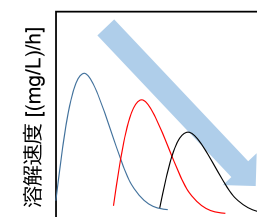
粒径αは64 nmと推算

溶解速度0.9 mg/L/hのNPsを調製することで藻類の成長を促進できる

結言

- ZnO CNPsを藻類に曝露することで、2～6日に細胞増殖の促進が見られた。
- 最も藻類の細胞増殖を促進したのは膜厚12 nmのCNPであった。
- CNPの溶解速度より、藻類の成長には0.9 (mg/L)/hが最適な溶解速度であり、粒径約64 nmのZnO NPsに相当すると推算された。

期待される展望



膜質や膜密度の制御により溶解速度のピークが異なる複数のCNPを添加することで、長期にわたる継続的なZn²⁺の徐放が可能に

→ 藻類のさらなる成長促進が期待