

ファージディスプレイ法を用いて作製した金属ナノ粒子の触媒活性

Catalytic activity of metal nanoparticles constructed by phage display system

○久我瑞樹¹, 木津朋奈¹, 平戸祐喜², 徳久真弓³, 谷川実³, 梅垣哲士³, 西村克史^{3,4}Mizuki Kuga¹, Tomona Kidu¹, Yuuki Hirato², Mayumi Tokuhisa³, Minoru Tanigawa³, Tetsuo Umegaki³, Katsushi Nishimura^{3,4}

Abstract: The T7 phage is a bacteriophage that infects *E. coli* and icosahedral with an inner diameter of 55 nm. This study is aimed at construction of metal nanoparticles of uniform size and shape using phage display system and examination of catalytic activity.

1. 目的

T7 ファージは大腸菌を宿主として増殖するバクテリオファージであり, その大きさは 50~100 nm 程度であり, すべて同じ構造を持つ.

構造や性質が均一な金属ナノ粒子は, 触媒化学や光化学などの分野で応用が期待できる.

本研究では構造や性質が均一な金属ナノ粒子の作製を目的とし, ファージディスプレイ法を用いて作成した組換えファージをもとに金属ナノ粒子を作製し, 触媒活性を調べた.

2. 材料, 方法

2-1. ファージの種類

組換えファージ Gly4Glu6 とコントロールとして Wild-type ファージを用いた.

Gly4Glu6: Gly Gly Gly Gly Glu Glu Glu Glu Glu

2-2. ファージの増幅

大腸菌 BL21 の培養液およそ 100 ml にファージ溶液を 500 μ l 加え, 3~4 時間振とう培養した. この溶液を遠心分離 (8,000 g, 5 min, 4°C) し, 得られた上清をファージ溶液とした.

2-3. ファージの精製

ファージ溶液を 10 倍量の蒸留水に対して 2 時間 $\times$ 2 回透析し, その溶液を再び遠心分離 (8,000 g, 5 min, 4°C) した. その後, 0.45 μ m フィルターを用いて吸引ろ過し, 精製ファージ溶液とした.

2-4. 金属結合ファージの作製

精製ファージ溶液に 30 mM 塩化コバルトを溶解し, 25°C で 1 時間インキュベートした. 10% (w/v) になるように PEG 6000 を溶解し, 遠心分離 (8000 g, 15 min, 4°C) した. 沈殿物を精製ファージ溶液 10% (v/v) の蒸留水で懸濁し, 金属結合ファージとした.

2-5. プラーク分析

ファージ溶液を適宜サンプリングし, 希釈した. 希釈液 100 μ l を BL21 培養液 250 μ l と混合した. この混合液に Top Agarose 5 ml を加え LB 寒天培地上

に注ぎ培養 (2.4 h, 37°C) した. プレート上の T7 ファージの感染によって生じたプラークの数からファージ数 (pfu) と力価を算出した.

2-6. 触媒活性測定

アンモニアボランと金属の還元剤として水素化ホウ素ナトリウムを 2 ロフラスコに入れ, ファージ溶液 5 ml を注入し, 30 分間反応させた. その時の水素発生量を 1 分おきに計測した.

3. 結果

3-1. プラーク分析

それぞれのファージサンプルのファージ数を以下の Table 1. に示した.

Step	pfu (Gly4Glu6)	pfu (Wild)
Dialysis	1.5×10^{13}	3.1×10^{12}
Filtration	2.4×10^{13}	2.8×10^{12}
Binding metal	1.7×10^{13}	1.8×10^{12}
PEG precipitation (precipitation)	8.4×10^{12}	1.8×10^{12}
PEG precipitation (supernatant)	1.8×10^{11}	1.3×10^9

どちらの試料からも金属結合後にファージ数の低下が確認された.

3-2. 触媒活性測定

試料は pfu (1.5×10^{11} pfu) を合わせた試料 (1, 2) または金属量 (7.5×10^{-3} mmol) を合わせた試料 (3, 4, 5) として実験を行った. 1 分ごとの水素発生量は Figure 1. に, 30 分間での水素発生量は Table 2. に示した.

1: 日大理工・学部・応化 2: 日大理工・院 (後・応化 3: 日大理工・教員・応化 4: 日大短大・教員・化学

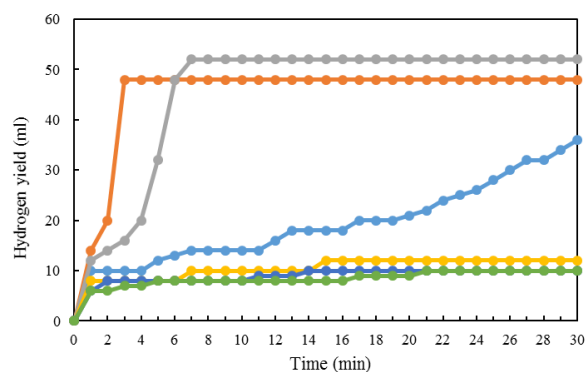


Figure 1. The amount of hydrogen generated

Table 2. Hydrogen generation activity

	Plot	Sample	Condition	Hydrogen yield (ml)
(1)	●	Gly4Glu6	pfu	48
(2)	●	Wild	pfu	52
(3)	●	Gly4Glu6	Metal	12
(4)	●	Wild	Metal	10
(5)	●	CoCl ₂	Metal	36
(6)	●	Water	—	10

(3), (4) の水素発生量は水の水素発生量と同程度だった。

4. 考察

プラーク分析結果より，金属結合ファージの作成に伴いファージの損失が確認された。そして，触媒活性測定からはファージに結合した金属はわずかにしか還元されていない可能性が示唆された。