

研究室紹介

大分大学工学部応用化学科 応用生物化学講座 天尾研究室

天尾 豊

大分大学工学部応用化学科

〒870-1192 大分県大分市且野原700

1. はじめに

私の研究室では、緑色植物や光合成細菌で見られる光合成反応に関する研究をバックグラウンドにしてバイオマスを利用した水素製造、燃料電池、光電変換デバイス等エネルギー・環境問題の解決や二酸化炭素を原料とした有用物質合成等、水を反応媒体とした新しい有機合成手法の開発に貢献できるような研究を進めている。太陽光約45分の照射は全世界の年間総エネルギー消費量をまかなえるほど膨大なものであるので、太陽光エネルギーの有効利用法を光合成機能の利用によって作り上げていくことを目標としている。中でも光合成反応の中心的な役割を果たしている葉緑素分子であるクロロフィル・カロテノイド分子や光合成タンパク質を緑色植物から分離して利用することを研究の中心に据えている。研究の概要は図1のように表わすことができる。

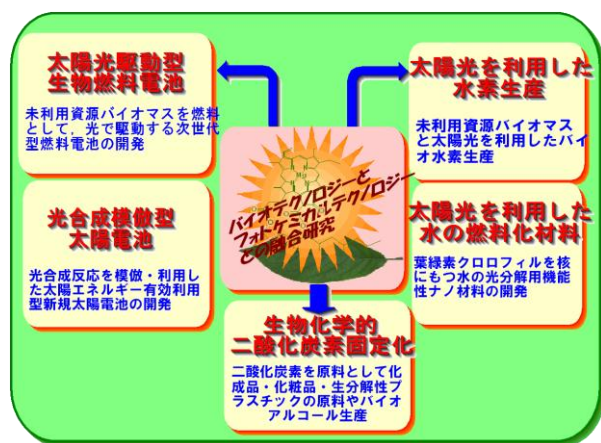


図1. 研究の概要

2. 研究内容

2.1 生体触媒機能を利用した可視光駆動型バイオ水素生産系の構築に関する研究

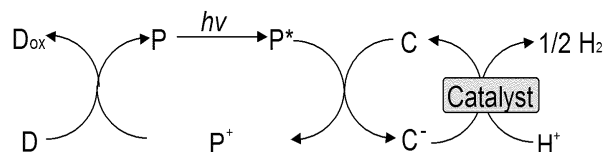


図2. 可視光駆動型水素生産反応. D:電子供与体、P:光増感剤、C:電子伝達体

均一系可視光駆動型水素生産反応は図2に示すような電子供与体 (D)、光増感剤 (P)、電子伝達体 (C) 及び光水素発生用触媒の4成分系が広く研究されている。これまでの研究から光増感剤として水溶性亜鉛ポルフィリン、触媒として白金コロイドを用いることにより光水素生産反応が進行することが明らかにされている。特に亜鉛ポルフィリンは可視光領域である400~600nmの間に強い吸収を持つことから水素生産反応の光増感剤として広く用いられている。しかしながら、亜鉛ポルフィリンの長波長領域500~600nmのモル吸光係数が小さく、太陽光の分布強度から考えると十分な光増感剤であるとはいえない。そこで432及び663nmに吸収極大を持ち、特に663nmにおいて大きなモル吸光係数 ($\epsilon=4.1 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) を持つ緑色植物由来のクロロフィル-aに着目した。研究の狙いとしてクロロフィル-aを光増感剤として利用することで、従来の亜鉛ポルフィリンを用いた系より可視領域から近赤外領域の光を利用した効率の高い光水素生産反応系が構築できると考えた。最初に図2に示すNADPH (電子供与体) 及びメチルビオローゲン (電子伝達体) 存在下におけるクロロフィル-aの光増感作用と白金コロイドの触媒作用を利用した可視光駆動型バイオ水素生産系を確立した (光照射4時間で2.7 μmol の水素生産。量子収率約3%)。特にクロロフィル-aを光増感剤として用いた最大の特徴として、従来の有機色素では十分達成できなかった、近赤外領域 (640~720nm) の光照射により水素生産可能な反応系を構築することができた (光照射4時間で2.6 μmol の水素生産)。

さらに、図2に示す反応系では、電子供与体 (D) は犠牲試薬として作用するため、反応は電子供与体が完全に消費された時点で停止してしまうという欠点がある。この問題を解決するためには、例えば犠牲試薬としてショ糖・麦芽糖・セルロース等のような利用価値の少ないものを利用すれば、光水素生産系の特徴を十分に生かせると考えられる。そこで、多糖類の分解反応系と光水素生産系とを連結することによる図3に示すような水素生産反応系を考案した。具体的には多糖類を加水分解酵素によってグルコースに加水分解し、さらに生成したグルコースとNAD⁺とからグルコース脱水素酵素(GDH)を利用してNADHを蓄積させ、水素生産反応系の電子供与体として用いれば、多糖類を原料として、光エネルギーと各種酵素や触媒を用いることによって水素を獲得できることになると考えた。そこで、エネルギー利用が強く望まれているバイオマスであるセルロースに着目し、その誘導體であるメチルセルロース、加水分解酵素に*Aspergillus niger*由来のセルラーゼを用いた反応系を構築した結果、4時間の光照射により、投入したメチルセルロースの約20% を水素に変換させることに成功している。さらに分子量の異なるメチルセルロースを用いて光駆動型バイオ水素生産反応を試み、用いた*Aspergillus niger*由来のセルラーゼは基質であるメチルセルロースの分子量に関係なく、加水分解反応を触媒することを見出し、分子量の異なるセルロースが混在する木質系バイオマスを用いた水素製造技術への応用に大きな指針を与えた。その他上記系の応用としてデンプン、マルトース及びショ糖を原料とした光駆動型バイオ水素生産反応系の確立も達成した。この反応系では従来のバイオマスの燃焼あるいは高温条件下でのガス化による水素製造と異なり、生体触媒の機能を用いることによって常温・常圧の温和な条件下での水素製造を達成したものであり、なおかつ副生成物として二酸化炭素が発生しない画期的な技術である点が最大の特徴であり、生体触媒分子を利用した新たなバイオ水素製造技術へのブレークスルーにつながるものである。さらに2006から2007年度には (財) エ

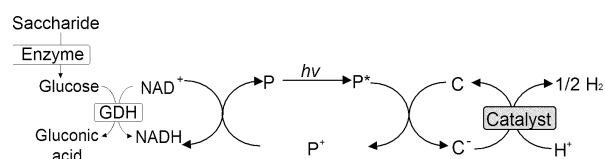


図3. バイオマス(糖類)の加水分解反応を組み込んだ可視光駆動型水素生産反応. GDH:グルコース脱水素酵素, D:電子供与体, P:光増感剤, C:電子伝達体. Enzyme: 糖加水分解酵素

ネルギー総合工学研究所「水素安全利用等基盤技術開発—水素に関する共通基盤技術開発—革新的技術の研究」(NEDO委託事業)の受託研究により、新聞紙由来のセルロースの酵素工学的糖化及び太陽光駆動型水素製造に関する研究を進め、図4のような水素製造装置を開発した。



図4. 反応体積500mlの水素製造反応容器 (NADPH、クロロフィル、メチルピオローゲン及び白金コロイドを含む溶液約300mlに光照射中)

2.2 水を反応媒体とした生物工学的駆動型有機分子変換プロセスの開発に関する研究

地球温暖化防止京都会議において二酸化炭素削減に関する議定書が締結されており、二酸化炭素による地球温暖化現象は国際社会においても早急に解決すべき問題である。日本の二酸化炭素の総排出量は世界でも第4位であり、二酸化炭素の排出を抑制するだけでなく、大気中の二酸化炭素を大幅に削減あるいは利用する技術開発が必要である。大気中に存在する二酸化炭素を積極的に原料として利用し、有用な有機化合物に変換できれば、二酸化炭素の削減と有用物質生産といった2つの目標の達成だけでなく、地球環境保全を考慮した化学品の合成といった石油化学分野において重要課題に対して多大な寄与を与えるものとなる。以上のような背景をもとに、最もグリーンな反応媒体である水を用い、二酸化炭素を主原料、二酸化炭素固定化能を有する各種脱水素酵素及び葉緑素クロロフィルを基盤とした光増感分子を利用して、メタノールやリンゴ酸等のアルコール、有機分子等の有用物質を酵素工学的かつ光エネルギーを駆動力として合成する反応系の構築を目的とした研究を行っている。

二酸化炭素を還元してギ酸に変換する反応を触媒するギ酸脱水素酵素と水溶性亜鉛ポルフィリンの光増感作用によるメチルピオローゲンの光還元反応とを組み合わせ

た可視光によるギ酸合成系を構築した。この反応系では、水中に二酸化炭素が溶解していることを想定し、気体の二酸化炭素の代わりに炭酸水素イオンを原料とした。その結果、反応系に可視光を照射すると光照射時間とともに定常的にギ酸が生成することを見出した。また、上記反応系にアルデヒド脱水素酵素及びアルコール脱水素酵素を共存させることによって、炭酸水素イオンからメタノールを生成させることに成功した (図5)。さらに、ギ酸脱水素酵素と葉緑素クロロフィルの光増感作用によるメチルビオローゲンの光還元反応とを組み合わせた可視光を用いて、ガス状の二酸化炭素からのギ酸合成系の構築にも成功した。

リンゴ酸酵素はピルビン酸と二酸化炭素とからリンゴ酸を合成する反応系を触媒する酵素であり、これと水溶性のクロロフィル誘導体である亜鉛クロリンの光増感作用によるニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸 (NADP⁺) の光還元反応とを組み合わせた可視光による炭酸水素イオンからのリンゴ酸合成系を構築した。その結果、反応系に可視光を照射すると光照射時間とともに定常的にリンゴ酸が生成することを見出した。この反応系では、炭素数3のピルビン酸へ二酸化炭素を取り込ませ、炭素数4のリンゴ酸を合成することに成功しており、水を媒体とした炭素拡張を指向した有機合成プロセスを構築した。

乳酸は生分解性プラスチックの原料として注目を浴びている有機分子である。そこで、ピルビン酸から乳酸を合成する反応を触媒する乳酸脱水素酵素と水溶性亜鉛ポルフィリンの光増感作用によるメチルビオローゲンの光還元反応とを組み合わせた可視光によるピルビン酸からの乳酸合成系を構築した。その結果、反応系に可視光を照射すると光照射時間とともに定常的に乳酸が生成することを見出した。

以上のことから、本研究成果は、二酸化炭素固定化能を有する酵素と光エネルギーによって短期間でかつ水中で

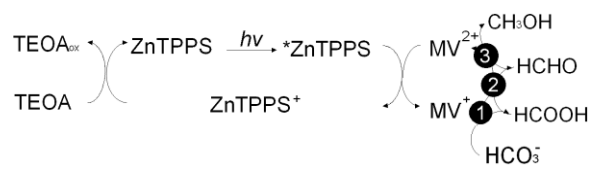


図5. 水溶性亜鉛ポルフィリン (ZnTPPS)、メチルビオローゲン (MV²⁺)、犠牲試薬トリエタノールアミン (TEOA)、ギ酸脱水素酵素 (1)、アルデヒド脱水素酵素 (2) 及びアルコール脱水素酵素 (3) からなる光化学的メタノール合成反応

二酸化炭素をアルコール等の有用物質に変換することを可能にした点は独創的かつ貴重な研究であり、二酸化炭素削減技術として貢献できるものである。

2.3 光駆動型バイオマス燃料電池の構築に関する研究

上記で述べたようにセルロースなどのバイオマスと光エネルギーを利用して水素を獲得する方法について研究を進めているが、この反応を利用して直接電気エネルギーを獲得する「光駆動型バイオマス燃料電池」に関する研究も進めている。具体的には糖質系バイオマス(スクロース)を基質としたNAD⁺還元反応とクロロフィル誘導体 (亜鉛クロリン) の光増感作用及びPt電極上でのO₂のH₂Oへの電気化学的還元反応を応用した可視光で駆動する燃料電池である。図6に示すように、アノード極には、亜鉛クロリン吸着酸化チタン薄膜、カソード極にはPt電極を用いて2枚を内側にして重ね、スクロースあるいはグルコース、インペルターゼ、GDH、NAD⁺及びKClを含む電解溶液を注入し燃料電池を作製している。

カソード上での電子伝達の効率を上げるため、電解溶液をAr置換した後に酸素50 μlを注入した時のグルコース及びスクロースを基質とした燃料電池の作用スペクトルを調べた結果、亜鉛クロリンを光増感剤として用いた光駆動型ショ糖バイオマス電池を構築することが出来た。亜鉛クロリンを用いた作用スペクトルの形状は、溶液の吸収スペクトルと異なり極大波長は赤色移動したことが分かった。IPCE (単色光照射時の変換効率) 値はグルコースを基質とした系の方が大きく、波長800nmにおいてIPCE=173%を示した。

次に構築した光駆動型ショ糖バイオマス電池の発電特性を検討した。白金電極をカソード極、Zn Chl-e₂吸着酸化チタン薄膜電極をアノード極とし、ショ糖、インペルター

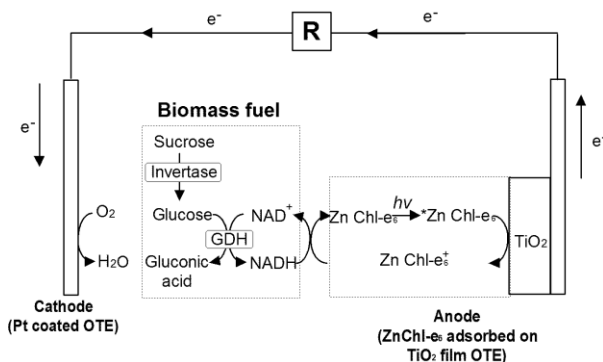


図6. 光駆動型バイオマス (ショ糖) -酸素燃料電池の構成

ゼ、グルコース脱水素酵素 (GDH)、 NAD^+ 、 0.1M KCl 溶液を燃料とした電池に、ソーラーシミュレーター (100mWcm^{-2} 、 $\text{A.M.}=1.5$) を光源とし、 Zn Chl_a 吸着酸化チタン薄膜電極側から光照射し燃料電池の電流-電圧特性を測定した。発電特性を評価する際に重要な因子として、短絡電流、開放電圧、及び最大仕事量がある。短絡電流は 0 mV 時の電流値、開放電圧は 0 mA 時の電圧値を示している。電流-電圧曲線の極大値が最大仕事量である。電流-電圧曲線を測定した結果から、短絡電流及び開放電圧はそれぞれ $9.0\text{ }\mu\text{A cm}^{-2}$ 及び 415 mV であった。現在は 財団法人 東電科学技術研究所及び JFE21 世紀財団の研究助成金により、デンプンやセルロースを原料とした光駆動型燃料電池に展開している。上記成果は「Sweet fuel Cell」というタイトルで 2007 年 11 月下旬に世界各国の研究紹介サイトで話題として取り上げられた。

2.4 光合成機能を利用したバイオ太陽電池

高等植物内で進行する光合成反応は葉緑体中において高エネルギー物質であるニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸 (NADP^+) を生成する還元反応系である光化学系 I と水を酸化して酸素を発生する光化学系 II の 2 つのタンパク質が作用する反応が連結した酸化還元反応系であり、他にも太陽光を集める光収穫系タンパク質、光合成反応の初期過程で重要な役割を果たす反応中心タンパク質等の光で駆動する機能性タンパク質の集合体である。つまり光化学系 II を含むタンパク質を電極上に集積することで、光照射によって水を電子源とした光電変換デバイスが創製できると期待できる。具体的には光化学系 II を含むタンパク質を集積した電極を負極として用い、正極に白金電極を用いると、光化学系 II の機能により発生した酸素を白金電極上で水へ還元できるため、水を電子媒体とした光電変換系が構築できる。しかしながら、光化学系 II を含むタンパク質は単離すると非常に不安定であるため、上記のような光電変換系に利用されていないのが現状である。

一方、光化学系 II 等の光合成タンパク質を含む葉緑体は、比較的容易に緑色植物から安定に単離することができるので上記のような光電変換系への利用が期待できる。図 7 にはハウレン草等の緑色植物由来の葉緑体を抽出し、これを酸化チタン薄膜担持電極上に集積した「葉緑体集積電極」を使った光電変換系を示している。具体的には、葉緑体をグラナ成分として取り出し、これを酸化チタン薄膜電極に担持させ、対極として白金電極を用いたものである。

葉緑体集積電極の光電流応答について、白色光を照射した結果、水を含む電解溶液を用いた場合には、光照射によって約 $10.2\text{ }\mu\text{Acm}^{-2}$ の電流が流れた。これは、光照射に伴い、葉緑体が水を分解し、酸素を発生し、その酸素が対極の白金電極上で還元され水に戻るサイクルによる光電変換系が達成できたことを示唆している。さらに、葉緑体中に含まれる光化学系 II が駆動する 680 nm の単色光を照射した場合について調べた結果、水を含む電解溶液を用いた場合には、光照射によって約 $0.15\text{ }\mu\text{Acm}^{-2}$ の電流が流れ、光照射・非照射に対応して電流の増減が見られた。照射している光の波長が葉緑体中に含まれる光化学系 II が駆動する波長である 680 nm の単色光であることを考えると、光照射に伴い、葉緑体中の光化学系 II が水を分解し、酸素を発生し、その酸素が対極の白金電極上で還元され水に戻るサイクルによる光電変換系が達成できたことを示唆している。

以上述べたようにまだ光電変換効率は低いものの、光合成タンパク質を含む葉緑体を集積した電極を用いることによって、水を電子媒体とした光電変換系が構築できている。今後、単離した光合成タンパク質の安定性などを向上させることによって、より安定かつ、高効率な光電変換デバイスへの展開が期待される。当該研究成果は第 100 回触媒討論会の注目発表として選ばれた。

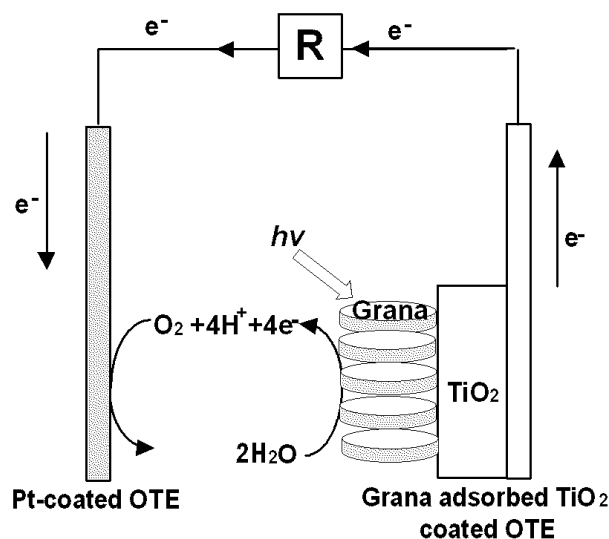


図 7. 葉緑体集積電極を使った光電変換系

3. おわりに

以上研究の概要を述べたが、意外と光合成反応のエンジニアリング的な研究を進めている日本の研究者は少な

いのが現状である。光合成反応ははまだ解決されていない謎の部分も多いので、今後も謎解きをしながらエネルギー利用に関する応用研究も進めていきたい。

本稿で紹介した研究成果は当研究室の学生・研究支援員の方々の日々の実験によって生まれたものである。この場を借りて深く感謝の意を表す。写真は2007・2008年度の研究室のメンバー）。

