

令和元年6月14日現在

機関番号：13903

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K21077

研究課題名(和文)光電気化学 - 水晶発振子マイクロバランズ同時計測法による光合成タンパク質の機能解析

研究課題名(英文) Functional analysis of photosynthetic proteins by photoelectrochemistry-quartz crystal microbalance simultaneous measurement

研究代表者

近藤 政晴 (Kondo, Masaharu)

名古屋工業大学・工学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：20571219

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、光合成反応に関連した反応中心(RC)とコアアンテナタンパク質(LH1)との複合体LH1-RCを水晶発振子上へ固定化し、電気化学計測による光誘起電流とLH1-RCと電子の授受をする分子のLH1-RCへの吸脱着による重量変化を水晶発振子マイクロバランズ法(QCM)の同時計測により、LH1-RCの機能・物性の評価を進めた。アミノ基で表面修飾したQCMセンサーチップ上にLH1-RCを固定化し、同時計測実験を進めたところ、固定化されるLH1-RCが非常に少ないため光電流値が小さく、電気化学計測器へのノイズに応答が埋もれてしまったため、同時計測系での評価が十分な信号で評価が行なえなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生物が行なう光合成反応では、光エネルギーを利用して電子を移動させる(光誘起電流を発生させる)反応中心RCが、電子受容体・供与体の分子と協同的にはたらくことで、高効率の光誘起電子移動を実現している。本研究では、RCとコアアンテナタンパク質(LH1)との複合体LH1-RCを水晶発振子上へ分子配向を制御し、活性を保ったまま固定化し、電気化学計測による光誘起電流とLH1-RCと電子の授受をする分子のLH1-RCへの吸脱着による重量変化をQCMの同時計測により基板上に固定化されたLH1-RCの機能・物性の評価を行なう。この評価で得られた知見から、生体高分子を用いた光水素生産デバイスの構築を目指す。

研究成果の概要(英文)： In this study, we immobilized the photosynthetic reaction protein LH1-RC from a photosynthetic bacterium on a quartz crystal microbalance (QCM) sensor chip to observe the adsorption/desorption of molecules that exchanges electrons with LH1-RC by simultaneously measurements, QCM and photocurrent measurements. When the LH1-RC was immobilized on a QCM sensor chip surface-modified with an amino group and simultaneous measurement experiments were conducted, the photocurrent density was low because the amount of LH1-RC immobilized was very small. Since the photocurrent response was buried in the noise to the electrochemical measuring instrument, the evaluation in the simultaneous measurement system could not be performed with a sufficient signal. In a system using a conductive oxide substrate instead of a gold substrate, an increase in photocurrent density was confirmed by changing the concentration of electron acceptor; water-soluble ubiquinone and electron donor; cytochrome c.

研究分野：生体関連化学

キーワード：水晶発振子

1. 研究開始当初の背景

近年の生物学の進展により、生物が行なう光合成反応に関与する生体高分子の構造や反応機構から、生体高分子が優れたエネルギー変換機能をもつことが明らかになりつつある。光エネルギーを利用して電子を移動させる反応中心(RC)とコアアンテナタンパク質(LH1)との複合体 LH1-RC は、色素の分子配向、色素間の距離などが、膜タンパク質により制御されること、電子受容体分子 キノン(Q)や電子供与体タンパク質 シトクロム(Cyt)と協同的にはたらくことで、機能発現する(図 1)。これらのタンパク質の機能を保ったまま基板上で組み上げることで、超微細デバイスの開発が可能になる。

このような背景のもと、米国では Jennings (Vanderbilt Univ.)、Lebedev (U.S. NRL)、Tiede (Argonne National Lab.)、欧州では、Frese (Vrije Univ. Amsterdam)、日本国内では、Terasaki (AIST)が LH1-RC や LH1-RC と類似する光合成タンパク質を電極基板上へ固定化し、光誘起電流を取り出す研究や、水素生産触媒と組合せた光誘起水素生産の研究を進めている。しかしながら、電極基板上に固定化された LH1-RC の分子数、電極基板上で電流を発生させる(機能発現する)LH1-RC の分子数、電極基板上での LH1-RC の吸着状態(分子の配向、ならび方)、LH1-RC と組み合される電子受容体・供与体分子の挙動、LH1-RC と類似する光合成タンパク質と水素生産触媒の結合比、結合の位置など、それぞれの試験条件に合わせて試料調製をするため不明瞭な点が多い。そこで申請者は、これらの点を明らかにするためには、デバイスを構成する分子の組み立てと機能評価を同一基板、同時計測系で評価する必要があると考えた。

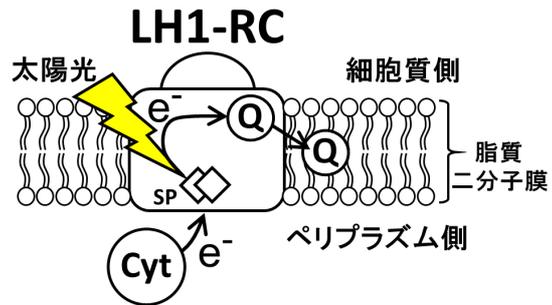


図1 光合成細菌の LH1-RC の電子伝達経路

太陽光により誘起された LH1-RC のスペシャルペア SP から電子(e⁻)が放出され、電子は細胞質側 Q へ渡される。SP から抜けた電子によりできるホールは、ペリプラズム側の Cyt から電子が渡され埋められる。

2. 研究の目的

1. 研究開発当初の背景で述べたように、光合成反応の明反応に関連したタンパク質を電極基板上へ固定化し、光誘起電流を取り出す研究や、水素生産触媒と組合せた光誘起水素生産の研究を進めている。しかしながら、電極基板上に固定化されたタンパク質の分子数、電極基板上で電流を発生させた(機能発現する)タンパク質の分子数、電極基板上でのタンパク質の吸着状態(分子の配向、ならび方)、タンパク質と組み合される電子受容体・供与体分子の挙動、タンパク質と水素生産触媒の結合比、結合の位置など、それぞれの試験条件に合わせて試料調製をするため不明瞭な点が多い。そこで本研究では、これらの点を明らかにするために、デバイスを構成するタンパク質分子を水晶発振子マイクロバランス法(QCM)に用いるセンサーチップ上へ活性を保ったまま固定化し、電気化学計測による光誘起電流とタンパク質へ電子を供給する分子(電子供与体)や電子を受け取る分子(電子受容体)のタンパク質への吸着・脱着による重量変化を QCM の同時計測により基板上に固定化されたタンパク質の機能・物性の評価を行なう。この評価で得られた知見から、生体高分子と水素生産触媒を組み合わせた光水素生産デバイスの構築を目指す。

3. 研究の方法

本研究では、光合成反応の明反応に関わるタンパク質 反応中心 RC、コアアンテナタンパク質(LH1)の複合体(LH1-RC)は、光合成細菌から抽出、精製したものをを用いた。精製された LH1-RC は、アミノ基を末端にもつ自己組織化単分子膜で修飾された QCM 装置の金センサーチップ上を固定化した。電子供与体にシトクロム c、電子受容体に水溶性のユビキノンを共存させることで光誘起電流系を構築し、QCM 装置との同時計測系を進めた。光誘起電流の計測では、3 電極系で行い、作用極に-0.2V (vs. Ag/AgCl saturated)の定電圧をかけた状態で行なった。光誘起電流の計測の光源には、キセノンランプをモノクロメーターで分光したものをを用いた。

4. 研究成果

アミノ基を末端にもつ自己組織化単分子膜で修飾した金のセンサーチップ表面に LH1-RC を固定化し、電子供与体にシトクロム c、電子受容体に水溶性のユビキノンを共存させることで光電流が確認された。しかしながら、固定化される LH1-RC のタンパク質が非常に少なく光電

流値が小さく、電気化学計測器へのノイズに光電流の応答が埋もれてしまった。そのため、QCM装置との同時計測系での評価を行なうことが出来なかった。QCM装置の金センサーチップ上にLH1-RCを固定化する際に多層化して光電流値を大きくする試みを行ったが、QCM装置の信号には反映されにくく、LH1-RCの単一分子層での高い電流応答を示す光反応系の構築が必要であることが明らかになった。LH1-RCの単一分子層での高い電流応答を示す系の構築に関しては、QCM装置の金センサーチップではなく、導電性酸化物質基板を用いた系において、シトクロムc、電子受容体に水溶性のユビキノンの濃度、割合を変化させることで、光電値の上昇が確認された。

今後の展望として、金電極に比べて、導電性酸化物質基板の方が高い光電流値を示す結果も得られているため、QCM装置のセンサーチップ表面を金ではなく導電性酸化物質を蒸着させたものを用いることで、光電流計測とQCMとの同時計測が可能になると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 3件)

Rei Furukawa, Masaharu Kondo, Shunsuke Yajima, Harada Kaori, Kenji V. P. Nagashima, Morio Nagata, Kouji Iida, Takehisa Dewa, Mamoru Nango "Selective immobilization of bacterial light-harvesting proteins and their photoelectric responses" *MRS Communications* 2018, 8 (3), 1124-1128. 査読あり

DOI: 10.1557/mrc.2018.162

Shuichi Ishigure, Masaharu Kondo, Takehisa Dewa, Yutaka Amao, and Mamoru Nango "Light-energy conversion systems for hydrogen production and photocurrent generation using zinc chlorin derivatives" *Research on Chemical Intermediates* 2016, 42, 7743-7752. 査読あり

DOI: 10.1007/s11164-016-2659-8

Tomoyasu Noji, Takanao Suzuki, Masaharu Kondo, Mizuki Teturo Jin, Keisuke Kawakami, Toshihisa Mizuno, Hirozo Oh-oka, Masahiko Ikeuchi, Mamoru Nango, Yutaka Amao, Nobuo Kamiya, and Takehisa Dewa "Light-induced hydrogen production by Photosystem I-Pt nanoparticle conjugates immobilized in porous glass plate nanopores" *Research on Chemical Intermediates* 2016, 42, 7731-7742. 査読あり

DOI: 10.1007/s11164-016-2658-9

〔学会発表〕(計 7件)

近藤 政晴, 小島 浩暉, 近藤 瑤子, 伊原 正喜, 出羽 毅久 "光増感作用を有する膜貫通タンパク質-色素複合体の作製とその機能評価" 第12回バイオ関連化学シンポジウム (大阪大学) (2018.9.9-11)

松田 春香, 近藤 政晴, 野地 智康, 南後 守, 出羽毅久 "光捕集系タンパク質(LHCII)による光水素生産" 第26回光合成セミナー2018: 反応中心と色素系の多様性 (神戸大学) (2018.7.21-22)

松田 春香, 多田 幹彦, 野地 智康, 近藤 政晴, 神 哲郎, 南後 守, 出羽 毅久 "光捕集タンパク質(LHCII)によるメチルピオロゲン光還元反応系の検討" 第25回光合成セミナー2017: 反応中心と色素系の多様性 (神戸大学) (2017.7.15-16)

Masaharu Kondo: "Molecular Assembly of Bacterial Photosynthetic Membrane Protein-Pigment Complexes onto Electrodes" Thirteen International workshop on Supramolecular Nanoscience of Chemically Programmed Pigments (SNCPP17) Ritsumeikan University (発表番号 O-5) (2017.6.23-25)

Masaharu Kondo, Haruka Matsuda, Mikihiko Tada, Tomoyasu Noji, Tesuro Jin, Mamoru Nango and Takehisa Dewa "Photosensitization of the Light-Harvesting Complex of Photosystem II (LHCII) Immobilized in Nanoporous Glass Plates" ICARP2017 Ritsumeikan University (2017.3.2-5)

近藤政晴: "色素-タンパク質複合体を利用した光エネルギー変換素子の作製" 有機生物化学公開セミナー 信州大学農学部 (2016.11.17)

Masaharu Kondo, Takehisa DEWA, Mamoru NANGO: "Self-assembly of bacterial photosynthetic membrane protein-pigment complexes onto electrodes" Biohybrid Solar Cells, Session 4, Auberge De Smockelaer, Slenaken, The Netherlands (発表番号 T8) (2016.8.4-7)

〔図書〕(計 4件)

野地智康, 近藤政晴, 神 哲郎, "再生可能エネルギーによる水素製造" (共著) S&T出版 2016年9月21日 第1刷発行
ISBN 978-4-907002-58-9

Masaharu Kondo, Takehisa Dewa, Mamoru Nango “Electronic Device Approach Using Photosynthesis Assembly of Photosynthetic Protein Complexes for the Development of Nanobiodevices” *Solar to Chemical Energy Conversion: Theory and Application* (共著) Volume 32 of the series Lecture Notes in Energy 437-454, Springer 2016 年 1 月 26 日 第 1 刷発行

ISBN 978-3-319-25400-5, DOI 10.1007/978-3-319-25400-5_26

南後 守、出羽毅久、近藤政晴、角野 歩、“人工光合成” 光エネルギーによる物質変換の化学 (共著) 三共出版 2015 年 9 月 10 日 第 1 刷発行

ISBN 978-4-7827-0710-4

近藤政晴、出羽毅久、南後 守、“光合成のエネルギー変換と物質変換” 人工光合成を目指して (共著) 化学同人 2015 年 4 月 25 日 第 1 刷発行

ISBN 9784759817201

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

なし

○取得状況 (計 0 件)

なし

〔その他〕

研究室ホームページ: <http://www.ach.nitech.ac.jp/~polymer/ydk/dewakondo.html>

名古屋工業大学 研究者データベース: http://researcher.nitech.ac.jp/html/100000187_ja.html

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名 :

ローマ字氏名 :

所属研究機関名 :

部局名 :

職名 :

研究者番号 (8 桁) :

(2)研究協力者

研究協力者氏名 :

ローマ字氏名 :

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。