

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年6月21日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K14521

研究課題名(和文)ギ酸脱水素酵素を用いたバイオ電解による二酸化炭素資源化の研究

研究課題名(英文)Carbon dioxide recycling by bioelectrolysis by formate dehydrogenase

研究代表者

北隅 優希 (Kitazumi, Yuki)

京都大学・農学研究科・助教

研究者番号：00579302

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：タンパク質からなる生体触媒を用いた酸化還元酵素反応と電極反応の共役系は酵素電極反応と呼ばれる。本研究ではタングステン含有ギ酸脱水素酵素(FoDH)を用いた二酸化炭素とギ酸の相互変換反応に着目した。表面修飾した多孔質炭素電極とFoDHの間での直接電子移動反応が実現され、この電極は二酸化炭素とギ酸の相互変換を触媒するのみならず、FoDHの第2基質であるNAD<sup>+</sup>、NADHの相互変換反応を可逆に触媒することが確認された。

また、酸素還元反応を触媒する電極と組み合わせることで、開回路電圧1.2 V、最大出力12 mW cm<sup>-2</sup>の報告時で世界最高出力のギ酸燃料バイオ燃料電池が構築できた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

電極上に固定化した酸化還元酵素によってギ酸と二酸化炭素の可逆な相互変換が実現できた。これは、最小のエネルギー投入で二酸化炭素の固定が可能になったことを意味する。また、ギ酸を燃料とした高効率の燃料電池も構築可能となる。同時に今回見出されたギ酸脱水素酵素によるNAD<sup>+</sup>/NADH酸化還元対の電極上での可逆な相互変換反応の実現は、既知のNAD<sup>+</sup>依存型のあらゆる酸化還元酵素反応と電極反応の容易な連結を可能にする点で、バイオセンサー、バイオ燃料電池など、あらゆる酵素電極反応の応用において有用である。

研究成果の概要(英文)：A bioelectrocatalytic reaction is conjugated reaction between the enzymatic reaction and an electrode reaction. In this study, we focused on the interconversion reaction of carbon dioxide and formic acid using tungsten-containing formate dehydrogenase (FoDH). A direct electron transfer reaction between the surface-modified porous carbon electrode and FoDH is realized. The electrode catalyzes not only the interconversion of carbon dioxide and formic acid, but also the reversible redox reaction between NAD<sup>+</sup> and NADH.

In addition, the combination of the FoDH modified electrode with the oxygen reduction biocathode provides a formic acid biofuel cell. The output of the cell reaches an open circuit voltage of 1.2 V and a maximum output power of 12 mW cm<sup>-2</sup>. This is the world highest value of the output power of the biofuel cells at the time of the reporting.

研究分野：電気分析化学

キーワード：酵素電極反応 二酸化炭素 ギ酸 バイオ燃料電池

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

二酸化炭素処理技術の中で、二電子還元生成物であるギ酸は、その貯留性と、燃料およびバイオ変換出発原料としての優位性から非常に注目されている。しかしながら、二酸化炭素のギ酸への電解還元は極めて活性化エネルギーが大きく、速度論的なエネルギーロスが極めて大きい。このため本反応に対する触媒の開発が精力的に進められている。その中で、タングステン含有ギ酸脱水素酵素(FoDH)が、二酸化炭素還元とギ酸酸化を両方向とも触媒する特異な性質を持つことが見いだされている。申請者らはFoDHの反応を電極系と共役し、バイオ電解による二酸化炭素/ギ酸系の可逆変換系の構築に成功した。これまで得てきた知識と技術を基礎に、新規なバイオ電解システムの実現をめざす。

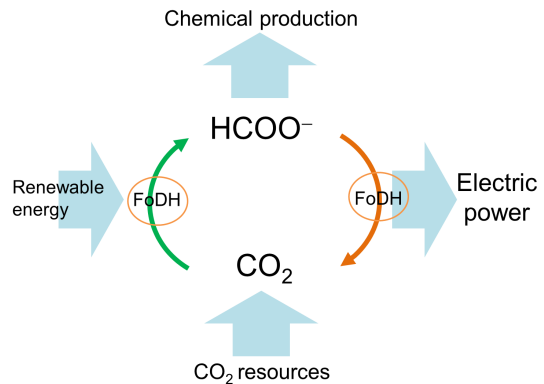


図1 電力の入出力と二酸化炭素ギ酸の相互変換の模式図

## 2. 研究の目的

- (1) 過電圧のない高電流密度での二酸化炭素のバイオ電解法の創成
- (2) 高効率で電極反応と気液反応を共役させる電極の設計
- (3) 電極表面における酵素配向の制御

## 3. 研究の方法

- (1) 過電圧のない高電流密度での二酸化炭素のバイオ電解法の創成

FoDHと電極間の直接の電子移動反応構築の可能性について検討を行う。また、低分子酸化還元物質を介在した高効率の酵素電極反応について検討を行う。

- (2) 高効率で電極反応と気液反応を共役させる電極の設計

ガス状基質を供給した場合、溶液中の基質濃度が小さいために、電極表面への基質輸送は電極反応の効率を決定する極めて重要なプロセスとなる。そこで電極表面構造に基づいた物質輸送の制御を目指す。

- (3) 電極表面における酵素配向の制御

酵素が電極と直接電子のやり取りを行う酵素電極反応では電極上の酵素の配向が重要である。そこで、電極の表面修飾による酵素配向の制御について検討を行う。

## 4. 研究成果

- (1) 過電圧のない高電流密度での二酸化炭素のバイオ電解法の創成

多孔性炭素材料の一種であるKetjen Blackの表面に4-メルカプトピリジンで修飾した金ナノ粒子を分散させたところ(図2)、*Methylobacterium extorquens* AM1由来のタングステン含有ギ酸脱水素酵素(FoDH)の直接電子移動(DET)型の酵素電極反応が観測された。そして、FoDHにより修飾された電

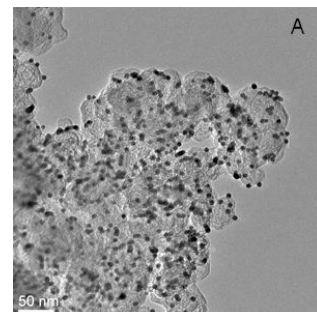


図2 多孔質炭素電極上に分散させた金ナノ粒子

極上では、二酸化炭素/ギ酸対の相互変換のみならず、 $\text{NAD}^+/\text{NADH}$  対の相互変換が可能であることが確認された(図 3)。この性質は、二酸化炭素資化のための還元電極、高効率のギ酸酸化電極としてのみならず、この電極が多くの  $\text{NAD}^+$  依存型の酵素反応

と連結することが可能となることを意味しており、バイオ燃料電池あるいはバイオセンサーを構築する上でも極めて有用である。[文献 ]

FoDH 修飾電極の応用の一例としてギ酸燃料バイオ電池の高効率化を追求したところ、開回路電圧 1.2 V、最大出力  $12 \text{ mW cm}^{-2}$  (0.78 V) という高出力を得た(図 4)。これは報告時点でのバイオ燃料電池としては世界最高出力である。[文献 ]

## (2) 高効率で電極反応と気液反応を共役させる電極の設計

金の表面を還元剤の存在下で陽極酸化すると、様々な微細構造が表面に形成される(図 5)。これまで平坦な金電極では明瞭な DET 型の酵素電極反応が観測されなかったペルオキシダーゼ、ピリルビンオキシダーゼにとって好ましい足場となることを見出した。[文献 ]

多孔質化の条件を制御することで様々な多孔質構造を構築しその酵素電極反応に及ぼす影響について調査したところ、表面に凹凸をもつ構造では DET 型の酵素電極反応が観測されず 3次元の入り組んだ構造をもつ金電極では DET 型の酵素電極反応が観察された。DET 型の酵素電極反応における電極表面の 3次元構造の影響を説明するために、酵素と電極の接触点の数に基づいて DET 型の酵素電極反応の活性を結びつけるモデルを構築した(図 6)。[文献 ]

また、電極表面の微細構造のうちでメソ孔は酵素活性に、マクロ孔は物質輸送に影響を与えるという示唆を得た。これは今後の電極表面の設計において重要な知見である。[文献 ]

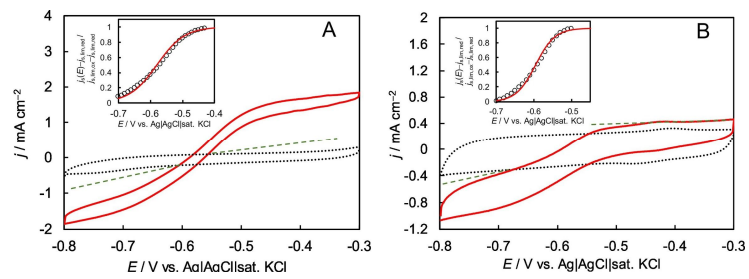


図 3 (A)二酸化炭素/ギ酸対および(B) $\text{NAD}^+/\text{NADH}$  対の可逆かつ両方向変換の実現

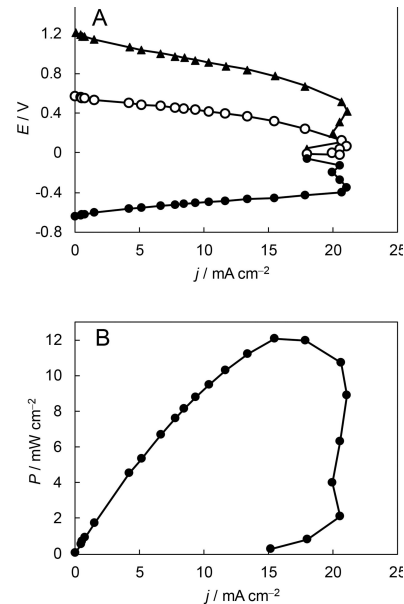


図 4 ギ酸バイオ燃料電池の (A)(○) 単極電位と(●)セル電圧、(B)出力特性

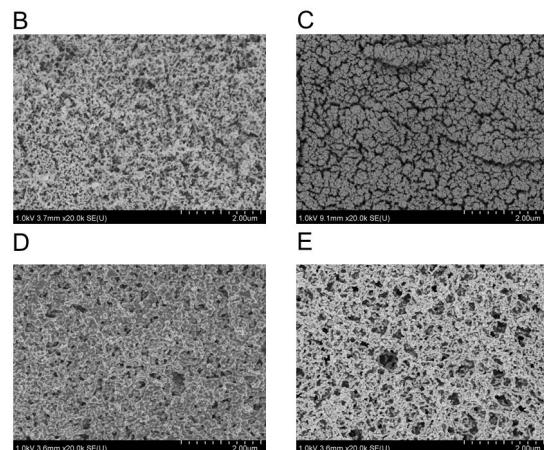


図 5 (B)シュウ酸、(C)ブドウ糖存在下で陽極酸化した金電極の表面とシュウ酸存在下で作成した電極に(D)ペルオキシダーゼを(E)ピリルビンオキシダーゼを吸着させた電極表面の SEM 画像

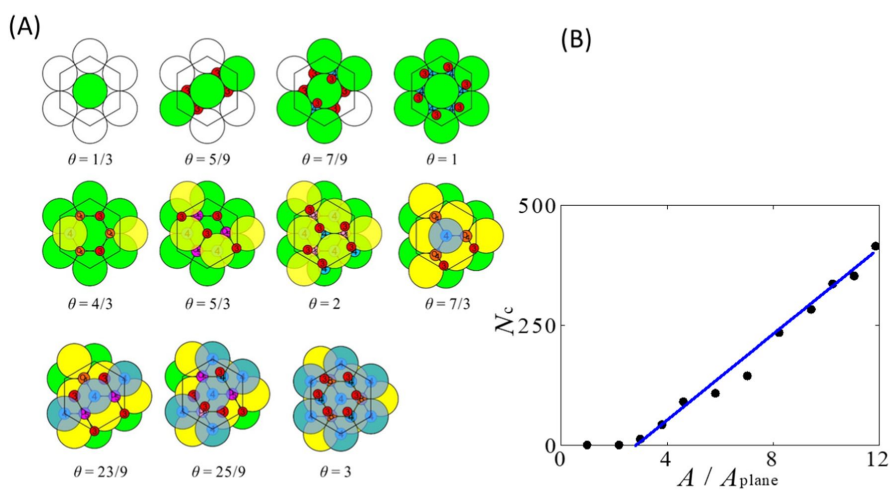


図 6 (A)微粒子を組み合わせてできた構造中における 3 点が接触できる部位、(B)微粒子の表面被覆率と接触点の数

(3) 電極表面における酵素配向の制御

多孔質炭素の表面処理が FoDH の直接電子移動型酵素電極反応に影響を与えることがわかったので、電極表面における酵素の配向についてピリルビンオキシダーゼをモデル酵素として詳細な解析を行った。メルカプト安息香酸で表面修飾した金ナノ粒子を吸着させた多孔質炭素電極はピリルビンオキシダーゼの DET 型酵素電極反応にとって極めて良い抑制を示した(図 7)。表面では、未修飾の多孔質炭素電極と比べて酵素内の酸化還元中心と電極との距離が近づいており、また配向の分布が 1/4 とより狭まり配向が揃っていることが明らかとなった。[文献]

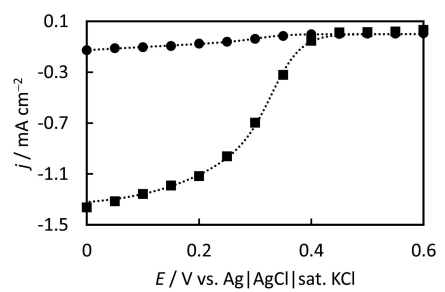


図 7 (丸)未修飾の多孔質炭素電極および(四角)メルカプト安息香酸で表面修飾した金ナノ粒子を吸着させた多孔質炭素電極で記録されたピリルビンオキシダーゼの直接電子移動型酵素電極反応。

5 . 主な発表論文等

[ 雑誌論文 ] ( 計 6 件 )

Takahashi Yui, Wanibuchi Mizue, Kitazumi Yuki, Shirai Osamu, Kano Kenji, Improved direct electron transfer-type bioelectrocatalysis of bilirubin oxidase using porous gold electrodes, Journal of Electroanalytical Chemistry, 査読あり, 843, 2019, 47-53. 10.1016/j.jelechem.2019.05.007.

Takahashi Yui, Kitazumi Yuki, Shirai Osamu, Kano Kenji, Improved direct electron transfer-type bioelectrocatalysis of bilirubin oxidase using thiol-modified gold nanoparticles on mesoporous carbon electrode, Journal of Electroanalytical Chemistry, 査読あり, 832, 2019, 158-164, 10.1016/j.jelechem.2018.10.048.

SAKAI Kento, KITAZUMI Yuki, SHIRAI Osamu, KANO Kenji, Nanostructured Porous Electrodes

by the Anodization of Gold for an Application as Scaffolds in Direct-electron-transfer-type Bioelectrocatalysis, Analytical Sciences, 査読あり, 34, 2018, 1317-1322, 10.2116/analsci.18P302.

Sakai Kento, Xia Hong-qi, Kitazumi Yuki, Shirai Osamu, Kano Kenji, Assembly of direct-electron-transfer-type bioelectrodes with high performance, Electrochimica Acta, 査読あり, 271, 2018, 305-311, 10.1016/j.electacta.2018.03.163.

Sakai Kento, Kitazumi Yuki, Shirai Osamu, Takagi Kazuyoshi, Kano Kenji, Direct electron transfer-type four-way bioelectrocatalysis of CO<sub>2</sub>/formate and NAD<sup>+</sup>/NADH redox couples by tungsten-containing formate dehydrogenase adsorbed on gold nanoparticle-embedded mesoporous carbon electrodes modified with 4-mercaptopyridine, Electrochemistry Communications, 査読あり, 84, 2017, 75-79, 10.1016/j.elecom.2017.10.005

Sakai Kento, Kitazumi Yuki, Shirai Osamu, Takagi Kazuyoshi, Kano Kenji, High-Power Formate/Dioxygen Biofuel Cell Based on Mediated Electron Transfer Type Bioelectrocatalysis, ACS Catalysis, 査読あり, 7, 2017, 5668-5673, 10.1021/acscatal.7b01918.

〔学会発表〕(計 3件)

高橋優依、北隅優希、白井理、加納健司、ビリルビンオキシダーゼの酵素電極反応に及ぼす金電極表面構造の効果, 電気化学会第 86 回大会, 2019.

高橋優依、北隅優希、白井理、加納健司、直接電子移動型酵素機能電極のための電極設計—ビリルビンオキシダーゼ/金ナノ粒子修飾多孔質電極を例に—, 電気化学会第 85 回大会, 2018.

阪井研人、北隅優希、白井理、高木一好、加納健司、直接電子移動型酵素電極反応における金ナノ粒子修飾電極の効果, 第 63 回日本ポーラログラフィーおよび電気分析化学討論会, 2017.

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

該当無し

### (2) 研究協力者

該当無し

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。