

平成22年 5月 31日現在

研究種目：基盤研究 (B)
 研究期間：2006～2009
 課題番号：18360386
 研究課題名 (和文) 生体分子を基盤とした新規ナノ触媒の構築とこれを用いた
 光水素発生反応
 研究課題名 (英文) Photoinduced hydrogen evolution based on biological reaction
 研究代表者
 大倉 一郎 (OKURA ICHIRO)
 東京工業大学・大学院生命理工学研究科・教授
 研究者番号：90089821

研究成果の概要 (和文)：本研究では、光水素発生反応に利用可能な電子伝達タンパク質に光増感作用の付与させることを目的とした。ヘムタンパク質シトクロム c₃ のヘム 1 箇所を亜鉛ポルフィリンに変換した高機能シトクロム c₃ を創製することができた。また、この電子移動における性質を調べ、光水素発生反応に応用した。その結果、効率の良い水素発生反応が進行した。当初の目的どおり、タンパク質への機能を付与することにより、新規ナノデバイスとして利用することができた。

研究成果の概要 (英文)：Photoinduced hydrogen evolution with an enzyme and cytochrome c₃ (an redox protein) was developed by addition photo-reactivity to cytochrome c₃. Cytochrome c₃ has four hemes in one molecule and one of hemes was exchange into Zn-porphyrin, so that photoinduced electron transfer from Zn porphyrin to three hemes in cytochrome c₃ occurred. The Zn porphyrin cytochrome c₃ applied to photoinduced hydrogen evolution and hydrogen production occurred.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	9,900,000	0	9,900,000
2007年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2008年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2009年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
総計	15,600,000	1,710,000	17,310,000

研究分野：光水素発生 触媒反応
 科研費の分科・細目：プロセス工学
 キーワード：水素生産、ヒドロゲナーゼ

1. 研究開始当初の背景

化石燃料資源の低下および、それら燃料の利用に伴う二酸化炭素排出の問題、また、原

子力利用の安全性など多様化しつつあるエネルギー問題に直面する現在、高エネルギーかつ低環境負荷を併せ持つ次世代燃料として水

素の利用に非常に高い関心が向けられている。水素の燃焼熱は高く、排出物は水のみであることからクリーンなエネルギーとして期待されている。

現在、水素の活用の際しての大きな問題は、水素の獲得方法である。その方法として、水の電気分解による生産および炭化水素からの生産等が挙げられる。しかしながら、これら現行の手法では、エネルギー問題および環境問題の解決にはならない。そこで、従来より太陽光（可視光）を利用して水を分解する光水素発生反応に注目し、これに関する研究を推し進めてきた。太陽光と水はほぼ無限に存在する資源であるため、光水素発生反応は、直面する問題の多くを解決する可能性を有する新技術といえる。

2. 研究の目的

光水素発生反応において、最重要課題は、水素発生光量子収率を高めることにある。

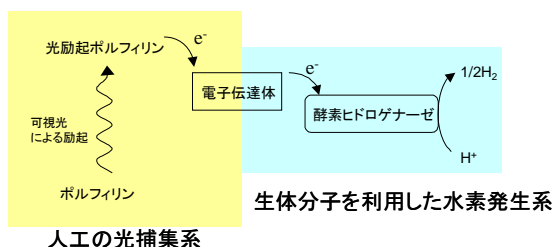


図1 光水素発生反応の概念図

図1に示すように、これまで光水素発生反応は、ポルフィリン化合物等を利用した人工の光捕集系と酵素ヒドロゲナーゼを利用した水素発生系を組み合わせた反応系が最も有効であることが明らかとなっている。酵素ヒドロゲナーゼは、白金コロイド等に代表される水素発生触媒と比較して、活性が極めて高く水素生産に最適な触媒である。しかしながら、この反応系では、光励起により得られた高ポテンシャル電子を酵素系で利用する際のエネルギー損失が大きく、水素発生光量子収率

はまだ十分ではない。これを改善するには、人工系と生体分子との電子移動の効率化が必須であり、分子レベルで光励起電子移動を仲介するバイオインターフェースを開発する必要がある。そこで、本研究では、人工の化合物と生体分子を融合した新規ナノバイオデバイスを開発し、水素発生光量子収率の飛躍的な向上を目指した。まず、人工光捕集系と生体分子が融合した新規デバイスとして、電子伝達タンパク質シトクロム c_3 に光増感作用を付与させた高機能タンパク質の設計、開発を行い、次に、この高機能性シトクロム c_3 の機能を分子レベルで解析し、ナノバイオデバイスとしての有効性を明らかにし、光水素発生系の効率化を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

図2に示すように、シトクロム c_3 は分子内に4つのヘムを有する酸化還元タンパク質である。また、還元型シトクロム c_3 が酵素ヒドロゲナーゼの生体内電子供与体として働き、水素発生反応が進行する。したがって、酵素反応への親和性が高く、最適な電子伝達体である。

本研究では、シトクロム c_3 に人工の光捕集系と酵素系とのインターフェースとしての機能を付与するために、亜鉛ポルフィリン型シトクロム c_3 を調製する。図3に示すように、シトクロム c_3 のヘム4つのうち1箇所を亜鉛ポルフィリンに置き換え、光増感作用を付与させた。

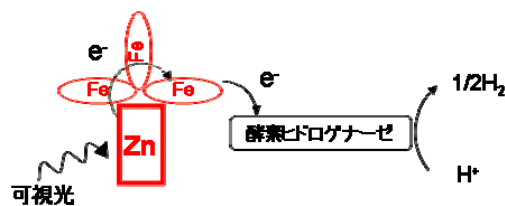


図2 亜鉛ポルフィリン型3ヘムシトクロム c_3 を用いた光水素発生反応

可視光照射により、亜鉛ポルフィリンが光励起され、同一分子内のヘム3つが還元される。さらに、還元されたヘムから酵素ヒドロゲナーゼへ電子移動し、水素発生反応が進行させることができる。

4. 研究成果

第一の成果として、亜鉛ポルフィリン型シトクロム c_3 の創製に成功した。

これに先立ち、まず、アポ型シトクロム c_3 の調製し、その性質を調べた。シトクロム c_3 の4種類のヘム(ヘム I、ヘム II、ヘム III、ヘム IV)の中からヘム I を選択的に除去したアポ型シトクロム c_3 (Δ hemeI シトクロム c_3) に加え、 Δ hemeII シトクロム c_3 、 Δ hemeIII シトクロム c_3 、 Δ hemeIV シトクロム c_3 の調製に成功した。

これら4種類のアポ型シトクロム c_3 と鉄プロトポルフィリンを用いて、ヘムの再構成を行った。その結果、ヘム1とヘム3に関して、再構成に成功した。また、これらの再構成シトクロム c_3 の性質を調べた。分光学的性質、酸化還元電位、酵素ヒドロゲナーゼとの電子移動において、シトクロム c_3 と性質の違いが見られず、再構成できたことがわかった。つまり、ヘムを再構成した場合もヒドロゲナーゼとの水素発生反応において相違がないことがわかった。

次に、亜鉛ポルフィリンを用いた再構成を行い、亜鉛ポルフィリン型シトクロム c_3 の創製を行った。4種類すべてにおいて、亜鉛ポルフィリンがアポ型シトクロム c_3 に挿入されたことを質量分析から確認できた。

第二の成果として、亜鉛ポルフィリン型シトクロム c_3 を用いて、酵素ヒドロゲナーゼと組み合わせた光水素発生反応系の構築できたことがあげられる。これにより、新規ナノデバイスの創製に成功したといえる。

ヘム1 亜鉛ポルフィリン型シトクロム c_3 およびヘム3 亜鉛ポルフィリン型シトクロム c_3

を用いた光水素発生反応の結果を図3に示す。電子供与体として、トリエタノールアミン、光増感剤および電子伝達体には ZnTPPS を挿入した。酵素ヒドロゲナーゼを用いた。図3に示すように、ヘム1 亜鉛ポルフィリン型シトクロム c_3 (ZnTPPS Δ Heme I)、ヘム3 亜鉛ポルフィリン型シトクロム c_3 (ZnTPPS Δ Heme III) を用いた場合のいずれにおいても水素発生反応が見られた。また、ヘムが欠損していない野生型シトクロム c_3 と ZnTPPS を混合した反応系 (WT+ ZnTPPS) では、水素発生が見られなかった。

亜鉛ポルフィリンからヘムへの電子移動は分子内で進行するため、電子移動の確率は高いと予想されたとおり、亜鉛ポルフィリン型シトクロム c_3 を用いた場合には、水素発生反応が確認された。以上のことから電子伝達タンパク質シトクロム c_3 に光増感作用を付与させた高機能タンパク質の創製ができ、ナノバイオデバイスとしての有効性を明らかになったといえる。

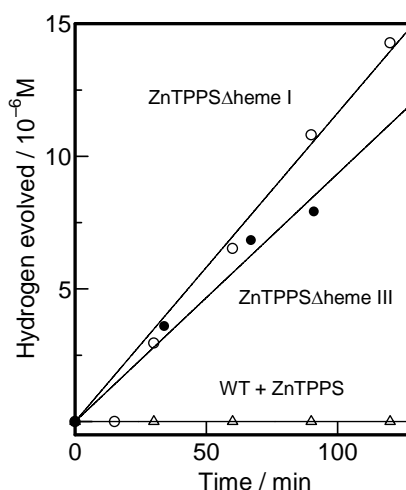


図3 ZnTPPS を挿入したシトクロム c_3 を用いた光水素発生反応

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 10 件)

- ① Noriyuki Asakura, Ryohei Goto, T. Kamachi, I. Okura, *Chem. Lett.* 38, 1200-1201, 2009 査読有
- ② 田嶋健治、大倉一郎、Journal of the Japan Petroleum Institute 51,255 - 263, 2008 査読有
- ③ Shin Iida, Yusuke Kawano, Noriyuki Asakura, Kenji Tabata, Ichiro Okura and Toshiaki Kamachi*, *Chem. Lett.*, 36, 2007, 184-185 査読有
- ④ Shin Iida, Noriyuki Asakura, Kenji Tabata, Ichiro Okura and Toshiaki Kamachi* *J. Porphyrins and Phthalocyanines*, 11(1) 2007 66 査読有
- ⑤ Ihara, M., Nakamoto, H., Kamachi, T., Okura, I., and Maeda, M. Photoinduced *Photochem Photobiol.* 82, 1677-1686, 2007
- ⑥ Takashi Saito, Noriyuki Asakura, Toshiaki Kamachi, Ichiro Okura *J. Porphyrins and Phthalocyanines*, 11(3), 2007, 160-164. 査読有
- ⑦ Shin Iida, Noriyuki Asakura, Kenji Tabata, Ichiro Okura, Toshiaki Kamachi *Chem.Lett.* 36, 184-185, 2007 査読有
- ⑧ Shin Iida, Noriyuki Asakura, Kenji Tabata, Ichiro Okura, and Toshiaki Kamachi, *ChemBioChem*, 7 1853-1855, 2006 査読有
- ⑨ Noriyuki Asakura, Toshiaki Kamachi, and Ichiro Okura, *Measurement Science and Technology*, 17, 1237-1241, 2006 査読有
- ⑩ Noriyuki Asakura, Toshiaki Kamachi, Ichiro Okura, *Research on Chemical Intermediates*, 32, 341-355, 2006 査読有

[学会発表] (計 7 件)

- ① 朝倉則行、手塚拓身、松本拓、大倉一郎、Directional electron transfer of four heme cytochrome c_3 investigated by EQCM measurement、14th International conference on biological inorganic chemistry、2010. 7.26、名古屋国際会議場
- ② 田木正樹、朝倉則行、手塚拓身、松本拓、大倉一郎、ヘム II 配向シトクロム c_3 電極と酵素ヒドロゲナーゼとの電子移動の解析 第24回生体機能関連化学シンポジウム、2009. 9. 18、福岡
- ③ 手塚拓身、朝倉則行、松本拓、大倉一郎、EQCM法を利用したシトクロム c_3 の電子受容ヘムと電子供与ヘムの特定、第3回バイオ関連化学合同シンポジウム、2008.9.19、横浜
- ④ 朝倉則行 松本拓 蒲池利章 大倉一郎

シトクロム c_3 の分子内電子移動における方向性の解明、第17回 金属の関与する生体関連反応シンポジウム 2007.6.21-22 京都

- ⑤ 松本拓・朝倉則行・蒲池利章・大倉一郎 EQCM法を利用したシトクロム c_3 とヒドロゲナーゼとの複合体形成反応の解析 第87回日本化学会春季年会 大阪 2007.3
- ⑥ 岡田卓也、朝倉則行、大倉一郎、光増感作用を付与したシトクロム c_3 の調製と光水素発生、第37回石油・石油化学討論会、2007.1.25、札幌
- ⑦ 松本拓・朝倉則行・蒲池利章・大倉一郎、EQCM法を利用したCytochrome c_3 と Hydrogenase との複合体形成反応の解析、バイオ関連化学合同シンポジウム、第9回バイオテクノロジー部会・第9回生命科学研究会合同シンポジウム) 2006.9.28

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大倉 一郎 (OKURA ICHIRO)
東京工業大学・大学院生命理工学研究科・教授
研究者番号：90089821

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

朝倉 則行 (NORIYUKI ASAKURA)
東京工業大学・大学院生命理工学研究科・講師
研究者番号：40401559