

■受領No.1396

無機半導体光触媒反応と生体触媒反応とを組み合わせた光バイオ水素生産系の構築

代表研究者

本田 裕樹

奈良女子大学 研究院自然科学系 化学領域 助教



1. 研究目的

水素は次世代のエネルギーキャリアとして注目されており、今後の水素の需要はますます高まると予想される。一方、現在の工業的な水素生産は大部分が化石燃料の使用に依存し、水素エネルギー社会の実現に向け、自然エネルギーとくに無尽蔵の太陽光エネルギーを利用したクリーンな水素生産システムの構築に期待が寄せられる。なかでも光触媒を用いた水の分解反応は理想的な水素生産法と考えられ、実用化に耐えうる高効率な光触媒の研究が広く進められている。

こうした背景のもと本研究では、無機半導体光触媒による光エネルギー変換に、酵素や微生物といった生体触媒による水素生成反応を組み合わせた無機-バイオハイブリッド系による新規な光バイオ生産システムの構築を目指した。とくに、微生物に備わる能力によって形成される金属硫化物半導体〔具体的には、可視光応答型光触媒として知られる硫化カドミウム (CdS)〕を用いた光エネルギー変換を利用する反応系の構築について検討した。生体で形成した CdS の光触媒能を、同じ微生物細胞内に遺伝子工学的に付与した高活性な水素生成能 (具体的には、[FeFe]-ヒドロゲナーゼ遺伝子を高発現する組換え大腸菌を用いる) と共役させることで光駆動水素生産系を構築しようと考えた (図 1)。検討内容は、大腸菌による CdS 形成能の評価、CdS 形成後の大腸菌での水素生成活性

の評価、およびこれを通して得られた CdS を形成しかつ水素生成能を付与した大腸菌 (CdS-大腸菌) による光駆動水素生産、の 3 点である。

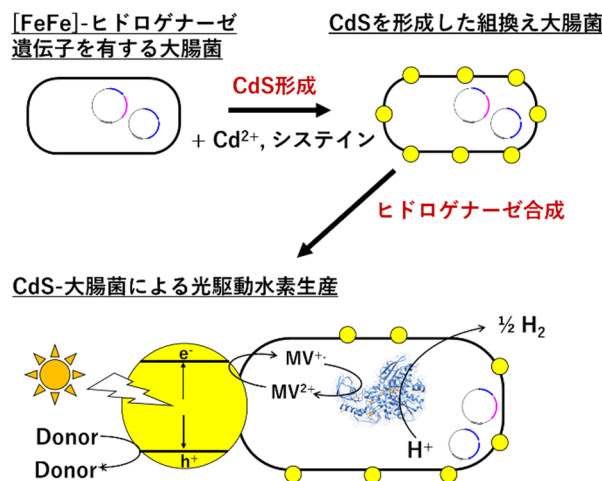


図 1. 本研究で目指した無機-バイオハイブリッド系による水素生産 (3. 発表論文内の図を加工)

2. 研究内容

2.1 大腸菌による CdS 形成能の評価

微生物は、Cd²⁺といった重金属イオンの毒性回避のため、システイン存在下で酵素反応により生じる硫化物イオンを用いて金属硫化物を形成する。この金属硫化物形成能によって形成されたCdSを光触媒として利用する。大腸菌によるCdSの形成条件を検討し、形成されたCdSの物性を評価した。供試菌にはクロストリジウム属由来[FeFe]-ヒドロゲナーゼ遺伝子を挿入したプラスミドを保持す

大腸菌を用いた。当該大腸菌を定法に従い培養後、菌体をリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) に懸濁し、 CdCl_2 とシステインを添加してCdS形成を試みた。菌体懸濁液を遠心分離すると、黄色の菌体ペレットとして回収された。回収した菌体を凍結乾燥し、得られた粉末に対してX線回折 (XRD)、走査型電子顕微鏡観察 (SEM)、エネルギー分散型X線分析 (EDX)、および拡散反射スペクトルの解析により、CdSであることが確認できた (図2)。測定結果は、大腸菌においてCdSが形成され、そのバンドギャップは2.5-2.6 eV、ナノオーダーの粒子径であることを示した。以上より、実験に使用する組換え大腸菌でのCdS形成に成功した。

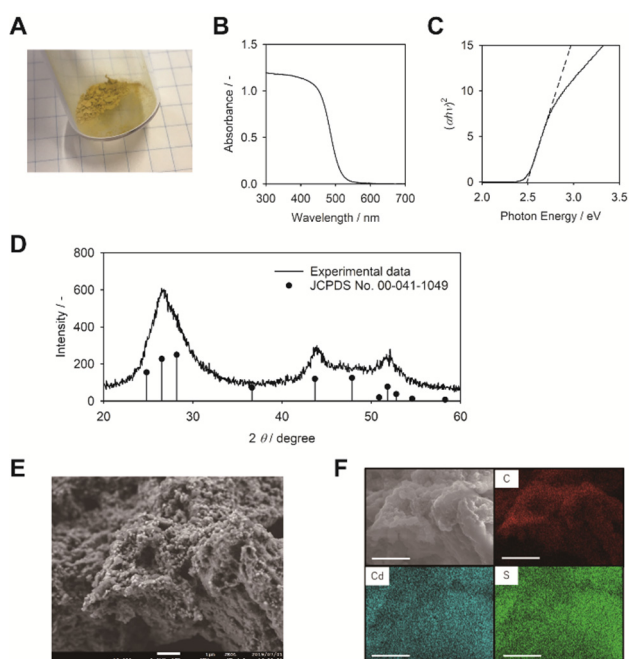


図2. 大腸菌で形成されたCdSの物性評価
A, 得られた粉末写真; B, 拡散反射スペクトル; C, Tauc プロット; D, XRD (対照には JCPDS no. 00-041-1049); E, 粉末のSEM像; F, 粉末のEDXによる元素マッピング (3. 発表論文内の図を加工)

2.2 CdS 形成後の大腸菌での水素生成活性の評価

CdSを生成した大腸菌 (CdS-大腸菌) を回収した後、遺伝子発現を誘導し、[FeFe]-ヒドロゲナーゼを細胞内で合成させ、水素生成活性を評価した。種々の検討の結果、CdS形成と遺伝子工学的なヒ

ドロゲナーゼ合成が同じ大腸菌のなかで両立できる条件を見出した。ヒドロゲナーゼの合成はSDS-PAGEと、還元型メチルビオローゲン (MV) を用いた水素生成によって検討した (図3)。CdS形成後も問題なく大腸菌へ水素生成能を付与でき [湿菌体重量 (mg) 当たり $0.7 \mu\text{mol-H}_2/\text{min}$]、その後の光駆動水素生産へ適用した。

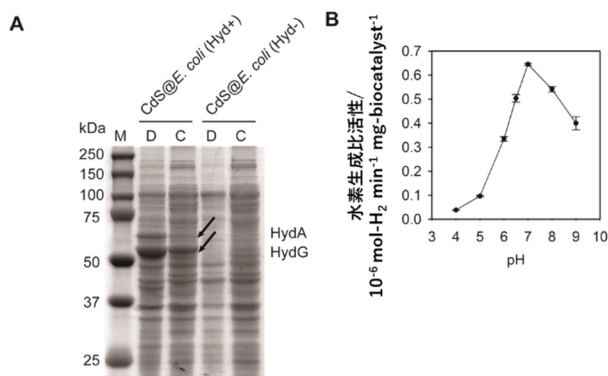


図3. CdSを形成した大腸菌での[FeFe]-ヒドロゲナーゼの合成

A, SDS-PAGE (*E. coli* (Hyd+), ヒドロゲナーゼ遺伝子導入株; *E. coli* (Hyd-), 遺伝子非導入株)
B, 各pHでの活性測定の結果 (反応液2 ml: 100 mM BisTris, 5 mM MV, 25 mM 亜ジチオン酸 Na, 湿菌体 0.01 g, 37°C) (3. 発表論文内の図を加工)

2.3 CdS 形成しかつ水素生成能を付与した大腸菌による光駆動水素生産

ここまで水素生成活性を示すCdS-大腸菌を得た。当該CdS-大腸菌を光触媒とした光水素生産を試みた。電子供与試薬としてBisTris、光触媒としてCdS-大腸菌、電子メディエーターとしてMVを含む反応溶液を調製し、ソーラーシミュレーターを光源として照射依存的水素生産を試みた。ヒドロゲナーゼ遺伝子を導入したCdS-大腸菌 [CdS-*E. coli* (Hyd+)]を用いた場合に照射依存的水素生産が確認された。一方、対照として、遺伝子導入をしていないCdS-大腸菌 [CdS-*E. coli* (Hyd-)] やCdSを形成していない大腸菌 [*E. coli*

(Hyd+)]、暗条件からは水素生成は確認できなかった(図4)。また、CdS-*E. coli* (Hyd+)による光水素生産の波長依存性は図2Bに示したCdSの拡散反射スペクトルと一致しており、各波長での水素生産の見かけの量子収率(AQY)は、 $AQY_{350}=0.11\%$ 、 $AQY_{420}=0.10\%$ 、 $AQY_{470}=0.04\%$ と算出された。以上より、大腸菌によって形成されたCdSへの光照射で生じる励起電子をヒドロゲナーゼに伝達して水素生産を実現するという、当初の想定通りの反応系を実現することができた。

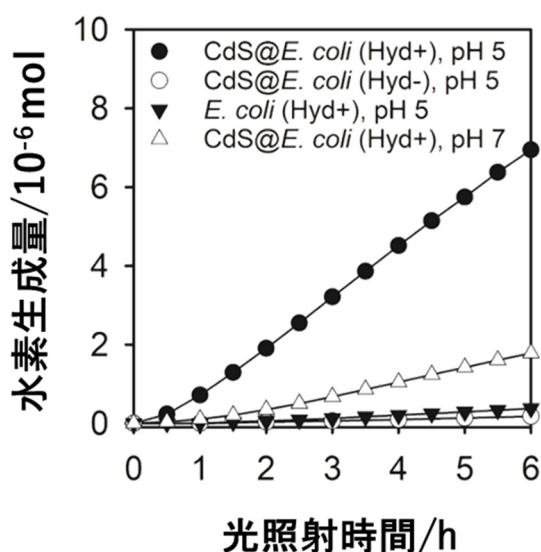


図4. CdS-大腸菌による光水素生産

反応溶液(20 ml): CdS-大腸菌0.5 g, 5 mM MV, 100 mM BisTris-Cl (pH 5 or 7); 光源, AM1.5G solar simulator; 照射面積, 3 cm×3 cm; 強度, 1 SUN. (3. 発表論文内の図を加工)

2.4 まとめと展望

本研究では、大腸菌の有する金属硫化物半導体形成能と、遺伝子工学的に付与した水素生成能を組み合わせた新規な無機-バイオハイブリッド反応系による可視光駆動型水素生産を目指した。図1で示した想定通りの反応系を構築でき、研究成果はChemBioChem誌に発表した。

一方、現段階での反応効率は低く改善が必要で

ある。図4に示した光水素生産を見ると、化学的に還元したMVを用いて測定した菌体の水素生成比活性と比較して、光水素生産速度は著しく低い。そこで現在は、CdSによる光エネルギー変換に焦点をあて、大腸菌によって形成するCdSの量や質を改善し、反応系全体の光水素生産効率の向上を目指している。今後も、無機触媒の高安定で高効率な光エネルギー変換と、生体触媒の高効率かつ高選択的な物質変換の両者の特長を組み合わせた無機-ハイブリッド反応系に関する知見をさらに深めるべく研究を遂行する考えである。

3. 発表(研究成果の発表)

Yuki Honda*, Yuka Shinohara, Motonori Watanabe, Tatsumi Ishihara, Hiroshi Fujii, Photo-biohydrogen production by photosensitization with biologically precipitated cadmium sulfide in hydrogen-forming recombinant *Escherichia coli*. ChemBioChem, 21, 3389-3397 (2020).