

「光エネルギーと物質変換」研究領域 領域活動・評価報告書
－平成26年度終了研究課題－

研究総括 井上 晴夫

1. 研究領域の概要

本研究領域では、人類にとって理想的なエネルギー源である太陽光による広義の物質変換を介して、光エネルギーを化学エネルギーに変換・貯蔵・有効利用し得る高効率システムの構築を目指した独創的で挑戦的な研究を対象とした。具体的には、半導体触媒や有機金属錯体による光水素発生、二酸化炭素の光還元、高効率な光捕集・電子移動・電荷分離・電子リレー系、光化学反応場の制御、水分子を組み込んだ酸化還元系、ナノテクノロジーを駆使した光電変換材料、高効率光合成能を有する植物、藻類、菌類などの利用技術、光を利用したバイオマスからのエネルギー生産、光合成メカニズムの解明などが含まれる。光化学、有機化学、材料科学、ナノテクノロジー、バイオテクノロジーなど幅広い分野から、将来のエネルギーシステムへの展開を目指した革新的技術に新しい発想で挑戦する研究を対象とした。

2. 事後評価対象の研究課題・研究者名

件数： 13件(内、大挑戦型 1件)

※研究課題名、研究者13名は別紙一覧表参照

3. 事前評価の選考方針

選考の基本的な考えは下記の通り。

- 1) 選考は、「光エネルギーと物質変換」領域の領域アドバイザー11名の協力を得て、最終的には研究総括が行った。
- 2) 選考方法は、書類選考、面接選考及び総合選考とする。
- 3) 選考に当たっては、さきがけ共通の選考基準(URL: <http://www.jst.go.jp/pr/info/info825/besshi4.html>)の他、将来のエネルギーシステムへの展開を目指した革新的技術に新しい発想で挑戦する研究を重視した。
- 4) 審査に当たっては、これまでの研究実績というよりは研究者の個性「ひと」を重視した。提案の新規性、独創性はもちろん研究計画の発展性に加え、これまでに蓄積された科学技術やその組み合わせを超えて、将来のエネルギー問題解決のブレークスルーとなる可能性を秘めた挑戦的な研究提案を特に重視し、できるだけ多面的な評価を心がけ選考した。また、研究提案の利害関係者の関与を避け、他制度による助成状況等も留意し、公平厳正な審査を行った。

4. 事前評価の選考の経緯

一応募課題につき領域アドバイザー3名が書類審査し、書類選考会議において面接選考の対象者を選考した。続いて、面接選考および総合選考により、採用候補課題を選定した。上記選考を経た課題の内、大挑戦型審査会(書類選考会議)へ2課題を推薦した。

選考	書類選考	面接選考	採択数			
			13件	内 訳	採択数	
対象数	123件	34件				
					5年型	3件(1件)

()内は大挑戦型としての採択数。

備考:

- 1) 平成23年度採択課題のうち、以下は今年度事後評価対象としない。
 - ・恩田健研究者、長澤裕研究者、山方啓研究者
研究期間が5年で、今年度終了しないため。今年度は中間評価を実施する
(中間評価結果: http://www.jst.go.jp/kisoken/presto/evaluation/mid-term/midterm_h26hyouka.html)
 - ・藤井律子 研究者
ライフイベントにより研究を一時中断し、終了年度がずれるため。
- 2) 加えて、以下を今年度の事後評価対象とする
以下の者は平成21年度に採択し、研究期間が5年で今年度終了するため

- ・石田 齊 研究者
- ・伊田進太郎 研究者
- ・伊原正喜 研究者
- ・嶋盛吾 研究者

5. 研究実施期間

平成23年10月～平成27年3月(3年型)
平成21年10月～平成27年3月(5年型)

6. 領域の活動状況

領域会議: 10回
研究総括(または技術参事)の研究実施場所訪問: 15 か所

7. 事後評価の手続き

別記13名の研究者には、個別ディスカッションの機会を設け、研究の進捗状況、現在の課題、今後の方針・展望などについて、研究総括、領域アドバイザー、技術参事との十分な質疑応答を行い、課題の解決や研究の進め方に対する助言・指導を行った。さらに評価会(領域会議等)において個別ディスカッションでの意見をふまえたその後の研究進展などについて、研究総括、領域アドバイザー、技術参事、研究者との質疑応答の意見などを総合して研究総括が最終的な評価を行った。

(事後評価の流れ)

平成26年5、11月 評価会開催(於: 領域会議)
平成27年 2月 研究総括による事後評価
平成27年 2月 被評価者への結果通知

8. 事後評価項目

- (1) 研究課題等の研究目的の達成状況
- (2) 研究実施体制及び研究費執行状況
- (3) 研究成果の科学技術及び社会・経済への波及効果(今後の見込みを含む)
- (4) 外部発表(論文、口頭発表等)、特許、研究を通じての新たな知見の取得等の研究成果の状況
- (5) 得られた研究成果の科学技術への貢献
- (6) 今後の展開の可能性
- (7) 総合評価
- (8) 大挑戦型についてはさらに、大挑戦型として取り組む挑戦的な研究項目に対する進展についても評価項目とした。

9. 評価結果

平成21年度採択研究者のうち、研究期間5年として採択された4名の研究者、および平成23年度採択研究者のうち、研究期間3年として採択された9名の研究者についての事後評価を以下に報告する。各研究者とも大変精力的に研究展開を行い、その成果論文の多くはインパクトファクターの高い学術国際誌や専門学協会の国内外の学術集会で発表されている。いずれの研究も今後一層の研究展開に大いに期待が持たれる。

1. 石田 齊研究者「ペプチド折り紙で創る二酸化炭素多電子還元触媒」(5年型、大挑戦型)

本研究は、Ru錯体によるCO₂還元、および「ペプチド折り紙」などについての石田博士等の先駆的業績を基礎に、高効率CO₂光還元系の開発をめざして提案されたものである。非天然型ペプチドを化学反応場とする取り組みは、基礎科学の視点のみならず、CO₂還元に限定したとしても、直接の光化学還元、電気化学還元、あるいはヒドリド化合物を電子源、水素源とする暗反応触媒還元など様々に展開する可能性を秘めている。人工酵素の視点からも極めて挑戦的な研究課題でもある。このような大きい期待が持たれる一方で、短期間で研究展開には多くの困難さが伴うことが容易に予想されたことから大挑戦プログラムとして採択された。研究開始当初には、研究設備の整備、金属錯体配位子合成などをはじめ解決すべき課題があったが、若干の誘導期間を経て、配位子中間体合成の目途がついた後、漸くペプチド合成とそれらの錯体合成が可能になった。研究開始初期の困難さを考慮したとしても、当初3年間の研究展開は決して満足すべきものとは言い難い状況であった。モデル錯体の研究にとどまることなく、いっそう意欲的に多種類

の非天然型アミノ酸を有するポリペプチドを合成し、ペプチド折り紙型の錯体合成とそのキャラクタリゼーション、光反応検討などの研究展開が望まれた。研究ペースから見て多くの取り組みが計画倒れに終わる懸念すらあり得たことから一層の集中した研究努力が望まれた。しかし、研究開始後4年次、5年次に至り、本来目指していたペプチド折り紙モデル錯体以外の親錯体系でのCO₂光還元でCOとギ酸の生成物選択性が触媒濃度により変化するという興味深い現象を見出している。単核錯体と二核錯体がそれぞれ異なる生成物を与えることや配位環境の立体要因が生成物選択性の要因となることも明らかにしたことは、金属錯体によるCO₂還元機構の解明に資する結果と言える。他にも非天然型ペプチド置換配位子を有するRu錯体の反応性の変化などの興味深い結果も得つつある。一方、本来の大挑戦プログラムの主題であったペプチド折り紙錯体については、まだペプチド鎖長は短いものの漸く多種類を合成することができる状況になった。一連のペプチド型配位子を有するRu錯体を用いることによりCO₂還元反応性が、直接Ru錯体部分の電子状態に影響を与えない第二配位圏の置換基の変化で大きく変化することを見出している。つまり、反応中心を取り巻く微小環境の効果を観測できた可能性が高いと推察される結果を得つつあることは光明であり、本来のペプチド折り紙効果に切り込む糸口となる可能性がある。さきがけ研究が終了後も継続してこの挑戦的課題に取り組み、一層の加速度的研究展開を期待したい。

2. 伊田進太郎研究者「ナノ構造体の階層的構造制御による光機能性材料の創製」(5年型)

半導体光触媒による水の分解、人工光合成は結晶粉末触媒を水に懸濁させた反応方法や光電気化学的な反応方法についての基礎的な研究集積があり、我が国は群を抜いて世界を先導している。しかし、中長期の時間スケールでの本格的な実用化を視野に入れた場合には、現在までの研究進展の延長線上にはない新たな取り組み、ブレークスルーが求められてもいる。可視光をいかにして有効に利用できるか、電子や正孔などの挙動の理解を基礎に欠陥を制御し水の光分解の反応性をいかにして向上させるか、助触媒の分子機構は何か、触媒調製プロセスを含めていかにして汎用性を持たせられるか、など解決すべき課題は多い。これまでの基礎的知見を基にした工学的条件探索や最適化手法の限界を超えて、上記課題を基礎科学の視点でブレークダウンする思い切った基礎的取り組みが求められてもいる。伊田博士は、従来の視点を超えて、厚さ1~2nmの半導体ナノシートに着目し、比表面積の飛躍的な拡大、ドーパ元素が結晶内部ではなく表面にあらわになることの予測とその効果への期待、半導体光触媒でのキーポイントである欠陥の制御・キャリアの有効分離などへの展開につながり得るナノシートの結晶性の制御、汎用性への展望となるユビキタス元素への着目などを始め、多くの独創的視点からさまざまな半導体ナノシートの作製、それらの光化学挙動、光電気学挙動の解明に取り組んでいる。研究開始から当初3年間で既に、多くの興味深い研究成果を挙げた。例えば、RhをドーパしたCa₂Nb₃O₁₀ナノシートで水の光分解の反応性としてこれまでにない高い反応性(量子収率65%)を達成している。水光分解での可視光感受性のナノシートCsCa₂Ta₃O_{9.7}N_{0.2}の開発にも初めて成功している。さらには、ユビキタス元素としての鉄やカルシウムを主材料とした光電変換材料として、CaFe₂O₄の光電変換特性を10倍以上向上させることにも成功した。さらに研究期間の後半では、上記のRhをドーパしたCa₂Nb₃O₁₀ナノシートによる水の光分解について、詳細な原子レベルでの表面観察を基礎にドーパされたRhが原子単位で助触媒機能を発現する可能性が高いことを見出しその分子機構の考察まで踏み込みつつある。半導体光触媒分野で解決すべき重要課題の中で、電子や正孔などが具体的にどのように水素発生や酸素発生に結び付くのか、またその際に反応促進する助触媒はどのような役割を果たすのか、などに対して、本研究における伊田博士の原子レベルでの観察と光触媒機能の関連、水分子の吸着解離とその後続過程への分子機構考察は極めて示唆に富む大きいインパクトを与えるものとして高く評価される。その他、p型およびn型半導体の1枚ナノシート間の接合に成功し、予測される電位勾配が形成されることを表面電位測定による直接観察と還元反応面選択性の実験事実の両面から初めて実証するなど基礎光化学、光電気化学挙動について多くの興味深い見聞も得ている。独創的な洞察と徹底的な実験検索により極めて信頼感のある研究展開を示しており今後のさらなる展開を大きく期待させるものとして高く評価する。

3. 伊原正喜研究者「蛋白質工学的アプローチによる高効率ギ酸生産藻類の設計」(5年型)

本研究は、ヒドロゲナーゼによる水素発生についての伊原博士の先駆的な業績を基礎にしながらも、新たにエネルギーキャリア物質としてのギ酸に注目し、その生産を太陽光により蛋白質工学的アプローチにより最適化した藻類生物系システムでおこなうという大変意欲的な提案である。藻類の機能改変による人工光合成の試みは数多いが、その多くはヒドロゲナーゼを利用する水素発生に限られているので、本研究が目的通りに展開すれば当該領域に非常に大きいインパクトを与えるものである。しかしながら、細胞内でギ酸を生成する際の細胞毒性、ギ酸脱水素酵素(FDH, Mo-FDH など)を新規に細胞内に適用する困難さ、還

元酵素は極めて酸素耐性が低いことの困難さ、最適の酵素変異体作成方法(発現系)をいかに早く、効率よく開発するか課題、などを始め多くの困難が予想された。研究開始時の異動や研究環境の整備などによる若干の誘導期間はあったが、これまでに細胞外再構成系において、照射によるギ酸生産に成功し、細胞内でも、シアノバクテリア・ヘテロシスト内でFDH変異体を過剰発現させ、照射によるギ酸生成に成功している。さらに進んで、光化学系I(PSI)が照射で汲み出す還元力の高い電子を直接利用し得るMo-FDH系の構築に挑戦した。光化学系I(PSI)とPsaEサブユニットを介したMo-FDH直接接合系ではより高効率のギ酸生成が期待される。さきがけ研究期間の後半は、多くの困難を逐次、タンパク質工学手法を駆使し熱意溢れる研究努力と科学センスで見事に乗り切りMo-FDH系でも照射によるギ酸生産に成功した。ギ酸生成以外に、水素発生、イソプレノイド生成への取り組みも同時進行させており興味深い多くの成果が得られている。特に水素生成に関連する[NiFe]-ヒドロゲナーゼについて、変異株でその活性を2倍近くに高めることに成功している。これは分子進化工学的実験の成功例として特筆されるものであろう。以上のように井原博士は研究開始当初の誘導期間を経て、着実に各段階を踏んで加速度的に研究進展させておりその熱意溢れる挑戦姿勢は高く評価される。さらなる高効率化や細胞内で生成したギ酸を細胞から排出する経路の構築など今後の一層の加速度的な研究進展を期待している。

4. 嶋 盛吾研究者「[Fe]-ヒドロゲナーゼの活性中心鉄錯体の生合成」(5年型)

本研究は、メタン生産菌内での多電子変換、ヒドリド移動などの解明を手掛かりに「自然を理解し」、「自然に学ぶ」視点から、人工光合成研究の中で最も重要な反応のひとつであるCO₂の多電子還元触媒反応を総合的に理解することに挑戦する大変意欲的な取り組みである。研究提案が採択されるまでの嶋博士の[Fe]-ヒドロゲナーゼに関する最先端の研究実績を基礎に、研究開始から短期間に、既にメタン生産菌で発見された酵素[Fe]-ヒドロゲナーゼの活性中心である鉄錯体(FeGP-コファクター)の構造解明に初めて成功し、その生合成経路の全容をほぼ解明した。また、メタン生成の逆反応と推定されるメタン代謝酵素を黒海海底微生物から直接採取し嫌気メタン酸化を促進するメチル補酵素M還元酵素を、混合物状態の試料からメチル補酵素M還元酵素だけを結晶化することに成功し、そのX線構造解析に成功するという大変大きいインパクトを与える研究成果をあげている。[Fe]-ヒドロゲナーゼと共にメタン生成微生物の中で重要なもう一つの酵素[NiFe]-ヒドロゲナーゼが大変興味深い「ナノボール」構造を有することも発見している。さらに進んで、化学的に合成したFeGPコファクターの類似体をタンパク質に導入再構成し、半合成[Fe]-ヒドロゲナーゼの作製に成功するなど、他にも多くの、興味深い研究成果をあげつつある。このように研究進展は瞠目すべき速度で極めて順調に進んでいると高く評価される。今後、生体内でのCO₂還元の総合理解に向けて一層の加速度的研究進展を期待している。人工光合成系では可視照射により1電子単位の電荷分離を達成した後、如何にして酸化側、還元側で多電子変換過程を進行させ得るかが最大の課題の一つであるが、[Fe]-ヒドロゲナーゼ研究の第一人者と言える嶋博士の本さきがけ研究で得られた研究成果は人工光合成系の還元系設計に極めて大きい指導原理を提示している。異分野融合、Multiple cross-fertilization、の視点においても、さきがけ領域内の光合成系研究者と人工光合成系研究者の相互啓発を可能にした嶋博士の研究展開を研究総括として高く評価している。

5. 梅名泰史「光化学系II複合体の酸素発生反応の構造化学的手法による原理解明」(3年型)

梅名博士は、天然の光合成を理解する上で、長年の懸案であった光化学系II(PSII)の詳細な構造を空間分解能1.93Åでの構造解析に初めて成功した研究者である。PSIIにおける水分子の4電子酸化による酸素発生過程を駆動するMn₄CaO₅クラスターと周りのタンパク質の役割などを理解し光合成の不思議を解き明かす足がかりとなる画期的な研究成果をNature誌に筆頭著者として報告している。共同研究グループの沈教授(岡山大学)、神谷教授(大阪市立大学)、川上博士(大阪市立大学)と共に世界中から極めて高い評価を受けている研究者である。本さきがけで研究では、上記の詳細な構造解析の実績を基礎に、さらに進んで、天然の光合成系の最も不思議な点、光合成の極意とされるPSII中のMnクラスターがどのようにして水分子を4電子酸化するのか、についてその分子機構を解明しようとしている。具体的には段階的な4光子の照射により電子伝達を經由してMnクラスターが+1、+2、+3、+4の高酸化状態に変化することは既に分かっているが、4個のMnイオンの中で、どのMnが最初に酸化され、次はどのMnが酸化されるのか、またそれに伴い、配位している水酸化イオン、水、MnとMnの間の格子酸素原子がどのような変化を受けて、酸素発生につながっていくのかを、+1、+2、+3、+4の高酸化状態のそれぞれについて、無損傷X線構造解析を行うことにより解明しようとしている。極めて挑戦的な研究課題について、現在鋭意実験を進めている。これらが解明されれば、光合成の不思議の最も重要な点が明らかになることになり、極めてインパクトの大きい研究成果となる。

6. 横野照尚研究者「ナノコンポジット光触媒を用いた反応サイト分離型 CO₂固定化系の構築」(3年型)

横野博士は半導体光触媒について低温プロセスである水熱合成法と形状制御剤あるいは化学エッチング剤を駆使して、酸化チタン光触媒のナノレベルの露出結晶面並びに反応性の制御技術の開発で多くの実績のある研究者である。本さがけ研究では博士の開発した触媒調製を基礎に主に可視光による高効率CO₂還元をめざす意欲的な提案が採択された。特定結晶面が露出したブルッカイト型及びアナターズ型酸化チタン光触媒ナノ粒子の開発に成功し、紫外光照射下でCO₂を還元し、メタノールを主生成物として得ている、さらに、露出結晶面のうち還元反応が進行する結晶面にCO₂の還元助触媒(Ag, Au, Rh)を結晶面選択的に担持することにより触媒活性を10倍程度向上させることにも成功している。(量子収率:約2.5%)

可視光照射下でのCO₂還元用の光触媒システムの開発を目的として、高い還元能力のグラファイト型窒化炭素光触媒と水の酸化能力を有する酸化タングステン光触媒から構成されるナノコンポジット光触媒ナノ材料システムの開発に成功し、可視光照射下でCO₂還元によるメタノール生成に成功している。Auを助触媒として担持することで、その触媒活性を1.3倍程度向上させるなど可視光照射によるCO₂還元方法を多面的に開発している。さらに進んで光触媒電極材料の開発にも取り組んでおり、酸化と還元を分離した系、デバイス開発の基礎研究を展開しており今後の進展が期待される。

7. 坂本雅典研究者「新しい人工光合成系を目指したナノ粒子超構造の構築」(3年型)

坂本博士は、単分散ナノ粒子調製などで実績のある研究者である。さがけ研究では半導体ナノ粒子、金属ナノ粒子などのナノ粒子集合体をトップダウン手法、バルク焼成手法などで調製するのではなく、ナノ粒子集合体を設計図に基づいて、段階的に組み上げていくボトムアップ手法の開発に関する意欲的研究提案が採択された。実際の研究展開においては、主にナノ粒子に平面的に配位するプラットフォーム配位子やナノ粒子の成長中配位することによりサイズ制御の可能を有する直鎖状配位子を合成し、ナノ粒子のサイズを精密に制御することに成功している。他にも、種結晶上に異種結晶を成長させることにより多種類のヘテロ接合ナノ粒子の新規合成に成功している。当初意図していたナノ粒子同士を選択的に設計図に従って接合する段階にまでは至っていないが、その足がかりとなる基礎的知見が多く得られている。ボトムアップ手法によるナノ粒子集合体形成への挑戦は坂本博士のオリジナルな発想によるものであり、人工光合成領域で具体的にどのように展開するかが期待される。

8. 作田絵里研究者「アリールホウ素化合物による化学的光エネルギー変換への展開」(3年型)

人工光合成の実現に向けて、分子触媒によるCO₂の光還元へのアプローチでは希少金属錯体を用いた方法が主流であるが、現時点ではできるだけ多くの新しい方策を探索すべき段階にあると言える。作田博士は新規のCO₂光還元分子触媒候補としてアリールホウ素化合物に着目した意欲的研究提案を行い採択された。アリールホウ素化合物の光化学的分子触媒機能については、これまで全く研究されていなかったが、作田博士は着実な研究努力を積み重ね徹底的な実験探索の結果、アリールホウ素化合物が励起状態において周辺のアリール基(・(aryl))からホウ素原子上の空のp軌道(p(B))への分子内電荷移動状態(・(aryl)-p(B)CT)をとることを明らかにした。またその励起状態の特性を生かした光酸化還元反応、特にCO₂光還元反応探索に挑戦している。大変興味深いことにアリールホウ素化合物の励起状態はCO₂により動的消光を受けることを見出しており、着想の実現への足掛かりを得ている。さらに、アリールホウ素置換基を有するルテニウム(II)ポリピリジル錯体を新規に合成し、主に励起状態からの分子間電子移動反応、基礎光化学挙動を検討したうえでCO₂雰囲気における分子触媒機能を探索した。大変興味深いことに還元生成物として少量の水素と共にCO₂が還元されてCOを生成することを見出している。さらに進んでは、電気化学的還元や犠牲試薬を選択した光化学還元では触媒的にCO₂を還元できることを見出した。新規の分子触媒としての可能性については今後の一層の展開を期待したい。

9. 佐藤俊介研究者「金属錯体の配位および配位子の機能を利用したCO₂還元触媒の創製」(3年型)

佐藤博士は、金属錯体の光化学研究を基礎に半導体と金属錯体分子触媒を融合した系で水とCO₂から酸素とギ酸を生産する人工光合成系の構築に成功している研究者である。さがけ研究では、これまで報告例のない金属錯体類によるCO₂の電気化学還元、光化学還元に取り組む意欲的な研究提案が採択された。研究開始当初より、独特の化学センスで多くの金属錯体を徹底的に検索し、次々に既知の金属錯体でもCO₂還元能は未知のものや新規金属錯体などがCO₂還元能を有することを発見した。Mn, Cr, Fe, Mo, Wなどの金属錯体は電気化学的CO₂還元能を有し、Ir錯体は電気化学的CO₂還元に加えて光化学的CO₂還元能を有することも見出した。さらに進んで、半導体との融合により半導体への擬似太陽光照射でCO₂還

元が進行することを見出している。佐藤博士はCO₂還元の高効率化への足掛かりも得ており、半導体と助触媒、分子触媒のハイブリッド系で水を電子源とするCO₂の還元固定化とその高効率化への明確な見通しが持てる状況を切り開いたと言える。人工光合成領域に極めて大きいインパクトを与える研究であり研究総括として本研究を高く評価する。

10. 寺村謙太郎研究者「カーボンニュートラルエナジーイノベーションを目指した層状粘土化合物による水中での二酸化炭素の光還元」(3年型)

半導体光触媒による水の光分解では、通常は酸化生成物として酸素、還元生成物として水素が生成する。人工光合成における目標の一つであるCO₂の還元固定化に対して、半導体光触媒は、水素生成が優先するために先駆的報告例を除いて必ずしも有効ではない。寺村博士は、CO₂の光還元固定化に焦点を絞り、電子源としての水酸化物イオンを意図して水中で塩基性を維持し得る固体塩基表面と電子受容体としてのCO₂が吸着し得る固体表面の両面を兼ね備えた反応場としてアニオン性層状化合物である層状複水酸化物に着目した意欲的研究提案を行い採択された。既存研究例から得られる発想を超えた独創性が注目された。実際に、紫外光照射ではあるが、水中、層状複水酸化物環境下でCO₂が還元されてCOが主生成物として生成することを見出した。残念ながら、電子源は水、水酸化物イオンではなく、層中に存在する塩化物イオンが犠牲試薬として作用することが明らかになったが、層状複水酸化物がCO₂還元能を有することを見出した点は注目される。いっそうの挑戦的研究を期待したい。

11. 古谷祐詞研究者「様々な光エネルギー変換系における水分子の構造・機能相関解明」(3年型)

天然の光合成では、水を原料とした酸化還元系が光で駆動される。重要な反応系は基本的にタンパク質が形成する構造体の中に埋め込まれているので、基質となる水分子はタンパク質の構造環境の中で、水のチャンネル構造を通じて反応中心に供給されると推定される。また光駆動による酸化還元に伴い、プロトン放出・移動・プロトン濃度勾配などが誘起され後続の化学過程を導いている。バクテリオロドプシンやハロロドプシンにおけるプロトン移動やイオン移動なども光駆動によるイオンポンプの典型例として極めて重要な研究対象であり、「自然に学び・理解する」視点は人工光合成構築の基本的設計指針の吟味に資するところが極めて大きい。古谷博士は、このようなタンパク質の構造環境中での光駆動によるイオンポンプなどの典型例についてタンパク質の構造変化やそれに伴う水分子の配向変化や水素結合の変化など結合振動構造を時間分解スペクトルとして直接観測しようとする意欲的な研究提案を行い、採択された。研究開始後、極めて順調に時間分解偏光赤外分光測定系を構築しバクテリオロドプシンの構造変化、水分子の赤外吸収スペクトル変化に成功している。また、ハロロドプシンの光駆動イオン輸送についてもタンパク質内部の水分子の変化の直接観測にも成功している。金薄膜上での表面増強赤外測定系も構築できており、配向した試料が得られればタンパク質環境の変化と内部に取り込まれた水分子の動態、時間分解偏光赤外測定、直接観測を可能としている。さらに進んで、さきがけ領域内で梅名博士との共同研究により光合成の光化学系 II (PSII)における水の酸化過程について時間分解偏光赤外測定によりその分子過程に切り込もうとしている。パルス光照射後、PSIIがKokサイクルと呼ばれる循環過程により一定時間後に始状態に戻った状態での回周測定という困難な測定条件を克服できる独自の回転セルを考案・作成にも成功しており、今後の展開が大いに期待される。

12. 松原康郎研究者「光によって引き起こされるヒドリド移動反応を利用したエネルギーポンプ系の構築」(3年型)

人工光合成の実現に向けて最も重要な解決課題の一つに多電子変換過程を如何にして実現するかが挙げられる。光照射による1電子単位の電荷分離に後続してそれぞれ酸化末端では4電子変換、還元末端では2電子変換を実現する必要がある。天然の光合成では還元末端における2電子変換はヒドリド(2電子と1プロトン)の形で酵素反応として進行し、段階的な多電子変換反応が達成される。人工光合成系における還元末端では水素の発生、CO₂の2電子還元によるCOやギ酸の生成が主な研究潮流であるが、現時点では個別の先端的反応事例の蓄積が進むものの、熱力学的考察を基礎にした分子機構の設計・設計に基づく実際系での実験結果の蓄積・その解析・再設計、などのフィードバックサイクルによる研究展開には至っていない。松原博士は、このような現状を背景に、自身が見出した光反応によるヒドリド錯体生成事例を基礎に、ヒドリド化合物を順次、より高いヒドリド供与性を有する高反応性ヒドリド化合物に変換し、目的の還元末端反応を進行させるべく高反応性ヒドリド化合物として「還元力」を貯蔵できる系を構築しようとする意欲的な研究提案を行い採択された。松原博士の研究提案はいわばヒドリド供与性の階段を上げるがごとく、ヒドリドのポンピングアップ操作をおこなうヒドリドポンプの構築という極めて挑戦的で独創性が高いものである。研

究開始当初より、実験施設の立ち上げに若干の誘導期間がみられたが、詳細な微小熱量測定実験方法を駆使することにより、ヒドリド供与性とヒドリド化合物の関連について熱力学的な分類が可能であることを見出している。ヒドリド化合物が結合ギブスエネルギーに沿って熱力学的に分類できるということを示しており、ヒドリド化合物の一般化学の視点からも非常に重要な発見と言える。さらに進んで分子内にヒドリド供与型部位を中心金属近傍に配置した新規Re錯体を光反応で生成することに成功した。CO₂との反応性は充分ではなかったが、今後のヒドリド型分子触媒設計の重要な指針を与えるものとして評価される。研究総括としては松原博士が、本さきがけ研究により、ヒドリド化学の一般化学を含めて腰を据えて取り組もうとしている研究姿勢を高く評価したい。

13. 森本 樹研究者「高効率な二酸化炭素還元を目指した新規光触媒の創製」(3年型)

水を電子源とするCO₂の還元固定を実現する人工光合成系の構築への挑戦の中で分子触媒からのアプローチは最も有望な候補の一つである。なかでも還元末端での光化学的CO₂固定化反応については、近年我が国の研究グループが研究潮流の最先端にあり、森本博士はその研究グループの中核メンバーの一人として実績のある研究者である。

現状では犠牲試薬を電子供与体とするCO₂光還元の半反応の高効率化、分子機構の解明、水溶液中での反応系展開、汎用金属錯体系への展開などが最も注力すべき研究課題となっている。森本博士は、これらの課題に挑戦する意欲的な研究提案を行い採択された。研究開始当初は若干の誘導期間があったが、光化学的CO₂還元反応の高効率化を目指して、空間的に規制した位置に2個のレニウム錯体を配置したいくつかの二核錯体を新規に合成し単核錯体を上回る触媒性能を有することを見出した。光触媒を空間的に規制した位置に固定化するという設計戦略が、光触媒的CO₂還元反応の高効率化に寄与することを明確に示したと言える。また、CO₂還元光触媒系の高効率化を実現する別の戦略として、光捕集機能を担う光増感剤を共存させる光触媒系環状レニウム多核錯体を新たに開発し、これとレニウム単核錯体の混合光触媒系においてCO₂還元反応の量子収率82%を達成した。これは現在の世界記録である。さらに進んで、レニウム錯体がCO₂の還元光触媒能のみならず、CO₂捕捉能を有することを見出した。このCO₂分子の捕捉に注目し、低濃度CO₂ガスを処理する流通型光触媒反応系を設計し、CO₂濃度10%以下の条件においても、CO₂を光触媒的に還元する反応システムの構築に成功した。これらの研究成果は分子触媒によるCO₂光還元の研究潮流を主導するものとして高く評価される。

10. 評価者

研究総括

井上 晴夫 首都大学東京 人工光合成研究センターセンター長・特任教授

International Advisor

徳丸 克己 筑波大学名誉教授

朴 鐘震 韓国・高麗大学材料化学部門教授

領域アドバイザー(五十音順。所属、役職は平成26年12月末現在)

石谷 治 東京工業大学大学院理工学研究科・教授

伊藤 攻 東北大学名誉教授

伊藤 繁 名古屋大学名誉教授

喜多村 昇 北海道大学大学院理学研究院・教授

工藤 昭彦 東京理科大学理学部応用化学科・教授

瀬戸山 亨 三菱化学(株)フェロー・執行役員兼(株)三菱化学科学技術研究センター合成技術研究所 所長

嶋田 敬三 首都大学東京大学院理工学研究科・客員教授

沈 建仁 岡山大学大学院自然科学研究科・教授

高木 克彦 (財)神奈川科学技術アカデミー・研究顧問兼有機系太陽電池評価プロジェクトリーダー

民秋 均 立命館大学大学院生命科学研究科・教授

堂免 一成 東京大学大学院工学系研究科・教授

藤田恵津子 Brookhaven National Laboratory 化学部門・Senior Chemist

真嶋 哲朗 大阪大学産業科学研究所・教授

宮坂 博 大阪大学大学院基礎工学研究科・教授

(参考) 件数はいずれも平成 26 年 12 月末現在

(1) 外部発表件数

	国内	国際	計
論文	5	141	146
口頭	329	135	464
その他	46	16	62
合計	380	292	672

(2) 特許出願件数

国内	国際	計
6	0	6

(3) 受賞等

- ・伊田進太郎
日本化学会 進歩賞(H27.1)
- ・嶋 盛吾

・ドイツ語圏日本学術振興会研究者同窓会賞 (H25. 4)

- ・梅名泰史
 1. 平成 24 年度日本光合成学会 特別賞 光と緑の賞
 2. 平成 23 年度日本結晶学会 進歩賞
- ・寺村謙太郎
 1. 2011 年度石油学会奨励賞(新日鉄化学賞)
 2. 2012 年度触媒学会奨励賞
- ・古谷祐詞
 1. 平成 24 年度分子科学研究奨励森野基金
 2. 第 6 回(2013 年度)分子科学会奨励賞

(3) 招待講演

国際 69件
国内 72件

別紙

「光エネルギーと物質変換」領域 事後評価実施 研究課題名および研究者氏名

(3年型)

研究者氏名 (参加形態)	研究課題名 (研究実施場所)	現職(平成27年1月末現在) (応募時所属)	研究費 (百万円)
梅名泰史 (兼任)	光化学系Ⅱ複合体の酸素発生反応の構造 化学的手法による原理解明 (岡山大学)	岡山大学大学院自然科学研究 科附属光合成研究センター・特 別契約職員准教授 (大阪大学蛋白質研究所・特任 研究員)	40
横野照尚 (兼任)	ナノコンポジット光触媒を用いた反応サイト 分離型 CO ₂ 固定化系の構築 (九州工業大学)	九州工業大学大学院工学研究 院・教授 (同上)	36
坂本雅典 (兼任)	新しい人工光合成系を目指したナノ粒子 超構造の構築 (京都大学)	京都大学化学研究所物質創製化 学研究系・助教 (筑波大学大学院数理物質科学 研究科・助教)	39
作田絵里 (兼任)	アリアルホウ素化合物による化学的光 エネルギー変換への展開 (長崎大学)	長崎大学大学院工学研究科・ 准教授 (北海道大学大学院理学研究院・ 特任助教)	35
佐藤俊介 (出向)	金属錯体の配位および配位子の機能を 利用した CO ₂ 還元触媒の創製 (豊田中央研究所)	(株)豊田中央研究所先端研究セン ター・研究員 (同上・副研究員)	27
寺村謙太郎 (兼任)	カーボンニュートラルエナジーイノベーシ ョンを目指した層状粘土化合物による 水中での二酸化炭素の光還元 (京都大学)	京都大学大学院工学研究科・ 准教授 (同上・講師)	38
古谷祐詞 (兼任)	様々な光エネルギー変換系における水分子 の構造・機能相関解明 (分子科学研究所)	分子科学研究所生命・錯体分子 科学研究領域・准教授 (同上)	39
松原康郎 (兼任)	光によって引き起こされるヒドリド移動反応 を利用したエネルギーポンプ系の構築 (神奈川大学)	神奈川大学工学部物質生命科学 科・特別助教 (米ブルックヘブン国立研究所 化学部門・博士研究員)	23
森本 樹 (兼任)	高効率な二酸化炭素還元を目指した新規 光触媒の創製 (東京工科大学)	東京工科大学コンピューターサイ エンス学部・講師 (東京工業大学大学院理工学研 究科・助教)	31

(5年型)

研究者氏名 (参加形態)	研究課題名 (研究実施場所)	現職(平成〇年3月末現在) (応募時所属)	研究費 (百万円)
石田 斉 (兼任)	ペプチド折り紙で創る二酸化炭素多電子 還元触媒 (北里大学)	北里大学大学院理学研究科・准 教授 (同上)	99
伊田進太郎 (兼任)	ナノ構造体の階層的構造制御による光機 能性材料の創製 (九州大学)	九州大学大学院工学研究院・准 教授 (熊本大学大学院自然科学研究 科・助教)	89

伊原正喜 (兼任)	蛋白質工学的アプローチによる高効率ギ 酸生産藻類の設計 (信州大学)	信州大学農学部生命物質科学 科・助教 (東京大学大学院工学系研究科・ 特任助教)	88
嶋 盛吾 (兼任)	[Fe]-ヒドロゲナーゼの活性中心鉄錯体の 生合成 (マックスプランク陸生微生物学研究所)	マックスプランク陸生微生物学 研究所・グループリーダー (同上)	46

研究報告書

「ペプチド折り紙で創る二酸化炭素多電子還元触媒」

研究タイプ：大挑戦型

研究期間：平成21年10月～平成27年3月(大挑戦・5年型)

研究者：石田 齊

1. 研究のねらい

光合成など生命活動は酵素のような高活性、高選択的な触媒の作用により支えられている。しかし、我々は未だに人工酵素を創ることに成功していない。人工酵素の創製は人工光合成のみならず人類にとって大きな挑戦である。分子レベルでの設計が可能な触媒として金属錯体触媒が挙げられるが、酵素系ではタンパク質鎖が触媒活性発現に重要な役割を示しているものの、我々はその作用を解析し理解している段階であり、人工酵素開発に利用できるレベルではない。それでも得られる成果の大きさから考えると、人工酵素創製のための様々なアプローチを試みる必要がある。

本研究では、“ペプチド折り紙”と名付けられた手法を用いて、人工光合成構築に資する機能性金属錯体開発を目指す。“ペプチド折り紙”とは、金属に配位可能な官能基をもつ非天然アミノ酸を組み込んだペプチドが、金属錯体を形成することによって折り畳み、人工的な高次構造をとることで機能を発現させることを目的としたペプチドの分子設計手法である。特に、2,2'-ビピリジンの5,5'位にアミノ基とカルボキシル基を有する5'-アミノ-2,2'-ビピリジン-5-カルボン酸(5Bpy)を非天然アミノ酸として組み込んだペプチドを合成し、その金属錯体の触媒活性を検討する。金属錯体の周囲にペプチド鎖が接続することにより、金属中心近傍の歪みが誘起される、金属錯体活性部位近傍に官能性アミノ酸側鎖が配置される、水素結合等の作用により反応中間体が安定化される、プロトン共役電子移動過程が促進されるなどの効果が期待される。本研究では特に、ルテニウム錯体を合成し、その二酸化炭素還元触媒能を電気化学的あるいは光化学的手法により検討する。また、ペプチド鎖導入により金属錯体に多様な官能基を導入できることから、人工光合成系への展開が可能なルテニウム-ペプチド錯体の合成を行う。

2. 研究成果

(1) 概要

本研究は、ビピリジン型非天然アミノ酸(5Bpy)を組み込んだペプチドを配位子とするルテニウム錯体を合成し、その光化学的CO₂還元触媒活性を検討することによって、高活性な錯体触媒の開発を目的とする。最終的には人工光合成系において利用可能な二酸化炭素多電子還元触媒の開発を目指す。

本研究では、研究テーマA「ルテニウムモデル錯体による光化学的CO₂還元触媒反応」として、光化学的CO₂還元触媒反応の評価系を確立するために、[Ru(bpy)₂(CO)₂]²⁺を触媒として、[Ru(bpy)₃]²⁺(bpy: 2,2'-ビピリジン)を光増感剤、1-ベンジル-1,4-ジヒドロニコチンアミド(BNAH)を電子源とする反応系を構築した。特に、溶媒には従来、加水分解によるギ酸生成の問題が指摘されていたDMFに代えて*N,N*-ジメチルアセトアミド/水系を溶媒に用いている。ペプチド錯体への展開のため、非対称ビピリジン配位子を用いても異性体を生じない

$trans(Cl)-Ru(bpy)(CO)_2Cl_2$ を触媒として用いたところ、触媒濃度に依存して生成物選択性 ($CO/HCOO^-$) が変化することを見出した。このことからギ酸生成が触媒二量体経路で生成する機構を提唱するとともに、二量体を形成しないようにピリジン配位子の 6,6' 位に嵩高い置換基を導入すると CO_2 を選択的に CO へ還元することを示した。次に研究テーマ B 「5,5' 位にアミド基を有する 2,2'-ピリジンを配位子とする $trans(Cl)-Ru(bpy)(CO)_2Cl_2$ 型錯体による光化学的 CO_2 還元触媒反応」において、ペプチドモデル錯体としてアミド錯体を系統的に合成し、アミド基の接続する向きが光化学的 CO_2 還元反応に及ぼす効果について検討した。その結果、接続するアミド基の向きやアルキル基の種類によってルテニウム錯体の還元電位がシフトし、還元電位が負側の錯体ほど触媒活性が高い傾向があることが示された。そして研究テーマ C 「非天然型アミノ酸を利用したルテニウム-ペプチド錯体による光化学的 CO_2 還元触媒反応と人工光合成への展開」として、ペプチド鎖内に電荷あるいは水素結合性アミノ酸側鎖を有するルテニウム錯体を新規に合成し、その光化学的 CO_2 還元触媒反応について検討した。その結果、触媒活性部位近傍(第2配位圏)に、特にアニオン性アミノ酸側鎖を導入した錯体が高い触媒活性を示すことを見出した。ペプチドは、様々な官能基を望む配列で導入、接続することができる。この利点を利用して、ルテニウム二核錯体、電子受容体-光増感部位-電子供与体が接続した三元錯体、光増感部位と触媒部位を連結したヘテロ二核錯体などを新規に合成し、その光反応性等を調べた。これらの分子設計手法は人工光合成への展開に貢献できるものと期待される。

(2) 詳細

研究テーマ A 「ルテニウムモデル錯体による光化学的 CO_2 還元触媒反応」

1. $[Ru(bpy)_2(CO)_2]^{2+}$ による光化学的 CO_2 還元触媒反応：評価系の確立

光化学的 CO_2 還元触媒反応の評価系を確立するために、 $[Ru(bpy)_3]^{2+}$ を光増感剤、1-ベンジル-1,4-ジヒドロニコチンアミド(BNAH)を電子源とする反応系を構築した(図1)。触媒として $[Ru(bpy)_2(CO)_2]^{2+}$ を用いると、 CO_2 が高効率で一酸化炭素(CO)およびギ酸($HCOO^-$)へと還元されることが見出された。ここで、溶媒には N,N -ジメチルホルムアミド(DMF)/水系が有効であることがわかったが、DMF は加水分解によりギ酸を生成する問題が指摘されていたため、本研究では代替溶媒を検討した。その結果、 N,N -ジメチルアセトアミド(DMA)/水系が触媒活性を低下せず、溶媒加水分解によるギ酸生成も見られないことが明らかとなった。また、BNAH の酸化生成物を追跡した結果、二量体が生成しており、BNAH が一電子ドナーとして作用しているとともに、 CO_2 と1:2で反応することを見出した[論文1]。

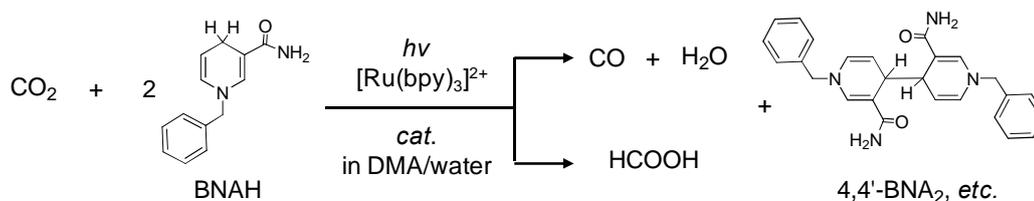


図1. ルテニウム錯体触媒による光化学的 CO_2 還元反応評価系。

2. *Trans*(Cl)-Ru(bpy)(CO)₂Cl₂による光化学的 CO₂還元触媒反応：反応機構に関する研究
 前項で確立した評価系を用いて、後述するペプチド錯体の親錯体である *trans*(Cl)-Ru(bpy)-(CO)₂Cl₂の光化学的 CO₂還元触媒活性について検討した。特に触媒濃度依存性を検討したところ、低濃度条件(5.0 μM)では触媒回転数(TON)が約4000に達した。このような低濃度条件は触媒反応が律速過程となることから、触媒活性評価には適した条件である。しかし同時に、生成物選択性(CO/HCOO⁻)が触媒高濃度条件下より向上することが明らかとなった。このような触媒濃度依存性を説明するために、触媒二量体がギ酸生成の触媒となる新しい反応機構を提唱し(図2)、反応速度論解析および光量依存性の結果などが支持することを示した。

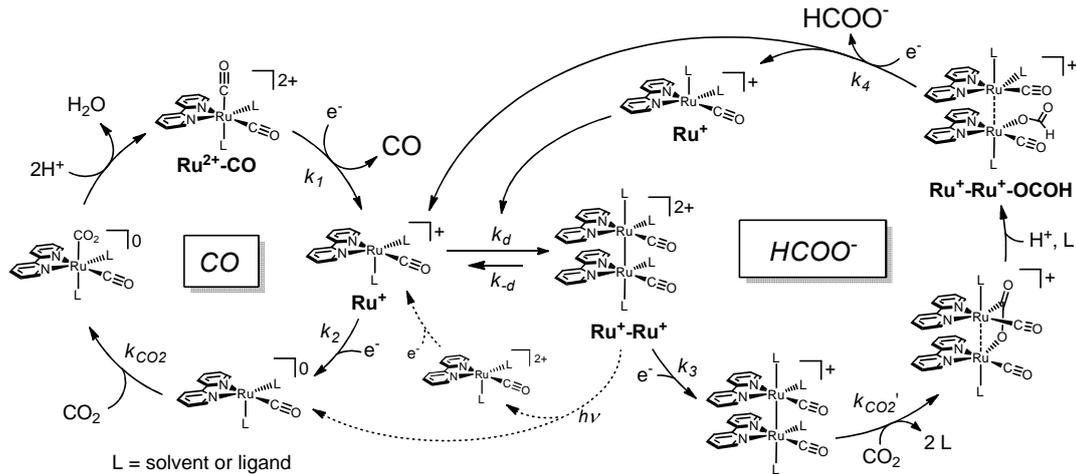


図2. ルテニウムダイマーを経由する光化学的 CO₂還元触媒反応機構。

3. 6,6'位にかさ高い置換基を有する新規な *trans*(Cl)-Ru(bpy)(CO)₂Cl₂型錯体の合成と光化学的 CO₂還元触媒反応

前項で提案した反応機構に基づいて、配位子の 6,6' 位にかさ高い置換基を導入することにより二量化できない錯体を合成し、その光化学的 CO₂還元触媒活性を調べたところ、ブランク反応によるギ酸生成を除くと、ほぼ選択的に CO を生成する触媒を開発することが出来た。

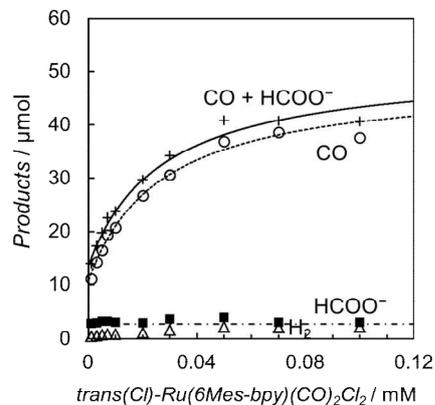
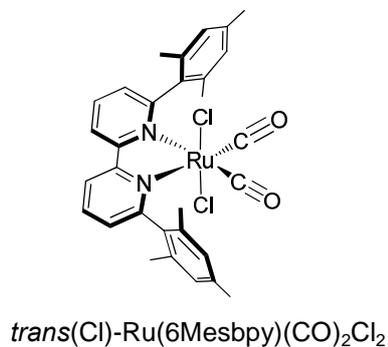


図3. 6,6'位にかさ高い置換基を有する新規ルテニウム錯体と光化学的 CO₂還元反応(光照射5分)における触媒濃度依存性：CO(O)、HCOOH(■)、CO+HCOOH(+)、H₂(△)生成。

4. ルテニウム-CO₂ 付加錯体の XAFS 測定

[Ru(bpy)₂(CO)₂]²⁺ は水酸化物イオン(OH⁻)がカルボニル基を求核攻撃することによりカルボン酸錯体を与え、さらに脱プロトン化することにより CO₂ 付加錯体を生成することが知られている。しかし、CO₂ 付加錯体の電子が溶液中、CO₂ 配位子側に局在化しているのか、ルテニウム金属中心あるいはビピリジン配位子側に局在化しているのかは、まだはっきりとはわかっていない。本研究では、溶液中の XAFS 測定を行うことにより、少なくともカルボン酸錯体の段階では電子は CO₂ 配位子側に局在化していることを示す結果を得た。

研究テーマ B 「5,5' 位にアミド基を有する 2,2'-ビピリジンを配位子とする *trans*(Cl)-Ru(bpy)-(CO)₂Cl₂ 型錯体による光化学的 CO₂ 還元触媒反応」

1. 非対称ビピリジン配位子を有する *trans*(Cl)-Ru(bpy)(CO)₂Cl₂ 型錯体の合成: *trans*→*cis* 異性化連鎖反応

本研究ではビピリジン型非天然アミノ酸 **5Bpy** を導入したペプチドを配位子とするルテニウム錯体の触媒活性を評価するが、このような非対称配位子は錯体化の際、一般的には複数の構造異性体を生じる。そこで、非対称二座配位子に対して単一の構造しか生じない *trans*(Cl)-Ru(bpy)(CO)₂Cl₂ 型錯体を選択した。この研究の過程において、*trans*(Cl)-Ru(bpy)-(CO)₂Cl₂ が少量の還元剤存在下で異性化反応を起こすことを見出し、同反応が連鎖反応により進行することをつきとめた(図4(a)) [論文4]。また、このような異性化反応が起こらない温和な条件で反応を行うことにより、非天然アミノ酸誘導体 Ac-**5Bpy**-NHMe を配位子とするアミド錯体の合成を行い、X 線結晶解析によりその構造を明らかにした(図4(b))。

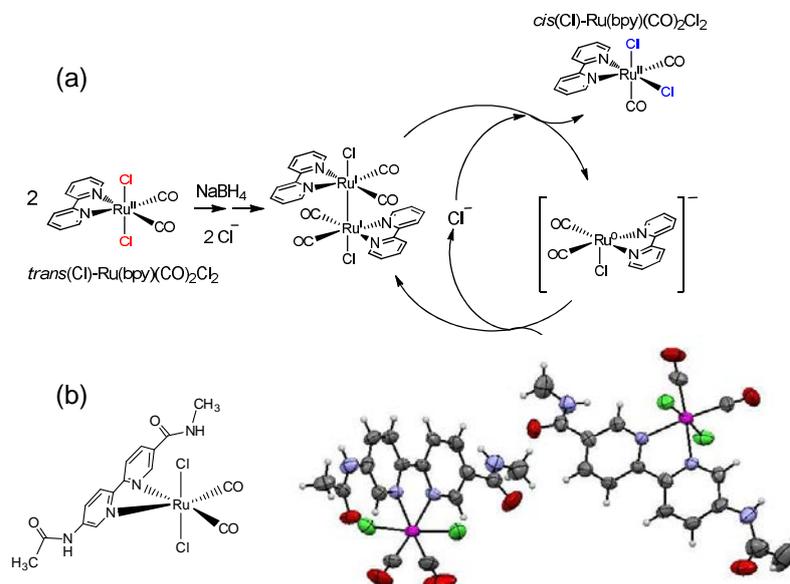


図4. (a) 還元剤により引き起こされる *trans*→*cis* 異性化連鎖反応機構、
(b) *trans*(Cl)-Ru(Ac-**5Bpy**-NHMe)(CO)₂Cl₂ の X 線結晶構造.

2. 5,5'位にアミド基を有する $trans(Cl)-Ru(bpy)(CO)_2Cl_2$ 型錯体による光化学的 CO_2 還元触媒反応

前項で得られたアミド錯体を触媒として、光化学的 CO_2 還元反応を行った。2,2'-ビピリジン配位子の 5,5' 位に接続したアミド基は、錯体の電子状態に大きく影響し、接続する向き ($-N(H)COR$ or $-C(O)NHR$)によりその還元電位が異なるだけでなく、導入したアルキル基の嵩高さの違いによりアミド基が配位子平面からねじれることによって、ルテニウム錯体の還元電位が異なることが示された。触媒活性はルテニウム錯体の還元電位に依存し、還元電位が負側にシフトするほど活性が高くなる傾向が観測された(図5)。最も還元電位が負側の AcNH-5bpy 錯体は活性が低下したが、このことは光増感剤から電子を受け取りにくくなったためだと考えられる。

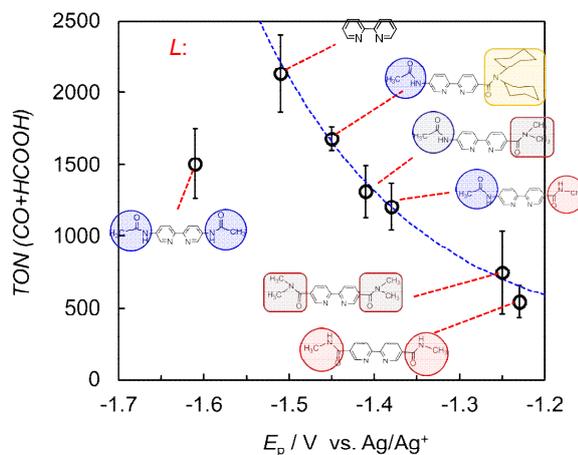
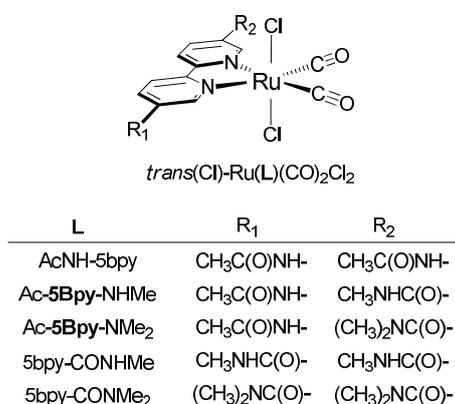


図5. ルテニウム-アミド錯体の還元電位と光化学的 CO_2 還元触媒活性との相関。

研究テーマ C 「非天然型アミノ酸を利用したルテニウム-ペプチド錯体による光化学的 CO_2 還元触媒反応と人工光合成への展開」

1. ルテニウム-ペプチド錯体による光化学的 CO_2 還元触媒反応： 活性部位近傍アミノ酸側鎖の効果

ルテニウム錯体の活性部位近傍に、電荷あるいは水素結合性アミノ酸側鎖を導入した $trans(Cl)-Ru(bpy)(CO)_2Cl_2$ 型ペプチド錯体の合成を行った。ペプチド鎖にそのようなアミノ酸を導入した場合、これらの側鎖が金属配位能を有するために望みの錯体を得ることが難しい。そこで、ルテニウムソースと反応させる際には側鎖を保護した保護ペプチドとし、錯体化後に脱保護することを試みたところ、脱保護過程においてもルテニウム錯体は安定であり、望みの錯体を得られることが明らかとなった。これらのアミノ酸側鎖は金属錯体の第2配位圏に存在し、金属錯体の電子状態にはほとんど影響しない。実際、各錯体の還元電位を測定したところ、いずれの錯体もほぼ同様の還元電位を示し、これらのアミノ酸側鎖の違いが電子状態に影響していないことが明らかとなった。しかしながら、光化学的 CO_2 還元触媒反応を行い、その反応初速度を検討したところ、導入アミノ酸の種類に大きく依存し、特にアニオン性側鎖のときに高活性であることが明らかとなった(図6)。このことは、電荷を有するアミノ酸側鎖が活性中心の近傍に存在することによって、触媒サイクル中のプロトン共役電子移動過程が加速されたため

だと考えられる。

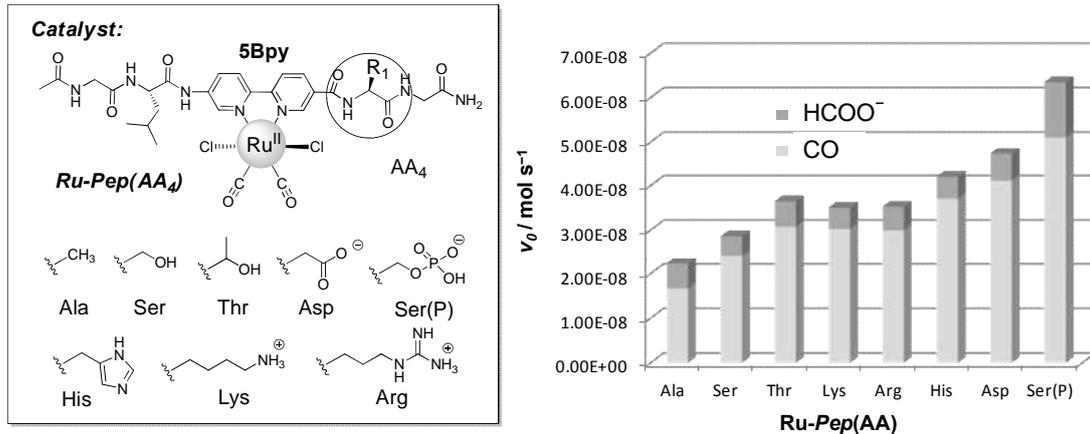


図6. ルテニウム-ペプチド錯体と光化学的 CO₂ 還元触媒活性.

2. ルテニウム-ペプチド二核錯体の合成と光化学的 CO₂ 還元触媒反応

ペプチド鎖を配位子とすることによって、様々な機能性ユニットを接続することができる。ここでは *trans*-(Cl)-Ru(bpy)(CO)₂Cl₂ 型錯体をペプチド鎖で連結した二核錯体を合成した(図7)。興味深いことに、光化学的 CO₂ 還元触媒活性は二つのルテニウム錯体を接続する架橋部位の配列に依存した。異なるターン構造をとることが期待されるペプチド配列を用いたが、フレキシブルな配列より、折り畳むことで二つのルテニウム錯体が近接する方がより高活性な傾向が見られた。

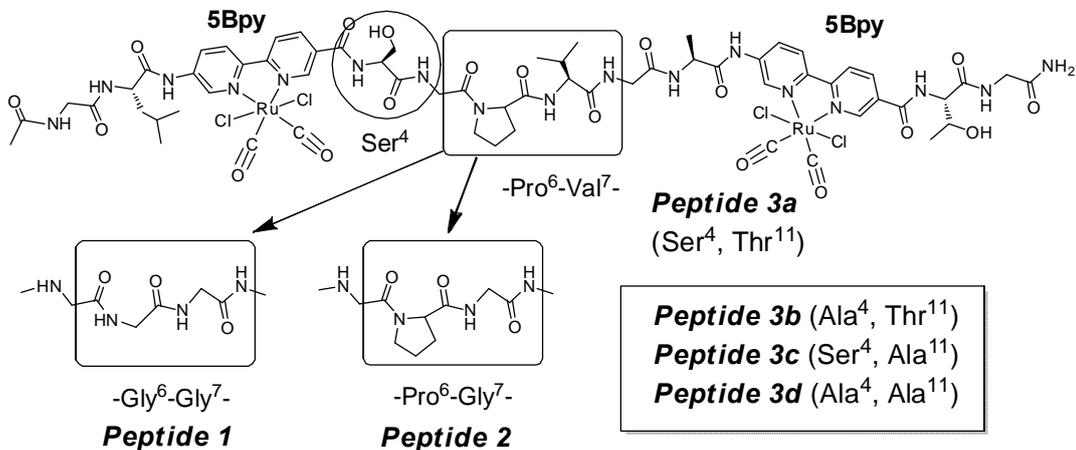


図7. 5Bpy を導入したペプチドを配位子とするルテニウム二核錯体.

3. 電子移動方向を制御したルテニウム-ペプチド錯体の合成

人工光合成の一つの形として、水の酸化触媒系と二酸化炭素還元触媒系を光増感部位で接続し、水から奪った電子を用いて二酸化炭素を還元する光触媒系が挙げられる(図8(b))。このようなシステムを構築するためには、光増感部位に 2 つの異なる系を接続するとともに、電子移動の方向を制御する必要があるが、合成は必ずしも容易ではない。一方、ペプチドには方向があり、様々な異なるユニットを望む順に配列することが可能である。そこでピピリジン

型非天然アミノ酸 **5Bpy** を利用して、電子ドナーとしてチロシン残基、電子アクセプターとしてピオローゲンを接続したルテニウムトリス(ビピリジン)型錯体を合成した(図8(a))。まずペプチド鎖を合成し、そこに *cis*-Ru(bpy)₂Cl₂ を配位させることにより、目的錯体を得た。本研究では、ルテニウム錯体からピオローゲンへの電子移動が高速で起こることを見出した。このような方向性をもった電子伝達系は、人工光合成系を構築する上で重要であり、非天然アミノ酸を導入したペプチドを利用する分子設計は有用であると期待される[論文5]。

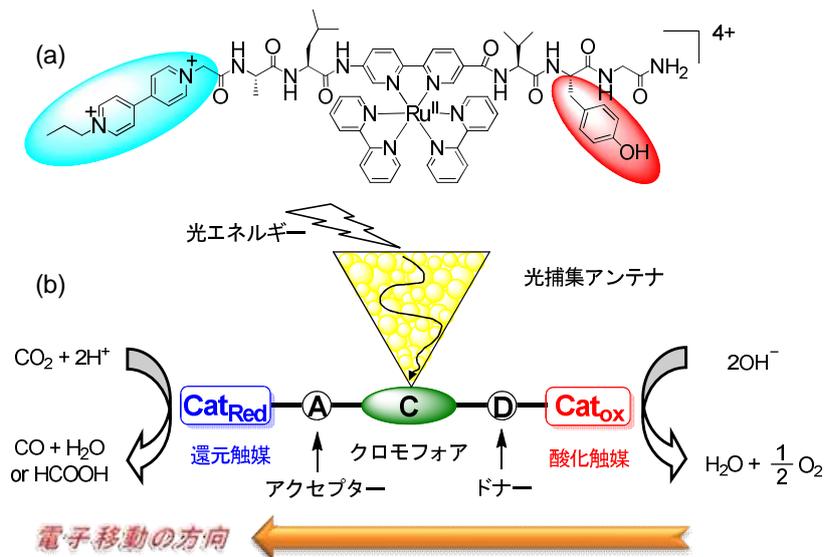


図8. (a) ペプチド鎖を用いて電子移動の方向を制御した電荷分離型ルテニウム錯体の分子設計と、(b) 人工光合成の模式図。

4. 光増感剤-触媒部位を連結したルテニウム-ペプチド錯体の合成

人工光合成構築のために最も重要と考えられる光増感部位と触媒部位を連結したヘテロ二核錯体についても、合成可能である。ここではルテニウムトリス(ビピリジン)錯体をユニットとする非天然アミノ酸を別途合成し、ペプチド合成に直接導入した。リンカー部分のアミノ酸構成数や配列を変化させることにより、逆電子移動を抑えた光触媒系を構築することが期待される(図9)。

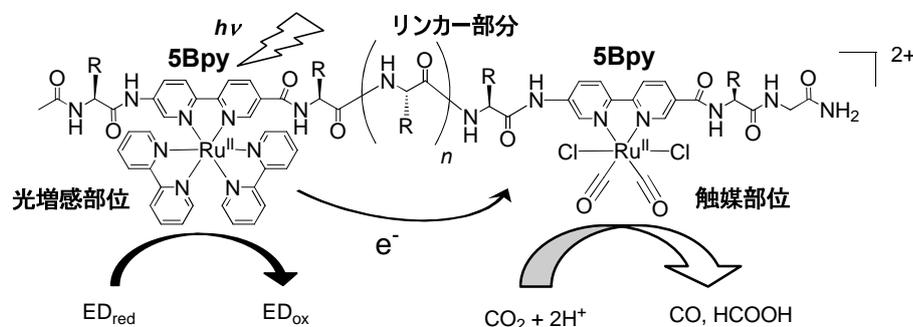


図9. 光増感部位と触媒部位を連結したヘテロルテニウム二核錯体。

3. 今後の展開

本研究では、非天然アミノ酸を導入したペプチドを配位子とするルテニウム錯体を合成することによって、金属錯体触媒の活性を向上、制御することに成功した。今後は引き続き、様々な配列のペプチド錯体の触媒活性を検討することによって、活性構造相関に関する情報を得るとともに、人工光合成系の構築を目指して、水の酸化触媒系との連携による水を電子源とする光化学的二酸化炭素還元系を検討したい。特に、光半導体触媒の還元末端としての応用を検討したいと考えている。

4. 評価

(1) 自己評価

(研究者)

本研究を通して、研究開始前には合成できなかった電荷あるいは水素結合性アミノ酸側鎖を導入したルテニウム-ペプチド錯体の合成法を確立した。また、ペプチド鎖を配位子とすることにより、異なる機能ユニットを自在に配列、接続できることを、いくつかの合成例を示すことによって証明できたと考えている。特に、触媒活性部位近傍に様々な官能基を導入することにより、ルテニウム錯体の光化学的 CO₂ 還元触媒活性が向上することを見出したことは、当初の研究目的の一部を達成した成果である。またこの手法は、従来の電子状態を制御する触媒分子設計とは異なり、人工酵素開発にもつながる新しい手法であり、今後、分子触媒開発に大きく貢献することが期待できる。

(2) 研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

(研究総括)

本研究は、Ru錯体によるCO₂還元、および「ペプチド折り紙」などについての石田博士等の先駆的業績を基礎に、高効率CO₂光還元系の開発をめざして提案されたものである。非天然型ペプチドを化学反応場とする取り組みは、基礎科学の視点のみならず、CO₂還元に限定したとしても、直接の光化学還元、電気化学還元、あるいはヒドリド化合物を電子源、水素源とする暗反応触媒還元など様々な展開する可能性を秘めている。人工酵素の視点からも極めて挑戦的な研究課題でもある。このような大きい期待が持たれる一方で、短期間での研究展開には多くの困難さが伴うことが容易に予想されたことから大挑戦プログラムとして採択された。研究開始当初には、研究設備の整備、金属錯体配位子合成などをはじめ解決すべき課題があったが、若干の誘導期間を経て、配位子中間体合成の目途がついた後、漸くペプチド合成とそれらの錯体合成が可能になった。研究開始初期の困難さを考慮したとしても、当初3年間の研究展開は決して満足すべきものとは言い難い状況であった。モデル錯体の研究にとどまることなく、いっそう意欲的に多種類の非天然型アミノ酸を有するポリペプチドを合成し、ペプチド折り紙型の錯体合成とそのキャラクタリゼーション、光反応検討などの研究展開が望まれた。研究ペースから見て多くの取り組みが計画倒れに終わる懸念すらあり得たことから一層の集中した研究努力が望まれた。しかし、研究開始後4年次、5年次に至り、本来目指していたペプチド折り紙モデル錯体以外の親錯体系でのCO₂光還元でCOとギ酸の生成物選択性が触媒濃度により変化するという興味深い現象を見出している。単核錯体と二核錯体がそ

それぞれ異なる生成物を与えることや配位環境の立体要因が生成物選択性の要因となることも明らかにしたことは、金属錯体による CO₂ 還元機構の解明に資する結果と言える。他にも非天然型ペプチド置換配位子を有する Ru 錯体の反応性の変化などの興味深い結果も得つつある。一方、本来の大挑戦プログラムの主題であったペプチド折り紙錯体については、まだペプチド鎖長は短いものの漸く多種類を合成することができる状況になった。一連のペプチド型配位子を有する Ru 錯体を用いることにより CO₂ 還元反応性が、直接 Ru 錯体部分の電子状態に影響を与えない第二配位圏の置換基の変化で大きく変化することを見出している。つまり、反応中心を取り巻く微小環境の効果を観測できた可能性が高いと推察される結果を得つつあることは光明であり、本来のペプチド折り紙効果に切り込む糸口となる可能性がある。さきがけ研究が終了後も継続してこの挑戦的課題に取り組み、一層の加速度的研究展開を期待したい。

5. 主な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

- | |
|--|
| 1. Y. Kuramochi, M. Kamiya, H. Ishida, "Photocatalytic CO ₂ Reduction in <i>N,N</i> -Dimethylacetamide/Water as an Alternative Solvent System", <i>Inorg. Chem.</i> , 2014 , <i>53</i> , 3326–3332. |
| 2. W. B. Wilson, K. Stark, D. B. Johnson, Y.-X. Ren, H. Ishida, D. L. Cedeño, L. F. Szczepura, "Photophysical Properties of a Series of Rhenium Selenide Cluster Complexes Containing Nitrogen Donor Ligands", <i>Eur. J. Inorg. Chem.</i> , 2014 , 2254–2261. |
| 3. G. Rama, A. Ardá, J.-D. Maréchal, I. Gamba, H. Ishida, J. Jiménez-Barbero, M. E. Vázquez, M. V. López, "Stereoselective formation of chiral metallopeptides", <i>Chem. Eur. J.</i> , 18 , 7030–7035 (2012). |
| 4. Y. Kuramochi, Y. Ito, H. Ishida, "Chain Reaction for Isomerization from <i>trans</i> (Cl) to <i>cis</i> (Cl)-Ru(bpy)(CO) ₂ Cl ₂ (bpy = 2,2'-Bipyridine) Induced by NaBH ₄ ", <i>Eur. J. Inorg. Chem.</i> , 2012 , 1167–1170 (2012). |
| 5. Y. Shiina, S. Oishi, H. Ishida, "Synthesis of ruthenium tris(2,2'-bipyridine)-type complexes tethered to peptides at 5,5'-positions", <i>Tetrahedron Lett.</i> , 53 , 1249–1252 (2012). |

(2) 特許出願

該当なし

(3) その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

主要な学会発表

1. Hitoshi Ishida, "Peptide Origami: A New Category in Coordination Chemistry" (海外、招待講演) 16th Malaysian Chemical Congress (16MCC) 2010, Putra World Trade Centre, Kuala Lumpur, Malaysia (October 12 – 14, 2010).
2. Hitoshi Ishida, Yoshimi Shiina, Yu-ya Takasugi, and Shigero Oishi, "Photofunctions of Novel Ruthenium Complexes Synthesized Based on 'Peptide Origami'" (海外、招待講演) The Construction of Photofunctional Supramolecular Metal Complexes (#94) in 2010

International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (PACIFICHEM2010), Rainbow III (Hilton), Honolulu, Hawaii, USA (December 15 – 20, 2010).

3. Hitoshi Ishida, Yusuke Kuramochi, “Peptide Origami: Molecular Design, Synthesis and Application of Novel Ruthenium–Peptide Complexes” (海外、招待講演), XXIV. International Conference on Coordination and Bioinorganic Chemistry (ICCBIC)(第 24 回配位および生物無機化学国際会議), Smolenice, Slovakia, 2013 年 6 月 6 日.
4. Hitoshi Ishida, “Photocatalyzed CO₂ Reduction System Designed by Novel Ruthenium–Peptide Complexes” (海外、招待講演), 9th Korea–Japan Symposium on Frontier Photoscience 2013, Seoul National University, Seoul, Korea, November 24–27, 2013.
5. Hitoshi Ishida, “Why does not artificial photosynthesis belong to synthetic biology?” (海外、招待講演), Swiss–Japanese Chemical Biology Symposium 2014, University of Bern, Bern, Switzerland, October 2 – 3, 2014.

主な著作物

1. 石田 斉、「人工光合成研究における二酸化炭素還元反応の現状とペプチド折り紙の挑戦」化学工業、Vo. 63, No. 9, pp. 675–680 (2012)、化学工業社.
2. 石田 斉、「第 2 節 ルテニウムポリピリジル錯体触媒による CO₂ 還元反応と人工光合成への応用」、人工光合成 実用化に向けた最新技術 ～水素利用・有機物合成・エネルギー・CO₂ 還元～ 第 3 章 CO₂ 固定化および有機物の合成に関する人工光合成技術 ～CO₂ 固定化・還元系および用いられる分子・触媒・錯体の開発～、p. 123–131 (2013 年)、情報機構.
3. 石田 斉、「「ペプチド折り紙」で目指す人工光合成」、日本化学会生体機能関連化学部会 News Letter, Vol. 27, No. 4, pp. 3–6 (2013).
4. Hitoshi Ishida, Yusuke Kuramochi, “Peptide origami: molecular design, synthesis and application of novel ruthenium–peptide complexes”, pp. 147–155, New Trends in Coordination, Bioinorganic, and Applied Inorganic Chemistry, pp. 147–155 (2013).
5. 石田 斉、「第 2 節 ルテニウム錯体を利用した人工光合成システムの構築」、『生体模倣技術と新材料・新製品開発への応用』第 3 章 生物、自然のもつ優れた仕組み、システムとその模倣による製品開発、p. 277–285、(2014) 情報機構.

研究報告書

「ナノ構造体の階層的構造制御による光機能性材料の創製」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成 21 年 10 月～平成 27 年 3 月

研究者: 伊田 進太郎

1. 研究のねらい

太陽光エネルギーを利用して水から水素を得る試みは、クリーンなエネルギー製造技術として期待される分野の一つである。物質の光吸収によって生成する電子やホールは酸化・還元力を利用して水を水素と酸素に分解する方法としては、半導体(光触媒)粒子と水の混合溶液に光を照射する手法や、光電気化学的手法などがある。高効率の光触媒を開発するための材料設計方針としては、高表面積かつ高い結晶性を持つ材料の合成が必要である。その他、再結合や逆反応を防ぐため光酸化・還元サイトを分離することも重要な設計方針の一つである。本研究では、このような材料設計を可能にする材料として二次元の結晶構造を持つナノシートという材料に注目して新しい光エネルギー変換材料の開発を目指した。ナノシートは厚さ 1nm 程度、四方の大きさが数百 nm の広さを持つ表面アモルファス層がない単結晶であるため、光励起したキャリアなどが再結合しにくく、優れた光触媒の開発につながる可能性がある。さらに、異種ナノシート積層構造により pn 接合を作製できれば、接合間に生じた電位勾配を駆動力として光酸化サイトと光還元サイトを空間的に分離できるため、再結合や逆反応を抑えることができる。その他、ナノシートを用いると通常のバルク触媒では難しかった光触媒の活性中心の直接観察や反応場となる表面の結晶構造を具体的に決定することができるため、計算化学を利用することで光触媒反応の経路を分子サイズで精度よく考察できる可能性がある。しかしながら、本研究計画を提案した当初は、可視光を利用できるナノシート光触媒の種類はまだ十分とは言えない状況であった。そのため、本研究では紫外線から可視光までの広い領域に应答する、様々なタイプの半導体ナノシートの作製法を開発し、光エネルギー変換に利用できるナノシートのライブラリを拡大するとともに、開発したナノシートを精密に積層したナノシート pn 接合型光触媒等の開発を目指した。また、ナノシートの形状を活かして、これまで良くわからなかった光触媒の活性中心の直接観察や反応中心の役割等の解明も目的とした。その他、将来的に光触媒の実用化を考慮した場合、触媒の価格は非常に重要であるため、本研究では材料として、豊富かつ安価な鉄やカルシウムを主成分とした光エネルギー変換材料の開発も同時に目指した。

2. 研究成果

(1) 概要

本研究の第一の成果としては、紫外線から可視光までの広い領域に吸収をもつ半導体ナノシートの開発に成功し、二次元ナノ結晶に特徴的な光触媒の設計方針を提案した。例えば、ナノシートの形状を活かせる光触媒として、Rh-ドーピング $\text{Ca}_2\text{Nb}_3\text{O}_{10}$ を開発した。このナノシートの出発層状酸化物である Rh-ドーピング $\text{KCa}_2\text{Nb}_3\text{O}_{10}$ の水の光還元による光触媒的水素生成の活性は非常に低いが、ナノシートへの剥離によりその活性が大きく向上することを見出した(量子効率 65% @ 300nm)。この結果は単原子ドーピングサイトが光触媒の活性点となっていることを示唆しており、助触媒担持を必要としない新しい水分解光触媒の設計概念を提案した。その他、可視光照射下で水分解に活性を示すシートとして、N-ドーピング $\text{AE}_2\text{B}_3\text{O}_{10}$ (AE:Ca, Sr Ba, B:Nb, Ta) ナノシートの合成にも成功している。また、p 型と n 型のシートを張り合わせた薄さ 1.7nm のナノシート pn 接合が光エネルギー変換素子として作動することを実証した。これまでナノ半導体を光エネルギー変換に用いる場合、ナノ粒子を接合させても、空乏層を形成するための空間的スペースが無く、接合間で電荷分離をもたらす十分な電位勾配が形成されないため、ナノレベルの pn 接合は光エネルギー変換素子として利用できないという指摘もなされていたが、本研究により少なくとも光触媒反応においてはそのような動作限界膜厚は存在しないことが示された。その他、光機能を発現する中心元素の直接観察にも挑戦した。Rh をチタニアナノシート内にドーピングすると水分解水素生成の活性が向上する。実際、電子顕微鏡で格子内に Rh がドーピングされていることを確認し、DFT 計算により Rh のドーピング効果を調べたところ Rh サイトでは安定して水が解離することが示された。つまり、助触媒サイトの効果は反応場の提供だけでなく、水の吸着の状態の安定化にも寄与している可能性が示された。半導体表面における水分解の反応過程は複雑であり不明瞭な点が多いが、反応中心がドーピングされたナノシートをモデル構造に用いることで計算の精度が向上すると期待している。その他、鉄やカルシウムを主成分とした CaFe_2O_4 と TiO_2 電極を用いた無バイアス水分解にも成功し、豊かかつ安価な元素を主成分とした材料からも人工光合成システムの開発が可能であること実証した。

(2) 詳細

2-1. ナノシート光触媒の開発

研究背景: 光触媒粒子内部で励起されたキャリアが反応するためには表面まで移動する必要がある。しかしながら、触媒粒子内に欠陥サイトがあると、励起キャリアは表面へ移動する途中で欠陥サイトに補足されやすい。そのため、触媒の粒径を小さくすることで、表面への移動距離を短くする工夫や、結晶性を高くするなどして格子欠陥を減らすなどの方法が検討されてきた。本研究で注目しているナノシートは厚さ 1nm の単結晶であり、光触媒として非常に理想的な材料であると考えている。また、光触媒の活性を向上させるには助触媒を触媒表面上に担持する必要がある、この担持方法によっても触媒活性に大きな変化が生じる。これは、助触媒が水分解をする活性サイトとして働き、また電荷分離を促進しているためであると考えられる。その他、触媒活性を向上させる別のアプローチとしては、触媒内の電子濃度を制御する(電子濃度を低くする)方法が検討されている。例えば、Zr を Ta サイトにドーピングした KTaO_3

は、ノドープのものよりも活性が劇的に向上する。これは、Zrドープによって n 型半導体である KTaO_3 中の電子密度(欠陥濃度)が、減少し移動度が向上したためであると考えられる。また、光触媒内に遷移金属をドープすることで電荷密度は変化するが、可視光応答する場合もある。Rh をドープした SrTiO_3 は Rh が不純物準位として生じ、新たな価電子帯が生じる。こうすることで、元々 3.2 eV であったバンドギャップが、2.4 eV まで狭まることが報告されている。しかし、これらの遷移金属は一般的に助触媒として働かないことがわかっている。これは、ドープされた遷移金属の多くは表面近傍に存在しておらず、触媒内部に存在しているため、水と接触する機会が無いためである。一方、ナノシートはその薄さから構成原子の多くは表面近傍に存在していることから、ドープをすることで、遷移金属が助触媒としてはたらく可能性がある。そこで、本研究では水素生成側の助触媒として知られている RhO_x を結晶中にドープした(Nb サイトにドープ) $\text{Ca}_2\text{Nb}_{3-x}\text{Rh}_x\text{O}_{10}$ ナノシートを作製し、光触媒活性がどのように変化するか調査した。また、酸化物ナノシートは紫外線照射下で高活性であることが知られている一方で、可視光に反応するナノシートは殆ど報告されていない。そこで、窒素ドープした層状酸化物を剥離することで、可視光に吸収を持つ酸窒化物ナノシートを作製することを検討した。その他、ナノシート内部の光機能中心となる元素の直接観察等を実施することで、光触媒の反応機構における助触媒の役割について考察した。その結果、下記の 5 つナノシート光触媒に関する研究で新しい知見を得ることができた。

- 2-1-1. 助触媒担持フリーのナノシート光触媒(Rh-doped $\text{Ca}_2\text{Nb}_3\text{O}_{10}$)の開発
- 2-1-2. 窒素ドープ酸化物ナノシート光触媒の開発
- 2-1-3. p 型半導体ナノシートの開発
- 2-1-4. Tb^{3+} -ドープ $\text{Ca}_2\text{Ta}_3\text{O}_{10}$ ナノシート光触媒の開発
- 2-1-5. 光触媒中心の直接観察

以下各テーマについて成果を報告する。

2-1-1. 助触媒担持フリーのナノシート光触媒(Rh-doped $\text{Ca}_2\text{Nb}_3\text{O}_{10}$)の開発

Rh-ドープ $\text{Ca}_2\text{Nb}_3\text{O}_{10}$ ナノシートはナノシートならではの光触媒特性を示すことを見出した。このナノシートの出発層状酸化物である Rh-ドープ $\text{KC}_2\text{Nb}_3\text{O}_{10}$ の水の光還元による光触媒的水素生成の活性は非常に低いが、ナノシートへの剥離によりその活性が大きく向上することを見出した(図 1)。これは表面積が向上した効果ではなく、ドープした Rh が水の光還元反応サイトとして働くことによる寄与が大きい。層状体では多くのドープされた Rh は結晶内部に存在するため、水の還元反応に直接関与できないが、剥離が起こると多くのドープサイトが表面に露出し反応に直接関与できる環境になる。このとき、Rh サイトが水の光還元の助触媒のような機能を果たすため活性が向上すると考えられる。実際、Rh をドープしていない $\text{KC}_2\text{Nb}_3\text{O}_{10}$ から剥離し

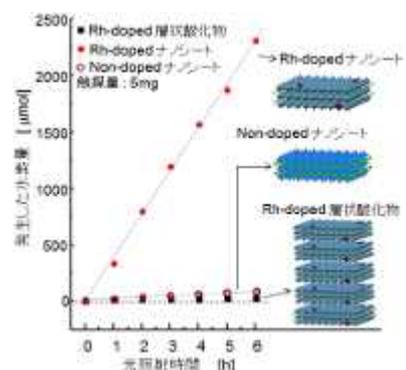


図 1. Rh-doped $\text{Ca}_2\text{Nb}_3\text{O}_{10}$ シートの光触媒反応に基づく光水素生成量の時間依存性。

たナノシートでは大きな光触媒活性の向上は得られない。この結果は Rh ドープサイトのよ
 うな、単原子ドープサイトが光触媒の活性点となっていることを示唆しており、助触媒担持を必
 要としない新しい水分解光触媒の設計概念になり得る。

2-1-2. 窒素ドープ酸化物ナノシートの開発

これまで開発したナノシートは紫外光にのみ応答するため、可視光照射下でも光触媒として機能する窒素ドープ酸化物ナノシートの合成を検討した。窒素ドープ酸化物ナノシートの報告はこれまでに殆どなかったため、まず、ナノシートの出発物質である、窒素ドープ層状酸化物の合成方法を検討した。その結果、層状構造をもつ酸化物である、 $\text{KCa}_2\text{Nb}_3\text{O}_{10}$ や $\text{CsCa}_2\text{Ta}_3\text{O}_{10}$ をアンモニア気流中、 800°C で熱処理することで、層状酸窒化物($\text{KCa}_2\text{Nb}_3\text{O}_{10-x}\text{N}_y$ や $\text{CsCa}_2\text{Ta}_3\text{O}_{10-x}\text{N}_y$)を合成することに成功した。 $\text{KCa}_2\text{Nb}_3\text{O}_{10-x}\text{N}_y$ は黒色、 $\text{CsCa}_2\text{Ta}_3\text{O}_{10-x}\text{N}_y$ はオレンジ色を示し、作製した層状化合物中の窒素量を HNO 分析装置で確認すると窒素量は酸素量に対して 2~3%であった。窒素含有量は一般的な酸窒化物と比較して少なく、窒素ドープされた層状酸化物であると考えられることもできる。また、窒化処理後の X 線回折パターンは出発の層状酸化物と同じであり、この窒化反応は構造変化を伴わないことが明らかとなった。また、窒化処理前後の層状酸化物結晶の SEM 観察により、処理前後で結晶形状が変化していないことも確認している。図 2 は作製した分散溶液、原子間力顕微鏡像と高さ断面プロファイルであり、目的とするタンタル系酸窒化物ナノシートを合成することに成功

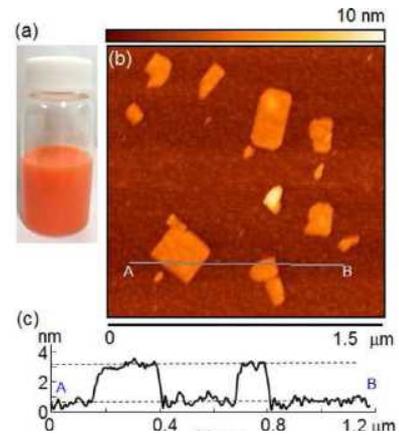


図 2 $\text{Ca}_2\text{Ta}_3\text{O}_{9.7}\text{N}_{0.2}$ ナノシートの分散溶液(a)、原子間力顕微鏡像(b)、と高さ断面プロファイル

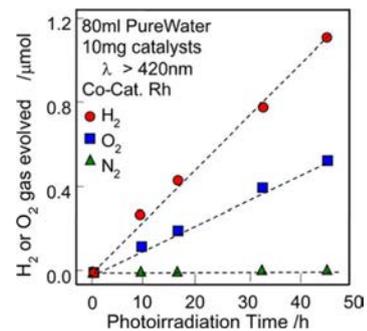


図 3 $\text{Sr}_{1.5}\text{Ba}_{0.5}\text{Ta}_3\text{O}_{9.7}\text{N}_{0.2}$ ナノシートの純水中可視光下での光触媒活性

した。 $\text{Ca}_2\text{Ta}_3\text{O}_{9.7}\text{N}_{0.2}$ ナノシートの光触媒活性は非常に低く、可視光照射下で水の完全分解を達成することはできなかった。そこで、ナノシートのペロブスカイト構造の A site を Ca ではなく、Sr、Ba に置換し、A site の元素の最適化を行ったところ、 $\text{Sr}_{2-x}\text{Ba}_x\text{Ta}_3\text{O}_{9.7}\text{N}_{0.2}$ ナノシートが高い活性を示した。このナノシートに Rh_2O_3 を光担持して光触媒活性を評価したところ、可視光照射下で水の完全分解を達成している(図 3)。

2-1-3. p 型半導体ナノシートの開発

n 型半導体特性を示すナノシートは比較的多く報告があるが、p 型半導体特性を示すシートは殆どない。そこで本研究では、p 型半導体特性を示す NiO ナノシートの開発を目指した。P 型ナノシートの合成が可能になれば、ナノシート pn 接合などの作製も可能になる。作製方法のアプローチとしては、水酸化ニッケルナノシートを経由した方法を検討し、(111)配向した NiO ナノシート膜が作製できることを発見した。以下にその概要を報告する。作製した水酸化ニッケルナノシートを 400°C 1 時間大気中で熱処理して NiO ナノシートを作製した。図 4a, b に

NiO_ns 単層膜 AFM 像とその拡大図と高さ断面プロフィールを示す。AFM 測定により見積もられた NiO ナノシートの高さは 0.3-0.4nm であった。図 4c, d に NiO ナノシート膜(7 層)の AFM 像と FE-SEM 像を示す。熱処理後もナノシートは密にしきつまっており、ナノシートの六角形形状も維持していることがわかった。図 5a に Ni(OH)_{2-x} ナノシート分散溶液を遠心分離して得られたナノシート沈殿物を 400°C 1 時間空气中で焼成した後の粉末 XRD パターンを示す。すべてのピークが NiO に帰属され、焼成により Ni(OH)₂ ナノシートから NiO が生成することを確認した。図 5b-e に Ni(OH)_{2-x} ナノシート積層膜(n=1,3, 5, 7)の 400°C 1 時間大気中で焼成後の XRD パターンを示す。ナノシート沈殿物を熱処理した場合と異なり、回折ピークは 37°のみに現われた。これは、NiO の(111)面ピークに対応する。つまり、生成した NiO ナノシート膜が(111)方向に配向していることが示された。(111)回折の面間隔は 0.24nm であり、AFM によって観察された膜厚(0.3-0.4nm)と大体一致した(図 4b)。(001)方向に配向した膜の焼成により(111)面に配向した膜が得られるという結果は、層状水酸化コバルトや希土類層状水酸化物の単層膜において既に報告がされており、トポタクティック変換と理解されている。今回の水酸化ニッケルナノシートの場合も同じ原理による見かけ上のトポタクティック変換であると言える。ただ、異なっているのは、先行研究は層状水酸化物を用いた膜であり、本研究ではそれを単層まで剥離したナノシートを用いた膜で行った点である。一度剥離して無秩序となったナノシートを LB 法により基板に(001)方向に配向させ、積層させて焼成により再び秩序を与えることで(111)方向に配向した膜を得ることができた。また、作製した NiO ナノシートは p 型半導体に典型的な光カソード電流を示し、光電流値はナノシートの積層数と共におおそ線型的に増加した。NiO ナノシート膜をカソード、RuO₂ をアノードとして、0.1 M Na₂SO₄ 電解液中、外部電圧 1.0V で水の光電気分解を実施したところ、水素と酸素の発生が確認できた。以上のように p 型半導体として動作する NiO ナノシートの開発に成功した。

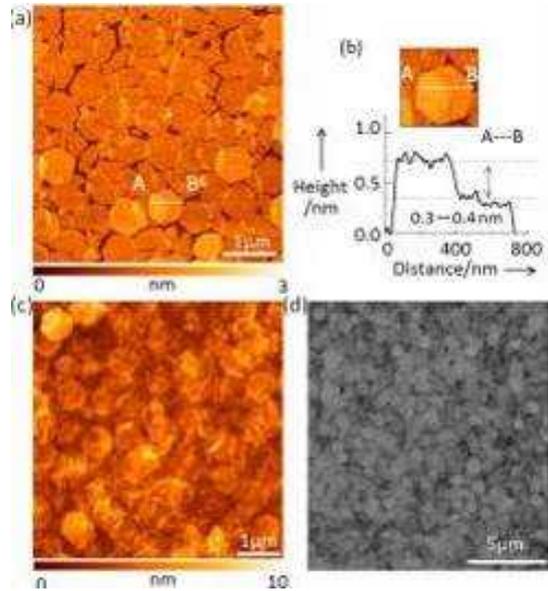


図 4. NiO_ns 単層膜の(a)AFM 像, (b)拡大図と高さ断面プロフィール. NiO_ns 膜(7 層)の(c)AFM 像, (d)FE-SEM 像

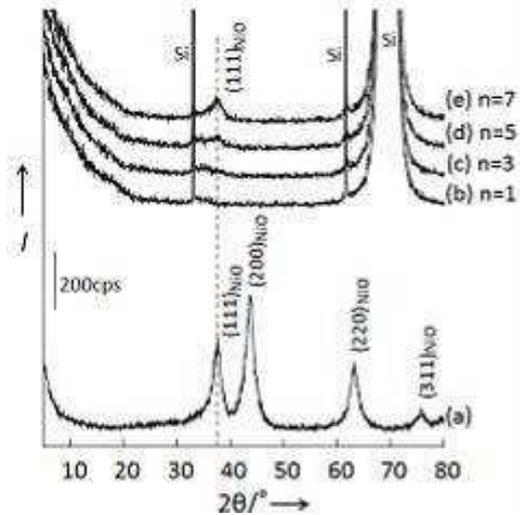


図 5. (a) 遠心分離で沈殿させた Ni(OH)_{2-x}ns を 400°C 1 時間大気中で焼成した粉末の XRD パターン. Si 基板上に積層させた NiO_ns 膜(1~7 層)の XRD パターン(b)1 層, (c)3 層, (d)5 層, (e)7 層.

2-1-4. Tb³⁺-ドーブ Ca₂Ta₃O₁₀ ナノシート光触媒の開発

Tb³⁺-ドーブ Ca₂Ta₃O₁₀ ナノシートは非常に特異的な発光特性と光触媒特性を示すことを見出したので、以下に報告する。通常、光触媒に発光中心である希土類イオンをドーブしていくと励起エネルギーが発光に消費されるため光触媒活性は低下する。図 6a は助触媒未担持の Tb³⁺-ドーブ Ca₂Ta₃O₁₀ ナノシートの相対発光量子効率と光触媒的水素生成の見かけの量子効率(犠牲剤:メタノール存在

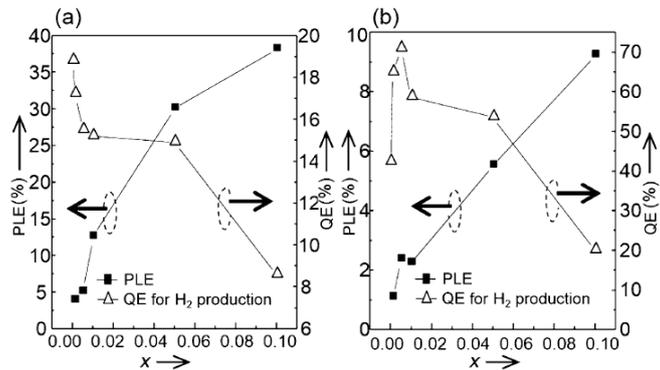


図 6 (a) Ca_{2-x}Tb_xTa₃O₁₀ ナノシートの光触媒活性と発光量子効率の Tb ドープ量依存性, (b) Rh(0.1 wt%) 担持 Ca_{2-x}Tb_xTa₃O₁₀ ナノシートの光触媒活性と発光量子効率の Tb ドープ量依存性. (光触媒活性評価:メタノール水溶液中で実施).

下)の Tb ドープ依存性である。Tb³⁺のドーブ量が増えるにつれ、発光量子収率は増大し、逆に光触媒の量子効率は減少した。これは、上記のように予想できる結果である。しかしながら、助触媒として Rh を光担持した Tb³⁺-ドーブ Ca₂Ta₃O₁₀ ナノシートの光触媒活性は、Tb³⁺のドーブとともに光触媒の量子効率も増大し、ドーブ量 x=0.005 のときに 71%@270nm と非常に高い活性を示した。なぜ、このような高い光触媒活性を示すのか詳細はまだ解明できていないが、Tb³⁺の ⁵D₄ というエネルギー準位が Ca₂Ta₃O₁₀ ナノシートの伝導体下端付近に存在し、⁵D₄ 準位に落ちた電子の寿命が数ミリ秒と長いことが DFT 計算と蛍光寿命測定により明らかとなった。おそらく、⁵D₄ 準位に長く留まっている電子が水の還元触媒である Rh 助触媒に引っ張られて、光触媒反応に使用されるため光触媒活性が向上したと考えている。また、ナノシートの層状体では Tb³⁺をドーブしても上記のような大きな活性の向上は観察されなかったことから、本結果もナノシートに特徴的な光触媒活性であろう。

2-1-5. 光触媒中心の直接観察

光触媒において表面に担持された助触媒は、水の還元サイトや酸化サイトとして機能すると考えられているが、どういう機構で反応サイトとして機能しているかについては不明な点が多い。その理由の一つに助触媒ナノ粒子が多結晶である光触媒粒子上に複雑に担持されており、吸着サイトや電荷分離状態を議論するには構造が複雑すぎている点があげられる。つまり、助触媒の効果を議論するためには、もっとシンプルな結晶系や表面状態が必要である。反応機構を考察しやすい光触媒として我々はナノシートに注目している。基本的にナノシートの厚さは完全に均一であり、また、このような単結晶シート構造では、エッジ部分を考慮しなければ、反応溶液と接している結晶面は一つに限定できる。さらに良いことに、最近、Rh をドーブした酸化物ナノシートは助触媒を担持しなくても光触媒の水素生成に対して高い活性を持つことが明らかとなった。通常の光触媒で高い光触媒活性を得るためには助触媒の担持を必要とするが、この結果は、結晶格子内に 1 原子ドーブされた Rh サイトが光触媒の活性点になっていることを示唆するものである。水の還元は 2 分子 2 電子反応で進むと考えられており、吸着サイトを限定することができれば、反応の活性化状態を考察しやすくなると考えられる。

そのため、Rh がどういう状態で結晶内にドーピングされているかの環境を明瞭にイメージ化することができれば、反応機構の考察の精度を著しく向上させることができる。本研究では、透過電子顕微鏡を用いて光触媒の活性中心であろう Rh 元素の直接観察によりドーピングサイトの直接観察と分散状態を具体的に明らかにすることに挑戦した。図 7 は Rh ドープチタニアナノシートのモデル構造と HAADF-STEM 像である。Rh 原子が Ti サイトにドーピングしていることを確認することができた。また、Rh をドーピングすることでナノシートの光触媒活性(犠牲剤:メタノール)が大きく向上したため、ドーピングされた Rh が光触媒的水素生成の反応活性サイトとして働いていると考えることができる。次に STEM 観察で得られた構造をモデル構造として、ナノシート表面に水がどのように解離吸着するかを DFT 計算により求めた(図8)。その結果、Rh をドーピングしたサイトでは、OH と H に解離して吸着した水分子の状態が未ドーピングの表面よりも安定であることが分かった。さらに、フリーの水に戻る逆反応の障壁も未ドーピングの表面に吸着した水分子よりも大きいことが示された。この結果は Rh サイトが水の解離吸着を安定化させていることを示唆しており、助触媒の新しい役割を示唆する結果と考えている。現在、Rh ドープサイトの具体的な役割を明らかにすべく、水が水素になるまでの全反応経路のエネルギーを計算している。

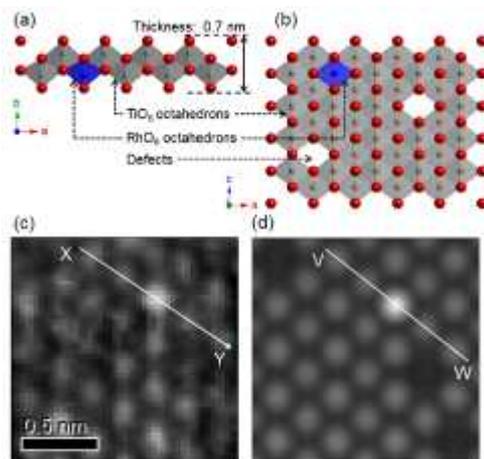


図7. (a) (b) Rhドープチタニアナノシートのモデル構造、(c) Rhドープチタニアナノシートの HAADF-STEM 像、(d) Rhドープチタニアナノシートの HAADF-STEM シミュレーション像

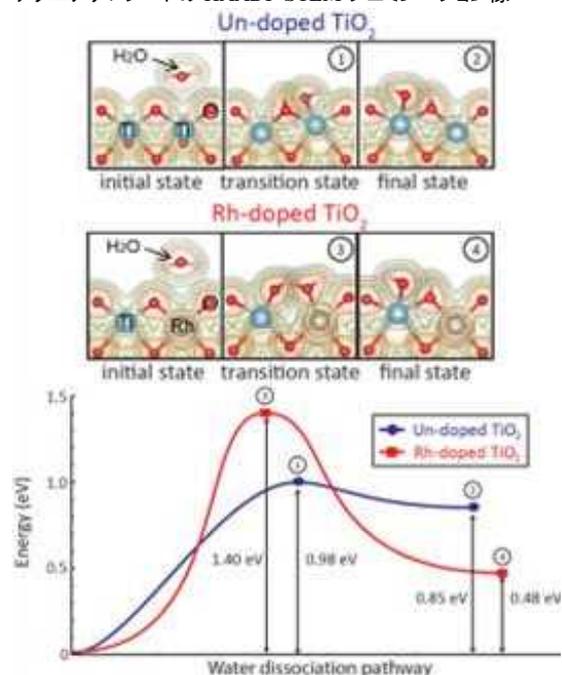


図8. DFT 計算により得られた Rh ドープ、未ドーピングチタニアナノシート表面での水の吸着解離のモデル構造と解離吸着過程のエネルギー変化.

2-2. ナノシート異種接合によるナノシート pn 接合体の開発

pn 接合は太陽電池や発光デバイスなどの電子デバイスにおいてその利用が先行しているが、最近では触媒などの化学反応が関与する分野にもその利用が広がりつつある。接合部付近では電位勾配が形成されているため、光吸収により生成した電子と正孔は電位勾配を駆動力として、正孔は p 型半導体側、電子は n 型半導体側に移動する。そのため、再結合が非常に起こりにくい光触媒の構造として検討されている。実際、p 型と n 型半導体を接合した

触媒は、未接合の粒子に比べて触媒活性が向上するという報告が多く存在する。しかしながら、粒子同士の接合は原子レベルで平滑な表面同士の接合でないため、その接合界面の位置は曖昧であり、さらに粒子最表面はアモルファス層が形成されやすく界面付近での結晶性の低下が予想される。このような界面では、接合付近に空乏層が形成されているか疑問な点もあり、触媒活性の向上が、接合に由来するものなのかよくわかっていない。また、ナノ半導体を光エネルギー変換に用いる場合、ナノ粒子を接合させても、空乏層を形成するための空間的スペースが無く、接合間で電荷分離をもたらす十分な電位勾配が形成されないため、ナノレベルの pn 接合は光エネルギー変換素子として利用できないという指摘もなされている。このような課題に対して本研究では、表面にアモルファス層が無く結晶表面が原子レベルで平滑な p 型-NiO シートと n 型-Ca₂Nb₃O₁₀ シートを接合させることで極薄(1.7nm)の pn 接合体を作製しその接合間で電位勾配が生じていることを明らかにした。図9はそのナノシート pn 接合の形状像と表面電位像であり、接合部において電位変化(電位勾配)が確認できた。また、その電位勾配に基づいて光エネルギー変換反応であるマンガン(II)イオンの光酸化反応および、Ag⁺イオンの光還元反応のサイトを調査したところ、明確に光酸化サイトと光還元サイトが電位勾配を反映して分離することを確認した(図10)。これにより、数ナノの厚さの pn 接合体は、光吸収により生成した正孔と電子を分離できる光エネルギー変換素子として作動することが示された。

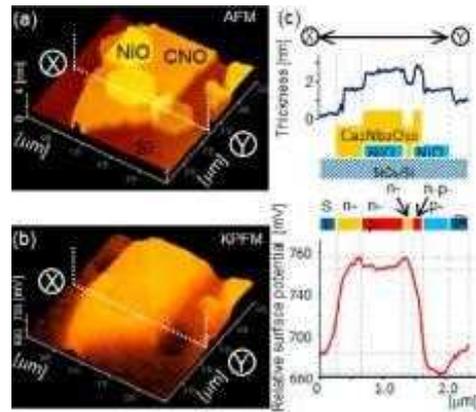


図9. ナノシートpn接合の(a) AFM像、(b) 高さ断面プロファイル、(c) 表面電位像、(d) 表面電位断面プロファイル。

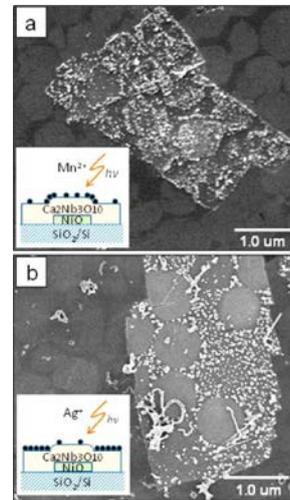


図10. (a) Mn²⁺イオンの光酸化堆積反応後のナノシートpn接合表面のFE-SEM像、(b) Ag⁺イオンの光還元堆積反応後のナノシートpn接合表面のFE-SEM像。

2-3. 鉄やカルシウムを主成分とした光エネルギー変換材料の開発

半導体電極にバンドギャップ以上の光を照射しながら、水分解を行うと 1.23V以下の電圧で、水を分解することができる。しかしながら、一般的には外部バイアスを印加しないと分解反応はほとんど進行しない。無バイアスで水を電気分解するためには p 型半導体と n 型半導体を導線で繋げると進行する。但し、無バイアスで水を光分解するためには、以下の3つの条件を必要とする。

- ・n 型半導体の価電子帯準位が水の酸化電位よりも貴な位置であること
- ・p 型半導体の伝導帯準位が水の還元電位よりも卑な位置であること

・n型半導体のフェルミ準位がp型半導体のフェルミ準位よりも卑な位置にあること
 上記の条件を満たす電極を電解質水溶液に入れ両者を導線でつなげて、バンドギャップ以上の光を照射すると外部電圧を印加しなくてもp型半導体電極側から水素が、n型半導体側から酸素が発生する。この時、このシステムは太陽電池のような振る舞いを示し、その理論開回路電圧は、n型半導体とp型半導体のフェルミ準位の差で与えられる。つまり、このシステムは水素を生成しながら発電する。このようなシステムとしてSiC(p型)—SiC(n型)などの電極組み合わせが報告されている。本研究で特にこれらのシステムが鉄やカルシウムなどの安価な元素を利用した材料から開発できないか検討した。このような条件を満たす酸化物半導体電極として、 CaFe_2O_4 に注目して研究してきた。 CaFe_2O_4 は水や CO_2 を還元できる能力を持つp型酸化物半導体であることがこれまでに分かっている。この電極の課題として、光変換効率が非常に低いことが課題であり、そのため CaFe_2O_4 電極を用いた水の完全分解などは十分に検討されてこなかった。このような課題に対して、本研究では、その効率を10倍程度向上させる電極作製方法を開発した。本報告では CaFe_2O_4 電極の特徴と、 CaFe_2O_4 電極と酸化チタン電極を用いた無バイアス下での水の光電気分解について報告する。

図11aは1200°Cと1100°Cで熱処理した CaFe_2O_4 電極の電流-電圧曲線である。1200°Cで処理した電極では光照射により大きな光還元電流が観察され、その光電流値は1100°Cで処理された電極の10~50倍程大きな値を示した。このような光還元電流の大きな増大は1200°Cの熱処理により結晶性の良い CaFe_2O_4 が形成されたためだと考えられる。図11bは1200°Cで処理した CaFe_2O_4 電極の incident photon to current

efficiency (IPCE)と紫外可視反射スペクトルを示している。紫外線領域のIPCEは5-15%であり、可視光領域は5%以下であった。光還元電流は650nmの波長まで観察され、その波長は CaFe_2O_4 電極の紫外可視吸収端(bandgap: 1.9 eV)とほぼ一致した。可視光領域のIPCEが小さい原因は、可視光領域と紫外領域で励起過程が異なることが起因しているかもしれない。 Fe_2O_3 のような酸化鉄の場合、紫外領域の吸収(<400 nm)は、直接遷移($\text{O}^{2-} 2p \rightarrow \text{Fe}^{3+} 3d$ 電荷移動)であり、可視光領域(>400nm)は間接遷移 (spin-forbidden $\text{Fe}^{3+} d \rightarrow d$ excitation)と報告されている。おそらく、 CaFe_2O_4 の間接遷移によって生じた電子と正孔は再結合しやすいのであろう。次に、CFO(Fe/Ca=1.9)電極と酸化チタン電極を溶液中でつなげて太陽電池としてその特性を評価した。実験で用いた酸化チタン電極はチタン金属を600°Cで1時間熱処理することで作製した。

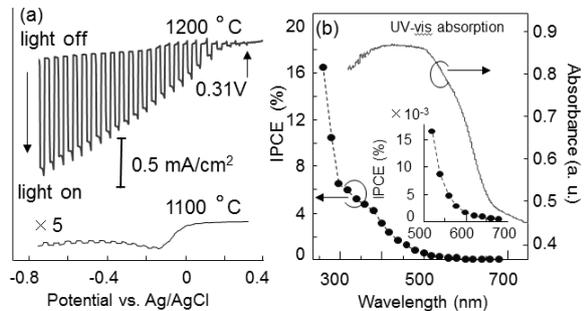


図11 (a) CaFe_2O_4 電極の電流-電圧曲線、(b) CaFe_2O_4 電極のIPCEスペクトル(モニター電圧-0.8 V vs. Ag/AgCl)と紫外可視反射スペクトル(電解液:0.1M NaOH, 光源:500W-Xeランプ)。

図 12a は CFO(Fe/Ca=1.9)電極と酸化チタン電極溶液中で短絡させたセルから生成した水素と酸素の発生量と照射時間の関係を示す。光照射とともに水素と酸素が生成した。水素と酸素の比は 2.0 ではなかったが、その比は 3.7 ~6.1 であった。水素と酸素の比が 2.0 でない理由として、流れた電気量に対する水素の生成効率が 96%であったことから、問題は今回使用した酸化チタン電極側にあると考えている。酸化チタン表面への酸素分子の吸着や電極に使用したチタン金属の酸化が考えられるが、現段階では明確な解答は得られていない。図 12b は短絡電流の時間依存性を示している。最初の 12 時間は光照射とともに電流が大きく減少したが、12 - 48 時間は電流の減少は緩やかになった。反応後、CFO 電極の表面を SEM で観察すると、電極の表面にひび割れが観察された。このような電極の劣化は短絡電流の減少と関係があると考えている。水素の生成に対する電流効率は 100%に近いことから、短絡電流の IPCE が水素生成に対する量子効率を表しているとみなすことができる。紫外領域に対する効率は 1~2%であった。可視光領域の光照射ではほとんど水素生成は確認されなかった。これは、酸化チタンが紫外領域の光にしか応答しないためである。酸化チタン電極の代わりに可視光応答型の n 型半導体電極を用いると可視光照射下でもこのシステムから水素と酸素が生成できると考えられる。

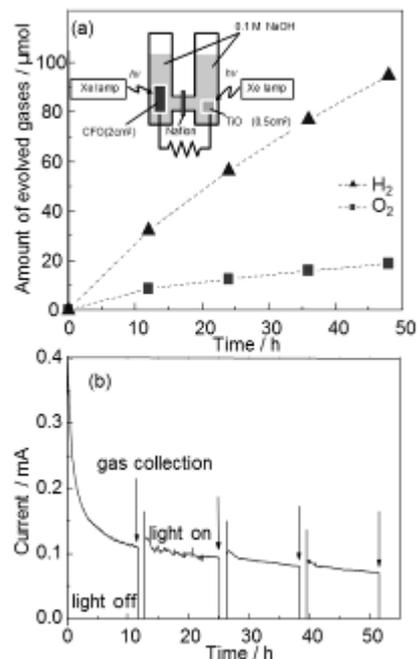


図 12. 鉄酸カルシウム(Fe/Ca=1.9)電極と酸化チタン電極溶液中で短絡させたセルから生成した水素と酸素の発生量と照射時間の関係(a), 短絡電流と照射時間の関係(b).

3. 今後の展開

ナノシートを用いるとシンプルな構造かつ活性の高い水分解光触媒を作成できるため、複雑な水分解光触媒の反応機構や助触媒の役割を実験的アプローチと計算的アプローチの両方から検証することができる可能性があることを示した。今後は、このようなアプローチを用いることで、これまで曖昧だった光触媒の水分解の反応機構がより明確になると期待している。また、一方で異種ナノシートを精密に積層させることで、通常バルク光触媒では実現できないような薄さ 1nm 程度の pn 接合型光触媒などの複雑な触媒構造を作成ができることを示した。しかしながら、このデバイスで可視光に反応には成功していないので、今後は可視光で応答する pn 接合型光触媒の開発を実施する予定である。ナノシート単層の光触媒としては、波長 600nm 程度まで光を吸収できる可視光応答型の窒素ドープ酸化物ナノシートの合成に成功したが、可視光領域の太陽光エネルギー変換効率は非常に低いという課題がある。これは窒素ドープに伴う酸素欠陥の生成が一つの原因であると考えているため。今後はそのような欠陥を生じないようなナノシートの合成方法を開発していく予定である。鉄系元素を主成分に含む

半導体を利用した水の光分解に関してはアノード極をヘマタイト電極に変更した $\text{CaFe}_2\text{O}_4\text{-F}$
 e_2O_3 システムを利用して可視光での水の完全分解の達成を目指す予定である。

4. 評価

(1) 自己評価

(研究者)

本研究で目標に挙げた、可視光応答性のナノシート、高効率のナノシート光触媒、ナノシート
pn 接合、鉄系半導体電極の開発は達成できたと考えている。その他、当初予定していなかった
光触媒の反応中心の直接観察にも成功しており、本研究は概ね達成できたと考えている。

(2) 研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での
評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

(研究総括)

半導体光触媒による水の分解、人工光合成は結晶粉末触媒を水に懸濁させた反応方法や
光電気化学的な反応方法についての基礎的な研究集積があり、我が国は群を抜いて世界を
先導している。しかし、中長期の時間スケールでの本格的な実用化を視野に入れた場合には、
現在までの研究進展の延長線上にはない新たな取り組み、ブレークスルーが求められてもい
る。可視光をいかにして有効に利用できるか、電子や正孔などの挙動の理解を基礎に欠陥を
制御し水の光分解の反応性をいかにして向上させるか、助触媒の分子機構は何か、触媒調
製プロセスを含めていかにして汎用性を持たせられるか、など解決すべき課題は多い。これま
での基礎的知見を基にした工学的条件探索や最適化手法の限界を超えて、上記課題を基礎
科学の視点でブレークダウンする思い切った基礎的取り組みが求められてもいる。伊田博士
は、従来の視点を超えて、厚さ1~2nmの半導体ナノシートに着目し、比表面積の飛躍的な拡
大、ドーパ元素が結晶内部ではなく表面にあらわになることの予測とその効果への期待、半導
体光触媒でのキーポイントである欠陥の制御・キャリアの有効分離などへの展開につながり
得るナノシートの結晶性の制御、汎用性への展望となるユビキタス元素への着目などを始め、
多くの独創的視点からさまざまな半導体ナノシートの作製、それらの光化学挙動、光電気学挙
動の解明に取り組んでいる。研究開始から当初3年間で既に、多くの興味深い研究成果を挙
げた。例えば、Rhをドーパした $\text{Ca}_2\text{Nb}_3\text{O}_{10}$ ナノシートで水の光分解の反応性としてこれまでにない
高い反応性(量子収率65%)を達成している。水光分解での可視光感受性のナノシート
 $\text{CsCa}_2\text{Ta}_3\text{O}_{9.7}\text{N}_{0.2}$ の開発にも初めて成功している。さらには、ユビキタス元素としての鉄やカル
シウムを主材料とした光電変換材料として、 CaFe_2O_4 の光電変換特性を10倍以上向上させ
ることに成功した。さらに研究期間の後半では、上記のRhをドーパした $\text{Ca}_2\text{Nb}_3\text{O}_{10}$ ナノシート
による水の光分解について、詳細な原子レベルでの表面観察を基礎にドーパされたRhが原子
単位で助触媒機能を発現する可能性が高いことを見出しその分子機構の考察まで踏み込み
つつある。半導体光触媒分野で解決すべき重要課題の中で、電子や正孔などが具体的にど
のように水素発生や酸素発生に結び付くのか、またその際に反応促進する助触媒はどのよ
うな役割を果たすのか、などに対して、本研究における伊田博士の原子レベルでの観察と光触
媒機能の関連、水分子の吸着解離とその後続過程への分子機構考察は極めて示唆に富む
大きいインパクトを与えるものとして高く評価される。その他、p型およびn型半導体の1枚ナノ

シート間の接合に成功し、予測される電位勾配が形成されることを表面電位測定による直接観察と還元反応面選択性の実験事実の両面から初めて実証するなど基礎光化学、光電気化学挙動について多くの興味深い知見も得ている。独創的な洞察と徹底的な実験検索により極めて信頼感のある研究展開を示しており今後のさらなる展開を大きく期待させるものとして高く評価する。

5. 主な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

- | |
|--|
| 1. <u>Ida, Shintaro</u> ; Kim, Namhoon; Ertekin, Elif, Takenaka, Takenaka; Ishihara, Tatsumi
Photocatalytic Reaction Centers in Two-dimensional Titanium Oxide Crystal
Journal of the American Chemical Society, in press, DOI: 10.1021/ja509970z |
| 2. <u>Ida, Shintaro</u> ; Koga, Shota; Daio, Takeshi; Hagiwara, Hidehisa; Ishihara, Tatsumi
Direct Imaging of Light Emission Centers in Two-Dimensional Crystals and Their Luminescence and Photocatalytic Properties
Angewandte Chemie, International Edition (2014), 53(48), 13078–13082. |
| 3. <u>Ida, Shintaro</u> ; Takashiba, Akihide; Koga, Shota; Hagiwara, Hidehisa; Ishihara, Tatsumi
“Potential Gradient and Photocatalytic Activity of an Ultrathin p-n Junction Surface Prepared with Two-Dimensional Semiconducting Nanocrystals”
Journal of the American Chemical Society (2014), 136(5), 1872–1878. |
| 4. <u>Ida, Shintaro</u> ; Okamoto, Yohei; Matsuka, Maki; Hagiwara, Hidehisa; Ishihara, Tatsumi
“Preparation of Tantalum-Based Oxynitride Nanosheets by Exfoliation of a Layered Oxynitride, CsCa ₂ Ta ₃ O _{10-x} N _y , and Their Photocatalytic Activity”
Journal of the American Chemical Society (2012), 134(38), 15773–15782. |
| 5. <u>Ida, Shintaro</u> ; Yamada, Keisuke; Matsunaga, Takuya; Hagiwara, Hidehisa; Matsumoto, Yasumichi; Ishihara, Tatsumi
“Preparation of p-Type CaFe ₂ O ₄ Photocathodes for Producing Hydrogen from Water”
Journal of the American Chemical Society (2010), 132(49), 17343–17345. |

(2) 特許出願

研究期間累積件数: 0 件

(3) その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

第 64 回 日本化学会進歩賞(平成 26 年度)

研究報告書

「蛋白質工学的アプローチによる高効率ギ酸生産藻類の設計」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成 21 年 10 月～平成 27 年 3 月

研究者: 伊原 正喜

1. 研究のねらい

本研究の狙いは、太陽光による安価で環境負荷の小さい再生可能エネルギー生産システムの構築である。この目標を実現するために、藻類の利用が、もっとも有効な方法の一つであると考えられる。なぜなら、藻類は簡単な水槽や池などで増殖できるために、広大な面積に展開することも容易であり、設置コストも低く抑えることができるからである。しかし、天然の藻類は、人類にとって有用なエネルギーを生産するように最適化されていない。そこで、蛋白質工学に基づいた代謝工学によって、藻類内に強力な人工的なバイオエネルギー生産系を構築することが求められている。

本研究では、全く新しい試みとして藻類による高効率ギ酸生産システムを目指す。ギ酸は高エネルギー物質であるが、水素と異なり水溶性であるために輸送や貯蔵が容易であり、必要時には水素に転換して気相に回収できるなど、エネルギー媒体として非常に優れている。またギ酸は、光合成過程で生じた還元力と、ギ酸脱水素酵素(FDH)の触媒能によって、二酸化炭素の直接的還元によって生産することが理論的に可能である。

天然の光合成過程では、2つの光合成反応中心(PSI及びPSII)での二段階光誘起電子移動によって、PSIから強い還元力が放出されるが、この還元力はNADPHを介してカルビン回路に伝達され二酸化炭素還元利用される。この二酸化炭素還元反応は、光合成全体の律速であるために、効率化を目指した研究が進められている。我々は、二酸化炭素還元の新しい人工的な経路として、還元力を直接的にFDHへと伝達する経路を設計することで、高効率に二酸化炭素をギ酸というエネルギー物質に変換するシステムが構築できることを提案してきた(図1)。そのために、FDHの過剰発現やPSIとFDHとの複合体の設計などを試みる必要がある。さらには、

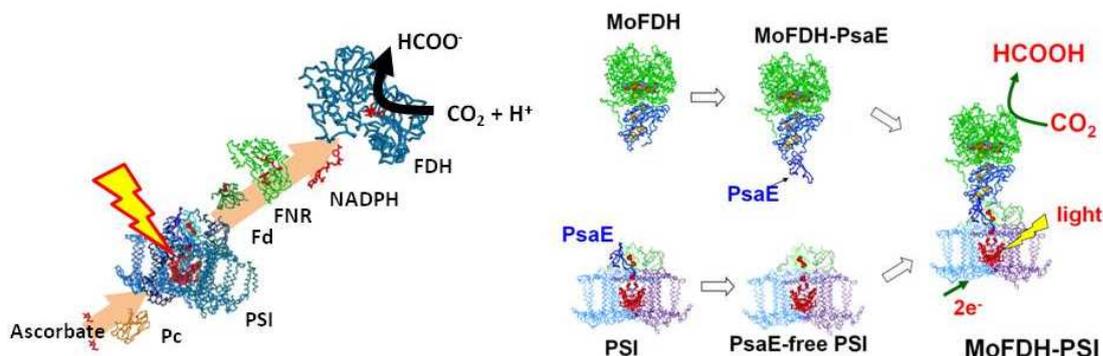


図1、本研究でめざす光駆動ギ酸生産系

NAD(P)H-FDHとPSI-Fd-FNR電子リレー系との組合せによるギ酸生産系(左)と、

Mo-FDHとPSIとの複合体によるギ酸生産系(右)

ギ酸の効率的な細胞外排出のためのイオンポンプの導入などを試みる必要がある。本研究では、これら実用化に向けた基本技術の開発に加え、*in vitro* や *in vivo* でのモデルシステムによるコンセプトの実証を行い、世界に先駆けて本提案を発信する予定である。

2. 研究成果

(1) 概要

研究成果は、①ギ酸生産、②水素生産、③イソプレノイド生産に分けることができる。さらに、①については、NADPH を電子キャリア兼活性中心とする NADPH-FDH と、モリブデン錯体であるモリブドプテリンを活性中心を持つ Mo-FDH を利用したギ酸生産に分けることができる。

①-1、NADPH-FDH によるギ酸生産

光合成明反応で合成される NADPH を電子ドナーとした NADPH 依存型 FDH による光依存的ギ酸生産系構築のために、まず FDH にランダムなアミノ酸置換を導入し、NADPH に高い反応性を持ち且つギ酸生成能の高い FDH 変異体を創製した。さらに、この FDH 変異体と、PSI 及びフェレドキシン、フェレドキシン-NADP⁺還元酵素による NADPH 生成系とを組み合わせた光駆動系を検討し、細胞内外において、ギ酸生産に成功した。

①-2、Mo-FDH によるギ酸生産

PSI などの強い還元力を利用することができる Mo-FDH を利用することで、より効率的なギ酸生産系の構築を目指した。PSI と Mo-FDH は生理学的な電子伝達パートナーではないことから、生体内で PSI から Mo-FDH への効率的な電子伝達を実現するためには、両者をフレキシブルリンカーで連結する必要がある。そこで、Mo-FDH と PSI のサブユニットの一つである

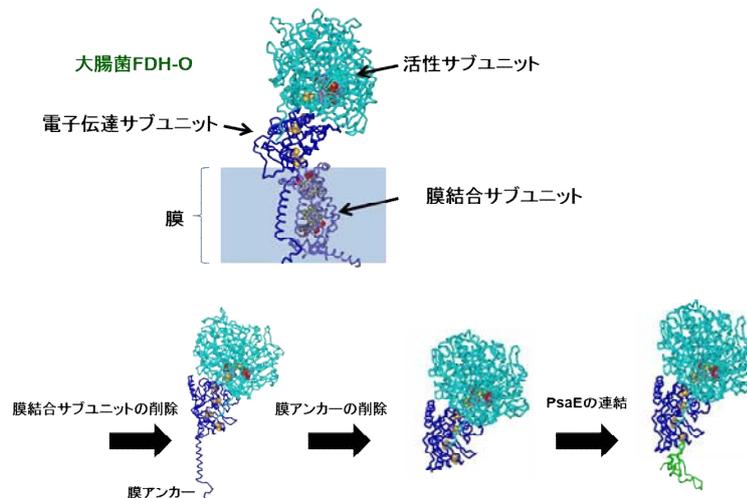


図2、膜結合FDH-Oの可溶化と、PsaE融合化

PsaE との融合蛋白質を作製し、PsaE を欠失した PSI に再構成することを考えた。これを実証するために、種々の Mo-FDH の組換え体発現系の構築を試み、大腸菌由来 FDH-O の発現系構築に成功した。大腸菌由来 FDH-O は膜蛋白質であるため、膜サブユニットを削除し、さらに PsaE を融合したところ、大きく不安定化することが明らかとなった(図2)。そこで、多数のアミノ酸置換を導入することで安定化に成功した。それによって、FDH-PSI 複合体の構築と光ギ酸生産に成功した。

②、ヒドロゲナーゼの改良

水素合成を触媒する酵素であるヒドロゲナーゼは、安定性向上が応用への課題とされている。そこで、ヒドロゲナーゼの分子進化工学手法による改良を目指して、発現系の開発、および変異ライブラリーの構築に成功し、活性が有意に向上した変異体の単離に成功した。

③、イソプレノイド生産

シアノバクテリアのイソプレノイド合成経路における律速酵素の改良にも成功し、さらに過剰発現によって、イソプレノイド生産性向上に成功している。

(2) 詳細

研究テーマ【①-1、NADPH-FDHによるギ酸生産】

光合成生物内で光依存的に合成されたNADPHとNAD(P)H型FDHによる光依存的ギ酸生産系(図1左)を構築するために、まずNADPHに高い反応性を持つFDH変異体の作製を行った。*Pseudomonas* sp. 101、*Candida boidinii*、potato、*Arabidopsis thaliana*、*Thiobacillus* sp.

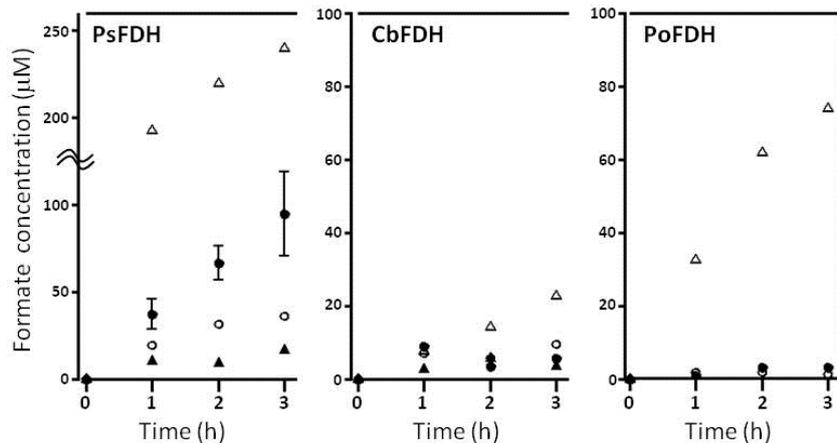


図3. FDH変異体によるNADPHを用いたギ酸生成活性
 PsFDH: *Pseudomonas* sp. 101由来FDHの野生型および変異体(D222→Q)、CbFDH: *Candida boidinii*由来FDHの野生型および変異体(D197→Q)、PoFDH: Potato由来FDHの野生型および変異体(D199→Q)。△: 野生型FDH + NADH、○野生型FDH + NADPH、▲: 変異体FDH + NADH、●変異体FDH + NADPH。

KNK65MA の 5 種から NADH 依存型 FDH 遺伝子を単離し、大腸菌用発現系ベクターに組み込んだ。さらに、補酵素結合部位付近にランダムなアミノ酸変異を導入して、約30種類の FDH 変異体遺伝子を作製し、大腸菌内で発現させ、FDH 変異体蛋白質を精製した。それぞれの反応特性を調べた結果、NADPH に高い反応性を持ち且つギ酸生成能の高い *Pseudomonas* sp.101 FDH D222Q を見出した(図3)。このFDH変異体を、PSI及びフェレドキシン、フェレドキシン-NADP+還元酵素によるNADPH生成系と組み合わせた結果、細胞外再構成系において、光駆動系ギ酸生産に成功した。

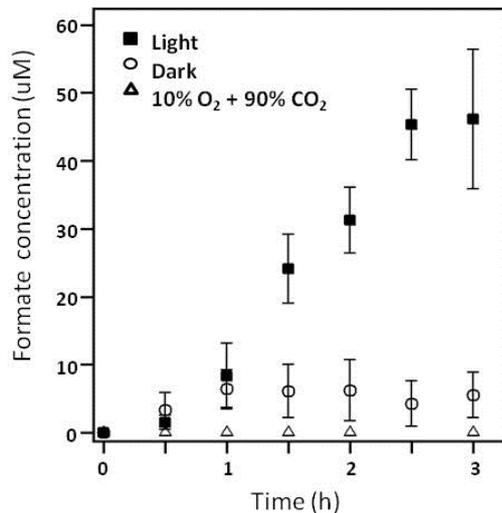


図4. FDH変異体と、PSI-FD-FNRによるNADPH光生成系との組合せによるギ酸生産

続いて、嫌気的な細胞内環境を持ち且つPSIを発現しているシアノバクテリア・ヘテロシスト内でFDH変異体を過剰発現することによって、細胞内光依存ギ酸生産系の構築を目指した。

そのために、FDH 変異体遺伝子をシアノバクテリア用シャトルベクターである pAM505 に挿入し、*Anabaena* sp. PCC7120 に導入した。形質転換体を窒素含有培地で培養した後に、窒素欠乏培地で培養することでヘテロシスト形成を促した。その結果、ヘテロシスト形成を顕微鏡観察によって、FDH 変異体蛋白質の発現をウエスタンブロッティングで確認することができた。また、二酸化炭素 10%+アルゴン 90%雰囲気下の蛍光灯照射下でインキュベートした菌体を破碎し、破碎液をイオンクロマトグラフィーによって分析したところ、FDH 変異体遺伝子を導入していないコントロール細胞と比較して、ギ酸濃度が有意に増加していることが確認できた。さらなる改良として、ギ酸排出トランスポーターの導入を計画している。

研究テーマ【①-2、Mo-FDH によるギ酸生産】

FDH は触媒機構の違いから、2 種類に分けることができる。1 つは、NADH 依存型 FDH であり、もう一つは、モリブデン(Mo)もしくはタングステン(W)とプテリンから成る錯体を活性部位に持ち、電子供与体から電子を受け取り、活性部位を高い還元状態にすることで CO₂ をギ酸に還元する Mo 結合型 FDH である。NADH 依存型 FDH による CO₂ 還元反応は吸エルゴン反応であるため効率が悪いが、Mo 結合型 FDH による CO₂ 還元反応は、PSI 由来電子のような強い還元力を利用した場合は発エルゴンのためであり、効率的なギ酸生産が期待できる。

Mo-FDH に関する研究はこれまでほとんど報告されていないが、唯一、大腸菌由来のギ酸リアーゼの一部である FDH-H がよく研究されている。しかし、FDH-H は微量の酸素分子存在下で速やかに不可逆的に失活するために、触媒としての応用は困難である。我々は、今回様々な種の Mo 結合型 FDH について、酸素耐性(酸素分子によって不可逆的な失活が起こらない)、及び光耐性を評価したところ、大腸菌 (*E.coli*) 由来 FDH-O や *Desulfovibrio vulgaris* (*D.vulgaris*) 由来の Mo-FDH が比較的安定性が高いことを明らかにした。

そこで、それぞれの Mo-FDH を用いて、図1に示すような FDH-PSI 複合体を作製し、光エネルギーからの効率的にギ酸を生産できる系の構築を目指した。FDH-PSI 複合体作製は、まず FDH と PsaE との融合蛋白質 (FDH-PsaE) を調製し、PsaE 欠失 PSI への再構成を行うことで可能となる。FDH-PsaE 融合蛋白質は、遺伝子レベルで FDH と PsaE を連結することで調製することができる。よって、我々は、遺伝子レベルでの *E.coli* FDH-O もしくは *D.vulgaris* Mo-FDH と PsaE との連結と、それらの発現系の構築から着手した。

E. coli FDH-O は、図2に示す通り、モリブデンを含む活性サブユニットと、電子授受を媒介する電子伝達サブユニットに加えて、膜結合サブユニットを有している。また、電子伝達サブユニットの C 末端ドメインは、膜や膜結合サブユニットとの結合に関与しているが、このドメインは PSI との電子伝達の障害になることが予想されるために、FDH-PsaE を作製する際には、膜結合サブユニットや電子伝達サブユニット C 末

端ドメインを削除した上で、PsaE を融合する必要がある(図2)。まず発現系の宿主として、FDH-O 及びホモログである FDH-N をコードする遺伝子をすべて破壊した *E. coli* を作製した。次に *E. coli* FDH-O の活性サブユニットをコードする遺伝子と、C 末端ドメインを削除した電子伝達サブユニットに PsaE を融合させた蛋白質をコードする遺伝子をプラスミドに乗せて導入した。この際、電子伝達サブユニットと PsaE の間には、5、10もしくは15残基のアミノ酸を有するリンカーを挿入した。その結果、アミノ酸10残基のリンカーを有する FDH-PsaE 融合蛋白質のみが活性型として発現することを見出した。しかし、この融合蛋白質の精製を試みたところ、活性が急激に失われていた。

そこで、電子伝達サブユニットの C 末端ドメインや膜結合ドメインが欠失したことで、露出したと予想される部分にランダムなアミノ酸置換を導入して、約30種類の変異体を調製し、安定性を評価した(図5)。また、精製の効率化のために、Strep Tag II やヒスチジンタグの付加を検討した。その結果、精製後数日間活性を維持できる変異 FDH(A111T/A114S/I134E/Y138S/A141S/L150E)-10Link-PsaE-His を見出した。この変異体は、PsaE 欠失 PSI と会合体を形成し、さらに光照射によってギ酸生産が確認できた。

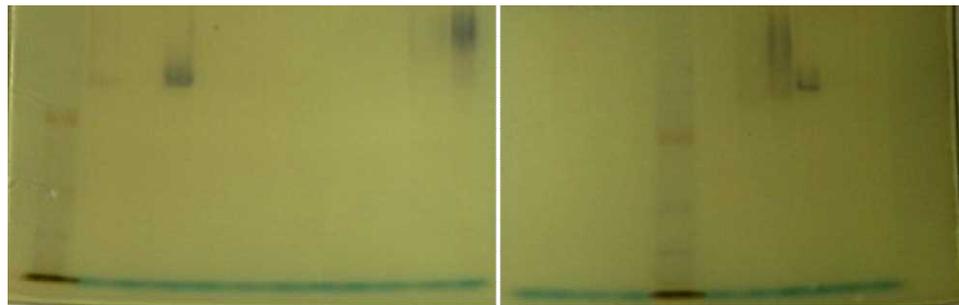
研究テーマ【②、ヒドロゲナーゼの改良】

水素合成を触媒する酵素であるヒドロゲナーゼは、酸素感受性の酵素である。この酵素を利用した水素生産において、酸素感受性問題はもっとも大きな課題であるが、その解決方法については全く手がかりが得られていない。そこで、ヒドロゲナーゼの分子進化工学による改良を目指して、変異ライブラリーの構築に適した発現系の開発を行った。これまでも、宿主ベクター系によるヒドロゲナーゼ発現系は報告されているが、サイズの大きな広宿主域ベクターに、ヒドロゲナーゼ構造遺伝子と翻訳後修飾関連酵素遺伝子群を合わせて挿入していたため、ベクターサイズは非常に大きくなっていった。そのために、多様性の高い変異ライブラリーを作製することが不可能であった。そこで、今回、ヒドロゲナーゼ構造遺伝子のみを欠失させた水素細菌を宿主として利用し、ヒドロゲナーゼ構造遺伝子のみを挿入した小型の広宿主域ベ



- 1: FDH-st
- 2: FDH-10Link-PsaE-st
- 3: FDH-10Link-PsaE-His
- 4: FDH(N231S)-10Link-PsaE-His
- 5: FDH(L150E)-10Link-PsaE-His
- 6: FDH(A111T/A114S/L150E)-10Link-PsaE-His
- 7: FDH(A111T/A114S/L150E/F147L)-10Link-PsaE-His
- 8: FDH(A111T/A114S/L150Q)-10Link-PsaE-His
- 9: FDH(A111T/A114S/I134E/Y138S/A141S/L150E)-10Link-PsaE-His
- 10: FDH(A111T/A114S/I134E/Y138S/A141S/L150Q)-10Link-PsaE-His
- 11: FDH(A111T/A114S/I134Q/Y138S/A141S/L150E)-10Link-PsaE-His
- 12: FDH(A111T/A114MED/L150E)-10Link-PsaE-His
- 13: FDH(A111T/A114MED/L150Q)-10Link-PsaE-His
- 14: FDH(A111T/A114MED/I134E/Y138S/A141S/L150E)-10Link-PsaE-His
- 15: FDH(A111T/A114MED/I134E/Y138S/A141S/L150Q)-10Link-PsaE-His
- 16: FDH(A111T/A114MED/I134Q/Y138S/A141S/L150E)-10Link-PsaE-His
- 17: FDH(A111T/A114S/I134E/A141S/L150E)-10Link-PsaE-His
- 18: FDH(A111T/A114S/I134E/A141S/L150E/P113R)-10Link-PsaE-His
- 19: FDH(A111T/A114S/I134E/A141S/L150E/C112W/E131G)-10Link-PsaE-His
- 20: FDH(A111T/A114S/I134E/A141S/L150Q)-10Link-PsaE-His
- 21: FDH(A111T/A114S/I134E/A141S/L150Q/C112W)-10Link-PsaE-His
- 22: FDH(A111T/A114MED/I134E/A141S/L150E)-10Link-PsaE-His
- 23: FDH(A111T/A114MED/I134E/A141S/L150Q)-10Link-PsaE-His
- 24: FDH(A111T/A114MED/I134Q/A141S/L150E)-10Link-PsaE-His

図5、様々なFDH-PsaE融合蛋白質変異体の評価
それぞれのサンプルは、NATIVE-PAGE後、ギ酸とベンジルビオローゲン、ニトロブルーを加えて、活性染色を行った



Marker FGai ΔSH FGai 01-w FGai 01-9 FGai 02-w FGai 02-9 FGai 03-w FGai 03-9 FGai 04-w FGai 04-9 FGHy ΔSH FGHy 636 FGHy 02-w FGHy 01-w FGHy 01-9 FGHy 04-w Marker FGHy 04-9 FnhY ΔSH FnhY 636 FnhY 02-w FnhY 04-w FnhY 04-9

図6、様々な宿主とベクターの組み合わせでのヒドロゲナーゼ活性評価
それぞれのサンプルは、NATIVE-PAGE後、水素雰囲気下でベンジルビオローゲン、ニトロブルーを加えて、活性染色を行った

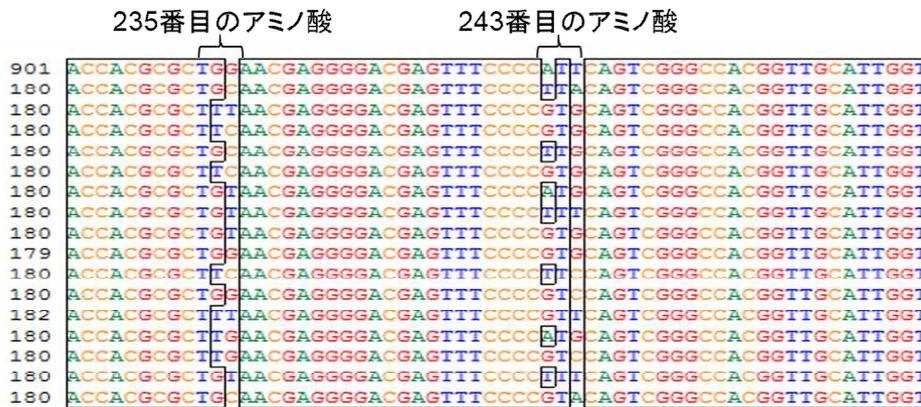


図7、鉄硫黄クラスター近傍へのランダム変異導入
無作為に選抜した16株のクローンの塩基配列を調べたところ、すべてに設計通りの変異が導入されていることが確認された

クターを導入する発現系を考案した。この発現系では、ベクターのサイズが7Kbp と小さく、電気穿孔法による遺伝子導入も可能であるために、多様性の高い変異ライブラリー作製が可能となる。しかし、実際に形質転換株内のヒドロゲナーゼ活性を測定したところ、全く活性が観察されなかった。野生株では、ヒドロゲナーゼ構造遺伝子と翻訳後修飾関連酵素遺伝子はオペロンを形成しており、転写量はほぼ同じであるのに対して、我々の発現系では、ヒドロゲナーゼ構造遺伝子の発現量は、翻訳後修飾関連酵素遺伝子の約7倍と非常に高いレベルであった。そのため、ほとんどのヒドロゲナーゼが未成熟のまま分解されていることが考えられた。そこで、ベクターから提供されるヒドロゲナーゼ構造遺伝子と、宿主から提供される翻訳後修飾関連酵素遺伝子の転写量のバランスを取るために、ヒドロゲナーゼ上流のプロモーター領域に変異を導入して、ヒドロゲナーゼ転写活性を変えたベクターを数種類作製し、また翻訳後修飾関連酵素遺伝子上流のプロモーターに新たなプロモーターを挿入した宿主を作製し、それらを組み合わせた発現系を調製した。それぞれについて様々な条件で網羅的に評価を行ったところ、図6に示す通り、天然型と同等のヒドロゲナーゼ活性を示す組み合わせを見出すことに成功した。

続いて、ヒドロゲナーゼの酸素耐性に関与しているとされている近位鉄硫黄クラスターの近

傍にランダム変異を導入した変異ライブラリーを作製した(図7)。数千クローンの変異株の活性を確認したところ、水素酸化速度が 2 倍近く上昇した変異ヒドロゲナーゼの単離に成功した。この成果は、[NiFe]-ヒドロゲナーゼにおける初めての分子進化工学的実験の成功例である。

研究テーマ【③、イソプレノイド生産】

イソプレノイドは、イソプレンを構成単位とした化合物群であり、エネルギー物質や生理活性物質など重要な化合物を多く含むが、天然より得られる量は少なく、また合成も困難であることから、遺伝子工学などによって改良した藻類による生産が望まれている。すべてのイソプレノイドは、イソプレン骨格であるイソペンテニル2リン酸(IPP)とジメチルアリル 2 リン酸(DMAPP)を原料として合成されることから、IPP と DMAPP の合成経路である非メバロン酸経路(MEP 経路)の改良が生産向上の鍵を握っている。そこで、MEP 経路の律速段階を触媒する 1-デオキシキシルロース-5-リン酸合成酵素(Dxs)の過剰発現を、シアノバクテリア内で試みた。その結果、対数増殖期の前半において、野生型と比較して約4倍の転写量の増加と、約 1.5 倍の Dxs 蛋白質発現量の増加が観察されたが、対数増殖期中ごろから急激に低下した。その結果、対数増殖期の前半においては、野生型と比較して、約 1.5 倍のイソプレノイド含有量の増加が観察されたが、対数増殖期中期以降はほとんど同じレベルであった。

以上の結果から、転写活性の低下が課題であることが明らかとなった。そこで、対数増殖期の前半から、定常期、死滅期までの様々な培養ステージから mRNA を抽出し、次世代シーケンクスによるトランスクリプトーム解析を行っており、定常的に発現が期待できるプロモーターや、転写制御 ncRNA をいくつか見出した。

また、多くの Dxs 蛋白質は不溶型(不活性型)として存在していることが明らかとなり、転写量を増やしても活性型蛋白質発現量の増加に繋がらないことが示唆された。そこで、多くの種から Dxs 遺伝子をクローニングし、大腸菌での異種発現性や、活性、安定性、DMAPP による阻害効果を評価した結果、有望な Dxs の特定に成功しており、現在新たに見出したプロモーターとともに、シアノバクテリアに導入する予定である。

3. 今後の展開

①、ギ酸排出系の構築

水溶性であるギ酸は、細胞の脂質二重膜を通過できない。そのために、効率的な排出系は存在しない場合、細胞内に蓄積して悪影響を及ぼすことになる。そこで、大腸菌由来のギ酸排出系である FocA のシアノバクテリア内発現を試みている。特にヘテロシスト内膜と、栄養細胞外膜に、局在化させることで、ヘテロシスト内で生産されたギ酸をペリプラズム経路で細胞外に排出することが期待されるために、蛋白質の局在化に関与する様々なシグナルペプチドを付加した FocA 発現系を設計している。

②、Mo-FDH のさらなる改良

今回我々は可溶型の組換え Mo-FDH の発現系構築に成功し、安定化や PsaE 融合化に成功している。しかし、発現量は低く、純度の高い精製蛋白質を得ることが困難である。そこで、さらな

る改良のために、ランダム変異の導入とともに、ハイスループットスクリーニング系の開発を行う。具体的には Mo-FDH 活性依存的な増殖を示す大腸菌宿主の創出や、Mo-FDH 発現株のカプセル化とギ酸生成活性依存的な呈色系の開発を目指す。

③、Mo-FDH 翻訳後修飾遺伝子の同定と、シアノバクテリア内発現系の構築

Mo-FDH は翻訳後修飾によって活性型と成熟するが、その過程は全く不明のままになっている。そのために、大腸菌遺伝子破壊株ライブラリーを利用して Mo-FDH 翻訳後修飾に必須と推定できる遺伝子の同定を目指す。

④、酸素耐性評価方法の開発

ヒドロゲナーゼや FDH は、酸素存在下では活性を発揮できない。この酸素感受性は、ヒドロゲナーゼや FDH と PSI を組み合わせたエネルギー生産系における最大の障害である。しかし、それらの酸素感受性について、様々な種由来のヒドロゲナーゼもしくは FDH 間で直接的に比較評価された報告例はない。これは、現状において、酸素感受性を正確且つ直接的に評価できないために、アミノ酸変異導入と酸素感受性の相関関係を明らかにされず、研究を前に進めることができていないことを反映している。そこで、ヒドロゲナーゼや FDH の活性中心錯体の酸化還元に伴う振動スペクトル変化を経時観測することで、酸素感受性を正確且つ直接的に評価できると考え、時間分解 IR 測定や時間分解共鳴ラマン測定を試みている。

⑤、強力なイソプレレン合成系の構築

IPP と DMAPP の合成経路である非メバロン酸経路 (MEP 経路) の改良をめざし、MEP 経路を構成するすべての酵素について、安定性・活性ともに高い酵素の探索を行う。それら高安定性・高活性酵素でオペロンを構築し、様々なプロモーターや転写制御機構と組み合わせた強力な MEP 経路を構築する。

⑥、実用的な宿主の探索

藻類による物質生産の最も重要なボトルネックの一つは、大規模培養である。しかし、これまで大規模培養という実用化からの視点に立脚した宿主の選択は行われていない。宿主が決まっていないうちで、代謝工学や蛋白質工学による改良を進めても、出口を見据えていないことから、開発が無駄になることが懸念される。そこで、安い培地で純粋培養が可能で、生産物の回収も容易な宿主の探索を行い、大規模培養に有利な宿主を決定し、これをグローバルスタンダードとして確立することを目指す。

4. 評価

(1) 自己評価

(研究者)

当初の予定であった、NADPH 型 FDH による細胞内外光ギ酸生産と、Mo-FDH と PSI との複合体による細胞外光ギ酸生産の実証に成功した。また、ギ酸デヒドロゲナーゼやヒドロゲナーゼといった発現がこれまで非常に困難とされてきた酵素の発現系構築に成功し、さらに分子進化工学的手法による改良にも成功したことは特筆できる成果であると自負している。また、シアノバクテリアの改良にも着手し、イソプレノイドの増産という困難な取り組みにおいて一定の成果を挙げたことは、今後の実用化に向けた取り組みへの足掛かりになったと考える。しか

し、さきがけ採用と同時に信州大学への異動となり、研究室の立ち上げ(途中耐震工事による引っ越しも含む)に時間を費やしたことや、研究室運営に不慣れであったこと、ほとんどが新しい実験系であったことなどから、研究の進行速度は期待通りとはいかず、特に論文として成果を発表することが遅れていることは大きな反省点である。研究成果の科学技術への波及効果については、独自の蛋白質ベースの物質生産方法を提案できたことや、有用な発現系や分子進化工学的手法を構築できたことは、意義があったと考える。社会・経済への波及効果については、ギ酸デヒドロゲナーゼやヒドロゲナーゼという産業上有用な酵素の改良方法や調製方法を確立したことで、ある一定の効果はあると考えるが、酸素耐性などについての評価の必要があることから、実用化にはまだ時間がかかると思われる。しかし、藻類内に人工的で効率的なシステムを構築することは、究極の物質生産方法の一つであり、今後も取り組むべきテーマであると考えている。

(2) 研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

(研究総括)

本研究は、ヒドロゲナーゼによる水素発生についての伊原博士の先駆的な業績を基礎にしながらも、新たにエネルギーキャリア物質としてのギ酸に注目し、その生産を太陽光により蛋白質工学的アプローチにより最適化した藻類生物系システムでおこなうという大変意欲的な提案である。藻類の機能改変による人工光合成の試みは数多いが、その多くはヒドロゲナーゼを利用する水素発生に限られているので、本研究が目的通りに展開すれば当該領域に非常に大きいインパクトを与えるものである。しかしながら、細胞内でギ酸を生成する際の細胞毒性、ギ酸脱水素酵素(FDH, Mo-FDH など)を新規に細胞内に適用する困難さ、還元酵素は極めて酸素耐性が低いことの困難さ、最適の酵素変異体作成方法(発現系)をいかに早く、効率よく開発するか課題、などを始め多くの困難が予想された。研究開始時の異動や研究環境の整備などによる若干の誘導期間はあったが、これまでに細胞外再構成系において、光照射によるギ酸生産に成功し、細胞内でも、シアノバクテリア・ヘテロシスト内で FDH 変異体を過剰発現させ、光照射によるギ酸生成に成功している。さらに進んで、光化学系 I (PSI) が光照射で汲み出す還元力の高い電子を直接利用し得る Mo-FDH 系の構築に挑戦した。光化学系 I (PSI) と PsaE サブユニットを介した Mo-FDH 直接接合系ではより高効率のギ酸生成が期待される。さきがけ研究期間の後半は、多くの困難を逐次、タンパク質工学手法を駆使し熱意溢れる研究努力と科学センスで見事に乗り切り Mo-FDH 系でも光照射によるギ酸生産に成功した。ギ酸生成以外に、水素発生、イソプレノイド生成への取り組みも同時進行させており興味深い多くの成果が得られている。特に水素生成に関連する[NiFe]-ヒドロゲナーゼについて、変異株でその活性を2倍近くに高めることに成功している。これは分子進化工学の実験の成功例として特筆されるものであろう。以上のように井原博士は研究開始当初の誘導期間を経て、着実に各段階を踏んで加速度的に研究進展させておりその熱意溢れる挑戦姿勢は高く評価される。さらなる高効率化や細胞内で生成したギ酸を細胞から排出する経路の構築など今後の一層の加速度的な研究進展を期待している。

5. 主な研究成果リスト

(1)論文(原著論文)発表

1. R. Abe, H. Ohashi, I. Iijima, M. Ihara, H. Takagi, T. Hoshaka and H. Ueda ““Quenchbodies”:
quench-based antibody probes that show antigen-dependent fluorescence” J. Am. Chem.
Soc. 2011, 133, 17386–17394.
2. M. Ihara, Y. Kawano, M. Urano and A. Okabe “Light Driven CO₂ Fixation by Using
Cyanobacterial Photosystem I and NADPH-dependent Formate Dehydrogenase” PLOS one,
2013, 8, e71581.
3. Y. Kawano, M. Sekine and M. Ihara “Identification and characterization of UDP-glucose
pyrophosphorylase in Anabaena sp. PCC 7120” J. Biosci. Bioeng., 2013, 117, 531–538.
4. K. Kudoh, Y. Kawano, S. Hotta, M. Sekine, T. Watanabe and M. Ihara “Prerequisite for highly
efficient isoprenoid production by cyanobacteria discovered through the over-expression of
1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate synthase and carbon allocation analysis” J. Biosci. Bioeng.,
2014, 118, 20–28.

(2)特許出願

研究期間累積件数:4件(内、平成27年6月現在で非公開2件)

1.

発明者:伊原正喜、河野祐介

発明の名称:[NiFe]-ヒドロゲナーゼの発現系

出願人:信州大学

出願日:平成25年12月

出願番号:特願2013-249437

2.

発明者:伊原正喜、河野祐介

発明の名称:可溶型ギ酸デヒドロゲナーゼの発現系

出願人:信州大学

出願日:平成25年12月

出願番号:特願2013-255225

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

1. M. Ihara “Protein engineering to create algae with high formate productivity” International Symposium on Chemical Conversion of Light Energy, Kinki University, Mar 2010.

2. 伊原正喜、河野祐介「光合成を利用した直接的光-水素変換系の設計」CREST 有機太陽電池シンポジウム、京都大学、2011年7月

3. 伊原正喜「藻類の物質生産能の改良」理化学研究所バイオナノ科学セミナー、理化学研究所和光本所、2011年11月

4. M. Ihara “Protein engineering to create algae with high formate productivity” 「人工光合成研究の最前線-挑戦する若手研究者-」JST さきがけ「光エネルギーと物質変換」研究成果報告会、立命館大学、2013年3月



5. 伊原正喜「分子進化工学的手法によるギ酸デヒドロゲナーゼ及びヒドロゲナーゼの改良」理研シンポジウム第9回「バイオものづくり」シンポジウム、理化学研究所和光本所、2014年3月
6. M. Ihara “Protein Engineering to create algae with high formate productivity” The 2013 OCARINA Annual International Meeting, Osaka City University, Mar 2014.
7. M. Ihara “Prerequisite for highly efficient isoprenoid production by cyanobacteria discovered through the over-expression of 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate synthase and carbon allocation analysis” Second International Symposium on ENERGY CHALLENGES & MECHANICS, Aberdeen, Scotland, Arg 2014.
8. 伊原正喜「光化学系Iと酸化還元酵素との組み合わせによる水素およびギ酸光駆動生産系」2011世界化学年”記念 JST さきがけ研究領域合同シンポジウム-人類の危機に挑む研究開発 光と太陽エネルギー-、神奈川大学横浜キャンパス、2011年3月
9. 河野祐介、早乙女敏行、伊原正喜、池内昌彦「好熱性シアノバクテリアにおけるセルロース合成とその機能」日本光合成学会第2回年会、京都大学百周年時計台記念館、2011年6月
10. 伊原正喜「光合成と酸化還元酵素の新たな組み合わせによる光駆動物質生産系の設計」日本光合成学会第2回年会、京都大学百周年時計台記念館、2011年6月
11. 伊原正喜「光合成と酸化還元酵素の新たな組み合わせによる光駆動物質生産系の設計」第1回「フォーラム：人工光合成」、科学技術振興機構東京本部、2012年1月
12. M. Ihara “Light-driven hydrogen and formate generation systems composed of photosystem I and redox enzymes” JST-PRESTO International Joint Symposium on Photo-Science Leading to a Sustainable Society: Environment, Energy, Functional Materials、慶応義塾大学日吉キャンパス、2012年3月
13. 河野祐介、伊原正喜「シアノバクテリアにおける糖ヌクレオチドピロホスホラーゼの基質特異性とセルロース大量生産株の設計」日本光合成学会第3回年会、東京工業大学すずかけホール、2012年6月
14. 藤原祐輔、河野祐介、伊原正喜「Anabaena sp. PCC 7120 ヘテロシスト内におけるヒドロゲナーゼ-光化学系I複合体構築」日本光合成学会第3回年会、東京工業大学すずかけホール、2012年6月
15. 工藤海、河野祐介、伊原正喜「Synechocystis sp. PCC 6803 の非メバロン酸経路変化によるイソプレノイド生産増加」日本光合成学会第3回年会、東京工業大学すずかけホール、2012年6月
16. 伊原正喜「蛋白質工学的アプローチによる高効率ギ酸生産藻類の設計」第2回「フォーラム：人工光合成」、東京工業大学蔵前会館、2012年12月
17. 工藤海、河野祐介、伊原正喜「Synechocystis sp. PCC 6803 の非メバロン酸経路変化によるイソプレノイド生産増加」日本光合成学会第4回年会、名古屋大学野依記念学術交流館、2013年5月
18. 工藤海、河野祐介、伊原正喜、大津巖生、高木博史「Anabaena sp. PCC 7120 におけるUDP グルコースピロホスホラーゼの同定と生化学的解析」日本光合成学会第4回年会、名古屋大学野依記念学術交流館、2013年5月
19. 藤原祐輔、河野祐介、伊原正喜「Anabaena sp. PCC 7120 ヘテロシスト内におけるヒドロ

ゲナーゼ-光化学系 I 複合体構築」日本光合成学会第4回年会、名古屋大学野依記念学術交流館、2013年5月

20. 伊原正喜「可溶性ギ酸デヒドロゲナーゼの創出」第3回「フォーラム：人工光合成」、立命館大学、2013年10月

21. 伊原正喜「蛋白質工学的アプローチによる高効率ギ酸生産藻類の設計」第4回「フォーラム：人工光合成」、名古屋大学東山キャンパス、2014年3月

22. M. Ihara “Protein engineering to create algae with high formate productivity” 「人工光合成研究の最前線 -挑戦する若手研究者-」JST さきがけ「光エネルギーと物質変換」研究成果報告会、名古屋大学東山キャンパス、2014年3月

23. 工藤海、河野祐介、堀田真吾、関根翠、渡邊敬文、伊原正喜「シアノバクテリアにおけるイソプレノイド生産を目指した DXS 過剰発現および炭素局在解析」日本光合成学会第5回年会、近畿大学奈良キャンパス、2014年5月

24. 関根翠、河野祐介、工藤海、伊原正喜「Anabaena sp. PCC7120 におけるセルロース生産能の改善」日本光合成学会第5回年会、近畿大学奈良キャンパス、2014年5月

25. M. Ihara, T. Kudo, M. Mizuguchi, I. Matsuno “Soluble-type Escherichia coli Formate dehydrogenase and its application for the light-driven carbon dioxide reduction” 2014 International Conference on Artificial Photosynthesis, Awaji Umebutai International Conference Center, Nov 2014.

研究報告書

「[Fe]-ヒドロゲナーゼの活性中心鉄錯体の生合成」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成 21 年 10 月～平成 27 年 3 月

研究者: 嶋 盛吾

1. 研究のねらい

水素やメタンは有望な再生可能エネルギーとして注目され、多くの生産利用技術が提案されている。なかでも、太陽光を利用した水素生産および有用物質の生産は、無公害で理想的なエネルギー変換技術として実現が望まれている。しかしその実用化に向けていくつもの基盤技術の開発が必要である。そのひとつとして、安価高性能の触媒の開発が上げられる。例えば水素生産あるいは燃料電池触媒として白金が多く使われてきた。しかし白金は高価であるだけでなく埋蔵量に限りがあることから、水素生産利用技術の実用化には新しい触媒の開発が必要である。微生物の生産する酵素ヒドロゲナーゼは水素の発生と利用を触媒することから、白金に替わるものとして注目され、その活性中心の構造と機能およびモデル化合物合成の研究が活発になされている。また微生物のメタン代謝に含まれる酵素には、光エネルギーの物質変換技術開発の手本になるような反応を促進するものがある。

酵素機能を利用した水素あるいはメタンの生産と利用に向けて、本研究ではメタン代謝微生物に含まれる複数の酵素を研究対象とする。微生物のメタン生成代謝に必要な還元力（電子）は水素ガスから得られるが、水素ガスから還元力を取り出す反応を促進する酵素がヒドロゲナーゼである。[Fe]-ヒドロゲナーゼと呼ばれる酵素の活性中心を構成する FeGP-コファクターは担当研究者のグループにより発見された新規な有機鉄錯体である。本研究ではまず FeGP-コファクターの構造を明らかにし、本酵素のさらなる活用のために、反応促進作用における本鉄錯体の機能解析を実施する。最終的な研究目標は FeGP コファクターの生合成機構の解明である。この研究結果から新しい触媒物質の合成指針を得ることができ、本鉄錯体を模擬したモデル化合物合成の化学的基盤を構築できる。

メタン代謝には他にも有用な酵素が多く含まれている。メタン菌に含まれるもうひとつのヒドロゲナーゼである [NiFe]-ヒドロゲナーゼは水素ガスを分解して電子を取り出すことができる。その逆反応を利用して電子と水素イオンから水素ガスを生産することもできる。また、メチル補酵素 M 還元酵素はメタンの生成と分解を促進することができる。本研究ではこれらの酵素の構造と機能を総合的に理解することも重要な研究要素として位置づけた。

2. 研究成果

(1) 概要

質量分析および赤外分光分析を用いて、FeGP コファクターの化学構造を決定することに成功した [2,3] (引用は(5)主な成果リストの原著論文番号)。触媒機能を担っている特殊な鉄錯体構造を解明できたことで、触媒機能ならびに生合成機構の解明に向けての基礎を確立した。酵素反応機構を研究するため、反応阻害剤を探索し、イソシアニド化合物が[Fe]-ヒドロゲナーゼ

を強力に阻害することを発見し、イソシアニドが結合した [Fe]-ヒドロゲナーゼの結晶構造を解明し、触媒機構を提案した[1,4,5]。[Fe]-ヒドロゲナーゼを生産するメタン生成菌を安定同位体で標識し、FeGP コファクターへの取り込みを調べた。標識元素の位置を質量分析と NMR で解析し、逆合成によって生合成材料を解明した[8]。さらに FeGP コファクターの生合成を担う酵素 (HcgB、HcgC、HcgD、HcgE および HcgF)を大腸菌で生産し、「構造ゲノム学手法」を用いて酵素タンパク質のX線結晶構造から機能を解明した [6,7] (プレスリリース第992号 平成25年10月29日) (投稿中および投稿準備中結果を含む)。

メタン代謝に含まれる酵素の構造と機能を明らかにするため、メタン生成菌に含まれる酵素および黒海海底の微生物マットに生息する嫌氣的メタン分解菌の酵素の構造と機能を明らかにした [10,12,13]。特に嫌氣的メタン酸化酵素の結晶構造解析[12]は、嫌氣的メタン酸化の反応基質の構造解明に成功した点で重要であった(プレスリリース第 848 号 平成23年11月25日)。メタン生成微生物のヒドロゲナーゼのひとつである F₄₂₀還元[NiFe]-ヒドロゲナーゼの立体構造を電子顕微鏡解析により明らかにした。本酵素は、酵素としては非常に珍しい内部に空洞をもつ球状構造(ナノボール構造)を持つことを発見した[9,11]。また、メタン生成菌のエネルギー獲得反応において重要な役割を担う膜結合メチル基転移酵素の部分構造を結晶構造解析で解明した(投稿準備中)。さらに化学的に合成した FeGP コファクターの類似体をタンパク質に導入し、半合成[Fe]-ヒドロゲナーゼの作製に成功した (投稿中)。

(2) 詳細

研究テーマ A 「FeGP コファクターの構造と機能」

質量分析および赤外分光分析を用いた実験で、FeGP コファクターに含まれる鉄錯体の化学構造を決定した(図 1)。知られている生体物質でアシル炭素配位子を含む錯体は FeGP コファクターだけであり、その触媒機能ならびに生合成機構が注目された[2,3]。イソシアニドが本酵素を特異的に阻害することを発見し[4]、イソシアニドが結合した[Fe]-ヒドロゲナーゼの結晶構造を解明し、本酵素の触媒機構を提案した[1,5]。メタン菌には生育のための炭素源として酢酸などを細胞内に取り込むこともものがある。数種類のメタン菌を利用して FeGP-コファクターに含まれるグアニリルピリジノールおよび一酸化炭素鉄配位子への ¹³C 炭素安定同位体標識した化学物質の取り込みを調べた。標識元素の位置を質量分析と NMR で解析し、逆合成によって生合成経路を推定した [8]。FeGP-コファクターのリング構造の生合成材料が 2,3-ジヒドロキシ-4-オキソペンタノエートとアスパラギン酸であることを提案した。またメチル基のひとつがメチオニンから生成することが解明された。一酸化炭素およびアシル配位子は CO₂から生成することが示された。

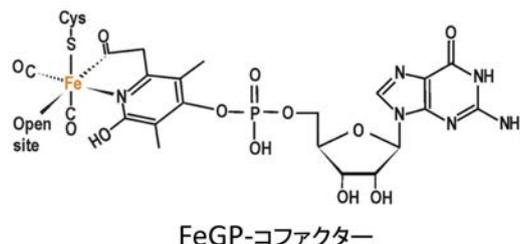


図 1 本さきがけ研究で証明された FeGP コファクターの化学構造

研究テーマ B 「FeGP コファクター生合成経路の解明」

Hcg と呼ばれる酵素群がメタン菌の生体内で FeGP コファクターを作ると推定されていた。タンパク質である酵素の機能を推定するために、一般的にアミノ酸配列を既知の酵素と比較する方法が用いられるが、その手法では祖先が異なるたんぱく質同士の場合、機能が似ていてもアミノ酸配列は似ていないため、実際にたんぱく質の機能を解明することは困難であった。本研究では立体構造が類似しているたんぱく質は同じ機能を持つことに着目し、立体構造からたんぱく質の機能を探索する構造ゲノム学の手法を用いて、HcgB タンパク質の機能を予測し、化学分析と X 線結晶構造解析によってその機能を証明した [7] (図 2)。具体的には、HcgB は FeGP コファクターの有機部分である「グアニリルピリジノール」を完成する反応を促進する機能を持つことが分かり、さらにこの酵素で合成された物質の構造も明らかになった。この構造ゲノム学のコンセプトを応用し、さらに HcgD [6]、HcgE および HcgF の機能を結晶学的な手法と融合することで機能を解明できた (投稿中)。

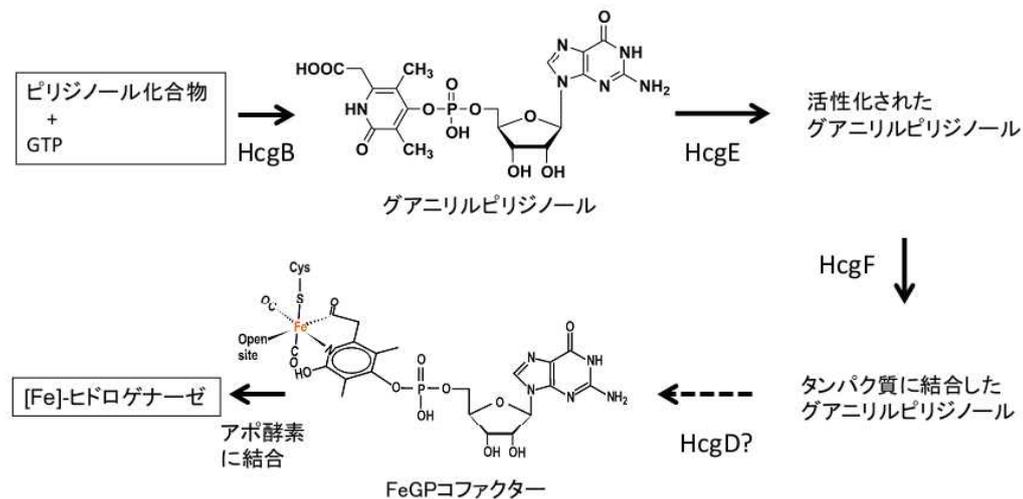


図 2 本さがけ研究で解明された FeGP コファクター生合成経路

研究テーマ C 「メタン代謝酵素の構造と機能」

メタン代謝に含まれる酵素の反応機構を解明し、人工光合成に向けての基盤的情報を得るため、これらの代謝に含まれる重要な酵素の構造と機能を明らかにした。嫌気メタン酸化の研究材料としては黒海微生物マットを使用し [13]、メチル補酵素 M 還元酵素の立体構造を明らかにした [12]。またメタン生成菌の F_{420} 還元性 [NiFe] ヒドロゲナーゼの立体構造を明らかにした [9,11]。メタン生成代謝でエネルギー獲得反応に直接関わっている膜結合メチル基転移酵素のなかでメチル基転移反応を触媒するタンパク質の結晶構造解析に成功した (投稿準備中)。本研究成果は、微生物のエネルギー獲得反応を理解する上において重要な成果である。

メチル補酵素 M 還元酵素の結晶構造

酸素がない海洋環境でメタンを分解する微生物酵素の立体構造を、画期的な手法で明らか

にした[12]。メタンは地球上のさまざまな自然環境で微生物の働きによって生産されている。海洋でも海底に堆積した有機物を原料にメタンが発生しているが、酸素がない条件でも微生物がメタンを分解していることが知られてきた。これまでに「メタン分解の最初の反応は、メタン生成反応を逆転させたような反応である」という仮説が提唱されてきたが、技術的な困難から証明されていなかった。我々はメタン分解反応を行っている黒海海底の微生物層を採取し、ある程度精製しただけの、混ざりものがある試料からメチル補酵素 M 還元酵素だけを結晶化することに成功し、X線解析によってその立体構造を世界で初めて明らかにした(図 3)。最も重要な発見は、無酸素メタン分解の最初の化学反応が明らかにできたことである。またメタン生成微生物に存在するメチル補酵素 M 還元酵素の解析を進め、新しいアミノ酸残基を発見した(投稿準備中)。

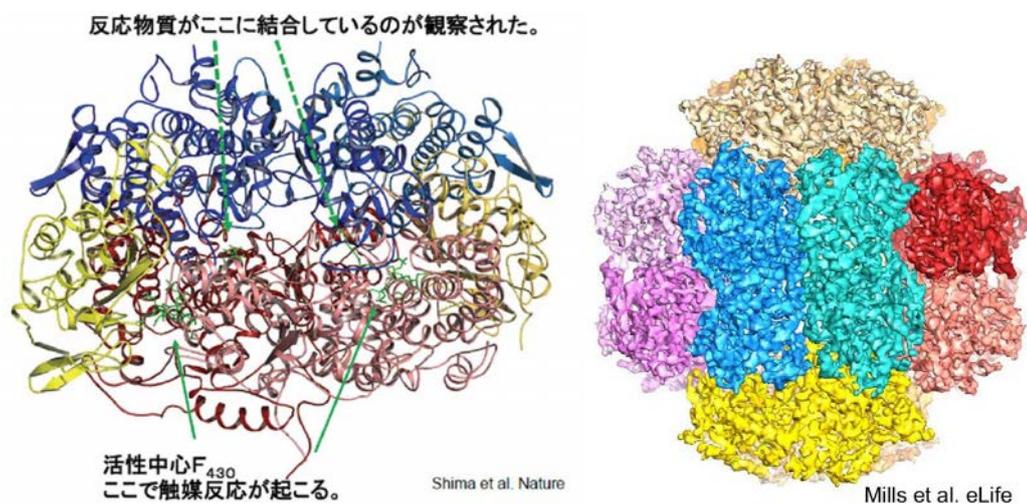


図 3 メタンを無酸素条件で酸化するメチル補酵素 M 還元酵素(左)と F_{420} 還元性[NiFe]ヒドロゲナーゼ(右)の構造モデル

F_{420} 還元性[NiFe]ヒドロゲナーゼの構造解析

メタン生成微生物では[Fe]-ヒドロゲナーゼとともに、[NiFe]-ヒドロゲナーゼと呼ばれる酵素も働いている。[NiFe]-ヒドロゲナーゼの活性中心はニッケルと鉄からなる二核の金属錯体であることからこの名前がついている。メタン生成菌の電子運搬物質 F_{420} を還元できる [NiFe]-ヒドロゲナーゼ構造は電子顕微鏡解析と X 線結晶構造解析によって明らかにした(図 3)[9,11]。本酵素は非常に珍しいナノボール型構造を有していることを発見した。[NiFe]-ヒドロゲナーゼは水素ガスから得られたヒドリドから電子を引き抜き電子運搬物質に渡す反応を触媒する。逆反応も触媒し、その場合電子キャリアーの電子をプロトンに渡して水素ガスを発生する。その触媒機能は人工合成において白金に替わる水素ガス発生触媒として応用できる可能性がある。

3. 今後の展開

FeGP コファクターの生合成に関与する Hcg タンパク質のうち、HcgA と HcgG の結晶構造解析を

行う。構造ゲノム学手法による解析で他の Hcg タンパク質と同様に機能解析を行う。遺伝子破壊実験を並行して行い、Hcgタンパク質の詳細な解析を行う。これまでに得られた知見を総合して FeGP コファクターの試験管内での合成を試みる。化学合成した新しい形態のコファクターを作成し、コファクターの構造と機能の関係を明らかにする。試験管内合成系と化学合成系を組み合わせる様々な形態のコファクターを半合成的に作成し、高性能の水素変換触媒を構築する。

メタン代謝酵素の解析に関しては、膜結合メチル基転移酵素とヘテロジスルフィド還元酵素の結晶構造を解析し、酵素触媒機構を解明する。これらの酵素はメチル補酵素 M 還元酵素とともにメタン生成と嫌気メタン酸化代謝の中核を担う酵素であり、その触媒機構の総理解は、今後の人工光合成におけるメタン生成反応に役立つだけでなく、メタンは強力な温室効果ガスである懸念があることから、将来の地球環境問題を考える上でも重要となる。

4. 評価

(1) 自己評価

(研究者)

アシル配位子や CO 配位子を含む FeGP コファクターの特殊な錯体構造を解明できたことは、本さがけ研究の重要な出発点であった。第一目標である「[Fe]-ヒドロゲナーゼの活性中心鉄錯体の生合成」については、生合成機構のほぼ全容を明らかにすることができた。構造ゲノム学手法をうまく活用できたことが、その主な理由であると考えられる。構造ゲノム学手法が提唱されてから 20 年近くなり、コンセプトとしては新しくはないが、実際にタンパク質の機能を明らかにできた事例は極めて少なかった。今回は、酵素の反応物質と酵素タンパク質をいっしょに結晶化(共結晶化)することで、触媒反応に関する有用な情報が得られたことが大きかった。FeGP コファクターおよびその類似物質を将来活用していくための触媒化学および合成化学の基盤づくりができたと考えられる。また、本さがけ研究で活用した酵素タンパク質機能解析法は他分野の未知タンパク質の機能解析に役立つだろう。

メタン代謝系酵素の結晶構造研究にも、新しい研究手法を採用した。嫌気メタン酸化を促進するメチル補酵素 M 還元酵素を、メタン分解反応を行っている黒海海底の微生物層から直接採取し、混ざりものが残る試料からメチル補酵素 M 還元酵素だけを結晶化することに成功し、注目を集めた。また、F₄₂₀還元性[NiFe]ヒドロゲナーゼ巨大複合体を電子顕微鏡で世界最高レベルの解像度で解析することに成功し、同時に X 線結晶構造解析で詳細な触媒機構を解明できたことは、ヒドロゲナーゼ分野のみならず、タンパク質構造解析全般に関しても大きなインパクトを与えたと考えている。

(2) 研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

(研究総括)

本研究は、メタン生産菌内での多電子変換、ヒドリド移動などの解明を手掛かりに「自然を理解し」、「自然に学ぶ」視点から、人工光合成研究の中で最も重要な反応のひとつである CO₂ の多電子還元触媒反応を総合的に理解することに挑戦する大変意欲的な取り組みである。研究提案が採択されるまでの嶋博士の[Fe]-ヒドロゲナーゼに関する最先端の研究実績を基礎

に、研究開始から短期間に、既にメタン生産菌で発見された酵素[Fe]-ヒドロゲナーゼの活性中心である鉄錯体(FeGP-コファクター)の構造解明に初めて成功し、その生合成経路の全容をほぼ解明した。また、メタン生成の逆反応と推定されるメタン代謝酵素を黒海海底微生物から直接採取し嫌気メタン酸化を促進するメチル補酵素M還元酵素を、混合物状態の試料からメチル補酵素M還元酵素だけを結晶化することに成功し、そのX線構造解析に成功するという大変大きいインパクトを与える研究成果をあげている。[Fe]-ヒドロゲナーゼと共にメタン生成微生物の中で重要なもう一つの酵素[NiFe]-ヒドロゲナーゼが大変興味深い「ナノボール」構造を有することも発見している。さらに進んでは、化学的に合成したFeGPコファクターの類似体をタンパク質に導入再構成し、半合成[Fe]-ヒドロゲナーゼの作製に成功するなど、他にも多くの、興味深い研究成果をあげつつある。このように研究進展は瞠目すべき速度で極めて順調に進んでいると高く評価される。今後、生体内でのCO₂還元 of 総合理解に向けて一層の加速度的研究進展を期待している。人工光合成系では可視光照射により1電子単位の電荷分離を達成した後、如何にして酸化側、還元側で多電子変換過程を進行させ得るかが最大の課題の一つであるが、[Fe]-ヒドロゲナーゼ研究の第一人者と言える嶋博士の本さきがけ研究で得られた研究成果は人工光合成系の還元系設計に極めて大きい指導原理を提示している。異分野融合、Multiple cross-fertilization、の視点においても、さきがけ領域内の光合成系研究者と人工光合成系研究者の相互啓発を可能にした嶋博士の研究展開を研究総括として高く評価している。

5. 主な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

研究テーマ A 「FeGP コファクターの構造と機能」

1. Tamura, H., Salomone-Stagni, M., Fujishiro, T., Warkentin, E., Meyer-Klaucke, W., Ermler, U. & Shima, S. (2013) Crystal structures of [Fe]-hydrogenase in complex with inhibitory isocyanides: implications for H₂-activation site. *Angew. Chem. Int. Ed.* 52, 9656 -9659
2. Shima, S., Schick, M., Kahnt, J., Ataka, K., Steinbach, K. & Linne, U. (2012) Evidence for acyl-iron ligation in the active site of [Fe]-hydrogenase provided by mass spectrometry and infrared spectroscopy. *Dalton Trans.* 41, 767-771.
3. Salomone-Stagni, M., Stellato, F., C. Matthew Whaley, M., Vogt, S., Morante, S., Shima, S., Rauchfuss, T.B. & Meyer-Klaucke, W. (2010) The iron-site structure of [Fe]-hydrogenase and model systems: an X-ray absorption near edge spectroscopy study. *Dalton Trans.* 39, 3057-3064.
4. Shima, S. & Ataka, K. (2011) Isocyanides inhibit [Fe]-hydrogenase with very high affinity. *FEBS Lett.* 585, 353-356.
5. Shima, S., Vogt, S., Göbels, A. & Bill E. (2010) Iron-chromophore circular dichroism of [Fe]-hydrogenase: the conformational change required for H₂ activation. *Angew.*

研究テーマ B 「FeGP-コファクター生合成経路の解明」

6. Fujishiro, T., Ermler, U. Shima, S. (2014) A possible iron delivery function of the dinuclear iron center of HcgD in [Fe]-hydrogenase cofactor biosynthesis. FEBS Lett. 588: 2789–2793.
7. Fujishiro, T., Tamura, H., Schick, M., Kahnt, J., Xie, X., Ermler, U. & Shima, S. (2013) Identification of the HcgB enzyme in [Fe]-hydrogenase-cofactor biosynthesis. Angew. Chem. Int. Ed. 52, 12555–12558.
8. Schick, M., Xie, X., Ataka, K., Kahnt, J., Linne, U. and Shima, S. (2012) Biosynthesis of the iron-guanylylpyridinol cofactor of [Fe]-hydrogenase in methanogenic archaea as elucidated by stable-isotope labeling. J. Am. Chem. Soc. 134, 3271–3280.

研究テーマ C 「メタン代謝酵素の構造と機能」

9. Vitt, S., Ma, K., Warkentin, E., Moll, J., Pierik, A., Shima, S. & Ermler, U. (2014) The F_{420} -reducing [NiFe] hydrogenase complex from Methanothermobacter marburgensis, the first X-ray structure of a group 3 family member. J. Mol. Biol. 426, 2813–2826.
10. Kojima, H., Moll, J., Kahnt, J., Fukui, M. & Shima, S. (2014) A reversed genetic approach reveals the coenzyme specificity and other catalytic properties of three enzymes putatively involved in anaerobic oxidation of methane with sulfate. Environ. Microbiol 16, 3431–3442. .
11. Mills, D.J., Vitt, S., Strauss, M., Shima, S. & Vonck, J. (2013) De novo modeling of the F_{420} -reducing [NiFe]-hydrogenase from a methanogenic archaeon by cryo-electron microscopy. eLife, 2, e00218.
12. Shima, S., Krueger, M., Weinert, T. Demmer, U., Kahnt, J., Thauer, R.K. & Ermler, U. (2012) Structure of a methyl-coenzyme M reductase from Black Sea mats that oxidize methane anaerobically. Nature 481, 98–101.
13. Basen, M., Krüger, M., Milucka, J., Kuever, J., Kahnt, J., Grundmann, O., Meyerdierks, A., Widdel, F. & Shima, S. (2011) Bacterial enzymes for dissimilatory sulfate reduction in a marine microbial mat (Black Sea) mediating anaerobic oxidation of methane. Environ. Microbiol. 13, 1370–1379.

(2)特許出願

研究期間累積件数: 該当なし

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

主要な学会発表

1. Shima, S. Gordon Research Conference on “Crystal structure of F_{420} -reducing

[NiFe]-hydrogenase from Methanothermobacter marburgensis”, 9th July 2013, The 10th International Hydrogenase Conference in Szeged, Hungary.
2. Shima, S. Gordon Research Conference on “Molecular Basis of Microbial One-Carbon Metabolism”, 6th August 2012, Bates College, Lewiston, ME, USA (招待講演)
3. Shima, S. The 3rd international conference on joint project of chemical synthesis core research Institutions, 8th January 2010, Nagoya, Japan (招待講演)
4. Shima, S. International hydrogenase conference, 2010年6月28日, Uppsala, Sweden (招待講演)
受賞
1. ドイツ語圏日本学術振興会研究者同窓会賞 (平成25年4月26日受賞)
2. 科学技術振興機構「Chemical Conversion of Light Energy Prize」(平成25年5月19日受賞)
プレスリリース
1. メタン生成酵素の親類がメタンを分解 – 海底の微生物層の酵素を結晶化し、立体構造を解明 – 科学技術振興機構報 第848号 平成23年11月25日
2. 水素変換酵素の活性中心を合成する酵素を発見 – 生物機能を模擬した人工触媒の開発へ前進 – 科学技術振興機構報 第992号 平成25年10月29日
総説
1. 嶋 盛吾(2014) メタン生成と嫌気メタン酸化の酵素化学. 化学と生物 52, 307-312.
2. Shima, S., Fujishiro, T., & Ermler, U. (2014) Structure and function of [Fe]-hydrogenase and biosynthesis of the FeGP cofactor. In Biohydrogen (M. Roegner ed.) De Gruyter, Berlin, Germany.
3. 嶋 盛吾(2014) 無酸素下における生命:メタン生成菌の代謝と酵素, CSJ カレントレビュー 17, 極限環境の生命化学, 化学同人.
4. 嶋 盛吾, ウルリッヒ・エルムラー(2012)嫌氣的メタン酸化を行う黒海微生物マットのメチル補酵素 M 還元酵素: 環境サンプルの生化学と結晶構造解析. 微生物生態学会誌 27, 55-62.
5. Shima, S. & Ermler U. (2011) Structure and function of [Fe]-hydrogenase and its iron-guanylylpyridinol (FeGP) cofactor. Eur. J. Inorg. Chem. 2011, 963-972.
6. Shima, S., Schick, M. & Tamura, H. (2011) Preparation of [Fe]-hydrogenase from methanogenic archaea. Methods Enzymol. 494, 119-137.
7. 嶋 盛吾 (2011) [Fe]-ヒドロゲナーゼの機能の活用. 化学経済 58, 93-94.
8. Thauer, R.K., Kaster, A.-K., Goenrich, M., Schick, M., Hiromoto, T. & Shima, S. (2010) Hydrogenases from methanogenic archaea, nickel, a novel cofactor and H ₂ -storage. Ann. Rev. Biochem. 79, 507-536.

研究報告書

「光化学系 II 複合体の酸素発生反応の構造化学的手法による原理解明」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成 23 年 10 月～平成 27 年 3 月

研究者: 梅名 泰史

1. 研究のねらい

植物や藻類の光合成による酸素発生は、葉緑体や藻類のチラコイド膜に存在する光化学系 II タンパク質(PSII)による水分解に由来している。PSII は 20 個のヘテロなサブユニットタンパク質と 120 個以上の補欠分子が結合した分子量 350kDa の膜タンパク質複合体となっており、チラコイド膜に二量体を形成して存在している。PSII は光合成の光エネルギーから電子への変換を担っており、作り出された電子は生体還元力のニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸(NADPH)の生産に利用されている。また、水分解によって生じたプロトンはチラコイド膜内外に濃度勾配を作り出し、アデノシン三リン酸(ATP)の生合成に利用されている。これらの還元力 NADPH と生体エネルギー ATP は二酸化炭素の固定反応による炭水化物の生合成に利用されている。このことから、PSII は光合成の初期反応を担うタンパク質となっており、光合成を模倣するためには PSII の構造と機能の解明が不可欠となっている。

PSII 水分解反応の活性中心には、 Mn_4CaO_5 クラスターが触媒として存在しており、2011 年に本研究者らによる好熱性らん藻由来 PSII の 1.9 Å 分解能の結晶構造解析によって初めてその分子構造が明らかになった(Umena Y. *et al.*, *Nature*, 2011)。この原子レベル分解能の結晶構造により、触媒部位の詳細な立体配置と基質となる水分子の存在が明らかになったが、反応機構についてはまだ完全に解明されていない。反応機構を考える上で、4つの Mn 原子の酸化・還元状態を個別に理解することは、機構解明の大きな手がかりとなっている。

本研究は、Mn 金属原子の価数による X 線吸収能の違いに着目し、回折 X 線における X 線吸収効果を反映している異常分散項の電子密度マップ解析から、それぞれの Mn 原子の電子状態を特定し、 Mn_4CaO_5 クラスターの触媒としての役割を明らかにすることを目指している。また、反応が阻害される条件や、反応サイクルの中間状態にトラップさせた状態の PSII 結晶においても同様の分析を行い、立体構造の変化と Mn 金属原子の電子状態の変化から、多角的に反応機構の理解を目指している。これらの結果から、PSII で起こる光合成反応を人工的に利用するための手がかりを解明し、新たな人工光合成触媒の開発に貢献することを目標としている。

2. 研究成果

(1) 概要

本研究では金属原子の X 線吸収能の違いを利用した新たな結晶構造解析手法を用いることで、周辺の立体構造情報と金属原子の酸化状態の違いを同時に分析することができる。従来の X 線吸収スペクトルによる 1 次元的な分析では、複数の金属原子を個別に分析することができない。また、タンパク質結晶構造解析は低分子化合物結晶ほどの精度が得られないため、結合長のヤーテラー効果に基づく価数の同定は難しい。本研究では、金属原子の酸

化状態によって X 線吸収能が急激に変化する吸収端がシフトすることに着目し、吸収端波長の X 線による回折強度測定を行い、X 線吸収に対応する異常分散項の異常分散項差電子密度マップを計算して分析に用いる。酸化数に応じたこの電子密度マップの大きさの違いから Mn_4CaO_5 クラスターの4つの Mn 原子の酸化数を個別に検証し、水分子とアミノ酸残基の配位構造から PSII における水分解を構造化学的に解明することを目指している。

これまで、Mn 原子の K-吸収端波長 1.8921 Å による 2.5 Å 分解能の結晶構造解析により、それぞれの Mn 原子を個別に分析できる異常分散項差電子密度マップが得られた。その結果、他の波長では電子密度マップに差異が小さいことに対して、K-吸収端波長においては明確な違いが得られた【図 1】。このことから、この方法がタンパク質結晶内の金属原子の価数を分析できる新たな手法になると考えられる。しかし、Yano らは X 線吸収スペクトル分析(XAFS)から PSII の Mn_4CaO_5 クラスターは X 線によって還元されることを報告している(Yano, J, et al., PNAS, 2005)。そのため、できるだけ低線量の X 線によるデータ収集を行い、自然状態に近い分析を行わなければならない。そのため研究テーマ A「 Mn_4CaO_5 クラスターの電子状態を解析する手法の確立」では PSII 結晶の調製の最適化と低線量測定に向けた問題解決を試みた。研究テーマ B「反応阻害によって反応サイクルが固定された状態の解析」では、多角的に Mn_4CaO_5 クラスターによる水分解反応を理解するために様々な条件下における分析を計画した。これらの研究を踏まえて研究テーマ C「反応中間体の電子状態と反応進行に伴う活性中心の構造変化の検証」の研究を計画し反応機構解明のため反応中間状態の分析を計画した。

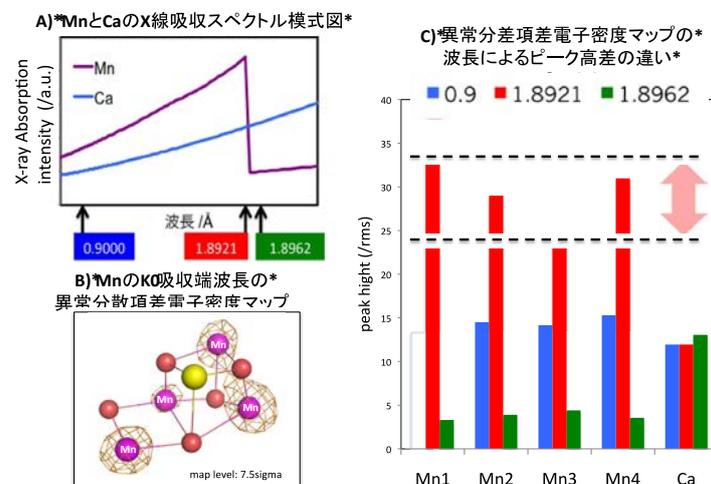


図 1. Mn_4CaO_5 クラスターに対する異常分散項差電子密度マップの X 線波長依存

(2) 詳細

研究テーマ A「 Mn_4CaO_5 クラスターの電子状態を解析する手法の確立」

本研究は結晶構造解析による分析をおこなうため、高品質な PSII 結晶を作り出す必要がある。そのため比較的安定に P 調製可能な好熱性ラン藻 *Thermosynechococcus vulcanus* 由来の PSII を精製して結晶化試料とした。結晶化に向けたラン藻の大量培養には蛍光灯光源を取り付けたインキュベーターで 40L の大量培養を行い、連続回収ローターで濃縮した。細胞壁を

溶解処理して凍結破砕することで大量のチラコイド膜画分を効率良く得ることができた。チラコイド膜画分の初期可溶化には比較的安価な界面活性剤ラウリルジメチルアミン N-オキシド(LDAO)を用い、次段階に N-ドデシル- β -D-マルトシド(β -DDM)を用いる多段階の可溶化操作により、大量の粗精製を経済的に行うことができた。精製試料は低温暗所にて陰イオン交換カラムクロマトグラフィーで精製試料を調製し、結晶化試料には低分子量の界面活性剤存在下で結晶化操作を行い、そこで得られた結晶を融解させて純度の高い最終試料とした。結晶化にはポリエチレングリコール(PEG)を沈殿剤として用い、オイルで封入するバッチ結晶化法を行うことで同質性の高い結晶調製を目指した。

<可視光によるPSII結晶の輪郭画像> & <近赤外線顕微鏡による透過画像>

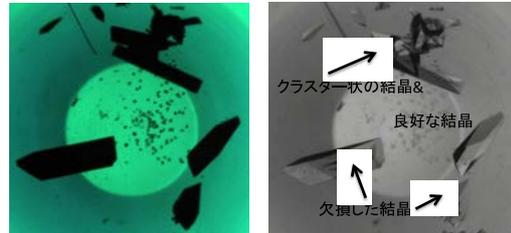
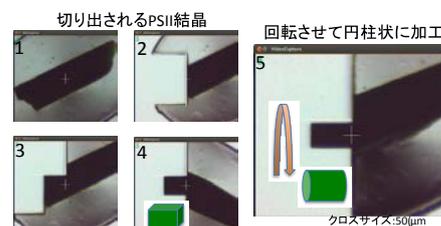


図2 近赤外線光による PSII 結晶の観察

PSII は光化学反応を行うため PSII 単量体当たり 35 個のクロロフィルと 11 個の β -カロテンなどの可視光領域に高い吸収帯をもつ色素分子を含んでいる。そのため、PSII 結晶は漆黒の結晶となり、観察時には光化学反応を抑制するため、吸収の穏やかな緑色弱光が用いられている。結晶構造解析において、結晶内部の亀裂や微結晶の付着は回折強度データの統計値の悪化や誤ったデータの混入の危険性がある。しかし、PSII 結晶の場合、結晶の輪郭しか確認できないためこれまで問題となっていた。本研究では近赤外線光による結晶観察装置を開発し、結晶内部の亀裂や微結晶が張りついた結晶の選別が行えるようになった【図 2】。

この装置は特許出願を果たし、様々な有色な結晶への応用が期待される。これらの調製法および結晶選別法によって得られた高品質な PSII 結晶を用いて、様々な X 線量による Mn の K-吸収端波長の回折強度データ収集を行い、クラスタの X 線還元による影響について検証を進めた。一方で、PSII 結晶を用いた X 線蛍光スペクトル分析を行い、X 線量増大に伴う Mn_4CaO_5 クラスタの X 線還元の状況を見積もった。これまで 3.6, 1.4, 0.6MGy の X 線量の回折強度データが得られた。



結晶の円柱加工部位のスケールリング因子の方位による変化と結晶学的統計値

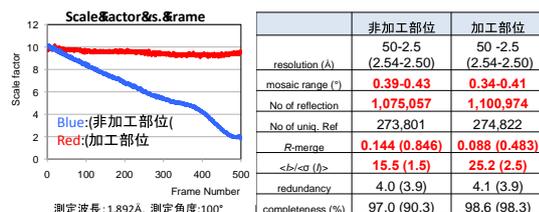


図3 PSII 結晶の円柱加工と結晶学的統計値

PSII の結晶構造は 0.8MGy であり、20-30%の X 線還元が指摘されていたことから、さらに低い線量でのデータ収集が必要となっていた。しかし、PSII 結晶はいびつな長方形の板状結晶であるため、複数の結晶に分散させてデータ収集を行うと結晶による X 線吸収による減衰に大きな違いが生じるため、統計処理が困難となる。そのため、播磨理化学研究所/SPring-8 の河野能顕博士と共同研究を結び深紫外レーザー加工機による PSII 結晶を円柱状に加工する手法を行った【図 3】。同形な結晶にすることで結晶及び母液による X 線吸収を均一にすることができ、全方位から均一な回折 X 線強度を収集することができた。この円柱加工された複数の結晶から回折強度データを分散して測定することで、これまで1つの結晶では困難であったより低線量のデータ収集が可能になり、現段階で 0.1MGy の回折強度データを得ることができ

た. その結果, Mn2, Mn3 に比べて Mn4 酸化数が低いことがわかった【図 4】. また, Mn1 はモノマー間に違いがあるがその原因はわかっていない. これらの結果から, 研究を今後進めるための技術と方法を確立することができた.

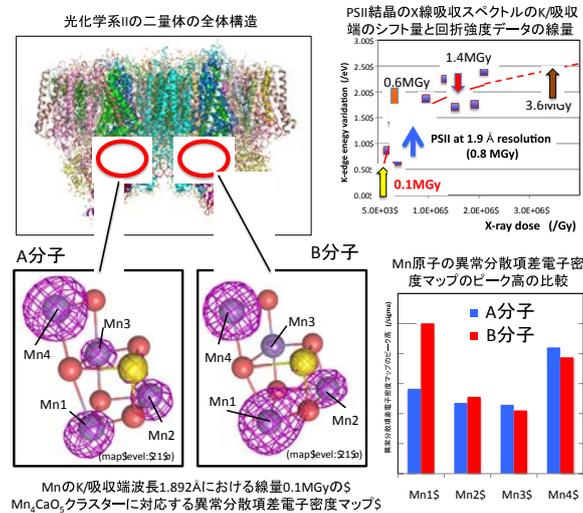


図 4 吸収端波長による低線量の異常分散項差電子密度マップ

研究テーマ B「反応阻害によって反応サイクルが固定された状態の解析」

PSII は酸性および塩基性条件下にすることで, 水分解反応が阻害されるが ESR による報告 (Bernat G. et al., *Biochemistry*, 2002) や赤外振動分光測定 の 報 告 (Suzuki H. et al., *Biochemistry*, 2005) から次段階の S2 状態までは pH に依存しないことが知られている. 本研究では, pH4.5 から pH9.0 の範囲で PSII の結晶化に成功し, また pH4.0 および pH9.0 の溶液に浸漬した結晶からそれぞれ 2.4 Å 分解能の

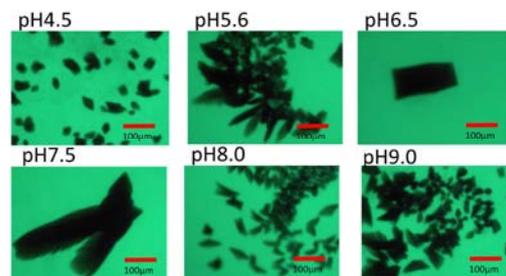


図 5 様々な pH 条件の PSII 結晶

回折強度データの収集に成功した. しかし, 現段階ではこれらの条件で Mn の K-吸収端波長 X 線によるデータ収集は達成できていない.

研究テーマ C「反応中間体の電子状態と反応進行に伴う活性中心の構造変化の検証」

現段階では, PSII の反応中間体試料を作り出すことはまだできていない. しかし, 研究テーマ A の結晶加工技術により PSII を任意の形状に加工できるため, 光が透過しにくい PSII 結晶を光化学反応が進行できる形状にすることが可能と思われる. また, 研究テーマ B の S2 反応中間状態をトラップできる結晶が調製できるため, 定常光を照射することによって S2 状態に固定することが可能と思われる. 今後の研究で, 中間状態の立体構造と活性中心の Mn₄CaO₅ クラスターの電子状態の変化から水分解反応の理解を進めることができるものと思われる.

3. 今後の展開

本研究によって、PSII の Mn_4CaO_5 クラスターの各 Mn 原子の電子状態を 3 次元の異常分散項差電子密度マップにより示すことができ、複数の金属原子の酸化状態を実験的に分析できる手法を開発することができた。クラスター内の Mn 原子は四価と三価の混合原子価状態であることが X 線吸収スペクトル分析の報告(Yachandara V.K, et al., *Science*, 1993)から示唆されている。しかし、現段階では X 線還元による影響が残っているため真の状態の評価は難しいが、相対的な強度比からの見積もりは可能と思われる。原子レベルの立体構造情報に各 Mn 原子の電子状態の情報が加わることで、 Mn_4CaO_5 クラスターの触媒機構の化学的な理解が進むものと思われる。

今後はテーマ A の手法を用いてより低線量の分析を継続して行う。また、テーマ B の成果である様々な状態におかれた PSII 結晶についても同様の分析を行い、4 つの Mn 原子それぞれの役割について多角的な検証を行う。また、テーマ C の光照射による反応中間体の分析を加工した結晶で実施し、水分解反応を構造化学的に解明することを目指す。

本研究で得られる PSII の Mn_4CaO_5 クラスターと周りのタンパク質の役割について理解を深めることで、自然界の光合成を模倣した不遍的に存在する金属を使った新たな人工光合成技術の発展に貢献したいと思う。

4. 評価

(1) 自己評価

(研究者)

本研究は光化学系 II タンパク質(PSII)の酸素発生反応の解明を目指すため、触媒として存在する Mn_4CaO_5 クラスターの 4 つの Mn 原子のそれぞれの電子状態を明らかにする新しい方法で取り組んだ。PSII は膜タンパク質複合体であるため、良質な結晶を再現良く調製することは本研究を進める上での課題の一つであった。また、研究で使用される Mn の吸収端波長は X 線吸収の影響の大きい長波長 X 線であるため、測定方法も課題であった。また、金属の活性中心は X 線による還元作用が大きいので、低線量のデータを得ることが最大の課題であった。研究テーマ A において、これらの課題を様々な新しい取り組みによりある程度まで解決することができたが、全く還元されていない自然な状態の分析までには至らなかった。研究テーマ B において様々な条件で PSII の結晶化の可能性が示し、研究を進める目処がついたが実現には間に合わなかった。また、テーマ C について当初の計画では吹きつけ装置による低温による固定を検討していたが、装置の不具合により開発が遅れて殆ど進めることができなかった。しかし、テーマ A の結晶加工やテーマ B の結晶条件によって新たな方法で中間体構造の分析を目指すことができるものと思われる。

本研究者は特任職員のため配属される学生がいないため単独で研究を進めていた。3 年次から技術補佐員を雇用して研究の効率化を試みたが、早い段階からの人員の拡充すべきであった。研究費の執行について、初年次から 2 年次にかけてテーマ全体を通しての課題である高品質な結晶化試料調製のための実験装置類の購入に利用し、十分に目的を達成することができた。3 年次および 4 年次は放射光における実験に対して様々な試薬および備品類を購入し、回折強度データ収集が行われた。また、3 年次に質量分析法による結晶化試料の評価のため、所属する研究機構に新設された質量分析器のタンパク質分析用のイオン化源を追加導入するように藤井律子准教授と共同で増額申請を行った。

本研究で使われた技術は、金属を持つタンパク質において、立体構造情報と共に金属原子

の電子状態を同時に理解できるため、多ヘムタンパク質や複数の鉄イオウクラスターを持つタンパク質などの研究への応用に繋がると思われる。また、本研究で特許申請された近赤外線を使った結晶観察装置は、タンパク質結晶以外にも有色の低分子化合物結晶の結晶面の特定や結晶選別に利用することが可能であり、また可視光に感受性のあるタンパク質や低分子の結晶観察にも有効であるため、新たな実験機器類として展開されることが期待される。

(2) 研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

(研究総括)

梅名博士は、天然の光合成を理解する上で、長年の懸案であった光化学系II(PSII)の詳細な構造を空間分解能1.93Åでの構造解析に初めて成功した研究者である。PSIIIにおける水分子の4電子酸化による酸素発生過程を駆動する Mn_4CaO_5 クラスターと周りのタンパク質の役割などを理解し光合成の不思議を解き明かす足がかりとなる画期的な研究成果をNature誌に筆頭著者として報告している。共同研究グループの沈教授(岡山大学)、神谷教授(大阪市立大学)、川上博士(大阪市立大学)と共に世界中から極めて高い評価を受けている研究者である。本さがけで研究では、上記の詳細な構造解析の実績を基礎に、さらに進んで、天然の光合成系の最も不思議な点、光合成の極意とされるPSII中のMnクラスターがどのようにして水分子を4電子酸化するのか、についてその分子機構を解明しようとしている。具体的には段階的な4光子の照射により電子伝達を經由してMnクラスターが+1、+2、+3、+4の高酸化状態に変化することは既に分かっているが、4個のMnイオンの中で、どのMnが最初に酸化され、次はどのMnが酸化されるのか、またそれに伴い、配位している水酸化物イオン、水、MnとMnの間の格子酸素原子がどのような変化を受けて、酸素発生につながっていくのかを、+1、+2、+3、+4の高酸化状態のそれぞれについて、無損傷X線構造解析を行うことにより解明しようとしている。極めて挑戦的な研究課題について、現在鋭意実験を進めている。これらが解明されれば、光合成の不思議の最も重要な点が明らかになることになり、極めてインパクトの大きい研究成果となる。

5. 主な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

1. Koua FH, Umena Y, Kawakami K, Shen JR. Structure of Sr-substituted photosystem II at 2.1 Å resolution and its implications in the mechanism of water oxidation. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 2013, **110**, 38890-3894
2. Umena, Y., Kawakami, K., Kamiya, N., Shen, J.R. Crystal structure of oxygen-evolving photosystem II at a resolution of 1.9 Å. 2011, *Nature.*, **473**, 55-60

(2) 特許出願

研究期間累積件数: 1 件

発 明 者: 梅名 泰史

発明の名称: 光合成関連蛋白質の X 線回折測定用結晶試料の選別方法およびそれに

用いる装置

出 願 人: 大阪市立大学

出 願 日: 2013/10/4

出 願 番 号: 特願コード 2013-209199

(2) その他の成果(主要な学会発表, 受賞, 著作物, プレスリリース等)

【学会発表】

- 1: 梅名泰史, 川上恵典, 沈建仁, 神谷信夫. 「光化学系 II における酸素発生中心 Mn_4CaO_5 クラスターの吸収端波長X線結晶構造解析」平成 26 年度日本結晶学会年会, 2014 年 11 月 1 日, 東京, (口頭発表)
- 2: Umena Y, Baba S, Kawano Y, Kumasaka T, Kamiya N, New approach in photosystem II crystal handlings: characterization using near-infrared imaging, dehydration of the glue coating crystals using humid gas and laser-processing to cylinder-shaped crystals, ICCBM15, September,(2014), Humburg, Germany, (ポスター)
- 3: Umena Y, Kawakami K, Shen J R and Kamiya N, Crystallographic studies on Mn atoms in Photosystem II using K-edge wavelength, Acta Cryst. A70, C350, (2014), Montreal, Canada (ポスター)
- 4: 梅名泰史, 清水恵理依, 川上恵典, 神谷信夫. 「不透明な光化学系 II 蛋白質結晶の赤外線による透過観察」平成25年度日本結晶学会年会, 2014年10月12日, 熊本 (ポスター)

【受賞】

- 1: 15th International Conference on the Crystallization of Biological Macromolecules (ICCBM15), Poster Award, 2014
- 2: 平成24年度日本光合成学会 特別賞 光と緑の賞「酸素発生光化学系 II の 1.9 Å 分解能における結晶構造」
- 3: 平成23年度日本結晶学会 進歩賞「酸素発生光化学系 II の構造と機能に関する結晶学的研究」

【著作】

- 1: 梅名泰史 神谷信夫,「酸素発生光合成を支える光化学系 II」, 日刊工業出版「光アライアンス」7月号, 10-14, (2014)
- 2: 梅名泰史 神谷信夫,「結晶構造から明らかにする光合成」現代化学, 3, 40-41, (2014)
- 3: 梅名泰史,「酸素発生光化学系 II の構造と機能に関する結晶学的研究」, 日本結晶学会誌 54, 247-254,(2012).

【アウトリーチ活動】

- 1: サイエンスカフェ: 科学と音楽「光合成の話とシター演奏」藤井律子准教授と共同開催
会場: 大阪「カフェレストランアリエッタ」, 2014年8月23日, 参加人数 26人
- 2: 第 84 回テクノラボツアー招待講演「人工光合成研究の最前線: 光合成を支える光化学系 II タンパク質の立体構造に基づくメカニズムの研究」, 大阪府立大学, 2013.5.28
- 3: 人工光合成フォーラム 2012 招待講演「光合成を支える光化学系 II タンパク質の立体構造に基づくメカニズムの研究」 大阪産業創造館, 2012.12.20

研究報告書

「ナノコンポジット光触媒を用いた反応サイト分離型 CO₂固定化系の構築」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成 23 年 10 月～平成 27 年 3 月

研究者: 横野 照尚

1. 研究のねらい

産業活動による大気中への CO₂ 排出による地球温暖化が、世界的に深刻な社会問題となっており、画期的な CO₂ 固定化(還元)技術の開発が急務である。光触媒材料は、太陽光などの光エネルギーを利用して酸化、還元反応を行う究極の環境調和型の触媒であり、CO₂ 固定化用(還元用)触媒への応用が期待されている。

我々は、低温プロセスである水熱合成法と形状制御剤あるいは化学エッチング剤を駆使して、酸化チタン光触媒のナノレベルの露出結晶面並びに反応性の制御技術を開発した。具体的には、露出結晶面のうち還元反応が進行する結晶面に CO₂ の還元助触媒を、また、酸化反応が進行する結晶面のみに遷移金属イオンを結晶面選択的に担持する技術を開発し、反応サイトがナノレベルで分離された CO₂ 還元用可視光応答型酸化チタン光触媒の開発を行うことを目指した。また、触媒の還元力のさらなる向上を目的として、酸化チタンより高い還元能力のグラファイト型窒化炭素と可視光下で水の酸化能力を有する酸化タングステン光触媒ナノ材料から構成されるナノコンポジット光触媒ナノ材料システムの開発を目指した。この反応システムに於いては、可視光照射下で還元反応はグラファイト状窒化炭素上で、同時に水の酸化反応を酸化タングステン上で進行する反応サイト分離型のナノコンポジット CO₂ 還元用光触媒の開発を目指した。

また、CO₂ 還元反応を連続的に進行させるために、光触媒電極の開発も同時に行った。まず、グラファイト型窒化炭素を各種導電性基盤に成膜する技術開発と可視光下での光電流応答・CO₂ の光電極反応による生成物解析について検討した。また、CO₂ 還元反応の性能向上を目指してグラファイト型窒化炭素へボロンのドーピング処理を行った電極を新たに調製した。更に、水溶液中の電極反応でプロトン還元と CO₂ 還元の反応が同時に進行することから、CO₂ の還元反応の選択性を向上させる目的で、ボロンドープグラファイト型窒化炭素電極表面に Au, Ag, Cu, Rh 等の助触媒を成膜する技術についても併せて開発した。

さらに、CO₂ 還元用の新たな p 型半導体材料の探索を精力的に推進した。その結果、同金属酸化物誘導体(CuCrO₂, Cu₃Nb₂O₈)を新たに発見した。可視光照射下の光電流値は、グラファイト型窒化炭素の 10～30 倍に達したが、銅の還元由来する光電流が大きく、生成物としては、電流値から予想される生成物の 5% 程度の CO が得られたのみであった。更に、金属助触媒や電子捕集層などの検討を進める予定である。

2. 研究成果

(1) 概要

水熱合成法と形状制御剤を駆使して、特定結晶面が露出したブルッカイト型及びアナターズ型酸化チタン光触媒ナノ粒子の開発に成功した。これらの露出結晶面を制御した酸化チタンナ

ノ粒子は紫外光照射下でCO₂を還元し、メタノールが主生成物として得られることが明らかになった。市販の酸化チタンではCO₂の還元反応はほとんど進行しないことから、結晶面の露出制御によりそれぞれの結晶面が酸化面、還元面として機能していることがCO₂の多電子還元反応に大きく貢献していることが明らかになった。さらに、露出結晶面のうち還元反応が進行する結晶面にCO₂の還元助触媒(Ag, Au, Rh)を結晶面選択的に担持する技術を開発した。その結果、AgおよびRhを担持することで、CO₂からメタノールへの変換する反応に於いて触媒活性が10倍程度向上し、その量子収率が約2.5%に達した。

つぎに、可視光照射下でのCO₂還元用の光触媒システムの開発を目的として、高い還元能力のグラファイト型窒化炭素光触媒と水の酸化能力を有する酸化タングステン光触媒から構成されるナノコンポジット光触媒ナノ材料システムの開発に成功した。この触媒は、可視光照射下でCO₂を還元してメタノールに変換する能力を有することを見出した。さらに、グラファイト型窒化炭素にAuを助触媒として担持することで、触媒活性が1.3倍程度向上し、量子収率は、0.25%に達した。また、CO₂還元反応を連続的に進行させるために、光触媒電極の開発をグラファイト型窒化炭素を用いて行った。これらの電極を用いて可視光下での光電流応答およびCO₂の光電極還元反応による生成物解析を行い、エタノールが主生成物として得られることを見出した。また、CO₂還元反応の性能向上を目指してグラファイト型窒化炭素へボロンのドーピング処理や電極表面にAu, Ag, Cu, Rh等の助触媒を成膜する技術についても併せて開発した。さらに、CO₂還元用の新たなp型半導体材料の探索を精力的に推進した。その結果、同金属酸化物誘導体(CuCrO₂, Cu₃Nb₂O₈)を新たに発見した。可視光照射下の光電流値は、グラファイト型炭素の10~30倍に達したが、銅の還元に由来する光電流が大きく、生成物としては、電流値から予想される生成物の5%程度のCOが得られたのみであった。更に、助触媒や電子捕集層などの検討を進める予定である。

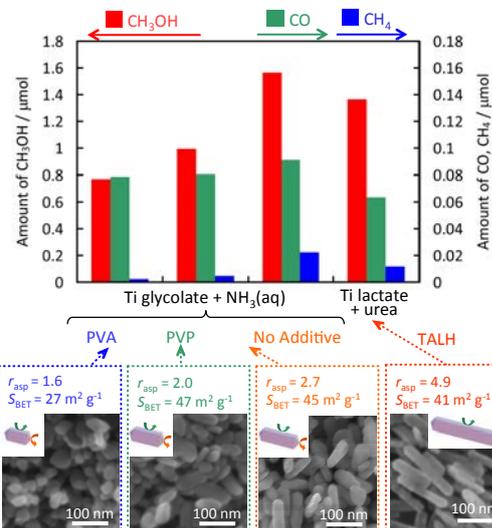
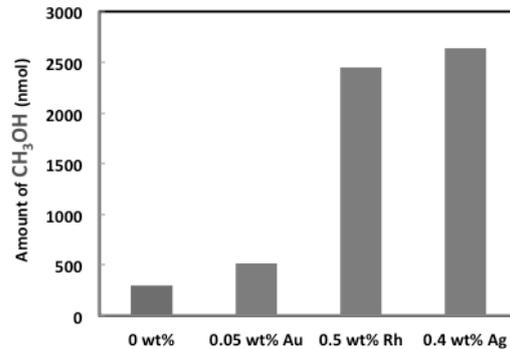


図1. 構造制御したブルッカイト型酸化チタンによる紫外光照射下でのCO₂還元反応におけるアスペクト比と主生成物メタノールとの相関性

(2) 詳細

研究テーマ A「構造制御されたブルッカイト型酸化チタンへ種々の助触媒金属 (Ag, Au, Rh) を光析出法により担持する技術開発と性能評価」

構造制御したブルッカイト型酸化チタンについて、アスペクト比を制御(酸化反応サイト面と還元反応サイト面の面積比制御)することで、CO₂還元により生成する生成物の触媒活性が変化することを見出した。また、構造制御されたブルッカイト型酸化チタンの還元面に結晶面



選択的に担持した助触媒の担持効果について、ナノロッドの CO₂ の還元活性における助触媒担持効果

図2. 構造制御されたブルッカイト型酸化チタンナノロッドの CO₂ の還元活性における助触媒担持効果

還元反応の主生成物はメタノールであった。ア

スペクトル増加(還元面結晶面の増加)と共に CO₂ 還元の触媒活性は向上した(図1)。助触媒金属として Ag, Au, Rh を選択し、還元面のみに光析出法を用いて Ag, Au, Rh ナノ粒子を担持した。Au 担持に伴って局在表面プラズモンに由来の吸収スペクトルが観測された。Ag も Au の様なシャープな吸収はないもののブロードなプラズモン由来の吸収が観測された。Rh の場合は、明確なピークを示す吸収は観測されず、400nm 以上のブロードの吸収が担持に伴って観測された。Au, Ag と Rh を最適担持したブルッカイト型酸化チタンと未担持の試料について CO₂ の還元活性の評価を紫外光照射下(LED 使用、中心励起波長 365nm, 光強度 0.3 mW/cm²) 生成物解析により行った。その結果を図2に示す。Ag 担持量の最適化により、未担持のブルッカイト型酸化チタンに比べて CO₂ の還元活性が7-8倍程度向上することが明らかになった。

研究テーマ B「ナノコンポジット型光触媒の助触媒担持方法の確立と CO₂ 還元能における助触媒担持効果の評価」

高い還元能力のグラファイト型窒化炭素と高い酸化能力を有する酸化タングステン光触媒から構成される CO₂ 還元用のナノコンポジット光触媒の開発に成功した。また、さらに高活性化するために還元助触媒を、g-C₃N₄ にあらかじめ担持し、その後 WO₃ を複合化して助触媒担持ナノコンポジット光触媒を合成した。還元助触媒は、g-C₃N₄ に光析出法であらかじめ担持し、その後 WO₃ を遊星ミルを用いて複合化した。金属助触媒は、Ag と Au について

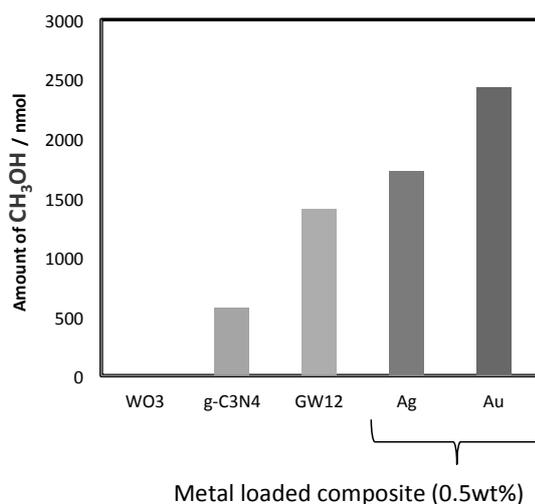


図3. 種々の助触媒を担持した g-C₃N₄ と WO₃ からなるナノコンポジット光触媒を用いた可視光下での CO₂ 還元によるメタノール生成量

検討を行った。AuとAgを最適量担持したg-C₃N₄にWO₃を複合化したナノコンポジット光触媒と助触媒未担持の試料についてCO₂の還元活性の評価を可視光照射下(LED使用、中心励起波長435nm、光強度3mW/cm²)生成物解析により行った。酸化チタン系と同様に、Auの場合は、プラズモン吸収が観測されたが、Agの場合には、明瞭なプラズモン吸収は観測されなかった。これらの助触媒を担持することで、競争反応である水の還元に伴うH₂発生が低下し、CO₂還元によるメタノール生成が主反応となるため、その還元生成物であるメタノールの生成量が著しく増加した(図3)。

CO₂の光触媒的還元反応により得られた生成物であると考えられるCH₃OHの炭素源が出発原料であるCO₂から導入されたものかを調べるために次のような実験を行った。

¹³CO₂を反応ガスとして用い、上記で調製した種々の光触媒(構造制御されたブルッカイト型酸化チタンに種々の助触媒金属を担持した試料およびg-C₃N₄とWO₃から成るナノコンポジット光触媒に種々の助触媒金属を担持した試料)を用いてCO₂光触媒還元を行って、生成物を¹H-NMRで同定した(図4)。その結果、生成物であるメタノールのメチル基の炭素源は、CO₂由来のものであることが確認することができた。

ナノコンポジット型光触媒(g-C₃N₄とトルWO₃を遊星ミルを用いて複合化したもの)

を用いたCO₂の還元反応に於いて反応生成物の量子収率と励起波長の相関性について解析を行った。まず、主生成物のメタノールについてアクションスペクトル解析を行ったところ、光触媒による再酸化などの問題により、再現性の良いデータを測定することができなかった。そこで、主生成物ではないが、生成と同時に光触媒の溶液系から放出されて再酸化の懸念がないCO生成の量子収率に関してアクションスペクトル解析を行った。その結果を図5示す。CO生成の量子収率とナノコンポジット光触媒の吸収スペクトルが良好な相関性を示すことから、CO₂の還元反応がナノコンポジット光触媒の光触媒反応により進行することが明らかにな

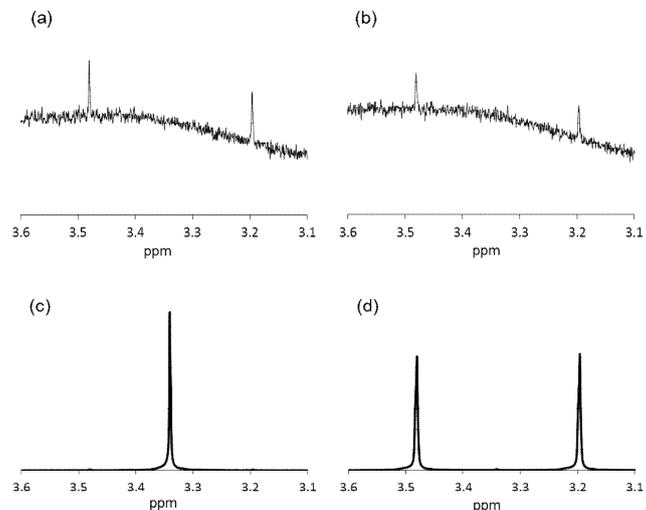


図4. CO₂の光触媒的還元反応の生成物の¹H-NMRスペクトル

(a) ナノコンポジット光触媒を用いた生成物, (b)ブルッカイト型酸化チタンを用いた生成物, (c)¹²CH₃OH, (d)¹³CH₃OH

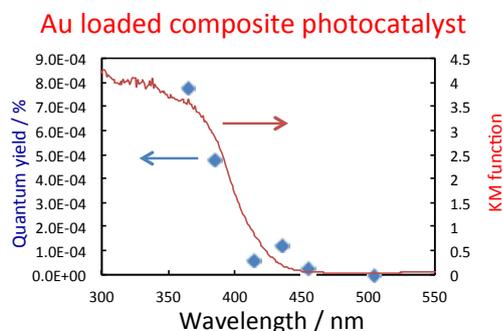


図5. Au担持ナノコンポジット型光触媒によるCO₂の還元生成物COのアクションスペクトル

った。

研究テーマ C「種々の金属助触媒を担持した B doped $g-C_3N_4$ 電極の作製と CO_2 還元特性評価」

$g-C_3N_4$ (n 型半導体) を有機アミン類から焼成処理により合成した。また、有機アミン類を焼成処理の際にボロン酸を添加することで、ボロドーピング $g-C_3N_4$ (p 型半導体) を調製した。光触媒電極は、得られた粉末を電気泳動法でチタン板に製膜して、種々の光電気化学測定、及び電解還元における生成物解析を行った(図6)。

その結果、 $g-C_3N_4$ の CO_2 還元に基づく光還元電流は、ボロドーピングにより5倍程度増加することが明らかになった。また、種々の金属助触媒 (Au, Ag, Rh, Cu, Ni) をスパッタ法で電極上へ製膜し、 CO_2 還元に基づく光還元電流測定を行ったところ、Rh を製膜した際に最も大きな光電流を示すことが明らかになった。さらに、Rh を製膜した B doped $g-C_3N_4$ を用いて定電位還元反応を行い、生成物解析を行った結果、気相中には微量 CO との H_2 が確認され、液相中にはエタノール (C_2H_5OH) の生成が確認されたため、定量分析を行い、ファラデー効率と太陽エネルギー変換効率を算出した。その結果、エタノール、 CO 、 H_2 のファラデー効率は、それぞれ約 87, 1.4, 2.3 であった。また、最も生成量が多かったエタノールの太陽エネルギー変換効率は、最高で約 0.03% であった。

研究テーマ D 「p 型銅金属酸化物光触媒材料の探索と光触媒電極作製における最適化」

Rh を助触媒として製膜した B doped $g-C_3N_4$ は、太陽エネルギー変換効率の向上に限界があると判断したため、新規な p 型半導体の開発および種々の電極基盤への製膜技術の確立について検討を行った。開発した化合物の中で、予備的ではあるが現在得られている光電流測定の結果について報告する。

チタン板に $g-C_3N_4$ 誘導体を電気泳動法で製膜する概念図

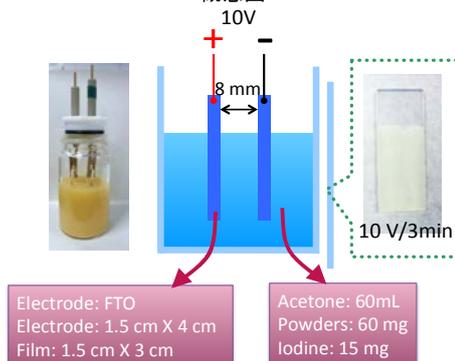
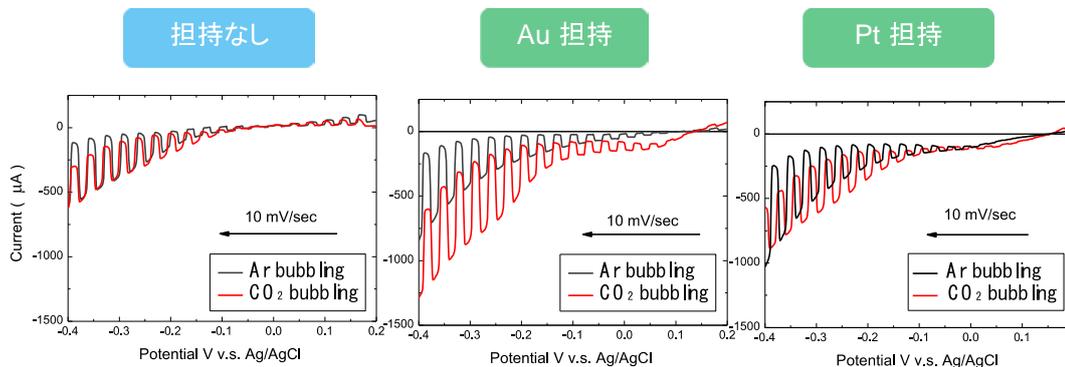


図6. 電気泳動法による光触媒電極の作成方法の概念図

銅金属酸化物 ($\text{Cu}_x\text{M}_y\text{O}_z$) について検討した結果、従来光触媒として報告例がない $\text{Cu}_3\text{Nb}_2\text{O}_8$ という p 型半導体材料を新たに見出すことができた。この材料は 650 nm 付近の波

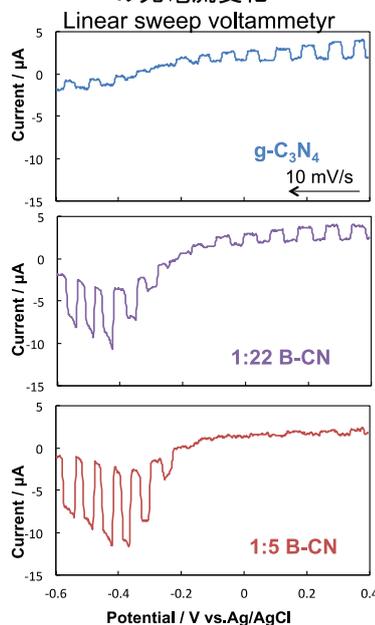


$\text{Cu}_3\text{Nb}_2\text{O}_8$ 電極の金属助触媒担持前後の光電流変化

図8. $\text{Cu}_3\text{Nb}_2\text{O}_8$ 系電極の Solarsimulator を光源とした光電流特性

長領域まで吸収を示し、太陽光を有効に利用できる可能性が示唆された。 $\text{Cu}_3\text{Nb}_2\text{O}_8$ 電極は、Cu および Nb イオンを種々の配位子で安定化させて有機溶媒中に溶解した溶液を Ti 板基盤上にスピコートして作製した。また、 $\text{g-C}_3\text{N}_4$ の場合と同様に助触媒金属の光電流に関する効果についても検討を行った(図8)。 CO_2 還元に基づく光還元電流は、B doped $\text{g-C}_3\text{N}_4$ の場合と比べて30–40倍程度の値が観測された(300 μA)。また、Au, Pt を助触媒として製膜することで、光電流は更に増大し、Rh を製膜した B doped $\text{g-C}_3\text{N}_4$ の場合と比べて30–40倍程度に達した(700 μA)。しかし、一定電位での光電流測定条件下で銅イオンの還元が原因と考えられる光電流の値が急速に低下する問題点が明らかになった。今後、安定性の向上、あるいは光電流が低下した電極の再生等について検討をする予定である。

ポロドーピング前後での $\text{g-C}_3\text{N}_4$ 電極の光電流変化



B doped $\text{g-C}_3\text{N}_4$ 電極の Rh 製膜前後での光電流変化

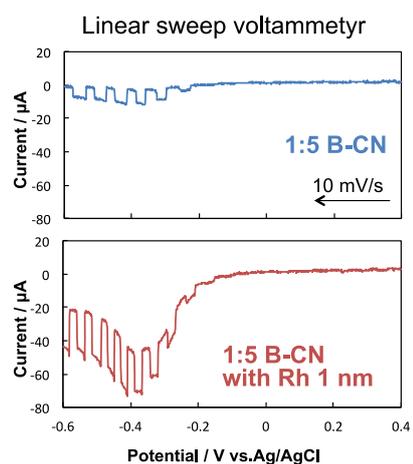


図7. $\text{g-C}_3\text{N}_4$ 系電極の Solarsimulator を光源とした光電流特性

3. 今後の展開

Boron doped $g-C_3N_4$, $Cu_xM_yO_z$ 系(p-型半導体)光触媒電極の開発とこれらを用いた CO_2 還元光触媒電極システムの開発を継続して行う予定である。

4. 評価

(1) 自己評価

(研究者)

・形状制御したブルッカイト型およびアナタース型酸化チタンナノ粒子を用いた紫外光照射下での CO_2 還元反応に関しては、Ag, Rh 等の助触媒担持方法を最適化することで量子収率は低いものの(約2.5%)、メタノールを主生成物とする光触媒システムの開発に成功した。酸化チタンナノ粒子の形状を制御したことにより露出結晶面を制御することが可能となり、それぞれの結晶面で酸化反応(水の酸化)と還元反応(CO_2 の還元反応)が、独立して進行していることを世界で初めて明らかにした。また、 $g-C_3N_4$ と WO_3 のナノコップジット光触媒系を開発することで、可視光照射下で CO_2 の還元反応が進行することを世界で初めて見出した。この系に於いても助触媒(Au)を最適化することで量子収率0.2%程度まで向上することを明らかにした。

$g-C_3N_4$ 系は、将来の応用分野の展開を目指して光触媒電極システムの開発を行った。その結果、B doped $g-C_3N_4$ を製膜して Rh を助触媒として担持した電極系で CO_2 の還元由来する光電流が観測され、主生成物としてエタノールが得られることを見出した。これらは、 CO_2 の光触媒系による燃料生産システムの設計指針を示す重要な成果であり、社会的インパクトも大きいと考えている。

上記の光触媒粉末系、光触媒電極系は、 CO_2 の光触媒的還元が進行し、主生成物としてアルコール類が生成する画期的な反応系ですが、光変換効率が低い大きな問題を抱えている。そこで、光変換効率(光応答電流)の向上を目的として、新規な p 型半導体の開発を行っていた。その中で、最近p-型半導体(CuC_2O_2 , $Cu_2Nb_2O_8$, $Zn_xCu_yO_z$)類を新たに見出した。これらの電極は、従来の $g-C_3N_4$ 系光触媒電極に比べて光電流が30倍程度へ向上することが明らかになった。現在、 CO_2 の還元効率を向上させ、最適化するための電極の製膜技術や助触媒の担持技術の開発を行っている。

(2) 研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

(研究総括)

横野博士は半導体光触媒について低温プロセスである水熱合成法と形状制御剤あるいは化学エッチング剤を駆使して、酸化チタン光触媒のナノレベルの露出結晶面並びに反応性の制御技術の開発で多くの実績のある研究者である。本さがけ研究では博士の開発した触媒調製を基礎に主に可視光による高効率 CO_2 還元をめざす意欲的な提案が採択された。

特定結晶面が露出したブルッカイト型及びアナタース型酸化チタン光触媒ナノ粒子の開発に成功し、紫外光照射下で CO_2 を還元し、メタノールを主生成物として得ている、さらに、露出結晶面のうち還元反応が進行する結晶面に CO_2 の還元助触媒(Ag, Au, Rh)を結晶面選択的に担持することにより触媒活性を10倍程度向上させることにも成功している。(量子収率:約2.5%)可視光照射下での CO_2 還元用の光触媒システムの開発を目的として、高い還元能力のグラ

ファイト型窒化炭素光触媒と水の酸化能力を有する酸化タングステン光触媒から構成されるナノコンジット光触媒ナノ材料システムの開発に成功し、可視光照射下で CO₂還元によるメタノール生成に成功している。Au を助触媒として担持することで、その触媒活性を1.3倍程度向上させるなど可視光照射によるCO₂還元方法を多面的に開発している。さらに進んで光触媒電極材料の開発にも取り組んでおり、酸化と還元を分離した系、デバイス開発の基礎研究を展開しており今後の進展が期待される。

5. 主な研究成果リスト

(1) 論文 (原著論文) 発表

研究テーマA

1. Victor M. Menéndez-Flores^{S†}, Detlef W. Bahnemann^S, Teruhisa Ohno[†]
Visible light photocatalytic activities of S-doped TiO₂-Fe³⁺ in aqueous and gas phase
Appl. Catal. B, Environmental, 103, 99-108 (2011).
2. Victor M. MeneÁLndez-Flores, Misa Nakamura, Tomoki Kida, Zhengyuan Jin, Naoya Murakami, Teruhisa Ohno
Controlled structure of anatase TiO₂ nanoparticles by using organic additives in a microwave process
Appl. Catal. A: General 406, 119-123 (2011)
3. Naoya Murakami, Naohiro Takebe, Toshiki Tshubota and Teruhisa Ohno
Improvement of visible light photocatalytic acetaldehyde decomposition of bismuth vanadate/silica nanocomposites by cocatalyst loading
J. Hazard. Mater., 211-212, 83-87 (2012)
4. Naoya Murakami, Shota Kawakami Toshiki Tsubota and Teruhisa Ohno
Dependence of photocatalytic activity on particle size of a shape-controlled anatase titanium(IV) oxide nanocrystal
J. Mol. Catal. A: Chem. 358, 106-111 (2012)
5. Linjie Zhang, Victor M. Menendez-Flores, Naoya Murakami, Teruhisa Ohno
Improvement of photocatalytic activity of brookite titanium dioxide nanorods by surface modification using chemical etching
Appl. Sur. Sci. 258, 5803-5809 (2012)
6. Misa Nakamura, Asami Ono, Eunyoung Bae, Naoya Murakami and Teruhisa Ohno
Improvement of visible light responsibility of rutile TiO₂ nanorods by site-selective modification of iron(III) ion on newly exposed faces formed by chemical etching treatment
Appl. Catal. B, Environmental, 130-131, 264-269 (2013).

研究テーマB

7. Kentaro Kondo, Naoya Murakami, Chen Ye, Toshiki Tsubota, Teruhisa Ohno
Development of highly efficient sulfur-doped TiO₂ photocatalysts hybridized with graphitic carbon nitride
Appl. Catal. B, Environmental, 142-143, 362-367 (2013)
8. Sho Kitano, Naoya Murakami, Teruhisa Ohno, Yasufumi Mitani, Yoshio Nosaka, Hiroyuki Asakura, Kentaro Teramura, Tsunehiro Tanaka, Hiroaki Tada, Keiji Hashimoto, Hiroshi Kominami,
Multifunctionality of Rh³⁺ modifier on TiO₂ and working mechanism of Rh³⁺/TiO₂ photocatalyst under irradiation of visible light
J. Phys. Chem. C., 117, 11008-11016 (2013)
9. Naoya Murakami, Daisuke Sarukawa, Toshiki Tsubota and Teruhisa Ohno
Photocatalytic Reduction of Carbon Dioxide over Shape-Controlled Titanium(IV) Oxide Nanoparticles with Co-catalyst Loading
Current Organic Chemistry, 17(21), 2449-2453 (2013)

研究テーマC

10. Teruhisa Ohno, Naoya Murakami, Takahiro Koyanagi, Yin Yang
Photocatalytic reduction of CO₂ over a hybrid photocatalyst composed of WO₃ and graphitic carbon nitride (g-C₃N₄) under visible light
Journal of CO₂ Utilization, 6, 17-25 (2014)
11. Víctor M. Menéndez-Flores and Teruhisa Ohno
High visible-light active Ir-doped-TiO₂ brookite photocatalyst synthesized by hydrothermal microwave-assisted process
Catalysis today, 230, 214-220 (2014)
12. Teruhisa Ohno, Takayoshi Higo, Naoya Murakami, Hirofumi Saito, Qitao Zhang, Yin Yang, Toshiki Tsubota
Photocatalytic reduction of CO₂ over exposed-crystal-face-controlled TiO₂ nanorod having a brookite phase with co-catalyst loading
Appl. Catal. B, Environmental, 152-153, 309-316 (2014)
13. Zhengyuan Jin; Naoya Murakami; Toshiki Tsubota; Teruhisa Ohno
Complete oxidation of acetaldehyde over composite photocatalyst of graphitic carbon nitride and tungsten(VI) oxide under visible-light irradiation
Appl. Catal. B, Environmental, 150-151, 479-485 (2014)

14. Kazuhiko Maeda, Naoya Murakami, Teruhisa Ohno
Dependence of Activity of Rutile Titanium (IV) Oxide Powder for Photocatalytic Overall Water Splitting on Structural Properties
J. Phys. Chem. C, 118, 9093-9100 (2014)
15. Bin Xu, Qitao Zhang, Saisai Yuan, Ming Zhang, Teruhisa Ohno
Morphology Control and Photocatalytic Characterization of Yttrium-doped Hedgehog-like CeO₂
Applied Catalysis B: Environmental, 164, 120-127 (2015)
16. Teruhisa Ohno; Takayoshi Higo; Hirofumi Saito; Zhengyuan Jin; Yin Yang; Toshiki Tsubota
Dependence of photocatalytic activity on aspect ratio of a brookite TiO₂ nanorod and drastic improvement in visible light responsibility of a brookite TiO₂ nanorod by site-selective modification of Fe₃₊ on exposed faces
J. Mol. Catal. A, Chemical, in press
17. Bin Xu, Qitao Zhang, Saisai Yuan, Ming Zhang, Teruhisa Ohno
Morphology control and characterization of broom-like porous CeO₂
Chemical Engineering Journal, in press

(2)特許出願

特になし

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

主要な学会発表(国際会議・招待講演のみ)

1. Teruhisa Ohno and Naoya Murakami, Hybrid Photocatalysts Composed of g-C₃N₄ with Bi₁₅FeTi₃O₁₅ and g-C₃N₄ with S-Doped TiO₂, The 16th International Conference on TiO₂ Photocatalysis: Fundamentals and Applications (TiO₂-16), 2011年10月7日-10日, Town & Country Resort, San Diego, California, USA
2. Teruhisa Ohno, CO₂ photoreduction using g-C₃N₄/WO₃ or g-C₃N₄/brookite TiO₂ nanorod composite photocatalysts systems, Green Chemistry 2011 Innovations, 2011年12月4日-7日, Melbourne Convention and Exhibition Centre, Melbourne, Australia
3. Teruhisa Ohno and Naoya Murakami, Photoreduction of CO₂ over morphology controlled TiO₂ or nanocomposite system of g-C₃N₄ and WO₃, 7th EUROPEAN MEETING ON SOLAR CHEMISTRY AND PHOTOCATALYSIS ENVIRONMENTAL APPLICATIONS (SPEA7), 2012年6月17日-20日, HP IPANEMA PARK, Porto IPA, Portugal

4. Teruhisa Ohno, Naoya Murakami, Photoreduction of CO₂ over morphology controlled TiO₂ having anatase or brookite phase or nanocomposite of g-C₃N₄ and WO₃ under wide range of light, 19th International Conference on the Conversion and Storage of Solar Energy (IPS19), 2012年7月29日–8月3日, The California Institute of Technology (Caltech), USA
5. Teruhisa Ohno and Naoya Murakami, Photoreduction of CO₂ over Morphology Controlled TiO₂ or Nanocomposite System of g-C₃N₄ and WO₃, 2012年10月7日–10月12日, Hawaii Convention Center and the Hilton Hawaiian Village, Honolulu, Hawaii, USA
6. Teruhisa Ohno, Photocatalytic Reduction of CO₂ over Morphology Controlled Brookite TiO₂ or Nanocomposite Photocatalyst of g-C₃N₄ and WO₃ under Wide Range of Irradiation Light, STAC-7 Seventh International Conference on Science and Technology of Advanced Ceramics, 2013年6月19日–21日, メルパルク横浜
7. Teruhisa Ohno, Photocatalytic Reduction of CO₂ over Morphology Controlled Brookite TiO₂ and Nanocomposite Photocatalyst of g-C₃N₄ and WO₃ Without Sacrificial Reagent, Semiconductor Photochemistry (SP4), 2013年6月23日–27日, Hotel DAP - Dum army Prague, Czech Republic
8. Teruhisa Ohno and Naoya Murakami, Photocatalytic Reduction of CO₂ Using Water Over Morphology Controlled Brookite TiO₂ and Nanocomposite Photocatalyst of g-C₃N₄ and BiVO₄ or WO₃, The 18th International Conference on Semiconductor Photocatalysis and Solar Energy Conversion (SPASEC-18), 2013年11月17日–21日, Town & Country Resort, San Diego, California, USA
9. Teruhisa Ohno and Naoya Murakami, Photocatalytic Reduction of CO₂ Using Water Over Morphology Controlled Brookite TiO₂ and Nanocomposite Photocatalyst of g-C₃N₄ and BiVO₄ or WO₃, 214th ACS national meeting, 2014年3月16日–20日, Convention Center, Dallas, Texas, USA
10. Teruhisa Ohno, Photocatalytic Reduction of CO₂ over A Nanocomposite Photocatalyst Composed of WO₃ and g-C₃N₄ Under Visible Light, 8th EUROPEAN MEETING ON SOLAR CHEMISTRY AND PHOTOCATALYSIS ENVIRONMENTAL APPLICATIONS (SPEA8), 2014年6月25日–28日, Makedonia Palace Thessaloniki Greece
11. Teruhisa Ohno, Photocatalytic Reduction of Carbon Dioxide over Shape Controlled Titanium(IV) Oxide Nanoparticles and Nanocomposite Photocatalysts, The 19th International Conference on Semiconductor Photocatalysis and Solar Energy Conversion (SPASEC-19), 2014年11月17日–20日, Crowne Plaza Hotel, San Diego, California, USA

研究報告書

「新しい人工光合成系を目指したナノ粒子超構造の構築」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成 23 年 10 月～平成 27 年 3 月

研究者: 坂本 雅典

1. 研究のねらい

埋蔵資源の枯渇と地球環境の悪化により、大量の炭素フリーエネルギー資源の確保が急務となっている現在、クリーンで持続可能なエネルギー源である太陽光からエネルギーを生み出す人工光合成の研究が大きな注目を集めている。天然の太陽エネルギー変換機構である光合成を人工の材料により行う試みは、環境問題とエネルギー問題を一挙に解決する有力な手段として様々な分野において活発に研究がなされている。しかしながら、人工光合成を実現するためには、光捕集、触媒活性、耐久性、といった様々な要素を高い水準で満たす材料が必要であり、耐久性と効率を併せ持つ革新的な材料の開発が待ち望まれている。

ナノ粒子は、これらの問題に対応できる「高い耐久性」や「サイズに依存した吸収波長の変化」、「高い触媒能」、「多重励起子の発生」といった特質を持つ優れた材料だが、それ単体では人工光合成系に必要な複数の性能を満足させ、機能性を創出することは難しい。ナノ粒子を組み合わせて協奏的に機能させるためには、粒子の数、位置関係、接合界面の厳密な制御を行う技術の開発が必要不可欠である。そこで、本研究においては光捕集、触媒活性、キャリア輸送など様々な特質を有するナノ粒子を用途に応じて組み合わせることによって人工光合成に利用することを提案する。具体的には、①ナノ粒子に平面的に配位するプラットフォーム配位子を利用することにより、ナノ粒子同士を自在に接合させる、もしくは②イオン交換法やシードメディエイトド成長法などのナノ粒子合成技術を駆使してナノ粒子同士を直接接合させることにより新しいナノ粒子を作成する、という二つの方法論を通じて人工光合成の達成を試みる。最終的には、ナノ粒子を自在に組み合わせて超構造を作り上げるための基盤技術を確立すること、および人工光合成に寄与できる新たな機能を創出することを目標とする。

2. 研究成果

(1) 概要

本研究においては、①ナノ粒子に平面的に配位するプラットフォーム配位子を利用することにより、ナノ粒子同士を自在に接合させる、②イオン交換法や seed-mediated 成長法などのナノ粒子合成技術を駆使してナノ粒子同士を直接接合させることにより新しいナノ粒子を作成する、という二つの方法論を通じて目標の達成を試みた。

①の方法論として、ポルフィリンやオリゴフェニレンエチニレンなど様々な骨格を有するプラットフォーム型配位子を系統的に合成し、これを保護配位子としてナノ粒子を合成した。プラットフォーム型配位子間の結合形成を利用してナノ粒子同士を接合することにより多量体を作成することに成功した。

②の方法論として、数種類の半導体/半導体接合を有するナノ粒子や金属/半導体接合を有するナノ粒子の合成を行った。CdS 相と CdTe 相が直接接合した異方性相分離構造を有するヘテロ

ペンシル状ナノ粒子や CuInS_2 相を核、 CdS 相を枝として有するテラポッド状のナノ粒子の合成に成功した。過渡吸収測定によって、これらのナノ粒子の光誘起キャリアダイナミクスを明らかにした。また、金ナノ粒子などのプラズモン材料と各種半導体が接合した異方性相分離構造を有するナノ粒子を合成し、局所表面プラズモンの励起により効率的な電子注入が起こることを明らかにした。

(2) 詳細

研究テーマA「配位子デザインによるナノ粒子超構造制御方法の基盤技術の確立」

金属ナノ粒子はその特異な光学および電気化学的性質から、多種多様な用途において大きな注目を集めている材料である。配位子は粒子間の融合を防ぎ均一なナノ粒子の形成を促進する保護材である半面、合成された粒子の構造や化学的、電気的特性に影響を及ぼす一面も持つが、有機配位子によりナノ粒子の光学的、電気化学的性質を積極的にコントロールするという試みは少ない。配位子の精密設計によりナノ粒子の粒径や粒子間接合の異方性を制御することができれば、本研究で提案する人工光合成プロセスに大きく貢献することができる。本研究期間において、我々は多座配位子を用いたナノ粒子の合成方法の確立とポルフィリンの軸配位を利用した結合異方性の創出という成果を上げることに成功した。また、各種分光法や計算化学的手法を用いることにより配位子とナノ粒子間に働く相互作用の詳細を明らかにした。

オリゴフェニレンエチニレン骨格を有する2座配位子によるナノ粒子の粒径制御法の確立

本研究においては、特殊な多座配位子を用いることにより金ナノ粒子の粒径をコントロールすることを試みた。二つの配位部位を持つ剛直な配位子である $\text{Ln}(n:1 \sim 3)$ を用いて粒子合成を行い、ナノ粒子の粒径が配位部位間の距離が大きくなるにつれて上昇することを発見した(図1a)。

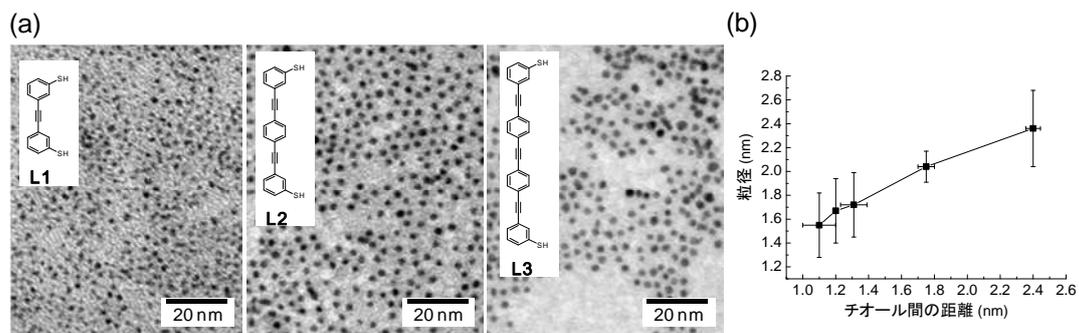


図 1. (a) Ln に保護された金ナノ粒子の TEM 像、(b) Ln のチオール間距離とナノ粒子の粒径の関連。

この事実は金属ナノ粒子の粒径が配位子の構造に大きく影響を受けることを示しており、この性質を利用することによってナノ粒子の粒径を 1~2 nm の間で精密に制御することに成功した(図1b)。また、金ナノ粒子表面に存在する Ln の個数および分子配向を詳細に調査した結果、金ナノ粒子の表面原子のうち 30%以上が Ln によって連結されたときに配位子の構造に依存した粒径

制御がおこなうことが分かった。これらの結果から、Lnによる粒径制御は、剛直な多座配位子がナノ粒子表面の原子を連結し粒子の成長を妨げるという新しい機構により進行していることが明らかになった。

ポルフィリン骨格を有する4座配位子に保護された立方体状のナノ粒子の合成

ポルフィリンを骨格とする配位子を合成し、これを用いて金ナノ粒子を合成することにより、等方的なナノ粒子に立方体状の異方性を与えることに成功した。

立方体構造を有するナノ粒子を合成するため、ポルフィリン誘導体 SC_nP ($n=0 \sim 2$) を合成し、(図 2a, b)これを保護配位子としてナノ粒子を合成した(SC_nP -AuCs)。得られた SC_nP -AuCs の粒径は、 1.9 ± 0.3 nm (SC_0P -AuCs)、 1.2 ± 0.2 nm (SC_1P -AuCs)、 1.1 ± 0.1 nm (SC_2P -AuCs)であった。 SC_0P -AuCの組成をHAADF-STEMとICP-AESを用いて調査した結果、 $Au_{309}(SC_0P)_{14}$ であることが示唆された。次に、 SC_1P -AuCと SC_2P -AuCの構造を、質量分析、元素分析、走査型トンネル顕微鏡を用いて調査した結果、 $Au_{65}(SC_1P)_6$ と $Au_{66}(SC_2P)_6$ が得られ、これらはポルフィリンが金クラスターに平面配位した立方体型ナノ構造体であることが示唆された(図 2c)。

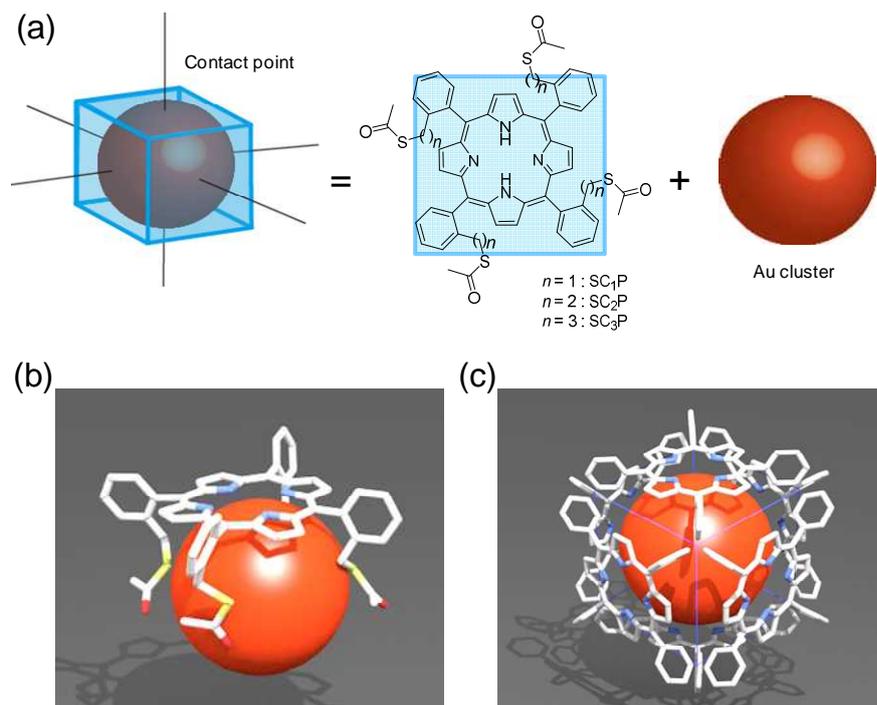


図 2. (a)ポルフィリン骨格を有する配位子(SC_nP)に保護された立方体状ナノ粒子形成の機構、(b) SC_nP の配位様式、(c) 立方体状ナノ粒子の構造図。

これらの一連の研究により、オリゴフェニレンエチニレンやポルフィリンなどの機能性分子を保護配位子として有するナノ粒子を合成する方法を開発した。また、有機分子とナノ粒子の間で働く電子的相互作用について明らかにした。ポルフィリン骨格は軸配位により結合方向に異方性を出すことができるため、ポルフィリン骨格を有する配位子を使用して高次の超構造を構築するこ

とができる。

研究テーマB「半導体/半導体および半導体/金属複合構造を有するナノ粒子の合成とその光誘起キャリアダイナミクスの解明」

異方性相分離構造を有するナノ粒子は高効率な光誘起電荷分離や機能集積のため、触媒やエネルギー変換など様々な用途への応用が期待されている。本研究において、我々は異方性相分離構造を有する CdS/CdTe ナノペンシルおよび CuInS₂/CdS ヘテロテトラポッドを合成し、その光誘起電荷分離過程を調査した。

CdS/CdTe ナノペンシルの合成とその光誘起キャリアダイナミクスの解明

CdS ナノペンシルを種粒子としてアニオン交換反応を利用することにより、CdS ナノペンシルの(002)面から選択的に CdTe 相を形成させ、CdS/CdTe ヘテロナノペンシルを合成した(図 3a)。過渡吸収測定により、CdS/CdTe ヘテロナノペンシルの CdTe 相を励起することで CdS 相へ効率的な電荷分離が起こることが分かった。

CuInS₂/CdS ヘテロテトラポッドの合成とその光誘起キャリアダイナミクスの解明

カルコパイライト型の結晶構造を有する CuInS₂ ナノ粒子を種粒子として CdS の枝を成長させることにより、CuInS₂ ナノ粒子の(112)面から選択的に CdS 相を形成させ、CuInS₂/CdS ヘテロテトラポッド(核/枝の順に表記)を合成することに成功した(図 3b)。

過渡吸収測定により、CuInS₂/CdS ヘテロテトラポッドの CuInS₂ 相と CdS 相の伝導帯に平衡が生じていることが明らかになった。室温での伝導帯での平衡の形成はヘテロ接合ナノ粒子においては珍しく、この性質を利用することにより今までにない優れた光電変換材料が作成できることが期待される。

これらの一連の研究によって、ナノ粒子を直接接合することにより一つのナノ粒子中で効率的に長寿命電荷分離を達成できるということが明らかになった。この事実は、半導体ナノ粒子同士を接合させることにより優れた光・エネルギー変換材料を作成できることを示唆しており、ナノ粒子複合系の人工光合成への応用における高い可能性を示唆した。

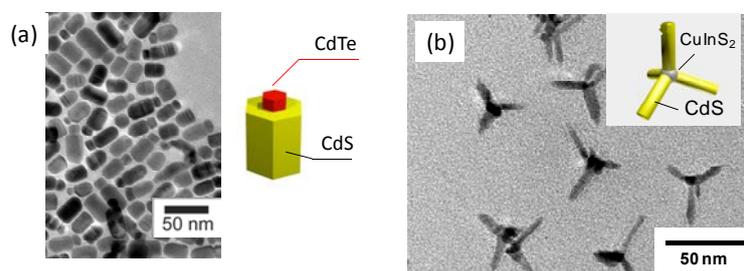


図 3. (a) CdS/CdTe ヘテロナノペンシル、(b) CuInS₂/CdS ヘテロテトラポッドの TEM 像。

3. 今後の展開

本研究期間に推進した研究により、多様な有機配位子で保護された一連のナノ粒子の合成に成功した。また、半導体/半導体接合、金属/半導体接合を有する異方性相分離構造を有するナノ粒子を作成し、粒子内での光誘起キャリアダイナミクスを明らかにした。一連の知見のうち、プ

ラズモンを利用した金属/半導体異方性相分離ナノ粒子における光誘起電子注入は、高耐久度の光触媒の開発に応用が可能と考えられ、今後研究を進めていく予定である。また、本研究で合成された多様な有機配位子で保護された一連のナノ粒子に関しては、配位子間の連結により、高次の機能を持った超構造の構築を試みるが、同時に単電子トランジスタのクーロン島のようなナノエレクトロニクスデバイスへの応用も考えている。

4. 評価

(1) 自己評価

(研究者)

本研究では様々な配位子を利用したナノ粒子合成方法の確立に成功しており、この研究を進めることにより最終的に人工光合成に応用可能なナノ粒子超構造の構築を達成することは可能であると考えられる状況まで研究は進展した。また、本研究期間中に合成した異方相分離構造を有するナノ粒子は過渡吸収測定の結果から、優れた光触媒となりうるポテンシャルを持っていることが明らかになっており、機構を生かした光触媒への応用を検討している。これらの研究成果は、論文として国際的学術誌に掲載され、高い評価を受けた。このように興味深い成果をあげることができた一方で、当初提案した水準まで研究を展開することはできなかった。これは、研究期間中に所属する研究室が他大学への移籍を行ったため、引っ越しの準備と研究環境の立ち上げのために研究時間の多くを割く必要があり、この損失からの修正に失敗したことが主な原因である。

本研究期間中に得られた成果の応用の可能性に関しては、研究期間を通じて得られた一連の知見のうち、プラズモンを利用した金属/半導体異方性相分離ナノ粒子における光誘起電子注入は、新しい原理で機能する高耐久度の光触媒の開発に応用できる。多様な有機配位子で保護された一連のナノ粒子は、より高次の機能を持った超構造の構築を行うためのビルディングブロックとして興味深いのが、同時に、単電子トランジスタのクーロン島に代表されるナノエレクトロニクスデバイスへの応用の観点からも重要な材料となると考えられる。現時点では得られた成果は学術的なものにとどまっているが、十分な開発期間を設けることができれば将来の科学技術及び社会・経済へ大きな波及効果を及ぼすことのできる研究に発展させることができる。

研究体制に関しては、当初より研究担当者が主に進めてきたが、研究の進展を考慮すると研究費で実験補助員を雇用すれば効率的に研究を進展することができたと考えられる。研究費の執行に関しては期間内に全て終わらせることができ、また、研究の進行を考えた上で有効に使用することができた。

総合すると、期間中に提案研究を完遂することは難しかったが、今後の研究の将来展望、展開を考慮するうえで重要な知見が見つかったという観点から、おおむね満足のいく成果を得られたのではないかと考えられる。

(2) 研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

(研究総括)

坂本博士は、単分散ナノ粒子調製などで実績のある研究者である。さきがけ研究では半導体ナノ粒子、金属ナノ粒子などのナノ粒子集合体をトップダウン手法、バルク焼成手法などで調製するのではなく、ナノ粒子集合体を設計図に基づいて、段階的に組み上げていくボトムアップ手法の開発に関する意欲的研究提案が採択された。実際の研究展開においては、主にナノ粒子に平面的に配位するプラットフォーム配位子やナノ粒子の成長中配位することによりサイズ制御の可能を有する直鎖状配位子を合成し、ナノ粒子のサイズを精密に制御することに成功している。他にも、種結晶上に異種結晶を成長させることにより多種類のヘテロ接合ナノ粒子の新規合成に成功している。当初意図していたナノ粒子同士を選択的に設計図に従って接合する段階にまでは至っていないが、その足がかりとなる基礎的知見が多く得られている。ボトムアップ手法によるナノ粒子集合体形成への挑戦は坂本博士のオリジナルな発想によるものであり、人工光合成領域で具体的にどのように展開するかが期待される。

5. 主な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

- | |
|--|
| 1. M. Sakamoto, D. Tanaka, H. Tsunoyama, T. Tsukuda, Y. Minagawa, Y. Majima, and T. Teranishi, Platonic Hexahedron Composed of Six Organic Faces with an Inscribed Au Cluster, <i>J. Am. Chem. Soc.</i> , 2012, 134, 816–819. |
| 2. M. Sakamoto, K. Inoue, M. Saruyama, Y.-G. So, K. Kimoto, M. Okano, Y. Kanemitsu, and T. Teranishi, Investigation on Photo-Induced Charge Separation in CdS/CdTe Nanopencils, <i>Chem. Sci.</i> 2014, 5, 3831–3835. |
| 3. M. Sakamoto, D. Tanaka, and T. Teranishi, Rigid Bidentate Ligands Focus the Size of Gold Nanoparticles, <i>Chem. Sci.</i> 2013, 4, 824–828. |
| 4. D. Tanaka, Y. Inuta, M. Sakamoto, A. Furube, M. Haruta, Y.-G. So, K. Kimoto, I. Hamada, and T. Teranishi, Strongest π -Metal Orbital Coupling in a Porphyrin/Gold Cluster System, <i>Chem. Sci.</i> 2014, 5, 2007–2010. |
| 5. T. Teranishi, M. Sakamoto, Charge Separation in Type-II Semiconductor Heterodimers, <i>J. Phys. Chem. Lett.</i> 4, 2013, 2867–2873. "Perspective". |

(2) 特許出願

該当なし

(3) その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

主要な学会発表

M. Sakamoto, D. Tanaka, T. Teranishi, Ultrafast Charge Separation/Recombination of Porphyrin Face-Coordinated Au Cluster, International Association of Colloid and Interface Scientists 2012, Sendai, Japan, 2012/5/16.

M. Sakamoto, D. Tanaka, T. Teranishi, Size Control of Gold Nanoparticles Using Rigid Bidentate Ligands, GOLD2012, Tokyo, Japan, 2012/9/7.

坂本 雅典、寺西 利治、ポルフィリンが近接平面配位した金クラスターの構造と界面相互作用、ナノ学会第 12 回大会、京都大学 宇治キャンパス、ナノ学会第 12 回大会、2014/5/23

M. Sakamoto, T. Teranishi, Synthesis and Properties of π -Conjugated Molecule Coordinated Gold Clusters, The 2nd Kyoto University & National Taiwan University Symposium 2014, Kyoto University, Kyoto, Japan, 2014/9/1. (Invited)

受賞

第 11 回ナノ学会ポスター賞

“剛直な多座配位子によるナノ粒子の形状および異方性の制御”

“Controlling the Shape and Anisotropy of Nanoparticles by Rigid Multidentate Ligands”

The 11th Annual Meeting of Society of Nano Science and Technology Society of Nano Science and Technology, 2013/6/6

著作物

坂本 雅典、新しい人工光合成系を目指したナノ粒子超構造の構築、化学経済、77、2011、化学工業日報社

坂本 雅典、剛直な 2 座配位子を利用した金ナノ粒子の粒径制御、ナノ学会会報、12、 1、 7、2013、ナノ学会

坂本 雅典、「ベンゾフェノンの光化学」光化学の事典、4.2、154、2014、朝倉書店

研究報告書

「アリールホウ素化合物による化学的光エネルギー変換への展開」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成 23 年 10 月～平成 27 年 3 月

研究者: 作田 絵里

1. 研究のねらい

本研究では、アリールホウ素化合物およびアリールホウ素を置換基として有する新規遷移金属錯体の光酸化還元反応に基づく光エネルギー変換系の開拓を目標に研究を行う。

近年、エネルギー問題や地球温暖化対策に向けたエネルギー変換技術の開発は緊急の課題であり、多くの研究者が様々なアプローチから取り組んでいる。しかしながら、可視光あるいは太陽光を利用し、効率的な光エネルギー変換を達成するには多くの問題がある。本研究では、これまで全く研究されていない、大変興味深い光化学特性を有するアリールホウ素化合物およびその関連化合物の励起状態の特性を生かした光酸化還元反応の詳細を明らかにするとともに、これを利用した可視光による光エネルギー変換・物質変換系の構築へと展開する。特に、アリールホウ素化合物の励起物性や光反応性を巧みに利用した新規な二酸化炭素の光固定化・還元反応を目指す。

芳香族クロモフォアを典型元素 (N,Si,P) により架橋した π 電子系化合物は、典型元素の特色を反映した電子状態を示すことから光化学的に興味深い化合物群の一つである。特にホウ素原子は空のp軌道を有することから、有機ホウ素化合物は極めて特異な電子状態をとることが古くから知られている。私はこれまでに典型元素としてホウ素原子に焦点を当て、一連のトリアリールホウ素化合物およびアリールホウ素を置換基として有する遷移金属錯体の合成および分光・励起物性に関する研究を進めてきた。その結果トリアリールホウ素化合物は励起状態において周辺のアリール基 ($\pi(\text{aryl})$) からホウ素原子上の空のp軌道 ($p(\text{B})$) への分子内電荷移動状態($\pi(\text{aryl})\text{-}p(\text{B})$ CT) をとることを明らかにしている。そこでアリールホウ素化合物の励起状態における分子内電荷移動状態を利用した化学反応 (光触媒反応・電子移動反応など) を可視光により誘起することが可能と考え、本研究の着想に至った。

2. 研究成果

(1) 概要

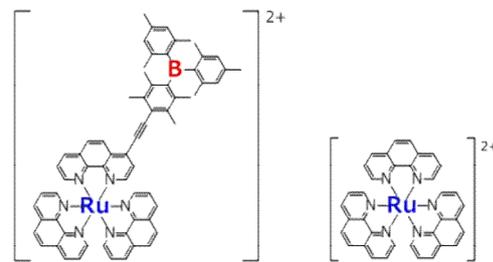
アリールホウ素化合物は励起状態において周辺のアリール基 ($\pi(\text{aryl})$) からホウ素原子上の空のp軌道 ($p(\text{B})$) への分子内電荷移動状態($\pi(\text{aryl})\text{-}p(\text{B})$ CT) をとるといった、特徴的な分光特性や励起物性を示すが、励起状態からの化学反応性に関する研究は殆ど行われていない。そこで、申請者はアリールホウ素化合物の励起状態における分子内電荷移動状態を利用した化学反応 (光触媒反応・電子移動反応など) を可視光により誘起することが可能と考え、研究を遂行した。具体的には、A)、B) の項目を中心に本研究を推進した。

(2) 詳細

A) アリールホウ素化合物の光酸化還元反応系の構築と展開

アリールホウ素化合物群は酸化還元活性を示すことが分かっている。実際に、極性溶媒中において、アミン類やキノン類と光誘起電子移動 (PET) を起こす。そこで、これらの化合物の PET 反応の詳細 (速度論、反応機構等) を明らかにし、アリールホウ素化合物の PET 反応に基づく光エネルギー変換系へ展開する指針を得ることとした。

実際にアリールホウ素置換基を有するルテニウム(II)ポリピリジル錯体として $4RuB^{2+}$ を用い (Scheme 1)、種々のアミン類やキノン類を用いた消光速度定数を検討した結果、一概にギブスの自由エネルギー変化 ΔG_{ET}^0 に基づいて消光速度定数が変化するわけではなく、一部の消光剤に関しては基底状態においても、相互作用が働



Scheme 1: $4RuB^{2+}$ と $Ru(phen)_3^{2+}$

いていることが明らかとなった。各種消光剤との消光速度定数より、光誘起電子移動に伴うギブスの自由エネルギー変化 ΔG_{ET}^0 を算出した結果、 $Ru(phen)_3^{2+}$ と $4RuB^{2+}$ の ΔG_{ET}^0 を比較すると、 $4RuB^{2+}$ の方が正側に大きな値となった。これは、熱力学的には $4RuB^{2+}$ の電子移動の方が不利であることを意味している。しかしながら、 $4RuB^{2+}$ の電子移動の方が高効率で進行する。そこで、補正した消光速度定数 k'_q と ΔG_{ET}^0 の関係より、反応の活性化エネルギー $\Delta G_{ET}^{*(0)}$ を算出すると、 $4RuB^{2+}$ の方が小さくなった。このことから、 $4RuB^{2+}$ の高効率な電子移動の要因には、長い励起寿命の他に、 $\Delta G_{ET}^{*(0)}$ の低下があることがわかった。

さらに、 ΔG_{ET}^* より再配向エネルギー λ を算出すると、 $4RuB^{2+}$ の方が小さくなった。これより、アリールホウ素置換基の導入によって、電子移動に伴う溶媒和や構造の変化の変化率が低下することが示唆された。外圏再配向エネルギーの理論値や発光スペクトルの Franck-Condon 解析結果と照らし合わせても、この結果は妥当であると考えられる。

以上のように、遷移金属錯体にアリールホウ素置換基を導入することで、発光の長寿命化や、再配向エネルギーの低下を引き起こすことができ、これまでの遷移金属錯体に比べ、より効率的な光誘起電子移動が起こることが明らかとなった。

B) アリールホウ素化合物の励起

物性および PET 反応を利用した CO_2 の光固定化反応への展開

アリールホウ素化合物はアリール基からホウ素上の空の p 軌道への分子内電荷移動を起こし、励起状態においてはホウ素原子上に高い電子密度を持つことが明らかになっている。また、PET 反応によりアリールホウ素化合物のアニオンラジカルあるいは還元状態を作り出すことができる。一方、二酸化炭素は電子豊富な部位へ求電子攻撃して反応を起こすことが知られている。そこでアリールホウ素化合物の励起状態との直接的、あるいは PET 経路によ

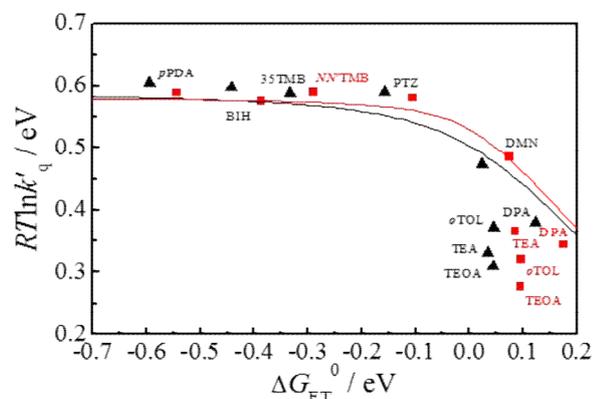


Fig. 1: $Ru(phen)_3^{2+}$ (▲) および $4RuB^{2+}$ (■) の $RT \ln k'_q$ vs. ΔG_{ET}^0 プロットおよびフィッティング (黒) $Ru(phen)_3^{2+}$, (赤) $4RuB^{2+}$)

る二酸化炭素の光還元反応を行った。

まずはルニウム(I)トリカルボニル錯体の例を元に、二酸化炭素光還元反応では、0.05 mMの 4RuB^{2+} を含むアセトニトリル/TEOA = 5/1, (v/v) 混合溶媒に対し、二酸化炭素雰囲気下で光照射 (> 400 nm) を行った。その結果、光照射により、一酸化炭素および水素が生成した (Fig. 2)。電子供与体を添加することにより、 4RuB^{2+} への逆電子移動が抑制されたために反応が進行したと考えられる。しかしながら、一酸化炭素生成の触媒サイクルの回転数を表すターンオーバー数 (TON) は約 0.1 であり、 4RuB^{2+} は触媒として機能していない。

そこで、まずは反応の律速段階を探るべく、一電子還元種の検討を行うこととした。一電子還元種が反応に寄与しているか否かを探るべく、電気化学的に一電子還元種を生成させ、二酸化炭素光還元を試みた。電気化学還元反応では、二酸化炭素雰囲気下で 4RuB^{2+} の第一還元電位付近の電位を印加した。また、それぞれの実験について、気相中の成分をガスクロマトグラフィー、液相中の成分をキャピラリー電気泳動で分析し、光還元反応生成物を定量した。電気化学反応には、作用極にPtメッシュ、対極にPt、参照極にAg/Ag⁺電極、支持電解質として0.1 M TBAPF₆を使用した。二酸化炭素雰囲気下で第一還元電位付近の電位を印加することにより、一酸化炭素が生成した (Fig. 3)。一方で、光還元とは異なり、水素の発生は観測されなかった。更に、TONは約2.0と、光還元に比べ一酸化炭素生成量が多く、反応前後での吸収スペクトル形状の変化もあまり観測されなかった。

これらの結果から、本二酸化炭素光還元系において、還元的消光の高効率化、光照射による 4RuB^{2+} の分解抑制、二酸化炭素光還元と競合的に起こっていると考えられる水素発生を抑制することにより、高効率化が実現できると考えられる。

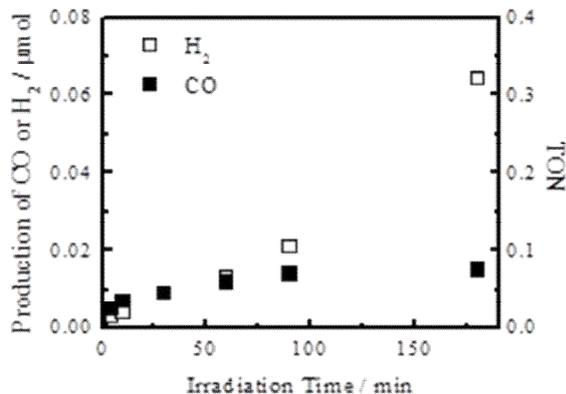


Fig. 2: 二酸化炭素雰囲気下、0.05mM 4RuB^{2+} のアセトニトリル/TEOA (5/1, v/v) 溶液の光照射に伴う一酸化炭素および水素生成量

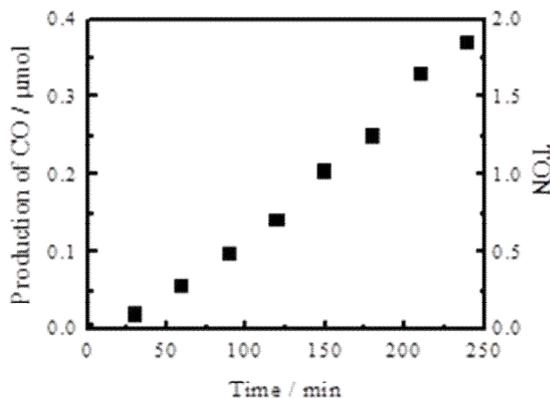


Fig. 3: 二酸化炭素雰囲気下、 4RuB^{2+} のアセトニトリル溶液の第一還元電位 (-1.35 V) 印加に伴う一酸化炭素生成量

そこで、光増感剤や犠牲剤を種々検討した結果、**BIH** (1,3-dimethyl-2-phenyl-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazole) を用いた系に関しては、消光効率が大きく、TEOA のみに比べ CO 生成量が増加した。さらに、光増感剤としてイリジウム錯体を添加した際にはさらに生成量が増加した (Fig. 4)。以上の結果より、 4RuB^{2+} を用いた二酸化炭素光還元反応では、一電子還元種を増加させることが重要であり、そのために最適な犠牲剤と光増感剤を添加する必要があることがわかった。以上の結果より、アリールホウ素置換基を有する遷移金属錯体を用いた新規二酸化炭素光還元系の構築に成功した。

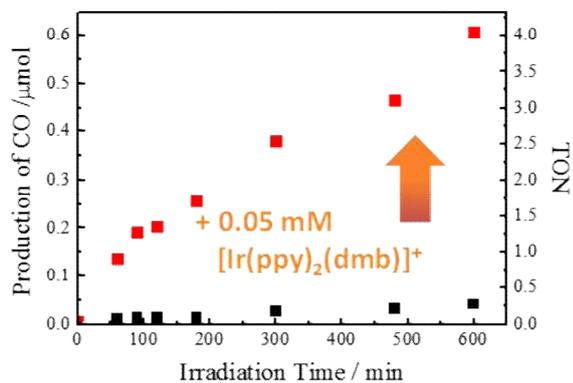


Fig. 4: 二酸化炭素雰囲気下、 4RuB^{2+} および光増感剤の Ir 錯体および BIH 添加下でのアセトニトリル/TEOA (5/1, v/v) 溶液の光照射に伴う一酸化炭素生成量 ((黒) Ir 錯体無し, (赤) Ir 錯体添加)

3. 今後の展開

本研究では、アリールホウ素化合物およびアリールホウ素を置換基として有する新規遷移金属錯体の光酸化還元反応に基づく光エネルギー変換系の開拓を目標に研究を行ってきた。その結果、アリールホウ素置換基を有するルテニウム(II)ポリピリジル錯体を用い、適切な光増感剤および犠牲剤を使用することで、新規光二酸化炭素光還元反応が進行することを明らかにした。しかしながら、本系の詳細な反応機構および高効率化の達成には至っていない。これは使用するルテニウム(II)錯体が徐々に分解していくことに由来していると考えられる。今後はアリールホウ素置換基をより効率的に利用できる錯体系の開発と錯体ではなく有機アリールホウ素化合物のみでの反応系へと展開していくことで、これまででない、二酸化炭素光還元反応系が構築できるものと期待される。

4. 評価

(1) 自己評価

(研究者)

本研究課題はこれまで合成してきた独自のサンプルを、これまで経験のない光反応系へと展開してきた。扱ったことのない新たな反応系の構築およびセットアップからスタートし、多くの研究者の助言やアドバイスの下、新たな光還元反応系の提案まで推進できたものと考えている。研究費は新たな光反応検討のための装置および合成試薬等へと使用してきた。研究実施体制としては学生 2 名とアリールホウ素置換基を有する新規遷移金属錯体の合成と光反応を分担協力しながら行ってきた。本研究課題は完全な完成系には至っていないが、これまでの研究設備や知識を元に発展させていきたいと考えている。

(2) 研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

(研究総括)

人工光合成の実現に向けて、分子触媒によるCO₂の光還元へのアプローチでは希少金属錯体を用いた方法が主流であるが、現時点ではできるだけ多くの新しい方策を探索すべき段階にあると言える。作田博士は新規のCO₂光還元分子触媒候補としてアリールホウ素化合物に着目した意欲的研究提案を行い採択された。アリールホウ素化合物の光化学的分子触媒機能については、これまで全く研究されていなかったが、作田博士は着実な研究努力を積み重ね徹底的な実験探索の結果、アリールホウ素化合物が励起状態において周辺のアリール基 ($\pi(\text{aryl})$) からホウ素原子上の空の p 軌道 ($p(B)$) への分子内電荷移動状態 ($\pi(\text{aryl})-p(B)$ CT) をとることを明らかにした。またその励起状態の特性を生かした光酸化還元反応、特にCO₂光還元反応探索に挑戦している。大変興味深いことにアリールホウ素化合物の励起状態はCO₂により動的消光を受けることを見出し、着想の実現への足掛かりを得ている。さらに、アリールホウ素置換基を有するルテニウム(II)ポリピリジル錯体を新規に合成し、主に励起状態からの分子間電子移動反応、基礎光化学挙動を検討したうえでCO₂雰囲気における分子触媒機能を探索した。大変興味深いことに還元生成物として少量の水素と共にCO₂が還元されてCOを生成することを見出している。さらに進んでは、電気化学的還元や犠牲試薬を選択した光化学還元では触媒的にCO₂を還元できることを見出した。新規の分子触媒としての可能性については今後の一層の展開を期待したい。

5. 主な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

- | |
|---|
| 1. Eri Sakuda, Mai Tanaka, Akitaka Ito and Noboru Kitamura.
Dynamic Emission Quenching of a Novel Ruthenium(II) Complex by Carbon Dioxide in Solution.
RSC Advances, Vol. 2, No. 4, pp. 1296-1298. (2012) |
| 2. Eri Sakuda, Yuki Ando, Akitaka Ito and Noboru Kitamura
Long-lived and Temperature-independent Emission from a Novel Ruthenium(II) Complex Having an Arylborane Charge Transfer Unit
Inorg. Chem., Vol. 50, No. 20, pp. 1603-1613. (2011) |

(2) 特許出願

研究期間累積件数:0 件

(3) その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

「Photophysical Properties and Application of Transition Metal Complexes Having Arylborane Charge Transfer Units」

○Eri Sakuda

錯体化学会第 64 回討論会、S2-02 Invited Lecture (中央大学後楽園キャンパス、2014/09/18-20).

「アリールホウ素を置換基として有する遷移金属錯体の光化学物性とその利用」

○作田 絵里、

錯体化学会第 63 回討論会、2013、6S-02 依頼講演(琉球大学千原キャンパス、2013/11/02-04).

「アリールホウ素化合物を利用した新規二酸化炭素光還元反応の構築に向けて」

○作田 絵里

2013 年光化学討論会、S4-03 シンポジウム招待講演(愛媛大学城北地区、2013/09/11-13).

研究報告書

「金属錯体の配位および配位子の機能を利用した CO₂ 還元触媒の創製」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成 23 年 11 月～平成 27 年 3 月

研究者: 佐藤 俊介

1. 研究のねらい

CO₂ を水と太陽光を用いて、還元・再資源化する研究は、エネルギー問題およびカーボンサイクルという観点から重要である。しかし、植物の光合成のように、水を電子源として、選択的かつ効率よく CO₂ を光還元できる報告例は僅かである。このような状況の中、我々が新たに開発した半導体-錯体ハイブリッド触媒およびそのコンセプトは水を電子源として、選択的かつ効率よく CO₂ 光還元反応を行うことが実現した技術である。しかし、その性能、すなわち太陽光変換効率は十分ではない。更なる性能の向上のためには、半導体-錯体ハイブリッド触媒の構成要素である錯体触媒および半導体光触媒の性能向上が必須である。しかし、これまでの CO₂ 還元錯体触媒の報告例はごく限られたものしかなかった。そこで本研究の狙いは、半導体-錯体ハイブリッド触媒の高性能化を目指して、新たな CO₂ 還元錯体触媒を創製することである。そのために、CO₂ 還元錯体触媒が駆動するためには、最低限何が必要か考察を行った。その考察に従い、新たな CO₂ 還元錯体触媒を創製することを第一目標とする。最終的な目標は、開発した錯体触媒を半導体光触媒に連結・ハイブリッド化することで、太陽光変換効率 0.2%以上で、水を電子源とした CO₂ の光還元反応系の構築を実現させることである。

2. 研究成果

(1) 概要

本研究は半導体-錯体ハイブリッド触媒の利点を用いて研究を進める。すなわち、半導体を光増感部位として用いるので、開発する触媒は電気化学的に駆動できれば良い。そこで、電気化学的に CO₂ を還元できる錯体触媒を創製することを第 1 の目標として、Mn, Cr, Fe, Mo, W, Ir を中心金属として用いて、新たな電気化学的な CO₂ 還元触媒を創生に成功した。特に性能が良かった Ir 錯体については、電気化学的な触媒のみならず、単独で光触媒として動くことも見出した。さらに光を用いて、金属ヒドリド種を生成できることも見出した。

今回開発した錯体触媒を用いて、半導体への連結・ハイブリッド化を行った。この新たに創製した半導体-錯体ハイブリッド触媒を用いることで、擬似太陽光照射下、バイアスを印加しながら(+0.8V:vs Ag/AgCl)、水中での CO₂ 還元反応に成功した。あとは、水を酸化できる半導体光触媒と組み合わせることで、本研究の最終的な目標に到達可能である。

(2) 詳細

研究テーマ A 「電気化学的な CO₂ 還元触媒の開発」

私は、金属錯体触媒を用いると、金属電極よりも小さな過電圧で CO₂ を還元できる機構について考察し、中心金属に CO₂ が配位した状態、および錯体に電子が蓄積した状態の 2 つが必要条件と仮定した。そこで、CO₂ が配位しやすいように外れやすい単座配位子(L)

と、CO₂ に電子を渡せるように電子を蓄積できる共役をもったキレート配位子(L-L)の2つを導入した金属錯体を用いれば、CO₂ の電気化学的な還元触媒として機能すると推測し、触媒の設計を行う(図1)。

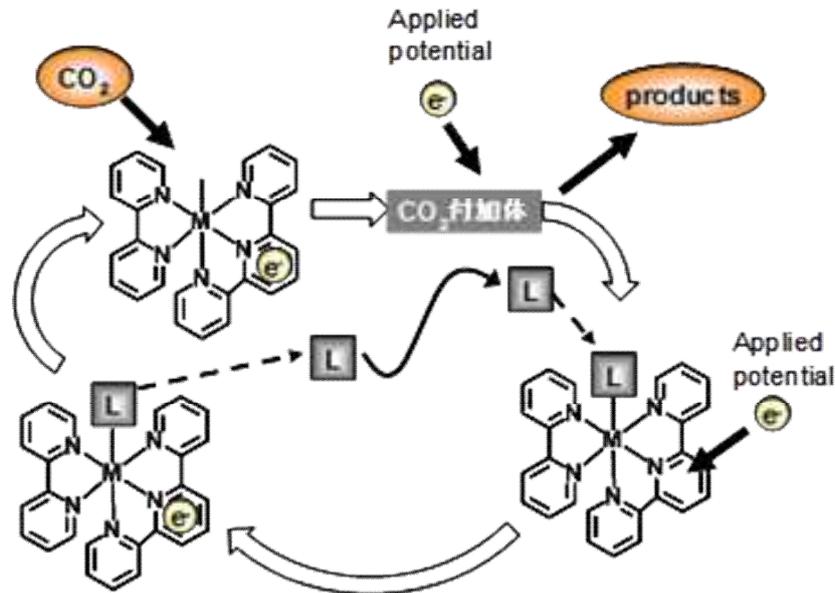


図1. 本研究の CO₂ 還元触媒設計指針および反応の概略

最初に仮定した設計指針に従い、外れやすい単座配位子および電子を蓄積できるキレート配位子を用いて錯体触媒の合成を行った。中心金属には、Mn,Cr,Fe,Mo,W,Irを用いた。合成した錯体触媒は電気化学アナライザーを用いて、電気化学的な CO₂ 還元能を有しているか確認を行った。合成した錯体触媒およびそのサイクリックボルタンメトリーの結果を図2にまとめる。

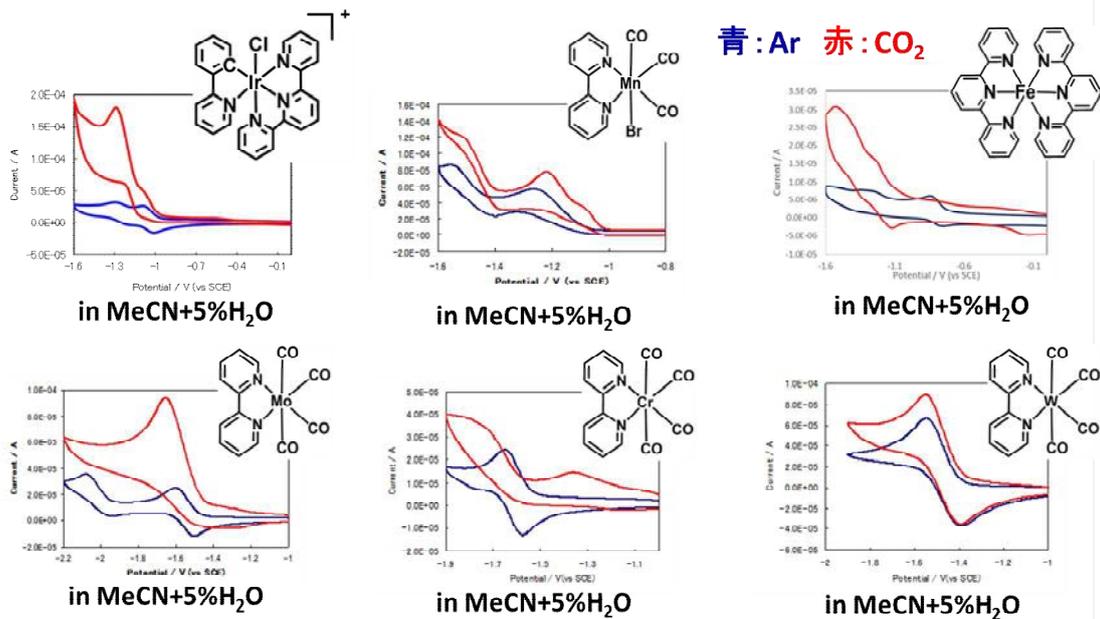


図2. 合成した錯体触媒とサイクリックボルタンメトリー(青:Ar、赤:CO₂ 雰囲気下)

Ar 雰囲気下に比べて、CO₂ 雰囲気下において、大きく電流が流れる現象が確認された。これは、触媒電流であり、CO₂ 還元能を有している錯体触媒であることがわかった。今回合成した錯体触媒を電気化学的や光増感剤と混合して、その触媒反応を検討した結果、[Ir(tpy)(ppy)Cl]⁺錯体が最も良い性能を示すことがわかった。以上の結果より、提案した触媒設計指針から、新たな CO₂ 還元触媒の創製に成功した。

・[Ir(tpy)(ppy)Cl]⁺ (tpy:2,2',6',2''-Terpyridine ,ppy: 2-Phenylpyridine)錯体を用いた CO₂ 光還元反応

合成した錯体触媒の中で[Ir(tpy)(ppy)Cl]⁺錯体(以下[Ir-ppy])は、最も良い性能を示した。さらに、[Ir-ppy]の光物性を検討すると、非常に長い励起状態(2.5μs)を有することがわかった。電気化学的に CO₂ 還元できる能力ともち、励起寿命を有することは、最も有名な CO₂ 還元錯体光触媒である[Re(bpy)(CO)₃Cl]と同じように、単独で駆動する光触媒である可能性が示唆された。そこで、アセトニトリル中(MeCN)、犠牲剤であるトリエタノールアミン(TEOA)存在下で可視光 410 nm 以上の光を照射して、光触媒反応を行った。その結果を、[Re(bpy)(CO)₃Cl]の触媒反応と合わせて図3に示す。[Ir-ppy]は、単独で光触媒能を持ち、Re 錯体と同じように単独で駆動する CO₂ 光還元触媒であることが明らかになった。CO のみが選択的に生成しており、その生成のターンオーバーナンバーは 40 を超え、[Re(bpy)(CO)₃Cl]の約 2 倍の性能を有することがわかった。その CO 生成の量子収率を測定すると、約 0.13 であった。

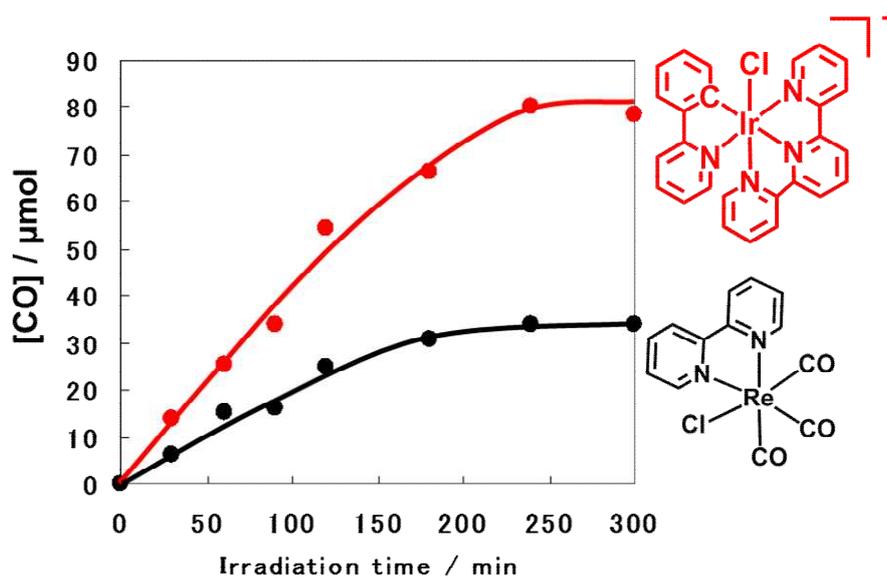


図3. [Ir-ppy](赤)と[Re(bpy)(CO)₃Cl](黒)の CO₂ 還元反応における経時変化

次に、この錯体触媒の構造変化を吸収スペクトル、ESI-MS、¹H NMR で追跡を行い、反応機構の解明を試みた。その結果、光反応初期段階において、[Ir-ppy]は完全に消失し、かわりに Cl がヒドリドに置換された[Ir(tpy)(ppy)H]⁺錯体が生成していることがわかった。光反応で、ヒドリド錯体が生成するのは、これが2例目であり、その生成機構にも興味を持たれる。

研究テーマ B「半導体-錯体ハイブリッド触媒を用いた水中における CO₂ 光還元反応」

合成した錯体を半導体表面に塗布して、半導体-錯体ハイブリッド触媒を作成した。用いた半導体は、アモルファスシリコンである。作成した半導体-錯体複合触媒は、3 電極実験法を用いて、0.1 M リン酸バッファー中、CO₂ 雰囲気下で+0.8V(vs Ag/AgCl)のバイアスをかけて擬似太陽光照射を 3 時間行い、HCOOH および CO の生成量を確認した。結果を表 1 に示す。Mn 錯体以外は、CO₂ 還元生成物として CO が得られることがわかった。その生成のファラデー効率(生成物の選択性)は 20~50%程度であることがわかった。残りの生成物は水素であり、生成物の選択性は十分ではないが、開発した錯体が水中で動くことを確認できた。更なる生成物の選択性の向上のため錯体の塗布手法を改良が必要であるが、開発した錯体の水中での CO₂ 還元反応も達成した。あとは、水を電子源とした触媒反応と組み合わせるだけであるが、これに関しては、半導体の組み合わせですでに実績があるので容易に展開が可能である。そのため最終的な目標である、水と CO₂ と太陽光を用いて、太陽光変換効率 0.2%以上の実現もすでに可能と言っても過言ではない。しかし、目標値は、ただの数値目標であり、達成できたから、すぐに社会貢献できるレベルになるわけではない。すなわち更なる性能向上は必須である。従って、更なる太陽光変換効率の向上のために目指すために、半導体-錯体ハイブリッド触媒の改良が必要と考えている。

表1 各半導体-錯体複合触媒を用いた CO₂ 還元反応のまとめ

錯体触媒	光照射時間/h	電流量 / Q	CO生成量 / μ mol	CO生成ファラデー効率	HCOOH生成量 / μ mol	HCOOH生成ファラデー効率	水素生成量 / μ mol	水素生成ファラデー効率
Ir錯体	3	5.23	15.26	56.3%	0	0.0%	13.91	51.2%
Mn錯体	2	3.55	5.81	31.5%	3.3	17.9%	8.01	43.4%
Fe錯体	3	8.56	10.16	22.8%	0	0.0%	37.22	81.9%
Mo錯体	3	4.09	4.11	19.5%	0	0.0%	7.57	36.1%
W錯体	3	10.17	3.35	6.4%	0	0.0%	25.52	48.4%

3. 今後の展開

本研究で開発した錯体触媒は、太陽光下において、半導体との接合により、駆動できることを確認した。まだ選択性が十分でないことや、過電圧が高い問題が存在するが、錯体触媒は、配位子を変更することで、その特性を容易に変更可能である。従って、半導体との組み合わせに適した更なる錯体触媒の開発が今後必要と考えている。また、今回合成した錯体触媒やこれまで報告されてきた錯体触媒がすべてではない。より良い性能を目指して、新しい錯体触媒の合成も今後行っていきたい。さらに本研究から派生した研究を論文としてまとめていき、より発展をさせていく予定である。

4. 評価

(1) 自己評価

企業の研究者という立場であることと、さきがけ研究には30%の-effortしかなかったことから、全力でさきがけ研究を進められていたかと言うと、正直疑問が残ることが一番心残りである。また議論において、情報を完全に開示してできなかったことが非常に心苦しかった。ただ、さきがけ領域におけるアドバイザーの先生方および同じ領域研究者との議論は自分にと

って大きなプラスになったことは間違い無く言える。関係者の方々にこの場を借りてお礼を申し上げます。

限られた時間と工数の中、さきがけ研究を目的重視で行うべきか論文を書くため行うべきか、正直悩んだ。さきがけ研究は、純粋なscienceで論文を書ければと最初は考えていたが、昨今の状況とこの領域に対して求められている研究は何かと考えて、途中から目的重視に切り替えて行った。様々な制約があったが、提案した触媒設計指針に従い、3年間でいくつかの新しいCO₂還元錯体触媒の開発、および合成はされているがCO₂還元能を有することを知られていない錯体触媒を見出した。残念ながら、いくつかの錯体触媒については、海外の研究グループから論文を出されてしまったが、Ir錯体については、プライオリティを確保した。予定通り半導体と組み合わせを行い、水中での駆動まで確認を行った。この段階まで来れば、水を酸化できる触媒と組み合わせることで、水を電子源としたCO₂還元反応は可能である。しかし、選択性が十分でないことや必要とされる過電圧が高いため、十分な太陽光変換効率が出ないことが予想されるなど課題は存在する。更なる錯体触媒の改良が必要である。

また、本研究を進めていくにあたり、派生した研究がいくつか見出したが、それらの研究に関してタイムリーに論文が出せていないことは、自らの能力の問題であると認識している。

(2) 研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

(研究総括)

佐藤博士は、金属錯体の光化学研究を基礎に半導体と金属錯体分子触媒を融合した系で水とCO₂から酸素とギ酸を生産する人工光合成系の構築に成功している研究者である。さきがけ研究では、これまで報告例のない金属錯体類によるCO₂の電気化学還元、光化学還元に取り組む意欲的な研究提案が採択された。研究開始当初より、独特の化学センスで多くの金属錯体を徹底的に検索し、次々に既知の金属錯体でもCO₂還元能は未知のものや新規金属錯体などがCO₂還元能を有することを発見した。Mn, Cr, Fe, Mo, Wなどの金属錯体は電気化学的なCO₂還元能を有し、Ir錯体は電気化学的CO₂還元に加えて光化学的CO₂還元能を有することも見出した。さらに進んで、半導体との融合により半導体への擬似太陽光照射でCO₂還元が進行することを見出している。佐藤博士はCO₂還元の高効率化への足掛かりも得ており、半導体と助触媒、分子触媒のハイブリッド系で水を電子源とするCO₂の還元固定化とその高効率化への明確な見通しが持てる状況を切り開いたと言える。人工光合成領域に極めて大きいインパクトを与える研究であり研究総括として本研究を高く評価する。

5. 主な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

1. S. Sato, T. Morikawa, T. Kajino, O. Ishitani “Highly efficient mononuclear iridium complex photocatalyst for CO₂ reduction under visible light” *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 988.

(2) 特許出願



研究期間累積件数: 1件

1.

発 明 者: 佐藤 俊介・梶野 勉・森川 健志
発明の名称: 電気化学的なCO₂還元錯体触媒の開発
出 願 人: (株)豊田中央研究所
出 願 日: 2012-03-22
出 願 番 号: 特願 2012-65027

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

[学会発表] 招待・依頼講演 7件 (他 口頭8件 ポスター9件)

[1] ○佐藤俊介・荒井健男・森川健志・上村恵子・鈴木登美子・田中洋充・梶野勉 “半導体-錯体ハイブリッド触媒を用いた水を電子源とした選択的な CO₂ 光還元反応” 第 92 回春季年会 2012 年 3 月 25 日

[2] S. Sato, T. Arai, T. Morikawa, K. Uemura, T. M. Suzuki, H. Tanaka, T. Kajino “Selective CO₂ conversion to formate conjugated with H₂O oxidation utilizing semiconductor/complex hybrid photocatalysts” 第 62 回錯体討論会(富山) 2012 年 9 月 21 日

[3] ○佐藤俊介 “金属錯体を用いた CO₂ 光還元反応” 分子研研究会(愛知) 2013 年 3 月 14 日

[4] S. Sato, T. Morikawa, T. Kajino “Highly efficient mononuclear iridium complex photocatalyst for CO₂ reduction under visible light” 245th ACS National meeting (New Orleans, USA) 2013 年 4 月 11 日

[5] ○佐藤俊介 “半導体-錯体ハイブリッド光触媒の開発とそれを用いた水を電子源とした太陽光 CO₂ 還元反応” 統合物質創製化学推進事業 第 4 回若手研究会(名古屋) 2013 年 6 月 28 日

[6] ○佐藤俊介 “水を電子源とする CO₂ 光還元反応の実現を目指した半導体と錯体触媒の複合化”第2回若手育成シンポジウム (新潟) 2013 年 9 月 24 日

[7] S. Sato, T. Arai, T. Morikawa, “ Solar CO₂ Reduction Using H₂O by Semiconductor/Metal-Complex Hybrid Photocatalyst” 錯体化学第 63 回討論会(沖縄) 2013 年 11 月 2 日

[著作物]

[1] 佐藤 俊介 “人工光合成研究を例とした錯体化学の役割” Bulletin of Japan Society of Coordination Chemistry 2012, 60, 49.

[2] 佐藤 俊介 “金属錯体の配位および配位子の機能を利用した CO₂ 還元触媒の創製” 化学経済, 2011, 12, 74.

研究報告書

「カーボンニュートラルエネルギーイノベーションを目指した層状粘土化合物による水中での二酸化炭素の光還元」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成 23 年 10 月～平成 27 年 3 月

研究者: 寺村 謙太郎

1. 研究のねらい

太陽光エネルギーから化学エネルギーを生み出すにあたって、石炭・石油・天然ガスなどの化石資源を使用した場合の最終生成物である CO_2 と H_2O を原料として利用することが環境負荷低減・資源循環の観点から最も望ましいと考えられる。このような背景に基づき、 CO_2 を原料とした太陽光エネルギーからの化学エネルギーの製造(カーボンニュートラルエネルギーイノベーション)を提案する。多量の CO_2 を効率よく目的生成物に変換するには均一系光触媒より、不均一系光触媒の方が有利である。しかしながら、不均一系光触媒を用いた水中での CO_2 の光還元を実現するためには深刻な問題がある。 CO_2 と H_2O が共存した反応系において、従来の不均一系光触媒を用いると、 H_2O を電子源とした CO_2 の還元よりも H_2O の光分解が優先して進行し、 H_2 と O_2 が生成することが多い。すなわち、電荷分離によって生成した電子が CO_2 ではなく H^+ の還元に使われてしまうという問題である。研究者らは、これまで「固体表面上での分子の光活性化」をメインテーマとして研究を行っており、各種の固体塩基光触媒(MgO , CaO , La_2O_3 , ZrO_2 , Al_2O_3 , Ga_2O_3 など)上での CO_2 の光還元においては塩基点に吸着した CO_2 の光励起プロセスが CO_2 の光還元のキーステップであることを明らかにした。つまり、水中で CO_2 が強い化学吸着をするような塩基性表面を持つ材料が光触媒として機能し、 H_2O を直接分解しない場合に限って、 CO_2 の光還元が水中で進行すると予想される。これを作業仮説とし、水中で機能する固体塩基表面および光触媒機能を併せ持つ材料を開発することが本研究の目的である。特にポイントとなるのは水中における塩基性の維持である。これまで見出されている固体塩基のほとんどは水中では機能しないことがすでにわかっている。そのため、 H_2O を還元剤として用いるには H_2O と共存しても CO_2 を吸着可能な耐水性の強い塩基点をデザインする必要がある。そこで、本研究ではアニオン性層状化合物である層状複水酸化物に注目した。層状複水酸化物は水中でも固体塩基として働くことが知られており、本研究においては光触媒機能の付与について検討を行った。

2. 研究成果

(1) 概要

各種の前駆体を用いて層状複水酸化物を合成し、水中での CO_2 の光還元を行ったところ、塩化物を前駆体とした Ni-Al LDH が最も高い CO 生成速度および CO への選択性を示すことを見出した。Ni-Al LDH の光触媒活性は $\text{Ni}(\text{OH})_2$ や $\text{Al}(\text{OH})_3$ の光触媒活性よりも高いことから、層状複水酸化物の物性が CO_2 の光還元にも有利に働いたと結論した。さらに、 $^{13}\text{CO}_2$ を用いた同位体実験を行い、生成物として ^{13}CO を得たことから、CO は導入した CO_2 由来であることを明らかにした。Ni-Al LDH を含む各種の LDH を用いた水中の CO_2 の光還元において

は、還元生成物として CO, CH₄, H₂ が生成するが、酸化生成物である O₂ の生成は確認できなかった。これは電荷分離によって生じた正孔が H₂O の酸化ではなく、別の物質の酸化に使われていることを示唆している。サンプルの元素分析の結果より、光触媒中に塩化物イオンの残存が確認されたため、積極的に反応溶液に各種の塩化物を溶解させたところ、反応活性が著しく向上し、生成物である CO が安定的に生成した。すなわち、塩化物イオンが正孔を受け取り、正孔捕捉剤として機能していると予想される。一般的に次亜塩素酸イオンの定性・定量に用いられる DPD 法を用いたところ、反応後の溶液は DPD に陽性であり、反応中に次亜塩素酸イオンが生成していると結論した。次亜塩素酸イオンの生成量は CO と H₂ の生成量を足した値とほぼ一致し、還元生成物の量と酸化生成物の量が一致した。さらに、生成した次亜塩素酸イオンは触媒表面上に捕捉されていることを明らかにした。これらの検討により、塩化物イオンは Ni-Al LDH の表面上で正孔によって酸化され、塩素が生成したと結論した。塩素は速やかに水中に溶解し、塩化物イオンと次亜塩素酸イオンに不均化し、次亜塩素酸イオンは表面に捕捉されるため、反応後の溶液は触媒共存条件で DPD に対して陽性であったと考えられる。

(2) 詳細

研究テーマ A 「各種の層状複水酸化物を用いた CO₂ の光還元」

塩化物前駆体から各種の LDH を調製し、水中での CO₂ の光還元を行った。各種の LDH は M²⁺/M³⁺ = 3 に固定し、共沈法により調製した。前駆体である塩化物の水溶液を NaOH 水溶液とともに Na₂CO₃ 水溶液に滴下した。得られた溶液を室温で一晩静置した後、さらにオートクレーブを用いて 383 K で 20 時間熟成させた。得られた試料のキャラクタリゼーションは XRD, TG-DTA, UV-Vis DRS を用いて行った。水中での CO₂ の光還元は CO₂ 流通型バッチ式反応装置を用いて行った。H₂O (1.0 L) に LDH (1.0 g) を加えた懸濁液に CO₂ を 15 mL/min で流通させ、400 W Hg ランプを用いて照射を行った。塩化物前駆体から調製した 5 種類の LDH (Mg-Al, Ni-Al, Zn-Al, Mg-In, Ni-In LDH) は水中での CO₂ の光還元活性を示し、還元生成物として CO および CH₄ が生成した (Figure 1)。さらに H⁺ の還元も同時に進行し、H₂ が生成した。Ni-Al LDH を用いた場合に最も高い CO への選択率を示した。¹³CO₂ を用いた同位体実験の結果、CO は導入した CO₂ 由来であることを明らかにした。LDH を構成する 2 価の金属イオンと 3 価の金属イオンの仕込みの比を変化させることによって表面特性や物性が変化することが知られている。そこで、Ni²⁺ と Al³⁺ の仕込みの比 (Ni/Al 比) を変化させ、Ni/Al 比が活性に及ぼす影響を検討した。Ni/Al = 2, 3, 4, 5 の 4 種類の Ni-Al LDH を用いて水中での CO₂ の光還元を行ったところ、Ni/Al = 4 が最も高い活性を示すことを見出した。また、Al³⁺ を含まない Ni(OH)₂ では CO の生成量が低下し、H₂ の生成量が増加した。

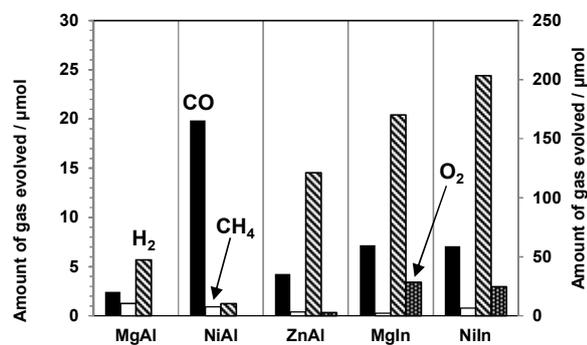


Figure 1 Amount of CO, CH₄, H₂ and O₂ evolved for the photocatalytic conversion of CO₂ in H₂O under photoirradiation for 8 h.

研究テーマ B 「CO₂の光還元における各種添加剤の検討」

研究テーマ A において、各種の LDH を用いた CO₂ の光還元を行い、還元生成物である CO や H₂ の生成を確認した。一方で酸化生成物である O₂ はほとんど観察されなかった。すなわち、電荷分離によって生じた正孔は別の物質によって消費されていると考えられる。塩化物前駆体から LDH を合成した場合、塩化物イオンが LDH 中に残存することを元素分析の結果から明らかにした。この残存塩化物イオンが水中での CO₂ の光還元に影響すると予想できる。この影響を調べるために、反応溶液中に各種の塩化物 (NaCl や KCl など) を水中に溶解させて、水中での CO₂ の光還元を行った。すべての塩化物を用いた場合において、CO 生成量は塩化物を添加しないときに比べて、大幅に増加した。Figure 2 に Ni-Al LDH を用いた NaCl 水溶液中での CO₂ の光還元の経時変化を示す。さらに NaCl について反応溶液中の濃度に対する CO の生成量の依存性を調べたところ、CO 生成量は NaCl 濃度が 0.1 M のときに最大となった。また、Figure 3 に示すように、NaCl を添加しない場合は CO の生成速度は徐々に低下するが、NaCl を添加すると CO の生成速度は直線的に増加した。これらの結果から水溶液中の Cl⁻ が電荷分離によって生じた正孔を速やかに補足していると結論した。

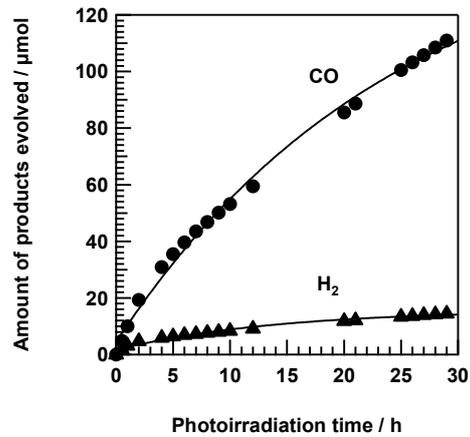


Figure 2 Time course of CO (circle) and H₂ (triangle) evolved for the photocatalytic conversion of CO₂ in an aqueous solution of NaCl (0.1M).

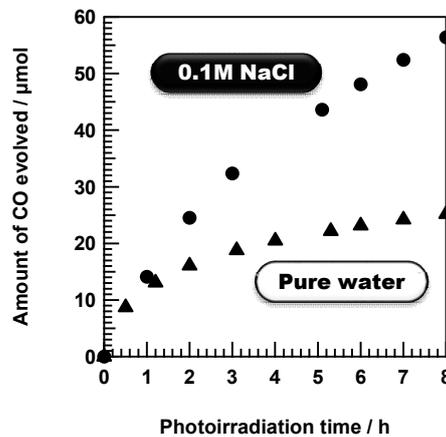


Figure 3 Time course of CO evolved for the photocatalytic conversion of CO₂ in an aqueous solution of NaCl (circle) and pure water (triangle).

研究テーマ C 「NaCl を添加剤とした CO₂ の光還元のみカニズム」

研究テーマ B で、Ni-Al LDH を用いた水中での CO₂ の光還元を行い、前駆体である NiCl₂ 及び AlCl₃ 由来の塩化物イオンが Ni-Al LDH 中に残存しており、これらが犠牲剤として機能している可能性があることを指摘した。実際に NaCl や KCl など、積極的に塩化物を水溶液中に溶かしたところ、CO の生成速度が著しく向上したことから、塩化物イオンが正孔を受け取り、正孔捕捉剤として機能していると予想される。そこで、塩化物イオンが正孔捕捉剤として働いていることを明らかにするため、DPD 法を用いた塩化物イオンの定性及び定量を行った。

塩化物イオンが正孔によって酸化された場合、①次亜塩素酸イオンが生成する、または、②塩素が生成し、その後不均化が進行し、塩素イオンと次亜塩素酸イオンが生成するといった機構が考えられる。いずれの場合でも、次亜塩素酸イオンが生成し、その後さらなる不均化によって塩素酸イオン及び過塩素酸イオンが生成する。Ni-Al LDH を用いた水中での CO₂ の光還元における次亜塩素酸イオンの定量は水道水中の残留塩素種の同定によく用いられる *N,N'*-dimethyl-*p*-phenylenediamine (DPD)法を用いて行った。反応後の溶液をフィルターによ

って固体と液体を分離して分析すると、溶液中には次亜塩素酸イオンは確認されなかった。一方、懸濁液に DPD を加えると、鮮やかな赤紫色を呈し、次亜塩素酸イオンが確認された。すなわち、塩化物イオンは Ni-Al LDH の表面上で酸化され、生成した次亜塩素酸イオンは表面に捕捉されていると考えられる。Figure 4 は次亜塩素酸イオンの生成量および CO と H₂ の生成量を足した値の経時変化である。次亜塩素酸イオンの生成量は CO と H₂ の生成量を足した値とほぼ一致し、還元生成物の量と酸化生成物の量が一致した。本光触媒系においては塩化物イオンが正孔補足剤として働き、水中での CO₂ の光還元が進行したと結論した。

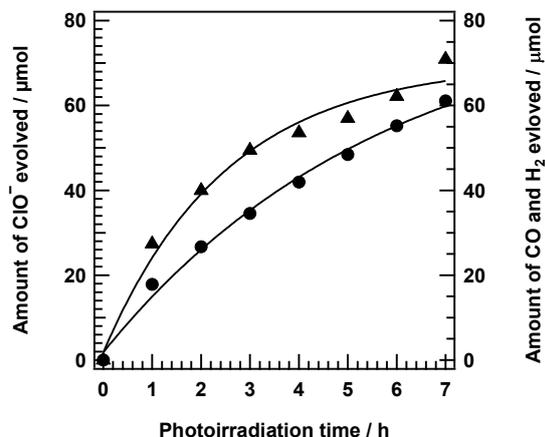


Figure 4 Time course of H₂ + CO evolved (Circle) and ClO⁻ ion evolved (Triangle) for the photocatalytic conversion of CO₂ in an aqueous solution of NaOH (0.1 M) over Ni-Al LDH.

3. 今後の展開

本研究において、塩化物イオンを正孔補足剤として用いた水中での CO₂ の光還元が進行することを見出した。今後は H₂O を電子供与体とした系へと展開するために、光触媒系の再検討を行う予定をしている。これまでの検討で光触媒表面の制御が水中での CO₂ の光還元を実現するにあたって非常に重要なことを再認識することができた。この知見を活かして、プロトンの還元を抑制し、CO₂ の還元を促進し、さらに H₂O を酸化可能な光触媒のデザインを行う。

4. 評価

(1) 自己評価

(研究者)

水中で機能する固体塩基を用いれば、水中での CO₂ の光還元が進行するという当初予想した仮定は本研究でほぼ実証したと考えている。本研究では H₂O を電子供与体として用いることができなかったが、すでに別の光触媒系で達成しており、本研究で得られた多くの知見を基礎とすることができたため、この結果が得られたと考えている。また、研究実施体制を人工光合成(特に CO₂ の光還元)のテーマに大きくシフトすることができた。さきがけの研究資金によって、このテーマを進捗させるために必要な一連の合成装置、反応装置、分析装置を揃えることができた。すなわち、さきがけ研究によって今後の人工光合成研究を続けていく基礎を作り上げることができたと考えている。H₂O を電子供与体とした CO₂ の光還元の実現にはまだまだ多くのハードルがあるが、すでにいくつかの企業の参入が認められることから、現在における人工光合成研究の社会的な要請は非常に強い。一時のブームに終わるのではなく、継続的な研究サポートを得るには人工光合成の学理解明の重要性を引き続き訴えていく必要があり、今後も人工光合成研究をメインテーマに研究を行っていくつもりである。

(2) 研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

(研究総括)

半導体光触媒による水の光分解では、通常は酸化生成物として酸素、還元生成物として水素が生成する。人工光合成における目標の一つであるCO₂の還元固定化に対して、半導体光触媒は、水素生成が優先するために先駆的報告例を除いて必ずしも有効ではない。寺村博士は、CO₂の光還元固定化に焦点を絞り、電子源としての水酸化物イオンを意図して水中で塩基性を維持し得る固体塩基表面と電子受容体としてのCO₂が吸着し得る固体表面の両面を兼ね備えた反応場としてアニオン性層状化合物である層状複水酸化物に着目した意欲的研究提案を行い採択された。既存研究例から得られる発想を超えた独創性が注目された。実際に、紫外光照射ではあるが、水中、層状複水酸化物環境下でCO₂が還元されてCOが主生成物として生成することを見出した。残念ながら、電子源は水、水酸化物イオンではなく、層中に存在する塩化物イオンが犠牲試薬として作用することが明らかになったが、層状複水酸化物がCO₂還元能を有することを見出した点は注目される。いっそうの挑戦的研究を期待したい。

5. 主な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

1. Photocatalytic conversion of CO₂ in an aqueous solution using various kinds of layered double hydroxides

Iguchi, Shoji; Teramura, Kentaro; Hosokawa, Saburo; Tanaka, Tsunehiro

Catalysis Today (2014), Ahead of Print.

DOI:10.1016/j.cattod.2014.09.005

2. Photocatalytic conversion of CO₂ in water over Ag-modified La₂Ti₂O₇

Wang, Zheng; Teramura, Kentaro; Hosokawa, Saburo; Tanaka, Tsunehiro

Applied Catalysis, B: Environmental (2015), 163, 241-247.

DOI:10.1016/j.apcatb.2014.07.052

3. A Doping Technique that Suppresses Undesirable H₂ Evolution Derived from Overall Water Splitting in the Highly Selective Photocatalytic Conversion of CO₂ in and by Water

Teramura, Kentaro; Wang, Zheng; Hosokawa, Saburo; Sakata, Yoshihisa; Tanaka, Tsunehiro

Chemistry - A European Journal (2014), 20(32), 9906-9909.

DOI:10.1002/chem.201402242

4. Photoactivation of Molecular Oxygen by an Iron(III) Porphyrin with a Magnesium Aluminum Layered Double Hydroxide for the Aerobic Epoxidation of Cyclohexene

Teramura, Kentaro; Tsuneoka, Hideo; Ogura, Kentaro; Sugimoto, Takashi; Shishido, Tetsuya; Tanaka, Tsunehiro

ChemCatChem (2014), 6(8), 2276-2281.
DOI:10.1002/cctc.201402131

(2) 特許出願

研究期間累積件数: 0件

(3) その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

平成 23 年度(2011 年度) 石油学会奨励賞(新日鐵化学賞)

平成 24 年度(2012 年度) 触媒学会奨励賞

研究報告書

「様々な光エネルギー変換系における水分子の構造・機能相関解明」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成 23 年 10 月～平成 27 年 3 月

研究者: 古谷 祐詞

1. 研究のねらい

光エネルギーを有効に利用する系として、自然界においては植物の光合成や微生物型ロドプシン類の光駆動イオン輸送と共役した ATP 合成、人工系としては二酸化チタンや遷移金属錯体による光触媒などがある。これらに共通することとして、系に含まれる水分子の光化学反応への様々な形での関わりがある。代表的には、基質として酸化・還元されることや、プロトンやイオンの移動を効率的に行うための水素結合ネットワークの形成に関与するなどが挙げられる。本研究では、これらの光エネルギー変換系における水分子の構造変化とその機能発現との関係を明らかにするために、新規赤外分光計測法の開発を行う。具体的には、光受容タンパク質の光照射に伴うタンパク質の構造変化や内部の水分子の動態を光誘起赤外差分分光計測によって明らかにする。さらには、高度に配向した試料を作製し、時間分解偏光赤外分光法を適用する。反応に関与する水分子の OH(重水では OD)伸縮振動の振動数とその遷移双極子モーメントの角度の時間変化を得ることで、光化学反応の進行に伴って時々刻々と変化する水分子の構造を解析し、その機能との関係を明らかにする。それにより光触媒および光受容タンパク質において、水分子が関与する光化学反応の高効率化に必要な分子構造設計への指針を提供する。

2. 研究成果

(1) 概要

光駆動イオンポンプとしてはたらく膜タンパク質であるバクテリオロドプシンやハロロドプシンは、光受容部位としてレチナルを結合している。all-*trans* 型から 13-*cis* 型への光異性化により、タンパク質の構造が変化し、一連の中間状態を経由して、もどに戻る光反応サイクルを示す。このサイクル中に、プロトンや塩化物イオンを一方向に細胞膜の内外へと輸送する。これにより、細胞膜には電気化学勾配が形成され、この電気化学ポテンシャルを利用して、ATP 合成酵素が ADP を ATP へと変換し、生体エネルギーとして利用されている。このようにバクテリオロドプシンおよびハロロドプシンに代表される微生物型ロドプシンは生物のイオンポンプのモデルとしての研究対象として最適である。

本研究では、時間分解赤外分光法により、これらのタンパク質の構造変化や内部の水分子の動態を実時間で捉えることに成功した。さらに、タンパク質や水分子の振動モードの振動数変化だけでなく、それらの角度変化についての情報を得るため、時間分解偏光赤外分光計測系を構築した。また、タンパク質や有機分子の金薄膜表面での表面増強赤外吸収スペクトルを計測するのに最適な金薄膜の作製を、真空蒸着法により簡便に行う方法を確立した。

(2) 詳細

本さがけ研究では、主に時間分解偏光赤外分光計測系を構築して、様々な光エネルギー変換系での水分子の変化を捉えることを目標とした。当初の目標であったバクテリオロドプシンについては計測を実現した。また、偏光計測にまでは至らなかったが、ハロロドプシンや新規微生物型ロドプシンMRのタンパク質構造の変化についても時間分解赤外分光計測に成功した(Y. Furutani et al. J. Phys. Chem. Lett. 2012、Y. Furutani et al. J. Phys. Chem. B 2013)。

研究テーマ「時間分解偏光赤外分光計測系の構築」

時間分解偏光赤外分光計測では、測定光の赤外光として、試料の回転軸に対して垂直(S)もしくは平行(P)な偏光を入射し、試料の回転角度に依存した時間分解赤外差スペクトルを計測する。これにより水分子のOH(もしくはOD)伸縮振動の振動数だけでなく遷移双極子モーメントの角度の変化も解析することが可能になる。

光駆動プロトンポンプとしてはたらくバクテリオロドプシンは天然状態で二次元結晶を形成しており、赤外用基板上で乾燥させるだけで配向した試料を得ることができる。このような試料をZ軸回転試料台に設置し、PおよびS偏光させた赤外測定光により角度依存性的な計測を行った。理想的な配向試料においては、赤外基板の法線方向は膜タンパク質が存在する脂質二重膜平面の法線と一致しており、P偏光させた赤外線を用いて赤外吸収スペクトルを計測すると、タンパク質骨格のamide Iおよびamide IIバンドに顕著な角度依存性が現れる。バクテリオロドプシンは α ヘリックスが7回膜を貫通した構造であり、それぞれの

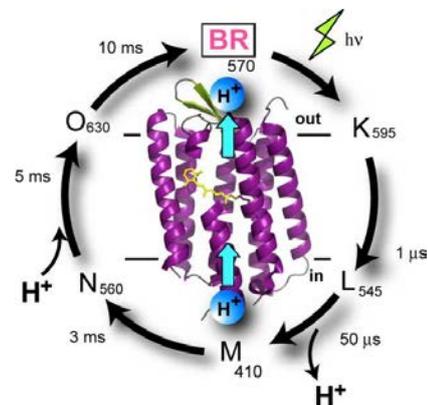


図1 バクテリオロドプシン

α ヘリックスはほぼ膜法線方向に沿って配置されている(図1)。amide Iモードは主鎖のC=O基の伸縮振動によるものであり、 α ヘリックスにおいてはヘリックスの方向と一致した方向に伸縮振動する。一方、amide IIモードはN-H基の変角振動によるものであり、膜法線とは直角方向に振動する。このようなことから、高度に配向したバクテリオロドプシン試料を用いると、P偏光の赤外線において、試料の角度が0°であるときには、amide Iよりもamide IIの方が少し強度が大きくなるほどである。試料の角度が大きくなるとamide Iの強度が増大し、amide IIは減少することになる。一方、S偏光させた赤外線では吸収強度にはほとんど変化が現れない(図2)。本装置で計測した結果、バクテリオロドプシンのamide Iモードは平均して膜法線に対して32°、amide IIは67°傾いていると見積もられた。

フーリエ変換赤外分光装置に回転試料台を設置し、バクテリオロドプシンの配向試料の赤外吸収スペクトルに現れるamide Iおよびamide IIバンドの角度依存性を確認し、さらには光誘起時間分解赤外分光計測で得られる時分割赤外差スペクトルの角度依存性を計測することに成功した(未発表)。

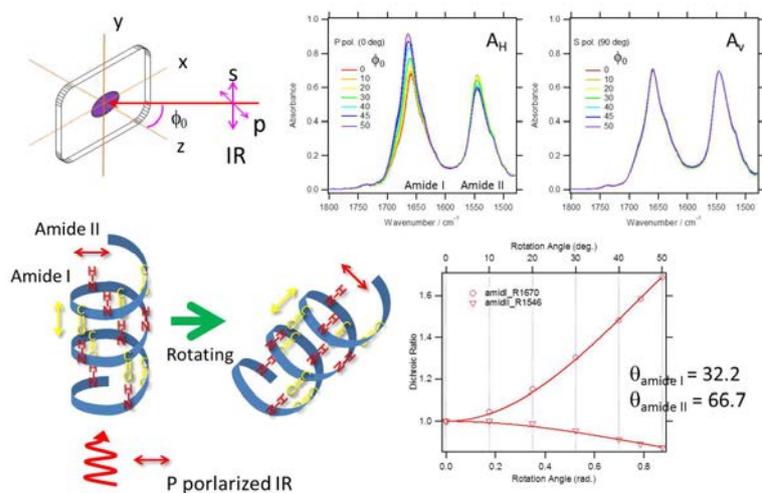


図2 バクテリオロドプシン試料に対する偏光赤外スペクトル解析

研究テーマ「光受容蛋白質の配向試料調製法の確立」

赤外分光法で光反応に関与する水分子の構造情報を得るには、系に含まれる余分な水分をできるだけ必要最小限に抑える必要がある。現在、ロドプシンで適用されている方法は、リポソーム再構成試料を乾燥させてフィルム化し、計測時に適度に水和させる手法である。フィルム試料を密封させる際に近傍に水滴を置くという単純な方法であるが、水滴に10~30%程度のグリセロールを含ませることで飽和水蒸気圧を調節し、最適な水含量とすることが可能であることが知られている。本研究でも、バクテリオロドプシンやハロロドプシンについて、同様の水和条件において、タンパク質内部の水分子のO-H伸縮振動が計測可能であることを確認した。

また、振動モードの角度情報を得るには試料を配向させる必要がある。バクテリオロドプシンは、脂質二重膜中に二次元結晶として存在する膜タンパク質であり、懸濁液を乾燥させるだけで配向したフィルム試料が得られる特異な試料である。おそらく二次元結晶が積層するために配向性が得られるものと考えられる。しかしながら、ハロロドプシンについて、配向した試料を作製するために、透析やバイオビーズなどを用いてリポソームへの再構成条件を検討したが、研究期間内に配向試料を得ることはできなかった。

一方、ハロロドプシンを金薄膜表面へと固定して、表面増強赤外吸収スペクトルを計測する条件の確立には成功した。表面増強赤外分光法はナノサイズの縞状構造をもつ金薄膜表面において、赤外吸収が10~1000倍程度増強する効果を利用する手法である。金表面の法線方向に振動する振動モードが選択的に増強するため、振動モードの角度情報を得ることも可能である。本研究では、真空蒸着装置にて金薄膜の膜厚を調節することで、簡便に膜タンパク質の赤外吸収スペクトルが計測できる条件を確立した(H. Guo et al. Chem. Phys. 2013)。

研究テーマ「光触媒系への発展」

時間分解赤外分光法を光触媒系へと適用することで、水分子がどのようにして光酸化・還元されるのか、触媒中の水分子がどのような構造であるのかが解明され、触媒の設計に有用

な情報を与えることが期待される。

さきがけ領域内での共同研究を通じて、時間分解赤外分光計測により、水分子の O-H 伸縮振動の変化を捉えることを試みたが、非常に微弱な信号のために有意な結果は得られなかった。

本さきがけ研究期間中に論文発表した研究成果の概要

- 1, Yuji Furutani, Kuniyo Fujiwara, Tetsunari Kimura, Takashi Kikukawa, Makoto Demura and Hideki Kandori, “Dynamics of Dangling Bonds of Water Molecules in *pharaonis* Halorhodopsin during Chloride Ion Transportation”, *J. Phys. Chem. Lett.* 3, 2964–9, 2012

ハロロドプシンは光エネルギーを利用して塩化物イオンを輸送する膜タンパク質である。光受容部位としてレチナールを結合しており、その光異性化によってタンパク質の構造が変化し、一連の光反応中間体を形成することで、一方向のイオン輸送を実現している。本論文では、時間分解赤外分光法を適用することで、タンパク質の構造変化だけでなく、内部の水分子の変化も捉えることに成功した。特にイオン輸送に重要な中間体形成に伴って、水素結合を形成していない水分子の変化が大きくなることを見だし、その機能発現との関連に興味を持たれる結果であった。

- 2, Yuji Furutani, Takashi Okitsu, Louisa Reissig, Misao Mizuno, Michio Homma, Akimori Wada, Yasuhisa Mizutani, and Yuki Sudo, “Large Spectral Change Due to Amide Modes of a β -Sheet upon the Formation of an Early Photointermediate of Middle Rhodopsin”, *J. Phys. Chem. B*, 117 (13), 3449–58, 2013

新規の微生物型ロドプシンであるミドルロドプシン(MR)は、微生物型ロドプシンが通常結合している all-*trans* 型レチナールだけでなく、11-*cis* 型のレチナールも結合することが可能なため、その機能や光反応機構に興味を持たれている。本論文では、時間分解赤外分光計測を適用し、光誘起の構造変化に β シート領域の変化も含まれることを明らかにした。このような構造変化はこれまでの微生物型ロドプシンでは見られたことのない変化であり、MR がイオン輸送とも光情報変換とも異なる機能を果たしている可能性を示唆する結果であった。

- 3, Hao Guo, Tetsunari Kimura, Yuji Furutani, “Distortion of the Amide-I and -II Bands of an α -helical Membrane Protein, *pharaonis* Halorhodopsin, Depends on Thickness of Gold Films Utilized for Surface-Enhanced Infrared Absorption Spectroscopy”, *Chem. Phys.* 419, 8–16, 2013

表面増強赤外分光計測は、ナノサイズの微細な金粒子からなる薄膜上において、赤外吸収強度が著しく増強する効果を利用した計測法である。本論文では、真空蒸着法により金薄膜を形成し、その厚みに応じて、表面に吸着させた膜タンパク質(ハロロドプシン)の赤外吸収スペクトルに歪みが生じる効果について検討を行った。その結果、金薄膜の厚みを 7–11 nm

程度と制御することで、適切な計測が行えることを明らかにした。



図3 本さがけ研究期間中に論文発表に至った研究成果の概要

- [1] ハロロドプシンのイオン輸送過程での水分子の動態解明 (Y. Furutani et al. J. Phys. Chem. Lett. 2012)
- [2] 新規微生物型ロドプシン MR の光誘起タンパク質構造変化の解明 (Y. Furutani et al. J. Phys. Chem. B 2013)
- [3] ハロロドプシンの表面増強赤外分光計測条件の確立 (H. Guo et al. Chem. Phys. 2013)

3. 今後の展開

生物が光エネルギーをどのようにして、効率的に化学的なエネルギーへと変換しているのかを明らかにするためには、X線結晶構造解析による構造情報だけでなく、より精密な構造情報を与える分光学的な手法の開発が重要である。時間分解偏光赤外分光法は、光誘起によるタンパク質や水分子の振動状態や角度変化を時分割で解析することが可能であるため、様々な光反応系に適用されることが期待される。そのためには高い配向性を持った試料の作製方法の確立が鍵になると思われる。また、表面増強赤外分光法など、振動モードの選択性のある計測法との組み合わせも有望である。

4. 評価

(1) 自己評価

(研究者)

時間分解偏光赤外分光計測系の構築については、当初の予定通り、達成できたと考えている。バクテリオロドプシンに対して、本手法を適用し、タンパク質や水分子の赤外スペクトル変

化を計測することに成功した。一方、配向試料の作成方法の確立については、バクテリオロドプシンと近縁であるハロロドプシンについても困難であった。しかしながら、基板表面にタンパク質を配向する手法として、表面増強赤外分光法に適した金薄膜の蒸着条件が確立できた。また、ハロロドプシンのイオン輸送過程で水分子の動態が追跡できたことも大きな成果と考えている。さらに、さきがけ領域会議の中で新たに設定したテーマである光化学系 II の水の解析についても、必要な装置の開発を進め、既存の方法に比べて効率の良い計測が行えたことは、より詳細な解析を効率よく行うのに重要な進歩であると考えている。

(2) 研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

(研究総括)

天然の光合成では、水を原料とした酸化還元系が光で駆動される。重要な反応系は基本的にタンパク質が形成する構造体の中に埋め込まれているので、基質となる水分子はタンパク質の構造環境の中で、水のチャンネル構造を通じて反応中心に供給されると推定される。また光駆動による酸化還元に伴い、プロトン放出・移動・プロトン濃度勾配などが誘起され後続の化学過程を導いている。バクテリオロドプシンやハロロドプシンにおけるプロトン移動やイオン移動なども光駆動によるイオンポンプの典型例として極めて重要な研究対象であり、「自然に学び・理解する」視点は人工光合成構築の基本的設計指針の吟味に資するところが極めて大きい。古谷博士は、このようなタンパク質の構造環境中での光駆動によるイオンポンプなどの典型例についてタンパク質の構造変化やそれに伴う水分子の配向変化や水素結合の変化など結合振動構造を時間分解スペクトルとして直接観測しようとする意欲的な研究提案を行い、採択された。研究開始後、極めて順調に時間分解偏光赤外分光測定系を構築しバクテリオロドプシンの構造変化、水分子の赤外吸収スペクトル変化に成功している。また、ハロロドプシンの光駆動イオン輸送についてもタンパク質内部の水分子の変化の直接観測にも成功している。金薄膜上での表面増強赤外測定系も構築できており、配向した試料が得られればタンパク質環境の変化と内部に取り込まれた水分子の動態、時間分解偏光赤外測定、直接観測を可能としている。さらに進んで、さきがけ領域内で梅名博士との共同研究により光合成の光化学系II(PSII)における水の酸化過程について時間分解偏光赤外測定によりその分子過程に切り込もうとしている。パルス光照射後、PSIIがKok サイクルと呼ばれる循環過程により一定時間後に始状態に戻った状態での回周測定という困難な測定条件を克服できる独自の回転セルを考案・作成にも成功しており、今後の展開が大いに期待される。

5. 主な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

1. Yuji Furutani, Kuniyo Fujiwara, Tetsunari Kimura, Takashi Kikukawa, Makoto Demura and Hideki Kandori, "Dynamics of Dangling Bonds of Water Molecules in *pharaonis* Halorhodopsin during Chloride Ion Transportation", *J. Phys. Chem. Lett.* 2012, 3,

2964-2969

2. Yuji Furutani, Takashi Okitsu, Louisa Reissig, Misao Mizuno, Michio Homma, Akimori Wada, Yasuhisa Mizutani, and Yuki Sudo, "Large Spectral Change Due to Amide Modes of a β -Sheet upon the Formation of an Early Photointermediate of Middle Rhodopsin", *J. Phys. Chem. B*, 2013, 117 (13), 3449-3458
3. Hao Guo, Tetsunari Kimura, Yuji Furutani, "Distortion of the Amide-I and -II Bands of an α -helical Membrane Protein, *pharaonis* Halorhodopsin, Depends on Thickness of Gold Films Utilized for Surface-Enhanced Infrared Absorption Spectroscopy", *Chem. Phys.* 419, 8-16, 2013

(2)特許出願

研究期間累積件数:0件

(3)その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

学会発表

(招待講演)

1. Yuji Furutani, "Water Molecules and Ions in Membrane Proteins Studied by FTIR Spectroscopy", The 5th International Conference as the 2012 OCARINA Annual International Meeting, Mar. 4, 2013, Osaka City Univ. Media Center, Osaka, Japan
2. Yuji Furutani, "Water Molecules and Ions in Membrane Proteins Studied by Stimulus-induced Difference FTIR Spectroscopy", Seventh International Conference on Advanced Vibrational Spectroscopy, Aug. 25-30, Kobe Convention Center, Kobe, Japan
3. Yuji Furutani, "Water Molecules and Ions in Membrane Proteins Studied by FTIR Spectroscopy", Annual Meeting on Photochemistry 2013, Sep. 11-13, 2013, Ehime University, Matsuyama, Japan
4. Yuji Furutani, "Protein-ion interactions of membrane proteins studied by Fourier-transform infrared spectroscopy", 18th East Asian Workshop on Chemical Dynamics, May 19-21, 2014, Busan, Republic of Korea
5. 古谷祐詞、「赤外分光法による膜タンパク質の動作機構研究」、第8回分子科学討論会 奨励賞受賞講演、2014年9月24日、東広島(広島大学)
6. Yuji Furutani, "Structural Changes of Membrane Proteins Studied by Difference FTIR Spectroscopy; Microbial Rhodopsins and Potassium Ion Channels", 16th International Conference on Retinal Proteins, Oct. 5-10, 2014, Nagahama Royal Hotel, Nagahama, Japan.

(一般講演)

1. 古谷祐詞、Victor A. Lorenz-Fonfria、神取秀樹、「時間分解赤外分光法によるバクテリアオロドプシンのX-D伸縮振動の解析」、第4回分子科学討論会、2010年9月14-17日、豊中(大阪大学)

(ポスター発表)

1. Yuji Furutani, Victor A. Lorenz-Fonfria and Hideki Kandori, "Time-resolved FT-IR measurement of X-D stretching vibrations of Bacteriorhodopsin in micro- to millisecond time range", The 48th Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan, Sep. 20-22, 2010, Sendai (Tohoku University).

2. Yuji Furutani, "Time-resolved polarized FT-IR spectroscopy on light-driven proton pumping protein, bacteriorhodopsin", JST-PRESTO International Joint Symposium on Photo-Science Leading to a Sustainable Society: Environment, Energy, Functional Materials, Mar. 27th, 2012, Keio University, Yokohama.
3. Yuji Furutani, Victor Lorenz-Fonfria and Hideki Kandori, "Water hydrogen-bonding dynamics in the function of bacteriorhodopsin studied by time-resolved FTIR spectroscopy", 15th International Conference on Retinal Proteins, Sep. 30-Oct. 5, 2012, Monte Verità, Ascona, Switzerland
4. Yuji Furutani, Hao Guo, Tetsunari Kimura, "Surface-Enhanced Infrared Spectroscopy for Evaluation of Orientation Control of a Membrane Protein", JST さきがけ「光エネルギーと物質変換」研究領域第2期・第3期採択研究者研究発表会「人工光合成研究の最前線:挑戦する若手研究者」, 2013年3月23日、草津(立命館大学びわこ・くさつキャンパス)
5. Yuji Furutani and Kuniyo Fujiwara, "Dynamics of water molecules in light-driven ion pump proteins studied via Time-resolved Fourier-transform infrared spectroscopy", 2014 International Conference on Artificial Photosynthesis (ICARP2014), Awaji Yumebutai International Conference Center, Awaji City, Hyogo, Japan.

受賞

1. 平成24年度分子科学研究奨励森野基金
「赤外分光法による膜タンパク質の情報伝達・エネルギー変換およびタンパク質機能を模倣した特異的ナノ反応場の分子機構研究」
2. 第6回(2013年度)分子科学会奨励賞
「赤外分光法による膜タンパク質の動作機構の解明」

著作物

1. 古谷祐詞 「微生物型ロドプシンの光誘起イオン輸送メカニズムの解明」, オプトジェネティクスー光光学と遺伝学による行動制御技術の最前線ー(NTS), 69-78, 2013
2. Yuji Furutani and Hideki Kandori, "Hydrogen-bonding changes of internal water molecules upon the actions of microbial rhodopsins studied by FTIR spectroscopy", *Biochim. Biophys. Acta* 1837 (5), 598-605 (2014)
3. 古谷祐詞 「赤外分光法による膜タンパク質の分子機構研究」, *Molecular Science* 8, A0067

プレスリリース

1. 「イオン輸送タンパク質内部で“ぶらぶら”した水分子の動きを赤外線で解明」(2012年10月)
https://www.ims.ac.jp/news/2012/10/09_1303.html

研究報告書

「光によって引き起こされるヒドリド移動反応を利用したエネルギーポンプ系の構築」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成 23 年 11 月～平成 27 年 3 月

研究者: 松原 康郎

1. 研究のねらい

緑色植物の光合成明反応において、光化学系 II では水の酸化により電子が 1 電子ずつ汲み出され、その電子を用いて光化学系 I では補酵素 NADP⁺が NADPH へと 2 電子還元(ヒドリド還元)される。そして NADPH は、後続の暗反応におけるグルコースの生成過程においてヒドリド供与体として消費される。この一連の過程は、光化学的に 3 つの重要な段階に分類することができる: 1) 水が電子源として利用されている、2) 可視光によって引き起こされた 1 電子移動反応が 2 電子反応(ヒドリド還元)に変換されている、そして 3) ヒドリド還元体(NADPH)が多電子還元(CO₂ の還元)の材料に使用されているということである。光エネルギーをこのようなヒドリド還元剤の形に汲み上げる(ポンプ)反応は、光エネルギーの物質変換、すなわち、光合成で見られるような多電子多プロトン還元系構築において基礎的であると考えられる。というのも、1 電子還元反応で CO₂ ラジカルアニオンを生成させるのに比べ、例えば、2 電子とプロトンをカップルさせた還元反応(ヒドリド移動反応)では、大幅に少ないエネルギーで化学的により安定な蟻酸アニオンを生成させることができるからである。

そこで本研究では、光エネルギーをヒドリド還元剤の形に変換する反応として、トリエチルアミンからルテニウム(II)ヒドリド錯体への光化学的な変換反応に注目した。この光反応では、CO₂ を還元できないような弱いヒドリド供与体が CO₂ を直接ヒドリド還元できる金属ヒドリド錯体へと変換される。この反応が、光エネルギーを利用してヒドリド性の低い化合物からヒドリド性の高い化合物に変換する、すなわち「ヒドリドポンプ」の役割を果たしていると捉え、ヒドリド化合物の熱的及び光反応性の検討を通して、このポンプ反応の CO₂ 多電子還元反応への応用を目指した。

2. 研究成果

(1) 概要

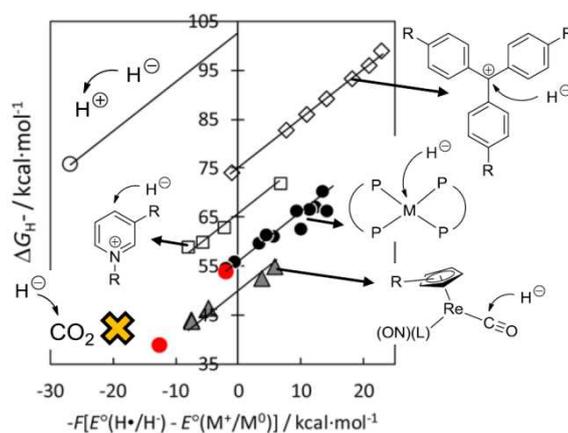
ヒドリド化合物を CO₂ の多電子還元反応に活用する試みはこれまでも行われてきたが、それらの研究において、ヒドリド還元剤を含めたエネルギーの収支までは考慮されていなかった。それらの反応系がエネルギーを蓄積しているかどうかは、ヒドリド還元剤の種類に依存しているといっても過言ではない。例えば、よく用いられる水素化ホウ素ナトリウムは製造に必要なエネルギーが大きすぎて CO₂ の還元反応では回収できない。しかし、どのようなヒドリド化合物もしくは溶媒を用いればその要件を満たすのか、近年では、種々のヒドリド化合物のヒドリド(H⁻)の供与性を調べる研究が活発になってきているが、ヒドリド化合物の種類を横断するような熱力学的な分類法は知られていなかった。また、光反応で生成させたヒドリド化合物を CO₂ と反応させる取り組みも皆無であったと言ってよい。そこで本研究では、1) ヒドリド供

与性及びその溶媒効果の熱力学的分類方法を開発し、2) 光生成させた新規ヒドリド化合物の CO_2 との反応性を検討した。

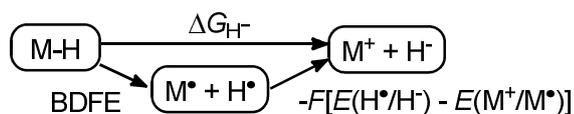
(2) 詳細

1. ヒドリド供与性及び溶媒効果の熱力学的分類方法の開発 [1,2]

ヒドリド供与性度は、酸性度と対を成す基本的な熱力学量で、ある化合物がヒドリド(H^-)を放出する際に必要なエネルギー(ΔG_{H^-})で定量される。このような量は、酸性度と比較して測定例が少ないものの、これまでその測定に多くの努力が払われてきた。しかしながら、それらの量の間にはどのような熱力学的関係性があるのかは不明であった。下図に、種々の化合物



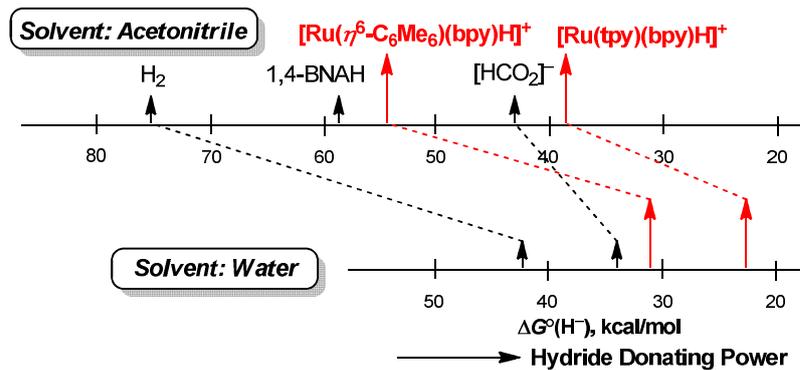
のヒドリド供与性度(ΔG_{H^-})を、対応するヒドリド酸化体の第 1 還元電位(ヒドリドの酸化電位基準で $-F[E^\circ(\text{H}^\bullet/\text{H}^-) - E^\circ(\text{M}^+/\text{M}^0)]$)に対してプロットしたものを示す。下図に示した熱力学サイクルにおいて、 ΔG_{H^-} と $-F[E^\circ(\text{H}^\bullet/\text{H}^-) - E^\circ(\text{M}^+/\text{M}^0)]$ は結合ギブスエネルギー(BDFE)によって結



ばれるため、ある化合物群が同じ結合ギブスエネルギーを持つ時、このプロットにおいて ΔG_{H^-} と $-F[E^\circ(\text{H}^\bullet/\text{H}^-) - E^\circ(\text{M}^+/\text{M}^0)]$ との間に傾き 1 の線形関係が存在することが期待される。実際、多くの化合物がこの規則に従うことが図より示された。この結果は、ヒドリド化合物が結合ギブスエネルギーに沿って熱力学的に分類できることを示しており、各種のヒドリド還元反応や水素添加反応触媒の設計において重要な熱力学的知見となることが期待される。

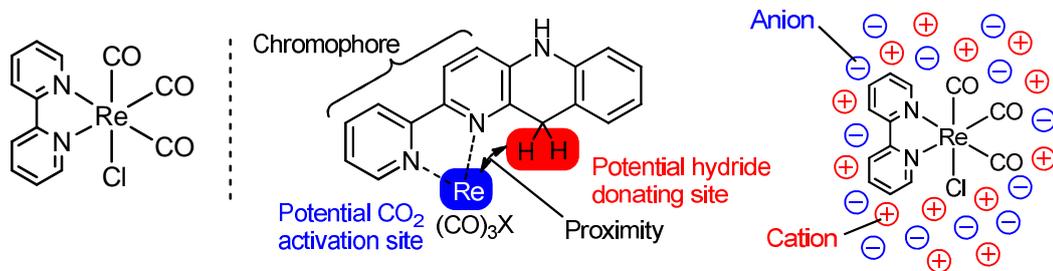
また、以前 *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, 131, 2794 にて報告された水中での同様な熱力学量と比較することにより、同じ化合物でも、アセトニトリル中と水中でのヒドリド供与性度は劇的な差があることがわかった。特に注目すべきことは、 CO_2 のヒドリド還元体である蟻酸アニオンは溶媒効果を強く受けないのに対して、ヒドリド金属錯体や水素分子では比較して大きな影響

を受けることである。熱力学的な解析の結果、これは関係するイオンの溶媒間移行自由エネルギーの差でうまく記述できることがわかった。特に水素分子では、水の水素結合の影響を特に強く受けるために、ヒドリド供与性度の熱力学的スケールは水中ではあたかも縮むように変化することが明らかとなった。これは、水中では、ヒドリド還元や水素移動の触媒反応におけるエネルギープロファイルの起伏が比較して小さくなる可能性が高いことを意味し、今後同種の触媒開発において重要な熱力学的知見となることが期待される。



2. 光生成させた新規ヒドリド化合物の CO₂ との反応性 [3,4]

レニウム(I)錯体(下図左)は、電気化学的及び光化学的に CO₂ を選択的に一酸化炭素(CO)へと還元する触媒であることが知られている。原理的には CO を 3 回ヒドリド還元するとメタノールへと還元できるため、光エネルギーを用いて生成させたヒドリドによるメタノール生成を目し、この触媒部位の近傍に NADP⁺ の反応部位を組み込んだ可視光応答性の錯体の光反応



性に関する検討を行った。その結果、ヒドリド還元された NADPH 部位を持つ錯体(上図中)がトリエチルアミンを電子源として高い量子収率で光生成することがわかった。但し、CO₂ に対する反応性はそれ程高くないことも判り、種々検討した所、ヒドリド供与性が CO₂ を還元するには十分でないという結果を得た。今後、ヒドリド供与能力が高いヒドリドを光生成する錯体をいかに設計するかが、ヒドリドポンプ反応を一般化する上での課題である。

また、これらの研究に関連して、同錯体のイオン液体の効果に関する検討も行った(上図右)。この場合、CO₂ の還元がより低い電位で始まるだけでなく、電流密度もより高くなることを見出している。

3. 今後の展開

光によって引き起こされるヒドリド移動反応(光励起ヒドリド移動)は、1光子で2電子移動させることができ、CO₂に限らず種々の基質を直接2電子還元して生成物を与えることも可能にする反応である。この反応は、光化学における「光励起1電子移動反応」のような基礎的な反応になる可能性もあり、今後、本さがけ研究で開拓した熱力学的知見を基にその概念を一般化する必要があると考える。そのためには、次の3点で更なる展開が望まれる: 1) ルテニウム(II)トリスビピリジン錯体のような光化学的検討が容易な分子の発見、2) 光励起ヒドリド移動反応の実体は「ヒドリド移動」であるのか、それとも「1電子移動に続く水素原子移動」なのかを明確にすること、そして、3) 光エネルギーの化学エネルギーへの蓄積に結びつくようなヒドリド供与体 - 受容体の組み合わせの検討である。特に(3)は、光合成明反応での正味の反応、すなわち水を電子源としてヒドリド還元剤を生産できるような反応の開発に直結する課題であり、また、光励起ヒドリド移動反応が研究分野として確立できるかどうかの試金石にもなる。そこで今後は、これら3点を踏まえ、1) 種々の中心金属をもつ錯体の光反応性の検討、2) 開発した熱力学的知見を基にした光励起ヒドリド移動反応の解析と新規錯体設計への活用、そして、3) (1)と(2)での結果を基にした有用な組み合わせの探索を継続して行っていく。

4. 評価

(1) 自己評価

(研究者)

本さがけ研究では、3年半の期間に渡り、ヒドリドポンプ反応のCO₂多電子還元反応への応用を目指してヒドリド化合物の熱的及び光反応性を詳細に検討した。その結果、熱的反応性に関して、化合物横断的な熱力学的分類法を開発するに至り、また、その溶媒効果についても定量的に評価する方法を確立した。2014年にアメリカ・メイン州で開かれたゴードン会議(無機化学領域)において、これらの知見が複数の研究グループで活用されている様子が見られたことから、本研究が触媒開発における有用な情報を提供できたことを確信している。一方、ヒドリドポンプ反応の主体である光励起ヒドリド移動反応に関しては、種々の検討を試み、いくつかの光反応系を見出したものの、高い効率でCO₂還元を活用できるような光反応系を見出すことができなかった。しかしながら、ヒドリドを操作する研究は、光を用いる研究はもちろんのこと、それ以外の研究でも注目度が高いことをアメリカ化学会誌の動向から読み取ることができ、今後、一層の進展を図る必要がある。

(2) 研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

(研究総括)

人工光合成の実現に向けて最も重要な解決課題の一つに多電子変換過程を如何にして実現するかが挙げられる。光照射による1電子単位の電荷分離に後続してそれぞれ酸化末端では4電子変換、還元末端では2電子変換を実現する必要がある。天然の光合成では還元末端における2電子変換はヒドリド(2電子と1プロトン)の形で酵素反応として進行し、段階的な多電子変換反応が達成される。人工光合成系における還元末端では水素の発生、CO₂の2電子還元によるCOやギ酸の生成が主な研究潮流であるが、現時点では個別の

先端的反応事例の蓄積が進むものの、熱力学的考察を基礎にした分子機構の設計＞設計に基づく実際系での実験結果の蓄積＞その解析＞再設計、などのフィードバックサイクルによる研究展開には至っていない。松原博士は、このような現状を背景に、自身が見出した光反応によるヒドリド錯体生成事例を基礎に、ヒドリド化合物を順次、より高いヒドリド供与性を有する高反応性ヒドリド化合物に変換し、目的の還元末端反応を進行させるべく高反応性ヒドリド化合物として「還元力」を貯蔵できる系を構築しようとする意欲的な研究提案を行い採択された。松原博士の研究提案はいわばヒドリド供与性の階段を上るがごとく、ヒドリドのポンピングアップ操作をおこなうヒドリドポンプの構築という極めて挑戦的で独創性が高いものである。研究開始当初より、実験施設の立ち上げに若干の誘導期間がみられたが、詳細な微小熱量測定実験方法を駆使することにより、ヒドリド供与性とヒドリド化合物の関連について熱力学的な分類が可能であることを見出している。ヒドリド化合物が結合ギブスエネルギーに沿って熱力学的に分類できるということを示しており、ヒドリド化合物の一般化学の視点からも非常に重要な発見と言える。さらに進んで分子内にヒドリド供与型部位を中心金属近傍に配置した新規Re錯体を光反応で生成することに成功した。CO₂との反応性は充分ではなかったが、今後のヒドリド型分子触媒設計の重要な指針を与えるものとして評価される。研究総括としては松原博士が、本さきがけ研究により、ヒドリド化学の一般化学を含めて腰を据えて取り組もうとしている研究姿勢を高く評価したい。

5. 主な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

1. Matsubara, Y.;* Fujita, E.; Doherty, M. D.; Muckerman, J. T.;* Creutz, C.* "Thermodynamic and Kinetic Hydricity of Ruthenium(II) Hydride Complexes", *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 15743-15757.
2. Matsubara, Y.; Kosaka, T.; Koga, K.; Nagasawa, A.; Kobayashi, A.; Konno, H.; Creutz, C.; Sakamoto, K.; Ishitani, O.* "Formation of η^2 -Coordinated Dihydropyridine–Ruthenium(II) Complexes by Hydride Transfer from Ruthenium(II) to Pyridinium Cations", *Organometallics* **2013**, *32*, 6162-6165.
3. Matsubara, Y.;* Hightower, S. E.; Chen, J.; Grills, D.; Polyansky, D. E.; Muckerman, J. T.; Tanaka, K.; Fujita, E.* "Reactivity of a *fac*-ReCl(α -diimine)(CO)₃ complex with an NAD⁺ model ligand toward CO₂ reduction", *Chem. Commun.* **2014**, *50*, 728-730.
4. Grills, D. C.;* Matsubara, Y.;* Golisz, S. R.; Kurtz, D. A.; Kuwahara, Y.; Mello, B. A. "Electrocatalytic CO₂ Reduction with a Homogeneous Catalyst in Ionic Liquid: High Catalytic Activity at Low Overpotential", *J. Phys. Chem. Lett.* **2014**, *5*, 2033-2038.

(2) 特許出願

特になし

(3) その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

1. *C&EN* **2014**, May 26, p.41.

(<http://cen.acs.org/articles/92/i21/Reducing-CO2-Ionic-Liquids.html>)

研究報告書

「高効率な二酸化炭素還元を目指した新規光触媒の創製」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成 23 年 10 月～平成 27 年 3 月

研究者: 森本 樹

1. 研究のねらい

人類が化石資源を主要なエネルギー源として利用しはじめてから、地球温暖化と海洋の酸性化の原因物質の一つとされている二酸化炭素(CO₂)の大気中濃度は増加しつづけている。同時に、石油・石炭といった資源の枯渇問題も懸念されている。このような諸問題の解決を目指し、様々な再生可能エネルギー技術の開発が注目を集めている。なかでも、これらの深刻な問題を一挙に解決する上で基軸となる解決手段として、植物が行っている光合成のように、太陽光をエネルギー源として CO₂ を有用な C1 化合物に変換する反応系が期待されている。

この人工光合成の一端を担う光触媒的 CO₂ 還元光触媒系には、その生成物選択性や物性変調の容易さ等の理由から、光機能性金属錯体が有望な光触媒として注目されてきた。しかしながら、種々の金属錯体や半導体を用いて、高効率に水素や酸素を生成する触媒系が現在精力的に開発されている一方で、炭素資源の再利用を見据えた CO₂ 還元光触媒の研究は発展途上の段階にある。特に、従来報告されている光触媒反応系には、触媒効率が必ずしも高くなく、また、水中で有効に働かないという決定的な欠点が存在し、その実用化に向けて克服しなければならない大きな障壁となっている。

そこで本研究課題では前者の問題を解決するために、複数の光触媒(触媒)部を有する新規多核錯体による光触媒系、および、エネルギー捕集機能を付与した金属錯体光触媒系の構築を目指した。また、後者の問題解決を目指して、炭酸イオンや炭酸水素イオンの捕捉能を有し、それを利用して水中で機能する光触媒錯体を創製することを目標とした。これらの触媒系の開発を通じて、CO₂ 還元光触媒系の高効率化と、分子捕捉と CO₂ 還元反応との複合化を実現し、これまでにない光触媒開発の方法論を打ち立てることに挑戦した。

2. 研究成果

(1) 概要

光触媒的 CO₂ 還元反応の高効率化を目指して、空間的に規制した位置に 2 個のルテニウム錯体を配置したいくつかの二核錯体を新規に合成した(研究テーマ A)。これらの二核錯体の光物性・電気化学的特性は、対応する単核錯体のそれとほぼ同等であるにもかかわらず、二核錯体を触媒とする光触媒系は、CO の生成速度、CO 生成ターンオーバー数、触媒の耐久性のいずれの点でも単核錯体を上回った。この事実から、光触媒を空間的に規制した位置に固定化するという設計戦略が、光触媒的 CO₂ 還元反応の高効率化に寄与することを明確に示すことができた。

また、CO₂ 還元光触媒系の高効率化を実現する別の戦略として、光捕集機能を担う光増感剤を共存させる光触媒系を種々検討した(研究テーマ B)。上記の二核錯体と、可視光を吸収できるルテニウム錯体を溶液中で混合することで、既知の高効率なルテニウム-ルテニウム連

結晶錯体光触媒系に匹敵する性能を実現することに成功した。さらに、光増感能が高いと期待される環状レニウム多核錯体を新たに開発し、これとレニウム単核錯体を混合した光触媒系も検討した。その結果、CO₂還元反応の量子収率 82%を達成し、現在最も高い CO₂還元量子収率を示す光触媒の開発に成功した。

これらの光触媒系を検討する中で、レニウム錯体が CO₂ の還元光触媒能のみならず、CO₂ 捕捉能を有することを明らかにした(研究テーマ C)。置換活性なレニウム錯体がトリエタノールアミン共存下で CO₂ 分子を効率良く取り込むことを見出した。また、従来から広く用いられてきたレニウム錯体を用いた複数の光触媒反応系においても、CO₂ を捕捉した錯体が生成することも解明した。さらに、この CO₂ 分子の捕捉に注目し、低濃度の CO₂ ガスを処理する流通型光触媒反応系を設計し、CO₂ 濃度 10%以下の条件においても、CO₂ を光触媒的に還元する反応システムの構築に成功した。

(2) 詳細

研究テーマ A「剛直な架橋部を有するレニウム二核錯体を用いた二酸化炭素還元光触媒系」

従来の研究から光触媒反応中の鍵段階が複数のレニウム錯体に関わる多分子反応過程であることが指摘されていることをふまえて、光触媒を空間的に規制した位置に固定して多核化するという新しい触媒設計を検討した。2 個のレニウム(I)錯体を適切な位置に配置するために、剛直なジベンゾフランにアルキル鎖を介して 2 個のジイミン配位子を導入した多座配位子を合成し、さらに種々のレニウム錯体を配位させることで、レニウム(I)複核錯体を合成した(図 1a)。

これらのレニウム 2 核錯体の光物性を検討したところ、吸収スペクトル、発光スペクトル、発光量子収率、励起寿命や電気化学的性質のいずれも、参照化合物となる単核錯体とほぼ同等の挙動を示した(図 1b)。一方で、複核錯体と参照化合物である単核錯体をジメチルホルムアミド-トリエタノールアミン(DMF-TEOA, 5:1 v/v)溶液中に各レニウム錯体を溶解し、CO₂ 雰囲気下で主として 365 nm の光を用いて CO₂ 還元光触媒反応を行ったところ(図 1a)、反応初期における CO の生成速度、各反応時間における CO 生成ターンオーバー数(TON_{CO})、触媒の耐久性のいずれについても、複核錯体が単核錯体を上回った(図 1c)。

光物性・電気化学的特性がほぼ同等であるにもかかわらず、二核錯体の各種光触媒性能が向上し、光触媒効率が大きく異なったことは、複核錯体の構造特性がそれに影響していることを強く示唆している。すなわち、光触媒を空間的に規制した位置に固定化するという、本研究課題で提案した設計戦略が光触媒能の向上に有効であることを実証できた。

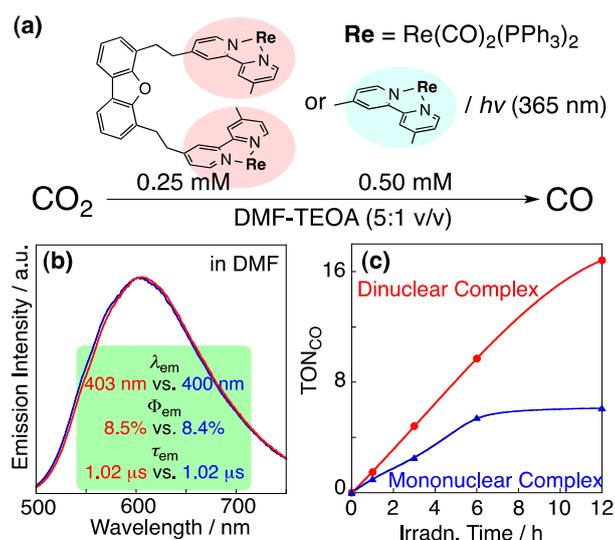


図 1. レニウム二核錯体および単核錯体の発光特性と光触媒能。(a)レニウム二核錯体および単核錯体による二酸化炭素還元光触媒反応、(b)両錯体の発光スペクトルと発光特性、(c)両錯体を光触媒として用いた時の CO 生成ターンオーバー数。

研究テーマ B「光増感剤の混合による二酸化炭素還元光触媒系の高効率化」

光増感機能と触媒機能をそれぞれ別の物質に担わせることで二酸化炭素光還元系の高効率化を目指した。まず、光増感剤としてルテニウム(II)トリスジイミン錯体、触媒として研究テーマ A で得た二核錯体または別の多座配位子を用いた二核錯体を用いる可視光駆動型光触媒系を検討した。その結果、いずれの二核錯体の場合でも触媒的な CO の生成が確認され、反応 18 時間後の CO 生成のターンオーバー数はいずれも 100 を大きく上回った。これらはこれまでに高効率な光触媒として報告されているルテニウム-レニウム超分子型光触媒のそれに匹敵する結果である。一方、対応する単核錯体と比較すると、ターンオーバー数、反応量子収率はそれぞれ 2 倍、1.5 倍に向上し、耐久性も増すことがわかった。この結果は、光増感剤が共存する条件下においても、近接したレニウム錯体部からなる二核錯体が単核錯体に比べて、優れた触媒能を示すことを明確に示している。

また、これまでに明らかにしてきたレニウム錯体に見られる配位子間相互作用による特異な物性変調に注目し(論文発表 1,2)、その配位子間相互作用を増強した、環状にレニウム錯体が連なったレニウム多核錯体を開発した(論文発表 3)。実際にこの環状多核錯体は単核錯体には見られない特異な光物性、例えば、非常に高い発光量子収率(41%、図2a)や長い励起寿命(5.4・s)を示した(対応する単核錯体の発光量子収率は 10%、励起寿命は 0.64・s)。これらの光物性は、可視光の有効利用や光増感反応の量子収率の観点からすると、いずれも光増感剤として好ましい性質であることから、この多核錯体を光増感剤、レニウム単核錯体を触媒とする新たな CO₂ 還元光触媒反応系を検討した。

このリング状多核錯体を光増感剤、レニウム単核錯体 $fac-[Re(bpy)(CO)_3(MeCN)]^+$ を触媒とし、さらに犠牲還元剤としてベンゾイミダゾール誘導体(BIH)を含む DMF-TEOA (5:1 v/v) 混合溶液に、CO₂ 雰囲気下 436 nm の単色光を照射したところ、CO がほぼ選択的に生成し(図 2

b)、CO生成のターンオーバー数は16時間で526と犠牲還元剤の約9割を消費した。またその反応量子収率は82%に達し、紫外光や可視光で駆動するCO₂還元光触媒の中で、現在のところ最も高いCO₂還元量子収率を示す光触媒の開発に成功した。

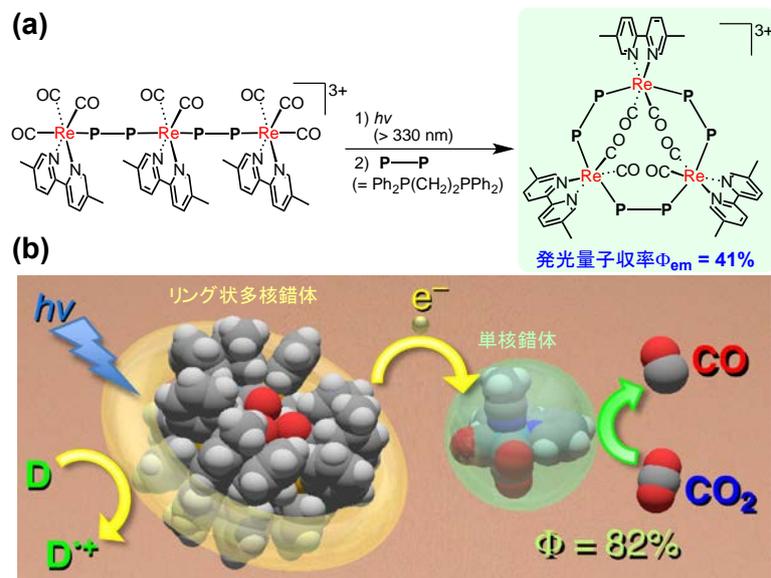


図2. 強発光性を示す環状レニウム多核錯体の合成例(a)とそれを光増感剤とする、最高の反応量子収率を示す CO₂ 還元光触媒反応系の模式図(b)。ここで D = BIH, $h\nu$: 436 nm。

研究テーマ C「二酸化炭素還元光触媒系におけるレニウム錯体の二酸化炭素分子捕捉」

従来 CO₂ 還元光触媒系でよく用いられてきた DMF-TEOA 混合溶媒系において、置換活性なトリカルボニルジイミンレニウム錯体が、CO₂ 分子を TEOA 分子とともに効率良く取り込むことを初めて見出した(図3、論文発表4)。またこの錯体が、TEOA のヒドロキシ基と CO₂ が結合を生成して炭酸エステル(R₂N-CH₂CH₂O-COO⁻)を形成し、レニウム中心に配位した構造を有していることを明らかにした。さらに、TEOA が配位した錯体と CO₂ から CO₂-TEOA 付加錯体が生成する平衡定数は $1.7 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$ と求められ、DMF-TEOA 混合溶液を用いる通常的光触媒反応において、ほぼ単一の化学種として溶液中に存在すること、また、空気中の CO₂ をも取り込むことを確認した。

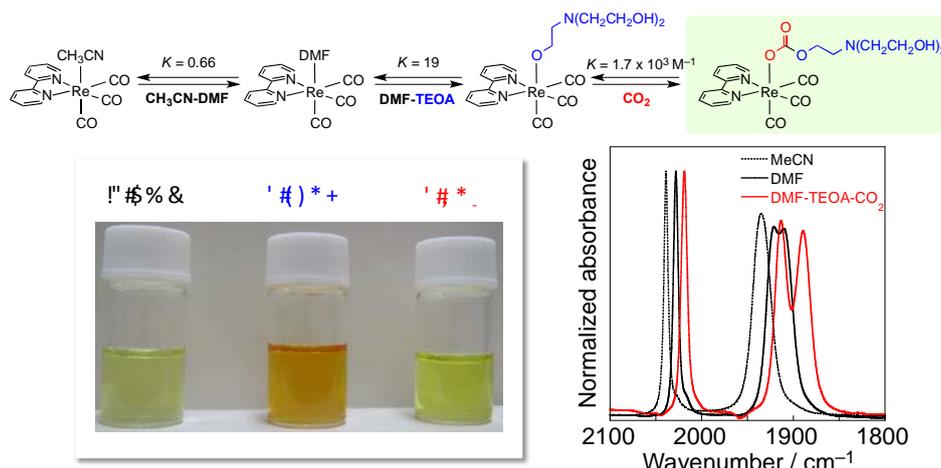


図3. 置換活性なレニウム単核錯体の配位子交換反応と CO₂ の捕捉、およびそれに伴う色調変化と赤外吸収スペクトルの変化。

従来から広く用いられてきたプロモトリカルボニルレニウム錯体等のレニウム単核錯体を用いた複数の光触媒反応系を詳細に検討したところ、その初期の段階でこの CO₂-TEOA 付加錯体が生成することも解明した。さらに、CO₂-TEOA 付加錯体の CO₂ 雰囲気下における電気化学的特性を評価し、CO₂ 捕捉が電気化学的 CO₂ 還元反応の進行を促進していることを示唆する結果を得た。

さらにレニウム錯体による CO₂ 分子の捕捉に注目し、低濃度の CO₂ ガスを処理する流通型光触媒反応系を設計した。例えば、溶媒が配位したトリカルボニルレニウム(I)錯体とルテニウムトリスビピリジン錯体を連結した複核錯体を光触媒として用いて、CO₂ 濃度 10%の条件で光触媒反応を行い、照射 26 時間後の TON_{CO} が 1000 を超える光触媒系の構築に成功した。また、様々な CO₂ 濃度に対する付加体の生成割合の傾向と、初期の CO 生成速度の傾向とを比較すると、CO₂ 還元光触媒の反応速度は CO₂ 付加錯体の濃度に依存していることも明らかにした。

ここに示したレニウム錯体の特性を利用した、電荷的中性の CO₂ 分子の捕捉と光触媒反応への応用は、本研究課題の計画当初予定していた、レニウム錯体による負電荷を持つ炭酸イオンや炭酸水素イオンの捕捉とそれを前駆体とする CO₂ 還元反応と概念を同じくする系である。現在、この手法を水溶液中での反応に適用することで、当初の目標を完結させることができる段階にある。

3. 今後の展開

本研究では、(光)触媒の相対位置を規制した複核錯体の利用と、適切な光増感剤の併用という手法が、二酸化炭素還元光触媒反応の効率を向上させることを実証した。この制御法は、レニウム錯体を二酸化炭素還元系に用い、その他端である水の酸化系と連結して、人工光合成を達成する上で必要不可欠な知見になると考えている。

また、レニウム錯体による CO₂ 捕捉とその光触媒反応への適用の考え方は、これまでの二酸化炭素の回収・濃縮技術とは異なる、CO₂ の捕捉・回収と資源としての CO₂ 利用の新技术法を与える可能性がある。すなわち、CO₂ の回収と CO₂ の変換反応は別という従来の考え方から

脱却し、回収槽と反応槽を別々ではなく、同じ槽で行うという新しい反応系を創出できる可能性がある。この新しい反応系と化学工学の知見とを組み合わせることで、火力発電所や製鉄所から排出される低濃度 CO₂ ガスを高効率に処理できる流通型反応系が実現できると考えている。

さらに、金属錯体によるCO₂捕捉とCO₂還元という戦略は、レニウム錯体に限らず、他の金属錯体にも適用可能であると考えられる。現在、二酸化炭素還元光触媒系で一般に用いられてきた貴金属を使用せず、生産量、クラーク数ともに大きく、安価な金属を用いて新しい光触媒系を設計・開発することを目指している。

4. 評価

(1) 自己評価

(研究者)

本さがけ研究の計画・申請段階において、金属錯体を用いた光触媒的二酸化炭素還元反応を実用化する際に問題点になると想定された、触媒効率の低さおよび水中での反応性に注目して、上述の研究課題を提案した。前者については、錯体の多核化や光増感剤の併用が光触媒反応の効率化に寄与するという作業仮説を設定し、いくつかのレニウム多核錯体を用いた光触媒系を検証することで、その仮説が正しいことを実証できたと考えている。実際に、新たに開発した環状多核錯体を光増感剤とする光触媒系によって、最高の反応量子収率を示す光触媒系を達成できた。

一方後者については、反応基質である CO₂ の前駆体として炭酸水素イオン等のイオン種を標的に設定し、それを水中で捕捉し続いて還元する金属錯体の構築を当初目指していた。しかしレニウム二核錯体・単核錯体を用いた光触媒系の検討段階で、30 年以上前から多くの研究者に用いられてきたにもかかわらずこれまで見逃されていた、レニウム錯体に生来的に備わっている CO₂ 捕捉能を見出し、反応基質である CO₂ を直接的に錯体中に取り込む反応を見出した。現在までに、この性質を水中反応に適用できるまでには至っていないが、この発見が低濃度 CO₂ の還元という、従来検討されてこなかった新しい二酸化炭素還元系の開発につながった。この金属錯体による CO₂ の捕捉と還元の機能を組み合わせるといった概念・方法によって、金属錯体光触媒に CO₂ 捕捉能を付与するという新たな設計指針で、二酸化炭素還元光触媒系が開発されていくことが今後期待される。さらに、CO₂ の濃縮と流通型光反応系を組み合わせる反応系は、発電所等から排出される低濃度の CO₂ を光エネルギーでリサイクルする反応系の有望な一形態となることが期待される。

(2) 研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

(研究総括)

水を電子源とするCO₂の還元固定を実現する人工光合成系の構築への挑戦の中で分子触媒からのアプローチは最も有望な候補の一つである。なかでも還元末端での光化学的CO₂固定化反応については、近年我が国の研究グループが研究潮流の最先端にあり、森本博士はその研究グループの中核メンバーの一人として実績のある研究者である。現状では犠牲試薬を電子供与体とするCO₂光還元の半反応の高効率化、分子機構の解

明、水溶液中での反応系展開、汎用金属錯体系への展開などが最も注力すべき研究課題となっている。森本博士は、これらの課題に挑戦する意欲的な研究提案を行い採択された。研究開始当初は若干の誘導期間があったが、光化学的CO₂還元反応の高効率化を目指して、空間的に規制した位置に2個のレニウム錯体を配置したいくつかの二核錯体を新規に合成し単核錯体を上回る触媒性能を有することを見出した。光触媒を空間的に規制した位置に固定化するという設計戦略が、光触媒的CO₂還元反応の高効率化に寄与することを明確に示したと言える。また、CO₂還元光触媒系の高効率化を実現する別の戦略として、光捕集機能を担う光増感剤を共存させる光触媒系環状レニウム多核錯体を新たに開発し、これとレニウム単核錯体の混合光触媒系においてCO₂還元反応の量子収率82%を達成した。これは現在の世界記録である。さらに進んで、レニウム錯体がCO₂の還元光触媒能のみならず、CO₂捕捉能を有することを見出した。このCO₂分子の捕捉に注目し、低濃度CO₂ガスを処理する流通型光触媒反応系を設計し、CO₂濃度10%以下の条件においても、CO₂を光触媒的に還元する反応システムの構築に成功した。これらの研究成果は分子触媒によるCO₂光還元の研究潮流を主導するものとして高く評価される。

5. 主な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

1. Tatsuki Morimoto, Megumi Ito, Kazuhide Koike, Tatsuhiro Kojima, Tomoji Ozaki, Osamu Ishitani, Control of Photophysical and Photocatalytic Properties of Metal Complexes by Aromatic Interaction, *Chem. Eur. J.* **2012**, *18*, 3292–3304.
2. Tatsuki Morimoto, Junji Tanabe, Kazuhiko Sakamoto, Kazuhide Koike, Osamu Ishitani, Selective H₂ and CO Production with Rhenium(I) Biscarbonyl Complexes as Photocatalyst, *Res. Chem. Intermed.* **2013**, *39*, 437–444.
3. Tatsuki Morimoto, Chiaki Nishiura, Marina Tanaka, Jana Rohacova, Yuki Nakagawa, Yusuke Funada, Kazuhide Koike, Youhei Yamamoto, Sayaka Shishido, Tatsuhiro Kojima, Takuro Saeki, Tomoji Ozeki, Osamu Ishitani, Ring-Shaped Re(I) Multinuclear Complexes with Unique Photofunctional Properties, *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 13266–13269.
4. Tatsuki Morimoto, Takuya Nakajima, Shuhei Sawa, Ryoichi Nakanishi, Daisuke Imori, Osamu Ishitani. CO₂ Capture by a Rhenium(I) Complex with the Aid of Triethanolamine. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 16825–16828.

(2) 特許出願

研究期間累積件数: 0件

(3) その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

主要な学会発表

1. 高効率な二酸化炭素還元光触媒系を目指したレニウム錯体の光化学、森本樹、第11回神奈川R&D推進協議会 光エネルギー応用研究部会 技術討論会(2012年10月、招待講演).
2. Dinuclear Rhenium(I) Complexes for Efficient Photocatalytic Reduction of Carbon Dioxide,

<p><u>Morimoto, T., O. Ishitani, 7th Asian Photochemistry Conference 2012 (2012年11月).</u></p>
<p>3. Unique Photofunctional Properties of Ring-Shaped Re(I) Multinuclear Complexes、<u>T. Morimoto, C. Nishiura, Y. Nakagawa, M. Tanaka, J. Rohacova, Y. Funada, K. Koike, Y. Yamamoto, T. Ozeki, O. Ishitani, 5th Gratama Workshop (2013年5月).</u></p>
<p>4. CAPTURE AND PHOTOCATALYTIC REDUCTION OF CARBON DIOXIDE、<u>Tatsuki Morimoto, UK-Japan Solar Driven Fuel Synthesis Workshop: Materials, Understanding and Reactor Design (2014年9月、招待ポスター講演).</u></p>
<p>5. Capturing carbon dioxide for photocatalytic CO₂ reduction、<u>Tatsuki MORIMOTO, Takuya NAKAJIMA, Eishiro KATO, Osamu ISHITANI, 2014 International Conference on Artificial Photosynthesis (2014年11月).</u></p>
<p>著作物</p>
<p>1. <u>森本樹, 高効率な二酸化炭素還元を目指した新規光触媒の創製, 化学経済、2011, 12, 72 (2011年12月号).</u></p>
<p>2. <u>森本樹・石谷治, 二酸化炭素を還元できる光触媒, 光アライアンス、2013, 24, 31-35 (2013年5月号).</u></p>
<p>3. <u>森本樹・石谷治, 高効率な二酸化炭素還元を実現する光触媒系の開発, ファインケミカル、2014, 43, 53-58 (2014年9月号).</u></p>
<p>4. <u>森本樹・石谷治, 太陽の光を化学物質に蓄える -人工光合成をめざして-, 化学と工業、2014, 62, 454-455 (2014年9月号).</u></p>
<p>5. <u>森本樹、光エネルギーを用いて炭酸ガスを還元する光触媒系の開発. 光合成研究と産業応用最前線、2014, 253-261. (第2編第2章第2節、2014年12月発刊).</u></p>
<p>プレスリリース</p>
<p>1. 「CO₂、液体燃料の原料に」、日本経済新聞 (2014年1月21日).</p>