金属硫化物半導体を形成した微生物を用いる光―化学エネルギー変換: バイオハイブリッドによる光水素生産

本田裕樹

奈良女子大学研究院 自然科学系化学領域

研究の目的

持続可能な社会の実現に向けて、無尽蔵の太陽光の活用に期待が寄せられる。太 陽光エネルギーを化合物の形で貯蔵・運搬・使用することになるが、そのエネルギー 貯蔵体には水素が有望視され、様々なアプローチから光水素生産の実現に向けた研 究が展開されてきた。本研究では、無機半導体光触媒と酵素から成るバイオハイブ リッドを構築し、高安定かつ安価で高効率な無機材料による光-化学エネルギー変 換と、生体触媒の高効率な物質生産を組み合わせた新規触媒系の提案を目指した。

具体的には、近年報告したバイオハイブリッド、すなわち微生物機能により硫化 カドミウム (CdS)を形成させ、この CdS の可視光エネルギー変換と、大腸菌への遺 伝子工学的な水素生成能の付与を組み合わせたバイオハイブリッドによる水素生産 ¹⁾を基礎とした。特に本研究では、大腸菌での CdS 形成を遺伝子工学的に促進[シス テインデスルフヒドラーゼ (DSH)によるスルフィド合成能の強化(図1)]し、光 エネルギー変換能を強化して、系全体の光水素生産能の向上を目指した。



図1 本研究で目指したバイオハイブリッドによる光水素生産の概要

方法

タンパク質生産には大腸菌 BL21(DE3)を宿主とした。[FeFe]-ヒドロゲナーゼの生産 には pETDuet-1 由来 pEHydEFG-A²⁾を導入した大腸菌を用いて所定の方法¹⁾で実施し た。*Treponema denticola* 由来 DSH 遺伝子を pBAD33 に連結して得た pBAD-DSH を スルフィド合成能の強化に用いた。[FeFe]-ヒドロゲナーゼ遺伝子を導入した大腸菌 (*E. coli* Hyd+) に、さらに DSH遺伝子を導入した大腸菌株 (*E. coli* Hyd+/DSH+) を 作製した。また、*E. coli* Hyd+に pBAD33 を導入した *E. coli* Hyd+/DSH-を作製した。 DSH 活性の評価では、システインからのスルフィドの遊離をメチレンブルー法で評価した。CdS の形成の評価に向けて、好気的に培養した大腸菌を回収し、リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) に再懸濁して CdCl₂ とシステインを加えて CdS を形成させた。大腸菌懸濁液の吸光度測定には積分球を用いた。大腸菌が形成した CdS を単離・精製して ITO 透明ガラス電極上に CdS 膜を形成し、それを光電極として 0 V (vs. Ag/AgCl)を印加し、405 nm の LED 光を照射して、100 mM BisTris-HCl (pH 5)中での光電流を測定した。CdS の局在は PBS 中で CdS 形成した大腸菌を 10%グルタルアルデヒドで固定し、ゲルに包括して薄膜切片を得た後に透過型電子顕微鏡観察で評価した。光水素生産は所定の方法¹⁾に従い、照射光は AM1.5G 太陽光シミュレーターとし、継時的に水素生産量を測定した。

結果

E. coli Hyd+/DSH+と E. coli Hyd+の細胞懸濁液にシステイン 1 mM を添加し、スル フィド生成量を定量した(図 2a)。DSH 遺伝子の導入によるスルフィド生成の促進 を確認した。続いて、DSH 遺伝子の導入による CdS 形成の変化を確認した。CdS 形 成条件に曝した菌体を各時間で回収し、その菌体懸濁液の吸光度を追跡した(図 2b)。 E. coli Hyd+/DSH+では、CdS 形成を開始して1時間でUV 領域に、3時間までに400 nm から 500 nm に吸収を示した。これは最初の1時間での CdS ナノ粒子形成と、そ の後の粒子径の成長に対応する。E. coli Hyd+では、UV 領域に大きな吸収は見られ ず、10時間程度経て450nm程度に吸収が見られた。従来は20時間のCdS形成を必 要とした¹⁾が、DSH 遺伝子の導入で CdS 形成に要する時間の短縮が可能になった。 大腸菌で形成した CdS で光電極として光電流を測定した(図 2c)。同じ CdS 形成条 件(Cd²⁺0.5 mM,システイン1 mM)で菌体当たりの Cd 量は同じだが、DSH 遺伝子 の導入で、光電流が増大し、光-化学エネルギー変換能の向上が見られた。TEM 観 察では、CdS 形成がはじめ細胞内で起こり、時間経過で粒子径の増加とともにペリ プラズム領域に CdS が蓄積する様子を確認した(図 2d)。最後に、DSH 遺伝子の導 入による光水素生産の向上を確認した。図 2e に CdS 形成 10 時間の各菌体の吸収を まとめた。これらの CdS 形成 10 時間の菌体に対し、太陽光シミュレーターの光照射 下での水素生産を確認した(図2f)。E. coli Hyd+/DSH+のみが可視光に吸収があるこ とを反映して、E. coli Hyd+/DSH+では従来¹⁾用いていた E. coli Hyd+に対して可視光 下での光水素生産能の向上が確認できた³⁾。

結論

大腸菌のスルフィド合成能を DSH 遺伝子の導入で促進すると、CdS ナノ粒子の形 成時間を短縮し、形成した CdS の重量当たりの光-化学エネルギー変換能を向上で きた。この光-化学エネルギー変換能の向上により、バイオハイブリッド全体での 光水素生産能の向上に成功した。 本研究は、公益財団法人野田産業科学研究所2023年度「研究助成(持続可能分野)」 のご支援のもとで実施しました。また、TEM 観察には大阪産業技術研究所の畠中芳 郎先生にお力添えをいただきました。この場を借りて御礼申し上げます。



図 2 DSH 遺伝子の導入によるバイオハイブリッドの光エネルギー変換能の向上 (a) DSH 活性測定、(b) 吸光度変化、(c) 形成した CdS の光電流測定、(d) TEM 観察、 (e) CdS 形成 10 時間の吸収のまとめ、(f) CdS 形成 10 時間のバイオハイブリッドに対 する AM1.5G 照射下での光水素生成量

文献

- 1) Honda, Y., Shinohara, Y., Watanabe, M., Ishihara, T., and Fujii, H. (2020) Photobiohydrogen production by photosensitization with biologically precipitated cadmium sulfide in hydrogen-forming recombinant *Escherichia coli*. *ChemBioChem* **21**: 3389–3397.
- Honda, Y., Yuki, R., Hamakawa, R., and Fujii., H. (2024) Photo-electro-biochemical H₂ production using the carbon material-based cathode combined with genetically engineered *Escherichia col*i whole-cell biocatalysis. *ChemSusChem* 17: e202300958.
- 3) 本田裕樹, (2023) 金属硫化物半導体光触媒を形成する組換え大腸菌を用いる可視 光駆動型水素生産, *触媒* 65: 287-293.