

「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27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ます。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ます。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ます。

2. 事後評価対象の研究課題・研究者名

件数： 4件(内、大挑戦型1件)

※研究課題名、研究者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1課題を推薦した。

選考	書類選考	面接選考	採択数		
			13件	内訳	
対象数	115件	33件			3年型
			5年型		4件(1件)

()内は大挑戦型としての採択数。

備考:

- 1) 平成22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。
 - ・栗栖 源嗣 研究者
最先端・次世代研究開発支援プログラムに採択され、研究を中断したため。
- 2) 以下を今年度の事後評価対象とする。
 - ・杉浦 美羽 研究者
 - ・松橋 靖博 研究者



・山崎 仁文 研究者

研究期間が5年で、今年度終了するため。

3) 加えて、以下を今年度の事後評価対象とする。

・藤井律子研究者(平成23年度採択)

ライフイベントによって研究を一時中断したため。

5. 研究実施期間

平成22年10月～平成28年3月(5年型)

6. 領域の活動状況

領域会議:12回

研究総括(または技術参事)の研究実施場所訪問:16回

7. 事後評価の手続き

別記4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27年5、11月 評価会開催(於:領域会議)

平成28年 3月 研究総括による事後評価

平成28年 3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

9. 評価結果

平成22年度採択研究者のうち、研究期間5年として採択された3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1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. 藤井 律子 研究者「褐藻類の光合成アンテナに結合した色素の構造と機能の解明」

人工光合成の実現に向けて、1)自然を理解し、学ぶ、2)自然を真似る、改変する、3)自然を超える、などの科学的アプローチの中で、藤井博士は地球上の光合成活動で、30%以上の比率を占めるとされる海洋における光合成の理解を進める基礎研究として、限られた波長と限られた強度の太陽光捕集の機構解明に挑戦する意欲的な研究提案が採択された。藤井博士は特に水深10m以上でほぼ緑色光のみでも光合成活動に有効に利用し得る褐藻類に着目しそのフコキサンチン-タンパク複合体(FCP)による光捕集機構の解明に取り組んでいる。既にさきがけ採択以前に解明しているフコキサンチン分子固有の有機溶媒中での電子励起状態、その動的挙動の理解を基礎に、さきがけ研究では、光合成系に組み込まれた生体組織でのFCPの動的挙動について超高速分光測定手法を駆使し、緑色光が極めて有効にクロロフィル分子にエネルギー移

動することを見出した。また、新たに青緑色の光を吸収する性質を持つ海洋性緑藻の一種、ミル類の持つ光合成アンテナ、シフォナキサンチンクロロフィル蛋白 (SCP) の単離精製に成功し、X 線結晶構造解析を目指した三次元結晶化に着手している。また褐藻類(いわゆるモズク類)について企業と連携してその大量培養に取り組むなど応用展開研究にも尽力しておりその研究姿勢と研究努力は高く評価される。

2. 杉浦 美羽 研究者 「光合成による高効率エネルギー変換と水の酸化機構の解明」(5年型)

杉浦美羽博士は主に光合成の初発反応を担うタンパク質である光化学系 II (PSII) に関するそれまでの顕著な研究業績を基礎に、酸素発生中心 Mn_4CaO_5 、における Kok cycle の解明、光ストレスの防御作用の解明などについて遺伝子組み換え、分子生物学手法を駆使する意欲的な研究提案により採択された。杉浦博士は好熱性藍藻類、*Thermosynechococcus elongatus* (*T. elongatus*) を用いた PSII 研究のパイオニアであることから採択時から迅速な研究展開が期待されたが、これまでの研究推進状況を見る限り当初の予測以上の瞠目すべき研究展開を行っているとは高く評価できる。なかでも PSII を構成するサブユニットである D1、D2 タンパク質の高次構造、空間配置に独創的な視点での着眼に基づき *T. elongatus* の遺伝子改変による徹底した分子論的手法と、分子スペクトルを駆使した実証的な研究姿勢は特筆すべきものであり PSII 機能解明の本質に迫りつつあると言える。独壇場とも言える *T. elongatus* の遺伝子改変は国際的にも高く評価されており今後の一層の研究展開が期待される。さきがけ研究期間前半の精力的な研究活動を基礎に、後半は好熱性シアノバクテリアの多数の遺伝子組み換え体を驚異的なスピードで作製し、PSII 機能の鍵となる因子を次々に明らかにしている。それらの成果を基礎に国際共同研究も極めて活発に展開しており今後の研究成果が大いに期待できる。更には、光合成によるエネルギー生産なしに、細胞外から糖を取り込み、代謝して生育できる新しい組換え体の作成に挑戦し、遺伝子の細胞への導入にとどまらず、それまで困難であった PSII の変異体を得ることのできる手法の開発に成功したことは、次のブレークスルーにつながるものと期待される。

3. 船橋 靖博 研究者 「籠型分子の内部に展開する光—物質変換機能触媒の創出」(5年型)

船橋靖博博士は生物無機化学の最先端研究者である。船橋博士は人工光合成系の中心課題である多電子変換過程を実現する有望な反応系としてのポリアザ型のクリプタンド、籠状配位子に関する意欲的な研究計画を提案し採択された。人工酵素モデルとしての籠型錯体は多方面から注目されている。特に船橋博士が着眼する多核型の籠型錯体は多電子変換の基礎過程にも関連して非常に興味深い。異動による研究室再構築などを経ながらも研究開始よりこれまでに、籠型配位子の合成、金属の取り込み、構造の解明、分子機能のキャラクタリゼーション、化学反応性などについて着実な研究成果を挙げている。さきがけ研究後期には、前期に見出した1) 籠型分子が均一溶液中でありながらゼオライト空間中に類似した規制された反応空間を提供し、2) 複数の金属イオンを籠内部に取り込むことができる、という大変興味深い現象について一層の事例探索、反応探索を含む展開を図っている。規制された反応空間の中で進行する、励起緩和の素過程の徹底的な解明を基礎に籠型分子の特徴がどこに現れるか、何が反応を規制するかについて切り込むことが可能になった。また、複数の金属イオンの取り込みの典型例として三核銅錯体およびその酸素付加型錯体の合成に成功し、マルチ銅酸化酵素モデルとして、酸素分子の4電子還元反応機構に関する重要な知見を得ている。更に進んで、光合成反応中心における水の4電子酸化反応について、人工的な光化学系 II (PSII) モデル構築への挑戦として $NaMn_3O_4$ 錯体を籠型分子内部で合成することに成功したことは注目に値する。従来報告されてきた人工型 PSII モデル類とは異なり、金属間距離が天然 PSII 系と比較的類似しており、今後の更なる展開が楽しみである。船橋博士は、生体環境で主にタンパク質が果たしている驚異的な機能発現を分子レベルの視点で掘り下げ、規制された反応場の構築とその規制要因の解明に焦点を絞りながら、望まれる反応をいかにして進行させるかの視点にフィードバックさせるべく挑戦している。研究総括としてはその研究姿勢、挑戦を高く評価する。

4. 山崎 仁丈 研究者 「太陽光と新規酸素吸収酸化物を用いた燃料生成」(5年型、大挑戦型)

山崎仁丈博士は、太陽光エネルギーを物質の電子励起状態を経由する光化学反応ではなく基底状態の熱化学反応を誘起するエネルギーとして利用する物質変換反応に関する極めて意欲的な研究提案が大挑戦プログラムとして評価され採択された。研究開始後の具体的な研究推進では熱化学反応による水の分解、水素生成に関してそれまでほぼ唯一の例として知られていたセリアによる水の熱化学分解反応にとどまることなく、金属酸化物に異元素を添加することによる発生する非化学量論性が化学反応性に大きく影響することを予測し、新規にペロブスカイト型金属酸化物がセリアを大きく凌駕する水の熱分解反応性を見出した。またその熱化学サイクルの最適化にも挑み具体的に、研究目標設定を大きく上回る水素生成を達成している。単

なる事例探索ではなく熱力学的考察による予測と解析に加えて動的視点による反応速度解析、予測により極めて説得性のある研究推進方法をとっていると評価できる。特に、金属酸化物を化学反応場として捉え、その非化学量論性と化学反応性に着目して研究推進している点は独創性の高い視点として高く評価される。事実、水の熱分解反応にとどまることなく、燃料電池領域での Hot subjects の一つである固体金属酸化物中におけるプロトン伝導機構について「プロトントラッピング」を初めて実証した業績は当該分野への大きい波及効果が予測されるものである。研究開始当初はその研究展開に若干の誘導期間側面がみられたが、金属酸化物の非化学量論性への集中的な視点が大きい研究展開に繋がっていると判断される。九州大学に異動後は、さきがけ研究前半までの金属酸化物を化学反応場とする研究実績を基礎にペロブスカイト型金属酸化部の非化学非量論性に着目した反応性制御の視点による先見的な研究戦略をさらに精査充実させていっそうの積極的研究展開を図っている。例えば、水の分解による水素生成に加えて、期待通り二酸化炭素が2電子還元により一酸化炭素に転換されることを新たに見出すなど、二酸化炭素の還元固定化、有効利用への社会実装課題に果敢に挑戦している。さきがけ研究提案時には、果たして熱化学プロセスによる水の分解による水素発生の新材料が開発できるのか、また、二酸化炭素の還元固定が本当に実現できるのかなど必ずしも明瞭には見通し可能ではなかったが、山崎博士の先見的、独創的な研究指針と研究努力により大きい展開が可能になったと言える。さきがけ大挑戦プログラムの良い典型例であろう。

10. 評価者

井上晴夫研究総括 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(五十音順。所属、役職は平成28年3月末現在)

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28年3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所・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27年12月末現在。

(1) 外部発表件数

	国内	国際	計
論文	4	89	73
口頭	102	59	161
その他	34	11	45
合計	140	159	299

(2)特許出願件数

国内	国際	計
1	4	5

(3)受賞等

- ・藤井 律子
第一回 大阪市立大学 女性研究者賞 特別賞[岡村賞](H27.11)
- ・杉浦 美羽
第16回日本女性科学者の会「奨励賞」(H23.6)
国際ソロプチミスト日本財団西日本リージョン松山 女性研究者クラブ賞(H25.9)
The Chemical Conversion of Light Energy Prize 2014 (JST-さきがけ「光エネルギーと物質変換」)(H26.3)
- ・船橋 靖博
日本化学会 Asian International Symposium for Young Scientists (H24.3)
- ・山崎 仁丈
第18回固体イオニクス国際学会ベストポスター賞, ポーランド(H23.6)

(4)招待講演

国際 33件
国内 27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28年3月末現在) (応募時所属)	研究費 (百万円)
藤井律子 (兼任)	褐藻類の光合成アンテナに結合した色素の構造と機能の解明 (大阪市立大学)	大阪市立大学複合先端研究機構 准教授 (同特任准教授)	49

(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28年3月末現在) (応募時所属)	研究費 (百万円)
杉浦 美羽 (兼任)	光合成による高効率エネルギー変換と水の酸化機構の解明 (愛媛大学)	愛媛大学プロテオサイエンス研究センター准教授 (愛媛大学無細胞工学研究センター准教授)	106
船橋 靖博 (兼任)	籠型分子の内部に展開する光—物質変換機能触媒の創出 (名古屋工業大学・大阪大学)	大阪大学大学院理学研究科教授 (名古屋工業大学大学院工学研究科准教授)	92
山崎 仁丈 (兼任)	太陽光と新規酸素吸収酸化物を用いた燃料生成 (カリフォルニア工科大学・九州大学)	九州大学稲盛フロンティア研究センター教授 (カリフォルニア工科大学材料科学研究員)	103

研究報告書

「光合成による高効率エネルギー変換と水の酸化機構の解明」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成 22 年 10 月～平成 28 年 3 月

研究者: 杉浦 美羽

1. 研究のねらい

植物やシアノバクテリアなどの光合成生物では、光合成電子伝達系による太陽光エネルギーの化学エネルギーへの変換、および、それに伴う水の酸化反応が非常に効率的に行われている。例えば、我々を含む好気性生物の呼吸に必要な分子状酸素 (O_2) は、光合成電子伝達の最初の段階で同期して起こる「光化学系 II 複合体」による水の酸化反応によって作られているが、地球に無尽蔵に存在する水を基質として用い、年間 10^{11} トンもの酸素を副産物として放出し、我々が生命活動に使ってもなお現在 10^{15} トンもの酸素が地球に余っている事実を見れば、光合成による水の酸化効率の良さは明白である。

光合成では、水を酸化して得た電子をエネルギー変換に用いるため、この反応を担う光化学系 II では、殆どミスなしに 90% 以上の効率で水を酸化する。この分子メカニズムを明らかにすることは、学術的な価値のみならず、新エネルギー生産分野の改革においても非常に重要な課題である。しかし、光合成の水の酸化メカニズムには未だ不明な点が多い。

水の酸化で得た電子は、更に 10 段階以上に及ぶ電子伝達系において効率良く移動するが、電子伝達に関わるコファクターの酸化還元電位がどのように制御されているのか、例えば、コファクター周辺構造と電位の関係などについて不明な点が多い。また、光照射下で水を酸化して酸素を放出する光合成生物は、同時に活性酸素を作ってしまうため、過剰な光励起エネルギーを何らかの方法で消去しなければ、生命の存続を保つことができない。植物の光ストレスの防御機構は複数あると考えられており、それらのいくつかは既に明らかにされているが、酸素を発生する光化学系 II における防御機構については、提唱されている系はあるものの、その実態は明らかにされていない。

本研究では、単離精製した光化学系 II 複合体試料が無傷で、長期間熱安定性を示す特徴をもつ、好熱性シアノバクテリア由来の光化学系 II を材料にして、特に、水の酸化機構、コファクターと酸化還元電位との関係、過剰な光励起エネルギーの消去機構などに焦点をあてて、光化学系 II の構造と機能について、分子レベルで明らかにすることを目的とした。

2. 研究成果

(1) 概要

本研究では、光合成の初発反応を担う「光化学系 II 複合体」の様々な機能について、分子構造との関係性の詳細を明らかにすることを試みた。

そのためには単離した光化学系 II を材料とし、機能に関連すると推測される部分の構造を人為的に換えた光化学系 II を詳細に調べるのが理想である。私はさきがけ研究の始まる 10 年前に、既に高温で生育する好熱性シアノバクテリア *Thermosynechococcus elongatus* 由来の光化学系 II の遺伝子組換え法を確立していた。本研究では、これを材料に選び、遺伝子組換えによって光化学系 II に部位特異的に変異を導入し、単離精製した光化学系 II 複合体試料を用いて綿密な機能解析を進めた。

研究テーマ A は光化学系 II による水の酸化反応機構を明らかにすることを目的として研究

に取り組んだ。その結果、水の酸化反応の過程で段階的に放出される H^+ の放出速度は、電子受容体 Tyr_z と D1/His190 の水素結合距離によって変化し、電子移動速度を律速すること、光化学系 II 最後のプラストキノン間の電子移動速度がトータルの水の酸化速度を律速することを明らかにした。

研究テーマ B は光化学系 II の電子伝達コファクターである Pheo_{D1}、Q_A、および、Q_B の酸化還元電位とその周辺構造との関係について調べた。Pheo_{D1} は 13' 位の C=O と水素結合するアミノ酸側鎖が、Q_B は近傍にある糖脂質周辺に位置するアミノ酸の性質によって酸化還元電位が異なることが分かった。Q_A は Q_B 周辺構造が変化することによって、構造的に影響を受け、その結果、Q_A の電位も変化することが分かった。これらの組換え体では、電子移動速度が変化し、その結果、光合成機能に影響をもたらしており、効率良い光合成機能を維持するために、コファクター周辺の微細な構造をコントロールして、酸化還元電位を保持していることが分かった。

研究テーマ C は強光などの光ストレス条件下で、光合成機能を維持するために、どのようにして余剰な励起エネルギーを消去しているのかを明らかにすることを目的として、副次的電子移動経路に絞って研究を行った。その結果、Cyt_{b559} が2つの電子移動の橋渡しをして光ストレス条件下でも正常な光合成機能ができるように機能しており、特に、ヘムリガンドアミノ酸が構造と機能の両面から重要であることが分かった。

研究テーマ D は光合成研究において、部位特異的変異体を用いた解析は変異によっては致死するために、変異体や精製試料を得られなくなる。これを解決するために、光合成によるエネルギー生産なしに、細胞外から取り込む糖を代謝して生育できる新しい組換え体と、新たな光合成研究に適した組換え系を確立した。

(2) 詳細

研究テーマ A 「水の酸化機構の解明」

D1 タンパク質は光化学系 II (PSII) を構成するタンパク質サブユニットで、電子伝達コファクターおよび Mn クラスターを結合する。水の酸化機構を理解するには、触媒部位の反応機能だけでなく、反応過程で生じる電子と H^+ の移動速度制御の両面から理解する必要がある。いずれもコファクター分子の周辺構造による酸化還元電位の制御が鍵になっているはずであるが、344 アミノ酸から成る D1 タンパク質のうち、どれが鍵になっているのかを推測し、片っ端から組換え体を作製して調べるのは気の遠くなるアプローチである。ところが、*T. elongatus* は 3 つの D1 遺伝子を持ち、環境に応じて部分構造の異なる D1 を作る。それぞれの D1 はコファクター近傍に部分構造が大きく異なっている部位がある。本研究ではこれらを手がかりに研究を進めるために、まず、それぞれの D1 でのみ PSII を作るように他の D1 遺伝子を破壊した 3 つの *T. elongatus* 組換え体を作製し、単離した PSII (PsbA1-PSII、PsbA2-PSII、PsbA3-PSII) の水の酸化機能の違いを詳細に調べた。

その結果、PsbA2-PSII は PsbA1-PSII の 70%、PsbA3-PSII の 40%の酸化活性しかもって
おらず、PsbA3-PSII は PsbA1-PSII の 170%、
PsbA2-PSII の 250%の高い活性を示した。更
に、酸化側については水の酸化中間体の遷移
キネティクス、水の酸化キネティクス、Tyr_Z から
P₆₈₀ への電子移動速度などについて、還元側
については Q_A から Q_B への電子移動速度、更
に Pheo、Q_A および Q_B の酸化還元電位など
について詳細に解析した。活性の最も低かった
PsbA2-PSII では、4 つの水の酸化過程(図 1)にお

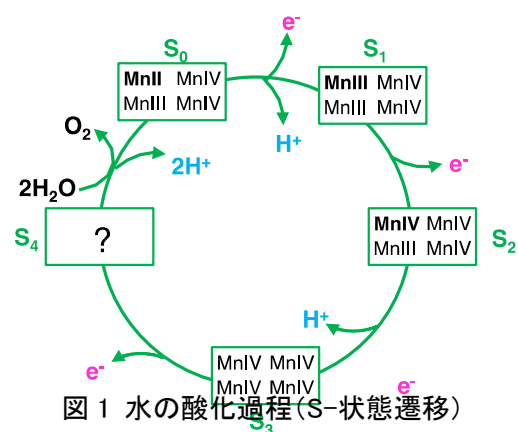


図 1 水の酸化過程(S-状態遷移)

いて、H⁺の移動を伴うS遷移過程であるS₂→S₃、S₃→S₀、S₀→S₁の遷移速度が遅くなっていた
が、S₁→S₂は他のPSIIと同じであった[5.11, 5.3 参照]。PsbA1-PSIIの立体構造を元にしたアミ
ノ酸配列の比較から、この原因がMnクラスターから電子を受け取るTyr_Zとそれと水素結合す
るD1/His190の位置関係の違いにあるのではないかと考えた。これらのアミノ酸は別のαヘリ
ックスにあるが、これらをストロマ側で繋ぐループが曲がる173番目のアミノ酸がPsbA1と
PsbA3ではループを曲げやすいProになっているが、PsbA2では直鎖になるMetになっている
(図2)。そこで、PsbA3およびPsbA2のこれらのアミノ酸のみを置換した部位特異的変異体
PsbA3/Pro173Met および PsbA2/Met173Pro を作製し、酸化側を徹底的に調べた。その結
果、PsbA3変異体ではPsbA2-PSIIと同様にH⁺放出を伴うS状態遷移速度が遅くなり、また、
その遷移に伴ってTyr_ZからP₆₈₀⁺への電子移動速度が遅くなっていた。PsbA2変異体では、
PsbA3-PSIIと同様のS状態遷移キネティクスを示し、P₆₈₀への電子移動速度を示した。これら
の構造を調べたところ、Tyr_Zの配向が変わり、水素結合距離が長くなっていたことが分かっ
た。本研究より、水の酸化反応のS状態遷移において、H⁺移動が電子移動を律速しているプ
ロトン共役電子移動(PCET)であり、これは電子受容体であるTyr_Zとそれと水素結合する
D1/His190の距離が速度を律速していることが明らかになった(図3)[5.1, 5.2, 5.5 参照]。

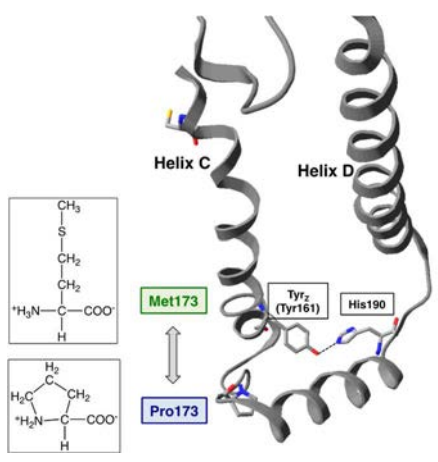


図 2 PsbA3 と PsbA の Tyr_Z-His190 周辺
の異なるアミノ酸

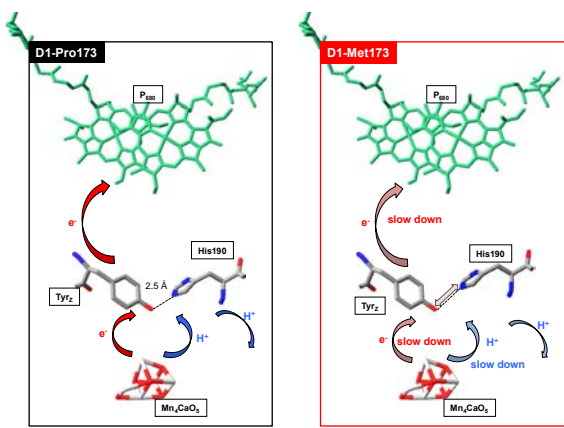


図 3 PsbA3-PS II と PsbA2-PS II の
Tyr_Z-His190 水素結合の変化による電子移
動への影響

研究テーマ B 「光化学系 II 電子伝達コファクターの構造と酸化還元電位との関連」

研究テーマ A で明らかになったように、高い水の酸化活性を示した PsbA3-PSII は、酸化側は PsbA1-PSII と大きな違いは無かったが、還元側の Pheo から Q_B 、とりわけ、 Q_A から Q_B への電子移動速度が速くなっていることが分かった。この原因を調べたところ、PsbA3-PSII の Pheo、 Q_A 、および、 Q_B の酸化還元電位が PsbA1-PSII のそれらよりも高くなっていることに由来することが分かった。 Q_B は 2 電子還元されるため、 Q_A から Q_B への電子移動速度は遅く、水の酸化過程の $S_3 \rightarrow S_0$ と同程度である。従って、水の酸化触媒中心の反応速度のみならず、 $Q_A \rightarrow Q_B$ への電子移動が遅くなると水の酸化速度は遅くなる。PsbA3-PSII ではこの移動速度が速くなったために水の酸化速度が速くなったと考えられる。酸化還元電位を図 4 にまとめた。立体構造を元にしたアミノ酸配列の比較から、Pheo は 13' 位の C=O と水素結合する D1-130 番目のアミノ酸側鎖の違いによって電位が変わったのではないかと仮説をたてた。

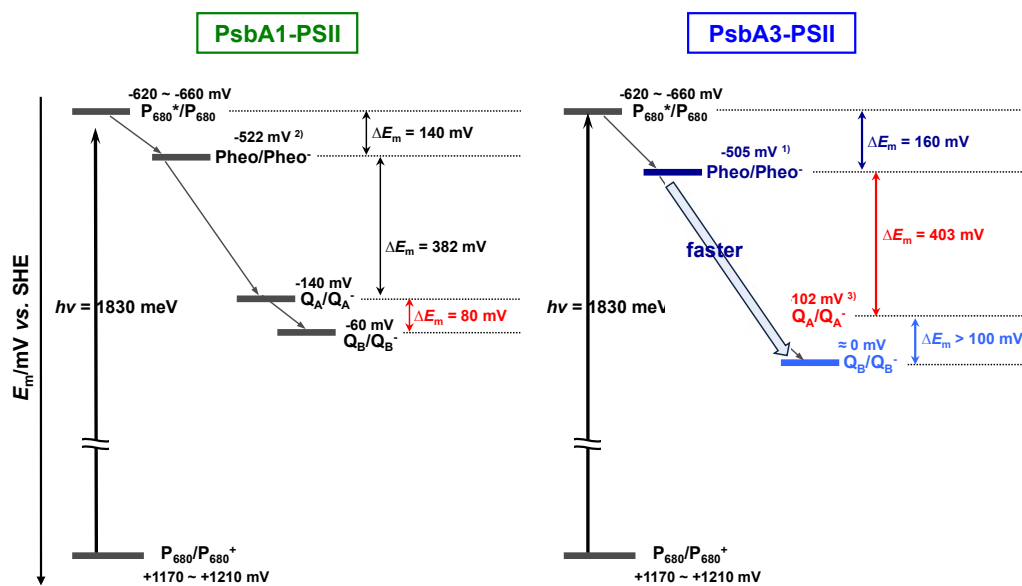


図 4 PsbA1-PS II と PsbA3-PS II の電子伝達コファクターの酸化還元電位の比較と電位差。

そこで、まず Pheo の電位の制御について調べるために、PsbA3-PSII の D1/Glu130 を PsbA1-PSII と同様に Gln に置換した部位特異的変異体(PsbA3/E130Q)を作製して調べたところ、変異体 PSII の電位は PsbA1-PSII と同様の値を示した[5.11, 5.6, 5.8 参照]。一方、 Q_B 周辺構造を比較すると、 Q_B 近傍に位置する D1/212、 Q_B と糖脂質スルホキノボシルジアシルグリセロール(SQDG)との間に位置する D1/270 のアミノ酸が異なっている。SQDG は、揺らぎの大きな Q_B ポケットのコンフォメーション維持に重要な役割を担っていると考えられ、特に D1/270 と SQDG との水素結合数は構造の安定化、つまり、 Q_B の電位維持に重要であると推測できる

[5.4, 5.6 参照]。Q_A 周辺の構造はどの P_{sbA} でできた PSII も同じであるが、図 3 に示すように、P_{sbA1}-PSII と P_{sbA3}-PSII では異なっていた。これは、Q_A が Q_B から水素結合ネットワークでつながっているために、Q_B 周辺のコンフォメーション変化が Q_A 周辺のコンフォメーション変化を引き起こしたと考えられる[5.9, 5.10 参照]。これらを確認するために、それぞれの P_{sbA} の D1/212 および D1/270 を置換した組換え体を作製した。現在、解析途中であるが、少なくとも Q_B に結合するフェノール型除草剤 Bromoxynil による阻害定数は、P_{sbA1}/S270A 組換え PSII は P_{sbA3}(A270)-PSII と同じ、P_{sbA3}/A270S-PSII は P_{sbA1} (S270)-PSII と同じであった。今後、詳細な解析を進めて結論づけたい。

研究テーマ C 「光環境変化に適応する光化学系 II の構造と機能」

光合成生物は強光や UV などの、光合成では使い切れない励起エネルギーが生じる光ストレス環境条件下に曝されることが多くあり、このような環境では、反応性の高い活性酸素種による失活(光阻害)を受ける。そのため、光合成生物は光阻害を回避する防御機構をいくつか備えている。本研究では、エネルギー変換のための「メインの電子伝達経路」と、PSII の別のコファクター間を電子移動させて余剰な励起エネルギーを消費すると提唱されている「副次的電子移動経路」の両面から、光阻害環境への適応メカニズムについて、PSII の構造と機能の観点から詳細に調べた。

メインの電子伝達経路については、P_{sbA3}-PSII が強光条件下でも高い水の酸化機能を保持できるが、P_{sbA1}-PSII は 1 時間以内に Mn が還元されて失活し、続いてタンパク質が分解されることを見いだしたので、これらを材料にして調べた。強光耐性の PSII では、そうでない PSII の P_{heoD1} の酸化還元電位が約 20 mV 高く、また、Q_A および Q_B の電位もそれぞれ約 40 mV、約 60 mV 高かった。そのため、P₆₈₀ とのギブスエネルギー差が大きく、³P₆₈₀ の生成を抑えるために、一重項酸素が作られず、強光耐性になっていることが示唆された[5.11, 5.12 参照]。このように、メインの電子移動においては、コファクターの酸化還元電位の微調整によって光阻害の原因となる ³P₆₈₀ の生成を抑えることによって防御していると考えられる。

一方、副次的電子移動については、この経路を解明することを最終目的とし、本研究では、まず、PSII 複合体の外側に位置する Cyt_{b559} の構造と光阻害の関係について詳細に調べた。通常の電子伝達では、P_{heoD1} から Q_A を介して Q_B に渡された電子は光化学系 II の外にあるキノールに移動するが、副次的電子移動では Q_B から Cyt_{b559} に渡され、クロロフィルやカロテノイドなどを介して P₆₈₀ に電子を移動することが提唱されている。しかし、電子移動に関わるコファクターは特定されておらず、また移動ルートについても明らかになっていない。Cyt_{b559} はヘムと 2 つのサブユニットタンパク質(P_{sbE} と P_{sbF})から構成される酸化還元可能なヘムタンパク質で、メインの電子伝達系と副次的電子伝達系を結ぶ重要な電子伝達コファクターであると考えられる。本研究では、Cyt_{b559} の構造変化がもたらす光阻害への影響を調べることを目的として、ヘムの第 5 配位座に配位する P_{sbE}/His23、および、その周辺アミノ酸を別のアミノ酸に置換した組換え体 4 つを作製して詳細な構造と機能について調べた。その結果、リガンドを置換した組換え体は、強光条件において光合成機能の阻害が大きく、タンパク質合成は正常に行われ、光化学系 II の組成に影響は無いものの、光化学系 II の集合過程が遅くなることが明らかになった。構造を調べてところ、Cyt_{b559} のヘムが非ヘム鉄に変わっており、Cyt_{b559} が酸化還元できなくなっていることが分かった(表 1, 図 5)。以上の結果から、Cyt_{b559} は光阻

害回避メカニズムに関わる重要なコファクターであることが明らかとなった。更に、リガンド周辺のアミノ酸を置換してヘリックスを曲げて立体構造を変えた組換え Cytb₅₅₉ は、HP 型から IP 型に変わった。強光阻害に関しては、野生型と大きな違いは認められなかったものの、ストレス条件から通常の条件に戻してからの回復が遅くなっていた。このことから、強光阻害回避には IP の Cytb₅₅₉ で対応できるが、構造変化が起こるために立体障害が起こる可能性が示唆された[5.15 参照]。

表 1 野生型と Cytb559 の P_{sbE} 変異体の酸化還元活性及び酸化還元電位

変異体	コファクター	酸化還元活性	ポテンシャル型 (E_m)
WT*3	ヘム鉄	有り	HP (~ +330 mV)
H19F	ヘム鉄	有り	HP (~ +330 mV)
T26P	ヘム鉄	有り	IP (~ +220 mV)
H23A	非ヘム鉄	無し	-
H23M	非ヘム鉄	無し	-

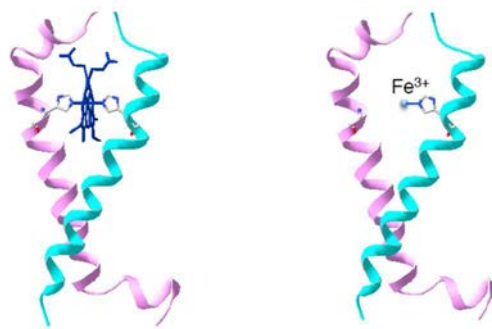


図 5 野生型(左)と P_{sbE}/H23A および H23M(右)のヘム周辺の構造。

研究テーマ D 「光従属栄養で生育可能な *T. elongatus* 遺伝子組換え体による新規組換え系の確立」

これまで、光化学系 II の構造と機能の関係を調べるアプローチとして、*T. elongatus* の光化学系 II のタンパク質に部位特異的に構造変化を施した組換え体を作製し、それから単離・精製した光化学系 II 複合体タンパク質を詳細に解析する戦略を使ってきた。*T. elongatus* から単離した光化学系 II は他の生物では見られないほど、熱安定性が高く、精製試料も無傷(完全な複合体)であるため、光合成研究に *T. elongatus* を使うことは非常に有利である。

しかし、*T. elongatus* は生命活動に必要なエネルギーを、光合成電子伝達系のみによって得ているため、エネルギー合成ができなくなるほど光合成機能を著しく低下させる変異を導入すると、遺伝子を細胞内に導入することはできても、「組換え細胞」を得ることができない。そうすると、その変異が光合成機能の保持に非常に重要である、ということは推測できるものの、「どのように機能が変化したのか」は永遠に謎である。これは、以前から抱えてきた深刻な問

題であり、作製可能な組換え体の種類が制限されるために、光合成機能の本質の理解を妨げてきた。

ところで、光合成を行わない微生物や、一部の光合成生物は、細胞の外からグルコースや酢酸などの炭素源を取り込み、解糖系などの代謝系によって糖を ATP に変換する。*T. elongatus* のゲノムには解糖系に関わる酵素遺伝子は全て揃っているものの、細胞外から糖を取り込む機能が無いために、光合成以外の代謝系で生命活動に必要なエネルギーを得ることができない。

そこで、本研究では *T. elongatus* に糖を取り込む機能を付与した組換え体の構築を試み、更に、*T. elongatus* の光化学系 II の D1 遺伝子(3 つの *psbA* 遺伝子)を完全に破壊し、組換え体の光化学系 II がどのような形で存在するのか、光化学系 I への影響はどうかを調べた。その結果、D1 遺伝子を完全に破壊した組換え体は、糖を含まない培地では生育出来なかったが、糖含有培地で増殖が認められた。光化学系 II による水の酸化機能は認められず、また、 Tyr_D や Q_A 由来のシグナルも全く認められず、この組換え体では光合成の機能が失われていることが分かった。更に、光化学系 II を構成するタンパク質について調べたところ、遺伝子破壊した D1 タンパク質は認められなかったが、少なくともクロロフィルタンパク質である CP47、もう一方の反応中心タンパク質 D2 はチラコイド膜に存在していた。光化学系 I は野生型と同様に存在していた。

光合成研究の発展のためには、この組換え体を宿主細胞に用いて変異を施した D1 遺伝子を入れ、完全な光化学系 II 複合体を作らせなければならない。そのため、D1 遺伝子、および、これまでの研究で致死になることが分かっている変異を施した D1 遺伝子をそれぞれ導入し、組換え体を得た。その結果、光化学系 II 複合体を形成していることが分かった。

今後、この組換え系を用いれば、自由自在に組換え体の作製を試みることによって、これまでではどうしてもできなかった研究を進めることが可能になると期待でき、光合成研究の今後の発展に寄与できると大いに期待できる。

3. 今後の展開

5 年間に渡る本研究によって、光合成による水の酸化機構、光化学系 II の電子伝達制御メカニズム、光阻害防御メカニズムなどについて、構造の観点から多くのことが明らかすることができた。水の酸化については、Mn の酸化過程やキネティクス、 H^+ 放出速度による電子移動の制御について分かってきたものの、依然として、 $S_3 \rightarrow S_0$ における基質の水の結合と酸化過程について不明である。更に、S 状態遷移に伴って酸化される Mn がどの原子であるのかについても不明である。今後、水の酸化過程を完全に明らかにし、また、各 S 状態で酸化される Mn 原子を特定することにより、光合成の水の酸化機構を完全に理解したい。また、この過程を明らかにすると共に、水の酸化速度の鍵となる H^+ のチラコイドルーメンへの放出チャネルについても明らかにしていきたい。

また、光阻害防御に重要な役割を担う「副次的電子移動経路」については、本研究では $Cytb_{559}$ がこれに関わるコファクターであり、その酸化還元電位の変化によって光阻害防御に影響することを明らかにしたが、この電子受容体がどの分子であるのか、副次的電子移動のコファクター分子は何であるのかは、依然として不明である。既に、これらのコファクターであると

考えられる分子の電位を換えた組換え体を作製しており、今後はこれらを詳細に調べることに
よって、副次的電子移動の全貌を明らかにして行きたい。

これまでは、これらの課題を遂行するには、組換え体作製の上で、技術的な問題があった。
研究材料として組換え体の作製を試みても、光合成機能が著しく低下するために(特に水の酸化
に関する組換え体)致死となり、材料を得ることができなかった。しかし本研究で、光合成しな
くても別の経路でエネルギー変換できる好熱性シアノバクテリアの作製と新しい組換え系の方
法を確立できたので、今後はこれを活用して研究を展開して行きたい。

4. 評価

(1) 自己評価

(研究者)

5 年間に渡る本さがけ研究では、申請時に予定していた水の酸化に関する研究、D1 タン
パク質の構造の酸化還元電位の関連などについて、課題の殆どを遂行することができた。こ
れらに加えて、研究の過程で得られた新しい結果を基に、次々に浮かぶアイデアや次の疑問
を片一端から形にし、水の酸化過程における PCET の制御、プラストキノン Q_B の結合様式の違
いによる Q_A の酸化還元電位への影響、水の酸化における $Q_A \rightarrow Q_B$ の電子移動の律速、
Cyt b_{559} の酸化還元電位の変化による光阻害防御への影響などの成果につなげることができ
た。更に、これまで 10 年近くかけて取り組んできた「光合成によるエネルギー変換なしに生育
可能な好熱性シアノバクテリアの構築と新しい遺伝子組換え系の確立」をようやく成功する
ことができた。これは技術的向上がベースにあるのはもちろんであるが、光合成の基礎研究を
通じて数多くの組換え体を作製する必要があり、これらの過程で新たな技術を開発した経験
の積み重ねであることが大きい。

実に、この 5 年間で作製した好熱性シアノバクテリアの組換え体は 41 で、通常、1 つの組換
え体の作製に要する時間が半年~1 年であることを考えると、数多くの実験を同時並行させ、
精力的に取り組んできたことが今更ながら実感できる。組換え体の作製のみならず、タンパク
質の精製、様々な分析機器を使った解析、分析機器の改造など、精力的に研究を進め、28 報
の査読付の国際誌(このうちの 18 報はインパクトファクターが 4.5 以上)に報告し、合計 13 回
の国内外の学会での招待講演を依頼されるに至った。

これだけの規模で研究を進めるためには大きな研究費が必要であったが、遂行できるだけ
の予算を、さがけ研究で十分にサポートしていただけたことに対して深く感謝したい。また、
本研究は、単独の研究ではできることが限られており、光合成研究に特化した特別な分析装
置を保有し、異なる分野の専門家である国内外の共同研究者の協力があって遂行できたこと、
そのための旅費もさがけにサポートして頂けたことに感謝したい。また、本さがけ研究領
域は、有機化学や無機化学を専門とする研究者が多いため、日頃は頂けないような、全く違う
観点からの質問やアドバイスを頂く機会が多く、これらは私自身を成長させ、光合成を広い視
野で考えることができるようになり、大変貴重な経験になった。本研究で成果が得られるたびに、
精練され計算されつくした自然の化学反応のメカニズムに驚くばかりであった。成果が、今後
の光合成研究のみならず、人工光合成研究に寄与できれば幸いである。

最後に、本研究で特に S 状態遷移キネティクスと P_{680} のエナジェティクスで共同研究を進め
てきたフランス国立科学研究センターの Fabrice Rappaport 博士が、さがけ研究終了

の直前に 49 歳の若さで他界したことに対して心から追悼し、これまでの共同研究と成果に深い感謝を表したい。

(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)

杉浦美羽博士は主に光合成の初発反応を担うタンパク質である光化学系 II (PSII) に関するそれまでの顕著な研究業績を基礎に、酸素発生中心 Mn₄CaO₅、における Kok cycle の解明、光ストレスの防御作用の解明などについて遺伝子組み換え、分子生物学手法を駆使する意欲的な研究提案により採択された。杉浦博士は好熱性藍藻類、*Thermosynechococcus elongatus* (*T. elongatus*) を用いた PSII 研究のパイオニアであることから採択時から迅速な研究展開が期待されたが、これまでの研究推進状況を見る限り当初の予測以上の瞠目すべき研究展開を行っているとして高く評価できる。なかでも PSII を構成するサブユニットである D1、D2 タンパク質の高次構造、空間配置に独創的な視点での着眼に基づき *T. elongatus* の遺伝子改変による徹底した分子論的手法と、分子スペクトルを駆使した実証的な研究姿勢は特筆すべきものであり PSII 機能解明の本質に迫りつつあると言える。独壇場とも言える *T. elongatus* の遺伝子改変は国際的にも高く評価されており今後の一層の研究展開が期待される。さきがけ研究期間前半の精力的な研究活動を基礎に、後半は好熱性シアノバクテリアの多数の遺伝子組み換え体を驚異的なスピードで作製し、PSII 機能の鍵となる因子を次々に明らかにしている。それらの成果を基礎に国際共同研究も極めて活発に展開しており今後の研究成果が大いに期待できる。更には、光合成によるエネルギー生産なしに、細胞外から糖を取り込み、代謝して生育できる新しい組換え体の作成に挑戦し、遺伝子の細胞への導入にとどまらず、それまで困難であった PSII の変異体を得ることのできる手法の開発に成功したことは、次のブレークスルーにつながるものと期待される。

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 「水の酸化機構の解明」	
1. Sugiura, M., Ogami, S., Kusumi, M., Un, S., Rappaport, F., and Boussac, A. Environment of Tyr _Z in Photosystem II from <i>Thermosynechococcus elongatus</i> in which PsbA2 is the D1 protein, <i>J. Biol. Chem.</i> , (2012) 287, 13336-13347. IF=4.57	
2. Noguchi, T., Suzuki, H., Tsuno, M., Sugiura, M., and Kato, C., Time-resolved infrared detection of the proton and protein dynamics during photosynthetic oxygen evolution, <i>Biochemistry</i> , (2012) 51, 3205-3214. IF=3.02	
3. Boussac, A., Fabrice, Klaus, B., and Sugiura, M., Charge recombinations in the light-induced S _n Tyr _Z •Q _A ⁻ radical pairs at cryogenic temperatures in the D1 protein variants of Photosystem II from <i>Thermosynechococcus elongatus</i> .. <i>J. Phys. Chem.</i> , (2013) 117, 3308-3314. IF=3.30	
4. Cox, N., Rapatskiy, L., Su, J.-H., Pantazis, D. A., Sugiura, M., Leonid, K., Dorlet, P., Rutherford, A.W., Neese, F., Boussac, A., Lubitz, L., and Messinger, J., The effect of Ca ²⁺ /Sr ²⁺ substitution on the electronic structure of the oxygen-evolving complex of photosystem II: A combined multi-frequency EPR, ⁵⁵ Mn-ENDOR and DFT study of the S ₂ state, <i>J. Am. Chem. Soc.</i> , (2011) 133, 3635-3648. IF=12.11	
5. Suzuki, H., Sugiura, M., and Noguchi, T., Determination of the miss probabilities of individual S-state transitions during photosynthetic water oxidation by monitoring electron flow in photosystem II using FTIR spectroscopy, <i>Biochemistry</i> , (2012) 51, 6776-6785. IF=3.02	
研究テーマ B 「光化学系 II 電子伝達コファクターの構造と酸化還元電位との関連」	
6. Sugiura, M., Azami, C., Koyama, K., Rutherford, A. W., Rappaport, F., and Boussac, A., Modification of the pheophytin redox potential in <i>Thermosynechococcus elongatus</i> Photosystem II with PsbA3 as D1., <i>Biochim. Biophys. Acta (Bioenergetics)</i> , 1837 (2014) 139-148. IF=5.35	
7. Sugiura, M., Iwai, E., Hayashi, H. and Boussac, A., Differences in the interactions between the subunits of Photosystem II dependant on D1 protein variants in the thermophilic cyanobacterium <i>Thermosynechococcus elongatus</i> , <i>J. Biol. Chem.</i> , (2010) 285, 30008-30018. IF=4.57	
8. Hughes, J.L, Nichola, C., Rutherford, A.W., Krausz, E., Lai, T.-L., Boussac, A. and Sugiura, M., D1 protein variants in Photosystem II from <i>Thermosynechococcus elongatus</i> studied by low temperature optical spectroscopy, <i>Biochim. Biophys. Acta (Bioenergetics)</i> , (2010) 1797, 11-19. IF=5.35	
9. Boussac, A., Sugiura, M. and Rappaprt, F., Probing the quinone binding site of Photosystem II from <i>Thermosynechococcus elongatus</i> containing either PsbA1 or PsbA3 as the D1 protein through the binding characteristics of herbicides, <i>Biochim. Biophys. Acta (Bioenergetics)</i> , (2011) 1807, 119-129. IF=5.35	
10. Kato, Y., Shibamoto, T., Yamamoto, S., Watanabe, T., Ishida, N., Sugiura, M., Rappaport, F., and Boussac, A., Influence of the PsbA1/PsbA3, Ca ²⁺ /Sr ²⁺ and Cl ⁻ /Br ⁻ exchanges on the redox potential of the primary quinone Q _A in Photosystem II as revealed by spectroelectrochemistry, <i>Biochim. Biophys. Acta (Bioenergetics)</i> , (2012) 1817, 1998-2004. IF=5.35	

研究テーマ C 「光環境変化に適応する光化学系 II 反応中心の構造」

- | |
|--|
| 11. Ogami, S., Boussac, A., and Sugiura, M., Deactivation processes in PsbA1-Photosystem II and PsbA3-Photosystem II under photoinhibitory conditions in the cyanobacterium <i>Thermosynechococcus elongatus</i> , <i>Biochim. Biophys. Acta (Bioenergetics)</i> , (2012) 1817, 1322-1330. IF=5.35 |
| 12. Sugirua, M., Kato, Y., Takahashi, R., Suzuki, H., Watanabe, T., Noguchi, T., Rappaprot, F. and Boussac, A., Energetics in Photosystem II from <i>Thermosynechococcus elongatus</i> with a D1 protein encoded by either the <i>psbA₁</i> or <i>psbA₃</i> gene, <i>Biochim. Biophys. Acta, (Bioenergetics)</i> , (2010) 1797, 1491-1499. IF=5.35 |
| 13. Boussac, A., Koyama, K., and Sugiura, M., The TII0287 protein is a hemoprotein associated with the PsbA2-Photosystem II complex in <i>Thermosynechococcus elongatus</i> . <i>Biochim. Biophys. Acta (Bioenergetics)</i> , (2013) 1827, 1174-1182. IF=5.35 |
| 14. Sugiura, M., Harada, S., Manabe, T., Hayashi, H., Kashino, Y. and Boussac, A., , Psb30 contributes to structurally stabilise the Photosystem II complex in the thermophilic cyanobacterium <i>Thermosynechococcus elongatus</i> , <i>Biochim. Biophys. Acta, (Bioenergetics)</i> , (2010) 1797, 1546-1554. IF=5.35 |
| 15. Sugiura, M., Nakamura, M., Koyama, K., and Boussac, A. Assembly of oxygen-evolving Photosystem II efficiently occurs with the apo-Cytb ₅₅₉ alone but the holo-Cytb ₅₅₉ increases the recovery rate of a functional enzyme upon photo-inhibition. <i>Biochim. Biophys. Acta (Bioenergetics)</i> , (2015) 1847, 276-285. IF=5.35 |

(2)特許出願

研究期間累積件数:0

(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)

主要な国際会議等での招待講演

- | |
|--|
| 1. Miwa Sugiura "Comparison of <i>Thermosynechococcus elongatus</i> PSII composed of different D1", International Conference of "Photosynthesis Research for Sustainability", Baku, Azerbaijan (July, 24-30, 2011) 招待講演(プレナリーレクチャー) |
| 2. Miwa Sugiura, Fabrice Rappaport, Yuki Kato, Takumi Noguchi, and Alain Boussac, "Molecular structure and function of <i>Thermosynechococcus elongatus</i> Photosystem II composed of either D1:1 or D1:3", The 15th International Congress of Photosynthesis (August 22-27, 2010, Beijing, China) 招待講演(シンポジウム) |
| 3. Miwa Sugiura "Recent progress in Photosystem II research using mutagenesis of <i>Thermosynechococcus elongatus</i> ", Japanese-Finnish Seminar 2011 Future prospects of photosynthetic organisms: from genomes to environment (March 1-5, 2011, Okayama) 招待講演(シンポジウム) |
| 4. Miwa Sugiura "Overview of structure and function of PSII" 10th International Plat Molecular Biology Congress (October 21-26, 2012, Jeju, Korea) 招待講演(シンポジウム) |
| 5. Miwa Sugiura "Photosystem II complexes composed of different D1 variants", 6th International Symposium on Nanomedicine (November 29-December 1, 2012, Matsue) 招待講演(シンポジウム) |
| 6. Miwa Sugiura "Molecular structures relating regulation of electron transfer in Photosystem II", International Conference of "Photosynthesis Research for Sustainability-2013", Baku, Azerbaijan (June, 5-9, 2013) 招待講演(シンポジウム) |

7. Miwa Sugiura, Shogo Ogami, Mai Kusumi, Sun Un, Fabrice Rappaport, and Alain Bousac "Environment of TyrZ in Photosystem II from Thermosynechococcus elongatus in which PsbA2 Is the D1 Protein", The 16th International Congress of Photosynthesis (August 11-16, 2013, St. Louis, U.S.A.) 招待講演(セッション)
8. Miwa Sugiura "Efficient Photosynthetic Electron Transfer and Water Oxidation in Photosystem II", 7th International Symposium on Nanomedicine (November 7-9, 2013, Kitakyushu) 招待講演 (シンポジウム)
9. Miwa Sugiura " Histidine Hydroxyl Modification on D2-His336 in Photosystem II of Thermosynechococcus vulcanus and Thermosynechococcus elongatus.", International Meeting "Photosynthesis Research for Sustainability – 2014" (2-7, June, 2014, Puschino, Russia) 招待講演 (シンポジウム)
10. Miwa Sugiura " The D1-173 amino acid plays a key role in the structure-function relationship of TyrZ and D1-His190 in Photosystem II I", 8th International Symposium on Nanomedicine (December 4-6, 2014, Matsuyama) 招待講演 (シンポジウム)
11. Miwa Sugiura " Engineered Themosynechococcus elongatus mutant growing under photoheterotrophic conditions", Gordon Research Conference: Photosynthesis: The Dynamics and Regulation of Photosynthesis: From the Origin of Biocatalysis to Innovative Solar Conversion (28 June - 3 July, 2015, Boston, U.S.A.) 招待講演

主要な国内の学会等での招待講演

- | |
|--|
| 1. 杉浦美羽 "光化学系 II 複合体タンパク質の分子構造と機能の関係", 2010 年 ナノ学会第 8 回大会 未来を拓くナノサイエンス:理学、工学、医学への広がり (2010 年 5 月 13 日～15 日、岡崎コンファレンスセンター) 招待講演 |
| 2. 杉浦美羽 "部分構造の異なる反応中心タンパク質 D1 で構成される光化学系 II のエナジェティクスの違い" 大阪大学蛋白質研究所セミナー「分子科学と生理学が解き明かす植物の光エネルギー変換の新展開」(2011 年 3 月 9 日～10 日、大阪大学蛋白質研究所) 招待講演 |
| 3. 杉浦美羽"光合成の高効率エネルギー変換機構と新エネルギー創製への応用", 日本学術振興会 産学協力研究委員会・分子系の複合電子機能第 181 委員会・第 11 回研究会「人工光合成一分子・生体系」(2011 年 7 月 14 日-15 日、東京工業大学)招待講演 |
| 4. 杉浦美羽"光合成研究の最前線と課題"第50回 日本生物物理学会年会 シンポジウム「光合成研究で何が明らかにされ、これから何をできるか? ～光合成研究の最先端とエネルギー創製研究の現状～ (2011年9月16日～18日、兵庫県立大学) 招待講演 |
| 5. 杉浦美羽 "光化学系 II の電子伝達制御に関わる構造環境", 第 85 回日本生化学会大会 シンポジウム「精密構造に基づく生体光エネルギー変換の分子機構」(2012 年 12 月 14 日-16 日、福岡国際会議場) 招待講演 |
| 6. 杉浦美羽 "光化学系 II の電子伝達制御機構" 第 54 回日本植物生理学会年会 シンポジウム「光化学系 II による水分解・酸素発生反応の分子機作」(2013 年 3 月 21 日-23 日、岡山大学)招待講演 |
| 7. 杉浦美羽 "光合成による高効率エネルギー変換機構と光合成太陽電池の開発", 日本電熱学会 第 26 回中四国電熱セミナー(2014 年 9 月 12 日、子規記念博物館愛媛) 招待講演 |
| 8. 杉浦美羽 "光化学系 II の電子伝達とプロトン移動の制御に関わる構造環境" 日本生体エネルギー研究会 第 40 回討論会 シンポジウム「バイオエナジェティクスと産業利用」(2014 年 12 月 11 日～13 日、愛媛大学) 招待講演 |
| 9. 杉浦美羽 "光合成の初発反応を担う光化学系 II の分子構造と機能", 第 95 回日本化学 |

会春期年会 特別企画「バイオ超分子が拓く驚異の物質科学」(2015年3月26日、日本大学)招待講演

10. 杉浦美羽 “好熱性シアノバクテリアを駆使した光合成による水の酸化と電子移動の分子機構についての研究” 第28回日本 Archaea 研究会年会(2015年7月23日～24日、愛媛大学)招待講演

11. 杉浦美羽 “光合成のエネルギー変換と物質変換: 光合成の理解と応用研究はどこまで進んだか?”, マリンバイオテクノロジー学会 「若手の会シンポジウム」(2015年11月20日、東京大学)招待講演

著作物

1. 杉浦 美羽 「酸素発生型光合成タンパク質の構造と機能」 月刊「Bio Industry」 特集 ” 光合成—エネルギー生産に向けた基礎研究”(シーエムシー出版)、(2013) 30 巻 12 月号 31-39

2. 杉浦 美羽 「第 5 章 酸素発生型光合成タンパク質の構造と機能」 光合成のエネルギー利用と環境応用(シーエムシー出版)、(2014) pp. 43-52

3. 杉浦 美羽 「光合成による高効率エネルギー変換と水の酸化機構の解明」 化学経済 (2011), 58(12)pp.92

4. 杉浦 美羽 光合成研究と産業応用最前線 第5章 酸化還元反応 第2節 光合成による高効率エネルギー変換と水の酸化メカニズム、エヌティーエス (2014) pp.167-176

5. 杉浦 美羽 光合成のエネルギー変換と物質変換 ～人工光合成をめざして 光合成研究を支える研究手法「部位特異的変異導入による光化学系の分子構造と機能の解析」、化学同人 (2015) pp. 35

報道、取材など

1. 愛媛新聞 総合欄 2011年9月10日 「光合成しくみ解明に道」

2. JST ニュース ～先駆ける科学人～ Vol. 12 2013年4月1日 「趣味も遊びもすべて研究につながる」

3. 愛媛県 県庁ホームページ 「えひめ男女共同参画のためのロールモデル」 2013年1月15日～

受賞

1. 第16回(2011年度) 日本女性科学者の会「奨励賞」

受賞タイトル: 水の酸化を伴った光合成によるエネルギー変換機構と分子構造に関する研究

2. 国際ソロプチミスト日本財団西日本リージョン松山 女性研究者「クラブ賞」

受賞タイトル: 光合成のエネルギー変換機能を改良した高効率な新規光合成太陽電池の開発 2013年9月

3. The Chemical Conversion of Light Energy Prize 2014 (JST-さきがけ「光エネルギーと物質変換」)

受賞タイトル: Elucidation of Molecular Mechanisms of Highly Efficient Energy Conversion and Water Oxidation by Photosynthesis 2014年3月

アウトリーチ活動

1. サイエンスカフェ@愛大 ～環境・エネルギー問題に挑む新テクノロジー～ 2013年3月16日(愛媛大学愛大ミュージアム) 主催:愛媛大学、日本科学技術振興機構、公益財団法人東京応化科学技術振興財団
2. 第17回 男女参画社会づくり推進県民大会「サイエンス分野における男女共同参画～理系女子のキャリアデザイン～」2012年6月19日(ひめぎんホール) 主催:愛媛県庁(愛媛県県民環境部管理局 男女参画課事業係)

研究報告書

「籠型分子の内部に展開する光—物質変換機能触媒の創出」

研究タイプ： 通常型

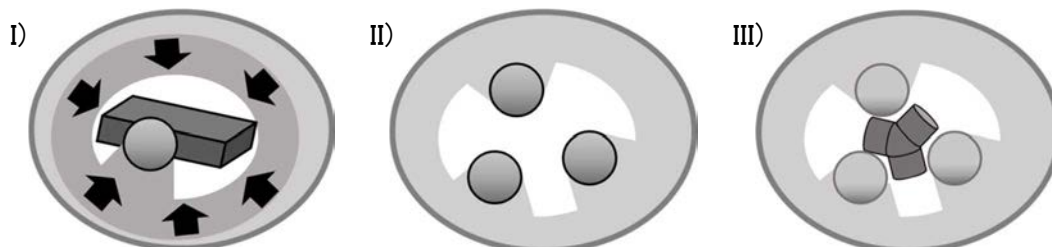
研究期間： 平成22年10月～平成28年3月

研究者： 船橋 靖博

1. 研究のねらい

生体内で太陽エネルギーを利用するプロセスには、光励起と、電子伝達、ならびに、小分子を変換するプロセスが含まれている。いずれも蛋白質中や生体膜中でリンクしたそれらの活性部位は、それぞれの限られた狭小の空間内で機能を発揮している。

そこで本研究では、このようなプロセスにおいて、各々の活性部位を、分子性の、籠状配位子の内部に閉じ込め、それらの活性部位の機能の向上や新機能の開拓を行った。それにより、光エネルギー利用のための物質変換システムに寄与する分子性触媒群の構築を行うための検討を行った。本研究で採用した籠状配位子の内部には、金属イオンを集積するための結合部位や、補助配位子を取り込むホスト空間があり、それらは二重環状の外殻構造によって外部と隔たれ、立体化学的な規制も働いている。そのため、この「籠」の内部には、I) 金属活性部位を狭小空間内へ閉じ込める、II) 空間特異的に複数の金属活性中心を集積化する、III) 金属活性部位中心のコアに小分子を取りこめる、などの特徴とその効果が見込まれると考えた(下図 I), II), III))。そのような籠状配位子の特性を具現化し、本領域の目的に資する以下の



課題に取り組んだ。まず、1) 狭小空間内への閉じ込めによる光励起状態への効果、次に2) 外殻構造で支持した多段階の酸化還元状態を有する多核金属中心の構築、さらに2)を展開して、3) 生体内の多核金属活性部位の人工的な合成を行った。

このようにして、光エネルギー利用のための物質変換システムに寄与する分子性触媒群の構築を目指した。

2. 研究成果

(1) 概要

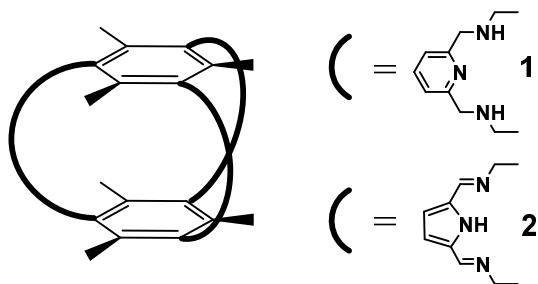


図1. 二種類のクリプタンドの構造。

籠状配位子として、クリプタンドと呼ばれる二重環状の配位子を用いることにした。本研究で用いている 2,6-ビス(アミノメチル)ピリジン部位をスペーサーとして三つ有し、二つのメチレン基をエンドキャップ部位として連結した籠状配位子 L_{NH} を図1に示した【5.1 参照】。

このようなクリプタンド型配位子は、もともとホスト分子として知られており、そのサイズに応じて補助配位子や遷移金属イオンなどをゲストとして取りこみ、その限られた空間内に集積させる機能を持つ。単に自己集合した系と異なり、それらが「籠」の骨格による立体化学的な制約の中で、多成分を内包した構造が保持されるだけでなく、金属活性点の非対称性の出現や、それらの相補または相乗効果が起きた。研究テーマ1)「狭小空間内への閉じ込めによる光励起状態への効果」では、光励起部位であるルテニウム(II)-ポリピリジンユニットを籠状配位子閉じ込め、その特性を光励起寿命の伸長に応用した。研究テーマ2)「外殻構造で支持した多段階の酸化還元状態を有する多核金属中心の構築」では、籠状配位子を用いることにより、二核より以上の多核金属クラスター構造をその分子内部で安定に合成し、その酸化還元によって起こる変化を籠状配位子骨格で許容すると同時に、電荷や電子スピンの非局在化した特異な状態に導いて機能させることを見出した。さらに、研究テーマ3)「生体内の多核金属活性部位の人工的な合成」では、まず、酸素の4電子還元を行う金属酵素活性中心の反応機構の解明に迫る重要な中間体種の人工的な合成とその評価に成功した。さらに、光化学系 II (Photosystem II, PSII) における酸素発生中心 = Oxygen Evolving Center (OEC) に類似した異種金属多核錯体の合成を行い、OEC が蛋白質内部で自発的に異種金属キューバンクラスター構造を形成する過程と関連した現象を人工的に再現した。

以上の知見は、光励起状態を効率よく他の酸化還元反応に結び付け、多核金属活性中心が、多電子酸化還元反応を効率よく行うために必須の要件であり、光エネルギー利用のための物質変換システムに寄与する分子性触媒群の構築に応用できるはずである。

(2) 詳細

研究テーマ1)「狭小空間内への閉じ込めによる光励起状態への効果」

[Ru(tpy)]²⁺は光励起時に ³MLCT 状態から ³LF 状態を経由する無輻射失活を起こしやすいため、発光励起寿命が 0.25 ナノ秒と非常に短い。しかしながらこの錯体を Y 型ゼオライトのスーパーケージと呼ばれる空孔に挿入すると、Ru-tpy 間の結合が短くなることで ³LF 状態が不安定化するため、励起寿命が 140 ナノ秒に延びることが知られている。この効果を分子性化合物でも同様に実現するため、籠状配位子の内部に Ru(tpy)部位を導入した錯体分子を合成し、狭小空間内での Ru(tpy)部位の構造変化と発光挙動との関係を調査した。籠

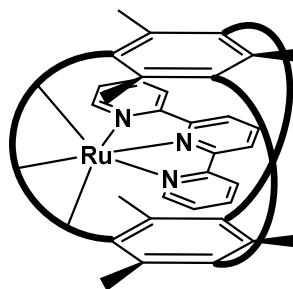


図 2. クリプタンド 1 内部に Ru(tpy)部位が結合した錯体。

状配位子として、2,6-ビス(アミノメチル)ピリジン部位をスペーサーとして三つ有するクリプタンド1【5.1 参照】を用いた(図2)。比較のために、クリプタンド1と同様に 2,6-ビス(アミノメチル)ピリジン部位を持ち、二つのアミノ基にベンジル基を導入した類似の配位子を用いて同様な検討を行ったが、Ru(tpy)部位を導入した混合配位子錯体【5.3 参照】において、常温で最低励起状態からの発光を観測することは無かった。籠状配位子であるクリプタンド1の内部で、一つのスペーサーに Ru(tpy)部位が結合した混合配位子錯体においても、同様であった。しかし、その Ru 周りに結合していない近接する他の二つのスペーサー部位の4つの二級アミン部位を N-メチル化することにより(N-メチル体)、常温での発光挙動が見られた。その N-メチル体の結晶構造や発光挙動などの詳細な検討により、室温においては 50 ナノ秒の光励起寿命を観測し、アミン体と N-メチル体の分子構造などの比較により、後者に置いて、より狭小なホスト空間の主に立体化学的な効果があることが分かった。このように、分子性の化合物の均一溶液中での挙動でありながら、ゼオライトのスーパーケージのような効果が得られた。さらに、この「籠」の中を外部配位子でその内部空間を非対称に区切り、それぞれの配位部位に異なる金属イオンを取り込んで、光励起と水素発生機能をリンクさせることができると考えられる。

研究テーマ2)「外殻構造で支持した多段階の酸化還元状態を有する多核金属中心の構築」

籠状配位子を用いて各種の三核遷移金属錯体を合成することにより、二核以上の多核金属クラスター造を、架橋配位子による自己集積化のみに因らず、籠状の分子の中で安定に合成し、その構造が酸化還元によって散逸することなく機能することを見いだせた。例えば、籠状配位子としてクリプタンド1を用いて合成した三核銅錯体【5.4 参照】は、Cu(I)Cu(I)Cu(I)、Cu(I)Cu(I)Cu(II)、Cu(I)Cu(I)Cu(II)状態などの様々な酸化状態で得ることが可能で、電気化学的ならびに化学的手法によっても、異なる各種の酸化状態が安定に生成することが分かった。通常の銅錯体では、銅(I)状態では VSEPR 則に従い四面体型となり、銅(II)状態では 3d 軌道の電子配置により Jahn Teller 効果が働いて平面四角形型の構造を取るため、酸化還元に伴い単核錯体でもしばしば分解する。通常の多核金属錯体は混合原子価状態において、金

属—金属間相互作用の大きい比較的に安定な系では電荷や電子スピンの非局在化が起こる。それに対して本系では、金属周りの構造が変化しても籠状配位子の骨格がそれを受け止めて分解を押しとどめる効果があるだけではなく、混合原子価状態において、本系では籠状配位子の骨格等に立体化学的制約があるために、内部の金属イオンの配位構造やイオン半径に変化によって非対称な構造の多核金属錯体となり、電荷や電子スピンの局在化が起こる。以上のことは内部に取り込む宿主分子をルイス酸性の異なる複数の金属中心によって保持する能力に繋がり、多核金属活性中心が、多電子酸化還元反応において、基質の小分子を保持したまま最後まで反応を完結することに役立つ重要な性質であると考えられる。

研究テーマ3)「生体内の多核金属活性部位の人工的な合成」

エネルギーを利用のため、小分子を多電子酸化還元するプロセスは重要である。生体内では触媒である金属酵素が小分子の酸化還元頻りに用いられている。これらは反応活性部位に卑近な遷移金属イオンを用いており、機能性の高いヘム鉄を利用しない場合は、三核以上の多核金属活性中心を活性部位に持つ。多電子反応を行う人工的な多核金属活性中心のエッセンスを求めて、マルチ銅酵素と、光化学系 II の酸素発生中心に含まれる Mn_4Ca クラスタを模倣した多核金属錯体の合成を行った。

まずクリプタンド1を用いて合成した各種の三核銅錯体【5.1 参照】を前駆体として、低温下でそれぞれ分子状酸素や過酸化水素と反応を行い、各種の酸素付加型錯体を合成することに成功した。これらは、酸素の4電子還元能を有するマルチ銅酸化酵素の反応機構に重要な示唆を与えるものである。マルチ銅酸化酵素は基質の酸化に伴い、Type II 銅、Type III 銅の三核銅中心で酸素を四電子還元し、選択的に水が生成する。この酸素還元メカニズムは、まず酸素の二電子還元過程が起こり Peroxy Intermediate (PI) が生成し、さらに二電子還元により水が生成すると考えられている。この重要な中間体種である PI は、 $Cu(I)Cu(II)Cu(II)$ 状態を有する三核銅中心の様式が提唱されているものの、その実験的なデータはほとんど不明である。本研究ではこの PI に相当する酸素付加型錯体をモデル化合物で合成することに成功した。これにより、酸素の逐次的な還元に伴う段階的な O-O 結合の開裂機構についても知見を得た。この段階的な酸素分子の還元や、つぎの酸素発生にも関連する O-O 結合の形成と開裂の反応制御は、やはり蛋白質内部の様に、立体化学的に制約のある配位子骨格を利用した二核銅中心の系で行うことができることも見出したが【5.2 参照】、マルチ銅酸化酵素の三核銅中心部位の場合は、三つめの銅中心が多電子反応の最終的なカギとなっている。

他方、緑色植物の光化学系 II (Photosystem II, PSII) における酸素発生中心 = Oxygen Evolving Center (OEC) に類似した異種金属多核錯体の合成を行った。OEC 構造は、近年の X 線構造解析によって PSII の全体の構造とともに明らかとなり、4 つのマンガンイオンおよび 1 つのカルシウムイオンから成る「歪んだ椅子」構造であることが判明した。このモデル化合物を合成する場合の困

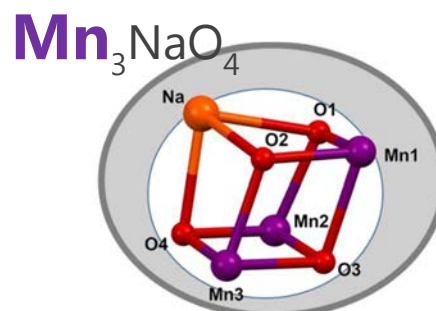


図3. クリプタンド 2 内部に形成した異種多核マンガンクラスタ構造。

難は、如何にしてキューバン型の異種金属多核錯体を必然的に合成するかということである。本研究では、三つのビスイミノピロール部位をスペーサーとして有するクリプタンド2を籠状配位子として用いて「歪んだ椅子」に類似した化合物の合成を試みた。その結果、クリプタンド2のキャビティーのサイズ制御により、OEC に類似した三核マンガン(II)ナトリウムキューバンクラスター構造の合成に成功した。これは籠型の配位子内部の立体化学的な分子認識により、 $Mn/Na = 3/1$ という不均一な組成を有するキューバンクラスターが籠内部に形成することを見出した。電荷は異なるが、ナトリウムイオンの半径はカルシウムイオンと同等である。サイズ制御であることの証明として、カリウムは籠内部に侵入できず、キューバンクラスターを必然的に形成できないことが分かった。このことは、Photoactivation や Photoassembly と呼ばれる OEC が蛋白質内部で自発的に異種金属キューバンクラスター構造を形成する過程と関連した現象であると考えられる。

3. 今後の展開

研究テーマ1)「狭小空間内への閉じ込めによる光励起状態への効果」

従来の設計では、置換基の電子的効果により行っていた分子設計を、光励起部位を取り巻く籠状配位子の外殻構造を変化させることにより、その内部に圧力のようなストレスをかけて、光化学的性質の摂動に利用できることを見出している。これは今後も別の系に適用できる可能性がある。つぎに、この外殻構造を拡張することの将来的な利点は、光励起部位をそのままに、直接的な結合を介さずに水素発生などの化学反応部位を導入し、立体化学的に近距離で互いにリンクできることであると考えている。さらに内部に光励起部位同士が凝集せず孤立した分子素子として振る舞える性質を活かして、電極などのバルク固体表面との組み合わせを行うことにより、これまでの分子性の光化学材料と異なる光増感や発光色素としての効能がある可能性がある。以上の方向に今後は展開する。

研究テーマ2)「外殻構造で支持した多段階の酸化還元状態を有する多核金属中心の構築」

基質の酸化還元状態によって、そのルイス塩基性は変化し、HSAB 則により親和性のない金属中心との結合は切れやすく、その多電子酸化還元反応が完結される前の途中の段階で、生成物として放出される可能性がある。また酸化還元活性な部位に加えて、ルイス酸触媒が共存してはじめて進行する酸化還元反応もある。本系では籠状配位子の骨格等に立体化学的な制約があるため、混合原子価状態において見られたように、電荷の局在化した非対称な構造の多核金属錯体となる。以上のことは内部にホストとして取り込む基質分子をルイス酸性の異なる複数の金属中心によって保持する能力に繋がり、ルイス酸部位と酸化還元部位が必要な多電子酸化還元反応を実現するのに適用できるはずで、この様な手法により、アルコールの多電子酸化触媒や、二酸化炭素の還元触媒の開発を進める。

研究テーマ3)「生体内の多核金属活性部位の人工的な合成」

マルチ銅酵素モデルは、得られた知見をもとにより酸化還元電位の高い三核銅錯体の分子設計を行い、燃料電池に応用する。OEC のモデル化合物は、酸素発生メカニズムの解明のため、Kok cycle の S4 状態の解明に繋がる化合物の合成に展開する。

4. 評価

(1) 自己評価

(研究者)

研究目的として掲げた「光エネルギー利用のための物質変換システムに寄与する分子性触媒群を構築すること」に対して、籠状配位子を利用すること自体に新規の可能性を求めて、それを多方面に応用することを模索し、実証することを考え、研究費の充実によりその挑戦は支えられ、多くのテーマを同時進行で行った。そのようなテーマ設定であったため個人研究型としては多くの問題の克服を余儀なくされ、実施体制としては個々のテーマに分散することになった。多くのトライを行った結果、全体としては、大前提とした籠状配位子を利用して得られる分子化学的効果の検証は段階的に進歩し、いくつかの土台になる部分は形成できた。今後は、これらの成果をもとに、さらなる躍進を追求していきたい。本研究で得られた研究成果とその波及効果について、今後の見込みも含めて下記に示す。

研究テーマ1)「狭小空間内への閉じ込めによる光励起状態への効果」

不均一系の固体触媒としても知られるゼオライトのスーパーケージで起こる現象を、均一系の分子性の化合物で達成できたことがまず興味深い。一般的な分子設計による機能改変と異なる新たな手法である。光励起寿命の伸長は他の化学反応と組み合わせることが可能であり、研究がさらに進めば効率の良い光水素発生が実現できるはずである。また、孤立した分子素子として光増感や発光色素としての応用も期待される。

研究テーマ2)「外殻構造で支持した多段階の酸化還元状態を有する多核金属中心の構築」

籠状配位子の骨格の立体化学的制約により、いくつかの酸化状態で構造を保持する効果があるだけでなく、混合原子価状態において、非対称な構造の多核金属中心を形成し、そこにルイス酸性の異なる複数の金属中心が含まれる。このような性質が、温室効果ガスである二酸化炭素の多電子還元や、アルコールの多電子酸化に応用できると考えられる。

研究テーマ3)「生体内の多核金属活性部位の人工的な合成」

籠状配位子を用いた三核銅錯体と酸素分子との反応中間体の合成に成功し、マルチ銅酵素における酸素の4電子還元を達成するメカニズムに対して、その反応中間体である三核銅-酸素中間体種の反応様式の理解に繋がる重要な知見が得られた。マルチ銅酵素はバイオ電池の酸素還元触媒として応用されており、人工的な酸素還元触媒につながる成果である。つぎに、光化学系 II の酸素発生部位 (OEC) に含まれる Mn_4Ca クラスタを模倣した多核マンガン錯体を合成し、そのヘテロな構造を有する多核マンガン中心が自発的に形成する際のエッセンスの一つを解明した。すなわち金属イオンを取り込むキャビティのサイズ制御により、Photoactivation や Photoassembly と呼ばれる OEC が蛋白質内部で自発的に異種金属キューバンクラスタ構造を形成する過程をある程度まで人工的に再現できることを示すことができたと考えられる。

(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)

船橋靖博博士は生物無機化学の最先端研究者である。船橋博士は人工光合成系の中心課題である多電子変換過程を実現する有望な反応系としてのポリアザ型のクリプタンド、籠状配位子に関する意欲的な研究計画を提案し採択された。人工酵素モデルとしての籠型錯体は多方面から注目されている。特に船橋博士が着眼する多核型の籠型錯体は多電子変換の基礎過程にも関連して非常に興味深い。異動による研究室再構築などを経ながらも研究開始よりこれまでに、籠型配位子の合成、金属の取り込み、構造の解明、分子機能のキャラクタリゼーション、化学反応性などについて着実な研究成果を挙げている。

さがけ研究後期には、前期に見出した1)籠型分子が均一溶液中でありながらゼオライト空間中に類似した規制された反応空間を提供し、2)複数の金属イオンを籠内部に取り込むことができる、という大変興味深い現象について一層の事例探索、反応探索を含む展開を図っている。規制された反応空間の中で進行する、励起緩和の素過程の徹底的な解明を基礎に籠型分子の特徴がどこに現れるか、何が反応を規制するかについて切り込むことが可能になった。また、複数の金属イオンの取り込みの典型例として三核銅錯体およびその酸素付加型錯体の合成に成功し、マルチ銅酸化酵素モデルとして、酸素分子の4電子還元反応機構に関する重要な知見を得ている。更に進んで、光合成反応中心における水の4電子酸化反応について、人工的な光化学系Ⅱ(PSⅡ)モデル構築への挑戦として NaMn_3O_4 錯体を籠型分子内部で合成することに成功したことは注目に値する。従来報告されてきた人工型PSⅡモデル類とは異なり、金属間距離が天然PSⅡ系と比較的類似しており、今後の更なる展開が楽しみである。船橋博士は、生体環境で主にタンパク質が果たしている驚異的な機能発現を分子レベルの視点で掘り下げ、規制された反応場の構築とその規制要因の解明に焦点を絞りながら、望まれる反応をいかにして進行させるかの視点にフィードバックさせるべく挑戦している。研究総括としてはその研究姿勢、挑戦を高く評価する。

5. 主な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

1. T. Higa, M. Fukui, K. Fukui, Y. Naganuma, Y. Kajita, T. Inomata, T. Ozawa, Y. Funahashi, H. Masuda, , “Simplified bicyclic cage-type molecule as a C_3 -symmetric host: X-ray and FTIR characterization of encapsulation of a nitrile molecule”, *J. Incl. Phenom. Macrocycl. Chem.*, **66**, 171-177 (2010).
2. Y. Funahashi, T. Toyama, K. Yoshii, T. Nishikawa, M. Kishida, Y. Kajita, T. Inomata, T. Ozawa, Y. Wasada-Tsutsui, H. Masuda, “Magnetostructural property of a twisted bis(μ -hydroxo) dicopper(II) core and its relevance to formation of an active dioxygen intermediate”, *J. J. Appl. Phys.*, **50**, 01AJ07/1-4 (2011).
3. T. Aoki, Y. Wasada-Tsutsui, T. Inomata, T. Ozawa, Y. Funahashi, H. Masuda, “A ternary ruthenium(II) 2,2':6',2"-terpyridine complex having intramolecular π - π stacking interaction with ancillary benzyl groups of the mixed ligand”, *J. Chem. Chem. Eng.*, **6**, 363-367 (2012).
4. K. Nagata, T. Hatanaka, K. Fukui, T. Inomata, T. Ozawa, K. Tsuge, H. Masuda, Y. Funahashi, “Tricopper(I) complexes encapsulating a $\{Cu_3X_3\}$ core structure (X = Cl, Br, and I) in a polyaza cryptand”, *Chem. Lett.*, in press.

(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)

1. Multinuclear copper complexes as bio-inspired models for O_2 -activation, Y. Funahashi, Asian International Symposium for Young Scientists, -Coordination Chemistry, Organometallic Chemistry, Inorganic Chemistry-, 92nd CSJ Spring Annual Meeting 2012 年 3 月(慶応大学).
2. 籠型分子の内部に展開する光-物質変換機能触媒の創出, 船橋靖博, 月刊化学工業, Vol. 63, 51[707]-56[712], 2012 年 9 月号
3. Dioxygen activation on multinuclear copper cores in the ligand-shell environments, Y. Funahashi, 41st-International Conference on Coordination Chemistry (ICCC41), 2014 年 7 月(シンガポール).
4. 生体内に取り込まれた遷移元素の化学: 金属酵素活性中心モデル, 船橋靖博, 生産と技術, Vol. 66, No. 4, 60-63, 2014 年.
5. 生体酵素の活性部位を溶液中に取り出す錯体化学, 船橋靖博, 錯体化学会第65回討論会 シンポジウム, 2015 年 7 月(奈良女子大学).

研究報告書

「太陽光と新規酸素吸収酸化物を用いた燃料生成」

研究タイプ: 大挑戦型

研究期間: 平成22年10月～平成28年3月

研究者: 山崎 仁丈

1. 研究のねらい

持続可能なエネルギー社会の実現に向けた鍵は、無尽蔵だが断続的にしか利用できない太陽光をいかに有効に貯蔵し、変換利用するかにある。例えば、太陽光と水や二酸化炭素から水素、一酸化炭素および合成ガスなどを製造することで太陽光エネルギーを貯蔵し、その燃料を高効率に変換利用することが考えられる。太陽光燃料の利用において最も効率が高い燃料電池を使用した場合、そこから排出される水や二酸化炭素は太陽光燃料の原料としてリサイクルできるため、水と二酸化炭素を媒体とした持続可能なエネルギーシステムを組むことが可能である。これらはすでに実証されているが、その効率やコストはまだ不十分といえる。本研究では太陽光エネルギー貯蔵・変換機能を有する金属酸化物の開発および発現機構の解明に主眼をおき、太陽光熱化学燃料製造およびプロトン伝導の機能発現に関する研究を行った。

太陽光熱化学燃料製造法は集光太陽光から作りだした熱サイクルを用いて、水や二酸化炭素から水素、一酸化炭素および合成ガスを製造する技術である。太陽光の全波長を利用できるのみならず、システムとしての配線が不要なためスケールアップが容易なエネルギー変換貯蔵システムである。第一ステップとして、集光太陽光により高温状態を作り、酸素吸収金属酸化物を部分的に還元する。その後太陽光の遮断により温度を下げ水蒸気や二酸化炭素を導入することで、酸化物は水分子や二酸化炭素から酸素を吸収し水素や一酸化炭素および合成ガスが生成される。非化学両論組成の金属酸化物を用いた太陽光熱化学水分解水素製造は、従来、ホタル石型構造を有するセリアにおいてのみ報告されていた。動作温度は最高1650℃であり、この高温反応が反応容器設計を困難にするとともに、燃料変換効率を低減する原因となっていた。この問題を克服するため、本研究ではセリアと同等の5モルパーセントの水素製造量を1500℃より低い動作温度で達成することを中間目標に掲げた。研究指針として、これまでに太陽光熱化学水分解水素製造の報告例が全くないペロブスカイト型金属酸化物に着目し、ドーパントによる機能発現・制御を試みた。また、二酸化炭素還元や合成ガス製造についても挑戦した。さらに、同様の手法を用いることで固体酸化物燃料電池の電解質機能も発現・制御しようとした。本研究は、金属酸化物を反応場として利用することで思い通りの物質・エネルギー変換機能を達成しようとする挑戦的な研究と位置づけられる。

2. 研究成果

(1) 概要

本研究では持続可能なエネルギー社会の実現を目指すにあたり極めて重要な太陽光熱化学水分解・二酸化炭素還元および合成ガス製造機能やプロトン伝導機能に焦点を当て、これらの機能を思いのままに発現・制御することを目標に研究を行った。

ペロブスカイト型金属酸化物であるマンガン酸ランタンに2価のストロンチウムを置換することにより、太陽光熱化学水分解機能を誘起することに成功した[5.3 参照]。動作温度の低減およびその温度における水素製造量は中間目標として掲げた1500度以下、5モルパーセントを大幅に上回る成果(1400-800°C、9モルパーセント)が得られ、水素製造量は酸化物の還元反応エネルギーによって定量的に規定されることを見いだした。また同ペロブスカイト酸化物を用いた二酸化炭素還元にも成功した。二酸化炭素還元反応時(800°C)におけるマンガン K 吸収端近傍構造をその場観察した所、二酸化炭素が還元(一酸化炭素が生成)されるに伴い、マンガンの平均価数が 3.12 から 3.41 に上昇(酸化)し、マンガン酸素(MnO₆)八面体のマンガン-酸素距離も収縮した。ストロンチウム置換マンガン酸ランタン(ペロブスカイト酸化物)を用いた熱化学二酸化炭素還元能を制御するには、マンガン酸素八面体におけるマンガンの価数や結合状態が鍵となることが明らかになった。さらに、二酸化炭素、水蒸気および同ペロブスカイト酸化物を用いることで、熱化学合成ガス製造の実証に成功した。

ペロブスカイト型金属酸化物であるジルコン酸バリウムに3価のイットリウムを添加するとプロトン伝導が発現するが、そのプロトン伝導機構はプロトン伝導性酸化物の発見(1981年)以来、結論づけられていなかった。電気化学スペクトロスコピーおよび熱重量測定を用いることで、金属酸化物におけるプロトン伝導機構が「プロントラッピング」によることを世界で初めて明らかにした[5.4 参照]。プロントラッピングとは、添加元素がプロトンを引きつける現象であり、添加元素とプロトンの束縛エネルギーの大小によってプロトン伝導度が決定されることが示された。これは、プロトン束縛エネルギーが小さな添加元素を選択することによって中温度域におけるプロトン伝導を大幅に向上させるという新たな電解質設計指針を示すものである。

(2) 詳細

本研究では持続可能なエネルギー社会の実現を目指すにおいて極めて重要な A) 太陽光熱化学燃料製造能および B) プロトン伝導能に焦点を当て、これらの機能を思いのままに発現・制御する試みとして行った。

研究テーマ A「ペロブスカイト型金属酸化物における太陽光熱化学水分解水素製造機能の発現」

非化学両論組成の金属酸化物を用いた太陽光熱化学水分解水素製造は、従来、ホテル石型構造を有するセリアにおいてのみ報告されている。必要な温度は最高1650°Cであ

り、この高温反応が反応容器設計を困難にするとともに、燃料変換効率を低減していた。本研究ではセリアと同等の5モルパーセントの水素製造量を1500°Cより低い動作温度で達成することを中間目標に掲げた。研究指針として、これまでに太陽光熱化学水分解水素製造の報告例が全くなかったペロブスカイト型金属酸化物に着目した。ペロブスカイト型金属酸化物(図1)における最大酸素吸収能は25モルパーセントとセリアを大幅に上回るものである。

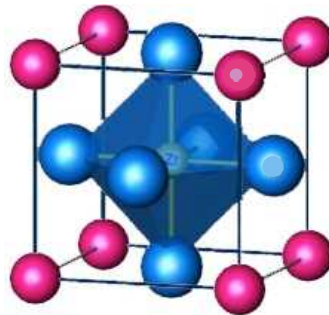


図1 ペロブスカイト構造の模式図

また、酸素イオン伝導度が高速であることも知られており、迅速な水素製造が期待できる。しかし、太陽光熱化学水分解水素製造が報告されている非化学両論酸化物はセリア系に限られており、ペロブスカイト型金属酸化物を用いた報告は全くなされていなかった。このような背景のもと、ペロブスカイト型金属酸化物であるマンガン酸ランタン(LaMnO₃)のランタンサイトに2価のストロンチウム(Sr²⁺)を置換し太陽光熱化学水分解水素製造に挑戦したところ、太陽光熱化学水分解機能を誘起し多量の水素を製造することに成功した [5.3 参照]。水素生成量と酸素生成量の比はほぼ2であり、水分解していることを示している。

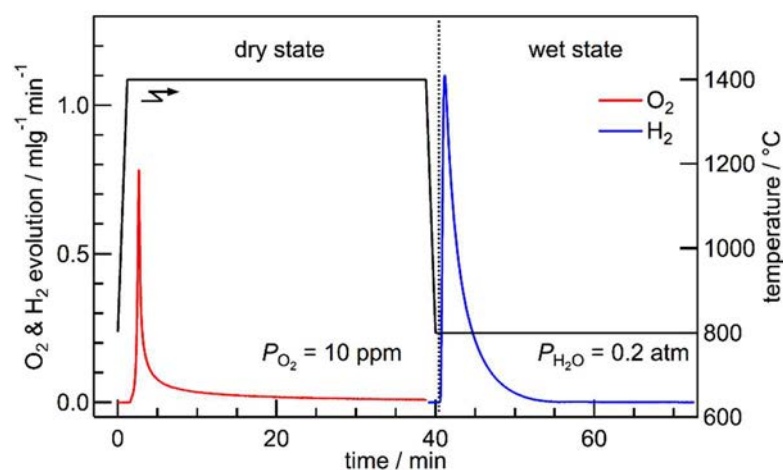


図2 La_{0.8}Sr_{0.2}MnO_{3-δ}を用いた熱化学水分解の一例(熱サイクル:1400–800°C)

また La_{0.8}Sr_{0.2}MnO_{3-δ}において熱サイクルを21回行った所、良好な繰り返し特性が確認でき

た(図3)。

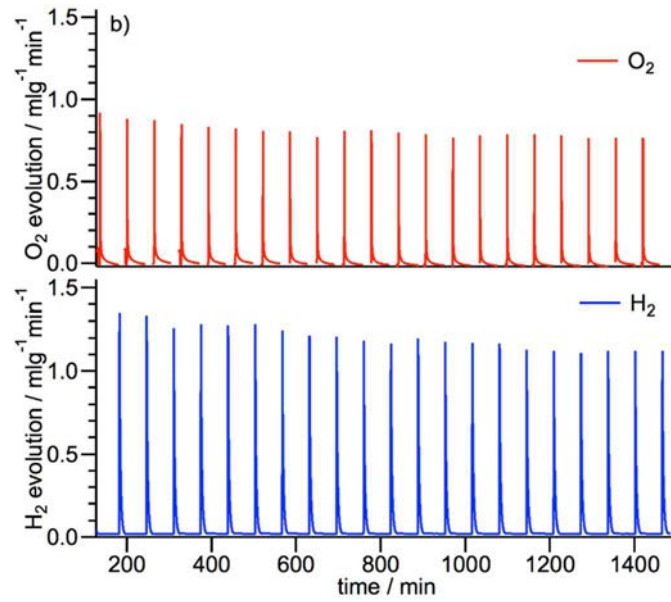


図3 La_{0.8}Sr_{0.2}MnO_{3-d}を用いた熱化学水分解のサイクル特性

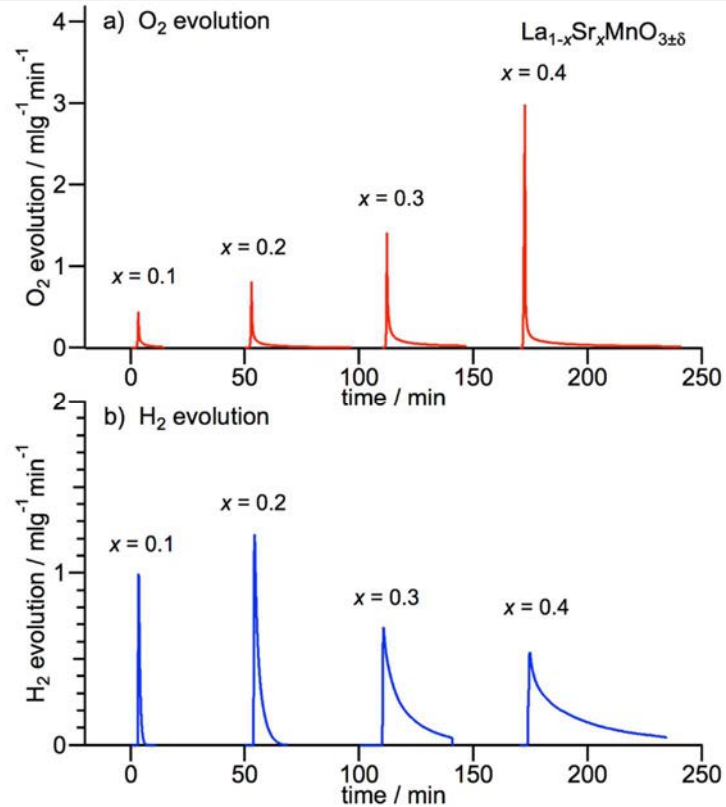


図4. ストロンチウム添加 LaMnO_3 の熱化学水分解水素製造能

従来に比べて低い $1400\text{--}800^\circ\text{C}$ の熱サイクルにおける水素生成量はストロンチウム添加量 0.4 において9モルパーセントであった。これは同条件においてセリアを用いた場合の約4倍であり、さきがけ大挑戦中間目標(5モルパーセント)を大幅に超える値である。実験的に決定した酸素生成量を熱力学的理論値と比較した結果、それらはほぼ一致した(図5)。これは本熱サイクルで生成した酸素空孔がほぼすべて水分解反応に利用されたことを示している。

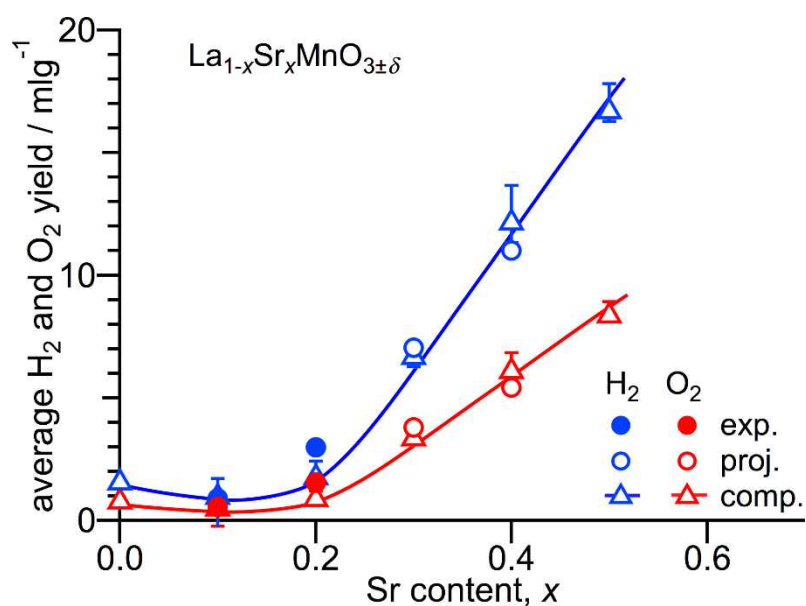


図5. ストロンチウム添加 LaMnO_3 の熱化学水分解水素製造能のストロンチウム濃度依存性

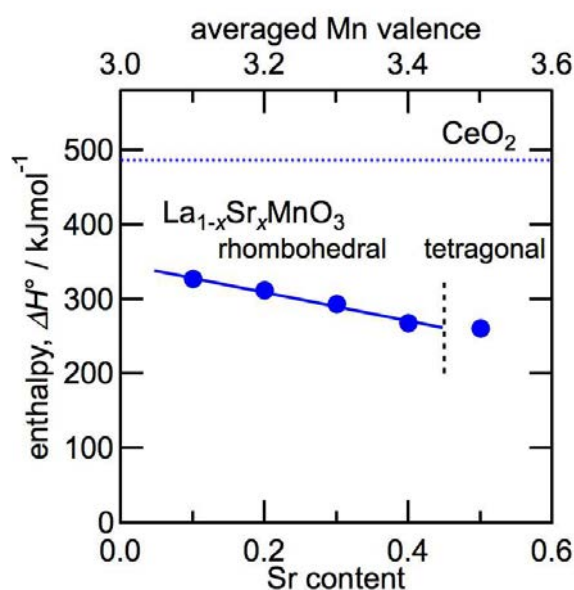


図6. ストロンチウム添加 LaMnO_3 における酸化還元エンタルピーのストロンチウム濃度依存性

ストロンチウム置換に伴って酸素放出量および水素生成量が増える理由は、還元エンタルピーが低減することに起因する(図6)。

本研究に関して5件の特許を日本、米国および台湾で出願し、国内については特許第5594800号として認定された。

また、本ペロブスカイト酸化物を用いた太陽光熱化学二酸化炭素還元の実証についても

挑戦した。光触媒による二酸化炭素還元は水分解よりも熱力学的に困難であるが、熱化学法を用いた場合、水分解反応と二酸化炭素還元反応の駆動力は同程度であるため、申請者が実証した熱化学水分解と同様、多量の二酸化炭素を還元できる可能性を秘めている。

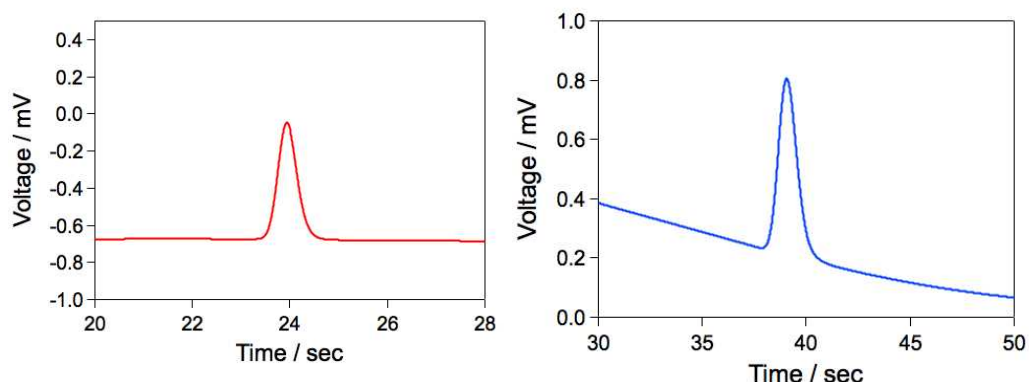


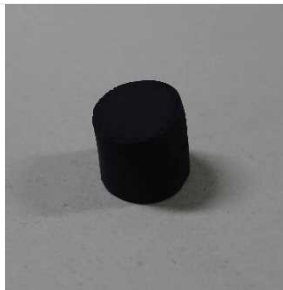
図7 $\text{La}_{0.6}\text{Sr}_{0.4}\text{MnO}_{3-d}$ による O_2 および CO 生成時のクロマトグラム

熱化学水分解を実証済である 40 at%ストロンチウム置換マンガン酸ランタン ($\text{La}_{0.6}\text{Sr}_{0.4}\text{MnO}_{3-d}$)を用いて $1400\text{--}800^\circ\text{C}$ の熱サイクルにおいて二酸化炭素還元実験を行った。一酸化炭素を検出には、マイクロガスクロマトグラフを用いた。まず 1400°C 、 10^{-5} atm の酸素分圧条件において酸素が放出されることをクロマトグラフにて確認した(図7左)。次に 800°C 、 0.3 atm の二酸化炭素分圧に変えることで、熱化学的に二酸化炭素を一酸化炭素に還元することに成功した(図7右)。約 38 秒に見られるピークが一酸化炭素由来であることは、 0.4% CO/Ar 標準ガスを用いて確認している。

二酸化炭素還元実験の前後における試料の写真を図8に示す。 $0.1\text{--}1\text{ atm}$ の二酸化炭素ガスを流した後も、ペロブスカイト試料は崩壊していない。また、二酸化炭素還元後における試料の X 線回折の結果から、二酸化炭素還元実験後も元の結晶構造(空間群： $R\text{--}3c$)を保っていることが確認された。

$1400\text{--}800^\circ\text{C}$ の熱サイクルにおいてガスクロマトグラフで検知した酸素と一酸化炭素のピーク面積を時間に対してプロットした結果を図9に示す。酸素、一酸化炭素生成量はまず最大値を示し、その後、時間とともに減少している。今回6サイクルまで繰り返し二酸化炭素を還元、一酸化炭素が生成可能であることを実証した。

図8 二酸化炭素還元前(左)における $\text{La}_{0.6}\text{Sr}_{0.4}\text{MnO}_{3-\delta}$



素還元実験 8 サよび後(右)における試料の形状

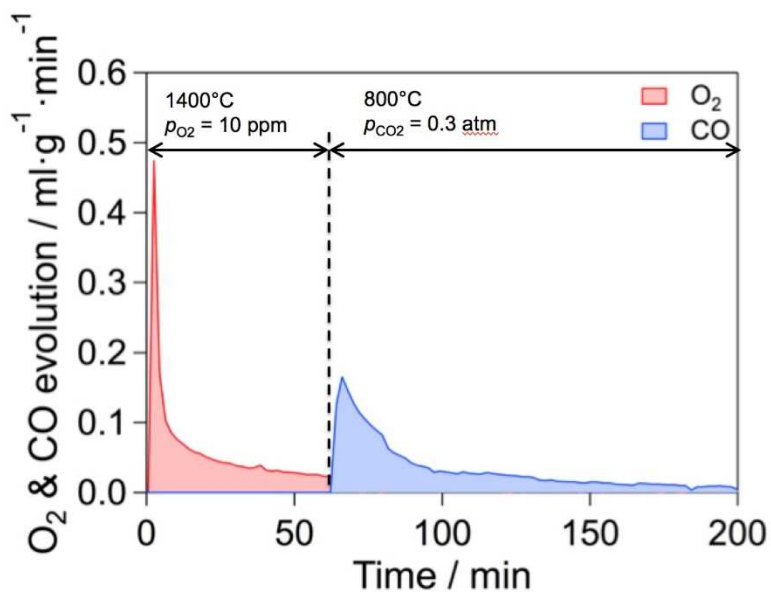
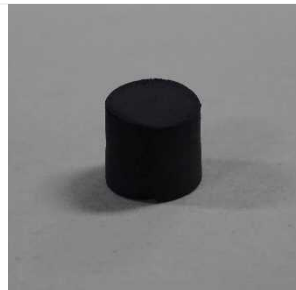


図9. $\text{La}_{0.6}\text{Sr}_{0.4}\text{MnO}_3$ を用いた熱化学二酸化炭素還元

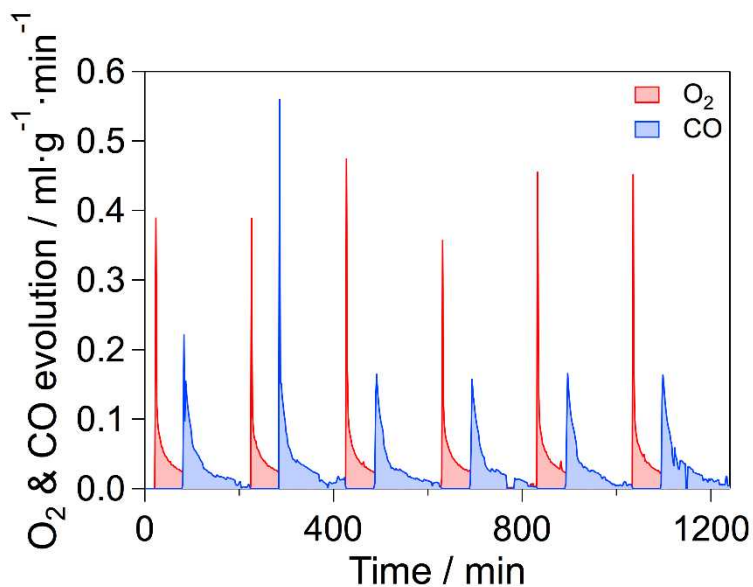


図10. $\text{La}_{0.6}\text{Sr}_{0.4}\text{MnO}_3$ の熱化学二酸化炭素還元能のサイクル特性

研究テーマB「ペロブスカイト型金属酸化物におけるプロトン伝導の発現」

BaZrO_3 ペロブスカイト型金属酸化物(図1)の立方中心に位置するジルコニウムサイト(Zr^{4+} 、黄色いサイト)に3価のイットリウム(Y^{3+})を添加し水蒸気に暴露すると、水蒸気をヒド

ロキシ基として吸収しプロトン伝導が発現する。このプロトン伝導性酸化物はプロトンが伝導するユニークな酸化物であり、従来よりも低い温度で動作する固体酸化物型燃料電池の電解質として期待されている。3価イオンの添加によりプロトン伝導が誘起されるため、添加元素がプロトン伝導に極めて大きな役割を果たすことが推測され、プロトン伝導機構についてはプロトン伝導性酸化物が1981年に発見されて以来活発に議論されてきた。しかし、その結論は出ておらず、何がプロトン伝導の大小を決定しているのかこれまで分かっていなかった。

本研究では、電気化学スペクトロスコピー、熱重量測定および高温その場固体核磁気共鳴法(NMR)を組み合わせることにより、金属酸化物におけるプロトン伝導機構が「プロントラッピング」によることを世界で初めて明らかにした[5.4 参照]。プロントラッピングとは、添加元素がプロトンを引きつける現象であり、添加元素とプロトンの束縛エネルギーの大きさによってプロトン伝導度が決定されることが示された。

プロトンを含んだイットリウム添加ジルコン酸バリウムには、イットリウムに束縛されたプロトンと脱出したプロトンが存在する。低温ではほとんどのプロトンがイットリウムの周りに拘束されており(図11-1)、NMRを用いると拘束されたプロトンのみが観測される(図12上)。この拘束から逃れるのに大きな熱エネルギーが必要なため、低温における拡散の活性化エネルギーは大きい(図13)。

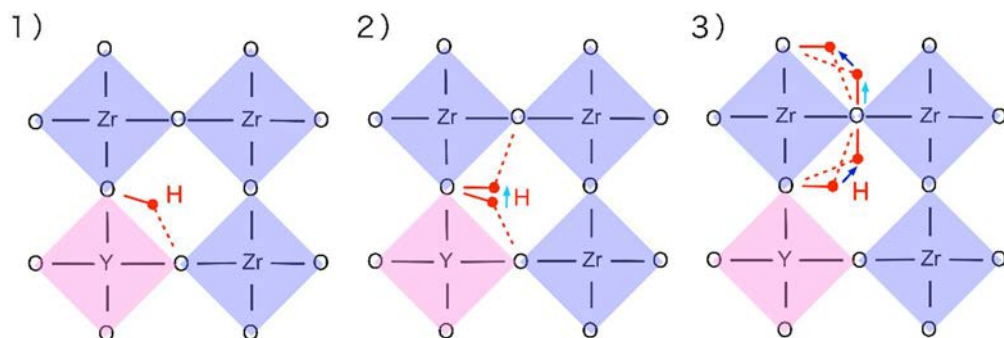


図11 イットリウム(Y)置換したジルコン酸バリウムのプロトン伝導機構の模式図

- 1) イットリウム(Y)の周りに束縛されたプロトン(H).
- 2) イットリウム(Y)の束縛から脱出するプロトン(H).
- 3) イットリウム(Y)の束縛から脱出し高速移動するプロトン(H).

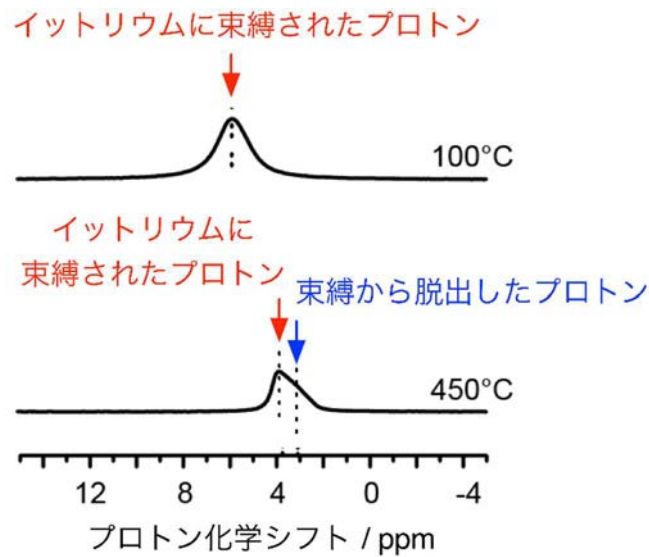


図12 高温プロトン NMR によって同定された2種類のプロトン

高温になるにつれてプロトンはイットリウムの周りから脱出し(図11-2)、高速に伝導できるようになる(図11-3)。実際、450°Cにおいては束縛されたプロトンと脱出したプロトンがほぼ同程度存在することが NMR において観測された(図12下)。実際、2種類のプロトンの存在については、ダイナミック核磁気分極 NMR と第一原理計算からも観測されている[5.2 参照]。高温ではイットリウムから離れて高速に伝導するプロトンが多数存在するため、プロトン拡散係数の温度依存性は小さくなる。結果として、湾曲したプロトン拡散係数の温度依存性が得られる(図13)。この湾曲したプロトン拡散係数の温度依存性は、プロントラッピングによってプロトン伝導度が規定される事実を示す決定的証拠であり、本研究により初めて実験的に確認された。

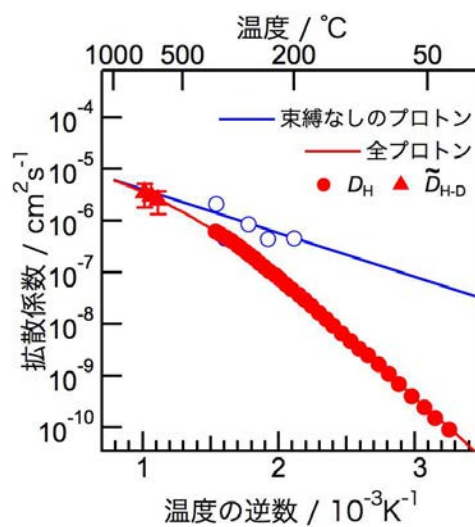


図13 湾曲したプロトン拡散係数の温度依存性

これらの実験結果を基にプロトン束縛エネルギーからプロトン拡散係数を一意的に決定するモデルを世界で初めて作り、束縛エネルギーと燃料電池の動作温度の関係を定量的に導いた。例えば、プロトンの束縛エネルギーがイットリウムに比べて9kJ/mol低い元素を添加したジルコン酸バリウムでは、燃料電池の動作に必要なプロトン伝導度は350°Cという低温でも得られることが示唆された(図14)。これは、プロトン束縛エネルギーが小さな添加元素を選択することによって中温度域におけるプロトン伝導を大幅に向上させるという新たな電解質設計指針を示すものである。

また、本金属酸化物の水和反応およびその速度論に関する知見も得られた[5.5 および 5.1 参照]。

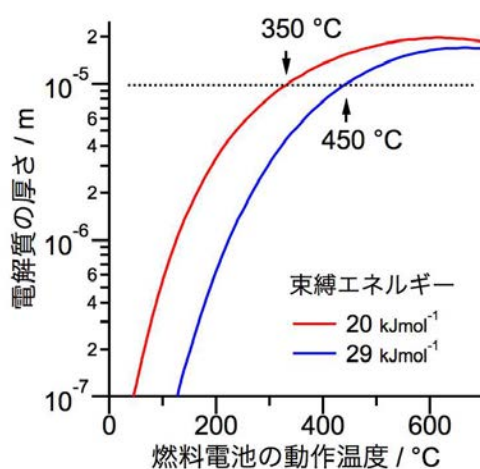


図14 プロントラッピングモデルに基づいて計算した、燃料電池の動作に必要なプロトン伝導が得られる温度と電解質の厚さの関係

3. 今後の展開

本研究期間において新規太陽光熱化学水分解金属酸化物の開発に成功し、水素製造量に関して中間目標を大幅に上回る成果を達成した。また、本金属酸化物を用いた二酸化炭素還元や合成ガス製造にも成功した。今後は、二酸化炭素還元および合成ガス製造の高効率化へ挑戦するとともに、動作温度を劇的に低下できる金属酸化物やプロセスの開発を行っていきたい。一方、プロトン伝導機能の発現に関してはドーパント選択によって束縛エネルギーを制御できることが示唆されたので、この方針に基づいて特性の飛躍的向上を探るべく研究を推進してゆく。

4. 評価

(1) 自己評価

持続可能なエネルギー社会の実現を目指すにあたり極めて重要な太陽光熱化学燃料製造能およびプロトン伝導能の発現・制御に焦点を当て、挑戦的な研究を行った。この間、新たな太

陽光熱化学燃料製造金属酸化物の開発に成功し、中間目標を大幅に上回る成果が得られた。またペロブスカイト酸化物を用いた熱化学二酸化炭素還元および合成ガス製造の実証に成功した。さらに、同様の手法でプロトン伝導を誘起した金属酸化物において世界で初めてプロトン伝導機構を解明し、Nature Materials 紙に発表した。本研究に関してプレスリリースを行い、複数の新聞で紹介され、1件の受賞を受けた。これらの研究成果をもとに、国際特許4件、国内特許1件、国際会議における基調講演や招待講演7件、海外大学における招待講演7件、国内招待講演14件等を行うとともに、不定比化合物に関する国際会議 VI の議長に選出され、2016年9月に米国で国際会議を主催する予定となっている。これらの研究が高く評価されたことを受け、2014年8月には九州大学稲盛フロンティア研究センター教授に着任した。アウトリーチ活動として2015年8月にはサイエンスカフェを行い、80名の高校生に太陽光熱化学水分解のデモ実験を披露した。論文発表に関しては緩慢であるが、大挑戦にふさわしいインパクトの大きな成果が着実に出てきていると考えている。

(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)

山崎仁文博士は、太陽光エネルギーを物質の電子励起状態を経由する光化学反応ではなく基底状態の熱化学反応を誘起するエネルギーとして利用する物質変換反応に関する極めて意欲的な研究提案が大挑戦プログラムとして評価され採択された。研究開始後の具体的な研究推進では熱化学反応による水の分解、水素生成に関してそれまでほぼ唯一の例として知られていたセリアによる水の熱化学分解反応にとどまることなく、金属酸化物に異元素を添加することによる発生する非化学量論性が化学反応性に大きく影響することを予測し、新規にペロブスカイト型金属酸化物がセリアを大きく凌駕する水の熱分解反応性を見出した。またその熱化学サイクルの最適化にも挑み具体的に、研究目標設定を大きく上回る水素生成を達成している。単なる事例探索ではなく熱力学的考察による予測と解析に加えて動的視点による反応速度解析、予測により極めて説得性のある研究推進方法をとっていると評価できる。特に、金属酸化物を化学反応場として捉え、その非化学量論性と化学反応性に着目して研究推進している点は独創性の高い視点として高く評価される。事実、水の熱分解反応にとどまることなく、燃料電池領域での Hot subjects の一つである固体金属酸化物中におけるプロトン伝導機構について「プロントラッピング」を初めて実証した業績は当該分野への大きい波及効果が予測されるものである。研究開始当初はその研究展開に若干の誘導期間側面がみられたが、金属酸化物の非化学量論性への集中的な視点が大きい研究展開に繋がっていると判断される。

九州大学に異動後は、さきがけ研究前半までの金属酸化物を化学反応場とする研究実績を基礎にペロブスカイト型金属酸化物の非化学量論性に着目した反応性制御の視点による先見的な研究戦略をさらに精査充実させていっそうの積極的研究展開を図っている。例えば、水の分解による水素生成に加えて、期待通り二酸化炭素が2電子還元により一酸化炭素に転換されることを新たに見出すなど、二酸化炭素の還元固定化、有効利用への社会実装課題に果敢に挑戦している。さきがけ研究提案時には、果たして熱化学プロセスによる水の分解による水素発生新材料が開発できるのか、また、二酸化炭素の還元固定が本当に実現できるのかなど必ずしも明瞭には見通し可能ではなかったが、山崎博士の先見的、独創的な研究指針と研

究努力により大きい展開が可能になったと言える。さきがけ大挑戦プログラムの良い典型例であろう。

5. 主な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表: 5件

1. E. Kim, Y. Yamazaki, S.M. Haile, H.-I. Yoo, Effect of NiO sintering-aid on hydration kinetics and defect-chemical parameters of $BaZr_{0.8}Y_{0.2}O_{3-\delta}$ ***Solid State Ionics***, 275(2015), 23–28.
2. F.Blank, L.Sperrin,D.Lee, R. Derisoglu, Y. Yamazaki, S.M. Haile, G.D. Paepe, C.P. Grey, Dynamic Nuclear Polarization NMR of Low- γ Nuclei: Structural Insights into Hydrated Yttrium-Doped BaZrO₃, *J. Phys. Chem. Lett.* 5 (2014), 2431–2436.
3. C.K. Yang, Y. Yamazaki*, A. Aydin, and S.M. Haile*, Thermodynamic and kinetic assessments of strontium-doped lanthanum manganites for thermochemical water splitting, ***J. Mater. Chem. A***, 2(2014),13612–13623. ***Corresponding Author.**
4. Y. Yamazaki*, F. Blanc, Y. Okuyama, L. Buannic, J.C. Lucio-Vega, C.P. Grey, and S.M. Haile, Proton trapping in yttrium-doped barium zirconate, ***Nature Materials***, 12 (2013), 647–651. ***Corresponding Author.**
5. Y. Yamazaki, C.K. Yang and S.M. Haile, Unraveling the defect chemistry and proton uptake of yttrium-doped barium zirconate, ***Scripta Materialia***, 65(2011), 102–107. Viewpoint Set: Solid Oxide Fuel Cells. **Invited.**

(2) 特許出願

研究期間累積件数: 5 件(国際特許 4 件および国内特許 1 件、1 件の仮特許を含む)

1.

発 明 者: 山崎 仁丈、ハイレ ソシナ、ヤン チカイ

発明の名称: 熱化学燃料製造用触媒及び熱化学燃料製造方法(日本)

出 願 人: 科学技術振興機構、カリフォルニア工科大学

出 願 日: 2013/3/22

出 願 番 号: 特許第 5594800 号 (2014), 日本

2.

発 明 者: 山崎 仁丈、ハイレ ソシナ、ヤン チカイ

発明の名称: 熱化学燃料製造用触媒及び熱化学燃料製造方法(台湾)

出 願 人: 科学技術振興機構、カリフォルニア工科大学

出 願 日: 2013/3/22

出 願 番 号: 102110240

3.

発 明 者: Yoshihiro Yamazaki, Sossina M. Haile, Chih-Kai Yang

発明の名称: Catalysts for thermochemical fuel production and method of producing fuel using thermochemical fuel production (USA)

出願人: Japan Science and Technology Agency、California Institute of Technology
出願日: 2012/8/31
出願番号: 13/600,948

4.

発明者: Yoshihiro Yamazaki, Sossina M. Haile, Chih-Kai Yang
発明の名称: Catalysts for thermochemical fuel production and method of producing fuel
using thermochemical fuel production (USA)
出願人: Japan Science and Technology Agency、California Institute of Technology
出願日: 2012/3/23
出願番号: 61615122 (provisional)

(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)

主要な学会発表

国際学会における基調講演および招待講演: 6件 *代表著者

- 1 Y. Yamazaki, “Proton trapping: a key to design proton-conducting electrolyte for solid oxide fuel cells”, 4th International Symposium on Energy Challenges and Mechanics – working on small scales, Aug. 11–13, 2015, Aberdeen, Scotland, UK. 基調講演.
- 2 Y. Yamazaki, “Proton diffusion in solid oxide fuel cell electrolytes”, International Conference on Diffusion in Materials, Aug. 17–22, 2014, Münster, Germany. 基調講演.
- 3 Y. Yamazaki, “Proton trapping in proton-conducting oxide”, 17th International Conference on Solid State Protonic Conductors, Sep. 14–19, 2014, Seoul, Korea. 招待講演.
- 4 Y. Yamazaki*, F. Blanc, Y. Okuyama, L. Buannic, C.P. Grey, and S.M. Haile, “Proton trapping: a guide for proton conducting oxide electrolyte development”, International Workshop on Protonic Ceramic Fuel Cells Status & Prospects (PPC2013 – Prospects Protonic Ceramic Cells), July 10, 2013, Montpellier, France. 基調講演.
- 5 Y. Yamazaki*, “Novel perovskite catalysts for thermochemical water splitting”, The 19th International Conference on Solid State Ionics, Jun. 4, 2013, Kyoto, Japan. 招待講演.
- 6 Y. Yamazaki*, “Defect manipulation towards a sustainable energy future”, The 9th International Symposium on Novel Carbon Resource Sciences, Nov. 3, 2012, Fukuoka, Japan. 招待講演.

海外の大学における招待講演: 7件

- 7 Y. Yamazaki, “Thermochemical solar fuel production using perovskite oxides”, MIT, Aug. 6, 2015, Boston, USA. 招待講演.
- 8 Y. Yamazaki, “How to activate energy functions in oxides? ~ thermochemical solar fuels and solid oxide fuel cells”, KAIST, Sep. 12, 2014, Taejeon, Korea. 招待講演.
- 9 Y. Yamazaki, “How to activate perovskite oxide functions for sustainable energy?”, Aug. 15, 2014, Leibniz Institute for Surface Modification, Leipzig, Germany. 招待講演.
- 10 Y. Yamazaki, “Atmosphere-controlled thermogravimetry: quantitative detection of proton in oxides”, Netzsch User Meeting, California Institute of Technology, Mar 12–13, 2014, Pasadena, USA.
- 11 Y. Yamazaki*, “Activating energy functions in perovskites: water splitting and proton conduction”, Cavendish Laboratory, University of Cambridge, July 8, 2013, Cambridge, UK.
- 12 Y. Yamazaki*, “Energy functions in perovskites: water splitting and proton conduction”,

Grey group seminar, Department of Chemistry, University of Cambridge, July 3, 2013, Cambridge, UK.

- 13 Y. Yamazaki*, L. Buannic, Y. Okuyama, J.C. Lucio-Vega, F. Blanc, C.P. Grey, and S.M. Haile, “a proton-conducting oxide electrolyte for fuel cells: electrochemistry and NMR”, Stony Brook University and University of Cambridge on video conference, June 8, 2011, Stony Brook, USA.

国内の大学および研究機関における招待および依頼講演： 14件

- 14 山崎仁丈, 無機材料における革新的エネルギー機能の発現を目指して ～熱化学水分解とプロトン伝導～, 京都大学, 2014年10月3日, 京都.
- 15 Y. Yamazaki, “Overview of researches in Advanced Functional Inorganic Materials Research Division”, Kyocera Professor Meeting, Kyocera, Sep. 11, 2014, Kagoshima, Japan.
- 16 Y. Yamazaki, “Materials design towards sustainable energy society: solar-driven thermochemical fuel production”, Miyazaki University, Apr. 7, 2014, Miyazaki, Japan. (in Japanese)
- 17 Y. Yamazaki, “Activation of energy function in perovskite oxides: solar fuels and fuel cells”, KEK Photon Factory, May 26, 2014, Tsukuba, Japan. (in Japanese)
- 18 Y. Yamazaki*, “Novel materials design based on electrochemical understandings”, Seminar, Tohoku University, Aug. 2, 2013, Sendai, Japan. (in Japanese).
- 19 Y. Yamazaki*, “Towards physical chemical understanding in thermochemical fuel production”, Applied Chemistry Department Seminar, Tokyo University of Science, July 26, 2013, Tokyo, Japan. (in Japanese).
- 20 Y. Yamazaki*, “Activating energy functions in perovskites: thermochemical water splitting and proton conduction”, I²CNER seminar, Kyushu University, Jun. 10, 2013, Fukuoka, Japan.
- 21 Y. Yamazaki*, “Design energy materials ~ from artificial photosynthesis to solid oxide fuel cells”, Seminar, Tokyo University of Science, May 16, 2013, Tokyo, Japan. (in Japanese).
- 22 Y. Yamazaki*, “Defect control in perovskite for energy applications”, Seminar, Kyoto University, Nov. 13, 2012, Kyoto, Japan.
- 23 Y. Yamazaki*, “Energy materials design: materials science approach”, Seminar in Research Center, Tokyo Institute of Technology, Nov. 12, 2012, Kanagawa, Japan. (in Japanese).
- 24 Y. Yamazaki*, “Towards a sustainable energy society: materials science approach”, Inamori Research Seminar, Inamori Frontier Research Center, Kyushu University, Nov. 6, 2012, Fukuoka, Japan. (in Japanese).

- 25 Y. Yamazaki*, “Solar thermochemical fuel production and solid oxide fuel cells”, Fuel Cell Division Meeting, World Premier International Research Center, Kyushu University, Nov. 5, 2012, Fukuoka, Japan.
- 26 Y. Yamazaki*, “Proton-conducting oxides”, Kyushu University, May 7, 2012, Fukuoka, Japan. (in Japanese).
- 27 Y. Yamazaki*, “Catalytic oxides for Thermochemical water splitting: Thermodynamic consideration”, The University of Tokyo, March 24, 2012, Tokyo, Japan. (in Japanese).

国際学会における口頭発表(招待講演を除く): 28件(詳細略)

国内学会における口頭発表(招待講演を除く): 21件(詳細略)

受賞: 1件

- 1 第18回固体イオニクス国際学会ベストポスター賞受賞, ポーランド, 2011年. L. Buannic, F. Blanc, Y. Yamazaki, L. Sperrin, D.S. Middlemiss, R. Dervisoglu, Z. Gan, S.M. Haile and C.P. Grey

著作物: 3件

- 1 山崎仁丈, “プロトン伝導性金属酸化物 BaZrO₃における置換元素 Y の役割と Ba 欠損の影響”, までりあ, 54(2015) 343–346.
- 2 山崎仁丈, “プロトントラッピング~固体酸化物形燃料電池, 低温動作の鍵となる金属酸化物中におけるプロトンの拡散~”, までりあ, 54(2015) 242–249.
- 3 山崎仁丈*, “太陽光と新規酸素吸収酸化物を用いた燃料生成”, 化学経済, 11 (2011).

プレスリリースおよび新聞発表: 5件

- 1 科学技術振興機構報 第952号「固体酸化物形燃料電池を低温で動かす新たな機構を発見」, 2013年5月13日.
- 2 日経産業新聞, 「燃料電池の材料特性発見」, 2013年5月14日.
- 3 電気新聞, 「SOFC、低温駆動へ道」, 2013年5月14日.
- 4 マイナビニュース「JST, 固体酸化物形燃料電池を低温で動かす新たな機構を発見」, 2013年5月13日.
- 5 日経電子版「JST, 固体酸化物形燃料電池を低温で動かす新たな機構を発見」, 2013年5月13日.

国際的に顕著な貢献: 3件

- 1 不定比化合物に関する国際学会 VI の議長に任命された, 2014年11月7日.
- 2 世界セラミックアカデミー国際セラミックス賞の推薦者に任命され、推薦したハイレ博士が国際セラミックス賞を受賞した, 2011年2月15日.

アウトリーチ活動: 1件

- 1 サイエンスカフェ、太陽光熱化学水分解デモ実験、九州大学稲盛フロンティア研究センター、参加者 80 名、2015 年 8 月 2 日.

研究報告書

「褐藻類の光合成アンテナに結合した色素の構造と機能の解明」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成 23 年 10 月～平成 28 年 3 月*

研究者: 藤井 律子

1. 研究のねらい

光子束密度の薄い太陽光を用いて化学反応を起こすためには、光子を吸収してそのエネルギーを適切な時定数と量で反応サイトに供給する集光アンテナは極めて重要である。海藻類は、水深 10 m 付近で得られる青緑色の弱い光を高効率で光合成に用いるシステムを持つ。これが光合成アンテナと呼ばれる色素-蛋白質複合体である。本研究では、水圏に生育する光合成生物の持つ光合成アンテナに結合する色素の構造と機能に着目した。

代表的な海洋光合成生物である褐藻類では、フコキサンチン-クロロフィルタンパク(FCP)と呼ばれる光合成アンテナに結合したフコキサンチンというカロテノイドが、緑色光を吸収し、ほぼ 100%という高い効率で励起エネルギーをクロロフィル *a* に伝達している。フコキサンチンは、比較的短い直鎖状のπ電子共役系に電子吸引性のカルボニル基が結合した極性カロテノイドであり、最低一重項励起状態(S_1)付近に分子内電荷遷移(ICT)状態を持つ特長がある。この吸収帯は有機溶媒中では青色領域(450 nm 付近)にあり、FCP に結合した際の緑色領域(530 nm 付近)への大きな赤色シフトは、溶媒の分極率を大きくしても実現できていない。また、みそ汁にわかめを入れると鮮やかな緑色に変色する事によく知られた現象として、FCP に結合するフコキサンチンは加熱に際して不可逆的に解離し、緑色光の吸収能力を失う。これらより、FCP 内でフコキサンチンは、周辺の色素との相互作用が大きい特徴的な配置をとっていると推測できるが、FCP の構造はまだ決定されていない。

そこで本研究ではまず、天然の FCP 内でのフコキサンチンからクロロフィルへのエネルギー伝達が、極性カロテノイドに特有の ICT 状態を主に利用(経路)していることを明らかにする。一方で、フコキサンチンを様々な距離や角度で集積させた構造体(複合凝集系)を創成し、フコキサンチン同士の分子間相互作用が ICT 状態の増幅にどのような関与を示すのかを明らかにする。具体的には、配向したフコキサンチン分子間にスペーサー分子を入れた凝集構造体を創成し、フコキサンチン分子の分子間相互作用を系統的に評価する実験系を構築する。次にこの複合凝集系の励起状態の知見を集積する事により、FCP におけるフコキサンチンの高効率エネルギー伝達の本質を解明すると同時に、光合成アンテナの構造モデルを提案する。

*ライフイベントにより、平成 26 年 10 月～平成 27 年 10 月までさきがけ研究を中断

2. 研究成果

(1)概要

本研究では、日本原種の褐藻類オキナワモズクを、着床前の種に相当する盤状体で培養する事により、培養時の光条件によるばらつきのほぼ無い均質な藻体試料を得、これより一定の色

素組成を持つ FCP を調製する手法を確立した。一方、フコキサンチン単体の励起状態の挙動を時間分解分光、非線形分光により解明し、極性溶媒中では ICT 状態と S_1 状態が区別できる事を明らかにした。そこで FCP のフェムト秒時間分解吸収スペクトルを測定し、FCP に結合したフコキサンチンの各励起状態の寿命を決定し、内部転換の時定数と比較することにより、フコキサンチンの各エネルギー準位からクロロフィル a へのエネルギー伝達効率をそれぞれ決定した。その結果、このエネルギー伝達は主として、フコキサンチンの分子内電荷移動状態 (ICT 状態) とカップルした最低一重項励起状態 (S_1) を経由する事を明らかにした。

また、FCP と類似した緑色領域に吸収帯を持つ光合成アンテナである、シフォナキサンチン-クロロフィル蛋白質 (SCP) を有する緑藻ミルについても、着床前の種に相当する糸状体での培養系および SCP の調製方法を確立した。また共鳴ラマン分光法により、植物の集光性タンパク質複合体 II (LHCII) アンテナではルテインが結合するサイトをシフォナキサンチンが占有するという知見を得た。

人工的にフコキサンチンの配向と距離を制御した複合凝集系を作成する試みとして、多孔質ガラス (ナノ細孔シリカ) にフコキサンチンを吸着させることに成功した。フコキサンチンの初期濃度を制御することにより、有機溶媒中の吸収帯より短波長側 (H-会合体) と長波長側 (J-会合体) に吸収帯を持つ一連のフコキサンチン-シリカ複合体の調製が可能であった。前者のみ CD シグナルを示し、これは、フコキサンチン分子の双極子モーメントを反時計回りの螺旋状に配置する二量体構造をとり、その双極子間距離は7オングストローム程度であることが示唆された。また、他の手法としてラングミュア-ブロッジット累積膜の手法を試みた。ステアリン酸バリウムの膜に β ロテンを添加した混合 LB 膜では、原子間力顕微鏡観察及び直線偏光、角度依存反射吸収スペクトルなどの計測により、1 nm 未満のクラスターが均一に分散しており、脂質膜の疎水性内部に埋まる形で基板にほぼ平行に β ロテンが配置していることを明らかにした。

(2) 詳細

研究テーマ1「フコキサンチン複合凝集系の構築」

フコキサンチンを多孔質シリカに吸着させる試みにおいて、細孔径 6 nm のシリカ (CARiACT Q-6、富士シリシア社製) を用いた場合のみ、添加フコキサンチンの濃度を制御する事により、有機溶媒中の吸収スペクトルより短波長側 (H-会合体、card-pack 型) から長波長側 (J-会合体、head-to-tail 型) までの様々な吸収を示す一連のフコキサンチン-シリカ複合体を作る事に成功した。ここで得られた H 会合体は全て CD スペクトル (極大吸収位置 415 nm に中心を持つコットン効果) を示し、これよりフコキサンチン分子の双極子モーメントが反時計回りの螺旋構造をもった二量体構造を取っている事、またそのフコキサンチン分子同士の距離はおよそ7 Å 程度である事が示唆された[5. (1) 4 参照]。

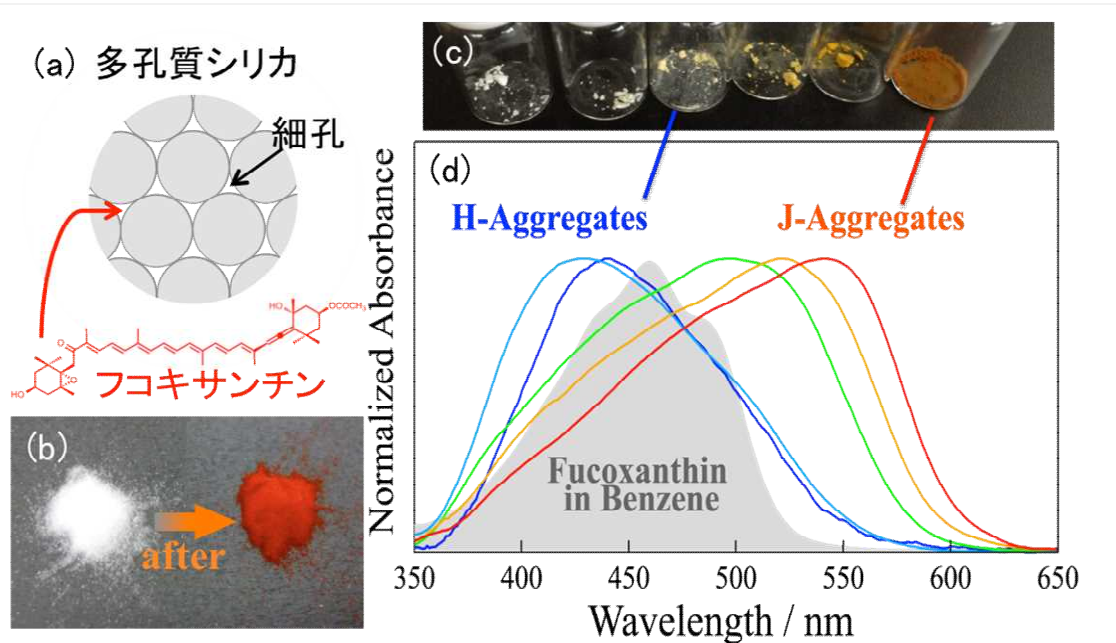


図1 (a)多孔質シリカへのフコキサンチン導入のイメージ図、(b)フコキサンチン導入前後の多孔質シリカ粉末の写真、(c)様々な初期濃度で処理したフコキサンチン導入多孔質シリカの写真、(d)グリセロール入り緩衝溶液に分散して測定した吸収スペクトル[Kita et al 2015 より改変]

分子の配向を制御した凝集系として、LB 膜の作成を行った。ステアリン酸を膜物質として、様々な割合でカロテノイドを混合した混合 LB 膜の作成を行った。ベータカロテン・ステアリン酸混合膜は既報[Hashimoto et al. *Jpn. J. Appl. Phys.* 35 (1996) 281-289.]の条件で積層を確認し、原子間力顕微鏡(AFM)観察により一様な表面を初めて観測し、直線偏光吸収スペクトル、反射吸収スペクトルの角度依存性により、1 nm 未満の均一なクラスターとしてβカロテンがステアリン酸の中に分散している事を初めて明らかにした。一方、この手法ではフコキサンチンは数百 nm の大きなクラスターとしてステアリン酸の中に島状に散在し、積層の段階で抜け落ちてしまう事が明らかになった。[Kita et al. *Carotenoid Science* 19 (2014) 43-45.]

研究テーマ2「フコキサンチン複合凝集系の機能の解明」

褐藻類の有する光合成アンテナ FCP は、培養時の光条件により色素組成にも変化が生じるという知見があったが、我々は、日本原種の褐藻類オキナワモズクを、着床前の種に相当する盤状体で培養する事により、培養条件によるばらつきのない均質な試料を得ることに成功して来た[Fujii et al. *Photosynth. Res.* 111 (2012) 165-172; Fujii et al. *Photosynth. Res.* 111 (2012) 157-163]。この培養モズクから調製したFCPについて、フェムト秒時間分解吸収スペクトルを測定し、FCPに結合したフコキサンチンの各励起状態の寿命を決定した。既に我々が解明して来たフコキサンチンの有機溶媒中での励起状態の挙動[Kosumi, Fujii, et al., *J. Lumin.*, 131(3), 2011, 515-518; *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 13, 2011, 10762-10770]より、内部転換の時間定数を仮定して解析し、フコキサンチンの各エネルギー準位からクロロフィル a へのエネルギー伝達効率をそれぞれ決定した。その結果、このエネルギー伝達が、主としてフコキサンチンの

分子内電荷移動状態(ICT 状態)とカップルした最低一重項励起状態(S_1)を経由して行われる事を初めて明らかにした[5.1, 5.2を参照]。FCPにおけるフコキサンチンの吸収帯が少なくとも2種類(green, red)あり、その内長波長側の吸収帯を示すもの(red)がこのエネルギー伝達に大きく寄与する事も同時に示唆された。

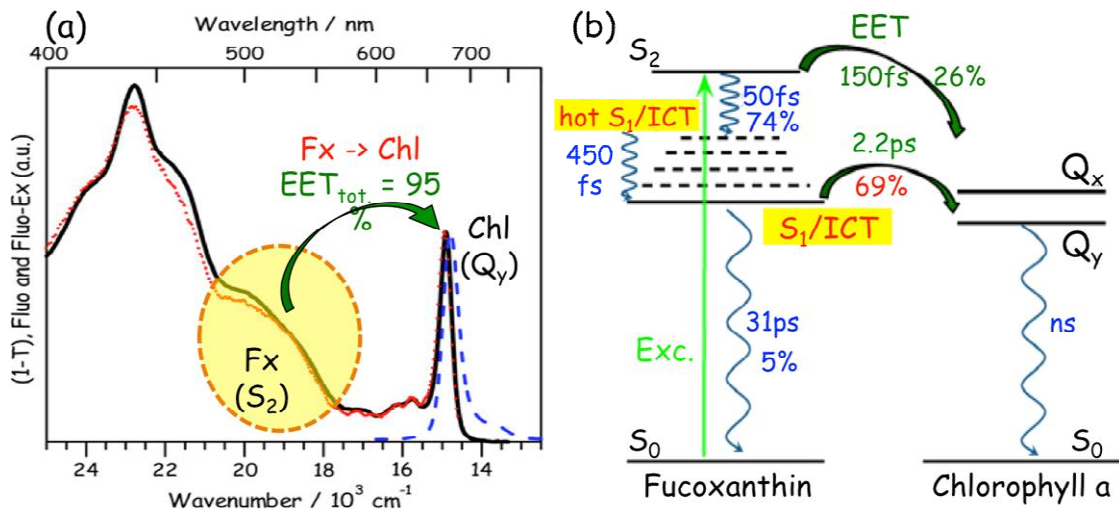


図2 (a)褐藻類オキナワモズク由来の FCP の吸収(黒実線)、蛍光(青破線)、蛍光励起(赤点)スペクトル[Fujii et al. 2012 より改] (b)FCPにおけるフコキサンチンからクロロフィルへのエネルギー伝達模式図[文献 5. (1) 1 より改変]

研究テーマ3「フコキサンチン複合凝集系の構造の解明」

天然系については、褐藻類の光合成アンテナにおけるフコキサンチンの挙動と同様に、カルボニルカロテノイド(シフォナキサンチン)を結合して、青緑色の光を吸収する性質を持つ海洋性藻類ミル類の持つ光合成アンテナ、シフォナキサンチン-クロロフィル蛋白(SCP)の単離精製に成功し、X線結晶構造解析を目指した三次元結晶化に着手している。大型海藻であるミル類の一種、モツレミルを、着床する前の種に相当する糸状体でクローン培養する事により、光照度を制御した生育条件に置ける大量培養方法を確立した [Oka et al. Carotenoid Science 17 (2012) 19-22]。その過程で、光照度を極めて強くした場合にのみモツレミルが全トランスネオキサンチンを蓄積する事を初めて見いだした。この培養糸状体の共鳴ラマンスペクトルの励起波長依存性を測定したところ、この全トランスネオキサンチンは蛋白質との相互作用が低い状態で存在していることが分かった。一方で、カルボニルカロテノイドのシフォナキサンチンが、SCPのルテインの結合部位に結合している事が強く示唆された[5.3 参照]。これは、FCPにおけるフコキサンチンの結合様式とは明らかに異なるもので、シフォナキサンチンはSCP蛋白質の疎水性部位奥深くに結合し、光合成アンテナ蛋白質の構成要素の一つとなる事が推測された。

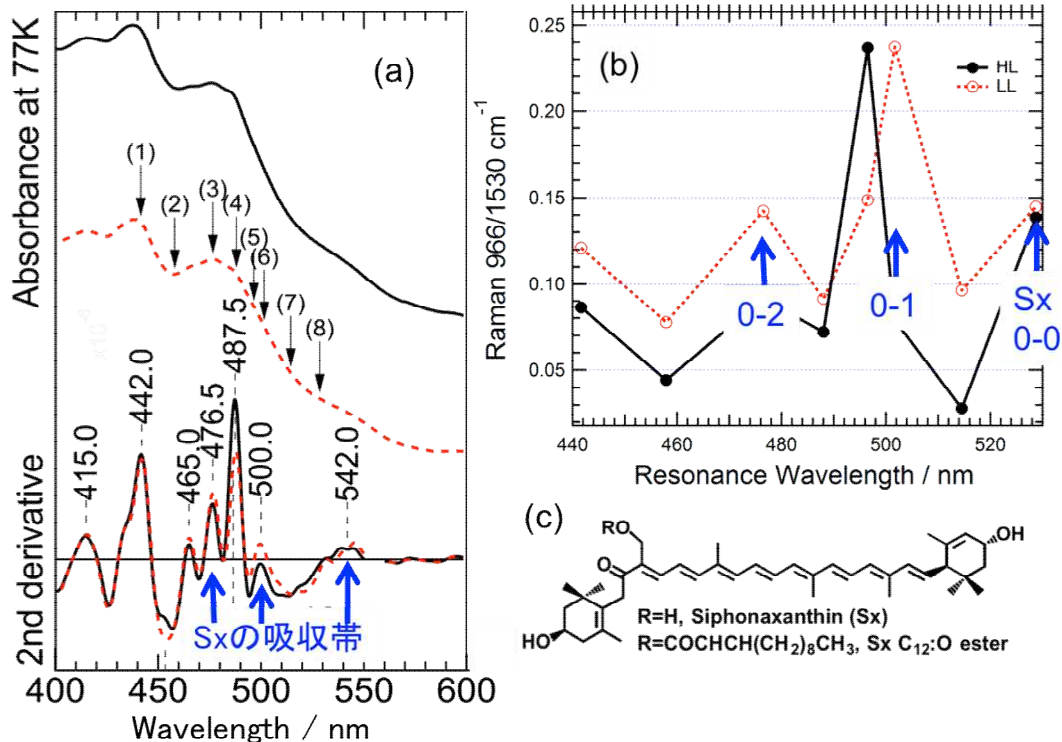


図3 (a)モツレミル系状体の77Kにおける吸収スペクトル及びその二次微分スペクトル、(b)カロテノイドの面外変角振動を示す μ ラマン線の励起波長依存性(高照度:黒実線、低照度:赤点線)、(c)シフォナキサンチンの化学構造式。これらにより帰属したシフォナキサンチン(Sx)の吸収帯(0-0、0-1、0-2遷移)を矢印で示した。SCP はルテインがシフォナキサンチンに置換され、LHCIIにおけるルテインと同様に、生体内における機能単位である三量体構造の要となっていることが示唆された。[文献 5. (1) 3 より改変]

遺伝子改変により、カルボニルカロテノイドを生合成し、蓄積するレタスの光合成能を評価した[5.5 参照 5; 一部未発表]。このレタスは赤褐色を呈し、チラコイド膜内だけでなく光合成タンパク質(光化学系II、光合成アンテナLHCII)にもカルボニルカロテノイドを結合している事を確認したが、これらが吸収帯を持つ緑色領域の光を光合成に利用する効率は高くなかった。LHCIIには、カルボニルカロテノイドの4-ケトアントラキサンチンが結合したが、ルテインの結合部位ではなく、ネオキササンチンとピオラキサンチンの結合部位を占めていることが示唆された。これらの結合部位ではカルボニルカロテノイドからクロロフィルへのエネルギー伝達が起きない事が示唆された。

3. 今後の展開

褐藻類オキナワモズクの光合成アンテナ FCP におけるフコキサンチンの吸収帯が少なくとも2種類あることがわかってきたが、これらの吸収帯とフコキサンチンの結合様式を関連づけた報告はまだない。しかしながら、高等植物 LHCII におけるルテインの結合部位を占める2分子が短波長側の吸収帯(green)、それ以外の分子が長波長側の吸収帯(red)を司るのではないかと推測されている。一方、研究を開始した緑藻類ミルの光合成アンテナ SCP においては、シ

フコキサンチンの結合部位が、高等植物の光合成アンテナ LHCII におけるルテインの結合部位を占める事を分光法で確認した。よって、この結合部位にカルボニルカロテノイドが結合しても緑色領域(red)に吸収帯を持つ事が可能である事が示唆される。一方、遺伝子改変レタスの LHCII に結合したカルボニルカロテノイド、4-ケトアントラキサンチンは、ビオラキサンチン及びネオキサンチン結合部位に結合しているが、クロロフィルへのエネルギー伝達は行っていない事より、FCP における残りのフコキサンチンの結合は、これらとは異なる事が示唆された。今後は、SCP の結晶成長を更に進めていく一方で、FCP そのものの結晶化スクリーニングも開始し、天然の光合成アンテナに結合する極性カロテノイドの構造に関する知見を増強していく。

現在進めている混合 LB 膜を完成させることで、配向と距離を系統的に制御したフコキサンチン複合凝集系を作り、分光法により電子励起状態を明らかにしていくことにより、会合による励起エネルギーの失活を押さえつつ分子間相互作用が強い状況で分子内電荷分離(ICT)状態が強まる最適構造を提示していく。これを通して、光合成アンテナの本質の理解を深めていく。

4. 評価

(1) 自己評価

(研究者)

<研究目的の達成状況>

天然の光合成アンテナ FCP に結合するフコキサンチンの励起状態及びエネルギー伝達に関する部分は達成でき、さらに「カルボニルカロテノイド」を結合し、「緑色の光を光合成に利用する」天然の光合成アンテナ SCP に関する知見を深めることができ、光合成アンテナとしての本質を明らかにするための知見を積み上げることができたと考えている。一方で人工的にフコキサンチンの複合凝集系を創成する試みでは、多孔質シリカを用いて安定性を上げ、さらに会合状態を制御することに成功したが、距離と配向を制御する手法である LB 膜については、問題点を浮き彫りにし、それを克服するアイデアまでは得られたが、期間内に完成することができなかった。そのため、全体としての達成状況は8割程度と考えている。

<研究の進め方(研究実施体制及び研究費執行状況)>

さきがけ研究期間中に所属機関内において身分の変更があり、独立した研究グループ運営を行うこととなったが、学生以外に研究員を雇用したことで十分な研究実施体制を敷く事ができた。

その後、自身のライフイベント(産休、育休)に伴って、さきがけ研究を1年間中断することとなったが、さきがけ研究の制度を活用して、残りの研究期間(半年)を中断後に再開、継続する事が可能となった。このために、その後の居室と研究室の移動、所属していた教授の転出に際しても、研究能力を維持できたと考えている。さきがけの受託研究費に関しては、予定外の大きな支出に関しては増額対応をして頂いたため、およそ計画通りの研究費執行ができたと考えている。

<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)>

人工光合成を行う上で希薄な光子密度の太陽光のうち、必要なエネルギーのみを集光し、適切に反応サイトに届ける光合成アンテナの役割については、未だ注目度が低いと考えてい

る。その要因の一つは、天然の光合成ではこの役割が極めて複雑な蛋白質間の連携を含むレギュレーションであり、未だ解明されていない事にあるといえる。国内外でもここ数年の間でこの光合成アンテナの示す複雑な役割を解明しようという動きが活発化している。天然の光合成からこの原理を学び、人工光合成へその原理を取り込むという流れは現在しかできないと考えられる。本研究の成果に付帯して、海洋藻類の大量培養、光合成蛋白質の大量調製、そして、無機材料への吸着による安定化、という技術を蓄積している。今後は、天然の光合成アンテナの示す統合的な光エネルギー調整機能の解明を目指した基礎研究を行い、その原理を一般へと発信していく。一方で、天然由来の光合成蛋白質／光合成色素を直接利用するサステナブルでリプレイサブルな光エネルギー変換キットとしての利用を生み出し、海洋藻類の食品以外の付加価値を生み出すことにより、日本で極めて盛んで歴史が深く、古くから日本語の文献が蓄積されており、日本独自の技術が高いと考えられる海藻の養殖業をボトムアップする潮流を生み出し、世界に通用する産業へと発展する事を目指している。そのための共同研究及び共同開発をする体制を整え始めているところである。

<その他領域独自の評価項目などに基づく自身の評価>

本領域では、領域内共同研究及びアウトリーチ活動の推進を奨励された。本研究課題を遂行する上で、領域内外で6件の共同研究を開始する事ができ、また研究協力や助言を得られる国内の研究者同士のつながりを作ることができた。また、アウトリーチ活動として企業向けの講演会を4件行い、一般向けとしてサイエンスカフェを開催し、シニア自然大学院の講師を務め、「光合成研究と人工光合成への展開」について理解を深め、問題提起をして考える機会を作る事ができた。

(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、1)自然を理解し、学ぶ、2)自然を真似る、改変する、3)自然を超える、などの科学的アプローチの中で、藤井博士は地球上の光合成活動で、30%以上の比率を占めるとされる海洋における光合成の理解を進める基礎研究として、限られた波長と限られた強度の太陽光捕集の機構解明に挑戦する意欲的な研究提案が採択された。藤井博士は特に水深10m以上でほぼ緑色光のみでも光合成活動に有効に利用し得る褐藻類に着目しそのフコキサンチンタンパク複合体(FCP)による光捕集機構の解明に取り組んでいる。既にさきがけ採択以前に解明しているフコキサンチン分子固有の有機溶媒中での電子励起状態、その動的挙動の理解を基礎に、さきがけ研究では、光合成系に組み込まれた生体組織でのFCPの動的挙動について超高速分光測定手法を駆使し、緑色光が極めて有効にクロロフィル分子にエネルギー移動することを見出した。また、新たに青緑色の光を吸収する性質を持つ海洋性緑藻の一種、ミル類の持つ光合成アンテナ、シフォナキサンチンクロロフィル蛋白(SCP)の単離精製に成功し、X線結晶構造解析を目指した三次元結晶化に着手している。また褐藻類(いわゆるモズク類)について企業と連携してその大量培養に取り組むなど応用展開研究にも尽力しておりその研究姿勢と研究努力は高く評価される。

5. 主な研究成果リスト

(1)論文(原著論文)発表

1. Daisuke Kosumi, Mamiko Kita, **Ritsuko Fujii**, Mitsuru Sugisaki, Naohiro Oka, Yuki Takaesu, Tomonori Taira, Masahiko Iha and Hideki Hashimoto, "Excitation Energy-Transfer Dynamics of Brown Algal Photosynthetic Antennas", *J. Phys. Chem. Lett.*, **3(18)**, 2012, 2659-2664.
2. Daisuke Kosumi, **Ritsuko Fujii**, Mitsuru Sugisaki, Naohiro Oka, Masahiko Iha, Hideki Hashimoto, "Characterization of the intramolecular transfer state of marine carotenoid fucoxanthin by femtosecond pump-probe spectroscopy", *Photosynthesis Res.*, **121**, 2014, 61-68.
3. Chiasa Uragami, Denise Galzerano, Andrew Gall, Yusuke Shigematsu, Maïwen Meisterhans, Naohiro Oka, Masahiko Iha, **Ritsuko Fujii**, Bruno Robert, and Hideki Hashimoto, "Light-dependent conformational change of neoxanthin in a siphonous green alga, *Codium intricatum*, revealed by Raman spectroscopy", *Photosynthesis Res.*, **121**, 2014, 69-77.
4. Shohei Kita, **Ritsuko Fujii**, Richard J. Cogdell, Hideki Hashimoto, "Characterization of Fucoxanthin Aggregates in Mesopores of Silica Gel: Electronic Absorption and Circular Dichroism Spectroscopies", *J. Photochem. Photobiol. A: Chemistry*, **313** (2015) 3-8.
5. **Ritsuko Fujii**, Nami Yamano, Hideki Hashimoto, Norihiko Misawa, and Kentaro Ifuku, "Photoprotection vs Photoinhibition of Photosystem II in Transplastomic Lettuce (*Lactuca sativa*) Dominantly Accumulating Astaxanthin", *Plant Cell Physiol.* (2015) doi:10.1093/pcp/pcv187

(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. **Ritsuko Fujii**, Yusuke Shigematsu, Naohiro Oka, Masahiko Iha, Hideki Hashimoto, "Structure of siphonaxanthin bound to the newly isolated photosynthetic antenna from a deep-sea green alga, *Codium intricatum*", 2013.3.4-6, 2012 OCARINA Annual International Meeting-Launch of the Artificial Photosynthesis Research Center-, Osaka, Japan, (Invited Oral)
2. Chiasa Uragami, Denise Galzerano, Andrew Gall, Yusuke Shigematsu, Maïwen Meisterhans, Naohiro Oka, Masahiko Iha, **Ritsuko Fujii**, Bruno Robert, and Hideki Hashimoto, "The Raman Spectroscopic Study on Siphonous Green Alga, *Codium intricatum*, Cultivated at Two Different Kinds of Light Condition", 2014.6.29-7.4, The 17th International Carotenoid Symposium, Park City, Utah, USA, Utah
3. Nami Yamano, **Ritsuko Fujii**, Kentaro Ifuku, Norihiko Misawa and Hideki Hashimoto, "Photosynthetic Pigments Bound to the Pigment-Protein Complexes in Astaxanthin Producing Lettuce", 2014.6.29-7.4, The 17th International Carotenoid Symposium, Park City, Utah, USA, Utah

4. Shohei Kita, Ritsuko Fujii, Hideki Hashimoto, "Construction of carotenoid semi-condensed system: A model of photosynthetic antenna", 2014/11/24-28, 2014 International Conference on Artificial Photosynthesis (ICARP2014), Awaji Yumebutai International Conference Center, Awaji City, Hyogo, Japan

<受賞>

第一回 大阪市立大学 女性研究者賞 特別賞[岡村賞] 受賞 2015年11月3日

<招待講演(企業向け)>

- 1) 藤井 律子, "褐藻類の光合成アンテナに結合した色素の構造と機能の解明", 2012/10/15, 人工光合成フォーラム 2012～夢の技術の事業化をめざす～ 第1回, 大阪産業創造館, 大阪 (招待講演)
- 2) 藤井 律子, "海洋性光合成生物の光捕獲戦略", 2013/8/29, 第2回人工光合成講演会, 新日鐵住金 RE/本館 A31・32 会議室, 富津 (招待講演)
- 3) 藤井 律子, "海洋の光合成における太陽光利用戦略", 2014/1/23, 新事業開発センター 講演会, 新日鐵住金化学 3F 会議室, 戸畑(北九州)(招待講演)
- 4) 藤井 律子, "海洋藻類に学ぶ太陽光集光の戦略", 2014/4/8, ライオン大学院講演会, ライオン株式会社 平井研究所プレゼンテーションルーム3, 平井(東京都) (招待講演)