

PRESS RELEASE (2023/11/10)

## 細胞膜酵素を用いた水素駆動型 CO<sub>2</sub>還元反応によるギ酸生成系の開発 ～細胞膜酵素による気体（水素と二酸化炭素）から液体水素キャリア（ギ酸）への変換反応～

### ポイント

- ① 二酸化炭素（CO<sub>2</sub>）の削減方法として細胞膜酵素による CO<sub>2</sub>の水素化反応システムを開発した。
- ② 細胞膜酵素による水素駆動型 CO<sub>2</sub>還元反応からの高効率なギ酸生成系の構築に世界で初めて成功した。
- ③ 酵素触媒を用いた常温・常圧での CO<sub>2</sub>還元反応は、カーボンニュートラルにも貢献できる。

### 概要

脱炭素社会の実現に向けた研究開発では、従来とは異なる常温常圧の低基質濃度の反応条件下でも高活性で安定な触媒を開発することが重要であります。特に、特殊な環境で生育するバクテリアの中には、常温常圧での反応において高活性と高安定性を持つ生体触媒（酵素）があるため、これまでの貴金属や有機溶媒を用いた高温・高圧反応のコストや環境負荷がある反応系を改変できることが期待されます。

本研究では、阿蘇くじゅう国立公園内の温泉から新規に単離した細菌 *Citrobacter sp. S77* 株の細胞膜から高活性と高安定性の水素酵素とギ酸脱水素酵素を発見し、両酵素の精製と特性解析に成功しました。両酵素の共通点である細胞膜局在性に着目し、カーボン担体と高分子ポリマーで細胞膜を固定化し、非貴金属酵素触媒による水素駆動型 CO<sub>2</sub>還元反応を構築することにより、常温・常圧反応条件下での高効率なギ酸生成系の開発に世界で初めて成功しました。本研究開発においての特徴は、生体の電子伝達と物質変換反応において根幹になる厚さ数ナノメートル（nm）の細胞膜（plasma membrane）の特性に着目し、膜表面の親水性と膜内面の疎水性の機能を、人工的なエネルギー変換デバイスの構築に生かした点です。固定化細胞膜を用いることで、常温・常圧条件下でこれまで開発された人工細胞膜触媒系と比べ、216倍以上の高活性でギ酸のみの生成に成功しました。

（図1）

本研究は九州大学カーボンニュートラル・エネルギー国際研究所（WPI-I<sup>2</sup>CNER）の尹基石准教授の研究グループおよび三井化学カーボンニュートラルエネルギー研究センター（MCI-CNRC）の Moniruzzaman Mohammad 学術研究員などによって実施したものです。

本研究は、細胞膜をカーボン担体と高分子ポリマーで固定化した高効率な CO<sub>2</sub>変換系の創成であり、今後その精製酵素系を用いたエネルギー変換システムの開発に役立つことが期待されます。

本成果は令和5年10月23日（金）（日本時間）に Elsevier の国際学術誌「Bioresource Technology」にオンライン掲載されました。

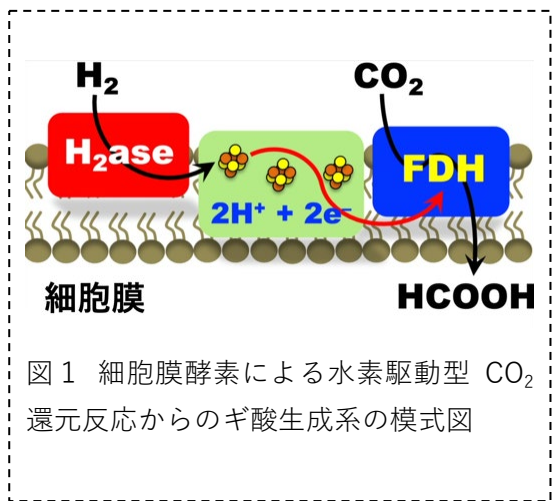


図1 細胞膜酵素による水素駆動型 CO<sub>2</sub>還元反応からのギ酸生成系の模式図

**研究者からひとこと：**我々は、白金触媒より 637 倍の優れた水素活性化を示す水素酵素を阿蘇くじゅう国立公園内の温泉から単離した新規細菌の *Citrobacter* sp. S77 株から発見しました。S77 株の細胞膜には、水素酵素とギ酸脱水素酵素が局在していることから、その細胞膜を固定化することで細胞膜の特性と機能を生かした水素駆動型 CO<sub>2</sub>還元反応からのエネルギー変換デバイスの構築に成功できると考えました。本研究開発は、ここに至るまでの基礎研究に貢献してくれた研究室の皆様の努力の産物であり、心より感謝を申し上げます。

### 【研究の背景と経緯】

化石資源の大量消費による CO<sub>2</sub> 濃度増加が地球温暖化に大きな影響を与えています。そのため、化石燃料に代わるクリーンエネルギー源の開発と、大気中の CO<sub>2</sub> 濃度の削減方法の研究開発が強く求められています。そこで、均一・不均一系触媒により CO<sub>2</sub> を炭化水素などの有用な物質へ変換する研究が精力的に行われています。しかし、高い反応効率を示す合成触媒は、貴金属や有機溶媒を用いる系が多く、コストや環境負荷への観点から問題点がありました。脱炭素社会の実現に向けた研究開発では、従来とは異なる常温常圧の低基質濃度の反応条件下でも高活性で安定な触媒を開発することが重要です。特に、特殊な環境で生育するバクテリアの中には、常温常圧での反応において高い活性と高い安定性を持つ生体触媒（酵素）を持つものがあります。そこで、我々は、これらの問題点を解決するため、酸素安定性と高い触媒活性を持つ新規酵素の開拓が鍵であると考えました。そして、阿蘇くじゅう国立公園の温泉から *Citrobacter* sp. S77 を単離しました。そこから、細胞膜結合型の金属酵素である[NiFe]ヒドロゲナーゼ (H<sub>2</sub>ase) と、[Mo]デヒドロゲナーゼ (FDH) の精製に成功し、両精製酵素が高い触媒反応性と酸素耐性を示すことを明らかにしました。また、新規[NiFe]ヒドロゲナーゼは、「固体高分子型燃料電池 (PEFC)の水素極触媒」として、白金触媒より 637 倍の優れた触媒性能を示すことを世界で初めて実証しました。我々は、両酵素が細胞膜局在性の共通点として活性中心のラージサブユニットは親水性の細胞表層空間に、電子伝達機能のスモールサブユニットは疎水性の細胞膜内に局在している特徴を有していることを見出しました。そこで、本研究では、生物のエネルギー変換反応の軸になる、厚さ数ナノメートルの細胞膜に着目しました。細胞膜は脂質二重層の構造を有し、生体の電子伝達と物質変換反応において根幹になる大変重要な場所です。その細胞膜は数十億年の進化によって組み立てられた最も精密な分子機械であり、非常に高い機能性や効率性を保った構造になっています。この多様な細胞膜の精密な分子機能を人工的に利用できれば、現在人類が掲げている環境やエネルギー問題に対して大きな解決をもたらす糸口をつかめると考えました。

### 【研究の内容と成果】

生細胞を用いた反応系では、細胞膜による基質透過性バリアがあるため、精製酵素と比較して触媒反応が低下します。しかし、単離細胞膜では細胞膜表面で直接反応できることから、高効率かつ選択的に触媒反応系の構築が可能となります。そこで、本研究開発では、細胞膜脂質二重層の特性である、膜表

面の親水性と膜内面の疎水性の機能を、人工的なエネルギー変換デバイスの構築に生かすことを考えました。そこで、細胞膜をカーボン担体と高分子ポリマーで固定化することで、 $H_2$  と  $CO_2$  からギ酸への変換を持続的に行うことができるシステムの開発を実現しました【図2】。固定化した細胞膜（多層カーボンナノチューブに担持し、ジェランガムをカルシウムイオンで架橋したヒドロゲルビーズ）は、少なくとも 10 回以上の再利用サイクルにおいてもその安定性を示しました。ギ酸は、常温で安定な水素キャリア(4.4 wt%, 52 kg  $H_2/m^3$ )であり、水素の貯蔵に適しています。産業的な観点から考えると、ギ酸は一酸化炭素の水和やギ酸メチルの加水分解など、強塩基の使用や水の除去が必要な多段階プロセスを経て合成されるため、よりクリーンな反応プロセスの開発が求められています。我々が開発した固定化細胞膜は、常温・常圧の反応条件下で、外部メディエーター無しの最適条件下で細胞膜タンパク質に対して  $1.22 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{g}_{\text{protein}}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$  のギ酸生成を達成し、これまで開発された人工細胞膜触媒と比べ、216 倍以上の高い触媒反応性でギ酸のみを生成することができます。固定化細胞膜酵素系を用いたガスの気体 ( $H_2$  と  $CO_2$ ) から液体のギ酸へのエネルギー変換系の構築に成功したのは、本研究が世界で初めての例となります。

#### 【今後の展開】

これまでの知見を基にアノード極には水素酵素を、カソード極にはギ酸脱水素を作製し、電極触媒反応による直接的なギ酸生成系の開発により実用性を高めます。

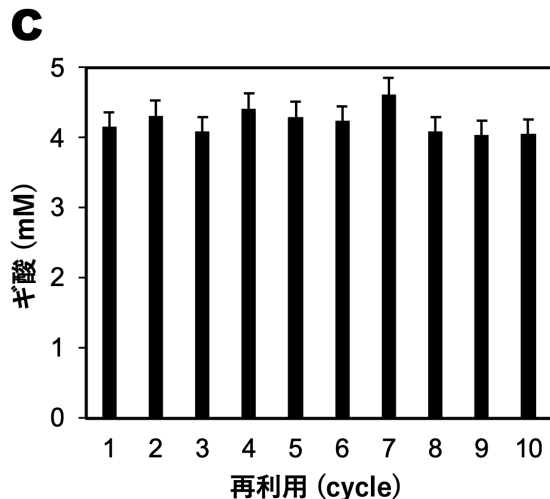
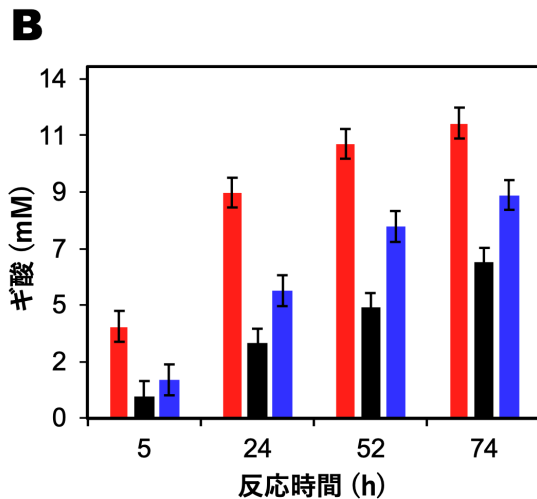
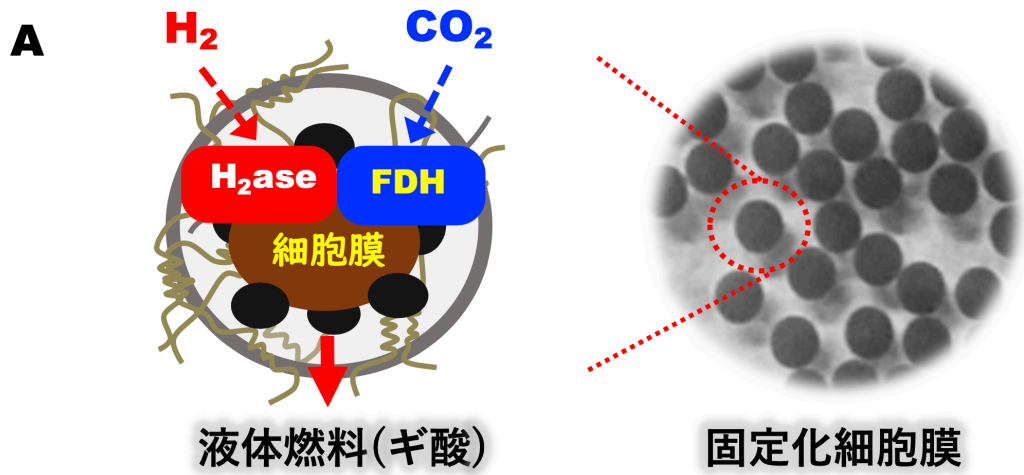


図 2 (A) 固定化細胞膜の模式図、(B) 反応時間経過による水素と CO<sub>2</sub> からのギ酸生成量の変化: 細胞膜 (赤)、ポリマーで固定化した細胞膜 (黒)、ポリマーとカーボン担体に固定化した細胞膜 (青)、(C) 固定化細胞膜の再利用サイクル: 1 気圧、30°C、0.4M リン酸緩衝液 (pH 7.0)、H<sub>2</sub>: CO<sub>2</sub> (60: 40、v/v %) の混合ガス条件下での 5 時間の触媒反応。

#### 【謝辞】

本研究は JSPS 科研費[23K17847 (尹基石)]および三井化学 (株) の個別事業 (共同研究) の研究開発 (尹基石) の助成を受けたものです。

#### 【用語解説】

##### (※1) 水素酵素 ([NiFe]ヒドロゲナーゼ)

水素酵素は活性中心に Ni (ニッケル) と Fe (鉄) 原子からなる金属酵素であり、水素分子の酸化および生成反応を行う生体触媒である。

##### (※2) ギ酸脱水素酵素 ([Mo]デヒドロゲナーゼ)

ギ酸脱水素酵素は、活性部位にセレノシステイン (SeCys)、モリブデン (Mo)、2つのモリブドプテリングアニンジヌクレオチド (MGD) 補因子、Fe<sub>4</sub>S<sub>4</sub> クラスターを含む金属酵素で、ギ酸の脱炭酸反応により電子とプロトンを生成する金属酵素である。そのギ酸脱水素酵素を水素酵素と組み合わせると、水素から発生した電子とプロトンを使って CO<sub>2</sub>還元反応によりギ酸に変換することができる。

### (※3) 細胞膜 (内膜: inner membrane, plasma membrane)

細胞膜は、膜表面の親水性と膜内面の疎水性のリン脂質の二重層構造によって構成されている厚さ数ナノメートル (6-10 nm) の生体膜で、生物の電子伝達と物質変換反応において根幹になる大変重要な場所である。

### (※4) ギ酸 (蟻酸) :

ギ酸はアリに含まれている化合物であることから蟻酸と命名されており、最も単純なカルボキシ基 (-COOH) を有するカルボン酸です。そのギ酸は、その酸化反応によって水素と二酸化炭素に分解する反応とその逆反応である気体の水素と CO<sub>2</sub> を液体のギ酸として貯蔵・運搬に適しているため有用な水素キャリアとして注目されている。

### (※5) 水素キャリア :

水素は、気体では体積当たりのエネルギー密度が大変低く、気体のままでの大規模な貯蔵・利用には安定性に問題があります。そこで、安定かつ効率的な貯蔵・運搬可能な液体、または個体の水素エネルギー貯蔵媒体に貯蔵する必要がある。

#### 【論文情報】

掲載誌 : Bioresource Technology

タイトル: H<sub>2</sub>-driven reduction of CO<sub>2</sub> to formate using bacterial plasma membranes

著者名 : Mohammad Moniruzzaman, Hung Khac Nguyen, Yu Kiyasu, Takumi Hirose, Yuya Handa, Taro Koide, Seiji Ogo, and Ki-Seok Yoon\*

D O I : <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.129921>

#### 【お問合せ先】

<研究に関すること>

カーボンニュートラル・エネルギー国際研究所(WPI-I<sup>2</sup>CNER) 尹 基石 (ユン キセキ)

准教授

TEL : 092-802-6688 FAX : 092-802-6688

Mail : [yoon@i2cner.kyushu-u.ac.jp](mailto:yoon@i2cner.kyushu-u.ac.jp)

<報道に関すること>

九州大学 広報室

TEL : 092-802-2130 FAX : 092-802-2139

Mail : [koho@jimu.kyushu-u.ac.jp](mailto:koho@jimu.kyushu-u.ac.jp)