

光合成反応中心複合体を使用した
光電池に関する基礎的研究

2001年1月

松本清治

光合成反応中心複合体を使用した光電池に関する基礎的研究

概要および要旨

本学位論文は、第1章 緒言、第2章 ヒドロキノンチオール修飾金電極上への光合成反応中心の固定化、第3章 チトクロム c_2, c' の ITO 電極上におけるボルタンメトリー、第4章 光合成反応中心とチトクロム c_2 を使用した光電池の試作、の4章より成り立っている。また、第2章は主論文1として、第3章は主論文2として、第4章は主論文3として刊行された、あるいは刊行予定にある論文に対応している。

本学位論文の要旨は以下の通りである。

昨今の地球環境問題の深刻さに鑑み、化石燃料に頼らないエネルギーシステムを構築することが緊急の課題となってきた。私達も、植物や光合成細菌の持つ効率の良い光電変換機能を利用して光電池を構成し、太陽エネルギーの有効利用を図ろうと、研究を続けてきた。そして、金電極表面に hydroquinone-2-thiol を修飾した電極を反応中心懸濁液中に浸漬することで、比較的効果的にアノード光電流が発生することを数年前に見出した。しかしながら、発生した光電流は予期したものよりはかなり小さく、光電流発生系の改良が望まれていた。その原因を種々検討した結果、反応中心粒子を電極表面に配向固定化することで、原因の幾らかは解消できるものと考え、次のような実験を行った。

金電極表面上に吸着した hydroquinone-2-thiol と反応中心との間に働く親和力を利用して、金電極上に反応中心を配向を制御しつつ、固定化することを試みた。金電極に吸着した hydroquinone-2-thiol を予備酸化し、ubiquinone B を欠いた反応中心を使用することによって、固定化された反応中心によるこれまでで最も大きなアノード光応答が得られた。この結果は、粒子の中の空の Q_B -部位と *p*-benzoquinone-2-thiol の間で親和力が増すことによって反応中心粒子の配向度が増大したことを示している。このアノード光応答は、電解液にチトクロム c_2 を添加することによって5時間（ターンオーバー数で 2,500）以上まで引き伸ばされた。

このようにして、光応答可能な電極は製作できたけれども、電池を構成するもう一

方の電極（対極）にも解決すべき問題点がある。すなわち、光電池であることから出来ればどちらか一方の極は光透過性の電極であること、光アノードへの電子供与体であるチトクロム c_2 が可逆的に電極反応できること、等の条件がある。これらの条件に適うものとして、1 M HNO_3 や幾つかの界面活性剤で表面の親水性を高めた indium tin oxide (ITO)電極を開発した。この電極上でチトクロム c_2 と c' は準可逆的 1 電子酸化還元応答を示し、その酸化還元電位はそれぞれ +310 mV, -15 mV vs. NHE となった。また、チトクロム c_2 の酸化還元は電極の親水性をわずかに高めることで観察できるようになったけれども、チトクロム c' のそれは高い親水性の電極表面でのみ観察可能であった。

光電池製作上の問題点の幾つか解消することが出来たので、前記の二つの電極、すなわち、光合成反応中心を固定化した *p*-benzoquinone-2-thiol 修飾金電極と表面を親水化処理した ITO 電極をチトクロム c_2 溶液に挿入することにより、光ガルバニ電池を生体内電子移動機構を模して構成することが出来た。反応中心固定化金電極は光照射に応じてその電位を卑にシフトし、その値は照射光量に依存した。また、光電池の短絡光電流は 40 nA、開路光電圧は 5 mV となった。

現時点で得られた電池特性ではただちに実用化することは出来ないが、生物の電子移動の機能を模倣した光電池を製作する事が出来たことにより、今後より効率の良い合成色素の開発、物質輸送の改善等により実用化への道が開かれるものと期待できる。

目 次

第1章	緒 言	1
第2章	ヒドロキノンチオール修飾金電極上への光合成反応中心の固定化	8
第3章	チトクロム c_2 , c' の ITO 電極上におけるボルタンメトリー	32
第4章	光合成反応中心とチトクロム c_2 を使用した光電池の試作	39
	謝辞	47
	研究業績	48

第1章 緒言

古く 1973 年に起こった第一次石油ショックは、石油が現在の生活水準を維持する基本的な資源であることを私達に教えてくれた。不幸なことに、現代文明を根底から支えている石油は近い将来には必ず枯渇する運命にあるし、枯渇しないまでも、今日のようにエネルギー源として大量使用するのではなく、原材料として有効な利用が図られるべきであろう。このような情勢にあつて、エネルギー資源としての石油に代わるものとして、水素が脚光を浴びるようになった。水素は水の形で地球上に大量に存在しており、これを何らかの方法で単体として取り出し得れば、今後のエネルギー資源としての必要条件である無公害でリサイクルでき、エネルギー密度が高いという条件を満足し、しかもいろいろなエネルギー形態への変換が容易であるという点から、次世代のエネルギー源として期待されている。しかしながら、どのような方法を採用にしろ水素の製造過程は吸熱的であり、製造には多量の電力を必要とする。

この多量のエネルギー需要を賄うものとして、太陽エネルギーの利用が再認識されるようになって久しい。太陽の持つエネルギーは莫大なもので、地球上のあらゆる生命活動は太陽エネルギーの恩恵を受けて成り立っている。このエネルギー量は当然、地域により、あるいは気象状況により左右されるけれども、日本のような中緯度地帯にあつては大まかに言って、私達が 1 年間に使用する全エネルギー量の 300 倍にもものぼる。このような膨大な量のエネルギー、特にこれまで利用されることが少なかった太陽光を利用する発電方法が幾つか提案されてきた。^{1,2)} その中でも、技術的に最も実用可能性の高いものがシリコン等の半導体を利用する、いわゆる太陽電池であるが、製造コストの高さ、電力への変換効率の点で難がある、とされている。この難点を解消する試みとして、色素増感型太陽電池（光ガルバニ電池とか Gratzel Cell と呼ばれている）に関する報告も Gratzel らによる系統的な報告³⁾ばかりでなく、各所から為されている⁴⁾が、種々の難点があり、未だ実用化には程遠い。

一方、目を自然界に向けてみると、植物は太陽光を非常に巧妙に利用して炭酸同化作用といわれる物質生産を効率良く行っている。植物の持つこの光合成能力の最も初期の部分では、クロロフィルが太陽の光を吸収して自己の持つ電子を他の分子に渡す、

いわゆる光電変換素子としてほぼ 100 %の変換効率で機能している。したがって、このクロロフィルあるいはクロロフィルを含む細胞内小器官であるクロロプラストを電極基材に修飾すれば、光電変換効率は光増感作用により著しく向上するはずである。しかしながら、これらの分子あるいは小器官は非常に不安定で、光電変換作用は持続せず、したがって、これらが何らかの方法で安定化されない限り実用には供し得ない。

光合成細菌の光合成器官であるクロマトフォアはクロロプラストに比べて構造も簡単であり、その光誘起電子移動活性も調製後比較的長期間に渉り持続する。⁵⁾ また、これらの生体成分は、高分子マトリックスに包埋する、固体表面に修飾する、等の処理により、活性の持続期間を延伸することが出来る。したがって、クロロプラストに代えてクロマトフォアを電極基材に修飾すれば、生体成分を光電変換素子とするに際しての幾つかの困難さは解消されるはずである。このように考えて、私達は光合成細菌 *Rhodospirillum rubrum* のクロマトフォアを変換素子として使用することとし、クロマトフォアと電極との間で光に応答した電子の授受が可能かどうかについて先ず検討した。^{6, 7)}

クロマトフォア懸濁液中に挿入した白金電極を定電位分極下に光照射すると、カソード光電流が観測された。しかし、この電極はアノード分極下では殆ど光応答を示さなかった。カソード光電流作用スペクトルは 600, 800, 875 nm に極大値を示し、クロマトフォア懸濁液の吸収スペクトルとよく一致した。観測されたカソード光電流値は分極電位に依存し、-500 mV vs. NHE までその絶対値は増加した。また、光電流値は二つの極大を示した。これらの結果から、白金電極上で観測されたカソード光電流はクロマトフォアの光励起に起因して生じ、電極からクロマトフォアへの電子移動は ubiquinone 10 と、多分、反応中心 bacteriochlorophyll を介して行われているものと予想した。クロマトフォアによるカソード光電流は、懸濁液中に 1-methoxy-5-methylphenazinium methyl sulfate を添加すると大きく増加し、増加した光電流値は入射光強度、電極電位、クロマトフォア濃度、添加試薬濃度に依存して変化した。しかし、光電流作用スペクトルの極大波長は無添加の場合と同じであった。これらの結果から、添加した 1-methoxy-5-methylphenazinium methyl sulfate は電極とクロマトフォア間の電子メディエーターとして機能していると判断した。

このようなクロマトフォアの光電気化学的挙動の検討は、当初、クロロプラストのそれとの対比、⁸⁾ および水の間接的光分解（水素生産）への指向から、アノード光電流の発生を目標としたものであったが、金属電極上ではアノード光電流は観測できなかった。この原因として、金属電極からクロマトフォアへの逆電子移動が、アノード分極下においてさえ、同時に生じていることが考えられた。そこで、逆電子移動を防ぐ目的で n 型半導体である酸化スズ電極を使用して、アノード分極下でのクロマトフォアの光電気化学的挙動を検討した。⁹⁾

クロマトフォア懸濁液に酸化スズ電極を挿入して、アノード分極下に照射してもアノード光電流は観測されなかった。この原因はクロマトフォア単独の使用では電子供与体が無い事にあると判断し、懸濁液中にアスコルビン酸を添加したところ微少ながらアノード光電流が発生した。このアノード光電流は系に再び 1-methoxy-5-methylphenazinium methyl sulfate を添加すると増強された。このとき観測されたアノード光電流の発生機構について、光電流作用スペクトル、光電流の電極電位依存性、アルギン酸膜中に包埋したクロマトフォアを使用する光電流測定などの諸実験に基づき考察を加え、光アノード電流はクロマトフォア中で光励起した bacteriochlorophyll からの電子が酸化スズ電極に移行することにより生じ、アスコルビン酸により光酸化された bacteriochlorophyll が再還元されることで持続すると予想した。

こうして、クロマトフォア懸濁液中で酸化スズ電極を使用することによりアノード光電流を、白金電極を使用することによりカソード光電流を発生させることが出来たので、この 2 枚の電極により光電池を構成した。¹⁰⁾ しかし、光起電力は 60 mV、短絡光電流は 500 nA と出力も小さく、光電池としての持続時間も 30 分程度と短いものであった。この原因として、クロマトフォアを含む電気活物質の物質輸送が困難であること、および、連続光の照射によりクロマトフォアの電子伝達活性が著しく低下すること、が考えられたので、*Rhodospirillum rubrum* の生菌体を変換素子として使用することを試みた。^{11,12)}

Rhodospirillum rubrum の生菌体懸濁液中に酸化スズ電極を挿入し、定電位分極下に照射すると、アノード光電流が観測でき、このアノード光電流は methylviologen の

添加で増幅されることがすでに私達のグループにより報告されていた。¹³⁾ そこで、より大きな増幅度を示す試薬を検索すべく、methylviologen 類縁体を系中に添加して光電流の増幅の割合を検討した。しかし、methylviologen 以上の増幅度を示す試薬は見あたらず、1,1'-ethylene-2,2'-bipyridinium dibromide の添加では光電流値は逆に減少した。これらの試薬は程度の差こそあれ、電極と菌体との間の電子メディエーターとして機能することもこれらの実験を通して明らかとなったが、同時に行った分光光度法によるこれらの試薬の菌体による光還元速度の測定では、後者の方が圧倒的に速く還元されるという結果が得られた。この矛盾した結果は、サイクリックボルタンメトリーによる懸濁液中でのこれらの試薬濃度の変遷の測定から、試薬の膜透過能の違いによるものと判断した。アノード光電流は、また、細菌を光照射下に培養しながらでも観測することが可能であり、廃水処理と組み合わせて光電池を構成できる可能性も示唆されたが、その絶対値は小さいものだった。

結局のところ、どのような光電池を構成するにせよ、物質輸送の困難さから大きな電力を継続的に得ることは悲観視せざるを得ない状況となった。また、当初のクロマトフォアを使用した光電流測定で反応中心 bacteriochlorophyll の関与の仕方も未解決のまま残されていた。これらのことから、光合成反応中心複合体を使用した光電流測定、および、物質輸送の困難さという制約から逃れるべく、本学位論文の主旨である光合成反応中心の電極への固定化の検討、といった課題に転進し、先ず、原点に立ち返り、反応中心懸濁液に白金電極を挿入し、光電流測定を行った。^{14,15)}

この電極は、定電位分極下光照射すると、クロマトフォアの場合と同様にカソード光電流を発生した。光電流値は分極電位-500 mV vs. NHE まで電位に依存して増加した。光電流値は、また、反応中心濃度、照射光強度に依存した。これらの依存関係の類似から、クロマトフォアで観測された二種類の光電流の内の一つは、予想通り反応中心に起因していることが明らかとなった。光電流作用スペクトルには 600, 800, 850 nm に極大があり、これは反応中心 bacteriochlorophyll の吸収極大に一致した。したがって、反応中心によるカソード光電流は、光酸化により生じた反応中心 bacteriochlorophyll カチオンへ電極より電子が注入されることにより生じると予想した。反応中心によるカソード光電流は、再び、系中に 1-methoxy-5-methylphenazinium methyl

sulfate を添加することにより増幅された．この試薬の役割も検討され，電極と bacteriochlorophyll カチオンとの間の電子メディエーターとして機能しているものと判断した．

近年，チオール基を有する種々の化合物が金や銀電極表面に強固に吸着し，特異な電極反応場を提供することが明らかにされてきた．例えば，真核生物のチトクロム c は通常の金属電極上では酸化還元反応を行い得ないが，チオール基とカルボキシル基を有するいわゆる二官能性化合物を電極表面に修飾すると，可逆的酸化還元反応が観測できるようになる．¹⁶⁾ これは，これらの化合物が電極表面にチオール基を介して強固に結合し，チトクロムの電極への不可逆的吸着を阻害すること，もう一つの官能基であるカルボキシル基とチトクロムのヘムクレバス周辺のリジン残基との静電的相互作用によるチトクロム分子の配向度が上昇すること，によるためとされている．一方，クロマトフォアの場合と同様，反応中心を使用しても白金電極上では非常に小さなアノード光電流しか観測できなかった．そこで，チトクロム分子の場合と同様に，表面吸着分子との相互作用を利用して反応中心を電極に固定化する事も視野に入れて，hydroquinone-2-thiol を表面に修飾した金電極を使用して反応中心による光電流の発生を検討した．¹⁷⁾

反応中心懸濁液に hydroquinone-2-thiol を表面に修飾した金電極を挿入し，定電位分極下光照射すると，パルス状に瞬間的に流れるアノード光電流が微少な継続的アノード光電流に重なって観測された．種々の実験から，パルス状のアノード光電流は電極表面に存在する hydroquinone 分子との何らかの相互作用により電極上に固定化された反応中心粒子により，永続的なそれは拡散により電極表面に到達した反応中心により発生しているものと予想した．また，系中にアスコルビン酸を添加することで，パルス状の光電流は連続的な光電流へと変化し，その大きさも約 3 倍となった．

このように，電極上に固定化された反応中心によると考えられるアノード光電流が観測できたため，この光電流の発生機構の解明，反応中心の効果的な固定化条件の検討を目的として，種々の実験を計画した．本学位論文では，その検討の詳細について述べる．

参考文献

- 1) 撰 達夫, *Biomedica*, **3**, 402 (1988).
- 2) P. Weaver, S. Lien, and M. Seibert, "Photobiological Production of Hydrogen – A Solar Energy Conversion Option" SERI/TR-33-122, Golden, Colorado (1979).
- 3) 総説を挙げれば, A. Hagfeldt and M. Gratzel, *Chem. Rev.*, **95**, 49 (1995).
- 4) ごく最近の報告を例示すれば, K. Hara, T. Horiguchi, T. Kinoshita, K. Sayama, H. Sugihara, and H. Arakawa, *Chem. Lett.*, **2000**, 316; W. Zhu, H. Tian, E. Gao, M. Yang, and K. Mullen, *Chem. Lett.*, **2000**, 778.
- 5) T. Erabi, H. Hiura, M. Hayashi, M. Yamada, T. Endo, J. Yamashita, M. Tanaka, and T. Horio, *Chem. Lett.*, **1978**, 341.
- 6) T. Erabi, K. Matsumoto, N. Takahashi, K. Hirata, and M. Wada, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **64**, 1487 (1991).
- 7) T. Erabi, K. Matsumoto, H. Itoh, N. Takahashi, K. Nishimura, and M. Wada, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **60**, 3805 (1987).
- 8) H. Ochiai, H. Shibata, Y. Sawa, and T. Katoh, *Photochem. Photobiol.*, **35**, 149 (1982).
- 9) 撰 達夫, 加藤康明, 山下芳温, 松本清治, 西村(平田)久美子, 和田正徳, *日化誌*, **1988**, 1163.
- 10) T. Erabi, T. Sengoku, K. Nishimura, and M. Wada, *Chem. Express*, **2**, 455 (1987).
- 11) T. Erabi, H. Yuasa, K. Matsumoto, M. Moriuchi, H. Ohnishi, K. Hirata, and M. Wada, *Chem. Express*, **4**, 467 (1989).
- 12) T. Erabi, K. Matsumoto, T. Okamoto, M. Moriuchi, T. Ikeda, Y. Yokoyama, S. Hayase, and M. Wada, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **68**, 1545 (1995).
- 13) T. Erabi, T. Okamoto, K. Nishimura, and M. Wada, *Chem. Express*, **2**, 25 (1987).
- 14) T. Erabi, K. Matsumoto, H. Itoh, N. Takahashi, K. Fujimura, S. Hayase, and M. Wada, *Chem. Express*, **8**, 649 (1993).
- 15) T. Erabi, K. Matsumoto, H. Itoh, N. Takahashi, K. Fujimura, S. Hayase, and M. Wada, *Denki Kagaku*, **65**, 26 (1997).

- 16) P. M. Allen, H. A. O. Hill, and N. J. Walton, *J. Electroanal. Chem.*, **178**, 69 (1984); 総説を挙げれば, I. Taniguchi, *Interface*, **6(4)**, 34 (1997).
- 17) T. Erabi, K. Matsumoto, K. Fujimura, K. Nomura, and M. Wada, *Denki Kagaku*, **65**, 673 (1997).

第2章 ヒドロキノンチオール修飾金電極上への 光合成反応中心の固定化

2.1 緒言

NO_x や SO_x による大気汚染, および CO_2 の大量放出のような重大な環境問題を考慮すれば, 化石燃料の使用は制限されなければならない. 水を分解する植物の光合成を利用した太陽エネルギー変換の概念は今では新しくはないけれども, 将来増大するエネルギー需要に応えるためにも太陽エネルギー利用技術の開発が依然として必要である. 光合成の初期過程は太陽エネルギーを最も効率的に化学エネルギーに変換するため, この光合成過程を改良すれば, ことによると, 太陽エネルギー変換技術の基礎として使い得る可能性がある.¹⁾ この点を指向して多くの研究²⁾がなされ, 太陽エネルギー変換プロジェクトとしてのみにとどまらず, 光合成初期過程の機構解明とも結びついて, 光活性な生物成分を光電池に使用できる可能性が示された.

私達のグループでも, 光合成反応中心懸濁液に浸した白金電極の光電気化学的挙動を研究してきた.³⁾ その結果, 定電位分極下光照射することにより, カソード光電流を観察する事は出来たけれども, アノード光電流は陽分極下においてさえ無視し得るほどの大きさでしか観察されなかった. しばらく後になって, 私達は最初に, hydroquinone-2-thiol を金電極表面に修飾することによって, 反応中心懸濁液中でアノード光応答を観察することに成功した.⁴⁾ しかし, 観測されたアノード光電流は期待したよりもはるかに小さいものだった. 反応中心複合体の x 線結晶構造解析⁵⁾から, 反応中心粒子はほとんど球形であり, 平均的な直径は 6 nm であることが判っている. したがって, もし電極への電子伝達部位が, そのような大きな球形の粒子の一隅にあると仮定すると, その構造異方性の故にアノード光電流の大きさが予想よりも小さくなって不思議ではない. 事実, bacteriochlorophyll1, bacteriopheophytin, ubiquinone 10 などの電子伝達成分の機能部位は, 反応中心粒子に強固に結合している. それ故, 電極と反応中心粒子の間の電子の交換を考慮する時に, それらの位置というものが重要になってくる. このようにアノード光応答が小さいのは, Fig. 2-1(a)に例示するように, 反応中心粒子の構造異方性によって, 反応中心から電極への電子伝達が効果的に進行

しないためと考えられる。従って、アノード光電流を大きくするには、反応中心粒子を、Fig. 2-1(b)に示すように、電極表面に分子レベルで配向させることが要求される。Langmuir-Blodgett 製膜技術や avidin-biotin の親和力を利用した結合方法が、反応中心の薄膜を作るために試みられた。^{6,7)} しかし、それらの試みは、秩序だつた粒子の組織化の困難さと崇だかい avidin の使用による蛋白質間電子移動の阻害により、成功には程遠い結果となった。反応中心粒子のなかの最終電子受容体として知られている ubiquinone B は、有機溶媒または界面活性剤で反応中心を処理することによって、光合成初期過程の光活性は多少阻害されるけれども、容易に粒子から抽出することができる。⁸⁾ 加えて、その時抑制された電子伝達活性は、ubiquinone を欠いた反応中心に本来の ubiquinone 10 または他の人工的な quinone 類を再構成することによってある程度まで回復させることができた。私達は、反応中心粒子の空の Q_B-部位と電極表面の hydroquinone-2-thiol との間の結合親和力によって、ubiquinone B を抽出した反応中心を、表面修飾された金電極上に固定化し、陽分極下でアノード光電流を増幅することができたので、ここに報告する。

2.2 実験方法

光合成細菌 *Rhodospirillum rubrum* のカロチノイド欠損株 (G-9) を本研究を通じてずっと使用した。以前に述べられた⁹⁾ように、その細菌をタングステンランプの照明の下、30 °C で3日間嫌氣的に培養した。細胞内に存在する光合成器官 (クロマトフォア) は、光照射下に培養された細胞から超音波処理、さらに遠心分画によって調製した。¹⁰⁾ 反応中心複合体は、Vadeboncoeur らによる方法¹¹⁾をわずかに改良した方法によって、*N,N*-dimethyldodecylamine *N*-oxide (LDAO)を用いて精製した。こうして調製した反応中心は、0.025 % LDAO を含む 0.1 M (M = mol/dm³) tris(hydroxymethyl)methanamine (Tris)緩衝液 (pH 7.5)に最終的に懸濁し、4 °Cの暗所に保存した。この調製品は、280 nm に対する 802 nm の吸光度比が 1.30 であり、高い純度を示していた。この純度は SDS-PAGE の結果により再確認された。それによると、L-, M-, および H-サブユニットに帰属されるバンド以外には目に付くようなバンドは見られなかった。今後この調製品を native RC と呼ぶ。反応中心懸濁液の濃度は、結

合 bacteriochlorophyll の吸収である 802 nm における吸光度 (A_{802} ; $A_{802} = 1$ は bacteriochlorophyll の 3.47 μM に相当する¹²⁾) で表す. ubiquinone B を抽出した反応中心の空の Q_B -部位と金電極上の hydroquinone-2-thiol の 結合親和力を増大させるために, ubiquinone B を, Gimenez-Gallego らの方法¹³⁾ をわずかに改良した方法で, native RC から抽出した. このようにして得られた ubiquinone B を抽出した反応中心もまた, 同じ緩衝液中に懸濁した. これを Q-depleted RC と呼ぶ. 反応中心粒子中の ubiquinone 10 の含量は HPLC によって定量した. その結果, 1.85 - 1.89 分子の ubiquinone 10 (すなわち, 1 分子の ubiquinone A とほぼ 1 分子の ubiquinone B) が native RC 粒子に存在することが明らかになった. 一方, Q-depleted RC 粒子中には 1.14 - 1.17 分子の ubiquinone 10 (すなわち, 1 分子の ubiquinone A と抽出しきれなかった ubiquinone B) が存在した. これらの値は, 最低でも 15 % の native RC 粒子が Q-depleted RC 調製品中に残っていることを意味している. また, 約 10 % の Q-depleted RC 粒子が, native RC のなかにもともと存在している事も意味している.

hydroquinone-2-thiol は文献¹⁴⁾に従って合成した. 金電極 (表面積 $1 \times 3 \text{ cm}^2$) の修飾は, 10 mM のメタノール溶液に 10 分間浸すことによって thiol 基を化学吸着させ, 続いて, 大過剰のメタノールで洗うことによって行った. 修飾された hydroquinone-2-thiol の酸化還元電位は, Tris 緩衝液 (pH 7.5) 中で, 標準水素電極に対し +220 mV であると決定された. hydroquinone-2-thiol は, その自動酸化性のために, 金電極表面上に酸化型と還元型の混合物として吸着されていると考えられる. したがって, もし必要ならば hydroquinone-2-thiol で修飾された金電極を, 修飾されたキノンを完全に酸化または還元するために, Tris 緩衝液 (pH 7.5) 中で対水素電極基準 +400 または +50 mV で予備電解した. その後, 反応中心懸濁液 ($A_{802} = 1$) に浸漬することによって hydroquinone-2-thiol 修飾金電極に native RC または Q-depleted RC を固定化し, 引き続き, ゆっくりと, 大量の緩衝液で洗浄した.

光路長 0.4 mm の光電流測定用電解槽¹⁵⁾は, 反応中心が固定化された動作極, 白金板対極, および Ag/AgCl 参照極より出来ている. なお, この報告に載せている電位の全ては, 便宜上, 標準水素電極 (NHE) に対する値に補正した. 定電位電解には, 北斗電工製ポテンシオスタット HA-501 を用い, 生じた電流は理化電機製記録計

RW-21Tにより記録した。光電流は、25 °Cの Tris 緩衝液中、暗所において任意の電位で分極を行った後に、光照射することによって測定した。光源として、60 W タングステンランプを用い、熱の影響を取り除くために、通常、厚さ 12 cm の水フィルターを組み込んだ。光電流作用スペクトルを測定するためには、500 W キセノンアーク灯 (Wacom 製 MX-500) を光源として、カットオフフィルター (UV-39 または VR-69) を装着した回折格子分光器 (JASCO 製 CT-25N) と組み合わせて使用した。溶存酸素は溶液を 30 分間アルゴンでバブリングすることによって取り除いた。

2.3 結果と考察

反応中心を固定化した金電極を使用して得られた典型的な電流-時間曲線を、Fig. 2-2 の c と d に示す。比較のために反応中心懸濁液に浸漬した金電極で得られた a と b の曲線⁴⁾も共に示す。なお、光照射直後の電流の増加を、過渡的光電流の値として、そして Fig. 2-2 の挿入図に示した黒い陰の部分のアノード光電流の電気量として採った。前に述べたように、⁴⁾ 非常に小さな継続的なアノード光電流が、陽分極下、native RC 懸濁液に浸した無処理の金電極上で観察された (曲線 a)。一方、反応中心懸濁液中に浸漬した hydroquinone-2-thiol 修飾電極では、光源のオンオフに応じてパルス状のアノードおよびカソード光電流がその小さなアノード光電流の上に重って観察された (曲線 b)。最近、Hirata と Miyake¹⁶⁾ は、空の Q_B-部位と quinonyl 基の間に働く固有の親和力によって *Rhodopseudomonas viridis* から精製した Q-depleted RC が quinonylphospholipid, N-[12-(3-chloro-1,4-naphthoquinon-2-ylamino)dodecyl]dipalmitoyl-L- α -phosphatidylethanolamine, の Langmuir-Blodgett フィルムへ結合する事を報告した。その中で、反応中心 bacteriochlorophyll から menaquinone (Q_A) を経て quinonyl 基への光励起電子移動を生じることが示唆された。加えて先の私達の報告⁴⁾で、過渡的な光電流の発生は、反応中心粒子と電極に修飾された hydroquinone 分子の間の親和力によって電極表面へ反応中心粒子が吸着されることによって生じているように考えられた事から、native あるいは Q-depleted RC 懸濁液に hydroquinone-2-thiol 修飾金電極を浸漬することによって反応中心を固定化した電極を作成した。これらの電極を使用することによって、過渡

的なアノードおよびカソード光電流が光源の点滅に応じて再び発生した(曲線 c と d). Q-depleted RC によって発生したこれらのパルスは急速に減衰した(曲線 d) のに対して, native RC による過渡的な光電流は, 曲線 d と比べて非常にゆっくりと減衰した(曲線 c). Q-depleted RC による過渡的なアノード光電流は, 反応中心懸濁液中で観察されたものより約 1.6 倍大きくなった. 一個の反応中心粒子は, 光照射に応じて反応中心 bacteriochlorophyll からただ 1 個の電子を ubiquinone B へ移動することが出来る.¹⁷⁾ そして, 結果として生じた酸化型 bacteriochlorophyll が, もう一度光励起電子移動を行うためには, その反応の前に再び還元されなければならない. 今回観察した光のオンオフに応じた過渡的なアノードおよびカソード光電流の発生という独特な光応答は, 反応中心粒子がたった一回の荷電分離しか行えないという事に起因していると思われる. 加えて, 懸濁液中で観察されたような小さな継続的なアノード光電流も消失せずに残っていて(曲線 c と d), native RC によるそれは, Q-depleted RC によるものよりも大きかった. 反応中心を固定化していない hydroquinone-2-thiol 修飾金電極を同じ分極条件のもとで光照射すると, 光電流の値は非常に小さかったけれども, 連続的な光電流が発生した(データは示していない). *p*-benzoquinonethiol (酸化型の hydroquinone-2-thiol) のメタノール溶液は, 435 nm に吸収極大を, 約 580 nm に吸収端を示した. さらに, hydroquinone-2-thiol 修飾電極による光電流は, R-65 カットオフフィルターを光路に挿入することによって観察されなくなった. 従って, その光電流発生機構の詳細は現段階では明らかではないけれども, ほとんど無視してよいほどの小さな光電流(継続的な光電流の一部)の発生は, 電極上の *p*-benzoquinonethiol によって生じたものと考えられる. そして, その残りは, 電極上の hydroquinone-2-thiol 分子との親和力によるのではなく, ただ単に物理的に吸着している反応中心粒子の回転などによる構造変化に基づく遅い電子移動過程に起因しているように思われる.

固定化された反応中心の量は, Fig. 2-3(a)に示すように, 約 60 分まで浸漬時間の増加と共に増大した. 光照射に伴い, 反応中心の一粒子から電極に一電子だけ移動すると仮定して, 過渡的な光電流の電気量から Q-depleted RC の固定化量を見積もると, 最大値として 2.1×10^{12} 個/cm² という値が得られた. この数値は最近報告されたものより約 4 倍大きかった.¹⁶⁾ 金電極に吸着した hydroquinone-2-thiol の量は, 5.2×10^{10}

mol/cm²であると以前に私達は報告した。⁴⁾ この結果は、hydroquinone-2-thiol 分子の占有面積が 0.32 nm²である事を意味していて、以前に報告された値¹⁸⁾とよく一致していた。また、反応中心粒子の占有面積は、同様にして 48 nm²と計算されるため、一つの反応中心粒子は、吸着された hydroquinone-2-thiol 150 分子の上に固定化されていることになる。この数値は、反応中心粒子が最密充填されたとして算出した値より約 2 倍大きかった。さらに、Q-depleted RC によるアノード光応答に対する電気量は、Fig. 2-3(a)に示されるように native RC によるものより約 1.2 倍大きくなった。この結果は次の二つの理由のうちのいずれかによることを示唆している。第一は、Q-depleted RC 粒子の配向度が、電極上の hydroquinone-2-thiol 分子と空になっている反応中心粒子中の Q_B-部位との親和力によって、native RC より高くなっている。第二は、固定化された Q-depleted RC 粒子の数が、反応中心粒子と hydroquinone-2-thiol 分子の間の親和力の向上のために増大した。

上で述べたように、Q-depleted RC による過渡的なアノード光電流は、急速に減衰した(Fig. 2-2(d))。それに対して、native RC による光電流はよりゆっくりと減衰している(Fig. 2-2(c))。加えて、光照射に対応して一つの反応中心粒子は、ただ一つの電子を電極へ運ぶことが出来る。¹⁷⁾ したがって、パルス状の光電流の発生は、電極に配向固定化された反応中心から電極への速い電子移動により生じたのに対して、native RC を使用したとき観察された光電流の遅い減衰は、電極上での粒子の回転のような遅い構造変化に引き続いて電子移動が生じているためだと思われる。私達は、光照射に対応した電流増加と緩和曲線 (Fig. 2-2 の挿入図参照) への接線とで囲まれた部分から、電気量を評価したので、native RC で観察されるような遅い緩和を伴う光応答に対する電気量には、物理的に吸着した粒子からのゆっくりとした電子移動の寄与分を含んでいることを意味している。従って、反応中心粒子の配向度を正確に評価するためには、Q-depleted RC と native RC による過渡的な光電流を比較する必要がある。Fig. 2-3(b)には、浸漬時間と (電気量の代わりに) 過渡的なアノード光電流との関係を示している。Q-depleted RC による過渡的な光電流の値は約 40 分まで浸漬時間の増加とともに増加した。しかし、native RC による過渡的な光電流は、浸漬時間のごく最初の間だけ増加し、その後はほぼ一定に保たれた。さらに、Q-depleted RC による過渡的なアノード光電流は、

native RC によるものの約 2.2 倍大きくなった。換言すれば、これらの結果は、反応中心粒子の固定化の初期段階においてさえも、Q-depleted RC では、反応中心粒子から電極への速い電子移動を可能にするように固定化された反応中心粒子の数が増加していることを示している。すなわち、これらの結果は、固定化された反応中心の絶対数の増加というよりもむしろ Q-depleted RC 粒子の配向度が増したことを示している。

もし、光合成の初期過程の間に反応中心 bacteriochlorophyll 二量体（いわゆる Special Pair あるいは P870）から放出される電子が非常に速く電極に移動するなら、光電流作用スペクトルは反応中心懸濁液の吸収スペクトルと一致するはずである。非常に弱い光強度（ $1 - 10 \text{ J/m}^2 \text{ s}$ ）の下で測定した光電流作用スペクトルは、反応中心懸濁液の吸収スペクトルとかなりよく一致し、600（小さい光電流値）、800（最も大きい光電流値）、および 850 nm（大きい光電流値）に極大値が現れた（Fig. 2-4）。これらの結果は、容易に予想されるように、光照射に応じて過渡的アノード光電流を発生させるために、P870 から bacteriochlorophyll モノマー、bacteriopheophytin、および ubiquinone A を経て¹⁹⁾ 吸着した *p*-benzoquinonethiol に電子が移動していることを示している。

Fig. 2-5(a)には、電極電位と過渡的光電流値との関係を示している。光電流は、+200 mV から +450 mV までの陽分極によって得られた。光電流の大きさは、電位が +300 mV までは増加し、その後減少した。Fig. 2-5(b)に上で述べた反応中心粒子内での電子の流れを示す。P870 の酸化還元電位は、+450 mV であると決定されている。²⁰⁾ したがって、過渡的光電流が +500 mV より卑な領域でしか観測されなかったという結果は、P870 が電極で直接電解酸化されていることに起因している。さらに、電極に吸着している hydroquinone-2-thiol の酸化還元電位は、pH 7.5 で +220 mV であった。したがって、過渡的光電流は +150 mV より卑な領域では発生しないことになる。その領域では、吸着している hydroquinone-2-thiol は電極でほとんど還元され、反応中心粒子からの電子を余分に受け取ることができないからである。

過渡的光電流値はまた、溶液の pH に依存し、中性付近の pH で極大を示した（Fig. 2-6(a)）。*Rhodobacter sphaeroides* から精製した反応中心の中の ubiquinone A から B への電子移動速度 (k_{AB}) は、pH 5 と 8 の間では本質的に pH に対して独立であるけれども、Glu-L212 の脱プロトン化に起因して、pH 8 以上では減少したことが報告されてい

る。²¹⁾ したがって、アルカリ性領域での過渡的光電流の減少も、同じ現象に起因しているのかもしれない。一方、酸性領域での減少は、吸着された hydroquinone-2-thiol の酸化還元電位の変化から説明されそうに思える。吸着状態の hydroquinone-2-thiol の酸化還元電位は、pH の低下と共に -59 mV/pH の傾きで直線的に増加した（具体的なデータはここに示していない）。光電流は、pH に無関係に電位 +300 mV で測定したので、この電位では quinonethiol は pH 5 以下でほとんど完全に還元されていて、ubiquinone A（または、もし存在するのなら ubiquinone B）から電極への電子移動 (k_{AE} または k_{BE}) は妨害されるだろう。（Fig. 2-6(b)）これが、過渡的光電流が約 pH 5 以下で発生しなかった理由と考えられる。

加えて、照度と Q-depleted RC による過渡的光電流値との関係も検討した。光電流値は、照度を約 6,000 lx まで増加させたのに伴って増加し、ある一定値に達した。一方、native RC による光電流値は弱い光強度領域でのみ増加し、10,000 lx までほぼ一定に保たれた。（Fig. 2-7(b)）また、Fig. 2-7(a) に示すように、どちらの反応中心を使用しても電気量は照度約 6,000 lx まで増大した。すなわち、固定化された反応中心の量は、どちらに対してもほとんど同じであるように見える。換言すれば、native RC による過渡的光電流値は、速い電子移動を可能にするように固定化された反応中心粒子が少ないことから、すぐに光飽和したため、強光下では一定になったと考えられる。一方、Q-depleted RC 固定化電極では、強い照度領域に達するまで光飽和が見られなかった。この結果は、速い電子移動を可能にするように配置された粒子の数が native RC に比べて増加していることを示している。すなわち、これらの結果もまた、Q-depleted RC 粒子の配向度が増している事を示唆している。

さらに、Q-depleted RC による光応答に対する電気量は、Table 2-1 に示すように、反応中心粒子を固定化する前に hydroquinone-2-thiol 修飾電極を +400 mV で予備電解するほうが、未処理の場合より約 50 % 大きくなった。逆に、+50 mV で予備電解すると、電気量は約 45 % に減少した。これも Table 2-1 において示すように、native RC を使用した場合そのような傾向は見られなかった。酸化型の ubiquinone B は、反応中心粒子の Q_B -部位と水素結合を形成することにより、還元型よりもより強固に結合することが報告されている。²²⁾ これらの結果は、また、空の Q_B -部位が、光電流を増幅するの

に何らかの役割を果たしていることを示している。すなわち、反応中心粒子の Q_B -部位と金電極に修飾された *p*-benzoquinonethiol 分子の間の結合親和力が予備電解酸化により増すことで、Q-depleted RC 粒子の配向度が高くなっていると考えられる。もしそうなら、 Q_B -部位は、Fig. 2-1(b)に模式的に示したように、反応中心粒子の内部に埋もれた状態で存在するため、比較的長い mercaptoalkyl 鎖を持つ quinonyl 化合物を使用することによって反応中心粒子がより強固に固定化されるだろうと予想できる。私達は、金電極に 2-(2'-mercaptoethylamino)-*p*-benzoquinone を修飾し、その後さらにその電極へ Q-depleted RC 粒子を固定化することを試みた。しかし、この電極では Q-depleted RC による光電流はほとんど観察されなかった。この理由は現時点では明らかでない。

native RC への本来の電子供与体が還元型の cytochrome c_2 であること、そして、光酸化された bacteriochlorophyll が還元型 cytochrome c_2 によって再還元される事により native RC における光励起電子移動反応が継続することがよく知られている。²³⁾ さらに、cytochrome c_2 は、通常の金属電極上では速い電子移動を行うことができなかったことをすでに報告²⁴⁾している。これらの点を勘案して、大過剰の還元型 cytochrome c_2 (200 μ M)を電解液に添加した。その時、継続的なアノード光電流が、Fig. 2-2 の曲線 e に示すように、過渡的光電流とほぼ同じ大きさで 5 時間に涉って観察された。アノード光電流値、および、その電気量を Table 2-2 にまとめた。これらの結果は、固定化された反応中心が繰り返し 2,500 回以上電子移動を行うことができることを示している。

結論として、固定化された反応中心による最も大きなアノード光応答が Q-depleted RC の使用と金電極に吸着した hydroquinone-2-thiol を予備酸化することによって得られた。この結果は、反応中心粒子の配向度が粒子の空の Q_B -部位と金電極表面に修飾された *p*-benzoquinonethiol の結合親和力によって増大していることを示している。このアノード光応答は、電解液に cytochrome c_2 を添加することによって、5 時間以上 (ターンオーバー数 2,500) に涉って観測された。

参考文献

- 1) P. Weaver, S. Lien, and M. Seibert, "Photobiological Production of Hydrogen. A Solar Energy Conversion Option", SERI/TR-33-122 (1979).

- 2) For example: on use of purple membrane, Y. Saga, T. Watanabe, K. Koyama, and T. Miyasaka, *Chem. Lett.*, **1998**, 961; on use of reaction center complexes, D. C. Goetze and R. Carpentier, *Photochem. Photobiol.*, **52**, 1057 (1990); T. Ikeda, M. Senda, T. Shiraishi, M. Takahashi, and K. Asada, *Chem. Lett.*, **1989**, 913; S. Lemieux and R. Carpentier, *Photochem. Photobiol.*, **48**, 115 (1988); E. Yu. Katz and A. A. Solovev, *Anal. Chim. Acta*, **266**, 97 (1992) .
- 3) T. Erabi, K. Matsumoto, H. Itoh, N. Takahashi, K. Fujimura, S. Hayase, and M. Wada, *Denki Kagaku*, **65**, 26 (1997) .
- 4) T. Erabi, K. Matsumoto, K. Fujimura, K. Nomura, and M. Wada, *Denki Kagaku*, **65**, 673 (1997) .
- 5) J. Deisenhofer, O. Epp, K. Miki, R. Huber, and H. Michel, *J. Mol. Biol.*, **180**, 385 (1984); J. P. Allen, G. Feher, T. O. Yeates, H. Komiya, and D. C. Rees, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **84**, 5730 (1987).
- 6) Y. Yasuda, H. Sugino, H. Toyotama, Y. Hirata, M. Hara, and J. Miyake, *Bioelectrochem. Bioenerg.*, **34**, 135 (1994).
- 7) M. Hara, T. Majima, J. Miyake, S. Ajiki, H. Sugino, H. Toyotama, and S. Kawamura, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **32**, 544 (1990).
- 8) R. J. Cogdell, D. C. Brune, and R. K. Clayton, *FEBS Lett.*, **45**, 344 (1974).
- 9) T. Horio, K. Nishikawa, M. Katsumata, and J. Yamashita, *Biochim. Biophys. Acta*, **94**, 371 (1965).
- 10) N. Nishi, M. Kataoka, G. Soe, T. Kakuno, T. Ueki, J. Yamashita, and T. Horio, *J. Biochem.*, **86**, 1211 (1979).
- 11) C. Vadeboncoeur, H. Noel, L. Poirier, Y. Cloutier, and G. Gingras, *Biochemistry*, **18**, 4301 (1979).
- 12) S. C. Straley, W. W. Parson, D. C. Mauzeall, and R. K. Clayton, *Biochim. Biophys. Acta*, **305**, 597 (1973).
- 13) G. Gimenez-Gallego, M. P. Ramirez-Ponce, P. Lauzurica, and J. M. Ramirez, *Eur. J. Biochem.*, **121**, 343 (1982).

- 14) W. Alcalay, *Helv. Chim. Acta*, **30**, 578 (1947).
- 15) T. Erabi, K. Matsumoto, H. Itoh, N. Takahashi, K. Nishimura, and M. Wada, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **60**, 3805 (1987).
- 16) Y. Hirata and J. Miyake, *Thin Solid Films*, **244**, 865 (1994).
- 17) R. K. Clayton, "*The Photosynthetic Bacteria*", ed by R. K. Clayton and W. R. Sistrom, Plenum Press, New York (1978), p.387.
- 18) B. G. Bravo, S. L. Mechelhaugh, and M. P. Soriaga, *J. Electroanal. Chem.*, **241**, 199 (1988).
- 19) G. Feher and M. Y. Okamura, p. 349 in Ref. 17.
- 20) S. Okayama, T. Kakuno, and T. Horio, *J. Biochem.*, **68**, 19 (1970).
- 21) E. Takahashi and C. A. Wraight, *Biochemistry*, **31**, 855 (1992).
- 22) M. Y. Okamura, R. A. Isaasson, and G. Feher, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **72**, 3491 (1975); O. Epp, J. Deisenhofer, K. Miki, R. Huber, and H. Michel, *Nature*, **318**, 618 (1985).
- 23) R. G. Bartsch, p. 263 in Ref. 17.
- 24) T. Erabi, H. Yuasa, K. Hirata, and M. Wada, *Chem. Express*, **4**, 809 (1989).

Table 2-1 Estimation of transient anodic photocurrent and quantity of electricity by reaction center complexes immobilized on hydroquinonethiol-modified gold electrode.

RC	transient anodic photocurrent (nA/cm ²)	quantity of electricity (μC/cm ²)
native	18	0.193
native* ¹	19	0.192
native . * ²	16	0.199
Q-depleted	39	0.233
Q-depleted . * ¹	54	0.343
Q-depleted . * ²	15	0.104

A hydroquinonethiol-modified electrode was pre-electrolyzed in a Tris buffer (pH 7.5) at either +400 . *¹ or +50*² . mV before immobilizing RC . s in order to oxidize or reduce completely the modified quinonethiol.

Table 2-2 Estimation of transient anodic photocurrent and quantity of electricity by Q-depleted RC.s in the absence or presence of an electron donor.

electron donor	transient anodic photocurrent (nA/cm ²)	quantity of electricity (μC/cm ²)
none	36	0.235
cytochrome c ₂ (200 μM)	35	598.2

Fig. 2-1 Schematic representation for immobilization of native (a) or Q-depleted (b) RC onto a hydroquinonethiol-modified gold electrode.

A reaction center particle consists of three subunits, labeled as L, M, and H. An electron is ejected, in response to illumination, from a reaction center bacteriochlorophyll dimer (so-called P870, which is shown as the small open ellipse, , in the figure) to the terminal electron acceptor, ubiquinone B (also shown as the shadowed circle, , in the figure). Although the electron must be transferred from the reduced ubiquinone B to an electrode in order to generate the anodic photocurrent, its efficiency is very low due to such a structural anisotropy (a). So, the reaction center particles should be oriented at a particle level on the electrode surface as shown in Fig. (b). Ubiquinone B can be easily extracted from the particles (the resulting vacant site is named as the vacant Q_B-site, shown as the open circle, , in the figure), and some artificial quinones can be reconstituted to the vacant Q_B-site. We will examine the oriented immobilization of the reaction center particles onto a hydroquinonethiol-modified gold electrode through a binding affinity, as shown in Fig. (b).

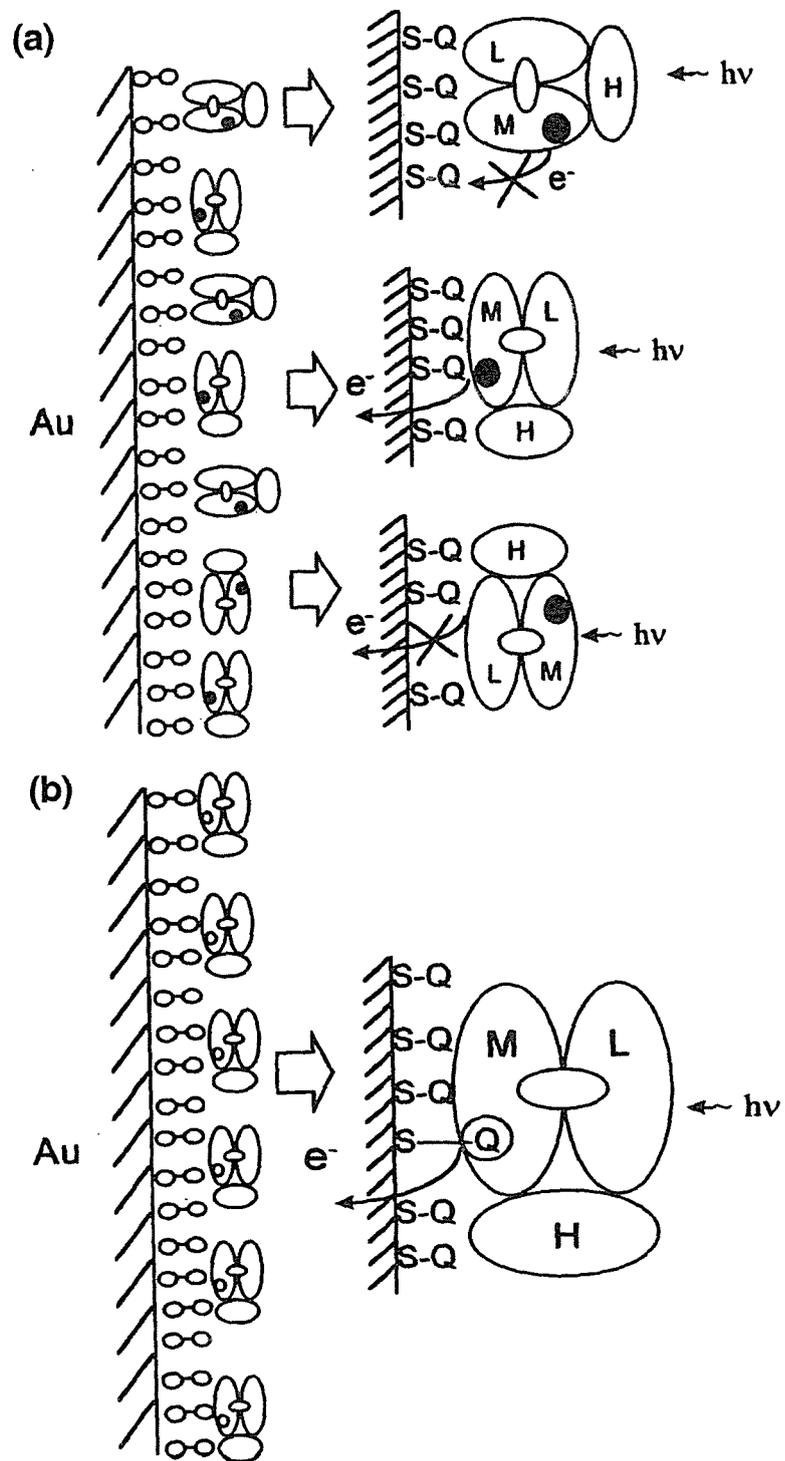


Fig. 2-2 Typical current-time profiles for the photocurrent generation by reaction centers.

The photocurrent was measured at +300 mV of applied potential, 6,000 lx of illuminance, and 7.5 of the solution pH; (a) at the naked gold electrode in the native RC suspension ($A_{802} = 1$), (b) at the hydroquinonethiol-modified gold electrode in the native RC suspension ($A_{802} = 1$), (c) at the native RC-immobilized gold electrode (60 min. of dipping time), (d) at the Q-depleted RC-immobilized gold electrode (60 min. of dipping time), and (e) at the Q-depleted RC-immobilized gold electrode in the presence of 200 μM of the reduced form of cytochrome c_2 .

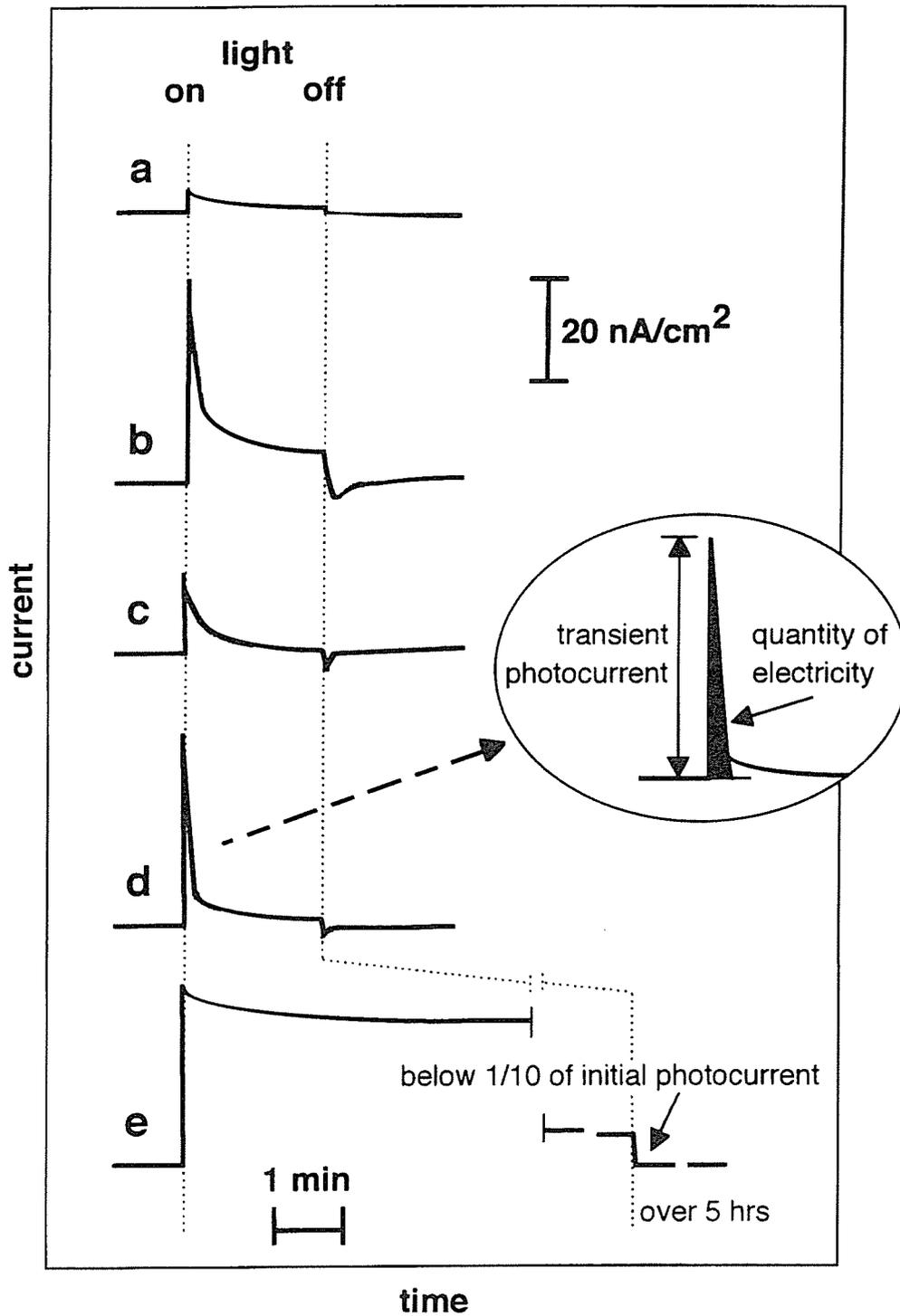


Fig. 2-3 Dependence of quantity of electricity for the anodic photoresponse (a) and transient photocurrent (b) on dipping time into reaction center suspension.

A hydroquinonethiol-modified gold electrode was dipped into native (●) or Q-depleted (○) RC suspension ($A_{802} = 1$). The other experimental conditions were the same as those in Fig. 2.

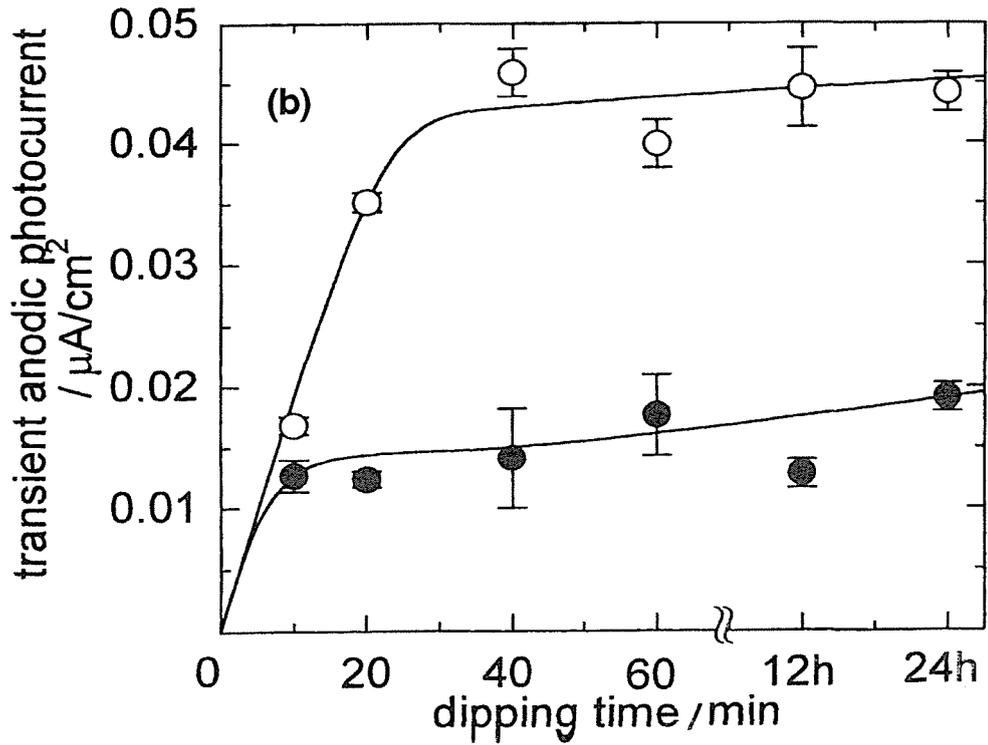
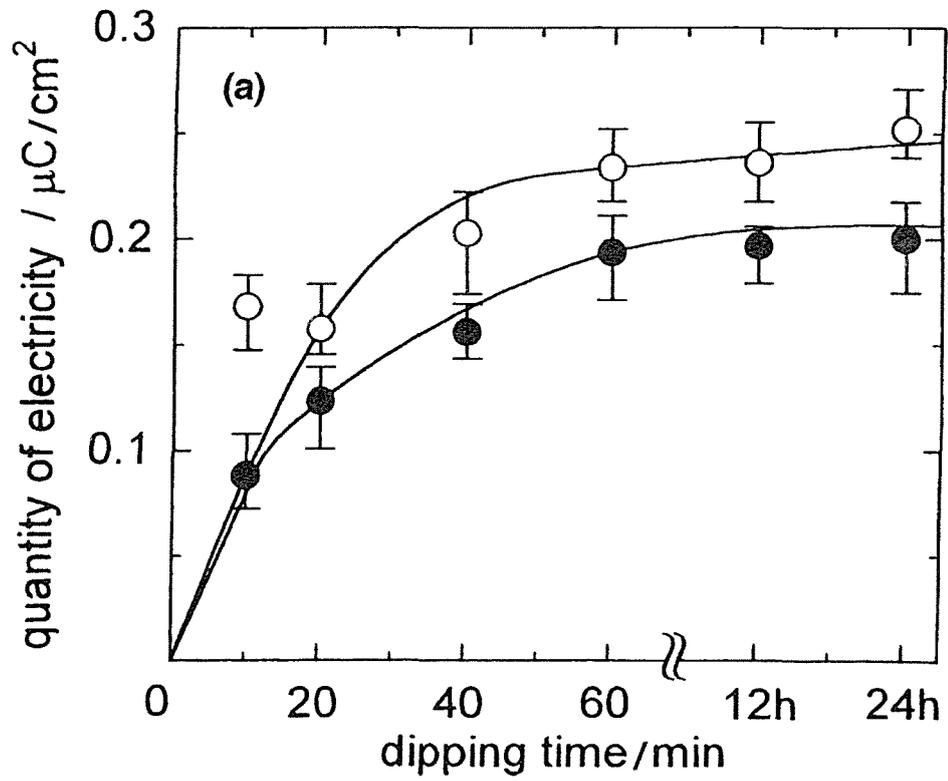


Fig. 2-4 Transient anodic photocurrent action spectrum by the Q-depleted RC immobilized on the hydroquinonethiol-modified gold electrode.

The dotted line shows the absorption spectrum of the Q-depleted RC suspension. The experimental conditions were the same as those in Fig. 2, except that the monochromatic light was illuminated at a low light intensity. The similar action spectrum was obtained using a native RC, although the values of photocurrent were somewhat smaller.

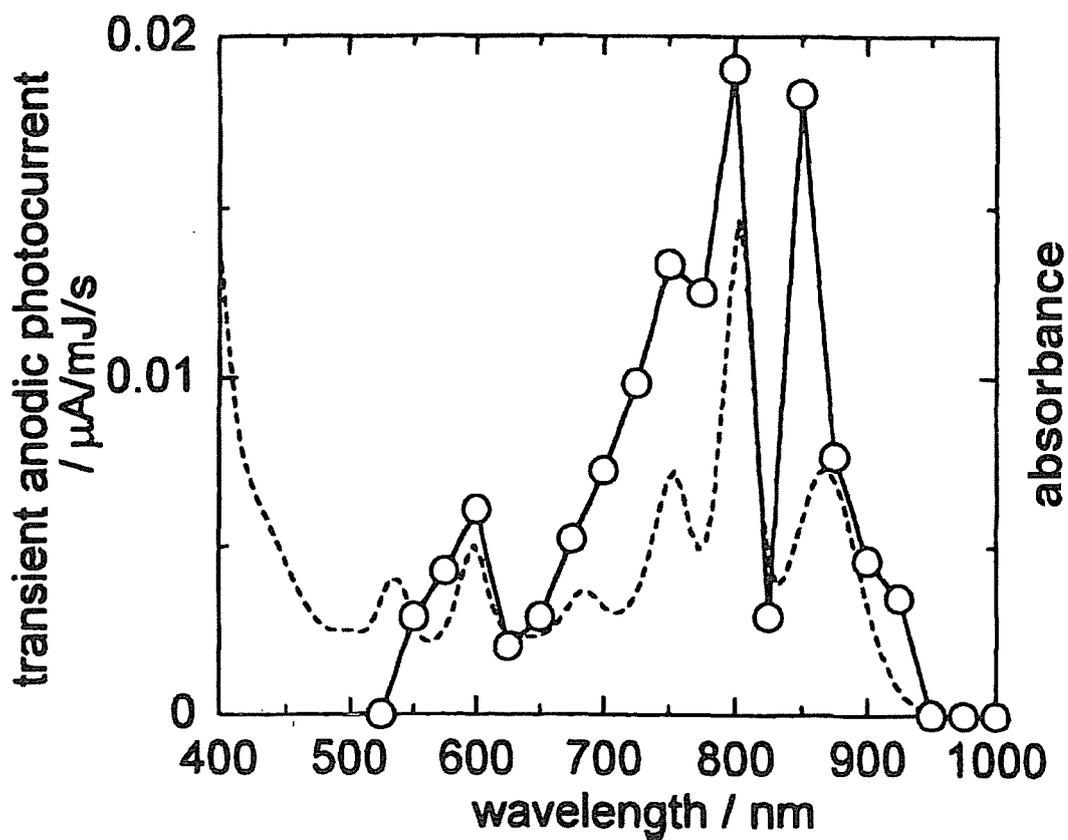


Fig. 2-5 Dependence of transient photocurrent on applied potential (a), and schematic representation for relationship of the redox potentials of electron transfer components in the reaction centers to the applied potential (b).

Symbols, ● and ○, represent the values of photocurrent by native and Q-depleted RC's, respectively. The experimental conditions were the same as those in Fig. 2, except that the applied potential was varied. Abbreviations in the Fig. (b) are as follows: (BChl)₂, reaction center bacteriochlorophyll dimer (P870); BChl, bacteriochlorophyll monomer; Bphe, bacteriopheophytin; UQ_A, ubiquinone A; UQ_B, ubiquinone B if present; S-Q, hydroquinone-2-thiol.

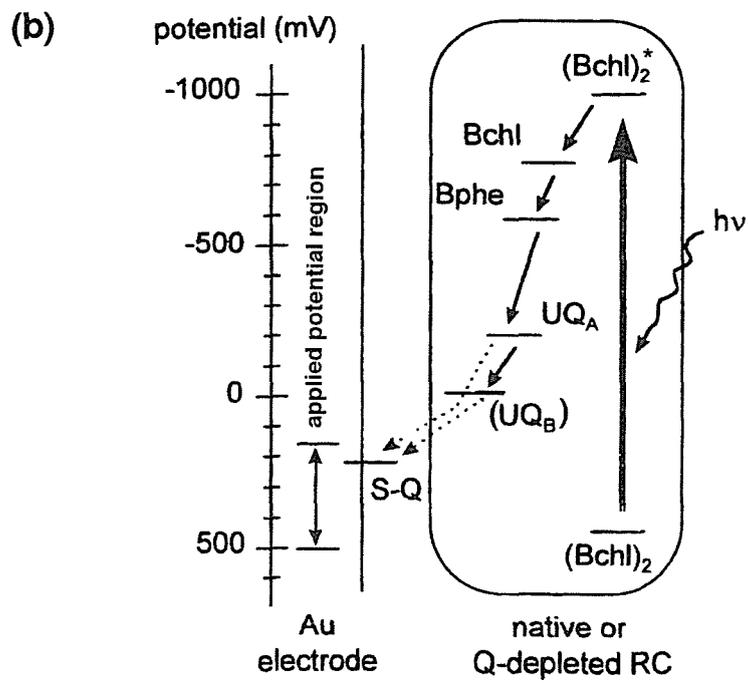
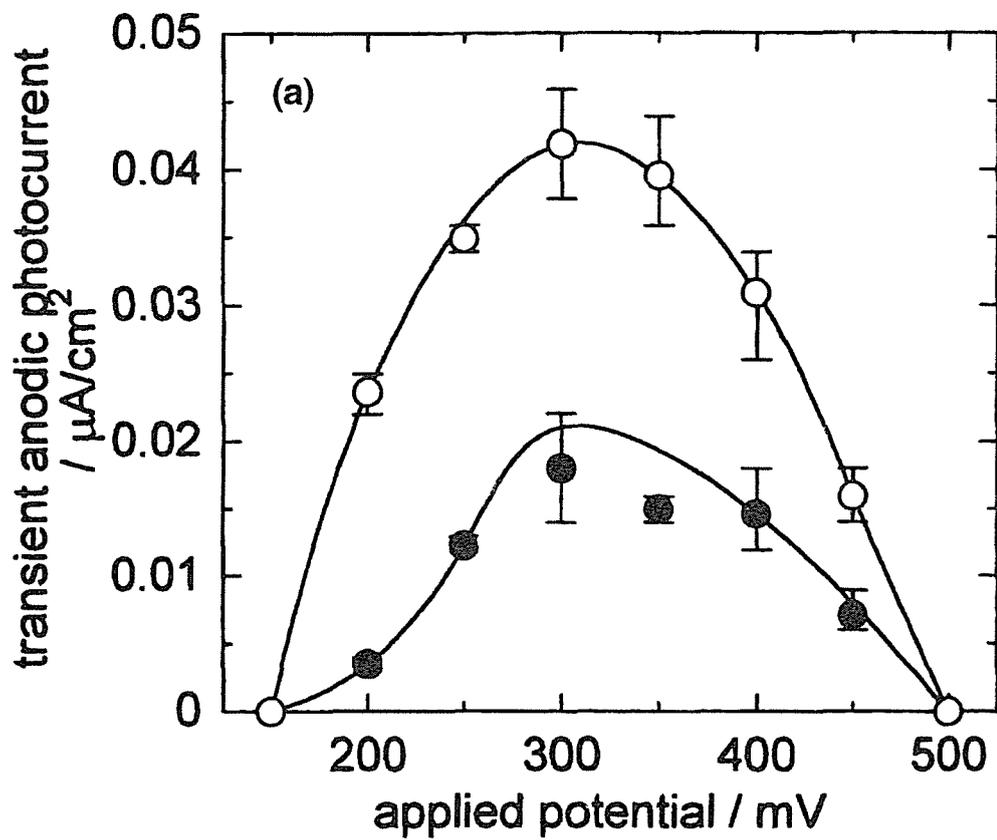


Fig. 2-6 Dependence of transient photocurrent on solution pH (a), and schematic representation for relationship of the redox potentials of electron transfer components in the reaction centers to that of hydroquinone-2-thiol under the various pH (b).

Symbols, ● and ○, abbreviations, and the experimental conditions were the same as those in Fig. 5, except that the solution pH was varied and the applied potential was adjusted to +300 mV.

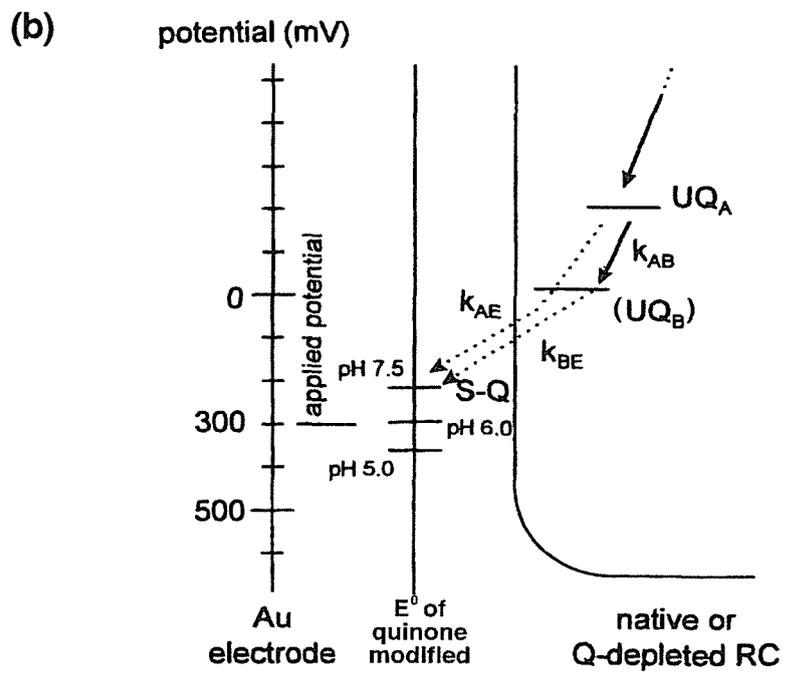
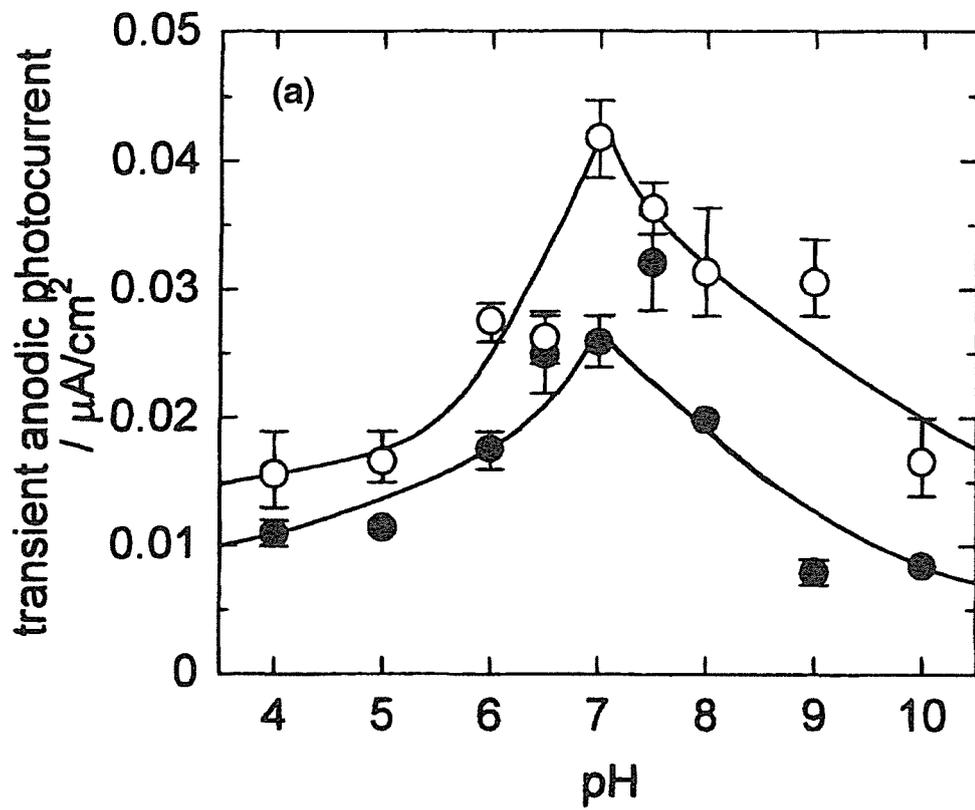
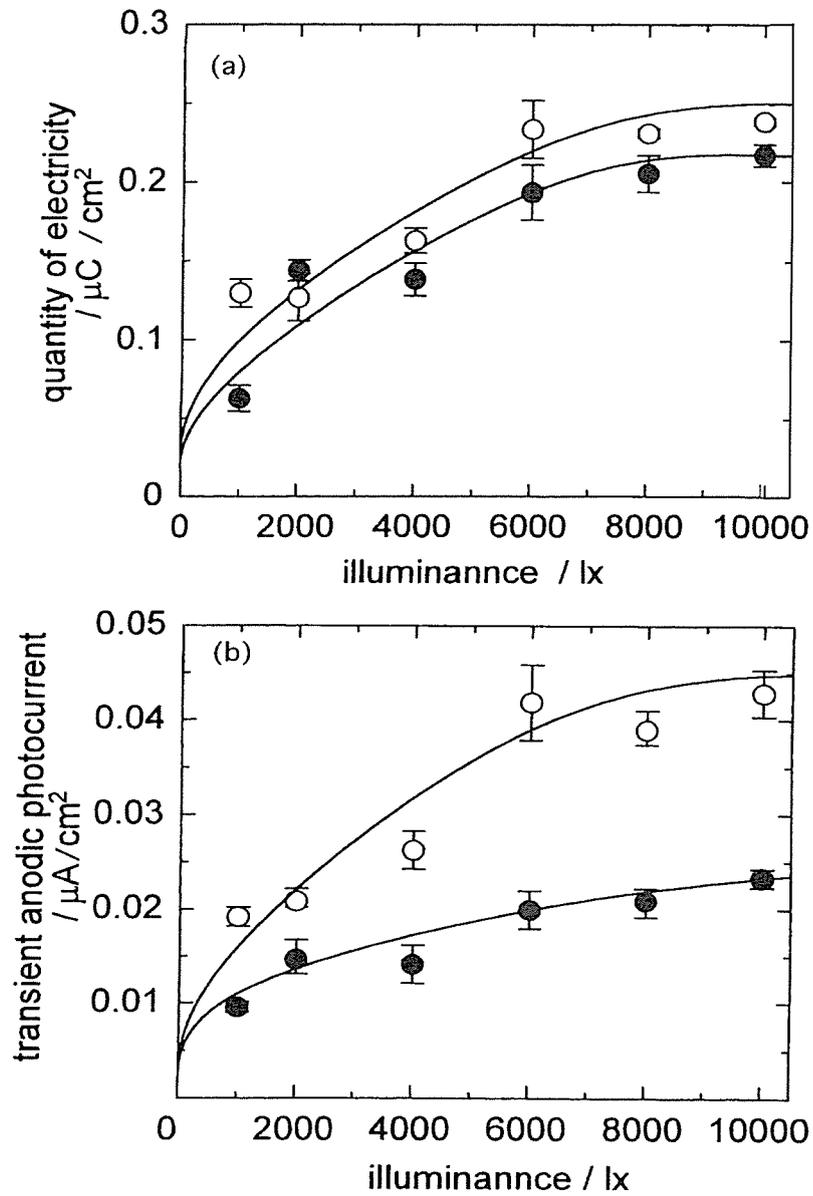


Fig. 2-7 Dependence of quantity of electricity for the anodic photoresponse (a) and transient photocurrent (b) on illuminance.

Symbols, ● and ○, represent the values of photoresponse by native and Q-depleted RC.s, respectively. The experimental conditions were the same as those in Fig. 2, except that the illuminance was varied.



第3章 チトクロム c_2 , c' の ITO 電極上における ボルタンメトリー

3.1 緒言

生体内電子伝達系を研究する主要な目的の一つとして、電子移動に先だって形成される過渡的な電子伝達蛋白質複合体分子間の、いかなる領域に、いかなる相互作用が存在し、円滑な電子移動が行われるのか、という疑問を明らかにするためのいくつかの因子を理解することが挙げられる。¹⁾ このような研究は、分光光度法や様々な表面修飾された電極を使用して電気化学的に行われてきた。最近、チトクロム (cyt.) c , ferredoxin, myoglobin の様ないくつかの金属蛋白質が、酸化インジウム (ITO) 電極上で、速い直接的電気化学応答をする事が報告された。²⁾ その中で、蛋白質の電気化学において重要になるかもしれない電極の表面電荷密度や親水性などの表面特性が議論された。私達は、光合成細菌 *Rhodospirillum rubrum* の cyts. c_2 および c' が、表面修飾された金電極上におけるボルタンメトリーの際、酸化還元応答を示すことを報告した。^{3,4)} しかし、蛋白質と表面修飾剤との間の相互作用に対する疑問は、修飾電極上での遅い電子移動速度の故に未解決のままであった。蛋白質と電極表面の間の相互作用が、修飾金電極と ITO 電極においてこれらの蛋白質に対して得られたボルタンメトリーの結果の類似点と相違点を比較することで、明らかに出来うと考え、いくつかの界面活性剤や硝酸で前処理した ITO 電極上で得られた cyts. c_2 と c' の予備的なボルタンメトリー挙動について、本報告では述べる。さらに、*Rs. rubrum* の cyt. c' は、cyt. c_2 と等電点やヘムの結合様式では類似しているけれども、ヘム鉄の配位形式やスピン状態、およびアミノ酸配列の全体的なホールディングは異なっている。^{5,6)} 従って、酸化還元蛋白質間に働く相互関係もこれらの類似点と相違点を通じて明らかにし得るかもしれない。

3.2 実験方法

cyts. c_2 と c' は、既報⁷⁾により光照射下で培養した *Rs. rubrum* の細胞から調製した。cyts. c_2 と c' は、0.1 M (M = mol/dm³) Tris-HCl 緩衝液 (pH 8.0) に溶解し、その濃度

は 415 および 390nm におけるそれぞれの吸光度から決定した。cyts. c_2 と c' の濃度は通常 200 μM に調整した。溶液はアルゴンによって脱酸素した。10 Ω/cm^2 の表面抵抗を持つ甲子光学の ITO 板を 5×5 mm^2 にカットし、動作極とした。この電極は、アセトンによる清拭、1 M HNO_3 への浸漬、あるいはスキヤット 20-XTM、トリトン X-100TM、またはドデシル硫酸ナトリウムの 5 % 水溶液中における 10 分間超音波処理、等多様な前処理を行い、引き続き、水中での超音波処理 5 分間を 10 回行い、表面を清浄にした。サイクリックボルタンメトリーを、この前処理した電極を使って、25°C で行った。電位掃引速度は通常 5 mV/s とした。

3.3 結果と考察

Fig. 3-1 には、スキヤット 20-XTM の 5% 溶液中で超音波処理によって前処理した ITO 電極での cyts. c_2 と c' の典型的なサイクリックボルタングラムを示す。アセトンによる清拭だけで前処理した ITO 電極を除いて全ての電極上で、cyt. c_2 に対しては +310 mV に、cyt. c' に対しては -15 mV に酸化還元電位をもつ明確な波形がボルタングラム上に得られた。これらの酸化還元電位はポテンシオメトリーによって従来報告された値とよく一致した。⁸⁾ 様々な方法によって前処理した電極で得られた、アノードとカソード二つのピーク間電位差、 ΔE_p (cyt. c_2 に対して 67–75 mV, cyt. c' に対して 120–170 mV) とピーク電流比 (cyt. c_2 に対して 0.9–1.9, cyt. c' に対して 0.7–0.9) の値から、これらの電極上でチトクロムは準可逆的に 1 電子酸化還元するものと判断した。また、これらの値は、以前に報告した値^{3,4)}の中で最高値であった。さらに、これらの数値は、Taniguchi⁹⁾によって指摘されたように、電極表面の親水性の高低に敏感に影響されたけれども、前処理の方法による違いにほとんど見られなかった(詳細なデータは示していない)。表面の親水性が酸化還元反応に重要であったから、電極表面の親水性と cyts. c_2 および c' の電極反応の可逆性の関係を、詳細に調べた。しかしながら、表面張力の一々測定することは多少厄介でもあるので、電極を様々な方法によって前処理するとき同時に前処理した 20×20 mm^2 の ITO 板を乾燥し、その表面上に 5 mm^3 (= μl) の水を滴下し、その広がり面積を便宜上、親水性の指標として使用した。水を滴下し、広がった面積の誤差は、10 % 以下であった。親水性の程度は、前処理のための界面

活性剤の種類を変えることによっても変わり、また、1 M HNO₃ 中への浸漬時間 (cyt. c₂の場合1または5 h, cyt. c'の場合0から10 h)によっても変化した。ITOの1 M HNO₃への溶解は、表面抵抗を測定することによってチェックし、その抵抗は約40 h以内ではほとんど変化しなかった(データは示していない)。チトクロムの酸化還元反応の可逆性と電極表面の親水性の関係を図3-2に示した。cyt. c₂の酸化還元反応の可逆性と関係する ΔE_p の数値は、広がり面積が約15 mm²/(5 μ l)まで、親水性の増大と共に増加し、それから、一定になった(65–75 mV)。しかし、ピーク電流比はほぼ0.9–1.0の辺りで一定のままであった。一方、cyt. c'に対するピーク電流比は親水性に敏感に依存した(120–170 mVの ΔE_p および0.7–0.9のピーク電流比)。すなわち、それらの値はcyt. c₂の ΔE_p 、ピーク電流比より大きくはなかったけれども、より高い親水性表面になるに従い、より高い可逆性が得られた。蛋白質は疎水性の電極表面上に不可逆的に強く吸着し、電極反応を妨害するため、ピーク電流比の減少とピーク間電位差の増加を引き起こすことが広く認められている。⁹⁾ ITO電極表面を前処理する事により得られた親水性の表面は、チトクロムの酸化還元反応の観察に相当であったといえる。さらに、cyt. c₂は分子量約12,800の小さな単量体ヘム蛋白質である。⁵⁾ 従って、ITO電極表面のゆるやかな親水性でも、指摘されるように、cyt. c₂の酸化還元反応が観察出来るかもしれない。一方、cyt. c'は、分子量約28,800の二量体ヘム蛋白質であり、⁵⁾ 従って、myoglobinの酸化還元反応で検討されたように、⁹⁾ cyt. c₂より大きい分子量のため高い親水性表面が、可逆的な酸化還元波を観察するために必要であるのかもしれない。現在、cyt. c'の電極反応をより定量的に解釈するために、より高い親水性表面を得るいくつかの試みを継続中である。

参考文献

- 1) M. A. Cusanovich, *Photochem. Photobiol.*, **53**, 845 (1991).
- 2) F. M. Hawkrigde and I. Taniguchi, *Comments on Inorg. Chem.*, **17**, 163 (1995).
- 3) T. Erabi, H. Yuasa, K. Hirata, and M. Wada, *Chem. Express*, **4**, 809 (1989).
- 4) T. Erabi, S. Ozawa, S. Hayase, and M. Wada, *Chem. Lett.*, **1992**, 2115.
- 5) R. G. Bartsch, *The Photosynthetic Bacteria*, (Eds. R. K. Clayton and W. R. Sistrom),

Plenum Press, New York, NY, p. 265 (1978).

- 6) B. C. Finzel, P. C. Weber, K. D. Hardman, and F. R. Salemme, *J. Mol. Biol.*, **186**, 627 (1985).
- 7) R. G. Bartsch, T. Kakuno, T. Horio, and M. D. Kamen, *J. Biol. Chem.*, **246**, 4489 (1984).
- 8) T. Kakuno, K. Hosoi, T. Higuti, and T. Horio, *J. Biochem.*, **74**, 1193 (1973).
- 9) I. Taniguchi, *Interface*, **6**, No. 4, p. 34 (1997) and references cited therein.

Fig. 3-1 Typical cyclic voltammograms of cyts. c_2 and c' from *Rs. rubrum* at an ITO electrode pretreated in 5% Scat 20-X™.

Concentration of cyts. c_2 and c' was 200 μM in 0.1 M Tris-HCl buffer (pH 8.0). The potential was initially swept to a positive direction for cyt. c_2 and to a negative for cyt. c' , and then reversed. Potential sweep rate was 5 mV s^{-1} .

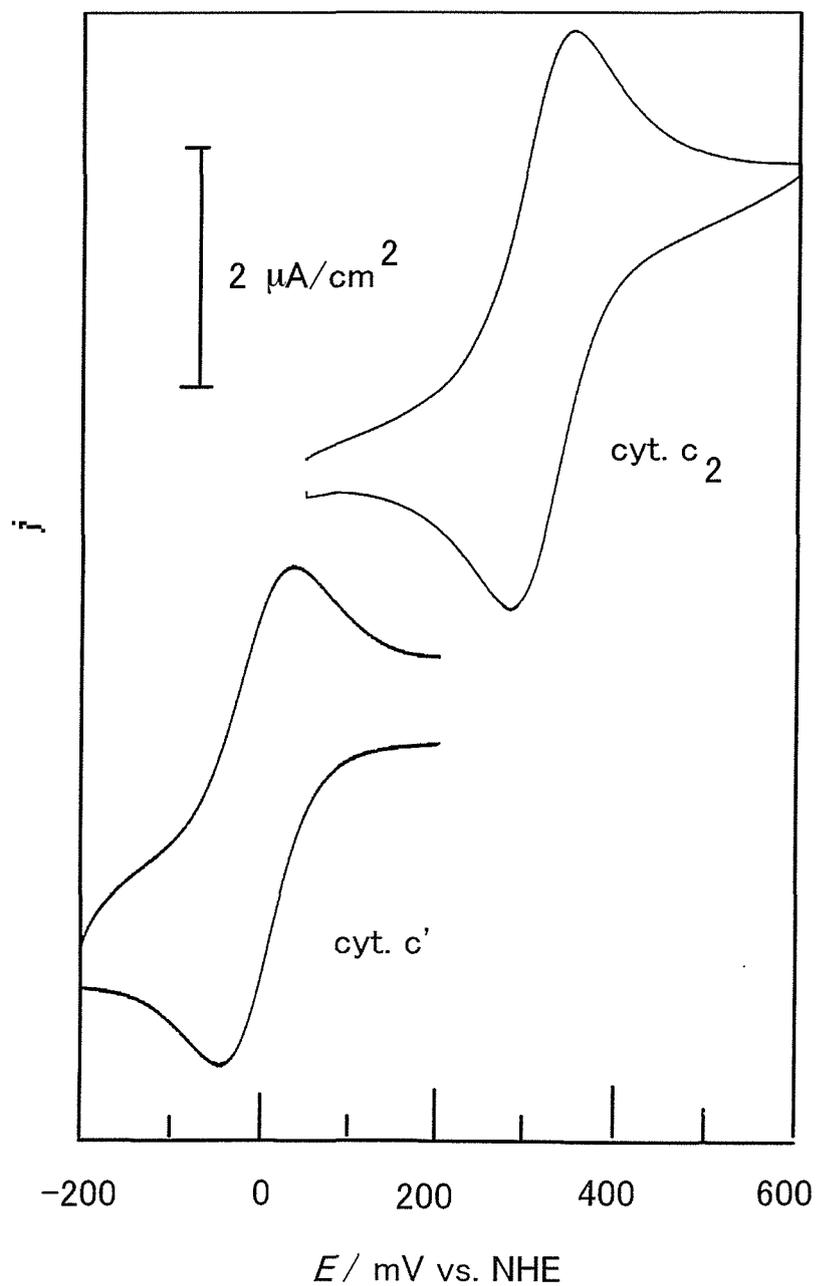
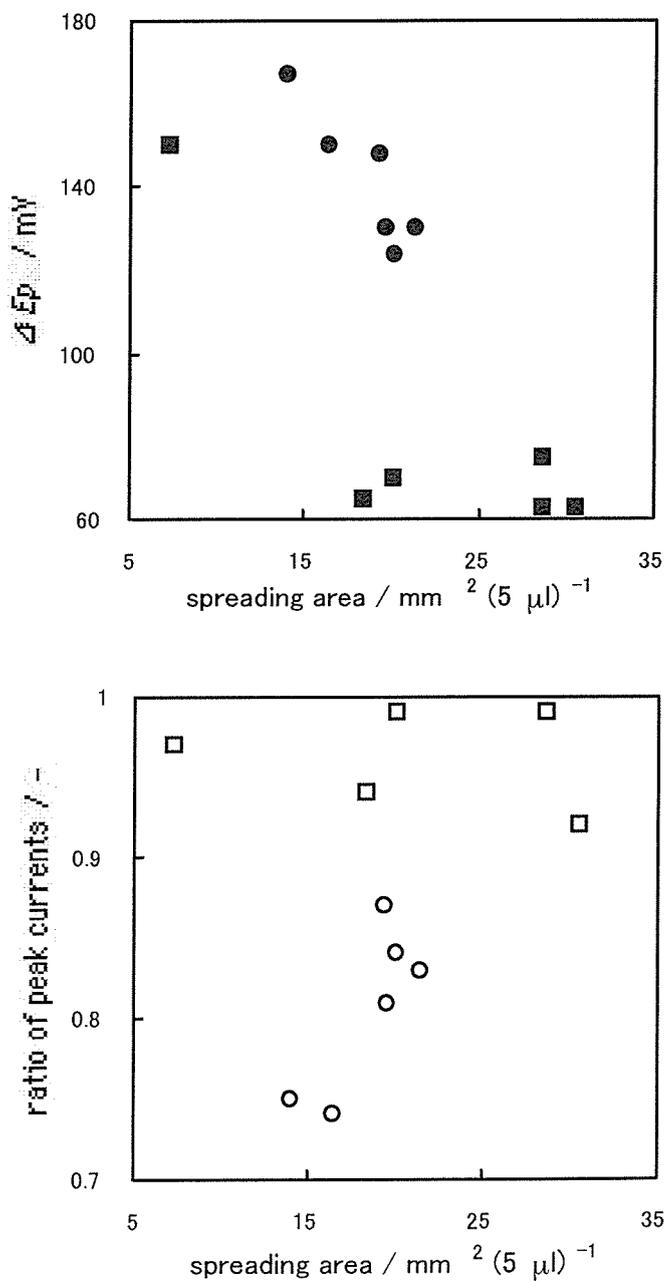


Fig. 3-2 Dependence of peak separation (ΔE_p , upper) and peak currents ratio (lower) for cyts. redox reaction on hydrophilicity of ITO surface.

The value of spreading area (mm^2) of $5 \mu\text{l}$ of water drop on the dried electrode surface was used as an indication of the hydrophilicity. The experimental conditions were the same as those in Fig. 1, except that the several pretreated ITO electrodes were used as the working electrode. Symbols, \blacksquare and \square , and \bullet and \circ



represent the values of ΔE_p and peak currents ratio for cyt. c_2 redox reaction, and those for cyt. c' , respectively.

4章 光合成反応中心とチトクロム c_2 を 使用した光電池の試作

4.1 緒言

二酸化炭素の大量放出によって地球規模での気象の変動が危惧されるようになり、自然環境を破壊しない太陽エネルギーの利用が期待されるようになって久しい。しかしながら、希薄なエネルギー密度から如何に高能率に利用可能なエネルギー形態に変換するかについての問題は依然として解決していない。植物の光合成の初期過程の持つ高能率な光電変換機能を利用して光電池を構築しよう、という試みも古くは Seibert らによる先駆的な報告¹⁾ から、Miyake ら²⁾ あるいは、Carpentier ら³⁾ による系統的な報告、そして最近では Yagishita らによるシアノバクテリアの細胞を使用する光電池に関する報告⁴⁾ まで数多く行われてきた。著者ら⁵⁾ もかつて光合成細菌のクロマトフォアを使用した光電池について報告したが、Miyake らの報告²⁾ を除き、多くは光合成組織を懸濁状態あるいはそれに類する高分子マトリックスに包埋した状態で使用したため、耐久性に難があったり、犠牲試薬（還元剤）の添加を必要としたりした。

著者ら⁶⁾ は最近、光合成細菌 *Rhodospirillum rubrum* の光合成反応中心をヒドロキノン（あるいは *p*-ベンゾキノン）チオール修飾金電極上にその粒子配向を制御しつつ固定化することに成功した。この反応中心固定化金電極は定電位分極下光照射に対応してアノード光電流を発生した。また、菌体中で反応中心への本来の電子供与体である還元型チトクロム c_2 を電解液中に共存させることで、アノード光電流を5時間以上に涉って観測することもできた。幸いなことに、チトクロム c_2 はこの金電極上では電極反応を行えず、したがって、電解液中にチトクロム c_2 を添加しても暗電流の増加などの悪影響はなかった。加えて、硝酸処理などにより表面の親水性を高めた透明 indium tin oxide (ITO) 電極上でチトクロム c_2 の可逆的酸化還元反応を観察できることもごく最近明らかとなった。⁷⁾ したがって、電解液中にチトクロム c_2 を共存させ、反応中心固定化金電極と親水化処理した透明 ITO 電極を用いれば、犠牲試薬を必要とせず、光照射に都合の良いガルバニ電池を生体内電子移動機構を模して構成できると考えられる。本報ではこうして構成した光ガルバニ電池の挙動について述べる。

4.2 実験方法

嫌気条件下, 3日間光照射し培養した⁸⁾ *Rhodospirillum rubrum* G-9 から定法により超音波処理, 遠心分画してクロマトフォアを調製した.⁹⁾ 得られたクロマトフォアを dodecyldimethylamine oxide で可溶化した後, 遠心分離, イオン交換クロマトグラフィーを繰り返して反応中心複合体を調製した.¹⁰⁾ 反応中心複合体中に存在する ubiquinone B の除去は Gimenez-Gallego らの方法¹¹⁾ に従った. こうして得られた反応中心を以後 Q-depleted RC と呼ぶ.

金板電極(1×3 cm²)をエメリペーパー, アルミナで表面研磨した後, 文献⁶⁾ に従い, ヒドロキノンチオール修飾電極を作成した. しかし, 修飾されたヒドロキノンチオールの酸化状態が変動するためか, この電極電位の再現性に難があることが判った. 加えて, ヒドロキノンチオールをすべて酸化型にして Q-depleted RC を固定化した方が反応中心の固定化量, 配向度とも向上することが明らかであった⁶⁾ ため, この修飾電極を予め 0.1 M (M = mol/dm³) Tris-HCl 緩衝液(pH 7.5)中で+400 mV vs. NHE にアノード分極し, 修飾されたヒドロキノンチオールを全て酸化し, 反応中心の固定化に供した. Q-depleted RC の固定化は文献⁶⁾ に従い, 802 nm における吸光度(A₈₀₂)が 1 になるように調整した反応中心懸濁液に 1 時間 *p*-ベンゾキノノンチオール修飾金電極を浸漬する事により行った. この電極を以後, 反応中心固定化金電極と呼ぶ. こうして得られた反応中心固定化金電極の特性⁶⁾を参考のため以下に示す. 金電極の roughness factor, 1.5, *p*-ベンゾキノノンチオールの吸着量, 5.2×10⁻¹⁰ mol/cm² あるいは 3.1×10¹⁴ molecules/cm², 吸着した *p*-ベンゾキノノンチオールの酸化還元電位, +220 mV vs. NHE, 反応中心の固定化量, 2.1×10¹² particles/cm². ITO 電極 (有効表面積 1×3 cm²) の表面処理は 1 M 硝酸に 5 時間浸漬する事⁷⁾ により行った. チトクロム c₂ は ITO 電極上で+310 mV vs. NHE の酸化還元電位を示した.⁷⁾

反応中心固定化金電極の光照射に伴う電位変化の測定は, 上記緩衝液中で銀・塩化銀電極に対して行った. なお, 光照射は 60 W タングステン電球を光源とし, Y-46 色ガラスフィルターを通過させてから行った. チトクロム c₂ 添加の電位変化への影響を検討するときは, 緩衝液中に 10 μM あるいは 1 μM になるように還元型チトクロム c₂

を加えた。反応中心固定化金電極と ITO 電極を同緩衝液に挿入することにより光電池を構成し、光照射に伴う起電力の変化を ITO 電極に対して記録した。また、短絡光電流、任意の抵抗を回路に組み込んだときの光電流と光電圧の関係も測定した。

4.3 実験結果と考察

反応中心固定化金電極を 0.1 M Tris-HCl 緩衝液(pH 7.5)に挿入し、光照射を行った時、得られた電位・時間曲線を Fig. 4-1(a)に示す。電極電位は光照射に伴い初め卑にシフトするが、やがて反転してゆっくりと貴にシフトした。この貴への電位シフトは *p*-ベンゾキノンチオール修飾電極単独でも観測された。また、*p*-ベンゾキノン修飾金電極を定電位に分極し光照射を行うと、その値は小さいながらも、アノード光電流が観測された事⁶⁾からも、*p*-ベンゾキノンチオールに起因する何らかの光酸化反応が考えられる。照射直後に観測される卑への電位シフトは照射光の強度に依存し、照度の増加と共に大きくなった。(Fig. 4-2(a)) 光照射に伴い、反応中心より放出された電子が電極に吸着した *p*-ベンゾキノンチオールを還元し、ヒドロキノンチオールが生成したことによると考えられる。⁶⁾ 修飾状態の *p*-ベンゾキノンチオールにネルンスト式が適用できると仮定し、反応中心固定化金電極に対して与えられた特性値と暗条件下での電極電位(+215.8 mV vs. NHE)を利用して、6,000 lx の光照射に伴う電位シフトの大きさを計算すると、実験値の約 3.5 倍となった。前述した *p*-ベンゾキノンチオールの光酸化反応がこのような過小評価に関係しているのかもしれない。

次に、反応中心固定化金電極を 10 μ M チトクロム c_2 を含む 0.1 M Tris-HCl 緩衝液(pH 7.5)に挿入し、同様に光照射を行うと、Fig. 4-1(b)に示すような曲線が得られた。Fig. 4-1(a)と異なり、電位は光照射直後から大きく卑にシフトし、時間の経過と共に変化は小さくなったけれども、定常状態には達しなかった。この曲線に図中に示した様な接線を引き、その交点までの距離を光照射に伴う電位シフトの初期値とすると、初期値、5 分後の値共に照度に依存した。(Fig. 4-2(b)) 光照射直後に電位変化が激しいのは、反応中心より放出される電子が電極に吸着している *p*-ベンゾキノンチオールを還元すると同時に、溶液中のチトクロム c_2 から反応中心への電子移動が生じ、再び反応中心が活性化され、光照射に伴う電子移動が可能になるためと考えられる。こうして繰り返

し *p*-ベンゾキノンチオールが還元されて、大きな電位シフトを生むものの、時間の経過と共にチトクロム c_2 よりの電子移動が拡散の影響を受ける様になるため、電位変化が次第に緩やかになったと考えられる。電解液中にチトクロム c_2 が存在しない場合と同様にして、*p*-ベンゾキノンチオールの還元量を評価すると、6,000 lx の光照射に伴う反応中心のターンオーバー数は照射直後で約 6.7、5 分後で約 21.2 と見積もることが出来た。

試作した光電池の短絡光電流は最大で 40 nA、回路電圧の変化（光電圧）は 5 mV となった。また、この電池の動作曲線は Fig. 4-3 に示すようになった。得られた光電流・光電圧曲線は、電流通過に伴い電圧降下が激しいことから、この電池の内部抵抗が大きいことが予想される。特にこの電池の動作曲線の測定に際し、測定点が多数にのぼることからチトクロム c_2 の濃度を 1 μ M に抑えたこともあり、チトクロム c_2 の拡散速度が遅くなり、電池の内部抵抗を大きくしたとも考えられる。前述のように、反応中心から電極表面に修飾された *p*-ベンゾキノンチオールへの光電子移動はかなり高速であるから、チトクロム c_2 の濃度を濃くする、溶液を攪拌する、あるいは電解槽の厚さを薄くして電極間距離を近づけるなどして物質輸送速度を上げることが出来れば、この光電池の性能をもっと向上できるものと考えられる。

4.4 結 論

光合成反応中心複合体を固定化した *p*-ベンゾキノンチオール修飾金電極と親水化処理した ITO 電極をチトクロム c_2 溶液に挿入することにより、犠牲試薬を用いない光ガルバニ電池を生体内電子移動機構を模して構成することが出来た。反応中心固定化金電極は光照射に応じてその電位を卑にシフトし、その値は照射光量に依存した。また、光電池の短絡光電流は 40 nA、開路光電圧は 5 mV となった。

参考文献

- 1) M. Seibert, A. F. Janzen, and M. Kendall-Tobias, *Photochem. Photobiol.*, **35**, 193 (1982).
- 2) For example, Y. Yasuda, H. Sugino, H. Toyotama, Y. Hirata, M. Hara, and J. Miyake, *Bioelectrochem. Bioenerg.*, **34**, 135 (1994).

- 3) For example, A. Agostiano, D. C. Goetze, and R. Carpentier, *Photochem. Photobiol.*, **55**, 449 (1992).
- 4) T. Yagishita, S. Sawayama, K. Tsukahara, and T. Ogi, *Solar Energy*, **61**, 347 (1997).
- 5) T. Erabi, T. Sengoku, K. Nishimura, and M. Wada, *Chem. Express*, **2**, 455 (1987).
- 6) K. Matsumoto, K. Nomura, Y. Tohnai, S. Fujioka, M. Wada, and T. Erabi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **72**, 2169 (1999).
- 7) T. Erabi, A. Fujiwara, K. Matsumoto, K. Tanaka, and M. Wada, *Electrochemistry*, **68**, in press.
- 8) T. Horio, K. Nishikawa, M. Katsumata, and J. Yamashita, *Biochim. Biophys. Acta*, **94**, 371 (1965).
- 9) N. Nishi, M. Kataoka, G. Soe, T. Kakuno, T. Ueki, J. Yamashita, and T. Horio, *J. Biochem.*, **86**, 1211 (1979).
- 10) C. Vadeboncoeur, H. Noel, L. Poirier, Y. Cloutier, and G. Gingras, *Biochemistry*, **18**, 4301 (1979).
- 11) G. Gimenez-Gallego, M. P. Ramirez-Ponce, P. Lauzurica, and J. M. Ramirez, *Eur. J. Biochem.*, **121**, 343 (1982).

Fig. 4-1 Typical potential-time curves measured at a reaction center-immobilized Au electrode in the absence (a) and presence (b) of 10 μM cytochrome c_2 .

Illumination was carried out at 6,000 lx of illuminance.

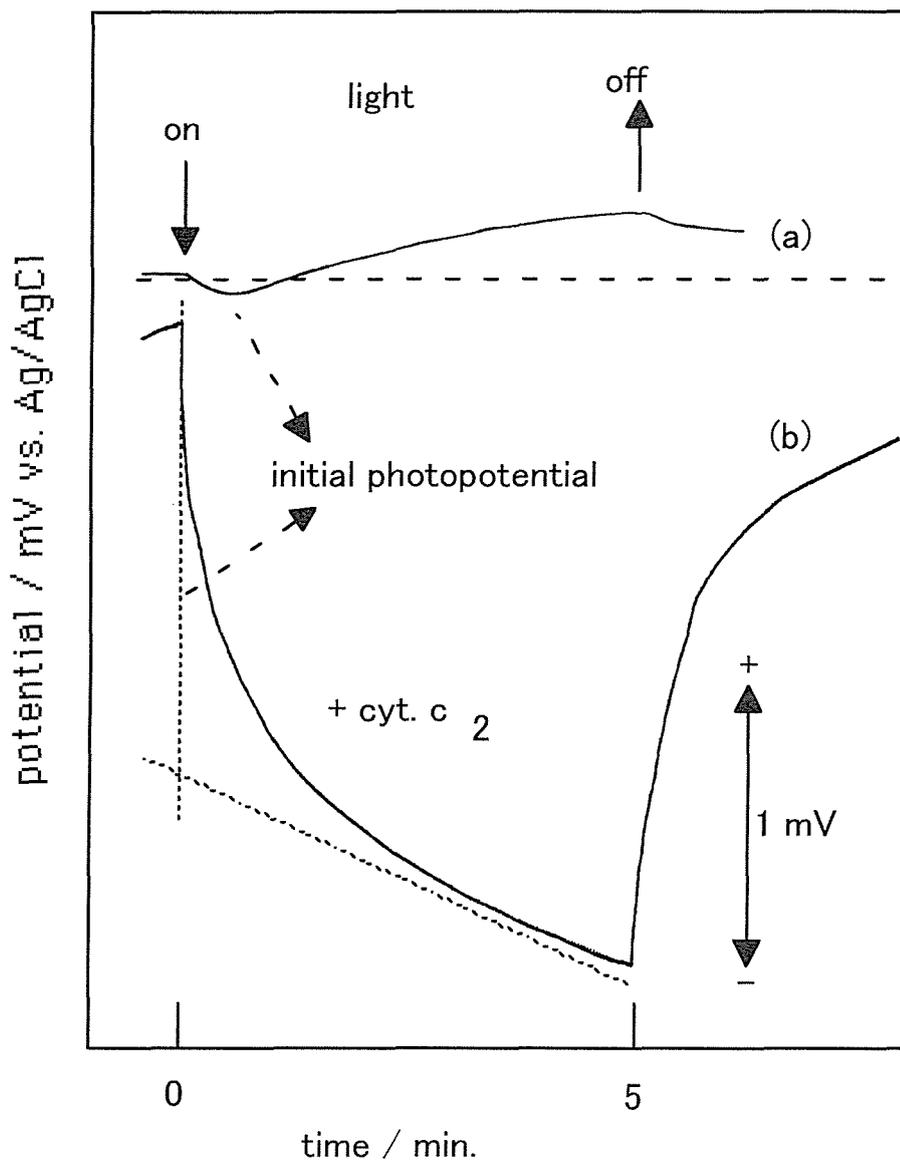


Fig. 4-2 Dependence of photopotential on illuminance.

Symbols, \square and \circ , in this figure represent the values obtained immediately after illumination in the absence and presence of $10 \mu\text{M}$ cytochrome c_2 , and \bullet being that obtained 5 minutes after illumination.

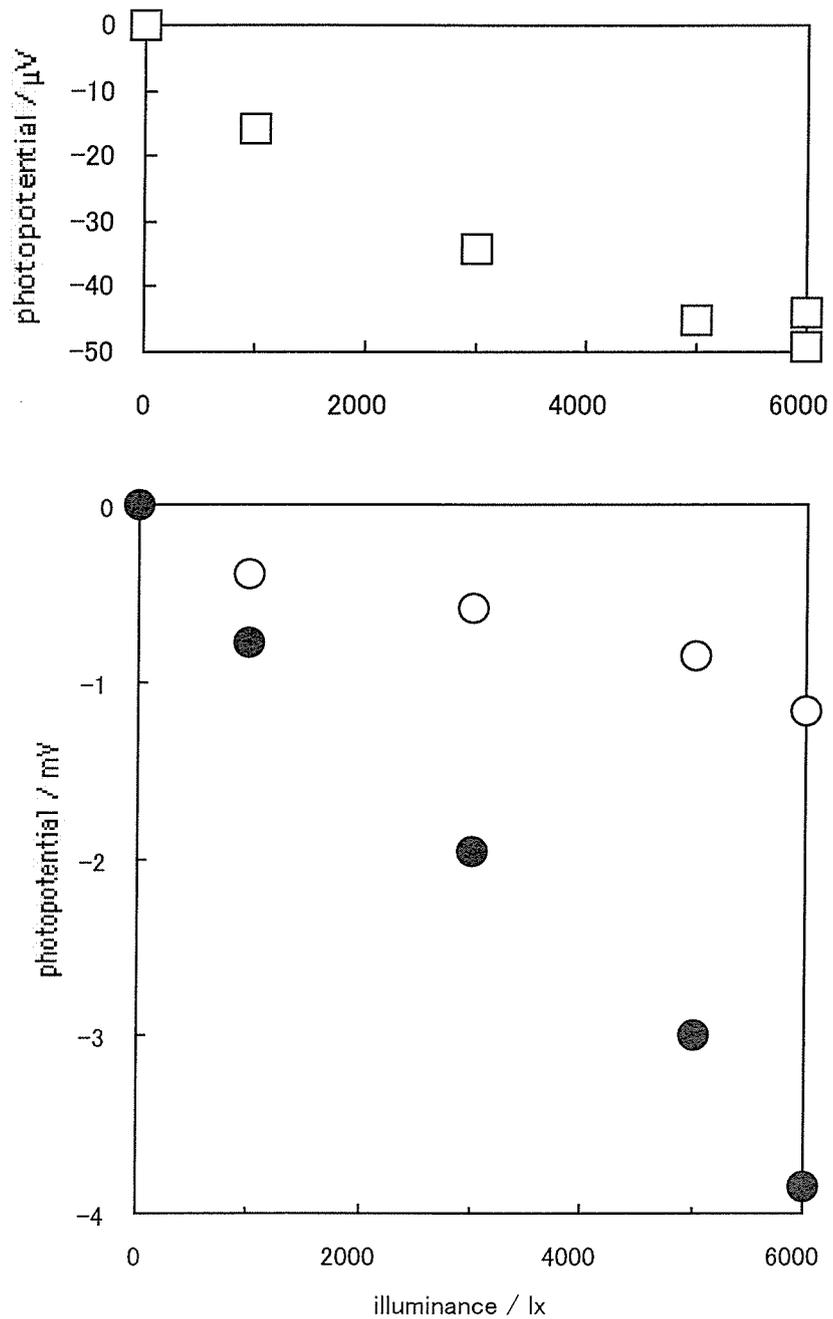
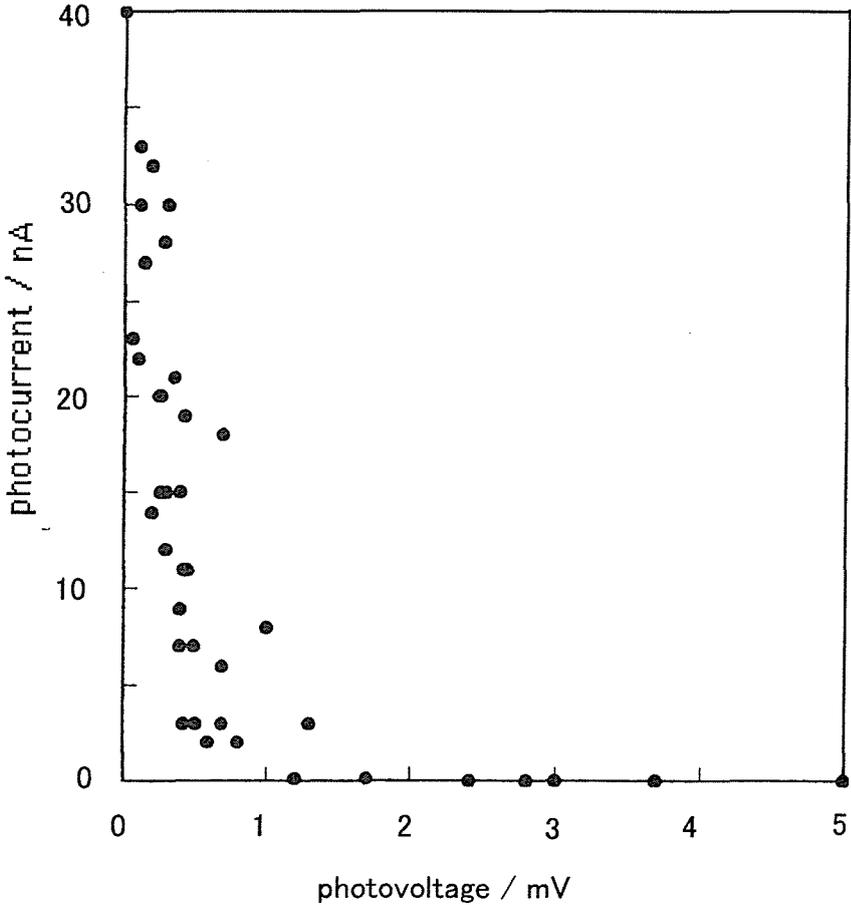


Fig. 4-3 Relationship of photocurrent to photovoltage.

This working curve was obtained in the presence of 1 μM cytochrome c_2 by measuring the photocurrent and photovoltage across a series of successively larger load resistances.



謝辞

本研究は、著者が鳥取大学工学部博士後期課程社会人コース在籍中に行ったものであり、その間長期にわたり鳥取大学工学部物質工学科和田正徳教授にご指導賜ってまいりました。ここに研究成果をまとめるにあたり、深く敬意と感謝の意を表します。

また、本論文をまとめるにあたって適切なお助言とご教示を賜りました鳥取大学撰達夫助教授に深く感謝いたします。さらに本研究を進めるにあたり、有益なお討論、ご教示を賜りました鳥取大学工学部早瀬修一助手、教務職員浅原雅浩博士に感謝いたします。

本研究の遂行にあたり、実験に多大なお協力を頂いた鳥取大学工学部大学院生の野村和宏君をはじめとする和田研究室の学生諸氏に深く感謝いたします。

そして、本研究の遂行にあたりご支援とご協力を頂いた倉吉工業高等学校向井純悟校長をはじめとする諸先生方にお礼を申し上げます。最後に心の支えとなってくれた家族に心から感謝します。

研究業績

1. 主論文

- 1, "Immobilization of Photosynthetic Reaction Center Complexes onto a Hydroquinonethiol-Modified Gold Electrode" Kiyoharu MATSUMOTO, Kazuhiro NOMURA, Yasunari TOHNAI, Shuji FUJIOKA, Masanori WADA, and Tatsuo ERABI, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **72**, 2169-2175 (1999).
- 2, "Voltammetric Behavior of Cytochromes c_2 and c' from *Rhodospirillum rubrum* at an ITO Electrode" Tatsuo ERABI, Atsushi FUJIWARA, Kiyoharu MATSUMOTO, Kaori TANAKA, and Masanori WADA, *Electrochemistry*, **68**, 859-861 (2000).
- 3, "光合成細菌 *Rhodospirillum rubrum* の光合成反応中心とチトクロム c_2 を使用した光電池の試作" 松本清治, 藤岡修治, 三井洋一, 和田正徳, 撰 達夫, *電気化学*, 印刷中.

2. 参考論文

- 1, "Effect of 1-Methoxy-5-methylphenazinium Methyl Sulfate on Photocurrent Produced by *Rhodospirillum rubrum* Chromatophores" Tatsuo ERABI, Kiyoharu MATSUMOTO, Hideki ITOH, Noritaka TAKAHASHI, Kumiko NISHIMURA, and Masanori WADA, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **60**, 3805-3807 (1987).
- 2, "光合成細菌 *Rhodospirillum rubrum* のクロマトホアによる光アノード反応" 撰 達夫, 加藤康明, 山下芳温, 松本清治, 西村(平田)久美子, 和田正徳, *日化誌*, **1988**, 1163-1168.
- 3, "Cell Membrane Penetrativity of Viologen Analogs" Tatsuo ERABI, Hiroshi YUASA, Kiyoharu MATSUMOTO, Megumi MORIUCHI, Hiroyuki OHNISHI, Kumiko HIRATA and Masanori WADA, *Chem. Express*, **4**, 467-470 (1989).
- 4, "Light-induced Electron-transfer Reaction into *Rs. rubrum* Chromatophores from a Pt Electrode" Tatsuo ERABI, Kiyoharu MATSUMOTO, Noritaka TAKAHASHI, Kumiko HIRATA, and Masanori WADA, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **64**, 1487-1489 (1991).
- 5, "Light-induced Redox Characteristics of Reaction Center Complexes Prepared from

Photosynthetic Bacterium, *Rhodospirillum rubrum*” Tatsuo ERABI, Kiyoharu MATSUMOTO, Hideki ITOH, Noritaka TAKAHASHI, Kazunori FUJIMURA, Shuichi HAYASE, and Masanori WADA, *Chem. Express*, **8**, 649-652 (1993).

6, “Role of Bipyridinium Salts in Generation of Photocurrent by *Rhodospirillum rubrum* Cells” Tatsuo ERABI, Kiyoharu MATSUMOTO, Tsutomu OKAMOTO, Megumi MORIUCHI, Tsuyoshi IKEDA, Yukihiro YOKOYAMA, Shuichi HAYASE, and Masanori WADA, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **68**, 1545-1550 (1995).

7, “Generation of Cathodic Photocurrent by Photosynthetic Reaction Center Complexes from *Rhodospirillum rubrum* at a Pt Electrode” Tatsuo ERABI, Kiyoharu MATSUMOTO, Hideki ITOH, Noritaka TAKAHASHI, Kazunori FUJIMURA, Shuichi HAYASE, and Masanori WADA, *Denki Kagaku*, **65**, 26-32 (1997).

8, “Generation of Anodic Photocurrent at a Hydroquinonethiol-modified Gold Electrode Immersed in Photosynthetic Reaction Center Suspension” Tatsuo ERABI, Kiyoharu MATSUMOTO, Kazunori FUJIMURA, Kazuhiro NOMURA, and Masanori WADA, *Denki Kagaku*, **65**, 673-675 (1997).

3. 口頭発表

1, “ベンゾキノンチオール修飾金電極上に固定化した光合成反応中心を使用する光電池の試作” 撰 達夫, 松本清治, 藤岡修治, 早瀬修一, 和田正徳, 第 22 回エレクトロオーガニックケミストリー討論会, 1998 年 6 月, 大阪大学, 吹田.

2, “Immobilization of Photosynthetic Reaction Center Complexes on Benzoquinonethiol-modified Gold Electrode” Kiyoharu MATSUMOTO, Kazuhiro NOMURA, Shuji FUJIOKA, Masanori WADA, and Tatsuo ERABI, 1998 International Symposium on Organic Reactions, November 1998, National Tsing Hua University, Hsinchu, Taiwan.

END