

# Annual Report in 2012

Hashimoto Laboratory

## Polymer solar cells

Erjun zhou

A new alternating copolymer of fluorene and naphthalene diimide, PF-NDI, was synthesized and characterized. The highest power conversion efficiency of All-polymer solar cells based on P3HT:PF-NDI reached 1.63% with a relatively high fill factor of 0.66 by using 1,8-diiodooctane as a solvent additive to optimize the mixing morphology.

We report a simple, effective approach to modifying two kinds of D-A type polymers; copolymerization with thiophene containing tris(thienylenevinylene) (TTV) conjugated side chain. The resulting copolymers, TTV1 and TTV2 showed significant improvement (25% and 43%) of power conversion efficiency in comparison to the original polymers. The short-circuit current of TTV2 reached  $22.6 \text{ mA cm}^{-2}$  that is the highest record for organic photovoltaic devices to date. This design strategy opens up a new possibility to modify the existing D-A type photovoltaic polymers for better performance.

A novel alternating copolymer with a low band gap ( $E_g = 1.55 \text{ eV}$ ), PBDT-DTBS<sub>2</sub>Se, based on benzodithiophene (BDT) and benzoselenadiazole (BSe) units with thiophene as a  $\pi$ -conjugated bridge, was synthesized and characterized. When 1,8-diiodooctane was used as a solvent additive to optimize the mixing morphology, the maximum power conversion efficiency reached by a polymer solar cell based on PBDT-DTBS<sub>2</sub>Se/PC70BM was 5.18%, which was slightly higher than that of the benzothiadiazole (BT)-based analogue (5.01%). These results demonstrated the promising effectiveness of benzoselenadiazole as an electron-deficient unit for the design of the donor-acceptor photovoltaic polymers.

Yong Zhao

Efficient and low-cost electrocatalysts for the oxygen evolution reaction (OER) are essential components of renewable energy technologies, such as solar fuel synthesis and providing a hydrogen source for powering fuel cells. We report that the nitrogen-doped carbon (N/C) materials functions as the efficient OER electrocatalysts. In alkaline media, the material generated a current density of  $10 \text{ mA cm}^{-2}$  at an OER overpotential of 0.38 V, values that are comparable to those of iridium and cobalt oxide catalysts. The electrochemical and physical studies indicate that the high OER activity of the nitrogen/carbon materials is from the pyridinic-N- or/and quaternary-N-related active sites. Our novel findings suggest that the metal-free OER catalysts will be a potential alternative to the use of transition-metal-based OER catalysts. In addition, a new type of bifunctional oxygen electrocatalysts is also synthesized and they showed good electrocatalytic activity toward oxygen chemistry.

## Perylene and Naphthalene Diimide-Based n-Type Semiconducting Foldamers

Mingxiu Zhao, Keisuke Tajima, Kazuhito Hashimoto

The well-defined secondary structure of foldamers could lead to unique properties, which makes them potentially new functional materials. In addition, charge transport properties in foldamers could be a very interesting topic because it is possible to control the intramolecular charge hopping by the precise molecular designs. This could be particularly important for organic photovoltaic devices in which the charge transport in the binary polymer blend films is required. In this research, we proposed a new design concept of the semiconducting foldamers in which semiconducting molecular segments are connected by a short, flexible linker that enable the neighboring segments to closely interact with each other through  $\pi$ - $\pi$  interaction. Perylene diimide (PDI) and naphthalene diimide (NDI) derivatives are widely used for organic FET and photovoltaics as n-type materials for their high electron mobility. Conjugated planar segments of PDI and NDI are connected with dimethylsilane linkers with Stille coupling reaction to yield soluble PDI and NDI polymers, respectively. Variable-temperature UV-vis absorption spectra of the solution indicated a reversible change in intramolecular interaction of the polymer segments. Better crystallinity in polymer films was achieved with NDI based polymer, demonstrated by XRD measurement, indicating increasing of planarity of conjugated segments improved the packing of polymer segments in films. The copolymer can be utilized as n-type acceptor material in OFETs and OPVs. The NDI polymer FET achieved an electron mobility of  $0.002 \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$ , which is comparable with PCBM. OPV devices with an active layer of a mixture of P3HT and synthesized polymer showed a PCE of 0.2%.

## Surface modification of organic semiconductor films by fullerene derivatives with semifluoroalkyl chains

S. Izawa, K. Hashimoto and K. Tajima

Surface modification of organic semiconducting films is of great importance for potential applications such as organic electronics and biological sensors. However, the surface of organic semiconductor is difficult to modify due to the lack of specific interaction on the surface. In this study, we synthesized fullerene derivatives with end functionalized semifluoroalkyl chains with low surface energy for the surface modification of the organic semiconductor films. Mixed solution of those molecules and [6,6]-phenyl-C61-butyric acid methyl ester (PCBM) was spin-coated on ITO substrate. By using X-ray photoelectron spectroscopy, we found that the fullerene derivatives with functional groups and semifluoroalkyl chains were segregated onto the surface of the films due to the low surface energy.

## ボロール骨格を持つ新規有機半導体の合成と有機薄膜太陽電池への応用

林崎匡宏、橋本和仁、但馬敬介

有機薄膜太陽電池は製造コストの低さや軽量化の可能性から注目を集めている。効率向上のための材料開発において、電子ドナー分子の低バンドギャップ化のために、電子受容性部位と電子供与性部位を交互に組み合わせたドナー／アクセプター型コポリマーの分子設計が広く行われている。本研究では、電子受容性部位として三配位ホウ素を有し、強い電子受容性が期待できるボロールを用いた。ボロールモノマーを合成した後、まずポリマー化への知見を得るためにボロールオリゴマーを合成した。その後、オリゴマーを用いてボロール分子を用いた初めての有機薄膜太陽電池を作成した。またポリマー化の検討の中で、 $\pi$ 共役を拡張することで、ボロール分子が熱的に安定化することが明らかになった。

## Synthesis of Borole-containing New Organic Semiconductors and Application to Organic Solar Cells

M.Hayashizaki, K. Hashimoto, K. Tajima

Organic solar cells (OSCs) have many advantages such as low cost and light weight. However, OSCs cells suffer from low power conversion efficiency (PCE). Improvement of PCE of OSCs requires the development of new low band gap semiconducting polymers, like donor-accepter type copolymers. In this study, we used borole unit as an electron-accepting unit in the donor-accepter type copolymers. Borole-monomers and new borole-based oligomers were synthesized and applied to OSCs. This is the first report of the OSCs with borole-based materials. Through the trial of polymerization, we found that the thermal stabilities of borole-compounds were improved by the introduction of  $\pi$ -conjugated groups.

## チオール基を有する3-アルキルチオフエンジブロックコポリマーの合成と 有機・無機ハイブリッド型太陽電池の形態制御への応用

樋口 荘祐、橋本和仁、但馬敬介

有機・無機ハイブリッド太陽電池は、有機薄膜太陽電池の持つ低コスト、軽量性、柔軟性などの利点に加え、無機材料の高い電子伝導度や、可視光域での大きな吸収などの利点を有している。デバイス構造は混合によるバルクヘテロ接合が主流であるが、各成分の凝集や孤立が起りやすく、無機材料の特性から期待される程の変換効率が達成出来ていない。そこで本研究では、種々の無機材料と相互作用することで知られるチオール基を官能基として持つブロックコポリマーを合成し、電子ドナーとして用いることでデバイス薄膜中での自発的ナノ構造の制御を試みた。本ポリマーと硫化ビスマスナノ粒子を電子ドナー、アクセプターそれぞれに用いた系では、通常の P3HT を用いた系と比べて変換効率が向上した。また、P3HT を用いたデバイスでは硫化ビスマスが大きな凝集体を作っているのに対し、本ブロックコポリマーを用いたデバイスでは硫化ビスマスが均一に分散している様子が SEM によって観測された。以上の結果から、ポリマー側鎖に導入した官能基の無機材料との相互作用によって、無機材料の凝集体の形成を抑制し、自発的ナノ構造を形成させることで、効率的な電荷分離および有効な電荷輸送経路を構築することが可能であると結論した。

## 光異性化するフラーレン化合物の合成と有機半導体界面への応用

古橋正樹・橋本和仁・但馬敬介

有機半導体界面の性質は有機半導体デバイスにおいて重要な役割を果たしている。有機界面の分子レベルの構造を外部刺激によって変化させることができれば、その変化をデバイスの特性の変化として巨視的に観測することが可能であると考えられる。本研究では、二層型のドナー／アクセプター構造を持つ有機ダイオードにおいて、界面に光異性化する分子を挿入することによって、光照射によってダイオード特性が劇的に変化する新しいデバイスの開発を目的とした。フラーレン、光異性化部位であるアゾベンゼン、低表面エネルギーを有するフルオロアルキル部位からなる物質を合成し、接触転写法によって界面に挿入した。デバイスに紫外線および可視光を照射したところ、可逆的なデバイス特性の変化が観測された。これは、アゾベンゼンの光異性化の影響により、界面での電荷分離、再結合の効率が大きく変化したことを示唆している。

## 温度応答性ポリマーにおける水蒸気吸脱着特性

堺順子、橋本和仁、但馬敬介

高性能な吸湿性材料の開発は、調湿による省エネルギー化の観点から重要である。しかし現在使用されているシリカゲルやゼオライトといった吸湿材料は、水蒸気の脱着に要する再生温度が高温であり多くのエネルギーを消費する。本研究では、特定の温度以下では親水性であるが、特定の温度以上では疎水性となるような相転移現象を起こす表面を有する温度応答性ポリマーの吸湿材料としての適用を考えた。ポリマー合成の際に架橋剤を用いることでゲル化し、高分子強度を向上させた。ラテックス状のポリマー溶液に弱酸を加えることでゲルを凝集させたところ、粒径が数 100 nm 程度の単分散微粒子として析出していることが走査型電子顕微鏡により確認された。また得られた高分子について、示差熱重量測定装置および湿度発生装置 (TG-DTA / HUM-1) を用いて水蒸気吸脱着量の測定を行った。架橋剤の添加量の違いにより粒径および水蒸気吸着量において変化が見られ、両者の間における関連性が示唆された。

## Hygroscopic Characteristics of Temperature Responsive Polymers

Junko Sakai, Kazuhito Hashimoto, Keisuke Tajima

Development of hygroscopic materials is essential for controlling humidity in air for the purpose of energy saving. However, conventional desiccants such as silica gels and zeolites consume high energy for recycle use. In this research, we designed polymer-based desiccant materials which has a phase transition at a certain temperature, which changes from hydrophilic to hydrophobic when temperature is increased. In the polymer synthesis, cross-linkers were added for gelation and to change the polymer's mechanical strength. By aggregating the polymer latex with weak acid, monodisperse particles of several 100 nm size were precipitated. Moisture adsorption/desorption amount was measured by TG-DTA/HUM-1 apparatus. It was found that the cross-linker concentration largely affected both the particle size and the amount of the moisture adsorption.

## Facile preparation and mechanism study of surface nanoclusters grafted TiO<sub>2</sub> for efficient visible light photocatalysts

Min Liu

Titanium dioxide has attracted much attention during the past years, owing to its wide applications in photocatalysis, photovoltaic cells sensors, and so on. However, TiO<sub>2</sub> can only be activated under UV-light irradiation because of its large band gap, 3.2 eV for anatase and 3.0 eV for rutile. Therefore, a great deal of effort has been directed toward the modification of TiO<sub>2</sub> to make it sensitive to visible light. By now, doping a foreign element into TiO<sub>2</sub>, introducing an isolated impurity state into the forbidden band or narrowing the band gap, is the main approaches to improve its visible light absorption. However, these impurities usually act as recombination centers to decrease its activity. Recently, our group developed efficient visible light sensitive photocatalysts by surface modification of Cu(II) or Fe(III) clusters. However, their activities and antivirus effects are still low. For improving their activities, surface Ti(IV) nanoclusters also was grafted on the surface of TiO<sub>2</sub>. The prepared Fe(III) grafted Ti(IV) modified TiO<sub>2</sub> (Fe(III)-Ti(IV)-TiO<sub>2</sub>) and Cu(II) grafted Ti(IV) modified WO<sub>3</sub> (Cu(II)-Ti(IV)-WO<sub>3</sub>) exhibited very high visible light photocatalytic activities. But, the mechanism of the surface Ti(IV) nanoclusters is still not clear. Further, the reason why Cu(II) modified TiO<sub>2</sub> always show lower activities than that of Fe(III) modified TiO<sub>2</sub> also need to be studied.

Firstly, a serial of thin films, such as pure TiO<sub>2</sub> thin film, Cu(II) modified TiO<sub>2</sub> thin film, Ti(IV) grafted TiO<sub>2</sub> thin film and so on, were prepared by spin coating. We designed two half reactions, for example, silver reduction and lead oxidation, to study the effect of surface Ti(IV) nanoclusters and Cu(II) nanoclusters. It was found silver mainly deposited at the sites of Cu(II) nanoclusters and lead oxide mainly deposited at the sites of Ti(IV) nanoclusters. Thus, it can be concluded that the surface Cu(II) nanoclusters mainly act as electrons trapping centers and the surface Ti(IV) nanoclusters mainly act as hole trapping centers. The photogenerated carriers could be separated by these hole trapping centers and electrons trapping centers more efficiently. Then, the samples could show much better photocatalytic performance.

Secondly, through the ICP measurement, it was found that the grafted amount of Cu(II) was decreased to 10% of the initial value. This maybe the reason, why Cu(II) modified TiO<sub>2</sub> shows weaker activity than that of Fe(III) modified TiO<sub>2</sub>. For increasing the grafted amount of Cu(II), the initial amount of Cu(II) was increased. However, it was found that the value of the surface Cu(II) on TiO<sub>2</sub> did not increase with the initial Cu(II). Thus, the pH condition of Cu(II) modified TiO<sub>2</sub> were studied serially. It was found that the amount of surface Cu(II) increased with the pH value and reach the maximum at the pH value of 12 and the color of the sample will be changed into black if the pH value further increased to 14. Under the pH value of 12, the sample shows the best photocatalytic activity, which is equal to that of Fe(III) modified TiO<sub>2</sub>. While, its quantum efficiency is much higher than that of Fe(III) modified TiO<sub>2</sub>. And the sample also presents a high antivirus effect, which is equal to that of Cu<sub>2</sub>O modified TiO<sub>2</sub>. These results also proved that through modified the surface states of

Cu(II) nanoclusters, Cu(II) grafted TiO<sub>2</sub> is also an efficient visible light photocatalyst for both organic pollution decomposition and antivirus.

### 人工光合成に向けた電子-プロトン伝導性膜の開発

山口晃、中村龍平、橋本和仁

自然界における光合成反応を人工的に達成させる人工光合成系の構築は、光エネルギー変換という観点から非常に重要であり、広く研究されているが、生成物の分離や内部抵抗によるエネルギー損失という課題が残されている。本研究ではこれらの問題を解決させるにあたって、自然界の光合成系におけるチラコイド膜から着想を得て、電子とプロトンの両方に対して伝導性を有する膜を作成し、その両側に水素発生触媒および酸素発生触媒をそれぞれ担持することで、生成物の分離を達成させると同時に、生じた励起子のオンサイト利用によるエネルギー損失の抑制を狙った。本研究ではこのような膜作成の戦略として、固体状態において高いプロトン伝導性を有する、n型半導体としての性質も有する、また構造を制御することによってその電子状態をフレキシブルにコントロールすることが可能であり、可視光領域に吸収を持たない無機酸化物クラスターであるポリオキソメタレート(POM)に着目、これとポリアクリルアミドを用いてプロトンおよび電子に対して伝導性を有するセルフスタンディングな膜の作成に成功した。また、Co<sup>2+</sup>と反応させることで、CoからPOMへの金属-金属間電荷移動遷移が可視光照射下において進行することを確認した。さらに、酸素発生サイトとして酸化マンガンを担持することにより、光照射による水からの酸素発生、ならびにMn→Co→POMという電子の流れを確認した。

### Fabrication of photo- functionalized self- standing electron- and proton- conductive membrane toward artificial photosynthesis

Akira Yamaguchi, Ryuhei Nakamura, Kazuhito Hashimoto

The developments of artificial photosynthetic systems are very important research issues in terms of light energy conversion. Those researches mainly classified into semiconductor systems and photo- electrochemical systems, and these systems possess some intrinsic problems such as the difficulty of products separation and the energy loss caused by inner resistance. To solve these problems, this work fabricated electron- and proton conductive membrane based on polyoxometalate (POM) and to try applying it to artificial photosynthetic systems. Electron- and proton conductivity was confirmed by electrochemical technique such as cyclic voltammogram (CV) and AC impedance measurement. By reacting with Ce<sup>3+</sup> or Co<sup>2+</sup>, photo- functionalization of the membrane sample was achieved utilizing the concept of Metal to Metal Charge Transfer (MMCT). Moreover, by immobilizing MnO<sub>2</sub> nano particle on the surface, O<sub>2</sub> evolution from water and electron flow (Mn→Co→POM) were observed with visible light irradiation. Results in this work provide the noble design strategy toward artificial photosynthetic systems.

## マンガン酸化物の電子状態制御に基づく高活性 CO 酸化触媒の開発

近藤徳仁、 中村龍平、 橋下和仁

マンガン酸化物やその複合酸化物は CO 酸化触媒として機能することが知られている。しかし、これらの触媒は水蒸気存在下で活性の低下を引き起こすことが問題となっている。ここで、酸化マンガン触媒の反応中間体と考えられている  $Mn^{3+}$  は水の存在下で  $Mn^{2+}$  と  $Mn^{4+}$  へ不均化する。このことから、本研究では  $Mn^{3+}$  の不均化が水蒸気存在下における活性低下の原因であるという仮説をたて、不均化の抑制により水蒸気存在下でも高活性な CO 酸化触媒の開発を検討した。 $Mn^{3+}$  の不均化はこのイオンが  $d_4$  高スピンの縮退した電子配置を有することに起因するため、配位子場の対称性を低下させることで不均化の抑制を試みた。そのような観点から二酸化マンガんにフッ素置換を行うことで新規材料であるフッ素置換酸化マンガンを合成した。この材料の物性を検討したところ、フッ素置換により二酸化マンガン表面の  $Mn^{3+}$  の配位子場が非対称化され、 $Mn^{3+}$  の不均化を抑制することに成功した。この物質の触媒活性を検討したところ、水蒸気存在下における CO 酸化活性が約 100 倍向上することを見出した。

N. Kondo, R. Nakamura, K. Hashimoto

CO oxidation is an important technology for industry. Though manganese oxide (including complex oxide) is known for cheap and active catalyst for CO oxidation, there is a problem of causing deactivation under moisture. In this catalyst,  $Mn^{3+}$  is said to be intermediate species, which causes disproportionation reaction and are divided into  $Mn^{4+}$  and  $Mn^{2+}$  in presence of water. In this study, disproportionation is assumed to be the origin of deactivation under moisture. To suppress disproportionation, asymmetrization of ligand field of  $Mn^{3+}$  was attempted because degenerated  $d_4$  high spin configuration of  $Mn^{3+}$  is the cause of this reaction. As the result, fluorine substituted  $MnO_2$  was synthesized. On that material, asymmetrization of ligand field and suppression of disproportionation are confirmed. Checking catalytic activity of this material, CO oxidation activity is enhanced 100-times compare to pristine  $MnO_2$ .

## 光合成 PSII 中心から学ぶ酸化マンガン系酸素発生触媒の開発

犬塚理子、中村龍平、橋本和仁

人工光合成に向けた反応の中でも酸素発生反応は最も困難と言われており、活性の高い触媒が求められている。自然界の光合成においては  $Mn_4$ -cluster が酸素発生中心に用いられており、この触媒活性は極めて高いことが知られている。しかし人工的に合成したマンガン触媒においては、酸素発生を駆動するのに大きな過電圧を必要とする。ごく最近になり当研究室では、 $MnO_2$  電極上からの酸素発生の中間体が  $Mn^{3+}$  であること、そして  $Mn^{3+}$  の不均化反応の起こりやすさによって酸素発生活性が支配されることを見出している。ここで光合成系の酸素発生反応サイクルにおいては、 $Mn^{3+}$  の不均化反応は抑制されており、このことが PSII 中心における活性の高い酸素発生反応の一翼を担っていると考えられる。そこで本研究では  $Mn_4$ -cluster の特徴である結晶構造と配位子に着目した。酸化マンガンによる水の酸化反応の結晶構造依存性を検討した結果、 $Mn_4$ -cluster 類似の構造を含む酸化マンガンが高い触媒安定性・ $Mn^{3+}$

安定性を示した。このことから、 $Mn_4$ -cluster が持つ  $Mn^{3+}$  の高い安定性および高い酸化力はその構造によると考えられる。また  $Mn_4$ -cluster の配位子によるプロトン輸送ネットワークに着目し、配位子としてピリジンを導入した結果 Proton coupled electron transfer が誘起され、マンガン系触媒において最も高い活性をもつものに匹敵する活性が得られた。

## Development of Mn-based water oxidation catalysts learned from PSII centers in natural photosynthesis

Riko Inuzuka, Ryuhei Nakamura, Kazuhito Hashimoto

The water oxidation reaction, which is referred to as a bottleneck in artificial photosynthetic systems, takes place at  $Mn_4$ -cluster in photosystem II (PSII) at the extraordinary high catalytic activity. However, a synthetic Mn-oxide catalyst requires a large overpotential in the range from 500 mV to 700 mV. It was recently identified in our laboratory that the precursor of  $O_2$  evolution by Mn-oxide electrocatalysts is  $Mn^{3+}$ , whose charge disproportionation efficiency into  $Mn^{2+}$  and  $Mn^{4+}$  determines the extent of overpotential of water oxidation. It is worth noting that  $Mn^{3+}$  has been also identified as an intermediate species in PSII, while it is free from charge disproportionation during the catalytic cycle of water oxidation. Therefore, we can expect that the ability of the  $Mn_4$ -cluster to stabilize  $Mn^{3+}$  is one of the origins for the high catalytic activity of natural photosynthesis. Therefore, we focused on the crystal structure and ligands of  $Mn_4$ -cluster. We investigated the crystal structure dependence of water oxidation reaction by manganese oxides. As a result, the manganese oxides which have the structure similar to  $Mn_4$ -cluster had high catalytic stability and  $Mn^{3+}$  stability. It suggests that the origin of high catalytic stability and  $Mn^{3+}$  stability of  $Mn_4$ -cluster is its crystal structure.

## 微生物による腐食メカニズムの検討

茂木岳人、中村龍平、橋本和仁

海底パイプライン、発電所の冷却設備等、多くの嫌気環境において原因不明の急速な腐食ならびに鋼管を貫通するような孔食が確認されている。このような場合において微生物の関与が指摘され、その機構として硫酸還元細菌によるカソード脱分極理論が提唱されている。しかし、近年この理論に反する実験結果が確認されており、硫酸還元細菌の腐食への影響について結論は出ていない。本研究では、腐食環境にあるサウジ原油タンクより採取した微生物群集を用い、嫌気腐食の要因について検討を行った。その結果、炭素鋼の腐食が硫酸還元菌により著しく加速されることが明らかとなった。その理由として、硫酸還元菌のカソード型細胞外電子移動によるカソード反応の活性化、及び、生合成硫化鉄層構築による反応場の拡張、という可能性が示唆された。



## Study of the biocorrosion mechanism

Taketo Mogi, Ryuhei Nakamura, Kazuhito Hashimoto

The corrosion of structures that contain iron is economically devastating. It has been estimated that in the U.S., the cost of corrosion is up to 4.2% of GNP. In the petroleum industry, pipelines, pumps, oil tanks, and gas storage tanks may also be seriously corroded and in many cases the corrosion was suspected to be due to the activity of microbes. Sulfate-reducing bacteria (SRB) are widely regarded as the causative agents of corrosion in anaerobic environments. It is proposed that SRB stimulate iron corrosion via cathodic depolarization, although underlying mechanisms are apparently complex and insufficiently understood.

In this research, we have considered the corrosion effect of microbes by using microbial community collected from a Saudi oil tank which is a corrosive environment. We found that the microbial community has an ability to enhance the corrosion of carbon steel. Possible reasons may be that SRB's cathodic extracellular-electron transfer may enhance the cathodic reaction or SRB may expand the active site by structuring a biogenic FeS layer.

## 電流生成菌ジオバクターの新規細胞外電子伝達経路に関する研究

齋藤滉一郎、中村龍平、橋本和仁

電流生成菌であるシュワネラやジオバクターは、呼吸の最終電子受容体として、細胞外の酸化鉄や電極といった固体物に電子を伝達する能力をもっている。この細胞外電子伝達機能は、微生物燃料電池への応用が期待され、また地球規模での鉄循環や、パイプラインの腐食にも関与していると考えられている。従来、*in-vitro* な単離タンパク質実験に基づいた二つの細胞外電子伝達モデルが提案されていた。一つは、細胞外膜上に発現したシトクロムによる直接型の電子伝達、もう一つは、酸化還元メディエーターを介した間接型の電子伝達である。当研究室では、微生物が生きている状態(*in-vivo*)で電気化学測定を行った。その結果、シュワネラの細胞外電子伝達は、外膜シトクロムとメディエーターであるフラビン類が複合体を形成することによる直接型で進行していることが明らかとなった。さらに、シュワネラの細胞外電子伝達は、ほぼその複合体のみを介して行われていることまで明らかとなっている。

本研究では、シュワネラよりも広範囲に生息する電流生成菌ジオバクターを用いて新規細胞外電子伝達経路の一般化の検討を行った。高感度な電気化学測定である微分パルスボルタンメトリーや、遺伝子破壊株を用いた実験を行ったところ、ジオバクターにおいても細胞外電子伝達に支配的な新規経路が成り立つことが示唆された。

## Investigations of a new pathway for extracellular electron transfer in current producing bacteria, "Geobacter"

Koichiro Saito, Ryuhei Nakamura, Kazuhito Hashimoto

Current producing bacteria, such as *Shewanella* and *Geobacter* species, have an ability to utilize iron oxides and electrodes as a terminal electron acceptor for respiration. This extracellular electron transfer (EET) is expected to be applied to microbial fuel cells. Moreover, these

microorganisms are thought to play a key role in corrosion and the global cycle of iron. Previously, two EET models have been suggested on the basis of in vitro experiments with isolated proteins. One is a direct electron transfer model mediated by outer membrane cytochromes. The other one is an indirect model mediated by redox mediator such as flavin. In our laboratory, we investigated the EET mechanism with in vivo electrochemical methods. As a result, it was verified that the EET in *Shewanella* was mediated by complexes of flavins and outer membrane cytochromes. Furthermore, the flavin complexes mediate a dominant EET pathway.

In this research, we investigated the generality of the new EET pathway with *Geobacter* species, which live in diverse environments. In this experiment, we utilized mutant strains and highly-sensitive differential pulse voltammetry. As a result, it is suggested that *Geobacter* species have the dominant new EET pathway.

### 光を利用した細胞濃縮技術の開拓

大岡英史、中村龍平、橋本和仁

現在、微生物の光合成を用いた有用物質生産の研究が精力的に行われている。特に緑色藻類ミドリムシにおいては、光合成から得られる C14 モノエステルがジェット燃料に適していること、さらに酸性条件下で旺盛な二酸化炭素固定能力を示し屋外培養が可能であることから、ミドリムシによる太陽油脂製造は産業界からも大変期待されている。しかし、油脂製造過程に存在する菌体濃縮過程では膨大なエネルギーが必要であり、実用化に向けて大きなハードルとなっている。そこで本研究では、ミドリムシが動物的側面を持ち外的刺激に鋭敏に反応することに着目し、ミドリムシが元来持つ光応答性、すなわち走光性を利用することで菌体濃縮を試みた。その結果、照射光を工夫することで従来手法と同程度の濃縮率が得られ、さらに従来にはなかった巨視的な観察を行うことでミドリムシ走光性について非常に興味深い知見が得られた。

### Light-induced Cell Condensation for Cost Effective Biofuel Production

Hideshi Ooka, Ryuhei Nakamura, Kazuhito Hashimoto

Bio-fuel synthesis using the green algae *Euglena gracilis* has high expectations for 2 reasons; It's photosynthetic product is a C14 mono-ester which can be used as jet fuel, and it thrives in acidic conditions, eliminating any possibility of contamination. However, cell condensation uses almost as much energy as we can get from the fuel itself. To solve this problem, we focused on phototaxis, which is the movement of cells in response to a certain light. From this research, we have not only achieved a condensation rate just as high as current methods, but we have also uncovered new and interesting knowledge by studying the phenomenon from a macro-oriented perspective.

## 生体親和性ポリマーを用いた細胞外電子移動系の構築と細胞内酸化還元状態の制御

西尾晃一

微生物代謝に対して、電極から細胞へ電子を注入する、あるいは抽出する微生物培養法である電気化学培養は、微生物代謝の促進あるいは制御に向けて期待される技術である。一般的に電気化学培養には微生物と電極間の電子伝達を媒介する電子メディエーターが必須である。本研究では、生体親和性を有するメディエーターとして、MPC とビニルフェロセンのコポリマーPoly(MPC-co-VF)(PMF)を合成した。この PMF をシアノバクテリアに対して適用したところ、光強度に依存した電流が得られた。この事実は、PMF が細胞質内のチラコイド膜から細胞外の電極へと細胞膜を横断した電子伝達を実現していることを強く示唆するものである。現在は、この新規合成 PMF を利用して、電気化学培養によって強光下におけるシアノバクテリアの光ストレスを緩和する研究に取り組んでいる。さらには、フェロセンモノマーをメチル基などで修飾することによって、PMF の酸化還元電位を操作し、これにより新たな細胞外電子移動経路を確立する研究にも取り組んでいる。

## Extracellular Electron Transfer and Regulation of Intracellular Redox-State via Biocompatible Polymer

Koichi Nishio

Electrochemical cultivation is a technology which can improve and regulate microbial metabolisms by injecting or extracting electron from microbes to an electrode. The electron transfer generally needs an electron mediator. In the present study, a copolymer, which is composed of MPC and vinylferrocene, was synthesized as an electron mediator with biocompatibility. PMF was found to shuttle extracellular electron transfer across cell membrane without cytotoxicity. PMF also mediated photocurrent from cyanobacteria according to the light intensities. This suggests that electrons in thylakoid membranes in cytoplasm were transferred to extracellular electrode via PMF. This study is now attempting to suppress cyanobacterial stress under excess light irradiation by electrochemical cultivation. In addition, substituted ferrocene monomers, whose redox potentials depend on the substituents such as methyl groups, are synthesized to mediate extracellular electron transfer with new electron pathway.

## 異元素ドーピンググラフェンに担持された白金ナノクラスターの電子状態解析と酸素還元反応特性

松田翔一、神谷和秀、中西周次、橋本和仁

酸素還元電極反応 (ORR) は各種燃料電池におけるカソード反応として重要であるが、実用的な速度で反応を進行させる触媒は白金とその合金しかないのが現状である。こうした背景から、白金使用量の低減は喫緊の課題である。しかしながら、白金量低減のために白金粒子サイズを小さくすると ORR 活性が低下し、その原因の一可能性として微小白金の電子状態の変化が指摘されている。この課題に対して、我々はグラフェンを支持体とした白金触媒の開発を進めている。グラフェンの  $\pi$  電子軌道は sp<sup>2</sup> carbon により構成され、フェルミ準位の直下に存在する。そのため、ヘテロ元素を (窒素、ホウ素) をグラフェンに導入することにより、グラフェン  $\pi$  電子系の制御が可能となる。ここで、白金がナノサイ

ズで担持されたグラフェンにおいては、グラフェンとの電子的相互作用を介して白金の電子状態が変化することが期待される。我々は、グラフェンにドーピングする元素の種類に応じて白金の電子状態を制御し、これにより微小白金の ORR 活性を向上させることを試みている。

## Tuning of electronic state of platinum nano-clusters on graphene toward the improvement of the oxygen reduction reaction activity

Shoichi Matsuda, Kazuhide Kamiya, Shuji Nakanishi, Kazuhito Hashimoto

Oxygen reduction reaction is one of the important reactions in fuel cell. However, at present, only platinum and its alloy proceed the reaction at practical rate. Because of its high cost, the reduction of the mass of platinum used is essential task. However, the ORR activity becomes worse with decreasing the platinum cluster size. The electronic structure change accompanied with the decrease of particle size is supposed to be one of the reasons. To overcome this problem, we developed the platinum based catalyst using the graphene as catalyst support. The  $\pi$  electron orbital of graphene is constituted by  $sp^2$  carbon, therefore, the electronic state of  $\pi$  electron can be controlled by doping of heteroatom (such as nitrogen or boron) into the graphene. The electronic structure of platinum deposited on such substrates is also expected to be modified with the heteroatom doping though the interaction with  $\pi$  electrons of graphene. We're now trying to improve the ORR activity of the nano-platinum based on the above strategy.

## 電気化学的手法による光合成細菌の遺伝子発現パターン制御

魯玥

光合成は、太陽光と  $CO_2$  から様々な有機物が合成される究極のエネルギー・物質変換システムである。近年、光合成細菌など生細胞の光合成機能そのものを利用した有用物質生産に関する研究が盛んになっている。その多くは分子生物学的手法に立脚しているが、こうした手法は、安全性の確保やコストなどの面で問題を抱えている。一方、光合成細菌においては、菌体内の酸化還元状態を介して外部環境をセンシングし、これに対応して光合成に関連する遺伝子や酵素の発現レベルが変調されることが知られている。この事実に着目し、本研究では、光合成効率の向上を目指して、電気化学的手法で光合成細菌体内の酸化還元種の酸化還元状態を操作することによって光合成関連遺伝子およびタンパク質の発現レベルを制御することを試みた。結果的に、本研究では、非酸素発生型 *Rhodospseudomonas* および酸素発生型 *Synechococcus* の二種類の光合成微生物の遺伝子およびタンパク質発現のレベルが、細胞外電子移動の電気化学的操作で可逆制御可能であることを示した。また、シアノバクテリアの生物時計の電気化学的なチューニングにも世界で初めて成功した。本研究を通して得られた基礎的知見は、今後、微生物の関与するエネルギー・物質変換系の効率向上だけでなく、より高等な生物の代謝制御などの医薬・生物学などの分野で広く利用されることが期待される。

## Electrochemical regulation of gene expression profiles of photosynthesis bacterium

Lu Yue

Photosynthetic bacteria are able to synthesize organic compounds from CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O and solar energy. As this is an ideal energy conversion system with carbon-neutrality, a lot of attempts for the enhancement of the CO<sub>2</sub> fixation have been made so far. For this purpose, control of the expression levels or profiles of genes involved in photosynthesis is of fundamental importance. In recent years, it has become clear that the redox state of photosynthetic electron transfer chains affect gene-expression related to photosynthesis. The objective of this work is to electrochemically regulate the expression of genes related to photosynthesis toward the enhancement of bacterial CO<sub>2</sub> fixation efficiency. In this work, the expression of chlorophyll gene of *Rhodospseudomonas* was regulated under different redox potential. Moreover, circadian clock-controlled gene expression of *Synechococcus* cells is successfully regulated by the electrochemical method. This result also demonstrates for the first time that an electrical pulse mimicking natural L/D cycles is able to entrain the circadian clock of a cyanobacterium. We anticipate that the concept of regulating gene expression using electrical signals will improve the photosynthetic efficiency of photosynthetic cells and could potentially release the cells of higher eukaryotes from circadian dysrhythmia.

## 電気化学的手法を用いたラルストニア菌のバイオプラスチック生産性向上

木元裕紀、西尾晃一、橋本和仁

近年、廃液や非可食資源を原料とした脱化石燃料型のエネルギー生産システムとして、微生物—電極間の細胞外電子移動を利用したエネルギー・物質変換が注目されている。当研究室では、この細胞外電子移動を電気化学的に制御する事で、電流生成菌の代謝を制御することに成功している。そこで本研究では、この電気化学的手法を有用物質生産菌による有用物質の生産性向上に応用する事を考え、モデル物質として、微生物が生産するバイオプラスチック原料であるポリヒドロキシ酪酸 (PHB) を、モデル微生物として PHB 生産菌 *Ralstonia eutropha* を使い、PHB の生産性向上を試みた。この際、電極と微生物の間の細胞外電子移動を円滑化するために、当研究室で開発された生体適合性メディエーターPMFを用いた。その結果、+0.6 V (vs SHE)の電極電位印加により、電気化学を用いない場合と比べ、PHB 生産性が約 70%向上する事が示された。これは、電位印加により、細胞外電子移動が活発化することで、PHB の原料であるフルクトースの代謝が活性化したため、PHB 生産性が向上したものと考えられる。今後の展望としては、電気化学培養条件における微生物の PHB 生産機構の解析により、PHB 及びその他の有用物質の生産性をさらに向上させる指針を得る事が挙げられる。

## Enhancement of Polyhydroxybutyrate Productivity of *Ralstonia eutropha* by Extracellular Electron Transfer

Yuki Kimoto, Koichi Nishio, Kazuhito Hashimoto

Microbial conversion system from biomass into biofuels or valuable chemicals (i.e. biorefinery) using microbial extra electron transfer (EET) has attracted keen attentions with respect

to achievement of carbon-neutral society. In our laboratory, electrochemical regulation of the metabolism of current generation bacteria has been succeeded by the regulation of EET. In this research, electrochemical EET regulation was applied to the enhancement of valuable chemicals productivity using polyhydroxyalkanoate (PHA) (one of promising materials for bioplastics) as a model valuable chemical. *Ralstonia eutropha*, which is one of the PHA producing bacteria, was cultivated in a three-electrode electrochemical cell with PMF as a mediator. When the electrode potential was kept at +0.6 V vs. SHE, current generated via PMF according to the metabolism of *Ralstonia*, and PHA production rate was enhanced 70% compared with non-electrochemical conditions. Fructose consumption rate and the activity of nitrate reduction pathway showed correlation with EET and PHA production metabolism. We conclude that electrode can be an additional electron acceptor for microbial metabolisms, and enhance metabolic activity for PHA production.

### 光合成細菌の光合成活性向上を目指した電気化学的手法による RuBisCO 遺伝子発現制御

戸島裕希

光合成細菌の代謝における CO<sub>2</sub> の光固定化とそれによる有用物質生産 (光-化学エネルギー変換) は、太陽エネルギー利用の観点から注目されている。光合成細菌における光-化学エネルギー変換を司るカルビン回路では、RuBisCO 酵素が実際に CO<sub>2</sub> の還元反応を触媒する。しかし、その触媒能は低く、この酵素活性がカルビン回路全体の活性を律している。従って、光合成活性の向上のためには、RuBisCO の発現レベルを向上させることが求められる。一方で、光合成細菌は、光強度や酸素濃度といった外部環境を、細胞膜内キノンの酸化還元状態として認識し、それに応じて RuBisCO を含む光合成タンパク質の遺伝子発現を調節する能力を有している。本研究では、これらのことを考え合わせ、紅色光合成細菌 *Rhodospirillum rubrum* をモデル細菌とし、電気化学的な手法により菌体内の酸化還元状態を変化させ、RuBisCO を含む光合成遺伝子発現を変化させることで光合成活性を制御することを試みた。その結果、RuBisCO、クロロフィル、二種類の光合成遺伝子の発現量を変化させ、光合成活性を制御することに成功した。

### Electrochemical regulation of gene expressions about RuBisCO in purple bacteria toward the improvement of the photosynthetic efficiency

Yuki Toshima

Photosynthetic microbes are able to synthesis organic compounds from CO<sub>2</sub> by using light energy, and have attracted much attentions for production of useful organic compounds and biofuels from CO<sub>2</sub>. The rate-limiting factor of the photosynthesis in photosynthetic bacteria is known to be CO<sub>2</sub>-fixation process (Calvin cycle). Especially, the activity of RuBisCO, which is CO<sub>2</sub>-fixing enzyme, is much lower compared with general enzymes (3/s). By improving the expression level or the activity of RuBisCO, total activity of the photosynthesis is expected to be improved. On the other hands, it is known that photosynthetic bacteria can sense environmental factors (e.g. light intensity and O<sub>2</sub>

concentration) through the redox state of the electron transport chain in the cells, and regulate the expression levels of photosynthetic genes including a gene for RuBisCO depending on the redox state.

In this study, it was attempted that the redox state of the electron transport chain in photosynthesis bacteria (*Rhodospseudomonas palustris*) was interfered by electrochemical cultivation with the aim being put on enhancing the expression level of RuBisCO toward the improvement of the CO<sub>2</sub>-fixating ability. Bacteria are cultivated in electrochemical cells photoautotrophically under different potentials. As a result, gene expressions about RuBisCO were successfully regulated by electrode potential, affecting the CO<sub>2</sub> fixation ability.