

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 11 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2013

課題番号：23658076

研究課題名(和文)微生物変換反応による有機金属錯体の高機能化

研究課題名(英文)Functional conversion of organometallic complexes by microbial reaction

研究代表者

日比 慎(Hibi, Makoto)

京都大学・(連合)農学研究科(研究院)・助教

研究者番号：30432347

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円、(間接経費) 900,000円

研究成果の概要(和文)：色素増感太陽電池(DSC)は、高効率さと低製造コストを併せ持つ次世代の太陽電池である。DSCにおいて高い電力変換効率を得るための重要な要素の1つは色素であり、ルテニウム有機金属錯体系色素の構造類似体が高機能性を示している。本研究では微生物酵素の持つ多彩な触媒作用により、ルテニウム色素を修飾・置換することでその機能性の向上を目指した。本研究の実施の結果、ルテニウム色素を資化する微生物を多数取得することができた。またルテニウム色素資化性菌の中にルテニウム色素を吸着して代謝する微生物を見出したことから、新規ルテニウム色素変換酵素の発見を期待させる結果となった。

研究成果の概要(英文)：Dye-sensitized solar cell (DSC) is the next generation of solar cells that combine low manufacturing cost and high efficiency. One of the important factors for obtaining a high power conversion efficiency in the DSC is the dye, and structural analogs of the ruthenium organometallic complex dye indicates a high functionality. In this study, we aimed at improving functionality of the ruthenium dye by modifying with microbial enzymes, which show the various catalytic actions. As the results of the this study, many microorganisms assimilate ruthenium dye were obtained. Furthermore, it is found some ruthenium dye utilizing bacteria metabolized ruthenium dye after adsorbing it. The result was to be expected the discovery of novel ruthenium dye-converting enzyme.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・応用微生物学

キーワード：微生物酵素 色素増感太陽電池 有機ルテニウム錯体 微生物スクリーニング 酵素触媒

### 1. 研究開始当初の背景

有機金属錯体は金属イオンに有機化合物が強く結合した化合物で、多くの優れた機能性を示す事が知られている。有機金属錯体は生体内にも様々な形で存在しており、例えばポルフィリンの金属錯体としてヘム、クロロフィル、シアノコバラミンなど酵素反応に重要な補因子として機能するものが挙げられる。一方で近年特に注目を集めているのが有機デバイス材料としての有機金属錯体の利用である。有機電子デバイスにはフレキシブル性、軽量・大面積、低コストプロセスなどの特徴があり、これまで実現不可能であった分野・用途への電子機器の適用例を広げてきた。有機イリジウム錯体や有機ルテニウム錯体は有機 EL の発光素子・有機トランジスタ材料・有機太陽電池材料として非常に優れた性能を発揮することが知られている。

色素増感太陽電池 (DSC: dye sensitized solar cell) は、高効率さと低製造コストを併せ持つ次世代の太陽電池である。DSC は半透明であるため発電する窓としての利用が期待されている。DSC の構造は非常にシンプルであり、インジウムドープ酸化スズ (ITO) で出来た透明な導電性ガラス板に二酸化チタン粉末を焼き付け色素を吸着させた負極と、同じく導電性ガラス板の正極から構成され、ヨウ素系などの電解質溶液の酸化還元反応を伴い発電する。DSC の光電気変換効率は最大で約 11% であり、約 20% の効率を持つシリコン系の太陽電池と比較すると低い。そのため、今後の大幅な改善が必要となっている。DSC において高い電力変換効率を得るための重要な要素の 1 つは色素であり、近年効率を向上させる様々なタイプの新たな色素が開発されている。DSC に最も良く使われている基本的な色素はルテニウム有機金属錯体系色素である  $RuL_2(NCS)_2$   $L=2,2'$ -bipyridyl-4,4'-dicarboxylic acid である。近年の研究ではこの色素をベースに改良を加えた構造類縁体が効率の向上に良好な結果を示している。

しかしながら以上の有機電子デバイスの原材料は有機化合物であるのにも関わらず、その開発過程において酵素反応が利用されてきた例はほとんどなかった。

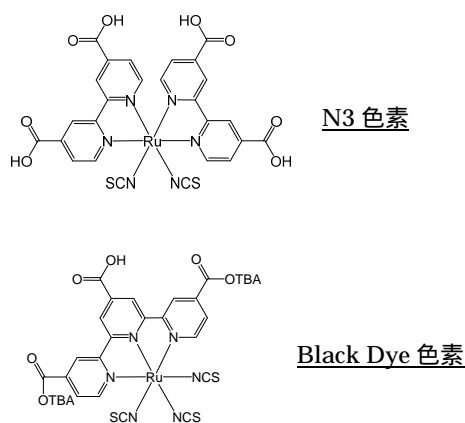
### 2. 研究の目的

本研究では微生物酵素の持つ多彩な触媒作用により、ルテニウム色素  $RuL_2(NCS)_2$  の分子構造の一部を修飾・置換することでその機能性の向上を目指した。酵素反応によりルテニウム色素がどの様に構造変換されるかは全く予想がつかず、人為的な合理的設計法では生み出すことのできない分子種の開発が可能になるのである。このように本研究で生み出される成果は既存の色素増感太陽電池の効率の向上に大きく貢献するのみならず、有機金属錯体類の機能向上にどのような官能

基が有効かを知る手掛かりとなると考えた。

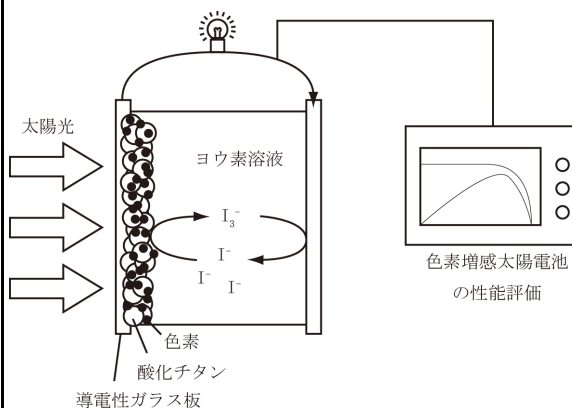
### 3. 研究の方法

環境中より採取した土壌の懸濁液を汎用的なルテニウム色素である N3 色素、もしくは Black Dye 色素 (図 1) を単一炭素源とする最少培地に接種し、継代培養を繰り返す事でルテニウム色素産生菌の集積化した。これらの色素は水溶性が低い分散剤としてエタノールを添加した。こうして取得された土壌分離菌株、および申請者研究室の 1,000 株以上の保存菌株をルテニウム色素変換反応のスクリーニングに供した。変換反応は微生物菌体、ルテニウム色素、緩衝液を含む反応液を 28℃ で一昼夜振とうさせた後、ルテニウム色素の変換反応産物の分析を行った。



< 図 1 本研究で用いたルテニウム色素 >

反応液中の色素の紫外可視吸収スペクトルを測定することで、ルテニウム色素吸収波長や吸光度の変化を観測した。さらに反応液を薄層クロマトグラフィー (TLC) や高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いた分離分析に供する事で、ルテニウム色素  $RuL_2(NCS)_2$  の酵素変換反応産物の有無を検出



< 図 2 色素増感太陽電池 (DSC) の構造 >

する。また反応液中に含まれるルテニウム色素  $\text{RuL}_2(\text{NCS})_2$  及びその変換産物を用いた DSC 系を構築し、光電気変換効率を測定した。すなわち、酸化チタンを焼付けた透明電極に色素混合物を塗布し、DSC の負極として用いた。また炭素で皮膜した透明電極を正極として用いた。以上の負極と正極でヨウ素電解液を挟み込むことで DSC 装置を作製した。(図 2) この装置に蛍光灯を照射することで発生する電力を太陽電池 I-V 特性計測装置(ケースレーインストルメンツ製 2401 型ソース・メータ)で測定した。コントロールとして、N3 色素もしくは Black Dye 色素を塗布した負極を使用した DSC 装置を用いて比較することで、色素混合物の光電気変換効率の変化を評価した。

#### 4. 研究成果

ルテニウム色素資化性菌の集積の結果、N3 色素資化性菌としてバクテリア 97 株・糸状菌 12 株、そして Black Dye 色素資化性菌としてバクテリア 104 株・糸状菌 18 株が単離された。これらの土壌分離菌、および研究室保存菌をルテニウム色素変換反応に供した(表 1)。

	N3 色素資化性菌	Black Dye 色素資化性菌	研究室保存菌
供試菌	109	122	1,026
スペクトル強度減少	1	2	0
スペクトルパターン変化	0	0	0

<表 1 微生物スクリーニング結果>

各ルテニウム色素の変換反応前後における反応液の紫外可視吸収スペクトルの変化を観測したところ、スペクトル強度が減少した反応液はあったものの、スペクトルパターンの大きく変化した反応液の反応液は確認できなかった。スペクトル強度の減少が観察された反応液に関してより詳細な解析を進めたところ、ルテニウム色素が微生物菌体に吸着している現象が観察された。すなわちこれらの微生物は、ルテニウム色素を菌体表面に取り込んだ後に代謝を行っている事が示唆された。

一方で変換反応後の反応液に含まれるルテニウム色素を用いた色素増感太陽電池を作製して光電気変換効率の評価を実施したところ、変換効率の向上したものは見られなかった。また TLC 分析や HPLC 分析においても反応液にルテニウム色素の変換産物を確認する事はできなかった。すなわち、今回の微生物スクリーニングにおいて反応液中

のルテニウム色素を菌体に取り込んで酵素による変換反応を行った後に再度反応液に放出する活性を保持した微生物が得られなかったと考えられる。

以上の結果より、本研究においてルテニウム色素を資化する微生物を多数取得することはできたが、その菌体反応液中において色素増感太陽電池に有効な構造変化を伴う中間体を見出すことはできなかった。一方でルテニウム色素を菌体表面に取り込んだ後に代謝を行う微生物が得られており、これらの微生物がどのような代謝経路によりルテニウム色素を分解・資化しているかに興味が持たれるところである。今後これら微生物の持つ代謝酵素を明らかにしていくことで、本研究の目的とするルテニウム色素の変換反応が可能になると考えられる。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 1 件)

So, K., S. Kawai, Y. Hamano, Y. Kitazumi, O. Shirai, M. Hibi, J. Ogawa, K. Kano. Improvement of a direct electron transfer-type fructose/dioxygen biofuel cell with a substrate-modified biocathode. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **16**, 4823-4829 (2014).

[学会発表](計 0 件)

[図書](計 0 件)

[産業財産権] 出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

[その他]  
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

日比 慎 (HIBI, Makoto)

京都大学・大学院農学研究科・助教

研究者番号：30432347

(2) 研究分担者

安藤 晃規 (ANDO, Akinori)

京都大学・学内共同利用施設等・助教

研究者番号：10537765

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：