

令和 2 年 6 月 6 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07713

研究課題名(和文) 電極での触媒微生物の定着機構の解明とハイブリッド化によるバイオカソード性能の進化

研究課題名(英文) Analysis of establishment mechanism of catalytic microorganisms on the cathode surface and biocathode performance improvement by hybrid systems

研究代表者

小林 肇 (Kobayashi, Hajime)

東京大学・大学院工学系研究科(工学部)・准教授

研究者番号：50549269

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：電気化学的メタン生成では、微生物を触媒とする電極(バイオカソード)により電流と二酸化炭素からメタンを合成する。リアルタイムPCRとFISH法により、バイオカソードの表面菌叢は、主にメタン菌と放線菌から構成されていることが示された。これら微生物の遺伝子発現を解析したところ、メタン菌では水素資化性メタン生成に關与する遺伝子群が高発現していた。放線菌ではシトクロムや酸化還元酵素の遺伝子群が高発現しており、電極から電子をくみ上げていることが示唆された。以上から、これら2種の微生物による栄養共生的な相互作用が電気化学的メタン生成を触媒していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

電気化学的メタン生成は、電流を利用し、温暖化ガスである二酸化炭素を燃料であるメタンに変換する反応で、再生可能エネルギー電力の有効利用や排水処理、バイオガス改質における活用が期待されている。本研究では、電気化学的メタン生成を触媒するバイオカソードの触媒機構の解明につながる新規の知見を得た。これら知見は今後のバイオカソードの性能の向上やリアクター設計、反応最適化のための研究に有用であり、今後のスケールアップや技術実証に向けた基盤となるものである。

研究成果の概要(英文)：Electromethanogenesis is bioelectrochemical synthesis of methane from CO₂ by biocathodes. In an electromethanogenic system using thermophilic microorganisms, quantitative real-time polymerase chain reaction and fluorescence in situ hybridization revealed that the biocathode microbiota was dominated by the methanogen *Methanothermobacter* sp. strain EMTCatA1 and the actinobacterium *Coriobacteriaceae* sp. strain EMTCatB1. RNA sequencing was used to compare the transcriptome profiles of each species at the biocathodes. For the methanogen, genes related to hydrogenotrophic methanogenesis were highly expressed. For the actinobacterium, the expression profiles of genes encoding multiheme c-type cytochromes and membrane-bound oxidoreductases suggested that the actinobacterium directly takes up electrons from the electrode. Hence, we propose that a syntrophy-like interaction exists between these two species, which serves to catalyze electromethanogenesis at the biocathode.

研究分野：微生物工学

キーワード：微生物電気化学的システム 電気化学的メタン生成 メタン菌 バイオ電極 二酸化炭素

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 電気化学的メタン生成 (Electromethanogenesis: EM) とは電気化学的反応の触媒として微生物を利用する微生物電気化学的システム (Bioelectrical System: BES) の一種であり、バイオカソードにおいて電子を還元力として二酸化炭素をメタンへと変換する反応である。EM 反応のカソード側の反応式は右式のように表される: $CO_2 + 8H^+ + 8e^- \rightarrow CH_4 + 2H_2O$ 。EM 反応の電子利用効率は 96% に上ることから、出力変動の大きい再生可能エネルギー発電による電力を水素やメタン等の気体燃料に変換し、貯蔵・利用する Power to Gas 技術、汚泥処理技術やバイオガス改質における EM の活用が期待されている。しかし、EM 反応の微生物機構に関しては未解明の点が多かった。

(2) 私たちは、これまで高い EM 触媒活性を示す好熱性バイオカソードを構築し、それを研究モデルとして EM の研究を行ってきた。近年のメタゲノム解析とドラフトゲノム再構築により、同バイオカソードの表面微生物叢の 2 種の優占種の存在が示唆された。一方は *Methanothermobacter* sp. strain EMTCatA1 という *M. thermotrophicus* に近縁のメタン菌であった。もう一方は *Coriobacteriaceae* sp. strain EMTCatB1 という *Coriobacteriaceae* 科の新規の細菌であった。優占種 2 種の全長ドラフトゲノム配列を基に、KEGG データベース (www.kegg.jp) を用いた遺伝子アノテーション及び KEGG の BlastKOALA, Mapper プログラムを用いた代謝経路の再構築が行われた。その結果、*Methanothermobacter* sp. strain EMTCatA1 は水素資化性メタン生成経路や窒素固定系等、水素資化性メタン菌種で報告されている代謝経路に関わる遺伝子が保存されていることが示唆された。また、*Coriobacteriaceae* sp. strain EMTCatB1 の全体的な代謝系は、好気呼吸に関する代謝経路が欠けており、同細菌が嫌気系の代謝経路を持っていることが示唆された。加えて、同細菌は二酸化炭素を炭素源として固定できない従属栄養生物であることが示唆された。

2. 研究の目的

(1) 本研究では、EM の技術利用を目指し、主にバイオカソードにおける微生物的な触媒機構の解明を目的とした研究を行なった。特に、上述の優占種 2 種に焦点を絞り、これら優占種のバイオカソード上での生態と触媒能の関係と EM 反応における役割を明らかにした。

3. 研究の方法

(1) バイオカソードの構築: バイオカソード構築手法として、一槽式リアクターで前培養したバイオカソードを、二槽式リアクターで定電位培養する Two-reactor Step 法を採用した。八橋油田の地層水由来の微生物源を一槽式リアクターで -0.7 V の電圧を印加して培養を行った。形成されたバイオカソードを二槽式リアクターへ移植しポテンシオスタットを用いて、-0.5 V vs. SHE の定電位を付与し培養、解析に供した。

(2) 電気化学的解析および数理解析: Cyclic Voltammetry (CV) や Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS) により電気化学的特性の解析を行なった。その後、リアクターを破壊し、走査型電子顕微鏡 (SEM) を用いてバイオカソード表面の観察を行なった。Fiji のプラグインである Trainable Weka Segmentation (TWS) を用いて SEM 検鏡画像から微生物を抽出、微生物のサイズにより大桿菌と小桿菌とに分類し、各リアクターの微生物密度を算出した。数理モデルとしては、既往研究と同様に、MEC において有効性が確認された式 eq. 1 を使用している。目的関数を実験値と計算値の残差平方和とし、spicy (ver. 1.3.1) の leastsq を用いて K_R のパラメータ推定を行った。

$$R_{int} = R_{min} + (R_{max} - R_{min})e^{K_R x_e} \quad \text{式 ep. 1}$$

R_{int} : 内部抵抗, R_{min} : 内部抵抗観測値の最小値, R_{max} : 無菌カソードを用いた条件での内部抵抗, K_R : 曲線の傾きを決めるパラメータ, x_e : 微生物密度

(3) リアルタイム PCR: バイオカソードから抽出した DNA サンプルを検体とし、リアルタイム PCR 法により、同 DNA 中の各微生物種に由来する遺伝子を絶対定量した。16S rRNA 遺伝子を標的に、それぞれ古細菌全般(ARC)、Methanobacteriales 綱のメタン菌種(MBT)、細菌全般(BAC)、EMTCatB1 種にそれぞれ特異的なプライマーを用いて、各 DNA 検体に対するそれぞれの微生物種の存在量を定量した。

(4) 蛍光 in situ ハイブリダイゼーション (FISH): FISH 法を用いてバイオカソード表面における優占種の原位置観察を行った。*Methanothermobacter* sp. strain EMTCatA1 を検出するために *Methanobacteriales* 目のメタン菌を標的とした MB311 プロープ (5' - ACCTTGCTCAGGTTCCATCTCC-3', Alexa488 で標識) を用いた。標的のメタン菌種は厚い細胞壁を持つため、同細胞壁の成分であるシュードムレインを分解する酵素 rPeiW による処理を行うことで蛍光プロープの浸透性向上を図った。*Coriobacteriaceae* sp. strain EMTCatB1 を検出するために、ARB を用いて同菌の 16S rRNA に特異的なプロープ B1_648 (5' - TTCCTCTACCAGACTCGAGGCT-3', Alexa488 で標識) をデザインして用いた。標的の菌種はグ

ラム陽性の細胞壁を持つため、エタノールでサンプルを固定、lysozyme と achromopeptidase 処理により細胞膜を易透化した。プローブをハイブリダイゼーションした後、洗浄を行い、蛍光顕微鏡を使用して観察した。対比染色には蛍光色素 DAPI と SYTO59 を用いた。

(5) トランスクリプトーム解析：リアクター6基を解析に供した。2サンプルはEM反応を行なっているバイオカソードから mRNA を抽出したものである (CC1, CC2)。2サンプルはEM触媒活性を持つバイオカソードが形成されたことを確認した後に、メタン生成阻害剤 2-bromoethanesulfonate (BrES) を最終濃度が 12 mM になるように添加し、5時間経過後に RNA 抽出を行った (BrES1, BrES2)。残りの2サンプルについては、CCと同様の条件で培養を行い、EM触媒活性を持つバイオカソードが形成されたことを確認した後に、回路を開回路 (Open-Circuit) とすることでカソードへの電圧付与を停止し、5時間経過後に RNA 抽出を行った (OC1, OC2)。DNA と rRNA を除去し精製した mRNA を増幅した後、逆転写により cDNA ライブラリーを作成し、Illumina HiSeq-2500 による網羅的な塩基配列解析に供した。得られたリードの品質のチェック、不要な配列や低品位のリードをクリーニング (除去) した後、各優占種のゲノムにコードされている遺伝子上にマッピングし、どの転写物にどれだけのリード数が得られたかを解析した。得られたデータを基に各遺伝子の発現量を算出し、KEGG データベースの機能階層ごとに遺伝子の発現量を定量した。また、特に高発現している遺伝子に着目し、BLAST を用いた相同性解析によってそれらの遺伝子の機能についてより詳細に調べた。edgeR (ver. 3.16.1) を用いて尤度比検定を行ない、FDR ≤ 0.05 を基準として異なる3条件下における発現変動遺伝子を抽出した。さらに、抽出された発現変動遺伝子のサンプル間・遺伝子間の類似度を解析するため、scipy (ver. 1.3.1) の cluster.hierarchy.linkage を使用して階層クラスタリングを行なった。発現量の変化に着目するため、各遺伝子・サンプル間の類似度としてピアソンの相関係数を採用した。クラスタリングの手法には群平均法を採用した。その後、非類似度 0.25 を基準として1つのクラスターとした。

4. 研究成果

(1) リアルタイム PCR を用いて、バイオカソードの表面の微生物叢における古細菌全般、Methanobacteriales 目の古細菌、細菌全般、Coriobacteriaceae sp. strain EMTCatB1 の 16S rRNA 遺伝子量を定量した。バイオカソード表面微生物叢中の全古細菌に占める Methanobacteriales 目の割合は約 52%、全細菌に占める Coriobacteriaceae sp. strain EMTCatB1 の割合は約 51% であった。また、バイオカソード表面微生物叢の FISH 解析を行った。バイオカソード表面で観察された微生物はほとんどが桿菌であり、細胞の大きさから大桿菌 (細胞の長径が 1.6 μm 以上) と小桿菌 (細胞の長径が約 0.8 ~ 1.6 μm) に分けられた。それぞれの優占種に特異的な蛍光プローブによる標識により、大桿菌が Methanothermobacter sp. strain EMTCatA1 であり、小桿菌は Coriobacteriaceae sp. strain EMTCatB1 であることが示唆された。バイオカソード表面の全菌数に占める Methanothermobacter sp. strain EMTCatA1 の割合は約 49%、Coriobacteriaceae sp. strain EMTCatB1 の割合は約 69% であった。以上の結果から、上記の優占種 2 種が実際にバイオカソードの表面微生物叢における主な構成微生物種であることが示された。

(2) SEM を用いて6つのバイオカソード (C1~C6) の表面を鏡、TWS により鏡画像中から桿菌を抽出し、選択領域を近似した楕円の長軸の長さが 1.6 μm 以上のものを大桿菌、0.8 μm 以上 1.6 μm 未満のものを小桿菌としてそれぞれの微生物密度を算出した (Fig. 1)。FISH の結果から大桿菌は Methanothermobacter sp. strain EMTCatA1、小桿菌は Coriobacteriaceae sp. strain EMTCatB1 に対応すると考えられ、大桿菌の存在比率が 20~30%、小桿菌の存在比率が 60~70% となり、FISH 解析と同様の結果が得られた。微生物密度計測結果を数理モデル (eq. 1) に適用しバイオカソードの内部抵抗との回帰分析を行なったところ、大桿菌の微生物密度がバイオカソードの内部抵抗と高い相関を示し (決定係数 (R^2): 0.86) (Fig. 2)、Methanothermobacter sp. strain EMTCatA1 が EM 反応において中心的な役割を果たしていることが示唆された。また、小桿菌の微生物密度や全桿菌密度を用いた場合も決定係数は 0.8 程度と高く、Coriobacteriaceae sp. strain EMTCatB1 も EM 反応に関与している可能性が示唆された。

(3) バイオカソードのトランスクリプトーム解析の結果、発現が確認された転写物 (リード) のうち優占種 2 種にアノテーションされた転写物は全体の 69%~92% であった。このことから、上述の優占種 2 種がバイオカソード上で活発に遺伝子発現を行ない、EM 反応に関与していることがさらに示唆された。

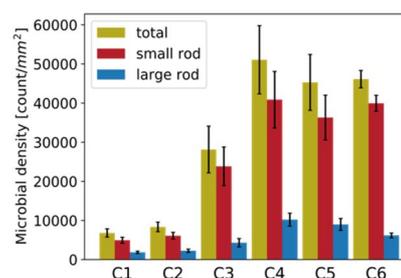


Fig. 1 微生物密度測定結果

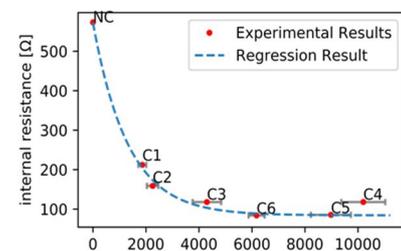


Fig. 2 回帰分析結果 (大桿菌)

(4) *Methanothermobacter* sp. strain EMTCatA1 のバイオカソード上での遺伝子発現を解析したところ、代謝系に関わる遺伝子、特にメタン代謝に関わる遺伝子の高発現が見られ、15 の水素資化性メタン生成に關与する遺伝子が発現量上位 10% に含まれていた。メタン生成に関わる酵素をコードする遺伝子の中でも、*mcr* 遺伝子を中心に水素枯渇(低水素濃度条件)下で誘導される遺伝子の高発現が見られた(Fig. 3)。同古細菌の持つ遺伝子のうち 14 遺伝子は、近縁種 *M. thermautotrophicus* strain ΔH にホモログを持たない遺伝子であり、これら遺伝子が EM に関与する可能性がある。しかし、これら遺伝子群は多くが低発現であることから、同古細菌は *M. thermautotrophicus* strain ΔH と同様に単独では EM 触媒活性を持たないメタン生成菌であることが示唆された。尤度比検定により、146 の発現変動遺伝子が抽出された。階層クラスタリングの結果、6 クラスタが形成された(Fig. 4A)。最も大きなクラスタである A1-I は CC 条件下で発現量の多い遺伝子を含むが、このクラスタの 49 遺伝子のうち、28 遺伝子は機能不明の仮想タンパク質がコードされていた。また、直接的な電子伝達に関与する酵素のホモログをコードする遺伝子は発現変動遺伝子中には見られなかった。BrES や OC 条件下でメタン生成が停止しているにも関わらず、メタン生成に関与する遺伝子群は *mtrG* (*tca_01086*) を除いて発現変動遺伝子に含まれず、2-bromoethanesulfonate によるメタン生成阻害処理はメタン生成遺伝子の発現に影響を与えないという報告と同様の結果となった。

(5) *Coriobacteriaceae* sp. strain EMTCatB1 のバイオカソード上での遺伝子発現を解析したところ、代謝系に関わる遺伝子群が最も高い割合で発現していた。その中でも解糖・糖新生系やピルビン酸の代謝に関わる遺伝子群が高発現しており、ピルビン酸が中心的な代謝中間物であることが示唆された。発現量上位には、c 型シトクロム、[NiFe]ヒドロゲナーゼ、ギ酸デヒドロゲナーゼなどが含まれていた。c 型シトクロムを含むタンパク質には、固体表面から電子を直接授受できる活性を持つものが知られている。これらの酵素はカソード上で生成している可能性のある水素やギ酸等の電子キャリアーの代謝を触媒できる。*Coriobacteriaceae* sp. EMTCatB1 と同じグラム陽性菌である *Firmicutes* 門の *Thermincola potens* は電極(アノード)に電子を受け渡すことができることが知られている。興味深いことに、バイオカソードで高発現している *Coriobacteriaceae* sp. EMTCatB1 の遺伝子の産物と、*T. potens* の菌体表面、細胞壁、内膜で検出されたタンパク質群に共通のものが数多くみられ、*Coriobacteriaceae* sp. EMTCatB1 がカソードからの電子の汲み上げと利用に関与していることが示唆された。エネルギー代謝に関しては、V 型 ATP 合成酵素のサブユニットをコードする遺伝子の発現量が高かった。V 型 ATP 合成酵素は細胞膜を挟んだプロトン濃度勾配と膜電位からなるプロトン駆動力を利用して細胞内のエネルギーキャリアである ATP の合成を行う酵素である。このことから、同細菌はバイオカソード上でプロトン濃度勾配を利用してエネルギーを獲得していることが示唆された。尤度比検定の結果、103 遺伝子が発現変動遺伝子として抽出された。階層クラスタリングの結果、5 つのクラスタが形成された(Fig. 4B)。CC 条件下で高発現する遺伝子を含むクラスタ B1-II には c 型シトクロム、ギ酸デヒドロゲナーゼのヒドロゲナーゼ部位、V 型 ATP 合成酵素のサブユニットをコードする遺伝子が含まれており、これら遺伝子が EM 反応に関与している可能性が示唆された。また、優占種 2 種に共通して、メタン生成停止条件(BrES, OC)下で高発現する遺伝子を含むクラスタ(A1-IV, B1-V)が存在し、シャペロン、プロテアソームや抗酸化酵素のホモログをコードする遺伝子が含まれており、メタン生成停止条件では優占種 2 種共に何らかのストレス下にあったと考えられる。

(6) 以上の結果から、EM 反応は優占種 2 種がバイオカソード上で代謝的に相互依存することにより触媒される可能性が考察された(Fig. 4)。まず、*Coriobacteriaceae* sp. EMTCatB1 が c 型シトクロムを用いてカソードから電子を獲得し、[NiFe]ヒドロゲナーゼを用いて獲得した電子と菌体内のプロトンから水素を生成する。このようにして生成された水素とリアクター中の二酸化

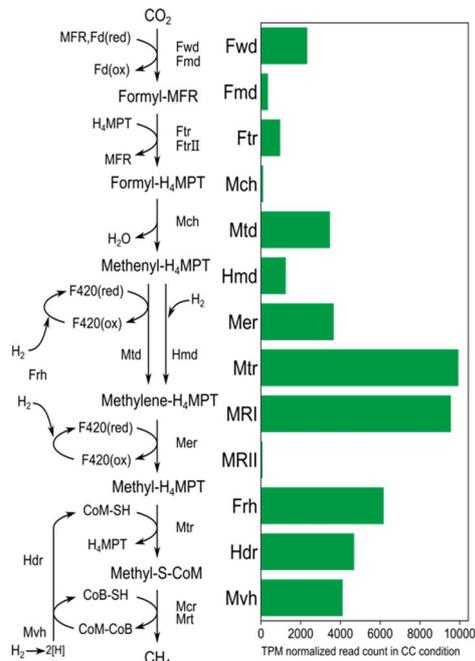


Fig. 3 メタン生成経路と遺伝子発

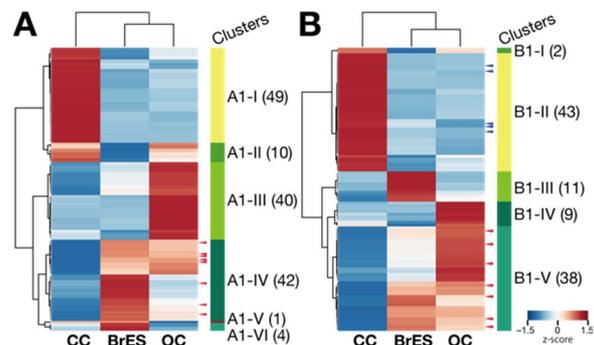


Fig. 4 階層クラスタリング結果

(6) 以上の結果から、EM 反応は優占種 2 種がバイオカソード上で代謝的に相互依存することにより触媒される可能性が考察された(Fig. 4)。まず、*Coriobacteriaceae* sp. EMTCatB1 が c 型シトクロムを用いてカソードから電子を獲得し、[NiFe]ヒドロゲナーゼを用いて獲得した電子と菌体内のプロトンから水素を生成する。このようにして生成された水素とリアクター中の二酸化

炭素を *Methanothermobacter* sp. strain EMTCatA1 が水素資化性メタン生成経路により消費し、メタンへと変換することで EM 反応が完結する。また、*Methanothermobacter* sp. strain EMTCatA1 が水素を消費し、リアクター内の水素分圧を低く保つことで、*Coriobacteriaceae* sp. EMTCatB1 の代謝の維持にも貢献している。

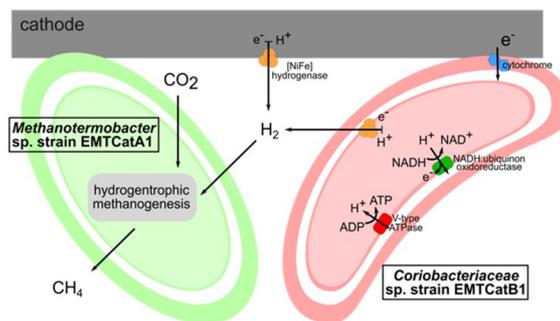


Fig. 5 優占種 2 種による EM 反応機構の概念図

(7) 上記のように、本研究ではバイオカソードの優占種 2 種の代謝的相互作用によって EM 反応が触媒されている機構が示唆された。

また、反応に関与すると考えられる酵素やタンパク質についての知見を得ることができた。さらに、上記の研究で用いた好熱性バイオカソード以外の EM 触媒能を有するバイオカソードの表面微生物叢の組成を解析した結果、全てで *Methanobacteriales* 目のメタン菌が、多くで *Coriobacteriaceae* 科の細菌が検出されたことから、これら知見はある程度の一般性があることが示唆された。今後、EM の効率最大化や実スケール化、さらには EM の実用化に向け、本研究において得られた酵素やタンパク質の生化学的な解析や数理モデルの構築が求められる。

<引用文献>

- K. Sato, H. Kawaguchi and H. Kobayashi (2013) "Bio-electrochemical conversion of carbon dioxide to methane in geological storage reservoirs." *Energy Convers Manage* 66:343-50.
- 小林肇, 中杉康仁, 姫野将徳, 孙晓晗, 長嶋彩乃, 宮本寛之, 佐藤光三. "電気化学的メタン生成を触媒する好熱性バイオカソードの生物電気化学・数理的解析." *資源処理技術* 64(2), 36-41, 2017.
- Q. Fu, Y. Kuramochi, N. Fukushima, H. Maeda, K. Sato and H. Kobayashi (2015) "Bioelectrochemical analyses of the development of a thermophilic biocathode catalyzing electromethanogenesis." *Environ Sci Technol*, 49:1225-32.
- H. Kobayashi, X. Sun, Q. Fu, H. Maeda and K. Sato (2017) "Draft genome sequence of *Methanothermobacter* species strain EMTCatA1 reconstructed from the metagenome of a thermophilic biocathode catalyzing electromethanogenesis." *Genome Announc*, 5: e00892-17.
- H. Kobayashi, Q. Fu, H. Maeda and K. Sati (2017) "Draft genome sequence of a novel *Coriobacteriaceae* sp. strain EMTCatB1 reconstructed from the metagenome of a thermophilic electromethanogenic biocathode." *Genome Announc*, 5: e00022-17.
- H. Kobayashi, A. Nagashima, M. Kouyama, Q. Fu, M. Ikarashi, H. Maeda and K. Sato (2017) "A high-pressure thermophilic electromethanogenic system producing methane at 5 MPa, 55 . ." *J Biosci Bioeng*, 124:327-32.
- J. Li, Z. Li, S. Xiao, Q. Fu, H. Kobayashi, L. Zhang, Q. Liao, X. Zhu (2020) "Startup cathode potentials determine electron transfer behaviours of biocathodes catalysing CO₂ reduction to CH₄ in microbial electrosynthesis" *J CO₂ Utilization*, 35:169-75.
- Z. Li, Q. Fu, H. Kobayashi, S. Xiao, J. Li, L. Zhang, Q. Liao, X. Zhu (2019) "Polarity reversal facilitates the development of biocathodes in microbial electrosynthesis systems for biogas production" *Int J Hydrogen Energ*, 44: 26226-36.
- J. Li, H. Li, Q. Fu, Q. Liao, X. Zhu, H. Kobayashi, D. Ye (2017) " Voltage reversal causes bioanode corrosion in microbial fuel cell stacks. " *Int J Hydrogen Energ*, 42:27649-56.
- Q. Fu, S. Xiao, Z. Li, Y. Li, H. Kobayashi, J. Li, Y. Yang, Q. Liao, X. Zhu, X. He, D. Ye, L. Zhang, M. Zhong (2018) "Hybrid solar-to-methane conversion system with a Faradaic efficiency of up to 96%." *Nano Energy*, 53: 232-9.
- Q. Li, Y. He, Q. Fu, H. Kobayashi, J. Li, L. Zhang, Q. Liao, X. Zhu (2020) "PEDOT/GO modified biocathode promotes CO₂ reduction to CH₄ in microbial electrosynthesis" *Sustain Energy Fuels*, in press.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 H. Kobayashi, A. Nagashima, M. Kouyama, Q. Fu, M. Ikarashi, H. Maeda and K. Sato	4. 巻 124
2. 論文標題 High-pressure thermophilic electromethanogenic system producing methane at 5 MPa, 55 °C	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Bioscience and Bioengineering	6. 最初と最後の頁 327-332
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbiosc.2017.04.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 J. Li, H. Li, Q. Fu, Q. Liao, X. Zhu, H. Kobayashi, D. Ye	4. 巻 42
2. 論文標題 Voltage reversal causes bioanode corrosion in microbial fuel cell stacks	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 International Journal of Hydrogen Energy	6. 最初と最後の頁 27649-27656
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijhydene.2017.05.221	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 H. Kobayashi, X. Sun, Q. Fu, H. Maeda and K. Sato	4. 巻 5
2. 論文標題 Draft genome sequence of Methanothermobacter species strain EMTCatA1 reconstructed from the metagenome of a thermophilic biocathode catalyzing electromethanogenesis.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Genome Announcements	6. 最初と最後の頁 e00892-17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/genomeA.00892-17	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 小林 肇, 中杉康仁, 姫野将徳, ソンギョウカン, 長嶋彩乃, 宮本寛之, 佐藤光三	4. 巻 64
2. 論文標題 電気化学的メタン生成を触媒する好熱性バイオカソードの生物電気化学・数理的解析	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 環境資源工学	6. 最初と最後の頁 36-41
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 小林 肇	4. 巻 95
2. 論文標題 温暖化抑制のためにバイオができることは	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 生物工学会誌	6. 最初と最後の頁 667
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Q. Fu, S. Xiao, Z. Li, Y. Li, H. Kobayashi, J. Li, Y. Yang, Q. Liao, X. Zhu, X. He, D. Ye, L. Zhang, M. Zhong	4. 巻 53
2. 論文標題 Hybrid solar-to-methane conversion system with a Faradaic efficiency of up to 96%	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nano Energy	6. 最初と最後の頁 232-239
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.nanoen.2018.08.051	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 J. Li, Z., Li, S. Xiao, Q. Fu, H. Kobayashi, L. Zhang, Q. Liao, X. Zhu	4. 巻 35
2. 論文標題 Startup cathode potentials determine electron transfer behaviours of biocathodes catalysing CO ₂ reduction to CH ₄ in microbial electrosynthesis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of CO ₂ Utilization	6. 最初と最後の頁 169-175
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jcou.2019.09.013	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小林 肇, 中杉康仁, 姫野将徳, ソンギョウカン, 長嶋彩乃, 宮本寛之, 佐藤光三
2. 発表標題 電気化学的メタン生成を触媒する好熱性バイオカソードの生物電気化学・数理的解析
3. 学会等名 環境資源工学会第136回学術講演会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 長嶋 彩乃, ソンギョウカン, 中杉 康仁, 宮本 寛之, 小林 肇
2. 発表標題 電気化学的メタン生成バイオカソードの触媒能に関わる微生物種の解析
3. 学会等名 環境微生物系学会合同大会2017
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

小林研究室HP https://sites.google.com/site/hajimekobayashisys/home 小林肇ホームページ https://sites.google.com/site/hajimekobayashisys/home
--

6. 研究組織		
	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)
		備考