

機関番号：12601

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21750186

研究課題名 (和文) 微生物集団の代謝活動における半導体鉱物材料の役割

研究課題名 (英文) Roles of semiconductive minerals in metabolic activity of microorganisms

研究代表者

中村龍平 (NAKAMURA RYUHEI)

東京大学・大学院工学系研究科・助教

研究者番号：10447419

研究成果の概要 (和文)：電流産生菌の一種である *Shewanella loihica* PV-4 が酸化鉄を豊富に含む深海底から採取されたことに着想を得て、電気化学系に半導体特性を有する酸化鉄のナノコロイドを添加した。すると、微生物がナノコロイドの半導体特性を利用した長距離電子伝達経路を自己構築し、その結果、電流生成能が 50 倍と飛躍的に増大する現象を見出した。これは、深海底における微生物と鉱物が作り出す新しい生体電子伝達経路の存在を示していると同時に、微生物燃料電池の高効率化に向けて新しい方法論を提供するものである。

研究成果の概要 (英文)：To examine the roles of semiconductive minerals in the respiratory activity of microorganisms, we cultured the dissimilatory metal-reducing bacterium, *Shewanella loihica* PV-4, in an electrochemical cell and examined the influence of cell surface-associated Fe-oxide nanocolloids on the extracellular electron-transfer efficiency. The respiratory current was greatly improved (over 50 fold) when α -Fe₂O₃ were supplemented into the cell cultures. In vivo electrochemical studies have revealed that electrons injected from the cells to the conduction band of colloids to move long distances from cell surfaces without the use or requirement of soluble electron shuttles. This finding suggests the microbial ability to exploit semiconductive minerals for transporting and sharing electrons in anaerobic environments.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2010 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：機能材料・デバイス

キーワード：半導体、エネルギー、電気化学、微生物、複合材料

1. 研究開始当初の背景

自然界には様々な鉱物材料が存在している。鉄含有鉱物を例にとると、 α -Fe₂O₃, α -FeOOH, γ -Fe₂O₃, Fe₃O₄, FeS, FeS₂ などが挙げられる。最近の地質学研究によって、鉄含有鉱物の大部分は鉄還元菌などのバクテリアの代謝活動 (生合成) によって形成したものであるこ

と、そしてそれらが地球規模での物質・エネルギー循環に重要な役割を果たしていることが明らかになってきている。しかし「鉱物材料の固体物性が、バクテリアの代謝活動にどのような影響を与えているのか？」という問いに関しては、地質学、生物学、化学、物理学いずれの分野においてもこれまで議論

がなされてこなかった。

2. 研究の目的

本研究では、鉄鉱物とバクテリアの相互作用を鉱物の固体物性論に基づいて予測し、鉱物半導体とバクテリアからなる機能秩序体を利用したエネルギー生産システム（微生物発電ならびに炭酸ガス固定）を創出することを目的とした。

3. 研究の方法

鉄還元菌として *Shewanella loihica* PV-4 を用いた。電気化学測定は、作用極に tin-doped indium oxide、対極に Pt 線、参照極 $\text{Ag}|\text{AgCl}|\text{KCl}_{\text{sat}}$ 電極をそれぞれ使い、嫌気条件下で行った。電解質には 170 mM の NaCl、微生物の電子および炭素源には 10 mM ラクトートを用いた。硫化鉄の生合成は、*S. loihica* を、塩化鉄(III)ならびにチオ硫酸イオンの存在下で、電子源には乳酸 10 mM を用い行なった。

4. 研究成果

鉄還元細菌 *S. loihica* は、海拔-1325m の Naha 火口から単離された種であり、天然においては固体の酸化鉄を電子受容体として利用することで代謝を営んでいる。通常の微生物と同様、有機物を含む反応容器内で *S. loihica* の培養を行っても、発生する電流はわずかであった。そこで我々は、電流発生菌が鉄マットに生息していることに着想を得て、酸化鉄のナノコロイドを電気化学セル内に添加した。すると、状況は大きく変わった。微生物からの電流発生が時間とともに増大し、最終的には微生物だけの場合に比べて、50倍以上もの電流が発生した。

電流測定後、電子顕微鏡を用いて電極表面の観察を行ったところ、酸化鉄ナノ粒子が細胞表面を覆い、細胞同士が直径 50 nm 程度のワイヤー状の構造体を介して 3次元の凝集構造体を形成している様子が観測された。これは、酸化鉄が細胞と細胞の間の電子伝達を仲介する物質として働き、長距離の電子ホッピングネットワークが電極上に形成されたことを示している。これによって、電極から遠く離れたところに存在している電流発生菌も電子を受け渡すことができる、つまり呼吸して生き延びられるようになったと考えられる。さらに、海底で起こるバイオミネラリゼーションにも着想を得て、鉄イオンと硫黄イオンを同時に加えた。すると数時間の培養後、*S. loihica* が大量の黒色沈殿（硫化鉄：mackinawite）を作り始め、電流の発生量は最大で 200 倍にまで増大した。細胞を含む黒色沈殿は、その後の解析から金属的な電気伝導性があることを確認した。つまり、微生物が自ら電子伝達材料を合成し、それを電子伝達ネ

ットワークとして利用することで電流の大幅な増大を可能にしていることが明らかになった。

以上の成果は、微生物が鉄鉱物材料の電気伝導性を自身の代謝過程に利用していることを示した最初の報告である。同時に、酸化鉄や硫化鉄が自然界に豊富に存在していることを考えると、微生物燃料電池の電極材料設計において新たな指針を与えるものであると言える。

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 7 件）

- ① A. Okamoto, R. Nakamura, K. Hashimoto, "In-vivo Identification of Direct Electron Transfer from *Shewanella Oneidensis* MR-1 to Electrodes via Outer-membrane OmcA-MtrB Protein Complexes, *Electrochimica Acta*, 2011, 56, 5526-5531. (査読有り)
- ② R. Nakamura, T. Takashima, S. Kato, K. Takai, M. Yamamoto, K. Hashimoto, Electrical Current Generation across a Black Smoker Chimney, *Angewandte Chemie-International Edition*, 2010, 49, 7692-7694. (査読有り)
- ③ R. Nakamura, A. Okamoto, N. Tajima, G. J. Newton, F. Kai, T. Takashima, K. Hashimoto, Biological Iron-Monosulfide Production for Efficient Electricity Harvesting from a Deep-Sea Metal-Reducing Bacterium, *ChemBioChem*, 2010, 11, 643-645. (査読有り)
- ④ R. Nakamura, K. Kamiya, K. Hashimoto, Direct Electron-transfer Conduits Constructed at the Interface Between Multicopper Oxidase and Nanocrystalline Semiconductive Fe oxides, ***Chemical Physics Letters***. 2010, 498, 307-311.
- ⑤ R. Nakamura, K. Ishii, K. Hashimoto, Electronic Absorption Spectra and Redox Properties of C Type Cytochromes in Living Microbes, *Angewandte Chemie-International Edition*, 2009, 48, 1606-1608. (査読有り)
- ⑥ A. Okamoto, R. Nakamura, K. Ishii, K. Hashimoto, In vivo Electrochemistry of C-Type Cytochrome-Mediated Electron-Transfer with Chemical Marking, *ChemBioChem*, 2009, 10, 2329-2332. (査読有り)
- ⑦ R. Nakamura, F. Kai, A. Okamoto, G. J. Newton, K. Hashimoto, Self-Constructed Electrically Conductive Bacterial

Networks, Angewandte
Chemie-International Edition, 2009, 48,
508-511. (査読有り)

[学会発表] (計7件)

- ① 中村龍平 “微生物とナノ鉱物を利用した
エネルギー変換” 電気化学会第76回大会、
2009/3/29、京都大学
- ② 中村龍平、甲斐祥文、橋本和仁
光電気伝導性を示す微生物ネットワーク体
の自発形成
2009 光化学討論会、2009/9/17、群馬大学
- ③ 中村龍平、甲斐祥文、橋本和仁
Microbial Semiconductor Respiration:
How Does Shewanella Engage in
Long-Distance Extracellular Electron
Transfer? Second international MFC
symposium, 2009/6/11, Gwagnju, Korea
- ④ 中村龍平 “鉄系ナノ粒子を利用したバクテ
リア細胞外電子輸送” 電気化学会北海道支
部設立40周年記念式典、2010/7/3、北海道
大学
- ⑤ 中村龍平、橋本和仁 “Long-Distance
Extracellular Electron-Transfer in
Shewanella/Iron-Oxide Nanocolloid
Networks” 2010 World Congress on
Industrial Biotechnology and
Bioprocessing, 2010/6/29, Washington, D. C,
USA
- ⑥ 中村龍平、甲斐祥文、橋本和仁 “光電気化
学的手法を用いた微生物長距離電子輸送経
路のその場観察” 2010 電気化学会秋大会、
2010/9/3、神奈川工科大
- ⑦ 中村龍平 “バクテリアと半導体鉱物材料
～ 深海底における電流生態系の可能性”
2010 年度第2回関西電気化学研究会、
2010/10/2、京都大学

[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◇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 ()

研究者番号：

(2) 研究分担者 ()

研究者番号：

(3) 連携研究者 ()

研究者番号：