

令和 5 年 6 月 15 日現在

機関番号：82108

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2021～2022

課題番号：21K20546

研究課題名(和文)細胞外電子摂取と共役する細胞内代謝反応を切り口とした微生物電氣的鉄腐食機構の解明

研究課題名(英文)Elucidation of electrical biocorrosion mechanism from the viewpoint of cellular metabolism coupled with extracellular electron uptake

研究代表者

Deng Xiao (DENG, Xiao)

国立研究開発法人物質・材料研究機構・高分子・バイオ材料研究センター・研究員

研究者番号：90903740

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,400,000円

研究成果の概要(和文)：海底や地下などの嫌気環境における鉄パイプラインの腐食は、エネルギー産業を中心に工業化国で年間数百億ドルもの甚大な経済損失を引き起こしている。嫌気鉄腐食の主因として硫酸還元菌が知られており、菌体と鉄表面との電氣的相互作用が熱心に研究されてきたが、引き抜いた電子による電子受容体の還元に関する研究はほとんどなかった。本研究は、腐食細菌の電子受容体が二種類存在すると、鉄腐食と硫酸塩還元代謝が大きく加速することを見出した。この結果は新規な腐食菌検出キットへの応用が可能であり、特許化した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

実環境には豊富な電子受容体が存在するにも関わらず鉄腐食速度への影響は見過ごされてきた。本研究は、第二の電子受容体が硫酸塩と共存すると嫌気鉄腐食が加速されることを明らかにした。この知見は、短時間で腐食を探知する技術への応用も見込み、本研究の内容は腐食菌検出キットとして特許化している。さらに、実環境での速い鉄腐食に対する理解を深め、今後の防食技術の発展に貢献するものと期待される。また、本研究は硫酸還元菌による代謝についてエネルギー論的側面から分析することで、電子摂取と共役する電子のエネルギーを昇圧する機構も提案しており、貧栄養環境中における菌体の生存戦略への理解を深めている。

研究成果の概要(英文)：Corrosion of iron pipelines in anaerobic environments, such as the seabed and underground, causes significant economic losses of hundreds of billions of dollars per year, particularly in industrialized countries with energy industries. Sulfate-reducing bacteria are known to be the main cause of anaerobic iron corrosion, and the electrical interaction between bacterial cells and iron surfaces has been extensively studied. However, there has been little research on the reduction of electron acceptors, which is coupled with the electron withdrawal process. In this study, we investigated how the co-presence of electron acceptors impacts the iron corrosion rate. We found that the co-presence of sulfate with fumarate, DMSO, or nitrate significantly accelerates iron corrosion and sulfate reduction. We applied our findings to develop a new corrosion bacteria detection kit, which has been submitted for patent application.

研究分野：微生物鉄腐食

キーワード：嫌気鉄腐食 硫酸還元菌 細胞外電子摂取 電子受容体 酸化還元電位 エネルギー獲得 微生物電氣化学 細胞外電子摂取

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

海底や地下などの酸素のない嫌気環境における鉄パイプラインの腐食は、エネルギー産業を中心に、工業化国で年間数百億ドルと推定される甚大な経済損失を引き起こしている。嫌気鉄腐食の主因として、硫酸還元菌の代謝活動が挙げられる。例えば、硫酸還元菌の代謝物である硫化水素(H_2S)は鉄と化学反応を起こすことが知られている。更に、 H_2 を介さず固体から直接電子摂取を行う硫酸還元菌も発見されており、その腐食速度は既知の腐食菌で最も大きい。このため、固体鉄から電子を引き抜く「電氣的鉄腐食」機構は、嫌気鉄腐食において極めて重要だと提案されている。これまでの研究では、菌体と鉄表面との電氣的相互作用が熱心に研究されてきたが、引き抜いた電子による電子受容体の還元に関する研究はほとんどなかった。実際、これまでの硫酸還元菌による腐食に関する研究では、硫酸塩が唯一の電子受容体として用いられており、他の電子受容体の利用が電子摂取過程へ与える影響は全く調べられていない。しかし、実環境では、硫酸塩以外にも幅広い電子受容体が存在している。

2. 研究の目的

本研究では、硫酸塩以外の電子受容体の還元が細胞外電子摂取過程と共役するのかを明らかにし、共役する場合は、電子受容体の差が菌体活性、腐食速度へ与える影響をエネルギー論の観点から解明することを目指す。

3. 研究の方法

本研究は、電子摂取を行う硫酸還元菌 *Desulfovibrio vulgaris* Hildenborough をモデル菌とした。電子受容体の共存が嫌気鉄腐食速度へ与える影響を解明するため、硫酸塩以外にフマル酸、硝酸、ジメチルスルホキシド(DMSO)を第二の電子受容体として存在する条件下で、炭素鋼試験片(10 mm, 10 mm, 1 mm)の腐食実験を行った。また、電子受容体の共存による鉄腐食の加速機構を調べるため、菌体による細胞外電子摂取速度を電気化学測定より分析するとともに、電極上における菌体の電子受容体の消費速度、遺伝子発現、電極培養後の生菌数の分析も行った。

4. 研究成果

(1) 一年次

電子受容体として硫酸塩(15 mM, $E^0 = -210$ mV)のみ、フマル酸(5 mM, $E^0 = +31$ mV)のみ、DMSO(5 mM, $E^0 = +160$ mV)のみ、硝酸塩(5 mM, $E^0 = +420$ mV)のみ、または硫酸塩(15 mM)に加えてフマル酸、DMSO、硝酸塩のいずれか一種(5 mM)を含む液体培地に、腐食モデル菌 *Desulfovibrio vulgaris* を加え、鉄板を唯一の電子供与体として腐食実験を行った。その結果、電子受容体の共存による腐食の加速が観測された。二種類の電子受容体が共存する場合、1週間後鉄表面腐食孔の深さは数 μm から約 20 μm まで増加したほか、鉄表面には 1 mm にも達する分

厚い腐食生成物が観測された。また、第二の電子受容体が持つ酸化還元電位は、正であるほど腐食への促進効果が大きいと予想されたものの、最も促進したのは硫酸塩と DMSO が共存する条件であり、硝酸塩が最も正の酸化還元電位を有するにも関わらず、腐食促進効果が少なかった。それは、*D. vulgaris* が硝酸塩を還元する際、毒性の亜硝酸塩が生成したためだと考えられる。これらの結果は、硫酸塩以外の電子受容体の共存により腐食が加速されることを示している他、電子受容体の酸化還元電位以外に、代謝物の毒性も腐食速度に影響を与えることを強く示唆している。

(2) 二年次

硫酸塩が唯一の電子受容体である場合、及び他の電子受容体が共存する場合において、腐食速度が促進される機構を解明するため、*D. vulgaris* の細胞外電子摂取速度の変化を微生物電気化学測定により調べた。その際、作用極には酸化インジウム錫電極を用い、嫌気鉄腐食の過程で観測される腐食電位 -200 mV を印可して唯一の電子供与体とした。実験の結果、硫酸塩のみの場合と比べ、硫酸塩とフマル酸が共存した場合、電流生成が少し促進された他、フマル酸濃度の減少及び硫酸塩の消費速度の増加も見られた。一方で、電極なしの実験系では、フマル酸と硫酸塩のどちらも減少しなかった。これらの結果から、菌体は硫酸塩還元を駆動する NADH (-320 mV) を生成するのに十分のエネルギーを、 -200 mV の電極から獲得していることが分かった。*D. vulgaris* が -200 mV 印加の ITO 電極からエネルギーを獲得したことを示すもう一つの実験として、電極有り無しの条件で *D. vulgaris* を 4 週間培養して、培養後の生菌数を計測した。その結果、電極なしの条件と比べ、 -200 mV の電極がある場合、より多くの菌が生きていることが分かった。菌体はどのように -200 mV の電子を利用して、 -320 mV を要する NADH の生成反応を駆動するかを調べるため、電極有り無しの条件で培養した菌体の遺伝子発現解析を行った。電極上の菌体は電子分岐反応を媒介するフマル酸還元酵素を大量発現していたことが分かった。このため本研究では、フマル酸($+30\text{ mV}$)の還元反応で得られたエネルギーを利用して、電極から引き抜いた電子のエネルギーを -200 mV から -320 mV 以上へ昇圧する機構を腐食菌が持つというモデルを提案した。

本研究により、硫酸還元菌が引き起こす鉄腐食速度は、細胞外電子摂取速度だけでなく、電子受容体の還元と直結する細胞内の電子伝達過程も重要な影響を与えていることが分かった。更に、硫酸還元菌は電子受容体のコンビネーションをうまく利用し、熱力学的にエネルギーが足りない固体の電子供与体も利用して生存できることが分かった。この知見は複雑な電子受容体を含む実環境における嫌気鉄腐食過程へ新たな知見を与えるほか、硫酸還元菌が有機物などの可溶性エネルギー源が不足している地下等の環境において固体をエネルギー源として利用する生存戦略にも新たな理解を与えた。更に、本研究の電子受容体の共存による腐食加速という発見は、硫酸還元菌の検出するキット(特許出願済み、特願 2022-130472)の開発にもつながると期待できる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Deng Xiao, Okamoto Akihiro	4. 巻 453
2. 論文標題 Direct extracellular electron transfer to an indium tin doped oxide electrode via heme redox reactions in <i>Desulfovibrio ferrophilus</i> IS5	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Electrochimica Acta	6. 最初と最後の頁 142293 ~ 142293
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.electacta.2023.142293	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 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 硫酸還元菌検出キット、及び硫酸還元菌の検出方法	発明者 トウギョウ、岡本章 玄、ファムデュエン ミン	権利者 物質・材料研究 機構
産業財産権の種類、番号 特許、特願2022-130472	出願年 2022年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

電子受容体の共存による電氣的微生物鉄腐食の加速に関する研究というタイトルで、英知を結集した原子力科学技術・人材育成推進事業の成果報告会で招待講演を行った。

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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------