

発電菌が発電時に発酵していることを発見

～微生物燃料電池と高効率な物質・材料生産を両立する技術への応用に期待～

配布日時：平成29年7月13日14時

国立研究開発法人 物質・材料研究機構

概要

1. 国立研究開発法人物質・材料研究機構（NIMS） エネルギー・環境材料研究拠点の岡本章玄主任研究員、東京大学大学院工学系研究科応用化学専攻の徳納吉秀 大学院生（JSPS 特別研究員 DC1）、元同所属の橋本和仁教授（現 NIMS 理事長）の研究チームは、微生物燃料電池に応用されている細菌「発電菌」において、これまで発電時に呼吸しかしないと考えられてきた発電菌が、発酵を行っていることを明らかにしました。さらに、発酵反応が高速化する仕組みも見出しました。呼吸より発酵の方が多様な物質生産へと繋がるため、発電菌の発酵反応を高効率に進行させることで、発酵と発電を組み合わせた新しい物質生産技術への展開が期待できます。

2. 細菌は一般的に、「呼吸」と「発酵」という代謝反応によって、有機物を分解して生きていくエネルギーを得ています。有機物を分解する際に電子（還元力）が発生しますが、呼吸では電子を細胞外の物質に渡してエネルギーを得ているのに対し、発酵では細胞外への電子の移動はありません。発電菌は、有機物の分解で発生した電子を体外の電極に渡すことができるため、電気の供給源として利用することができます。そのため、発電菌が発電できるのは呼吸をしているからであって、発酵は起きていないと考えられてきました。一方、細菌の呼吸や発酵は、産業として広く応用されており、特に発酵はお酒の製造から薬剤前駆体やバイオプラスチックなど、多様な物質生産が可能です。もし発電菌で発酵を起こすことができれば、発電しながら同時に多様な物質を生産できる技術を開発できます。

3. 今回、本研究チームは、シェワネラ菌という発電菌を用いて、発電時に発酵反応が起こっていることを明らかにしました。シェワネラ菌の呼吸で働く酵素と発酵で働く酵素をそれぞれ欠損させて、それぞれの場合の電流や増殖速度を調べました。すると、呼吸で働く酵素が欠損しても電流や増殖速度に変化がない一方で、発酵で働く酵素が欠損すると電流や増殖速度が大きく減少することが分かりました。電子が細胞外へ移動しているため、外から見ると呼吸反応が進行しているように見えますが、細胞内では発酵反応が進行している状態であり、この結果は、いわば「発酵的呼吸」と呼べる仕組みが働いていることを示しています。さらに、この発酵反応は、電子と一緒に移動するプロトン（水素イオン）の移動速度を速くすることで高速化が可能であり、電極上での高効率な発酵反応の実現が期待できます。

4. 本研究によって、発電菌が新しいタイプの代謝を行っていることが明らかになりました。今後は、プロトンの移動速度がどのように制御されているか、その仕組みを理解し、発酵反応を効率化することで、高効率な物質生産技術への展開を目指していきます。また、生物合成のモデル菌である大腸菌を遺伝子工学によって発電菌として機能させることが可能であり、様々な研究開発が行われている大腸菌の代謝反応が、プロトン移動を速くすることで加速できることが期待できます。

5. 本研究は、JSPS 科研費 特別推進研究 (24000010)、若手研究A (17H04969)等の一環として行われました。

6. 本研究成果は、Angewandte Chemie International Edition 誌のオンライン版にて現地時間2017年6月29日に掲載されました。

研究の背景

細菌の呼吸や発酵代謝による物質生産は産業として社会に根付いており、近年のバイオエンジニアリングの発展によって、薬剤前駆体やバイオプラスチックなど、より多彩な物質・材料生産へ細菌が応用されるようになってきました。その一方で、例えば新規の発酵反応を実用化するには、反応速度の遅さや分離・精製によるコストが大きいことが障壁となっています。近年、細胞外の電極と電子のやり取りをすることで呼吸する「発電菌」を電極触媒として用いる研究・開発が盛んに行なわれています。電極システムであるため、生成物分離にかかるコストを大幅に削減できることに加え、電池の様に電極のアノード・カソード反応をうまく組み合わせれば発電も可能です。

モデル発電菌 *Shewanella* (シュワネラ菌) をはじめとした発電菌は、細胞外に存在する電極へ外膜マルチヘム酵素¹を介して電子移動、細胞外電子移動(EET: Extracellular Electron Transport)、を行う能力を有している細菌を指します。この EET の仕組みは世界中で盛んに研究されており、様々な方法によってこの電極プロセスの効率化が実現されています。一方で、電極上で発電菌が触媒できる呼吸代謝反応は限られており、発酵反応へは本質的に展開できないと考えられていました。

研究内容と成果

1. 発酵的呼吸反応の発見：

呼吸代謝中には、図 1 の内膜の両側でプロトン濃度勾配が形成され、膜タンパク質である ATP 合成酵素 (ATPase) が駆動されます。しかし、負電荷を持つ電子は正イオンであるプロトンと対になって移動するため、EET 電子が細胞外へと運び出されるのにもなって、プロトンもペリプラズム²に溜まらずに電子と共に排出され ATP 合成酵素が働かないはずですが、さらに、プロトンが電子と一緒に排出されるのであれば、電気的に中性な水素や有機物のみを排出する発酵代謝と同様であるため、EET を発酵反応の一種とも見なせます (図 1)。このような独自の着想に基づいて、シュワネラ菌の呼吸で働く ATP 合成酵素 ATPase や、発酵的 ATP 合成酵素 *ackA* と *pta* をコードする遺伝子を欠損させた遺伝子破壊株 (Δ ATPase, Δ ackA, Δ pta) を用いて実験を行いました。すると、野生株と比べて Δ ATPase ではなく、 Δ ackA, Δ pta 株で代謝電流や細菌の増殖速度が大きく減少しました (図 2)。この結果は、予想した通りプロトン濃度勾配が形成されておらず、ATP は呼吸的ではなく発酵的に生成されていることを示しています (図 1)。

2. プロトンの EET 速度論的重要性：

本研究では、さらにこの「発酵的呼吸」反応を加速させるために、その律速過程³に関する検討も行いました。プロトンが電子と同時に排出されているのであれば、プロトンの移動速度が律速となっている可能性があります。そこ

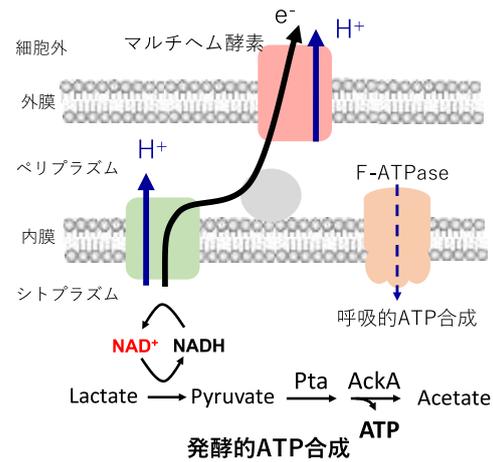


図 1 外膜マルチヘム酵素を介した細胞内 (ペリプラズム) から細胞外への電子移動過程。F-ATPase による呼吸的 ATP 合成ではなく、発酵的 ATP 合成が進行している。H⁺, e⁻ はそれぞれプロトン、電子を指す。

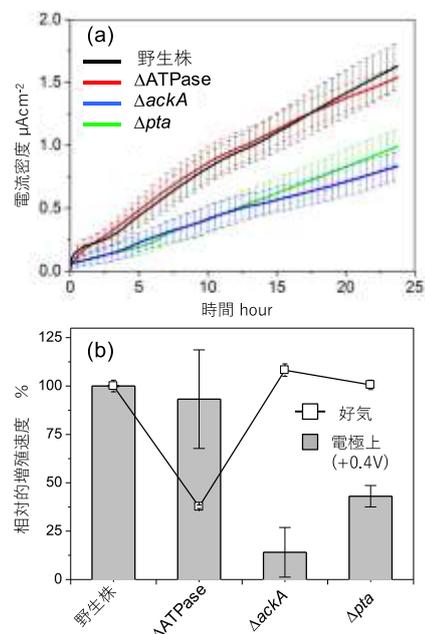


図 2 ATPase (Δ ATPase) や発酵的 ATP 合成酵素(Δ ackA, Δ pta)をコードする遺伝子を欠損させた遺伝子破壊株の電流生成 (a)、増殖速度 (b)。

で、重水を用いた同位体速度論効果を検討しました。この同位体速度論効果は、プロトン移動が EET の律速過程であることを示す最も直接的な実験手法ですが、様々な酵素プロセスが混在した複雑な EET (図 1) に適用することは難しく、重水を加えることで電流値の減少が見られたとしても EET との関係性を示すことは出来ませんでした。本研究では、これまでに開発してきた精密電気化学手法をさらに発展させる、世界で初めて EET の同位体速度論の定量的な評価に成功し、プロトン移動が EET の律速過程であることを示しました (図 3)。以上から、プロトン移動を加速させることで発酵的呼吸代謝が加速される仕組みが示されました。

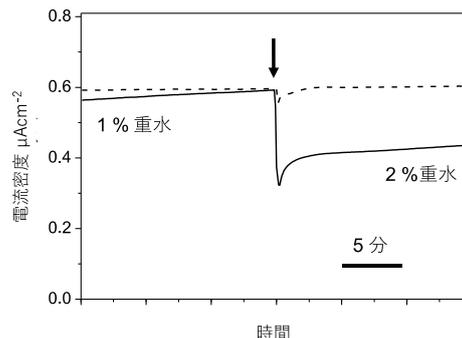


図 3 EET への同位体速度論効果。黒線、点線は、それぞれ重水、水を矢印の時点で添加した際のシェワネラ菌の生成電流。

今後の展開

今後は、今回用いたモデル発電菌を用いて、プロトン排出を担う酵素や速度論に関しての仕組みを理解し、電極での発酵的呼吸の効率を高める方法を調べ、環境調和型の新しく物質生産技術への展開を目指していきます。また、生物合成のモデル菌である大腸菌を遺伝子工学によって発電菌として機能させることが可能であり、様々な研究開発されている大腸菌の代謝反応を電極システムで加速することが可能です。さらに、外膜マルチヘム酵素を介した EET の仕組みは、既に事業化されつつある創電型排水処理技術、発電菌の呼吸を利用した電極合成、鉄やマンガンなどの地球規模での循環において重要です。本研究によって、電子移動の律速となっているプロトン排出の仕組みが分かれば、これらの環境・エネルギー分野への大きなインパクトを与えます。

また、本研究では、重要なエネルギー源であるプロトン駆動力をあえて捨てるという普通では有りえない発電菌の性質を示しています。近年、発電菌は様々な環境中に存在していることが明らかになってきており、各々の環境における細菌の生態やエネルギー獲得の方法に新しい視点・展開を与えると考えられます。

掲載論文

題目 : Proton Transport in the Outer-Membrane Flavocytochrome Complex Limits the Rate of Extracellular Electron Transport

著者 : 岡本章玄、徳納吉秀、Kalathil Shafeer, 橋本和仁

雑誌 : Angewandte Chemie International Edition

掲載日時 : 2017 年 6 月 29 日 (現地時間)

用語解説

(1) 外膜マルチヘム酵素:

電子を細胞外膜の内部から外部へと動かす電気回路のように働くタンパク質。タンパク質内に数十個並ぶヘム反応中心が電子キャリアーとして働く。

(2) ペリプラズム

発電菌 *Shewanella* をはじめとしたグラム陰性菌には内膜と外膜といった二層の脂質二重膜があり、その間の空間をペリプラズムと呼ぶ。

(3) 律速過程

様々な反応が連鎖的に進行している代謝反応などで、全体の速度を決めているのはその中で一番速度が遅い過程であり、これを律速過程と呼ぶ。

本件に関するお問い合わせ先

(研究内容に関すること)

国立研究開発法人物質・材料研究機構 エネルギー・環境材料研究拠点

主任研究員 岡本 章玄 (おかもと あきひろ)

TEL: 029-860-4430

E-mail: okamoto.akihiro@nims.go.jp

URL: http://www.nims.go.jp/nanointerface/iecmc_nims/index.html

(報道・広報に関すること)

国立研究開発法人 物質・材料研究機構 経営企画部門 広報室

〒305-0047 茨城県つくば市千現 1-2-1

TEL: 029-859-2026, FAX: 029-859-2017

E-mail: pressrelease@ml.nims.go.jp