

## 鉄腐食の原因菌が電子を引き抜く酵素を持つことを証明

～酵素を標的とした薬剤など環境負荷の低い防食対策への展開に期待～

国立研究開発法人 物質・材料研究機構

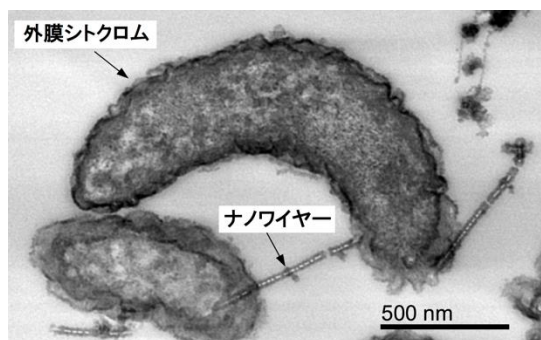
国立研究開発法人 理化学研究所

### 概要

1. NIMS、理化学研究所を中心とする研究チームは、石油採掘用のパイプラインなどで鉄の腐食を進行させる細菌が、鉄から電子を直接引き抜く酵素群を持っていることを明らかにしました。現在は抗生物質を使った網羅的な殺菌で腐食対策が行われていますが、今後、今回発見された酵素を標的とする薬剤を開発するなど、効率的で環境負荷の少ない防食方法への展開が期待できます。

2. 石油採掘用パイプラインが鉄腐食により破断すると、石油流出など大きな事故につながるため、腐食の原因を明らかにして、効率的に腐食を防ぐことが必要です。従来、腐食の原因は、鉄が硫酸還元菌のつくる硫化水素に電子を奪われ、硫化鉄になるためと考えられていました。しかし、硫化鉄が鉄表面を覆って、鉄が硫化水素と触れなくなった後も腐食が進行する理由が謎でした。そんな中、電気を通す硫化鉄の性質を利用して鉄から電子を引き抜く硫酸還元菌の存在が報告され、鉄腐食が進行する原因として注目されていました。しかし、電子を引き抜くために必要な膜酵素は同定されておらず、詳細なメカニズムは不明でした。

3. 今回、研究チームは、鉄を電子源として増殖する硫酸還元菌の細胞膜を詳細に分析し、これまで知られていた電子を引き抜く膜酵素とは、アミノ酸配列が大きく異なる酵素群を発見しました（下図の細胞表面やナノワイヤー上で染色されている外膜シトクロム<sup>(1)</sup>）。この酵素が多く発現しているときのみ、電極から電子が引き抜かれていることを確認しました。この結果は、鉄腐食を加速させる細菌が、鉄から電子を直接引き抜いていることを示す直接的な証拠と言えます。さらに、新たに発見された酵素群について、細菌のたんぱく質データベースで照会したところ、深海堆積物に棲息する細菌にも広く見られることを明らかにしました。



4. 今後は、今回特定した膜酵素を標的とする薬剤設計など、鉄腐食菌を選択的かつ効率的に殺菌できるより環境負荷の少ない安価な防食技術の開発を目指していきます。また、生態系に謎が多い深海堆積物に棲息する細菌が、広く無機物から電子を直接引き抜いて生きている可能性を示す初めての成果でもあり、これら未知の細菌の培養や応用への展開も期待されます。

5. 本研究は、物質・材料研究機構 環境・エネルギー材料研究拠点の岡本章玄主任研究員、東京大学工学系研究科の Deng Xiao JSPS 特別研究員、元同所属の橋本和仁教授（現 NIMS 理事長）、理化学研究所 環境資源科学研究センターの堂前直ユニットリーダーらによって行われました。また、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、Science Advances 誌にて現地時間 2018 年 2 月 16 日午後 2 時（日本時間 17 日午前 4 時）に掲載されます。

## 研究の背景

細菌による鉄腐食はパイプライン事故などに繋がる重大な問題であり、その損害は米国内だけでも年間300~500億ドルとも言われています。現状では定期的な殺菌剤添加による対策が行われていますが、膨大な薬剤コストや水環境の汚染が深刻な問題として残っており、新しい原理に基づく防食法が模索されています。これまで嫌気鉄腐食は硫酸還元細菌がつくる腐食性の硫化水素によって進行・悪化すると考えられてきましたが、不動態<sup>(2)</sup>である硫化鉄層が形成された後に腐食が進行し続ける仕組みは長年謎でした。近年、固体表面から直接電子を引き抜く「電気細菌<sup>(3)</sup>」が特定されており、嫌気鉄腐食の進行が止まらないのは導電性のある硫化鉄不動態層を介して特定の硫酸還元細菌が電子を引き抜くことで鉄を酸化することが原因であると提案されていました(図1)。

電気細菌とは、細胞膜表面の外膜シトクロム酵素を介して細胞外にある電極から電子を受け取る細胞外電子移動(Extracellular Electron Transport, EET)を行う能力を有している細菌を指しますが、硫酸還元菌においてそのような外膜酵素は見つかっておらず、電気細菌と鉄腐食の繋がりには長年明らかにされてきませんでした。

## 研究内容と成果

### 1. 新規外膜シトクロム酵素の発見:

硫酸還元菌 *Desulfovibrio ferrophilus* 15株は、鉄を唯一の電子源として増殖するため、電気細菌の候補として知られていました。不溶性の固体エネルギー源を使う電気細菌としての性質は、特に有機物などの使いやすい可溶性のエネルギー源が存在しないときに重要になるはずですが、そこで、IS5株を乳酸塩という有機電子源が不足している培地内で培養すると、細胞表面や細胞膜の延長であるナノワイヤー上に高濃度の外膜シトクロム酵素が発現することが電子顕微鏡観察によって確認できました(図2)。

そこで、菌体から細胞膜を抽出し、分離された外膜シトクロム酵素を質量分析することにより、遺伝子を決定しました。すると、これまでに報告されている電気細菌のものとは系統的には大きく異なる新規な外膜シトクロム酵素であることが明らかになりました。さらに、この膜シトクロム酵素が高発現のときにのみIS5株の電極からの電子引き抜きが観測されたため、電気細菌として働く際に外膜シトクロムを用いていることがわかりました。以上の成果は、嫌気鉄腐食を加速させる細菌が電気細菌であることを初めて証明するものです。

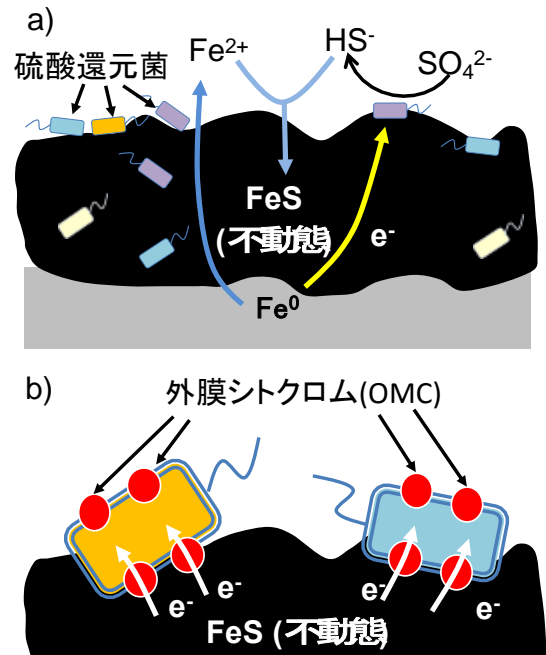


図1 a)硫酸還元菌が導電性硫化鉄(FeS)を介して鉄(Fe<sup>0</sup>)から電子引き抜き、鉄腐食を進行させる機構。b)細胞膜表面の外膜シトクロム酵素を利用した電子引き抜き機構。SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>、HS<sup>-</sup>、e<sup>-</sup>はそれぞれ硫酸塩、硫化水素、電子を指す。

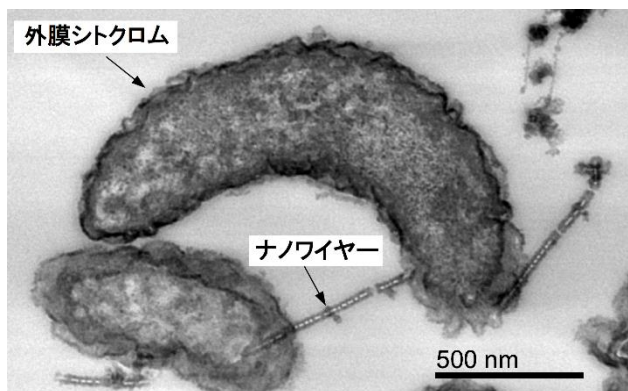


図2 電子源欠乏条件における外膜シトクロム酵素の分布を示す透過型電子顕微鏡像。細胞の表面や細胞膜の延長であるナノワイヤー上に局在する外膜シトクロム酵素が染色されている。

2. 見出した外膜シトクロム酵素の系統学的普遍性：

特定した外膜シトクロム酵素のアミノ酸配列をタンパク質データベースと照会してみると、驚くべきことにこの酵素は、腐食関連細菌が属する系統 (*Proteobacteria* 門) に加えて深海環境で見ついている *Thermodesulfobacteria* や *Aquificales* 門の細菌にも幅広く分布しており、細菌の分類学上かけ離れた細菌が共通して持つ酵素であることが分かりました (図3)。この結果は、鉄腐食を加速させる細菌だけではなく、深海生態系においても電子の引き抜きによってエネルギーを得る電気細菌としての性質が重要であることを示唆しています。さらに、電気化学的な解析から同定した膜酵素を使うことで硫酸塩還元だけでなく他の硫黄代謝を駆動させるのに十分かつ最小限のエネルギーが得られることがわかりました。エネルギー源が欠乏した深海環境で生きる極限微生物は、これまで水素をエネルギー源として生きていたと考えられてきましたが、水素発生にはとても高いエネルギーが必要であることが知られています。本研究の成果は、硫化鉄などの導電性のある堆積物や地下の鉱物を介してそれほどエネルギーが高くない鉱物表面でも電子そのものをエネルギー源にすれば電気細菌は硫黄代謝によって生命活動を営むことができるということを示しており、各々の環境中での細菌の生態やエネルギー獲得戦略に新しい視点・展開を与えます。

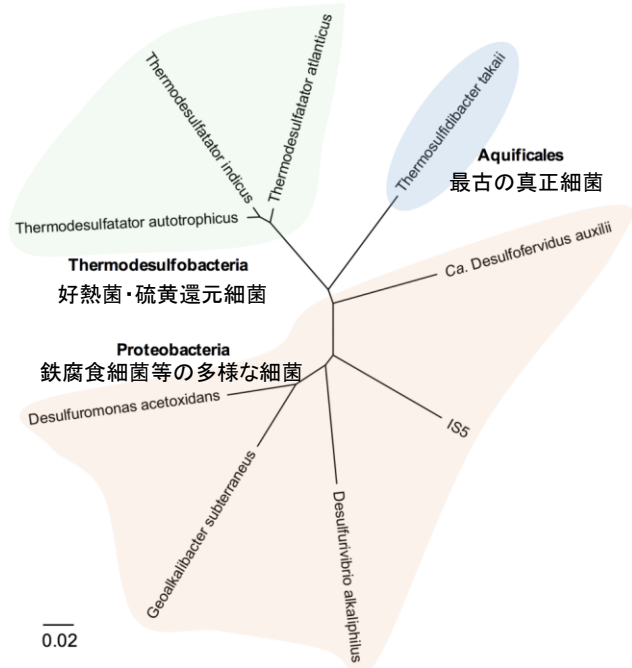


図3 特定した外膜シトクロム酵素を持つ細菌の 16S rRNA 塩基配列に基づく系統樹とそれぞれの細菌系統 (門) の特徴。系統樹上の距離は分類学上の違い (相違塩基の割合) を示す。

今後の展開

膨大な薬剤コストや水環境の汚染が問題となっている化学殺菌剤に代わる安全かつ安価な細菌抑制法の開発へ向けて、今後は今回特定した細胞膜表面のシトクロム酵素を標的とする環境負荷の少ない薬剤設計や、鉄電極電位が細菌活性に与える影響に関して研究を進めることで、環境調和型で且つ低コストな防食技術開発への展開を目指していきます。また、本研究成果は、電子を直接引き抜く新しいタイプの細菌代謝が深海底や深海堆積物の微生物生態系において広く分布していることを示す初めての成果でもあり、これまで水素が主なエネルギー源と考えられてきた各々の環境中での細菌の生態やエネルギー獲得戦略に新しい視点・展開を与えます。

掲載論文

題目：Multiheme Cytochromes Provide a Pathway for Survival in Energy-limited Environments  
 著者：Xiao Deng、堂前直、Kenneth Neilson、橋本和仁、岡本章玄  
 雑誌：Science Advances  
 掲載日時：現地時間 2018 年 2 月 16 日午後 2 時 (日本時間 17 日午前 4 時)

用語解説

- (1) 外膜シトクロム酵素：  
 外膜に複合体を形成し、電子を細胞膜の内外へと動かす電気回路のように働くタンパク質。内部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) 不動態  
 金属表面に腐食作用に抵抗する表面被膜が生じた状態を指す。不動態膜は、酸化物膜を指すことが多いが、酸素が存在しない条件では硫化物膜も含まれる。内部の金属を腐食から保護する作用があると

考えられている。

(3) 電気細菌

細胞外に存在する固体電子ドナーから電子を取り出し、生命活動を行う際のエネルギー源として用いる細菌。

**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 環境・エネルギー材料研究拠点

主任研究員 岡本 章玄 (おかもと あきひろ)

E-mail: [okamoto.akihiro@nims.go.jp](mailto:okamoto.akihiro@nims.go.jp)

TEL: 029-860-4430

URL: [http://www.nims.go.jp/nanointerface/iecmc\\_nims/index.html](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](mailto:pressrelease@ml.nims.go.jp)

国立研究開発法人 理化学研究所 広報室 報道担当

TEL:048-467-9272, FAX:048-462-4715

E-mail:[ex-press@riken.jp](mailto:ex-press@riken.jp)