

科学研究費助成事業（特別推進研究）公表用資料
〔研究進捗評価用〕

平成24年度採択分

平成27年5月29日現在

研究課題名（和文） **細胞外電子移動を基軸とした生体電子移動論の開拓**
研究課題名（英文） Pioneer the Physical Chemistry of Biological Electron Transfer based on Bacterial Extracellular Electron Transport



課題番号：24000010

研究代表者

橋本 和仁 (HASHIMOTO KAZUHITO)

東京大学・大学院工学系研究科・教授

研究の概要：生体系における複雑系電子移動の観測・制御・効率化を目的とし、微生物／電極間の細胞外電子伝達を切り口とした、代謝電子伝達経路の切り替えに代表される「生体固有のフレキシブルな外部環境応答」を物理化学的、特に生体電子移動論の視点より明らかにする。

研究分野：基礎化学

キーワード：物理化学、電気化学、細胞外電子移動、生体電子移動ダイナミクス

1. 研究開始当初の背景

生体における分子を介した電子移動は光合成や呼吸など光エネルギー変換・化学エネルギーATP生産などに関わる鍵プロセスである。この生体内の電子伝達系では非常に多くの分子が複雑かつ巧妙に関わりあっており、効率的に電子移動が進んでいる。このような複雑系生体電子移動を深く理解し、そして自在に制御することは、生物を利用したエネルギー変換の効率向上に不可欠であり、また生命機能の解明においても非常に重要な知見を与えると期待される。

2. 研究の目的

研究代表者らは、2005年より生体系における複雑系電子移動の観測・制御・効率化を目的とし、微生物を用いた研究を進めてきた。

本研究では、微生物／電極間の細胞外電子伝達を切り口とし、代謝電子伝達経路の切り替えに代表される「生体固有のフレキシブルな外部環境応答」を物理化学的、特に生体電子移動論の視点より明らかにすることを旨とする。

3. 研究の方法

以下の3つの研究領域課題を設定し、研究を推進する。

(1) 細胞内電子伝達経路の電極電位制御

細胞外膜シトクロムならびに細胞内膜に存在する酸化還元分子に関連する遺伝子群に焦点を当て、電位変調による代謝経路ならびに遺伝子発現の切り替えメカニズムの解明とその制御法の確立を目指す。

(2) 生体内電子移動のダイナミクス追跡

光不活性な微生物の外膜シトクロムに対して人工的な光化学反応を付与することによって、細胞外電子移動反応の光化学的制御を行う。さらにこの光化学的制御を用いて、生細胞呼吸代謝すなわちATP合成経路に関与する電子伝達ダイナミクスの直接観察を行い、生物固有のフレキシブルな外部環境応答メカニズムの解明を目指す。

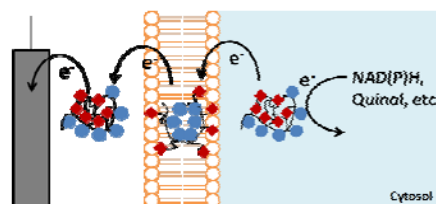
(3) 細胞間情報伝達による集団同期能現象

微生物集団に見られる代謝電流の大幅な向上をもとに、シグナル分子添加による代謝電子伝達経路ならびに遺伝子発現様式への影響を調べる。これにより分子生物学的な観点から生体複雑電子移動の分子メカニズムの解明を目指す。

4. これまでの成果

(1)-1 新型電子伝達メディエーター開発

電流生成菌以外の一般微生物における細胞外電子移動を実現するために、新型電子伝達メディエーターとしてフェロセン含有生体親和性リン脂質ポリマーを合成した。この新規合成分子は細胞膜透過性、及び生体親和性が共に認められ、微生物細胞質内から電極への電子伝達を媒介する機能をもつことが確認された。(Nishio et. al., *ChemPhysChem* 2013, 14, 2159-2163)



[4. これまでの成果 (続き)]

(1) -2 バイオプラスチック (PHB) 生産菌 *Ralstonia* の PHB 生産能向上

Ralstonia は PHB を体内に蓄積する際に、代謝活性が同時に低下してしまうことが知られている。新たに開発した電子伝達ポリマーを用いて、細胞外電子移動によりこのトレードオフ関係を解消することで、PHB 生産能を70%向上させることに成功した。(Nishio et al., *Sci. Technol. Lett.* **2014**, *1*, 40-43)

(1) -3 シアノバクテリアの概日時計制御

光合成細菌シアノバクテリアにおいて、電子伝達ポリマーにより微生物体内の酸化還元雰囲気を操作し、光照射や遺伝子操作によらない概日時計の制御および電気化学的計測に成功した。(Yue Lu et al., *Angew Chem Int Ed.* **2014**, *53*, 2208-2211, Nishio et al., *Plant and Cell Physiology* **2015**, in press.)

(2) -1 非光合成型細菌への光応答性付与
CO₂ 固定能を有する非光合成型鉄酸化細菌 *A. Ferrooxidans* において、CO 光応答性を有する代謝電流の一部が炭素固定代謝に利用されていることを明らかにし、電気を一次エネルギー源とした生物学的炭素固定 (電気合成代謝) 経路のダイナミクスを計測するための新たな手法を開発した。

(2) -2 *Euglena* 細胞の光濃縮

Euglena 細胞が照射波長に依存して鋭敏に運動の方向を変えること、さらに照射波長を適切に選択することにより遠心分離法と同程度の菌体濃縮が可能であることを明らかにした。(Ooka et al. *RSC Adv.* **2014**, *4*, 20693-20698.)

(3) 外膜シトクロムによる細胞外電子移動

電流生成菌の細胞外電子移動過程において、電子伝達外膜シトクロムが分泌型フラビン分子と結合し、これを介して細胞外への電子伝達を行うことを明らかにした。(Okamoto et al., *Energy Environ. Sci.*, **2014**, *7*, 1357, Okamoto et al., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 10988) またこの時のプロトンの局在性に着目し、外膜シトクロムが電子と共にプロトンも細胞外へ移動させていることを見出した。(岡本 章玄 *生物物理* **2015**, *55*, 098)

5. 今後の計画

(1) 細胞内—細胞外電極間の電子移動プロセスの機序解明に向けて、電子伝達ポリマーの分子構造の最適化を行う。また、光合成細菌の概日時計に関する研究を進め、環境変動応答の電気化学的制御の方法論構築を目指す。

(2) これまで構築してきた炭素固定に関わる電子伝達計測技術を用い、電気を一次エネルギー源とした炭素固定経路の同定、ならびにその外部刺激応答性について検討を進める。

(3) 集団同期現象のシグナル電子伝達機構の解明に向けて、微生物が分泌するシグナル分子の特定を進める。また、細胞外膜の電子伝達タンパク質機能解析では、フラビン中心を介した細胞外電子移動速度論におけるプロトン移動の重要性について検討を行う。

6. これまでの発表論文等

(研究代表者は二重線、研究分担者は一重下線、連携研究者は点線)

(1) Koichi Nishio, Ryuhei Nakamura, Xiaojie Lin, Tomohiro Konno, Kazuhiko Ishihara, Shuji Nakanishi, Kazuhito Hashimoto. “Extracellular Electron Transfer across Bacterial Cell Membranes via a Cytocompatible Redox-Active Polymer” *ChemPhysChem*, *14*, 2159-2163, **2013**.

(2) Yue Lu, Koichi Nishio, Shoichi Matsuda, Yuki Toshima, Hiroshi Ito, Tomohiro Konno, Kazuhiko Ishihara, Souichiro Kato, Shuji Nakanishi, Kazuhito Hashimoto. “Regulation of the cyanobacterial circadian clock by electrochemically controlled extracellular electron transfer.” *Angew Chem Int Ed.*, *53*(8), 2208-2211, **2014**.

(3) Hideshi Ooka, Takumi Ishii, Kazuhito Hashimoto, Ryuhei Nakamura. “Light-induced cell aggregation of *Euglena gracilis* towards economically feasible biofuel production” *RSC Adv.*, *4*, 20693-20698, **2014**.

(4) Akihiro Okamoto, Koichiro Saito, Kengo Inoue, Kenneth H. Nealson, Kazuhito Hashimoto, Ryuhei Nakamura. “Uptake of self-secreted flavins as bound cofactors for extracellular electron transfer in *Geobacter* species” *Energy Environ. Sci.*, *7*, 1357-1361, **2014**.

(5) Akihiro Okamoto, Kazuhito Hashimoto, Kenneth H. Nealson. “Flavin Redox Bifurcation as a Mechanism for Controlling the Direction of Electron Flow during Extracellular Electron Transfer” *Angew. Chem. Int. Ed.*, *53*, 10988-10991, **2014**.

他 7 報

ホームページ

<http://www.light.t.u-tokyo.ac.jp/>