

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		再構成した膜タンパク質凝集体を用いた細菌ナノワイヤー導電機構の研究			
研究テーマ (欧文) AZ		Structural and physicochemical study of redox enzymes reconstructed on artificial membrane for conductive mechanism on microbial nano filaments			
研究氏 代表者	カナ CC	姓)オカモト	名)アキヒロ	研究期間 B	2015 ~ 2017 年
	漢字 CB	岡本	章玄	報告年度 YR	2017 年
	ローマ字 CZ	OKAMOTO	AKIHIRO	研究機関名	物質・材料研究機構
研究代表者 CD 所属機関・職名		物質・材料研究機構 国際ナノアーキテクト研究拠点 独立研究者			
概要 EA (600 字~800 字程度にまとめてください。)					
<p>微生物呼吸鎖と細胞外部を電氣的に繋げる細胞外電子移動(Extracellular Electron Transport (EET))は、微生物を電極触媒として使う嫌気廃水処理・バイオリメディエーションなどの環境技術における鍵プロセスであり、反応効率化へ向けた速度論機構の解明が急がれている。申請者はこれまで電極表面と微生物の界面 EET に関する機構研究を行ってきたが、全体的な電流アウトプットは電極に接触しない大多数の細菌による「長距離電子移動」によっても大きく左右される。提案されている機構の中でも、微生物が作り出す導電性ワイヤー状構造物を介した電子輸送過程が最も重要な機構であると考えられている。米国を中心に 10 年以上研究が盛んになされているが、ワイヤー構造物の導電性の物理化学的説明や化学的性質を追跡する手法は得られていない。そこで、本研究では、外膜シトクロムが導電ワイヤー上で凝集構造を形成し、水平方向への電子伝達が進行する機構を仮説としてその検証を目指した。そのために、まず脂質膜上に再構成した外膜シトクロムのマクロ凝集状態や単一蛋白構造を追跡する系の構築を試みた。単離・精製に成功した外膜シトクロム酵素を、既報に基づき人工的に合成した脂質二重膜で出来た小胞体(リボゾーム)へと導入する操作を行なったがうまく導入されたことを担保する結果がなかなか得られなかった。特に、正確な配向を持って導入された場合は、膜の内側から外側へと電子移動が進行するはずだが、再現性を持ってそのような結果を得ることができなかった。一方で、外膜シトクロム酵素が実際にナノワイヤー上に存在するかを直接的に追跡する方法論の開発に着手した。ナノワイヤーはこれまで膜や酵素を網羅的に蛍光染色することで可視化されてきたが、外膜シトクロムそのものを染色する方法をなく、定量することも難しかった。本研究では、ヘム反応中心が有する過酸化水素還元反応性を利用して、初めてナノワイヤー上に局在する外膜シトクロムの染色並びに定量に成功した。この手法は、今回用いたモデル細菌以外にも適用することが可能であり、鉄腐食細菌である <i>Desulfovibrio ferrophilus</i> IS5 株においても <i>Shewanella</i> とまったく同じ内部構造を持つナノワイヤーが構築されることという発見に至った。ナノワイヤー上の酵素量や、内部に至る分布を可視化した本手法は、極めて汎用性が高く、今後該当分野で広く用いられることが期待できる。</p>					
キーワード FA	脂質二重膜	鉄還元細菌	硫酸還元細菌	外膜シトクロム	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA							
研究機関番号 AC					シート番号							

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}	Multi-heme cytochromes provide a pathway for survival in energy-limited environments							
	著者名 ^{GA}	Xiao Deng, Naoshi Domaе, Kenneth H. Nealson, Kazuhito Hashimoto, Akihiro Okamoto,	雑誌名 ^{GC}	Science Advances					
	ページ ^{GF}	Eaao5682	発行年 ^{GE}	2	0	1	8	巻号 ^{GD}	4
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	～	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要^{EZ}

Extracellular Electron Transport (EET), which electrically connects the microbial respiratory chain to the outside of the cell, is a key process in environmental technology such as anaerobic wastewater treatment and bioremediation using microorganisms as an electrocatalyst. We have conducted mechanical research on the interfacial EET of the electrode surface and microorganisms, but the overall current output largely depends on "long distance electron transfer", because the majority of bacteria is not in direct contact with the electrodes. Among the proposed mechanisms, the electron transport process through a conductive wire-like structure produced by microorganisms is considered to be the most important mechanism. However, there has not been available a method for tracking the physicochemical description and chemical properties of the wire structure. Here, we aimed at verifying the mechanism that the outer membrane cytochrome forms a cohesive structure on the conductive wire and the mechanism of electron transfer in the horizontal direction. We first attempted to reconstruct outer membrane cytochrome on the lipid membrane. However, the operation to introduce the outer membrane cytochrome enzyme into the liposome was not very successful after many trials. Meanwhile, we succeeded to develop a methodology to directly track the cytochrome enzyme localized on the nanowire. Nanowires have been visualized by comprehensively fluorescent staining of membrane or enzyme, but it was impossible to quantify specifically outer membrane cytochrome. We succeeded in the staining and quantification of outer-membrane cytochrome localized on nanowires for the first time by utilizing the hydrogen peroxide reduction reactivity possessed by the heme reaction center. This method can be applied to models other than the model bacteria used this time, and this method lead us to discover nanowires having exactly the same internal structure as Shewanella in Desulfovibrio ferrophilus IS5 strain, which is model iron corrosive bacterium. This method visualizing the amount of enzyme on the nanowire and its distribution to the inside can be expected to be widely used in the relevant field in the future.