

## 審査の結果の要旨

氏名 岡本 章玄

本論文において、学位請求者（岡本 章玄）は、鉄還元細菌 *Shewanella* を用いた *in-vivo* 電気化学測定により、細胞膜ヘムタンパク質シトクロムを介した細胞外電子移動機構、ならびにその代謝過程や生理機能との相関を明らかにする事を目的とした研究発表を行った。本論文は以下の7章から構成されている。

第1章では、研究の背景、目的、及び概要が論じられており、近年までの関連論文の成果や問題点などが明確にされ、本論文の研究の意義づけが明確にされた。

第2章では、細胞膜表面に高濃度な膜シトクロムを有する *Shewanella* 微生物そのものが電気化学測定系に適用され、膜シトクロムを介した細胞外電子動過程の存在が *in-vivo* 条件下で検討された。Cyclic Voltammetry (CV) 測定によって、膜シトクロムの電子移動中心ヘムと電極界面における電子交換反応が追跡された。微生物存在下において観測された酸化還元波は、シトクロムの電子移動中心ヘムに特異的なNO分子との軸配位反応により、正に600 mVシフトすることが観測された。更に、微生物電極界面に存在する膜シトクロムの遺伝子破壊株が作成され、CV測定が行われると、酸化還元電流が80%減少することが確認された。以上の結果、観測した酸化還元波の帰属が膜シトクロムのヘムの酸化還元反応に決定され、*in-vivo* 条件下におけるシトクロムを介した直接型電子移動過程の存在が本研究で初めて明らかとされた。

第3章では、微生物の自己分泌した酸化還元分子であるフラビンが細胞外電子移動を媒介する機構が検討された。高感度な電気化学的分析法である微分パルスボルタンメトリー (DPV) 測定が用いられ、微生物と電極界面に存在するフラビン分子の酸化還元反応が追跡された。その結果、細胞が存在する条件下で観測されたフラビン分子の酸化還元ピークは、溶液中の二電子酸化還元反応と比較して120 mV程度正にシフトすることが観測された。遺伝子破壊株を用いてフラビンと相互作用しているタンパク質の検討が行われた結果、フラビンは膜シトクロム内の電子移動中心としてヘムを介した細胞外電子移動過程を促進していることが確認された。また、電子スピン共鳴測定の結果から、膜シトクロムとの相互作用により、フラビンが一電子還元体のセミキノンとして安定化されていることが見出された。以上の結果より、*in-vivo* 条件下におけるシトクロムと電極界面における、フラビンを介した一電子酸化還元反応による電子移動促進機構が本研究によって初めて明らかとされた。更に、フラビンと膜シトクロムが相互作用する条件が探索された結果、高代謝活性に準じて安定化する還元体のヘムを有するシトクロムと特異的にフラビンが相互作用する機構が明らかにされた。

第4章では、微生物の電子移動過程と代謝活性の制御機構について検討された。微生物が電極表面上で増殖する過程が共焦点顕微鏡観察された結果、細胞数が閾値を超えると微生物一体あたりの代謝電流値が急激に増加する現象が見出された。フラビン分子の酸化還元電位がDPVで電気化学追跡された結果、代謝電流値の増大に伴いフラビン分子とシトクロムの相互作用を示す酸化還元ピークシフトが確認された。以上の結果から、微生物は増殖する過程で代謝を活性化する機構を有することが明らかとされた。また、その代謝活性化機構が検討された結果、微生物が分泌するシグナル分子が代謝活性を制御する上で重要な因子である可能性が実験的に示された。

第5章では、細胞集団内における長距離電子移動機構が検討された。酸化鉄や硫化鉄などの導電性ナノ粒子が存在する場合、存在しない場合に較べて微生物代謝電流値が50 - 100倍程度増加する現象が見出された。代謝電流値が増大した機構を膜シトクロムの遺伝子破壊株を用いた電気化学検討が行われた結果、微生物が自発形成する導電性材料との凝集構造体内部において、膜シトクロムと導電性材料間での電子交換反応による長距離電子移動反応が進行していることが明らかとされた。また、高密度な微生物集合体においては鉱物が存在しない条件下においても、低効率ながら長距離電子伝達経路が自発形成されることが明らかとされた。

第6章では、合成鉄錯体分子が用いられ、フラビンとの相互作用において重要な細胞膜シトクロムヘムの酸化状態を光制御する可能性が検討された。メソポーラスシリカ細孔内に担持したTiO<sub>2</sub>光分子ポンプとヘム類似鉄中心分子が連結した錯体が合成され、光照射下において鉄中心酸化状態の光制御が達成されている。

第7章では、本研究の総括、及び、今後の展望を論じられた。

本論文で明らかとされた *in-vivo* 条件下における細胞外電子移動過程やその制御機構は、現在新しい学術分野として拓かれつつある生体と固体材料間電子移動の物理化学的研究のみならず、近年注目を浴びている生体を用いたエネルギー変換技術の効率化に貢献することが期待できる独創性の高い成果であるといえる。

よって本論文は博士（工学）の学位請求論文として合格と認められる。