T2R2 東京科学大学 リサーチリポジトリ
Science Tokyo Research Repository

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	細胞外電子移動による脱窒制御
Title(English)	Controlling Denitrification by Extracellular Electron Transfer
著者(和文)	山田哲也
Author(English)	Tetuya Yamada
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第10749号, 授与年月日:2018年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:松下 伸広,田中 寛,原 正彦,矢野 哲司,稲木 信介,中村 龍平
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第10749号, Conferred date:2018/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

Powered by T2R2 (Science Tokyo Research Repository)

（博士課程）

論文審査の要旨及び審査員

報告番号	甲第　　号		学位申請者氏名		山田哲也	
論文審査 審査員		氏　名	職　名		氏　名	職　名
	主査	松下伸広	准教授	審査員	矢野哲司	教授
	審査員	原　正彦	教授		中村龍平	教授
		田中　寛	教授			
		稲木信介	准教授			

論文審査の要旨（2000 字程度）

本論文は “Controlling Denitrification by Extracellular Electron Transfer”(細胞外電子移動による脱窒制御)というタイトルで英文にて記述され， Chapter 1～6 の 6 章から構成されている。

Chapter 1”Background and Objective of This Study”では，タンパク質を構成し，生命に欠かすことのできない元素である窒素の自然界における循環について記した上で，それに関わる脱窒菌の存在と細胞外電子移動について概説している．今後の世界人口の増加を鑑みて固定窒素を含んだ肥料を無駄なく利用する必要がある一方で，環境汚染という観点からは脱窒反応を促進して固定窒素を取り除く必要があるなど，環境に応じた脱窒反応制御の重要性について述べた上で，本論文の目的は細胞外電子移動という概念を脱窒菌に適用し，脱窒菌の代謝を制御することにあるとしている．

Chapter 2 “Anodic and Cathodic Extracellular Electron Transfer by the Filamentous Denitrifier, *Ardenticatena Maritima* 110S”では，鉄が豊富に存在する環境から単離されたフィラメント状脱窒菌 *Ardenticatena Maritima* 110S における細胞外電子移動について調査を行っている．110S は固体状の水酸化鉄を還元できることから，この菌が細胞外電子移動能力を持つという仮説を立て，細胞外からの電子授受を検証するために電気化学セル内で培養した上で，電気応答性を検証している．この結果，硝酸イオンを電子受容体として含んだ培地内で電位を負に固定した場合には還元電流，一方で電子供与体としての有機物を含んだ培地内で電位を正に固定した場合には酸化電流がそれぞれ観測されることから，110S は細胞外の電位と培養環境によって酸化ならびに還元という双方的な電子移動を行うことを明らかにしている．さらには水酸化鉄などの鉄鉱物を加えることで酸化電流が増加することも確認している．ゲノム配列情報，GC-MS/MS ならびに抗体染色により発現する膜タンパク質の調査から，細胞外膜シトクロム(ARMA_580)の存在が示唆されることを示し，脱窒菌である 110S が鉄鉱物の酸化還元状態に影響を受けて代謝を変える可能性があると共に，細胞外電子移動により土壌の酸化還元状態を変調させる可能性があることを示している．

Chapter 3 “Metabolic Monitoring of *Psudeomonas stutzeri* Using Extracellular Electron Transfer Driven By Iron Minerals”では，脱窒菌のモデルのひとつである *Pseudomonas stutzeri* を電極上で培養し，発生する電流のモニタリングを試みている． *P. stutzeri* に関して BLAST(Basic Local Alignment Search Tool)によって外膜シトクロムを有していないことを把握した上で，実際にサイクリックボルタンメトリー及びクロノアンペロメトリーの測定で代謝電流が計測されないことを確認している．次に硫酸鉄を加えて電気培養を行なった場合には鉄化合物を介して電極と電子授受が可能になり，電子受容体として硝酸イオンを加えた場合には還元電流を観測している．これらより，外膜シトクロムを持たない *P. stutzeri* においても鉄化合物を介して電極との電子授受が可能であることを明らかにしている．

Chapter 4 “Rate Enhancement of Microbial Denitrification of *Psedomonas Stutzeri* Coupled with Iron Mineral Oxidation”では，鉄の酸化還元状態を電極電位により調整することで脱窒反応の制御を試みている．電位条件は-0.3 V または+0.3 V (vs Ag/AgCl sat.)および電位を印加しない Open circuit の三条件とし，電子供与体として酢酸ナトリウムを加え，脱窒量は同位体 ^{15}N を用いて GC-MS により窒素ガス量を厳密に定量している。その結果，-0.3 V の脱窒量は+0.3 V のものと比べて 20%程度増加を認めている．さらに細胞外電子移動量と脱窒に必要な電子量の関係を調査し，硝酸イオンから N_2 を一分子生成させるために必要な電子量が 10 電子であるのに対して，細胞外電子移動で流れる電子総量は脱窒代謝に必要なものの 1000 分の 1 と極めて少ないことを明らかにしている．

Chapter 5 “Detecting Nitrosyl Iron Complexes Formed during Denitrification by Spectroscopy”では，脱窒反応におけるシトクロムの働きを明らかにするために，生きたままの細胞をラマン分光により観測している．ラマン分光スペクトルの解析により低スピン状態のシトクロムは亜硝酸イオン存在下で酸化されることと，シトクロムと NO が結合すること，UV-Vis により Fe(II)によりシトクロムは電子を受け取って還元状態になることをそれぞれ明らかにしている．シトクロムと NO の結合を考えた場合に，Fe(II)は Fe(III)に比べ 1000 倍の吸着特性があることから，細胞外電位による電子注入はシトクロムのレドックス状態を変化させ，これにより NO の結合を強め，結果として NO による細胞毒性を下げる可能性があることを示している．

Chapter 6 “Conclusions and Perspective”では，本研究で得られた結果と議論を総括するとともに，将来の展望として細胞外電子移動と速度論的同位体効果に関して記している．

以上を要するに本論文は，生物の必須元素である窒素の細胞内における酸化還元に伴う電子移動を調査すると共に鉄の作用を明らかにするなど，理学上貢献するところが大きい．よって本論文は博士(理学)として十分な価値があるものと認められる．

注意：「論文審査の要旨及び審査員」は，東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので，公表可能な範囲の内容で作成してください．