

e-バイオの基盤 (代謝と電子移動)

加納 健司

はじめに

好気性生物は、グルコースのような還元剤（エネルギー源）としての食物を摂取し、酸素呼吸の過程でそれらを O_2 により酸化し、生物エネルギーの通貨といわれるATPを生産している。代謝・呼吸とは逆に、光合成では H_2O を光酸化してその電子レベルを引き上げ、 CO_2 を還元しグルコースとして還元力を蓄える(図1)。こうした生物では、(標準状態で)1.25 Vの電位差がある $6CO_2/(CH_2O)_6$ と $O_2/2H_2O$ の二つの酸化還元対の間を電子が移動してエネルギー変換している。代謝過程の電子供与体である $(CH_2O)_6$ に代わるものとして、有機酸や水素(硫酸還元菌)、硫黄(硫黄酸化菌)、Fe(II)(鉄酸化菌)を利用する生物もある。また、最終電子受容体としての O_2 に代わるものとして、 NO_3^- (硝酸塩呼吸)や SO_4^{2-} (硫酸塩呼吸)、あるいは生体内電子受容体としてのピルビン酸(アルコール発酵、乳酸発酵)など多種多様である。いずれにしても生物のエネルギー獲得はすべて酸化還元反応が関与している。実際、 $RT = FE$ (R :気体定数, T :絶対温度, F :ファラデー定数, E :電圧)からわかるように、電子や1価のイオンが1 V移動するときのエネルギーは、理想気体の温度を11,605°C増加させるエネルギーに相当する。したがって、微生物などの代謝を利用する物質・エネルギー生産に関するバイオテクノロジーも、電子の流れ、より厳密には電位(あるいは電気エネルギー)を考慮した電気化学ポテンシャルで議論するとわかりやすい。微生物内の電子の流れを人工的に改変するには、通常はタンパク質工学、進化学、遺伝子工学あるいは分子育種といった手法で代謝経路を変える試みがなされている。一方で、単に天然の最終電子受容体の代わりに、酸化還元電位の異なる人工的な最終電子受容体を用いるだけで、代謝経路を大きく変えることができる。そして原理的には、最終電子受容体として電極を利用すれば、電気化学的代謝調節ができることになる。

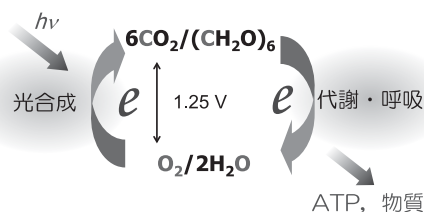


図1. 生物の酸化還元による電子循環とエネルギー獲得

また、光合成は充電過程に、代謝・呼吸は放電過程に相当することからわかるように、生体のエネルギー獲得機能を利用して化学エネルギーを電気エネルギーに変換する電気化学デバイス、すなわち“バイオ電池”の構想へと展開できる。逆に電気化学的にエネルギーを生物に与えて増殖させるという考え、すなわち“電気培養”という概念も生まれる。さらにこうした生体酸化還元触媒(酵素あるいは微生物)と電極間の電子移動反応を利用したバイオセンサの構築も盛んになされている。

このような生物内の電子移動経路(ここでは敢えて“バイオ電子回路”という表現を使わせていただく)を、人類にとって有益な物質生産、資源再生、エネルギー獲得あるいはセンシングといったことに利用し、その速度や効率を調節、制御、向上することができるならば、人類に多大な至福をもたらす可能性がでてくる。そして、その手法は地球環境(ecology)や経済(economy)の面からみても価値あるもの(いいもの=eもの)となるに違いないであろうと思うに至った。以上のようなことを、2009年、東京大学農学研究科の石井正治氏とともに考えるうちに、この取り組みを“e-バイオ”(Electron-oriented Biotechnology for Energy and Ecology)と名づけることにした。以下いくつかのトピックスをあげて、e-バイオの可能性を考えてみたい。

可溶性最終電子受容体による代謝調整

未利用金属資源としてのウランの回収として、*Bacillus*属、*Shewanella*属、*Arthrobacter*属などが用いられる。これらの菌に水溶性のU(VI)を与えると、それが最終電子受容体となりU(V)に還元される。U(V)は不均化反応でU(VI)と不溶性のU(IV)になり、結果として菌体内でU(IV)が蓄積する¹⁾。カビの一種*Verticillium*属に $AuCl_4^-$ を与えれば、それが最終電子受容体となり還元され、Auのナノ粒子が蓄積する²⁾。最終電子受容体の酸化還元電位によって、どのレベルの電子を受け取るかが決まってくるので、添加剤としての最終電子受容体によって代謝生成物も変わる。つまり金属イオンの酸化還元電位と膜透過、およびそれらの溶解度を考えれば、いろんな形式のバイオ電子回路を描けることになる。

多くの微生物は溶存するキノン類やフラビン類を最終電子受容体とすることもできる。*Propionibacterium freidenreichii*が産生する2-amino-3-carboxy-1,4-naphthoquinone(ACNQ)や1,4-dihydroxy-2-naphthoic acid(DHNA)は、ピフィズ菌の成長促進因子となる³⁾。この現象の説明として、

NADHがキノンにより再酸化され、ピルビン酸の消費が抑えられるという“キノン呼吸”とでもいえるメカニズムが提唱された(図2)⁴⁾。還元されたキノンは電極で酸化再生することもできるので、ピフィズス菌から電極への電子移動が容易に達成できる。この場合、キノンはピフィズス菌から電極への電子移動を仲介する電子伝達メディエータとなる。同様に*Shewanella*属がフラビンを菌体外に産生することはよく知られており、これが電子伝達メディエータとなり、菌体から電極への電子移動が促進される⁵⁾。

微生物(あるいは酵素)–メディエータ間の電子移動は非特異的であるため、類似のメディエータについては直線自由エネルギーの関係(linear free energy relationship; LFER)が成り立つ。言い換えれば、同系列のメディエータでは、酵素からメディエータへの電子移動速度(k)の対数はメディエータの酸化還元電位($E^{\circ}M$)が正になるにしたがい、直線的に増加する(図3)。ただし、電位差が十分大きくなると、その速度定数は、拡散あるいは長距離電子移動といった要因で支配される一定値に達する。したがって、小さい過電圧で、大きな電流密度を得るためには、図3の折れ曲がり部分に位置するメディエータが同系列内では最適となる。さらに各種のメディエータについてこの関係を調べると値は異なるが同様な傾向が得られる。また電極電位と $E^{\circ}M$ の差により、メディエータの再生速度を制御できる。

このようにこの反応系では、用いるメディエータの $E^{\circ}M$ や電極電位の選択で、電極へ移動する電子のエネルギーと量を調整することができ、代謝物の制御・調節もできる。このように微生物の電子移動と電極反応とを共役したバイオ電子回路は、全体としては最終電子受容体が電極となるので“電気呼吸”ということもでき、またそれはバイオ電池、代謝の電解制御、電気培養といった応用にもつながる。代謝駆動に関するエネルギー革命となる可能性もある。電気培養の例は、本シリーズに松本伯夫氏が詳しく述べられているので、参考にされたい⁶⁾。

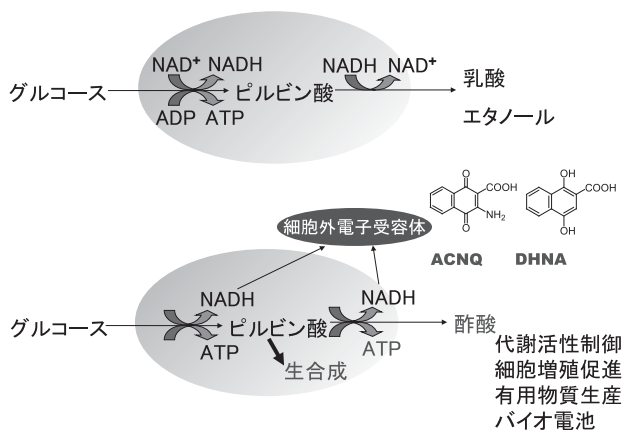


図2. キノン類を最終電子受容体とするピフィズス菌成長促進機構

微生物電池

電池とは、還元剤を負極(陽極:アノード)で酸化し、酸化剤を正極(陰極:カソード)で還元することにより、それらの化学エネルギーを電気エネルギーに変換する装置である。上に述べたように微生物のエネルギー源としての糖類などの電子は、微生物を通してアノードに渡すことができる。その電子をカソードで酸素に渡すことができれば、電池が構成できる(図4A)。この装置を微生物(バイオ)電池という。全体の反応としては、微生物が得たエネルギー源が酸素で酸化されることになるが、電子は外部の電子回路を、プロトンは電解質を移動するため、酸化還元反応のエネルギーは熱となって散逸することなく電気エネルギーに変換される。これはまさに電気化学現象を利用する利点のひとつである⁷⁾。アノードでの電子移動機構は図4Aにあるように各種提案されている⁸⁾が、詳細は不明な点が多い。しかし電極を微生物と接触しておくだけで、時間が経てば自発的に電気化学的コミュニケーションができることが多いことが魅力である。特に*Geobacter*や*Shewanella*を用いたときの酸化触媒電流密度は大きく、これらは“電気産生菌”と呼ばれることもある。微生物は、自己再生可能であるという利点だけでなく、酵素を単離する必要もないという利点もある。

図4Bには微生物のエネルギー源としての基質が酸素に電子を渡す過程(微生物代謝+バイオ電池過程)にどのような電位降下が起こるかを模式的に示している。この図では酸素還元カソード反応に関する電位降下、すなわち過電圧によるロスが非常に大きいことを強調してある。これは微生物電池ではカソード触媒として単離酵素を用いることが非現実的であることに起因する。微生物電池の今後の課題としては、アノード反応の反応速度を向上させることはもちろん、カソード反応の過電圧を減少することが必須である。現在では、無機炭素系触媒の開発や、微生物によるカソード触媒の提案もなされている⁹⁾。

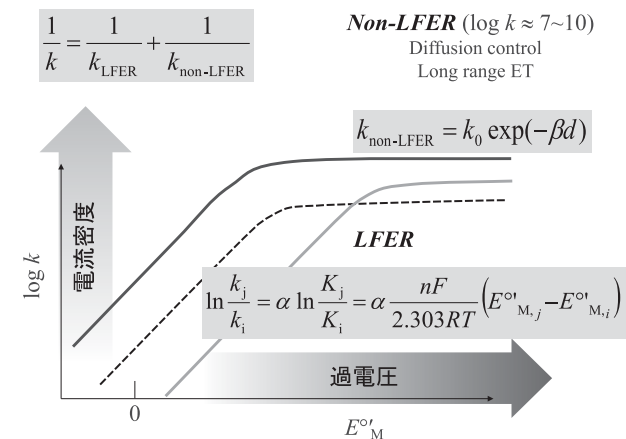


図3. 酵素–メディエータ間の電子移動速度(k)とメディエータ電位($E^{\circ}M$)の関係

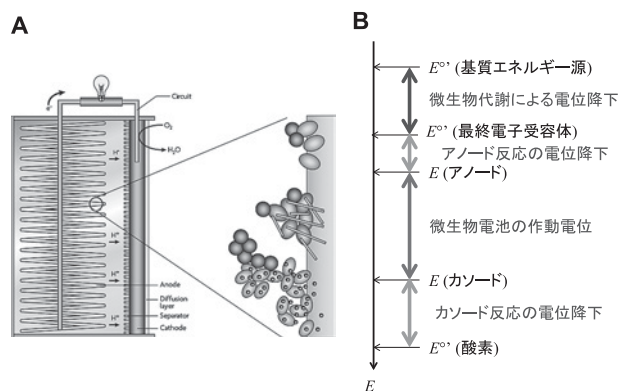


図4. A: 微生物バイオ電池の概念図とアノードでの電子移動機構 (上: 微生物から電極への直接電子移動, 中: 微生物が産生する電気伝導性ナノワイヤーを介しての電子移動, 下: ある微生物が産生する酸化還元物質をメディエータとする電子移動) ⁷⁾, B: 微生物の代謝と微生物電池による電位変化の概略図.

単離酵素による電気化学デバイス

バイオ物質生産においては、生菌体を触媒とするだけでなく、静止菌体や単離酵素を用いる場合もある。電気化学デバイスも事情は同じで、たとえば、バイオ電池では、微生物電池に比べて、酵素を触媒とした電池の方が、現状では、出力が1桁から2桁大きい。酸素還元カソードの触媒としてはマルチ銅オキシダーゼ (multi-copper oxidase; MCO) が用いられる。燃料としては、糖類、アルコール類、有機酸類、あるいは水素などを利用できる⁸⁾。MCOは、タイプ1 (T1) 銅サイトで電子を受け取り、タイプ2-3銅クラスターでO₂を4電子還元する。T1サイトの銅イオンには4つのアミノ酸が配位し四面体構造をとる。このため、平面構造を好むCu(II)状態が不安定となり、酸化還元電位は通常の銅錯体のそれに比べかなり正になる。この性質のおかげで酸素過電圧を大きく減少することができる。T1サイトの電位調節のための変異体酵素も多く創られている。このように従来のバイオテクノロジーがe-バイオに向けてさらに展開しているように思われる。

アノード反応では、生物が利用しているすべての基質の酸化触媒反応を利用することができる。メディエータを用いた場合、グルコースやギ酸の2電子酸化系で30 mA cm⁻²程度に至る非常に大きな電流密度が得られており、静止条件下であっても、酵素バイオ電池の出力は太陽電池のそれに匹敵する10~15 mW cm⁻²程度に達している¹⁰⁾。

メディエータを用いない直接電子移動型アノード酵素としては、フラボプロテイン・シトクローム複合体フルクトース脱水素酵素 (fructose dehydrogenase; FDH) が抜群の電極触媒能を発揮する。これを適当な炭素素材に吸着させるだけで、数十 mA cm⁻²に至る大きな電流密

度でのフルクトースの電解酸化を実現できており、それを利用したバイオ電池では静止下かつメディエータを用いず2 mW cm⁻²の電流密度を達成している¹¹⁾。このようなバイオ電池の開発研究には、電気化学、酵素化学、材料化学などの学際的なアプローチが必要であり、異分野の研究者の共同参画が強く求められる。一方で、産学が共同していく上では、ビジネスモデルやキラーアプリの創生が求められる。

上記のグルコース・O₂バイオ電池のアノード反応、すなわち、酵素・メディエータを用いた電気化学的なグルコース酸化反応は血糖値センサに利用されており、その世界市場は年間14,000億円にも達している。これは酵素化学と電気化学の融合の典型的成功例である。酵素の探索・改変、メディエータ設計、電気化学検出法の改良により更なる性能の向上が期待できる。

一方、FDHがなぜこのような反応ができるのかをタンパク質工学と電気化学の手法を併用して明らかにする試みが始まっている。この反応の詳細が明らかになれば、酵素-電極間の電子移動系の構築がますます容易になり、さまざまな電気化学的バイオデバイスを創生することができる。たとえば半導体量子ドット上でこの反応を進行させれば、バイオコンピュータなどへの展開も可能になる。

ここでは従来のバイオテクノロジーと電気化学系の融合を例に、e-バイオを紹介させていただいた。個々の概念としては以前から謳われていたものもあるが、電気化学系の考え方を鮮明に出すことにより、新しい展開ができると確信しているし、実際、大きく進展している。より多くの研究者にこうした考え方に賛同していただき、熱い議論ができることを心から望んでいる。最後に、紙面の都合上、e-バイオに対するバイオテクノロジーと電気化学のアプローチの詳細にまで触れることはできなかったことをお詫びする。

文 献

- 1) Wall, J. D. and Krumholz, L. R.: *Annu. Rev. Microbiol.*, **60**, 149 (2006).
- 2) Mukherjee, P. et al.: *Angew. Chem. Int. Ed.*, **40**, 3585 (2001).
- 3) Kaneko, T. et al.: *J. Daily Sci.*, **77**, 393 (1994).
- 4) Yamazaki, S. et al.: *Biochim. Biophys. Acta*, **1428**, 241 (1999).
- 5) S.-L. Li, et al.: *Biosens. Bioelectron.*, **25**, 2651 (2010).
- 6) 松本伯夫: *生物工学*, **91**, 381 (2013).
- 7) 加納健司監修: *バイオ電池の最新動向*, シーエムシー出版 (2011).
- 8) Logan, B. E.: *Nature Rev. Microbiol.*, **7**, 375 (2009).
- 9) Erable, B. et al.: *Chemosuschem*, **5**, 975 (2012).
- 10) Sakai, H. et al.: *217th Electrochemical Society Meeting. Abstr.-Electrochem. Soc.*, **1001**, 396 (2010).
- 11) 宋 慶盛ら: *日本農芸化学会2012年度大会* (2012).