

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 齋藤 淳貴

本論文において、学位請求者（齋藤淳貴）は、微生物電極触媒が持つ生物固有の環境適応能機能が、その電極触媒としての機能に与える影響を明らかにすることを目的とした研究発表を行った。本論文は、冒頭で述べられている全体の概要と、それに続く以下の6章から構成されている。

第1章では、研究の背景、目的が論じられている。本論文で用いられている電流生成菌について、基礎・応用の両面に関する既存の研究の流れが述べられている他、それらの研究において欠けていた学位請求者独自の視点が示されており、以降の章における研究内容の意義付けが明確になされている。

第2章では、電流生成菌による環境適応を追跡するための方法論として、電気化学測定による代謝の経時的追跡法の開拓が行われた。微生物が生み出す電流値は、代謝と細胞外電子移動の内、遅い方の過程によって決まるという点に着目し、代謝が細胞外電子移動より遅い場合は電流値を基に代謝速度の変化を追跡できるという仮説の検討が行われた。細胞外電子移動を特異的に加速するリボフラビンを用いることで、電流生成菌 *Shewanella oneidensis* MR-1 株による電流生成の律速段階を調べた結果、電子供与体となる乳酸の濃度が低い場合には代謝が律速段階となることが示された。さらに、培地中の栄養素の制御による代謝速度の抑制が、代謝律速時には電流値に反映されることも確認された。以上の結果より、電気化学測定により代謝速度を経時的に追跡できることが示された。これは、今まで細胞外電子移動速度の分析にのみ用いられてきた電気化学測定法の適用範囲を拡張する成果であると言える。

第3章では、微生物集団が示す代謝の集団的挙動を分析する手段として、高分解能二次イオン質量分析(NanoSIMS)を用いた単細胞代謝解析法の開拓が行われた。分析の結果、電極上で代謝を行う電流生成菌各個体の代謝活性を正確に測定できることが示された。この結果は、NanoSIMS が電極上の微生物の分析にも適用可能であることを確認した初めての結果である。

第4章では、電子供与体を変化させることで、微生物電極触媒反応の根幹を成す代謝反応に変化を引き起こし、これに対するMR-1株の集団的な適応機能が分析されている。環境適応機構として、代謝経路の不均一化に着目し、同位体炭素と窒素の細胞内取り込み量の比を分析することにより、電極上個体が利用する代謝経路の単細胞分析が行われた。その結果、主要な電子供与体である乳酸が欠乏すると、同位体炭素と窒素の取り込み比が細胞ごとにばらつくことが観測された。この結果は、一部の個体が別の電子供与体である酢酸の利用を始めることにより、一様だった代謝経路が不均一化することを示唆している。また、このような不均一化は微生物自身が持つ代謝調節機能によって生じていることが示唆され、更に溶存物質が電子受容体となる非電極系では見られなかった。以上の成果は、微生物電極触媒が代謝経路の不均一化による適応機能を有していることを示唆しており、この機能を積極的に活用すれば、電極触媒としての機能の安定化につながると考えられる。また、この章で用いられた細胞内同位体取り込み比に基づく単細胞代謝解析は、各細胞の分離や蛍光蛋白遺伝子の導入が不要であるといった利点を有しており、電流生成菌の分析に広く用いられると期待される。

第5章では、電子供与体となる有機物が存在しない環境において、MR-1株が未知のアンモニア酸化代謝経路を発現する事で環境に適応するという学位請求者の発見に基づき、その反応機構解析が行われた。既存の研究において、電流生成菌は電子供与体として有機物しか利用できないと考えられてきたが、実験の結果塩化アンモニウムを唯一の電子供与体とした条件で電流生成菌による電流生成、及び生合成活性の増加が見られた。また、生成物として一酸化窒素が生じ、その酸素源は水であることが示された。さらに、このアンモニア酸化反応に関与する遺伝子を探索するために、遺伝子変異株を用いた実験が行われ、亜硝酸還元酵素 *NrfA* が反応に関与していることが示唆された。MR-1株による新規アンモニア酸化の発見は、電流生成菌が有機物のない環境にも適応する能力を持つことを示している他、大量の電力消費という既存の廃水処理法の問題を解決するための新技術にもつながりうる重要な結果である。さらに、この反応が自然界における窒素循環において重要な役割を果たす可能性も示唆された。

第6章では、本研究の総括、及び今後の展望が述べられている。

以上、本論文は、これまで自己増殖能・修復能を持つ他は非生物触媒と同様だとみなされてきた電流生成菌を、環境適応機能を持った生物として捉え直すことにより、生物特有の適応機能を引き出すという、微生物電極触媒利用の新たな指針を提供するものである。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。