

提高电活性微生物电子传递效率的综述

李季 麦智源 翟怡宁 曹浩然 穆雨彤 王素蕾

黑龙江大学 建筑工程学院

DOI:10.12238/eep.v7i3.1963

[摘要] 电活性微生物胞外电子传递被广泛应用于微生物电化学、生物技术、能量回收和环境修复,但其低电子转移率严重限制其应用及发展,因此,本文综述了近年来关于提高电活性微生物胞外电子传递能力的相关工作,并针对不同电子传递机制,为提高电活性微生物的胞外电子传递效率提供了多角度的解决办法。主要包括:提高电活性微生物细胞色素浓度增强跨膜电子传递、促进电子穿梭体合成和传递以及调节电活性生物膜。最后,本文提出了现阶段研究中存在的问题及未来发展方向。

[关键词] 电活性微生物; 胞外电子传递; 细胞色素; 电子穿梭体; 电活性生物膜

中图分类号: Q24 文献标识码: A

A review of improving electron transfer efficiency in electroactive microorganisms

Ji Li Zhiyuan Mai Yining Zhai Haoran Cao Yutong Mu Sulei Wang

School of Civil Engineering, Heilongjiang University

[Abstract] Extracellular electron transfer in electroactive microorganisms is widely used in microbial electrochemistry, biotechnology, energy recovery, and environmental remediation, but its low electron transfer rate seriously limits its application and development; therefore, this paper reviews the relevant work on improving the extracellular electron transfer capacity of electroactive microorganisms in recent years, and provides a solutions from multiple perspectives. These include: increasing the cytochrome concentration of electroactive microorganisms to enhance transmembrane electron transfer, promoting the synthesis and transfer of electron shuttles, and regulating electroactive biofilms. Finally, this paper presents the problems and future development directions of the current study.

[Key words] Electroactive microorganisms; extracellular electron transfer; cytochromes; electron shuttles; electroactive biofilms

引言

电活性微生物 (electroactive microorganism, EAM) 是指能够与胞外电子受体/供体进行双向电子交换,产生或吞噬电流的微生物^[1]。EAM可以分为产电菌和电养菌,产电菌能将在胞内氧化有机物产生的电子传递给胞外固态电子受体,而电养菌则从阴极/矿物捕获电子传递到胞内用于自身生理代谢^[2,3]。EAM由于其胞外电子转移能力 (extracellular electron transfer, EET) 而被广泛应用于微生物电化学、生物技术、能源生产、生物修复等领域^[4]。例如,在微生物燃料电池 (microbial fuel cell, MFC) 中,阳极的产电菌主要用于获取能量、降解有机物,而阴极中的电养菌则可以通过接受电子来合成有价值的化学物质^[5]。由EAM合成的微生物纳米导线,具有导电性的纤维状表面附属结构,有利于将微生物胞内代谢产生的电子长距离输送到胞外受体。细菌纳米导线是制造电子设备的“绿色”材料,它常被用于可持续的电力生产^[6],制备多功能湿度传感器^[7]和导电

复合材料^[8]。但是,EET效率通常较低,限制了EAM的应用和发展。所以本篇综述总结了近年来关于提高EAM的胞外电子传递效率的相关工作。主要包括:(1)提高EAM细胞色素浓度增强跨膜电子传递;(2)促进电子穿梭体合成和传递提高电子传递速度;(3)调节电活性生物膜促进微生物-电极界面反应。最后,本文分析了仍旧存在的问题并展望了未来的发展趋势。

1 胞外电子传递的机理

微生物胞外电子传递主要包括两个过程。第一个过程是EAM将有有机氧化磷酸化,产生的电子通过胞内的NADH脱氢酶、辅酶Q、泛醌等传递至细胞内膜,再通过一系列细胞色素蛋白或其它功能蛋白经过周质传递至细胞外膜^[9]。第二个过程是电子从细胞外膜传递到最终电子受体。微生物与电极或金属离子之间的电子转移包括直接电子转移 (Direct electron transfer, DET) 和间接电子转移 (Indirect electron transfer, IET) (图1)。

在DET中,c型细胞色素和导电纳米线发挥着至关重要的作

用。一种机制是通过电极和细胞色素直接接触转移电子(图1a), 另一种机制是产生导电菌毛或菌毛状结构(图1b), 延长DET距离并最大限度地提高传输效率。

在IET, 一些EAM通过内源介质(黄素、吩嗪、奎宁)和天然物质(腐殖酸)以及人造物质(中性红、葱醌-2, 6-二磺酸酯)将电子转移到阳极, 这被称为电子穿梭^[10, 11](图1c)。其他EAM通过氧化还原介质或能量载体(如 H_2 和甲酸盐)以及充当阴极和微生物之间介质的甲酸氢酶来执行间接电子转移^[12](图1d)。此外, 最近提出了一种黄素辅因子机制, 在该机制中, 黄素与细胞色素c结合并参与两次单电子还原^[13]。对于电子在物种之间的转移, 电子可以通过一些氧化还原介质, 包括 H_2 和甲酸盐, 或者通过菌毛或菌毛状结构进行转移^[14](图1e)。

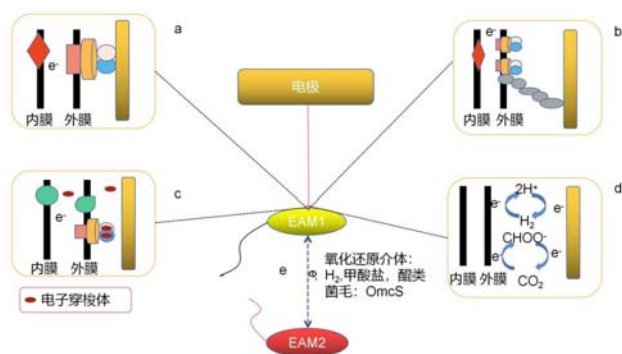


图1微生物与电极或金属氧化物之间的EET通过四条主要途径发生, 涉及(a)细胞色素蛋白; (b)纳米线; (c)作为与细胞色素结合的辅助因子的自由电子穿梭或电子穿梭; (d)氧化还原介质或能量载体或酶。物种间的EET主要基于氧化还原介质(H_2 、甲酸盐、醌类)、菌毛或菌毛状结构。灰色为菌毛, 绿色为转运蛋白, 红色和其他颜色为c型细胞色素, EAM1和EAM2代表两个不同电活性微生物的物种。

2 提高EET效率的方法

2.1 提高EAM细胞色素浓度增强跨膜电子传递

细胞色素c是一类以血红素为辅基的电子传递蛋白, 在微生物胞外电子传递中起着举足轻重的作用, 增加CymA的浓度可以显著增强细胞生长和EET能力。研究表明位于细胞内膜的CymA是Shewanella Onedensis MR-1的Mtr EET途径的起点。与野生型菌株相比, 改造后的MR-1菌株的功率增加了0.13mW^[15]。通过从MR-1导入细胞色素蛋白(mtrABC、FCCA和CymA)进行富马酸还原, 构建了具有电活性的大肠杆菌T110。电活性大肠杆菌T110产生的琥珀酸是野生型菌株的1.6倍^[16]。综上所述, 通过提高EAM细胞色素蛋白的浓度可以提高EET效率。

2.2 促进电子穿梭体合成和传递提高电子传递速度

2.2.1 促进电子穿梭体的合成

电子穿梭体通常是由EAM分泌的具有氧化还原活性的次级代谢产物, 通过氧化还原反应将电子传递到电极。黄素作为一种常见的电子穿梭体, 可以有效促进EET过程。例如, 向MFC中添加黄素可以将MFC产生的电流峰值提升四倍^[17]。吩嗪是另一种类

型的电子穿梭体, 在电子传递过程中起着至关重要的作用。例如, 吩嗪合成途径中的一个关键基因phzM被表达, 导致吩嗪产量比原始菌株增加1.6倍, 功率密度增加4倍^[18]。表面活性剂化合物的子集与吩嗪电子穿梭体具有协同作用。例如, 在铜绿假单胞菌接种的MFC中, 添加40 mg/L槐糖脂会显著增加绿脓菌素产量、电流和功率(分别是对照的1.7倍~2.6倍和4倍)。这些研究表明, 促进电子穿梭体吩嗪可以提高胞外电子传递效率。

2.2.2 促进电子穿梭体传递

孔蛋白作为亲水通道可以提高细胞膜的通透性, 并进一步促进了电子穿梭体传递。例如, MR-1中表达的铜绿假单胞菌的孔蛋白OprF增强了细胞膜对黄素的渗透性, 并进一步提高了电子转移能力。同样, 铜绿假单胞菌的OprF在大肠杆菌中异源表达, 显著增加了大肠杆菌的膜通透性, 从而降低了电子传递介质的阻力, 使其能够自由穿过细胞膜, 有效增强了电催化性能。除了孔蛋白外, 某些化合物如壳聚糖、乙二胺四乙酸(EDTA)和聚乙烯亚胺(PEI), 通过破坏细胞膜的脂多糖层, 形成穿过细胞膜的通道, 加速电子穿梭体传递。以上研究表明, 促进电子穿梭体传递可以提高EET效率。

2.3 通过调节电活性生物膜促进EET效率

微生物和电极界面上的电子交换过程是形成各种团簇的基础, 被认为是影响生物电化学系统(BES)整体性能的关键步骤。近几年研究发现, 可以通过合成生物学或电极材料工程控制生物膜的厚度和导电性, 调节生物膜的电活性, 达到促进微生物的生长和提高电子转移效率的目的。

2.3.1 通过合成生物学改善生物膜的厚度和电导率

通过改变细胞外基质的成分来提高生物膜的导电性。细胞外基质, 如胞外多糖、蛋白质和胞外DNA, 与菌毛和鞭毛的相互作用与生物膜形成密切相关。鞭毛充当生物膜基质支架, 可以容纳更多有序的细胞外细胞色素分子, 增加生物膜中的电子扩散速率。例如, 鞭毛不仅加速了硫还原地杆菌的电流产生, 而且有助于形成更厚的阳极生物膜, 提高细菌和细胞色素负荷。此外, 通过在MR-1接种的MFC中加入外源电子介质, 可增加胞外聚合物的产生。所有被测试的外源电子介质都极大地促进了生物膜的形成。有外源电子介质的生物膜DNA是没有外源电子介质的15到36倍, 这导致了更高密度电流的产生。

2.3.2 利用材料工程提高生物膜的厚度和导电性

通过导电聚合物调节生物膜的厚度增强微生物电活性。导电聚合物是一种具有共轭键的聚合物, 通过化学或电化学“掺杂”将聚合物从绝缘体转变为导体。导电聚合物材料包括聚苯胺(PANI)、聚吡咯(PPy)和3, 4-乙氧基吩嗪(PEDOT), 具有良好的导电性、生物相容性以及环境稳定性。例如, 在MR-1表面涂覆PPy既提高了生物膜的电导率, 又增强了细菌细胞的活力。电子显微镜分析结果表明涂有PPy的MR-1细胞表面粗糙, 而且活细胞几乎覆盖了碳布电极的整个区域。阳离子聚噻吩衍生物也可以同时促进细菌生物膜的形成, 提高细菌的生存能力, 降低细菌的电阻值, 并加速细胞与电极之间的EET过程, 大幅提高电池的电流密

度和功率密度, 延长电池的使用寿命。

3 总结与展望

EAM物种繁多, 丰富了微生物代谢的多样性, 通过提高EAM细胞色素浓度、促进电子穿梭体合成和传递以及调节电活性生物膜可以显著提高EAM的EET能力, 同时也提高了MFC、BES等微生物电化学技术的效率。EAM的EET能力在微生物电化学、生物技术、能源生产、废水处理、生物修复与化学合成等领域有着良好的应用前景, 因此, 微生物胞外电子传递的研究将受到持续的关注。但同时EAM的EET研究还是存在很多问题亟待解决。

(1) EAM的研究仍处于起步阶段。只在少数模式生物中进行了EET研究, 许多环境中的EET进程尚未得到充分描述, 导致对所涉及的基本机制缺乏了解。(2) 扩大EET及其生物技术的实际应用十分困难。在BES中, 存在细胞色素和电极之间电子交换速率低、电子穿梭有限或生物膜质量和电导率低的问题, 严重降低了EET效率; 在BES实际应用中, 启动时间过长、功率低以及在MFC中使用昂贵、稀有的阴极催化剂等造成成本增加, 降低了经济效益。(3) 在自然界中, EAM通常以群体形式存在, 微生物之间通常存在共生关系, 而目前的研究缺少对EAM共生群落EET的研究。

合成生物学改造EAM的是提高EET效率的一个重要策略充分探索EAM电催化群落的优势, 构建和优化高效生产电力的合成微生物电催化群落具有巨大的工业化潜力, 将来会为人类社会的可持续发展做出巨大的贡献。

[参考文献]

[1] Potter, M.C., 1911. Electrical effects accompanying the decomposition of organic compounds. Proc. Royal Soc. Lond. Ser. B, Biol. Sci. (1934–1990) 84, 260–276.

[2] Koch, C., Harnisch, F., 2016a. Is there a specific ecological niche for electroactive microorganisms? ChemElectroChem 3(9), 1282–1295.

[3] Logan, B.E., Rossi, R., Ragab, A.A., Saikaly, P.E., 2019. Electroactive microorganisms in bioelectrochemical systems. Nat. Rev. Microbiol. 17(5), 307–319.

[4] Rabaey, K., Rozendal, R.A., 2010. Microbial electrosynthesis – revisiting the electrical route for microbial production. Nat. Rev. Microbiol. 8(10), 706–716.

[5] Liu, X.-W., Li, W.-W., Yu, H.-Q., 2014. Cathodic catalysts in bioelectrochemical systems for energy recovery from wastewater. Chem. Soc. Rev. 43(22), 7718–7745.

[6] Derek R. Lovley and Dawn E. Holmes. Protein Nanowires: The Electrification of the Microbial World and Maybe Our Own [J]. Journal of bacteriology. 2020.

[7] Multifunctional Protein Nanowire Humidity Sensors for Green Wearable Electronics [J]. Advanced Electronic Materials, 2020.

[8] Sun Y L, Tang H Y, Ribbe A, et al. Conductive Composite Materials Fabricated from Microbially Produced Protein Nanowires [J]. Small, 2018, 14.

[9] Nevin K P, Lovley D R. Mechanisms for accessing insoluble Fe(III) oxide during dissimilatory Fe(III) reduction by Geothrix fermentans [J]. Appl Environ Microbiol, 2002, 68(5): 2294–9.

[10] Hernandez, M.E., Kappler, A., Newman, D.K., 2004. Phenazines and other redox-active antibiotics promote microbial mineral reduction. Appl. Environ. Microbiol. 70(2), 921–928.

[11] Saito, J., Hashimoto, K., Okamoto, A., 2016. Flavin as an indicator of the rate-limiting factor for microbial current production in *Shewanella oneidensis* MR-1. Electrochim. Acta 216, 261–265.

[12] Aryal, N., Ammam, F., Patil, S.A., Pant, D., 2017. An overview of cathode materials for microbial electrosynthesis of chemicals from carbon dioxide. Green Chem. 19(24), 5748–5760.

[13] Kees, E.D., Pendleton, A.R., Paquette, C.M., Arriola, M.B., Kane, A.L., Kotloski, N.J., Intile, P.J., Gralnick, J.A., 2019. Secreted flavin cofactors for anaerobic respiration of fumarate and urocanate by *Shewanella oneidensis*: cost and role. Appl. Environ. Microbiol. 85(16)(e00852–00819).

[14] Shrestha, P.M., Rotaru, A.-E., 2014. Plugging in or going wireless: strategies for interspecies electron transfer. Front. Microbiol. 5, 237.

[15] Vellingiri, A., Song, Y.E., Munussami, G., Kim, C., Park, C., Jeon, B.-H., Lee, S.-G., Kim, J. R., 2019. Overexpression of c-type cytochrome, *CymA* in *Shewanella oneidensis* MR-1 for enhanced bioelectricity generation and cell growth in a microbial fuel cell. J. Chem. Technol. Biotechnol. 94(7), 2115–2122.

[16] Wu, Z., Wang, J., Liu, J., Wang, Y., Bi, C., Zhang, X., 2019a. Engineering an electroactive *Escherichia coli* for the microbial electrosynthesis of succinate from glucose and CO₂. Microb. Cell Factories 18(1), 15.

[17] Velasquez-Orta, S.B., Head, I.M., Curtis, T.P., Scott, K., Lloyd, J.R., von Canstein, H., 2010. The effect of flavin electron shuttles in microbial fuel cells current production. Appl. Microbiol. Biotechnol. 85(5), 1373–1381.

[18] Yong, X.-Y., Shi, D.-Y., Chen, Y.-L., Jiao, F., Lin, X., Zhou, J., Wang, S.-Y., Yong, Y.-C., Sun, Y.-M., OuYang, P.-K., Zheng, T., 2014. Enhancement of bioelectricity generation by manipulation of the electron shuttles synthesis pathway in microbial fuel cells. Bioresour. Technol. 152, 220–224.