

# 铁氧化物-微生物界面电子传递的分子机制研究进展

刘娟, 李晓旭, 刘枫, 张逸潇

北京大学 环境科学与工程学院, 北京, 100871

**摘要:** 在地表环境中, 铁氧化物矿物可以作为微生物胞外呼吸的终端电子受体/供体、电子储存介质或种间电子传递介质促进环境微生物的新陈代谢。本文介绍了矿物-微生物直接界面电子转移方式中, 铁氧化物矿物与组成微生物跨膜电子传输链的细胞色素蛋白之间的氧化-还原反应机制及其影响因素, 从分子水平刻画了微生物利用矿物进行胞外呼吸的过程, 有助于深入理解微生物驱动的矿物转化和元素地球化学循环。

**关键词:** 矿物-微生物相互作用; 铁氧化物矿物; 胞外电子传递; 细胞色素蛋白

中图分类号: P574 文章编号: 1007-2802(2018)01-0039-09 doi: 10.19658/j.issn.1007-2802.2018.37.015

## Research Advantages on Molecular Mechanisms of Interfacial Electron Transfer Between Iron oxide and Microbe

LIU Juan, LI Xiao-xu, LIU Feng, ZHANG Yi-xiao

College of Environmental Sciences and Engineering, Peking University, Beijing 100871, China

**Abstract:** In the surface environment, iron oxide minerals can promote microbial metabolism as a terminal electron donor/acceptor, environmental battery, or a conductor for direct interspecies electron transfer, and so on. This paper introduced the up-to-date studies about molecular mechanisms and influencing factors on the interaction between iron oxide minerals and c-type cytochromes of extracellular electron transfer pathways, including the binding of cytochromes onto the surface of iron oxide minerals, effects of mineral properties on interfacial electron transfer, and main environment variables controlling extracellular electron transfer, etc.

**Key words:** mineral-microbe interaction; iron oxide mineral; extracellular electron transfer; c-type cytochrome

矿物-微生物界面电子转移过程不仅能够驱使矿物发生溶解、沉淀、转化等多种反应, 而且对微生物的生长、代谢和互营协作都起到极其重要的作用 (Gadd, 2010; Shi *et al.*, 2016)。在漫长的地质演化过程中, 矿物-微生物界面的电子转移对微生物、矿物以及环境的共同演化也起到了不可忽视的作用 (Lu *et al.*, 2012a, 2013)。此外, 微生物利用矿物进行胞外呼吸作用的能力也被广泛地应用于重金属污染的微生物修复技术、有机污染物的微生物降解、微生物燃料电池的开发和应用中 (Wall and Krumholz, 2006; Logan, 2009)。地表环境中广泛存在的铁氧化物矿物不仅为微生物生长代谢提供了必需的营养元素, 也是微生物胞外呼吸作用中常见

的终端电子受体/供体。因此, 铁氧化物矿物-微生物之间的相互作用能够显著影响环境微生物的群落结构, 推动铁、碳、氮、硫等元素的地球化学循环, 在生物成矿、微生物环境治理、新能源开发等方面都具有十分重要的意义 (Weber *et al.*, 2006; 丁竑瑞等, 2011; Melton *et al.*, 2014)。

随着先进的光谱学、显微学技术和分子生物学的发展, 从分子水平认识矿物-微生物相互作用的机制逐渐成为生物地球化学的新兴研究方向 (Banfield *et al.*, 2005)。关于矿物-微生物相互作用的微观机制研究有助于深入理解生物地球化学过程的内在规律和制约因素, 全面认识微生物对地质环境变化的响应以及对环境演化的影响, 促进开

收稿日期: 2017-09-26 收到, 2017-10-10 改回

第一作者简介: 刘娟 (1978—), 女, 研究员, 研究方向: 微生物地球化学、环境矿物学, 获第 16 届侯德封奖. E-mail: juan.liu@pku.edu.cn.



发微生物技术在环保、采矿、新能源等领域的应用(Newman and Banfield, 2002)。铁是地壳中丰度第四位的元素,也是地表分布最广的变价金属元素之一,因此铁元素的生物地球化学循环对生态环境具有显著的影响。虽然在近中性的环境中,铁元素多以不可溶的矿物形式存在,但是,微生物利用胞外铁氧化物矿物进行呼吸作用的现象在地表环境中却广泛存在(Weber *et al.*, 2006)。微生物如何利用胞外不可溶的铁氧化物矿物进行物质和能量代谢是认识微生物驱动的铁元素地球化学循环的关键。探索这一科学问题需要综合运用分子生物学、地球化学、矿物学等多学科的知识和技术,从微生物的生化过程、矿物的界面反应等不同方面描述铁氧化物矿物-微生物之间的微观作用机制。本文着重介绍了微生物异化还原/氧化铁氧化物矿物方面的研究进展,重点阐述了微生物如何利用蛋白质组成的跨膜电子传输链,实现胞内物质和胞外矿物之间的电子传递,以及影响矿物与这些蛋白质之间相互作用的主要矿物学性质和环境因素。从分子水平揭示矿物-微生物界面电子转移机制需要借助多学科知识和先进技术,相关研究尚处于起步阶段,许多关键科学问题还有待进一步研究。

## 1 铁氧化物矿物对微生物新陈代谢的促进作用

在地表关键带中,岩石圈和生物圈之间的相互作用驱动了物质迁移和能量转化,其典型代表就是矿物-微生物的相互作用。微生物可以通过多种途径利用铁氧化物矿物促进自身的新陈代谢,同时驱动元素的地球化学循环:

(1)铁氧化物矿物作为电子受体/供体促进微生物的生长和代谢(Qiu and Shi, 2017)。例如异化铁还原菌 *Geobacter metallireducens*、*Shewanella oneidensis* 等能够将铁氧化物矿物中的 Fe(III) 作为终端电子受体进行胞外呼吸(Fredrickson *et al.*, 2008; Shi *et al.*, 2016)。而且,一些铁还原菌在还原铁离子的同时,还能够降解转化有机污染物,促进矿物的生物风化作用。另一方面,*Rhodospseudomonas palustris* TIE-1、*Sideroxydans lithotrophicus* ES-1 等金属氧化菌能以多种形态的亚铁离子作为电子/能量来源,还原氧气、二氧化碳和硝酸盐,促进自身的生长代谢,同时诱导生物成矿过程(Liu *et al.*, 2012, 2013)。天然环境中,铁氧化菌/铁还原菌与铁氧化物矿物之间的相互作用推动了铁、碳等元素的地球化学循环(Konhauser *et al.*, 2011),并且促进了营养

物质的迁移、污染物的转化等过程(Borch *et al.*, 2010)。

(2)铁氧化物矿物作为电子传导物质介导微生物之间的电子转移。天然环境中的铁氧化物矿物大多属于半导体,具有一定的导电能力,能够在微生物群落中起到导线的作用。Nakamura 等(2013)研究发现,加入赤铁矿或针铁矿纳米颗粒可以显著提高 *Shewanella loihica* PV-4 生物膜在光照条件下产生的光电流,说明铁氧化物颗粒介导了生物膜中不同微生物之间的光电子长距离运输。除了介导同种微生物之间的电子传递,铁氧化物矿物也能够促进不同种微生物之间的电子传递,加速其共生关系的建立。例如,研究发现磁铁矿能够显著促进 *Geobacter metallireducens*-*Geobacter sulfurreducens*, *G. sulfurreducens*-*Thiobacillus denitrificans*, *Geobacter* spp.-methanogens 等相关微生物之间形成共生互营关系(Viggi *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2016)。这种由天然环境中的矿物直接介导的不同种微生物之间的电子传递被称为直接种间电子传递(direct interspecies electron transfer, DIET)过程(Shrestha and Rotaru, 2014)。虽然现阶段 DIET 的分子机制尚不十分清楚,但是铁氧化物矿物搭建的种间电子传递桥梁被认为在 DIET 过程中起到了关键的作用。具有较高电导率的磁铁矿比其它铁氧化物矿物对 DIET 的建立有更为显著的促进作用(Kato *et al.*, 2012)。

(3)作为微生物胞外呼吸的电子储存介质促进微生物的生长代谢。具有混合价态的铁氧化物,例如磁铁矿,在微生物胞外呼吸中既可以作为电子受体又可以作为电子供体,对环境的氧化-还原电位起到重要的调节作用(任桂平等,2017)。在没有其他终端电子受体的情况下,铁还原菌可以还原磁铁矿,将电子储存在胞外矿物中。当环境的氧化-还原条件发生改变后,铁氧化物矿物可以将之前储藏的电子通过呼吸作用传递给微生物。整个过程中铁氧化物矿物作为环境“蓄电池”,协助微生物应对地质环境的变化,促进了微生物的生长代谢(Byrne *et al.*, 2015; Zhao *et al.*, 2015)。

(4)协助非光合微生物进行光能转化,促进代谢生长。铁氧化物矿物作为自然环境中广泛存在的半导体矿物,能够通过光催化作用将太阳光的光能转化成化能,产生的光电子能够促进和支持非光合微生物的生长代谢。例如,在富含铁、锰氧化物矿物的红壤中,太阳光照可显著促进化能自养型微生物-嗜酸性氧化亚铁硫杆菌(*Acidithiobacillus ferro-*



*oxidans*) 和化能异养型微生物-粪产碱杆菌 (*Alcaligenes faecalis*) 的生长,使红壤中微生物的群落构成发生显著改变(Lu *et al.*, 2012b)。这说明一些非光合微生物虽然不能直接利用光能合成有机物质,却可以利用半导体矿物光催化产生的光电子作为生长代谢的能量来源。另外,近期研究发现日光照射也可以使赤铁矿-*Shewanella oneidensis* 体系的产电效率显著提高。可能的原因是希瓦氏菌代谢底物产生的生物电子与赤铁矿在日光照射激发产生的光生空穴结合,促进了矿物晶体中光生电子-空穴的分离,从而更加高效地将光能和化能转化成电能(Zhu *et al.*, 2017)。这些现象说明微生物能够和铁氧化物矿物在日光照射下协同作用,促进环境中物质和能量的转化。

上述几种铁氧化物矿物促进微生物代谢生长的方式都涉及到微生物与胞外矿物之间的电子转移。铁氧化物在中性水环境中多为不可溶矿物,而且常难以穿透微生物的细胞质膜进入到胞内。因此,微生物会通过直接或间接方式利用胞外的矿物进行呼吸作用。前者是指微生物直接与矿物表面接触,通过细胞膜套上的一系列蛋白实现电子的跨膜传递(Shi *et al.*, 2012a)。间接方式则是指微生物无需直接与矿物表面接触,而是通过分泌电子传导物质,或者产生导电纳米线实现与一定距离内矿物之间的电子传递(Okamoto *et al.*, 2013)。一些微生物还可以分泌嗜铁素(siderophore)将矿物晶格中的铁离子转化为可溶性的含铁络合物,然后进入胞内参与代谢过程。相对于间接电子传递方式,微生物-矿物界面直接电子传递的通道和分子机制研究较为深入,将在以下部分着重介绍。

## 2 参与铁氧化物-微生物界面电子传递的蛋白质

微生物在胞外呼吸过程中借助由蛋白质组成的、贯穿整个细胞膜套的电子传输链实现跨膜电子转移,将胞内代谢过程和胞外铁氧化物矿物的氧化-还原反应联系起来。微生物进行跨膜电子传输的具体途径是复杂多样的。而且,由于构成跨膜电子传输链的蛋白质具有进化的多样性,其功能和作用不能仅通过功能基因分析方法简单判定,而需要通过生物化学、电化学、反应动力学等方法系统研究传输链上每种蛋白质的功能及其在跨膜电子传递中的作用。目前基于对几种模式微生物胞外呼吸过程的研究,已经有多条跨膜电子传输链被提出。其中,研究最为深入的是具有异化铁还原功能的希

瓦氏菌(*Shewanella oneidensis* MR-1)。其跨膜电子传输是由细胞色素蛋白 CymA、Fcc<sub>3</sub>、MtrA、MtrC、OmcA、STC 及孔蛋白 MtrB 组成的金属还原通道(Mtr pathway)完成的。该电子传输链利用 CymA 氧化细胞质膜上的氢醌,然后将电子经由 Fcc<sub>3</sub> 和 STC 传递给位于外膜的 MtrA。MtrA、MtrB 和 MtrC 形成的蛋白质复合体协同作用还原胞外的铁氧化物矿物,实现将电子传递到胞外。组成 Mtr 传输链的蛋白质及其同源体普遍存在于已发现的、具有金属还原能力的希瓦氏菌属中,对于理解其他金属还原菌的胞外电子转移过程具有重要的借鉴意义(Gralnick *et al.*, 2006; Fredrickson *et al.*, 2008; Shi *et al.*, 2012a; Emerson *et al.*, 2013; Jiao and Newman, 2017)。同样具有金属还原能力的硫还原地杆菌(*Geobacter sulfurreducens*)则是通过 ImcH、CbcL、PpcA、PpcD、OmaB、OmaC、OmcB、OmcC 等细胞色素蛋白和孔蛋白(OmbB 和 OmbC)组成的蛋白质复合体(Pcc 通道)进行跨膜电子传递。希瓦氏菌的 Mtr 金属还原通道中的 MtrA、MtrB 和 MtrC 蛋白复合体与硫还原地杆菌 *G. sulfurreducens* 的孔蛋白-色素蛋白复合体并没有同源性,说明它们通过独立进化获得了相似的跨膜电子传递功能(Shi *et al.*, 2014)。在金属氧化菌 *Sideroxydans lithotrophicus* ES-1 和光合铁氧化菌 *Rhodospseudomonas palustris* TIE-1 中都发现有由细胞色素蛋白组成的、能够将电子由胞外传递到胞内的金属氧化通道—Mt 通道(图 1)和 Pio 通道(Liu *et al.*, 2012; Shi *et al.*, 2016)。

从已知的几条跨膜电子传递通道可见,在电子传递中起关键作用的是细胞色素蛋白(c-type cytochrome)。这些细胞色素蛋白通常含有多个血红素(heme),电子可以在相邻血红素的铁原子之间进行跳跃,使得细胞色素蛋白具有传导电子的能力(Breuer *et al.*, 2015)。理论计算发现,细胞色素蛋白中相邻血红素的距离和排布方式都会影响电子传递的能力和效率(Breuer *et al.*, 2012),因此,细胞色素蛋白得失电子的能力与其分子结构密切相关。OmcA、MtrC 及其同源蛋白 MtrF 在空间结构上具有相似性,血红素均排列成‘扭曲十’字形,分别由血红素 5、4、3、1、6、8、9、10 组成的长链和血红素 2、1、6、7 组成的短链构成。电子主要沿长链传递,并通过暴露在蛋白质表面的血红素 5 和 10 与相邻蛋白质分子或矿物表面进行电子传递(Clarke *et al.*, 2011; Edwards *et al.*, 2014)。而且,理论计算证明电子在血红素组成的长链上沿相反方向传导的效率几乎一致(Breuer *et al.*, 2012),说明这些细胞色

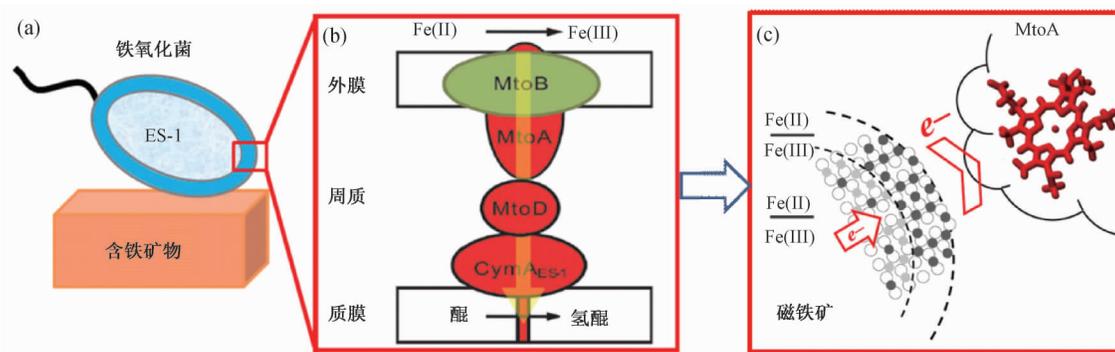


图1 铁氧化菌 *Sideroxydans lithotrophicus* ES-1 利用蛋白质 MtoA、MtoB、MtoD 和 CymA 组成跨膜电子传递链氧化胞外的铁氧化物矿物 (a-b); 钛磁铁矿颗粒与细胞色素蛋白 MtoA 界面电子传递机理示意图 (c), 反应过程中电子从矿物晶体内部向表面迁移

Fig.1 The neutrophilic Fe(II)-oxidation bacterium *Sideroxydans lithotrophicus* ES-1 uses multihaem c-type cytochromes, MtoA, MtoB, MtoD and CymA, to form a pathway for transferring electrons from extracellular iron oxide minerals to quinone in the cytoplasmic membrane (a-b); MtoA is the key cytochrome in the metal-oxidizing pathway (Mto) pathway of *Sideroxydans lithotrophicus* ES-1 and directly reacts with magnetite surface. Electrons transfer from the interior of magnetite to the mineral surface, followed by the interfacial electron transfer from magnetite surface to MtoA (c)

素蛋白具有得失电子的双向性。随着更多组成跨膜电子传递链的细胞色素蛋白的结构被解析,对于矿物-微生物界面电子转移机制的认识将进一步拓展和加深。

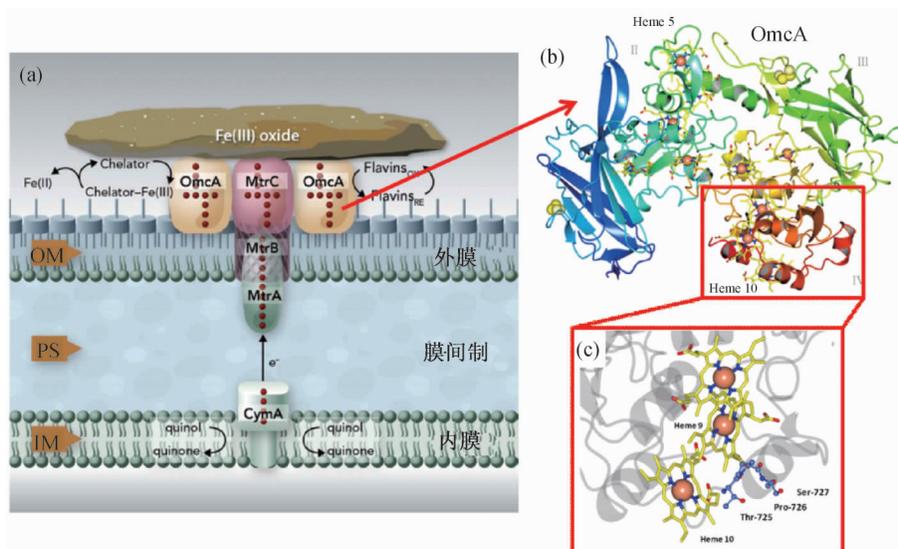
### 3 铁氧化物矿物-细胞色素蛋白的相互作用机制

铁氧化物矿物表面与微生物跨膜电子传输链上的细胞色素蛋白之间的相互作用决定了矿物-微生物直接界面电子转移的效率。研究细胞色素蛋白在矿物表面的吸附、电子转移等过程的机制和影响因素是正确理解微生物胞外呼吸矿物的分子机制,以及相关生物地球化学过程的关键。

#### 3.1 铁氧化物矿物-细胞色素蛋白的结合方式

铁氧化物矿物-细胞色素蛋白的相互作用机制研究的一个关键科学问题是细胞色素蛋白如何与矿物表面结合,以及结合方式对于电子传递效率的影响。其中,研究最为广泛地是希瓦氏菌外膜蛋白 OmcA 与赤铁矿表面的结合方式。Lower 等(2008)通过研究典型多肽链与赤铁矿表面的结合,发现氨基酸序列——Ser/Thr-Pro-Ser/Thr(丝氨酸/苏氨酸-脯氨酸-丝氨酸/苏氨酸)在与赤铁矿结合的各种多肽链中多次出现,而且这段序列也存在于希瓦氏菌外膜蛋白 OmcA 和 MtrC 中,因此提出了希瓦氏菌外膜蛋白中结合赤铁矿的位点(hematite binding motif)。Edwards 等(2014)利用同步辐射 X 射线小角衍射的方法解析了 OmcA 的蛋白结构,证实

了 Ser/Thr-Pro-Ser/Thr 序列存在于 OmcA 蛋白的 heme 9 和 heme 10 附近(图 2)。OmcA 通过结构中的 Ser/Thr-Pro-Ser/Thr 与赤铁矿表面的羟基形成氢键,从而吸附在赤铁矿表面。然而,Fukushima 等(2017)利用荧光技术及 X 射线示踪质谱等技术,分析了 OmcA 的同源蛋白 MtrF 的蛋白结构,发现 MtrF 的结构中并没有 Ser/Thr-Pro-Ser/Thr 序列存在。而且,与 OmcA 不同,MtrF 吸附赤铁矿的活性位点位于 heme 6 和 heme 7 附近。因此,不同细胞色素蛋白与铁氧化物矿物表面的结合方式还有待进一步研究。在理论计算方面,Kerisit 等(2007)通过分子动力学方法模拟了水溶液中希瓦氏菌跨膜电子传递链—Mtr 通路上细胞色素蛋白 STC 与赤铁矿表面的相互作用过程,并且运用电子转移耦合矩阵元(electronic coupling matrix element)的方法计算了 STC 与赤铁矿表面的电子传递速率。不同于 Mtr 通路上的其他细胞色素蛋白,STC 只含有 4 个血红素,而不是 10 个血红素,有助于建立计算模型。计算结果表明单个 STC 可以通过血红素长轴的两端与氧化物矿物表面形成氢键,使得细胞色素-氧化物间的电子传递距离缩小到 0.9 nm,但其电子传递速率依然较低,同时受到蛋白质结构中相邻血红素之间距离、排布方式和矿物表面性质的影响(Kerisit *et al.*, 2007)。目前,由于蛋白质结构的复杂性、模拟计算方法的局限性等因素影响,细胞色素蛋白与矿物表面结合方式的理论计算还十分欠缺。



图件引自 Edwards 等 (2014)

图 2 (a) 希瓦氏菌细胞膜套上由蛋白质组成的 Mtr 电子传输链示意图;(b) 位于传输链末端、与矿物直接接触的蛋白质 OmcA 的结构;(c) OmcA 结构中位于 10 号血红素(Heme 10)附近的 Ser/Thr-Pro-Ser/Thr 是 OmcA 与赤铁矿表面结合的位点

Fig.2 (a) The proposed metal-reducing (Mtr) pathway of *Shewanella oneidensis* MR-1; (b) OmcA is the key protein on the Mtr pathway of *S. oneidensis* MR-1 that directly reacts with iron oxide minerals; (c) in the structure of OmcA, the motif, Ser/Thr-Pro-Ser/Thr around the Heme 10 was proposed as the binding site of OmcA to hematite surface

### 3.2 影响铁氧化物矿物-细胞色素蛋白界面电子传递速率的矿物学性质

微生物外膜蛋白与铁氧化物之间的电子转移过程包括:蛋白质扩散并吸附到矿物表面,以及随后电子在表面吸附的蛋白质分子和矿物表面的铁离子之间进行转移。理论计算证实跨膜电子传递链中不同蛋白之间的电子传输速率远远大于蛋白质和矿物界面的电子传递速率,因此微生物胞外呼吸铁氧化物矿物的决速步是外膜蛋白与矿物表面之间的电子转移过程。而现阶段关于细胞色素蛋白与矿物界面电子转移的研究主要关注的是蛋白质本身的结构和性质对这个过程的影响,矿物学性质在这个过程中作用研究得还较少。

在氧化-还原反应中,界面电子传递的效率与反应物之间的氧化-还原电位差密切相关。因此,矿物本身的氧化-还原电位是细胞色素蛋白-矿物界面电子传递速率的重要决定因素。例如,嗜中性铁氧化菌 *Sideroxydans lithotrophicus* ES-1 氧化磁铁矿的研究中显示,微生物可以直接利用外膜细胞色素蛋白 MtoA 氧化矿物晶格中的 Fe(II),而不需要经过矿物溶解释放出溶解态 Fe(II)的步骤(图 1)。而且,通过增加磁铁矿晶格中钛原子的掺杂量,可以有效地提高矿物晶格中 Fe(II)/Fe(III)的比例,降低矿物的还原电位。通过测量 MtoA 与钛磁铁矿

之间的氧化-还原反应动力学,发现细胞色素蛋白与铁氧化物的界面电子传递速率会随着矿物晶格中 Fe(II)/Fe(III)比例增大而显著增大,揭示了微生物胞外呼吸效率与矿物氧化-还原电位之间的内在联系。而且,通过比对钛磁铁矿与 MtoA 反应前后性质的变化,揭示了在微生物氧化过程中存在电子从矿物颗粒内部向表面迁移的固相电子传递过程(图 1c)(Liu *et al.*, 2013)。因为电子在粒径较小的矿物颗粒中固相电子传递的效率更高,所以铁氧化物纳米矿物颗粒与微生物界面的电子传递速率可能具有更快的反应速率。

然而,目前关于矿物颗粒粒径与微生物-矿物界面电子传递效率的相关研究报道了不同的规律。Roden(2003)在微生物还原不同种铁氧化物的研究中提出异化铁还原的初始速率与矿物颗粒的比表面积和表面活性位点的浓度呈线性关系,与铁氧化物的晶型和形态无关。Yan 等(2008)在地杆菌还原赤铁矿的研究中也提出异化还原速率与微生物-矿物之间的接触面积有关,与矿物颗粒的总表面积无关。而 Bose 等(2009)比较了希瓦氏菌还原不同粒径赤铁矿颗粒的反应速率,发现单位面积的反应速率与颗粒粒径的关系是:99 nm > 12 nm > 30 nm > 43 nm,并不是粒径越小反应速率越快,可能的原因是不同尺寸的矿物颗粒与微生物表面的接触程度、



以及界面电子传递方式不同。矿物颗粒粒径对于微生物-矿物界面电子传递效率表现出不同的影响规律一方面可能是由于微生物利用矿物进行胞外呼吸的过程复杂,存在多种影响因素;另一方面可能因为矿物颗粒本身的矿物学性质也会随着粒径减小而发生变化,从而为确立粒径与界面电子转移效率之间的定量关系造成难度。为了减小微生物胞外呼吸过程中各种复杂代谢过程的影响,Liu等(2016a)测量了希瓦氏菌外膜蛋白 OmcA 还原不同粒径的赤铁矿颗粒的速率,直接利用细胞色素蛋白研究微生物-矿物界面电子传递速率与矿物颗粒粒径之间的关系。研究发现,赤铁矿颗粒单位面积的微生物还原速率的规律是:173 nm > 15 nm > 30 nm > 55 nm,与 Bose 等在希瓦氏菌还原实验中观察到的规律类似,说明直接电子传递在希瓦氏菌胞外呼吸赤铁矿中起到了主导作用。而且,173 纳米颗粒显示出比 15 纳米颗粒更大的反应速率的可能原因是 15 纳米的赤铁矿颗粒在水环境中因为较大的表面能而易于发生团聚,形成结构更为紧密的团聚体(Liu *et al.*, 2016b)。小颗粒团聚体内部颗粒之间的距离较小,限制了外膜蛋白 OmcA 与团聚体内部颗粒表面的反应,使得测量到的宏观反应速率减小。然而,对于尺寸较小的离子和有机分子,赤铁矿颗粒单位面积的氧化-还原速率是:15 nm > 30 nm > 55 nm > 173 nm,符合小尺寸矿物颗粒具有更高界面反应活性的预测。说明同样尺寸范围的赤铁矿颗粒在与无机离子和小分子反应时,团聚行为对于速率的影响并不明显。由此可见,纳米尺寸的矿物颗粒在水环境中的团聚行为和状态对于微生物/生物大分子参与的反应具有更加显著的影响(Liu *et al.*, 2016a)。在预测和分析纳米矿物颗粒与微生物之间的反应活性时,颗粒的团聚行为和状态是不可忽视的影响因素。

细胞色素蛋白,如 OmcA 和 MtrC,常见于微生物胞外分泌物中,易吸附于铁氧化物矿物表面,影响微生物附近的矿物颗粒的团聚状态,从而改变矿物颗粒与微生物之间的电子转移效率。在希瓦氏菌外膜细胞色素蛋白 OmcA 对赤铁矿颗粒团聚行为的影响研究中发现:OmcA 对于 3 种不同尺寸的赤铁矿颗粒的团聚行为和分散状态影响不同。颗粒之间的连接系数随着蛋白质浓度、溶液中的离子强度的改变而呈规律性的变化,体现了矿物颗粒表面的蛋白质分子对于颗粒和颗粒之间相互作用力的显著影响(Sheng *et al.*, 2016a)。与牛血清蛋白(BSA)的对比实验表明,由于 OmcA 与赤铁矿颗粒

表面具有更强的亲和力,OmcA 比 BSA 对于赤铁矿颗粒分散状态的影响更明显(Sheng *et al.*, 2016b)。而且,蛋白质分子在一定条件下会造成矿物颗粒表面电荷不均一,导致颗粒在高盐浓度下分散性增强的特殊现象。在无机反应中,颗粒之间的作用力主要是范德华力和静电力。当体系中存在蛋白质等生物大分子时,空间位阻力、排空作用等特殊作用力也会显著影响颗粒的团聚状态。因此,微生物胞外分泌物中的蛋白质可能对矿物颗粒在水环境中的团聚状态起到特殊的调控作用,从而影响能够与微生物进行界面电子传递的活性表面位点的数目。在比较不同矿物颗粒与微生物界面电子传递的效率时,应该考虑矿物颗粒的表面性质,以及在胞外分泌物调控下的团聚状态。

### 3.3 环境因素对铁氧化物矿物-细胞色素蛋白界面电子传递的影响

除了蛋白质分子与矿物表面的结合方式以及铁氧化物矿物本身的性质外,环境因素也会显著影响铁氧化物矿物-细胞色素蛋白之间的电子转移效率。例如,水环境中溶解氧的含量会显著影响微生物利用铁氧化物矿物进行胞外呼吸的效率。一方面,溶解氧与铁氧化物都可作为铁还原菌的终端电子受体,氧气的竞争作用使得单个微生物胞外呼吸矿物的效率降低;另一方面,对于希瓦氏菌而言,水环境中的溶解氧会促进微生物的生长,在电极/矿物表面形成生物量更大的生物膜,使得总的产电效率增加(Lu *et al.*, 2017)。因此,溶解氧对于微生物胞外呼吸利用铁氧化物的过程存在多重影响。

另一个显著影响微生物胞外呼吸利用铁氧化物矿物的重要环境因素是电子传导物质(electron shuttle)。例如,研究表明腐殖质(humic substances)、黄素(flavin)等电子传导能够显著提高微生物胞外呼吸矿物的效率(Marsili *et al.*, 2008; Roden *et al.*, 2010; Shi *et al.*, 2012a; Shi *et al.*, 2013; Edwards *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2015)。其中,希瓦氏菌胞外分泌物中的黄素被认为在微生物胞外呼吸矿物的过程中起到了极其重要的作用(Kotloski and Gralnick, 2013)。黄素除了能够介导微生物与矿物之间的电子传递,还可能与细胞色素结合加速微生物-矿物界面电子传递的效率。Okamoto等(2013)利用电化学测试发现:与希瓦氏菌外膜蛋白 MtrC 结合的黄素比处于游离态的黄素分子更能够促进细胞色素蛋白与电极之间的电子传导效率。Hong 和 Pachter(2016)利用分子动力学计算模拟了核黄素(riboflavin)与希瓦氏菌外膜蛋白



OmcA 之间可能的结合方式,并通过氧化-还原电位的计算证实了与 OmcA 结合的核黄素能够更加有效地调节 OmcA 的氧化-还原电位,有利于提高 OmcA 与矿物表面的电子传递速率。

日光作为地表环境中无处不在的重要能量来源,对微生物-矿物相互作用起着不可忽视的作用。例如,针铁矿等半导体矿物在日光照射条件下可以促进非光合微生物嗜酸性氧化亚铁硫杆菌 (*Acidithiobacillus ferrooxidans*) 和粪产碱杆菌 (*Alcaligenes faecalis*) 的生长代谢 (Lu *et al.*, 2012a, 2012b)。在光照条件下,赤铁矿与希瓦氏菌协同产电的效率显著增强 (Zhu *et al.*, 2017)。除此以外,近期关于半导体矿物-细胞色素蛋白在光照条件下的界面电子传递研究也证实了太阳光的显著影响。例如, Hwang 等 (2015) 报道了金电极表面修饰的 MtrC 蛋白质薄膜能够介导电极和染料敏化的 TiO<sub>2</sub> 之间的光电子转移。Ainsworth 等 (2016) 进一步研究发现,黄素、荧光素等光敏剂修饰的纳米 TiO<sub>2</sub> 颗粒能够在可见光激发下产生光生电子,还原溶液中的 MtrC 和 OmcA,而且,这两种细胞色素蛋白能够将光生电子从半导体矿物转移到由 MtrA、MtrB、MtrC 组成的蛋白质复合体 (MtrCAB) 上,说明外膜细胞色素蛋白可以将半导体产生的光生电子经由 Mtr 跨膜电子传输通道传递到微生物胞内。为了全面认识铁氧化物矿物和微生物在日光照射下协同作用进行物质和能量转化的行为,生物电子和光生电子的产生以及在微生物-铁氧化物界面的转移机制还有待进一步研究。

#### 4 总结与展望

矿物-微生物界面电子转移是地表关键带中无机物与生命体相互作用的一个重要方面,在矿物、微生物、以及环境的共同演化中起到了重要作用,对于认识元素的生物地球化学循环、开发新能源、指导环境治理都具有重要的意义。本文围绕铁氧化物矿物与微生物之间的相互作用,介绍了微生物利用胞外矿物促进新陈代谢的不同方式;着重介绍了直接电子传递模式中,微生物利用细胞膜套上的一系列细胞色素蛋白组成跨膜电子传递链,实现胞内物质与胞外铁氧化物矿物之间的电子传递;具体阐述了关于铁氧化物矿物-细胞色素蛋白界面电子传递效率的影响因素的研究进展。现阶段,关于矿物-微生物界面电子传递的分子机制主要集中于几个模式的革兰氏阴性菌,一些革兰氏阳性细菌和古菌也能够借助细胞色素蛋白直接将电子传递到胞

外矿物表面,不同类型的微生物与胞外矿物之间的界面电子转移机制还有待进一步研究。目前关于微生物利用矿物进行胞外呼吸的研究中大多关注微生物的代谢途径和生化机制,关于矿物学性质在这个过程的作用研究还有待加强。微生物利用矿物进行胞外呼吸的作用与生物科技、环境治理、采矿、新能源开发等方面都有密切的联系,可以针对实际应用中的具体问题开展相关研究。

#### 参考文献 (References):

- Ainsworth E V, Lockwood C W J, White G F, Hwang E T, Sakai T, Gross M A, Richardson D J, Clarke T A, Jeuken L J C, Reisner E, Butt J N. 2016. Photoreduction of *Shewanella oneidensis* extracellular cytochromes by organic chromophores and dye-sensitized TiO<sub>2</sub>. *Chembiochem*, 17(24): 2324-2333
- Banfield J F, Tyson G W, Allen E E, Whitaker R J. 2005. The search for a molecular-level understanding of the processes that underpin the earth's biogeochemical cycles. *Reviews in Mineralogy & Geochemistry*, 59(1): 1-7
- Borch T, Kretzshmar R, Kappler A, Van Cappellen P, Ginder-Vogel M, Voegelin A, Campbell K. 2010. Biogeochemical redox processes and their impact on contaminant dynamics. *Environmental Science & Technology*, 44(1): 15-23
- Bose S, Hochella M F J R, Gorby Y A, Kennedy D W, Mccready D E, Madden A S, Lower B H. 2009. Bioreduction of hematite nanoparticles by the dissimilatory iron reducing bacterium *Shewanella oneidensis* MR-1. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 73(4): 962-976
- Breuer M, Rosso K M, Blumberger J, Butt J N. 2015. Multi-haem cytochromes in *Shewanella oneidensis* MR-1: structures, functions and opportunities. *Journal of the Royal Society Interface*, 12(102): 20141117
- Breuer M, Zarzycki P, Blumberger J, Rosso K M. 2012. Thermodynamics of electron flow in the bacterial deca-heme cytochrome MtrF. *Journal of the American Chemical Society*, 134(24): 9868-9871
- Byrne J M, Klueglein N, Pearce C, Rosso K M, Appel E, Kappler A. 2015. Redox cycling of Fe(II) and Fe(III) in magnetite by Fe-metabolizing bacteria. *Science*, 347(6229): 1473-1476
- Clarke T A, Edwards M J, Gates A J, Hall A, White G F, Bradley J, Reardon C L, Shi L, Beliaev A S, Marshall M J, Wang Z M, Watmough N J, Fredrickson J K, Zachara J M, Butt J N, Richardson D J. 2011. Structure of a bacterial cell surface decaheme electron conduit. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(23): 9384-9389
- Edwards M J, Baiden N A, Johs A, Tomanicek S J, Liang L Y, Shi L, Fredrickson J K, Zachara J M, Gates A J, Butt J N, Richardson D J, Clarke T A. 2014. The X-ray crystal structure of *Shewanella oneidensis* OmcA reveals new insight at the microbe-mineral interface. *FEBS Letters*, 588(10): 1886-1890
- Edwards M J, White G F, Norman M, Tome-Fernandez A, Ainsworth E, Shi L, Fredrickson J K, Zachara J M, Butt J N, Richardson D



- J, Clarke T A. 2015. Redox linked flavin sites in extracellular decaheme proteins involved in microbe-mineral electron transfer. *Scientific Reports*, 5: 11677
- Emerson D, Field E K, Chertkov O, Davenport K W, Goodwin L, Munk C, Nolan M, Woyke T. 2013. Comparative genomics of freshwater Fe-oxidizing bacteria; implications for physiology, ecology, and systematics. *Frontiers in Microbiology*, 4: 254
- Fredrickson J K, Romie M F, Beliaev A S, Auchtung J M, Driscoll M E, Gardner T S, Nealson K H, Osterman A L, Pinchuk G, Reed J L, Rodionov D A, Rodrigues J L M, Saffarini D A, Serres M H, Spormann A M, Zhulin I B, Tiedje J M. 2008. Towards environmental systems biology of *Shewanella*. *Nature Reviews Microbiology*, 6(8): 592-603
- Fukushima T, Gupta S, Rad B, Cornejo J A, Petzold C J, Chan L J G, Mizrahi R A, Ralston C Y, Ajo-Franklin C M. 2017. The molecular basis for binding of an electron transfer protein to a metal oxide surface. *Journal of the American Chemical Society*, 139(36): 12647-12654
- Gadd G M. 2010. Metals, minerals and microbes: geomicrobiology and bioremediation. *Microbiology*, 156(3): 609-643
- Gralnick J A, Vali H, Lies D P, Newman D K. 2006. Extracellular respiration of dimethyl sulfoxide by *Shewanella oneidensis* strain MR-1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(12): 4669-4674
- Hong G Y, Pachter R. 2016. Bound flavin-cytochrome model of extracellular electron transfer in *Shewanella oneidensis*: analysis by free energy molecular dynamics simulations. *The Journal of Physical Chemistry B*, 120(25): 5617-5624
- Hwang E T, Sheikh K, Orchard K L, Hojo D, Radu V, Lee C Y, Ainsworth E, Lockwood C, Gross M A, Adschiri T, Reisner E, Butt J N, Jeuken L J C. 2015. A decaheme cytochrome as a molecular electron conduit in dye-sensitized photoanodes. *Advanced Functional Materials*, 25(15): 2308-2315
- Jiao Y Q, Newman D K. 2007. The pio operon is essential for phototrophic Fe(II) oxidation in *Rhodospseudomonas palustris* TIE-1. *Journal of Bacteriology*, 189(5): 1765-1773
- Kato S, Hashimoto K, Watanabe K. 2012. Microbial interspecies electron transfer via electric currents through conductive minerals. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(25): 10042-10046
- Kerisit S, Rosso K M, Dupuis M, Valiev M. 2007. Molecular computational investigation of electron-transfer kinetics across cytochrome-iron oxide interfaces. *Journal of Physical Chemistry C*, 111(30): 11363-11375
- Konhauser K O, Kappler A, Roden E E. 2011. Iron in microbial metabolisms. *Elements*, 7(2): 89-93
- Kotloski N J, Gralnick J A. 2013. Flavon electron shuttles dominate extracellular electron transfer by *Shewanella oneidensis*. *MBio*, 4(1): e00553-12
- Liu J, Pearce C I, Liu C X, Wang Z M, Shi L, Arenholz E, Rosso K M. 2013. Fe<sub>3-x</sub>Ti<sub>x</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles as tunable probes of microbial metal oxidation. *Journal of the American Chemical Society*, 135(24): 8896-8907
- Liu J, Pearce C I, Shi L, Wang Z M, Shi Z, Arenholz E, Rosso K M. 2016a. Particle size effect and the mechanism of hematite reduction by the outer membrane cytochrome OmcA of *Shewanella oneidensis* MR-1. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 193: 160-175
- Liu J, Wang Z M, Belchik S M, Edwards M J, Liu C X, Kennedy D W, Merkley E D, Lipton M S, Butt J N, Richardson D J, Zachara J M, Fredrickson J K, Rosso K M, Shi L. 2012. Identification and characterization of MtoA: a decaheme c-type cytochrome of the neutrophilic Fe(II)-oxidizing bacterium *Sideroxydans lithotrophicus* ES-1. *Frontiers in Microbiology*, 3: 37
- Liu J, Wang Z W, Sheng A X, Liu F, Qin F Y, Wang Z L. 2016b. In situ observation of hematite nanoparticle aggregates using liquid cell transmission electron microscopy. *Environmental Science & Technology*, 50(11): 5606-5613
- Logan B E. 2009. Exoelectrogenic bacteria that power microbial fuel cells. *Nature Reviews Microbiology*, 7(5): 375-381
- Lower B H, Lins R D, Oestreicher Z, Straatsma T P, Hochella M F J R, Shi L, Lower S K. 2008. In vitro evolution of a peptide with a hematite binding motif that may constitute a natural metal-oxide binding archetype. *Environmental Science & Technology*, 42(10): 3821-3827
- Lu A H, Li Y, Jin S, Wang X, Wu X L, Zeng C P, Li Y, Ding H R, Hao R X, Lv M, Wang C Q, Tang Y Q, Dong H L. 2012b. Growth of non-phototrophic microorganisms using solar energy through mineral photocatalysis. *Nature Communications*, 3: 768
- Lu A H, Li Y, Jin S. 2012a. Interactions between semiconducting minerals and bacteria under light. *Elements*, 8(2): 125-130
- Lu A H, Li Y, Wang X, Ding H R, Zeng C P, Yang X X, Hao R X, Wang C Q, Santosh M. 2013. Photoelectrons from minerals and microbial world: a perspective on life evolution in the early Earth. *Precambrian Research*, 231: 401-408
- Lu M Q, Chan S, Babanova S, Bretschger O. 2017. Effect of oxygen on the per-cell extracellular electron transfer rate of *Shewanella oneidensis* MR-1 explored in bioelectrochemical systems. *Biotechnology and Bioengineering*, 114(1): 96-105
- Marsili E, Baron D B, Shikhare I D, Coursolle D, Gralnick J A, Bond D R. 2008. *Shewanella* secretes flavins that mediate extracellular electron transfer. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(10): 3968-3973
- Melton E D, Swanner E D, Behrens S, Schmidt C, Kappler A. 2014. The interplay of microbially mediated and abiotic reactions in the biogeochemical Fe cycle. *Nature Reviews Microbiology*, 12(12): 797-808
- Nakamura R, Kai F, Okamoto A, Hashimoto K. 2013. Mechanisms of long-distance extracellular electron transfer of metal-reducing bacteria mediated by nanocolloidal semiconductive iron oxides. *Journal of Materials Chemistry A*, 1(16): 5148-5157
- Newman D K, Banfield J F. 2002. Geomicrobiology: How molecular-scale interactions underpin biogeochemical systems. *Science*, 296(5570): 1071-1077
- Okamoto A, Hashimoto K, Nealson K H, Nakamura R. 2013. Rate enhancement of bacterial extracellular electron transport involves bound flavin semiquinones. *Proceedings of the National Academy of*



- Sciences of the United States of America, 110(19): 7856–7861
- Qiu X, Shi L. 2017. Electrical interplay between microorganisms and iron-bearing minerals. *Acta Chimica Sinica*, 75(6): 583–593
- Roden E E, Kappler A, Bauer I, Jiang J, Paul A, Stoesser R, Konishi H, Xu H F. 2010. Extracellular electron transfer through microbial reduction of solid-phase humic substances. *Nature Geoscience*, 3(6): 417–421
- Roden E E. 2003. Fe(III) oxide reactivity toward biological versus chemical reduction. *Environmental Science & Technology*, 37(7): 1319–1324
- Sheng A X, Liu F, Shi L, Liu J. 2016a. Aggregation kinetics of hematite particles in the presence of outer membrane cytochrome OmcA of *Shewanella oneidensis* MR-1. *Environmental Science & Technology*, 50(20): 11016–11024
- Sheng A X, Liu F, Xie N, Liu J. 2016b. Impact of proteins on aggregation kinetics and adsorption ability of hematite nanoparticles in aqueous dispersions. *Environmental Science & Technology*, 50(5): 2228–2235
- Shi L, Dong H L, Reguera G, Beyenal H, Lu A H, Liu J, Yu H Q, Fredrickson J K. 2016. Extracellular electron transfer mechanisms between microorganisms and minerals. *Nature Reviews Microbiology*, 14(10): 651–662
- Shi L, Fredrickson J K, Zachara J M. 2014. Genomic analyses of bacterial porin-cytochrome gene clusters. *Frontiers in Microbiology*, 5: 657
- Shi L, Rosso K M, Zachara J M, Fredrickson J K. 2012a. Mtr extracellular electron-transfer pathways in Fe(III)-reducing or Fe(II)-oxidizing bacteria: a genomic perspective. *Biochemical Society Transactions*, 40(6): 1261–1267
- Shi Z, Zachara J M, Shi L, Wang Z M, Moore D A, Kennedy D W, Fredrickson J K. 2012b. Redox reactions of reduced flavin mononucleotide (FMN), Riboflavin (RBF), and Anthraquinone-2, 6-disulfonate (AQDS) with ferrihydrite and lepidocrocite. *Environmental Science & Technology*, 46(21): 11644–11652
- Shi Z, Zachara J M, Wang Z M, Shi L, Fredrickson J K. 2013. Reductive dissolution of goethite and hematite by reduced flavins. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 121: 139–154
- Shrestha P M, Rotaru A E. 2014. Plugging in or going wireless: strategies for interspecies electron transfer. *Frontiers in Microbiology*, 5: 237
- Viggi C C, Rossetti S, Fazi S, Paiano P, Majone M, Aulenta F. 2014. Magnetite Particles Triggering a Faster and More Robust Syntrophic Pathway of Methanogenic Propionate Degradation. *Environmental Science & Technology*, 48(13): 7536–7543
- Wall J D, Krumholz L R. 2006. Uranium reduction. *Annual Review of Microbiology*, 60(1): 149–166
- Wang L Y, Nevin K P, Woodard T L, Mu B Z, Lovley D R. 2016. Expanding the Diet for DIET: electron donors supporting direct interspecies electron transfer (DIET) in defined Co-cultures. *Frontiers in Microbiology*, 7: 236
- Wang Z M, Shi Z, Shi L, White G F, Richardson D J, Clarke T A, Fredrickson J K, Zachara J M. 2015. Effects of soluble flavin on heterogeneous electron transfer between surface-exposed bacterial cytochromes and iron oxides. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 163: 299–310
- Weber K A, Achenbach L A, Coates J D. 2006. Microorganisms pumping iron: anaerobic microbial iron oxidation and reduction. *Nature Reviews Microbiology*, 4(10): 752–764
- Yan B Z, Wrenn B A, Basak S, Biswas P, Giammar D E. 2008. Microbial reduction of Fe(III) in hematite nanoparticles by *Geobacter sulfurreducens*. *Environmental Science & Technology*, 42(17): 6526–6531
- Zhao L D, Dong H L, Kukkadapu R K, Zeng Q, Edelmann R E, Pentra K M, Agrawal A. 2015. Biological Redox cycling of iron in nontronite and its potential application in nitrate removal. *Environmental Science & Technology*, 49(9): 5493–5501
- Zhu G L, Yang Y, Liu J, Liu F, Lu A H, He W D. 2017. Enhanced photocurrent production by the synergy of hematite nanowire-arrayed photoanode and bioengineered *Shewanella oneidensis* MR-1. *Biosensors & Bioelectronics*, 94: 227–234
- 丁竑瑞, 李艳, 鲁安怀, 王鑫, 曾翠平, 颜云花, 王长秋. 2011. 微生物还原铁氧化物矿物的电化学研究. *矿物岩石地球化学通报*, 30(3): 299–303, 310
- 任桂平, 孙曼仪, 鲁安怀, 丁竑瑞, 李艳. 2017. 天然赤铁矿促进红壤微生物胞外电子传递机制研究. *矿物岩石地球化学通报*, 36(1): 92–97

(本文责任编辑:刘莹;英文审校:高剑峰)