



## 基于直接接触的微生物胞外电子传递

孔冠楠<sup>1,2,4</sup>, 许玫英<sup>1,3</sup>, 杨永刚<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup> 广东省微生物研究所, 广东省菌种保藏与应用重点实验室, 广东 广州 510070

<sup>2</sup> 中国科学院南海海洋研究所, 广东 广州 510301

<sup>3</sup> 省部共建华南应用微生物国家重点实验室, 广东 广州 510070

<sup>4</sup> 中国科学院大学, 北京 100049

**摘要:** 微生物电子传递在微生物的代谢繁殖和物质的生物地球化学循环中发挥着关键作用。其中基于直接接触的微生物胞外电子传递(Direct extracellular electron transfer, DEET)已成为微生物学、地球化学和生物物理学等学科共同关注的焦点,并在近几年取得了一系列重要发现和理论突破,包括微生物纳米导线、电缆细菌、微生物种间 DEET 等。伴随着这些新进展,更多的问题也需要研究者在进一步的研究中解决,包括 DEET 的分子机制及其相关功能微生物种群等。不同学科理论和技术的交叉是进一步揭示 DEET 过程的关键。

**关键词:** 胞外电子传递, 纳米导线, 电缆细菌, 细胞色素 *c*

微生物的电子传递过程是微生物生存繁殖的主要贮能途径,也是物质生物地球化学循环的核心驱动力<sup>[1-2]</sup>。根据最终电子受体被还原的位置,微生物电子传递过程可以被分为胞内呼吸和胞外呼吸(Extracellular electron transfer, EET)。前者以氧气、硝酸盐、硫酸盐等可进入细胞内的物质为电子受体;后者以腐殖质、固态金属氧化物等难以进入细胞内的物质为电子受体。EET 被认为是地球生命最古老的呼吸方式,但人类对其了解相

对较少<sup>[1,3]</sup>。

目前, EET 的电子传递方式和机制主要是基于希瓦氏菌属(*Shewanella*)和地杆菌属(*Geobacter*)的研究而提出的<sup>[4-5]</sup>。EET 的电子传递方式可以分为 2 种:(1) 借助电子介体把电子传递给胞外电子受体的间接式胞外电子传递,电子介体可以是微生物的分泌物(如希瓦氏菌分泌的黄素类物质、假单胞菌分泌的吩嗪类物质),也可以是硫化物、腐殖质等化合物;(2) 微生物细胞直接接触并还原电

基金项目: 国家自然科学基金(31570111, 51678163); 广东省科技计划(2016A030306021, 2014TQ01Z116, 2015B020235011); 广州市珠江科技新星专项(201610010090); 广东省渔港建设和渔业产业发展专项(A201501D01, A201601D01); 广东省科学院创新驱动发展专项(2017GDASCX-0403)

\*通信作者。Tel: +86-20-87684471; E-mail: yyg117@163.com

收稿日期: 2016-09-20; 修回日期: 2016-10-27; 网络出版日期: 2016-12-06

子受体的直接式胞外电子传递(Direct extracellular electron transfer, DEET),这种电子传递由暴露于微生物细胞外膜的细胞色素 *c* 或导电性细胞附属物(如地杆菌的纳米导线)直接接触并传递电子给胞外电子受体<sup>[5-6]</sup>。近年来,DEET 的研究技术及分子机制取得突破性的进展,并成为微生物学、地球生物化学和生物物理学等多个学科共同关注的热点,其在环境和工业过程中的重要作用和潜在应用价值也在国内外引起了越来越多的关注。本文将对 DEET 近几年的最新进展进行综述和展望。

## 1 DEET 的电子传递途径

### 1.1 细胞色素 *c*

细胞色素 *c* 是发现最早的微生物 DEET 途径<sup>[7]</sup>。现有基因组数据库显示,只有少数原核微生物含有细胞色素 *c* 基因,而具有 DEET 功能的原核微生物一般都有多个细胞色素 *c* 基因,因而细胞色素 *c*,尤其是位于细胞外膜的细胞色素 *c*,被认为是 DEET 的一个重要标志<sup>[8-9]</sup>。*Shewanella* 属最多含有 63 个细胞色素 *c* 基因,据估计,胞外呼吸条件下细胞色素 *c* 会覆盖细胞表面的 8%–34%;*Geobacter* 属细胞色素 *c* 基因的数量可高达 106 个,这也是已知的细胞色素 *c* 基因数量最多的细菌菌属;*Ferroglobus placidus* 含有 30 个细胞色素 *c* 基因,是目前已知的含有细胞色素 *c* 最多的古菌<sup>[10-12]</sup>。

根据目前的报道,几乎所有细菌的 DEET 过程一般都会形成一个跨越细胞内膜-周质空间-外膜的基于细胞色素 *c* 的电子通道。革兰氏阴性细菌 *Shewanella* 和 *Geobacter* 中基于细胞色素 *c* 的 DEET 途径是目前研究最为清楚的<sup>[8]</sup>。

位于 *S. oneidensis* MR-1 细胞内膜的 CymA 是电子从细胞质向周质空间传递的关键通道,它接

收来自细胞质膜上醌类物质的电子,并传递给周质空间的 MtrA 或其他的氧化还原蛋白(图 1)。MtrA 是电子从周质空间到细胞膜外的关键通道,它通过 MtrB 与 MtrC 结合并将电子传递给后者。MtrC 暴露于细胞外表面,可以直接与胞外电子受体结合并进行还原。OmcA 也是位于细胞外膜的细胞色素 *c*,它与 MtrC 组成为 1:1 二聚体存在,共同执行 DEET 的末端电子传递过程。*Shewanella* 还存在与 CymA-MtrABC 电子通道序列高度相似的 SirCD-MtrDEF 电子通道作为补偿途径,这有助于 *Shewanella* 在复杂环境中的竞争和适应能力<sup>[8]</sup>。

*Geobacter* 的跨膜细胞色素 *c* 系统的结构和序列与 *Shewanella* 均有较高的相似性,但 *Geobacter* 属内各菌株的细胞色素 *c* 数量更多,且种间差异较大,因而更为复杂<sup>[12-13]</sup>。其中,位于细胞外膜的 OmcZ 是专一性电极还原蛋白,其在 *Geobacter* 生物膜中的浓度随着接近电极表面而逐渐增大,可能是 *Geobacter* 趋能性行为 and 空间定位的重要信号分子<sup>[6]</sup>。最近 Yun 等利用环境蛋白组学技术发现了一个来自 *Geobacter* sp. 18 的 GscA 在铀污染修复环境中是丰度最高的细胞色素 *c*,可能在修复环境中发挥着重要作用<sup>[14]</sup>。另外需要指出的是,之前认为 *Geobacter* 的细胞色素 *c* 可以通过直接接触还原胞外电子受体而无需电子介体或辅酶,但 Okamoto 等最近的研究发现 *Geobacter* 的 DEET 过程也需要低浓度(3 nmol/L)的黄素类物质作为辅酶<sup>[15]</sup>。

血红素是细胞色素 *c* 电子传递的活性中心,1 个细胞色素 *c* 中常常含有数个甚至数十个血红素(图 1)。基于 *S. oneidensis* MR-1 的 MtrF 的结构分析发现,细胞色素 *c* 在与不同电子受体或蛋白结合时会自发调节血红素的构象和位置,降低电子传递过程的能量损耗,这也就解释了一些体

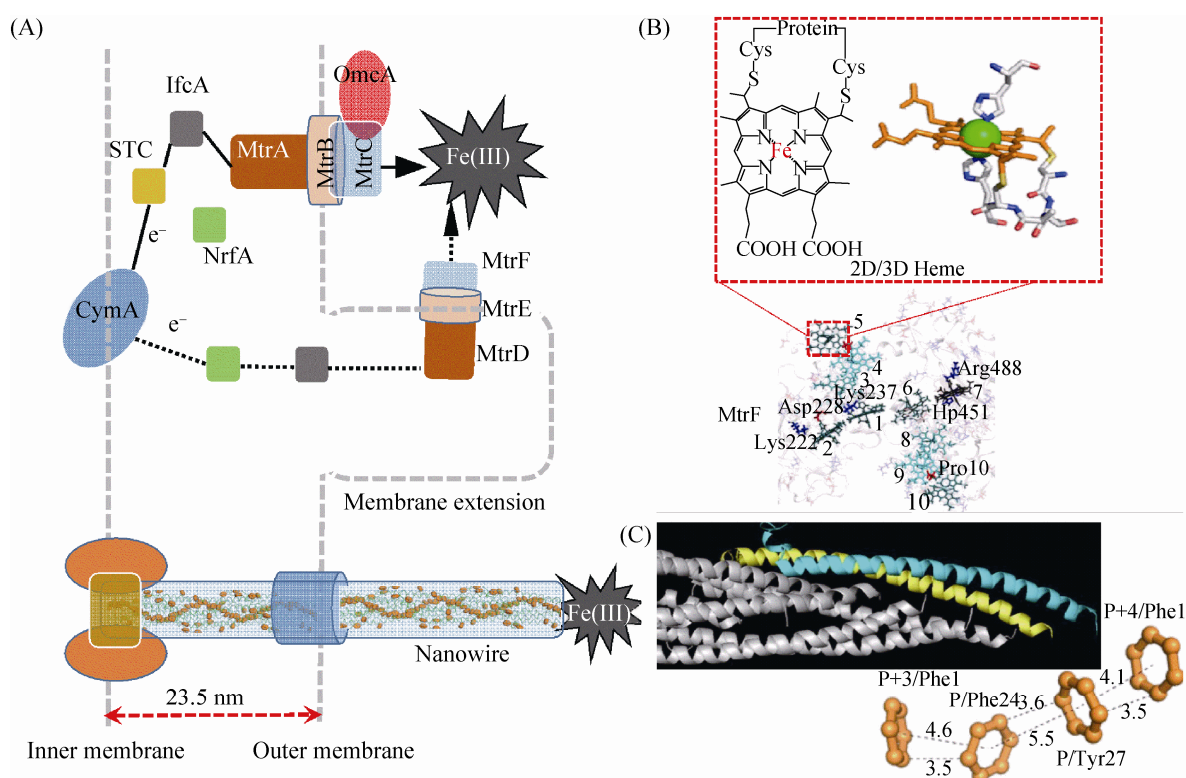


图 1. 基于 *Shewanella* 和 *Geobacter* 的细菌 DEET 示意图<sup>[4-5,16,24]</sup>

Figure 1. DEET pathways in *Shewanella* and *Geobacter* species<sup>[4-5,16,24]</sup>. A: cytochrome c system in *Shewanella* and nanowire in *Geobacter*; B: molecular structure of the outer membrane MtrF of *Shewanella* and intramolecular heme structure and arrangement; C: three-dimensional diagram of the *Geobacter* nanowire PilA polymerization and aromatic amino acid benzene spatial arrangement.

外分析认为热力学不利的催化反应可以在活体微生物细胞内发生<sup>[16]</sup>。

## 1.2 纳米导线

微生物纳米导线是指微生物合成的可以将电子传递至细胞外的导电性线状结构。2005 年, Reguera 等发现 *G. sulfurreducens* 通过 IV 型菌毛 (Pili, 直径 3–5 nm, 长度可达数十微米) 作为纳米导线进行 DEET<sup>[17]</sup>。之后类似结构在 *S. oneidensis* MR-1、*Synechocystis* PCC6803、*Pelotomaculum thermopropionicum* 也有发现<sup>[18]</sup>。但最近研究证实 *S. oneidensis* MR-1 的纳米导线是细胞外膜的管状凸起(图 1), 其电子传递功能可能是借助外膜的细

胞色素 *c* 完成<sup>[19]</sup>。实际上, 很多微生物样品(如生物膜的胞外多聚物)在显微观察时会因脱水而形成类似纳米导线的结构。因而, 微生物纳米导线及其功能的确认必须要借助原子力显微镜、X 射线、静电显微镜或冷冻电子显微镜等技术<sup>[20-21]</sup>。

*Geobacter* 的纳米导线由 PilA 组成, 其导电性可达 6 ms/cm, 与金属及碳纳米管接近<sup>[7]</sup>。目前纳米导线的导电机理仍存在争议。早期研究认为, 纳米导线的导电性可能是由沿其表面密集分布的细胞色素 *c* (如 OmcS) 通过电子跃迁而产生的<sup>[20]</sup>。后来免疫标记和 X-射线衍射发现这些细胞色素 *c* 间距太大, 而且突变后不影响纳米导线的导电性,

从而证明细胞色素 *c* 与纳米导线的导电性无关。最近发现 PilA 蛋白的 C 末端富含芳香氨基酸, 当使用丙氨酸代替这些芳香氨基酸后, 其导电性随之消失, 因而提出纳米导线通过苯环  $\pi$ - $\pi$  共轭而传递电子<sup>[20,22]</sup>。而 Yan 等认为单链纳米导线上氨基酸苯环的间距不能满足  $\pi$ - $\pi$  共轭的要求, 而且苯环之间的能量过低, 不能维持纳米导线的高效导电性<sup>[23]</sup>。对此, Xiao 等认为纳米导线可以通过多条聚集成簇降低邻近苯环间距, 且苯环平面按最小能量原则呈无规则排序时其间距可以达到 4–5 Å, 这样就可以解释纳米导线的高效导电性(图 1)<sup>[24]</sup>。目前, 纳米导线仅在 *Geobacter* 属中被证实, 自然界中是否存在其他可以产生纳米导线的微生物资源还有待发掘。

### 1.3 其他 DEET 电子传递组分

我们及其他课题组的研究显示, 即使 *Shewanella* 的全部细胞色素 *c* 缺失仍有 10%左右的 DEET 能力, 表明一些非细胞色素 *c* 蛋白参与了 DEET 过程<sup>[4,25]</sup>。作者所在课题组最近发现细胞周质中一些非细胞色素 *c* 蛋白(如亚硫酸盐脱氢酶)也参与了 DEET 电子传递链(未发表)。Zhang 等发现 *Desulfuromonas reducens* 的 2 个外膜氧化还原蛋白(氢酶 Dred\_0463、烷基过氧化氢还原酶)参与了该菌 DEET 过程<sup>[26]</sup>。Deutzmann 等证实 *Sporomusa sphaeroides* 和产甲烷古菌 *Methanococcus maripaludis* 细胞裂解或外排分泌的氢酶和甲酸脱氢酶在其金属氧化过程中发挥了关键作用<sup>[27]</sup>。实际环境中微生物往往以生物膜的形式生存于固体电子受体表面, 而生物膜内细胞裂解释放的氧化还原酶及辅酶可以较好地维持活性, 因而这些氧化还原过程也是了解环境中 DEET 过程不可忽视的因素, 但目前却较少关注。

## 2 微生物与不同电子受体间的 DEET 特性

在还原具有不同物理或化学特性(如物理特性、氧化还原电位等)的胞外电子受体时, 微生物可以自发地调整基因表达并选择相应的最有效的 DEET 途径。

### 2.1 DEET 对电子受体可溶性的响应

越来越多的研究显示, 微生物在还原利用可溶性和不溶性电子受体时会选用不同的电子传递途径。例如, *Shewanella* 的 OmcA、*Geobacter* 的 OmcS、OmcE 和 OmpB 只参与固态铁的还原, 对可溶性铁还原中没有显著作用, 而 *Shewanella* 的 MtrF 对锰还原有较强的特异性<sup>[6,28]</sup>。Ruebush 等通过对 *S. oneidensis* MR-1 各个部位的铁还原活性分别测试发现, 可溶性铁的还原活性主要位于细胞内膜, 而不溶性铁的还原活性主要集中在外膜<sup>[29]</sup>。Smith 等最近的研究发现极端嗜热古菌 *Ferroplasma placidus* 在进行可溶性和不可溶性铁还原时细胞色素 *c* 的转录和表达谱存在显著差异, 表明古菌也具有类似于细菌的识别电子受体物理形态的能力<sup>[11]</sup>。

### 2.2 DEET 对金属还原和电极的响应

微生物与电极之间的 DEET 是近几年生物电化学领域的热点。尽管电极还原与金属还原在功能微生物类群和机制等方面存在诸多相似性, 但越来越多的研究显示二者在微生物种类和 DEET 机制方面都存在差异。*G. sulfurreducens* 的一些参与铁还原的细胞色素 *c* (如 OmcB、OmcE 和 OmpB) 在电极还原中并无显著作用, 而 OmcZ 则只参与电极还原而不参与金属还原。作者所在课题组最近发现 *S. decolorationis* S12 周质空间的 2 个氧化还

原酶基因(SHD-2782、SHD-2784)突变也仅对电极还原产生显著影响(未发表)。Rosenbaum 等通过转录组分析发现 *S. oneidensis* MR-1 在电极还原时 *cymA-mtrABC* 基因和压力应激相关的基因转录水平显著高于铁还原<sup>[30]</sup>。这些结果表明, 即使同为固态电子受体, 细菌也能区分电极和金属氧化物并进行不同的 DEET 过程。

### 2.3 DEET 对电子受体氧化还原电位的响应

电子受体的氧化还原电位是决定微生物呼吸代谢能量水平的重要因素, 生物电化学技术使研究氧化还原电位对微生物的影响成为可能。*Geobacter* 在不同氧化还原电位的电极表面表现出不同的循环伏安谱图, 表明其分泌了不同种类和数量的氧化还原物质<sup>[31]</sup>。我们最近对 *S. decolorationis* 的转录组比较分析表明, 氧化还原电位对微生物的电子传递和代谢途径会产生全局性的影响, 包括碳代谢、DEET、细胞运动和压力响应等<sup>[32]</sup>, 我们的结果也表明电子受体各方面的特性(如氧化还原电位、可溶性和浓度)都可能对微生物的代谢产生决定性的影响, 并非取决于某一个特性。此外, Grobller 等和 Matsuda 等也通过不同方法证明了氧化还原电位对微生物核心碳代谢途径的调控作用<sup>[33-34]</sup>, 这些研究也为通过氧化还原电位调控微生物呼吸代谢途径和效率提供了重要依据。

## 3 微生物细胞之间的 DEET

### 3.1 同属微生物间的 DEET

2010 年, Summers 等首次证实了微生物细胞之间可以通过直接的电子传递形成共生关系<sup>[35]</sup>。在该研究中, *G. metallireducens* 可以氧化乙醇作为电子供体而不能还原延胡索酸, *G. sulfurreducens* 可以还原延胡索酸而不能氧化乙醇, 当这 2 株菌

共培养时, 它们会自发聚集形成共生体并完成氧化乙醇还原延胡索酸的功能。这些共生体颗粒具有类似金属的导电性, 纳米导线是介导二者之间直接电子传递的关键途径<sup>[35]</sup>。电缆细菌(*Cable bacteria*)一类的杆状细菌(*Desulfobulbaceae*), 它们可以首尾相接形成长达几个厘米的导电性线状结构, 从而完成长距离的电子传递, 在沉积物界面 N、S、P 等元素循环和有机物转化方面发挥着重要作用。尽管原子力显微镜证实了电缆菌细胞衔接处 DEET 的特性, 但其具体机制尚不清楚<sup>[2]</sup>。

### 3.2 不同属微生物间的 DEET

越来越多的证据显示, 不同种属的微生物在进化过程中也获得了通过 DEET 进行能量传递的能力。近年来, 研究者们陆续在一些 *Geobacter* 丰度较高的环境样品中(如厌氧活性污泥、土壤和海洋沉积物)检测到类似金属的导电性<sup>[20,36-37]</sup>, 表明基于 *Geobacter* 的微生物细胞间电子传递可能广泛存在。Rotaru 等最近证实在土壤和沉积物中大量存在的产甲烷菌 *Methanosaeta* 可以与 *G. sulfurreducens* 形成共生体, 并直接从后者获得电子还原 CO<sub>2</sub> 产生甲烷<sup>[38]</sup>。

硫酸盐还原耦合的甲烷氧化过程是抑制海洋甲烷释放的主要途径。传统观点认为, 甲烷氧化菌和硫酸盐还原菌之间主要依赖甲酸、氢气等电子介体维持共生关系<sup>[39]</sup>。然而, Wegener 等<sup>[40]</sup>和 McGlynn 等<sup>[39]</sup>最近在《Nature》期刊分别发表文章认为 DEET 是甲烷氧化菌和硫酸盐还原菌之间电子传递的主要方式。McGlynn 等发现, 在甲烷氧化菌和硫酸盐还原菌的共生体系内, 细胞的代谢活性与其空间位置和系统的均一性没有影响, 这与传统的基于可溶性介体的共生体系模型不一致。此外, 共生体系的代谢活性与该体系的导电

性呈良好的线性关系,因而推测甲烷氧化菌和硫酸盐还原菌的共生体系主要依赖 DEET 进行能量代谢<sup>[39]</sup>。进一步的显微观察发现了共生细胞间聚集了大量细胞色素 *c*, 为 DEET 提供了重要支持。Wegener 等发现甲烷氧化菌和硫酸盐还原菌的共生可以诱导后者细胞外膜的细胞色素 *c* 上调表达,并产生类似纳米导线的结构与甲烷氧化菌连接<sup>[40]</sup>。这些发现与 McGlynn 等报道的共生体系的金属导电性一致。但这种共生关系中硫酸盐还原菌纳米导线的功能及其电子传递机制仍需要进一步的探索。

## 4 总结和展望

依赖于 DEET 的金属还原以及原核细胞的共生体系可能是地球生命早期重要的生存方式,对于地球生命的进化和现状的形成发挥了重要作用,对于环境治理和生物能源等领域也有重要应用价值。近 10 年来,DEET 的普遍性和重要性已逐渐被认识。DEET 的新发现和理论完善了人们对自然过程的了解,但同时也提出了一系列需要进一步研究探索的新的科学问题:(1) 是否存在除 *Geobacter* 之外其他的可以合成纳米导线的微生物?如果纳米导线在环境中是一种普遍的 DEET 途径,那么应该会有更多的微生物具有这种功能。也只有在更多的微生物中发现纳米导线,才能证明这种 DEET 途径的实际环境和研究价值;(2) 微生物如何将胞内电子传递给纳米导线?研究者们关注纳米导线如何传递电子的同时,对纳米导线如何获得电子却知之甚少,这一问题的回答也是对目前 DEET 机制的重要补充;(3) 微生物细胞间电子传递的电子受体细胞是如何接收电子的?目前已经了解细胞如何将电子传递至胞外,也证

明了纳米导线、细胞色素 *c* 是连接细胞间 DEET 的桥梁,而电子进入受体细胞后是如何被接收和利用的目前尚不清楚;(4) 如何对实际环境中 DEET 进行调控和合理应用?已有大量研究表明基于 DEET 的生物强化技术(如铁循环强化技术、生物电化学技术等)可以促进多种环境污染物的降解,如何实现这些技术的实际环境应用是环境微生物和环境工程研究者面临的重要挑战。在未来的研究中,更广泛的学科交叉合作是该领域研究的必然趋势,也是解决上述问题的必然途径。

## 参考文献

- [1] Gralnick JA, Newman DK. Extracellular respiration. *Molecular Microbiology*, 2007, 65(1): 1–11.
- [2] Nielsen LP, Risgaard-Petersen N. Rethinking sediment biogeochemistry after the discovery of electric currents. *Annual Review of Marine Science*, 2015, 7: 425–442.
- [3] Lovley DR. Dissimilatory metal reduction: from early life to bioremediation. *ASM News*, 2002, 68(5): 231–237.
- [4] Yang YG, Xu MY, Guo J, Sun GP. Bacterial extracellular electron transfer in bioelectrochemical systems. *Process Biochemistry*, 2012, 47(12): 1707–1714.
- [5] Richter K, Schicklberger M, Gescher J. Dissimilatory reduction of extracellular electron acceptors in anaerobic respiration. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(4): 913–921.
- [6] Lovley DR. Electromicrobiology. *Annual Review of Microbiology*, 2012, 66: 391–409.
- [7] Malvankar NS, Vargas M, Nevin KP, Franks AE, Leang C, Kim BC, Inoue K, Mester T, Covalla SF, Johnson JP, Rotello VM, Tuominen MT, Lovley DR. Tunable metallic-like conductivity in microbial nanowire networks. *Nature Nanotechnology*, 2011, 6(9): 573–579.
- [8] Shi L, Squier TC, Zachara JM, Fredrickson JK. Respiration of metal (hydr) oxides by *Shewanella* and *Geobacter*: a key role for multihaem *c*-type cytochromes. *Molecular Microbiology*, 2007, 65(1): 12–20.
- [9] Kletzin A, Heimerl T, Flechsler J, van Niftrik L, Rachel R, Klingl A. Cytochromes *c* in Archaea: distribution, maturation, cell architecture, and the special case of *Ignicoccus hospitalis*. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 439.
- [10] Sharma S, Cavallaro G, Rosato A. A systematic investigation of multihaem *c*-type cytochromes in prokaryotes. *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 2010, 15(4): 559–571.
- [11] Smith JA, Aklujkar M, Risso C, Leang C, Giloteaux L, Holmes DE. Mechanisms involved in Fe(III) respiration by

- the hyperthermophilic archaeon *Ferroglobus placidus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2015, 81(8): 2735–2744.
- [12] Butler JE, Young ND, Lovley DR. Evolution of electron transfer out of the cell: comparative genomics of six *Geobacter* genomes. *BMC Genomics*, 2010, 11: 40.
- [13] Tan Y, Adhikari RY, Malvankar NS, Ward JE, Nevin KP, Woodard TL, Smith JA, Snoeyenbos-West OL, Franks AE, Tuominen MT, Lovley DR. The low conductivity of *Geobacter uraniireducens* pili suggests a diversity of extracellular electron transfer mechanisms in the genus *Geobacter*. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 980.
- [14] Yun JE, Malvankar NS, Ueki T, Lovley DR. Functional environmental proteomics: elucidating the role of a c-type cytochrome abundant during uranium bioremediation. *The ISME Journal*, 2016, 10(2): 310–320.
- [15] Okamoto A, Nakamura R, Nealon KH, Hashimoto K. Bound flavin model suggests similar electron-transfer mechanisms in *Shewanella* and *Geobacter*. *ChemElectroChem*, 2014, 1(11): 1808–1812.
- [16] Breuer M, Rosso KM, Blumberger J, Blumberger. Electron flow in multiheme bacterial cytochromes is a balancing act between heme electronic interaction and redox potentials. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111(2): 611–616.
- [17] Reguera G, McCarthy KD, Mehta T, Nicoll JS, Tuominen MT, Lovley DR. Extracellular electron transfer via microbial nanowires. *Nature*, 2005, 435(7045): 1098–1101.
- [18] Gorby YA, Yanina S, McLean JS, Rosso KM, Moyles D, Dohnalkova A, Beveridge TJ, Chang IS, Kim BH, Kim KS, Culley DE, Reed SB, Romine MF, Saffarini DA, Hill EA, Shi L, Elias DA, Kennedy DW, Pinchuk G, Watanabe K, Ishii S, Logan B, Nealon KH, Fredrickson JK. Electrically conductive bacterial nanowires produced by *Shewanella oneidensis* strain MR-1 and other microorganisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(30): 11358–11363.
- [19] Pribadian S, Barchinger SE, Leung KM, Byun HS, Jangir Y, Bouhenni RA, Reed SB, Romine MF, Saffarini DA, Shi L, Gorby YA, Golbeck JH, El-Naggar MY. *Shewanella oneidensis* MR-1 nanowires are outer membrane and periplasmic extensions of the extracellular electron transport components. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111(35): 12883–12888.
- [20] Lovley DR, Malvankar NS. Seeing is believing: novel imaging techniques help clarify microbial nanowire structure and function. *Environmental Microbiology*, 2015, 17(7): 2209–2215.
- [21] Dohnalkova AC, Marshall MJ, Arey BW, Williams KH, Buck EC, Fredrickson JK. Imaging hydrated microbial extracellular polymers: comparative analysis by electron microscopy. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77(4): 1254–1262.
- [22] Malvankar NS, Vargas M, Nevin K, Tremblay PL, Evans-Lutterodt K, Nykypanchuk D, Martz E, Tuominen MT, Lovley DR. Structural basis for metallic-like conductivity in microbial nanowires. *mBio*, 2015, 6(2): e00084-15.
- [23] Yan HJ, Chuang C, Zhugayevych A, Tretiak S, Dahlquist FW, Bazan GC. Inter-aromatic distances in *Geobacter sulfurreducens* pili relevant to biofilm charge transport. *Advanced Materials*, 2015, 27(11): 1908–1911.
- [24] Xiao K, Malvankar NS, Shu CJ, Martz E, Lovley DR, Sun X. Low energy atomic models suggesting a pilus structure that could account for electrical conductivity of *Geobacter sulfurreducens* pili. *Scientific Reports*, 2016, 6: 23385.
- [25] Bücking C, Piepenbrock A, Kappler A, Gescher J. Outer-membrane cytochrome-independent reduction of extracellular electron acceptors in *Shewanella oneidensis*. *Microbiology*, 2012, 158(Pt 8): 2144–2157.
- [26] Zhang T, Bain TS, Barlett MA, Dar SA, Snoeyenbos-West OL, Nevin KP, Lovley DR. Sulfur oxidation to sulfate coupled with electron transfer to electrodes by *Desulfuromonas* strain TZ1. *Microbiology*, 2014, 160(Pt 1): 123–129.
- [27] Deutzmann JS, Sahin M, Spormann AM. Extracellular enzymes facilitate electron uptake in biocorrosion and bioelectrosynthesis. *mBio*, 2015, 6(2): e00496-15.
- [28] Coursolle D, Gralnick JA. Modularity of the Mtr respiratory pathway of *Shewanella oneidensis* strain MR-1. *Molecular Microbiology*, 2010, 77(4): 995–1008.
- [29] Ruebush SS, Brantley SL, Tien M. Reduction of soluble and insoluble iron forms by membrane fractions of *Shewanella oneidensis* grown under aerobic and anaerobic conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(4): 2925–2935.
- [30] Rosenbaum MA, Bar HY, Beg QK, Segrè D, Booth J, Cotta MA, Angenen LT. Transcriptional analysis of *Shewanella oneidensis* MR-1 with an electrode compared to Fe(III) citrate or oxygen as terminal electron acceptor. *PLoS ONE*, 2012, 7: e30827.
- [31] Marsili E, Rollefson JB, Baron DB, Hozalski RM, Bond DR. Microbial biofilm voltammetry: direct electrochemical characterization of catalytic electrode-attached biofilms. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, 74(23): 7329–7337.
- [32] Lian YL, Yang YG, Guo J, Wang Y, Li XJ, Fang Y, Gan LX, Xu MY. Electron acceptor redox potential globally regulates transcriptomic profiling in *Shewanella decolorationis* S12. *Scientific Reports*, 2016, 6: 31143.
- [33] Grobblor C, Viridis B, Nouwens A, Harnisch F, Rabaey K, Bond PL. Use of SWATH mass spectrometry for quantitative proteomic investigation of *Shewanella oneidensis* MR-1 biofilms grown on graphite cloth electrodes. *Systematic and Applied Microbiology*, 2015, 38(2): 135–139.
- [34] Matsuda S, Liu H, Kouzuma A, Watanabe K, Hashimoto K, Nakanishi S. Electrochemical gating of tricarboxylic acid cycle in electricity-producing bacterial cells of *Shewanella*. *PLoS ONE*, 2013, 8: e72901.
- [35] Summers ZM, Fogarty HE, Leang C, Franks AE, Malvankar NS, Lovley DR. Direct exchange of electrons within aggregates of an evolved syntrophic coculture of anaerobic bacteria. *Science*, 2010, 330(6009): 1413–1415.

- [36] Nagarajan H, Embree M, Rotaru AE, Shrestha PM, Feist AM, Palsson BØ, Lovley DR, Zengler K. Characterization and modelling of interspecies electron transfer mechanisms and microbial community dynamics of a syntrophic association. *Nature Communications*, 2013, 4: 2809.
- [37] Morita M, Malvankar NS, Franks AE, Summers ZM, Giloteaux L, Rotaru AE, Rotaru C, Lovley DR. Potential for direct interspecies electron transfer in methanogenic wastewater digester aggregates. *mBio*, 2011, 2(4): e00159-11.
- [38] Rotaru AE, Shrestha PM, Liu FH, Ueki T, Nevin K, Summers ZM, Lovley DR. Interspecies electron transfer via hydrogen and formate rather than direct electrical connections in cocultures of *Pelobacter carbinolicus* and *Geobacter sulfurreducens*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(21): 7645–7651.
- [39] McGlynn SE, Chadwick GL, Kempes CP, Orphan VJ. Single cell activity reveals direct electron transfer in methanotrophic consortia. *Nature*, 2015, 526(7574): 531–535.
- [40] Wegener G, Krukenberg V, Riedel D, Tegetmeyer HE, Boetius A. Inter-cellular wiring enables electron transfer between methanotrophic archaea and bacteria. *Nature*, 2015, 526(7574): 587–590.

## Direct contact-dependent microbial extracellular electron transfer

Guannan Kong<sup>1,2,4</sup>, Meiyong Xu<sup>1,3</sup>, Yonggang Yang<sup>1,3\*</sup>

<sup>1</sup> Guangdong Provincial Key Laboratory of Microbial Culture Collection, Guangdong Institute of Microbiology, Guangzhou 510070, Guangdong Province, China

<sup>2</sup> South China Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510301, Guangdong Province, China

<sup>3</sup> State Key Laboratory of Applied Microbiology Southern China, Guangzhou 510070, Guangdong Province, China

<sup>4</sup> University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

**Abstract:** Microbial electron transfer plays a key role in microbial metabolism and the biogeochemical cycle. The direct contact-dependent microorganism extracellular electron transfer i.e. direct extracellular electron transfer process has become a common focus in different subjects including but not limited to microbiology, geochemistry and biophysics. A series of significant novel findings and theoretical breakthrough in direct extracellular electron transfer have been reported in recent years, such as the molecular explanation of direct extracellular electron transfer, discovery of microbial nanowires and cable bacteria. Along with these new progresses, more problems arise to be addressed, including a more specified direct extracellular electron transfer mechanism in different microbes, effects of direct extracellular electron transfer on the neighbor species and local environment. A cross application of multi-disciplinary theories and technologies is a key to further reveal the process of direct extracellular electron transfer.

**Keywords:** direct extracellular electron transfer, nanowires, cable bacteria, cytochrome *c*

(本文责编: 李磊)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31570111, 51678163), by the Guangdong Provincial Programs for Science and Technology Development (2016A030306021, 2014TQ01Z116, 2015B020235011), by the Pearl River S&T Nova Program of Guangzhou (201610010090), by the Guangdong Ocean and Fishery Administration Project (A201501D01, A201601D01) and by the Guangdong Academy of Sciences Innovation Motivates Development Project (2017GDASCX-0403)

\*Corresponding author. Tel: +86-20-87684471; E-mail: yyg117@163.com

Received: 20 September 2016; Revised: 27 October 2016; Published online: 6 December 2016