

# 微生物胞外呼吸电子传递机制研究进展

马 晨<sup>1,2,3</sup>, 周顺桂<sup>1,\*</sup>, 庄 莉<sup>1</sup>, 武春媛<sup>1</sup>

(1. 广东省生态环境与土壤研究所, 广州 510650; 2. 中国科学院广州地球化学研究所, 广州 510640;  
3. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

**摘要:** 胞外呼吸是近年来发现的新型微生物厌氧能量代谢方式, 主要包括铁呼吸、腐殖质呼吸与产电呼吸 3 种形式。微生物胞外呼吸与传统的有氧呼吸、胞内厌氧呼吸存在显著差异。其电子受体多以固态形式存在于胞外; 氧化产生的电子必须通过电子传递链从胞内转移到细胞周质和外膜, 并通过外膜上的细胞色素 c、纳米导线或自身产生的电子穿梭体等方式, 最终将电子传递至胞外的末端受体。胞外呼吸的本质问题是微生物与胞外电子受体(铁/锰氧化物、固态电极或腐殖质等)的相互作用, 即微生物如何将胞内电子传递至胞外受体。胞外呼吸的研究丰富了人们对微生物呼吸多样性的认识, 同时在污染物原位修复及清洁生物能源提取方面具有重要应用前景, 是当前研究的热点问题。总结了胞外呼吸类型和胞外呼吸菌的多样性, 重点阐述了胞外呼吸的电子传递过程, 并提出了其应用前景及今后的研究方向。

**关键词:** 胞外呼吸; 电子传递链; 细胞色素 c; 细胞外膜

## Electron transfer mechanism of extracellular respiration: a review

MA Chen<sup>1,2,3</sup>, ZHOU Shungui<sup>1,\*</sup>, ZHUANG Li<sup>1</sup>, WU Chunyuan<sup>1</sup>

1 Guangdong Institute of Eco-Environmental and Soil Sciences, Guangzhou 510650, China

2 Guangzhou Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510640, China

3 Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

**Abstract:** It has been well known that microbes can generate energy utilizing various strategies. However, only recently, it has become clear that a growing number of microbes involve electron transfer to or from extracellular substrates. This novel microbial metabolism is so termed as “extracellular respiration”, in which microbes oxidize organic matters to carbon dioxide and conserve energy for microbial growth coupling with transfer of electrons and protons along the respiratory chain (a series of enzymes that function to transport protons and electrons inside the cells) to reduce extracellular electron acceptors. Different from the conventional aerobic and anaerobic respirations, the unique characteristic of extracellular respiration is its capability to use extracellular substrates as terminal electron acceptors. The well-known examples are Fe (III)/Mn(IV) respiration, humus respiration and electricigenic respiration, in which iron/manganese (hydr) oxides, humic substances and solid electrodes are served as the extracellular electron acceptors. “Extracellular electron transfer” is defined as the process in which electrons derived from the oxidation of electron donors are transferred to the outer surface of the cell to reduce an extracellular terminal electron acceptor. In the first step for electrons travelling between cells and extracellular substrates, electrons are required to be transferred through electron carriers in the periplasm and come across the non-conductive cell walls, which involves various functional genes and protein complexes (such as multi-hemes c-type cytochromes inside the cell). Afterwards, electrons can be directly or indirectly transferred from the outer membrane to the extracellular electron acceptors via different mechanisms. In general, three main electron transfer mechanisms have been proposed: (1) direct electron transfer to electron acceptor via membrane-bounded cytochromes; (2) direct electron transfer to electron acceptor through conductive bacterial pili (“nanowires”); (3) indirect electron transfer to electron acceptor by

**基金项目:** 国家自然科学基金项目(31070460,40801119); 国家 863 计划项目(2009AA05Z115)

**收稿日期:** 2010-03-17; **修订日期:** 2010-05-18

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: sgzhou@soil.gd.cn

redox mediator that can shuttle between cells and extracellular substrates. The finding of extracellular respiration provides a new perspective for understanding of the diversity and evolution of microbial respiration. Due to their environmental significance and practical application, it has received a great deal of attention at present. Oxidation of organic matters coupled with the reduction of Fe( III) and Mn( IV) oxides plays an important role in the carbon, iron, and manganese cycles in sedimentary environments, and also influences the fate of a diversity of trace metals and phosphate. Anaerobic oxidation of organic contaminants with the reduction of Fe( III) is important in groundwater bioremediation and stimulating dissimilatory metal reduction has shown promise as a method for immobilizing toxic metals in the subsurface. In addition, oxidation of organic matters coupled with electron transfer to electrodes is also a potential strategy for harvesting electricity from the environmental and organic wastes. To date, many efforts have been made to identify how electrons are transferred to the electron acceptors and the factors controlling the rate and extent of this process. An improved understanding of electron transfer mechanism in extracellular respiration is still needed to optimize practical applications and to better model natural processes. In this review, we summarized the types of extracellular respirations and the diversity of extracellular respiratory bacteria. In particular, we mainly focused on the extracellular electron transfer processes and the molecular mechanisms underlying the whole pathway involved.

**Key Words:** extracellular respiration; extracellular electron transport chain; cytochrome c; outer membrane

微生物呼吸作用是指微生物氧化有机物释放电子,并偶联呼吸链产能的过程。根据电子受体的不同,常分为有氧呼吸、无氧呼吸和发酵作用<sup>[1]</sup>。胞外呼吸是近年新发现的微生物能量代谢方式。它是指厌氧条件下,微生物在胞内彻底氧化有机物释放电子,产生的电子经胞内呼吸链传递到胞外电子受体使其还原,并产生能量维持微生物自身生长的过程<sup>[2]</sup>。它与传统胞内厌氧呼吸存在两点显著差异:(1)电子最终必需传递至胞外。与 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ 等可溶性电子受体不同,胞外呼吸的电子受体为固体(如铁/锰氧化物、石墨电极)或大分子有机物(如腐殖质),无法进入细胞<sup>[3]</sup>,因此氧化过程产生的电子必须设法“穿过”非导电的细胞壁,传递至胞外受体;(2)电子传递途径不同。与常规电子传递链相比,胞外呼吸产生的电子必须经过周质组分的传递到达细胞外膜,然后通过外膜上的多血红素细胞色素 c、“纳米导线(Nanowires)”或电子穿梭体等方式传递到胞外,因而传递难度也显著加大。

胞外呼吸具有重要的科学意义及应用价值:它的发现拓宽了人们对微生物呼吸多样性的认识,可为微生物呼吸方式的进化和微生物多样性的研究提供科学依据;胞外呼吸在污染物原位修复、污水处理与生物质能的回收(如微生物产电技术)等方面表现出重要的应用前景<sup>[4-6]</sup>。基于胞外呼吸的重要研究意义,本文将从胞外呼吸类型和微生物多样性、胞外电子传递过程及其应用前景等方面进行综述。

## 1 胞外呼吸类型及微生物多样性

根据胞外电子受体的不同,胞外呼吸主要分为铁呼吸、腐殖质呼吸和产电呼吸 3 种形式。具有胞外呼吸特性的微生物统称胞外呼吸菌。胞外呼吸菌的分离鉴定是当前研究的热点问题。已发现的胞外呼吸菌多为革兰氏阴性菌( $G^-$ ),只有少数几株阳性菌( $G^+$ ),主要集中在变形菌门(Proteobacteria)的不同亚门( $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -及 $\delta$ -Proteobacteria)。地杆菌科(Geobacteraceae)是胞外呼吸的优势菌群。表 1 列出了胞外呼吸的部分代表菌。

### 1.1 铁(锰)呼吸

铁(锰)呼吸(Iron/manganese respiration),也称异化铁(锰)还原,是进化最早且研究最深入的胞外呼吸形式。它是指微生物以细胞外不溶性的铁(锰)氧化物(如针铁矿( $\alpha$ -FeOOH)、赤铁矿( $\alpha$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)或MnO<sub>2</sub>)为末端电子受体,彻底氧化电子供体产能的过程<sup>[20]</sup>。早在 20 世纪初,人们就发现:某些微生物可以还原铁(锰)氧化物,但多数菌株不能从底物氧化过程获得生命活动的能量,且底物氧化不彻底。直到 1988 年,Lovley 和 Phillips<sup>[5]</sup>才首次分离出可以完全氧化有机物产能的菌株 *Geobacter metallireducens* GS-15。随后的研究发现,铁

还原菌广泛分布在土壤、海洋/淡水沉积物、活性污泥和废水等环境中,并可耦联污染物的原位降解和重金属还原。地杆菌属(*Geobacter*)和希瓦氏菌属(*Shewanella*)是目前研究最系统的铁呼吸菌属,常作为构建胞外呼吸电子传递链的模型。目前发现,大部分铁还原菌同时具有多种胞外呼吸能力,如表1中的*G. metallireducens*和*R. ferrireducens*。因而,深入揭示铁呼吸的电子传递过程,将有助于其他胞外呼吸研究的开展。

表1 胞外呼吸部分代表菌

Table 1 Microorganisms capable of extracellular respiration

代表微生物 Microorganisms	所属科 Family	革染 Gram staining	胞外电子受体 Extracellular electron acceptors	说明 Remarks
<i>Geobacter metallireducens</i> <sup>[6-7]</sup>	Geobacteraceae	G <sup>-</sup>	铁氧化物/AQDS/ 腐殖质/电极	利用乙酸
<i>G. sulfurreducens</i> <sup>[8]</sup>	Geobacteraceae	G <sup>-</sup>	AQDS/HS/柠檬酸铁/ 电极	利用乙酸
<i>Desulfuromonas acetoxidans</i> <sup>[4]</sup>	Geobacteraceae	G <sup>-</sup>	铁氧化物/电极	利用乙酸
<i>Geopsychrobacter electrodiphilus</i> <sup>[9]</sup>	Geobacteraceae	G <sup>-</sup>	铁氧化物/电极	4℃可生长
<i>Desulfobulbus propionicus</i> <sup>[10]</sup>	Desulfobulbaceae	G <sup>-</sup>	铁氧化物/腐殖质/ 电极	利用单质硫
<i>Rhodospirillum rubrum</i> <i>ferrireducens</i> T118 <sup>T</sup> <sup>[11]</sup>	Comamonadaceae	G <sup>-</sup>	铁氧化物/腐殖质/电极	可利用多种糖,非光合自养, 4℃可生长,紫色非硫细菌
<i>Rhodospseudomonas palustris</i> <sup>[12]</sup>	Bradyrhizobiaceae	G <sup>-</sup>	电极 不知是否完全氧化底物	与混合菌产电相当(2.72 W/m <sup>2</sup> ),光合紫色非硫细菌
<i>Enterobacter cloacae</i> 13047 <sup>T</sup> <sup>[13]</sup>	Enterobacteriaceae	G <sup>-</sup>	电极	利用纤维素,不还原水铁矿
<i>Klebsiella pneumoniae</i> L17 <sup>[14]</sup>	Enterobacteriaceae	G <sup>-</sup>	铁氧化物/电极	利用乙酸,不依赖铁还原生长
<i>Pelobacter carbinolicus</i> <sup>[15]</sup>	Geobacteraceae	G <sup>-</sup>	铁氧化物 不知是否完全氧化底物	不具产电能力
<i>Ochrobactrum anthropi</i> YZ-1 <sup>[16]</sup>	Brucellaceae	G <sup>-</sup>	产电 不知是否完全氧化底物	不可利用铁氧化物
<i>Corynebacterium</i> sp. MFC03 <sup>[17]</sup>	Mycobacteriaceae	G <sup>+</sup>	腐殖质/电极	嗜碱菌,Actinobacteria(门) 非完全利用底物
<i>Acidiphilium cryptum</i> <sup>[18]</sup>	Acetobacteraceae	G <sup>-</sup>	铁氧化物/电极	嗜酸菌
<i>Thermincola ferriacetica</i> <sup>[19]</sup>	Peptococcaceae	G <sup>+</sup>	电极 不知是否完全氧化底物	嗜热菌,Firmicutes(门)

G<sup>-</sup>: gram negative, 革兰氏阴性; G<sup>+</sup>: gram positive, 革兰氏阳性; HS: 腐殖质, humic substances; AQDS: anthraquinone-2,6-disulfonate, 铁氧化物: iron oxides; 电极: electrode

## 1.2 腐殖质呼吸

腐殖质(Humic substances, HS)是由动植物及微生物残体演化而成的高分子醌类聚合物,广泛存在于土壤、沉积物和水生环境中。它既可作为微生物胞外呼吸的电子受体,也可充当电子穿梭体促进其他形式的胞外呼吸<sup>[17,21-22]</sup>。腐殖质呼吸的具体过程如下:微生物在厌氧环境下氧化有机物,将产生的电子传给细胞外氧化态的腐殖质,并产生能量维持自身生长。1996年Lovley等<sup>[23]</sup>首次发现腐殖质可作为铁还原菌*G. metallireducens*的胞外电子受体。随后,在有机物含量丰富的沉积物、污染的土壤和污水处理厂的活性污泥中分离到多株腐殖质还原菌<sup>[21]</sup>。腐殖质的结构复杂且成分多样,给腐殖质呼吸的直接研究造成了困难。因而常以结构简单的AQDS(anthraquinone-2,6-disulfonate, 蒽醌-2,6-二磺酸)作为研究腐殖质呼吸的模型物质。腐殖质呼吸与其他胞外呼吸联系密切,多数腐殖质还原菌同时具有铁呼吸和产电能力<sup>[6]</sup>,且在环境污染物修复等方面表现出重要应用价值。

## 1.3 产电呼吸

早在1911年,人们就发现微生物可以产电;近年,随着微生物燃料电池(Microbial fuel cell, MFC)的突破性发展,产电呼吸的概念被明确提出。产电呼吸是指在MFC阳极室中,微生物彻底分解有机物产生CO<sub>2</sub>,并耦联能量产生维持自身生长;释放的电子传递到阳极,并经外电路的传递最终还原阴极电子受体(O<sub>2</sub>等),以

此循环产生电流的过程<sup>[4]</sup>。产电效率是制约 MFC 发展的重要因素,所以揭示产电微生物的胞外电子传递过程,成为 MFC 研究的热点。目前已从有机废水、海水沉积物以及运行良好的 MFC 阳极液中分离出多种产电微生物。铁呼吸与产电呼吸联系密切<sup>[7]</sup>,然而两者的电子传递过程可能存在一定差异<sup>[15-16,24]</sup>:(1) 与铁/锰氧化物相比,产电呼吸的电子受体——阳极,是稳定的受体来源,并且不产生还原产物干扰电极的还原过程;(2) 产电呼吸不参与铁/锰矿物的溶解反应,电子传递速率可量化;(3) 阳极可直接作为检测电极表面“生物膜”微环境变化的工具。所以,产电呼吸是研究胞外呼吸理论的良好模型。

除了上述 3 种胞外呼吸外,DMSO( Dimethyl sulfoxide, 二甲基亚砜)<sup>[25]</sup>、黑色素<sup>[3]</sup>、放射性元素<sup>[3]</sup> V( V)、U( VI) 和 Se( IV) 也是微生物有效的胞外电子受体。因此,微生物采取胞外呼吸可能是对生存环境的长期适应性表现。有试验证明<sup>[26]</sup>,在电化学“人为”选择压力下,*E. coli* K12 表现出对环境的“适应性”:分泌醌类衍生物介导电子从细胞到阳极的传递,而且细胞表面变粗糙、表面网孔增大、通透性增强。目前,已发现的胞外呼吸类型和微生物类群还十分有限,借助于完善的分离体系和分子生物学等方法,将会有更多的胞外呼吸类型被发现。

## 2 胞外呼吸的电子传递过程

呼吸作用的本质是底物氧化中产生的还原型辅酶  $\text{NADH}_2$  和  $\text{FADH}_2$  重新被氧化的过程。其中,产生的电子沿呼吸链传递到末端电子受体(如氧气);并偶联  $\text{H}^+$  转运到质膜外,形成跨膜质子动势合成 ATP,维持细胞的生长。呼吸链理论的研究一直是生物化学领域的热点问题。经典呼吸链也叫电子传递链( Electron transport chain, ETC),由一系列位于细胞质膜上,氧化还原电势从低到高排列的电子(或氢)传递体(或载体)组成<sup>[27]</sup>。在无氧呼吸中,电子受体的氧化还原电势比氧气低,因而电子供体与受体间的电势差小,产生的能量也较少。此外,电子受体只能接受低电势载体传递的电子,因而末端电子受体的氧化还原电势决定了电子传递链的组成。下图总体概括了有氧呼吸、胞内无氧呼吸和胞外无氧呼吸电子传递链的组成(图 1):

由图 1 可知,上述 3 种呼吸电子传递链的质膜部分基本相同。最显著的差别是末端还原酶的组成和定位不同:有氧呼吸的电子受体是氧气,其可以进入细胞内,所以末端还原酶位于细胞质膜内侧(图 1-I);而胞内无氧呼吸的还原酶位于周质一侧,无氧呼吸的电子受体在周质中被还原(图 1-II);胞外无氧呼吸的电子受体在细胞外,所以其产生的电子必须经过周质中电子载体的传递,最终被外膜上的还原酶还原(图 1-III)。由此可见,胞外电子传递过程有以下两个特点:(1) 与经典电子传递链相比,胞外呼吸的电子传递过程必须经过周质和外膜组分的传递,最终到达外膜;(2) 外膜上存在多种功能的细胞色素 c 或其他功能蛋白,通过多种作用方式,最终将电子由细胞外膜传递到胞外电子受体。下文将围绕上述两个特点论述胞外电子传递过程。

### 2.1 电子从细胞质膜到外膜的传递过程

胞外电子传递过程将经典呼吸链组分从细胞质膜延伸到周质和外膜上。其中,质膜上的电子载体可同时传递氢质子和电子,并耦联能量的产生;而周质和外膜上的电子载体只具有电子传递的能力,不伴随 ATP 的产生。

目前,胞外呼吸链质膜部分的研究刚起步。Kim 等<sup>[30]</sup>考察了呼吸链抑制剂对废水中混合菌产电呼吸的影响,发现 NADH 脱氢酶、Fe/S 蛋白和辅酶 Q 是产电呼吸的必需组分,而其他经典呼吸链的重要组分 Cyt  $bc_1$  和末端氧化酶 Cyt  $aa_3$  不参与产电呼吸。但其试验的对象是混合菌群,结果有待实验进一步证实。此外,Woznica 等<sup>[31]</sup>在 2003 年提出了 *Aeromonas hydrophila* KB1 还原柠檬酸铁的电子传递链模型(葡萄糖为供体),发现甲酸盐还原酶、醌类和 Cyt  $bc_1$  可能是必需组分,末端还原酶 Cyt  $aa_3$  不参与此菌的铁还原呼吸。

胞外电子传递链的周质和外膜部分是胞外电子传递过程的研究重点。已有研究显示,胞外呼吸菌的内膜、周质和外膜上存在着—类重要的电子传递蛋白——细胞色素 c( Cyt c),其含有多个排列紧密的含铁血红素,能介导电子的快速、长距离传递<sup>[32]</sup>。血红素 c 常通过半胱氨酸( Cys) 的硫醚键与蛋白部分结合,形成完整的细胞色素 c 蛋白;中心元素“铁”是电子的传递中心,其价态的变化决定了 Cyt c 的氧化还原电位(图 2)。

Cyt c 的功能和定位一直是胞外呼吸的研究热点。现阶段,铁呼吸和产电呼吸电子传递相关 Cyt c 的研究

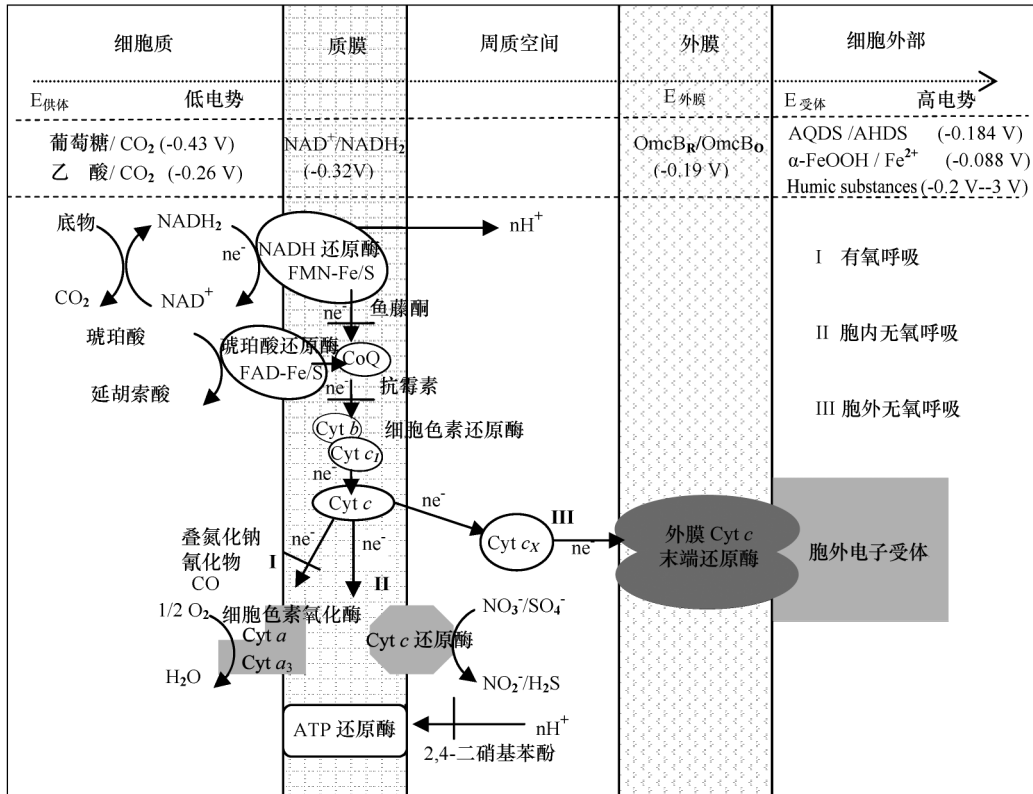


图1 有氧呼吸、胞内无氧呼吸和胞外无氧呼吸电子传递链模型

Fig. 1 Electron transport chains of aerobic, intracellular and extracellular anaerobic respirations [28-29]

较多,而腐殖质呼吸相关 Cyt c 的报道较少。Richter 等<sup>[33]</sup>采用循环伏安法研究了 *G. sulfurreducens* (乙酸为供体) 电极还原的相关 Cyt c,发现 OmcZ 和 OmcB 是产电呼吸必需组分(表 2),而铁呼吸中必需的 Cyt c——OmcE 不参与电极的电子传递。最近, Hartshorne 等发现“MtrCAB”同源体广泛存在于  $\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -Proteobacteria 和 Acidobacteria 的微生物类群中,介导多种胞外电子传递<sup>[34]</sup>。研究发现,甲基萘醌(Menaquinone)、OmcB、CymA、MtrB 是 *S. oneidensis* MR-1 还原 AQDS 的必需蛋白<sup>[6]</sup>。另有研究证明,甲基萘醌基因缺失株无法进行腐殖质呼吸<sup>[6]</sup>。2009 年, Risso 等<sup>[11]</sup>研究了 *R. ferrireducens* 底物代谢和电子传递的详细途径,结果发现其含有 69 个可能的细胞色素 c 基因,多数位于周质或外膜,其中 45% 与 *Geobacter* spp. 同源;仅发现了 OmcE 的同源体,未发现 *Geobacter* spp. 胞外电子传递过程中其他必需的 Cyt c,如 OmcB、OmcC、OmcS、OmcT 的同源体。这一研究结果显示,参与胞外电子传递的 Cyt c 可能存在种属差异性。

总体来说,目前关于胞外电子传递链相关 Cyt c 的研究,大多集中在 *S. oneidensis* MR-1 和 *G. sulfurreducens*。如前所述,它们具有多种胞外呼吸能力,基因测序图谱完整,代谢途径较明确,是理想的胞外呼吸模式菌株。目前已发现 *S. oneidensis* MR-1 和 *G. sulfurreducens* 分别有 42 个和 100 多个 Cyt c 基因,但

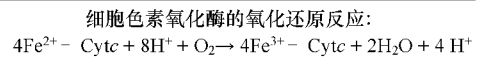
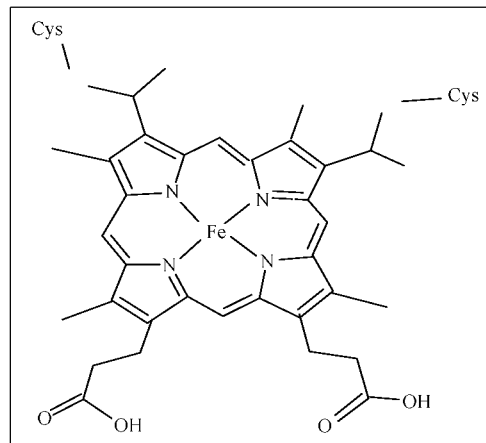


图2 血红素 c 的结构及中心铁元素参与的氧化还原反应  
 Fig. 2 Structure of heme c and redox reaction of Fe(III) [27]

这些基因的功能并不完全清楚,究竟哪些 Cyt *c* 是胞外呼吸的必需组分,还需进一步研究确定。

表 2( 附下) 列出了两类代表菌胞外电子传递中部分重要的 Cyt *c*。从中可知,Mtr/Omc 系统参与多种胞外电子传递过程。微生物如何利用同一系统识别不同电子受体呢? Gralnick 和 Newman 推测<sup>[3]</sup>: (1) 受体末端还原酶具有专一性,它在外膜上的正确定位由特异性蛋白(如 MtrB) 介导;(2) 不同受体共用相同的末端还原酶,而末端还原酶本身具有识别不同胞外受体的能力。

表 2 两株代表菌胞外呼吸 Cyt *c* 种类和功能  
Table 2 Different kinds and roles of Cyt *c* in extracellular respiration

代表微生物 Microorganisms	细胞色素 <i>c</i> 类型 Kinds of Cyt <i>c</i>	定位 Location	参与的呼吸 Respiration	基本功能 Basic function
<i>Shewanella oneidensis</i>	CymA <sup>[5]</sup>	PM/PS	铁呼吸/DMSO 呼吸/产电呼吸	含有 4 个血红素,介导电子从醌泵到周质空间的传递;
	MtrA <sup>[34]</sup>	PS/OM	铁呼吸/DMSO 呼吸/产电呼吸	含有 10 个血红素,介导电子从 CymA 到外膜受体或直接还原周质中可溶的 Fe(III);
	MtrB <sup>[34]</sup>	Trans-OM	铁呼吸/AQDS 还原/产电呼吸	不是细胞色素,可能参与 MtrC 和 OmcA 的转运和定位;做保护鞘;
	MtrC <sup>[32]</sup>	OM	铁锰呼吸/产电呼吸	与 OmcA 形成蛋白复合体/作末端还原酶;参与纳米导线的组成;
	OmcA <sup>[32]</sup>	OM	铁呼吸/产电呼吸	含有 10 个血红素;可能具有胞外受体识别能力参与纳米导线的组成;
	GspD/GspE <sup>[8]</sup>	OM	铁呼吸/产电呼吸	组成 T2S 分泌系统,可能参与 MtrC 和 OmcA 的转运;
	DmsE DmsF/DmsAB <sup>[25]</sup>	PS OM	DMSO 呼吸(此菌特有)	DmsF: 可能保护末端还原酶 DmsAB: 做末端 DMSO 还原酶;
<i>Geobacter sulfurreducens</i>	MacA <sup>[35]</sup>	PS	铁呼吸/产电呼吸	介导电子从醌到外膜电子传递体;
	PpcA/PpcB <sup>[5]</sup>	PS	铁呼吸/AQDS 还原/产电呼吸	含有 3 个血红素;在乙酸代谢中可能是电子传递体不影响氢为电子供体的电子传递;
	OmcB <sup>[33]</sup>	OM	铁还原/产电呼吸	含有 12 个血红素;末端还原酶或将电子传递到末端还原酶;
	OmcE/OmcD <sup>[33]</sup>	OM	铁呼吸	OmcD: 含有 4 个血红素;OmcE: 含有 6 个血红素可能是末端铁还原酶,不参与可溶性铁还原,OmcE 不参与产电呼吸;
	OmcS <sup>[33]</sup>	OM	铁呼吸/产电呼吸	将电子直接传给电极,不依赖纳米导线传导;
	OmcZ <sup>[33]</sup>	OM	产电呼吸	介导生物膜中同种细胞的电子传递;
	OmcT <sup>[35]</sup>	OM	铁呼吸/产电呼吸	与 OmcS 的表达有关;
	OmcF <sup>[36]</sup>	OM	铁呼吸/产电呼吸	帮助其他 Cyt <i>c</i> 转录和定位;
	pilA <sup>[3]</sup>	PM/PS/OM	铁呼吸/产电呼吸 此菌特有	T4P 菌毛系统的结构蛋白,缺少明显的血红素和金属结合位点,内膜、周质和外膜都可接收电子

PM: plasma membrane; PS: periplasm; OM: outer membrane; 铁呼吸: iron respiration; 产电呼吸: electricigenic respiration

除了 Cyt *c*,一些调控基因(或蛋白)和分泌蛋白在胞外电子传递中也发挥了重要作用。如直接作用于 OmcA 的 *fur*(Ferric uptake regulator) 基因<sup>[37]</sup>;参与周质蛋白分泌的双精氨酸转运系统<sup>[37]</sup>;参与胞外受体感应的 RpoS 系统<sup>[38]</sup>和外膜上的多铜蛋白<sup>[2]</sup>等。此外,T2S(Type II secretion system)和 T4P(Type IV pili)在胞外电子传递中的作用也十分重要。T2S 是 *Shewanella* 的蛋白分泌系统,在铁呼吸中参与 MtrC 和 OmcA 的跨膜转运和定位;T4P 是 *G. sulfurreducens* 的菌毛系统,横跨整个细胞壁,介导电子直接从胞内传递到胞外电子受体,或经胞内呼吸链的传递,最终由 T4P 系统将电子传递到胞外。有研究证明,T2S 和 T4P 系统存在同源性,两者的组成蛋白相似<sup>[32]</sup>。可见,两者的胞外电子传递链组成可能存在相似性。综合以上结果,图 3 比较了 *S. oneidensis*MR-1 和 *G. sulfurreducens* 胞外电子传递链的组成。

## 2.2 电子从细胞外膜到电子受体的传递过程

微生物将电子由胞内传递到外膜后,可通过以下两种方式,将电子转移到胞外电子受体:(1) 直接接触机

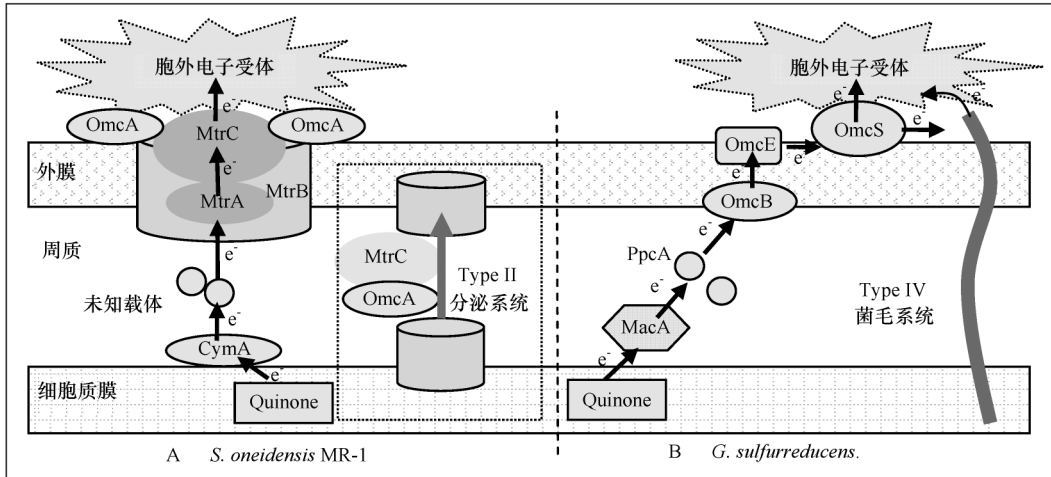


图3 *S. oneidensis* MR-1 和 *G. sulfurreducens* 胞外电子传递链 Cyt *c* 的排列

Fig. 3 The involvement of multi-heme cytochromes in *S. oneidensis* MR-1 and *G. sulfurreducens* [32, 34]

制。即直接利用外膜上的 Cyt *c* 或细胞表面附属物——“纳米导线”<sup>[35, 39]</sup> 将电子传递至受体; (2) 电子穿梭体介导。即微生物自身分泌的氧化还原物质(内生介体), 接受胞内的电子, 并将其“运出”细胞, 传递给胞外受体后, 以氧化态返回细胞再次接受电子, 如此往返穿梭于胞内和胞外, 介导电子的传递(图 4, III)。已确定的内生介体包括微生物的初级代谢物(如 H<sub>2</sub>、H<sub>2</sub>S 和氨等)<sup>[5, 40]</sup> 和次级代谢物(如吩嗪类色素<sup>[41]</sup> 和核黄素<sup>[42]</sup>)。相比而言, 电子穿梭体机制常伴随底物的非完全氧化, 且介体易随介质流动而损失, 因而电子传递不如直接机制有效, 但它可以作为辅助性方式参与同种或异种细胞的远距离电子传递。例如, 在电子受体有限的自然环境中, 不同微生物(发酵细菌和产电细菌)常在胞外固态受体(阳极或铁锰氧化物)表面形成微生态系统——“生物膜”, 运用上述两种机制, 协同完成胞外电子传递(如图 4)。

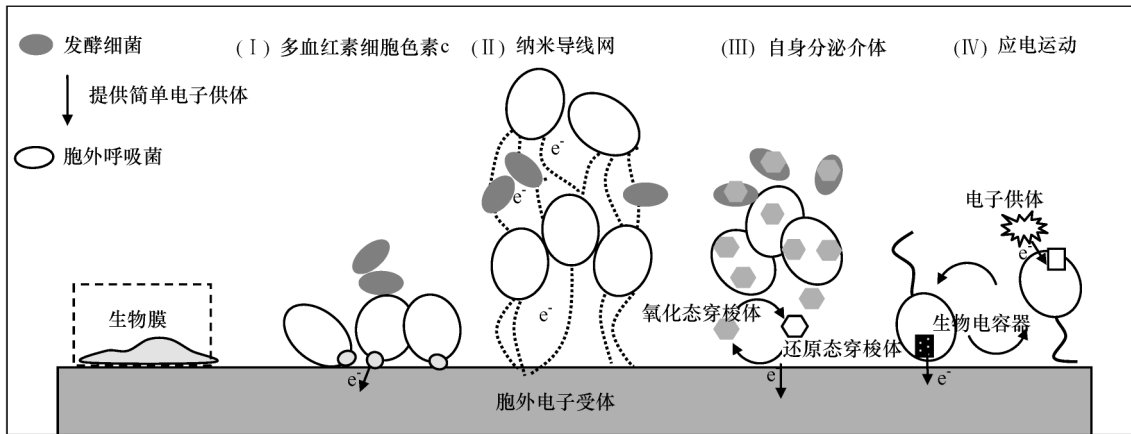


图4 生物膜中胞外电子的传递机制

Fig. 4 Mechanisms of extracellular electron transfer in biofilms [43-44]

最近, Harris 等<sup>[44]</sup> 在 *Shewanella* 中发现一种新型的胞外电子传递机制——应电运动。如图 4(IV) 所示, 靠近胞外受体 (MnO<sub>2</sub> 或电极) 的部分细胞, 可以将氧化底物产生的电子储存在细胞表面, 形成所谓的“生物电容器”, 然后细胞通过“touch-and-go”的方式将电子转移给胞外受体, 即细胞利用鞭毛运动快速撞击受体表面, 释放电子并还原受体, 瞬间接触后, 脱离受体表面, 参与下个循环。这种电子拖曳机制与电子穿梭体机制有明显的区别, 即电子拖曳无需通过介体, 而是依赖细胞本身的“应电运动”传递电子。他们同时发现, 高氧化还原电势会加快应电运动的速率; MtrA, MtrB, CymA 可能在应电运动中发挥着重要作用。

不同胞外呼吸菌的电子传递方式存在差异。例如, *Shewanella* 常以乳酸为电子供体, 主要依靠分泌醌类等电子穿梭体完成胞外电子传递, 由于其电子传递效率低, 不是自然环境中胞外呼吸的优势菌群; 而 *Geobacter* 不可以分泌电子穿梭物质或整合体, 它主要依靠产生鞭毛和纳米导线<sup>[43]</sup> 来传递电子, 其传递效率高, 是胞外呼吸的优势菌群。另外, 同一株胞外呼吸菌也可能采取多种电子传递方式。例如, 本研究小组分离的铁还原菌 *Klebsiella pneumoniae* L17<sup>[22]</sup>, 可在 MFC 阳极形成生物膜, 并利用外膜 Cyt *c* 实现胞外电子传递<sup>[14]</sup>; 而用 0.22 μm 微孔滤膜人为阻隔微生物( *K. pneumoniae* L17) 与阳极直接接触时, 发现其可以分泌 2,6-二叔丁基对苯醌( 2,6-DTBBQ), 作为电子穿梭体介导电子传递<sup>[39]</sup>。

目前, 胞外电子传递机制的研究主要集中在革兰氏阴性菌, 只发现了少数几株革兰氏阳性菌具有胞外呼吸活性, 而且它们电子传递效率普遍较低<sup>[17,19]</sup>。两类菌群细胞壁结构和组成的不同决定了两者胞外电子传递能力的差异: 革兰氏阳性菌的细胞壁结构紧密, 周质空间狭小, 多数成份是不导电的肽聚糖, 脂蛋白含量很少; 而阴性菌的细胞壁结构疏松, 周质空间大, 其中含有丰富的 Cyt *c* 或其他功能性蛋白, 它们可作为有效的电子传递体<sup>[45]</sup> (图 5)。

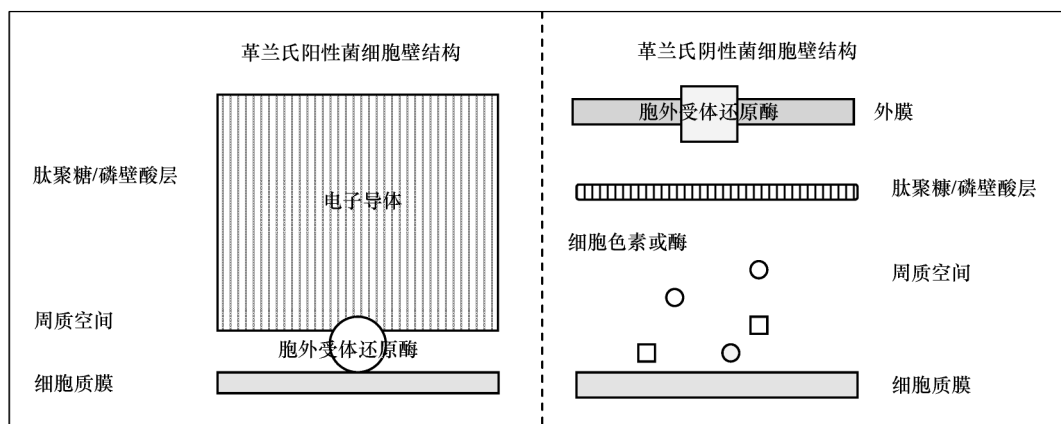


图 5 革兰氏阴性菌和阳性菌细胞壁比较

Fig. 5 Comparison of cell walls between Gram-negative and Gram-positive bacteria<sup>[45]</sup>

### 3 胞外呼吸的应用

胞外呼吸的本质问题是微生物与胞外电子受体的相互作用, 即微生物如何将电子从胞内转移至胞外受体, 并获取生命活动的能量。在理论方面, 胞外呼吸的发现为呼吸链电子传递、胞外电子转移、能量产生途径等科学问题提供了新的视角; 在应用方面, 胞外呼吸在碳、氮、硫等元素生物地球化学循环、污染物转化消减和微生物产电等方面发挥了积极作用<sup>[5-6]</sup>。研究表明, 铁氧化物、腐殖质和电极的还原过程, 常耦联各种含氮染料的降解、有机氯农药( R-Cl, 如 DDT 等) 的脱卤还原以及重金属和放射性元素 Mn( IV)、Cr( VI) 和 U( VI) 的还原<sup>[4-6]</sup>; 此外, 胞外呼吸菌( 如 *G. metallireducens*) 可以利用甲苯等芳烃类物质为电子供体, 将其厌氧氧化降解<sup>[21,46]</sup> (图 6)

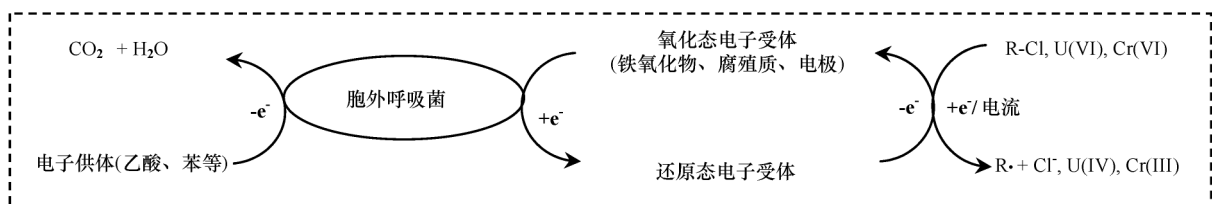


图 6 胞外呼吸介导的污染物转化机制

Fig. 6 Mechanisms of extracellular respiration stimulating organic pollutants transformation<sup>[4-5,21]</sup>



微生物产电技术是胞外呼吸应用研究的焦点,其最基本的应用载体就是微生物燃料电池(Microbial fuel cell, MFC)装置。MFC利用胞外产电呼吸原理,以胞外呼吸菌为阳极催化剂,直接将有机物中的化学能转化为清洁电能,同时达到去除污染物的功效。目前,MFC的应用已经拓展到以下几方面:(1)应用于废水处理,MFC可以有效降低废水的COD、氨氮等污染物,同时产生清洁电能,有望投入大规模应用。目前,Queensland大学和Foster's啤酒厂已建成并运行了两处中试规模的废水处理装置,其装置由12个高3m的石墨电极组成,有效体积可达 $1\text{ m}^3$ <sup>[24]</sup>。(2)将MFC改造为功能性装置,利用阳极微生物的产电呼吸促进阴极污染物的降解、重金属的去除<sup>[24,47]</sup>和生产有价值的工业产品。例如,在阴极室富集氢气、过氧化氢、甲烷、烧碱、丁醇等化学工业产品。(3)最近,Cao等改进了MFC的分隔膜组分,设计出新型的脱盐装置,进一步扩大了MFC的应用范围<sup>[48]</sup>。(4)MFC也是良好的实验工具,可用于研究胞外呼吸菌的生理生化特性、模拟复杂微生物系统的电子流动和验证生态学理论<sup>[24]</sup>。

#### 4 研究展望

目前,胞外呼吸的研究还处于起步阶段,有许多问题尚未解决。今后的研究重点应着眼于以下几点:(1)揭示更多胞外呼吸的电子受体形式。将现有的研究范围扩展到极端环境,以期发现微生物新型底物利用方式和电子受体形式;(2)分离高效胞外呼吸菌。目前报道的胞外呼吸菌的数量只占自然界的极小部分,且电子传递效率普遍不高,限制了其在微生物产电等方面的应用。借助于更完善的微生物分离系统和分子生物学方法,将进一步发现和丰富胞外呼吸的微生物资源;(3)完善胞外电子传递过程的分子学机制,将成为今后研究的热点。目前建立的胞外电子传递链只局限在*Shewanella*和*Geobacter*的铁呼吸过程,完整传递链的组成和必需Cyt c的功能和定位还不完全清楚。运用生物化学、分子生物学和电化学等多学科交叉技术,进一步确定电子传递链必需组分的分子学性质,并将电子传递链的研究扩展到其他胞外呼吸菌和胞外呼吸形式;(4)研究复杂条件下胞外电子的传递过程。不同自然环境下,同种微生物电子传递链的组成和传递机制是否相同、哪种方式是主导机制,不同菌群如何协同完成胞外电子传递,都是有待解决的问题;如前所述,本实验室分离的一株铁还原菌*Klebsiella pneumoniae* L17,具有产电活性,将其接种到以葡萄糖为燃料的MFC阳极室中,电池的最大输出功率密度可达 $409.71\text{ mW/m}^2$ 。实验证明,此菌可以利用生物膜机制直接将电子传递到胞外电极<sup>[14]</sup>。同时发现,当用 $0.22\mu\text{m}$ 微孔滤膜包裹阳极碳毡时(即阻隔微生物与阳极直接接触),仍可产电,但输出电压与未包裹的对照相比稍有降低。进一步实验证明,此菌可以分泌2,6-二叔丁基对苯醌(2,6-DTBBQ),作为电子穿梭体介导电子到胞外电极的传递<sup>[39]</sup>。从而证明,同种微生物可能存在多种胞外电子传递途径。(5)拓展胞外呼吸的应用范围,并研究其在污染物修复和微生物产电等方面的深层机理。目前,微生物燃料电池的产电效率不高,离实际应用还有很大差距。因而提高MFC的输出功率是胞外呼吸的研究热点和难点。

#### References:

- [1] Zhou D Q. Microbiology. Beijing: Higher Education Press, 2002: 111-112.
- [2] Lovley D R. Extracellular electron transfer: wires, capacitors, iron lungs and more. *Geobiology*, 2008, 6(3): 225-231.
- [3] Galnick J A, Newman D K. Extracellular respiration. *Molecular Microbiology*, 2007, 65(1): 1-11.
- [4] Lovley D R. Bug juice: harvesting electricity with microorganisms. *Nature Reviews Microbiology*, 2006, 4(7): 497-508.
- [5] Lovley D R, Holmes D E, Nevin K P. Dissimilatory Fe(III) and Mn(IV) reduction. *Advances in Microbial Physiology*, 2004, 49: 219-286.
- [6] van Trump J I, Sun Y, Coates J D. Microbial interactions with humic substances. *Advances in Applied Microbiology*, 2006, 60: 55-96.
- [7] Zhang J T, Ni J R, Zhou S G. Progress in research of microbial fuel cells based on Fe(III)-reducing bacteria. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2008, 14(2): 290-295.
- [8] Gorby Y A, Yanina S, McLean J S, Rosso K M, Moyles D, Dohnalkova A, Beveridge T J, Chang I S, Kim B H, Kim K S, Culley D E, Reed S B, Romine M F, Saffarini D A, Hill E A, Shi L, Elias D A, Kennedy D W, Princhuk G, Watanabe K, Ishii S, Logan B, Nealon K H, Fredrickson J K. Electrically conductive bacterial nanowires produced by *Shewanella oneidensis* strain MR-1 and other microorganisms. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2006, 103(30): 11358-11363.
- [9] Holmes D E, Nicoll J S, Bond D R, Lovley D R. Potential role of a novel psychrotolerant member of the family *Geobacteraceae*, *Geopsychrobacter*

- electrodiphilus* gen. nov., sp. nov., in electricity production by a marine sediment fuel cell. *Applied of Environmental Microbiology*, 2004, 70 (10): 6023-6030.
- [10] Holmes D E, Bond D R, Lovley D R. Electron transfer by *Desulfobulbus propionicus* to Fe( III) and graphite electrodes. *Appl Environ Microbiol*, 2004, 70(2): 1234 - 1237.
- [11] Risso C, Sun J, Zhuang K, Mahadevan R, DeBoy R, Ismail W, Shrivastava S, Huot H, Kothari S, Daugherty S, Bui O, Schiling C H, Loveley D R, Methe B A. Genome-scale comparison and constraint-based metabolic reconstruction of the facultative anaerobic Fe( III) -reducer *Rhodospirillum rubrum*. *BMC Genomics*, 2009, 10: 447-466.
- [12] Xing D F, Zuo Y, Cheng S A, Regan J M, Logan B E. Electricity generation by *Rhodospseudomonas palustris* DX-1. *Environmental Science & Technology*, 2008, 42(11): 4146-4151.
- [13] Rezaei F, Xing D F, Wagner R, Regan J M, Richard T L, Logan B E. Simultaneous cellulose degradation and electricity production by *Enterobacter cloacae* in a microbial fuel cell. *Applied of Environmental Microbiology*, 2009, 75(11): 3673-3678.
- [14] Zhang L X, Zhou S G, Zhuang L, Li W S, Zhang J T, Lu N, Deng L F. Microbial fuel cell based on *Klebsiella pneumoniae* biofilm. *Electrochemistry Communications*, 2008, 10(10): 1641-1643.
- [15] Richter H, Lanthier M, Nevin K P, Lovley D R. Lack of electricity production by *Pelobacter carbinolicus* indicates that the capacity for Fe( III) oxide reduction does not necessarily confer electron transfer ability to fuel cell anodes. *Applied of Environmental Microbiology*, 2007, 73 (16): 5347-5353.
- [16] Zuo Y, Xing D F, Regan J M, Logan B E. Isolation of the exoelectrogenic bacterium *Ochrobactrum anthropi* YZ-1 by using a U-tube microbial fuel cell. *Applied of Environmental Microbiology*, 2008, 74(10): 3130-3137.
- [17] Liu M, Yuan Y, Zhang L X, Zhuang L, Zhou S G, Ni J R. Bioelectricity generation by a Gram-positive *Corynebacterium* sp. strain MFC03 under alkaline condition in microbial fuel cells. *Bioresource Technology*, 2010, 101: 1807-1811.
- [18] Borole A P, O'Neill H, Tsouris C, Cesar S. A microbial fuel cell operating at low pH using an acidophile, *Acidiphilium cryptum*. *Biotechnology Letters*, 2008, 30(8): 1367-1372.
- [19] Marshall C W, May H D. Electrochemical evidence of direct electrode reduction by a thermophilic Gram-positive bacterium, *Thermotoga ferriacetica*. *Energy & Environmental Science*, 2009, 2: 699-705.
- [20] Xu W, Hu P, Li J H, Li X M, Zhou S G. Mechanisms of microbial Fe( III) respiration: a review. *Chinese Journal of Ecology*, 2008, 27 (6): 1037-1042.
- [21] Wu C Y, Li F B, Zhou S G. Humus respiration and its ecological significance. *Acta Ecologica Sinica*, 2009, 29(3): 1535-1542.
- [22] Li X M, Zhou S G, Li F B, Wu C Y, Zhuang L, Xu W, Liu L. Fe( III) oxide reduction and carbon tetrachloride dechlorination by a newly isolated *Klebsiella pneumoniae* strain L17. *Journal of Applied Microbiology*, 2009, 106(1): 130-139.
- [23] Lovley D R, Coates J, Blunt-Harris E L, Phillips E J P, Woodward J C. Humic substance as electron acceptors for microbial respiration. *Nature*, 1996, 382(6590): 445-448.
- [24] Wrighton K C, Coates J D. Microbial fuel cells: plug-in and power-on microbiology. *Microbes*, 2009, 4(6): 281-287.
- [25] Galnick J A, Vali H, Lies D P, Newman D K. Extracellular respiration of dimethyl sulfoxide by *Shewanella oneidensis* strain MR-1. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2006, 103(12): 4669-4674.
- [26] Qiao Y, Li C M, Bao S J, Lu Z, Hong Y. Direct electrochemistry and electrocatalytic mechanism of evolved *Escherichia coli* cells in microbial fuel cells. *Chemical Communications*, 2008, 21(11): 1290-1292.
- [27] Wang J Y, Zhu S G, Xu C F. *Biochemistry*. Beijing: Higher Education Press, 2002: 121-124.
- [28] Kim B H. Microbial Fuel Cell. *KISToday*, 2009, 2 (1): 4-8.
- [29] DeBabov V G. Electricity from microorganisms. *Microbiology*, 2008, 77(2): 123-131.
- [30] Kim B H, Park H S, Kim H J, Kim G T, Chang I S, Lee J, Phung N T. Enrichment of microbial community generating electricity using a fuel-cell-type electrochemical cell. *Applied of Microbial Biotechnology*, 2004, 63(6): 672-681.
- [31] Woźnica A, Dzirba J, Mańka D, Łabuzek S. Effects of electron transport inhibitors on iron reduction in *Aeromonas hydrophila* strain KB1. *Anaerobe*, 2003, 9(3): 125-130.
- [32] Shi L, Thomas C S, Zachara J M, Fredrickson J K. Respiration of metal (hydr) oxides by *Shewanella* and *Geobacter*: a key role for multihaem *c*-type cytochromes. *Molecular Microbiology*, 2007, 65(1): 12-20.
- [33] Richter H, Nevin K P, Jia H F, Lowy D A, Lovley D R, Tender L M. Cyclic voltammetry of biofilms of wild type and mutant *Geobacter sulfurreducens* on fuel cell anodes indicates possible roles of OmcB, OmcZ, type IV pili, and protons in extracellular electron transfer. *Energy & Environmental Science*, 2009, 2(5): 506-516.
- [34] Hartshorne R S, Reardon C L, Ross D, Nuester J, Clarke T A, Gates A J, Mills P C, Fredrickson J K, Zachara J M, Shi L, Beliaev A S,

- Marshall M J, Tien M, Brantley S, Butt J N, Richardson D J. Characterization of an electron conduit between bacteria and the extracellular environment. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2009, 106(52): 22169–22174.
- [35] Mehta T, Coppi M V, Childers S E, Lovley D R. Outer membrane-type cytochromes required for Fe(III) and Mn(IV) oxide reduction in *Geobacter sulfurreducens*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(12): 8634–8641.
- [36] Kim B C, Postier B L, Didonato R J, Chaudhuri S K, Nevin K P, Lovley D R. Insights into genes involved in electricity generation in *Geobacter sulfurreducens* via whole genome microarray analysis of the OmcF-deficient mutant. *Bioelectrochemistry*, 2008, 73(1): 70–75.
- [37] Bretschger O, Obraztsova A, Sturm C A, Chang I S, Gorby Y A, Reed S B, Culley D E, Reardon C L, Barua S, Romine M F, Zhou J Z, Beliaev A S, Bouhenni R, Saffarini D, Mansfeld F, Kim B H, Fredrickson J K, Nealon K H. Current production and metal oxide reduction by *Shewanella oneidensis* MR-1 wild type and mutants. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(21): 7003–7012.
- [38] Núñez C, Esteve-Núñez A, Giometti C, Tollaksen S, Khare T, Lin W, Lovley D R, Methé B A. DNA microarray and proteomic analyses of the RpoS regulon in *Geobacter sulfurreducens*. *Journal of Bacteriology*, 2006, 188(8): 2792–2800.
- [39] Deng L F, Li F B, Zhou S G, Huang D Y, Ni J R. Study of electron shuttle electrogenesis mechanism in *Klebsiella pneumoniae* based-microbial fuel cells. *Chinese Science Bulletin*, 2009, 54(19): 2983–2987.
- [40] Lu N, Zhou S G, Ni J R. Mechanism of energy generation of microbial fuel cell. *Process in Chemistry*, 2008, 20(7/8): 1233–1240.
- [41] Rabaey K, Boon N, Höfte M, Verstraete W. Microbial Phenazine Production enhances electron transfer in biofuel cells. *Environmental Science & Technology*, 2005, 39(9): 3401–3408.
- [42] Marsili E, Baron D B, Shikhare I D, Coursolle D, Gralnick J A, Bond D R. *Shewanella* secretes flavins that mediate extracellular electron transfer. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2008, 105(10): 3968–3973.
- [43] Logan B E. Exoelectrogenic bacteria that power microbial fuel cells. *Nature Reviews Microbiology*, 2009, 7(5): 375–381.
- [44] Harris H W, El-Naggar M Y, Bretschger O, Ward M J, Romine M F, Obraztsova A Y, Nealon K H. Electrokinetics is a microbial behavior that requires extracellular electron transport. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2010, 107(1): 326–331.
- [45] Ehrlich H L. Are gram-positive bacteria capable of electron transfer across their cell wall without an externally available electron shuttle? *Geobiology*, 2008, 6(3): 220–224.
- [46] Stams A J M, de Bok F A M, Plugge C M, van Eekert M H A, Dolfig J, Schraa G. Exocellular electron transfer in anaerobic microbial communities. *Environmental Microbiology*, 2006, 8(3): 371–382.
- [47] Torres C I, Marcus A K, Lee H S, Parameswaran P, Krajmalnik-Brown R, Rittmann B E. A kinetic perspective on extracellular electron transfer by anode-respiring bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 2010, 34(1): 3–17.
- [48] Cao X X, Huang X, Liang P, Xiao K, Zhou Y J, Zhang X Y, Logan B E. A new method for water desalination using microbial desalination cells. *Environmental Science & Technology*, 2009, 43(18): 7148–7152.

#### 参考文献:

- [1] 周德庆. 微生物学教程. 北京: 高等教育出版社, 2002: 111–112.
- [7] 张锦涛, 倪晋仁, 周顺桂. 基于铁还原菌的微生物燃料电池研究进展. *应用与环境生物学报*, 2008, 14(2): 290–295.
- [20] 许伟, 胡佩, 李艳红, 李晓敏, 周顺桂. 微生物铁呼吸机制研究进展. *生态学杂志*, 2008, 27(6): 1037–1042.
- [21] 武春媛, 李芳柏, 周顺桂. 腐殖质呼吸作用及其生态学意义. *生态学报*, 2009, 29(3): 1535–1542.
- [27] 王镜岩, 朱圣庚, 徐长法. 生物化学. 北京: 高等教育出版社, 2002: 121–124.
- [39] 邓丽芳, 李芳柏, 周顺桂, 黄德银, 倪晋仁. 克雷伯氏菌燃料电池的电子穿梭机制研究. *科学通报*, 2009, 54(19): 2983–2987.
- [40] 卢娜, 周顺桂, 倪晋仁. 微生物燃料电池的产电机理. *化学进展*, 2008, 20(7/8): 1233–1240.