

## *Geobacter sulfurreducens* の電子授受

### Extracellular Electron Transfer in *Geobacter sulfurreducens*

井 上 謙 吾 \*

KENGO INOUE

宮崎大学農学部応用生物科学科 〒 889-2192 宮崎県宮崎市学園木花台西 1-1

\* TEL: 0985-58-7798 FAX: 0985-58-7798

\* E-mail: kinoue@cc.miyazaki-u.ac.jp

Department of Biochemistry and Applied Biosciences, Faculty of Agriculture, University of Miyazaki, 1-1,  
Gakuenkibanadai-nishi, Miyazaki, Miyazaki 889-2192, Japan

キーワード : 細胞外電子伝達, 微生物電気化学, 発電菌, 微生物燃料電池, 微生物電気合成  
Key words: Extracellular electron transfer, Microbial electrochemistry, Electricigens, Microbial fuel cells,  
Microbial electrosynthesis

(原稿受付 2018年4月17日 / 原稿受理 2018年4月24日)

#### 1. はじめに

微生物が持つ電流を生成する能力に基づく微生物燃料電池が開発され、実用化が進められようとしている。微生物燃料電池は、下水などの有機性廃棄物の処理と同時に発電ができ、さらに、余剰汚泥発生量を低減することができるため、次世代の水処理技術として応用が期待されている。微生物燃料電池は、鉄還元菌などの微生物が電極や不溶性の金属など、ある程度の大きさを持った導体に電子を伝える現象によって成り立つ。微生物から電極や金属への電子伝達という現象は学術的にも興味深く、精力的な研究がなされてきた。さらに、近年、電子の流れ、すなわち、電極から微生物への電子移動についての研究例も急増している。本稿では、細胞外電子伝達を行う細菌として最も代表的な *Geobacter sulfurreducens* の細胞外への電子伝達と電子受容について、最新の知見を概説する。

#### 2. 細胞外電子伝達

微生物燃料電池の電解液には、電子供与体としての有機化合物、電極へ電子を伝達する能力を持つ微生物、「発電菌」が含まれている。アノード電極が電子の行き先とならなければならないため、電解液は嫌氣的に保つ必要がある(酸素は電極よりも利用されやすい電子受容体となってしまうため)。様々な有機化合物を含む有機性廃棄物を微生物燃料電池に用いた場合、酸素の混入がない構造にすれば、好気性の常在菌によって速やかに酸素は消費され、嫌氣的な環境になる。一般的に、有機性廃棄物中に含まれる有機化合物は、嫌気条件下での微生物の作用により、酢酸などの有機酸へと変換される。アノー

ド(負極)電極表面では *Geobacter* 属細菌が優占的になる例が多く<sup>1)</sup>、中でも特に *G. sulfurreducens* あるいはその近縁種が見出されることが多い。*G. sulfurreducens* は酢酸を好んで電子供与体として利用し、電極を電子受容体としてエネルギーを得る。*Geobacter* 属細菌は不溶性の酸化鉄(III)( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ , hematite)を電子受容体として利用できる鉄還元菌として見出された<sup>2)</sup>。不溶性の鉄の還元と電極への電子伝達は共に細胞外電子伝達によって行われ、そのメカニズムについては分子生物学的、電気化学的な側面から詳細な研究がなされている。*Shewanella oneidensis* は *G. sulfurreducens* と同様に代表的な鉄還元細菌であるが、通性嫌気性細菌であることから培養が容易なため、実験材料として研究に用いやすく、鉄還元菌のモデル生物として細胞外電子伝達メカニズムについて最も研究が進んでいる微生物種である。細胞外への電子伝達には、両者共通して直接接触と電気伝導性ナノワイヤーを利用することが知られているが、*S. oneidensis* は、さらに酸化還元活性のある物質(フラビン、リボフラビン、フェナジンなど)を分泌し、電子シャトルとして利用することができる(図1)<sup>3,4)</sup>。

当該分野において、「細胞外電子伝達」といえば、微生物が電極や金属へ電子を伝達すること、つまり微生物側から細胞外の物質への電子移動を示す印象が強い。しかし、近年において、微生物が電極や異種微生物から電子を受容する現象についての研究が盛んに行なわれるようになってきた。微生物燃料電池では、微生物が電子を電極に伝えることで電流が生成するが、電極が十分に低い電位であれば電子移動は電極から微生物側へ起こり、微生物は電極を電子供与体とした代謝を行うことがある。*G. sulfurreducens* も電極(-500 mV [vs Ag/AgCl 電極]に印加)を電子供与体として利用できる微生物の一例で

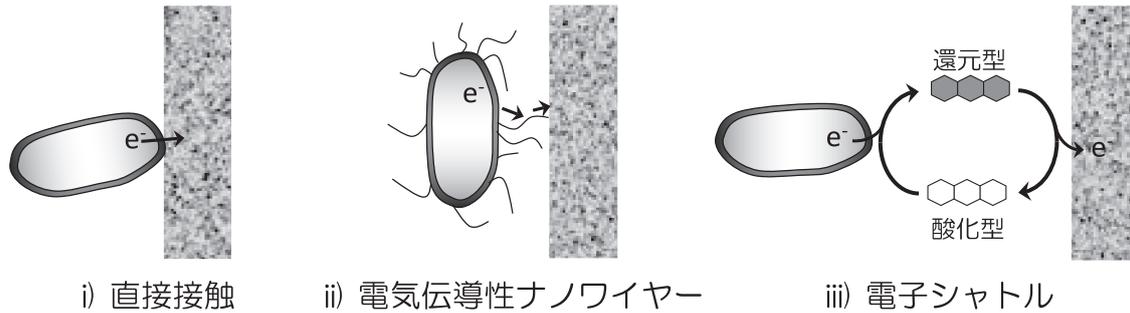
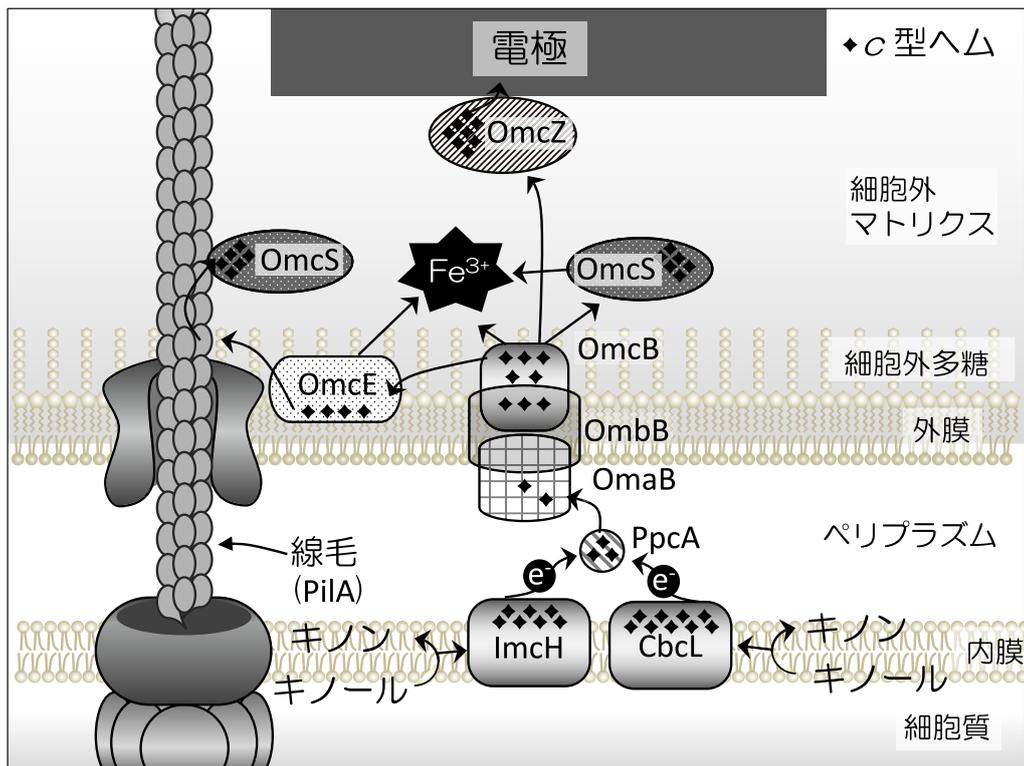


図1. 電極への電子伝達様式

図2. *Geobacter sulfurreducens* における細胞外電子伝達モデル。補因子 *c* 型ヘムは◆で示した。

あり、電極を電子供与体、硝酸やフマル酸を受容体とした代謝を行うことができる<sup>5)</sup>。以下、細胞外への電子伝達について細胞内から細胞外への電子伝達と電子受容について解説する。

### 3. 細胞外への電子伝達

*G. sulfurreducens* は複合微生物系の微生物燃料電池で頻繁に見出されるだけでなく、純粋培養系の微生物燃料電池でも高い電流生成能力を示すことが知られている。電気化学的システムを用いた検証では、体積あたりで  $2.15 \text{ kW/m}^3$ 、電極面積あたりでは  $3.9 \text{ W/m}^2$  の高い出力の記録を保持している<sup>6,7)</sup>。*G. sulfurreducens* は効率よく電極へ電子を伝達する仕組みを持っており、直接的に関わる因子について明らかになっている部分もあるが(図2)、現在のところ、その全容解明には至っていない。細胞外への電子伝達に必須な最小限の遺伝子セットが明らかになっておらず、また、電子伝達タンパク質間

の相互作用や直接的な電子授受を実験的に示した例もほぼ皆無である(図2に示したモデル図中矢印で示した電子の流れは予想の域を越えるものではない)。これまでに報告されている *G. sulfurreducens* において細胞外への電子伝達に関連のある遺伝子として報告されているものを表1に示した。

細胞内から細胞外にある電極へ電子を伝えるためには、まず非常に電気伝導度の低い物性を持つ細胞膜を電子が通過する必要がある。*G. sulfurreducens* では細胞内から、内膜、ペリプラズム、外膜、細胞外といった所に *c* 型シトクロムが局在しており、それらが細胞膜を隔てた電子の行き来を可能にしていると考えられている。細胞内膜付近で、NADH は NADH デヒドロゲナーゼによりキノンへ電子が伝達されることでキノールが生産される。キノールから内膜に局在する電子伝達タンパク質を経てペリプラズム内の *c* 型シトクロム PpcA などへ電子が伝えられる。ここで、細胞内膜に局在する *c* 型シトクロムとして *imcH* と *cbcL* が知られており、それぞれ

表 1. *Geobacter sulfurreducens* の細胞外電子伝達に関する遺伝子

Locus tag no. <sup>a</sup>	遺伝子名	(予測) 機能	引用文献
GSU0274	<i>cbcL</i>	Inner membrane <i>c</i> -type cytochrome essential for low redox potential electron acceptor	8)
GSU0298	<i>frgM</i>	Regulator of flagellar synthesis	9)
GSU0364	<i>ppcB</i>	Periplasmic <i>c</i> -type cytochrome	10)
GSU0365	<i>ppcC</i>	Periplasmic <i>c</i> -type cytochrome	11)
GSU0466	<i>macA</i>	Inner membrane <i>c</i> -type cytochrome involved in Fe(III) reduction	12)
GSU0509	<i>sfrA</i>	NADPH-dependent reduction of chelated Fe(III)	13)
GSU0510	<i>sfrB</i>	NADPH-dependent reduction of chelated Fe(III)	13)
GSU0582	—	Methyl-accepting chemotaxis heme sensor	14)
GSU0592	<i>cbcC</i>	Lipoprotein cytochrome <i>c</i>	15)
GSU0612	<i>ppcA</i>	Periplasmic <i>c</i> -type cytochrome	16)
GSU0618	<i>omcE</i>	Outer membrane <i>c</i> -type cytochrome involved in Fe(III) reduction	17)
GSU0670	<i>omcX</i>	Outer membrane <i>c</i> -type cytochrome involved in current production	18)
GSU0935	—	Methyl-accepting chemotaxis heme sensor	14)
GSU1024	<i>ppcD</i>	Periplasmic <i>c</i> -type cytochrome	11)
GSU1228	<i>omcI</i>	Lipoprotein cytochrome <i>c</i>	15)
GSU1240	<i>pilZ</i>	Protein with a PilZ domain protein	19)
GSU1394	<i>ompB</i>	Multicopper protein required for Fe(III) reduction	20)
GSU1492	<i>pilT4</i>	Twitching motility pilus retraction protein	21)
GSU1495	<i>pilR</i>	Sigma-54-dependent transcriptional response regulator	22)
GSU1496	<i>pilA</i>	Pilin protein for electrically conductive nanowire	23)
GSU1501	<i>xapD</i>	ATP-dependent transporter	24)
GSU1650	<i>cbcV</i>	Cytochrome <i>b/b6</i> complex, iron-sulfur cluster-binding subunit	15)
GSU1760	<i>ppcE</i>	Periplasmic <i>c</i> -type cytochrome	11)
GSU1761	<i>pgcA</i>	Periplasmic <i>c</i> -type cytochrome enhancing Fe(III) reduction	25)
GSU1776	<i>oxpG</i>	Pilin protein for type II secretion system	26)
GSU1996	—	Cytochrome <i>c</i>	27)
GSU2075	<i>omcZ</i>	Outer membrane <i>c</i> -type cytochrome essential for optimal current production	28)
GSU2294	<i>omcM</i>	Cytochrome <i>c</i>	15)
GSU2432	<i>omcF</i>	Outer membrane <i>c</i> -type cytochrome involved in cytochrome expression	29)
GSU2503	<i>omcT</i>	Outer membrane <i>c</i> -type cytochrome for electron transport to Fe(III)	17)
GSU2504	<i>omcS</i>	Outer membrane <i>c</i> -type cytochrome for electron transport to Fe(III)	17)
GSU2642	<i>omcW</i>	Lipoprotein cytochrome <i>c</i>	30)
GSU2657	<i>ompC</i>	Multicopper oxidase, manganese oxidase family	31)
GSU2724	<i>omcV</i>	Porin-like outer membrane protein	15)
GSU2731	<i>omcC</i>	Outer membrane <i>c</i> -type cytochrome for electron transport to Fe(III)	32)
GSU2732	<i>omcC</i>	Cytochrome <i>c</i>	15)
GSU2733	<i>ombC</i>	Hypothetical protein	15)
GSU2737	<i>omcB</i>	Outer membrane <i>c</i> -type cytochrome essential for electron transport to Fe(III)	33)
GSU2738	<i>omcB</i>	Cytochrome <i>c</i>	15)
GSU2739	<i>ombB</i>	Hypothetical protein	15)
GSU2882	<i>omcG</i>	Outer membrane <i>c</i> -type cytochrome involved in Fe(III) reduction	34)
GSU2883	<i>omcH</i>	Outer membrane <i>c</i> -type cytochrome involved in Fe(III) reduction	34)
GSU2884	<i>omcA</i>	Outer membrane <i>c</i> -type cytochrome involved in Fe(III) reduction	34)
GSU3259	<i>imcH</i>	Inner membrane <i>c</i> -type cytochrome essential for high redox potential electron acceptor	35)
GSU3274	<i>pccH</i>	Involved in the pathway of current-consumption	36)
GSU3304	<i>ompJ</i>	Putative porin involved in Fe(III) reduction	37)

<sup>a</sup> 標準株 *Geobacter sulfurreducens* PCA 株のゲノム (Accession no. NC\_002939) 中のもの

酸化還元電位が  $-0.1$  V (vs 標準水素電極) 以上,  $-0.1$  V (vs 標準水素電極) 以下に印加された電極に電子を伝達するために必要とされる<sup>8,35)</sup>。なお, かつては細胞内膜シトクロムとして重要と考えられていた MacA<sup>12)</sup> は間接的に細胞外電子伝達に関わることが示唆されている (macA 遺伝子破壊株では, 酸化鉄 (III) の還元には必須な OmcB の発現が抑制されていた)<sup>38)</sup>。ペリプラズムに局在するシトクロムとして, PpcA は古くから研究され, その詳細な生化学的な特徴づけが行われている。PpcA には 5 つのホモログ (PpcB, PpcC, PpcD, PpcE, GSU1996) が存在し, それらのうち GSU1996 を除く 5 つの遺伝子 (それぞれ 1 つずつではなく 5 つ全て) が破壊された変異株は酸化鉄 (III) の還元能力を失っていた<sup>30)</sup>。その 5 重破壊株に ppcA を発現させると細胞外電子伝達能力が回復したため, ペリプラズムに局在するシトクロムとして PpcA のみであっても電子伝達経路が確保されることが明らかになった。細胞外膜においては, 酸化鉄 (III) の還元には細胞外シトクロム OmcB, OmcE, OmcS が必要であることが示されている<sup>17,33)</sup>。omcB 遺伝子の直上流には, omaB, ombB と命名された, それぞれ c 型シトクロム, ポリン様膜タンパク質が存在し, それらと複合体を形成して細胞外膜に局在することが示唆されている<sup>39)</sup>。細胞外膜周辺に局在する c 型シトクロムのうち, OmcB, OmcC (OmcB ホモログ), OmcE, OmcS, OmcT (OmcS ホモログ), OmcV (OmbB ホモログ), OmcW (OmbB ホモログ) を全て破壊した 7 重破壊株では, 当然酸化鉄 (III) への電子伝達ができなかったが, この 7 重破壊株に omcB を発現させるだけでその酸化鉄 (III) への電子伝達能力は回復した<sup>30)</sup>。このことから, 細胞外電子伝達のうち, 酸化鉄 (III) への電子伝達には OmcB のみで行えることが示された。細胞外遺伝子受容体として電極を用いた場合には, 異なる細胞外シトクロムが必要であり, 特に OmcS と OmcZ が重要であることが示されている。omcZ は *G. sulfurreducens* がもつ c 型シトクロムのうち破壊すると微生物燃料電池での発電能力をほとんど失う唯一の遺伝子である<sup>28)</sup>。OmcZ は電極表面に高密度で局在するため, 細胞外へ分泌され, 電極へ直接電子を伝達する c 型シトクロムと考えられる<sup>40)</sup>。一方, omcS は遺伝子が破壊されても発電能力に大きな影響は無いものの, *G. sulfurreducens* が生産する電気伝導性ナノワイヤーに沿って局在する。異種微生物間の電子伝達には非常に重要であることが示されている<sup>41-43)</sup>。*G. sulfurreducens* の電気伝導性ナノワイヤーは, PilA を構成単位とする IV 型線毛であり, その一部の立体構造が明らかにされている<sup>23,44)</sup>。既知の類似の線毛の立体構造などに基づいて予測されたナノワイヤーの超構造のモデルでは, 芳香族アミノ酸由来のベンゼン環がスタッキング相互作用によって次々に重なり合うように位置しており, 電気伝導性を生むとされる<sup>45,46)</sup>。なお, c 型シトクロムを除去してもナノワイヤーの伝導性に影響がないことが示されており, PilA から構成される線毛のみで電気伝導性を有すると考えられている。他にも発電に関与する遺伝子として, xapD と命名された ATP 依存型トランスポーター遺伝子が報告されており, その遺伝子破壊株は電極表面に正常なバイオフィームを形成できず, 発電能力が著しく低下す

る<sup>24,47)</sup>。xapD は, ABC トランスポーターを構成する遺伝子クラスターに含まれる遺伝子の一つであり, クラスター全体で細胞外多糖の生成に関連することが示されている。発電に必要な OmcZ は細胞外多糖に “Anchoring” されており, 細胞外多糖が正常に生産されなければ, OmcZ も正常な局在性を実現できないため, 発電能力が低下すると考えられている。

#### 4. 電子の受け取り

*G. sulfurreducens* の電子受容に関しては, まだ知見は非常に限られているが, 電子の細胞外への伝達とは異なる遺伝子が関与することが知られている。電子供与体を電極 ( $-500$  mV [vs Ag/AgCl 電極]), 電子受容体をフマル酸とする条件でのトランスクリプトーム解析 (電流を生成する条件 [電子供与体を酢酸, 電子受容体を電極とする] をコントロールとした) が行われ, 上記 omcB, omcC, omcE, omcS, omcT, omcZ, pilA 遺伝子はいずれにおいても特段高い発現を示さなかった<sup>36)</sup>。その一方で, pccH と命名された c 型シトクロム遺伝子は, 高い発現を示し, その破壊株は電極からの電子受容を行うことができなかったことから, pccH は *G. sulfurreducens* の電子受容に必須な遺伝子と考えられた。PccH は,  $-24$  mV (vs 標準水素電極) の比較的低い酸化還元電位を持ち, X 線結晶構造解析により構造決定がなされている<sup>48)</sup>。*G. sulfurreducens* の電子受容については, 今後, より多くの知見が蓄積することを期待したい。

#### 5. おわりに

*G. sulfurreducens* は, 電極への電子伝達のみならず, 電極からの電子受容に関する研究のモデル微生物としても研究が進められている。電子授受を行う対象が異種微生物にまで及ぶ (Direct interspecies electron transfer: DIET と称される)<sup>42)</sup> という発見は微生物生態学的にも重要であり, 最近では, 様々な微生物種の間での電子授受が行なわれることが見出されている。*G. sulfurreducens* は *Shewanella oneidensis* と共に代表的な細胞外電子伝達のモデル微生物として, 精力的な研究が進められてきたが, 効率的な細胞外電子伝達に必要な遺伝子として明らかになっているものは意外に少ない。今後のさらなる研究により, 全ての役者が明らかになり, さらに高効率な電極との電子授受や異種微生物への細胞外電子伝達能力の付与などへの応用が可能になることを期待したい。

#### 文 献

- 1) Lovley, D.R., T. Ueki, T. Zhang, N.S. Malvankar, P.M. Shrestha, K.A. Flanagan, M. Aklujkar, J.E. Butler, L. Giloteaux, A.-E. Rotaru, D.E. Holmes, A.E. Franks, R. Orellana, C. Risso, and K.P. Nevin. 2013. Geobacter: The microbe electric's physiology, ecology, and practical applications. *Adv. Microb. Phys.* 59: 1–100.
- 2) Lovley, D.R., J.F. Stolz, G.L. Nord, Jr., and E.J.P. Phillips. 1987. Anaerobic production of magnetite by a dissimilatory iron-reducing microorganism. *Nature*. 330: 252–254.
- 3) Lovley, D.R. 2012. Electromicrobiology. *Ann. Rev. Microbiol.* 66: 391–409.

- 4) Watanabe, K., M. Manefield, M. Lee, and A. Kouzuma. 2009. Electron shuttles in biotechnology. *Curr. Opin. Biotechnol.* 20: 633–641.
- 5) Gregory, K.B., D.R. Bond, and D.R. Lovley. 2004. Graphite electrodes as electron donors for anaerobic respiration. *Environ. Microbiol.* 6: 596–604.
- 6) Nevin, K.P., H. Richter, S.F. Covalla, J.P. Johnson, T.L. Woodard, A.L. Orloff, H. Jia, M. Zhang, and D.R. Lovley. 2008. Power output and coulombic efficiencies from biofilms of *Geobacter sulfurreducens* comparable to mixed community microbial fuel cells. *Environ. Microbiol.* 10: 2505–2514.
- 7) Yi, H., K.P. Nevin, B.C. Kim, A.E. Franks, A. Klimes, L.M. Tender, and D.R. Lovley. 2009. Selection of a variant of *Geobacter sulfurreducens* with enhanced capacity for current production in microbial fuel cells. *Biosens. Bioelectron.* 24: 3498–3503.
- 8) Zacharoff, L., C.H. Chan, and D.R. Bond. 2016. Reduction of low potential electron acceptors requires the CbcL inner membrane cytochrome of *Geobacter sulfurreducens*. *Bioelectrochemistry.* 107: 7–13.
- 9) Ueki, T., C. Leang, K. Inoue, and D.R. Lovley. 2012. Identification of multicomponent histidine-aspartate phosphorelay system controlling flagellar and motility gene expression in *Geobacter* species. *J. Biol. Chem.* 287: 10958–10966.
- 10) Morgado, L., M. Bruix, V. Orshonsky, Y.Y. Londer, N.E.C. Duke, X. Yang, P.R. Pokkuluri, M. Schiffer, and C.A. Salgueiro. 2008. Structural insights into the modulation of the redox properties of two *Geobacter sulfurreducens* homologous triheme cytochromes. *Biochim. Biophys. Acta.* 1777: 1157–1165.
- 11) Pokkuluri, P.R., Y.Y. Londer, X. Yang, N.E. Duke, J. Erickson, V. Orshonsky, G. Johnson, and M. Schiffer. 2010. Structural characterization of a family of cytochromes c(7) involved in Fe(III) respiration by *Geobacter sulfurreducens*. *Biochim. Biophys. Acta.* 1797: 222–232.
- 12) Butler, J.E., F. Kaufmann, M.V. Coppi, C. Núñez, and D.R. Lovley. 2004. MacA, a diheme c-type cytochrome involved in Fe(III) reduction by *Geobacter sulfurreducens*. *J. Bacteriol.* 186: 4042–4045.
- 13) Coppi, M.V., R.A. O’Neil, C. Leang, F. Kaufmann, B.A. Methé, K.P. Nevin, T.L. Woodard, A. Liu, and D.R. Lovley. 2007. Involvement of *Geobacter sulfurreducens* SfrAB in acetate metabolism rather than intracellular, respiration-linked Fe(III) citrate reduction. *Microbiology.* 153: 3572–3585.
- 14) Silva, M.A., R.C. Valente, P.R. Pokkuluri, D.L. Turner, C.A. Salgueiro, and T. Catarino. 2014. Thermodynamic and kinetic characterization of two methyl-accepting chemotaxis heme sensors from *Geobacter sulfurreducens* reveals the structural origin of their functional difference. *Biochim. Biophys. Acta.* 1837: 920–928.
- 15) Aklujkar, M., M.V. Coppi, C. Leang, B.C. Kim, M.A. Chavan, L.A. Perpetua, L. Giloteaux, A. Liu, and D.E. Holmes. 2013. Proteins involved in electron transfer to Fe(III) and Mn(IV) oxides by *Geobacter sulfurreducens* and *Geobacter uraniireducens*. *Microbiology.* 159: 515–535.
- 16) Lloyd, J.R., C. Leang, A.L.H. Myerson, M.V. Coppi, S. Cui, B. Methe, S.J. Sandler, and D.R. Lovley. 2003. Biochemical and genetic characterization of PpcA, a periplasmic c-type cytochrome in *Geobacter sulfurreducens*. *Biochem. J.* 369: 153–161.
- 17) Mehta, T., M.V. Coppi, S.E. Childers, and D.R. Lovley. 2005. Outer Membrane c-type cytochromes required for Fe(III) and Mn(IV) oxide reduction in *Geobacter sulfurreducens*. *Appl. Environ. Microbiol.* 71: 8634–8641.
- 18) Ishii, S., S. Suzuki, T.M. Norden-Krichmar, A. Tenney, P.S. Chain, M.B. Scholz, K.H. Nealson, and O. Bretschger. 2013. A novel metatranscriptomic approach to identify gene expression dynamics during extracellular electron transfer. *Nat. Commun.* 4: 1601.
- 19) Leang, C., N.S. Malvankar, A.E. Franks, K.P. Nevin, and D.R. Lovley. 2013. Engineering *Geobacter sulfurreducens* to produce a highly cohesive conductive matrix with enhanced capacity for current production. *Energy Environ. Sci.* 6: 1901–1908.
- 20) Qian, X., G. Reguera, T. Mester, and D.R. Lovley. 2007. Evidence that OmcB and OmpB of *Geobacter sulfurreducens* are outer membrane surface proteins. *FEMS Microbiol. Lett.* 277: 21–27.
- 21) Speers, A.M., B.D. Schindler, J. Hwang, A. Genc, and G. Reguera. 2016. Genetic identification of a PilT motor in *Geobacter sulfurreducens* reveals a role for pilus retraction in extracellular electron transfer. *Front. Microbiol.* 7: 1578.
- 22) Juarez, K., B.C. Kim, K. Nevin, L. Olvera, G. Reguera, D.R. Lovley, and B.A. Methé. 2009. PilR, a transcriptional regulator for pilin and other genes required for Fe(III) reduction in *Geobacter sulfurreducens*. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 16: 146–158.
- 23) Reguera, G., K.D. McCarthy, T. Mehta, J.S. Nicoll, M.T. Tuominen, and D.R. Lovley. 2005. Extracellular electron transfer via microbial nanowires. *Nature.* 435: 1098–1101.
- 24) Rollefson, J.B., C.E. Levar, and D.R. Bond. 2009. Identification of genes involved in biofilm formation and respiration via miniHimar transposon mutagenesis of *Geobacter sulfurreducens*. *J. Bacteriol.* 191: 4207–4217.
- 25) Tremblay, P.L., Z.M. Summers, R.H. Glaven, K.P. Nevin, K. Zengler, C.L. Barrett, Y. Qiu, B.O. Palsson, and D.R. Lovley. 2011. A c-type cytochrome and a transcriptional regulator responsible for enhanced extracellular electron transfer in *Geobacter sulfurreducens* revealed by adaptive evolution. *Environ. Microbiol.* 13: 13–23.
- 26) Mehta, T., S.E. Childers, R. Glaven, D.R. Lovley, and T. Mester. 2006. A putative multicopper protein secreted by an atypical type II secretion system involved in the reduction of insoluble electron acceptors in *Geobacter sulfurreducens*. *Microbiology.* 152: 2257–2264.
- 27) Alves, M.N., A.P. Fernandes, C.A. Salgueiro, and C.M. Paquete. 2016. Unraveling the electron transfer processes of a nanowire protein from *Geobacter sulfurreducens*. *Biochim. Biophys. Acta.* 1857: 7–13.
- 28) Nevin, K.P., B.C. Kim, R.H. Glaven, J.P. Johnson, T.L. Woodard, B.A. Methé, R.J. DiDonato Jr., S.F. Covalla, A.E. Franks, A. Liu, and D.R. Lovley. 2009. Anode biofilm transcriptomics reveals outer surface components essential for high density current production in *Geobacter sulfurreducens* fuel cells. *PLoS One.* 4: e5628.
- 29) Kim, B.-C., C. Leang, Y.-H. Ding, R.H. Glaven, M.V. Coppi, and D.R. Lovley. 2005. OmcF, a putative c-type monoheme outer membrane cytochrome required for the expression of other outer membrane cytochromes in *Geobacter sulfurreducens*. *J. Bacteriol.* 187: 4505–4513.
- 30) Ueki, T., L.N. DiDonato, and D.R. Lovley. 2017. Toward establishing minimum requirements for extracellular electron transfer in *Geobacter sulfurreducens*. *FEMS Microbiol. Lett.* 364: fnx093.
- 31) Holmes, D.E., T. Mester, R.A. O’Neil, L.A. Perpetua, M.J. Larrahondo, R. Glaven, M.L. Sharma, J.E. Ward, K.P. Nevin, and D.R. Lovley. 2008. Genes for two multicopper proteins required for Fe(III) oxide reduction in *Geobacter sulfurreducens* have different expression patterns both in the subsurface and on energy-harvesting electrodes. *Microbiology.* 154: 1422–1435.
- 32) Leang, C. and D.R. Lovley. 2005. Regulation of two highly similar genes, *omcB* and *omcC*, in a 10 kb chromosomal duplication in *Geobacter sulfurreducens*. *Microbiology.* 151: 1761–1767.
- 33) Leang, C., M.V. Coppi, and D.R. Lovley. 2003. OmcB, a c-type polyheme cytochrome, involved in Fe(III) reduction in *Geobacter sulfurreducens*. *J. Bacteriol.* 185: 2096–2103.

- 34) Kim, B.C., X. Qian, C. Leang, M.V. Coppi, and D.R. Lovley. 2006. Two putative *c*-type multiheme cytochromes required for the expression of OmcB, an outer membrane protein essential for optimal Fe(III) reduction in *Geobacter sulfurreducens*. *J. Bacteriol.* 188: 3138–3142.
- 35) Levar, C.E., C.H. Chan, M.G. Mehta-Kolte, and D.R. Bond. 2014. An inner membrane cytochrome required only for reduction of high redox potential extracellular electron acceptors. *mBio.* 5: e02034-14.
- 36) Strycharz, S.M., R.H. Glaven, M.V. Coppi, S.M. Gannon, L.A. Perpetua, A. Liu, K.P. Nevin, and D.R. Lovley. 2011. Gene expression and deletion analysis of mechanisms for electron transfer from electrodes to *Geobacter sulfurreducens*. *Bioelectrochemistry.* 80: 142–150.
- 37) Afkar, E., G. Reguera, M. Schiffer, and D.R. Lovley. 2005. A novel *Geobacteraceae*-specific outer membrane protein J (OmpJ) is essential for electron transport to Fe(III) and Mn(IV) oxides in *Geobacter sulfurreducens*. *BMC Microbiol.* 5: 41.
- 38) Kim, B.-C. and D.R. Lovley. 2008. Investigation of direct vs. indirect involvement of the *c*-type cytochrome MacA in Fe(III) reduction by *Geobacter sulfurreducens*. *FEMS Microbiol. Lett.* 286: 39–44.
- 39) Liu, Y., J.K. Fredrickson, J.M. Zachara, and L. Shi. 2015. Direct involvement of *ombB*, *omaB*, and *omcB* genes in extracellular reduction of Fe(III) by *Geobacter sulfurreducens* PCA. *Front. Microbiol.* 6: 1075.
- 40) Inoue, K., C. Leang, A.E. Franks, T.L. Woodard, K.P. Nevin, and D.R. Lovley. 2011. Specific localization of the *c*-type cytochrome OmcZ at the anode surface in current-producing biofilms of *Geobacter sulfurreducens*. *Environ. Microbiol. Rep.* 3: 211–217.
- 41) Leang, C., X. Qian, T. Mester, and D.R. Lovley. 2010. Alignment of the *c*-type cytochrome OmcS along pili of *Geobacter sulfurreducens*. *Appl. Environ. Microbiol.* 76: 4080–4084.
- 42) Summers, Z.M., H.E. Fogarty, C. Leang, A.E. Franks, N.S. Malvankar, and D.R. Lovley. 2010. Direct exchange of electrons within aggregates of an evolved syntrophic coculture of anaerobic bacteria. *Science.* 330: 1413–1415.
- 43) Shrestha, P.M., A. Rotaru, Z.M. Summers, M. Shrestha, F. Liu, and D.R. Lovley. 2013. Transcriptomic and genetic analysis of direct interspecies electron transfer. *Appl. Environ. Microbiol.* 79: 2397–2404.
- 44) Reardon, P.N. and K.R. Mueller. 2013. Structure of the type IVa major pilin from the electrically conductive bacterial nanowires of *Geobacter sulfurreducens*. *J. Biol. Chem.* 288: 29260–29266.
- 45) Vargas, M., N.S. Malvankar, P. Tremblay, C. Leang, J.A. Smith, P. Patel, O. Synoeybos-West, K.P. Nevin, and D.R. Lovley. 2013. *mBio.* 4: e00105-13.
- 46) Xiao, K., N.S. Malvankar, C. Shu, E. Martz, D.R. Lovley, and X. Sun. 2015. Low energy atomic models suggesting a pilus structure that could account for electrical conductivity of *Geobacter sulfurreducens* pili. *Sci. Rep.* 6: 1–9.
- 47) Rollefson, J.B., C.S. Stephen, M. Tien, and D.R. Bond. 2011. Identification of an extracellular polysaccharide network essential for cytochrome anchoring and biofilm formation in *Geobacter sulfurreducens*. *J. Bacteriol.* 193: 1023–1033.
- 48) Dantas, J.M., L.M. Campelo, N.E.C. Duke, C.A. Salgueiro, and P.R. Pokkuluri. 2015. The structure of PccH from *Geobacter sulfurreducens*—a novel low reduction potential monoheme cytochrome essential for accepting electrons from an electrode. *FEBS J.* 282: 2215–2231.