深海耐压性細菌の圧力応答

Response of Barotolerant Deep-Sea Bacteria to High Pressure

上村 一雄

Kazuo Kamimura

Although the deep-sea environment with high pressure and low temperature is rigorous for microorganisms in costal water, many barotolerant and barophilic bacteria are found to be inhabiting there. It is very important for the barophilic or barotolerant bacteria to maintain the physiological functions of cell membrane, because many vital functions are involved in the membrane. The fluidity of membrane composed by phospholipids and proteins is essential for the physiological functions. As high hydrostatic pressure raises the melting point of lipids and causes the phase transition of lipid within 100 MPa, barotolerant bacteria under high hydrostatic pressure appear to regulate the fluidity of membrane phospholipids. Therefore, the characterization of membrane at high pressure is indispensable to clarify the biochemical adaptation of bacteria to the environment. This report dealt with effects of pressure and temperature on the lipid composition of barotolerant deep-sea bacteria. The bacteria maintained the membrane fluidity by increasing unique fatty acids under high hydrostatic pressure.

1. はじめに

海洋では10 m低下するごとに圧力が約0.1 MPaずつ増し、海洋表面積の60%を占める平均水深3800 mの深海では約38 MPaもの圧力になる。近年、熱水噴出孔を中心とした特異な生物群衆が発見され、生命の誕生の場としての議論も含めて注目されているが、一般に深海環境は、高圧・低温・暗黒の世界であり、生物にとっては極めて過酷な環境であるといえる[1]。しかしながら、海洋中で最も高圧である約110 MPaの環境にも生物の生息が認められている。通常の淡水や浅海の細菌は、20～60 MPa以上になると増殖できないが[2, 3]、それ以上の圧力の深海環境にも多くの耐压性や好圧性の微生物が存在することが知られている[4-7]。このような圧力環境と生命現象とに関する研究は、古くは19世紀の終わり頃にさかのぼることができ、これまでに生理・生態学的な研究が数多くなされている[8-10]。しかしながら、微生物が高圧環境に適応して生息できる仕組みを、深海微生物を用いて分子生物学的に検討した報告はわずかであった。近年、遺伝子工学の進展にともない、深海微生物についても遺伝子工学の手法が適用され、高圧環境下における生化学現象が遺伝子レベルで議論されつつある。

生化学反応への圧力の影響に関するこれまでの研究から、生体構成成分である生体膜、タンパク質、核酸への圧力効果に大きな差があることが明らかにされて

いる。核酸は1000 MPaまでの圧力でも変性を受けないのに対して、タンパク質は300 MPa以上の圧力で変性し、生体膜は100 MPaまでの圧力によって液晶状態からゲル状態に変化する[11]。したがって、地球上の生物が遭遇する圧力環境の中では生体膜が最も圧力の影響を受けやすいため、深海微生物が高圧下で増殖するためには、細胞膜の機能を高圧下でどのように維持するかが最も重要となる。本論文では、深海の耐压性細菌の圧力応答を細胞膜との関連で論じるとともに、深海細菌の高圧環境への適応機構に関する最近の研究を紹介する。

2. 生体膜への圧力の効果

細菌の細胞膜は、リン脂質の二重層を基本構造として、その中に様々な内在性タンパク質が主に疎水的な相互作用で組み込まれている[12]。この膜には、エネルギー生産系、エネルギー変換系、物質輸送系、タンパク質合成系、リン脂質合成系、核酸合成系などの生命現象に必須な機能がその構造と密接に関連しつつ存在しており、それらの機能の発現には、細胞膜の流動性が必須である。脂肪酸を側鎖に持つリン脂質は、二重膜構造中でゲル状態と液晶状態との間で相転移を起こす。Table 1には、リン脂質の相転移温度に及ぼす圧力の効果を示したが、脂質の種類に依存せずほぼ100 MPaにつき T_m が20℃程度上昇し、圧力上昇が

Table 1. Effect of pressure on the melting temperature T_m of phospholipids [26].

Phospholipid	T_m (°C)	dT_m/dP (K/100MPa)
Dilauroyl phosphatidylcholine	0.5	17
Dimyristoyl phosphatidylcholine	24	20.5
Dipalmitoyl phosphatidylcholine	41.5	21.8
Dilauroyl phosphatidyletanolamine	31	21.5
Dilauroyl phosphatidic acid	28	20
Dimyristoyl phosphatidyl glycerol	23	21
Dipalmitoyl phosphatidyl glycerol	43	22

温度低下と同じ様な効果を脂質分子にもたらすことを示している。したがって、一般に高圧・低温環境である深海は、生物にとっては極めて過酷な環境であり、Morita は、100 MPa、2.5°C の環境は、温度にすると -28.8°C に相当するとしている [13]。このような温度環境では、大部分の陸上の生物は凍結状態におかれることになるが、極限とも言える深海環境中でも細菌は増殖できる能力を備えている。

ところで、我々は、陸上の生物が温度変化に適応する機構を、Homeoviscous adaptation と呼ばれる現象として知っている。この現象は、大腸菌で最初に報告され、低温環境にさらされると細胞膜脂質の脂肪酸側鎖に融点の低いものを増加させて、細胞膜の流動性を維持している [14]。Table 2 には、代表的な脂肪酸の融点を生化学データブックより引用した [15]。大腸菌は、低温下で cisC18:1 の脂肪酸を増加させる。一方、好熱性細菌 *Thermus thermophilus* では、isoC17:0 の脂肪酸に変わって isoC15:0 の脂肪酸を増加させている [16]。さらに、C16:1 の脂肪酸のシストランス変異によって低温環境に適応する例が好冷性の海洋細菌では報告されている [16]。

Table 2. Melting temperature (T_m) of fatty acids [15].

Fatty acid	T_m (°C)
tridecylic acid (C13:0)	41.5
myristic acid (C14:0)	53.9
pentadecylic acid (C15:0)	52.3
palmitic acid (C16:0)	63.1
margaric acid (C17:0)	61.3
stearic acid (C18:0)	69.6
myristoleic acid (C14:1)	-4.0
palmitoleic acid (C16:1)	-0.5 ~ +0.5
cis - vaccenic acid (cisC18:1)	14.5 ~ 15.5
vaccenic acid (transC18:1)	44
isoundecylic acid (isoC13:0)	39.4 ~ 40.0
isopentadecylic acid (isoC15:0)	52.5
15 - methylhexadecanoic acid (isoC17:0)	60.5
14 - methylhexadecanoic acid (anteisoC17:0)	38.0

圧力の上昇は、温度の低下と同じ様な効果を生体膜に引き起こすと考えられるため、深海細菌は細胞膜の流動性をなんらかの手段で維持しなければならないが、深海は低温に加えて高圧という因子が加わるきわめて過酷な環境である。したがって、単なる低温環境に細菌が適応する場合とは異なる手段で細胞膜の流動性を維持していることも考えられる。

3. 脂肪酸組成への圧力の効果

Delong らは、深海から分離した好圧性細菌の細胞膜の脂肪酸組成と圧力の関係を検討し、圧力の上昇にともなって C16:1 と C18:1 の脂肪酸が増加することによって、細胞膜の不飽和脂肪酸の割合が増加していることを報告した [18]。さらに、深海の好圧性細菌の中には、C20:5(EPA)や C22:6(DHA) という高等生物で重要な役割を演じる多価不飽和脂肪酸を加圧下で増加させるということが報告された [19, 20]。EPA や DHA は、細菌には希な脂肪酸であるが、これらの脂肪酸の加圧下での増加は、細菌の低温環境への適応機構と類似したものであると考えられている。と同時に、栄養源の貧困な深海環境においては、これらの脂肪酸を生産する細菌が、高等生物の深海での生息に貢献しているとされている。しかし、圧力と温度とをこれらの細菌がどの様に認識しているかについては、十分な検討がなされていなかった。

筆者らは、耐圧性が高い細菌の高圧環境下での細胞膜の生化学的特性を検討することによって、深海微生物の高圧下での適応機構が明確になるものと考え、通常の細菌が増殖できない 60 MPa 以上の圧力下でも増殖する従属栄養細菌 (有機物を栄養として増殖する細菌) の分離を行った。1000 ~ 8000 m の深海の海水や海泥をその分離源として約 200 株の細菌を分離したが、耐圧性細菌はわずかで 10 株であった。その中で、高圧下において比較的増殖速度の速い *Alteromonas* に属する細菌 (4033-B 株) は、Fig.1 に示すように圧力の上昇にともなって C17:1 と C18:1 の脂肪酸の割合を増加させ、細胞膜内の不飽和脂肪酸の割合を増加させていた。ところが、Fig.2 に示すように、この細菌は、低温環境では C16:1 と C18:1 の割合を増加させて細胞膜内の不飽和脂肪酸の割合を増加させており、圧力が上昇した場合に増加した C17:1 の脂肪酸は、温度によって変化しなかった [21]。

脂肪酸の相対的割合だけでなく、脂質の変動も細胞膜の流動性に関与している。例えば、

16:0/16:0-PG(1,2-dihexadecanoyl-phosphatidyl glycerol)の相転移温度は、16:0/16:0-PE(1,2-dihexadecanoyl-phosphatidyl ethanolamine)より、約20℃低い[22, 23]。 *Bacillus megaterium* では、温度の低下とともにPGの割合が増加し、PEの割合は減少することが報告されている[24]。耐圧性細

菌4033-B株では、Table 3に示すように圧力が上昇するにつれてPEの割合の減少およびPGの割合の増

Table 3. Effect of pressure on the composition of lipid in 4033-B cell. (unpublished data)

Pressure (MPa)	Cellular content (%)		
	PG	PE	other
0.1	23	63	14
10	28	58	14
20	31	51	18
30	34	50	16
40	35	47	18

PG: phosphatidyl glycerol,
PE: phosphatidyl ethanolamine.

Fig. 1. Effect of pressure on the composition of major fatty acid in a barotolerant deep-sea bacterium, 4033-B. Symbols: □, C16:0; ■, C16:1; ▲, C17:1; △, C18:1; ●, total unsaturated fatty acid (from [21]).

Fig. 2. Effect of temperature on the composition of major fatty acid in 4033-B cells. Symbols: □, C16:0; ■, C16:1; ▲, C17:1; △, C18:1; ●, total unsaturated fatty acid. (from [21])

加が認められ、低温環境にさらされた *Bacillus megaterium* の脂質組成の変動と同様な現象が認められた。また、加圧に伴って増加したC17:1の脂肪酸はリン脂質の脂肪酸側鎖としてPEおよびPGに共に含まれており、その割合は加圧とともに増加していた。

以上の結果から、4033-B株は高圧環境に置かれると、脂質中のC17:1の脂肪酸の割合を増加させると同時に、相転移温度の低いPGの割合を増加させて細胞膜の流動性を維持するものと推測された。

加圧下での不飽和脂肪酸の割合の増加は、沖縄トラフの熱水噴出孔近辺の海泥から分離した耐圧性細菌(RS103株)でも観察された。この細菌は、isoC15:0とisoC17:0の分岐脂肪酸を脂質側鎖として持ち、10 MPa近辺に最適増殖圧力を持つ好圧性細菌であった。分岐脂肪酸を主要な脂肪酸として持っていることから、好熱性の *Thermus* 属の細菌の温度への適応と比較する意味で興味を持たれた。圧力が上昇すると鎖長の短いisoC15:0の脂肪酸を増加させることが期待されたが、Fig. 3に示すように、加圧下ではisoC17:1の脂肪酸の特異的増加による不飽和脂肪酸の割合の増加が、細胞膜の流動性に寄与しているものと考えられた。一方、温度変化に対しては、4033-B株と同様、低温下でC16:1の脂肪酸を増加させ、圧力によって変動したisoC17:1の脂肪酸は、温度変化によって変動しなかった。

筆者らの分離した耐圧性細菌の4033-B株やRS103株は、脂肪酸の相対的割合をみる限りでは、圧力変化と温度変化とに対して異なった応答を示した。細胞は、温度変化と圧力変化を異なった情報として認識し、C17:1あるいはisoC17:1の脂肪酸の加圧下での増加は、加圧による細胞内の生理的变化によってその生合成を活性化されたものと推測された。

Fig.3. Effect of pressure on the fatty acid composition in strain RS103, where TUFA: total unsaturated fatty acid. (unpublished data)

C17:1 や isoC17:1 の脂肪酸は、細菌には希な脂肪酸であるが、C17:1 の脂肪酸の加圧下での増加は、既に分離されていた耐圧性細菌 *Pseudomonas bathycetes* でも観察された[21]。なお、C17:1 の脂肪酸の加圧下での増加は、好圧性細菌でも報告されていたが、最適増殖圧力を越えた 60MPa という高压下の細胞にのみ増加が認められるため異常な反応であると考えられ、耐圧性との関係については議論されていなかった[20]。最近、好熱性細菌 *Thermus* 属に対する温度の効果が調べられ、従来低温下では鎖長の短い分岐脂肪酸を増加させるとされていたが、同じ属の細菌の中には anteisoC17:1 を増加させるという報告がなされている[25]。好熱性細菌の低温環境への適応と耐圧性細菌の高压環境への適応に炭素数 17 個の不飽和脂肪酸を用いていることは、生物の進化を考える上で興味ある現象のように思える。

いずれにしても、細菌によって変動する脂肪酸の種類は異なっているが、深海の細菌が高压環境に適応する戦略の一つとして、細胞膜内の不飽和脂肪酸の割合を増加させることは、一般的な現象のようである。

4. 膜酵素活性への圧力の効果

既に述べたように生体内の諸反応は、細胞膜と密接に関連しており、生体膜と酵素系の双方に対する圧力の効果が、生物の高压環境への適応を考えるときには、非常に興味深いものとなる。細胞膜の酵素活性に及ぼす圧力の効果については、Macdonald や Heremans の総説にまとめられているように[26, 27]、既に *Azo-*

tobacrer vinelandii からのニトロゲナーゼ、筋小胞体の Ca^{2+} -ATP アーゼ、ブタ腎臓の $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)\text{-ATP}$ アーゼおよび *Acholeplasma laidlawii* の $(\text{Na}^+ + \text{K}^+)\text{-ATP}$ アーゼ活性に対する圧力と温度の効果が調べられている。これらの ATP アーゼ活性は、いずれも圧力の上昇にともなって屈曲点を持って低下している。また、屈曲点の圧力は、反応温度が上昇すると高压側に移行し、この屈曲点の圧力と温度との関係から、 dT/dP の値として 27~28 K/100MPa が算出されている[28, 29]。この値は、細胞膜から抽出した脂質の融点と圧力との関係から得られる値とよく一致している。このことは、ATP アーゼ酵素活性の圧力の上昇に伴う低下は、加圧による酵素そのものの阻害というよりも、加圧による細胞膜の流動性の低下が、酵素活性の低下を引き起こしていると解釈できる[28, 29]。

これまでの研究は、いずれも陸上の生物を用いてなされたもので、深海の微生物に関する知見はなかった。既に述べたように、4033-B 株は増殖圧力が上昇するにつれて主に C17:1 の脂肪酸の割合を増加させることによって細胞膜内の不飽和脂肪酸の割合を増加させている。そこで、その変動が細胞膜内に存在するエネルギー代謝系の酵素である NADH オキシダーゼの活性にどのような影響を与えるのかを検討した[30]。

Na^+ を生育のために必要とする海洋細菌では、細胞膜内外の電気化学的ポテンシャル差を H^+ ではなく Na^+ によって形成しており、アルカリ側に最適 pH を持つ Na^+ 依存性の NADH オキシダーゼが存在する[31]。耐圧性細菌 4033-B 株の NADH オキシダーゼもアルカリ側に最適 pH を持ち、 Na^+ で活性化されることから、 Na^+ 駆動型の酵素であると考えられる。酵素活性の温度および pH 依存性を、0.1、20 および 40 MPa で増殖した細胞の細胞膜について大気圧下で調べたところ、最大活性を与える pH には変化が認められなかったが、Fig.4 に示すように最大活性を示す温度は、高压下で培養した細胞の細胞膜の方が低温側にシフトする傾向が認められた。酵素タンパク質が同じであれば、一般にこのような現象は起こらない。40 MPa で増殖した細胞は、不飽和脂肪酸の割合が大気圧下で増殖した細胞より高く、細胞膜の流動性がより高くなっていると考えられる。また、温度が上昇することは細胞膜の流動性を上昇させる方向に働くため、40 MPa、10℃で増殖した細胞の細胞膜は、活性の測定を行った大気圧下では相当流動性が高くなっている。したがって、高压下で増殖した細菌の細胞膜の最大活性を示す温度が、低温側へシフトした理由として、酵素が最適に機能するためには、最適の細胞膜の流動性が必要であるということを示しており、反応温度が低下した

時に酵素反応の最適な細胞膜の流動性が獲得できたものと考えられる。酵素活性の測定は大気圧下で行ったが、加圧下で行えば最大活性を示す温度が高くなるだろう。

0.1 MPaと40 MPaで増殖し、脂肪酸組成の異なる細胞膜のNADH オキシダーゼへの圧力の効果を検討した結果、Fig.5に示すように、0.1 MPaの細胞膜の酵素活性の圧力の上昇にともなう減少は、40 MPaの

Fig.4. Effect of temperature on NADH oxidase of 4033-B membranes. Membranes were prepared from cells grown at 10 °C, 0.1(●), 20(△) and 40(○)MPa. (from [29])

Fig.5. Effect of pressure on NADH oxidase of 4033-B membrane. Membranes prepared from cells grown at 10 °C, 0.1(■) and 40(●) MPa were used. The natural logarithm of the ratio V_p/V_1 is plotted against pressure: V_p and V_1 are the enzyme activities at a pressure P and atmospheric pressure, respectively. (from [29])

細胞膜の酵素活性より大きく、0.1 MPaの細胞膜の酵素活性は、圧力に反比例して直線的に減少するのに対して、40 MPaの細胞膜の酵素活性は、35 MPa付近に屈曲点を持って減少した。このことは、培養圧力に近い35 MPa付近で細胞膜内の脂質の相転移が起っており、培養圧力に近い圧力までは細胞膜内に液晶状態が存在していることを示唆している。4033-B株は、培養圧力下で最適な細胞膜の流動性を得るために細胞膜の不飽和脂肪酸の割合を調節しており、種々の圧力下で培養すると、培養圧力に近い圧力に酵素活性の屈曲点を持つ細胞膜が得られるだろう。

5. 遺伝子発現への圧力の効果

生物が、細胞膜の脂肪酸組成を変化させるためには、細胞膜内の様々な生化学的応答が必要であり、この応答は生物によって異なっている。

細菌が低温環境に適応する生化学的・遺伝的機構は、大腸菌を用いて詳細に検討されている。それによると、温度の低下にともなって、C16:0の脂肪酸が減少し、C18:1の脂肪酸を増加させることによって、細胞膜内の不飽和脂肪酸を増加させることが報告されている。この変化を引き起こす酵素は、細胞内に常に存在しており、低温環境下でこの酵素が活性化され、C18:1の脂肪酸の合成を行う[32, 33]。一方、*Bacillus* 属の細菌では、不飽和化酵素タンパク質が低温下で誘導的に合成されて、不飽和脂肪酸の割合を増加させている[31]。そこで、4033-B株を用いて、加圧に伴うC17:1の脂肪酸の増加に新たなタンパク質の合成が必要かどうかを検討したところ、Table 4に示すように、遺伝子の転写阻害剤の存在下では細胞を加圧してもC17:1の脂肪酸の増加が起らなかった。さらに、低温環境下でのC16:1およびC18:1の脂肪酸の増加に及ぼすタンパク質合成阻害剤の効果を検討したところ、低温下での脂肪酸組成の変化は、阻害剤の存在下でも認められた。これらのことは、4033-B株が低温環境に適応するときには、細胞内に既に存在している酵素によって脂肪酸の相対的割合を調節しているが、加圧下においてC17:1の脂肪酸を合成するためには、新たなタンパク質合成が必要であり、加圧下でのC17:1の脂肪酸の割合の調節には、圧力によって活性化される遺伝子が関与していることを示唆している。

6. おわりに

細菌は、外界の刺激に応答する機構を備えており、既に温度変化、浸透圧変化、放射線などの物理的刺激に応答した遺伝子発現調節機構が分子レベルで明らかにされつつある[34]。筆者らの分離した耐圧性細菌の

Table 4. Effect of inhibitor of RNA synthesis on pressure - induced alteration of fatty acid composition in strain 4033 - B. (unpublished data)

Fatty acid	Composition of fatty acid (%)			
	Cells were incubated at			
	0.1MPa	0.1MPa+Rf	40MPa	40MPa+Rf
C14:0	1.7	1.5	1.1	2.5
C14:1	1.3	1.5	1.7	1.9
C15:0	2.2	2.4	2.7	2.4
C15:1	3.9	4.1	4.7	2.5
C16:0	26.7	27.2	8.4	27.6
C16:1	46.4	47.6	46.4	47.5
C17:0	2.8	2.5	2.1	1.6
C17:1	7.7	7.8	24.0	6.4
C18:0	1.5	2.1	0.8	1.6
C18:1	6.0	6.3	7.9	4.9

Cells were cultured at atmospheric pressure and divided into four equal portions. The two portions were retained at 0.1 MPa with or without Rifampicin(Rf), while remaining two portions were incubated at 40 MPa with or without Rifampicin.

高圧下での特異的な脂肪酸の増加も、細胞が圧力という刺激を感知し、その情報が遺伝子に伝えられた結果生じた現象であると推測される。この応答機構の分子レベルでの解明によって、細菌の高圧環境への適応機構を明らかにする糸口が得られることが期待される。

高圧環境で生物が生息できるためには、細胞膜の機能のみならず様々な酵素タンパク質や高分子合成系等の生化学的機能が、高圧環境でも維持されていることが必要である。各種酵素タンパク質やタンパク質合成系の耐圧機構に関しては、一連の研究がなされているが、核酸合成、細胞壁合成に関しては今だに十分な生化学的研究がなされているとはいいい難い[10, 35]。

圧力は、我々陸上環境に適応した生物にはなじみずらいが、海洋では極めて普遍的な物理的因子であり、その物理的因子を生物がどの様に認識し、適応しているかを分子レベルで知することは、海洋生物資源の有効な利用を考えると非常に重要であると考えられる。

圧力に応答する遺伝子発現の調節機構の研究は始まったばかりであるが、既に加圧下で特異的に合成されるタンパク質の存在が報告され、加圧下で特異的に発現する遺伝子が分離されている[36, 37]。このような圧力に関連した遺伝子の発現調節機構が分子レベルで明らかにされれば、深海微生物の持つ機能の利用の広がりが期待される。

本稿は、著者が科学技術庁の「海洋深層資源の有効利用技術の開発に関する研究」および工業技術院の「海底熱水活動に伴う重金属資源の評価手法に関する研究」に参加した際に得られた成果である。深海微生物

物の研究には、深海からの試料の取得が必須である。東大海洋研の大和田紘一先生、農水省水産工学研究所山田敏夫博士、海洋技術センターの橋本惇氏からは、貴重な深海試料を分与していただいた。また、沖縄トラフの海底からの試料の採取は、工技院地質調査所の奥田義久団長をはじめとする白嶺丸GH89-3航海のスタッフ、クルーの方々、並びに微生物工業技術研究所の丸山明彦博士の協力によってなされたものである。記して感謝致します。さらに、本稿の執筆の機会を与えて下さった立命館大学谷口吉弘先生並びに東大海洋研の大和田紘一先生に感謝致します。

参考文献

- [1] R.Y.Morita: In *Microbes in the Extreme Environments*, ed. by R.A.Herbert et al., Academic Press, p.172(1986), "Pressure as an extreme environment."
- [2] C. E. Zobell and F. H. Johnson: *J. Bacteriol.*, **57**, 179(1949), "The influence of hydrostatic pressure on the growth and viability of terrestrial and marine bacteria."
- [3] C. H. Oppenheimer and C. E. Zobell: *J. Mar. Res.*, **11**, 10(1952), "The growth and viability of sixty - three species of marine bacteria as influenced by hydrostatic pressure."
- [4] C.E.Zobell and R.Y.Morita: *J. Bacteriol.*, **73**, 563(1957), "Barophilic bacteria in some deep-sea sediments."
- [5] A.A.Yayanos, A.S. Dietz and R.Van Bostel: *Appl. Environ. Microbiol.*, **44**, 1356(1982), "Dependence of reproduction rate on pressure as a hallmark of deep-sea bacteria."
- [6] J.W.Deming and R.R.Colwell: *Appl. Environ. Microbiol.*, **44**, 1222(1982), "Barophilic bacteria associated with digestive tracts of abyssal holothurians."
- [7] H.W.Jannasch and C.O.Wirsén: *Arch. Microbiol.*, **139**, 281(1984), "Viability of pressure adaptation in deep-sea bacteria."
- [8] R.Y.Morita: *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.*, **5**, 187(1967), "Effects of hydrostatic pressure on marine bacteria."
- [9] C.E.Zobell: In *High Pressure Effects on Cellular Process*, ed. by A.M.Zimmerman, Academic Press, p.85(1970), "Pressure effects on morphology and life processes of bacteria."
- [10] H. W. Jannasch and C. G. Taylor: *Ann. Rev. Microbiol.*, **38**, p.487(1984), "Deep sea microbiology."
- [11] 谷口吉弘: 蛋白質核酸酵素, **34**, 97(1989), "蛋白質の高圧変性"
- [12] S.J.Singer and G.L.Nicolson: *Science*, **175**,

- 720(1972), "The fluid mosaic model of the structure of cell membranes."
- [13] R.Y.Morita: In *The Survival of Vegetative Microbes*, ed. by T.G.R.Gray and J.R.Postage, Cambridge University Press, p.279(1976), "Survival of bacteria in cold and moderate hydrostatic pressure environments with special references to psychrophilic and barophilic bacteria."
- [14] M.Sinensky: Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **71**, 522(1974), "Homeoviscous adaptation; a homeostatic process that regulates the viscosity of the membrane lipids in *Escherichia coli*."
- [15] 石塚稲夫, 新村幸雄: 生化学データブック, 日本生化学会編, p.782, 東京化学同人(1979)
- [16] 柳田友道: 微生物科学 **4**, 学会出版センター, p.105 (1984).
- [17] H.Okuyama, N.Fukunaga and S. Sasaki: J. Gen. Appl. Microbiol., **32**, 473(1986), "Homeoviscous adaptation in a psychrophilic bacterium, *Vibrio* sp. strain ABE-1."
- [18] E.F.Delong and A.A.Yayanos: Science, **228**, 1101(1985), "Adaptation of the membrane lipids of a deep-sea bacterium to changes in hydrostatic pressure."
- [19] E.F.Delong and A.A.Yayanos: Appl. Environ. Microbiol., **51**, 730(1986), "Biochemical function and ecological significance of novel bacterial lipids in deep-sea procaryote."
- [20] C.O.Wirsén, H.W.Jannasch, S.G.Wakeham and E.A.Convel: Current Microbiol., **14**, 319 (1987), "Membrane lipids of a psychrophilic and barophilic deep-sea bacterium."
- [21] K. Kamimura, H. Fuse, T. Takimura, Y. Yamaoka, K. Ohwada and J. Hashimoto: J. Oceanogr., **48**, 93(1992), "Pressure-induced alteration in fatty acid composition of barotolerant deep-sea bacterium."
- [22] L. A. Sklar, B. S. Hudson and R. D. Simoni: Biochemistry, **16**, 819(1977), "Conjugated polyene fatty acids as fluorescent probes: synthetic phospholipid membrane studies."
- [23] N.Murata and J.Yamaya: Plant Physiol., **74**, 1016(1984), "Temperature-dependent phase behavior of phosphatidylglycerols from chilling-sensitive and chilling-resistant plants."
- [24] L.Rilfors, A.Wieslander and S.Stahl: J. Bacteriol., **135**, 1043(1978), "Lipid and protein composition of membranes of *Bacillus megaterium* variants in the temperature range 5 to 70 degree C."
- [25] K.M.Nordstom and S.V.Laakso: Appl. Environ. Microbiol., **58**, 1656(1992), "Effect of growth temperature on fatty acid composition of ten *Thermus* strains."
- [26] K. Heremans: Ann. Rev. Biophys. Bioeng., **11**, 1(1982), "High pressure effects on protein and other biomolecules."
- [27] A.G.Macdonald: Phil. Trans. R. Soc. Lond., **B304**, 47(1984), "The effects of pressure on the molecular structure and physiological functions of cell membranes."
- [28] H.De Smedt, G.Borghgraaf, F.Ceuterick and H.Heremans: Biochem. Biophys. Acta, **556**, 479 (1979), "Pressure effects on lipid-protein interactions in $(Na^+ + K^+) - ATP - ase$."
- [29] K. Heremans and F. Wuytack: FEBS Lett., **117**, 161(1980), "Pressure effect on the Arrhenius discontinuity in $Ca^{2+} - ATP - ase$ from sarcoplasmic reticulum."
- [30] 上村一雄, 布施博之, 滝村修, 山岡到保: 中国工業技術試験所報告, **36**, 11(1991), "耐圧性深海細菌の NADH oxidase への圧力の影響"
- [31] R. Y. Morita: In *Microbial Autecology*, ed by R.L.Tate, John Wiley & Sons, Inc. p.147(1986), "Autecological studies and marine ecosystems."
- [32] A.J.Fulco: Prog. Lipid Res., **22**, 133(1983), "Fatty acid metabolism in bacteria."
- [33] D. Demendoza and J. E. Cronan, Jr.: Trends Biomed. Sci., Feb., 49(1983), "Thermal regulation of membrane lipid fluidity in bacteria."
- [34] 山本友子, 緒方幸雄: 日本細菌学雑誌, **45**, 539 (1990), "熱ショック応答の遺伝的制御と生理機能"
- [35] J. V. Landou and D. H. Pope: Adv. Aquatic Microbiol., **2**, 49(1980), "Recent advances in the area of barotolerant protein synthesis in bacteria and implications concerning barotolerant and barophilic growth."
- [36] R. Jaenicke, G. Bernhardt, H. D. Lüdemann and K. O. Stetter: Appl. Environ. Microbiol., **54**, 2375(1988), "Pressure-induced alterations in the protein pattern of the thermophilic archaeobacterium *Methanococcus thermolithotrophicus*."
- [37] D.Bartlett, M.Wright, A.A.Yayanos and M. Silverman: Nature, **342**, 572(1989), "Isolation of a gene regulated by hydrostatic pressure in a deep-sea bacterium."

(1992年7月4日受理)