細菌における高度不飽和脂肪酸含有リン脂質の生理機能

Physiological Roles of Phospholipids Containing Polyunsaturated Fatty Acids in Bacteria

川本 純

京都大学化学研究所
〒611-0011
京都府宇治市五ヶ庄

Jun KAWAMOTO
Institute for Chemical Research,
Kyoto University
Gokasho, Uji, Kyoto 611-0011, Japan

栗原 達夫

京都大学化学研究所
〒611-0011
京都府宇治市五ヶ庄

Tatsuo KURIHARA
Institute for Chemical Research,
Kyoto University
Gokasho, Uji, Kyoto 611-0011, Japan

論文要旨: エイコサペンタエン酸 (EPA) やドコサヘキサエン酸などの長鎖多価不飽和脂肪酸 (PUFA) は、多様な生理活性を示す必須脂肪酸である。生体膜を構成するリン脂質のアシル鎖として存在する PUFA は膜の物理化学的特性を変化させることで、周辺の膜タンパク質の機能発現に関与していることが予想されるが、PUFA の機能発現機構の詳細は明らかではない。一方で、極地周辺や深海などの低温環境から単離された海洋性細菌の多くが PUFA を生産することが知られている。近年、高等生物に比べて単純な構造の細胞を形成するこれらの微生物を用いた研究により、PUFA が従来知られていなかった生理的役割を担っていることが明らかとなってきた。本稿では、南極海水より単離された低温菌における EPA 生合成機構と、本菌の環境適応における EPA の生理機能について紹介する。

Abstract: Long-chain polyunsaturated fatty acids (PUFA), such as eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid, are essential fatty acids for human, which provide various favorable effects on health, including anti-inflammatory and anti-tumor effects. PUFA-containing phospholipids change the physicochemical properties of biological membranes and might modulate the function of membrane proteins. However, it is not fully understood how PUFA exerts their function. EPA and DHA are found in various bacteria isolated from cold environments, such as Polar Regions and deep sea, and are synthesized as an acyl chain of their membrane phospholipids. By using these bacteria, which have much simpler cell structure than eukaryotes, it was demonstrated that PUFA plays novel physiological roles in their environmental adaptation. Here, we describe the biosynthesis mechanism of EPA and its physiological role in cold adaptation of a bacterium isolated from Antarctic seawater. We propose that EPA-containing phospholipids support the function of membrane proteins involved in cell division and membrane transport at low temperatures as a hydrophobic chemical chaperone.

Key words: polyunsaturated fatty acid, eicosapentaenoic acid, phospholipid, membrane microdomain, cell division

1 はじめに

エイコサペンタエン酸 (EPA) やドコサヘキサエン酸 (DHA) に代表される ω 3 系長鎖多価不飽和脂肪酸 (PUFA) は、非共役の二重結合を 5~6 個有する機能性脂質である。多くの臨床研究や疫学的調査の結果、EPA や DHA の ω 3 系 PUFA は抗炎症作用や抗腫瘍作

用をもち、また、動脈硬化症や脳溢血などの血管性疾患の発症リスクを低減することが示されている¹⁻³⁾。また、アラキドン酸などの ω 6 系脂肪酸も含めて、PUFA は、生理活性物質であるプロスタグランジンやトロンボキサンといったエイコサノイドの前駆体としても重要な脂肪酸である⁴⁾。ヒトは、EPA や DHA を *de novo* 合成する仕組みを有しておらず、PUFA の前駆体となる α -リノレン酸や、EPA もしくは DHA そのものを摂取する必要がある⁵⁾。PUFA は、天然ではイワシやサバなどの青

連絡者: 栗原 達夫
E-mail: kurihara@scl.kyoto-u.ac.jp

背の魚の油の中に多く存在し、積極的な摂取が推奨されている。一方で、海洋性微細藻類であるラビリントウ類や、極地や深海といった低温・高圧環境から単離されたさまざまな細菌が、PUFAを生産する⁶⁻⁹⁾。これらの細菌については、低温・高圧適応にPUFAが重要な役割を担っていることが示されている¹⁰⁻¹²⁾。ヒトや細菌において、PUFAは細胞膜を構成するリン脂質のアシル鎖として存在することがわかっており、周辺の膜タンパク質の機能発現に関与していることが予想されるが、膜タンパク質の機能発現におけるPUFAの生理的役割には不明な点が多い。本稿では、南極海水由来のEPA産生細菌をモデル生物として行った研究を紹介し、生体膜におけるPUFAの生理機能について論じる。

2 細菌の PUFA 生合成機構

植物や線虫、糸状菌においては、通常の脂肪酸合成経路を介して合成されるパルミチン酸（16：0）やステアリン酸（18：0）を前駆体としてEPAが生合成される。これらの飽和脂肪酸を前駆体とし、脂肪酸伸長酵素と不

飽和化酵素（デサチュラーゼ）の働きによる伸長反応と二重結合の挿入反応が進行することで、 α -リノレン酸や EPA が合成される⁵⁾。デサチュラーゼによる不飽和化反応には分子状酸素が必須となる。一方、PUFA を生産する細菌は、上述の PUFA 産生生物とは全く異なる経路を有している。矢澤らにより、細菌の EPA の生合成には、ポリケチド合成酵素の類縁タンパク質群をコードする遺伝子クラスターが必須であることが明らかとなった¹³⁾。EPA 産生細菌である *Shewanella pneumatophore* SCRC-2738 には、*orf2*, *orf5*, *orf6*, *orf7*, *orf8* の 5 つの遺伝子で構成される EPA 生合成遺伝子クラスターが存在する。これらの遺伝子は他の PUFA 産生細菌にも存在し、これらにコードされる生合成タンパク質群には、脂肪酸の生合成に関与することが予想される種々の酵素活性ドメインが保存されていることから、これらのドメインが触媒する連続的な反応によって EPA が生合成されると推測されている (Fig. 1)。

筆者らは、EPA 生合成タンパク質群による PUFA 生
成機構の解明に取り組んでいる¹⁴⁾。南極海水より単離

Fig. 1 細菌における EPA 生合成遺伝子群と生合成経路

- (a) 南極海水より採取された好冷性細菌 *Sheewanella livingstonensis* Ac10 の EPA 合成遺伝子群。各遺伝子がコードするタンパク質に保存されている酵素活性ドメインをグレーで示している。PT: ホスホパンテテイル基転移酵素, KS: 3- ケトアシル合成酵素, AT: アシル基転移酵素, ACP: アシルキャリアタンパク質, KR: 3- ケトアシルレダクターゼ, DH: デヒドラターゼ, 2, 3I: 2-*trans*-3-*cis* イソメラーゼ, ER: エノイルレダクターゼ。
- (b) 細菌の EPA 合成遺伝子群にコードされるタンパク質群による EPA 合成の予想経路。各矢印に, 各反応を触媒する EPA 合成タンパク質を示している。

された好冷性細菌 *Shewanella livingstonensis* Ac10 は 4℃ から 25℃ で生育し、18℃ で最も良好に生育する。本菌を低温 (4℃) で培養すると、低温誘導的に全脂肪酸の 5~10% を占める EPA が生産されるが、18℃ で培養したときには EPA はほとんど検出されない。本菌のゲノム解析から、EPA の生合成に関与することが予想される遺伝子クラスターを見いだした (Fig. 1)。筆者らは、EPA 生合成タンパク質群の諸性質を解析し、本菌における EPA 生合成機構の解明を試みた。5 つの EPA 生合成遺伝子のうち、*orf2* はホスホパンテテイル基転移酵素 (PPTase) をコードしており、補酵素 A (CoA) のホスホパンテテイル基を、アシルキャリアータンパク質 (ACP) のセリン残基に転移することで、ACP のホロ化を触媒することが予想された (Fig. 2)。また、*orf5* には 5 つの ACP ドメインが保存されていたことから、Orf2 は Orf5 の ACP ドメインにホスホパンテテイル基を転移する PPTase である可能性が示唆された。組換え型 Orf2 を精製するとともに、*orf5* にコードされている 5 つの ACP ドメインを個別に発現・精製し、Orf2 によるホスホパンテテイル基の転移を解析した。その結果、Orf2 は CoA 依存的に Orf5 の ACP ドメインをホスホパンテテイル化することが示された。EPA の生合成には Orf5 に存在する 5 つの ACP ドメインのいずれかが関与している可能性が示された。以上の結果から、本菌における EPA 生合成は、Orf2 による Orf5 の ACP ドメインのホスホパンテテイル化が初発段階であり、Orf5 の ACP ドメインに導入されたホスホパンテテイル基のチオール基が脂肪酸生合成の足場となるものと考えられた。

3 EPA 生合成遺伝子欠損株をもちいた EPA の生理機能解析

EPA や DHA の生合成遺伝子クラスターは、*Shewanella* 属細菌のほか、深海より単離された *Photobacterium profundum* SS9 や *Colwellia psychrerythraea* 34H、海洋性のシアノバクテリア (*Phaeodactylum tricornutum*) など、低温・高圧環境から採取された様々な海洋性微生物に保存されていることから、微生物の低温・高圧環境適応に PUFA 生産が重要な役割を担っていることが予想される^{8,9,15-17)}。二重結合を多くもつ EPA や DHA は、飽和脂肪酸に比べて顕著に融点が高いことから、低温環境における生体膜の流動性に寄与している可能性が考えられるが、低温・高圧環境適応微生物における PUFA 生産能の生理的役割を解析した例は少ない。

筆者らは、*S. livingstonensis* Ac10 への外来遺伝子の導入法、および本菌の遺伝子破壊法を確立している^{11, 18)}。本菌における EPA の生理的役割を解明するために、5 つの EPA 生合成遺伝子それぞれの破壊株を作製した。EPA 生合成遺伝子破壊株は、低温での EPA 生産能を欠失していたことから、上述の 5 つの EPA 生合成遺伝子は、いずれも本菌の EPA 生産に必須であることがわかった。EPA を生産できない遺伝子変異株 (Δ EPA) は、本菌の生育至適温度である 18℃ では野生株と同様に生育するのに対して、4℃ ではその生育速度が顕著に低下していた (Fig. 3)。化学合成した EPA 含有リン脂質を培養液に添加した結果、 Δ EPA の生育速度の低下が抑制されたことから、EPA は本菌の低温での生育に重要な脂肪酸であることが示された。EPA の欠損による低温での生育速度の低下は、本菌の細胞膜の流動性の低下に

Fig. 2 ホスホパンテテイル基転移酵素によるアシルキャリアータンパク質の修飾
EPA 生合成遺伝子群のうち、*orf2* はホスホパンテテイル基転移酵素をコードしており、*orf5* がコードする EPA 生合成足場タンパク質のアシルキャリアータンパク質ドメインのセリン残基にホスホパンテテイル基を転移する。

Fig. 3 *S. livingstonensis* Ac10 の EPA 欠損株の生育特性

4℃ (左) と 18℃ (右) における生育曲線。◇: 野生株, □: *orf2* 欠損株, △: *orf5* 欠損株, ×: *orf6* 欠損株, *: *orf7* 欠損株, ●: *orf8* 欠損株。

よる可能性が考えられたことから、筆者らは疎水性蛍光プローブ (ピレン) の膜における側方拡散を解析することで、EPA の欠損が細胞膜の流動性におよぼす影響を評価した。対照実験として *Escherichia coli* の細胞膜流動性も測定した。その結果、*S. livingstonensis* Ac10 は *E. coli* に比べて、流動性の高い生体膜を形成していることがわかった。一方で、EPA 欠損株におけるピレンの拡散性は、野生株と顕著な差はないことが示されたことから、EPA の有無は本菌の膜流動性には大きく影響しないことがわかった。本菌では、モノ不飽和脂肪酸であるパルミトレイン酸 (16:1) が全脂肪酸の約 40% を占めていることから、モノ不飽和脂肪酸を含むリン脂質が膜全体の融点を低く保つことで、低温でも流動的な生体膜を構築しているものと考えられた。一方、EPA の欠損は膜流動性への影響は小さいことから、本菌において EPA は低温での膜流動性の維持以外の役割を担っている可能性が示唆された。

低温での ΔEPA の形態を解析した結果、野生株に比べ顕著に伸長した細胞を形成していることが見いだされた。EPA を *sn-2* 位に導入した合成リン脂質を培養液に添加したとき、ΔEPA は野生株と同様の 1~2 μm の短桿状の菌体を形成したことから、本菌の低温での細胞分裂に EPA が関与することが推定された。細菌の細胞分裂は、細胞の中心部に約 12 種のタンパク質で構成される細胞分裂装置が形成されることで開始し、核様体の複製・分離、隔壁形成と細胞膜分離が進行する。ΔEPA は、一つの細胞内に核様体が複数存在する多核細胞を形成していた。さらに、ΔEPA の細胞内には通常のグラム陰性細菌には存在しない異常な膜構造が発達していたことから (Fig. 4)、EPA の欠損は本菌の細胞分裂における核様体の分離以降の段階、つまり新規に合成される細胞膜

Fig. 4 EPA 欠損株の形態と細胞内微細構造

野生株 (上) と EPA 欠損株 (下) の光学顕微鏡像と超薄切片の電子顕微鏡像。電子顕微鏡像の四角で囲んだ箇所を拡大し、それぞれの右側に示した。

成分の膜への組み込みと隔壁形成の段階に異常をきたすものと考えられた。さらに、ΔEPA の細胞膜タンパク質のプロテオーム解析を行うことで、EPA の欠損により生産量が変動する膜タンパク質を探索した結果、細胞膜を介した可溶性分子の輸送に関与する外膜拡散チャンネルタンパク質の生産量が減少していることが見いだされた。低温環境下では、水の粘性が増加するため、本菌は低温誘導的に外膜拡散チャンネルタンパク質を生産すると考えられるが¹⁹⁾、EPA の欠損は、これら低温で重要な生理的機能を担う膜タンパク質の生産量に影響していることが示された。以上の結果から、*S. livingstonensis* Ac10 の低温環境適応において、EPA は従来考えられてきた膜流動性の維持ではなく、細胞分裂後期における適切な細胞膜構造の形成、および膜輸送タンパク質の生合成に重要な役割を担っていることが示された。

一方で、本菌と近縁の *Shewanella marinintestina*

IK-1 においては、EPA などの長鎖多価不飽和脂肪酸は細胞外の過酸化物質に対する防御機構として抗酸化の役割を担っていることが報告されている²⁰⁾。また、深海由来の *P. profundum* SS9 では、EPA 欠損が低温・高圧適応に影響をおよぼさなかったことから⁹⁾、PUFA の低温での膜タンパク質機能発現への関与は、特定の好冷性細菌に限定される可能性も考えられる。どのような細胞において PUFA が細胞分裂や膜タンパク質機能発現に関与しているか明らかにすることは今後の課題であるが、PUFA が重要な生理的役割を担う *S. livingstonensis* Ac10 は、PUFA の生理機能解析に有用なモデル生物とみなすことができる。

4 EPA アナログ含有リン脂質をもちいた長鎖多価不飽和脂肪酸の構造 - 機能相関の解析

S. livingstonensis Ac10 の Δ EPA に、EPA を含有する合成リン脂質を添加することで、低温での生育速度の低下と伸長した細胞の形成は抑制された。二重結合の数や位置が異なる PUFA を含むリン脂質で同様の効果が見られるか検討した¹²⁾。二重結合の数が異なる炭素鎖長 20 の脂肪酸および DHA を *sn*-2 位に導入したリン脂質を合成し (Fig. 5), Δ EPA の培養液に添加して、本菌の低温での生育と細胞形態を解析した (Fig. 6)。EPA もしくは DHA を含有するリン脂質を添加した場合、

Fig.5 EPA アナログ含有リン脂質の構造

(a) 炭素鎖長 20 の長鎖脂肪酸と DHA。

(b) リン脂質の構造。EPA アナログ含有リン脂質は、*sn*-1 位 (R_1) にオレイン酸、*sn*-2 位に (R_2) の EPA のアナログを導入した。

Fig. 6 EPA アナログ含有リン脂質を添加した *S. livingstonensis* Ac10 の EPA 欠損株の生育特性

(a) 4℃での EPA アナログ含有リン脂質存在下における EPA 欠損株 (Δ EPA) の生育曲線。EPA アナログ含有リン脂質は、*sn*-1 位にオレイル基 (18:1)、*sn*-2 位に EPA の構造アナログを有する。

(b) EPA アナログ含有リン脂質存在下における Δ EPA の平均細胞長。

Δ EPA は野生株と同様に生育し、約 $2\mu\text{m}$ の菌体を形成した。興味深いことに、DHA 含有リン脂質存在下で培養した Δ EPA のリン脂質組成を解析した結果、EPA 含有リン脂質が合成されていることがわかった。本変異株は EPA の *de novo* 合成能を欠損していることから、添加したリン脂質中の DHA を EPA に変換する仕組みを有しているものと考えられた。本実験では、DHA が EPA の生理機能を代替できるか、明らかにすることはできなかったが、DHA が EPA に変換されたという結果は、本菌の低温適応において、特に EPA が重要な分子であることを示唆している。一方、二重結合の数が異なる EPA アナログ含有リン脂質を添加した場合、二重結合の数が減少するにしたがって、 Δ EPA の生育速度の低下と、伸長した細胞の形成を抑制する効果が弱まった。アラキドン酸 (20:4) やエイコサトリエン酸 (20:3) などに比べて、EPA が本菌の低温適応機構に、より適した分子であることが明らかとなった。

5 PUFA 動態解析用プローブの開発と局在性解析

筆者らは、本菌の細胞膜における EPA の動態を可視化するために、極性頭部を蛍光標識した EPA 含有リン

脂質の合成を試みた²¹⁾。細菌の細胞膜リン脂質の炭化水素鎖はエステル結合を介してグリセロール骨格に結合しているため、*sn*-2 位にエステル結合を介して EPA を導入したリン脂質を合成し、菌体に添加したが、アシル鎖の交換反応によって EPA が蛍光プローブから遊離するため、このような交換反応を受けないプローブの設計が必要となった。培養液に添加された合成リン脂質は、本菌の細胞膜ホスホリパーゼ A によって、脂肪酸が遊離し、脂質リモデリング経路に組み込まれると予想されたことから、ホスホリパーゼ A によって EPA が遊離しないプローブ分子 (エーテル結合を介してエイコサペンタエニル基がグリセロール骨格に結合し、極性頭部が 4-fluoro-7-nitrobenzofurazan (NBD) で蛍光標識された *N*-NBD-1-oleoyl-2-eicosapentaenyl-*sn*-glycero-3-phosphoethanolamine (acylalkyl-EPA)) を合成した (Fig. 7)。Acylalkyl-EPA を Δ EPA に添加した結果、菌体中央の細胞分裂部位に蛍光シグナルが局在することがわかった。*sn*-2 位にオレイル基 (18:1) を導入した蛍光リン脂質を添加した場合には、局在化した蛍光シグナルは検出されなかったことから、本菌は細胞分裂サイトに EPA 含有リン脂質が濃縮したマイクロドメインを形成

Fig. 7 蛍光標識したエーテル型リン脂質の構造と *S. livingstonensis* Ac10 における EPA 含有マイクロドメインの形成
極性頭部を NBD で蛍光標識したリン脂質の構造を示す。リン脂質の *sn*-2 位にエーテル結合を介してオレイル基 (Acylalkyl-OLA) (a)、もしくはエイコサペンタエニル基 (Acylalkyl-EPA) (b) を導入した。蛍光標識したエーテル型リン脂質を添加し、4°C で培養した菌体の蛍光顕微鏡像を右側に示す。核様体は Hoechst で染色した。7 区画に分けた細胞内における Hoechst、および NBD 由来の蛍光強度の分布を、グラフで示している。Acylalkyl-EPA の場合、蛍光が核様体閉鎖部位に局在した。

しているものと考えられた。還元剤をもちいた NBD の消光実験の結果から、細胞内膜の内葉に到達した EPA 含有リン脂質が細胞分裂サイトに濃縮されることが示唆された。EPA 生合成遺伝子破壊株の解析から、本菌の低温での細胞分裂に EPA が重要な機能を有していることが示されており、本実験で明らかとなったマイクロドメインの存在は、本菌の細胞分裂装置と EPA との相互作用の存在を強く示唆している。EPA が局在化したドメインは、他の脂肪酸を含む膜とは顕著に物理化学的特性が異なることが予想され、細胞分裂において局所的に曲率の高い膜の形成に関与している可能性が示唆された。さらに、細菌の細胞分裂サイトは細胞膜形成に関わる多様なタンパク質が協調して機能する場であることから²²⁾、EPA が、これら膜タンパク質の低温での機能発

現に重要であることが予想された。

6 膜タンパク質の機能発現における EPA の役割

S. livingstonensis Ac10 の低温環境適応機構において、EPA は膜の流動性の維持ではなく、低温での細胞分裂や膜を介した物質輸送に関与する膜タンパク質の適切な機能発現に重要であることが予想された。筆者らは、外膜チャンネルタンパク質 (OmpA) のホモログである Omp74 と EPA との相互作用に着目した²³⁾。低温で培養した野生株において Omp74 は少なくとも二種類の構造で存在するのに対して、同条件で培養した Δ EPA では、Omp74 はその構造多様性を失っていることがわかった (Fig. 8)。以上の結果は、Omp74 の生体膜での構造形成に EPA が関与することを示唆していたことから、その

Fig. 8 *S. livingstonensis* Ac10 における外膜チャンネルタンパク質のフォールディング解析
4℃で培養した *S. livingstonensis* Ac10 および EPA 欠損株 (Δ EPA) における外膜チャンネルタンパク質 (Omp74) のウェスタンブロット解析による *in vivo* フォールディングの解析。野生株において、Omp74 は F1, F2 の二種類のフォールディング状態にある。 Δ EPA では、F1 のみが検出される。

Fig. 9 EPA 含有リン脂質による Omp74 のフォールディング促進

可能性を検証するため, EPA を含む合成リン脂質をもちいた Omp74 の *in vitro* リフォールディング系を構築した。その結果, EPA 含有リン脂質存在下で, Omp74 の膜表層との相互作用, および, 疎水的環境での β -シート形成と高次構造形成が促進されたことから, EPA は Omp74 の低温での構造形成を促進する機能を有していることが明らかとなった (Fig. 9)。Feller らによる計算科学的解析から, 非共役の二重結合に挟まれた C-C 結合の回転は, 飽和脂肪酸の C-C 結合に比べてエネルギー障壁が小さいことが報告されており, 非共役二重結合を多数有する EPA や DHA は, 疎水的環境において多様な構造を形成する脂肪酸であると考えられている²⁴⁾。リン脂質のアシル鎖の構造多様性は周辺膜タンパク質表面の凹凸に対して容易にフィットすることから, 膜タンパク質の生体膜への溶媒和を向上させることで, 膜タンパク質の膜への挿入や膜内での構造変化を促進させていると考えられる。本菌においては, 水の粘性が増加し膜の流動性が低下する低温環境で, EPA 含有リン脂質を誘導生産し, EPA が局在化したマイクロドメインを形成することで, 膜タンパク質の効率的な機能発現を促進していると予想され, EPA が本菌の膜において分子シャペロン様の生理的役割を担う分子であることが示唆された。

7 まとめ

EPA や DHA のような長鎖多価不飽和脂肪酸 (PUFA) は, 抗腫瘍作用や抗炎症作用をもつとともに, さまざまな血管性疾患の予防の効果をもつなど, ヒトの健康維持に有効な脂質として認識されており, EPA や DHA を含む食品の積極的な摂取が推奨されている。一方で, EPA はプロスタグランジンやトロンボキサンといったエイコサノイドの前駆体として長く注目されてきた分子である。このような脂肪酸は, 細胞膜を構成するリン脂質のアシル鎖として存在するが, PUFA 含有リン脂質自体の機能発現機構の詳細は明らかでない。筆者らは, 高等生物の細胞に比べて単純な構造をもつ細菌をモデル生物として PUFA 研究に取り組んできた。南極海水より単離された EPA 産生微生物 *S. livingstonensis* Ac10 は, 低温での生育に EPA を必要とする特殊環境微生物である。筆者らは, 本菌の EPA 生合成遺伝子を破壊することで作製した EPA 欠損株と, さまざまなアシル鎖を含む合成リン脂質をもちいた解析から, EPA が本菌の細胞分裂や物質輸送に関連する膜タンパク質の機能発現を促進している可能性を見いだした。特に, EPA 含有リン脂質が脂溶性の分子シャペロンとして, 膜タンパク質の構造形成を促進することは, これまでの PUFA

研究では報告されていない新たな機能といえる。また, 本菌で見いだされた EPA 含有リン脂質を含むマイクロドメインの存在は, 他の生物の細胞においても PUFA 含有リン脂質が局在化したマイクロドメインがさまざまな生理機能を担っている可能性を示すものである。PUFA 含有リン脂質が局在化するマイクロドメインにおける PUFA と膜タンパク質の相互作用の詳細など, 今後解明されるべき点が多く存在するが, 本菌や他の細胞において PUFA 含有リン脂質が形成するマイクロドメインに着目した研究が展開されることにより, PUFA 研究に新たなパラダイムがもたらされることが期待される。

文 献

- 1) Albert, C. M. et al. Fish consumption and risk of sudden cardiac death. *JAMA*, **279**, 23-8 (1998).
- 2) Birch, E. E., Garfield, S., Hoffman, D. R., Uauy, R. & Birch, D. G. A randomized controlled trial of early dietary supply of long-chain polyunsaturated fatty acids and mental development in term infants. *Dev. Med. Child. Neurol.*, **42**, 174-81 (2000).
- 3) Dewey, A., Baughan, C., Dean, T., Higgins, B. & Johnson, I. Eicosapentaenoic acid (EPA, an omega-3 fatty acid from fish oils) for the treatment of cancer cachexia. *Cochrane Database Syst. Rev.*, CD004597 (2007).
- 4) Serhan, C. N., Chiang, N. & Van Dyke, T. E. Resolving inflammation: dual anti-inflammatory and pro-resolution lipid mediators. *Nat. Rev. Immunol.*, **8**, 349-61 (2008).
- 5) Wallis, J. G., Watts, J. L. & Browse, J. Polyunsaturated fatty acid synthesis: what will they think of next? *Trends Biochem. Sci.*, **27**, 467-73 (2002).
- 6) Kumon, Y. et al. A new labyrinthulid isolate that produces only docosahexaenoic acid. *Mar. Biotechnol. (NY)*, **8**, 170-7 (2006).
- 7) Kato, C. & Nogi, Y. Correlation between phylogenetic structure and function: examples from deep-sea *Shewanella*. *FEMS Microbiol. Ecol.*, **35**, 223-230 (2001).
- 8) Rodrigues, D. F. & Tiedje, J. M. Coping with our cold planet. *Appl. Environ. Microbiol.*, **74**, 1677-86 (2008).
- 9) Allen, E. E., Facciotti, D. & Bartlett, D. H. Monounsaturated but not polyunsaturated fatty acids are required for growth of the deep-sea bacterium *Photobacterium profundum* SS9 at high pressure and low temperature. *Appl. Environ. Microbiol.*, **65**, 1710-20 (1999).
- 10) Kawamoto, J. et al. Favourable effects of eicosapentaenoic acid on the late step of the cell division in a piezophilic bacterium, *Shewanella violacea* DSS12, at high-hydrostatic pressures. *Environ. Microbiol.*, **13**, 2293-8 (2011).
- 11) Kawamoto, J. et al. Eicosapentaenoic acid plays a beneficial role in membrane organization and cell division

- of a cold-adapted bacterium, *Shewanella livingstonensis* Ac10. *J. Bacteriol.*, **191**, 632-40 (2009).
- 12) Sato, S. et al. Cold adaptation of eicosapentaenoic acid-less mutant of *Shewanella livingstonensis* Ac10 involving uptake and remodeling of synthetic phospholipids containing various polyunsaturated fatty acids. *Extremophiles*, **12**, 753-61 (2008).
- 13) Metz, J. G. et al. Production of polyunsaturated fatty acids by polyketide synthases in both prokaryotes and eukaryotes. *Science*, **293**, 290-3 (2001).
- 14) Gong, C., Kawamoto, J., Esaki, N. & Kurihara, T. Functional analysis of an eicosapentaenoic acid biosynthesis protein Orf2 from a psychrotrophic bacterium, *Shewanella livingstonensis* Ac10. *Trace Nutrients Research*, **29**, 84-91 (2012).
- 15) Methe, B. A. et al. The psychrophilic lifestyle as revealed by the genome sequence of *Colwellia psychrerythraea* 34H through genomic and proteomic analyses. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, **102**, 10913-8 (2005).
- 16) Nogi, Y., Kato, C. & Horikoshi, K. Taxonomic studies of deep-sea barophilic *Shewanella* strains and description of *Shewanella violacea* sp. nov. *Arch. Microbiol.*, **170**, 331-8 (1998).
- 17) Yongmanitchai, W. & Ward, O. P. Growth of and omega-3 fatty acid production by *Phaeodactylum tricornutum* under different culture conditions. *Appl. Environ. Microbiol.*, **57**, 419-25 (1991).
- 18) Miyake, R. et al. Construction of a low-temperature protein expression system using a cold-adapted bacterium, *Shewanella* sp. strain Ac10, as the host. *Appl. Environ. Microbiol.*, **73**, 4849-56 (2007).
- 19) Kawamoto, J., Kurihara, T., Kitagawa, M., Kato, I. & Esaki, N. Proteomic studies of an Antarctic cold-adapted bacterium, *Shewanella livingstonensis* Ac10, for global identification of cold-inducible proteins. *Extremophiles*, **11**, 819-26 (2007).
- 20) Okuyama, H., Orikasa, Y. & Nishida, T. Significance of antioxidative functions of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids in marine microorganisms. *Appl. Environ. Microbiol.*, **74**, 570-4 (2008).
- 21) Sato, S. et al. Occurrence of a bacterial membrane microdomain at the cell division site enriched in phospholipids with polyunsaturated hydrocarbon chains. *J. Biol. Chem.*, **287**, 24113-21 (2012).
- 22) Weiss, D. S. Bacterial cell division and the septal ring. *Mol. Microbiol.*, **54**, 588-97 (2004).
- 23) Dai, X. Z., Kawamoto, J., Sato, S. B., Esaki, N. & Kurihara, T. Eicosapentaenoic acid facilitates the folding of an outer membrane protein of the psychrotrophic bacterium, *Shewanella livingstonensis* Ac10. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **425**, 363-7 (2012).
- 24) Feller, S. E. & Gawrisch, K. Properties of docosahexaenoic-acid-containing lipids and their influence on the function of rhodopsin. *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **15**, 416-22 (2005).