

## グラム陽性菌に長鎖多価不飽和脂肪酸は存在するのか?

橋本美佳子<sup>1</sup>、布目仁志<sup>1</sup>、奥山英登志<sup>1</sup>、Carla C. C. R. de Carvalho<sup>2</sup>、花方寛<sup>3</sup>、水上誠<sup>3</sup>、宮内明<sup>3</sup>、佐藤眞美子<sup>4</sup>、伊村智<sup>5</sup>、渡邊研太郎<sup>5</sup>、吉田磨仁<sup>1</sup>

<sup>1</sup>北海道大学大学院地球環境、<sup>2</sup>*Instituto Superior Técnico, Institute for Biotechnology and Bioengineering, Instituto Superior Técnico, Universidade de Lisboa, Portugal*、<sup>3</sup>ヒゲタ醤油・研究開発部、<sup>4</sup>日本女子大学・電子顕微鏡施設、<sup>5</sup>国立極地研究所

### Are long-chain polyunsaturated fatty acids distributed in Gram-positive bacteria?

Mikako Hashimoto<sup>1</sup>, Hitoshi Nunome<sup>1</sup>, Hidetoshi Okuyama<sup>1</sup>, Carla C. C. R. de Carvalho<sup>2</sup>, Hiroshi Hanagata<sup>3</sup>, Makoto Mizukami<sup>3</sup>, Akira Miyauchi<sup>3</sup>, Mamiko Sato<sup>4</sup>, Satoshi Imura<sup>5</sup>, Kentaro Watanabe<sup>5</sup>, and Kiyohito Yoshida<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Graduate School of Environmental Science, Hokkaido University*, <sup>2</sup>*Institute for Biotechnology and Bioengineering, Instituto Superior Técnico, Universidade de Lisboa, Portugal*, <sup>3</sup>*Higeta Shoyu Co Ltd*, <sup>4</sup>*Laboratory of Electron Microscopy, Japan Women's University*, <sup>5</sup>*National Institute of Polar Research*

Bacteria which have been reported to produce long-chain polyunsaturated fatty acids (LC-PUFAs), including eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA), belong exclusively to Gram-negative bacteria<sup>1</sup>. These bacterial LC-PUFAs are synthesized *de novo* with the enzyme complex encoded by the *pfa* genes (*pfaA*–*pfaE*) in a polyketide biosynthesis mode. Comprehensive phylogenomic analysis reveals that phylogenetical distribution of the homologues of the *pfa* genes responsible for production of LC-PUFAs are also restricted in Gram-negative bacterial lineages<sup>2</sup>. Although LC-PUFAs in bacteria are considered to play important roles in cellular functions such as maintaining cell membrane fluidity under low temperature, ensuring proper cell division and acting as antioxidating agents, relationship between their functional significance and limited phylogenetic distribution is still ambiguous. In order to elucidate the cause of the biased distribution of LC-PUFAs in bacteria, we have tried to introduce the *pfa* gene cluster derived from EPA-producing marine bacteria into *Bacillus subtilis* and *Brevibacillus choshinensis* as model systems for Gram-positive bacteria. As a result, the transformed strains of *B. subtilis* apparently produced only a trace amount of EPA, whereas those of *B. choshinensis* produced no EPA. Recently it has been reported that Gram-positive *Rhodococcus erythropolis* can synthesize LC-PUFAs when exposed to harsh condition such as high salt stress<sup>3</sup>. In addition, the heterologous production of EPA/DHA was observed when cells of the Gram-positive bacterium *Lactococcus lactis* were transformed with the *pfa* genes from EPA/DHA-producing marine bacteria<sup>4</sup>. Taking our results into account, we will discuss the cause of the limited occurrence of LC-PUFAs synthesis in bacteria.

エイコサペンタエン酸やドコサヘキサエン酸などの長鎖多価不飽和脂肪酸(LC-PUFA)を作る細菌はグラム陰性菌に属するものしか知られていない<sup>1</sup>。細菌のLC-PUFAは、*pfa*遺伝子群(*pfaA*–*pfaE*)(図1)がコードする合成酵素複合体によってポリケチド合成様式で合成される。網羅的な系統ゲノム解析によれば、*pfa*遺伝子群の系統的分布もグラム陰性菌に限られている<sup>2</sup>。低温下での細胞膜流動性の維持、そして細胞分裂を適正に保つ機能や過酸化物質に対する抗酸化作用などが細菌におけるLC-PUFAの機能として示されているが、LC-PUFAの細胞機能と限定的分布の間に何らかの関係があるかは不明である。そこで、細菌におけるLC-PUFAの限定的分布の理由を探るために、*Bacillus subtilis*と*Brevibacillus choshinensis*をグラム陽性菌のモデル生物として用い、EPAを合成する海洋細菌由来の*pfa*遺伝子群をこれらの菌に導入し、EPAの合成を試みた。その結果、形質転換した*B. subtilis*株において微量ではあるがEPAの蓄積を認めた(図2)。一方、形質転換した*B. choshinensis*株においてはEPAは全く検出されなかった。最近、グラム陽性菌である*Rhodococcus erythropolis*は高塩濃度のような過酷な培養条件に晒されることによってLC-PUFAを合成することが報告された<sup>3</sup>。また、EPA/DHAを合成する海洋細菌の*pfa*遺伝子群をグラム陽性菌である*Lactococcus lactis*に導入すると、EPA/DHAが僅かながら蓄積されることが示された<sup>4</sup>。以上の知見をふまえ、細菌において、なぜLC-PUFAは限定的な分布をしているのかについて議論したい。

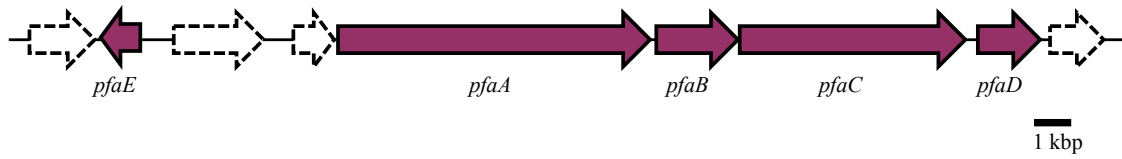


図1. 海洋細菌 *Shewanella pneumatophori* SCRC-2738 のゲノム上の *pfa* 遺伝子の構造

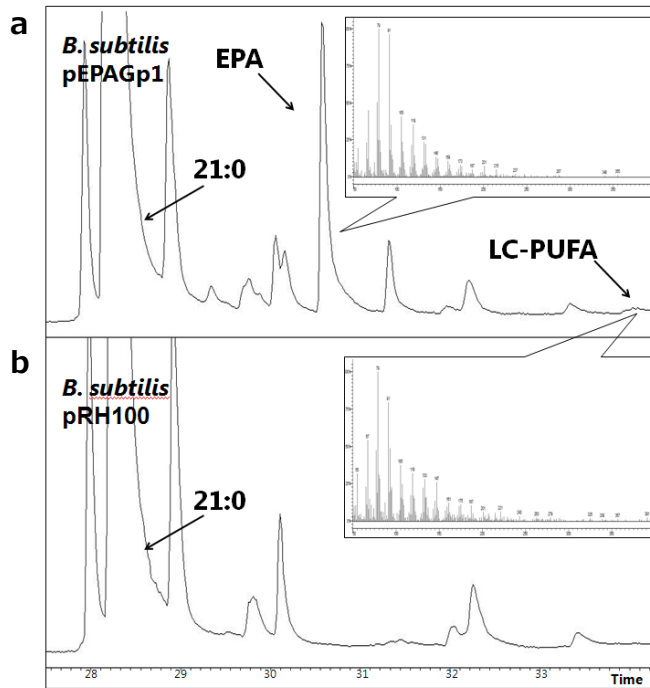


図2. 脂肪酸メチルエステルのガスクロマトグラムとマススペクトル。(a) *pfa* 遺伝子群を組み込んだプラスミドベクターで形質転換した *B. subtilis*。(b) ベクターのみを形質転換した *B. subtilis*。

## References

- 1) Bin Haji Mohd Taha, A. I. *et al.* in *Cold-Adapted Microorganisms*, ed. Isao Yumoto, Caister Academic Press, 189-214, 2013.
- 2) Shulse, C. N. and E. E. Allen, Widespread Occurrence of Secondary Lipid Biosynthesis Potential in Microbial Lineages, *PLoS One* 6(5), e20146, 2011.
- 3) de Carvalho, C. C. C. R. *et al.*, Rapid adaptation of *Rhodococcus erythropolis* cells to salt stress by synthesizing polyunsaturated fatty acids, *Appl. Microbiol. Biot.*, 98, 5599-5606, 2014.
- 4) Amiri-Jami, M. *et al.*, Engineering of EPA/DHA omega-3 fatty acid production by *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* MG1363, *Appl. Microbiol. Biot.*, 98, 3071-3080, 2014.