



细菌不饱和脂肪酸合成研究进展

余永红¹, 马建荣^{1*}, 张源寅², 鄢明峰², 张文彬²

1 广东食品药品职业学院, 广东 广州 510520

2 华南农业大学生命科学学院 广东省农业生物蛋白质功能与调控重点实验室, 广东 广州 510642

余永红, 马建荣, 张源寅, 鄢明峰, 张文彬. 细菌不饱和脂肪酸合成研究进展[J]. 微生物学报, 2024, 64(1): 14-29.

YU Yonghong, MA Jianrong, ZHANG Yuanyin, YAN Mingfeng, ZHANG Wenbin. Advances in synthesis of unsaturated fatty acids in bacteria[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2024, 64(1): 14-29.

摘要: 脂肪酸不仅是细菌细胞膜组分, 还是许多生物活性物质的合成原料。不饱和脂肪酸(unsaturated fatty acid, UFA)具有更低的相变温度, 是细菌调节细胞膜流动性的重要分子, 因此 UFA 合成途径是重要的抗菌药物筛选靶点。细菌可利用厌氧途径合成 UFA, 其中模式生物大肠杆菌利用经典的 FabA-FabB 途径合成 UFA, 但不同细菌中 UFA 合成的厌氧途径具有多样性, 相关催化酶类也不尽相同; 细菌还可以利用需氧途径合成 UFA, 利用脂肪酸脱饱和酶直接将饱和脂肪酸(saturated fatty acid, SFA)转化为不饱和脂肪酸, 而不同脱饱和酶会生成不同结构的 UFA, 在逆境耐受、致病力等多方面发挥重要作用; 细菌还可以利用单加氧酶, 将脂肪酸合成途径中癸酰酰基载体蛋白(acyl carrier protein, ACP)转化为顺-3-癸烯酰 ACP, 并最终合成 UFA。细菌脂肪酸合成相关的其他酶类在 UFA 合成或不同种类 UFA 调节中也发挥着重要作用。本文系统地总结了细菌 UFA 合成途径与相关酶类的多样性研究进展, 旨在为进一步了解细菌 UFA 合成机制, 并以此为靶点开发抗菌药物等方面提供理论支撑。

关键词: 脂肪酸合成; 不饱和脂肪酸; 厌氧途径; 需氧途径

资助项目: 广东省普通高校特色创新类项目(2022KTSCX271); 广东省医学科研基金(A2023056); 广东食品药品职业学院院级课题(2022ZR06, 2021ZR15)

This work was supported by the Characteristic Innovation Project of Colleges and Universities in Guangdong Province (2022KTSCX271), the Medical Science and Technology of Guangdong Province (A2023056), and the Science Foundation of Guangdong Food and Drug Vocational College (2022ZR06, 2021ZR15).

*Corresponding author. Tel: +86-20-29164616, Fax: +86-20-37216531, E-mail: mjr@gdyzy.edu.cn

Received: 2023-05-31; Accepted: 2023-08-14; Published online: 2023-09-07

Advances in synthesis of unsaturated fatty acids in bacteria

YU Yonghong¹, MA Jianrong^{1*}, ZHANG Yuanyin², YAN Mingfeng², ZHANG Wenbin²

¹ Guangdong Food and Drug Vocational College, Guangzhou 510520, Guangdong, China

² Guangdong Provincial Key Laboratory of Protein Function and Regulation in Agricultural Organisms, College of Life Sciences, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, Guangdong, China

Abstract: Fatty acids are not only the components of cell membrane but also the raw materials for the synthesis of bioactive molecules. Unsaturated fatty acids (UFAs) with low phase-transition temperatures are essential molecules for bacteria to regulate cell membrane fluidity. Therefore, the synthetic pathways of UFAs are key targets for the screening of antibacterial agents. Bacteria can adopt the anaerobic pathway to synthesize UFAs. For example, *Escherichia coli*, a model organism, synthesizes UFAs via the classic FabA-FabB pathway. However, the anaerobic pathways for the synthesis of UFAs vary in different bacteria, and the catalytic enzymes are also different. Bacteria can synthesize UFAs via aerobic pathways, in which fatty acid desaturase directly converts saturated fatty acids (SFAs) into UFAs. Different desaturases introduce double bond to form UFAs with different structures, which play roles in stress responses, pathogenicity and other aspects. Other enzymes involved in the synthesis of fatty acids can also participate in the synthesis of UFAs or regulation of different UFAs. Some bacteria can use monooxygenase to convert capryl-ACP (acyl carrier protein) in the fatty acid synthesis pathway into *cis*-3-decenyl ACP to synthesize UFAs. We comprehensively reviewed the research progress in the synthesis of UFAs in bacteria, aiming to provide theoretical support for deciphering the mechanism of bacterial synthesis of UFAs and developing the targeted antibacterial drugs.

Keywords: fatty acid synthesis; unsaturated fatty acids (UFAs); anaerobic pathway; aerobic pathway

脂肪酸(fatty acid, FA)是所有生物体必需的基础物质,也是细胞膜的主要成分。细菌能合成多种组分的脂肪酸,包括饱和脂肪酸(saturated fatty acid, SFA),如软脂酸(C_{16:0})和硬脂酸(C_{18:0});不饱和脂肪酸(unsaturated fatty acid, UFA),如棕榈油酸(Δ^9 -C_{16:1})、油酸(Δ^9 -C_{18:1})和顺型异油酸(Δ^{11} -C_{18:1})^[1];支链脂肪酸,如异构十五烷酸(iso-C_{15:0})和反异构十五烷酸(anteiso-C_{15:0})^[2];羟基脂肪酸,如3-羟基肉豆蔻酸(3-OH-C_{14:0})等^[3]。

与真核生物不同,细菌采用II型脂肪酸合

成(fatty acid synthesis II, FAS II)系统合成脂肪酸,由酰基载体蛋白(acyl carrier protein, ACP)携带不同的脂酰基团,经过聚合、还原、脱水和再还原后,从头合成脂肪酸,而FAS II系统的酶系被认为是重要的抗菌药物筛选靶标群^[4]。细菌合成的脂肪酸不仅是细胞膜的组成成分,还具有多方面的生物学功能。3-羟基脂肪酸是革兰阴性菌中外膜类脂A的合成前体,而细菌类脂A能引起多种致病效应,被免疫细胞识别为病原体相关分子^[5]。细菌脂肪酸合成系统的中间代谢产物是革兰阴性菌群体感应AHL、DSF

家族信号分子合成的前体^[6]。细菌脂肪酸还可为其他活性分子的合成提供前体，如硫辛酸(lipoic acid)^[7]、生物素(biotin)^[8]、聚羟基脂肪酸脂(polyhydroxyalkanoate, PHA)^[9]和鼠李糖酯^[10]等。

流动性是细胞膜的重要特征，其中细胞膜磷脂分子的脂肪酸链种类以及比例是影响细胞膜流动性的重要因素。细菌细胞通过调节脂肪酸的种类和组成，维持细胞膜稳定，保持细胞膜功能正常运行，适应不同逆境生长^[11]。不饱和脂肪酸(unsaturated fatty acid, UFA)具有较低的相变温度，是细菌调节细胞膜流动性的重要分子，也被认为是细菌维持正常膜结构和细胞功能的必需原料，而 UFA 合成途径的相关酶类是开发抗菌药物的重要靶标，在药物研发中具有巨大的潜力^[12]。为此，本文将对细菌中 UFA 合成研究进展进行综述。

1 厌氧性途径合成不饱和脂肪酸

以大肠杆菌(*Escherichia coli*)为模式生物，对II型脂肪酸合成系统的研究已经相当深入。大肠杆菌脂肪酸合成包括起始反应和循环

反应两个阶段：起始反应由乙酰辅酶 A 羧化酶(acetyl-CoA carboxylase, Acc ABCD)、丙二酸单酰辅酶 A:ACP 转酰基酶(malonyl-CoA:ACP transacylase, FabD)和 3-酮脂酰 ACP 合成酶 III(3-ketoacyl-ACP synthetase III, FabH)分步负责催化，生成 3-酮基丁酰 ACP，而后进入循环反应；循环反应分 4 步，由 3-酮脂酰 ACP 合成酶 I 或 II(3-ketoacyl-ACP synthetase, FabB 或 FabF)、3-酮脂酰 ACP 还原酶(3-ketoacyl-ACP reductase, FabG)、3-羟基癸脂酰 ACP 脱水酶(3-hydroxyacyl-ACP dehydratase, FabA 或 FabZ)、烯酰 ACP 还原酶(enoyl-ACP reductase, FabI)分别连续催化，生成脂酰 ACP 进入新的循环反应^[13]。每一次循环脂酰碳链增加 2 个碳原子，最终生成含 16–18 个碳原子的长链脂酰 ACP (图 1)^[13]。

1.1 经典的 FabA-FabB 途径

Bloch 等在研究丁酸梭菌(*Clostridium butyricum*)脂肪酸合成时，提出其不饱和脂肪酸合成是饱和脂肪酸合成的分支反应，且分支点为羟基癸酸，该观点在大肠杆菌中得到证实^[13]。大肠杆菌采用厌氧途径合成不饱和脂肪酸，其 FabA 和 FabB 是该途径的关键酶(统称为 FabA-FabB 途

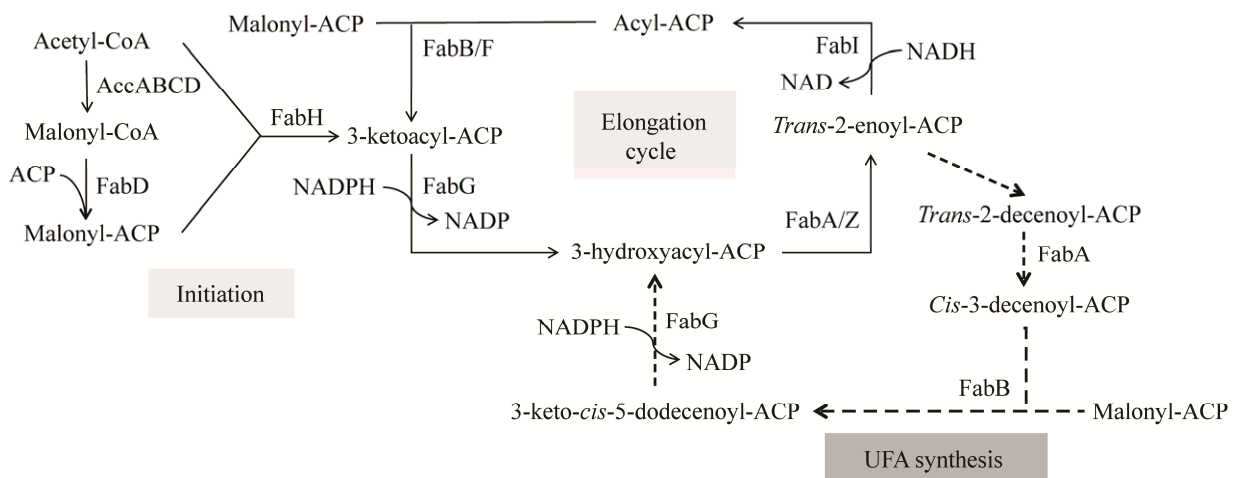


图 1 大肠杆菌中饱和脂肪酸与不饱和脂肪酸合成

Figure 1 Saturated and unsaturated fatty acids synthesis in *Escherichia coli*.

径)^[13]。脂肪酸合成循环反应生成的 3-羟基癸脂酰 ACP，部分被 FabA 催化脱水并异构化，生成顺-3-癸烯脂酰 ACP，但该产物不能被烯脂酰 ACP 还原酶 FabI 催化，而后在 3-酮脂酰 ACP 合成酶 I (FabB) 催化下，与丙二酸单酰 ACP 聚合，生成 3-酮基-顺-5-十二碳烯脂酰 ACP，进一步被 FabG 催化后进入循环反应，最终保留双键形成棕榈油酸 (Δ^9 -C_{16:1}) 或顺型异油酸 (Δ^{11} -C_{18:1}) (图 2A)^[14]。

大肠杆菌中含有两种 3-羟脂酰 ACP 脱水酶：FabA 和 FabZ，都能催化脱水反应。但 FabA 还具有异构酶功能，能将生成的反-2-癸烯脂酰 ACP 生成顺-3-癸烯脂酰 ACP，使双键不能被还原而最终形成 UFA^[17]。在疏水作用和氢键作用下，大肠杆菌 FabA (PDB: 1MKA) 形成同型二聚体，每个亚基中 7 个反向平行的 β 折叠围绕 5 个疏水的 α 螺旋形成经典的 $\beta+\alpha$ “热狗”

结构^[15]。FabA 中 70 位组氨酸(His₇₀)为活性关键位点，而 69 位半胱氨酸(Cys₆₉)对催化活性有重要作用(图 2B)；由于活性口袋大小正好适合 3-羟基癸脂酰 ACP，FabA 对该底物具有最高的催化活性^[18]。而在催化过程中，FabA 的关键天冬氨酸残基(Asp₈₄)对脂酰基团中 4 位碳(C₄)去质子化，将反式-2-癸烯脂酰 ACP 生成顺式-3-癸烯脂酰 ACP。与 FabA 不同，FabZ 对短链以及长链的饱和与不饱和的 3-羟脂酰 ACP 都具有脱水酶活性，结构中具有 3-羟脂酰 ACP 脱水酶 2 个保守的 α 螺旋结构。

大肠杆菌编码 3 种 3-酮脂酰 ACP 合成酶 I (FabB)、II (FabF) 和 III (FabH)，其中 *fabF*、*fabH* 位于保守的脂肪酸合成基因簇中，而 *fabB* 与 *fabA* 独立存在。FabH 催化乙酰 CoA 与丙二酸单酰 ACP 聚合，完成脂肪酸合成起始^[19]。而 FabB/FabF 在循环反应中催化脂酰 ACP 与丙二

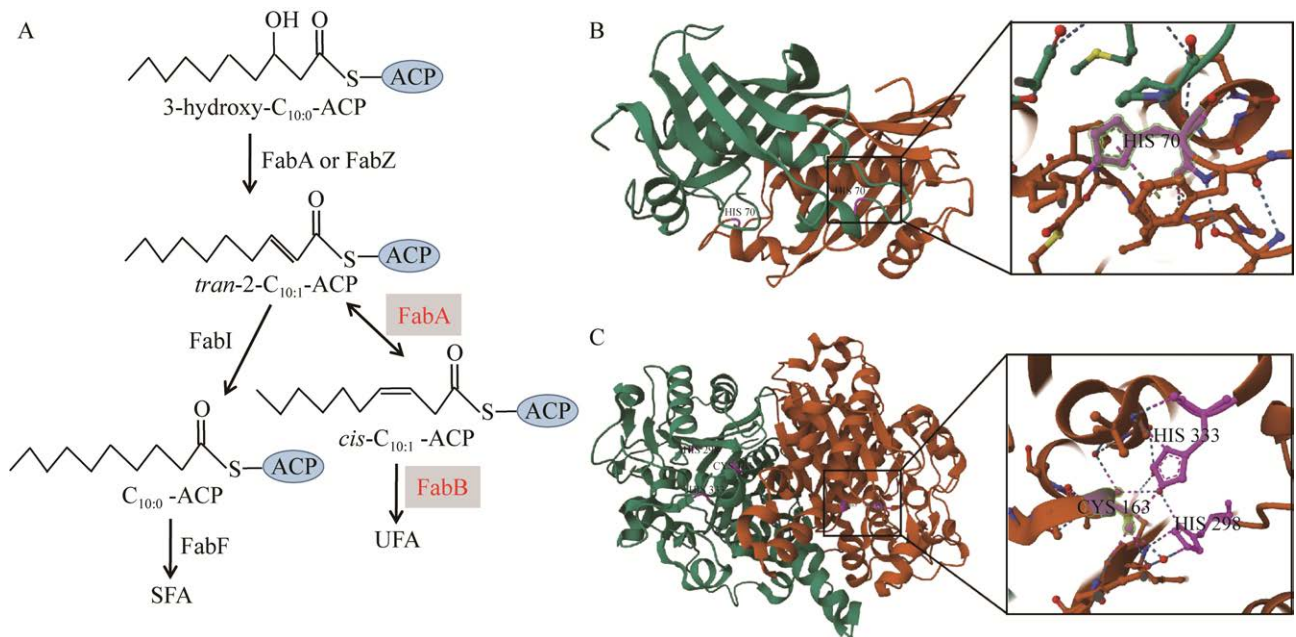


图 2 大肠杆菌利用 FabA-FabB 途径合成不饱和脂肪酸^[14-16]

Figure 2 The FabA-FabB pathway for unsaturated fatty acids synthesis in *Escherichia coli*^[14-16]. A: FabA-FabB pathway. B: Crystal structure of *E. coli* FabA. The active site (His₇₀) is shown in pink color. C: Crystal structure of *E. coli* FabB. The active sites (Cys₁₆₃-His₂₉₈-His₃₃₃) are shown in pink color.

酸单酰 ACP 缩合, 完成脂肪酸链延伸。虽然 FabB/FabF 在催化饱和脂肪酸合成中功能类似, 但两者在不饱和脂肪酸合成中功能不同, FabB 能以顺-3-癸烯酰 ACP 为底物, 将其延伸为长链的不饱和脂酰 ACP, 也是不饱和脂肪酸合成的关键酶, 而 FabF 负责将棕榈油酰 ACP (C_{16:1}) 转化成顺-11-十八烯酰 ACP^[20]。FabB/FabF/FabH 三者的蛋白结构较为类似, 均为 $\alpha\beta\alpha\beta$ 型同源二聚体结构, 但 FabB (PDB ID: 1G5X)/FabF (PDB ID: 2GFY) 的活性催化中心为 Cys-His-His, FabH (PDB ID: 2GFW) 的催化中心为 Cys-His-Asn, 活性口袋差异可能与不同底物识别机制有关 (图 2C)^[16]。

虽然 FabA 和 FabB 都是 UFA 合成关键酶, 但在大肠杆菌中过表达 *fabA* 不能提高 UFAs 含量, 相反提高膜磷脂中 SFA 含量, 说明 FabA 不是 UFA 合成的限速酶; 而过表达 *fabB* 后膜磷脂中 Δ^{11} -C_{18:1} 含量增加, UFA 比例也提高, 因此大肠杆菌中 FabA/FabB 比例直接影响其 SFA/UFA 比例^[21]。

许多细菌也利用 FabA-FabB 途径合成 UFA。苜蓿中华根瘤菌 (*Sinorhizobium meliloti*) 编码的 SmFabA-SmFabB 与大肠杆菌 FabA-FabB 具有较高的序列一致性 (>60%) 和类似的催化活性中心, 能分别互补大肠杆菌 *fabA* 和 *fabB* 温度敏感突变株在非允许温度 (42 °C) 下生长, 恢复 UFA 合成, 体外活性分析发现 SmFabA 具有脱水异构酶活性, 而 SmFabB 具有 3-酮脂酰 ACP 合成酶 I 活性, 但不能获得 *SmfabA* 和 *SmfabB* 的基因敲除突变株, 证明 FabA-FabB 是苜蓿中华根瘤菌中 UFA 合成的关键途径^[22]。铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 中 *PafabA-PafabB* 能分别互补大肠杆菌 *fabA-fabB* 突变株, 且在厌氧培养条件下, 铜绿假单胞菌 *fabA-fabB* 突变株为 UFA 营养缺陷型, 证明该途径在 UFA 合成中

的重要性; 但与大肠杆菌不同, *PafabA-PafabB* 形成共转录操纵子^[21]。Dong 等报道恶臭假单胞菌 (*Pseudomonas putida*) 基因组也编码 *fabA-fabB* 操纵子, 转录分析还发现 *fabA* 内部还含有 *fabB* 的启动子, 但其活性只有 *fabA* 启动子的 14%, 恶臭假单胞菌 *fabA* 和 *fabB* 基因敲除株需要添加 UFA 才能恢复生长, 证明 FabA-FabB 途径在 UFA 合成中也发挥关键作用^[23]。

野油菜黄单胞菌 (*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*) 基因组中也含有 *fabA-fabB* 操纵子, *XccfabA-XccfabB* 都能异体遗传互补大肠杆菌 *fabA-fabB* 突变菌株, 恢复 UFA 合成, 体外检测 XccFabA-XccFabB 也都具有催化 UFA 合成的活性, 但 *XccfabA* 和 *XccfabB* 敲除突变株都能正常生长, 且 UFA 合成基本不受影响, 但改变了群体感应信号分子扩散信号因子 (diffusible signal factor, DSF) 产量, 说明野油菜黄单胞菌中 FabA-FabB 不是 UFA 合成的关键途径, 而采用未知的新途径合成 UFA^[24]。

1.2 FabA-FabB 类似途径

随着研究的深入, 研究者发现 FabA-FabB 途径仅存在于变形菌门 (*Proteobacteria*) 的 α 和 γ 类群中, 利用生物信息学方法同源比对发现, 在许多革兰阳性菌的基因组中不能找到大肠杆菌 FabA 和 (或) FabB 的同源序列, 说明这些细菌利用不同的酶 (系) 合成 UFA。

革兰阳性菌粪肠球菌 (*Enterococcus faecalis*) 采用 FabN-FabO/FabF 途径合成 UFA, 其中 FabN 的氨基酸序列与大肠杆菌 FabZ 序列一致性超过 70%, 也形成六聚体结构, 但 FabN 活性与大肠杆菌 FabA 类似, 不仅具有脱水酶活性, 还具有异构酶活性, 为 UFA 合成关键酶^[25]。而粪肠球菌中 2 个 3-酮脂酰 ACP 合成酶编码基因 *fabO* 和 *fabF* 都能异体互补大肠杆菌 *fabB* 突变株, 体外实验也证明 FabO 和 FabF 能催化顺-3-癸烯酰

ACP 与丙二酸单酰 ACP 聚合反应, 并保留不饱和键最终生成 Δ^9 -C_{16:1}, 而 *fabO* 或 *fabF* 敲除都显著降低 UFA 产量(图 3A)^[26]。

肺炎链球菌(*Streptococcus pneumoniae*)基因组中不含有 *fabA* 同源基因, 但编码异构酶 FabM, 将 FabZ 催化生成的反-2-癸脂酰 ACP 异构化为顺-3-癸脂酰 ACP, 并在 FabF 催化下进一步延伸生成 UFA, 因此肺炎链球菌利用 FabZ-FabM-FabF 途径合成 UFA^[27]。类似结果在变形链球菌(*Streptococcus mutans*)也有报道, *fabM* 突变株不能合成 UFA, 生长速度变慢, 对酸性条件的敏感性显著增加, 细胞膜通透性降低, 但培养基中添加 UFA 或回补 *fabM* 都能恢复 Δ *fabM* 突变株的生长缺陷, 证明 FabM 在 UFA 合成中发挥关键作用(图 3B)^[28]。

绿色气球菌(*Aerococcus viridans*)基因组中仅有一个 *fabA/fabZ* 的同源基因 *fabQ*, 而 FabQ 具有脱水与异构双功能酶活性, 可将 3-羟基月桂酰 ACP 脱水、异构生成顺-3-月桂烯酰 ACP, 进一步在 FabF 催化下生成 UFA (图 3C)^[29]。FabQ 可催化多种链长的 3-羟基脂酰 ACP, 在大肠杆

菌 FabB 催化下聚合延伸, 生成多不饱和脂肪酸, 为在细菌中合成多不饱和脂肪酸提供了可能途径^[29]。在希瓦氏菌(*Shewanella oneidensis*)中 SoFabB 具有 3-酮脂酰 ACP 合成酶I的活性, 负责不饱和脂肪酸的合成, 但 SoFabB 还有延伸棕榈油酰 ACP 形成顺-11-十八烯酰 ACP 的能力, 表现出 3-酮脂酰 ACP 合成酶II的活性, 且过表达 *SofabB* 对细菌生长有明显的抑制^[30]。另外, SoFabF1 也具有 3-酮脂酰 ACP 合成酶I和II的双重活性, 在 Δ *SofabB* 菌株中, *SofabF1* 表达水平显著提高, SoFabF1 催化 UFA 合成^[31]。

淋病奈瑟菌(*Neisseria gonorrhoeae*)中 UGO_1024 (*ufaA*)在厌氧条件下诱导表达, 该基因突变株在有氧条件下能正常生长, 但在厌氧条件下不能生长, 而添加 UFA 能恢复生长, 表明 UfaA 在厌氧条件下参与 UFA 合成, 且淋病奈瑟菌可利用有氧途径和厌氧途径合成 UFA。UfaA 与大肠杆菌 FabA 无同源性, 细菌中 UFA 合成途径相关基因(如 *fabA*、*fabB*、*fabM*)都不能恢复 *ufaA* 突变株在厌氧条件下生长, 而 *ufaA* 同源基因在不含 *fabA* 基因的厌氧菌或兼性厌

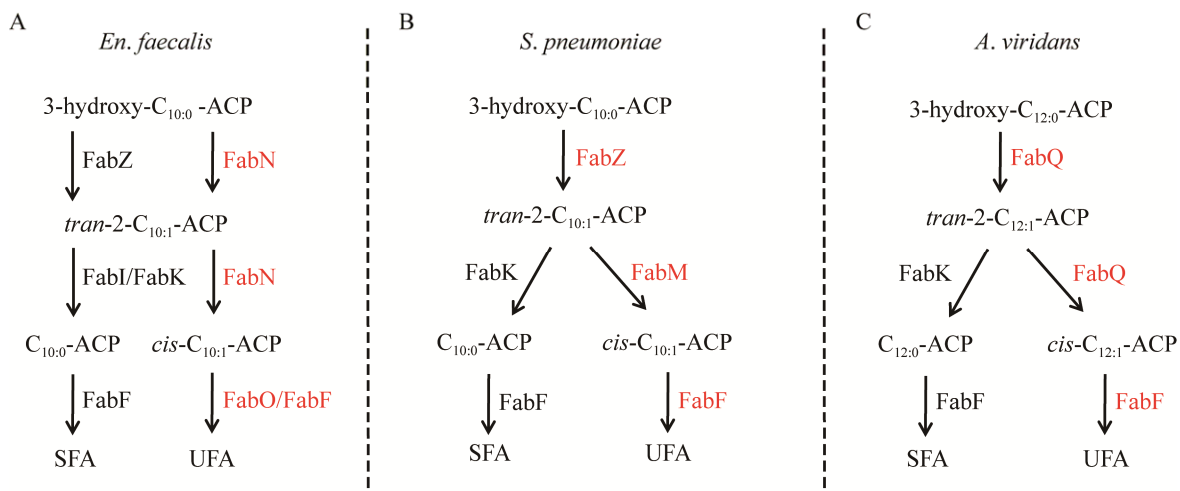


图 3 不同厌氧途径合成不饱和脂肪酸

Figure 3 The different anaerobic pathways for UFA synthesis. A: *Enterococcus faecalis*. B: *Streptococcus pneumoniae*. C: *Aerococcus viridans*.

菌中广泛存在, 表明 UfaA 可能参与独特的 UFA 合成厌氧途径^[32]。

2 需氧性途径合成不饱和脂肪酸

2.1 脱饱和酶途径

脂肪酸脱饱和酶(fatty acid desaturase, FAD)可对不同底物引入双键, 将饱和脂肪酸转变为不饱和脂肪酸, 同时消耗氧分子(O₂)和还原力 NADPH、NADH^[33]。FAD 普遍存在, 可分为可溶型和膜结合型。可溶型 FAD 以脂酰 ACP 为底物, 也称为脂酰 ACP 脱饱和酶, 主要存在于高等植物中, 含有保守的[(D/E)X₂H]₂ 结构域, 与氧分子和 2 个铁离子形成活性复合物, 专一性将硬脂酸(C_{18:0})催化生成油酸(Δ^9 -C_{18:1}); 而膜结合型 FAD 主要存在于细菌和高等真核生物中, 又可分为脂酰-脂脱饱和酶和脂酰 CoA 脱饱和酶^[34]。膜结合型 FAD 以铁氧化蛋白或细胞色素 b₅ 作为电子供体, 含有 4 个跨膜区域和 3 个富含组氨酸残基的保守序列 HX_{3,4}H、HX_{2,3}HH 和 H/QX_{2,3}HH (H 为组氨酸, X 为任意氨基酸, Q 为谷氨酰胺)^[35]。

通过异体互补大肠杆菌突变株, Aguilar 等最早在枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)中克隆到 FAD 编码基因 *des*^[36]。Des 含有 3 个保守的活性位点, 在脂肪酸的 C₅ 和 C₆ 之间生成双键, 为 Δ^5 -脱饱和酶^[37]。枯草芽孢杆菌 *des* 突变株在不同温度都不产生 UFA, 但 *des* 在低温时高表达, 为冷诱导型脱饱和酶^[36]。铜绿假单胞菌主要利用保守的 FabA-FabB 途径合成 UFA 外, 还具有 2 条脱饱和酶途径(DesA 途径和 DesB 途径)^[38]。其中 DesA 作用于膜磷脂的 *sn*-2 位置棕榈酸(C_{16:0})产生顺-9-十六烯酸(Δ^9 -C_{16:1}), 而 DesB 以游离的硬脂酰辅酶 A (C_{18:0}-CoA)为底物, 脱饱和生成十八碳酰辅酶 A (C_{18:1}-CoA), 并通过酰基甘油磷酸转移酶(PlsB/C)进入细胞

膜, *desB* 的表达受转录因子 DesT 抑制^[38]。虽然铜绿假单胞菌中 DesB 不是 UFAs 合成关键酶, 但 *desB* 突变株中蛋白酶、绿脓菌素和鼠李糖脂产量显著下降, 对 NaCl 耐受性下降, 同时运动性和致病力都显著降低, 因此 DesB 不仅是脂肪酸脱饱和酶, 还调节铜绿假单胞菌的致病能力, 并影响菌体对渗透压的适应性^[39-40]。

鲍曼不动杆菌(*Acinetobacter baumannii*)为严格需氧菌, 不能利用厌氧途径合成 UFA, 但编码 2 个脂酰 CoA 脱饱和酶 DesA 和 DesB, 且两者与铜绿假单胞菌中 DesA 和 DesB 有较高的序列一致性。鲍曼不动杆菌 *desB* 突变株生长变慢, $\Delta desA$ 生长速率也显著降低, 而 $\Delta desA \Delta desB$ 完全不能生长, 但添加油酸都能恢复 3 种敲除突变株生长, 证明 DesA 和 DesB 在 UFA 合成中都发挥重要作用。 $\Delta desB$ 中 C_{18:0} 升高了 46%, 而 Δ^9 -C_{18:1} 产量则相应显著下降, 而 $\Delta desA$ 中 Δ^9 -C_{16:1} 含量下降了 12%, 表明 DesB 和 DesA 具有底物选择特异性^[41]。动物实验发现, *desB* 敲除不影响菌株在呼吸系统定殖, 但 DesB 在侵袭性疾病中发挥功能, 而 DesA 在支气管肺泡定殖中发挥重要作用; 转录因子 DesT 可直接与 *desB* 启动子区结合, 阻遏 *desB* 表达, 调节 UFA 含量^[41]。

苜蓿中华根瘤菌(*S. meliloti*)中脱饱和酶 DesA 可对 SFA 脱饱和和生成 Δ^9 -C_{16:1} 和 Δ^{11} -C_{18:1}; *SmdesA* 突变不影响菌体的脂肪酸组成, 但会显著降低菌体在低温和高盐条件下生长速率以及与紫花苜蓿共生结瘤的能力, 说明 SmDesA 虽不是 UFA 合成关键酶, 但在应对逆境胁迫和共生结瘤中具有重要的生物学功能^[42]。茄科雷尔氏菌(*Ralstonia solanacearum*)中 DesA 虽参与 UFA 合成, 但也不是关键途径^[43]。

蜡状芽孢杆菌(*Bacillus cereus*)在低温培养条件下产生大量 UFA, 其基因组编码 2 个脱饱

和酶 DesA(Δ^5)和 DesB(Δ^{10}), 其中 DesA 可利用铁氧还蛋白和黄素氧还蛋白作为电子受体, 而 DesB 以黄素氧还蛋白作为电子受体, 低温可诱导 *desA* 和 *desB* 表达^[44]。耐冷菌假单胞菌 (*Pseudomonas* sp.) A8 在低温时(4 °C)产生大量 UFA (主要组分为 Δ^9 -C_{18:1}), 其基因组中含有 Δ^9 -脱饱和酶编码基因 *PA8FAD9*; 在大肠杆菌中过表达 *PA8FAD9* 后, 棕榈油酸(Δ^9 -C_{16:1})产量显著提高, 也可将体外添加的硬脂酸(C_{18:0})转化为油酸(Δ^9 -C_{18:1})^[45]。恶臭假单胞菌也编码 Δ^9 -脱饱和酶 DesA, 在大肠杆菌中表达 *desA* 可显著提高 UFA 含量, 并提高膜的流动性; 当在培养基中添加阳离子去污剂时, 恶臭假单胞菌的 DesA 活性下降, UFA 产量也显著下降, 也说明 DesA 在 UFA 合成中发挥重要作用^[46]。

虽然可溶性 FAD 的晶体结构(如 *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv DesA2)已被揭示, 但膜结合型 FAD 的晶体结构报道较少, 包括鼠源硬脂酰 CoA 脱饱和酶(PDB ID: 4YMK)和人源硬脂酰

CoA 脱饱和酶(PDB ID: 4ZY0), 而细菌来源的膜结合型 FAD 结构还未见报道。Garba 等利用同源建模和对接方法, 对假单胞菌(*Pseudomonas* sp.) A8 中 Δ^9 -脱饱和酶结构进行了预测, 结果显示, 与动物来源的 FAD 含有 4 个跨膜区域(transmembrane, TM)不同, 该蛋白只含有 TM1 (Leu₁₃-Leu₃₃)、TM2 (Leu₁₃₅-Ile₁₅₉)和 TM3 (Met₁₆₂-Tyr₁₈₁) 3 个跨膜区域(图 4A); 但与已知的膜结合型 FAD 类似, 该酶具有 3 个保守的富含组氨酸基序(motif), 分别为基序 1 (His₃₄、His₃₉)、基序 2 (His₇₁、His₇₄、His₇₅)和基序 3 (His₂₀₆、His₂₀₉、His₂₁₀), 且均为催化活性必需氨基酸(图 4B)^[47]。

2.2 单加氧酶途径

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*)利用 UFA 调节膜的结构与功能, 但其基因组中没有厌氧途径合成 UFA 的关键酶编码基因, 也没有需氧途径中脱饱和酶编码基因。Bi 等分析发现, 幽门螺杆菌基因组中 HP0773 (FabX)与淋病奈瑟菌中 UfaA 具有同源性(氨基酸序列一致性为 31%),

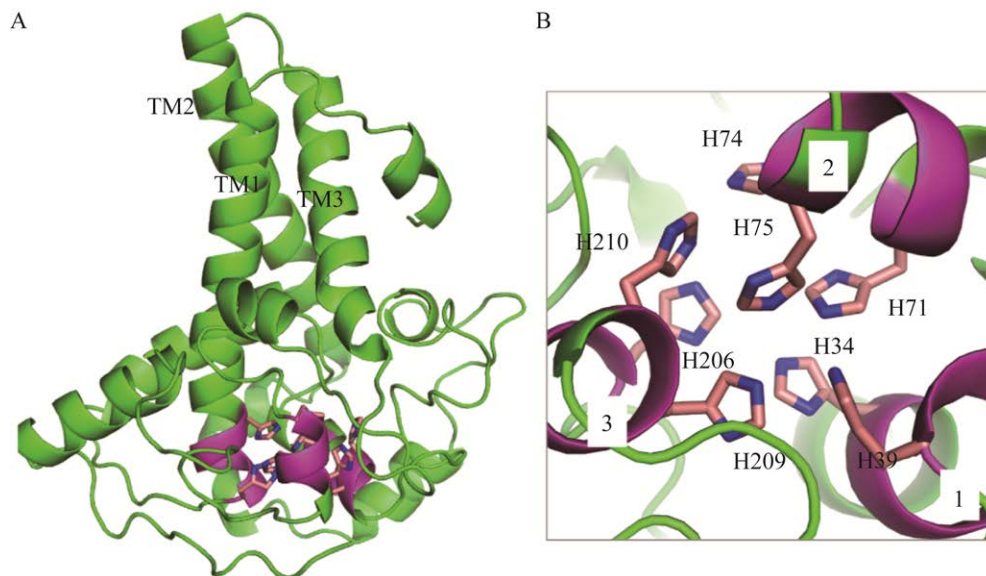


图 4 假单胞菌(*Pseudomonas* sp.) A8 中 Δ^9 -脱饱和酶结构模型^[47]

Figure 4 *Pseudomonas* sp. AMS8 Δ^9 -fatty acid desaturase model^[47]. A: Three transmembrane domains (TM). B: The putative catalytic site residues with the histidine residues.

而过表达 *fabX* 虽然不能恢复大肠杆菌 *fabA* 突变株 HW8 的正常生长, 但放射性标记实验发现互补菌株能合成少量的棕榈油酸(Δ^9 -C_{16:1})和异油酸(Δ^{11} -C_{18:1}), 证明 FabX 能催化 UFA 合成^[48]。在大肠杆菌 *fabA* 突变株 HW8 中同时表达 *fabX* 和哈氏弧菌(*Vibrio harveyi*)来源的脂酰 ACP 合成酶(AasS)基因, 可利用辛酸(C_{8:0})和癸酸(C_{10:0})合成长链 SFA 和 UFA (Δ^9 -C_{16:1} 和 Δ^{11} -C_{18:1}), 但添加月桂酸(C_{12:0})时只能合成长链 SFA^[48]。体外活性也证明, FabX 对癸酰 ACP 的催化活性是辛酸 ACP 的 2 倍, 而对癸酰 CoA、己酰 ACP 和月桂酰 ACP 的催化活性很弱^[49]。以黄素单核苷酸(flavin mononucleotides, FMN)为辅因子, FabX 可催化癸酰 ACP 脱氢生成反-2-癸烯酰

ACP, 并异构化生成顺-3-癸烯酰 ACP, 进一步被 FabB 催化延伸生成长链 UFA (图 5A); 但在厌氧条件下 FabX 没有催化活性, 氧气(O₂)是 FabX 催化脱氢反应的电子受体, 在低浓度(3%)时即有较好的催化活性, 且活性随着氧气浓度增加而增加^[48]。幽门螺杆菌中 *fabX* 是生长必需基因, 只有先表达大肠杆菌 *fabA* 后才能获得 *fabX* 敲除突变株^[49]。

FabX 属于硝基单加氧酶 (nitronate monooxygenase, NMO) 黄素蛋白家族, 含有 363 个氨基酸^[49]。晶体结构显示 FabX 蛋白(PDB ID: 7E1Q)的 N 端(1-266 位氨基酸)为典型的 TIM 桶型折叠结构域(包括 8 个 β 片层和 11 个 α 螺旋), 含有由 8 个连续的 β 折叠- α 螺旋重复序列组

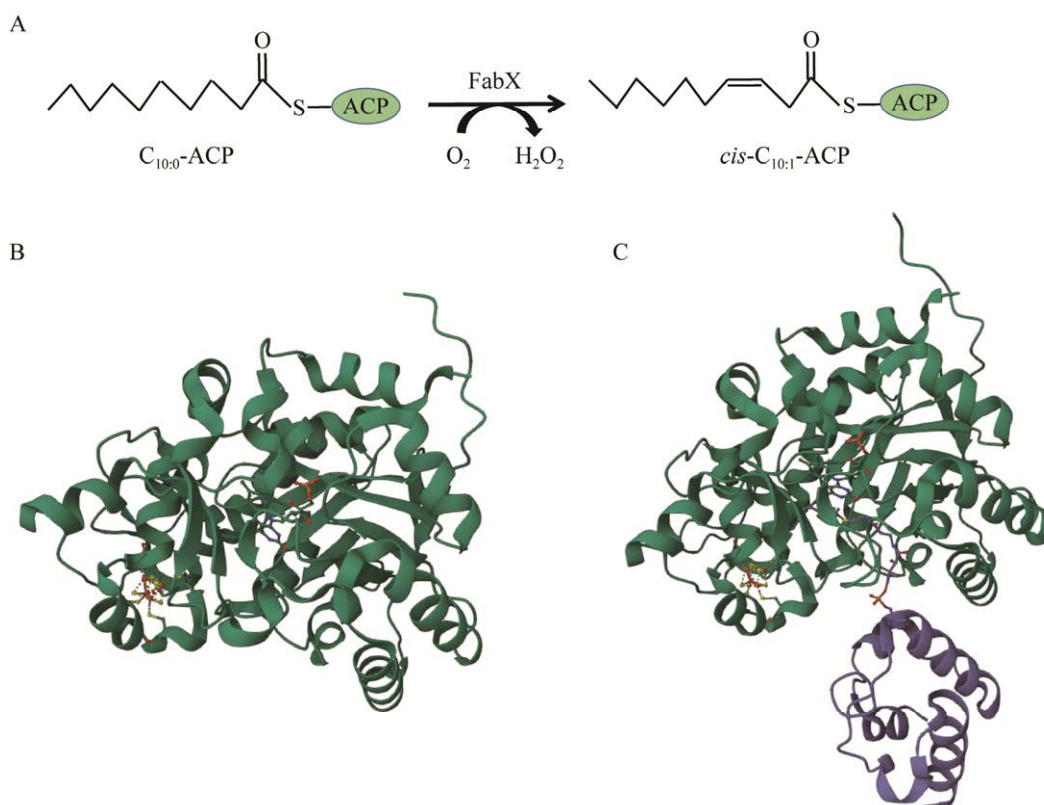


图 5 FabX 催化的反应与蛋白晶体结构^[48-49]

Figure 5 The chemical reactions catalyzed by FabX^[48-49]. A: FabX catalyzes the dehydration and isomerization. B: Crystal structure of FabX protein. C: Crystal structure of FabX-capryl ACP complex.

成的 FMN 辅因子结合核心(图 5B); FMN 以非共价弱作用力结合在 FabX 的活性口袋中, 而 182 位组氨酸(His₁₈₂)中 2 个氮原子与 FMN 中 4 个氮原子组成带正电的氧离子洞, 可容纳催化反应电子受体氧分子; 将 His₁₈₂ 突变为苯丙氨酸后, FabX 催化活性完全丧失, 但不影响 FMN 结合与蛋白稳定性; 而 His₁₈₂ 突变为谷氨酰胺后, 不仅催化活性丧失, FMN 结合能力和蛋白稳定性都显著下降, 因此 His₁₈₂ 对 FabX 稳定性、辅因子 FMN 结合和催化活性都至关重要^[49]。

FabX 蛋白的 C 端(267–363 位氨基酸)含有 [4Fe-4S] 簇结合域, 由 6 个 α 螺旋和 2 个 β 折叠组成, 4 个半胱氨酸残基(Cys₃₀₀、Cys₃₀₄、Cys₃₀₈ 和 Cys₃₂₀)通过配位键相互作用形成 [4Fe-4S] 簇, 而这 4 个半胱氨酸突变均引起蛋白质稳定性降低, 催化活性降低或完全丧失, 因此 [4Fe-4S] 簇对 FabX 的催化活性也至关重要^[49]。基于 FabX 与 ACP 和底物癸酰 ACP 晶体结构分析, Zhou 等推测 FabX 的催化机制为: (1) 利用静电作用和疏水作用, FabX 通过其 α 7-螺旋识别并结合癸酰 ACP 底物的 α 2 和 α 3-螺旋, 而后 ACP 旋转 α 2 螺旋后将癸酰基链部分插入到 FabX 的活性通道(图 5C)^[49]。FabX 中 His₁₈₂ 侧链 N ^{δ 1} 原子亲核攻击癸酰基链 C₂ 位氢原子获得一个质子, 另一个质子与 2 个电子转移到辅因子 FMN 中。其中一个质子/电子对与 FMN 结合生成 FMN \cdot 中间体, 而另一个电子传递给 [4Fe-4S] 簇。与此同时, 反-2-癸酰 ACP 中间产物异构生成顺-3-癸酰 ACP, 并离开 FabX; (2) 反应体系中的氧分子进入 FabX 的活性通道, 氧化 FMN \cdot 生成超氧化物分子, 并离开氧离子洞。而后第 2 个氧分子再被氧离子洞捕获, 同时 [4Fe-4S] 簇中的电子再传递给 FMN 生成 FMN \cdot 中间体, 并生成第 2 个超氧化物分子; (3) 氧离子洞中超氧化物分子释放出来, 与 FMN 和 His₁₈₂ 质子生成过氧化氢

(H₂O₂)分泌到胞外, 在致病过程中发挥作用^[49]。辅因子 FMN 和 [4Fe-4S] 簇恢复到氧化态, 而 FabX 结合癸酰 ACP 进入新一轮催化^[49]。

3 其他酶类对 UFA 合成的影响

3.1 3-酮脂酰 ACP 合成酶 II

在大肠杆菌中, 3-酮脂酰 ACP 合成酶 II (FabF) 是脂肪酸合成途径中唯一的非必需蛋白, 但 *fabF* 突变株的异油酸(Δ^{11} -C_{18:1})含量下降, 而棕榈油酸(Δ^9 -C_{16:1})含量上升, 证明 FabF 在从棕榈油酸延伸为异油酸过程中发挥关键作用^[50]。大肠杆菌 FabF 为温度敏感酶类, 其催化活性在低温时升高, 而高温时降低, 以满足细胞膜在不同温度条件下的流动性^[19]。

与大肠杆菌类似, 厚壁菌门的粪肠球菌基因组也编码类似功能的 FabF 蛋白, Δ *fabF* 菌株的生长与野生菌类似, 但膜磷脂中异油酸(Δ^9 -C_{18:1})含量急剧下降, 而棕榈油酸(Δ^9 -C_{16:1})的含量则显著上升^[26]。粪肠球菌中 UFA 含量随着培养温度升高而降低, 但 Δ *fabF* 菌株在不同培养温度下(18–42 °C), 脂肪酸组分没有显著变化, 且约 70% 的组分为棕榈油酸, 证明粪肠球菌 FabF 在调节 UFA 的不同组分中发挥关键性作用^[26]。

3.2 烯脂酰 ACP 还原酶

在细菌 FAS II 循环反应中, 烯脂酰 ACP 还原酶催化反-2-烯脂酰 ACP 还原, 而 UFA 合成途径中异构酶与烯脂酰 ACP 还原酶竞争底物, 因此烯脂酰 ACP 还原酶可调节 UFA 合成。粪肠球菌编码 2 个烯脂酰 ACP 还原酶 FabI 和 FabK, Δ *fabI* 为油酸营养缺陷型, 而 Δ *fabK* 中 UFA 产量上升^[51]。但过表达 *fabK* 会阻断 UFA 合成, 也成为油酸营养缺陷型, 过表达 *fabI* 也会降低 UFA 合成量, 降低菌体生长速率, 因此 FabK 和 FabI 都会调节 UFA 合成, 但 FabK 影响更显著^[26]。

苜蓿中华根瘤菌也编码 2 个具有催化活性的烯脂酰 ACP 还原酶 FabI1 和 FabI2, 其中 FabI2 是脂肪酸合成关键酶, 并且促进 UFA 合成, 也是苜蓿中华根瘤菌合成大量 UFA 的关键酶。而 FabI1 主要负责 SFA 合成, 可调节菌体脂肪酸的不饱和度, 而 *fabI1* 突变株生长缓慢, 逆境耐受性下降, 说明 FabI1 在菌体的环境适应中发挥重要作用(课题组未发表数据)。

3.3 环丙烷脂肪酸合酶

在逆境条件下, 许多细菌会通过原位修饰细胞膜脂肪酸组分以满足生长需求, 其中将膜磷脂中 UFA 转化为环丙烷脂肪酸(cyclopropane fatty acid, CFA)是常见机制之一。细菌中 CFA 主要有 3 种类型: 顺-9,10-亚甲基棕榈酸、顺-9,10-亚甲基硬脂酸和顺-11,12-亚甲基硬脂酸^[52]。CFA 合成中一碳单位(C₁)来源于 S-腺苷甲硫氨酸(S-adenosylmethionine, SAM), 而含有 UFA 的膜磷脂是环丙烷脂肪酸合成酶(CFA synthase, CfaS)底物, 通过碳阳离子中间体, 打开 UFA 的双键, 最终生成环丙烷环^[11]。

碳酸氢根离子(HCO₃⁻)是 CfaS 催化活性所必需的, 而硼酸盐离子为酶活性竞争性抑制剂; 不同细菌来源的 CfaS 都含有 HCO₃⁻ 结合关键位点 His-Tyr-Glu, 且不同 CfaS 折叠方式和总体结构高度相似^[53]。CfaS 单体蛋白含有分子量小的 N 端结构域和分子量大的 C 端结构域, 两个结构域通过约 20 个氨基酸残基的柔性连接肽(linker)相连, 连接肽删除或者重复都导致酶活性丧失; CfaS 生成二聚体才有活性, 大肠杆菌来源的 CfaS 二聚体界面的相互作用由 C 端的 β 折叠片层反向平行相互配对形成, 而 Glu₃₀₈ 与 Arg₃₆₁ 之间形成的盐桥对活性也非常重要^[54]。

由于 CFA 能稳定细胞膜结构, 并降低细胞膜通透性, 因此 CFA 含量越高时大肠杆菌耐酸

性越好, 而 Δcfa 菌株在 pH 7.0 至 pH 3.0 酸性条件下存活率较野生菌低几个数量级, 但培养基中添加 CFA 能恢复 Δcfa 的酸耐受性^[55]。茄科雷尔氏菌中 Cfa1 (RSc0776)在低 pH 和高渗透压的耐受中也发挥重要作用^[43]。CFA 与细菌的致病力也紧密相关, 结核分枝杆菌(*M. tuberculosis*)中 *cfaS* 敲除突变株生长与野生菌无差异, 但致病力显著降低, 推测环丙烷修饰能逃避宿主免疫系统作用^[56]。幽门螺杆菌 Δcfa 菌株细胞膜的完整性变差, 耐酸性条件能力降低, 在寄主中定殖能力也显著下降, 对抗生素的敏感性增强^[57]。相似的结果在肠炎沙门氏菌(*Salmonella enterica*) Δcfa 菌株也有发现, 但粪肠球菌失去 CFA 后致病力没有明显影响^[53]。

3.4 顺式-反式脂肪酸异构酶

在生长过程中, 细菌需要保持细胞膜的流动性以维持其功能。但当遇到不同压力(如温度升高)时, 细胞膜的流动性可能会增加, 细菌会采用多种机制调节细胞膜的稳态, 如将细胞膜磷脂中顺式(*cis*) UFA 转变为反式(*trans*) UFA^[11]。顺式结构会引起脂肪酸链较大角度弯曲, 而反式结构不饱和脂肪酸在构象上类似于饱和脂肪酸, 排列更加紧密, 并降低膜流动性^[11]。细菌膜磷脂中 UFA 的 *cis-trans* 转换不依赖于脂肪酸从头合成反应, 而是由细菌周质空间蛋白 *cis-trans* 异构酶(*cis-trans* isomerase, Cti)催化, 其主要底物为棕榈油酸(Δ^9 -C_{16:1})和油酸(Δ^9 -C_{18:1}), 催化后双键位置不发生改变。Cti 为中性蛋白(分子量为 87 kDa), N 端疏水性信号肽序列在周质空间定位后被切除; Cti 为细胞色素 *c* 类蛋白, 含有血红素结合域, 推测铁离子(Fe³⁺)在催化异构反应过程中发挥关键作用^[58]。*cti* 基因为组成型表达, 细菌通过膜流动性调控 UFA 的顺式-反式异构化水平^[58]。

反式 UFA 在恶臭假单胞菌中研究较多, 在抗逆(如温度升高、有机溶剂、重金属、渗透压和作用于细胞膜的抗生素等)过程中发挥重要作用^[59]。基于 Cti 序列的 BLASTp 分析发现, 含有 *cti* 同源基因的细菌不多(5.5%), 且均为革兰阴性菌, 而进化树分析主要包含 3 个分支, 分别为假单胞菌属(*Pseudomonas* sp.)、弧菌属(*Vibrio* sp.)和假交替单胞菌属(*Pseudoalteromonas* sp.), 其他分支包括硝化单胞菌属(*Nitromonas* sp.)等, 但研究报道较少^[60]。而编码 Cti 蛋白的细菌主要分布在海洋环境或污染环境, 推测环境因素可能是影响 *cti* 基因在不同细菌中分布的重要原因。革兰阳性菌粪肠球菌 FA2-2 也能利用 Cti 合成少量反式 UFA (1.6%), 但添加有机试剂、达托霉素(daptomycin)、氧化剂和 EDTA 都不能影响反式不饱和脂肪酸的含量, 推测革兰阳性菌中反式 UFA 具有不同的合成机制与生物学功能^[60]。

4 总结与展望

由于细菌采用 FAS II 途径合成脂肪酸, 与真核生物的 FAS I 途径有本质上的差异, 因此 FAS II 被公认为是重要的抗菌药物筛选靶点。UFA 合成途径是 FAS II 的重要组成部分, 且 UFA 在调节细胞膜流动性等方面具有重要的生理功能, 因此 UFA 合成途径长期被深入研究。总体上, 细菌 UFA 合成可分为厌氧途径和需氧途径, 不同细菌可采用一种途径或者多种途径合成 UFA, 而且 UFA 合成相关酶的理化特性都具有较大差异(表 1)。

模式菌株大肠杆菌采用 FabA-FabB 途径合成 UFA, 其中 FabA 催化 3-羟基癸酰 ACP 脱水异构生成顺-3-癸烯酰 ACP, 并在 FabB 催化下与丙二酸单酰 ACP 聚合, 最终生成长链 UFA。虽然 FabA-FaB 类似途径在许多细菌中存在,

但是许多革兰阳性菌采用不同的酶系催化该过程, 如粪肠球菌采用 FabN-FabO/FabF 途径、肺炎链球菌和变形链球菌采用 FabZ-FabM-FabF 途径、绿色气球菌采用 FabQ-FabF 途径等, 体现出 UFA 合成厌氧途径的多样性(表 1)。与之不同, 一些细菌采用需氧途径合成 UFA, 利用脱饱和酶直接将膜磷脂中的 SFA 转变为 UFA, 从而调节细胞膜的流动性以应对环境压力。但不同细菌中脱饱和酶也有差异, 在 SFA 的不同位置产生双键, 在逆境胁迫和环境适应性等方面发挥功能。而幽门螺杆菌中硝基单加氧酶 FabX 也可利用氧气作为电子受体, 催化癸酰 ACP 产生烯键, 并最终生成合成 UFA。

表 1 不同细菌中 UFA 合成多样性总结

Table 1 A summary of UFA synthetic pathways in different bacteria

Pathways	Bacteria	References
Anaerobic pathway		
FabA-FabB	<i>E. coli</i>	[13]
	<i>S. meliloti</i>	[21]
	<i>P. aeruginosa</i>	[22]
	<i>P. putida</i>	[23]
	<i>X. campestris</i> pv. <i>campestris</i>	[24]
FabN-FabO/FabF	<i>En. faecalis</i>	[25-26]
FabZ-FabM-FabF	<i>S. pneumoniae</i>	[27]
	<i>S. mutans</i>	[28]
FabQ-FabF	<i>A. viridans</i>	[29]
FabA-FabB/FabF	<i>S. oneidensis</i>	[30-31]
UfaA	<i>N. gonorrhoeae</i>	[32]
Aerobic pathway		
Δ^5 -Des	<i>B. subtilis</i>	[36-37]
DesA/DesB	<i>P. aeruginosa</i>	[38-40]
	<i>A. baumannii</i>	[41]
DesA	<i>S. meliloti</i>	[42]
	<i>R. solanacearum</i>	[43]
Δ^5 -DesA/ Δ^{10} -DesB	<i>B. cereus</i>	[44]
Δ^9 -Des	<i>Pseudomonas</i> sp. A8	[45]
	<i>P. putida</i>	[46]
FabX (NMO)	<i>H. pylori</i>	[48-49]

尽管一些细菌可采用厌氧途径和需氧途径合成 UFA，但厌氧途径中关键基因敲除突变株为油酸营养缺陷型，而需氧途径关键基因敲除后细菌生长不受影响，因此在这些菌中厌氧途径是 UFA 主要合成途径，需氧途径在逆境耐受等过程发挥作用。但野油菜黄单胞菌明显不同，其基因组编码具有催化活性的 FabA 和 FabB，但 *fabA* 和 *fabB* 敲除菌株生长无差异，能正常合成大量 UFA，说明该菌株中 FabA-FabB 不是 UFA 合成关键途径。

虽然不同细菌的 UFA 合成机制陆续被报道，但仍有许多谜团需深入研究。淋病奈瑟氏菌的 UfaA 同源蛋白在厌氧菌和兼性厌氧菌中广泛存在，但其参与 UFA 合成的机制还未见报道，包括酶学特性、催化底物、催化机制等问题还有待揭示。野油菜黄单胞菌虽编码脱饱和酶同源蛋白 DesA，但 $\Delta fabA\Delta desA$ 双敲除菌株的生长和脂肪酸组成与野生菌均无显著性差异，证明该菌株中还有其他 UFA 合成机制有待研究。茄科雷尔氏菌中脱饱和酶 Des 途径也不是 UFA 合成的关键，其关键合成途径仍然未知。

由于 UFA 是细菌维持细胞膜正常功能的必需成分，而不同细菌中催化 UFA 合成的关键酶具有多样性，可作为选择性抗菌药物筛选的靶标，在抗菌药物研发方面具有巨大潜力，但相关研究仍处于起步阶段。以 UFA 合成厌氧途径关键酶 FabA 为靶标，已报道有共价抑制剂 3-癸烯基-N-乙酰半胱胺和非共价抑制剂 N42FTA，两者通过模拟底物进入 FabA 的活性口袋，堵住催化口袋，抑制催化活性^[12]。但以 UFA 合成的需氧途径相关酶类为靶点的抗菌药物设计与筛选还鲜有报道，可能是由于细菌脱饱和酶为跨膜蛋白，还没有获得蛋白结晶，不利于药物筛选。而幽门螺杆菌 FabX 晶体结构与催化机制已阐明，为抗菌药物开发打下了基础，而且

FabX 在多种病原菌中广泛存在，可开发出广谱抗菌药物。而对同时具有 UFA 合成厌氧途径和需氧途径的病原菌，由于厌氧途径是 UFA 合成主要途径，因此以厌氧途径关键酶为靶点的抗菌药物应具有较好应用效果，若与针对需氧途径的抗菌药物联合使用，不仅能增强抗菌效果，还能有效降低耐药菌的出现。另一方面，利用细菌合成具有重要生理功能的多不饱和脂肪酸也值得深入探索，绿色气球菌中 FabQ-FabB 途径为多不饱和脂肪酸的合成提供了可能性，而将在不同脱饱和酶整合利用也可能获得多不饱和脂肪酸。

参考文献

- [1] CRONAN JE JR, ROUGHAN PG. Fatty acid specificity and selectivity of the chloroplast *sn*-glycerol 3-phosphate acyltransferase of the chilling sensitive plant, *Amaranthus lividus*[J]. *Plant Physiology*, 1987, 83(3): 676-680.
- [2] KANEDA T. Iso- and anteiso-fatty acids in bacteria: biosynthesis, function, and taxonomic significance[J]. *Microbiological Reviews*, 1991, 55(2): 288-302.
- [3] SIX DA, YUAN YQ, LEEDS JA, MEREDITH TC. Deletion of the β -acetoacetyl synthase FabY in *Pseudomonas aeruginosa* induces hypoacylation of lipopolysaccharide and increases antimicrobial susceptibility[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2014, 58(1): 153-161.
- [4] YAO J, ROCK CO. Bacterial fatty acid metabolism in modern antibiotic discovery[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 2017, 1862(11): 1300-1309.
- [5] ASAI Y, MAKIMURA Y, KAWABATA A, OGAWA T. Soluble CD14 discriminates slight structural differences between lipid as that lead to distinct host cell activation[J]. *The Journal of Immunology*, 2007, 179(11): 7674-7683.
- [6] YU YH, HU Z, DONG HJ, MA JC, WANG HH. *Xanthomonas campestris* FabH is required for branched-chain fatty acid and DSF-family quorum sensing signal biosynthesis[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 32811.
- [7] 马建荣, 余永红, 陈艺彩, 鄢明峰, 张文彬. 细菌中

- 酶蛋白硫辛酰化途径研究进展[J]. 微生物学报, 2021, 61(8): 2278-2293.
- MA JR, YU YH, CHEN YC, YAN MF, ZHANG WB. Advances in protein lipoylation pathways in bacteria[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2021, 61(8): 2278-2293 (in Chinese).
- [8] CRONAN JE JR. Advances in synthesis of biotin and assembly of lipoic acid[J]. Current Opinion in Chemical Biology, 2018, 47: 60-66.
- [9] CHOI MH, XU J, GUTIERREZ M, YOO T, CHO YH, YOON SC. Metabolic relationship between polyhydroxyalkanoic acid and rhamnolipid synthesis in *Pseudomonas aeruginosa*: comparative ^{13}C NMR analysis of the products in wild-type and mutants[J]. Journal of Biotechnology, 2011, 151(1): 30-42.
- [10] ZHU K, ROCK CO. RhlA converts β -hydroxyacyl-acyl carrier protein intermediates in fatty acid synthesis to the β -hydroxydecanoyl- β -hydroxydecanoate component of rhamnolipids in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Journal of Bacteriology, 2008, 190(9): 3147-3154.
- [11] ZHANG YM, ROCK CO. Membrane lipid homeostasis in bacteria[J]. Nature Reviews Microbiology, 2008, 6(3): 222-233.
- [12] 周甲申, 张琳, 张良. II型脂肪酸生物合成途径机制和药物发现研究进展[J]. 化学学报, 2020, 78(12): 1383-1398.
- ZHOU JS, ZHANG L, ZHANG L. Advances on mechanism and drug discovery of type-II fatty acid biosynthesis pathway[J]. Acta Chimica Sinica, 2020, 78(12): 1383-1398 (in Chinese).
- [13] CAMPBELL JW, CRONAN JE JR. Bacterial fatty acid biosynthesis: targets for antibacterial drug discovery[J]. Annual Review of Microbiology, 2001, 55: 305-332.
- [14] ROCK CO, JACKOWSKI S. Forty years of bacterial fatty acid synthesis[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2002, 292(5): 1155-1166.
- [15] LEESONG M, HENDERSON BS, GILLIG JR, SCHWAB JM, SMITH JL. Structure of a dehydratase-isomerase from the bacterial pathway for biosynthesis of unsaturated fatty acids: two catalytic activities in one active site[J]. Structure, 1996, 4(3): 253-264.
- [16] GARWIN JL, KLAGES AL, CRONAN JE. Beta-ketoacyl-acyl carrier protein synthase II of *Escherichia coli*. Evidence for function in the thermal regulation of fatty acid synthesis[J]. Journal of Biological Chemistry, 1980, 255(8): 3263-3265.
- [17] HEATH RJ, ROCK CO. Roles of the FabA and FabZ β -hydroxyacyl-acyl carrier protein dehydratases in *Escherichia coli* fatty acid biosynthesis[J]. Journal of Biological Chemistry, 1996, 271(44): 27795-27801.
- [18] ROCK CO, CRONAN JE JR. *Escherichia coli* as a model for the regulation of dissociable (type II) fatty acid biosynthesis[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Lipids and Lipid Metabolism, 1996, 1302(1): 1-16.
- [19] ZHANG YM, RAO MS, HEATH RJ, PRICE AC, OLSON AJ, ROCK CO, WHITE SW. Identification and analysis of the acyl carrier protein (ACP) docking site on β -ketoacyl-ACP synthase III[J]. Journal of Biological Chemistry, 2001, 276(11): 8231-8238.
- [20] HEATH RJ, ROCK CO. Regulation of fatty acid elongation and initiation by acyl-acyl carrier protein in *Escherichia coli*[J]. Journal of Biological Chemistry, 1996, 271(4): 1833-1836.
- [21] XIAO XR, YU XY, KHOSLA C. Metabolic flux between unsaturated and saturated fatty acids is controlled by the FabA: FabB ratio in the fully reconstituted fatty acid biosynthetic pathway of *Escherichia coli*[J]. Biochemistry, 2013, 52(46): 8304-8312.
- [22] 胡喆, 马金成, 蒋晶晶, 王海洪. 苜蓿中华根瘤菌 *fabA* 和 *fabB* 基因功能的鉴定[J]. 生物化学与生物物理进展, 2013, 40(11): 1148-1159.
- HU Z, MA JC, JIANG JJ, WANG HH. Identification and function reasearch of *fabA* and *fabB* of *Sinorhizobium meliloti*[J]. Progress in Biochemistry and Biophysics, 2013, 40(11): 1148-1159 (in Chinese).
- [23] DONG HJ, WANG HH, CRONAN JE JR. Divergent unsaturated fatty acid synthesis in two highly related model pseudomonads[J]. Molecular Microbiology, 2023, 119(2): 252-261.
- [24] YU YH, CHEN C, MA JR, ZHANG YY, YAN MF, ZHANG WB, HU Z, WANG HH, MA JC. The FabA-FabB pathway is not essential for unsaturated fatty acid synthesis but modulates diffusible signal factor synthesis in *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2023, 36(2): 119-130.
- [25] WANG HH, CRONAN JE JR. Functional replacement of the FabA and FabB proteins of *Escherichia coli* fatty acid synthesis by *Enterococcus faecalis* FabZ and FabF homologues[J]. Journal of Biological Chemistry, 2004, 279(33): 34489-34495.
- [26] DONG HJ, CRONAN JE JR. Temperature regulation of membrane composition in the *Firmicute*,

- Enterococcus faecalis*, parallels that of *Escherichia coli*[J]. *Environmental Microbiology*, 2021, 23(5): 2683-2691.
- [27] MARRAKCHI H, CHOI KH, ROCH CO. A new mechanism for anaerobic unsaturated fatty acid formation in *Streptococcus pneumoniae*[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2002, 277(47): 44809-44816.
- [28] ALTABE S, LOPEZ P, de MENDOZA D. Isolation and characterization of unsaturated fatty acid auxotrophs of *Streptococcus pneumoniae* and *Streptococcus mutans*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2007, 189(22): 8139-8144.
- [29] BI HK, WANG HH, CRONAN JE JR. FabQ, a dual-function dehydratase/isomerase, circumvents the last step of the classical fatty acid synthesis cycle[J]. *Chemistry & Biology*, 2013, 20(9): 1157-1167.
- [30] LUO QX, LI M, FU HH, MENG Q, GAO HC. *Shewanella oneidensis* FabB: a β -ketoacyl-ACP synthase that works with C16: 1-ACP[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 327.
- [31] LI M, MENG Q, FU HH, LUO QX, GAO HC. Suppression of *fabB* mutation by *fabF1* is mediated by transcription read-through in *Shewanella oneidensis*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2016, 198(22): 3060-3069.
- [32] ISABELLA VM, CLARK VL. Identification of a conserved protein involved in anaerobic unsaturated fatty acid synthesis in *Neisseria gonorrhoeae*: implications for facultative and obligate anaerobes that lack FabA[J]. *Molecular Microbiology*, 2011, 82(2): 489-501.
- [33] LOS DA, MURATA N. Structure and expression of fatty acid desaturases[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Lipids and Lipid Metabolism*, 1998, 1394(1): 3-15.
- [34] SHANKLIN J, CAHOON EB. Desaturation and related modifications of fatty acids[J]. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 1998, 49: 611-641.
- [35] HALIM NFAA, ALI MSM, LEOW ATC, RAHMAN RNZRA. Membrane fatty acid desaturase: biosynthesis, mechanism, and architecture[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2022, 106(18): 5957-5972.
- [36] AGUILAR PS, CRONAN JE JR, de MENDOZA D. A *Bacillus subtilis* gene induced by cold shock encodes a membrane phospholipid desaturase[J]. *Journal of Bacteriology*, 1998, 180(8): 2194-2200.
- [37] ALTABE SG, AGUILAR P, CABALLERO GM, de MENDOZA D. The *Bacillus subtilis* acyl lipid desaturase is a $\Delta 5$ desaturase[J]. *Journal of Bacteriology*, 2003, 185(10): 3228-3231.
- [38] ZHU K, CHOI KH, SCHWEIZER HP, ROCK CO, ZHANG YM. Two aerobic pathways for the formation of unsaturated fatty acids in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Molecular Microbiology*, 2006, 60(2): 260-273.
- [39] KIM S, HA J, LEE H, LEE S, LEE J, CHOI Y, OH H, YOON Y, CHOI KH. Role of *Pseudomonas aeruginosa* DesB in adaptation to osmotic stress[J]. *Journal of Food Protection*, 2019, 82(8): 1278-1282.
- [40] SCHWEIZER HP, CHOI KH. *Pseudomonas aeruginosa* aerobic fatty acid desaturase DesB is important for virulence factor production[J]. *Archives of Microbiology*, 2011, 193(3): 227-234.
- [41] ADAMS FG, POKHREL A, BRAZEL EB, SEMENEC L, LI LP, TRAPPETTI C, PATON JC, CAIN AK, PAULSEN IT, EIJKELKAMP BA. *Acinetobacter baumannii* fatty acid desaturases facilitate survival in distinct environments[J]. *ACS Infectious Diseases*, 2021, 7(8): 2221-2228.
- [42] 马金成, 周俊超, 吴楚云, 胡喆, 王海洪. 苜蓿中华根瘤 *desA* 基因功能的鉴定[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2015, 42(8): 740-749.
- MA JC, ZHOU JC, WU CY, HU Z, WANG HH. Identification and function reasearch of *desA* of *Sinorhizobium meliloti*[J]. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 2015, 42(8): 740-749 (in Chinese).
- [43] 董会娟, 范志永, 况承伟, 李先其, 王海洪. 茄科雷尔氏菌脂酰 CoA 脱饱和酶和环丙烷脂肪酸合成酶的鉴定[J]. *生物化学与生物物理进展*, 2018, 45(10): 1068-1077.
- DONG HJ, FAN ZY, KUANG CW, LI XQ, WANG HH. Identification of acyl-CoA desaturase and cyclopropane fatty acid synthase in *Ralstonia solanacearum*[J]. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 2018, 45(10): 1068-1077 (in Chinese).
- [44] CHAZARRETA CIFRÉ L, ALEMANY M, de MENDOZA D, ALTABE S. Exploring the biosynthesis of unsaturated fatty acids in *Bacillus cereus* ATCC 14579 and functional characterization of novel acyl-lipid desaturases[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2013, 79(20): 6271-6279.
- [45] GARBA L, ALI MSM, OSLAN SN, RAHMAN RNZRA. Heterologous expression of *PA8FAD9* and functional characterization of a $\Delta 9$ -fatty acid desaturase from a cold-tolerant *Pseudomonas* sp. A8[J]. *Molecular Biotechnology*, 2016, 58(11): 718-728.
- [46] HEREDIA RM, LUCCHESI GI. *Pseudomonas putida*

- $\Delta 9$ -fatty acid desaturase: gene cloning, expression, and function in the cationic surfactants stress[J]. *Journal of Basic Microbiology*, 2019, 59(5): 525-534.
- [47] GARBA L, MOHAMAD YUSSOFF MA, ABD HALIM KB, ISHAK SNH, MOHAMAD ALI MS, OSLAN SN, RAHMAN RNZRA. Homology modeling and docking studies of a $\Delta 9$ -fatty acid desaturase from a cold-tolerant *Pseudomonas* sp. AMS8[J]. *PeerJ*, 2018, 6: e4347.
- [48] BI HK, ZHU L, JIA J, ZENG LP, CRONAN JE JR. Unsaturated fatty acid synthesis in the gastric pathogen *Helicobacter pylori* proceeds via a backtracking mechanism[J]. *Cell Chemical Biology*, 2016, 23(12): 1480-1489.
- [49] ZHOU JS, ZHANG L, ZENG LP, YU L, DUAN YY, SHEN SQ, HU JY, ZHANG P, SONG WY, RUAN XX, JIANG J, ZHANG YN, ZHOU L, JIA J, HANG XD, TIAN CL, LIN HW, CHEN HZ, CRONAN JE, BI HK, et al. *Helicobacter pylori* FabX contains a [4Fe-4S] cluster essential for unsaturated fatty acid synthesis[J]. *Nature Communications*, 2021, 12(1): 6932.
- [50] RAWLINGS M, CRONAN JE JR. The gene encoding *Escherichia coli* acyl carrier protein lies within a cluster of fatty acid biosynthetic genes[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1992, 267(9): 5751-5754.
- [51] ZHU L, BI HK, MA JC, HU Z, ZHANG WB, CRONAN JE, WANG HH. The two functional enoyl-acyl carrier protein reductases of *Enterococcus faecalis* do not mediate triclosan resistance[J]. *mBio*, 2013, 4(5): e00613-00613.
- [52] GROGAN DW, CRONAN JE JR. Cyclopropane ring formation in membrane lipids of bacteria[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 1997, 61(4): 429-441.
- [53] CRONAN JE, LUK T. Advances in the structural biology, mechanism, and physiology of cyclopropane fatty acid modifications of bacterial membranes[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2022, 86(2): e0001322.
- [54] HARI SB, GRANT RA, SAUER RT. Structural and functional analysis of *E. coli* cyclopropane fatty acid synthase[J]. *Structure*, 2018, 26(9): 1251-1258.
- [55] CHANG YY, CRONAN JE JR. Membrane cyclopropane fatty acid content is a major factor in acid resistance of *Escherichia coli*[J]. *Molecular Microbiology*, 1999, 33(2): 249-259.
- [56] GLICKMAN MS, COX JS, JACOBS WR. A novel mycolic acid cyclopropane synthetase is required for cording, persistence, and virulence of *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *Molecular Cell*, 2000, 5(4): 717-727.
- [57] JIANG XQ, DUAN YY, ZHOU BS, GUO QQ, WANG HH, HANG XD, ZENG LP, JIA J, BI HK. The cyclopropane fatty acid synthase mediates antibiotic resistance and gastric colonization of *Helicobacter pylori*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2019, 201(20): e00374-19.
- [58] MAUGER M, FERRERI C, CHATGILIALOGLU C, SEEMANN M. The bacterial protective armor against stress: the *cis-trans* isomerase of unsaturated fatty acids, a cytochrome-c type enzyme[J]. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2021, 224: 111564.
- [59] KONDAKOVA T, CRONAN JE JR. Transcriptional regulation of fatty acid *cis-trans* isomerization in the solvent-tolerant soil bacterium, *Pseudomonas putida* F1[J]. *Environmental Microbiology*, 2019, 21(5): 1659-1676.
- [60] KONDAKOVA T, KUMAR S, CRONAN JE JR. A novel synthesis of *trans*-unsaturated fatty acids by the Gram-positive commensal bacterium *Enterococcus faecalis* FA2-2[J]. *Chemistry and Physics of Lipids*, 2019, 222: 23-35.