

令和 6 年 5 月 23 日現在

機関番号：23303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K05773

研究課題名(和文) 褐藻のフコキサンチン生合成経路の解明

研究課題名(英文) Biosynthetic pathway of fucoxanthin in brown algae

研究代表者

竹村 美保 (Takemura, Miho)

石川県立大学・生物資源環境学部・准教授

研究者番号：20273857

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、褐藻のフコキサンチン生合成経路を明らかにするために、既知の植物カロテノイド生合成遺伝子と相同な12個の遺伝子を見出した。次に、大腸菌発現系を用いて機能解析した結果、PSY1,2, PDS1, ZISO1, ZDS1, CRTISO1,2, LCYb1, CYP97B2, について活性を検出することができた。一方、下流経路の反応に関わる可能性のある遺伝子を探索したが、候補遺伝子を見つけることができなかった。また、珪藻のVDL1と相同な遺伝子の機能解析を行う中で、大腸菌で初めてネオキサンチンを生産することができるようになり、下流の遺伝子解析を容易にした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、褐藻(オキナワモズク)も、フコキサンチン生合成経路の上流では植物と同様の遺伝子の活性により同様のカロテノイド生合成経路を有していることが明らかとなった。また、下流では、珪藻と同様の遺伝子を有することが明らかとなったが、大腸菌での活性が非常に低いことが考えられた。しかしながら、珪藻の遺伝子を用いることによって、ネオキサンチンを大腸菌で生産することが初めて可能となり、今後のフコキサンチン生産研究にとって必要不可欠な成果を得ることができた。

研究成果の概要(英文)：In this study, upstream and downstream studies were conducted to elucidate the fucoxanthin biosynthesis pathway in brown algae. In the analysis of the upstream pathway, we found genes homologous to known plant carotenoid biosynthesis genes, PSY1,2, PDS1, ZISO1, ZDS1, CRTISO1,2, LCYb1, CYP97B1,2, ZEP1,2. For the downstream pathway, we searched for genes that might be involved in the biosynthetic reaction, but could not find any candidate genes. Functional analysis of a gene homologous to VDL1 in diatoms was also performed, but activity could not be detected. However, in the course of this analysis, it became possible for the first time to produce neoxanthin in *E. coli*.

研究分野：代謝工学

キーワード：褐藻 フコキサンチン 大腸菌

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

カロテノイドは、植物や微生物によって合成される天然色素であり、ビタミン A の前駆体となるなどヒトにとって重要な生理活性物質である。リコペンや β -カロテンなどのカロテノイドは、天然材料から抽出・精製され、食品添加物・サプリメント・化粧品原料として利用されている。またこれまでに、植物や微生物のカロテノイド生合成経路および生合成遺伝子についての研究が行われ、遺伝子組換え微生物を用いたカロテノイド生産システムの構築が進められてきた。フコキサンチンは、オキナワモズクなどの藻類が生産するカロテノイドで、抗肥満作用・抗高血圧作用があるため、サプリメントなどとして需要が高い。しかしながら、フコキサンチンに関しては、生合成経路が明らかでなく、生合成遺伝子も不明である。

2. 研究の目的

本研究ではフコキサンチンの生合成経路を明らかにすることを目的とし、オキナワモズクのゲノム解析を行う。これらの結果をもとに、フコキサンチン生合成に関わる遺伝子の候補を探索し、大腸菌および植物培養細胞を用いた遺伝子機能解析を行う。それにより、フコキサンチンの生合成に関わる遺伝子を同定し、最終的にフコキサンチン生合成経路を明らかにする。

3. 研究の方法

本研究では、「褐藻（オキナワモズク）のフコキサンチン生合成経路を解明する」ために、フコキサンチン生合成経路を上流（植物と共通）と下流（褐藻に特有）に分けて研究を行った。

(1) フコキサンチン生合成経路の上流経路

フコキサンチン生合成経路の上流経路（ピオラキサンチンまで）は、植物と共通であると考えられたため、既知の植物カロテノイド生合成遺伝子と相同な遺伝子を探索し、機能解析を行った。

(2) フコキサンチン生合成経路下流

フコキサンチン生合成の下流経路（ピオラキサンチン以降）は不明なので、複数の可能性を考えて、遺伝子を探索した。ピオラキサンチンからフコキサンチンへの反応としては、アレン結合化、ケト化、アセトアセチル化が起これると考えられたので、それぞれの反応に関わる可能性のある遺伝子を探索した。次に、得られた候補遺伝子について、大腸菌を用いた機能解析を行った。

4. 研究成果

フコキサンチン生合成経路の上流経路（ピオラキサンチンまで）は、植物と共通であると考えられるため、既知の植物カロテノイド生合成遺伝子と相同な遺伝子を探索した。その結果、既知の植物カロテノイド生合成遺伝子と相同な遺伝子、*PSY1,2*, *PDS1*, *ZISO1*, *ZDS1*, *CRTISO1,2*, *LCYb1*, *CYP97B1,2*, *ZEP1,2*, を見出した。次に、それら遺伝子を RT-PCR によってクローニングし、大腸菌発現系を用いた機能解析を行った。その結果、*PSY1,2*, *PDS1*, *ZISO1*, *ZDS1*, *CRTISO1,2*, *LCYb1*, *CYP97B2*, について活性を検出することができた。

フコキサンチン生合成の下流経路（ピオラキサンチン以降）は不明だったので、ピオラキサンチンからフコキサンチンへの反応（アレン結合化、ケト化、アセトアセチル化）に関わる可能性のある遺伝子を探索したが、適当な候補遺伝子を見つけることができなかった。一方、アレン結合形成反応を触媒する酵素としては、褐藻の *VDL1* (Violaxanthin deepoxydase-like 1) と相同な *VDL1* が見つかったので、その機能解析を行った。その結果、大腸菌を用いた機能解析

では、褐藻の VDL1 については活性を検出することができたが、オキナワモズクの VDL1 については活性は検出できなかった。しかしながら、この解析の中で、褐藻の VDL1 を用いて、大腸菌で初めてネオキサンチンを生産することができるようになった。このことは、ネオキサンチン以降の反応の解析を大腸菌で行うことができることを意味しており、非常に意義のある成果であった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yuki Higuchi, Masahiko Iha, Takashi Maoka, Norihiko Misawa, Miho Takemura	4. 巻 40
2. 論文標題 Synthetic-biological approach for production of neoxanthin in Escherichia coli	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Plant Biotechnology	6. 最初と最後の頁 15-20
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.5511/plantbiotechnology.22.1130a	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 竹村美保、樋口雄貴、伊波匡彦、眞岡孝至、三沢典彦
2. 発表標題 大腸菌によるネオキサントチンの生産
3. 学会等名 日本農芸化学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 竹村美保、樋口雄貴、伊波匡彦、眞岡孝至、三沢典彦
2. 発表標題 大腸菌によるネオキサントチンの生産
3. 学会等名 第35回カロテノイド研究談話会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------