

3S-Da02 *Paracoccus* 菌を用いたカロテノイドの商業生産

○石橋 卓
(JX日鉱日石エネルギー)
takashi.ishibashi@noe.jx-group.co.jp

カロテノイドは、細菌、菌類、藻類、植物および動物に分布する炭素数40の基本骨格を持つ色素である。カロテノイドの基本構造であるポリエン鎖の共役二重結合が増えるに従い、無色から淡黄色、橙黄色、赤色へと変化する。さらにポリエン鎖の両端に環が形成されると橙色や黄色へと変化する。今までに750種類以上のカロテノイドが報告され、生物界において重要な生理作用を持つことが知られている。

微生物を用いたカロテノイドの生産は、特に飼料分野において、顧客の要求を満たす品質と価格、さらに安定供給に優れた手段である。また、最近の消費者ニーズは天然品および環境や社会にやさしい製造法で得られた商品を志向しており、微生物を用いた有用物質の発酵生産は、ますます重要な技術になっている。当社パラコッカス菌 (*Paracoccus carotinifaciens*) を発見して20年以上が経過した今も、従来技術を用いた菌株育種とカロテノイド生産性向上の研究開発は続いている。*Paracoccus carotinifaciens* は、グラム陰性、好気性、周毛性鞭毛による運動性を示し、アスタキサンチン (Astaxanthin) を主成分とするカロテノイド混合物を生産する。16S リボソーム RNA に対応する DNA の塩基配列と菌学的特徴から、*Paracoccus* 属の新種であることが明らかになった¹⁾

本シンポジウムではサケ・マス用途の体色改善剤 (商品名: Panaferd® AX) の商業生産を中心として、*Paracoccus carotinifaciens* が商業生産可能なカロテノイドおよびその用途展開についても紹介したい。

1) Tsubokura, A. et al.: *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 49, 277 (1999).

3S-Da03 微生物によるカロテノイド生産研究の現状

○原田 尚志
(鳥取大院・工)
harada@bio.tottori-u.ac.jp

カロテノイドは種々の生物が生産する色素であり、多様な生理的機能を司る重要な化合物である。現在までに750種類以上のカロテノイドが単離されているが、これらの中には優れた生理活性を示すにもかかわらず有効活用されていないもの、天然存在量が少なくその生理活性さえ判明していないカロテノイドも多く含まれる。組換え微生物を利用した異種カロテノイド生産系は、これら未利用カロテノイドの有用性の検証やその利用促進が期待される技術である。本シンポジウムでは、組換え微生物によるカロテノイド生産の現状について、主に大腸菌を宿主としたカロテノイド大量生産システムの開発、ならびに新規・希少カロテノイド生産への取組みについて紹介する。

パスウェイエンジニアリング (Pathway engineering) は、宿主生物の生合成経路を遺伝子工学的に改変して目的化合物を生産する技術であり、代謝工学や合成生物学分野で注目を集めている技術の一つである。大腸菌を利用したカロテノイド大量生産のためのパスウェイエンジニアリング研究においては、大腸菌が本来持たないもう一つの基本代謝経路、すなわちメバロン酸経路遺伝子群を導入する方法が考案されており、現在のところ最も効果的な方法であることが示されている。我々はこれまでに、構造が単純かつ比較的安価な化合物であるアセト酢酸リチウム塩 (Li acetoacetate, LAA) を基質として、異種メバロン酸経路遺伝子群を機能発現した大腸菌のカロテノイド高生産システムを開発している。本生産系では、放線菌由来のメバロン酸窒化酵素遺伝子群に加え、アセト酢酸からアセトアセチル-CoA を合成する酵素であるラット由来アセト酢酸-CoA リガーゼ遺伝子 (*Aacl*) を高発現するプラスミドを構築、導入している。このプラスミドとリコペン (lycopene) 産生用プラスミドを共導入した大腸菌を LAA 存在下で培養すると、コントロール株と比較して約12倍 (乾燥菌体重量1g当たり12.5 mg) のリコペンを生産した。さらに、アスタキサンチン (astaxanthin) 産生プラスミドの共導入においては、乾燥菌体重量1g当たり1mgのアスタキサンチンと数mgの中間体カロテノイドを生産した。また、放線菌由来のメバロン酸窒化遺伝子群を複数の異種細菌由来遺伝子群に置換することで、カロテノイド生産量を2倍から3倍程度向上させることにも最近成功している。さらにこれまで本生産システムを利用して、土壌細菌 *Pantoea ananatis* 由来ゼアキサンチン (zeaxanthin) 配糖体合成遺伝子群、および海洋細菌 *Brevundimonas* sp. SD212 由来の *crtG* 遺伝子 (2,2'-β-hydroxylase) 発現プラスミドの共導入により、新規カロテノイドであるカロキサンチン配糖体 (caloxanthin 3'-β-D-glucoside) や希少カロテノイドであるノストキサンチン (nostoxanthin) を着量生産できた。本生産系をはじめとするカロテノイドの組換え生産システムは、天然からの抽出や有機合成に依らない有用カロテノイド生産法として、今後さらなる活用が期待される。

本発表の研究成果の一部は、経済産業省委託事業『革新的バイオマテリアル実現のための高機能化ゲノムデザイン技術開発』により実施された。

Commercial production of carotenoids using *Paracoccus carotinifaciens*

○Takashi Ishibashi
(JX Nippon Oil & Energy Corporation)

Current research of carotenoid bioproduction by microorganisms

○Hisashi Harada
(Grad. Sch. Eng., Tottori Univ.)

Key words paracoccus, astaxanthin, production, carotenoids

Key words carotenoid, Pathway engineering, mevalonate pathway