T2R2 東京科学大学 リサーチリポジトリ
Science Tokyo Research Repository

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	高度好塩性古細菌 Haloarcula japonica における C50 カロテノイド生合成に関与する遺伝子クラスターの解析
Title(English)	
著者(和文)	楊影
Author(English)	Ying Yang
出典(和文)	学位:博士（工学）, 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第9988号, 授与年月日:2015年9月25日, 学位の種別:課程博士, 審査員:中村　聡,和地　正明,蒲池　利章,松田　知子,平沢　敬
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第9988号, Conferred date:2015/9/25, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	論文要旨
Type(English)	Summary

Powered by T2R2 (Science Tokyo Research Repository)

（博士課程）
Doctoral Program

論 文 要 旨

THESIS SUMMARY

専攻： Department of	生物プロセス　専攻	申請学位（専攻分野）： Academic Degree Requested	博士　（　工学　） Doctor of
学生氏名： Student's Name	楊　影	指導教員（主）： Academic Advisor(main)	中村　聡
		指導教員（副）： Academic Advisor(sub)	

要旨（和文 2000 字程度）
Thesis Summary（approx.2000 Japanese Characters ）

カロテノイドは、植物、動物、微生物などがもつ黄色、赤色、紫色などの色素の総称である。植物や細菌が生産するカロテノイドの多くは炭素数 40 の C_{40} カロテノイドである。一方で、ある種の高度好塩性古細菌は C_{50} のカロテノイドを生産する。しかしながら、高度好塩性古細菌のカロテノイド生合成系の全貌は未だ明らかになっていない。最近になり、高度好塩性古細菌 *Haloarcula japonica* の全ゲノム配列が明らかにされた。また *Ha. japonica* が生産するカロテノイド種も同定され、中間体であるリコペン (C_{40})、イソペンテニルデヒドロロドピン (IDR、C_{45})、ビスアンヒドロバクテリオルベリン (BABR、C_{50}) とモノアンヒドロバクテリオルベリン (MABR、C_{50}) および最終産物であるバクテリオルベリン (BR、C_{50}) が検出された。本研究では、高度好塩性古細菌 *Ha. japonica* のカロテノイド生合成経路の完全解明を目的とし、生合成経路に関与する遺伝子の特定を試みた。また、*Ha. japonica* が生産するカロテノイドの生理的役割の解明を目指した。

Ha. japonica の全ゲノム配列のアノテーションの結果、3,4-デサチュラーゼ (CrtD) をコードする遺伝子と相同な遺伝子ホモログ *c0507* が見出された。また、*c0507* 遺伝子のすぐ下流に存在する *c0506* および *c0505* 遺伝子が、それぞれリコペン伸長酵素 (Lye) およびヒドラターゼ (CruF) の遺伝子ホモログであることがわかった。これら 3 つの遺伝子はクラスターを形成し、共転写されていたことから、本菌のカロテノイド生合成に関与していると予想された。そこで、各遺伝子の単独破壊株を構築し、それらが生産するカロテノイド種の分析を行った。

c0505 遺伝子破壊株のコロニーは野生株と同じ赤色であるが、生産するカロテノイドは BABR であることがわかった。この結果から、C0505 はヒドラターゼ (CruF) であり、BABR から BR までの水酸化反応に関与していることが明らかとなった。

野生株のコロニーが BR 由来の赤色を呈するのに対し、*c0506* 遺伝子破壊株のコロニーは黄色となった。カロテノイド種分析の結果、*c0506* 遺伝子破壊株においては、野生株で見られた C_{50} カロテノイド種が検出されず、C_{40} カロテノイドであるリコペンが蓄積されていることがわかった。これより、C0506 はリコペンエロンガーゼおよび 1,2-ヒドラターゼの両方の活性をもつ二機能酵素であり、リコペンにイソプレン (C_5) および水酸基を付加する反応に関わっていると考えられた。

c0507 遺伝子破壊株のコロニーはオレンジ色となり、*c0507* 遺伝子破壊株が生産する主要カロテノイドは共役二重結合数 11 のジヒドロイソペンテニルデヒドロロドピン (DH-IDR、C_{45}) およびテトラヒドロビスアンヒドロバクテリオルベリン (TH-BABR、C_{50}) であった。従って、C0507 は 3,4-デサチュラーゼ (CrtD) であり、DH-IDR から BABR までの不飽和化反応に関与していることが示唆された。また、*c0507* 遺伝子破壊株から TH-BABR が検出されたことにより、野生株においても TH-BABR を経由する生合成経路が存在する可能性も示唆された。これらの結果により、*Ha. japonica* におけるリコペンから BR に至る生合成経路が初めて解明された。なお、古細菌における CrtD および CruF の特定は本研究が初めての例となる。

また、*Ha. japonica* より各種 C_{50} カロテノイドを精製し、それらの抗酸化能について、一重項酸素消去能およびラジカル消去能を測定した。その結果、どちらの活性酸素種に対しても、 BR は β-カロテンより著しく高い一重項酸素消去能およびラジカル消去能を示した。これは BR の共役二重結合数が 13 と β-カロテンに比して多いことが寄与していると考えられた。また、BR と同じ共役二重結合数を有する MABR および BABR と比べると、いずれもその一重項酸素消去能には違いが見られなかった。BR、MABR および BABR の共役二重結合数は同じであるが、水酸基の数が異なる。これより、カロテノイドの一重項酸素消去能は水酸基の数とは無関係であることがわかった。

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。
Note：Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ（T2R2）にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。
Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).

（博士課程）
Doctoral Program

論 文 要 旨

THESIS SUMMARY

専攻： Department of	生物プロセス　専攻	申請学位（専攻分野）： Academic Degree Requested	博士　（　工学　） Doctor of
学生氏名： Student's Name	楊　影	指導教員（主）： Academic Advisor(main)	中村　聡
		指導教員（副）： Academic Advisor(sub)	

要旨（英文 300 語程度）
Thesis Summary（approx.300 English Words ）

Carotenoids are natural pigments synthesized by bacteria, archaea, algae, fungi, and plants. They are involved in photosynthesis as accessory pigments, functioning as antioxidants, light protection pigments, and membrane stabilizers. Extremely halophilic archaea produce C_{50} carotenoids, while the carotenoids of plants and microorganisms usually consist of C_{40} carotenoids. Biosynthesis of the C_{50} carotenoids in extremely halophilic archaea has been elucidated by the analogy with that of other organisms. However, the details of the carotenoid biosynthetic pathway in extremely halophilic archaea remain unclear.

Haloarcula japonica is a predominantly triangular, disc-shaped extremely halophilic archaeon that requires high concentrations of NaCl for growth. *Ha. japonica* has red cells, suggesting this organism might produce carotenoids. The carotenoids produced by *Ha. japonica* were identified to be C_{50} carotenoid bacterioruberin. Recently, the draft genome sequence of *Ha. japonica* has been determined. By homology analysis, a gene cluster, including c0507, c0506, and c0505, was found and predicted to be involved in the synthesis of bacterioruberin. To elucidate the function of the encoded enzymes, we constructed *Ha. japonica* mutants of these genes and analyzed carotenoids produced by the mutants.

Our research showed that *c0507*, *c0506*, and *c0505* encoded a carotenoid 3,4-desaturase (CrtD), a bifunctional lycopene elongase and 1,2-hydratase (LyeJ), and a C_{50} carotenoid 2″,3″-hydratase (CruF), respectively. The above three carotenoid biosynthetic enzymes catalyze the reactions that convert lycopene to bacterioruberin in *Ha. japonica*. This is the first identification of functional CrtD and CruF in archaea, and elucidation of the complete biosynthetic pathway of bacterioruberin from lycopene.

Furthermore, we examined antioxidant capacity of carotenoids from *Ha. japonica*. BR produced by *Ha. japonica* have higher scavenging ability toward singlet oxygen and free radical (DPPH) than C_{40} carotenoid β-carotene.

備考 ： 論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。
Note : Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ（T2R2）にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。
Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).