

光合成細菌, シアノバクテリア, 藻類, 植物における 多様なカロテノイド分子種と生合成経路の分布

高市 真一

東京農業大学 生命科学部 分子微生物学科
〒156-8502 世田谷区桜丘

Shinichi Takaichi

Diversities of carotenoid species and carotenogenesis pathways among phototrophs; photosynthetic bacteria, cyanobacteria, alga, and land plants

Keywords: carotenoid, carotenogenesis, diversity phototroph

Department of Molecular Microbiology, Faculty of Life Science, Tokyo University of Agriculture
Sakuragaoka, Setagaya, Tokyo 156-8502, Japan

DOI: 10.24480/bsj-review.9b3.00135

光合成生物は必ず色素として (バクテリア) クロロフィルとカロテノイドを持っている。(バクテリア) クロロフィルの構造や合成系, 光化学系には類似性が見られる。一方, カロテノイドは分類群ごとに組成や合成経路に大きな差異が見られるので, 進化・共生に伴い一部の合成経路を捨てて, 一部の合成経路を共生相手とは別の生物から取り込んだと思われる。本総説では, フィトエンからリコペンへの合成経路および酵素, 異種のリコペン・シクラーゼの分布, 分類群ごとのカロテノイド合成をまとめた。

1. はじめに

光合成生物にとっては (バクテリア) クロロフィルだけでなくカロテノイドも必須の成分である。カロテノイドは光合成のための光捕集, 強光や活性酸素種からクロロフィルや光化学系などの防御・保護, 色素タンパク複合体の形成・安定化, などの機能を担っている。光合成生物の分類と存在するカロテノイド分子種の基本型や合成酵素の一部を表 1 にまとめた。光化学系 II 型をもつ光合成細菌と光化学系 I 型をもつ光合成細菌から, 酸素発生型のシアノバクテリアができ, そのシアノバクテリアが真核生物に一次共生をして灰色藻類・紅藻類・緑藻類の葉緑体になったと考えられている。その後の二次および三次共生により種々の藻類や陸上植物が出現したと考えられている。さらに光合成の光化学系を構成するペプチド, (バクテリア) クロロフィルの構造や生合成経路, 三次構造には, 進化的には一部の成分の置き換えはあるが, 類似性と連続性が見られる。一方, カロテノイドは生物分類ごとに一部に共通性は見られるが, 共生段階などが変わるとともに組成ばかりでなく, 生合成経路や酵素に大きな変化が見られる。従って, 進化や共生に伴い一部のカロテノイド合成経路を捨てて, 一部の合成経路を共生相手とは別の生物から取り込んだと思われる。カロテノイドは結合タンパクや機能に対して柔軟性が高いためだろう。本総説ではカロテノイド合成系の変化や進化について紹介する。ただし, 全体像を見るために, 一部の例外的な存在は省略した。

S. Takaichi-1

表 1 : 生物の分類とカロテノイド(高市 2006, Takaichi and Mochimaru 2007, Takaichi 2009, Takaichi 2011, Takaichi 2013)

光化学系	光合成生物	カロテノイド型 (基本型)	フィトエンから リコペン	リコペン・ シクラーゼ
II 型	紅色細菌 ¹	C ₄₀ -鎖状	CrtI	CrtY
	クロロフレクサス	β,γ -カロテン	CrtI ²	CrtY ²
I 型	ヘリオバクテリア	C ₃₀ -鎖状	CrtN (CrtI-type)?	non
	緑色硫黄細菌	β,γ -カロテン	CrtP/Q/H ³	CruA/P
II+I 型 (酸素発生型)	シアノバクテリア	β,γ -カロテン	CrtP/Q/H + Z-ISO ³	CruA/P?
	葉緑体	β,α -カロテン	CrtP/Q/H + Z-ISO	CrtL

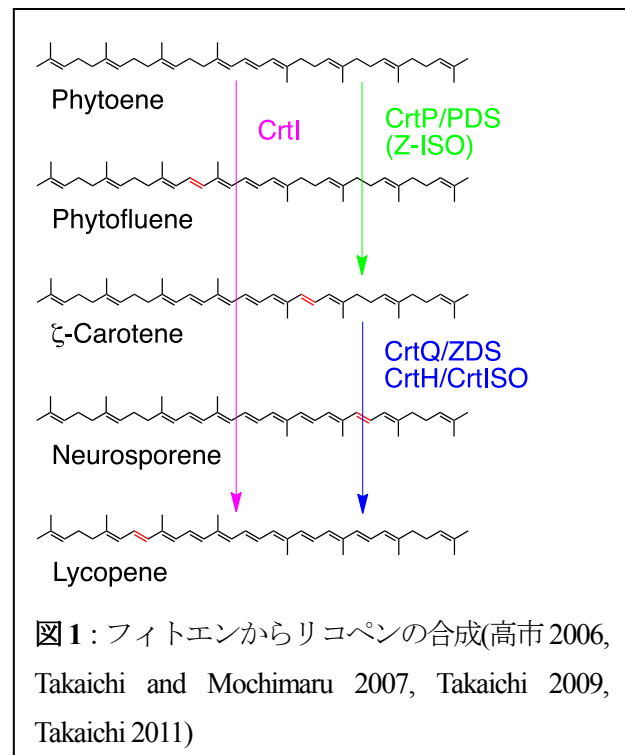
¹ カロテノイド合成遺伝子はクラスターを形成 ² Harada et al., unpublished, ³ Sugiyama et al., unpublished

2. フィトエンからリコペンの合成

15-シス-フィトエンから全トランス-リコペンの合成には 4 段階の不飽和化反応が必要である (図 1)。原核生物はフィトエン不飽和化酵素 phytoene desaturase (CrtI) [注: 下記のように複数の略語をもつことがある] が担っている。紅色細菌 (図 2) とクロロフレクサス (Harada et al., unpublished) ではこの酵素の機能が確認されており, ヘリオバクテリアには *crtI* に相同性がある遺伝子 *crtN* があるがまだ機能が確認されていない (表 1)。紅色細菌の *Rhodobacter* などは CrtI が最後の 4 段階目の不飽和化をできないため, リコペンではなくニューロスポレンが最終産物となりニューロスポレンからスフェロイデンなどを合成する (図 2)。ヘリオバクテリアは鎖状の C₃₀-ジアポニューロスポレンが最終産物である (Takaichi et al. 1997)。シアノバクテリアの中では,

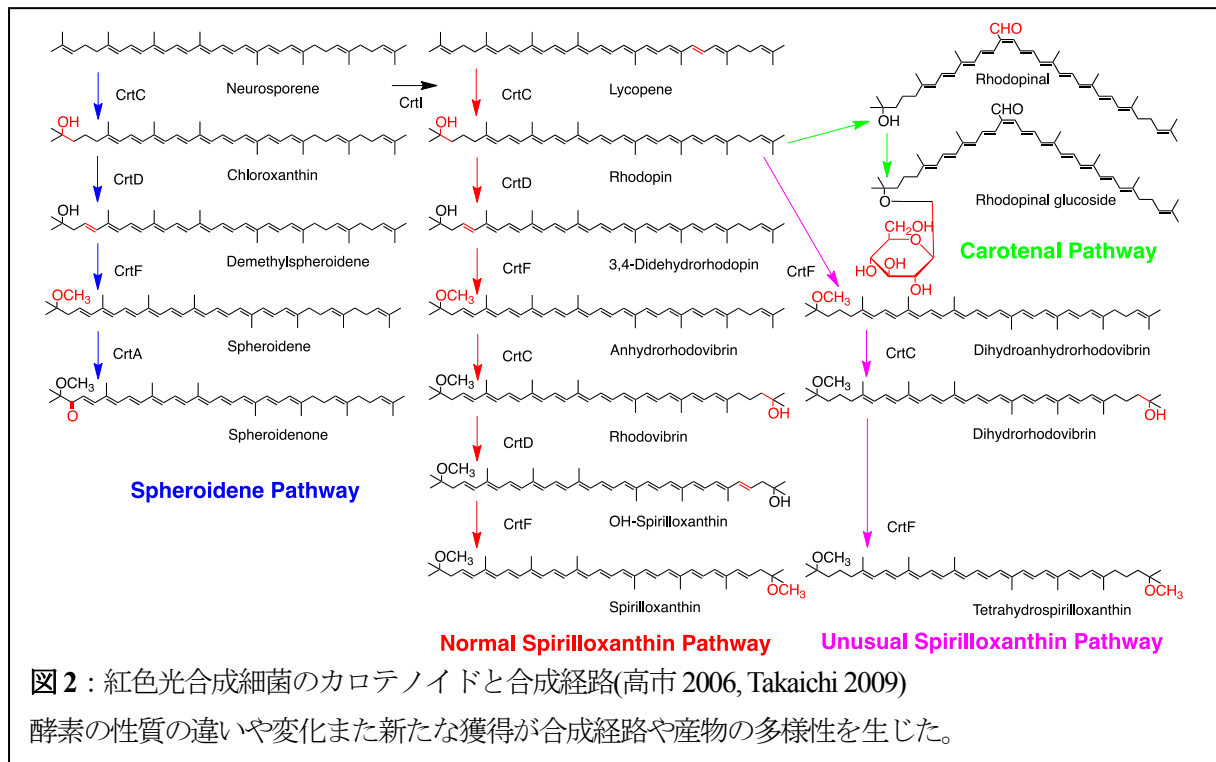
例外的に原始的な *Gloeobacter violaceus* のみ CrtI を使うが, 他のカロテノイド合成酵素は他のシアノバクテリアと共通性がある (Tsuchiya et al. 2005)。

原核生物においては緑色硫黄細菌とシアノバクテリアのみ, 葉緑体と同様にフィトエンから ζ -カロテンまでをフィトエン不飽和化酵素 phytoene desaturase (CrtP, Pds) [注: CrtI と同じ酵素名であるが機能は異なる] が, ζ -カロテンからリコペンまでを ζ -カロテン不飽和化酵素 ζ -carotene desaturase (CrtQ, Zds) が各々 2 段階ずつ不飽和化する (図 1)。さらに CrtQ の反応に伴い合成されるポリシス型のニューロスポレンとリコペンを, カロテン異性化酵素 carotene isomerase (CrtH, CrtISO) あるいは光照射によりトラ



ンス型に変換する。植物においてはポリシス- ζ -カロテンをジシス- ζ -カロテンに変換する ζ -カロテン異性化酵素 ζ -carotene isomerase (Z-ISO)も必要である(Li et al. 2007)。それに相同性のある遺伝子がシアノバクテリアにも存在し、最近になって機能確認された。また緑色硫黄細菌のゲノムにはZ-ISOに対応する遺伝子が見いだされなかった (Sugiyama et al. unpublished)。従って CrtP/Q 型はリコペン合成に合計3あるいは4種類の酵素を必用とする(表1、図1)。

crtP, *crtQ*, *crtH* は *crtI* に低い相同性があるので、*crtI* から変化したのであろう。4種の酵素によるリコペン合成経路は、緑色硫黄細菌からシアノバクテリアに、さらに藻類や陸上植物の葉緑体に引き継がれたと思われる。ただし細菌において1酵素(CrtI)が担っていた反応を、CrtP/Q型では4酵素に分割し複雑化したが、そのための原動力やメリットがどこにあったのかは不明である。



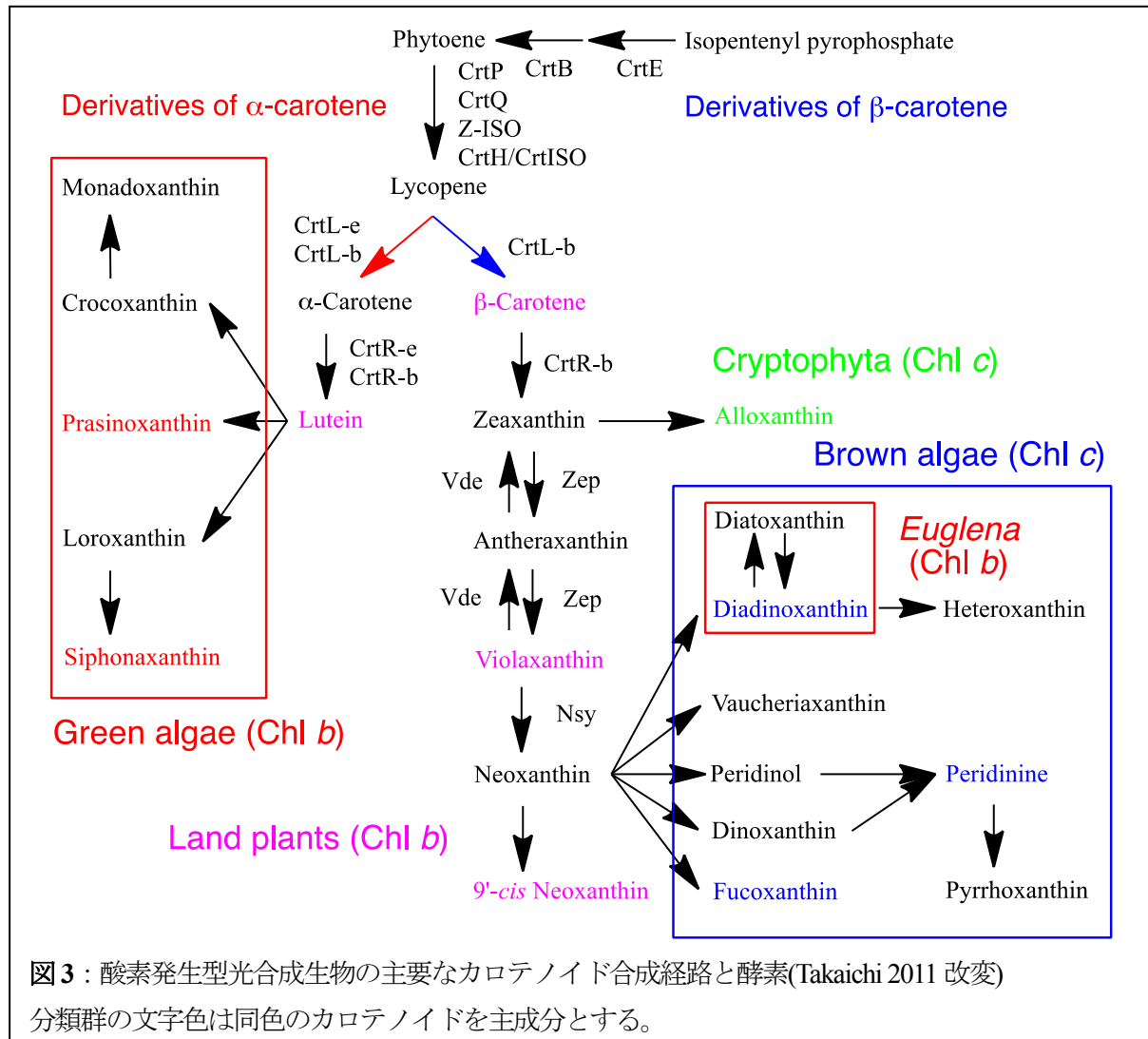
3. リコペンの環化 (β -カロテン, α -カロテン合成)

紅色細菌はリコペンを鎖状のまま修飾してスピリロキサニンなどを合成する(図2)。多くのヘリオバクテリアは鎖状カロテンが最終産物である(Takaichi et al. 1997)(表1)。

リコペン・シクラーゼ lycopene cyclase として相同性のない3種類の酵素が知られている。多くの細菌 CrtY と葉緑体 CrtL に見られる型、緑色硫黄細菌と一部のシアノバクテリアに見られる CruA/CruP 型、一部の細菌(CrtYc+CrtYd)とアーキア(CrtYcd)と菌類(CrtYB)には類似した別の型が存在している。CrtY と CrtL にはある程度の相同性が見られるので我々は同一グループと考えているが、Bryant らは2つに分けている(Maresca et al. 2007)。リコペンの片方を環化した γ -カロテンしかつけない CrtYm と CrtLm もあるが、各々 CrtY や CrtL と相同性が高い。

紅色細菌の一種である好気性光合成細菌の一部とクロロフレクサスも γ -カロテンと β -カロテンを CrtY により合成する(表1)(Harada et al. unpublished)。

藻類や陸上植物では、リコペンの両端をリコペン- β -シクラーゼ (CrtL-b, Lcy-b) が β 末端基にして β -カロテンがつくられる。一方、 α -カロテンは、基質特異性のために先ずリコペン- ϵ -シクラーゼ (CrtL-e, Lcy-e) が ϵ 末端基を合成して、次いで反対側を CrtL-b が β 末端基にして合成される(Cunningham et al. 2001)。2つの酵素は相同性が高く、CrtL-b から CrtL-e ができたと考えられている。 α -カロテンとその誘導体は一部の紅藻類、クリプト藻類、緑藻類、陸上植物に限られていて、光合成細菌と2属を除くシアノバクテリア(Takaichi et al. 2012)、褐藻類、ユーグレナには存在しない(図3)。クリプト藻類 *Guillardia theta* の α -カロテンは CrtL-b, CrtL-e により合成される(Konno et al. unpublished)。



シアノバクテリアのリコペン・シクラーゼは未だに十分な機能解析がされていない。最初に *Synechococcus* sp. PCC 7942 の CrtL (Cunningham et al. 1994), 次いで *Prochlorococcus marinus* の CrtL (Stickforth et al. 2003)の機能が確認された。近年、別型のリコペン・シクラーゼ CruA が緑色硫黄細菌 *Chlorobaculum tepidum*, CruA と CruP が *Synechococcus* sp. PCC 7002 で機能が確認された(Maresca et al. 2007)。最近, *Arthrospira platensis* においても CruA が機能確認された (Sugiyama et al. 2017)。さらに *Synechocystis* sp. PCC 6803 では CruA の活性発現に結合クロロフィルが必用であると報告された(Xiong et al. 2017)。crtL あるいは cruA/cruP に相同性のある遺伝子が多くのシアノバクテリアのゲノム上に存

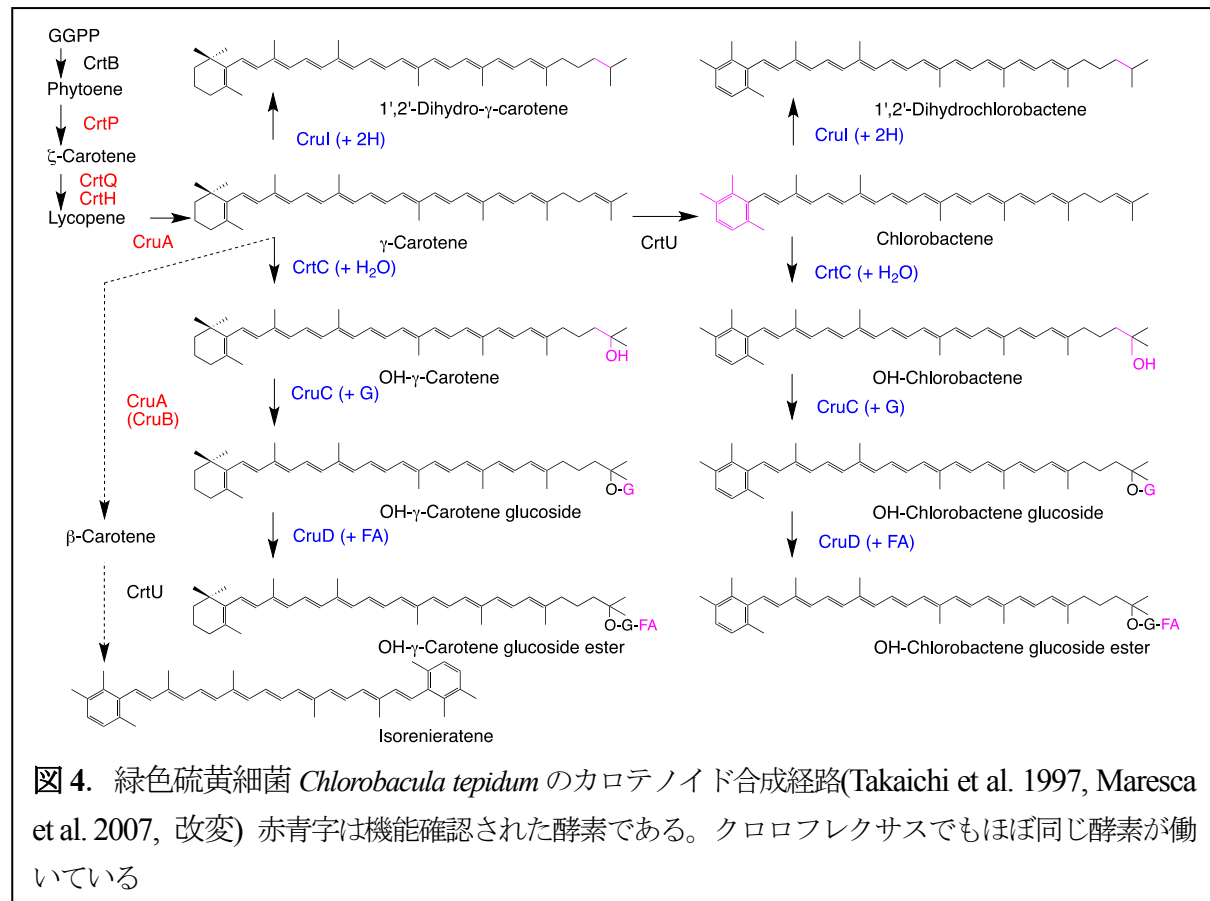
在するが、上記を除いては機能確認できていない。*cruA/cruP* がリコペン・シクラーゼの有力な候補と思われるが、さらなる機能確認が必要である。

4. 紅色細菌のカロテノイドと合成経路の多様性

紅色細菌のカロテノイドにも多様性が見られるが、合成酵素の性質の差異により合成経路に多様性が生じたと考えられる (図2) (高市 2006, Takaichi 2009)。上記のように *CrtI* の最終産物の違いがスフェロイデン経路とスピリロキサンチン経路を作り出したが、メトキシ基合成は同じヒドロキシニューロスポレン合成酵素 *hydroxyneurosporene synthase* (*CrtC*)、メトキシニューロスポレン不飽和化酵素 *methoxyneurosporene desaturase* (*CrtD*)、ヒドロキシニューロスポレン-O-メチル化酵素 *hydroxyneurosporene-O-methyl transferase* (*CrtF*) がどちらの経路でも働いている。

5. 緑色硫黄細菌とクロロフレクサスのカロテノイドと合成系

緑色硫黄細菌とクロロフレクサスの合成するカロテノイドとその合成経路はまだ充分には解析されていない (図4) (高市 2006)。緑色硫黄細菌 *Chlorobaculum tepidum* は OH- γ -カロテン・グルコシド・エステル、OH-クロロバクテン・グルコシド・エステル、1,2-ジヒドロ- γ -カロテンなどを合成する (Takaichi et al. 1997)。一部の合成酵素・遺伝子のうち *CrtC*、グルコース添加酵素 *glucosyltransferase* (*CruC*)、グルコース脂肪酸添加酵素 *glucosyl esterase* (*CruD*) は機能解析された (Frigaard et al. 2004)。また一部の種は β 末端基を芳香環にしたイソレニエラテンをもつ。最近、カロテノイド-1,2-還元酵素 *1,2-carotenoid-reductase* (*CruI*) の機能確認がなされた (Canniffe et al. 2018)。

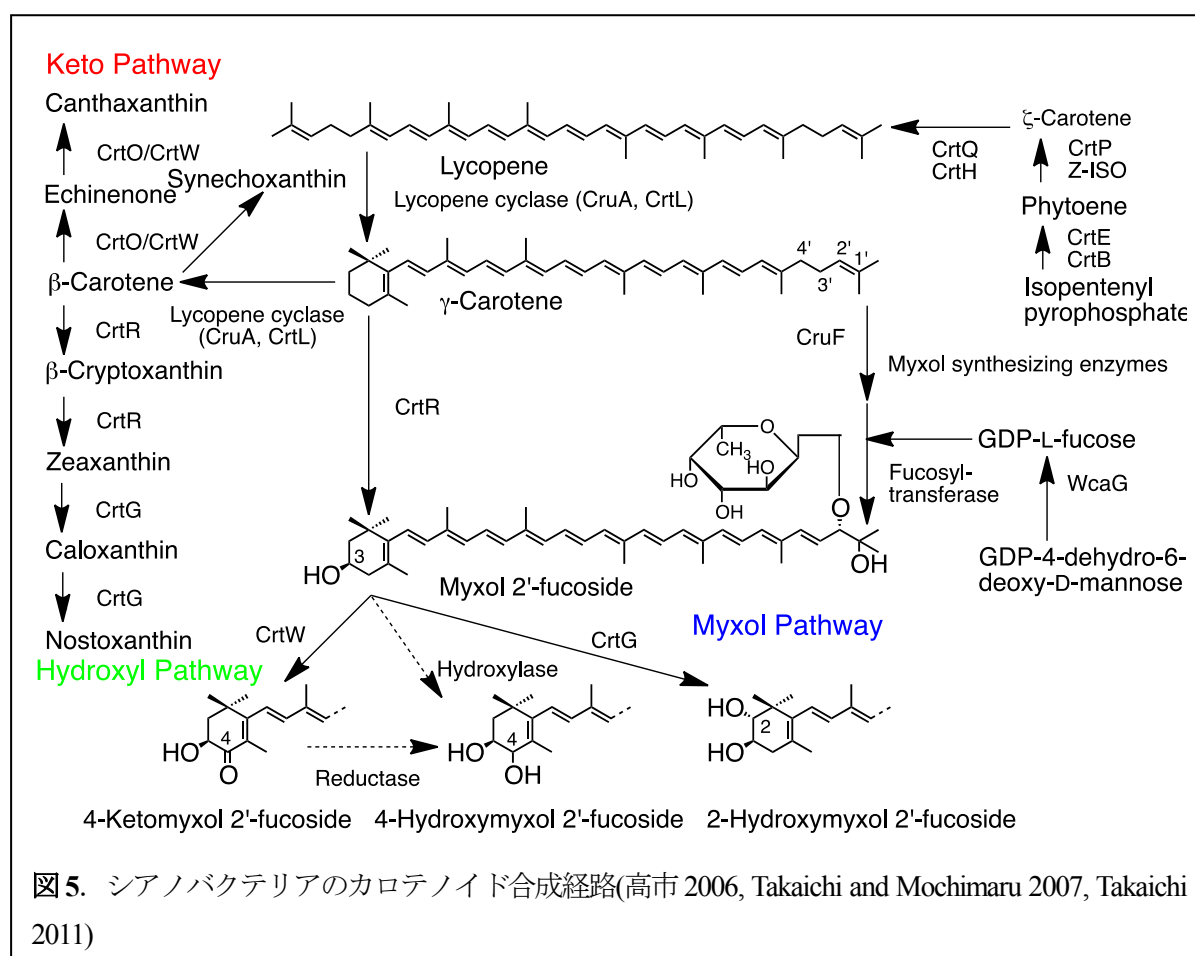


一方、クロロフレクサス *Chloroflexus aurantiacus* は OH- γ -カロテン・グルコシド・エステルなどをもつ (Takaichi et al. 1995)。合成酵素として CrtI, CrtY (表 1) が機能しており、さらに CruC, CruD と CrtC の代わりにカロテノイド-1,2-水添加酵素 carotenoid-1,2-hydratase (CruF) が機能している (図 4) (Harada et al., unpublished)。

6. 酸素発生型光合成生物のカロテノイドと合成経路

シアノバクテリア, 紅藻類, クリプト藻類, 褐藻類, 緑藻類, 陸上植物など酸素発生型光合成生物の主なカロテノイド合成経路を図3にまとめた。リコペンから β -カロテンと α -カロテンが合成され, 中央の経路にはそれらが変化し共通してみられるカロテノイドがあり, さらに左右に枝分かれた誘導体合成経路があり, これらは生物の系統分類に関係している。

シアノバクテリアは β -カロテン誘導体のみをもち、 β -カロテン水酸化酵素 β -carotene hydroxylase (CrtR, BHY)や下記のケト化によりエキネノンや水酸化によりノストキサンチンを合成し、さらにシアノバクテリアに特有な γ -カロテン誘導体のミクソール配糖体を合成する。いくつかの酵素の機能確認がなされている(図5)。ただしゼアキサンチンから先のエキネノンやノストキサンチンの合成経路は、葉緑体に引き継がれなかった(図3)。



シアノバクテリアにはケト化酵素として、互いに相同性のないβ-カロテンクトラーゼβ-carotene ketolase が2種類存在する(CrtO, CrtW) (図5)。Anabaena sp. PCC 7120 ではこれらの酵素が働く代謝

経路が異なる(Mochimaru et al. 2005)。CrtO は *Dinococcus* など、CrtW は *Paracoccus* など機能確認されており、これらの遺伝子をシアノバクテリアが獲得したと思われる。紅色細菌のスフェロイデン・モノオキシゲナーゼ spheroidene monooxygenase (CrtA) (図2)、褐藻類のフコキサンチンや緑藻類のシホナキサンチンのケト基合成酵素はまだ見つかっていないがゲノム解析からお互いに相同性がなく、由来が不明である。陸上植物にはケト化カロテノイドがなく、ケト化酵素がない(図3)。

シアノバクテリアが一次共生した灰色藻類は、ゼアキサンチンまでしか作ることができない。

シアノバクテリアが一次共生した紅藻類は、存在するカロテノイドから、ゼアキサンチン、アンテラキサンチン、ルテイン-タイプに分けられ、紅藻類の系統分類に対応している(Takaichi et al. 2016)。ただし、シアノバクテリアには見られない ϵ 末端基(ルテイン)はクリプト藻類にも見られる。またエポキシ基(アンテラキサンチン)は褐藻類だけでなく緑藻類・陸上植物にも見られるが、酵素・遺伝子の由来は不明である(図3)。

紅藻類が二次共生をした種々の褐藻類のカロテノイドはすべて β -カロテンとその誘導体で、アレン基($C=C=C$)をもつジアジノキサンチン、フコキサンチン、ペリジニンなどがある。アレン基は生体物質としてはカロテノイドに特有な基で、他の生体物質にはほとんど見られない。陸上植物ではビオラキサンチンからネオキサンチンを合成し、アレン基を作るネオキサンチン合成酵素 neoxanthin synthase (NSY) が知られている。褐藻類ではネオキサンチンが検出されないことが多いが、化学構造を比較するとアレン基をもつカロテノイドは、トランス-ネオキサンチンから合成されると思われる(図3)。ただし系統分類や進化を考えると、どこでこの *Nsy* 遺伝子を獲得し、どのように伝わったかは不明である。

紅藻類が二次共生をしたクリプト藻類には、アセチレン基($C\equiv C$)をもつアロキサンチンなどがあり、ゼアキサンチンなどの二重結合からアセチレン基ができたと思われる。褐藻類に見られるジアジノキサンチンなどにもアセチレン基はあるが、渦鞭毛藻ではトレーサー実験からネオキサンチンを経由して合成された(Swift et al. 1982) (図3)。

シアノバクテリアが一次共生した緑藻類は、その後種々の緑藻類に分かれ、シホナキサンチンなど種々のルテイン誘導体がつくられる。緑藻類では β -カロテンの誘導体は限られた種類しか存在しないが、 α -カロテン誘導体には多様性が見られる。ただしユーグレナには α -カロテン誘導体が見られない(図3)。

以上の水生藻類に対して、全ての陸上植物のカロテノイドはほぼ同じで、図3の中心部分に位置する β -カロテン、ビオラキサンチン、9'-シス-ネオキサンチン、ルテインを主成分とする。上記のようにゼアキサンチンを合成し、またルテインは α -カロテンから P450 型の α -カロテン水酸化酵素 α -carotene hydroxylase が水酸基を合成する。ゼアキサンチンはゼアキサンチン・エポキシダーゼ zeaxanthin epoxidase (ZEP)によりアンテラキサンチンを経てビオラキサンチンに変化する。強光下ではビオラキサンチン・デエポキシダーゼ violaxanthin deepoxidase (VDE)が活性化されてビオラキサンチンをゼアキサンチンに変化させる。ビオラキサンチンは NSY によりネオキサンチンに変化し、葉緑体には9'-シス型のネオキサンチンしか存在しないので異性化酵素があるはずだがまだ発見されていない。進化の結果一番単純なカロテノイドだけが残ったのだろうか。陸上植物は形態的には大きな進化をしたが、光合成の機構や色素はほぼ同一で変化が見られない。

7. おわりに

光合成生物（光合成細菌，シアノバクテリア，灰色藻類，紅藻類，褐藻類，緑藻類，陸上植物）のカロテノイド組成，即ちカロテノイド合成経路には多様性が見られる。これは共生や進化段階が変わるごとにカロテノイドの組成や合成経路に大きな変化が起きたためで，その時に一部の合成経路を捨てて，一部の合成経路や遺伝子を共生相手とは別の生物から取り込んだためと思われる。

紅色細菌のカロテノイド合成遺伝子はクラスターを形成しているが，他の光合成生物のカロテノイド合成遺伝子はゲノム上に点在している。そのため遺伝子の相同性からは限られた遺伝子のみしか見つけられない。また遺伝子に相同性があってもその機能を持たない例もある。その結果，遺伝子や酵素が未だに判らない合成段階も多い。光合成生物だけでなく，他のカロテノイド合成生物を含めて，系統分類とカロテノイド合成遺伝子や酵素との関係をさらに検討する必要がある。

謝辞

数多くの光合成生物のカロテノイドの分析や生合成遺伝子・酵素の解析をできたのは，多くの共同研究者に恵まれたためである。この場を借りて感謝を申し上げます。また，この総説を書く機会を頂きましたシンポジウムのオーガナイザーの帝京大学篠村知子博士と東京大学池内昌彦博士に謝意を表します。

参考文献

- Canniffe, D.P., Thweatt, J.L., Chew, A.G.M., Hunter, C.N., Bryant, D.A. 2018. A paralog of a bacteriochlorophyll biosynthesis enzyme catalyzes the formation of 1,2-dihydro-carotenoids in green sulfur bacteria. ISPP 2018, abstract A3.
- Cunningham, Jr., F.X., Sun, Z., Chamovitz, D., Hirschberg, J., & Gantt, E. 1994. Molecular structure and enzymatic function of lycopene cyclase from the cyanobacterium *Synechococcus* sp strain PCC7942. *Plant Cell* 6: 1107-1121.
- Cunningham, Jr., F.X., & Gantt, E. 2001. One ring or two? Determination of ring number in carotenoids by lycopene ϵ -cyclases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98: 2905-2910.
- Frigaard, N.-U., Maresca, J.A., Yunker, C.E., Jones, A.D., & Bryant, D.A. 2004. Genetic manipulation of carotenoid biosynthesis in the green sulfur bacterium *Chlorobium tepidum*. *J. Bacteriol.* 187: 5210-5220.
- Li, F., Murillo, C., & Wurtzel, E.T. 2007. Maize Y9 encodes a product essential for 15-cis- ζ -carotene isomerization. *Plant Physiol.* 144: 1181-1189.
- Maresca, J., Graham, J.E., Wu, M., Eisen, J.A., & Bryant, D.A. 2007. Identification of a fourth family of lycopene cyclases in photosynthetic bacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104: 11784-11789.
- Mochimaru, M., Masukawa, H., & Takaichi, S. 2005. The cyanobacterium *Anabaena* sp. PCC 7120 has two distinct β -carotene ketolases: CrtO for echinenone and CrtW for ketomyxol synthesis. *FEBS Lett.* 579: 6111-6114.
- Stickforth, P., Steiger, S., Hess, W.R. & Sandmann, G. 2003. A novel type of lycopene ϵ -cyclase in the marine

- cyanobacterium *Prochlorococcus marinus* MED4. *Arch. Microbiol.* 179: 409-415.
- Sugiyama, K., Ebisawa, M., Yamada, M., Nagashima, Y., Suzuki, H., Maoka, T., & Takaichi, S. 2017. Functional lycopene cyclase (CruA) in cyanobacterium, *Arthrospira platensis* NIES-39, and its role in carotenoid synthesis. *Plant Cell Physiol.* 58: 831-838.
- Swift, I.E., Milborrow, B.V., & Jeffrey, S.W. 1982. Formation of neoxanthin, diadinoxanthin and peridinin from [¹⁴C]zeaxanthin by a cell-free system from *Amphidinium carterae*. *Phytochemistry* 21: 2859-2864.
- Takaichi, S., Tsuji, K., Matsuura, K., & Shimada, K. 1995. A monocyclic carotenoid glucoside ester is a major carotenoid in the green filamentous bacterium *Chloroflexus aurantiacus*. *Plant Cell Physiol.* 36: 773-778.
- Takaichi, S., Inoue, K., Akaike, M., Kobayashi, M., Oh-oka, H., & Madigan, M.T. 1997. The major carotenoid in all known species of heliobacteria is the C₃₀ carotenoid 4,4'-diaponeurosporene, not neurosporene. *Arch. Microbiol.* 168: 277-281.
- Takaichi, S., Wang, Z.-Y., Umetsu, M., Nozawa, T., Shimada, K., & Madigan, M.T. 1997. New carotenoids from the thermophilic green sulfur bacterium *Chlorobium tepidum*: 1',2'-dihydro- γ -carotene, 1',2'-dihydrochlorobactene, and OH-chlorobactene glucoside ester, and the carotenoid composition of different strains. *Arch. Microbiol.* 168: 270-276.
- 高市真一 (編) 2006. カロテノイド. 裳華房. 東京
- 高市真一. 2016. 光合成生物におけるカロテノイド合成系の進化. 光合成研究. 26: 216-221.
- Takaichi, S., & Mochimaru, M. 2007. Carotenoids and carotenogenesis in cyanobacteria: unique ketocarotenoids and carotenoid glycosides. *Cell. Mol. Life Sci.* 64: 2607-2619.
- Takaichi, S. 2009. Distribution and biosynthesis of Carotenoids. in *The Purple Phototrophic Bacteria* (Hunter, C.N., Daldal, F., Thurnauer, M.C. and Beatty, J.T., Eds.) pp 97-117, Springer, Dordrecht, The Netherlands.
- Takaichi, S. 2011 Carotenoids in algae: distributions, biosyntheses and functions. *Mar. Drugs* 9: 1101-1118.
- Takaichi, S., Mochimaru, M., Uchida, H., Murakami, A., Hirose, E., Maoka, T., Tsuchiya, T., & Mimuro, M. 2012. Opposite chirality of α -carotene in unusual cyanobacteria with unique chlorophylls, *Acaryochloris* and *Prochlorococcus*. *Plant Cell Physiol.* 53: 1881-1888.
- Takaichi, S., Yokoyama, A., Mochimaru, M., Uchino, H., & Murakami, A. 2016. Carotenogenesis diversification in phylogenetic lineages of Rhodophyta. *J. Phycol.* 52: 329-338.
- Tsuchiya, T., Takaichi, S., Misawa, N., Maoka, T., Miyashita, H., & Mimuro, M. 2005. The cyanobacterium *Gloeobacter violaceus* PCC 7421 uses bacterial-type phytoene desaturase in carotenoid biosynthesis. *FEBS Lett.* 579: 2125-2129.
- Xiong, W., Shen, G., & Bryant, D.A. 2017. *Synechocystis* sp. PCC 6803 CruA (slr0147) encodes lycopene cyclase and requires bound chlorophyll *a* for activity. *Photosynth. Res.* 131: 267-280.