

# Production of Carotenoids by Bacteria: Carotenoid Productivity and Availability

Seong Seok Choi<sup>1</sup> and Gun-Do Kim<sup>2\*</sup><sup>1</sup>Basic Science Research Institute, Pukyong National University, Busan 48513, Korea<sup>2</sup>Department of Microbiology, Pukyong National University, Busan 48513, Korea

Received April 21, 2022 / Revised May 21, 2022 / Accepted May 23, 2022

Carotenoids are red, orange, and yellow fat-soluble pigments that exist in nature, and are known as physiologically active substances with various functions, such as provitamin A, antioxidant, anti-inflammatory, and anticancer. Because of their physiological activity and color availability, carotenoids are widely used in the food, cosmetics, and aquaculture industries. Currently, most carotenoids used industrially use chemical synthesis because of their low production cost, but natural carotenoids are in the spotlight because of their safety and physiologically active effects. However, the production of carotenoids in plants and animals is limited for economic reasons. Carotenoids produced by bacteria have a good advantage in replacing carotenoids produced by chemical synthesis. Since carotenoids produced from bacteria have limited industrial applications due to low productivity, studies are continuously being conducted to increase the production of carotenoids by bacteria. Studies conducted to increase carotenoid production from bacteria include the activity of enzymes in the bacterial carotenoid biosynthesis pathway, the development of mutant strains using physical and chemical mutagens, increasing carotenoid productivity in strain construction through genetic engineering, carotenoid accumulation through stress induction, fermentation medium composition, culture conditions, co-culture with other strains, etc. The aim of this article was to review studies conducted to increase the productivity of carotenoids from bacteria.

**Key words :** Bacteria, carotenoid, co-culture, culture condition, genetic engineering

## 서 론

카로티노이드(carotenoid)는 자연계에 존재하는 지용성의 색소로 붉은색, 주황색, 황색 등의 색을 가지는 생리활성물질로 알려져 있다. 카로티노이드는 이소프레노이드 화합물로 주로 40개의 탄소 backbone을 가지며(C<sub>40</sub>), 이외에도 탄소 수에 따라 C<sub>30</sub>, C<sub>50</sub> 계열 등의 카로티노이드도 존재한다. 이러한 카로티노이드는 주로 세균, 미세조류, 효모, 곰팡이, 식물 등에서 생합성되는 것으로 알려져 있다[11]. 현재까지 발견된 카로티노이드는 약 1,100 종이 넘는 것으로 알려져 있으며[60], 대표적인 카로티노이드로는 주로 채소나 과일 등에 존재하는 lycopene,  $\beta$ -carotene, zeaxanthin과 갑각류 및 연어과의 어류에서 발견되는 astaxanthin 등이 있다[17].

카로티노이드는 많은 연구를 통해 다양한 생리활성을

가지는 것으로 보고되었다. 대표적인 카로티노이드의 기능으로는 다음과 같은 것이 있다. 첫째, 일부 카로티노이드는 provitamin의 역할을 수행한다[41]. Vitamin A는 retinol이라고 불리는 물질로 면역 체계에 작용하는 것으로 알려져 있는 인체에 필수적인 물질이다[21]. 이 Vitamin A는 provitamin A로 불리는  $\alpha$ -carotene,  $\beta$ -carotene,  $\gamma$ -carotene,  $\beta$ -Cryptoxanthin 등의 카로티노이드가 세포 내 대사 과정을 통해 생성될 수 있으며, 이러한 카로티노이드는 provitamin A라고 불리고 있다. 둘째, 카로티노이드는 공액 이중결합을 가지며, 그 구조에 의해 항산화 활성을 나타낸다[53]. 세포 내에서 생성된 라디칼들은 DNA, 단백질, 탄수화물 및 지질과 같은 생물학적으로 관련된 분자들과 반응하여 손상을 유발한다. 카로티노이드는 라디칼 소거에 관여하여 라디칼에 의해 발생하는 여러 분자들의 손상을 효과적으로 차단한다. 셋째, 카로티노이드는 항염증 활성을 가진다[13, 25]. Astaxanthin, lycopene,  $\beta$ -carotene, zeaxanthin과 같은 카로티노이드는 세포 내에서 염증과 관련된 신호 전달 경로에 관여하여 항염증 활성을 가지는 것으로 보고되었다. 넷째, 카로티노이드는 항암 활성이 있는 것으로 보고되었다[29, 35]. 다양한 연구에서 카로티노이드는 세포 신호 전달 경로에서 발암을 유발하는 단계를 약화시키고, 세포의 apoptosis를 유도 및 세포

### \*Corresponding author

Tel : +82-51-629-5618, Fax : +82-51-629-5619

E-mail : [gundokim@pknu.ac.kr](mailto:gundokim@pknu.ac.kr)

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

주기를 조절하는 것으로 확인되었다.

카로티노이드는 지용성의 색소라는 특성과 다양한 생리 활성으로 착색제, 식품첨가제, 기능성 식품, 화장품 원료, 축산, 양식 및 관상어 사료 등 산업적으로 이용된다. 카로티노이드를 생산하는 방법으로는 화학 합성, 카로티노이드를 생산 또는 축적하는 동식물 원료로부터 추출, 미생물에 의한 생산 등이 있다[13, 14, 22]. 이 중 화학 합성의 경우 안전성의 문제로 사용이 제한적이며, 동식물 원료로부터 추출하는 방법은 원료 확보의 어려움, 높은 추출 경비 등으로 가격대가 높아 산업적으로 어려움이 있다. 이러한 단점을 극복하기 위해 현재는 미생물을 이용한 카로티노이드 생산을 선호하고 있다[16].

카로티노이드를 생산하는 다양한 미생물 중에서 박테리아를 이용한 카로티노이드 생산은 식물이나 동물로부터 카로티노이드를 생산하는 것에 대한 대안이 될 수 있다. 박테리아를 이용하는 경우 원료 수급 및 배양 조건 유지의 편리성으로 높은 생산량을 유지할 수 있다. 그리고 배양에 필요한 영양 성분을 산업 및 농업 폐기물에서 발생하는 유기물로 대체하여 폐기물을 고가의 산물로 전환할 수 있다는 장점도 있다[45, 63]. 또한 박테리아는 식물이나 곰팡이, 미세조류 등과 비교하여 유전자 조작이 쉬워 카로티노이드 생산량을 높이기 위한 유전자 조작이 용이하다[38, 42].

따라서, 본 논문에서는 산업적으로 유용한 카로티노이드의 생산에서 박테리아의 중요성 및 박테리아에서 카로티노이드의 생산성을 증가시키기 위해 시도된 연구들을 설명하고자 한다.

## 본 론

### 박테리아에서 카로티노이드 생합성 경로

카로티노이드 중에서 산업적으로 많이 이용되고, 가치가 높은 물질은 astaxanthin이며, 일부 박테리아는 astaxanthin을 생합성 할 수 있는 생합성 경로를 가진다[39]. 카로티노이드를 생합성하기 위해서는 첫 전구물질은 C<sub>5</sub>의 backbone을 가진 isopentenyl diphosphate (IPP)와 dimethylallyl diphosphate (DMAPP)이며, 박테리아에서는 주로 non-mevalonate pathway 를 통해 IPP와 DMAPP를 합성한다[12, 44]. 3개의 IPP 분자와 1개의 DMAPP 분자는 GGPP synthase (geranylgeranyl pyrophosphate synthase; CrtE)에 의해 카로티노이드 생합성의 직접적인 전구체인 C<sub>20</sub>의 GGPP가 합성된다. 2개의 GGPP 분자는 phytoene synthase (CrtB)에 의해 무색의 C<sub>40</sub> 분자인 phytoene으로 합성된다. Phytoene에서 lycopene으로 합성되는 단계에서, 식물은 phytoene desaturase (PDS), ζ-carotene desaturase (ZDS), ζ-carotene, cis-trans isomerase (Z-ISO), carotene cis-trans isomerase (CRTISO) 등 다양한 효소가 관여하는 것과 다르게

박테리아에서는 phytoene dehydrogenase (CrtI) 하나의 효소에 의해 중간 단계인 ζ-carotene을 거쳐 lycopene으로 합성된다[34, 47]. Lycopene은 lycopene cyclase (CrtY)에 의해 양쪽 말단에서 탄소의 고리화가 일어나 β-carotene으로 합성된다. β-carotene은 β-carotene hydroxylase (CrtZ)에 의해 zeaxanthin으로 합성되거나, β-carotene ketolase (CrtW)에 의해 canthaxanthin으로 합성되며, zeaxanthin은 CrtW에 의해, canthaxanthin은 CrtZ에 의해 최종적으로 astaxanthin으로 합성된다.

현재까지 많은 종의 카로티노이드 생산 박테리아가 보고되었다(Table 1). 이런 다양한 종의 박테리아는 astaxanthin을 생합성하는 경로 이외에 서로 다른 다양한 카로티노이드 생합성 경로를 가지고 있으며(Fig. 1), 케톤기, 알콜기, 메틸기, 단당 등 서로 다른 작용기를 가지거나 backbone의 탄소수가 다른 다양한 카로티노이드를 생산할 수 있다[43].

### 카로티노이드 생산에서 박테리아의 중요성

미생물에서 카로티노이드를 생산하는 것은 여러가지 이점이 있다. 카로티노이드 생산에서 미생물을 이용한 생산의 가장 큰 장점으로는 배양기를 이용하여 균체를 생산하기 때문에 공간에 의한 제약이나 계절의 변화에 따른 원료 수급 등 외부 환경에 의한 제약에서 비교적 자유롭다. 그리고 배양 조건을 통제하여 일정한 품질과 생산성을 유지할 수 있다. 특히, 박테리아에서의 카로티노이드 생산은 미세조류와 같은 다른 미생물들과 비교하여 세대기간이 짧기 때문에 빠르게 수확할 수 있다[26, 46]. 그리고 박테리아는 동물과 식물, 곰팡이, 조류 등 진핵생물과 비교하여 유전자 조작을 쉽게 수행할 수 있어서 유전자 조작을 통해 카로티노이드 생산력이 높은 새로운 균주를 빠르게 개발할 수 있다[8]. 또한, 가공 중 추출 단계에서 박테리아는 다른 카로티노이드 공급원과 비교하여 추출 단계가 간단하다는 장점이 있다[36]. 그람 음성 박테리아는 얇은 펩티도글리칸 층과 외막에 지질다당류(LPS) 내막을 가지고 있어 일반적으로 유기 용매가 더 잘 투과될 수 있고, 그람 양성 박테리아는 더 두꺼운 펩티도글리칸 층을 가지고 있어서 유기 용매의 침투가 그람 음성 박테리아보다는 힘들다. 하지만 두 경우 모두 더 단단한 세포벽을 가지는 미세조류나 효모, 식물이나 갑각류의 외피 등과 비교하여 간단하게 카로티노이드를 추출할 수 있다.

미생물에서 카로티노이드를 생산하는 것은 기존의 동식물을 기반으로 하는 카로티노이드 생산을 대체할 수 있으며, 많은 장점을 가지고 있다. 따라서, 박테리아에서 카로티노이드 생산은 기존의 동식물 및 미세조류를 기반 카로티노이드 공급원을 대체할 수 있는 주요 카로티노이드 생산원으로 활용할 수 있으며, 박테리아를 산업적으로 활용하기 위해 돌연변이 및 유전공학적인 방법을 이용한 균주

Table 1. List of carotenoids producing bacteria reported by various studies

Carbon backbone	Carotenoids	Organism	Reference
C <sub>40</sub>	Astaxanthin	<i>Altererythrobacter ishigakiensis</i>	Matsumoto et. al. [37]
		<i>Paracoccus haeundaensis</i>	Lee et. al. [31]
		<i>Paracoccus marcusii</i>	Harker et. al. [20]
		<i>Paracoccus carotinifaciens</i>	Tsubokura et. al. [57]
		<i>Sphingomicrobium astaxanthinifaciens</i>	Shahina et. al. [50]
	Zeaxanthin	<i>Aquibacter zeaxanthinifaciens</i>	Hameed et. al. [19]
		<i>Mesoflavibacter aestuarii</i>	Lee et. al. [30]
		<i>Mesoflavibacter zeaxanthinifaciens</i>	Asker et. al. [1]
		<i>Paracoccus zeaxanthinifaciens</i>	Joshi et. al. [24]
		<i>Zeaxanthinibacter enoshimensis</i>	Asker et. al. [2]
Canthaxanthin	<i>Dietzia maris</i>	De Neve et. al. [10]	
	<i>Dietzia natronolimnaea</i>	Khodaiyan et. al. [27]	
	<i>Gordonia jacobaea</i>	De Miguel et. al. [9]	
Lycopene	<i>Rhodospirillum rubrum</i>	Wang et. al. [58]	
C <sub>50</sub>	Sarcinaxanthin	<i>Kocuria palustris</i>	Kovács et. al. [28]
		<i>Micrococcus luteus</i>	Netzer et. al. [40]
	Decaprenoxanthin	<i>Kocuria gwangallinsis</i>	Seo et. al. [49]
C <sub>30</sub>	Methyl 5-glucosyl-5,6-dihydro-4,4'-diapolycopenoate	<i>Planococcus maritimus</i>	Takemura et. al. [55]

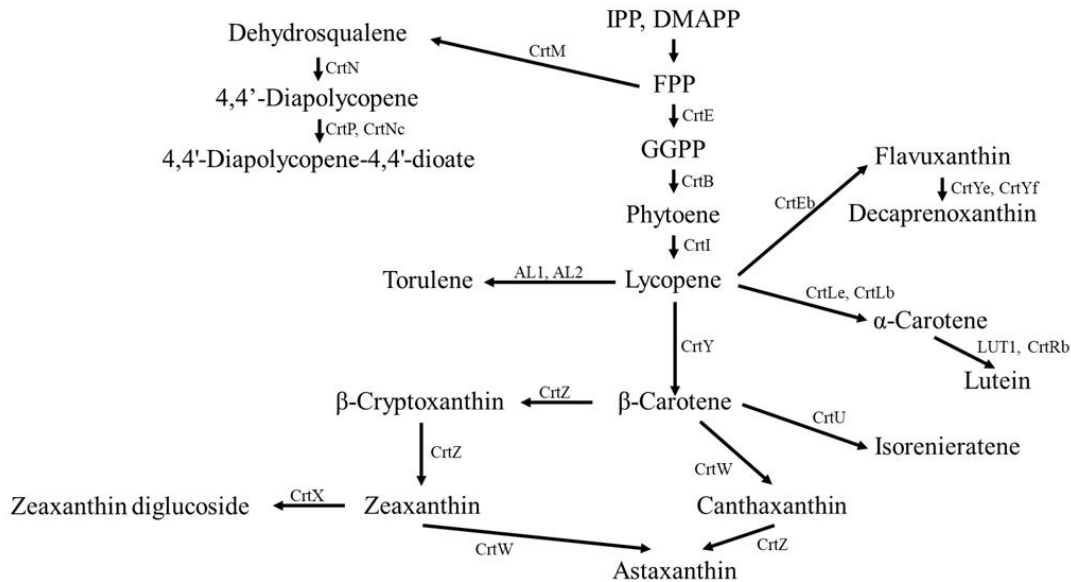


Fig. 1. Various carotenoids produced by the carotenoid biosynthetic pathway. IPP and DMAPP produced by the isoprenoid pathway are precursors of the carotenoid biosynthesis pathway. C<sub>40</sub> carotenoids lycopene, beta-carotene, astaxanthin, etc. are biosynthesized by enzymes such as CrtE, CrtB, CrtI, CrtY, CrtZ, and CrtW. C<sub>30</sub> carotenoids are biosynthesized by enzymes such as CrtM, CrtN, CrtP, and CrtNc using FPP as a substrate. C<sub>50</sub> carotenoids are biosynthesized by enzymes such as CrtEb, CrtYe, and CrtYf using lycopene as a substrate.

개량과 배지 조성, 배양 중 스트레스 등 카로티노이드 생산성을 높이기 위한 다양한 연구가 이루어졌다(Fig. 2).

**유전공학을 이용한 카로티노이드 생산 증가**

박테리아로부터 생산되는 카로티노이드는 동물이나

식물, 미세조류 등 카로티노이드 생산원들과 비교하여 상대적으로 생산성이 낮아 산업적으로서의 이용이 제한된다는 단점이 존재한다. 따라서, 이러한 단점을 극복하고자 박테리아로부터 카로티노이드 생산량을 증가시키기 위한 연구가 지속적으로 이루어지고 있다. 이러한 연구들

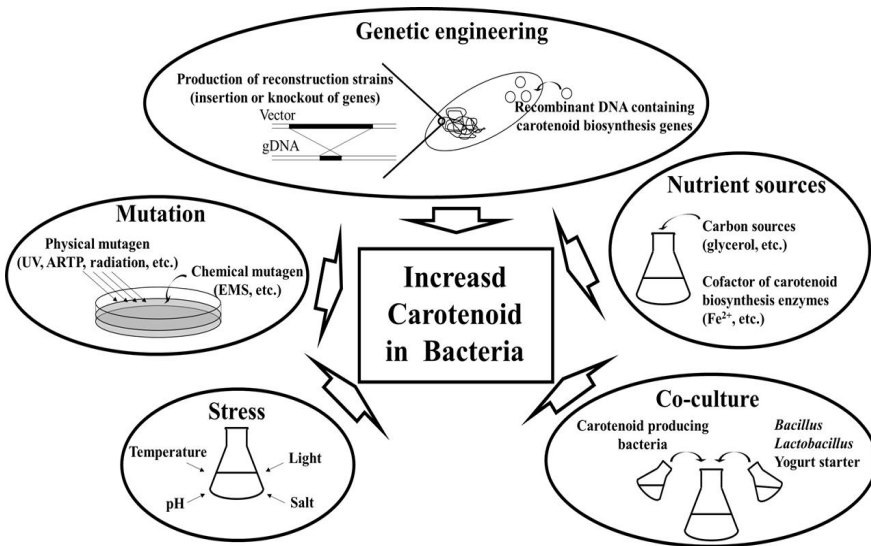


Fig. 2. Various studied methods attempted to increase carotenoid productivity from bacteria.

중에서 유전자 변형을 이용하여 카로티노이드 생산 박테리아를 개선하는 연구는 카로티노이드 생산량을 증가시키기 위한 좋은 대안으로 이용되어 왔다.

유전자를 조작하기 위해 사용되는 방법 중 물리화학적 돌연변이원을 이용하여 무작위로 박테리아의 돌연변이를 유도하는 방법은 실험이 단순하고 빠르게 조작할 수 있어 많이 이용되는 방법이다. Seo [48]는 카로티노이드 중 astaxanthin을 생산하는 *Paracoccus haeundaensis* 균주를 자외선과 Ethyl methanesulfonate (EMS) 로 돌연변이를 유도하여 wild type보다 astaxanthin 생산량을 약 60% 증가시키는 돌연변이 균주를 제작하였다. Wang 은 *Rhodotorula mucilaginosa* 균주에 atmospheric and room-temperature plasma (ARTP)로 돌연변이를 유도하였으며, 돌연변이 균주는 wild type보다 카로티노이드 생산량이 67% 증가하였다[59].

돌연변이를 유도하는 방법은 쉽게 균주의 유전자를 변화시킬 수 있지만, DNA 중에서 무작위로 변이가 일어나고, 카로티노이드 생산량이 증가한 돌연변이 균주 스크리닝이 쉽지 않다는 단점이 존재한다. 따라서 균주의 유전자를 변화시키기 위해 돌연변이 유도 이외에 원하는 유전자의 과발현 유도, 카로티노이드 생산 경로 변경 등 대사 공학적 접근을 통해 카로티노이드 생산량을 증가시키는 방법이 선호된다. Jeong [23]은 non-mevalonate pathway 유전자와 astaxanthin 생합성 경로의 효소들을 *E. coli*에 형질 전환하여 astaxanthin을 생산하였다. 이 때, non-mevalonate pathway 유전자들 중에서 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate synthase (*dxs*), isopentenyl diphosphate isomerase (*idi*) 유전자의 발현량이 증가하였을 때, astaxanthin 생산량이 증가한다고 보고하였다. Taniguchi [56]의 연구에서는 *Corynebacterium glutamicum*에서 유전자의 발현을 조절하는 sigma factor중 하나인 sigA의 과발현을 유도하여 lycopene,

$\beta$ -carotene, decaprenoxanthin 등의 카로티노이드 발현량을 최대 8배 증가시켰다.

지난 수십년 동안 카로티노이드 생합성 분야에서 계속적인 연구가 진행되었으며, 이러한 연구는 카로티노이드 생합성 유전자의 대사 경로 및 기능과 활성화에 관한 연구도 포함된다. 이러한 연구의 결과로 카로티노이드를 생합성하는 다양한 유전자를 조합, 유전자의 발현량을 조절 및 카로티노이드 생합성 단계에서 다른 대사 경로를 차단 등의 방법을 통해 박테리아에서 연구자가 목표로 하는 카로티노이드의 생산을 유도할 수 있으며, 카로티노이드 생산량을 증가시킬 수 있다[33].

#### 배양 조건을 이용한 카로티노이드 생산성 증가

유전공학적 접근법 이외에도 배양 조건을 이용하여 박테리아에서 카로티노이드 생산을 증가시키고자 하는 연구가 진행되었다. 배양 중 스트레스가 주어진 환경에서 박테리아는 카로티노이드 생산량을 증가시켜 축적하여 스트레스로부터 자신을 보호하고자 한다. 배양 중 스트레스를 주는 여러 요인으로는 온도, 빛, pH, 염분, 등이 있다. 5°C의 낮은 온도의 스트레스 상태에서 *Micrococcus Roseus* 균주는 C<sub>50</sub> 카로티노이드인 bacterioruberins의 생산량이 증가하는 것으로 확인되었다[5]. *Rhodospseudomonas* sp. 균주의 경우 8,000 lx의 강한 빛으로 스트레스를 주었을 때 500 lx의 빛을 주었을 때보다 총 카로티노이드 함량이 약 1.7배 증가하는 것으로 보고되었다[63]. *Sporidiobolus parvoseus* 균주의 경우 염을 처리하지 않은 배지보다 0.75M의 NaCl을 처리하였을 때, 총 카로티노이드 함량이 약 31% 증가하였으며, 그 중 torulene의 농도는 약 3.2배 증가하는 것으로 보고되었다[32].

배지 내에는 박테리아가 성장하기 위한 탄소원, 질소원, 무기염류 등 다양한 영양 성분을 포함하고 있다. 이러

한 영양 성분은 박테리아의 성장뿐만 아니라 카로티노이드 생산량에도 영향을 미치는 것으로 보고되었으며, 영양 성분을 제어하는 방법으로 카로티노이드 생산량을 증가시키는 방법도 시도되었다. 영양원을 제어하는 방법 중 카로티노이드의 backbone을 구성하는 탄소원의 제어는 카로티노이드 생산에 직접적인 영향을 주게 된다[61]. 카로티노이드 생산 균주인 *Rhodococcus opacus*의 카로티노이드 생산 연구 및 카로티노이드 생합성 유전자를 포함하는 재조합 *E. coli*에서 카로티노이드 생산 연구에서 탄소원으로 글리세롤을 첨가한 결과 카로티노이드 생산량이 3~7배 증가하였다고 보고되었다[18, 54]. 탄소원은 세포가 활동하는데 필요한 에너지의 공급원일 뿐만 아니라 여러 대사과정에 사용되며, 글리세롤의 경우 isoprenoid 생합성 대사에 참여하여 카로티노이드 생합성 경로의 기질인 IPP와 DMAPP 생산을 증가시키는 것으로 보고되었다.

일부 카로티노이드 생합성 효소들의 경우 다양한 cofactor를 필요로 하며, 이러한 cofactor의 존재는 효소의 활성을 최적화하여 카로티노이드 생산량에 긍정적인 영향을 준다. Cofactor 중 금속이온의 유무에 따른 카로티노이드 생합성 효소들의 활성을 확인하기 위해 *in vitro* 조건에서 효소들의 활성을 측정된 연구 중 astaxanthin 생합성에 관여하는 효소들 중에서 CrtZ, CrtW 두 효소의 경우  $Fe^{2+}$  금속이온이 존재할 때 활성이 4~6배 증가한다고 보고되었다[15]. 또한 *Rhodobacter sphaeroides* 균주 배양시  $Fe^{2+}$  금속이온을 발효 배지에 첨가하였을 때 총 카로티노이드 생산량이 증가하였다는 연구 결과도 존재한다[6].

박테리아에서 카로티노이드 생합성 단계에서 특정 자극은 카로티노이드 생산을 촉진할 수 있다. 다양한 환경 조건 및 배지 조성에 따라 박테리아에서 카로티노이드 생산량이 증가할 수 있다는 사실은 산업적으로 카로티노이드 생산에 바로 적용할 수 있다. 따라서 각각의 균주에 따라 카로티노이드 생산력을 증가시킬 수 있는 배양 방법에 관한 연구가 필요하다.

### 공배양을 통한 카로티노이드 생산성 증가

공배양은 미생물로부터 유용한 산물을 증가시키기 위해 두 종 이상의 다른 균주를 함께 배양하는 방법이다. 공배양을 사용한 카로티노이드 생산 미생물로부터 카로티노이드 생산성 증가에 관한 연구에는 옥수수 시럽에서 *Rhodotorula glutinis*와 *Debaryomyces castellii*의 공배양[4], 유청 한외여과물에서 *Rhodotorula rubra*와 *Lactobacillus casei*의 공배양[51], 유청 한외여과물에서 *R. rubra* 및 요구르트 스타터의 공배양[52], 전분 함유 폐수에서 *H. pluvialis* 및 *B. subtilis*의 공배양[3], 전분 폐수에서 *R. glutinis*와 *Chlorella vulgaris*의 공배양[62]과 같은 연구들이 있다. 이 연구들에서 카로티노이드 생산 균주가 이용할 수 없는 영양 물질을 공배양 균주가 분해 또는 전환시켜 카로티노

이드 생산 균주가 영양 물질을 사용할 수 있도록 유도하여 카로티노이드 생산성을 증가시킨다고 보고하였다. 특히, 이러한 공배양은 버려지는 산업 폐수에서 카로티노이드를 생산하고, 산업 폐수 내 유기물의 농도를 낮춰 정화할 수 있다는 이점이 존재한다.

공배양 조건에서 카로티노이드의 생산량이 증가하는 원인이 단순히 카로티노이드 생산 미생물의 영양 물질 이용 효율성이 증가하는 것 이외에 카로티노이드 생합성 유전자의 발현 정도도 관련이 있다. Astaxanthin 생합성 박테리아인 *P. haendaensis* 균주와 유산균의 공배양 연구에서 아스타잔틴의 생산성이 2배 이상 증가하는 것을 확인하였다. 이 때 카로티노이드 생합성 경로의 crtI, crtY 및 crtZ 유전자의 발현이 유의하게 증가한다고 보고되었다[7]. 이러한 연구에서 공배양은 카로티노이드 생산 박테리아의 유전자 발현을 유도할 수 있고, 공배양 미생물 사이에 세포 내 신호전달에 자극을 주는 물질 교환이 이루어진다고 추측된다. 따라서 공배양을 이용한 카로티노이드 생산성 증가의 경우 공배양에 사용될 균주의 선정과 박테리아 세포 내 신호 전달 경로 및 카로티노이드 생합성 경로에 자극을 주는 물질 탐색 등 광범위한 기술 개발 등 지속적인 연구가 필요하다.

## 결론

카로티노이드는 Vitamin A, 항산화, 항염증, 항암 활성 등 다양한 생리 활성을 가지고 있으며, 일부 어류에서 근육이나 피부등에 착색되어 색을 띄게 하는 착색 효과도 가지고 있다. 이러한 기능성 때문에 식품첨가제나 기능성 식품, 화장품 원료 및 축산, 양식, 관상어 사료의 사료 첨가제 등 산업적으로 활용되고 있다. 안전성 및 기능성을 비교하였을 때, 천연물 유래 카로티노이드가 화학 합성으로 생산된 카로티노이드보다 더 우수하다. 하지만, 경제적인 측면에서 비교해 보았을 때, 산업적으로 활용되고 있는 카로티노이드는 대부분 천연물 유래 카로티노이드보다 저렴한 화학 합성에 의해 생산된 카로티노이드를 이용하고 있는 실정이다. 이러한 이유로 천연물 유래 카로티노이드 생산량을 증가시키기 위한 다양한 방법이 제안되었으며, 미생물로부터 카로티노이드 생산에 관한 연구가 꾸준히 이루어지고 있다.

많은 연구를 통해 카로티노이드 생합성 경로와 기질로 사용되는 IPP와 DMAPP 생합성 경로가 밝혀졌으며, 유전 공학적 접근을 통해 이들 대사 경로의 흐름을 조절하여 카로티노이드 생산력을 높일 수 있으며, 조성이나 배양 방법, 공배양 등 다양한 배양 환경을 제공하여 카로티노이드 생산력을 증가시킬 수 있다. 식품 가공 중 발생하는 산업 폐기물을 탄소원 및 질소원으로 사용하여 카로티노이드를 생산하는 연구도 진행되어 폐기물을 가치있는 산

물로 전환할 수 있다. 또한, 계절과 환경에 의해 제한받는 식물 원료와 비교하여 안정적으로 원료를 공급할 수 있으며, 식물이나 동물, 미세조류와 같은 다른 카로티노이드 공급원보다 추출이 간편하고, 시간도 적게 소모하므로 가공 공정에서 매우 경제적이다.

박테리아는 기존에 많이 연구된 lycopene,  $\beta$ -carotene, astaxanthin과 같은 C<sub>40</sub> 계열의 카로티노이드 뿐만 아니라 다양한 종에서 C<sub>30</sub>이나 C<sub>50</sub> 계열의 카로티노이드를 생산한다고 보고되었으며, 세포주 실험에서 C<sub>40</sub> 카로티노이드와 마찬가지로 항산화 활성이나 항암 활성이 있다고 보고되었다. 또한, 지속적으로 카로티노이드를 생산하는 균주들이 보고되고 있으며, 이들 박테리아로부터 다양한 카로티노이드와 이들 카로티노이드를 생합성하는 유전자들이 밝혀지고 있다.

하지만 박테리아에서 카로티노이드 생산은 경제적인 측면에서 매우 제한적이다. 카로티노이드는 분자 구조상 소수성이며, 따라서 주로 세포막이나 세포소기관의 막에 주로 존재하게 된다. 박테리아의 경우 주로 세포막이나 세포벽에 제한적으로 존재하게 되므로 세포가 축적할 수 있는 카로티노이드 함량은 다른 생산원보다 낮을 수밖에 없다. 또한, 카로티노이드 생산 박테리아의 경우 극히 일부의 균주를 제외하고 안전성이 입증되지 않았다. 또한 산업적으로 활용하고 있는 카로티노이드 이외에 기존에 보고된 C<sub>30</sub>이나 C<sub>50</sub> 계열의 카로티노이드 및 새로 발견되고 있는 카로티노이드 또한 안전성과 기능성에 관한 연구가 미흡한 실정이다.

카로티노이드의 산업적 적용 분야 확장을 위해서 여러 가지 측면에서의 연구가 필요하다. 우선 박테리아의 카로티노이드 생산능을 증가시키기 위해서 주요 유전자의 조절 메커니즘 및 카로티노이드 생합성 경로 이외에 다른 대사 경로 차단 등 세포의 개선에 관한 다양한 연구가 필요하며, 개선된 균주로부터 카로티노이드 생산성을 높일 수 있는 공정 최적화 방법도 개발하여야 한다. 또한, 기존에 보고되거나 새롭게 보고되고 있는 여러 카로티노이드의 안전성 검증 및 기능성에 관한 연구도 지속적으로 이루어져야 한다. 이들 카로티노이드는 기존의 카로티노이드 또는 여러 기능성 화합물을 대체하거나, 알려지지 않은 다양한 기능성을 가질 수도 있으며, 새로운 약물 후보군으로 선정될 수도 있다. 카로티노이드 생산에 있어 박테리아는 높은 잠재력을 가지고 있다. 따라서 카로티노이드 생합성 박테리아와 이들 박테리아가 가지고 있는 카로티노이드 생합성 효소, 박테리아가 생산하는 카로티노이드에 대한 꾸준한 연구가 필요하다.

## 감사의 글

이 성과는 2021년도 정부(교육부, 이공분야기초연구사

업, 기초연구기반구축사업) 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(NRF-2021R1A6A3A01087962).

## The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

## References

1. Asker, D., Beppu, T. and Ueda, K. 2007. *Mesoflavibacter zeaxanthinifaciens* gen. nov., sp. nov., a novel zeaxanthin-producing marine bacterium of the family *Flavobacteriaceae*. *Syst. Appl. Microbiol.* **30**, 291-296.
2. Asker, D., Beppu, T. and Ueda, K. 2007. *Zeaxanthinibacter enoshimensis* gen. nov., sp. nov., a novel zeaxanthin-producing marine bacterium of the family *Flavobacteriaceae*, isolated from seawater off Enoshima Island, Japan. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **57**, 837-843.
3. Bohutskyia, P., Kuceka, L. A., Hill, E., Pinchuk, G. E., Mundree, S. G. and Beliaev, A. S. 2018. Conversion of stranded waste-stream carbon and nutrients into value-added products via metabolically coupled binary heterotroph-photoautotroph system. *Bioresour. Technol.* **260**, 68-75.
4. Buzzini, P. 2001. Batch and fed-batch carotenoid production by *Rhodotorula glutinis-Debaryomyces castellii* co-cultures in corn syrup. *J. Appl. Microbiol.* **90**, 843-847.
5. Chattopadhyay, M. K., Jagannadham, M. V., Vairamani, M. and Shivaji, S. 1997. Carotenoid pigments of an antarctic psychrotrophic bacterium *Micrococcus roseus*: temperature dependent biosynthesis, structure, and interaction with synthetic membranes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **239**, 85-90.
6. Chen, D., Han, Y. and Gu, Z. 2006. Application of statistical methodology to the optimization of fermentative medium for carotenoids production by *Rhodobacter sphaeroides*. *Process Biochem.* **41**, 1773-1778.
7. Choi, S. S., Seo, Y. B., Nam, S. W. and Kim, G. D. 2021. Enhanced production of astaxanthin by co-culture of *Paracoccus haeundaensis* and lactic acid bacteria. *Front. Mar. Sci.* **7**, 597553.
8. Das, A., Yoon, S. H., Lee, S. H., Kim, J. Y., Oh, D. K. and Kim, S. W. 2007. An update on microbial carotenoid production: application of recent metabolic engineering tools. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **77**, 505-512.
9. De Miguel, T., Sieiro, C., Poza, M. and Villa, T. G. 2000. Isolation and taxonomic study of a new canthaxanthin-containing bacterium, *Gordonia jacobaea* MV-1 sp. nov. *Int. Microbiol.* **3**, 107-111.
10. De Neve, J., Goswami, G., Dutta, A., Surabhi, C. and Dutta, D. 2014. A statistically motivated choice of process parameters for the improvement of canthaxanthin production by *Dietzia maris* NIT-D (accession number: HM151403). *Rev. Mex. Ing. Quim.* **13**, 595-603.

11. Domonkos, I., Kis, M., Gombos, Z. and Ughy, B. 2013. Carotenoids, versatile components of oxygenic photosynthesis. *Prog. Lipid Res.* **52**, 539-561.
12. Eisenreich, W., Bacher, A., Arigoni, D. and Rohdich, F. 2004. Biosynthesis of isoprenoids via the non-mevalonate pathway. *Cell. Mol. Life Sci.* **61**, 1401-1426.
13. Fassett, R. G. and Coombes, J. S. 2011. Astaxanthin: a potential therapeutic agent in cardiovascular disease. *Mar. Drugs* **9**, 447-465.
14. Fernandes, A. S., do Nascimento, T. C., Jacob-Lopes, E., De Rosso, V. V. and Zepka, L. Q. 2018. Progress in carotenoid research. pp. 1-15. *BoD-Books on Demand : GmbH, Norderstedt, Germany.*
15. Fraser, P. D., Miura, Y. and Misawa, N. 1997. *In vitro* characterization of astaxanthin biosynthetic enzymes. *J. Biol. Chem.* **272**, 6128-6135.
16. Gong, M. and Bassi, A. 2016. Carotenoids from microalgae: A review of recent developments. *Biotechnol. Adv.* **34**, 1396-1412.
17. Goodwin, T. W. 1980. Nature and distribution of carotenoids. *Food Chem.* **5**, 3-13.
18. Guo, J. Y., Hu, K. L., Bi, C. H., Li, Q. Y. and Zhang, X. L. 2018. Construction of an alternative glycerol-utilization pathway for improved  $\beta$ -carotene production in *Escherichia coli*. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **45**, 697-705.
19. Hameed, A., Shahina, M., Lin, S. Y., Lai, W. A., Hsu, Y. H., Liu, Y. C. and Young, C. C. 2014. *Aquibacter zeaxanthinifaciens* gen. nov., sp. nov., a zeaxanthin-producing bacterium of the family *Flavobacteriaceae* isolated from surface seawater, and emended descriptions of the genera *Aestuariibaculum* and *Gaetbulibacter*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **64**, 138-145.
20. Harker, M., Hirschberg, J. and Oren, A. 1998. *Paracoccus marcusii* sp. nov., an orange gram-negative coccus. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **48**, 543-548.
21. Huang, Z., Liu, Y., Qi, G., Brand, D. and Zheng, S. G. 2018. Role of vitamin A in the immune system. *J. Clin. Med.* **7**, 258.
22. Ishida, B. K. and Chapman, M. H. 2009. Carotenoid extraction from plants using a novel, environmentally friendly solvent. *J. Agric. Food Chem.* **57**, 1051-1059.
23. Jeong, T. H., Cho, Y. S., Choi, S. S., Kim, G. D. and Lim, H. K. 2018. Enhanced production of astaxanthin by metabolically engineered non-mevalonate pathway in *Escherichia coli*. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **46**, 114-119.
24. Joshi, C. and Singhal R. S. 2016. Modelling and optimization of zeaxanthin production by *Paracoccus zeaxanthinifaciens* ATCC 21588 using hybrid genetic algorithm techniques. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* **8**, 228-235.
25. Kaulmann, A. and Bohn, T. 2014. Carotenoids, inflammation, and oxidative stress-implications of cellular signaling pathways and relation to chronic disease prevention. *Nutr. Res.* **34**, 907-929.
26. Kharangate-Lad, A. and Bhosle, S. 2016. Studies on siderophore and pigment produced by an adhered bacterial strain *Halobacillus trueperi* MXM-16 from the mangrove ecosystem of Goa, India. *Indian J. Microbiol.* **56**, 461-466.
27. Khodaiyan, K., Faramarz, F., Razavi, S. H., Emam-Djomeh, Z., Mousavi, S. M. A. and Hejazi, M. A. 2007. Effect of culture conditions on canthaxanthin production by *Dietzia natronolimnaea* HS-1. *J. Microbiol. Biotechnol.* **17**, 195-201.
28. Kovács, G., Burghardt, J., Pradella, S., Schumann, P., Stackebrandt, E. and Máriaiget, K. 1999. *Kocuria palustris* sp. nov. and *Kocuria rhizophila* sp. nov., isolated from the rhizoplane of the narrow-leaved cattail (*Typha angustifolia*). *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **49**, 167-173.
29. Kumar, S. R., Hosokawa, M. and Miyashita, K. 2013. Fucoxanthin: A marine carotenoid exerting anti-cancer effects by affecting multiple mechanisms. *Mar. Drugs* **11**, 5130-5147.
30. Lee, J. H., Hwang, Y. M., Baik, K. S., Choi, K. S., Ka, J. O. and Seong, C. N. 2014. *Mesoflavibacter aestuarii* sp. nov., a zeaxanthin-producing marine bacterium isolated from seawater. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **64**, 1932-1937.
31. Lee, J. H., Kim, Y. S., Choi, T. J., Lee, W. J. and Kim, Y. T. 2004. *Paracoccus haeundaensis* sp. nov., a Gram-negative, halophilic, astaxanthin-producing bacterium. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **54**, 1699-1702.
32. Li, C., Li, B., Zhang, N., Wei, N., Wang, Q., Wang, W., Xie, T. and Zou, H. 2019. Salt stress increases carotenoid production of *Sporidiobolus pararoseus* NGR via torulene biosynthetic pathway. *J. Gen. Appl. Microbiol.* **65**, 111-120.
33. Li, C., Swofford, C. A. and Sinskey, A. J. 2020. Modular engineering for microbial production of carotenoids. *Metab. Eng. Commun.* **10**, e00118.
34. Li, F., Murillo, C. and Wurtzel, E. T. 2007. Maize Y9 encodes a product essential for 15-cis-zeta-carotene isomerization. *Plant Physiol.* **144**, 1181-1189.
35. Linnewiel-Hermoni, K., Khanin, M., Danilenko, M., Zango, G., Amosi, Y., Levy, J. and Sharoni, Y. 2015. The anti-cancer effects of carotenoids and other phytonutrients resides in their combined activity. *Arch. Biochem. Biophys.* **572**, 28-35.
36. López, G. D., Álvarez-Rivera, G., Carazzone, C., Ibáñez, E., Leidy, C. and Cifuentes, A. 2021. Bacterial carotenoids: extraction, characterization, and applications. *Crit. Rev. Anal. Chem.* **16**, 1-24.
37. Matsumoto, M., Iwama, D., Arakaki, A., Tanaka, A., Tanaka, T., Miyashita, H. and Matsunaga, T. 2011. *Altererythrobacter ishigakiensis* sp. nov., an astaxanthin-producing bacterium isolated from a marine sediment. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **61**, 2956-2961.
38. Misawa, N. and Shimada, H. 1998. Metabolic engineering for the production of carotenoids in non-carotenogenic bacteria and yeasts. *J. Biotechnol.* **59**, 169-181.
39. Misawa, N., Satomi, Y., Kondo, K., Yokoyama, A., Kajiwara, S., Saito, T., Ohtani, T. and Miki, W. 1995. Structure and functional analysis of a marine bacterial car-

- otenoid biosynthesis gene cluster and astaxanthin biosynthetic pathway proposed at the gene level. *J. Bacteriol.* **177**, 6575-6584.
40. Netzer, R., Stafnes, M. H., Andreassen, T., Goksøyr, A., Bruheim, P. and Brautaset, T. 2010. Biosynthetic pathway for  $\gamma$ -cyclic sarcinaxanthin in *Micrococcus luteus*: Heterologous expression and evidence for diverse and multiple catalytic functions of C50 carotenoid cyclases. *J. Bacteriol.* **192**, 5688-5699.
  41. Olson, J. A. 1989. Provitamin A function of carotenoids: the conversion of  $\beta$ -carotene into vitamin A. *J. Nutr.* **119**, 105-108.
  42. Paniagua-Michel, J., Olmos-Soto, J. and Ruiz, M. A. 2012. Microbial carotenoids from bacteria and microalgae. pp. 1-12. *Methods and Protocols*; Humana Press: New York, NY, USA
  43. Phadwal, K. 2005. Carotenoid biosynthetic pathway: molecular phylogenies and evolutionary behavior of crt genes in eubacteria. *Gene* **345**, 35-43.
  44. Rohdich, F., Kis, K., Bacher, A. and Eisenreich, W. 2001. The non-mevalonate pathway of isoprenoids: genes, enzymes and intermediates. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **5**, 535-540.
  45. Saejung, C. and Salasook, P. 2018. Recycling of sugar industry wastewater for single-cell protein production with supplemental carotenoids. *Environ. Technol.* **41**, 1-35.
  46. Sasidharan, P., Raja, R., Karthik, C., Ranandkumar, S. and Indra Arulselvi, P. 2013. Isolation and characterization of yellow pigment producing *Exiguobacterium* Sps. *J. Biochem. Technol.* **4**, 632-635.
  47. Schaub, P., Yu, Q., Gemmecker, S., Poussin-Courmontagne, P., Mailliot, J., McEwen, A. G. Ghisla, S., Al-Babili, S., Cavarelli, J. and Beyer, P. 2012. On the structure and function of the phytoene desaturase CRTI from *Pantoea ananatis*, a membrane-peripheral and FAD-dependent oxidase/isomerase. *PLoS One* **7**, e39550.
  48. Seo, Y. B., Jeong, T. H., Choi, S. S., Lim, H. K. and Kim, G. D. 2017. Enhanced production of astaxanthin in *Paracoccus haeundaensis* strain by physical and chemical mutagenesis. *J. Life Sci.* **27**, 339-345.
  49. Seo, Y. B., Kim, D. E., Kim, G. D., Kim, H. W., Nam, S. W., Kim, Y. T. and Lee, J. H. 2009. *Kocuria gwangaliensis* sp. nov., an actinobacterium isolated from seawater. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **59**, 2769-2772.
  50. Shahina, M., Hameed, A., Lin, S. Y., Hsu, Y. H., Liu, Y. C., Cheng, I. C., Lee, M. R., Lai, W. A., Lee, R. J. and Young, C. C. 2013. *Sphingomicrobium astaxanthinifaciens* sp. nov., an astaxanthin-producing glycolipid-rich bacterium isolated from surface seawater and emended description of the genus *Sphingomicrobium*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **63**, 3415-3422.
  51. Simova, E. D., Frengova, G. I. and Beshkova, D. M. 2003. Effect of aeration on the production of carotenoid pigments by *Rhodotorula rubra*-*Lactobacillus casei* subsp. *casei* co-cultures in whey ultrafiltrate. *Z. Naturforsch. C. J. Biosci.* **58**, 225-229.
  52. Simova, E. D., Frengova, G. I. and Beshkova, D. M. 2004. Synthesis of carotenoids by *Rhodotorula rubra* GED8 co-cultured with yogurt starter cultures in whey ultrafiltrate. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **31**, 115-121.
  53. Stahl, W. and Sies, H. 2003. Antioxidant activity of carotenoids. *Mol. Aspects Med.* **24**, 345-351.
  54. Suwaleerat, T., Thanapimmetha, A., Srisaiyoot, M., Chisti, Y. and Srinophakun, P. 2018. Enhanced production of carotenoids and lipids by *Rhodococcus opacus* PD630. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **93**, 2160-2169.
  55. Takemura, M., Takagi, C., Aikawa, M., Araki, K., Choi, S. K., Itaya, M., Shindo, K. and Misawa, N. 2021. Heterologous production of novel and rare C30-carotenoids using *Planococcus* carotenoid biosynthesis genes. *Microb. Cell Fact.* **20**, 1-12.
  56. Taniguchi, H., Henke, N. A., Heider, S. A. and Wendisch, V. F. 2017. Overexpression of the primary sigma factor gene *sigA* improved carotenoid production by *Corynebacterium glutamicum*: application to production of  $\beta$ -carotene and the non-native linear C50 carotenoid bisanhydrobacterioruberin. *Metab. Eng. Commun.* **4**, 1-11.
  57. Tsubokura, A., Yoneda, H. and Mizuta, H. 1999. *Paracoccus carotinifaciens* sp. nov., a new aerobic gram-negative astaxanthin-producing bacterium. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **49**, 277-282.
  58. Wang, G. S., Grammel, H., Abou-Aisha, K., Sägesser, R. and Ghosh, R. 2012. High-level production of the industrial product lycopene by the photosynthetic bacterium *Rhodospirillum rubrum*. *Appl. Environ. Microbiol.* **78**, 7205-7215.
  59. Wang, Q., Liu, D., Yang, Q. and Wang, P. 2017. Enhancing carotenoid production in *Rhodotorula mucilaginosa* KC8 by combining mutation and metabolic engineering. *Ann. Microbiol.* **67**, 425-431.
  60. Yabuzaki, J. 2017. Carotenoids Database: structures, chemical fingerprints and distribution among organisms. *Database* **2017**, bax004
  61. Yang, Y., Liu, B., Du, X., Li, P., Liang, B., Cheng, X., Du, L., Huang, D., Wang, L. and Wang, S. 2015. Complete genome sequence and transcriptomics analyses reveal pigment biosynthesis and regulatory mechanisms in an industrial strain, *Monascus purpureus* YY-1. *Sci. Rep.* **5**, 1-9.
  62. Zhang, Z., Pang, Z., Xu, S., Wei, T., Song, L., Wang, G., Zhang, J. and Yang, X. 2019. Improved carotenoid productivity and COD removal efficiency by co-culture of *Rhodotorula glutinis* and *Chlorella vulgaris* using starch wastewaters as raw material. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **189**, 193-205.
  63. Zhou, Q., Zhang, P. and Zhang, G. 2014. Biomass and carotenoid production in photosynthetic bacteria wastewater treatment: effects of light intensity. *Bioresour. Technol.* **171**, 330-335.



**초록 : 박테리아에 의한 카로티노이드 생산; 카로티노이드 생산성 및 활용 가능성**최성석<sup>1</sup> · 김군도<sup>2\*</sup>(<sup>1</sup>부경대학교 기초과학연구소, <sup>2</sup>부경대학교 미생물학과)

카로티노이드는 자연계에 존재하는 붉은색, 주황색, 황색의 지용성 색소이며, provitamin A, 항산화, 항염증, 항암 등 다양한 기능성을 가지는 생리활성물질로 알려져 있다. 생리 활성과 색소 활용성 때문에 카로티노이드는 식품, 화장품, 양식 산업 등에 널리 이용되고 있다. 현재 산업적으로 활용되는 카로티노이드는 대부분 생산 단가가 저렴한 합성 색소를 이용하고 있지만, 안전성과 생리활성효과 때문에 천연 카로티노이드가 각광받고 있다. 하지만 식물과 동물의 카로티노이드 생산은 경제적인 원인으로 생산에 제한이 있다. 박테리아에서 생산되는 카로티노이드는 화학 합성으로 생산되는 카로티노이드를 대체하기 위한 좋은 장점을 가지고 있다. 박테리아에서 생산되는 카로티노이드는 낮은 생산성 때문에 산업적 활용에 제한이 있으며, 지속적으로 박테리아로부터 카로티노이드의 생산성을 증가시키기 위한 연구가 이루어져 왔다. 박테리아로부터 카로티노이드 생산량을 증가시키기 위해 진행된 연구로는 박테리아의 카로티노이드 생합성 경로와 각 효소들의 활성, 돌연변이를 이용한 균주 개발, 유전공학을 통한 카로티노이드 생산성 증가 균주 구축, 스트레스 유도를 통한 카로티노이드 축적, 발효 배지의 조성 및 배양 조건, 다른 균주와의 공배양 등을 포함하고 있다. 이 논문의 목적은 박테리아로부터 카로티노이드의 생산성을 증가시키기 위해 진행된 연구들을 검토하는 것이다.