

5 分裂酵母における CoQ 生合成酵素遺伝子破壊株が蓄積する中間体の解析

○柳井良太, 赤井華子, 西野耕平, 戒能智宏, 川向 誠
島根大・生物資源・生命工

【背景・目的】

コエンザイム Q (CoQ) の生合成経路の研究においては, 大腸菌や出芽酵母で解析が進められている. 大腸菌ではキノン骨格の修飾に関する酵素及びその触媒ステップの対応付けが完了している. これに対して, 出芽酵母では骨格の修飾に関するどの遺伝子を破壊しても, 初発物質である HHB (3-hexaprenyl-4-hydroxybenzoic acid) もしくは, HAB (3-hexaprenyl-4-aminobenzoic acid) が蓄積することが, CoQ 生合成経路の解明を難しくしている. 我々は分裂酵母の *coq7* 破壊株において *Coq7* の基質である DMQ10 (Demethoxyubiquinone10) が蓄積することを報告している¹⁾. そこで本研究では, 分裂酵母の他の CoQ 生合成酵素遺伝子を破壊した株が蓄積する前駆体を調べることにより, 分裂酵母 CoQ10 生合成経路の解明を目的として実験を行った.

【結果・考察】

coq3 から *coq9* の 7 つの CoQ 生合成酵素遺伝子をそれぞれ破壊した株を用いて解析を行った結果, *coq5* 破壊株において, CoQ10 とは異なる物質が 2 つ蓄積していることが明らかとなった. そこでこの中間体様物質を TOF-MS で解析したところ, 2 つの物質は CoQ10 と比較して, とともにキノン骨格部分の修飾に違いがあることが分かった. さらに, PHB (*p*-hydroxybenzoic acid) と pABA (*p*-aminobenzoic acid) の安定同位体を用いた実験により, 蓄積している物質が同一経路で生合成されていることが示唆された. また, *coq5* と *coq7* との二重破壊株で蓄積する物質を解析した結果, DMQ10 は検出されず, *coq5* 破壊株で蓄積する中間体様物質が検出されたことから, これまでに知られている合成経路の通り *Coq5*, *Coq7* の順に合成が進むことが示唆された.

次に, 分裂酵母 *coq6* 破壊株において pABA を培地に添加した時に, アミノ基を保持する中間体の探索を行ったが, 検出されなかった. しかし, *coq6* 破壊株を PHB を添加した培地で培養すると, 2 つの中間体様物質が蓄積することを新たに見出した. この 2 つの物質においても TOF-MS を用いて解析を行ったところ, これまでに確認された中間体とは異なる構造をしていることが示唆された.

1) Miki R., et al., (2008) *FEBS J.*, 275, 5309–5324

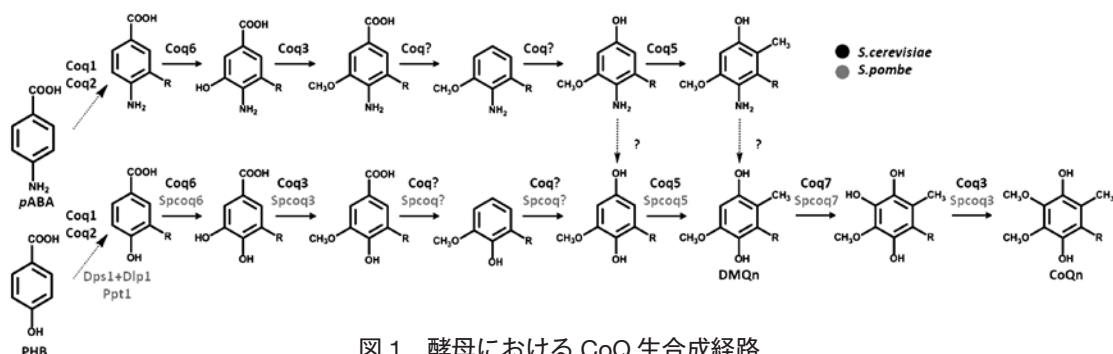


図 1 酵母における CoQ 生合成経路