

5 分裂酵母 (*S.pombe*) の CoQ 欠損株における基質化合物の添加により蓄積する中間体物質の LC-MS を用いた解析

○松本早代、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）

【背景・目的】

コエンザイム Q (CoQ) は、ミトコンドリア呼吸鎖における電子伝達の役割を担っているとともに、生体内で合成される脂溶性抗酸化物質でもある。CoQ の生合成経路については、これまでに発芽酵母で CoQ 生合成の各酵素遺伝子の破壊株を用いた実験により、COQ1、COQ2 を除くどの遺伝子を破壊しても、初期中間体である 3-hexaprenyl-4-hydroxybenzoate (HHB) が蓄積することから解析が困難であり、未だその経路は完全には明らかにされていない。これに対して分裂酵母 (*S.pombe*) を用いた実験では、*coq7* 破壊株において CoQ 生合成の中間体である 5-demethoxy-ubiquinone10 (DMQ₁₀) が蓄積することや¹⁾、*coq5* 破壊株においては2種類の異なる中間体様物質が蓄積すること、さらに *coq6* 破壊株では CoQ 合成の基質である *p*-hydroxybenzoate (PHB) を添加することで中間体様物質が蓄積することをこれまでに報告している。そこで本研究では、まだ機能が明らかになっていない *coq4* 破壊株と *coq9* 破壊株の中間体様物質の検出を目的として実験を行った。

【結果・考察】

coq4 破壊株を栄養豊富な YES 培地を用いて培養し、中間体様物質を抽出し、LC-MS で解析したところ、CoQ₁₀ や他の破壊株で蓄積する物質とは異なる物質を蓄積していた。次に、培地に PHB または *p*-aminobenzoic acid (pABA) を添加したところ、pABA を添加したときには YES 培地で培養した時と同じ *m/z* の化合物が蓄積していたのに対して、PHB を添加した場合には、それとは異なる物質が蓄積していた。さらに、PHB と pABA の安定同位体を用いて実験を行ったところ、検出した2つの物質がそれぞれ pABA および PHB から合成された物質であることが明らかになった。

coq9 破壊株でも同様の実験を行ったところ、PHB を添加した時に蓄積した中間体様物質は、PHB を添加した培地で培養した *coq4* 破壊株で蓄積した化合物と同じ *m/z* を持つのに対して、pABA を添加した時に蓄積していた化合物とは異なっていることが示唆された。

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

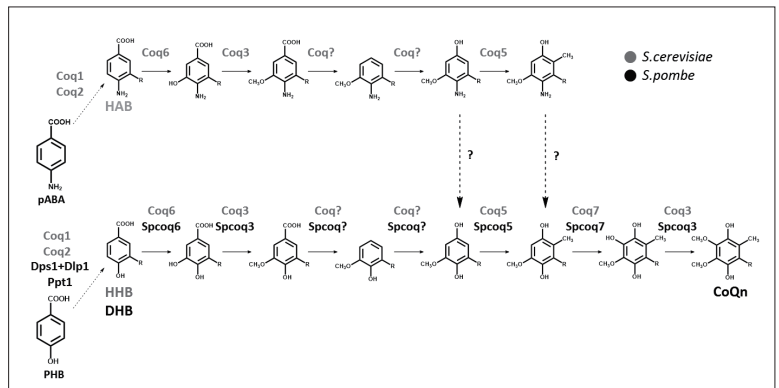


図1 酵母の CoQ 生合成経路