

# コエンザイムQ10 生産微生物の開発

川向 誠

コエンザイムQ (CoQ) はユビキノンとも称される脂溶性成分であり、生体内において電子伝達系の必須成分としてエネルギー生産に重要な機能を果たしている。CoQは電子伝達系の複合体I, IIと複合体III間の電子の受け渡しをする際に働くことが古くから知られている。CoQはイソプレノイド側鎖部分とキノン骨格部分からなり、キノン(酸化型)とキノール(還元型)の変換を行うことで、電子の受け渡しを行う。このCoQの酸化還元反応が、脂溶性抗酸化物質として働く能力を発揮し、過酸化脂質の除去に関与している。さらに、CoQには電子伝達系や抗酸化物質以外の役割もある(図1)。たとえば、大腸菌において、CoQはタンパク質のジスルフィド結合の際の電子供与体の役割を果たす。分裂酵母ではSulfide-CoQ還元酵素は硫化物の酸化還元に関わるが、この酵素に対応する相同遺伝子が、ヒトを含め広く真核生物に認められることから、CoQは広く硫化物の酸化に関わり、さらにCoQは真核生物のUMP(uridine monophosphate)の*de novo*合成にも必要であることが知られている。このようにCoQが生体内で多様な機能を有していることはあまり知られていない。

CoQの側鎖部分が10個のイソプレノ単位からなるCoQ10は、当初医薬品として認可されていたが、現在ではサプリメントとして絶大な人気を博している。CoQ10はヒト自身も合成できるため、ビタミンの一種ではないが、脂溶性の抗酸化物質であるビタミンEより、生体内での安全性は高いと言える。

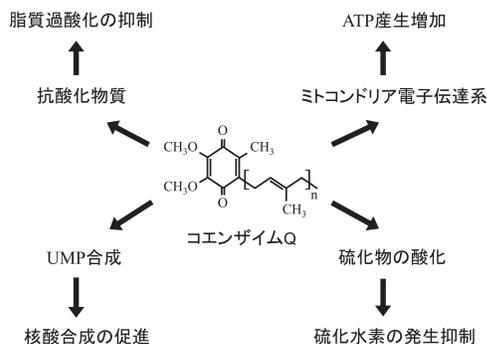


図1. コエンザイムQの機能。CoQには電子伝達系での機能、抗酸化物質としての機能、代謝酵素における酸化還元反応にカップルする機能が知られている。

## コエンザイムQの生合成と生産

CoQは生物種によってそのイソプレノイド鎖長が違い、出芽酵母ではCoQ6、大腸菌ではCoQ8、ラットやイネではCoQ9、分裂酵母やヒトではCoQ10を合成する。CoQ10を微生物生産することを考えるにあたっては、本来CoQ10を生産する微生物の育種を行うか、もともとCoQ10を生産しない微生物にCoQ10生産能力を付与するかの選択がある。これまでに筆者らのグループでは、イソプレノイドを合成する酵素がCoQの側鎖長を決定しているということを証明している<sup>2)</sup>。すなわち、各生物が持つポリプレニル2リン酸合成酵素がCoQの側鎖を提供し、それがCoQの側鎖長を決定している(図2)。たとえば、酢酸菌由来のデカプレニル2リン酸合成酵素を大腸菌内や出芽酵母内で発現させると、本来大腸菌はCoQ8、出芽酵母はCoQ6を合成するのにに対し、CoQ10を合成させることが可能になる。この方法を利用して、これまでに大腸菌や出芽酵母でCoQ5-CoQ10まで各種類のCoQを生産させることに成功している<sup>3)</sup>。この技術

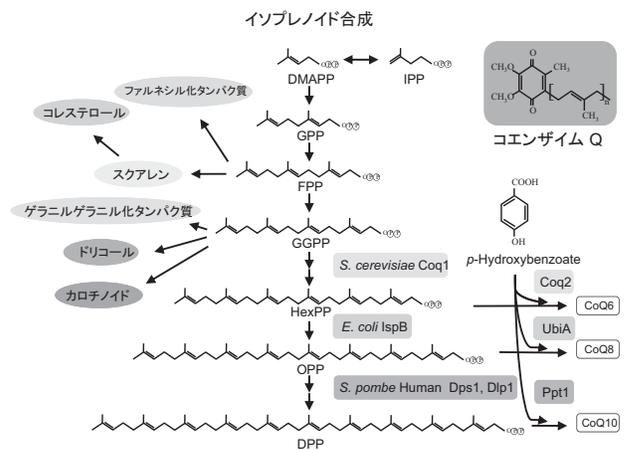


図2. コエンザイムQのイソプレノイド側鎖合成経路。CoQの側鎖を供給するための反応では、ジメチルアリル2リン酸(DMAPP)とイソペンテニル2リン酸(IPP)が順番に縮合し、決まった鎖長のイソプレノイド鎖を合成する。この経路はコレステロールなどの合成に関わることで知られている。CoQ10合成においてはデカプレニル2リン酸合成酵素(Dps1とDlp1のヘテロマー)がデカプレニル2リン酸(DPP)を合成し、それがPpt1によりPHB(安息香酸)と反応して、プレニル化PHBを生成させる。

著者紹介 島根大学生物資源科学部生命工学科(教授) E-mail: kawamuka@life.shimane-u.ac.jp

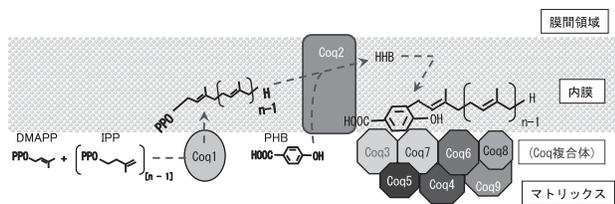


図3. コエンザイムQ合成酵素複合体. 出芽酵母で側鎖合成酵素 (Coq1) 以外の酵素はCoQ合成酵素複合体を形成していると提唱されている. 出芽酵母の各*coq*遺伝子欠損酵母はHHBを主に蓄積し, 中間体あまり検出されないことから, 酵素反応は互いに影響しあって進行すると推定されている.

をさらに発展させて, 酢酸菌由来のデカプレニル2リン酸合成酵素をイネで発現させ, お米でCoQ10を生産させることに成功している<sup>4)</sup>.

一方, 本来CoQ10を生産する微生物でのCoQ10の高生産は, 分裂酵母を中心に進めてきている. 生産を考える上では, 生合成経路が確立している必要があるが, 実際にはCoQの生合成経路が真核生物では完全に解明されていないのが現状である. CoQの生合成には最低8種類の酵素が必要であるが, そのうち6種類の酵素は判明しているのに対し, 2種類の酵素は未同定である. 一方, 遺伝学的な解析から, *coq1* から *coq9* まで遺伝子が生合成に必要であることが分かっているが, そのうち *coq4*, *coq8*, *coq9* の機能が未知である. 実際には, それぞれのCoQ合成酵素が個別に働くというよりは, ミトコンドリア内膜で複合体を形成しているという証拠が得られており, そのため各反応が互いに影響しあって, 調節されていることが考えられている (図3)<sup>5)</sup>. それぞれの*coq*遺伝子欠損株では前駆体の蓄積が見られないことが, CoQの生合成反応を確定させる障壁となっている.

イソプレノイド側鎖合成酵素は, 大腸菌や出芽酵母においては, それぞれIspBやCoq1と呼ばれるが, それらはモノマー型である. 一方, 同様の酵素が分裂酵母やヒトにおいてはDps1とDlp1からなるヘテロマー型であり, 生物種によって違いがある<sup>6,7)</sup>. 分裂酵母は元来CoQ10を生産する微生物であるため, 分裂酵母を利用したCoQ10生産は, 遺伝子工学を最大限利用できるという点において有利である. しかしながら, 分裂酵母において, 各種*coq*遺伝子を高発現させて, CoQ10を増強させる実験を行ったところ, 期待するほどにはCoQ10の生産性は上昇しなかった. その1つの原因としては, *coq*遺伝子を過剰発現させると増殖阻害を引き起こすことである. ミトコンドリアに局在するタンパク質の高発現は細胞増殖を阻害する傾向がある. CoQ10

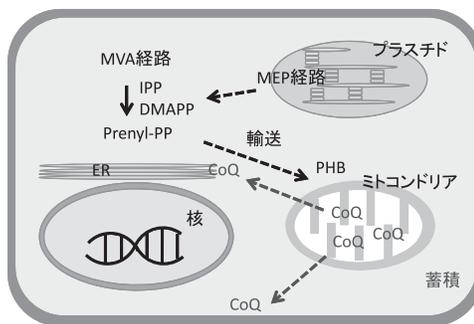


図4. コエンザイムQの合成の場と細胞内輸送. イソプレノイド側鎖を合成するための基質であるIPPやDMAPPはMVA経路やMEP経路を経て合成される. PHBも細胞質で合成され, それらがミトコンドリアへ輸送される. ミトコンドリアで合成されたCoQは必ずしもミトコンドリアに留まるだけではなく, 別の膜へと輸送されていく.

生産を上昇させるために, ある種の変異体や培養条件を検討することにより, ある程度の生産性の増強には成功しているが, まだまだ検討が必要な段階である.

CoQの合成は, 酵母でもヒトでもミトコンドリアで行われる. CoQがミトコンドリアの電子伝達系で働くことを考えれば, これは自然なことである. CoQの前駆物質であるPHBやイソプレノイド側鎖の基質となるIPPやDMAPPはおもに細胞質でメバロン酸 (MVA) 経路を経て合成される. 植物ではプラスチドでIPPやDMAPPが合成されるメチルエリスリトールリン酸 (MEP) 経路もある. 側鎖合成酵素は大部分の生物種ではミトコンドリアに存在するが, 必ずしもミトコンドリア内でなくERに存在する場合が, シロイヌナズナの結果から得られている (図4). さらに, 合成されたCoQは必ずしもミトコンドリアのみに存在するわけではなく, 細胞質膜やERにも存在するという結果がある. すなわち合成される場所からCoQが輸送されていくのではないかと考えられる. これらはミトコンドリアの内外への化合物の輸送が行われている証拠である. この問題は, サプリメントとしてCoQを摂取した時に, どのようにミトコンドリアまで輸送されているのかという疑問に対する答えを提供してくれると期待して, 現在研究を進めている.

### コエンザイムQ結合タンパク質

最近, CoQに結合するタンパク質 (Coq10) が発見された. このCoQ結合タンパク質はミトコンドリアに局在し, 正常なミトコンドリア呼吸鎖に必須である<sup>8)</sup>. Coq10タンパク質はヒトに至るまで広く真核生物に存在するが, 興味深いことに細菌類においては $\alpha$ プロテオ

バクテリア属にのみ分布している。このことは $\alpha$ プロテオバクテリア属のミトコンドリア共生説を支持している。一方、高等動物ではCoQ結合タンパク質はこのCoq10タンパク質以外のものが存在する。サボシンとして知られるタンパク質がCoQに結合するタンパク質であるという発見があり、CoQの体内輸送に関わることが示唆されている。

### コエンザイムQと寿命

線虫の寿命が延びるとして発見された*clk-1(coq7)*変異株はCoQ合成に関わる遺伝子の変異体である。*coq7*遺伝子はCoQ生合成経路の最後から2番目のステップの酵素をコードしており、DMQ(デメトキシCoQ)が蓄積する。この中間物質は呼吸鎖での働きがある程度存在することから、完全に呼吸欠損にならずにすみ、むしろ活性酸素の発生が抑制された状態であるため、寿命が延長しているという考え方が1つ提示されている。一方で、線虫は餌となる大腸菌由来のCoQを積極的に利用しているという報告や、CoQのない大腸菌を餌にしている線虫は寿命が延びるという報告もあり、CoQと寿命との関連が線虫を使った実験において支持されている。筆者らが分裂酵母で*coq7*破壊株を観察した限りにおいては、DMQが蓄積するが、他の*coq*破壊株と表現型上はあまり大きな変化はなく、DMQの電子伝達系の役割を支持するような結果は得られなかった<sup>9)</sup>。

### ヒトの遺伝子の機能解析

筆者らは、遺伝病との関連において特にヒトのCoQ合成系遺伝子の解析が重要になると考え、ヒトのゲノム配列の公開にともない、酵母で見いだされているCoQ合成酵素と相同性の高いものを検索して、それら遺伝子を手に入れた。基本的にはCoQの生合成に関わると考えられるヒトの酵素を酵母内で発現させると相補的に働くことがわかった。

筋肉におけるCoQ10の量が数%までに低下している患者が家族性ミトコンドリア筋症を引き起こすことが報告されている。この患者の場合筋肉組織特異的にCoQ10量が低下しており、血清中や繊維芽細胞などは正常なCoQ10量を有している。リー症候群と呼ばれるミトコンドリア脳筋症の患者に、CoQの合成酵素であるDps1やDlp1に欠損のある患者が確認されている。こ

れらの患者には、CoQ10を投与することにより症状の改善がみられる。さらに、CoQ10合成能が低下している腎疾患や筋疾患の患者の遺伝子解析の事例が次々と報告され、CoQ10生合成経路に関わる遺伝子の変異が病気の原因として同定された。遺伝的疾患とCoQ生合成経路の因果関係が判明している事例が少しずつ増えてきている<sup>10)</sup>。

### 今後の展望

10年ほど前にはCoQ10を知っている人は少なかったが、サプリメントとして市場に出回ると認知度が非常に高くなってきており、長年この素材を研究テーマとしてきた筆者としては嬉しいところである。残念ながら、まだ基礎研究が遅れており、生合成が完全に解明されていないことや、分解系に至ってはまだまだほとんど不明である。一方で、ミトコンドリア症に含まれる遺伝病とCoQ生合成遺伝子の変異との関係が少しずつ報告されてくるようになってきており、筆者らが進めてきた研究が病気の理解にも非常に役立っている。CoQ10の生産方法は種々の微生物を用いた発酵法が現在主流である。遺伝子工学的にCoQを生産することは大腸菌においてある程度成功しているが<sup>11,12)</sup>、他の生物種ではまだまだ改良の余地がある。今後、生合成のさらなる理解とともに、CoQの輸送の問題に取り組むことによって、新しい展開が望めるのではないかと考えている。

### 文 献

- 1) 川向 誠：化学と生物, **40**,172 (2002).
- 2) Kawamukai, M.: *Biotechnol. Appl. Biochem.*, **53**, 217 (2009).
- 3) 川向 誠：バイオサイエンスとインダストリー, **65**, 463 (2007).
- 4) Takahashi, S. *et al.*: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **74**, 182 (2010).
- 5) Marbois, B. *et al.*: *Biochim. Biophys. Acta*, **1791**, 69 (2009).
- 6) Saiki, R. *et al.*: *FEBS J.*, **56**, 5606 (2005).
- 7) Zhang, M. *et al.*: *FEBS J.*, **275**, 3653 (2008).
- 8) Cui, T.-Z. and Kawamukai, M.: *FEBS J.*, **276**, 748 (2009).
- 9) Miki, R. *et al.*: *FEBS J.*, **275**, 5309 (2008).
- 10) Quinzii, C. M. and Hirano, M.: *Dev. Disabil. Res. Rev.*, **16**, 183 (2010).
- 11) Zhu, X.-F. *et al.*: *J. Ferment. Bioeng.*, **79**, 493 (1995).
- 12) Kawamukai, M.: *J. Biosci. Bioeng.*, **94**, 511 (2002).