

生物化学 2

グルコースと脂肪酸の酸化分解のメカニズムと生理的意味 + エネルギーの獲得 (エネルギー通貨 ATP の合成) の仕組み

Part 1 (3 回, 前島)

- 1 はじめに (目標: 食物から生体成分の素材とエネルギーを取り出す仕組みの理解)
- 2 細胞の構造: 代謝からみたオルガネラと生体膜
- 3 水と生命 (地球の水はどこから? 優れた溶媒)
- 4 酵素学序論 (タンパク質としての酵素, 酵素の分布, 酵素の分離)
(ゲノムからみた酵素/血液検査と酵素)
- 5 タンパク質を調べる (分子を精製する, 分子を見る, 分子の機能をみる)
- 6 酵素反応 (酵素反応の特徴, 反応速度を規定する要因)
- 7 酵素反応速度論 (反応速度の測定, ミカエリス・メンテン式, 用語と数値)

Part 2 (6~7 回, 堀尾)

- 1 代謝の概要 (代謝とエネルギーの獲得)
- 2 解糖経路
- 3 糖質の異化代謝の調節
- 4 ペントースリン酸経路 (グルコース酸化の第二経路)
- 5 クエン酸回路: 代謝経路, 役割, 調節
- 6 脂肪酸の酸化
- 7 尿素サイクル

Part 3 (3, 4 回, 前島)

- 1 酵素反応の阻害様式と解析法: 競合阻害, 不競合阻害, 非競合阻害
- 2 補酵素: 酵素に結合する補酵素, 補助的基質としての補酵素
- 3 生体エネルギー論: ATP および高エネルギーリン酸化合物
- 4 ミトコンドリアでの酸化的リン酸化反応 (ATP 合成の分子機構)
- 5 葉緑体での ATP 合成
- 6 エネルギー生産の調節

教科書: レーニンジャーの新生化学 上, 下巻 (第 5 版 2010 年)

Lehninger: Principle of Biochemistry (5th ed., Nelson & Cox, Worth Publishers, 2008)

Lehninger: Principle of Biochemistry (6th ed., W.H. Freeman and Company, New York, 2013)

辞典: 生化学辞典 (第 4 版) 2007 年刊

Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology, 2nd ed., 2006, Oxford Univ Press

| [1] SI 単位の接頭語 | [2] 物理定数の値 |
|----------------------------|----------------------------------------------|
| 10^9 ギガ giga G | 原子質量単位 amu 1.66×10^{-24} g |
| 10^6 メガ mega M | アボガドロ数 N $6.022 \times 10^{23}/\text{mol}$ |
| 10^3 キロ kilo K | ベクレル Bq 1 dps |
| 10^{-1} デシ deci d | ボルツマン定数 k 1.381×10^{-23} J/K |
| 10^{-3} ミリ milli m | 電子ボルト eV 1.602×10^{-19} J |
| 10^{-6} マイクロ micro μ | ファラデー定数 F 96,480 J/V·mol |
| 10^{-9} ナノ nano n | 気体定数 R 8.315 J/mol·K |
| 10^{-12} ピコ pico p | プランク定数 h 6.626×10^{-34} J·s |
| 10^{-15} フェムト femto f | 光速 c 2.998×10^8 m/s |

[3] タンパク質の分子量 (molecular weight, 無名数) と質量 (dalton)
タンパク質の質量 (molecular mass; dalton, 略号 Da, ドルトン, $1 \text{ Da} = 1.661 \times 10^{-24}$ g)

1 はじめに

生命を生化学として理解する4つの視点 「物質」「情報」「エネルギー」「平衡（変化）」

(0) 生化学は生命をどう理解するか（一般的理解）

- (1) 遺伝子は生命に必要な情報の全てを含む。 **The gene is the basic unit of heredity and carries the information for a given protein and RNA molecule.**
- (2) 遺伝情報は DNA から RNA を経てタンパク質へと流れる。 **Central dogma** (Francis Crick, 1958). The unidirectional flow of genetic information from DNA to protein via an RNA intermediate.
- (3) 細胞内のほとんど全ての化学反応は、触媒としての酵素によって進行する。 **Chemical reactions in living cells are specifically catalyzed by enzymes.**
- (4) ATP は生化学的エネルギーの量子単位である。エネルギー通貨 **Energy currency**
- (5) 多くの高分子複合体は自発的な自己組立によって構築される。 **Self assembly** (リボソーム, 生体膜, DNA・タンパク質高次構造, 鞭毛, 微小管など)

(1) 生体分子

- (1) 全ての生物を構成・構築している生体成分は、同じ基本ユニットから成る。
(生物に共通な 20 種のアミノ酸から構造も機能も異なるタンパク質がつくられる)
- (2) 生体高分子の構造は、個々の生物学的機能を規定している。
- (3) 生物の種や属は、どのような遺伝子セット（ゲノム）を備えているかによって規定される。

(2) エネルギー

生命は、食物・栄養あるいは太陽光エネルギーを利用して、自らの複雑かつ秩序だった構造を作り上げ維持している。エネルギーは、代謝、生体分子をつくる、物質を膜輸送する、情報を伝える、細胞の形態を変える、身体を動かす、体温を維持するなど、多様な場面で必要とされる。

(3) 情報

- (1) 細胞内外の情報伝達網を駆使して、外環境と内環境に応答しているのが生物である。
- (2) 遺伝情報は DNA の塩基配列としてコードされており、DNA 二重らせんは自己複製と自己修復のための分子内鋳型としての機能をもっている。ゲノムシーケンスの時代は現在がピークであり、今しばらくは継続される。同時に、本来目指していたゲノムサイエンスの時代が始まっている。遺伝子の塩基配列の中からどれだけの情報（遺伝子の発現調節、遺伝、遺伝子がコードするタンパク質の機能など）を抽出できるか。多くの国、研究機関が、研究者、時間、エネルギー、金銭をそこに投資をしている。

(4) 平衡と変化 生命という現象を維持するしくみ：昨日のあなたは今日のあなたと違う

生体内での化学反応（酵素反応）だけでなく、タンパク質や DNA の分子構造の変化、情報伝達におけるイオン濃度や分子間相互の変化、細胞や細胞内オルガネラの形態・機能の変化、成長、老化も含まれる。これが生命のダイナミズムそのものである。変化の方向と速さを規定するものは何か？

おまけ：(生体の機能と生化学：エネルギー) マラソンランナーの意識混濁

症状： John はマラソン競技のトップでスタジアムに入ってきたが、ゴール直前のところで意識が混濁し、突然コースを逆方向に走り始め、その2分後に倒れてしまった。

解説： 激しい運動中、脳も筋肉も栄養源としてのグルコースを求める。グルコースを酸化分解（解糖）することにより細胞はエネルギー通貨としての ATP（アデノシン三リン酸）を合成する。ATP は神経活動、筋肉運動などさまざまな過程で利用される。肝臓はグリコーゲンの形でグルコースを貯蔵し、筋肉もグリコーゲンを蓄えているが、その量は限られている。マラソンコースを走るにより、John の体内では、エネルギー燃料として多量のグルコースが消費され、レースの最終段階では血液中のグルコースが消失し、脳の唯一のエネルギー源であるグルコースが供給できなくなった。エネルギー燃料なしの状態では John の脳は機能低下を起こし迷走し倒れた。

なお、マラソンランナーがレース前にバナナなどを食するのは体内グリコーゲン量を増加させる意味もある。

ゲノム時代：ヒトゲノム全配列解読完了

ゲノムとは： 配偶子に含まれる染色体あるいは遺伝子の全体

1-1. ヒトゲノムの解読の完了について（2003年の記事）

DNAの二重らせん構造発見から50年、その記念すべき本年、人類の長年にわたる願いであったヒトゲノムの精密な解読が、国際的な科学協力の成果として完了したのは大変すばらしいことです。これは生命科学分野における夢の実現への一里塚です。

この解読にかかわった六カ国の多数の研究者が互いに協力し、不屈のご努力でこの偉業を成し遂げられたことを讃え、心から敬意を表します。特に日本の研究者が、壮大なプロジェクトであるこの国際ヒトゲノム計画に当初から積極的に参加し、大きな貢献をしたことを大変誇りに思います。

解読されたヒトゲノムの情報は、ヒトの進化や生命の仕組みを解明するための有力な手段であり、これまで治療法が未解明であった病気の治療や予防のための技術開発などの飛躍的な進展の基礎となるものです。今後はこれらの成果をもとに、全生命システムの解明に向けた取組みや、ゲノム情報を戦略的に活用した研究開発が一層進展することを確信いたします。

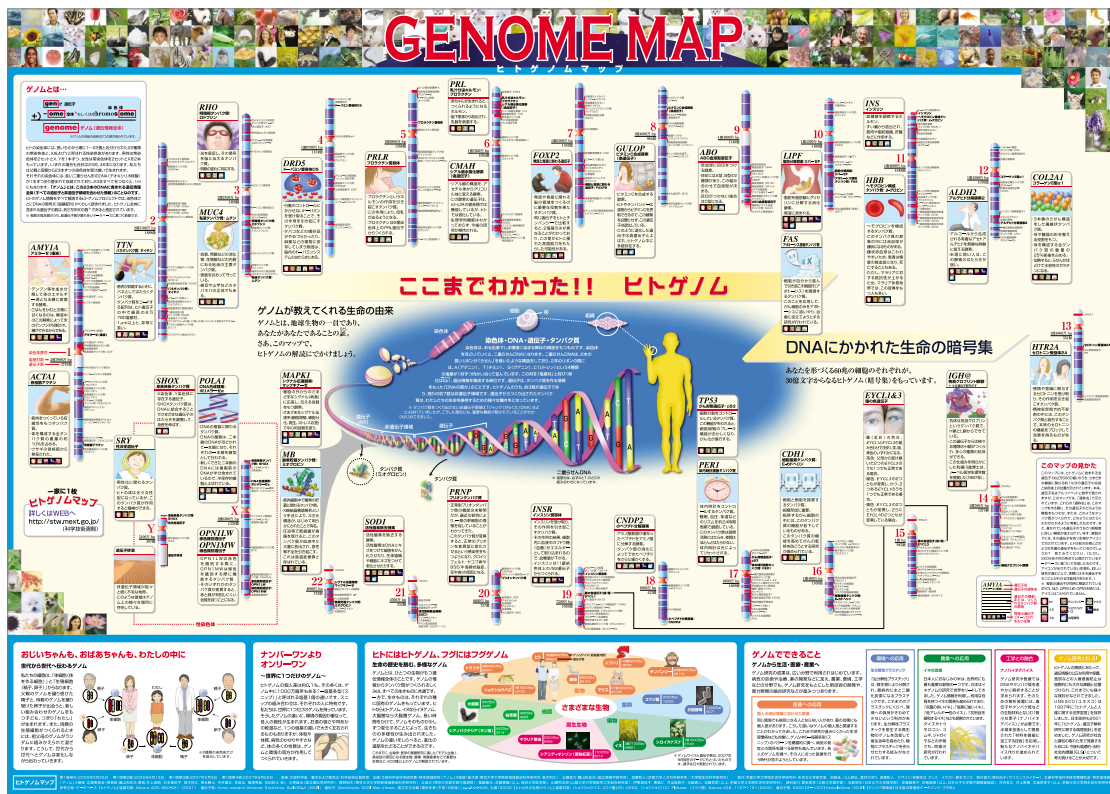
我が国が将来、豊かで活力のある長寿社会を築くことができるよう、また人類の福祉と経済社会の発展に更に大きく貢献できるよう、文部科学省としてもこの分野の研究内容の発展に最大限の努力を行ってまいります。

平成15年（2003年）4月14日 文部科学大臣 遠山 敦子

1-2. 歴史的経緯（国際共同研究であること、DNA塩基配列解析装置の急速な発展も重要）

- 1986 ヒトゲノム計画の提言
- 1989 ヒトゲノム国際機構（HUGO）の設立
- 1991 国際ヒトゲノム計画開始
- 1996 バーミュダ会議（ヒトゲノム配列決定コンソーシアム結成）
- 2000 ヒトゲノム概要配列決定
- 2001 同上論文発表（Nature 2001/02/14号）
- 2003 ヒトゲノム精密配列決定

下記は、文部科学省公開版のゲノムマップ



1-3. ゲノム情報と代謝と医療

ヒトの受精後、胎児成長、出産、乳幼児期、成人、老人期のそれぞれに、病気として表れやすい遺伝子異常が知られている。

2 細胞の構造：代謝からみたオルガネラと生体膜

2-1 生物の多様性（地球上の生物：数千万種のうち種として同定されているのは150万種）

細菌・古細菌，藻類，植物，菌類，動物

「生物の普遍性と多様性のいずれにも配慮した研究が進められている」

生物の多様性とゲノム

(ゲノム：配偶子に含まれる染色体あるいは遺伝子の全体) bp = 塩基対

| 生物種 | ゲノムサイズ (bp:塩基対数) | 遺伝子推定個数 |
|---------------------------------------------|------------------------------------|---------|
| ウイルス (RNAのみ, コートタンパク質をもたない) | 2.2×10^2 | 0 |
| ヒトのミトコンドリア | 1.7×10^4 (細胞内小器官) | 13 |
| λファージ (細菌ウイルス) | 4.8×10^4 (一般的なウイルス) | 50 |
| <i>Halobacterium salinarum</i> (高度好塩菌) | 2.6×10^6 (一般的な古細菌) | 2,749 |
| 大腸菌 | 4.6×10^6 (一般的な真正細菌) | 4,149 |
| <i>Methanosarcina acetivorans</i> (メタン菌) | 5.7×10^6 (最大のゲノムを持つ古細菌) | 4,540 |
| 出芽酵母 (<i>Saccharomyces cerevisiae</i> など) | 1.2×10^7 | 5,880 |
| 線虫 (<i>Caenorhabditis elegans</i>) 動物界 | 9.7×10^7 | 約20,000 |
| シロイヌナズナ (植物) | 1.3×10^8 | 約27,000 |
| ショウジョウバエ (昆虫) | 1.8×10^8 | 約14,000 |
| キイロタマホコリカビ | 3.4×10^8 | 約13,000 |
| イネ | 3.9×10^8 | 約37,000 |
| トウモロコシ | 2.3×10^9 | 約32,000 |
| ヒト | 3.0×10^9 | 約26,000 |
| マウス | 3.3×10^9 | 約29,000 |
| コムギ | 1.7×10^{10} | |
| ユリ | 1.2×10^{11} | |
| アメーバ (<i>Amoeba dubia</i>) | 6.7×10^{11} (最大のゲノムを持つ生物) | |

ヒトは自分の伸長ほどの長さのDNAを、それぞれの細胞が保持している。

| | ゲノムの大きさ ヌクレオチドの長さ | 相対値 大腸菌 = 1 | DNAの長さ mm |
|----------|----------------------|----------------|--------------|
| 原核生物 大腸菌 | 4×10^6 | 1.00 | 1.36 |
| カビ 酵母 | 2×10^7 | 5 | 6.8 |
| 動物 ヒト | 3.2×10^9 | 1,250 | 1,700 |
| 植物 エンドウ | 4.1×10^9 | 2,250 | 3,100 |
| エンレイソウ | 1×10^{11} | 30,000 | 34,000 |

細胞の大きさ 大腸菌：長さ $2 \mu\text{m}$, 直径 $1 \mu\text{m}$ ヒト肝臓細胞：直径 $10 - 30 \mu\text{m}$
植物柔組織細胞：直径 $50 - 200 \mu\text{m}$ (体積は大腸菌の20,000倍)

動物，植物などの真核生物は，個体そのものが原核生物に比べ大きく，多くの遺伝情報をもつ。これらの遺伝情報はタンパク質に翻訳され，細胞の特定の部位に局在化し機能する。どの器官の細胞であっても保有する遺伝情報は同じであるが，多くの遺伝子は特定の時期，特定の組織・細胞でのみ発現する。遺伝情報の多さと細胞の複雑さは，細胞や組織が高度で精密かつ複雑な機能を担う基盤でもある。

2-3 生体膜とオルガネラ (cell organelle)

真核生物の細胞内には形態や機能の異なる細胞内小器官 (cell organelle) が存在する。

(1) 二重の膜でおおわれたオルガネラ (オルガネラ固有の DNA をもつ)

核 (nucleus, 複数形は nuclei) :

細胞の DNA の大部分は核に含まれる。核は核膜と呼ばれる二重の膜でおおわれ、膜には直径 90 nm の孔が多数存在し、この核膜孔を通してヌクレオチド、酵素、ホルモンあるいは情報伝達物質が入り、転写された mRNA やリボソームサブユニットが出る。細胞分裂時に核膜構造は崩壊し、娘細胞で再び構築される。

ミトコンドリア (mitochondrion, 複数形は mitochondria) :

細胞のエネルギー生産工場、別名バイオエンジン。外膜、内膜の二重の膜で構築され、核 DNA とは別の DNA をもつ。クエン酸回路で供給される NADH とコハク酸のもつ酸化還元エネルギーを利用して、ADP をリン酸化して ATP を生成する (酸化的リン酸化)。ミトコンドリアは生物進化の初期の真核生物と共生していた好気性細菌の子孫の可能性がある。ミトコンドリア遺伝子は母性遺伝。大きさ約 1 μ m。1 細胞あたり数百~数千個存在。

葉緑体 (chloroplast) :

光エネルギーを利用して光合成を行う。外膜、内膜の二重膜で構築され、内部に扁平な構造のチラコイドが数層重なっている。核 DNA とは異なる DNA をもち、母性遺伝する。直径 5 μ m。

(2) 一重の膜でおおわれたオルガネラ

粗面小胞体 (rough endoplasmic reticulum, rough ER) : リボソームが結合した小胞体。分泌タンパク質、そして細胞膜や核膜、リソゾーム膜などのタンパク質を合成。Rough ER; a region of the endoplasmic reticulum associated with ribosomes and involved in the synthesis of secreted and membrane-bound proteins. The nascent protein destined for secretion with its signal peptide associates with a receptor for the signal recognition particle and then translocates through the rER lipid bilayer by means of proteins, including TRM, which form a translocon. The signal peptide is removed by the signal peptidase. The process is aided by heat-shock proteins, which serve as chaperones. From "Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology".

滑面小胞体 (smooth ER) : 脂質合成、異物・薬物 (医薬品含む) の代謝。

ゴルジ装置 (Golgi complex, Golgi apparatus, Golgi body) : 粗面小胞体で合成されたタンパク質の加工 (部分切断, 糖鎖の付加など) と細胞内輸送の選別。

リソソーム (lysosome) : 直径 1 μ m のオルガネラで、細胞内のタンパク質、多糖、核酸、脂質の分解消化する機能をもつ。エンドサイトーシスで取り込まれた異物タンパク質や核酸も分解する。つまり、生体成分の分解と再利用化を実施する。内部は酸性 (pH は 6 前後)。

液胞 (vacuole) : 植物と酵母細胞に固有のオルガネラ。植物では細胞容積の 90% 以上を占め、糖、有機酸、無機イオンなどを貯蔵する。動物のリソゾームに似て、内部酸性で、生体高分子の分解機能 (リサイクル) をもつ。< 物質・栄養成分の貯蔵, 浸透圧調節, 細胞質イオン濃度の調節, 細胞質 pH の緩衝空間, 高分子・有機化合物のリサイクル, 有毒物質の隔離 >

細胞膜 (plasma membrane, cell membrane) : 細胞質膜ともいう。細胞表面の膜 (細胞を空間的に区切る境界)。物質の選択的輸送, 細胞外からの情報変換を担う。

(3) その他のオルガネラ

細胞壁 : 細菌, 植物, 酵母など細胞膜の外側に存在する境界構造で、細胞の形態維持, 保護などの役割をもつ。

細胞骨格 : アクチンと呼ばれる球状タンパク質がらせん状に重合して繊維を形作る (アクチンフィラメント) のほかに、微小管, 中間フィラメントが細胞質空間を縦横に走り、三次元の網目構造をつくる。これが細胞質を構築し、細胞の形を保ち、あるいはオルガネラの輸送, 細胞運動の基盤となる。

(4) オルガネラの分離

組織の磨砕 → 細胞の破碎 → 遠心分画 → 超遠心分離

遠心加速度 ($f, \times g$) は、回転半径 (R, cm) と回転数 (N, rpm^{**}) から計算できる。

*gravitational acceleration 重力加速度の何倍かを示す数値

**rpm, revolution per minute (回転数/分)

$$f = 1,118 \times R \times N^2 \times 10^{-8} \quad (\times g)$$

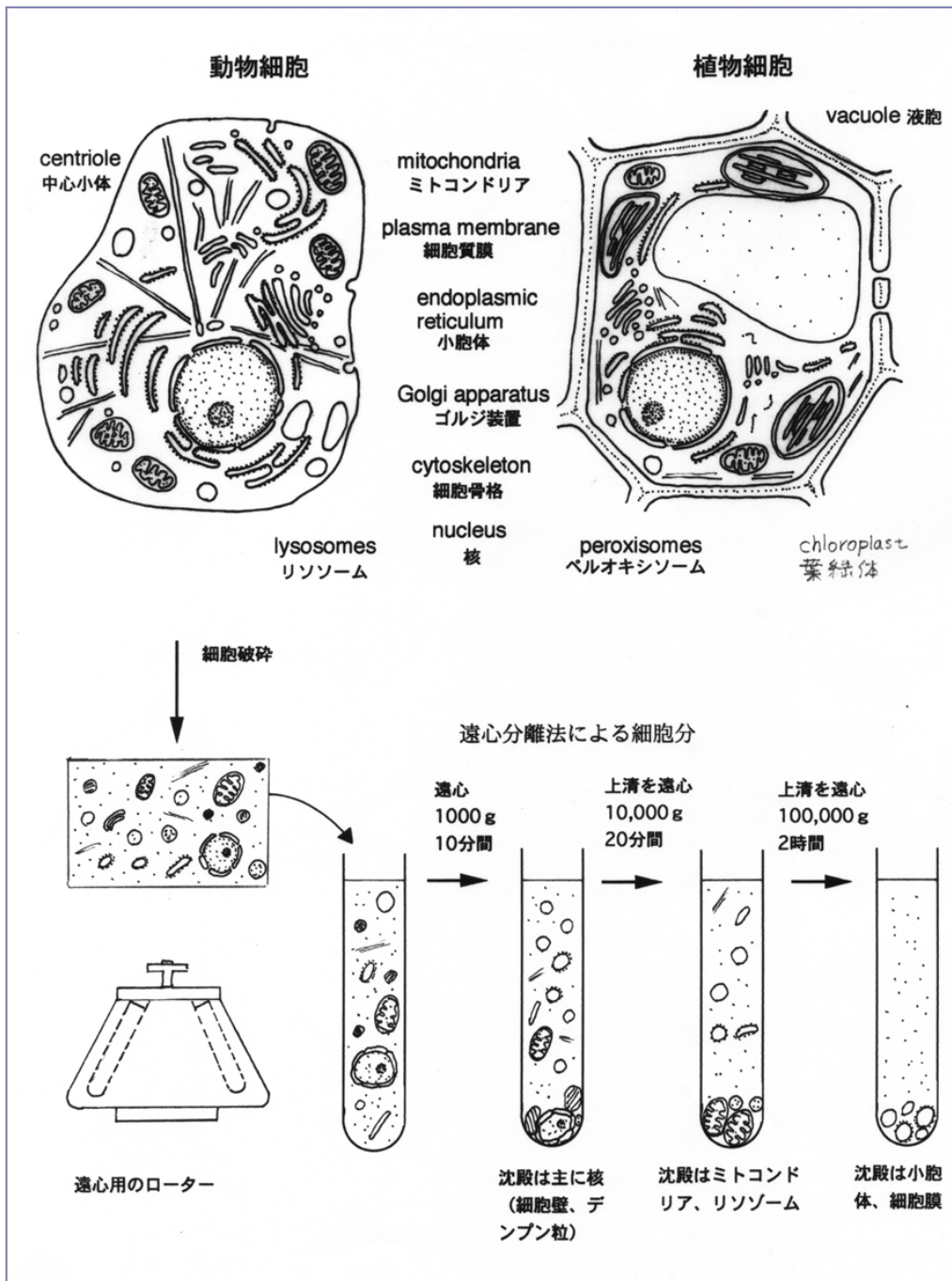
(例) 低速遠心機: 半径 10 cm, 10,000 rpm の場合は $11,000 \times g$

超遠心機: 半径 8 cm, 40,000 rpm の場合は $140,000 \times g$

図 (動物細胞, 植物細胞, 細胞分画法) (自作図)

(上) 細胞内構造と細胞オルガネラ (cell organelles, intracellular organelles)

(下) 遠心法による細胞分画 (細胞質およびオルガネラの分離)



3 水と生命

(Chap. 2, p. 61~100)

3-0. 地球上の水の起源

地球上の水を構成する元素である水素はビッグバンの約3分後に、そして、酸素は約90億年かけて恒星内部でできた。地球の海は、約45億年前、月を形成した巨大衝突現象により地表にマグマの海が形成された時に地球内部に取り込まれていた揮発性成分が大気を作り、その中の水蒸気が海水となったと考えられている。つまり、海は地球内部にその分子の源が存在したことになる。では、その地球内部の水の起源はどこにあったのか？

3-1. 生命を支える水

地球：水と生命の惑星

海水=1.5×10²¹ kg, 極地の氷=0.05×10²¹ kg, 帯水層の水=0.008 × 10²¹ kg。

人類が作物栽培や飲み水として利用できる水の量は少ない。

表 3-1 全身水分量 (体重に対する%)

| 年齢 | 男 (%) | 女 (%) |
|-------|-------|-------|
| 10~18 | 59 | 57 |
| 18~40 | 61 | 51 |
| 40~60 | 55 | 47 |
| 60~ | 52 | 46 |

水の存在部位

| |
|--------------------|
| 細胞内液：体重の 40% |
| 間質液：体重の 15% |
| (リンパ, 軟骨, 眼房水 etc) |
| 血漿：体重の 5% |
| 全血液量：4~6 L |

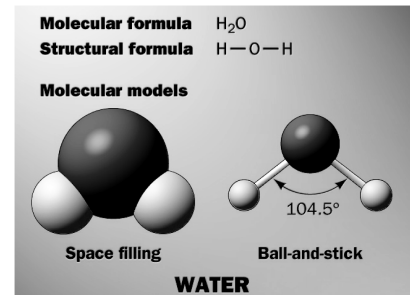
3-2. 生命からみた水の特性

生命にとっての水の重要性は、水の物理的、化学的特性に依存している。
 大きな熱容量 (75.15 J/K mol, 25°C) 大きな溶解度
 大きな融解熱 (6.01 kJ/mol, 0°C) 大きな気化熱 (45.0 kJ/mol, 0°C)
 大きな表面張力 氷の比重は水より小さい

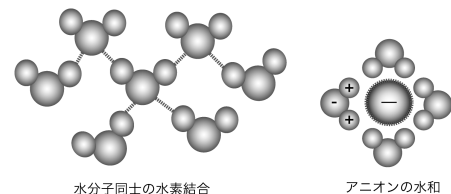
水 = 多様な物質を溶かす。
 化学反応の場を提供する。
 化学反応そのものに関与する。
 タンパク質, 核酸, 生体膜の構造形成に関与。

表 3-2 溶媒としての水の物理的性質

| 化合物 | 分子量 | 沸点 °C | 融点 °C |
|-------|-------|-------|-------|
| 水 | 18 | 100 | 0 |
| エタノール | 46.07 | 78.5 | -130 |
| メタノール | 32.04 | 64.1 | -98 |
| アセトン | 58.08 | 56.5 | -94 |
| 酢酸 | 60.05 | 118 | 16.7 |



酸素の van der Waals 半径 = 0.14 nm
 水素の van der Waals 半径 = 0.12 nm
 O-H 共有結合距離 = 0.0958 nm
 水素結合の距離 = 0.177 nm



液体の水は平均 3.4 個の水分子と水素結合しているが、結合の寿命は短い (1×10⁻⁹ 秒, 1 ナノ秒)。

氷では、1つの水分子はその周りの4個の水分子と安定な水素結合をしている。

3-3. 水素結合 (hydrogen bond)

生物における水素結合の重要性

極性分子としての水 → 水素結合の形成

- (1) 生体成分の溶解 (分子間水素結合)
- (2) 生体膜の形成 (分子間水素結合)
- (3) 生体高分子の構築 (側鎖間, 塩基対での水素結合)

水素結合 = 弱い相互作用 (水素結合 20 kJ/mol, O-H 結合 460 kJ/mol)

3-4. 水のイオン化と pH



H_3O^+ (オキソニウムイオン= H^+ , 水素イオンとして表示。プロトンと呼ぶ。)

$$K_{eq} = [\text{H}^+][\text{OH}^-] / [\text{H}_2\text{O}] \quad [\text{H}_2\text{O}] = 1,000 \text{ g} / 18 \text{ g mol}^{-1} = 55.6 \text{ (M)}$$

電気伝導度から測った水のイオン化の平衡定数 (K_{eq}) = 1.8×10^{-16}

$$K_{eq} \times [\text{H}_2\text{O}] = 1.8 \times 10^{-16} \times 55.6 = 1.0 \times 10^{-14} = [\text{H}^+][\text{OH}^-] = K_w \text{ (水のイオン積, } \text{M}^2)$$

$$[\text{H}^+] = [\text{OH}^-] \text{ のとき, } K_w = [\text{H}^+]^2 = 1.0 \times 10^{-14}, \text{ よって } [\text{H}^+] = 1.0 \times 10^{-7}, \text{ pH} = 7.0$$

ヘンダーソン=ハッセルバルヒの式 (Henderson-Hasselbalch の式)

$$\text{pH} = \text{p}K_a + \log [\text{プロトン受容体}] / [\text{プロトン供与体}] = \text{p}K_a + \log [A^-] / [HA]$$

(問題) 0.1Mの酢酸と0.2Mの酢酸ナトリウムの等量混合液の pH は? 酢酸の $\text{p}K_a$ は 4.76

$$\text{pH} = 4.76 + \log (0.2/0.1) = 4.76 + 0.301 = 5.06$$

4 酵素学序論

(タンパク質, 酵素, 分類, ゲノム,)

4-1. タンパク質群の中の酵素 (下表, タンパク質の生理機能別分類)

| 分類 | 具体例 |
|----------|-------------------------------------------|
| 酵素 | ペプシン, カタラーゼ, ATPase, DNase |
| 貯蔵タンパク質 | 種子タンパク質 卵白アルブミン 牛乳カゼイン フェリチン (鉄) |
| 輸送タンパク質 | ヘモグロビン リポタンパク質 |
| 収縮タンパク質 | ミオシン アクチン ダイニン |
| 防御タンパク質 | 免疫グロブリン 補体成分 動物レクチン フィブリノーゲン トロンビン |
| 毒素 | コブラトキシン, ブホトキシン (ヒキガエル毒), リシン |
| ホルモン | インシュリン 副腎皮質刺激ホルモン |
| 構造タンパク質 | コラーゲン, ケラチン, エラスチン, フィブロイン, ヒストン |
| 調節タンパク質 | オペロンのリプレッサー ホルモン受容体 |
| 光受容タンパク質 | カルモジュリン, GTP 結合タンパク質 フィトクロム (植物) ロドプシン |

酵素は、活性部位 (基質結合部位, 触媒部位), 活性調節部位, 構造部位をもつ。

4-2. 酵素の分類 (国際的分類法)

- 1群 オキシドレダクターゼ (酸化還元反応) シトクロム c オキシダーゼ [1.9.3.1]
- 2群 トランスフェラーゼ (官能基の転移) グルタミンアミドトランスフェラーゼ
- 3群 ヒドロラーゼ (加水分解反応) α -アミラーゼ [3.2.1.1]
- 4群 リアーゼ (二重結合からの官能基の除去), シンターゼ (二重結合への官能基付加)
- 5群 イソメラーゼ (異性体生成反応)
- 6群 リガーゼ (ATP 分解に共役した縮合反応による C-C, C-S, C-O, C-N 結合の生成)
ヘキソキナーゼ $\text{Glucose} + \text{ATP} \rightarrow \text{G6P} + \text{ADP}$ [2.7.1.1]
DNA ポリメラーゼ (DNA polymerase) [2.7.7.7]

4-3. 生体膜からみた酵素の分類 (膜内在性酵素/膜表在性酵素/可溶性酵素)

4-4. ゲノムサイエンスからみた酵素

ヒトのゲノムには 32,000 の遺伝子が含まれている。その遺伝子から翻訳されるタンパク質は 10 万種近くあると推定されている。遺伝子数はほぼ確定したが、タンパク質の全てを個別に分析することは困難なため推定の域を出ない。遺伝子の数が多いのはオルタナティブスプライシング等により 1 つの遺伝子から複数の mRNA が生じるためである。さらにタンパク質は翻訳後もリン酸化, 糖鎖付加などの化学修飾を受けるので、細かく見ると 10 万種を越えることになる。

4-5. 血液検査に登場する酵素（酵素の触媒機能を利用して診断する）

表 臓器から逸脱する酵素から臓器の疾患が推測できる（診断できる）

| 酵素名 | 臓器 | 疾患 |
|--------------|----------------------|------------------------|
| sGOT (AST) | 心筋, 骨格筋, 肝臓, 脳 | 心筋梗塞 |
| sGPT (ALT) | 肝臓 | 肝炎, 肝腫瘍 (ALT>AST) |
| アミラーゼ | 膵臓, 唾液腺 | 急性膵臓炎, 膵管閉塞, 急性耳下腺炎 |
| クレアチンキナーゼ | 骨格筋, 心筋, 脳 | 心筋梗塞, 筋ジストロフィー |
| γ-GTP | 肝臓 | 肝炎, 腫瘍 |
| 乳酸脱水素酵素 | 心筋 (LDH1), 肝臓 (LDH5) | 心筋梗塞, 肝炎 |
| リパーゼ | 膵臓 | 急性膵臓炎, 膵管閉塞, |
| 酸性ホスファターゼ | 前立腺 | 前立腺ガン転移 |
| アルカリ性ホスファターゼ | 骨芽細胞 | 骨疾患, クル病, 骨腫瘍, 骨軟化症 |

GPT (ALT)

Glutamic pyruvic transaminase (グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ)

最近「ALT (アラニン・アミノトランスフェラーゼ)」と呼ばれることが多い。GOTと同じくトランスアミナーゼというアミノ酸の合成に必要な酵素。肝臓に多く含まれる。このGPTが高値の場合、肝臓病（急性・慢性肝炎・脂肪肝、アルコール性肝炎など）が疑われる。

GOT (AST)

Glutamic oxaloacetic transaminase (グルタミン酸オキサロ酢酸トランスアミナーゼ)

トランスアミナーゼというアミノ酸の合成に必要な酵素。主に心筋、肝臓、骨格筋、腎臓などに多く含まれる。このGOTが高値の場合、肝疾患（急性・慢性肝炎・脂肪肝など）や心疾患（特に心筋梗塞）などが疑われる。なお、最近「AST (アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ)」と呼ばれることが多い。

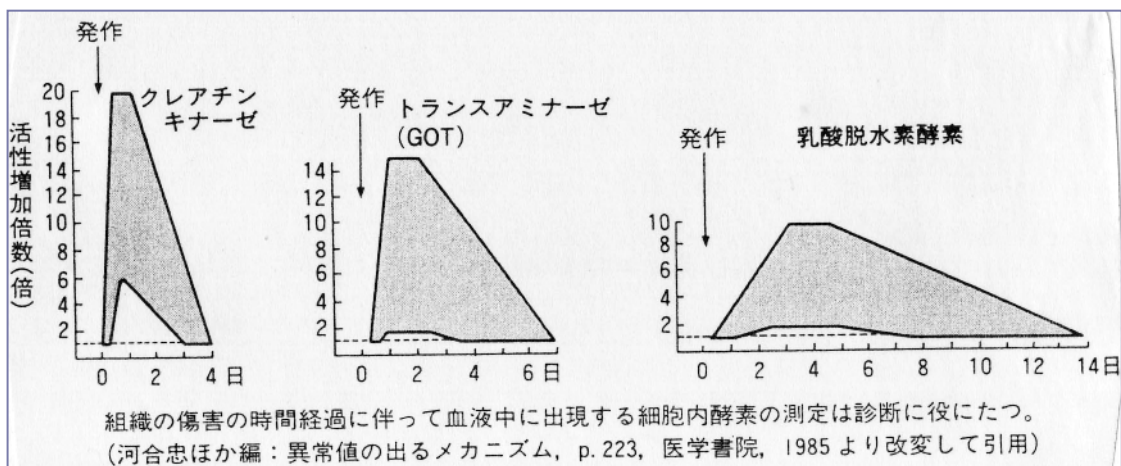
γ-GTP γ-glutamyl transpeptidase (γ-グルタミルトランスぺプチダーゼ)

GOT・GPTと同じくタンパク質を分解する酵素のひとつ。アルコールや薬剤などが肝細胞を破壊したときや、結石・がんなどで胆管が閉塞したときに、血中に出てくるもので、肝臓や胆道に病気があると異常値を示す。とくにアルコール性肝障害の指標として有効である。

酵素分析のメリット：組織の成分そのもの、あるいは酵素の絶対量を分析するには、試料が多く必要であるが、活性の高い酵素（1分子の酵素が触媒する反応速度が高い）であれば、わずかな試料（血液）で正確な分析が可能である。

心筋梗塞で血液中に逸脱してくる酵素の例

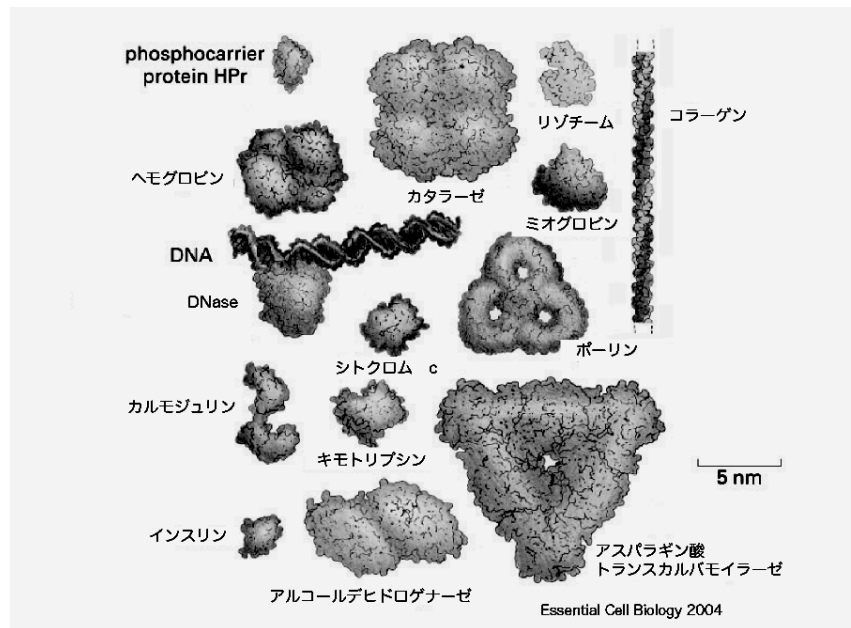
（心筋梗塞：冠状動脈の閉塞や急激な血流減少による心臓筋肉の変性、壊死）



5 タンパク質を精製する, 調べる

5-1 さまざまなタンパク質

ヒトの身体は 10 万種のタンパク質, そして植物 (シロイヌナズナ *Arabidopsis*) は 2~3 万種のタンパク質で構成されている。各々のタンパク質の構造, 機能, 性質を分析するためには, そのタンパク質分子のみを生体から取り出す必要がある。そのための操作を精製という。タンパク質の精製には, タンパク質の存在部位 (細胞オルガネラ), 分子サイズ, 電荷, 特定物質との親和性などの性質の差異を利用する。機能や構造を分析する手法も年々高度化, 先端化している。タンパク質量分析法, 結晶構造解析, ピコ・ナノ秒レベルでの反応解析, コンピュータによる高次構造モデル推測等, 学ぶべきことが多い。



Proteins: Machines of Life

5-2. タンパク質を分離・精製する (5th ed., p. 120~130)

- 細胞の中の局在部位 (細胞質, 核, ミトコンドリア, 小胞体, 細胞膜など) で分ける
細胞分画 (プリントp.6参照): タンパク質の分離の前に, 組織を破碎して得た溶液から上記の各オルガネラを分離する (通常は遠心分離法)。
- 塩溶液中でのタンパク質の溶けやすさで分離する
塩析法: 適当な濃度の硫酸アンモニウム ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) を加えると, タンパク質は沈殿 (析出) する。析出する時の硫酸濃度はタンパク質ごとに異なるので, 大まかな分離が可能である。硫酸は高濃度まで水に解け, タンパク質を変性させない。
- タンパク質の大きさで分離する
タンパク質の大きさはさまざまである。アミノ酸数50個ほどのタンパク質もあれば, 4000個ものアミノ酸をもつタンパク質もある。タンパク質のサイズの差を利用して分離する。
ゲルろ過法クロマトグラフィー (p. 122, 図3-16; p. 124, 図3-17): タンパク質分子のサイズにより多孔性樹脂カラムでの溶出速度が異なることを利用した分離方法である。タンパク質のサイズにより, 種々の樹脂粒子を利用する。樹脂は多孔性であり, 孔のサイズよりも小さなタンパク質は樹脂の孔に入るので, それだけ溶出が遅くなる。小さいほど樹脂内の経路も長くなり, 溶出が遅い。大きな分子は多孔性樹脂を素通りするので溶出も速い。
ゲル電気泳動法 (p. 127, 図3-18): 網目構造をもつアクリルアミドゲルを利用して分離。大きな分子ほど泳動が遅くなる。多用されている方法である。
遠心沈降法: タンパク質の大きさにより, 水溶液中での沈降速度 (沈降係数) が異なることを利用する方法である。
- タンパク質の電氣的性質で分離する
イオン交換クロマトグラフィー (p. 124, 図3-17) タンパク質は中性溶液中での荷電状態がそれぞれ異なる。例えば, 正に荷電する官能基をもつ樹脂粒は, 負に荷電しているタンパク質 (例: アスパラギン酸やグルタミン酸が多い) を吸着するので, 電荷をもたない, あるいは正に荷電しているタンパク質と分離することができる。
- 特定物質に結合しやすいタンパク質の性質を利用した分離
アフィニティクロマトグラフィー (親和性クロマトグラフィー) タンパク質は, たとえば酵素であればその基質や補酵素などに結合しやすい。その性質はタンパク質ごとに異なるので, 分離の手法に取り入れることができる (図3-17)。

6-1. 酵素反応 Enzymatic reaction (触媒作用: 反応は高速度, 触媒は再利用される。)

- ・ 酵素はタンパク質であり, 反応が平衡状態へ進行する反応を加速する触媒として働く。
- ・ 酵素は反応の活性化エネルギーを低下させる。
- ・ 酵素は作用する基質に対して特異性をもっている。反応の促進, 基質特異性, 反応特異性

「酵素は, 基質特異性と高い反応特異性をもつ。つまり特定の基質を選び (基質特異性), 特定の生成物を作り出す。その効率 は 100% に近い。通常の有機合成反応では 100% という高い収率は得られない」

化学反応での衝突理論: 衝突 collision

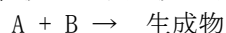
化学反応が起きるためには, 反応する分子は互いに衝突しなければならない。

反応速度は単位時間あたりの衝突数に比例する。

温度が高くなれば分子運動が速くなり衝突頻度が高くなる。

反応物の濃度が高くなれば, 衝突頻度が高くなる。

上記のことは, 反応速度が反応物の濃度, 反応系の温度に依存することを説明する。



反応速度が, A と B の両方の濃度に依存する場合は,

$$v = k [A] [B] \quad (v, \text{反応速度}; k, \text{速度定数}; [A] \text{は A の濃度})$$

有効衝突の理論:

衝突であっても, 反応物の分子を生成物の分子に変え得るような衝突を有効衝突という。2つの分子が衝突したときに分子の電子雲に働く反発のうち勝つために分子がもっていなければならない最小のエネルギーが存在する。これを活性化エネルギー (activation energy)という。

酵素は, この化学反応の速度を促進する触媒である。基本的には反応の方向を変えることはない。ただし, 2つの反応を共役させて, 通常は生じない方向の反応を進めることは, 多くのケースで見られる (反応の共役。後述)。

6-2. 遷移状態 (Transition state; 概念と実験事実)

- (1) 遷移状態とは, 化学反応過程において原子の配置が最も高いエネルギーになる状態である。遷移状態では, 反応物と生成物の中間状態の構造をとり, 原子配置としてはポテンシャルエネルギーが極大になる。無理のある不安定な状態ともいえる。ほんのわずかでも変形をうければ生成物の方向に移る状態である。酵素が活性化エネルギーを下げるということは, 酵素により遷移状態をより安定化し, ポテンシャルエネルギーを下げることである。
- (2) 鍵と鍵穴モデル (lock and key hypothesis) の限界: 基質特異性を説明するために導入されたモデル。適切な基質は, 鍵と鍵穴のように酵素の活性部位にはまりこむ。適切な鍵 (基質) しか鍵穴 (活性部位) には合わない。酵素の基質結合部位は, 酵素分子表面の窪みまたは割れ目にあり, 基質分子に相補的な形をしている (形態的相補性)。しかも, 基質結合部位のアミノ酸残基は基質分子と特異的に静電的に引き合うような配置をとっている (電子的相補性)。“鍵と鍵穴”説は, 基質の特異性を説明できるが, なぜ適切な基質の反応が速やかに進むのかは説明できない。基質が生成物に変換する過程では構造が変化するという事実もうまく説明できない。酵素と相補的なのは, 基質, 生成物, あるいはそれ以外の何なのだろうか? → 遷移状態の基質に対しても相補的である → <誘導適合>
- (3) 誘導適合 (Induced fit): 適切な基質の結合により, 酵素に構造変化が起こり, 反応を促進するのに丁度よい部位に触媒活性基が近づく。誘導適合モデルでは, 基質結合の有無により酵素の構造が異なる。このコンフォメーション変化 (conformational change) により, 酵素の触媒官能基と基質とが, 反応の進行を速やかにするような位置に配置される。基質以外の分子は, このようなコンフォメーション変化を起こすことができない。次ページおよび項目 7-3 にヘキソキナーゼの具体例。
- (4) 酵素が遷移状態の基質と相補的に結合することを示す証拠 (p. 306~308)
 - (1) 基質の遷移状態類似体は, 基質そのものよりも酵素に強く結合する。(遷移状態アナログは, その反応の強力な阻害剤となる。→ 基質と遷移状態の基質は同じ結合部位に結合する)

⇒ 酵素と基質の間の弱い相互作用は遷移状態のときに最大になる (Linus Pauling, 1946))
 - (2) 触媒抗体: 遷移状態の基質 (実際には遷移状態類似化合物) にしっかりと結合する抗体は, 遷移状態を安定化するので, 酵素と同様に反応を促進する可能性がある。この触媒抗体は 1969 年に Willam P. Jencks により提案され, R. Lerner と P. Schultz らによって, エステルの加水分解を触媒する抗体 (モノクローナル抗体) が作成されて, 反応を触媒することが実証された。

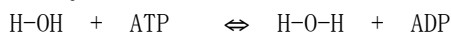
*「触媒作用とは、形式的には、触媒にしっかり結合することにより遷移状態を安定化することである」
(William P. Jencks, 1975; text, p. 267)

誘導適合の例 ヘキソキナーゼ (hexokinase)

ヘキソキナーゼはATPの端のリン酸基をグルコース(Glc)の第6位の炭素原子の水酸基に転移する。



化学的にはグルコース-OHの反応性は水分子(H-O-H)と似ている。グルコースには余分な官能基が付いているだけともいえる。



グルコースと水分子は反応に関わる化学的構造は似てはいるが、ヘキソキナーゼはATPのリン酸基のグルコースへの転移を、水分子への転移の10万倍も速やかに触媒する。誘導適合モデルでは、グルコース分子の-OH(水の-OHではなく)以外の部分が酵素のコンフォメーション変化を誘導し、このことが効率のよい触媒となるのに必要であると考えられる。

6-3. 反応の自由エネルギー変化 (free-energy change) 反応の可能性と反応速度

生化学的標準自由エネルギー変化：

標準条件：温度 298 K (25°C)，溶質の濃度各 1 M，各気体の分圧 1 atm (or 101.3 kPa)

生化学的標準条件：上記の条件のうち、pH 7.0 を前提として定義する

反応物と生成物の自由エネルギーの差 ($\Delta G = G_{\text{生成物}} - G_{\text{反応物}}$) は、反応全体を通じた自由エネルギー変化であり、平衡定数 (K_{eq}) と関連づけられる。 $\Delta G = -RT \ln (K_{\text{eq}})$

この自由エネルギー変化 ΔG の値は、熱力学的にその反応が進行するの否か (負の値であれば進行する) を示し、負の値は反応に伴うエネルギーの放出量を示す。しかし、反応がどのくらい速く進行するののかについては情報を提供していない。反応物の基底状態のエネルギーと遷移状態のエネルギーの差は活性化エネルギー (activation energy) と呼ばれる。この活性化エネルギーが反応の障壁である。障壁が高いほど、つまり活性化エネルギーが高いほど反応は遅い。(有効衝突の項を参照)

6-4. 酵素反応の速度に影響を与える要素

pH： 酵素の触媒部位のアミノ酸側鎖 (カルボキシル基、アミノ基など) の解離状態が pH により異なり、結合性、反応性に影響する。基質の電離状態に影響を与える場合もある。

温度： 温度上昇に依存して、大部分の化学反応速度は上昇する。酵素反応もその例外ではない。酵素反応の活性化エネルギーは $\sim 310 \text{ kJ/mol}$ 。値が 0 であれば反応は温度に依存しない。活性化エネルギーが高いほどより強く温度に依存する。活性化エネルギーが 50 kJ/mol の場合、温度 10°C の上昇で反応速度が 2 倍になる。温度を 10 度変えたときの速度定数の比を反応の Q_{10} という。酵素反応の Q_{10} は 1.7~25 である。再現性のある反応速度測定を行うためには 0.1°C の精度で温度設定をする必要がある。

基質濃度： 時間経過にともない基質濃度が減少する反応速度は小さくなる。生体の中では基質度は必ずしも一定ではない。つまり、基質が多いときには活発に反応を進め、基質がないときには酵素は作動しない。反応キネティクスを後述。

金属： 酵素の中には機能の発現に金属を必要とするものが少なくない。こうした金属酵素の場合は、溶液中に金属が含まれている必要がある。DNA ポリメラーゼやアルコールデヒドロゲナーゼは亜鉛を必要とする。

共存物質： 反応を促進あるいは阻害する物質、あるいは緩衝液や生体中のイオン強度も速度に影響する。例えば、高濃度の塩は、基質と酵素の相互作用、あるいは酵素そのものの構造を変えることで酵素機能が低下する場合がある。また、反応生成物の蓄積は前進反応を抑制する。

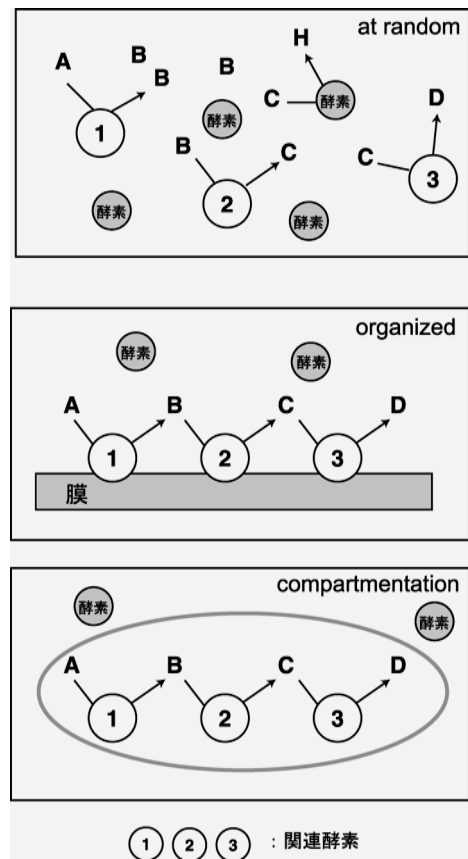
6-5. 酵素反応の組織化 = 酵素の局在化 (オルガネラの意義)

多酵素複合体: 関連する複数の酵素が1つの複合体を形成し、一連の酵素反応を効率よく進行させる。

オルガネラへの局在化: 特定の酵素を特定のオルガネラの中、あるいはオルガネラの膜に局在化させることにより反応の効率(酵素と基質の濃度上昇)、特異性を高めている。

右図: Aは出発反応物質
BとCは代謝中間産物
Dは最終生成物

- (上) 広い空間では酵素と基質の衝突頻度は低い。
(中) オルガネラの膜上に関連酵素が集積。→ 反応が順次効率よく進む。
(下) オルガネラの中に関連酵素が集積。→ 関連する酵素が特定の空間に閉じ込められている。例えばAという基質を酵素1はBに変換するが、酵素8は基質AをNに変換する場合、酵素1と酵素8が共存すると、基質AはBとNの両方に変換される。もし、B → C → Dという一連の反応を進める場合には、酵素8の共存は効率を下げることになる。



6-6. 酵素, 酵素反応の特性を示す数値と用語

ミカエリス定数 (Michaelis constant, K_m) (ミハエリスの訳もある): 酵素の基質に対する親和性を示す値。単位 (dimension) は M (モル濃度)。最大反応速度の 50% の値を与える基質濃度に等しい。

最大反応速度 (maximum velocity, V_{max}): 酵素の基質結合部位が基質で飽和した (満たされた) ときの反応速度。詳しくは後述。

反応の初速度 (initial velocity, V_0): 基質濃度が酵素濃度に比べてはるかに大きく、反応生成物の栄光も考慮する必要の無い条件 (つまり、反応の初期状態) での反応速度。

代謝回転数 (反応回転数) (turnover number, k_{cat} , 速度定数でもある) 最大速度で反応するとき、1分子の酵素が単位時間 (通常は1秒) あたりに処理する基質分子数。別の言い方をすると、触媒活性部位1つ当たり、単位時間に何回反応するかを示す量。分子活性に相当。表6-7も参照。 $k_2 = k_{cat}$

酵素量の国際単位

「標準条件において1分間に基質 1 mmol 分の反応を行う酵素量」= 1 unit (U, ユニット)

「1秒間に基質 1 モルの反応を行う (触媒する) 酵素量」= 1 katal (または kat)

mkat (microkatal), nkat (nanokatal), pkat (picokatal)

1 kat = 1 mol/sec = 60 mol/min = 60×10^6 mmol/min = 6×10^7 U

1 U = 1 mmol/min = 1/60 mmol/sec = 16.7 nkat

酵素の特異性定数 (specificity constant) は、 k_{cat}/K_m で表すことができる。 k_{cat} は上記の反応回転数と同じである。 k_{cat}/K_m の値は、基質濃度が K_m よりも著しく低い場合での二次反応速度定数である。二次とは、反応速度が $[S]$ (基質濃度) と $[E]$ (遊離酵素の濃度) の積に比例することを意味する。したがって、 k_{cat}/K_m は基質と酵素の衝突頻度に比例することを意味する。 k_{cat}/K_m の上限値は基質と酵素の拡散速度の限度に近い $10^8 \sim 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ sec}^{-1}$ である。実際、多くの酵素がこの上限値近くの値となっている (表6-8)。

酵素の国際分類法 (text p. 271, 表6-3, プリント p. 8)

酸化還元酵素 (oxidoreductase) / 転移酵素 (transferase) / 加水分解酵素 (hydrolase) / 脱離酵素 (lyase) / 異性化酵素 (isomerase) / 連結酵素 (ligase)

Enzyme: A biomolecule, either protein or RNA, that catalyzes a specific chemical reaction. It does not affect the equilibrium of the catalyzed reaction; it enhances the reaction by providing a reaction path with a lower activation energy.

基質 Substrate と 生成物 Product そして、活性 Activity

活性測定 既知あるいは未知の量の酵素が、どのくらいの速さで基質を生成物に変換するのか、つまり反応速度を測定することである。基質の減少を測る場合と生成物の増加を測る場合がある。あるいは NADH のような補酵素の変化 ($\text{NADH} \rightarrow \text{NAD}^+ + \text{H}^+$, 340 nm での吸光度の減少) を測る場合もある。酵素反応は溶液中で進行するので、多くは分光光度計を用いて基質、生成物の濃度変化を測定する。

反応初速度 (Initial velocity) 基質濃度が反応開始時と比べて有意に変化しない条件、つまり基質が多く生成物の少ない初期条件での反応速度を意味する。反応速度に負の影響を与える要因の少ない条件であるから、最も高い反応速度が得られる。

最大反応速度 (Maximal velocity) V_{\max} 酵素の活性部位に対して基質が飽和したときの反応速度。 V_{\max} は v と同じ単位 (mmol/min) をもつ。

k_{cat} (ケイ・キャット) : 分子活性。 V_{\max} のもう一つの表し方。
 酵素 1 分子当たり 1 秒間に生じる生成物を表す量
 (たとえば、毎秒 3000 個の生成物を生ずる反応では $3,000 \text{ sec}^{-1}$)。

K_m : ミカエリス定数 酵素反応速度を V_{\max} の半分とするのに必要な基質濃度で単位はモル濃度 (M)。

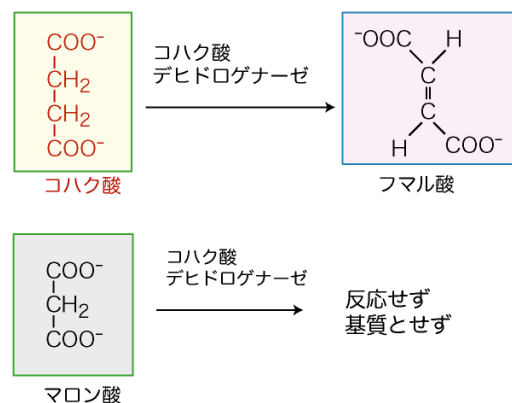
ラインウィーバー・バークの式: $1/v$ 対 $1/[S]$ 。 ある人は、「昔の生化学者は曲線を目の敵にし、 K_m や V_{\max} の値をグラフ用紙 1 枚と定規だけで求めるための工夫をした。目の敵説の証拠には、イーディー・ホフスターの式 (v 対 $v/[S]$) あるいはヘンズ・ウールフの式 ($[S]/v$ 対 $[S]$) など、曲線を排除するために、3 種類もの式を、いずれも、それぞれ二人掛かりで考案した」と冗談を言っている。

競合阻害の例:

アルコールデヒドロゲナーゼ はエタノールを基質とし、反応後アセトアルデヒド (酔いの原因分子) を生成する。この酵素はメタノールも基質とする。メタノールを飲む、あるいは吸い込んだときに中毒症状が出るのは、この酵素がメタノールをホルムアルデヒドに変換し、ホルムアルデヒドが組織細胞にダメージを与えるためである。感受性の高い眼は大きな傷害を受けて失明する。そこで、メタノール中毒の患者には、エタノールを少しずつ静脈注射し、アルコールデヒドロゲナーゼの基質としてメタノールと拮抗させる。この処置によりホルムアルデヒドの生成量が抑制される。これは、競合阻害を治療に応用した例である。

コハク酸デヒドロゲナーゼ の基質はコハク酸である。コハク酸 ($\text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$) と構造的に類似したマロン酸 ($\text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{COOH}$) はコハク酸デヒドロゲナーゼの競合阻害剤である。マロン酸は、コハク酸と同様に 2 つのカルボキシル基をもち、本来の基質と類似の構造である。酵素の基質結合部位にマロン酸が結合することにより、コハク酸の結合を妨げている。(p. 871) マロン酸が結合した酵素 (コハク酸デヒドロゲナーゼ) は反応が進行しないままの状態となり、機能し得る遊離酵素の量を減少させている。

コハク酸デヒドロゲナーゼ (クエン酸回路の酵素) は、マロン酸によって競合阻害を受ける。



7 酵素反応速度論

(Chap. 6, p. 284~)

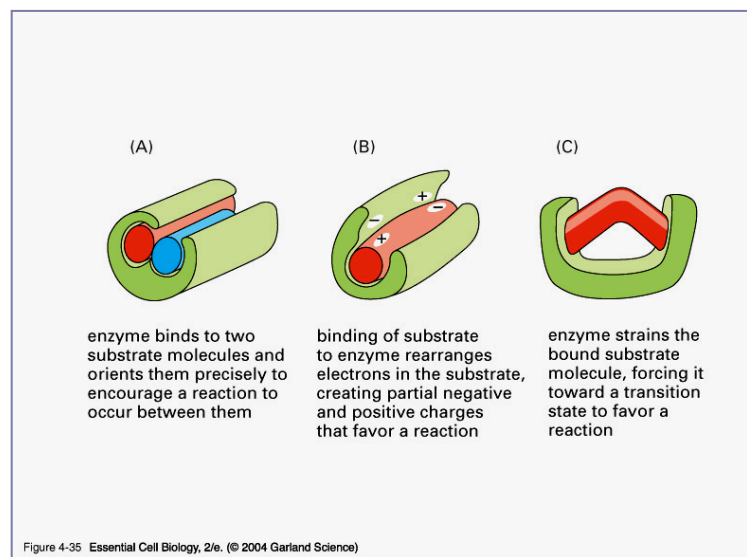
7-1. 酵素による反応の促進

表 酵素 1 分子が 1 秒間に変換する基質の分子数 (反応回転数 turnover number, k_{cat})

| 酵 素 | 基 質 | k_{cat} (sec ⁻¹) |
|---------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| カタラーゼ | H ₂ O ₂ | 40,000,000 |
| カルボニックアンヒドラーゼ | CO ₂ | 400,000 |
| アセチルコリンエステラーゼ | アセチルコリン | 140,000 |
| β -ラクタマーゼ | ベンジルペニシリン | 2,000 |
| フマラーゼ | フマル酸 | 800 |
| H ⁺ -ピロホスファターゼ | 無機リン酸 | 30 |
| RecA タンパク質(A TPase) | A TP | 0.4 |

カタラーゼ (catalase) は, 反応回転数の値からしても, 名前からしても, 酵素の王様だ!
 carbonic anhydrase 炭酸脱水酵素 (赤血球中に存在): $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}_2\text{CO}_3 \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$

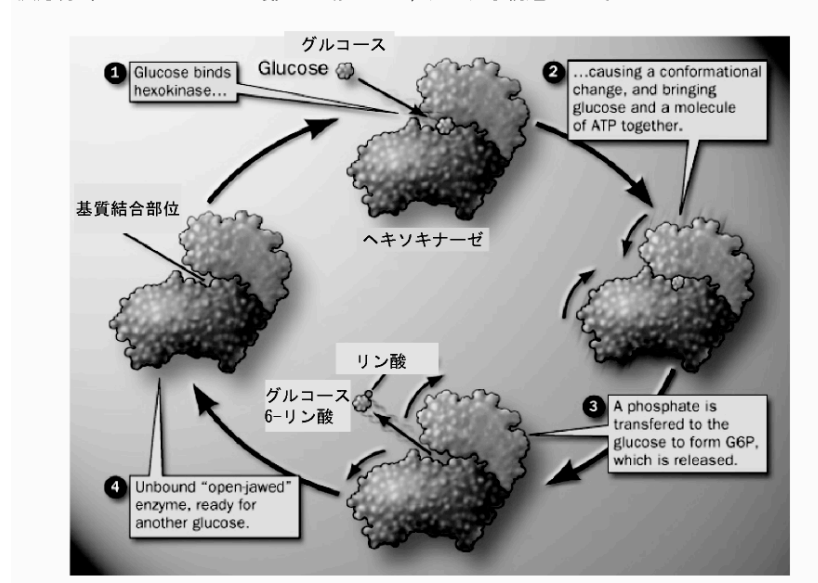
7-2. 酵素による反応促進の機構 (右, 模式図)

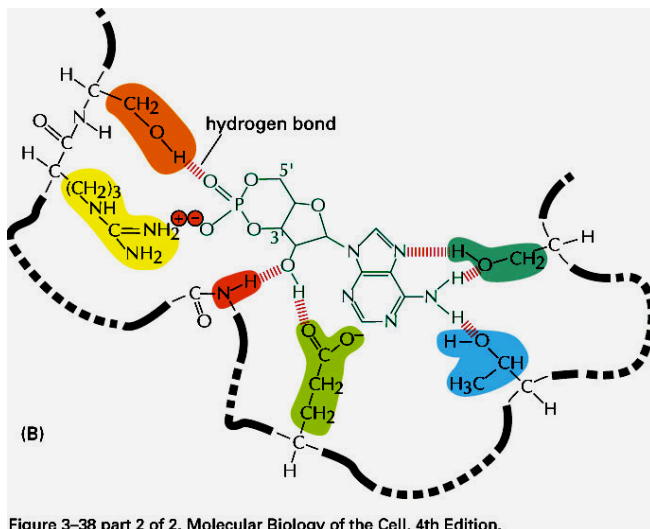


7-3. 酵素反応の誘導適合 (下図), 基質結合部分の構造 (次頁)

From Essential Cell Biology

ヘキソキナーゼに基質 (グルコース) が結合すると同時に分子の構造が変化する<誘導適合> 反応物 (グルコース 6-リン酸) が遊離すると, 元の分子構造に戻る。

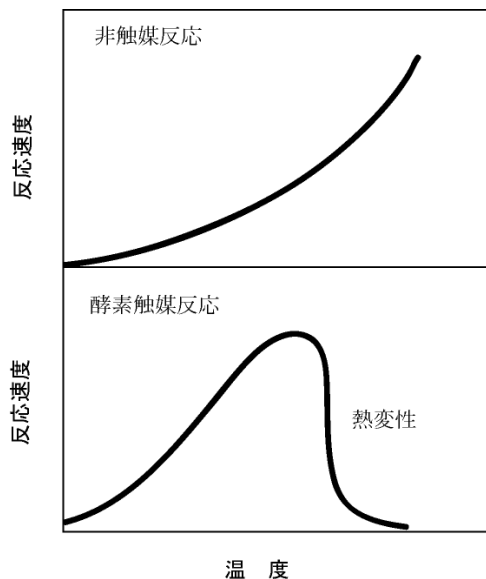




酵素と基質の結合 (左図)： 酵素は、構成するアミノ酸を介して基質と結合する。この図は、酵素とサイクリック AMP (cAMP) との結合を示している。セリン、アルギニン、主鎖アミノ基、グルタミン酸、スレオニン、セリン残基を介して cAMP と結合している。

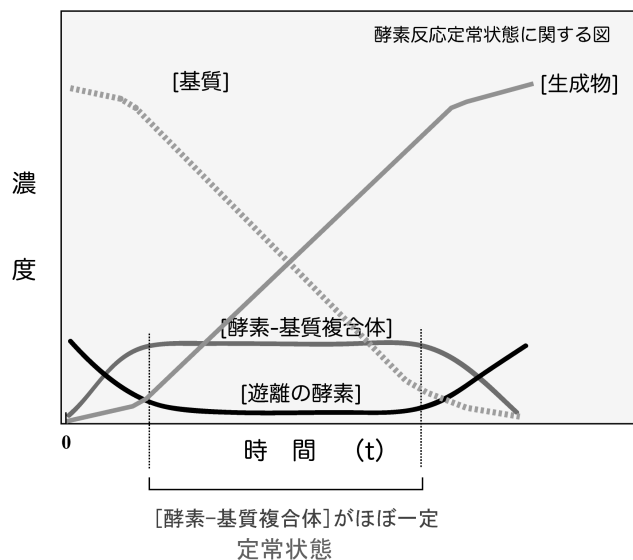
酵素反応は pH の影響を強く受ける。その理由は、基質結合や反応に関与するアミノ酸残基の解離状態が pH に強く依存するからであり、たとえば酸性条件下では、グルタミン酸側鎖は、 $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COO}^-$ から $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$ に変化し、基質との親和性が低下する。

左図：酵素反応の温度依存性



右図：酵素反応の時間経過

酵素反応における遊離酵素、基質、酵素-基質複合体、生成物の濃度の時間変化



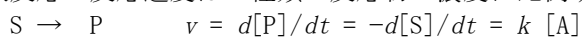
酵素反応の時間変化の特徴

- (1) 生成物は基質の消失と鏡像的關係で生じてくる。
- (2) 基質を加えると、遊離酵素の濃度 $[E]$ は急速に低下する。
- (3) グラフに見られるように、酵素-基質複体の濃度が一定となる時間がある。これを定常状態とよぶ。

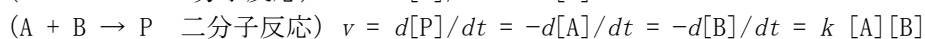
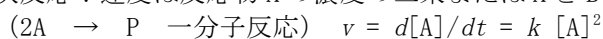
反応の次数：反応速度と基質濃度の関係

0 次反応：反応物の濃度に依存せず、反応速度は一定である。 $v = \text{constant}$

1 次反応：反応速度は一種類の反応物の濃度に比例する



2 次反応：速度は反応物 A の濃度の二乗または A と B の両方の濃度に比例する。



7-4. 初速度, 最大反応速度, 活性化エネルギー, 遷移状態, ミカエリス・メンテンの式

(p. 285)

講義での酵素反応速度は, 初速度 (initial rate, initial velocity) V_0 (定義確認のこと) を基本とする。初速度とは,

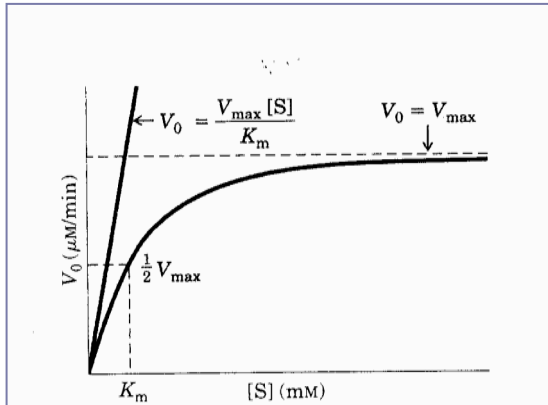
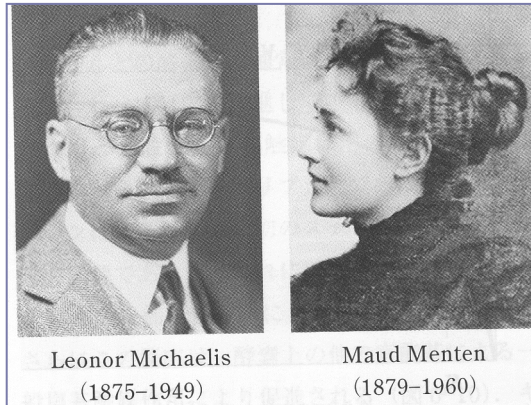


図 8-12 基質濃度に対する初速度の変化. 基質濃度の低いところ及び高いところでの曲線の極限を決める速度論的パラメーターを示す. 基質濃度が低いとき, つまり $K_m \gg [S]$ のとき, ミカエリス-メンテン式 (式 8-20) の分母の $[S]$ は無視できるため, 式は単純化して $V_0 = V_{max}[S]/K_m$ となり, 図に示したように V_0 は $[S]$ と直線関係を示す. 基質濃度が高いとき, つまり $[S] \gg K_m$ のとき, ミカエリス-メンテン式分母の K_m は無視できるため, 式は $V_0 = V_{max}$ と簡単になり, これは基質濃度が高いとき, 活性が極限値を示すことに対応している. すなわち, ミカエリス-メンテン式は, 基質濃度が低いときには初速度は基質濃度に依存し, V_{max}/K_m での傾きをもつ直線を示し, 基質濃度が高いときには V_{max} を示すという観察とよく一致している.



Leonor Michaelis
(1875-1949)

Maud Menten
(1879-1960)

ミハエリス MICHAELIS, Leonor 1875. 1. 16~1949. 10. 9 ドイツのちアメリカの生理化学者. ベルリン大学に学んだのち, O. ヘルツウィヒのもとで両生類卵の受精と卵割の研究をした. P. エールリヒの助手となり, 免疫学の分野であいつぐ業績(蛋白質沈降・ワッセルマン反応など)をあげ, 1904 年, 新設の癌研究所で実験癌の研究に従事した. 1922 年に名古屋医学専門学校(のち名古屋大学)の生化学担当教授として来日し(~1926), J. ロイブの招きでジョーンズ=ホプキンス大学の講師となり, さらに 1929~40 年ロックフェラー研究所員. 水素イオンの理論と測定法・緩衝剤・両性電解質・蛋白質の等電点・酵素の活性の pH 依存性などを共同研究し, 酵素-基質結合体の理論(ミハエリス-メンテンの説)(1913)に到達した. [主著] Die Wasserstoff-Ionen-Konzentration, 1914; Oxydations-Reduktions-Potentiale, 1929.

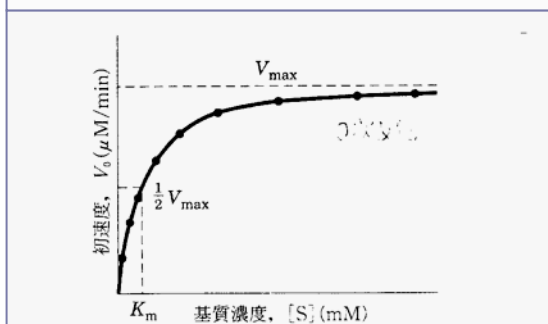


図 8-11 酵素触媒反応における基質濃度の初速度に対する影響. V_0 は V_{max} に近づくが, 決して到達することはないから, V_{max} の値はこのようなプロットからは近似値として求められる. 速度が最大速度の半分になる基質濃度がミカエリス-メンテン定数, K_m である. このような実験では酵素の濃度 $[E]$ は一般に大変低く, S の濃度が低い場合でも E の濃度はそれよりもはるかに低い. ここで示した単位は酵素触媒反応にとって典型的なものであり, V_0 と $[S]$ の意味を分かりやすくするため用いた(曲線は直角双曲線の一部であり, 漸近線は V_{max} である. また, この曲線が $[S]$ が負の方向へも延びているとすると, 縦方向の漸近線は $[S] = -K_m$ である).

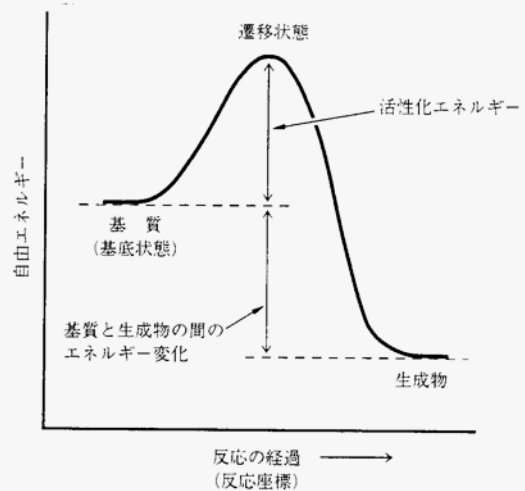
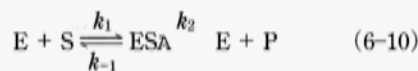


図 6-1 1 段階反応のエネルギーダイアグラム. 上段の矢印は正方向反応の活性化エネルギーである. 活性化エネルギーよりも大きな自由エネルギーをもった基質分子は, 活性化障壁を乗り越えて生成物分子となる.

酵素反応速度論
ミカエリス・メンテン式
Michaelis-Menten Equation

定常状態仮説を含む基本的な理論と代数的な取り扱いを用いたミカエリス・メンテン式の誘導について紹介しよう。この誘導は、ES (酵素-基質複合体) の生成と分解を示す二つの基本的なステップ (式 6-7, 式 6-8) で始まる。反応の初期では、生成物の濃度 [P] は無視できるので、逆反応 $P \rightarrow S$ を表す k_{-2} を無視できる。この仮定は決定的なものではないが、式の誘導を単純化する。反応全体としては次のようになる。



V_0 は ES 複合体が分解して生成物を作る反応によって決まり、ES 複合体の濃度 [ES] を用いて表される。

$$V_0 = k_2 [ES] \quad (6-11)$$

ステップ 1. ES の生成と分解の速度は速度定数 k_1 (生成) と $k_{-1} + k_2$ (分解) で定められた式で決まり、次のようになる。

$$\text{ES 生成速度} = k_1 ([E] - [ES]) [S] \quad (6-12)$$

$$\text{ES 分解速度} = k_{-1} [ES] + k_2 [ES] \quad (6-13)$$

ステップ 2. ここで重要な仮説をたてる。すなわち、反応の初速度は [ES] が一定となる定常状態での速度であるということである。つまり、ES の生成速度と分解速度が等しくなり、これを定常状態仮説 steady-state assumption という。

$$k_1 ([E] - [ES]) [S] = k_{-1} [ES] + k_2 [ES] \quad (6-14)$$

$$k_1 [E] [S] - k_1 [ES] [S] = (k_{-1} + k_2) [ES] \quad (6-15)$$

$$k_1 [E] [S] = (k_1 [S] + k_{-1} + k_2) [ES] \quad (6-16)$$

この式から [ES] を求めると、

$$[ES] = \frac{k_1 [E] [S]}{k_1 [S] + k_{-1} + k_2} \quad (6-17)$$

$$[ES] = \frac{[E] [S]}{[S] + (k_2 + k_{-1}) / k_1} \quad (6-18)$$

$(k_2 + k_{-1}) / k_1$ をミカエリス定数 Michaelis constant, K_m と定義する。式 6-18 にこれを代入すると、さらに式は簡単になる。

$$[ES] = \frac{[E] [S]}{K_m + [S]} \quad (6-19)$$

ステップ 4. V_0 を [ES] を用いて表す。式 6-11 の [ES] に式 6-19 の右辺を代入すると、

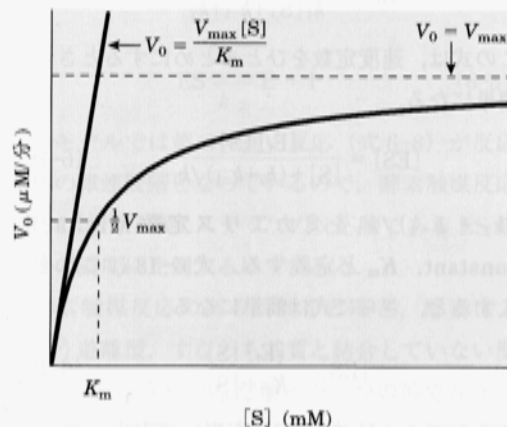
$$V_0 = \frac{k_2 [E] [S]}{K_m + [S]} \quad (6-20)$$

この式はさらに単純化することができる。酵素が飽和状態になったとき、すなわち $[ES] = [E]$ となったとき最大速度 V_{max} となり、 V_{max} は $k_2 [E]$ で表されるので、式 6-20 にそれを代入すると式 6-9 のようになる。

$$V_0 = \frac{V_{max} [S]}{K_m + [S]}$$

これはミカエリス・メンテン式 Michaelis-Menten equation, すなわち 1 基質の場合の酵素触媒反応の速度式 rate equation である。これは初速度 V_0 , 最大初速度 V_{max} , 基質初期濃度 [S] の関係を示し、これらはミカエリス定数 K_m を介して関係づけられている。ここで K_m は濃度の単一 V_0 が V_{max} のちょうど半分になる (図 6-12) という特殊な場合、ミカエリス・メンテン式から一つの重要な数値関係が導かれる。

$$\frac{V_{max}}{2} = \frac{V_{max} [S]}{K_m + [S]} \quad (6-21)$$



V_{max} で割れば

$$\frac{1}{2} = \frac{[S]}{K_m + [S]} \quad (6-22)$$

が得られ、 K_m について解けば $K_m + [S] = 2[S]$ となる。すなわち、 $V_0 = 1/2 V_{max}$ の場合には次のようになる。

$$K_m = [S] \quad (6-23)$$

このように、 K_m の定義は極めて有用で実際的なものである。つまり、 K_m は V_0 が最大速度の半分のときの基質濃度に等しい。

8 酵素反応の可逆的な阻害

8-1. 3つの酵素阻害様式（競合阻害, 非競合阻害=混合型阻害, 不競合阻害） (p. 293~)

| 様式 | 図示 | 反応曲線（基質濃度-反応初速度） | 特徴 |
|------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 競合阻害 Competitive inhibition | $E + S \rightleftharpoons ES \rightarrow E + P$ $+ I \rightleftharpoons EI$ K_i | | <p>基質濃度を上げれば、阻害は軽減される。 阻害剤は酵素の活性部位に結合し、基質と競合する。V_{max} は変わらないが、見掛けのK_m は大きくなる。</p> |
| 非競合阻害 Noncompetitive inhibition | $E + S \rightleftharpoons ES \rightarrow E + P$ $+ I \rightleftharpoons EI$ $EI + S \rightleftharpoons ESI$ K_i | | <p>酵素へのランダムな結合。有効なES複合体の濃度を低下させ見掛けのV_{max} を低下させる。K_m は変化しない。</p> |
| 不競合阻害 Uncompetitive inhibition | $E + S \rightleftharpoons ES \rightarrow E + P$ $+ I \rightleftharpoons ESI$ K_i | | <p>ES複合体において、基質結合部位とは異なる部位に結合する。見掛けのV_{max} とK_m の低下。</p> |

8-2. Michaelis-Menten 式の変形（二重逆数プロット）による解析 (p. 288 ; BOX 6-1)

ミカエリス・メンテン式

$$V_0 = \frac{V_{\max}[S]}{K_m + [S]}$$

は、実験データをプロットするのに都合の良い形へと数学的に変形することができる。よく行われる変形の一つは、単にミカエリス・メンテン式の両辺の逆数をとることであり、次の式が得られる。

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m + [S]}{V_{\max}[S]}$$

この式の右辺の分子の各成分を分離すると、

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m}{V_{\max}[S]} + \frac{[S]}{V_{\max}[S]}$$

が得られる。これは次のように整理される。

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m}{V_{\max}[S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$

この式はラインウィーバー・バークの式 Lineweaver-Burk equation と呼ばれる。ミカエリス・メンテンの関係式にしたがう酵素の場合、 $1/V_0$ を $1/[S]$ に対してプロット（これまで用いてきた $[S]$ に対する V_0 プロットの両辺の逆数どうしをプロット）すると直線が得られる（図1）。この直線は傾きが K_m/V_{\max} 、 $1/V_0$ 軸上の切片が $1/V_{\max}$ 、 $1/[S]$ 軸上の切片が $-1/K_m$ である。二重逆数プロット、すなわちラインウィーバー・バークプロットには、単純に V_0 を $[S]$ に対してプロットすることからは近似値しか得られない V_{\max} の値を、より正確に求めることができるという大きな

利点がある（図6-12 参照）。

ミカエリス・メンテン式のこれ以外の変形も行われて利用される。それらは酵素の速度論的データを解析する際にそれぞれの利点をもっている（章末の問題11 参照）。

酵素反応速度についてのデータを二重逆数プロットすると、酵素反応機構のいくつかの作用タイプを区別できる（図6-14 参照）だけではなく、酵素の阻害を解析するのにも極めて有用である（Box 6-2 参照）。

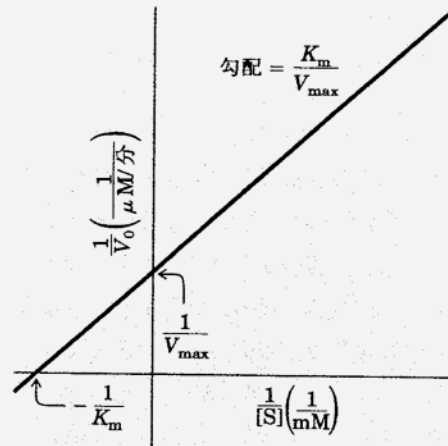
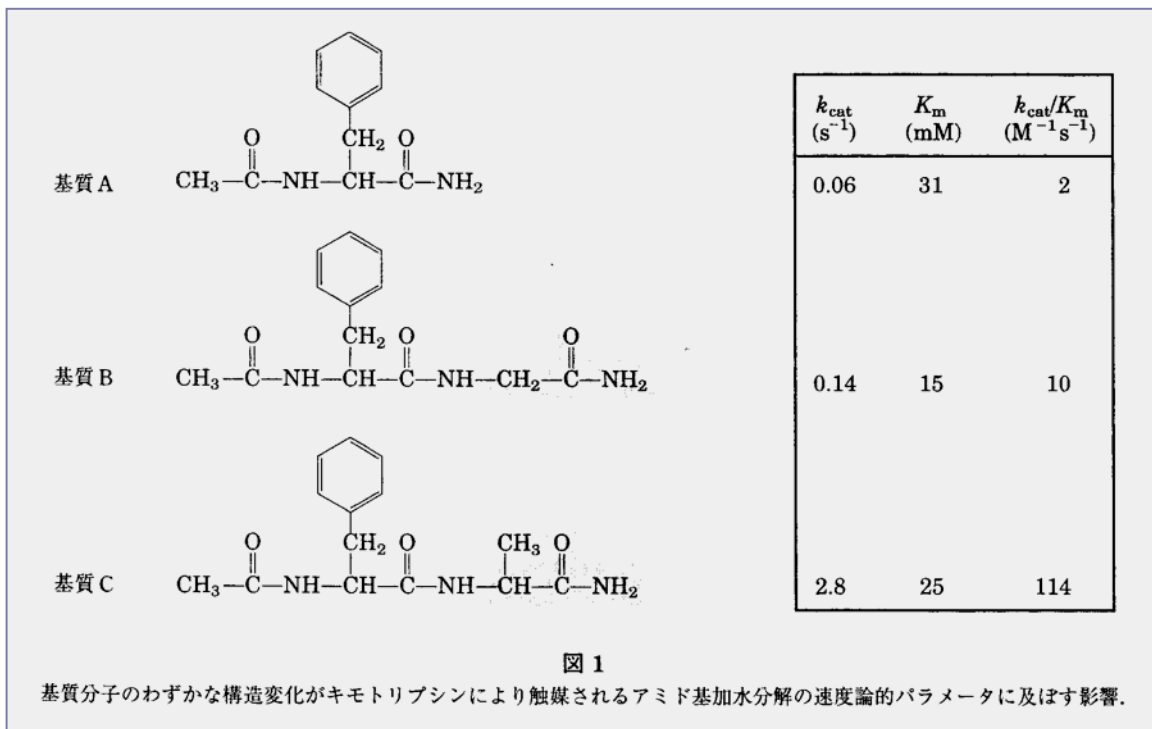


図 1

二重逆数プロット、ラインウィーバー・バークプロットとも呼ぶ。

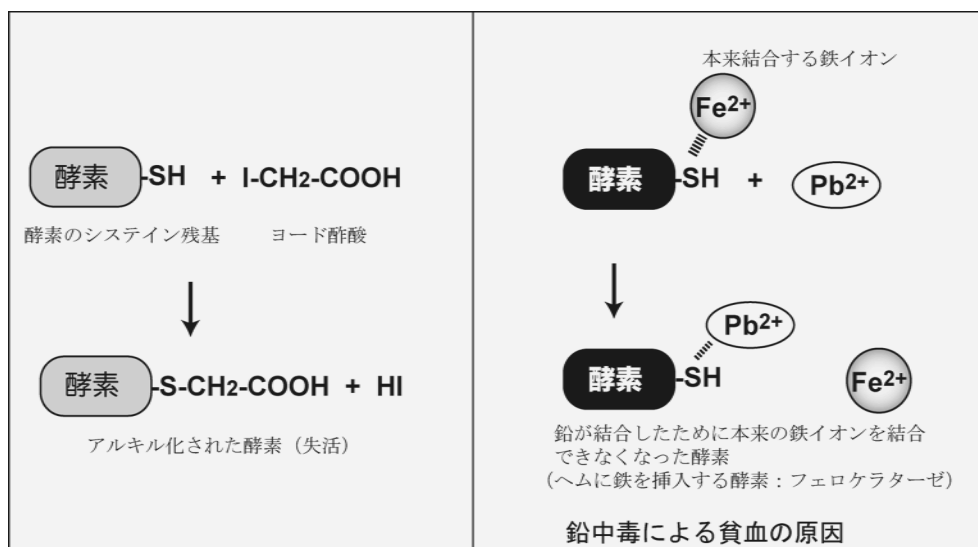
基質構造の違いが酵素反応速度に及ぼす影響



生体での酵素の活性を変える機構（活性化と不活性化，失活）

(1) 化学物質による阻害

- ・可逆的な阻害（プリント p. 14 では，可逆的な阻害剤の例を示した）
- ・非可逆的な阻害（阻害剤が結合したら離れなくなる）
 - シトクロムオキシダーゼ（アジ化ナトリウム，一酸化炭素）
 - グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ（ヨード酢酸による SH 基の修飾）



- (2) 酵素以外の物質による酵素の活性化（各酵素分子の機能を増進）
- (3) 酵素分子の共有結合による修飾（リン酸化／脱リン酸化） = 共有結合修飾
- (4) 細胞の中の酵素の量を変える（酵素の合成と分解） = 量的調節
- (5) 酵素の細胞内局在を変えることによる調節
 - 分泌酵素（細胞外に分泌することで酵素機能を発揮）
 - （水の膜輸送分子=アクアポリン，尿量調節）

【薬として使われる酵素阻害剤】

メバロチン（コレステロール値を下げる薬）：コレステロール合成の一段階を担う酵素 HMG-CoA 還元酵素（レダクターゼ）を阻害する。青カビで生産される ML-236B（前駆体；原物質）を放線菌により水酸化して，メバロチンを得る。三共製薬での開発には名大理学部卒業の黒田正夫氏が貢献。

アスピリン（解熱薬，抗炎症薬）：発熱，発痛，炎症の媒介物質であるプロスタグランジンの生合成（シクロオキシゲナーゼ）の阻害作用をもつ。

オメプラゾール（胃酸分泌を抑制する）：胃酸分泌に関わる H,K-ATPase の阻害剤。

ジルチアゼム（血管収縮を緩やかに抑制して血圧を下げる薬）：カルシウムチャンネル (Ca^{2+} channel) の作用を阻害する薬。筋収縮には血管の平滑筋細胞が，細胞外のカルシウムイオンを取り込むことが必須である。カルシウムイオンは Ca^{2+} channel を介して取り込まれる。このチャンネルの機能を阻害するのがジルチアゼムと呼ばれる化合物である。ジルチアゼムは，血管や消化管，気管などの平滑筋には作用するが，骨格筋や心筋などの横紋筋には作用しない（細胞内に十分なカルシウム貯蔵庫=筋小胞体があり，細胞膜の Ca^{2+} -channel を阻害しても筋収縮が起きる）。田辺製薬

【アロステリック効果と協同性】 p. 318

協同性（アロステリック効果）：複数のサブユニットをもつタンパク質（酵素）において，基質またはエフェクターが1つの活性部位に結合することが，第二の基質分子の結合に影響を及ぼすことを協同性という。アロステリック効果は，活性部位以外の部位へのエフェクター分子の結合が，酵素の K_m 値や V_{max} に影響することをいう。

正の協同性：第一の基質の結合が第二の基質の結合を促進すること。

負の協同性：第一の基質の結合が第二の基質の結合を抑制すること。

生物化学2 Part 1 演習問題 (1)

- (1) 細胞内小器官 (オルガネラ, cell organelle) は膜でおおわれ, 区画化されている。二重の膜でおおわれているオルガネラを3つ, 一重の膜でおおわれているオルガネラを3つ書きなさい。どうして二重になっているのだろうか?
- (2) 真核生物は何のために多種類のオルガネラを細胞内に持っているのだろうか? (細胞内区画化の意味)
- (3) 一番密度の高いオルガネラは何だろうか?
- (4) 生命にとって水は主要な構成成分であり, 高性能な溶媒でもある。水の物理化学的特性を3つ挙げ, 生命にとっての意義を考えてみよう。
- (5) 酵素タンパク質分子の大きさを調べるにはどのような方法があるか。
 - (a) 多孔性樹脂を用いたゲルろ過法 (分子サイズで分ける)
大きな分子ほど速く溶出され, 小さな分子は多孔性樹脂の中を通過するため遅く溶出されることを利用した方法
 - (b) アクリルアミドゲル電気泳動 (分子サイズで分ける)
アクリルアミドゲルの網目構造の中を電場に従ってタンパク質が泳動する。小さな分子は網目をスムーズに通過し速く泳動, 大きな分子はゆっくり泳動する。これを利用する実験手法である。この方法の欠点は, タンパク質の形状により, 同じ分子サイズ (アミノ酸の数がほぼ同じ) でも泳動度が異なることにある。そこで, タンパク質の高次構造をほぐし変性させるために SDS (ドデシル硫酸ナトリウム) を添加する方法がある。これが, SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法 (SDS-PAGE) であり, 広く利用されている。この方法により個々のタンパク質分子の正確なサイズを求めることができる。しかし, 複数のタンパク質が複合体を形成している場合は, 個々バラバラ (サブユニットに解離) になるので, 全体としての大きさを測ることはできない。
 - (c) 超遠心分離法 (沈降係数, 分子の大きさで分ける)
分子の沈降係数と分子の大きさの間に正の相関関係が成立するので, ショ糖のような溶質を用い密度勾配溶液を調製し, その上に試料タンパク質をのせ, 超遠心機を用いて高い遠心力をかけ, 分子サイズの違いにより分離する。
- (6) 酵素反応は化学反応と比べどんな特徴があるか, 3つ書きなさい。
- (7) 化学反応における一次反応を説明しなさい。反応の進行を示すグラフ (横軸時間, 縦軸反応物濃度) を書いてみよう。
- (8) 酵素反応の特異性は「鍵と鍵穴モデル」で説明されてきた。しかし, このモデルでは, 酵素触媒による反応の促進のメカニズムを説明できないという。反応促進を説明する考え方とは何か?
- (9) 酵素反応における反応物のエネルギー, 生成物のエネルギー, 遷移状態のエネルギーの関係を図示しなさい。(横軸に反応の経過, 縦軸に自由エネルギー)
- (10) 酵素は反応の方向を変えることはできないという。どういう意味だろうか?
- (11) 反応液の pH が, 酵素反応に影響をあたえるのはなぜか?
- (12) 基質濃度が酵素反応の速度に影響を与えるとは, どういうことか? 基質濃度と酵素反応速度の関係を図示する。
- (13) 酵素の最大反応速度とは何か?
- (14) 反応回転数 (turnover number) の最も大きな酵素は何か。どうして, そんなに速いのだろうか?
- (15) 血液検査として, 酵素活性 (組織からの逸脱酵素の活性) を調べると病気の有無, 進行状況が判断できる場合が少なくないという。どういうことだろうか?

1 (酵素の細胞内濃度の試算)

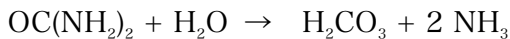
細菌細胞の中の酵素の濃度を、次の仮定のもとに推定してみよう。

- ・約 1000 種の酵素が存在し平均分子量は 50,000 であり、いずれも同じ濃度であるとする。
- ・細菌細胞は直径 $1\mu\text{m}$ 、長さ $2\mu\text{m}$ の円柱状であり比重は 1.0 とする。
- ・細胞の重量の 15% がタンパク質であるとし、その全てが酵素であるとする。
(濃度計算なので、容積 1 リットルの細胞を考えてもよい)

濃度計算なので、容積 1 L の細胞を考える。その 15% すなわち 150g がタンパク質である。

2 ウレアーゼによる反応速度の上昇

ウレアーゼは尿素を加水分解して、アンモニアと二酸化炭素に変換する酵素である。



この酵素は、細菌、カビ、マメ科植物、動物に広く分布する。ナタマメのウレアーゼ (Sumner が 1926 年に最初に結晶化した酵素) 90 kDa のタンパク質のホモ六量体 (同一タンパク質が 6 個集り 1 つの複合体を形成) であり、活性中心にニッケルを含む。尿素の加水分解速度は、このウレアーゼにより 10^{14} 倍上昇する (反応条件: pH 8.0, 20°C)。ウレアーゼ存在下で 1g の尿素が 5 分間で完全に加水分解されたとすると、ウレアーゼ無しの場合での尿素完全加水分解に必要な時間はどれほどか、計算しなさい。

3 酵素の K_m 値と V_{\max}

酵素 A の基質 S に対する K_m 値は 0.10mM である。試験管内にこの酵素とともに、基質 1mM が含まれていた場合には、その反応速度は最大反応速度 V_{\max} の何%になるか計算しなさい。

4 同じ物質を基質とする 2 つの酵素の K_m 値と反応の進み方

酵素 B は基質 S を化合物 K に変換する。基質 S に対する K_m 値は 0.10 mM である。一方酵素 C は基質 S を化合物 L に変換し、S に対する K_m 値は 2.0 mM である。試験管内に 1.0 mM の基質 S が含まれており、酵素 B と酵素 C が同じ量ずつ含まれていたとすると、1 分間の反応後は、生成物 K と L の量比はどれくらいになっていると推測されるか計算しなさい。ただし、酵素 B と酵素 C の分子活性が同じであり、1 分間の間は初速度が維持され、基質は十分残っていると仮定しなさい。

9-1. 補因子 (cofactor) の分類 (text p. 270 ; 表 6-2)

補因子：酵素を構成するアミノ酸の側鎖は、酸-塩基反応、共有結合の生成反応あるいは電荷をもつ官能基間の相互作用などを容易に行う。しかし、タンパク質の官能基は酸化還元反応、化学基の転移反応などは苦手とする。酵素がこれらの反応を触媒する場合には、低分子の補因子が必要である。特定の化学成分の添加によって酵素機能が十分に発揮される時、その化学成分を補因子という。下記項目の総称として使われる。

- (1) 補酵素 (coenzyme)：複雑な有機化合物あるいは金属有機化合物。酵素の活性部位において協同的に作用し、酵素との解離会合が自由な分子。補酵素 A (coenzyme A) は代表例。NADH や FAD などは解離性の補酵素である。ATP もリン酸転移反応では補酵素として扱われる。
- (2) 補欠分子族：酵素に対して補助的な機能を持ち、かつ酵素と強く結合している分子 (例、ヘム)。
- (3) 狭義のコファクター：補酵素、補欠分子族以外で Zn^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} など酵素に必要なイオンなど。

| 補酵素名 | 補助する反応 | ビタミン* | ヒトの欠乏症 |
|--------------------------|---------|------------------|--------|
| ニコチンアミド補酵素 (NADH, NADPH) | 酸化還元 | ニコチンアミド | ペラグラ |
| 補酵素 A (CoA) | アシル転移 | | |
| フラビン補酵素 (FAD) | 酸化還元 | リボフラビン (Vit. B2) | - |
| ビオチン | カルボキシル化 | ビオチン | - |

*ビタミンの多くは、補酵素の前駆物質でもある (上の表を参照)。補酵素前駆体ビタミンは水溶性である。脂溶性ビタミンであるビタミン A やビタミン D は補酵素成分ではない。

9-2. 解糖系とクエン酸回路, 酸化的リン酸化反応で重要な NADH と NADPH (補酵素)

NADH (ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド) Nicotinamide adenine dinucleotide
 NADPH (ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリリン酸) Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

還元型： NADH NADPH
 酸化型： NAD⁺ NADP⁺

NADH と NADPH は、ミトコンドリア、細胞質あるいは小胞体 (ER) 内で、数多くのデヒドロゲナーゼ反応 (酸化還元反応) に関与している。NADH (還元型) の分光学的特徴として、その光吸収スペクトルが 340 nm に吸収のピークをもっている (下図参照)。NAD⁺ (酸化型) はこの波長付近では光を吸収しない。これはニコチンアミド基の性質である。この性質を利用して、酵素反応の速度、すなわち、NADH の酸化反応 (340 nm の吸光度の減少)、あるいは NAD⁺ の還元反応 (A₃₄₀ 増大) の速度を測定する。NADPH も同様である。

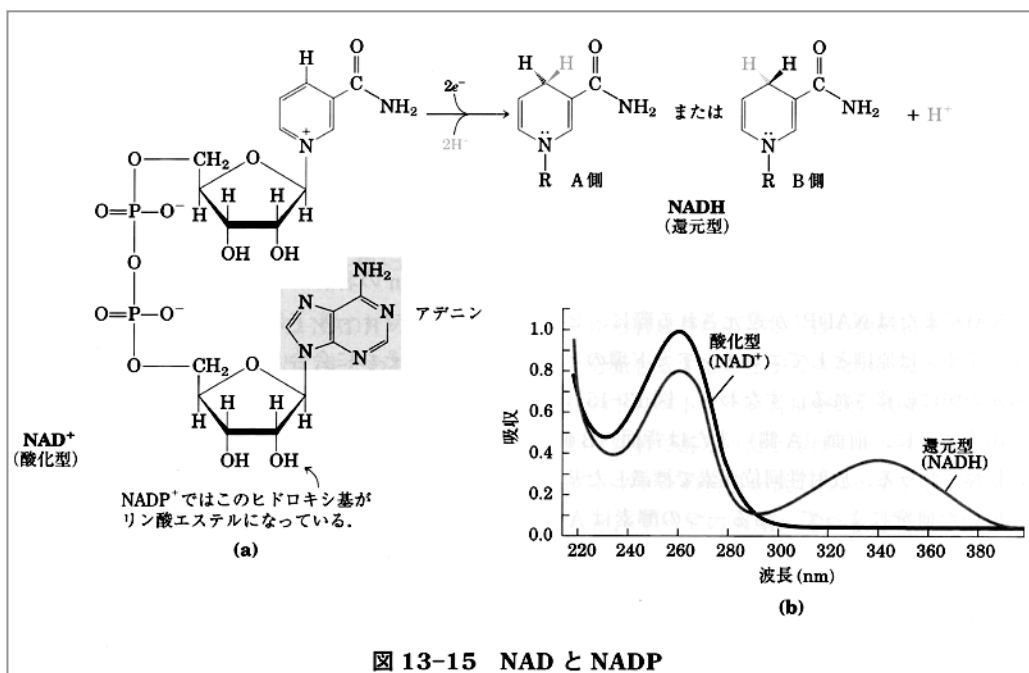
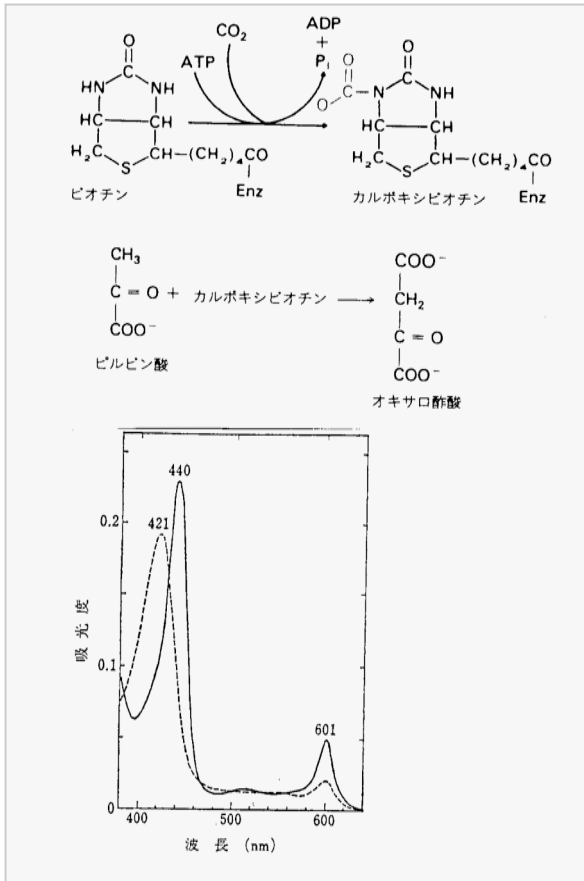


図 13-15 NAD と NADP

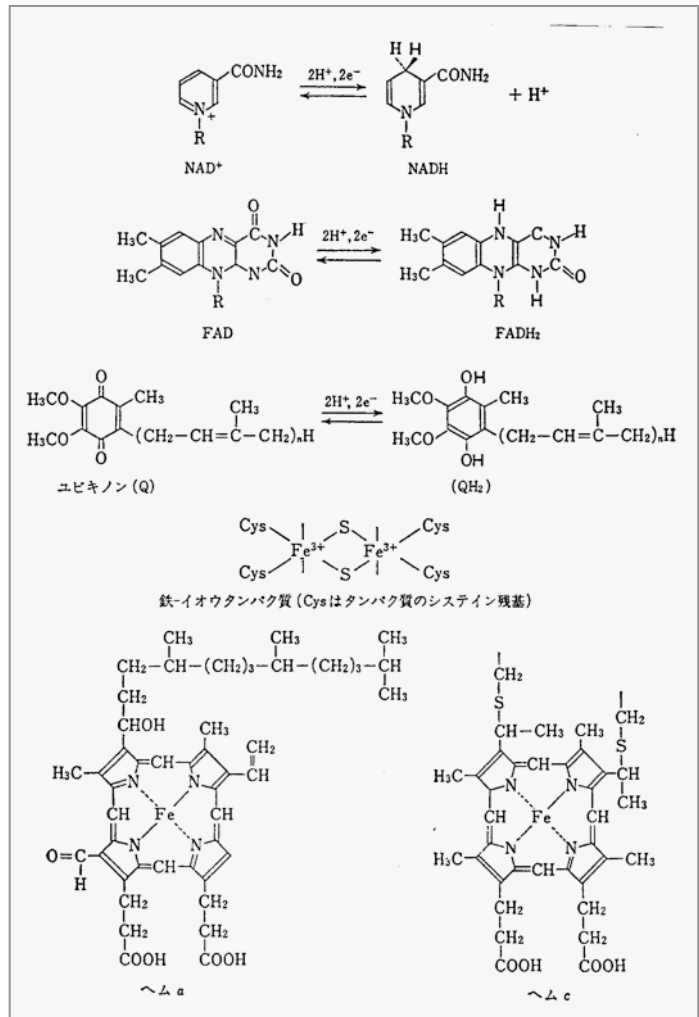
9-3. 補酵素と補因子の具体例

(下図) ビオチンは食物に含まれるビタミン H であり、カルボキシル化反応 (ピルビン酸カルボキシラーゼ等) の補酵素である。これらの反応では、最初のステップに ATP を必要とし、ビオチンの 1'-N の位置に CO₂ を付加することによって、ビオチンをカルボキシビオチンに変える。ビオチンはカルボキシル基を介して酵素に結合している。



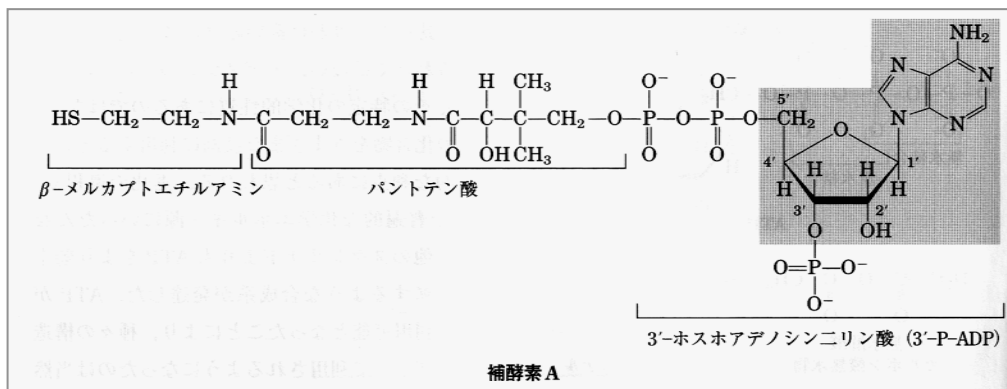
(上図) 植物シトクロムオキシダーゼの吸収スペクトル

シトクロムオキシダーゼはヘム a をもつ酵素である。酸化型 (破線) と還元型 (実線) の吸収スペクトル。酵素濃度 0.29 mg/mL。



ミトコンドリア電子伝達系の酸化還元反応に関与する成分 (NADH, FADH₂, ユビキノール, ヘム, 鉄)

補酵素 A および アセチル CoA (アセチル CoA では SH 基の硫黄原子を介してアセチル基が結合する)



ATP-Mg²⁺複合体 (ATP が関与する反応に Mg²⁺が必要とされる理由)

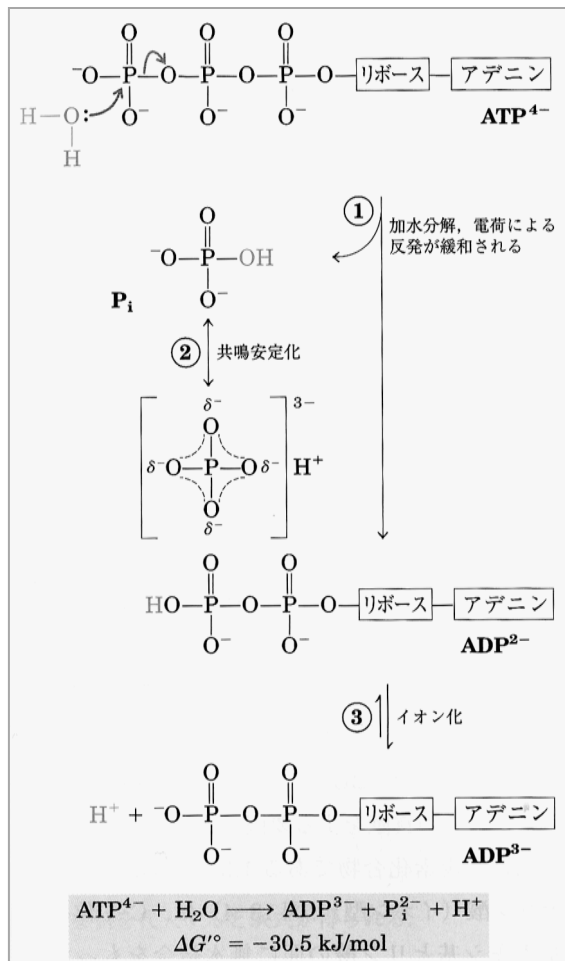
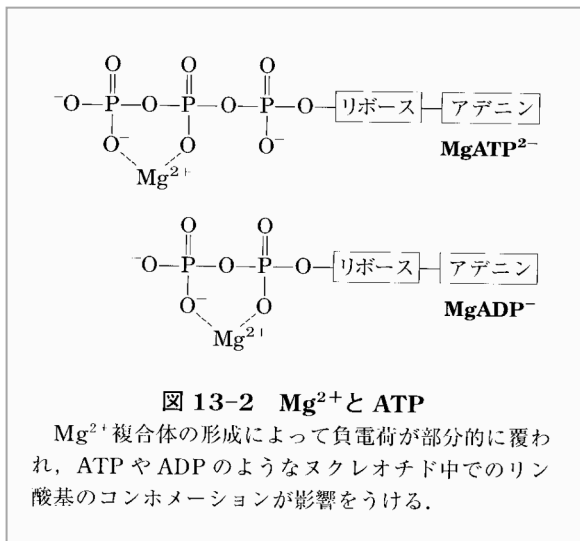


表 細胞内の ATP, ADP, AMP, 無機リン酸 (P_i), クレアチンリン酸 (PCr) の濃度

どの細胞でも ATP が数 mM のレベルで存在していることに注目。一定量の ADP および P_i は ATP 再生産に不可欠であることに注目。

表 13-5 いくつかの細胞におけるアデニンヌクレオチド、無機リン酸およびホスホクレアチンの濃度

| | 濃度 (mM)* | | | | |
|----------|----------|------------------|------|----------------|-----|
| | ATP | ADP [†] | AMP | P _i | PCr |
| ラット肝細胞 | 3.38 | 1.32 | 0.29 | 4.8 | 0 |
| ラット筋細胞 | 8.05 | 0.93 | 0.04 | 8.05 | 28 |
| ラットニューロン | 2.59 | 0.73 | 0.06 | 2.72 | 4.7 |
| ヒト赤血球 | 2.25 | 0.25 | 0.02 | 1.65 | 0 |
| 大腸菌細胞 | 7.90 | 1.04 | 0.82 | 7.9 | 0 |

*赤血球の各成分の濃度はサイトゾルのものである (ヒトの赤血球には核とミトコンドリアがない)。その他の細胞のデータは、細胞の内容物全体についてのものである (サイトゾルとミトコンドリアでは ADP の濃度が非常に異なるが)。P_i はホスホクレアチンのことであり、p.718 で述べる。

†この濃度は総濃度を反映している。遊離の ADP の真の値はおそらくずっと低い (Box 13-1 参照)。

9-5. 無機イオンの化学的特徴と生体内での存在様式

金属イオンと生物

- ♣ 生物は、海水や地殻（地表面）にある比較的手に入れやすい金属イオン、無機イオンを取り入れ、生体成分の要素として採り入れてきた。
- ♣ 地球上での存在率の低い、比較的重い元素はおしなべて生命に有毒である。

カルシウムとマグネシウム Ca (原子番号 20) Mg (原子番号 12) いずれもアルカリ土類金属

- ♥ 単体は比較的柔らかく、延性が有り、白色。
- ♥ Mg と Ca は、それぞれ 56 mM, 11 mM の濃度で海水中に存在し、生物が手に入れやすい元素。Mg と Ca を比較すると同じ 2 価の陽イオンであるが、Ca のほうが、イオン半径が大きい。Mg は相手とのイオン結合性が大きいいためタンパク質と強く結合できるが、Ca は解離会合の速度が大きく、結合状態を保ちにくい。Ca のこの性質は生体の第二メッセンジャーイオンとして役立っている。また、Ca は炭酸イオン、リン酸などの陰電荷を帯びた酸素原子と反応して不溶性の固い化合物をつくる。骨(リン酸カルシウム複合体)、貝殻や卵の殻(炭酸カルシウム)などである。カルシウムが生物の骨格などに利用された理由がここにある。
- ♥ 生体内での存在様式
マグネシウム：Mg は Ca に次いで多量に生体内に存在するが目立たない。クロロフィルの重要な金属因子。エネルギー通貨 ATP に結合し MgATP 複合体を形成する。
カルシウム：成人は 1 kg の Ca をもつ (99%は骨と歯)。Ca²⁺は第二メッセンジャーとして機能し、多くの生理現象に関与する。(細胞の分裂、分化、筋肉の運動、遺伝子の発現調節)

鉄と銅

- ♣ ²⁶Fe, ²⁹Cu とともに遷移元素 Fe = ----3d⁶4s² Cu = ----- 3d¹⁰4s¹
遷移元素の場合、外側の s 副殻とその下にある d 副殻はほぼ同じエネルギーをもっている。そのため、これらの元素が反応するときは、d 電子も結合生成に関与することができる。その理由により、化学的性質に広い幅が与えられる (1)。
- ♣ 多様な酸化状態をとる Fe: +2, +3 (最も安定), +4, +6 / Cu: +1, +2 (最も安定)
- ♣ 生体内の鉄と鉄の生物機能 “鉄は電子のやりとりが得意”
Fe²⁺ (還元状態) ↔ Fe³⁺ (酸化状態) + e⁻
- ♣ 銅は 金、銀と並ぶ貨幣金属 (IB 族金属) であり、空気中で安定である。
- ♣ 銅は金属個体で存在し海水中の濃度は低い。銅を利用している生物は好気性細菌と真核生物であり、嫌気性細菌などは銅を含まない (大気酸素がない時代には銅イオンは無かった)。
- ♣ ヒトは総量 0.1g の銅をもつ。酸素運搬タンパク質 (ヘモグロビン)、酸素を使って酸化する酵素 (例、シトクロムオキシダーゼ、後述) の中に。

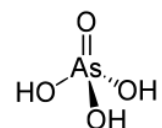
亜鉛と生物

- ◆ 亜鉛の特徴： 金属イオンの中では銅イオンについて酸性度が高く (電子対を強く引き付ける)、かといって酸性が強すぎて電子が金属イオンから離れないということもない。適度な酸性金属で、かつ原始の海に比較的多く存在した亜鉛イオンは酸・塩基反応を触媒する酵素の中に取り込まれた。
- ◆ 亜鉛の不足は、成長阻害、小人症、嗅覚・味覚異常、貧血などの原因となる。
- ◆ 亜鉛酵素 (人体の亜鉛量は 2, 3g) (Zn を含むタンパク質は 100 種ある)
 - DNA polymerase と RNA polymerase スクレオチドの縮合(反応過程は酸塩基反応)
Zn²⁺は二つの反応物を反応できる近傍に引き寄せ、かつ酸の力で反応物を反応しやすくするという 2 つの機能を果たしている。
 - Alcohol dehydrogenase CH₃CH₂OH + NAD⁺ → CH₃CHO + NADH + H⁺
 - Zinc finger protein DNA 結合性タンパク質。Zn²⁺は特異なフィンガー構造を形づくるのに必要
 - カルボキシペプチダーゼ A, B (タンパク質、ペプチドの消化に関与している)

ヒ酸とリン酸：ヒ酸 (HAsO₄²⁻) はリン酸の類似化合物 (アナログ) である。

グリセロアルデヒド 3-リン酸 + リン酸 ↔ 1,3-ビスホスホグリセリン酸
(酵素名：グリセロアルデヒド 3-リン酸デヒドロゲナーゼ)

リン酸の代わりにヒ酸が取り込まれると、1-ヒ素 3-ホスホグリセリン酸が生成する。この物質は不安定。
正常な反応： 1-ヒ素 3-ホスホグリセリン酸 + ADP ↔ 3-ホスホグリセリン酸 + ATP
ヒ酸を含む場合は自然分解： 1-ヒ素 3-ホスホグリセリン酸 ↔ 3-ホスホグリセリン酸



海水, 人体, 地殻に豊富に存在する元素 (原子の数としての%)

| 元素 | 原子番号 | 海水 | 人体 | 地殻 |
|----|------|--------|------|-----|
| H | 1 | 66 | 63 | - |
| O | 8 | 33 | 25.5 | 47 |
| Cl | 17 | 0.33 | 0.08 | - |
| Na | 11 | 0.28 | - | 2.5 |
| Mg | 12 | 0.033 | - | 2.2 |
| S | 16 | 0.017 | - | - |
| Ca | 20 | 0.0062 | 0.31 | 3.5 |
| K | 19 | 0.006 | 0.06 | 2.5 |
| C | 6 | 0.0014 | - | - |
| N | 7 | - | 1.4 | - |
| Si | 14 | - | - | 28 |
| Al | 13 | - | - | 7.9 |
| P | 15 | - | 0.22 | - |
| Fe | 26 | - | - | 4.5 |

元素の必要量と毒作用

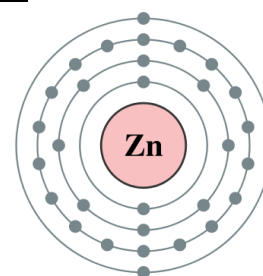
低濃度 (欠乏症) ← 最適濃度範囲 (有用な生理作用) → 過剰濃度 (毒作用)

動物細胞中のイオン濃度

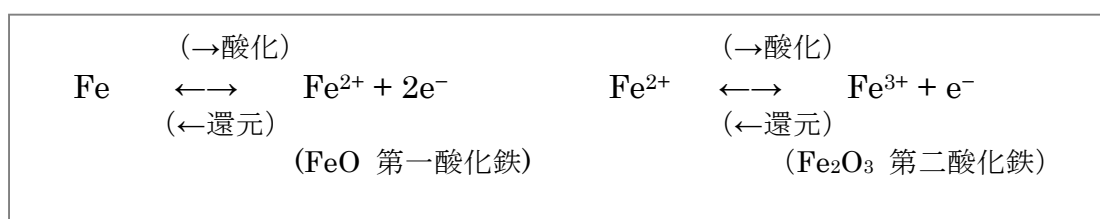
| イオン | 細胞 (mM) | 血中 (mM) |
|-------------------------------|----------|---------|
| K ⁺ | 139 | 4 |
| Na ⁺ | 12 | 145 |
| Cl ⁻ | 4 | 116 |
| HCO ₃ ⁻ | 12 | 29 |
| Mg ²⁺ | 0.8 | 1.5 |
| Ca ²⁺ | < 0.0002 | 1.8 |

イオン半径

| イオン | 原子番号 | イオン半径 nm |
|------------------|------|----------|
| Mg ²⁺ | 12 | 0.065 |
| Ca ²⁺ | 20 | 0.099 |
| Na ⁺ | 11 | 0.095 |
| K ⁺ | 19 | 0.133 |
| Cl ⁻ | 17 | 0.181 |



鉄の酸化と還元



(a) 交通事故受傷後の死

ボブ君は、自転車での交通事故で脚と腕を骨折し重篤な内臓障害を負った。身体を動かすことも、食事をすることもできないため、グルコースの静脈内投与（5%グルコース水溶液2L/日）を受けた。しかし体重が急速に減少し、感染による肺炎となった。エネルギー代謝の面からみてどのようなことが起こったのであろうか？

理由は明らかではないが、ボブ君はたまたま脂肪組織から十分な量の脂肪酸が放出あるいは酸化されない遺伝的疾患をもっていた。ボブ君の場合は、24時間後に肝臓の貯蔵グリコーゲンが枯渇した。このような状態の時、肝臓は主として筋タンパク質由来のアミノ酸からグルコースを生成する。ボブ君の体内では急速にタンパク質が分解され、必要とするATPの大部分が調達された。つまり、タンパク質の過度の分解が多発性外傷の結果として起こった（まさに身を削って生命を維持した）。ボブ君が筋肉タンパク質のおよそ半分を失った後、筋力が低下し、分泌物を喉から吐き出すことができなくなった。これらの分泌物の一部は気管支の中に入り感染が生じて死亡したと推定される。たとえば脳はATPの1日必要量を満たすために1.0 kgの筋肉を消費することになる。

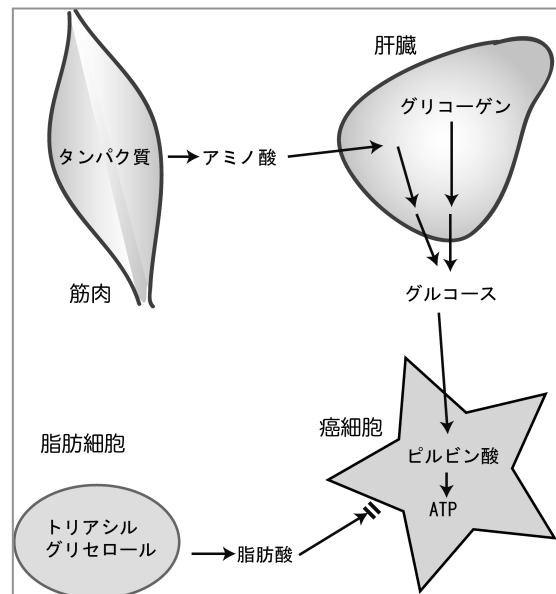
$$\begin{aligned} \text{脳の必要エネルギー} &= \text{グルコース } 120\text{g/日} \\ \text{グルコース } 120\text{g} &= \text{タンパク質 } 200\text{g} \\ \text{タンパク質 } 200\text{g} &= \text{筋肉 } 1\text{kg} \quad (\text{筋肉の80\%は水}) \end{aligned}$$

(b) がんによる急激な体重減少

マルガリータは、急速に増殖する悪性腫瘍に罹患していた。食欲は幾分減退しており、運動もできない生活を送っていた。カロリーの摂取量は大きく減少していたわけではないのに、3週間で7 kgも体重が減少した。発熱や発汗過多の症状は認められず、利尿剤使用、薬物使用あるいは過大なエネルギー消費を伴う活動もなかった。尿中に糖あるいはアミノ酸は検出されなかった。生化学的にどのような障害が起こっているのだろうか？

Margaret は身体的に活動低下の状況であり、癌細胞が多量のエネルギーを消費していると考えられる。事実、急速に増殖している腫瘍は細胞分裂とその生命活動のために大量のエネルギーを必要とし、脂肪酸は利用できない状況にある（遺伝病として脂肪酸代謝酵素の欠損）。したがって腫瘍は、結局、糖質あるいはその前駆体であるタンパク質を消費することになる。マーガレットは、血糖値の高い食後は肝臓グリコーゲンを利用し、食間の低血糖状態では貯蔵（筋肉）タンパク質を消費する。このことが、著しい体重の減少をもたらしたと考えられる。

最近の研究成果によると、がん細胞は嫌気呼吸をするためエネルギー効率が低く（後述）、多量のグルコースを必要とすることが明らかになった。



(c) 中距離走でのラストスパート

ヒトは全力走を20秒しか持続できない

1秒間に筋肉1 kgあたり2 mmol (2 mM) の H^+ （乳酸由来）が生成するからである。筋肉中の量が40 mmol/kg (40 mM) 越えると代謝が阻害される。つまり $40 \div 2 = 20$ 秒間だけ持続できるので、ゴール20秒前の段階でラストスパートをかけるべきである。 H^+ 40 mMは $\text{pH}=1.4$ に対応する。極端な酸性化は酵素等の変性をもたらすが、細胞内の緩衝作用で細胞質 pH は幾分酸性化するにとどまる。わずかな酸性化によっても代謝は阻害されるので、上記の説明は成立する。

チーターの全力疾走

草原のハンター、チーターは哺乳動物を餌とする。強くはないが速い。しかし全力疾走は20秒間が限度であり、回復には30分を要する。筋肉細胞でのエネルギー供給の限界、乳酸蓄積による細胞質酸性化が原因であり、乳酸の肝臓への移動、代謝的転換による消去に時間がかかる。

(d) 絶食による体重減少

19才のヘンリーは肥満状態になり、自分の目標とするライフスタイルが達成できないと考えた。絶望のあまり彼は絶食をして、ビタミン、ミネラルおよび水のみを取ることを決心した。その第一週に彼の体にはどのような変化が起こると考えられるか？どのような代謝経路とその調節が作動すると考えられるか？

代謝調節は体内のグルコース濃度（血中濃度 5 mM）と細胞内 ATP 濃度を保ち、正常な活動を支えるためである。エネルギー面でとくに問題なのは脳である。すなわち脳は常時グルコースを必要としており、かつ体内のグルコースの貯蔵が限られていることである。グルコースの唯一の貯蔵は肝臓のグリコーゲンで、およそ 100 g である。これを脳のみで利用するとすれば約 20 時間は維持できる。しかし絶食中のヘンリーにとっては脂肪組織由来の脂肪酸が主なエネルギー源となる。脂肪酸はグルコースに変換され得ないが、トリアシルグリセロールのグリセロール骨格（トリアシルグリセロール炭素の重量の 6 % に相当）はグルコースに変換されるので、このプロセスが絶食時には重要である。

肝臓の貯蔵グリコーゲンは1日で消費される量しかない。そこで、肝臓は筋肉から放出されるアミノ酸からグルコースを生産する。さらに時間が経過すれば肝臓は脂肪組織由来の脂肪酸からケト酸を供給する。このケト酸は脳の必要エネルギーの約80%をまかなうことになる。

前期：肝臓グリコーゲンを分解してグルコースとし、脳が消費する。他の組織は脂肪組織由来の脂肪酸をエネルギー源とする。（体重の減少はグリコーゲン消費のため）

中期：肝グリコーゲンを消費し尽くし、次は筋肉タンパク質を分解してアミノ酸とし、肝臓はアミノ酸をグルコースに変換して脳へ供給する。体重が減少する。（タンパク質分解による体重減）

後期安定期：脂肪酸由来のケト酸の血中濃度が十分高くなり（5mM）脳に必要なエネルギーを供給できるようになる。もちろん脂肪酸は脳以外の器官でも酸化されエネルギー源となる。（脂肪の分解による体重減少）

ケト酸：カルボニル基とカルボキシル基を同一分子内にもつ有機化合物

例 R-CO-COOH, R-CO-CH₂-COOH, R-CO-CH₂-CH₂-COOH

表 長期の絶食による体重の減少

| 相 | 消費 エネルギー (kcal/日) | 貯蔵燃料の消費量 (g/日) | | | | | | 正味の 体重減少 (g/日) |
|--------------|-------------------------|----------------|------|--------|--------|-----------------|-----|----------------------|
| | | グリコーゲン | | タンパク質 | | トリアシル グリセロール | | |
| | | 乾燥 | 新鮮重量 | 乾燥 | 湿 | 乾燥 | 湿 | |
| 糖質相 1日目 | 2200 | 100 | 400 | 50 | 200 | 215 | 215 | 815 |
| タンパク質相 2日目 | 1750 | - | - | 180 | 720 | 114 | 114 | 834 |
| タンパク質相 3,4日目 | 1500 | - | - | 15-150 | 60-600 | 150 | 150 | 200-750 |
| ケト-シス相 5-50日 | 1245 | - | - | 6 | 24 | 150 | 150 | 174 |
| 終末期 50日目以降 | | - | - | 250 | 1000 | - | - | 1000 |

身体生理学的に良好な体重減少とは、貯蔵脂肪トリアシルグリセロールの減少である。しかし、絶食2日目から4日目までは体タンパク質の分解、すなわち筋肉の萎縮をもたらす体重の減少となる。これは骨格筋と内臓筋肉の機能低下を招く。貯蔵脂肪を減らすためには、絶食ではなく食事量を制限しつつ適度の運動をすればよい。グルコースは脳に優先的に供給されるので、運動に必要なエネルギーの多くは貯蔵脂肪から供給することになる。

10-1. 基本法則

熱力学の基本法則

第一：エネルギー保存の原理 宇宙の全エネルギー量は不変

第二：宇宙は常に無秩序な方向に進む傾向がある。すべての自然の過程において宇宙のエントロピーは増加する。

ギブス自由エネルギー

ギブスの自由エネルギー (Gibbs free energy, G) は、定温・定圧のもとでの平衡条件を、エントロピーとエンタルピーで表した状態関数である。

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

エネルギー変化を説明する3つの熱力学量

(1) ギブス自由エネルギー(Gibbs free energy 反応の駆動力) 反応の方向, 反応の可能性を示す

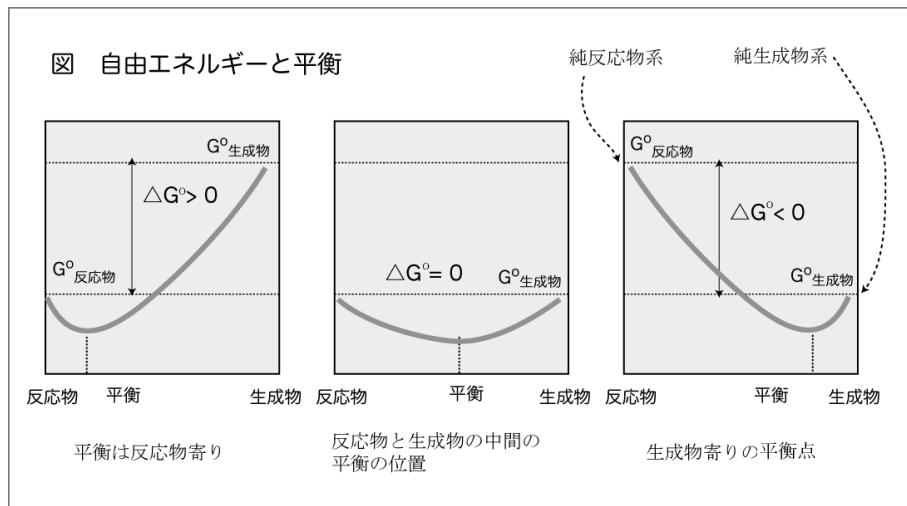
一定の温度, 一定の圧力下で仕事をするのできるエネルギーの量

自由エネルギー変化が, 負: その過程は自然に起こり, 発エルゴンの (エネルギー放出)。

正: 正方向への反応は自然には起こらない。

吸エルゴンの (エネルギー吸収反応) という。逆方向反応が進む。

ゼロ: 系は平衡状態でつりあっている。

(2) ΔH : エンタルピー変化 ($H =$ 内部エネルギー + 圧力 \times 体積)

enthalpy 反応系の熱量。出発物質や生成物の中の化学結合の数や種類を反映する。

発熱反応 = $\Delta H < 0$

吸熱反応 = $\Delta H > 0$

(3) ΔS : エントロピー変化 (系の中の無秩序さを定量的に示す値)

反応物より生成物の規則性が高い時 $\Delta S < 0$,

反応物より生成物の無秩序さが大きい時 (エントロピー増加) $\Delta S > 0$

すなわち, 発熱反応ほど進みやすい $\Delta H < 0$

不規則な生成物を作り出す反応ほど進む。 $\Delta S > 0$

ΔG のマイナスの値が大きくなる。

10-2 標準自由エネルギー変化

標準条件: 25°C (298 K), 1 気圧 (101.3 kPa), 反応物と生成物の初期濃度がすべて 1.0 M。

生化学的標準条件: pH = 7.0 $[H^+] = 10^{-7}$ M

水の濃度 $[H_2O] = 55.5$ M (計算 1000/18)

数式にはプライム (') をつける。

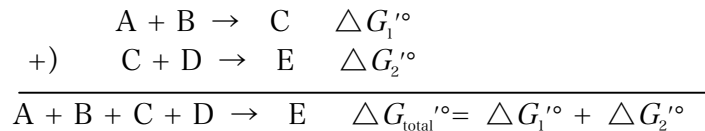


平衡定数と標準自由エネルギーを結び付けている。

$$\Delta G'^\circ = -RT \ln Keq' = -2.303 RT \log \frac{[C]^c [D]^d}{[A]^a [B]^b}$$

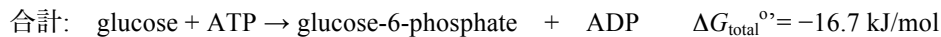
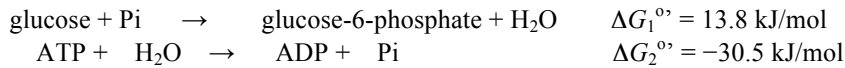
10-3. 自由エネルギーの加算性

代謝反応においてエネルギーの変化は共役していることが多い。生体系では、一つの反応で放出されたエネルギーが、細胞内の条件では熱力学的に進みにくいもう一つの反応に共役して使われる。



$\Delta G_{\text{total}}'^{\circ}$ が負であれば（発エルゴン）、たとえ $\Delta G_1'^{\circ}$ が正であっても全体として反応は進む。

（*ATP のエネルギーを利用した反応の例）

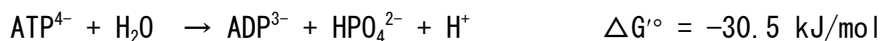


高エネルギーリン酸化合物の標準自由エネルギー変化

Table 13-6

| 高エネルギーリン酸化合物 | kJ/mol |
|---------------------------------------------------------------|--------|
| Phosphoenolpyruvate | -61.9 |
| 1,3-bisphosphoglycerate \rightarrow 3-phosphoglycerate + Pi | -49.3 |
| Phosphocreatine \rightarrow Creatine (クレアチン) | -43.0 |
| クレアチンリン酸 (クレアチンリン酸は筋肉のエネルギー供給源) | |
| ADP \rightarrow AMP + Pi | -32.8 |
| ATP \rightarrow ADP + Pi | -30.5 |
| ATP \rightarrow AMP + P _{PPi} | -45.6 |
| AMP \rightarrow adenosine + Pi | -14.2 |
| P _{PPi} \rightarrow 2 Pi | -19.2 |
| Glucose 3-phosphate | -20.9 |
| Acetyl-CoA \rightarrow Acetate + CoA | -31.4 |

10-4. エネルギー通貨としての ATP（なぜ、ATP はエネルギー通貨になり得るのか？）



- ATP の加水分解に伴う自由エネルギー変化は、pH や ATP, ADP, Pi, Mg^{2+} 濃度に依存する（教科書演習 13-2 参照）。
- 水解にともない大きなエネルギーが放出される理由はなんだろう？（text, 図 13-11 参照）

この質問を言い換えると、「ATP と ADP の自由エネルギーの差はなぜ大きいのか？」

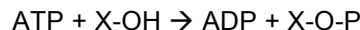
「ADP と Pi はなぜ安定になるのか？」

分子内静電的反発力の解放 / 分子内共鳴構造 / 水和安定化 / ADP^{2-} のイオン化 (ADP^{3-})

（補）細胞の中での ATP の役割

- ① ヌクレオチドの素子（RNA, DNA の基本素子）
- ② エネルギー通貨（筋収縮, 生体膜での能動輸送, 発光, 生体分子の合成）
- ③ 情報伝達因子（細胞内エネルギーレベルを伝える。例：インスリン分泌細胞）

- ATP の関与する反応では、多くは、末端リン酸を水に転移せず、相手分子 (X-OH) をリン酸化する (X-OP の生成)。



- 引き続いて X-O-P からのリン酸基が Y-H に転移する。 $\text{X-O-P} + \text{Y-H} \rightarrow \text{X-Y} + \text{Pi}$

- この反応のポイントは、ATP のエネルギーが X-Y 形成に利用される点にある。

- この時、X-OH は活性化された X-O-P となり、これが Y-H と反応して、X-Y が生成する。

成人は1日に体重に相当する量のATPを合成・分解する。

代謝量 2,400 kcal/day (10⁴ kJ/day)

生理的条件下でのATPの加水分解エネルギー = 10 kcal/mol (41.8 kJ/mol)

ATPの利用率を50% (エネルギー変換の50%がATPを経由する) とすると、
(ATPの分子量 507)

$$2,400 \div 10 \div 2 = 120 \text{ mol}$$

$$507 \times 120 = 61 \text{ kg}$$

成人体内のATP量は約100g (0.2 mol)

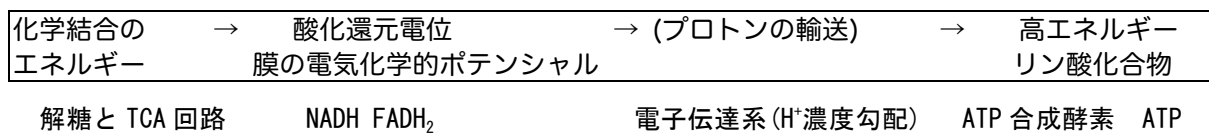
$$120 \text{ mol} \div 0.2 \text{ mol} = 600$$

すなわちATPは1日平均600回サイクリされる計算になる (ATPの平均寿命は2.4分)。心臓と骨格筋でのATP濃度は約5mM, 他の臓器では3mMである。ADPとATPのバランスをみると制止している筋肉細胞ではほぼ100%ATPであり, 盛んにATPを消費する臓器でも約80%がATPとなっている。3mMという濃度は, 生体内の有機化合物濃度としてはきわめて高い値である。

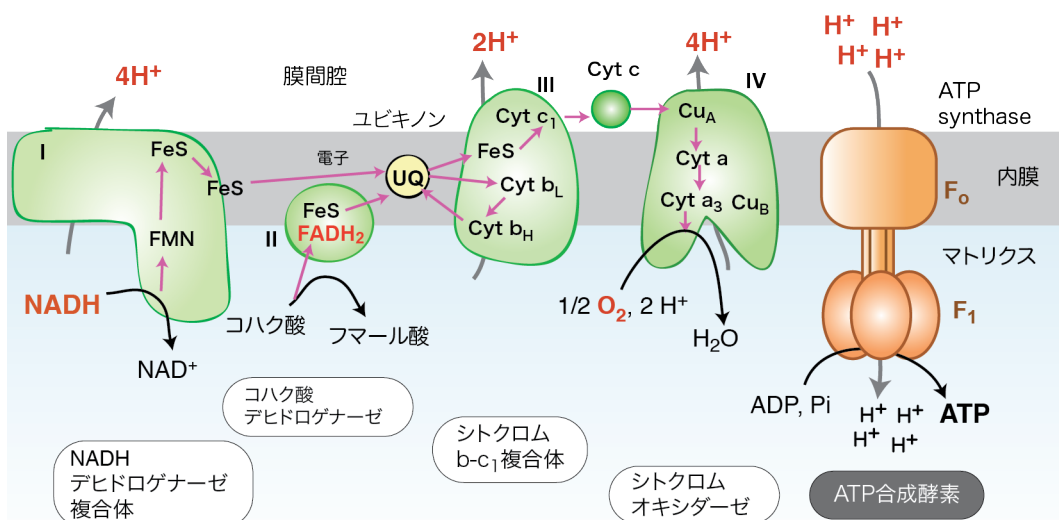
成人男子の臓器別基礎代謝量 (酸素吸収量から計算したATP生成量)

| 臓器名 | 酸素消費量 O ₂ | | 生成ATP量 | |
|-----|----------------------|----------|----------|---------|
| | mmol/min | mmol/min | mmol/min | mol/day |
| 肝臓 | 1.32 | 7.89 | 11.4 | |
| 脳 | 1.85 | 11.10 | 16.0 | |
| 心臓 | 0.67 | 4.02 | 5.8 | |
| 腎臓 | 1.02 | 6.12 | 8.8 | |
| 骨格筋 | 1.77 | 10.62 | 15.3 | |
| 残部 | 3.20 | 12.29 | 27.6 | |
| 合計 | 9.83 | 58.98 | 84.9 | |

酸化的リン酸化の機構 = エネルギー変換の機構 (ミトコンドリアはエネルギー変換装置)



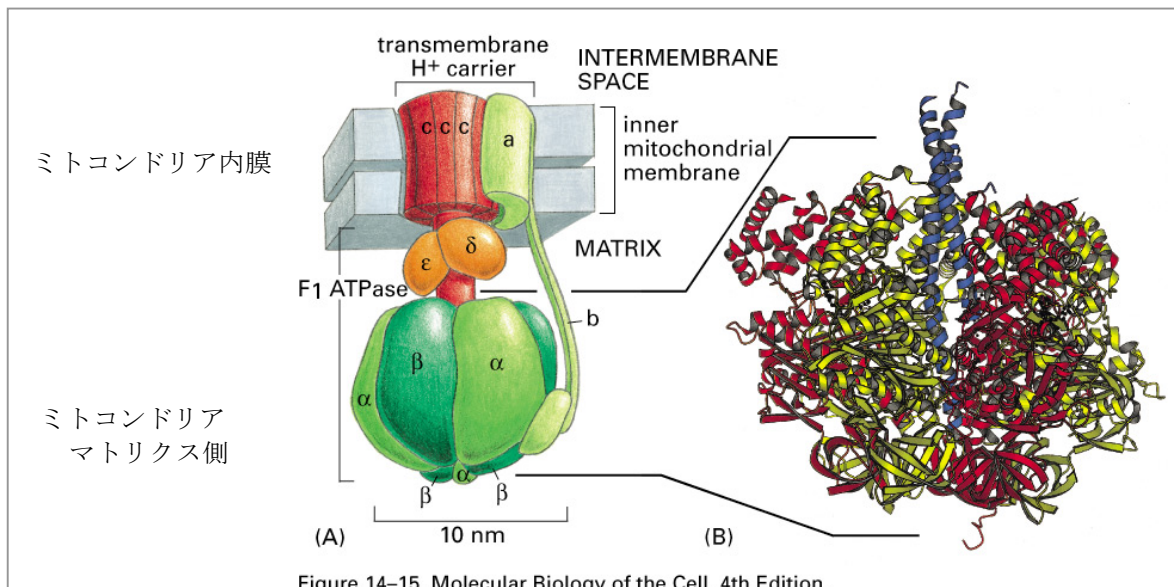
ミトコンドリア呼吸鎖の電子伝達を担う複合体と電子の流れ
(電子供与体はNADH, 最終電子受容体は酸素分子)



複合体IIIと複合体IVにおける輸送されるプロトン数は, 第6版に準拠して示してある。

*呼吸鎖 (電子伝達鎖, 電子伝達系) と呼ぶ。高等学校生物教科書の「水素伝達系」は学術的な誤記。

ATP 合成酵素の分子構築と作動機構



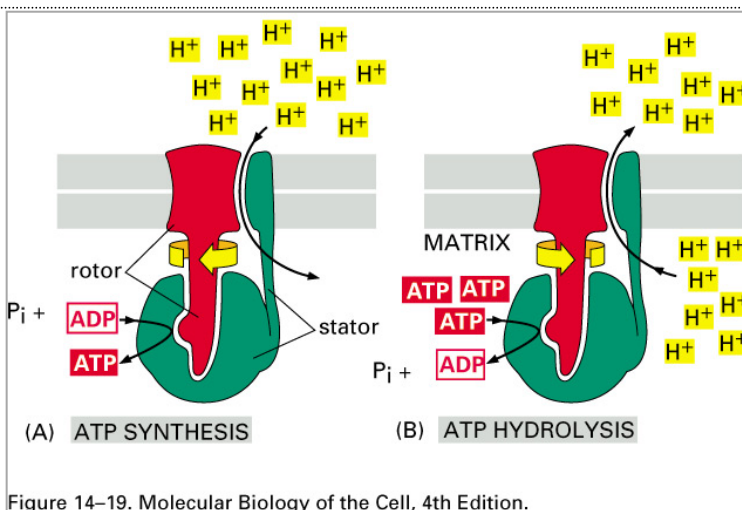
1994 年、ウシ心筋ミトコンドリアの ATP 合成酵素 (F1-ATPase) の結晶構造解析により、2.8Å分解能での原子配置が解明され論文発表された。合成酵素の全てではなく α 、 β 、 γ サブユニットで構成される頭の部分のみの解析。

その後、日本の研究グループ (吉田賢右東工大教授グループ) が分子の回転を実証し、回転モデルを提案していた P.D. Boyer (米) と構造解析をした J.E. Walker (英) が 1997 年ノーベル化学賞を受賞した。

分子モーターとしての F_1

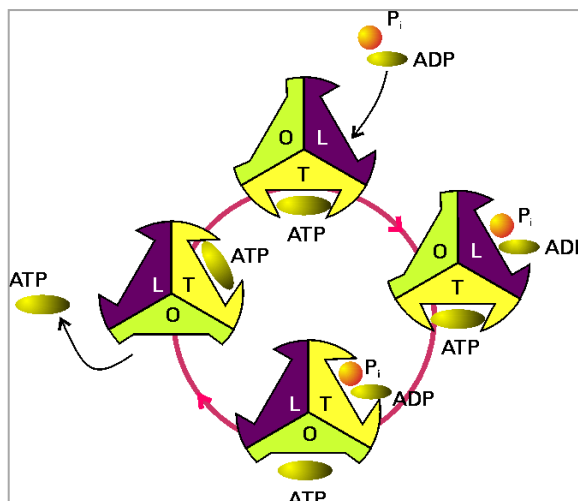
ミトコンドリア ATP 合成酵素は、膜上で回転しながら ATP を合成する分子モーター。回転するのは膜ドメイン部分 (F_0) と中心軸。中心軸は、ATP 合成機能のある頭の部分 (F_1) に深く入り込んでいる。

右図 (A) ATP 合成反応、(B) ATP 分解反応。反応の向きで回転方向が異なる。



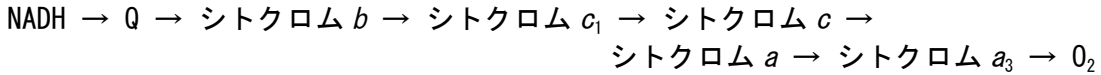
ATP 合成酵素の結合・構造変換プロセス:

F_1 部分には、一次構造は同じだけれど、コンホメーションの異なり、互いに相互する $\alpha\beta$ プロトマー ($\alpha\beta$ 1 個ずつの 1 セット) が 3 セットある。O: オープン (空), L: 緩やかな結合, T: きっちりした結合。

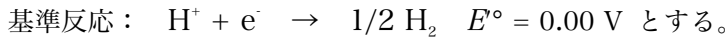


電子伝達の順序 :

- 電子は低い E' 値の伝達体から高い E' 値の伝達体に向かって自然に流れる傾向がある。
- 電子伝達体は還元電位が増すような順序で作動している。



- 還元電位は電子への親和性を示す。還元電位の値が大きい程、電子を受け取りやすい。
- 共役する2つの酸化・還元対が共存するとき、電子供与体から受容体への電子の移動が自動的におこる。
- その反応の起こりやすさは、それぞれの電子に対する相対的な親和性の強さに依存する。
- 親和性の強さは、標準還元電位 (**standard reduction potential, E'°**) で表される。
中性溶液に限定される場合は、 E' と表示される (G' と G'° の関係と同じ)。



$$E = E^{\circ} + \frac{RT}{nF} \times \ln \frac{[\text{電子受容体}]}{[\text{電子供与体}]} = E^{\circ} + \frac{0.026 \text{ V}}{n} \times \ln \frac{[\text{電子受容体}]}{[\text{電子供与体}]}$$

R ガス定数, T 絶対温度, n 1 分子あたり移動する電子数, F ファラデー定数 (96,480 J/mol · K)

標準還元電位の差は、自由エネルギー変化に数値的に変換可能

$$\Delta G = -nF\Delta E, \quad \Delta G^{\circ} = -nF\Delta E^{\circ}$$

[計算] NADH から 2.5 分子の ATP が合成される系でのエネルギー補足率



電位変化の合計 [(2) - (1)]は 1.14 V

自由エネルギー変化に換算 $\Delta G^{\circ} = -nF\Delta E^{\circ} = -2 \times (96.5 \text{ kJ/V} \cdot \text{mol}) \times (1.14 \text{ V}) = -220 \text{ kJ/mol}$

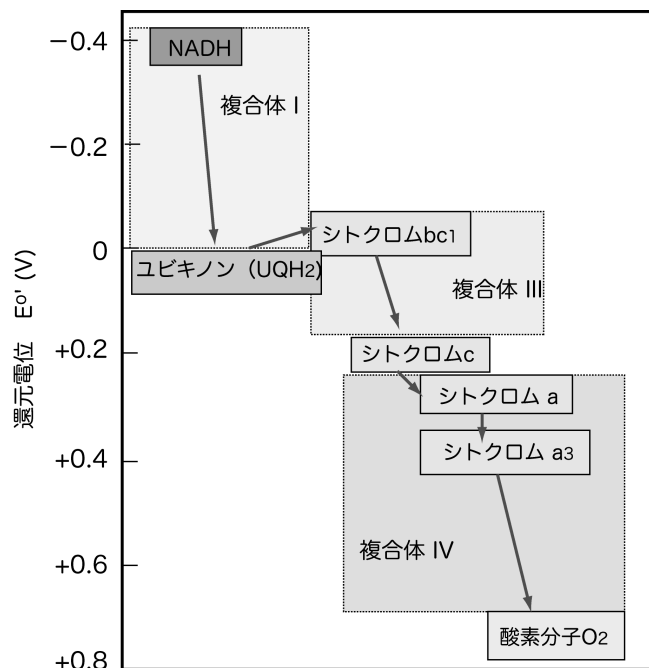
補足率 (30.5 × 2.5) / 220 = 35% (51.8 × 2.5) / 220 = 59%

ミトコンドリアの電子伝達系

原則: 電子は、還元電位 (E° の値) の小さな物質から値の大きな物質に順に移動する。

複合体 II (コハク酸デヒドロゲナーゼ) は、クエン酸回路の酵素である。クエン酸回路酵素の中で、唯一ミトコンドリア内膜に結合している。この酵素は分子内部に、共有結合した FAD (黄色蛍光発する) と鉄-硫黄中心 (FeS) をもっている。下図にあるように、コハク酸からユビキノンへの電子伝達にともなう標準還元電位の差 (ΔG°) は小さく、 H^+ の能動輸送機構がない。すなわち、複合体 II のみの反応は ATP 合成につながらない。しかし、その後の複合体 III, 複合体 IV での H^+ 能動輸送機構が作動するので、 FADH_2 は 2 つの ATP 合成に寄与すると計算される。

右図: ミトコンドリアの内膜にある電子伝達系に含まれる酸化還元物質の標準還元電位 (単位はボルト, V)



一酸化炭素やシアン化合物の毒性: CO や CN^- はシトクロム c オキシダーゼ (複合体 IV) のヘムに結合し、本来の基質である酸素との結合を遮断する不可逆的な阻害剤である。

10-6 エネルギー代謝からみたTCA回路と酸化的リン酸化

○TCA 回路： NAD および FAD の還元



○電子伝達系：還元成分 NADH, FADH からの電子を酸素分子へ伝達する過程で、還元電位としてのエネルギーをミトコンドリア内膜での水素イオンの輸送に変換する。その結果内膜には水素イオン（プロトン）の濃度勾配と膜電位差が形成される。両者を合わせて電気化学的ポテンシャル差 (electrochemical potential) と呼ぶ。

○ATP 合成酵素：膜の電気化学的ポテンシャルを利用して、ADP をリン酸化し ATP を生成する。

10-7 生体エネルギー変換 = 化学浸透圧説 化学浸透圧機構を成立させる 4 つの要素

- (1) ミトコンドリアの電子伝達系では、電子の伝達にともないプロトン(H⁺)が内膜の外側に能動的に輸送される。その結果、プロトンの濃度差、すなわちプロトン駆動力が形成される。
- (2) ATP 合成酵素 (ATP synthase) はプロトン駆動力を使って ADP をリン酸化する。すなわちプロトン勾配にしたがったプロトンの移動にともない ATP が合成される。
- (3) ミトコンドリア内膜は H⁺ と OH⁻ を通さない。膜が損傷し、H⁺ が自由に透過できるようになると、プロトン駆動力は消失し、ATP 合成は起こらない。
- (4) ミトコンドリア内膜には、エネルギー変換に必要な ADP や P_i などの輸送を担う輸送系もある。

酸素 メモ

ヒトが一日に呼吸で取り入れる空気の量は 15~20m³ (四畳半から六畳の部屋の体積) である。1m³ の空気の重量は 1.2 kg である。したがってヒトは 18~24 kg の空気を吸っていることになる。細胞が得た酸素の 95% を消費するのが、ミトコンドリア電子伝達系のシトクロム c オキシダーゼである。

基礎代謝の状態：約 10 mmol/min × 60 min/hr × 24 hr = 3,14 mol → 70 L の酸素

シトクロム c のもう一つの機能 (アポトーシス誘導の仲介, 細胞の死を決める)

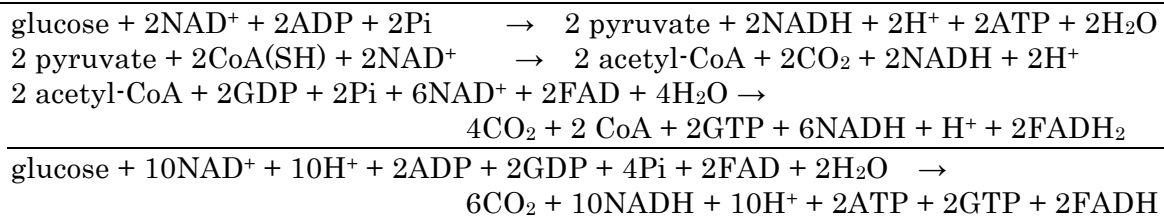
- (1) 第一の機能は、ミトコンドリア電子伝達系における酸化還元反応の仲介
- (2) 第二の機能は、アポトーシス (制御された細胞死, apoptosis) における役割。
ウイルス感染などのアポトーシスシグナルの受容 → ミトコンドリア外膜の選択透過性の障害
→ (透過性が上がる) → 膜間腔のシトクロム c の漏出 → 細胞質のカスパーゼ 9 (タンパク質分解酵素) の活性化 → アポトーシス進行

電子伝達系に関わる遺伝子変異と病気 (たった 1 つのアミノ酸変異が盲目に進む視神経での例)

Leber 遺伝性視神経萎縮症 (Leber's hereditary optic neuropathy)

- ・遺伝子変異：ミトコンドリア DNA の ND4 変異 (複合体 I のサブユニットの 1 つ Arg が His に変異)
- ・影響の出る組織：視神経, 中枢神経系
- ・発症：成人初期に突発的に変異
- ・生化学的影響：複合体 I からユビキノンへの電子伝達に障害
→ ミトコンドリアでの電子伝達機能が著しく低下し, 神経細胞に ATP を提供できない。
→ 視神経の損傷, 盲目へと進む

10-8 エネルギー収支



*生産される ATP の分子数 (NADH → 2.5 ATP, FADH → 1.5 ATP, GTP = ATP)

1 分子のグルコースから $(2.5 \times 10 + 2 + 2 + 1.5 \times 2 = 32)$ 32 分子の ATP が合成される。
 $\text{glucose (C}_6\text{O}_6\text{H}_{12}) + 6\text{O}_2 \rightarrow 6\text{CO}_2 + 6\text{H}_2\text{O} \quad \Delta G^\circ = -2,840 \text{ kJ/mol}$

エネルギー回収率 $(30.5 \text{ kJ/mol} \times 32) / 2,840 \text{ kJ/mol} = 34.4\%$

生理的条件下では, ATP = 2~8 mM, ADP = 0.25~1 mM, Pi = 1.5~8 mM

いま仮に ATP = 2.25 mM, ADP = 0.25 mM, Pi = 1.65 mM とするとして, ATP 加水分解で得られるエネルギーを計算する。

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln ([\text{ADP}] [\text{Pi}] / [\text{ATP}])$$

$$= -30,500 + (-21,300) = -51,800 \text{ J/mol} \quad -51.8 \text{ kJ/mol}$$

ATP 加水分解によりこれだけのエネルギーが放出される。これは, ATP 合成には高いエネルギーが必要であることの裏返しもある。

したがって, エネルギー回収率は: $(51.8 \times 32) / 2,840 = 58.4\%$

エネルギー効率についてのメモ

- きわめて高いエネルギー収率であり, 自動車エンジンと比べてもはるかに高い値である。
- 発電のエネルギー変換効率: 火力 (40-43%), 原子力 (33%), 水力 (80-90%), 風力 (<59%), 太陽光 (5-40%)
- 蒸気機関車 (3-44%), ガソリンエンジン (20-30%), ディーゼルエンジン (<50%), 電気モーター (20-99.5%), 自転車用ダイナモ (20-65%, 一般自転車は 20%), 蛍光灯 (28%), 白熱電球 (3-5%; ハロゲンランプは高い効率), LED (<50%), 航空機タービンエンジン (40%) / ガスコンロ (60-70%), 電気コンロ (50-60%), ガスヒーター (80-90%)
- 光合成: 35%; 蛍の光: <95%; ヒトの骨格筋: 20-30%
- 嫌気条件下での醗酵 (例えば乳酸発酵) ではグルコースから 2ATP が生成するのみであるが, 解糖系と TCA 回路の組合せによりエネルギー収率は飛躍的に向上した。真核生物の細胞を進化の視点から見ると, TCA 回路と酸化的リン酸化系 (電子伝達系と ATP 合成酵素) の獲得により, 生体エネルギー面での機能性と効率は著しく向上した。
- なお, 骨格筋では嫌氣的解糖が主となる場合がある。この嫌氣的解糖によるエネルギー獲得のメリットは, 反応が速く, ミトコンドリアが不要で, 不定期的にはたらく骨格筋には都合がよい。デメリットは, エネルギー回収率が悪く, 多量のグルコースを必要とする点である。

スポーツ選手のエネルギー代謝 (好氣的代謝, 嫌氣的代謝の割合)

表: 短距離走における全エネルギー供給の中での好氣的および嫌氣的エネルギー代謝の寄与率

| 距離 (m) | 時間 (秒), 速度 (km/h) (男) * | 時間 (秒), 速度 (km/h) (女) * | 好氣的代謝 (%) | 嫌氣的代謝 (%) |
|--------|----------------------------|----------------------------|--------------|--------------|
| 100 | 9.58 秒 (37.4) | 10.49 秒 (34.3) | 10 | 90 |
| 200 | 19.19 秒 (37.5) | 21.34 秒 (33.6) | 20 | 80 |
| 400 | 43.18 秒 (33.3) | 47.60 秒 (30.3) | 30 | 70 |

引用: The Biochemical Basis of Sports Performance, 2nd ed. Ron Maughan, Michael Gleeson, Oxford University Press, 2010

* The world record (2010)

筋肉での好氣的代謝は, 解糖系 / クエン酸回路 / 酸化的リン酸化を経た効率の高いエネルギー代謝。

嫌氣的代謝は, 解糖系 / 乳酸発酵による低い効率ではあるが, 高速で ATP を供給する。

骨格筋の種類と主な特性

| 性質 | Type I | Type IIa | Type IIx |
|------------------|---------|----------------------|-----------------------|
| 名称 | 遅筋, 赤筋 | 速筋, 赤筋 | 速筋, 白筋 |
| 運動ニューロン | 小 | 大 | 大 |
| 収縮速度 | 遅い | 速い | 速い |
| 弛緩速度 | 遅い | 速い | 速い |
| 最大出力 | 小さい | 大きい | 大きい |
| 持久力 | 高い | 中間 | 低い |
| ミトコンドリア数 | 多い | 中間 (Type I の 70%) | 少ない (Type I の 40%) |
| 解糖系酵素の活性 | 低い | 高い | 高い |
| 代謝系 | 酸化的リン酸化 | 混合 | 解糖系 (乳酸発酵) |
| 酸化的リン酸化系酵素活性 | 高い | 高い | 低い |
| ミオグロビン量 | 高い | 中間 | 低い |
| 脂質 (TG*) 含量 | 多い | 中間 | 低い (type I の 20%) |
| クレアチンリン酸量 | やや少ない | 多い | 多い |
| 主要なエネルギー貯蔵形態 | トリグリセリド | クレアチンリン酸, グリコーゲン | ATP, クレアチンリン酸, グリコーゲン |
| ミオシン重鎖の遺伝子名 | MYH7 | MYH2 | MYH1 |
| ミオシン ATPase 活性** | 低い | 高い | 高い |

*TG: トリアシルグリセロール

**ミオシン ATPase は pH 4.5 以下で失活する。

引用: The Biochemical Basis of Sports Performance, 2nd ed. Ron Maughan, Michael Gleeson, Oxford University Press, 2010

10-9 脂肪酸の代謝 (糖と脂質のエネルギー量の違い)

| | | | |
|----------------------------|---|------------------------------------------------------------|---------|
| palmitic acid + CoA + 2ATP | → | palmitoyl-CoA + 2 ADP + Pi | -2 ATP |
| palmitoyl-CoA | → | acetyl-CoA + 7 NADH + 7 FADH ₂ | 28 ATP |
| 8 acetyl-CoA | → | 16 CO ₂ + 24 NADH + 8 FADH ₂ + 8 GTP | 80 ATP |
| 合計 | | | 106 ATP |

(例 炭素 16 の飽和脂肪酸, パルミチン酸の完全酸化) ATP の利用・生成量

palmitic acid の分子量 = 256

重量当たりの ATP 生成量 palmitic acid 106 ATP/256 g = 0.414 ATP/g of palmitic acid
glucose 32 ATP/180 g = 0.178 ATP/g of glucose

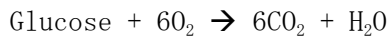
結論: 高い熱量をもつ脂肪酸は, 単位重量当たり, 糖より多くの ATP を合成できる。

[サイエンスの余白] トノサマバットの長距離飛行

バットには, 狭い領域で生活するものと, 飲まず食わずで数十キロ, 数百キロの長距離飛行ができるものがある。トノサマバットは本来, 長距離飛行型であるが, 日本にいるトノサマバットは生活圏が狭く「孤独相のトノサマバット」と呼ばれる。群で長距離飛行するのは「群生相のトノサマバット」である。その長距離飛行のエネルギーは, トリアシルグリセロールである。孤独相のバットは, このトリアシルグリセロールをほとんど含まない (群生相の 160 分の 1)。(茅野春雄「昆虫の謎を追う」, 学会出版センター, 2000 年)。

10-10 食品のカロリー

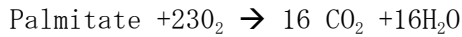
糖：グルコースを例に考える (MW, 180.1)



グルコース (-2,840 kJ/mol, -686 kcal/mol),

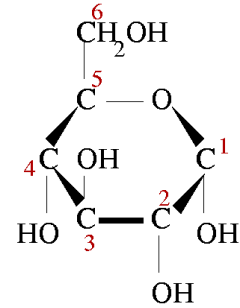
$$\Rightarrow -3.81 \text{ kcal/g}$$

脂肪：パルミチン酸を例に考える (C₁₅H₃₁COOH, MW=256.5)



パルミチン酸 (-9,770 kJ/mol, -2,338 kcal/mol)

$$\Rightarrow -9.11 \text{ kcal/g}$$



10-11 酸化的リン酸化の調節

Chap. 19, p. 1066-

酸化的リン酸化は細胞のエネルギー需要に対応した速さで進む

(1) ADPの存非により酸化的リン酸化反応を制御 = 呼吸調節

利用可能なADPがなければ呼吸(酸素消費)速度きわめて低い

ADPの添加により呼吸速度著しく上昇(質量作用比 mass-action ratio $[\text{ATP}]/[\text{ADP}][\text{Pi}]$)

ADPがなければATP合成反応はない。この時H⁺勾配は利用されず形成されたままとなる。H⁺勾配が一定値以上になると、そのH⁺勾配にさからってH⁺を輸送するのに必要なエネルギーは、電子伝達で得られるエネルギーを越える。すなわち、その時点でH⁺輸送は停止し、共役する電子伝達も止まる。よって酸素消費もない。下図参照。

(2) ATP, ADP, NADHの濃度と通じて解糖系とTCA回路の酵素活性を調節し、呼吸基質の消費速度を調節する。

エネルギーレベルが高い(ATP, NADH濃度が高い) → 解糖系, TCA回路を抑制

” が低い(ADP, NAD⁺濃度が高い) → ” を促進

*(1)と(2)は、ミトコンドリアの能力(活性)を抑制することによる調節である。エネルギー生産(ATP生産)の需要が高まった場合は、次の(3)ミトコンドリアの数を増やすことで対応する

(3) ミトコンドリアの数を増す、あるいは内膜を発達させる(酸化的リン酸化の装置を増員)ことにより、細胞当たりのエネルギー生産能力を高める。

具体例・種子が発芽する時、ミトコンドリアが増え、内膜が発達する。

- ・傷害を受けた植物組織ではミトコンドリアを増やし、エネルギー需要(防御成分の活発な合成のため)に応じる。
- ・嫌気呼吸からグルコース培地に移された酵母では、ミトコンドリアが新たに形成される。
- ・筋力トレーニングにより遅筋(赤筋)のミトコンドリアは増える

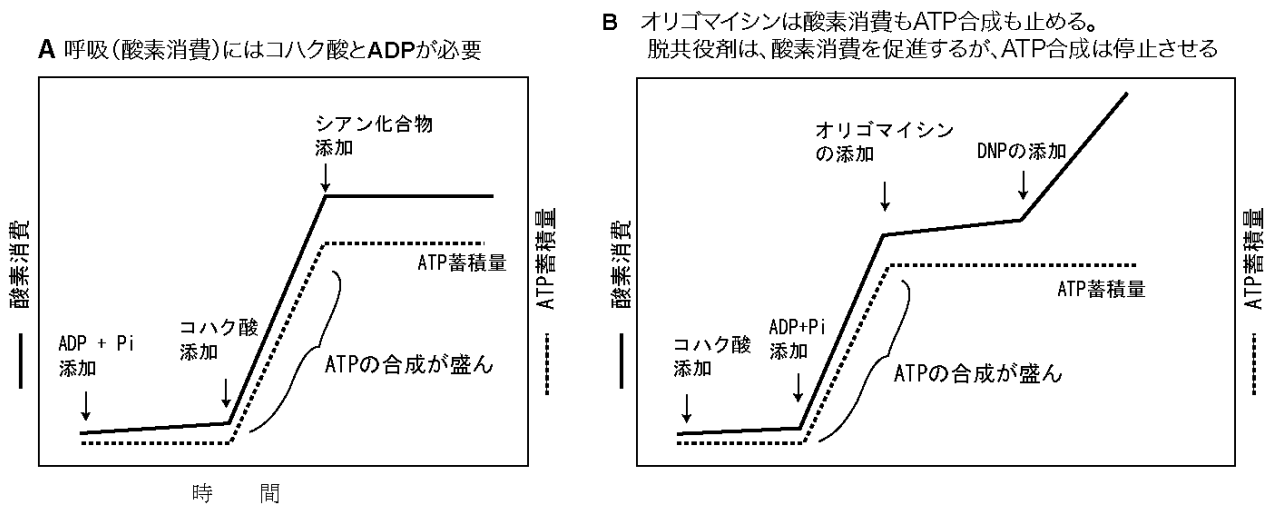


図 動物の肝臓から単離したミトコンドリアを用いた試験管内での実験

試料セルには緩衝液 (buffer) とミトコンドリアが含まれ、上記の試薬が添加される。セルに装着されている酸素電極により、溶存酸素量を測定し、消費された酸素量を表示している。

A. ADP と無機リン酸 (Pi) の添加のみでは、呼吸 (酸素消費) は見られない。

B. ATP 合成酵素の特異的な阻害剤 (オリゴマイシン) は、ATP 合成酵素の機能を止める。その結果、ATP 合成に連動している電子伝達系の反応 (最終的に酸素の消費) も止まる。また、内膜の H⁺不透過性を壊す脱共役剤 (H⁺を自由に透過させる) である DNP (2,4-dinitrophenol) の添加は、電子伝達 (酸素消費) は止めないが、pH 勾配が形成されないため ATP 合成は停止する。

10-12 膜内外の H⁺勾配と ATP 合成のエネルギーバランス :

膜内外の H⁺勾配は、自由エネルギー (変化) の数値に換算できる。

$$\begin{aligned} \Delta G &= (\text{H}^{\text{+}}\text{の濃度勾配に関わるエネルギー}) + (\text{電荷の隔離による電気化学的エネルギー}) \\ &= 2.3 RT \log ([\text{H}^{\text{+}}]_{\text{in}} / [\text{H}^{\text{+}}]_{\text{out}}) + F \Delta V \\ &= 5.70 \text{ (kJ/mol)} \times \Delta \text{pH} + 96.5 \text{ (kJ/V mol)} \times \Delta V \end{aligned}$$

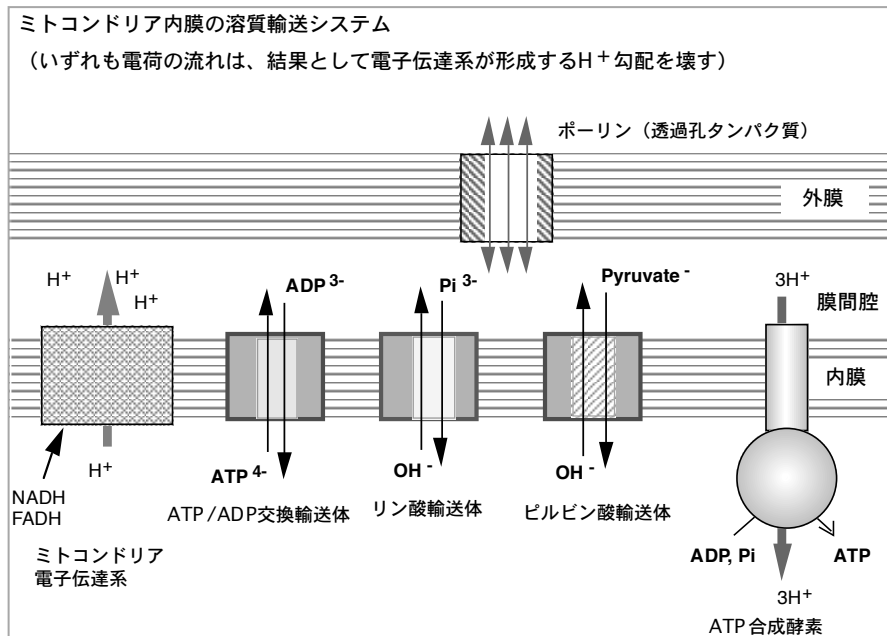
<詳述> 通常ミトコンドリア内膜の内外で H⁺濃度は 10 倍ほどの差になる。すなわち、マトリクス側は pH 8.0、膜間腔側 (細胞質と同じ pH) は pH 7.0 ほどである。この H⁺の濃度差は、膜電位として 140 mV ほどである。電子伝達系の作動により H⁺の能動輸送が行われた結果として、内膜には H⁺の 10 倍の濃度差と 140 mV の膜電位が生じたことになる。この 2 つの要素の和が、H⁺による電気化学ポテンシャルである。とくに $\Delta \mu_{\text{H}^{\text{+}}}$ と記述することもある。

$$\begin{aligned} \Delta G &= 2.3 \times 8.315 \text{ (J/mol K)} \times 298 \text{ (K)} \times \log (10) + 96,480 \text{ (J/V mol)} \times 0.140 \text{ (V)} \\ &= 5,700 \text{ (J/mol)} + 13,500 \text{ (J/mol)} = 19,200 \text{ J/mol} \end{aligned}$$

つまり、H⁺の濃度差 (pH 1 単位) のもたらす電気化学的エネルギーは総合して 19.2 kJ/mol の値といえる。言い換えれば、H⁺が pH 1 ユニット分だけ逆流するとき、19.2 kJ/mol 分の仕事を行うことができる。ATP 合成に必要な標準自由エネルギーの値は 30.5 kJ/mol であるから、1 分子の ATP 合成あたり 2 個か 3 個の H⁺が移動すれば (逆流すれば)、必要なエネルギーをまかなうことができる。事実、これまでの研究成果から、ATP 1 分子あたり約 3 個の H⁺が移動することが実験的に示されている。そして、ミトコンドリア内膜を ATP, ADP, Pi が透過する際にもう一つの H⁺が消費される。すなわち、ATP 合成には合計 4 個の H⁺が消費される。

なお、H⁺のように電荷をもつ物質ではなく、グルコースのように電荷のない分子であれば 10 倍の濃度差を形成するのに、5.7 kJ/mol で十分である ($F \Delta V$ の項目はゼロとなる)。

10-13 酸化的リン酸化は、ミトコンドリアの内膜、外膜の多数の膜輸送系に支えられている



[サイエンスの余白] 相撲は1分以内に勝負をつけなければならない。

マラソンランナーは持久力、すなわち持続的な筋肉運動が必要である。一方、短距離スプリンター、重量挙げ選手、ハイジャンプ選手や相撲力士は瞬間最大瞬発力によって勝負が決まる。マラソンランナーはミトコンドリアやミオグロビンを多く含む遅筋（赤肉）の比率が高い。一方、相撲力士やスプリンターはミトコンドリアやミオグロビンの少ない速筋（白筋）の比率が高い。そして、この比率は遺伝的に決まっている。速筋では、ATPは解糖によって高速供給される。しかし、解糖によるATP供給は筋肉細胞に貯蔵されたグリコーゲン量に依存し、解糖による乳酸の蓄積は細胞の酸性化をもたらす。したがって、最大の仕事をすると、1分間程度しか持続しない。これが、1分間に勝負をかけなければならない理由である。なお、遅筋と速筋の比率は先天的に決まっており、遅筋は分裂して増えることはない。

[サイエンスの余白] ミトコンドリアは固有の遺伝子をもっている

ミトコンドリアは、核とは独立したDNAと独自のDNA複製系をもっている。さらに、固有のRNAポリメラーゼ、tRNA、そしてリボソームを有し、固有のタンパク質合成系をもっている。このシステムは細菌型である。このことは、ミトコンドリアが、真核生物進化の初期に細菌が共生して発生したオルガネラである、とする共生細菌説を支持している。医薬品として使われているクロラムフェニコールやテトラサイクリンは感染細菌のタンパク質合成系を阻害する抗生物質である。当然ながら、副作用として、ヒトの細胞のミトコンドリアでのタンパク質合成も阻害する。

ヒトのミトコンドリアのDNAは環状で、大腸菌DNAの200分の1の大きさで、16,000塩基対をもつ。当然のことながら、ミトコンドリアDNAにコードされている遺伝子は限られている。ミトコンドリアのタンパク質（量ではなく種類）の95%は核DNAにコードされ、細胞質リボソーム上で合成され、その後ミトコンドリアに移行する。

ミトコンドリアDNAにコードされている情報

- 16 S rRNA & 12 S rRNA
- 22 tRNAs
- 13種のタンパク質（呼吸鎖の複合体Iの7つのサブユニット、複合体IIIの1つのサブユニット、複合体IVの3つのサブユニット、ATP合成酵素の2つのサブユニット）

ミトコンドリアDNAは母性遺伝

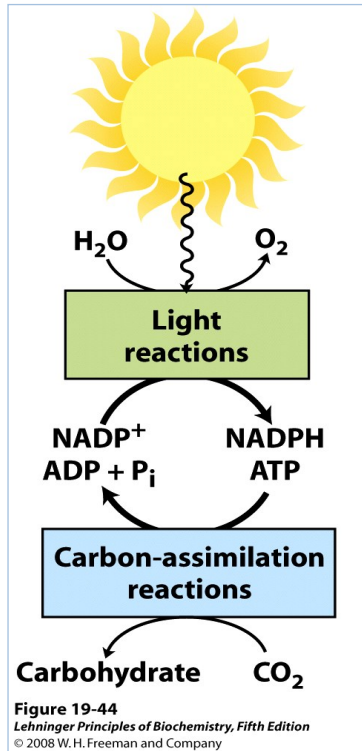
受精の際、精子の核のみが卵子に入り、雄由来のミトコンドリアは卵子に入らない。したがって受精卵のミトコンドリアは全て卵子由来である。しかし、卵子には数千のミトコンドリアがあり、そのDNA組成は必ずしも均一ではなく、少なくとも数種類存在するので、遺伝性は複雑である。

母親が子に伝えるもの：ミトコンドリアDNA、男児へのX染色体遺伝子
遺伝学的にも母は強し！

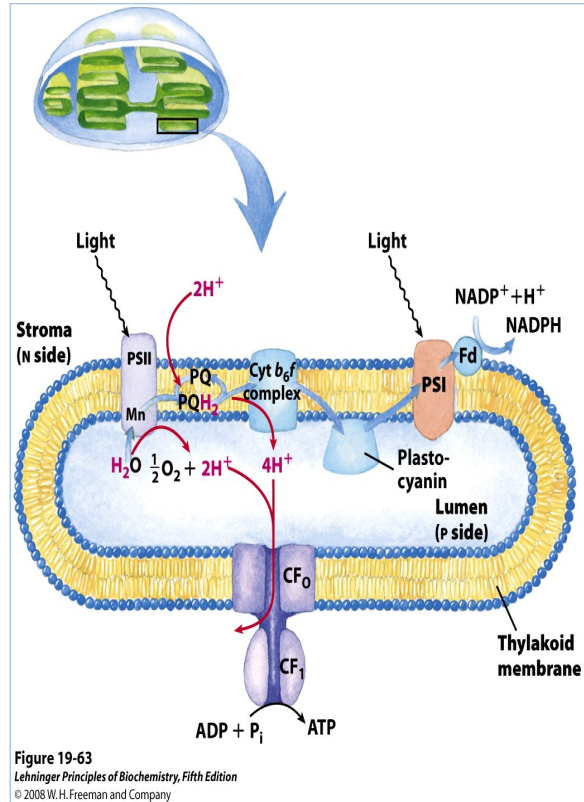
右図 光合成反応の概略

[略語] PQ, プラストキノン; PQH₂, 還元型 PQ; Cyt, シトクロム; PSI, photosystem I (P680 含む); PSII, photosystem II (P700 含む), Fd, フェレドキシン

ミトコンドリアの ATP 合成酵素と同型の酵素がチラコイド膜に存在し, 光リン酸化を触媒している。



左図 太陽光のエネルギーを NADPH, ATP 合成に利用する光リン酸化系の概略図

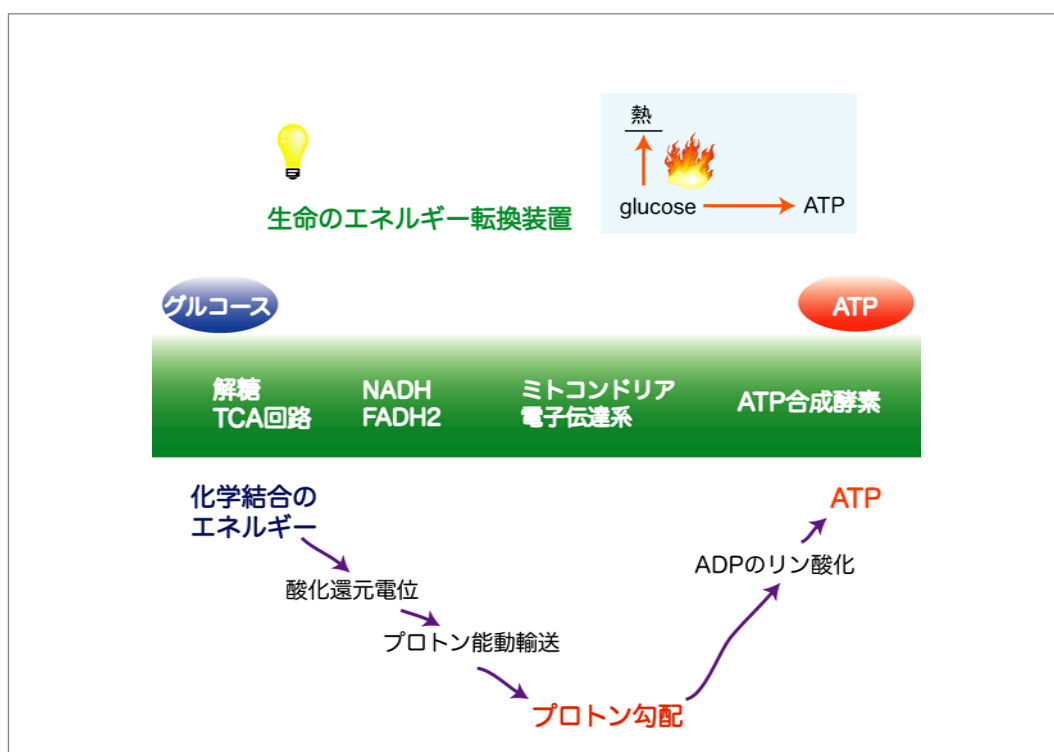
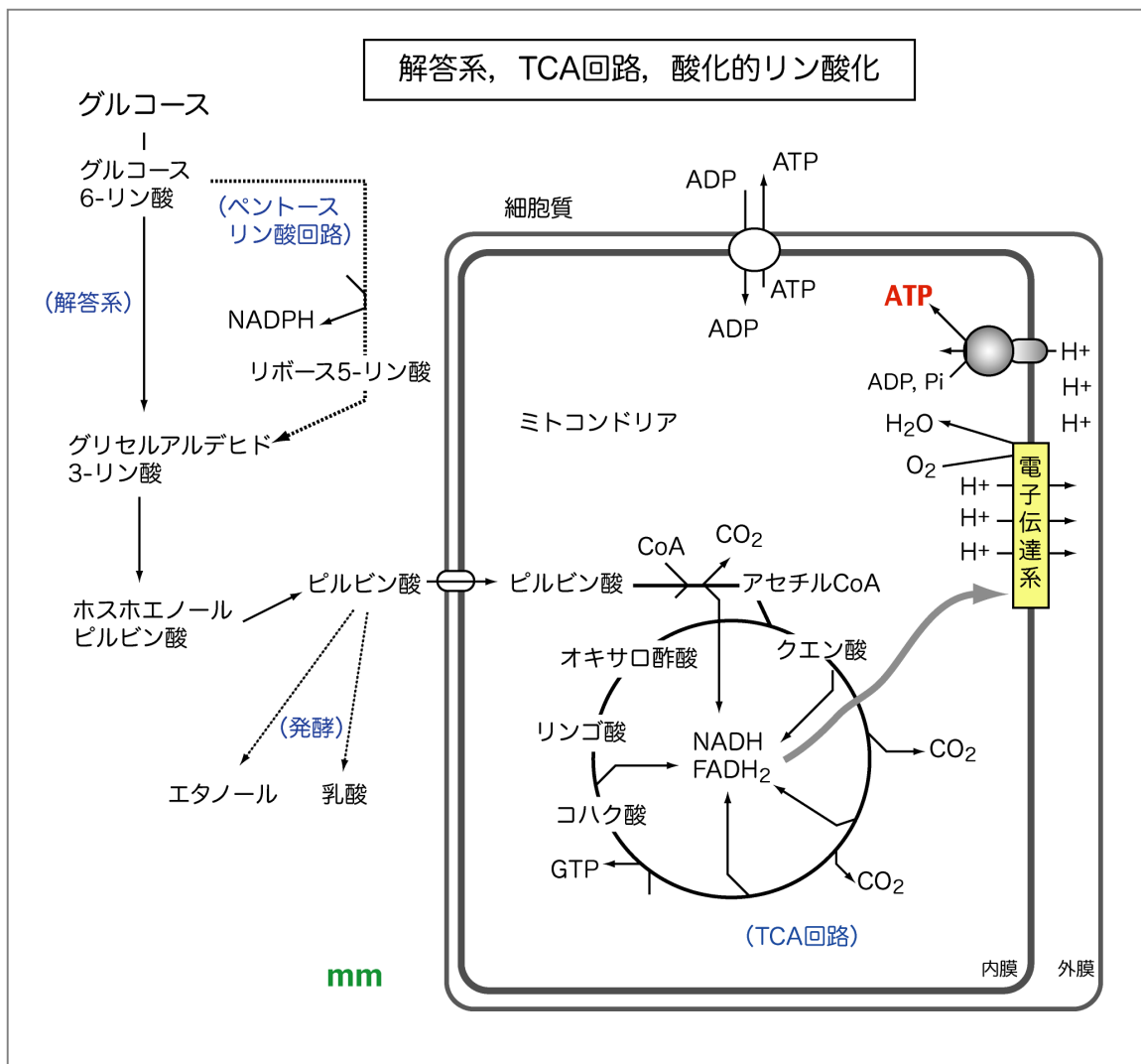


10-15 光化学系 I と II での電子の流れと H⁺の膜輸送

- (1) 葉緑体で捕獲された光は, 水を解裂させる ($H_2O \rightarrow 2H^+ + O_2$) と同時に, 坂を上るように電子を流す (対象物質を還元していく)。
- (2) 還元状態の P680 から, 電子はつぎのように流れる (下図参照)。水分子の解裂 ($H_2O \rightarrow O_2 + 2H^+ + 2e^-$) この電子が P680 に渡される。
光 → P680 → フェオフィチン → プラストキノン → シトクロム bf 複合体 → プラトシアニン → P700
光 → P700 (還元状態)
P700 → クロロフィル a → フィノキノン → 非ヘム Fe-S 複合体 → フェレドキシン → NADP⁺
- (3) シトクロム bf 複合体での電子伝達にともない, H⁺がストロマからチラコイド内へ輸送される。その結果, チラコイド膜の内外に H⁺濃度勾配が形成される (内腔が酸性)。
- (4) チラコイド膜の内側 (酸性) と外側 (アルカリ性) の H⁺勾配を利用して葉緑体 ATPase (CF₁) が ADP をリン酸化する。

チラコイド膜における電子伝達系と光リン酸化の 3 つの基本的な役割

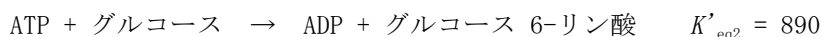
- (1) 酸素発生 → 地球上で好氣的呼吸をする生物すべてに恩恵を与えている。
- (2) NADP⁺を還元して NADPH を生成する。
- (3) 電子伝達に共役したプロトン勾配の形成と ATP 合成酵素による ATP 合成 (ADP のリン酸化)。



[1] ATP の加水分解の際の標準自由エネルギー (ΔG°)

ATP が加水分解される際の標準自由エネルギー変化 (ΔG°) の値を求めることは困難である。それは平衡状態にある微量の ATP を正確に定量することが難しいためである。しかし、関連する他の 2 つの平衡定数から ATP の ΔG° を間接的に求めることは可能である。次の 2 つの反応系の情報から、下の式を応用して ATP の ΔG° を計算せよ。温度は 25°C とする。

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_{eq}$$



(解答) $\Delta G^\circ = -RT \ln K_{eq} = -(8.3315 \text{ J/mol K})(298 \text{ K}) \ln (K'_{eq1})(K'_{eq2})$ [2 つの K_{eq} を掛ける]
 $= -8.33 \times 298 \times 12.38 = -30,800 \text{ J/mol} (-30.8 \text{ kJ/mol})$

[2] ATP が放出する自由エネルギーの生理条件依存性

pH 7.0 の標準条件下では ATP の加水分解により放出される自由エネルギーは -30.5 kJ/mol である。もし、pH が 5.0 に下がると、ATP 加水分解の自由エネルギーは大きくなるか、小さくなるか？ 次の式を参考に考えなさい。



(答) 平衡は左に移動するので、遊離エネルギーは小さくなる。平衡定数の式を見てみよう。

[3] ATP がエネルギーを蓄えるしくみ

ATP が加水分解されて ADP と Pi が生成する反応では、エネルギーが放出される。このことは、ATP が (ADP + Pi) よりも不安定であることを意味している。この点を説明してみよう。

[4] ATP の合成と消費

普通の体重 (60kg) の成人は 1 日あたり 2,200kcal (9,200kJ) のエネルギーを摂取する必要がある。摂取したエネルギーが、50% の効率で ATP の合成に利用されるとすると、ATP の量はどれほどか (何モル)？ 体重の何%か？ ただし、ATP の合成に必要なエネルギーを約 40kJ/mol とし計算する。ATP の分子量は 507 とする。

[5] グルコース代謝の初発反応

ヒトの血漿中のグルコース濃度は約 5 mM に維持されている。骨格筋細胞内のグルコース濃度はこれよりはるかに低い。なぜ細胞内濃度は非常に低いのか？ グルコースが細胞に取り込まれると何が起きるのか？ Key words: グルコース代謝, K_m , ヘキソキナーゼ

[6] パスツール効果

(グルコースの解糖速度が好氣的条件では強く抑制され、嫌氣的条件では促進される現象)

手術により取り出した無傷の心臓に人工の循環血液を灌流することができる。この方法により、心臓のグルコースの消費量を測定する実験を行った。酸素を除いた循環血液を用いると、心筋はグルコースをある定常状態で消費するが、血液に十分な酸素を付加すると、グルコースの消費速度は劇的に低下し、ついで一定の低い速度でグルコースの消費が見られた。この変化は何を意味しているのか？

- メモ 1 好氣的代謝 (酸化的リン酸化) による効率的 ATP 生成。
 ATP によるホスホフルクトキナーゼ (解糖系の律速酵素の 1 つ) の阻害。
 嫌氣的条件では ATP レベル低下と乳酸の蓄積

- メモ 2 がん細胞 (嫌気呼吸), 赤血球ではパスツール効果みられない。

[7] ウサギと渡り鳥

ウサギは瞬発力に優れ、短距離を疾走することができる。一方、渡り鳥は長時間の飛翔を得意とし、そのための持続的なエネルギーを必要とする。例えばカモは季節移動の際、一度に数 km を飛翔する。渡り鳥は脂肪を貯えており、翼筋は高い代謝能力によって脂肪から得たアセチル CoA を、クエン酸回路を経て酸化する。ウサギの疾走のように短時間の強い運動と、渡り鳥のような持続的な運動の違いを、エネルギー代謝の視点で論じなさい。

[8] 酸化リン酸化での P/O 比（合成される ATP の量と消費される酸素の量の比）

ミトコンドリアでの電子伝達の速度は、ATP の需要に連動している。ATP の消費速度が遅い場合は、電子伝達の速度も遅い。逆に、ATP が急速に必要とされるときには電子伝達も速い。電子伝達の最終電子受容体である酸素の消費量と、ATP の合成量の間には直線的な比例関係が成立している。酸素 1 原子の消費で生成する ATP 分子の数（P/O 比）は、NADH が電子供与体である場合は一般に 2.5 とされている。

- ミトコンドリアに脱共役剤（ H^+ 濃度勾配を破壊）を添加すると P/O 比はどうか？
- ヒトに脱共役剤を与えると、おびただしい発汗や体温上昇を引き起こす。なぜか？
- 脱共役剤の一種 2,4-ジニトロフェノールは、過去において、体重減少薬として処方されたこともある。この薬はなぜ体重減少をもたらすのか？ なお、この薬により死亡する例があったため現在は処方されない。この薬の投与は、患者をなぜ死に至らしめたのか、説明しなさい。

[9] 酵素反応の K_m と V_{max}

酵素 E は、S を基質とする。この酵素 E の基質 S に対する K_m は 0.08 mM である。酵素 E が最大活性の 80% の活性を示すには、基質 S の濃度はどれだけあればよいか計算しなさい。ただし酵素 E がミカエリス・メンテン型であることを前提とする。

[10] 酵素反応

酵素反応では、基底状態にある基質が遷移状態を経て生成物に変換される。基質と遷移状態のエネルギーの差を（ a ）とよび、この値が大きいくほど反応速度は（ b ）くなる。一方、基質と生成物のエネルギーの差を（ c ）といい、この値が（ d ）の場合にのみ反応は進行する。酵素は基質と結合することにより部分的に構造を変え、酵素の触媒官能基と基質が反応の進行を速やかに進める配置に変わる。こうした変化を、一般に（ e ）という。

[11] 体脂肪の燃焼

体脂肪 1.0kg を消費するには約 7,200kcal（30,000kJ）分の運動が必要。フルマラソンを 2 時間半で走る場合には約 2,400kcal（10,000kJ）のエネルギー消費となる。したがって、体脂肪 1.0kg を燃焼させるためにはフルマラソンを、何回走る必要があるか計算しなさい。

生物化学 2 演習問題 (4)

m.m.

1 クエン酸回路について間違っているのはどれか。

- クエン酸回路で糖が新生されるわけではない。
- クエン酸回路は必須アミノ酸の合成やヘム合成の素材を供給する。
- ATP はクエン酸合成酵素をアロステリックに阻害する。
- ピルビン酸脱水素酵素のリン酸化は、この酵素の活性と関係しない。不活性化する。
- ビオチン欠乏は、 α ケトグルタル酸脱水素酵素の活性低下を引き起こす。
ビオチンはピルビン酸カルボキシラーゼの補欠分子族である。

2 スポーツ選手の代謝に関する記述は正しいか。

- マラソン競技では酸化リン酸化によるエネルギー供給が重要である。
- スプリント競技では一瞬に筋肉乳酸値が上昇する。その乳酸は肝臓に運ばれて分解される。
- スプリンターが全力でダッシュした時、筋ホスホフルクトキナーゼは促進される。
- 陸上競技 400 m 走では、事前に筋グリコーゲンを増やしておくといよい。
- 相撲力士はミトコンドリアの少ない白筋が発達している。
- ハイジャンプの瞬発力はクレアチンリン酸*の消費によるところが大きい。

*筋肉ではクレアチンリン酸を利用して ATP が再生される (ADP のリン酸化)。
筋肉中のクレアチンリン酸により、瞬発的運動の 3～4 秒間に必要な ATP を賄える。

3 五炭糖リン酸回路 (ペントースリン酸回路) の役割で正しいのはどれか (2つ)

- () グリコーゲンの合成に必要なグルコース-1-リン酸を供給する。
- () 生体成分の生合成過程に必要な NADPH を供給する。
- () 核酸の合成に必要なリボースを供給する。
- () 解毒に必要な UDP グルコースを供給する。

4 酵素のミカエリス定数 (Km) を正しく説明しているのはどれか?

- () 基質や阻害剤の酵素への結合定数
- () アロステリック酵素への生成物の結合定数
- () 基質と阻害剤の酵素への親和力の比
- () 酵素と基質の結合速度定数
- () 最大速度の半分を与える基質濃度

5 酵素反応について正しいのはどれか。

- () 酵素は厳密な構造を保持しているので、酵素反応は pH の影響を受けない。
- () 通常の化学反応と同様、酵素が関わる反応の速度も温度が高いほど上昇する。
- () 酵素は触媒であり、基質あるいは生成物と結合することはない。
- () 特定の分子のみを基質とする特異性は酵素の重要な性質である。
- () 酵素の主体はタンパク質であるが、機能を発現するために金属や有機化合物を含むものも多い。
- () たとえ酵素が介在しても、ギブス自由エネルギー変化が正の反応は進めることができない。
- () ミカエリス・メンテンは名がミカエリス、姓がメンテンである。

6 次の文章で正しいのはどれか。

- () TCA回路で利用されるアセチル CoA は糖の代謝によってのみ供給される。
- () 1分子のグルコースがピルビン酸まで代謝されると理論上 32分子の ATP が合成される。
- () 1分子のグルコースが嫌氣的に乳酸まで代謝されると ATP 2分子と NADH 2分子が合成される。
- () ミトコンドリア電子伝達系の電子供与体は (NADH, H⁺) とコハク酸であり、最終電子受容体は酸素分子である。
- () ミトコンドリアでの酸化的リン酸化には ADP や Pi の供給が不可欠であり、そのためにミトコンドリア内膜にはこれらの成分が自由に透過できる孔がある。
- () ミトコンドリアでの酸化的リン酸化の過程では水分子も生成する。

7 補酵素, 補欠分子族に関する次の文で、誤っているものはどれか。

- () FADH₂の正式名は還元型フラビンアデニンジヌクレオチドである。
- () 補酵素 A (CoA) は 3'-ホスホアデノシン二リン酸, パントテン酸, β-メルカプトエチルアミンの3つの部分で構成され、メルカプトエチルアミンの SH 基と酢酸が結合してアセチル CoA となる。
- () ユビキノン (補酵素 Q) は可溶性の成分で、ミトコンドリアのマトリックスに局在する。
- () ヘム c はシトクロム c の補欠分子族で、酵素のタンパク質部分と共有結合している。

8 FMNとFADに関する以下の問に答えよう。

フラビンモノヌクレオチド (FMN) とフラビンアデニンジヌクレオチド (FAD)

- (1) FMN と FAD の化学構造式を書いてみよう。
- (2) FAD に水素が 2 原子 (2つのプロトンと 2つの電子) 結合したものが還元型である。
FAD のどこに水素が結合するのかを説明しよう。
- (3) FAD はコハク酸デヒドロゲナーゼ*の補酵素として、コハク酸から水素原子を 2つ奪って、フマル酸とする。この反応を化学式で書いてみよう。

(答) コハク酸 + FAD → フマル酸 + FADH₂ ($\Delta G^{\circ} = 0 \text{ kJ/mol}$)

(*コハク酸の類縁化合物マロン酸はコハク酸デヒドロゲナーゼの強力な拮抗阻害剤である。)

9 解糖系の初発反応で、グルコースをリン酸化してグルコース 6-リン酸を生成することにはどのような生化学的な意義があるのだろうか?