

# 生 化 学

奥 田 九一郎  
小 倉 良 平  
滝 口 久  
竹 尾 和 典  
村 松 正 实



# 生 化 学

广 岛 大 学 教 授 奥 田 九 一 郎

久 留 米 大 学 教 授 小 倉 良 平

日本大学  
松戸歯科大学 教 授 滝 口 久

山 口 大 学 教 授 竹 尾 和 典

德 岛 大 学 教 授 村 松 正 实

共 著

東 京 南 江 堂 京 都

•代表著者略歴•

奥田九一郎

1954年 岡山医科大学卒業

1963年 米国ペイラー大学客員助教授

1964年 スウェーデン国カロリン研究所客員研究員

1966年 広島大学教授(歯学部)

主な著書

生化学の基礎, 南江堂(昭45)

著者との  
契約により  
検印省略

生 化 学

定価 5,800円

昭和51年10月15日第1刷発行

著 者 奥 田 九 一 郎<sup>©</sup>

発 行 者 小 立 正 彦

印 刷 所 研 究 社 印 刷 株 式 会 社

発 行 所 株 式 会 社 南 江 堂

本 店 113 東 京 都 文 京 区 本 郷 3-42-6

電 話 (03) 811-7234 (代)・振替東京 2-149

支 店 604 京 都 市 中 京 区 寺 町 通 御 池 南

電 話 (075) 221-7841 (代)・振替京都 5050

(落丁や乱丁などの場合にはお取り替えます)

—製本・三水舎—



Printed in Japan

© Kuichiro Okuda, 1976

3043-214071-5626



## 序

本書の前身である「生化学の基礎」発刊後すでに4年有余が経過した。この間も生化学は着実に進歩を続け、旧版には可成りの改訂を加える必要が生じて来た。そこで今回は、小倉、滝口、竹尾、村松の諸氏に参加頂き面目を一新して改訂ではなく新版として刊行することにした。生化学に関する内外の良書の数ある中にあえて本書をこのような形で再上梓しようとするゆえんは旧版の序文にも述べたがおよそ次の通りである。

第1に生化学という学問は論理的な学問であって、目で見たり耳で聞いたりする現象をもとに論理的な思考を行って目に見えない生物を構成する分子や原子の運動を探っていく学問であるということが出来る。したがって、生化学を理解するに当たっては多くの事柄を単に記憶するというのではなく、生化学的な論理の組み立て方、ないしは biochemical な物の考え方を理解するということが肝要である。その点、教科書として原書を採用することは、翻訳という少なくない負担を学生に課することになり、肝腎の biochemical な物の考え方を修得することをおろそかにさせるきらいがあるように思われる。かと言って訳書を用いると翻訳の問題は片付くにしても、それは外国語の発想によって書かれた文章を日本語の発想によって書き直されているものであるため文章のアヤが異なってしまう biochemical な物の考え方を把握し難くしているように思われる。そのため入門書は日本人が日本語の発想のもとに書いた方が適していると考えた次第である。

第2に日本における医学教育の制度は外国と相当異なり、教養課程という専門基礎を教育する課程があるのであるから、そのような課程を持たない外国の医学教育に使われる教科書をそのまま使うのではなく、日本独自の医学教育制度に立脚して書かれた教科書があっても良いのではないかと考えた。

第3に「biochemical な物の考え方」を理解する上で大いに助けになるのは熱力学と電子論であろう。この本の旧版である「生化学の基礎」はそのような見地に立って書かれたが、今回もこの考え方は踏襲された。

第4に、医科系の学校における生化学は、応用の面にも多くの比重がかけられるべきであろう。すなわち、生化学が如何に医学の他の分野に生かされるかを教授することが必要と考えられる。そのため本書では臓器生化学にも可成りの比重がかけられている。

しかし、一方において、本書は単なる医化学の教科書というのではなく「生命の化学」としての近代生化学の本質を伝えることにも留意した。というよりは、生命科学としての近代生化学の立場の上に新しい生化学の息吹きの生ずることを期待していると言った方が適切かも知れない。

本書は分担して書かれたが、分担は明示せず本書全体に対して全執筆者が共同の責任を負うこととした。

なお、本書の旧版である「生化学の基礎」が医科系学生や医師、歯科医師の方々のみならず高等学校の教師や栄養士の方々にも広く読まれていることを考慮し、今回は生体物質についての簡単な付録を付けることにした。

昭和 51 年 8 月 15 日

(奥田 記)

# 目 次

第 1 章 序 論 . . . . .	1
第 2 章 熱力学の基礎 . . . . .	3
2.1 熱力学第 1 法則 . . . . .	4
2.2 熱力学第 2 法則 . . . . .	4
2.3 自由エネルギー . . . . .	5
2.4 化学平衡 . . . . .	6
2.5 標準自由エネルギー変化 . . . . .	7
2.6 エネルギー共役反応 . . . . .	9
2.7 自由エネルギー関数の意味 . . . . .	9
2.8 生命とエネルギー . . . . .	10
2.9 高エネルギー化合物 . . . . .	10
2.9.1 ピロリン酸化合物 . . . . .	10
2.9.2 アシルリン酸 . . . . .	11
2.9.3 チオエステル . . . . .	13
2.9.4 エノールリン酸 . . . . .	13
2.9.5 グアニジウムリン酸化合物 . . . . .	14
第 3 章 タンパク質と酵素 . . . . .	17
3.1 タンパク質 . . . . .	17
3.1.1 タンパク質の生物学的役割 . . . . .	17
3.1.2 ペプチド結合 . . . . .	17
3.1.3 アミノ酸 . . . . .	19
3.1.4 タンパク質の化学構造 . . . . .	24
3.1.5 タンパク質の物理化学的特性 . . . . .	32
3.1.6 タンパク質の分類 . . . . .	35
3.2 酵 素 . . . . .	37
3.2.1 酵素の一般的性質 . . . . .	37
3.2.2 補酵素 (coenzyme) . . . . .	41
3.2.3 Isoenzyme (等価酵素) . . . . .	49

3-2-4 酵素の反応 . . . . .	51
3-2-5 酵素の分類と命名法 . . . . .	61
<b>第 4 章 エネルギーを放出する反応 . . . . .</b>	<b>65</b>
4-1 糖質代謝 . . . . .	65
4-2 グリコーゲンの分解 . . . . .	65
4-2-1 グリコーゲン分解系の諸反応 . . . . .	66
4-2-2 グリコーゲン分解系の制御 . . . . .	68
4-3 解糖 (glycolysis) . . . . .	68
4-3-1 解糖系の諸反応 . . . . .	70
4-3-2 アルコール発酵 . . . . .	76
4-3-3 解糖における ATP の生成 . . . . .	76
4-4 トリカルボン酸サイクル . . . . .	77
4-4-1 アセチル-CoA の生成 . . . . .	78
4-4-2 TCA 回路の諸反応 . . . . .	81
4-4-3 TCA 回路の意義 . . . . .	86
4-5 ペントースリン酸回路 . . . . .	87
4-5-1 ペントースリン酸回路の諸反応 . . . . .	88
4-5-2 ペントースリン酸回路の代謝的意義 . . . . .	93
4-6 脂質代謝 . . . . .	94
4-6-1 脂肪酸の $\beta$ -酸化 . . . . .	94
4-6-2 特殊な脂肪酸酸化 . . . . .	97
4-6-3 $\beta$ -酸化のエネルギー収支 . . . . .	97
4-6-4 不飽和脂肪酸の酸化 . . . . .	98
4-6-5 奇数脂肪酸の酸化 . . . . .	99
4-6-6 ケトン体 . . . . .	100
4-6-7 リン脂質の代謝 . . . . .	102
4-6-8 スフィンゴリピド代謝 . . . . .	102
4-6-9 コレステロールの代謝 . . . . .	102
4-7 タンパク質とアミノ酸の代謝 . . . . .	105
4-7-1 窒素平衡と必要アミノ酸 . . . . .	105
4-7-2 タンパク質の消化 . . . . .	106
4-7-3 アミノ酸の代謝 . . . . .	107
4-8 核酸の代謝 . . . . .	116
4-8-1 プリンの代謝 . . . . .	116
4-8-2 ピリミジンの代謝 . . . . .	118

4.9 ポルフィリンの分解	118
<b>第5章 エネルギー変換反応</b>	<b>121</b>
5.1 ミトコンドリア	121
5.2 酸化還元反応の熱力学的考察	124
5.3 電子伝達系	126
5.4 呼吸鎖の各成分	128
5.4.1 ビリジン酵素	128
5.4.2 フラビン酵素	129
5.4.3 非ヘム鉄タンパク質	130
5.4.4 ユビキノン	130
5.4.5 シトクロム類	130
5.5 酸化的リン酸化	132
5.5.1 呼吸鎖リン酸化の機構	134
5.6 ミトコンドリアにおける水酸化	136
5.7 ミトコンドリアにおける代謝調節	136
5.8 Pasteur effect	138
5.9 ミクロソームにおける電子伝達	139
<b>第6章 エネルギーを要求する反応</b>	<b>141</b>
6.1 糖質の合成	141
6.2 脂肪酸の合成	146
6.3 脂質合成の調節	150
6.4 不飽和脂肪酸の合成	150
6.5 トリアシルグリセロール及びリン脂質の合成	151
6.6 スフィンゴリピドの生合成	153
6.7 コレステロールの生合成	153
6.8 ポルフィリンの合成	155
6.9 核酸とタンパク質の生合成	159
6.9.1 遺伝と核酸	159
6.9.2 ヌクレオチドの合成	163
6.9.3 DNA の構造とその複製	171
6.9.4 タンパク質の生合成——遺伝情報の発現	185

<b>第 7 章 生体反応の調節</b> . . . . .	<b>213</b>
7.1 代謝調節の原理 . . . . .	213
7.2 代謝調節に関与する諸因子 . . . . .	213
7.2.1 動力学的因子 . . . . .	214
7.2.2 酵素量に変化を与える因子 . . . . .	217
7.2.3 代謝の分岐 . . . . .	222
7.2.4 構造因子 . . . . .	223
7.3 内分泌による代謝調節 . . . . .	223
7.4 中間代謝相互の調節 . . . . .	224
<b>第 8 章 生体の生化学</b> . . . . .	<b>227</b>
8.1 栄 養 . . . . .	227
8.1.1 所要熱量 . . . . .	228
8.1.2 摂取タンパク量 . . . . .	229
8.1.3 脂肪の所要量 . . . . .	230
8.1.4 糖質の所要量 . . . . .	230
8.1.5 無機質・ビタミンの所要量 . . . . .	231
8.2 消化及び吸収 . . . . .	231
8.2.1 口腔での消化 . . . . .	231
8.2.2 胃における消化 . . . . .	232
8.2.3 腸における消化 . . . . .	233
8.2.4 吸 収 . . . . .	235
8.3 呼 吸 . . . . .	235
8.3.1 ヘモグロビン . . . . .	236
8.3.2 ヘモグロビンの異常 . . . . .	237
8.3.3 酸素の運搬 . . . . .	239
8.3.4 CO <sub>2</sub> の運搬 . . . . .	241
8.3.5 CO との結合(カルボキシヘモグロビン) . . . . .	243
8.4 体液及び酸塩基平衡 . . . . .	243
8.4.1 膜と輸送 . . . . .	244
8.4.2 細胞外液の調節 . . . . .	247
8.4.3 酸塩基平衡 . . . . .	248
8.5 筋 肉 . . . . .	251
8.5.1 筋肉タンパク質 . . . . .	252



8・5・2	筋肉収縮のための ATP の供給	254
8・5・3	筋肉の収縮	255
8・6	神経組織	258
8・6・1	血液-脳関門	259
8・6・2	炭水化物代謝	260
8・6・3	アミノ酸及びタンパク質代謝	260
8・6・4	核酸代謝	261
8・6・5	脂質代謝	262
8・6・6	機能から見た神経の生化学	262
8・7	結合組織	263
8・7・1	コラーゲン	264
8・7・2	エラスチン	267
8・7・3	ムコ多糖類	268
8・8	骨とビタミン D	269
8・9	視 覚	272
8・10	免疫抗体	276
8・10・1	抗体の構造	277
8・10・2	抗体産生機序	280
8・10・3	自己免疫疾患	281
8・11	血液凝固	281
8・11・1	Fibrinogen から fibrin の生成	283
8・11・2	トロンビン	284
8・11・3	血栓とフィブリンの溶解	284
8・12	ホルモン	285
8・12・1	ホルモンの作用機序	285
8・12・2	ホルモンの各論	287
8・12・3	脳下垂体前葉	287
8・12・4	脳下垂体中葉	290
8・12・5	脳下垂体後葉	290
8・12・6	視床下部	290
8・12・7	松果腺	292
8・12・8	甲状腺	292
8・12・9	副甲状腺ホルモン	294
8・12・10	膵 臓	294
8・12・11	副腎髓質	298
8・12・12	副腎皮質	300
8・12・13	生殖腺	304

8・12・14	プロスタグランジン	305
8・13	遺 伝	305
8・13・1	突然変異	306
8・13・2	溶 原 性	306
8・13・3	エピソード	308
8・13・4	遺伝生化学	309
8・13・5	遺伝性疾患	310
8・14	癌とウイルス	312
8・14・1	癌 細 胞	312
8・14・2	発癌の分布機構	313
8・14・3	ウイルス発癌	313
8・14・4	担癌生体	314
8・15	進 化	315
付 録		317
1.	糖質の構造と名称	317
1・1	単 糖 類	317
1・2	少 糖 類	317
1・3	多 糖 類	319
1・4	ヘテロポリサッカライド	319
2.	脂質の構造と名称	321
2・1	グリセリドの命名法	322
2・2	リン脂質	322
2・3	スフィンゴリピド	323
2・4	ノイラミン酸	324
3.	アミノ酸	324
4.	プリン及びピリミジン塩基	325
4・1	プリン塩基	326
4・2	ピリミジン塩基	326
4・3	ヌクレオシド及びヌクレオチド	326
索 引		329

## 第1章 序 論

「月の表面にはさびしさがみなぎっている。それは畏怖をかき立てる。それに比べて、ここから見た地球はまるで広い宇宙に浮かぶオアシスだ」とは、ロケットによる人類最初の月周回を行った宇宙飛行士が、月を出発する直前に地球に送信して来た言葉である。その後月飛行士は月面に軟着陸し、月表面を詳細に探査し、そこにはなんらの生命も存在しないことを確認した。一方、別の宇宙ロケットも、水星、金星、火星、木星の表面に到達しその表面写真を送って来たが、いずれも荒涼としていて、到底この地球に見られるようなはなやかな生命の存在を予測させるものではなかった。このような意味で、地球上の生命はこの広い太陽系の中でも全く孤独な存在であるということが出来る。そしてまたそれなればこそ、「生命は如何にして創られたか」という、いわゆる「生命の起源」への関心が一層高まって来たということができよう。

今からおよそ 40~50 億年以前には、この地球に降り注がれていた太陽エネルギーは、役に立たない熱として、急速に浪費され宇宙空間に拡散されていたであろう。その後このエネルギーのなにかしかを捕捉し得るささやかな系が出現し、ついには捕捉したエネルギーを利用して、「物質代謝を行うことによって自己を保存し、かつ自己を再生産し得る系」すなわち「生きている系」が出現して来たものと考えられる。その後生物はますます進化し、より高能率に太陽エネルギーを利用する生物が生まれるようになり、遂には、人間という極めて高度に進化した生物が、この地球上に出現して来たのである。

太陽エネルギーを捕捉し、これを炭水化物、脂質、タンパク質等の化学エネルギーに変換しているのは、光合成生物(緑色植物、光合成細菌等)である。動物は植物によって作られたこれらの物質を食物として摂取し、自己の体内で、これらの食物の中に含まれている化学エネルギーを、再び仕事に変換する。またこうしたエネルギー変換反応に伴って、植物は炭酸ガスを固定し、酸素を放出する。一方動物は酸素を吸収し、炭酸ガスを排出する。こうして動物は植物に依存し、植物もまた何がしか動物に依存しながら、生物全体として太陽エネルギーをその生命活動に利用しているのである。地球上に降り注がれている太陽エネルギーの総量は、1年間に  $1 \times 10^{24}$  cal で、そのうち生物の捕捉する量は、 $1 \times 10^{21}$  cal、すなわち 1/1000 であるという。

生化学という学問は、「生きている」という現象、すなわち生命現象を、化学及び物理学の言葉で記述する学問であるということが出来る。すなわち、生化学は植物が太陽エネルギーを捕捉し、炭水化物の化学エネルギーに変換する機構、生じた炭水化物の一部を燃焼し、その際生ずるエネルギーを利用して、脂質、タンパク質等を合成する機構、そしてまた、植物によって作られた、炭水化物、脂質、タンパク質等の食物を、動物が摂取し、それを燃焼させることによって、そこに含まれている化学エネルギーを、仕事(化学の仕事: 生合成、浸透圧の仕事: 能動輸送と濃縮、及び機械の仕事: 筋肉の収縮など)に変換する機構、そしてまたそのような機構が子孫に伝達される機構を明らかにする学問であるということが出来る。

生化学という学問をこのように考えると、それを理解するためには化学(主として有機化学)のみならず物理学(熱力学, 統計力学, 量子化学等)の基礎的知識が不可欠であることはおのずから明らかであろう。

### 歴史的考察

生物が示す不思議な力を、昔の人々は理解するというより神秘化して「生物には普通の物理学や化学の法則が当てはまらない」と考えたのも、当時の学問水準、思想を考えると無理からぬこととも思われる。しかし生物が特に *vital force* あるいは *spirit* という特別な力をもつわけでなく、無生物を支配する物理学や化学の法則に従うであろうことを、最初に明らかにしたのは Lavoisier であった。彼は動物の呼吸の研究から

「...故に呼吸は燃焼である。確かにそれはゆっくりしている。しかし、それ以外は完全に炭の燃焼と同じだ」

といみじくも喝破したのである(1785年)。それにつづいて、尿素の化学的合成を行うことによって、「生物のもつ *vital force* によってのみ尿素のような生体物質が作られる」という当時の既成概念を一掃したのは、Wöhler であった(1828年)。そして最後に「糖の発酵は生きた細胞によってのみ行われる」という当時の概念を打破し、「生化学」という学問の端緒を開いたのは Buchner であった。医者である彼は医療に使う目的でイーストエキス(全く生細胞を含まない汁液)を作り、これに防腐の目的で糖を加えて放置したところ、あとになってそのイーストエキスにアルコールの匂いのすることを認めたのである。生命のないところにアルコール発酵が起ったのである(1897年)。

これらの重要な歴史的発見は、*vital force* や *spirit* という概念を完全に追放し生物もまた物理学や化学の法則に従うことを明らかにするとともに、その後における生化学という自然科学の一分野の急速な発展を促したのである。生物もまた物理学や化学の法則に従うことが明らかになった以上、生命現象を化学及び物理学の言葉で記述する生化学が、急速な発展を遂げたこともまた当然といわねばならない。今なお生化学は急速なテンポで発展している。それは正に日進月歩という言葉にふさわしい。そのように急速に発展する生化学を将来にわたってフォローし、それを自分の仕事(医療や研究)に応用していくためには、何よりもまず「生化学的な物の考え方」を十分に理解することが望ましい。

## 第2章 熱力学の基礎

はじめに 生物も無生物と同じように物理学や化学の法則に従う以上、そしてまた化学が本質的には価電子の物理学という意味で広い意味での物理学の範疇に入る以上、生物学もまた広い意味での物理学ということができるともかもしれない。

しかし現在の量子力学では数原子分子以上の Schrödinger 方程式の正確な解をうることはできない。まして、 $10^{23}$  の何十乗という天文学的数字の原子から成り立っているであろう「生物という状態」の正確な解などは及びもつかないこと、といわねばならない。

しかし我々が観測によって知り、理論の結果と比較してその機構を明らかにしようとするのは、生物を構成する多様な原子の個々の状態ではなくて、それらが色々な運動をしながらも、全体としてある一定時間の経過中に示す色々な意味の平均値にほかならない。このような平均値も、基づくところはこれら原子の運動によることは確かであるが、前者を知るためには必ずしも後者に関する細密な情報を必要とするわけではない。量子力学の基本法則に、更に新しい仮説を加えて極めて巧妙にこうした多原子物体の問題を処理していこうとするのが量子統計力学といわれる物理学の一分野である。

しかし物質がそのように原子や分子から成り立っているということを認識し、それらの粒子の力学的運動として物質の示す自然現象を理解していくという立場に対し、今一つ自然現象解明へのアプローチの仕方がある。それが熱力学といわれるものである。天文学的数字の水分子が集まって出来ている水という液体の性質は、その中で個々の水分子がどういう運動をしているのか知らなくても、もっと極限していえば、水が水分子より成り立っているということを知らなくても、「水は低きに流る」とか、「水は方円の器に従う」といった自然現象の示す規則性は誰もが認めるところである。そうした自然現象の規則性を確認し、更にはそれらの中に統一的連絡をはかる組織が作られるならば、それこそ我々の求めているものにほかならない。そのためにはできるだけ多くの現象に対して、色々な見方で観察や観測を行い、その結果から、多くの現象に共通する最も基本的と思われる関係をひきだしてこれをいわゆる原理とし、あとは純粋な論理の力で広い理論の体系を構成して行く方法がある。熱力学といわれる物理学の一分野は正にこのような学問である。このように述べてくれば、統計力学は熱力学の理論的背景をなすものであるということがわかるであろう。多種粒子の集団が示す統計的な平均値(すなわち現象)を微視的な立場に立って研究していくのが統計力学であり、それを巨視的な立場(現象)だけから研究していこうとするのが熱力学であるということが出来る。

以上で明らかなように、熱力学の対象とする物質は多数の粒子の集まりであることが必要である。しかし完全な細胞の中における特定の分子集団の大きさを考えると、それは必ずしもそれほど多数でないことがある。例えば1個のバクテリアの細胞中には、せいぜい20か30くらいしか  $H^+$  イオンがないことが容易に計算される。また、あるバクテリアでは、ある種の酵素が数分子しかないこともわかっている。更に、情報高分子であるデオキシリボ核酸(DNA)の場合には、恐らく1個のバクテリアの細胞中にわずか1分子か2分子しかないであろう。したがって熱力学原理をこうした存在密度

の小さいものに適用するときには非常に注意深くなければならない。

### 2.1 熱力学第1法則

今、一つの閉じた系を考えてみよう(閉じた系とは外部との間に物質の授受がないことを意味する)。その系に外部から熱  $Q$  が加えられるとともに、外部からその系に対し  $W$  なる仕事が行なわれたとすると、系の内部エネルギー  $U_1$  は  $U_2$  に変る。ここで、両者のエネルギーの差を  $\Delta U$  とすると、第1法則は、

$$\Delta U = U_2 - U_1 = Q + W \quad (1)$$

となることを教える。状態の変化が無限小になれば  $U$  の変化も無限小になり

$$dU = dQ + dW$$

となる。これが熱力学第1法則の数学的表現にほかならない。これを別の言葉で説明すると、「 $Q$  や  $W$  は [状態 1] から [状態 2] への移行過程に応じてそれぞれ様々な値をとるであろうが、両者の和、すなわち  $Q + W$  は内部エネルギーの差  $\Delta U$  に等しく、それは初めの [状態 1] と終りの [状態 2] だけで定まり、両者の間における移行過程には無関係である」ということにほかならない。ここで  $Q$  や  $W$  の符号は系から系に向かってエネルギーの移動が行われたとき、正号をとるものとする。また第1法則は系において増加したエネルギーは系外において減少したエネルギーに等しいことを表しており、系系を考える(すなわち宇宙全体を考える)とエネルギーは増えも減りもしない、すなわち不滅であることを示している。それでこの法則はまたエネルギー保存の法則ともいわれる。

### 2.2 熱力学第2法則

第2法則は「宇宙のエントロピーは増加する」というように表現できる。エントロピーは絶対温度を  $T$  とおくと、可逆過程では  $dS = dQ_{\text{可逆}} / T$  で表されるが、不可逆過程では  $dS > dQ_{\text{不可逆}} / T$  となる。いま熱の出入の起らない閉じた系での過程を考えると、その場合は  $dQ = 0$  であるから、可逆過程では  $dS = 0$ 、不可逆過程では  $dS > 0$  が成り立つ。エントロピーの真の意味は統計力学的考察によって初めて明らかになる。それによれば、エントロピーは「系の無秩序の度合を表す量」と定義される。エントロピーは一つの状態量であって、系が [状態 1] から [状態 2] に変るときのエントロピーの差  $\Delta S = S_2 - S_1$  は内部エネルギーのそれと同様に、系の変化の経路には無関係に、系の初めの状態と終りの状態によってのみ決まるのである。

第2法則は自然現象にある方向性のあることを意味する。すなわち、不可逆過程に関与する系はエントロピーが可能な限り最大になるような方向に進むということの意味している。エントロピーが最大になったところでその系は平衡に達する。理論的にはある系のエントロピーが、ある変化の間は一定に保たれることがあるが(そういうとき、その過程は可逆的であるといわれる)、しかし第2法則は、可逆過程と不可逆過程とを分けることができても、物理的な世界ではエントロピーが正確に一定に保たれているような完全に可逆的な過程というものほとんどみあたらず、全体として宇宙のエ



トロピー，すなわち無秩序の程度は不可逆的に常に増大していて，宇宙のエントロピーは決して減少することはないということを教えるのである。したがって宇宙のエネルギーは，すべて無秩序化のために使われて，もはや定温条件では仕事をする事ができない形となる。かくてエントロピー破滅といわれる完全な乱雑状態に達するのがこの宇宙の最終の運命なのである。いま一つの閉じた系のエントロピーを  $S$ ，外部のそれを  $S_0$  とすると，第2法則から

$$dS + dS_0 \geq 0 \quad (2)$$

という式が得られる。この式もまた第2法則の数学的表現に他ならない。等号はもちろん理想的な可逆過程に対してのみ成り立つ。いま対象系に外から与えられる熱量を  $dQ$  とすると，ここで問題にしているのは対象系だけであるから， $dQ$  が系外でいかなる過程を経て供給されたかは問題としない。ゆえに系外にもし容積変化があったとしても，それは可逆的に行われると仮定すると

$$dS_0 = -\frac{dQ}{T}$$

ここで  $dQ$  は対象系が受領するとき正であるから，系外の方からいえば負号をつけることになる。そこでこの式と上の式を組合せると

$$dS - \frac{dQ}{T} \geq 0$$

$$dS - \frac{dU - dW}{T} \geq 0$$

が得られる。これを変形すると

$$dU - TdS \leq dW \quad (3)$$

となる。この式は熱力学第2法則の数学的表現にほかならない。

熱力学には更に第3法則というものがある。それは

「絶対零度におけるあらゆる元素又は化合物の完全な結晶のエントロピーは零である」

というものである。絶対零度においては，熱運動はなく完全な結晶分子は絶対的に秩序だっている。こういう結晶からはずれて，わずかでも秩序が乱れている状態では，ある量のエントロピー，すなわち無秩序がある。

### 2.3 自由エネルギー

いま式(3)で  $dW$  が  $-pdV$  で表せる仕事であるとする，温度，圧力ともに一定の条件での変化においては

$$d(U - TS + pV) \leq 0 \quad (4)$$

と表すことができる。「カッコ」の内部は全体として1個の状態量と考えることができるので，それを  $G$  で表すことにすると

$$dG \leq 0$$

となる。すなわち定温、定圧下では、 $G$  なる関数は常に減少する。したがってこういう条件下に実現する平衡の条件は  $G$  の極小で規定される。 $G$  は Gibbs の自由エネルギー又は熱力学ポテンシャルといわれる。しかし普通の生化学の教科書では単に自由エネルギーと記されている。したがって生化学の立場でいえば、第2法則は「定温、定圧(生体内反応ではこの条件が満たされていることが多い)のもとに起る変化は、自由エネルギーの減少する方向に向かう」というふうに表現することができよう。

## 2.4 化学平衡

いま、A, B なる分子が、次のような化学反応式



によって反応して、L, M なる反応生成物を与える化学反応における自由エネルギーの変化を考えて見ることにしよう。

1 mol 当たりの自由エネルギーは化学ポテンシャルとよばれ、記号  $\mu$  で表される。したがって均一成分を  $n$  mol 含んでいる系の自由エネルギーは、

$$G = n\mu \quad (6)$$

となる。もし A 及び B という物質が、それぞれ  $a$  mol と  $b$  mol 含まれている混合系 ((5) 式の左辺の状態は正にこのような混合系を意味している) では、A 及び B の化学ポテンシャルをそれぞれ  $\mu_A$  及び  $\mu_B$  とすると

$$G_{\text{左辺}} = a\mu_A + b\mu_B \quad (7)$$

となる。同様に L 及び M という物質がそれぞれ  $l$  mol 及び  $m$  mol あるとすると ((5) 式の右辺の状態)、その系の自由エネルギーは、L 及び M の化学ポテンシャルをそれぞれ  $\mu_L$  及び  $\mu_M$  とすると

$$G_{\text{右辺}} = l\mu_L + m\mu_M \quad (8)$$

となる。もし上の化学反応が平衡状態にあるとすると左辺及び右辺の自由エネルギーは等しいから

$$a\mu_A + b\mu_B = l\mu_L + m\mu_M \quad (8)$$

となる。これはとりもなおさず化学平衡の条件そのものに他ならない。いま上の化学反応が理想溶液中で行われるものとする、A, B, L, M の化学ポテンシャルは

$$\left. \begin{aligned} \mu_A &= \mu_A^\circ + RT \ln [x_A]_{\text{eq}} \\ \mu_B &= \mu_B^\circ + RT \ln [x_B]_{\text{eq}} \\ \mu_L &= \mu_L^\circ + RT \ln [x_L]_{\text{eq}} \\ \mu_M &= \mu_M^\circ + RT \ln [x_M]_{\text{eq}} \end{aligned} \right\} \quad (9)$$

ただし  $[x_A]$ ,  $[x_B]$ ... は A, B... のモル分率を表す。eq は平衡状態における濃度を示す。

で表されることが実験的に知られている。これらの式を(8)式に代入すると

$$\begin{aligned} & a\mu_A^\circ + RT\ln[x_{Aeq}]^a + b\mu_B^\circ + RT\ln[x_{Beq}]^b \\ & = l\mu_L^\circ + RT\ln[x_{Leq}]^l + m\mu_M^\circ + RT\ln[x_{Meq}]^m \\ RT\ln \frac{x_{Leq}^l \times x_{Meq}^m}{x_{Aeq}^a \times x_{Beq}^b} & = l\mu_L^\circ + m\mu_M^\circ - a\mu_A^\circ - b\mu_B^\circ \\ \frac{x_{Leq}^l \times x_{Meq}^m}{x_{Aeq}^a \times x_{Beq}^b} & = e^{l\mu_L^\circ + m\mu_M^\circ - a\mu_A^\circ - b\mu_B^\circ / RT} \end{aligned}$$

となる。右辺は圧力  $p$  及び温度  $T$  の関数であるが [A], [B]… には無関係の定数であるから、これを  $K_x$  とおくと上式はよく知られた化学平衡の式

$$\frac{x_{Leq}^l \times x_{Meq}^m}{x_{Aeq}^a \times x_{Beq}^b} = K_x \quad (10)$$

となる。この式は質量作用の法則から得られるものと同じである。

いま溶液が理想溶液でないとすると、(9)式の化学ポテンシャルはモル分率の代りに活量で表される。これはモル分率に溶液の理想溶液からのずれの尺度を示す活量係数をかけることによって得られる。すなわち A の活量を  $a_A$  で表し、その活量係数を  $\gamma_A$  で表すと、活量  $a_A$  は次の式で表される。

$$a_A \equiv x_A \gamma_A \quad (11)$$

溶液が理想溶液でない場合、(10)式は

$$\frac{a_{Leq}^l \times a_{Meq}^m}{a_{Aeq}^a \times a_{Beq}^b} = K_a \quad (12)$$

で表される。したがって  $K_a$  と  $K_x$  との間には次の関係が成り立つ。

$$K_a = \frac{\gamma_L \cdot \gamma_M}{\gamma_A \cdot \gamma_B} \times K_x$$

## 2.5 標準自由エネルギー変化

次に(5)式による反応が平衡状態に達していない時点において、反応が左から右に進行する際の自由エネルギーの変化を考えてみることにしよう。



なる化学反応において、左辺の混合物の自由エネルギーは(7)式により  $(a\mu_A + b\mu_B)$  であり、右辺のそれは(8)式により  $(l\mu_L + m\mu_M)$  である。いま A の  $a$  mol, B の  $b$  mol から  $l$  mol の L,  $m$  mol の M が生じたとしよう。そうするとその際の自由エネルギー変化は

$$\begin{aligned}
 \Delta G &= G_{\text{右辺}} - G_{\text{左辺}} = l\mu_L + m\mu_M - a\mu_A - b\mu_B \\
 &= l\mu_L^\circ + RT \ln x_L^l + m\mu_M^\circ + RT \ln x_M^m \\
 &\quad - a\mu_A^\circ - RT \ln x_A^a - b\mu_B^\circ - RT \ln x_B^b \\
 &= l\mu_L^\circ + m\mu_M^\circ - a\mu_A^\circ - b\mu_B^\circ + RT \ln \frac{x_L^l \times x_M^m}{x_A^a \times x_B^b}
 \end{aligned}$$

$l\mu_L^\circ + m\mu_M^\circ - a\mu_A^\circ - b\mu_B^\circ = \Delta G^\circ$  とおくと結局上式は

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln \frac{x_L^l \times x_M^m}{x_A^a \times x_B^b} \quad (13)$$

ということになる。ここで注意すべきことは (10) 式の  $[x_A]$ ,  $[x_B]$ … はそれぞれの物質の平衡状態における濃度を表しているのであるが, (13) 式の  $[x_A]$ ,  $[x_B]$  は平衡状態に達していない時点 (反応の開始時点) での A 及び B の濃度であり,  $[L]$ ,  $[M]$  にそれから  $a$  mol の A と  $b$  mol の B が消失し  $l$  mol の L と  $m$  mol の M が生じた時点での L 及び M の濃度を表しているということである。溶液が理想溶液でない場合には (13) 式は次のようになる。

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln \frac{a_L^l \times a_M^m}{a_A^a \times a_B^b} \quad (14)$$

いま A, B, L, M の活量がそれぞれ単位活量 ( $a_A = a_B = a_L = a_M = 1$ ) であるような特別の場合を考えると (14) 式の右辺第2項は消える。したがってこのような場合は

$$\Delta G = \Delta G^\circ$$

となる。

平衡状態では  $\Delta G = 0$  であるから, 反応が平衡状態から始まったとすると (14) 式から

$$\Delta G = 0 = \Delta G^\circ + RT \ln \frac{a_{L\text{eq}}^l \times a_{M\text{eq}}^m}{a_{A\text{eq}}^a \times a_{B\text{eq}}^b} \quad (15)$$

が得られる。この式に (12) 式を代入すると, 結局

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_a \quad (16)$$

が得られる。この式は生化学ではしばしば用いられる重要な関係式である。この式の意味をいま一度よく考えて見ることにしよう。いま, (5) 式の反応において, A, B, L, M の濃度がそれぞれ単位活量である特別の場合を考えると, (14) 式の右辺の対数の中は 1 となり, 1 の対数は 0 であるから, その項は消え

$$\Delta G = \Delta G^\circ$$

となるので,  $\Delta G$  の値は (16) 式によって平衡定数  $K_a$  から計算されるということを示している。 $\Delta G^\circ$  を標準自由エネルギー変化という。

反応に水素イオンが関与する場合, 標準状態での水素イオン濃度は 1 M すなわち pH 0 である。しかし細胞内ではこのような低い pH で反応が起ることはまず考えられない。そこで一定の pH で, 他はすべての標準自由エネルギー変化を求める場合と同じ条件で行われる反応の自由エネルギー変化

を  $\Delta G'$  と表すと、 $\Delta G^\circ$  は  $\Delta G'$  に pH の差に基づく補正を加えてえられることになる。もちろんプロトンの関与しない反応では pH が変わっても  $\Delta G^\circ$  は変わらないから  $\Delta G^\circ$  と  $\Delta G'$  とは等しい。

## 2.6 エネルギー共役反応

自由エネルギーの項で述べたように、定温定圧下で行われる生化学反応は、自由エネルギーが減少する方向のみ進む。したがって  $\Delta G$  は負の値をとる。このような反応を発エルゴン反応という。一方  $\Delta G$  が正の反応(これを吸エルゴン反応という)は自然には起り得ない。しかし生物においては部分的に見た場合、確かに多くの吸エルゴン反応が起っている。しかしよく見るとそのような吸エルゴン反応が起っている場合は、必ずそれに伴って一つの発エルゴン反応が起っている。すなわち細胞は発エルゴン反応で生じた自由エネルギーを利用して、別の吸エルゴン反応を進行させるのである。このような反応を共役反応という。共役反応が行われるためには、

- ① 発エルゴン反応と吸エルゴン反応との間に共通の反応物質が存在すること
- ② 共役している発エルゴン反応系の自由エネルギーの減少 ( $\Delta G$  の絶対値) は、吸エルゴン反応の自由エネルギーの増加 ( $\Delta G$  の絶対値) よりも大きいこと

が必要である。すなわち二つの反応の自由エネルギーの変化の代数的総和が、自由エネルギーの正味の減少に対応して符号は負でなければならない。結局、両者を併せて考えたとき、二つの系の全体としての自由エネルギーは減少する方向に向かっているなければならない。すなわち生物も当然熱力学第2法則には従わなければならないのである。

## 2.7 自由エネルギー関数の意味

Gibbs 自由エネルギー変化  $\Delta G$  はその反応が自然に起り得るものかどうかについて良い指標を与えてくれることは先に述べたが、ここでは Gibbs 自由エネルギーの今一つ別の意義について考えて見ることにしよう。いま (3) 式において、仕事  $W$  を容積変化に伴うもの ( $-pdV$ ) とそれ以外の仕事(正味の仕事,  $W$ ) とに分けて考えると  $dW$  は

$$dW = dW_{\text{net}} - pdV - Vdp$$

となるから、これを (3) 式に代入して移項すると

$$dU - TdS + pdV + Vdp \leq dW_{\text{net}}$$

なる式が得られる。定温定圧の条件下では左辺は  $d(U - TS + pV)$ 、すなわち  $dG$  に等しい。したがって

$$dG \leq dW_{\text{net}} \quad (17)$$

が得られる。可逆変化の際は等号が成り立つから

$$dG = dW_{\text{net}} \quad (18)$$

となる。このことは「定温、定圧下における可逆変化において起る系の自由エネルギー変化は、系に

なされる正味の仕事量に等しい」ということを示している。

## 2.8 生命とエネルギー

以上我々は、熱力学の基礎について学んだ。いま我々は序論に述べた生物の行う三つの仕事、すなわち、生成、能動輸送、機械の仕事は、Gibbs 自由エネルギーの変化に相当することが理解できるようになった。そこで序論に述べた「生命のエネルギー」についての記述を少しく変更する方が適当であろう。

すなわち、「光合成生物は太陽光線の自由エネルギーを炭水化物生成という吸エルゴン反応に共役させるとともに、生成された炭水化物を再び一部酸化(発エルゴン反応)することによって生じる自由エネルギーを、脂質やタンパク質合成という吸エルゴン反応に再び共役させて、炭水化物、脂質、タンパク質等を食物として動物に供給しているのであり、一方動物は、植物から摂取したこれらの食物を酸化(発エルゴン反応)することによって生じる自由エネルギーを、炭水化物、脂質、タンパク質の生成(吸エルゴン反応)に共役させたり、浸透圧の仕事に利用(変換)したり、機械の仕事に変換したりして利用し、残りは熱として体温の維持に用いながら、結局は系外(体外)に放出しているのである。そして生化学とは生物が示すこれら一連の変化の過程と機構と、そしてまたそのような機構を子孫に伝えて行く機構を探る学問である」と。

## 2.9 高エネルギー化合物

生体は発エルゴン反応を共役させることによって吸エルゴン反応を推進しうる。その際には共役する二つの反応(吸エルゴン反応と発エルゴン反応)には共通の反応物質が必要であることについては前項で述べた。自然界におけるこうしたエネルギー共役反応において、二つの反応をつなぐ共通の反応物質は adenosine triphosphate (ATP) である。ATP の構造は次頁に示す通りであるが、これが加水分解すると非常に多くの自由エネルギーが減少する。このような物質を一般に高エネルギー化合物と呼んでいる。高エネルギー化合物は一般に酸、アルカリ、熱に不安定である。

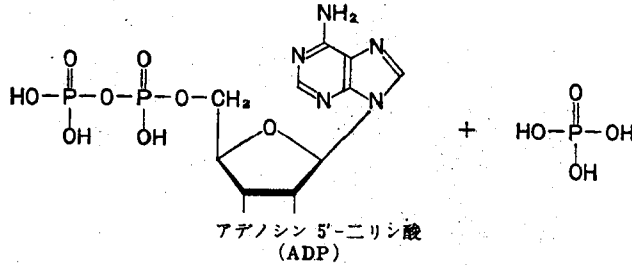
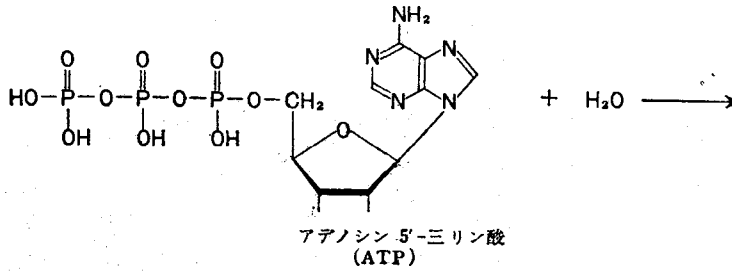
### 2.9.1 ピロリン酸化合物

ATP の末端のリン酸基の加水分解の  $\Delta G'$  は pH 7 で  $-7,000 \text{ cal/mol}$  である。これは普通のリン酸エステルの加水分解の  $\Delta G'$  (pH 7.0 で  $-3,300 \text{ cal/mol}$ ) より、はるかに大きい。

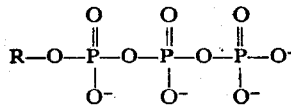
このように加水分解によって自由エネルギーが大きく減少するということは、水解によって生成したものがもとの物質よりはるかに安定であることに基づく。それではどのようにしてそのような安定化が起るのであろうか、いま ATP の場合を例にとりて考えて見よう。

pH 7 では第一水酸基(内側のリン酸の OH と外側のリン酸の 1 個の OH)のプロトンは  $pK_1=2.1$  であるから完全に解離している。第二水酸基(外側のプロトンのもう一つの OH)のプロトンも  $pK_2=6.8$  なのでほとんど電離している。簡単にするため、pH 7.0 で ATP のプロトンが全部電離していると考えよう。

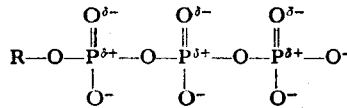




$$\Delta G' = -8,000 \text{ cal (pH 7.0)}$$



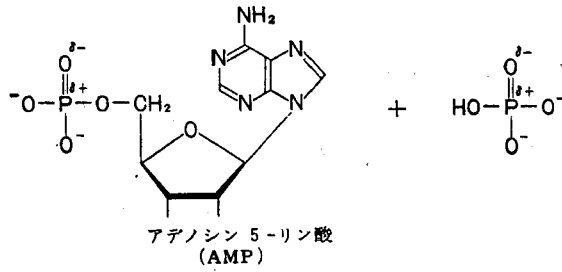
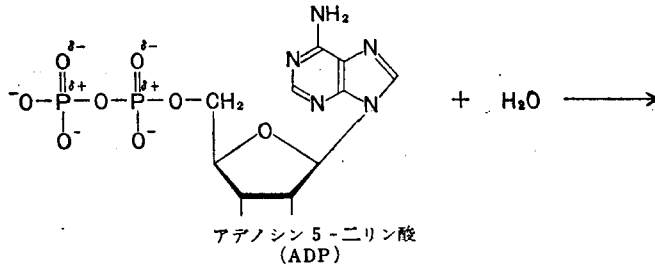
酸素原子は電気陰性度が大きいから、 $\text{P}=\text{O}$  結合の電子はそれに引きつけられる傾向がある。そこで酸素原子は部分的に負 ( $\delta^-$ ) に、リン原子はそれだけ正 ( $\delta^+$ ) に荷電する。その結果  $\text{P}=\text{O}$  結合は次のように分極する。



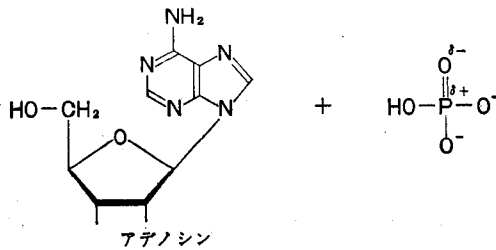
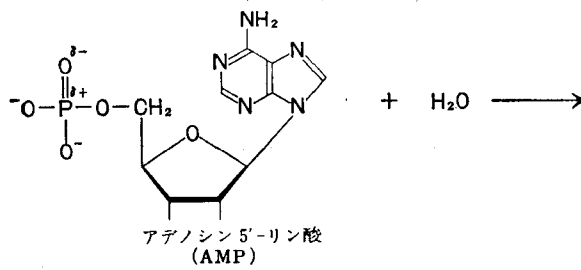
このような構造では、近在する同種に帯電した原子同士の間には静電的反発が起るので、分子はそれだけ不安定になる。加水分解によってピロリン酸結合が切れるとそれだけ余計に安定化するわけである。グルコース 6-リン酸の  $\text{P}=\text{O}$  結合も分極しているが、その隣りに  $\delta^+$  のリン原子がないので静電的反発がない。したがって分子はより安定であるから加水分解の  $\Delta G'$  も小さくなる。ADP が AMP と無機リン酸に加水分解される時も同じことがいえる。ADP の加水分解の  $\Delta G'$  は  $-6,500 \text{ cal/mol}$  である。ATP, ADP に比し、AMP には上のようなピロリン酸構造がないので、加水分解によって遊離するエネルギーは小さい ( $\Delta G' = -2,200 \text{ cal/mol}$ ) (次頁構造式参照)。

### 2.9.2 アシルリン酸

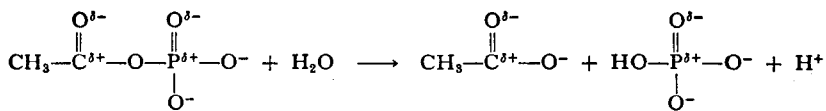
一般にアシルリン酸は高エネルギー化合物である。そのわけは次式(次頁下段)から明らかであろう。



$$\Delta G' = -6,500 \text{ cal (pH 7.0)}$$



$$\Delta G' = -2,200 \text{ cal (pH 7.0)}$$

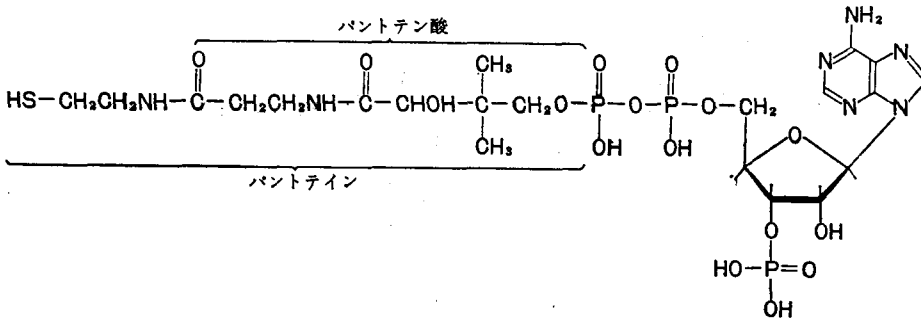
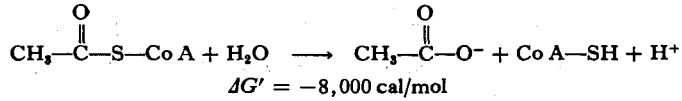


$$\Delta G' = -10,000 \text{ cal}$$

反応物質と生成物質との電離の度合も反応の  $\Delta G'$  に影響する。反応産物がより電離しやすくなる場合は、電離による安定化も考慮しなければならない。

### 2.9.3 チオエステル

この化合物の加水分解によって自由エネルギーが大きく減少するのは、生成物が電離するためである。Co A-SH の H は pH 7 では電離しない。

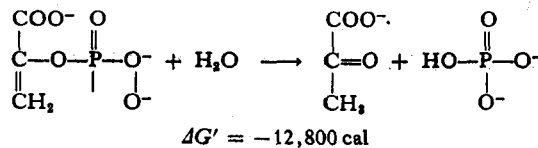


コエンザイム A (Co A-SH)

反応の  $\Delta G'$  に対するイオン化の影響、すなわち反応生成物がイオン化によりどの程度安定化されるかは、反応液の pH と生成物の解離基の  $\text{pK}_a$  の差で定まる。新たに生ずる解離基の  $\text{pK}_a$  が反応液の pH より 1 単位低ければ、1,363 cal/mol だけ安定化する。したがって上のアセチル Co A の加水分解を pH 3 の酸性で行えば、生ずる酢酸は電離せず、生成物の電離による安定化は起らない。

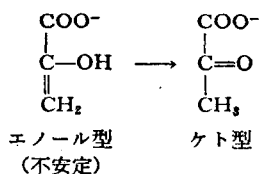
### 2.9.4 エノールリン酸

エノール型リン酸の高エネルギー化合物が加水分解するときは生成物の異性化が起るので自由エネルギーが大きく減少する。ホスホエノールピルビン酸を例にとると



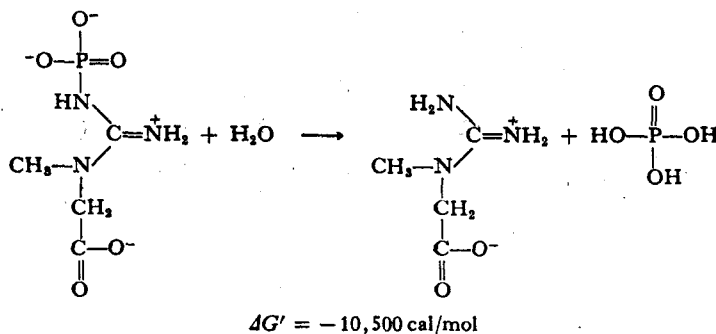
ピルビン酸のエノール型は不安定で存在しないが、リン酸エステル化された形では存在する。加水分解すると、まずエノール型が生じるが、直ちに異性化して安定なケト型になる(次頁構造式参照)。

この互変異性により自由エネルギーは約  $-8,000 \text{ cal/mol}$  も減少する。またホスホエノールピルビン酸の P-O 結合では  $sp_2$  混成軌道が用いられているが、これは  $sp_3$  混成軌道に比し弱い結合であるからそれだけこの化合物は不安定になっている。これら二つの因子による寄与の結果ホスホエノールピルビン酸の  $\Delta G'$  は  $-12,800 \text{ cal/mol}$  という大きな値となる。

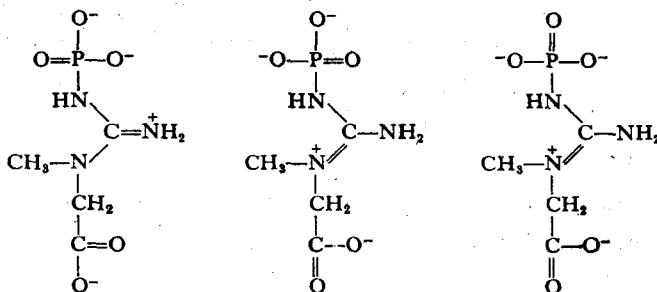


## 2.9.5 グアニジウムリン酸化合物

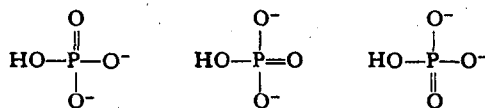
クレアチンリン酸も高エネルギーリン酸化合物であるが、この物質の水解に際しては生成物のイオン化、異性化はない。したがって加水分解のエネルギー安定化の理由は他に求めねばならない。



いまクレアチンリン酸の共鳴構造と加水分解物のそれとを調べてみよう。クレアチンリン酸の共鳴構造は12種類ある。そのうち3種を下に示す。

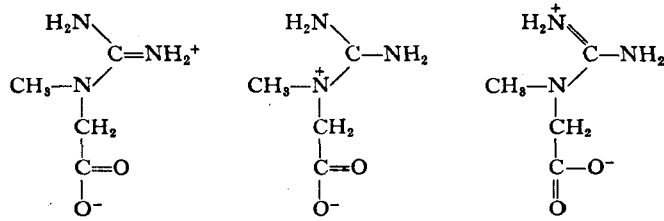


クレアチンリン酸の加水分解が生ずるリン酸は次の三つの共鳴構造をもつ。

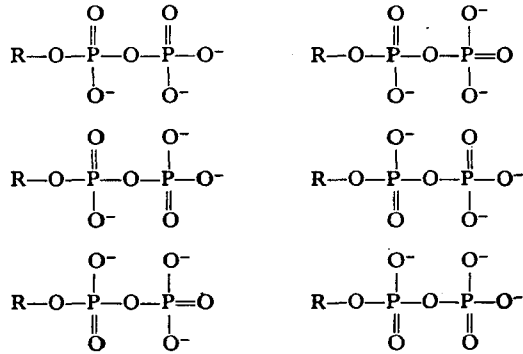


またクレアチンには6種の共鳴構造がある。そのうち三つを次頁(上段)に示す。

両者を合すると18種の共鳴構造が考えられる。クレアチンリン酸が高エネルギー化合物である理由は、加水分解による反応生成物が共鳴により、より一層安定化されるためである(共鳴構造の数が多いほど物質は安定である)。



このような共鳴構造に基づく安定化は、ATP、ADP やチオエステルなどの場合も考えられる。すなわち、ADP には次の6個の共鳴構造がある。



ATP の加水分解により ADP と無機リン酸が出来る時、無機リン酸の共鳴構造は3個であるから両者合せて結局  $3 \times 6 = 18$  種の共鳴構造が考えられる。一方、ATP の共鳴構造は12種類しかないから加水分解産物のほうが安定になるのである。

以上のような高エネルギー化合物に比べ、グルコース 6-リン酸のような物質は水解による自由エネルギーの減少が  $-2,000 \sim -3,000 \text{ cal/mol}$  で、これらは一般に低エネルギー化合物と呼ばれる。





## 第3章 タンパク質と酵素

### 3.1 タンパク質

#### 3.1.1 タンパク質の生物学的役割

生体を構成している物質の中でタンパク質 (protein, Eiweiß) は生命現象に直接に関係している重要な物質である。植物においてはタンパク質に乏しく、ほとんどセルロースなどの含水炭素からなっているものもあるが、人体においては乾燥重量の約半分はタンパク質である。

タンパク質は生命現象のある所に必ず存在している。成長、増殖はタンパク質と核酸の表す現象であるといえよう。生体内における複雑な化学変化はすべて酵素によって触媒されているが、酵素はタンパク質である。ホルモンの多くのものがタンパク質かあるいはペプチドである。免疫反応は個体、あるいは臓器にとって異種のタンパク質 (抗原, antigen) と血清中に存在する  $\gamma$ -グロブリンに属するタンパク質 (抗体, antibody) との反応である。更に皮膚、毛、骨などの動物の支持組織の主要成分はタンパク質である。

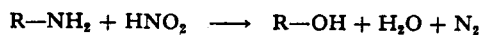
このようにタンパク質は生命現象の示す多種多様の化学反応に直接に関係しているが、その化学構成はむしろ単純である。すなわち 20 余種のアミノ酸がペプチド結合によって連なった巨大分子である。しかしアミノ酸の組成、ペプチド鎖におけるアミノ酸残基の配列の仕方によって無数の種類のタンパク質の存在が可能である。同じ作用をもったタンパク質であっても、生物の種により、同一の個体においても臓器により、組織により、タンパク質は異なる。更にヘモグロビン、アルドラーゼのように発生の時期により構造が異なるタンパク質も知られている。

#### 3.1.2 ペプチド結合

タンパク質は水解されると 20 余種のアミノ酸を与える。これらのアミノ酸はプロリン、ヒドロキシプロリンを除いてすべてカルボキシル基の隣の炭素 ( $\alpha$  位の炭素) 原子にアミノ基が結合した  $\alpha$ -アミノ酸であって、グリシンの他はすべて  $\alpha$ -位の炭素は不斉炭素原子であり L 型の光学活性を示す L-アミノ酸である。タンパク質はこれらのアミノ酸が互いにペプチド結合によって結合されて出来たポリペプチド (polypeptide) である (図 3.1)。

タンパク質がアミノ酸のペプチド結合によって構成されていることは水解によって同数のアミノ基とカルボキシル基が同時に遊離してくることにより間接的に証明できるが、直接的にはアミノ酸からペプチドを化学合成し、それが天然のものと同一であることを示せばよい。

遊離アミノ基は酢酸酸性において亜硝酸と反応して発生する窒素ガスを測定することにより定量できる (van Slyke のアミノ窒素測定法)。



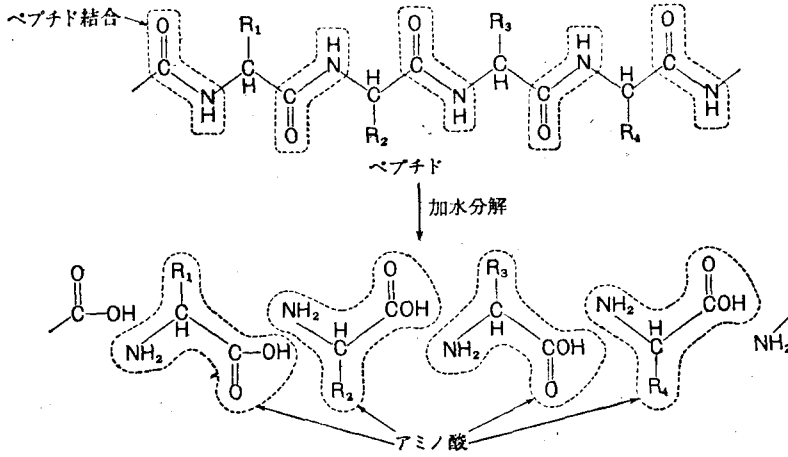


図 3.1

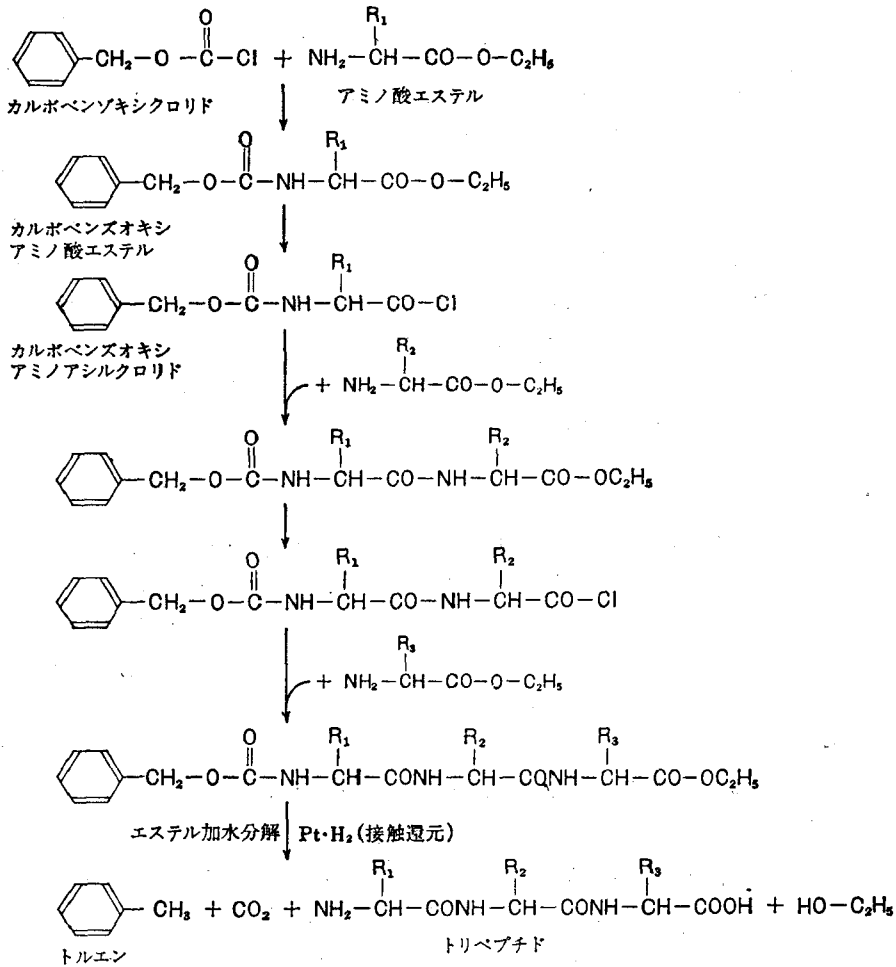
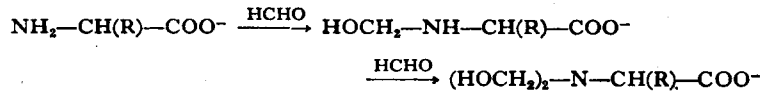
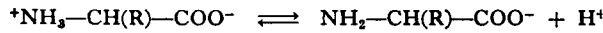


図 3.2 カルボベンゾキシクロリドによるペプチドの合成

また遊離のアミノ基はホルムアルデヒドと反応すると次式に示すようにモノメチロール又はジメチロール誘導体を生じる。



これらは第二級ないしは第三級アミンであるから解離性が低い。したがって次に示すアミノ酸の解離平衡は右にずれることになる。



その結果、新たに  $\text{H}^+$  が遊離される。この  $\text{H}^+$  をアルカリで滴定すればアミノ基を定量することができる (Sørensen のホルモール滴定法)。

ペプチドの化学合成は E. Fischer によって始められたが原理的には M. Bergmann (1932) によって完成されたといえる。すなわちカルボベンゾキシクロリド (carbobenzoxychloride) を用いたペプチド合成法である。図 3.2 にその方法の原理を示した。更に縮合試薬としてジシクロヘキシルカルボイミド等の利用により 1962 年にはインシュリンの、1969 年にはリボヌクレアーゼの、化学全合成が成功している (図 3.3)。

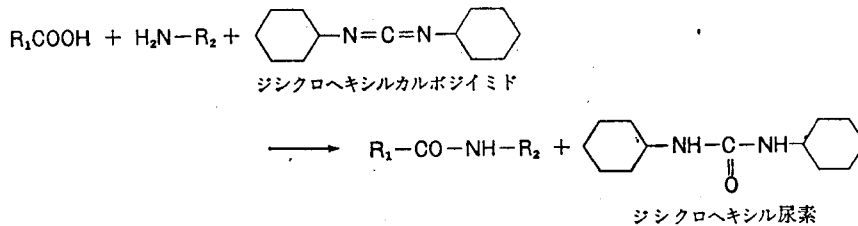
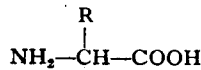


図 3.3 ジシクロヘキシルカルボジイミドによる縮合反応

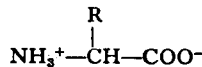
### 3.1.3 アミノ酸

#### 1) アミノ酸の性質

##### i) 両性電解質 アミノ酸は一般に

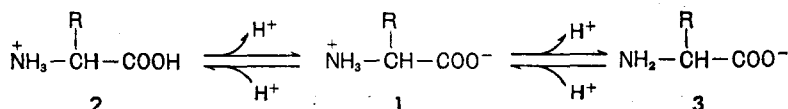


と記されるが、水溶液中ではこの構造で存在しているのではなく、ほとんどすべてイオン化した構造



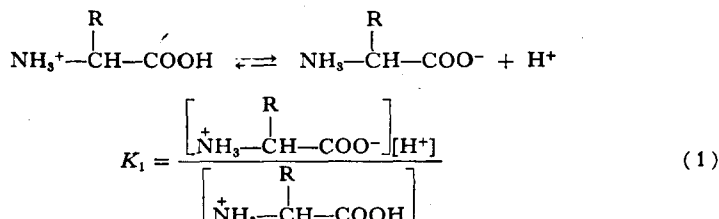
で存在している。このように同じ分子内に陽イオンと陰イオンとを同時に持っている物質を両性電解質 (ampholyte)、あるいは双極イオン (zwitterion) と呼ぶ。

したがってアミノ酸は水溶液中では溶液の反応によって次の平衡が成立している：

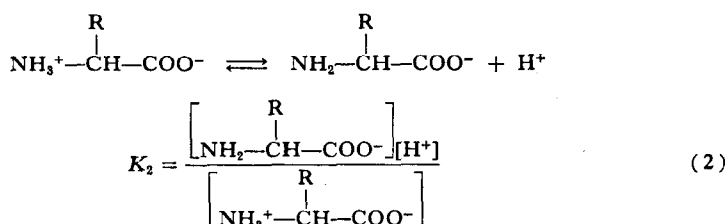


溶液の反応が酸性に傾けばアミノ酸のカルボキシル基は  $\text{H}^+$  イオンを結合して電荷を失い (2), 逆に溶液がアルカリ性に傾けば陽電荷をもったアミノ基は電荷を失う (3). このようにアミノ酸のカルボキシル基とアミノ基はカルボン酸, あるいはアミン類と同様に質量作用の法則に従って解離する.

すなわち: カルボキシル基に対しては



アミノ基に対しては,  $-\text{NH}_3^+$  を Brønsted の酸基と考えると



$\text{pH} = -\log[\text{H}^+]$ ,  $\text{pK} = -\log K$  とすれば, (1) 式より

$$\text{pH} = \text{pK}_1 + \log \frac{[\text{NH}_3^+ - \text{CH} - \text{COO}^-]}{[\text{NH}_3^+ - \text{CH} - \text{COOH}]} \quad (3)$$

(2) 式より

$$\text{pH} = \text{pK}_2 + \log \frac{[\text{NH}_2 - \text{CH} - \text{COO}^-]}{[\text{NH}_3^+ - \text{CH} - \text{COO}^-]} \quad (4)$$

実験的には  $\text{pK}_1$  及び  $\text{pK}_2$  値は (3) 式あるいは (4) 式からわかるように解離分子種(分子)と未解離分子種(分母)の濃度が等しくなる時の pH の値として求めることができる. 一般にアミノ酸のカルボキシル基の解離定数は  $\text{pK}_1$  として 2.2 付近であり, アミノ基の  $\text{pK}_2$  は 9.0~9.8 である.

このような両性電解質の溶液ではその陽電荷と陰電荷の総和が 0 になる pH が存在する. この pH をその両性電解質の等電点 (isoelectric point) と呼び  $\text{pI}$  で表す. 上のアミノ酸の場合には  $\text{pI}$  は

$$pI = \frac{(pK_1 + pK_2)}{2}$$

で与えられる。

次に代表的なアミノ酸の解離定数と等電点を示した (表 3.1)。

表 3.1 アミノ酸の解離定数と等電点

アミノ酸	pK <sub>1</sub>	pK <sub>2</sub>	pK <sub>s</sub>	pI
グリシン	2.35	9.78		6.1
アラニン	2.34	9.87		6.1
バリン	2.32	9.62		6.0
ロイシン	2.36	9.60		6.0
イソロイシン	2.36	9.68		6.0
セリン	2.21	9.15		5.7
トレオニン	2.63	10.43		6.5
グルタミン酸	2.19 (α-COOH)	4.28 (γ-COOH)	9.66 (α-NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )	3.2
アスパラギン酸	2.09 (α-COOH)	3.87 (β-COOH)	9.82 (α-NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )	3.0
リジン	2.18 (α-COOH)	8.95 (α-NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )	10.53 (ε-NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )	9.7
アルギニン	2.08 (α-COOH)	9.04 (α-NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )	12.48 (グアニジウム)	10.8
ヒステジン	1.77 (α-COOH)	6.10 (イミダゾール)	9.18 (α-NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )	7.6
システイン	1.96 (α-COOH)	8.18 (-SH)	10.28 (α-NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )	5.1
メチオニン	2.28	9.21		5.8
フェニルアラニン	2.58	9.24		5.9
チロシン	2.20 (α-COOH)	9.1 (α-NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )	10.1 (フェノール-OH)	5.7
トリプトファン	2.38	9.39		5.9
プロリン	2.00	10.60		6.1
ヒドロキシプロリン	1.92	9.73		5.8

ii) アミノ酸の一般反応

**ニンヒドリン反応** アミノ酸の中性溶液にニンヒドリン (Ninhydrin: triketohydrindene) を加えて加熱すれば液は青紫色を呈する。この反応はアミノ基とカルボキシル基とニンヒドリンの反応であって、α-アミノ酸及びペプチドに対しては非常に鋭敏な反応である。アミノ酸の定量法としても利用されている。その反応を図 3.4 に示す。

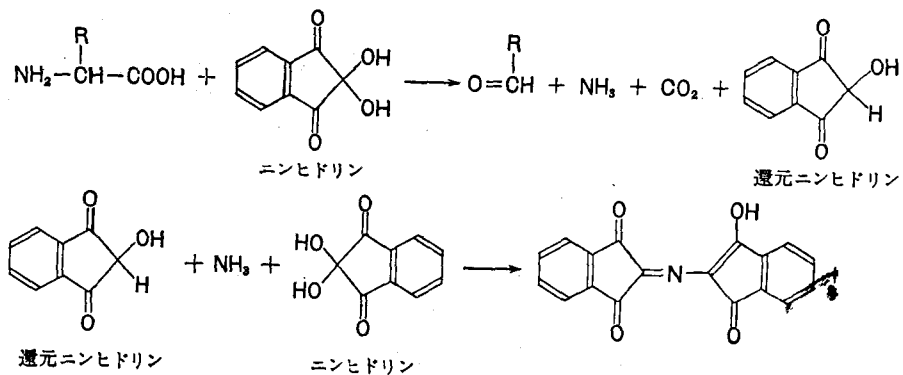
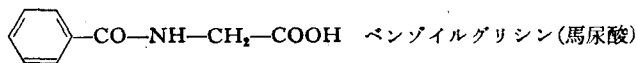
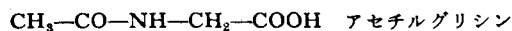


図 3.4

ニンヒドリン反応はタンパク質でも鋭敏であるが、この場合には溶液は沈殿を生じる。イミノ酸では黄色を呈す。なおアミン類、尿素等も陽性である。

**カルボキシル基の反応** カルボキシル基はアルコールと反応してアミノ酸エステルを形成し、アンモニアと反応して酸アミドを形成する。

**アミノ基の反応** カルボキシル基と反応して *N*-アシルアミノ酸を形成する。尿中から種々の *N*-アシルグリシンが検出されている。



## 2) アミノ酸の分離・同定: アミノ酸のクロマトグラフィー

タンパク質のアミノ酸組成を知ることはタンパク質の化学構造を解明するために必要な事項である。そのためにはタンパク質を水解し、得られたアミノ酸混合物を個々のアミノ酸種に分離し、それらをそれぞれ同定し、定量する方法がとられる。その方法として一般には滷紙クロマトグラフィーとイオン交換カラムクロマトグラフィーが用いられている。

i) 滷紙クロマトグラフィー 水分を含む支持体、例えば滷紙を水で飽和した有機溶媒に浸すと、有機溶媒は毛管現象によって滷紙中を展開してゆく。今滷紙の一定の場所に少量の試料を塗布すれば有機溶媒の展開につれて試料は滷紙内の水と有機溶媒との間に成立する分配率に見合った割合で滷紙中を流れてゆく。それぞれの有機溶媒に対する分配の値はアミノ酸によって異なっているので有機溶媒が展開してゆくにつれてアミノ酸は漸次互いに分離される。このような原理でアミノ酸に限らず、混合試料を分離する方法を一般に分配クロマトグラフィー (partition chromatography) と呼ぶ。支持体中の水相を固定相、展開される有機溶媒を可動相とよぶ。試料の展開距離に対する、可動相の展開距離の比を *R<sub>f</sub>* (rate of flow) とよぶ。*R<sub>f</sub>* は試料の固定相と可動相の分配率だけでなく滷紙に対する吸着、分子量、その他温度等によって変化する。一般に可動相により溶け易い試料の *R<sub>f</sub>* は 1 に近く、固定相により溶け易い試料の *R<sub>f</sub>* は 0 に近い。

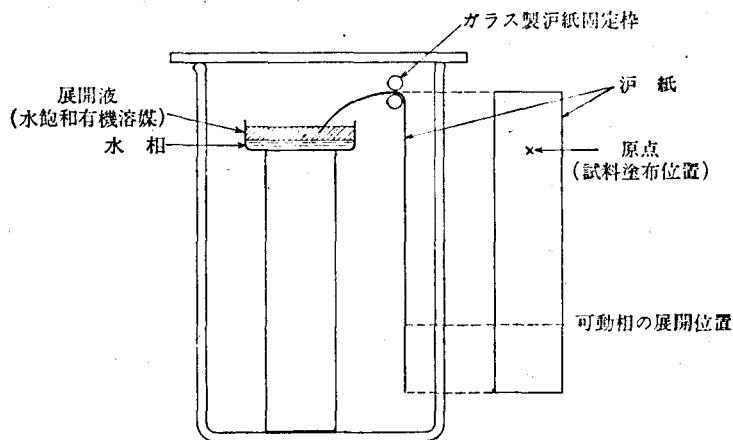


図 3.5 下降式滷紙クロマトグラフィー

濾紙クロマトグラフィーによって分離された各アミノ酸は前述のニンヒドリン反応によって濾紙上に発色斑として検出できる。既知のアミノ酸試料と比較すれば未知試料のアミノ酸を同定することができる。タンパク質の水解産物のように20余種のアミノ酸からなる混合試料の場合には一方向だけ

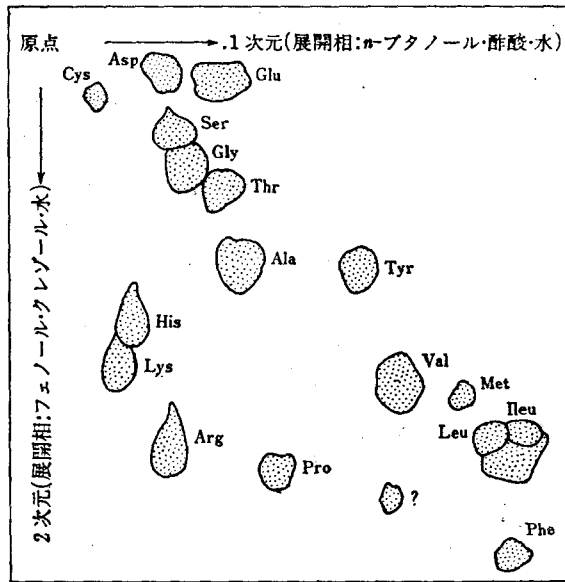


図 3-6 2次元濾紙クロマトグラフィーの1例  
(Haurowitz, Biochemistry, an Introductory Textbook, p. 135 Wiley, N. Y. 1955)

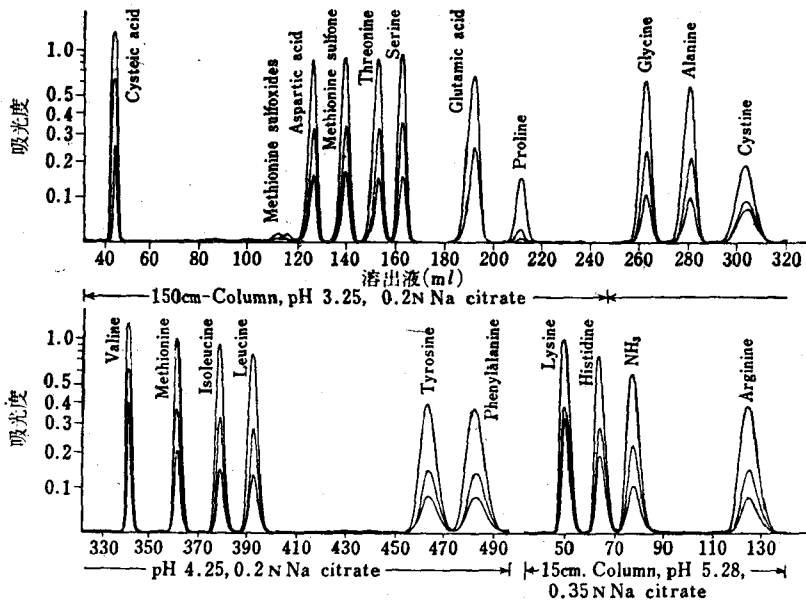


図 3-7 アミノ酸混合物のカラムクロマトの例  
(Spackman, et al., Anal. Chem. 30, 1190, (1958))

の展開では分離が不十分であるので 40~50 cm 平方の正方形の 汚紙を用い直角に二つの方向にそれぞれ別種の可動相を用いて展開するのが普通であり、2次元クロマトグラフィーと呼ばれている。

ii) イオン交換カラムクロマトグラフィー アミノ酸の混合試料の各アミノ酸の同定と定量は前記の汚紙クロマトグラフィーによって汚紙上に検出されたニンヒドリン発色斑を溶剤を用いて抽出して比色すれば大略の値はえられる。しかし正確にはイオン交換カラムクロマトグラフィーを用いて測定するのが一般である。

イオン交換基として酸又は塩基をスチレン系の樹脂に結合したものをガラス管につめて、これにアミノ酸の混合試料を重ね、特定の pH で溶出すればアミノ酸はそれぞれの特定の荷電によって、それぞれ特有な交換速度で溶出されてくるから、溶出液を順次定量することによって混合液中のアミノ酸の種類と量とが同時に決定できる。実際の実験には各アミノ酸の分離を鋭くするために、数種のイオン交換樹脂をつめたカラムを連続し、溶出と溶出液のアミノ酸定量とを自動的にを行う装置——アミノ酸分析装置 (amino acid analyser)——が用いられている。

### 3.1.4 タンパク質の化学構造

#### 1) タンパク質のアミノ酸配列：タンパク質の第1構造

タンパク質のペプチド鎖を構成するアミノ酸の配列順序をタンパク質のアミノ酸配列、又はタンパク質の第1構造という。タンパク質の立体構造も第1構造によって一義的に決まると考えられている。この理由からタンパク質の第1構造を決定することは、タンパク質の化学特性を解明するうえで重要な問題である。

タンパク質の第1構造はペプチド鎖の末端に位置しているアミノ酸残基、すなわち遊離  $\alpha$ -アミノ基を有するアミノ末端アミノ酸残基 (N-末端アミノ酸残基) と遊離  $\alpha$ -カルボキシル基を有するカルボキシ末端アミノ酸残基 (C-末端アミノ酸残基) の同定と、これらの末端アミノ酸残基に隣接するアミノ酸残基を順次同定する方法が用いられている。この場合タンパク質そのものを用いるよりは、タンパク質を定まった位置で小鎖に水解して、各小鎖ペプチドを分離し、それらのアミノ酸残基の配列を決定し、結果を総合して元のタンパク質のアミノ酸配列を求める方法がとられている。このような部分分解の方法としては、トリプシン、キモトリプシン等のような基質特異性のはっきりしたタンパク質分解酵素を用いるか、メチオニン残基に作用してその位置でペプチド鎖を開裂する作用のあるプロムシアンのような試薬を用いて化学的に分解する方法が用いられる。

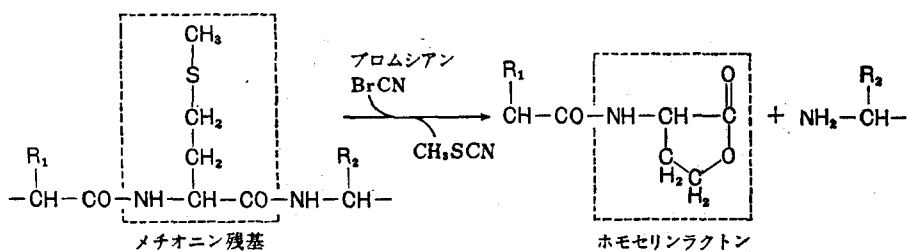


図 3.8 プロムシアンによるメチオニルペプチド結合の開裂

N-末端アミノ酸残基の同定は遊離アミノ基をジニトロフルオロベンゼン (DNFB) によってジニト



ロフェニル化 (DNP 化) し, 生じた DNP-ペプチドを水解して DNP-アミノ酸を分離し, 他のアミノ酸と区別する方法 (Sanger の DNFB 法) が用いられている. その後, 高いけい光を示す 5-ジメチルアミノナフタレン-1-スルホニルクロリド (Dansyl-chloride) が高感度の末端アミノ基のアセチル化剤としてよく用いられている (図 3.9).

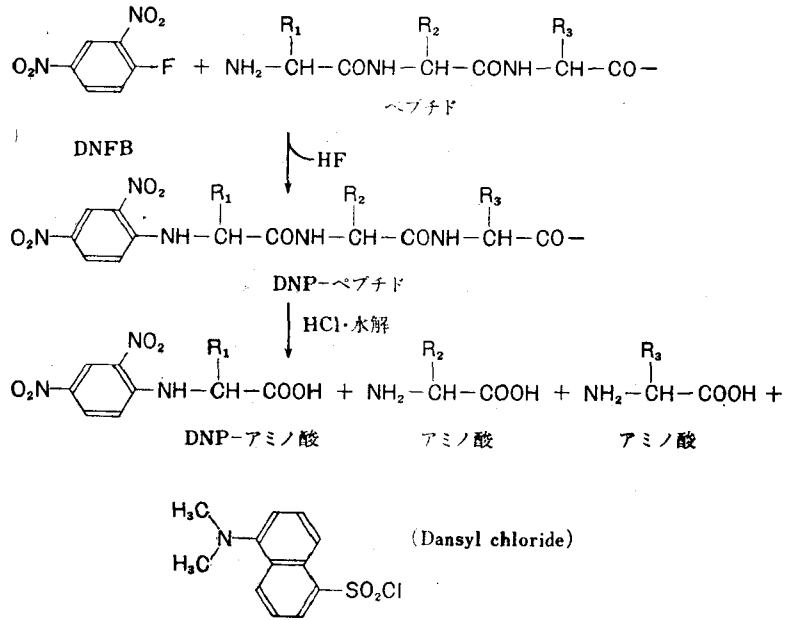


図 3.9

ペプチド鎖の N-末端アミノ酸残基とそれに接するアミノ酸残基を順次同定する方法としてチオヒダントイン法がある. この方法はフェニルチオイソシアネートが N-末端アミノ酸残基と反応してフェニルチオヒダントインを生成すると共に, N-末端アミノ酸残基に隣接していたアミノ酸残基の α-アミノ基が遊離する. したがってペプチド鎖を水解することなしにアミノ末端アミノ酸を同定できる. 残ったペプチドを分離して同じ操作を繰り返せば, ペプチド鎖のアミノ酸残基は N-末端側から

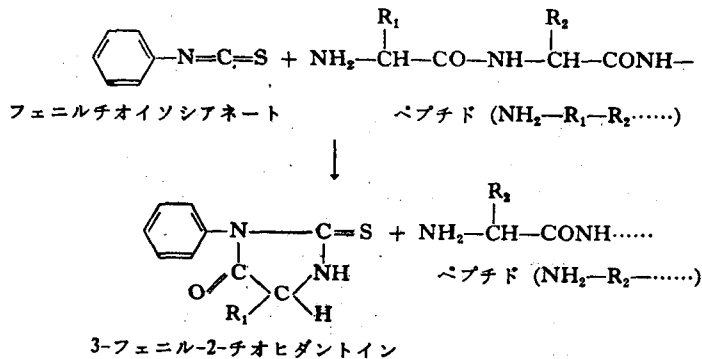


図 3.10

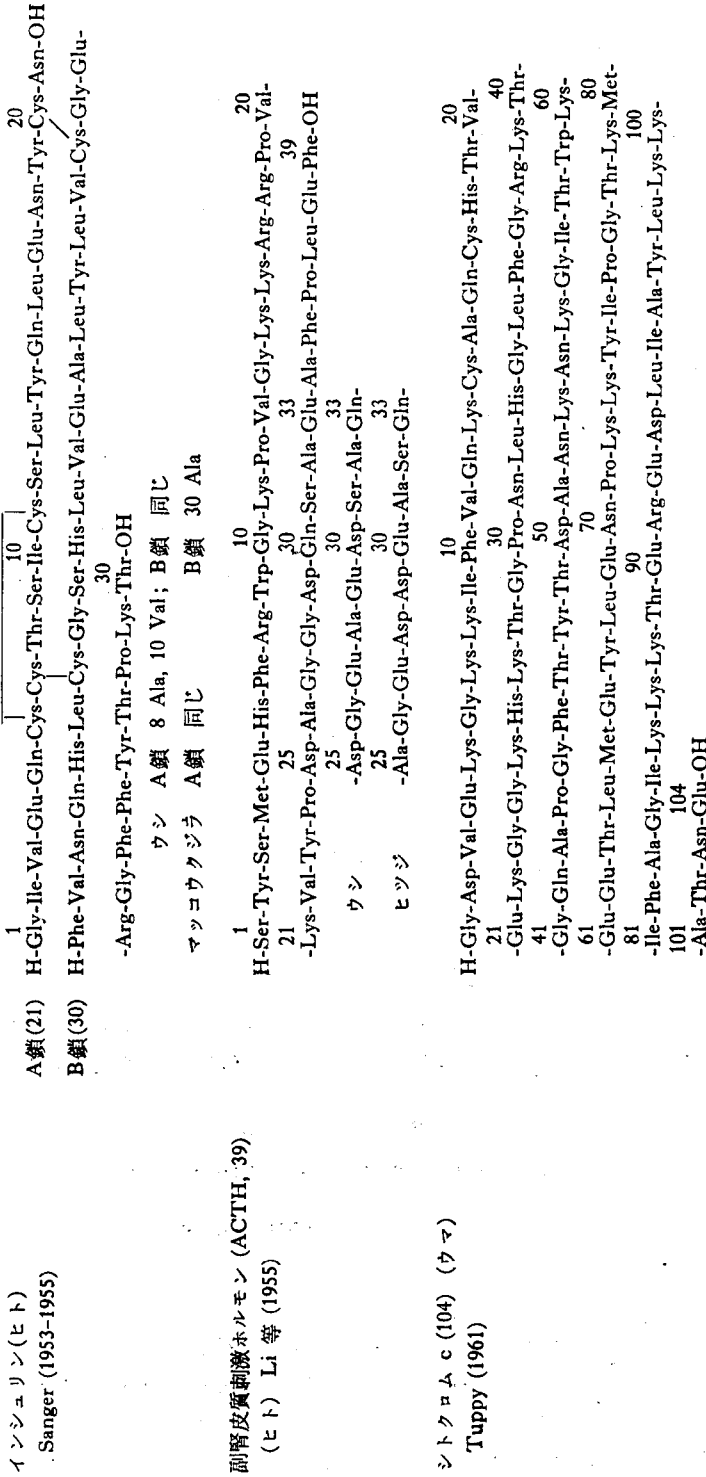


図 3-11 タンパク質のアミノ酸配列 (1)

11-791-7

	1	2	3	4	5	10	15
$\alpha$	Val-	-Leu-Ser-Pro-Ala-Asp-Lys-Thr-Asn-Val-Lys-Ala-Ala-Try-Gly-Lys-Val-Gly-Ala-					
$\beta$	Val-His-Leu-Thr-Pro-Glu-Glu-Lys-Ser-Ala-Val-Thr-Ala-Leu-Try-Gly-Lys-Val-Asn-						
$\gamma$	Gly-His-Phe-Thr-Glu-Glu-Asp-Lys-Ala-Thr-Ile-Thr-Ser-Leu-Try-Gly-Lys-Val-Asn-						
	20	25	30	35			
$\alpha$	His-Ala-Gly-Glu-Tyr-Gly-Ala-Glu-Ala-Leu-Glu-Arg-Met-Phe-Leu-Ser-Phe-Pro-Thr-						
$\beta$	-Val-Asp-Glu-Val-Gly-Gly-Glu-Ala-Leu-Gly-Arg-Leu-Leu-Val-Val-Tyr-Pro-Try-						
$\gamma$	-Val-Glu-Asp-Ala-Gly-Gly-Glu-Thr-Leu-Gly-Arg-Leu-Leu-Val-Val-Tyr-Pro-Try						
	40	45	50				
$\alpha$	Thr-Lys-Thr-Tyr-Phe-Pro-His-Phe-	-Asp-Leu-Ser-His-Gly-Ser-Ala-...					
$\beta$	Thr-Gln-Arg-Phe-Phe-Clu-Ser-Phe-Gly-Asp-Leu-Ser-Thr-Pro-Asp-Ala-Val-Met-Gly						
$\gamma$	Thr-Gln-Arg-Phe-Phe-Asp-Ser-Phe-Gly-Asn-Leu-Ser-Ser-Ala-Ser-Ala-Ile-Met-Gly						
	55	60	65	70			
$\alpha$	-Gln-Val-Lys-Gly-His-Gly-Lys-Lys-Val-Ala-Asp-Ala-Leu-Thr-Asn-Ala-Val-Ala						
$\beta$	Asn-Pro-Lys-Val-Lys-Ala-His-Gly-Lys-Lys-Val-Leu-Gly-Ala-Phe-Ser-Asp-Gly-Leu-Ala						
$\gamma$	Asn-Pro-Lys-Val-Lys-Ala-His-Gly-Lys-Lys-Val-Leu-Thr-Ser-Leu-Gly-Asp-Ala-Ile-Lys						
	75	80	85	90			
$\alpha$	His-Val-Asp-Asp-Met-Pro-Asn-Ala-Leu-Ser-Ala-Leu-Ser-Asp-Leu-His-Ala-His-Lys						
$\beta$	His-Leu-Asp-Asn-Leu-Lys-Gly-Thr-Phe-Ala-Thr-Leu-Ser-Glu-Leu-His-Cys-Asp-Lys						
$\gamma$	His-Leu-Asp-Asp-Leu-Lys-Gly-Thr-Phe-Ala-Gln-Leu-Ser-Glu-Leu-His-Cys-Asp-Lys						
	95	100	105				
$\alpha$	Leu-Arg-Val-Asp-Pro-Val-Asp-Phe-Lys-Leu-Leu-Ser-His-Cys-Leu-Leu-Val-Thr-Leu						
$\beta$	Leu-His-Val-Asp-Pro-Glu-Asn-Phe-Arg-Leu-Leu-Gly-Asn-Val-Leu-Val-Cys-Val-Leu						
$\gamma$	Leu-His-Val-Asp-Pro-Glu-Asn-Phe-Lys-Leu-Leu-Gly-Asn-Val-Leu-Val-Thr-Val-Leu						
	110	115	120	125			
$\alpha$	Ala-Ala-His-Leu-Pro-Ala-Glu-Phe-Thr-Pro-Ala-Val-His-Ala-Ser-Leu-Asp-Lys-Phe-Leu						
$\beta$	Ala-His-His-Phe-Gly-Lys-Glu-Phe-Thr-Pro-Pro-Val-Gln-Ala-Ala-Tyr-Gln-Lys-Val-Val						
$\gamma$	Ala-Ile-His-Phe-Gly-Lys-Glu-Phe-Thr-Pro-Glu-Val-Gln-Ala-Ser-Try-Gln-Lys-Met-Val						
	130	135	140	141			
$\alpha$	Ala-Ser-Val-Ser-Thr-Val-Leu-Thr-Ser-Lys-Tyr-Arg						
$\beta$	Ala-Gly-Val-Ala-Asp-Ala-Leu-Ala-His-Lys-Tyr-His						
$\gamma$	Thr-Gly-Val-Ala-Ser-Ala-Leu-Ser-Ser-Arg-Tyr-His						
	135	140	141	142	143	144	145
							146

(Orten, Neuhaus: *Biochemistry* 1970, p. 599)

図 3.12 タンパク質のアミノ酸配列 (2) ヒトヘモグロビン

順次同定することができる。最近ではこの原理に従ってペプチド鎖のアミノ酸配列を自動的に決定する装置 (amino acid sequencer) が開発されて威力を発揮している。しかしこの装置を用いても決定し得るアミノ酸配列は N-末端から 10 数コまでのアミノ酸であって、タンパク質のように数百コのアミノ酸残基からなるペプチド鎖は、まず部分水解によって小鎖ペプチドに分解し、これを分離してそのアミノ酸配列を決定するのが普通である。

ペプチド鎖の C-末端アミノ酸残基の化学的同定法としてはヒドラチン分解法(赤堀)がある。この方法はペプチドをヒドラチンと加熱するとペプチド結合は分解され、それぞれのアミノ酸のヒドラチドを生成するが、C-末端アミノ酸残基は遊離アミノ酸として分離されることを利用したものである。

ペプチド鎖の C-末端アミノ酸残基とそれに隣接するアミノ酸残基を順次同定する方法としてカル

ボキシペプチダーゼ法がある。この方法はカルボキシペプチダーゼの作用により分離してくるアミノ酸を経時的に分離定量してアミノ酸の遊離速度から C-末端側のアミノ酸残基の配列を知る方法である。

以上のような方法によって多くのタンパク質分子、ポリペプチド分子のアミノ酸配列が決定されている。その代表的なものを図 3-11 と図 3-12 に示した。

なおポリペプチド鎖の配列を描く場合にはアミノ酸残基はそのアミノ酸の頭3文字のアルファベットで表し、左端にアミノ末端、右端にカルボキシル末端のアミノ酸残基をおく。例えばアラニンは、Ala、ヒスチジンは His 等である。ただしグルタミン酸とグルタミン、アスパラギン酸とアスパラギンはそれぞれ Glu, Gln と Asp, Asn と記す。システインは Cys, シスチンは Cys-Cys と記す。

## 2) タンパク質の立体構造

i) タンパク質の第2構造 ポリペプチド鎖の立体構造を解く前提として Pauling と Corey はあらかじめ簡単なアミノ酸のアミド、ジペプチド、ジケトピペラジン等のペプチド結合を有する物質の結晶構造を X 線解析を用いて解析を行い、次のような結論に達した。

① 検討されたいずれのペプチド結合も結合に関与する原子は1平面内にある(図 3-13)。これは N 原子とカルボニル炭素原子との結合がある程度二重結合の性質をもっているからである。このこ

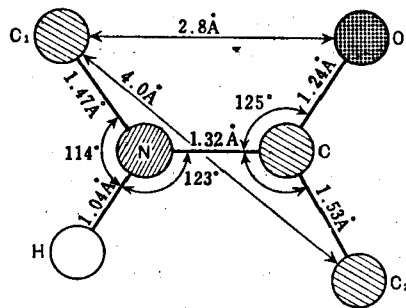
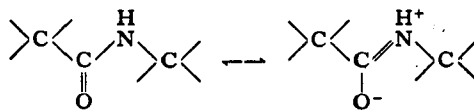


図 3-13 ペプチド結合の原子価角と原子間距離

とは C-N 結合の原子間隔は 1.48 Å, C=N 結合のそれは 1.28 Å であるのに対し、ペプチド結合の C, N 間隔は 1.32 Å であることから期待できる。つまりペプチド結合は次のような共鳴構造をとっていると考えられている。



② ペプチド結合をはさんで隣合った二つの  $\alpha$ -炭素原子は互いにトランス位に配座することによって炭素原子間の距離は van der Waals 距離に近くなり、エネルギー的に安定している。

③ 結晶ではポテンシャルエネルギー安定化のために最大限に水素結合が実現されている。それぞれのペプチド結合には1個の強い水素結合供与体 (>N-H) と1個の強い水素結合受容体 (C=O) がある。検討されたすべてのアミド及びペプチド結合では、この結合に関係しないペプチドの N と O

の距離は  $2.9 \pm 0.1 \text{ \AA}$  である。この距離は van der Waals 力による結合距離よりはるかに短い。これはアミド及びペプチドの分子間に NH と CO とによる水素結合が形成されているためと考えられている。この水素結合の  $N-H \cdots O$  結合は直線的か、あるいはほとんど直線に近い。

以上のような低分子の構造から導かれた結論が非結晶性のポリペプチドにも適用されうるといふ仮定と、最も安定な構造は常に "closely packed" の構造、いかえれば結合に関与していない原子群は一定の間隔——van der Waals 半径の和にできるだけ等しい間隔——をおいて他の結合に関与していない原子群によってとり囲まれているという仮定に立って Pauling と Corey は最も安定なポリペプチドの構造を提案した。

水素結合による安定化を最大限に考慮すると、cross linking が同じペプチド鎖の中で形成される場合と、ペプチド鎖とペプチド鎖の間に形成される場合の二つの模型が考えられる。

① 鎖内水素結合をもつ構造.  $\alpha$ -Helix 構造 同じペプチド鎖内において一つのペプチド結合の C:O 基と他のペプチド結合の -NH 基との間に水素結合が形成されるためには、ペプチド鎖

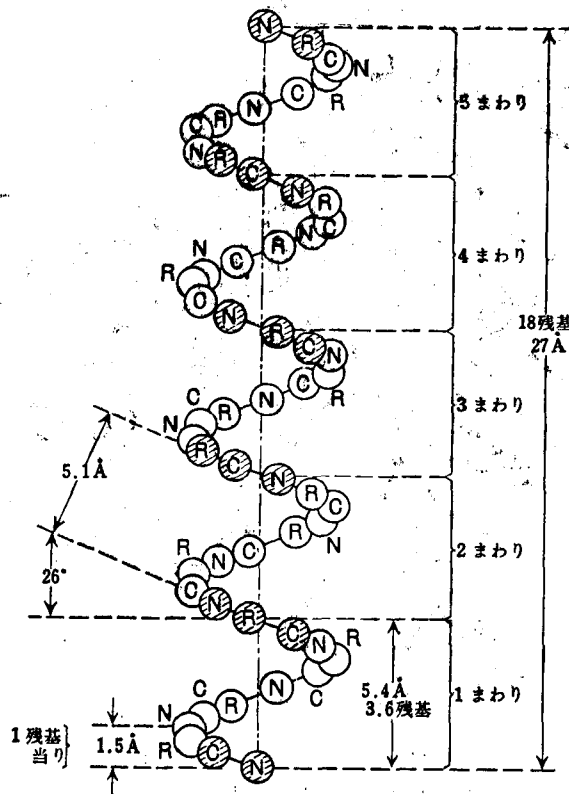


図 3.14 ポリペプチド鎖の  $\alpha$ -ヘリックス構造

$\text{\AA}$  はオングストローム、● は紙面より上、○ は紙面より下の原子を示す。L. Pauling, R. B. Corey, Proc. Intern. Wool Textile Research Conf., B. 249, 1955 による C. B. Anfinsen, "The Molecular Basis of Evolution", John Wiley and Sons, New York, p. 101, 1959 の図。

は適当な形にねじまげられた構造を取る必要がある。前述のようにペプチド結合は一つの平面構造にあるので回転が許されるのは  $\alpha$ -炭素原子とカルボニル炭素原子及びアミノ窒素原子との結合だけである。分子模形を用いて調べると、ポリペプチド鎖内では隣りあったペプチド結合の間では水素結合が作れないことがわかる。したがってもし分子内で水素結合が作られるとすると、それは共有結合で隣りあったもの同志ではなく、アミノ酸残基1コ以上隔たったペプチド間に作られねばならない。更に分子内で可能なすべての水素結合が形成されるためにはペプチド鎖は一定の繰り返し構造をとる必要がある。このようにして Pauling と Corey は一つのらせん構造 (helix) を提案した。これを  $\alpha$ -helix と呼ぶ。図 3-14 にその模型を示した。

1957年 Kendrew は X線解析を用いてミオグロビンの立体構造を明瞭にしたが、このタンパク質が実際に  $\alpha$ -helix 構造を取っていることが明らかになった。図 3-15 にミオグロビンの立体構造を示した。その後の研究で多くのポリペプチドや球状タンパク質が実際に  $\alpha$ -helix であることが報告されている。

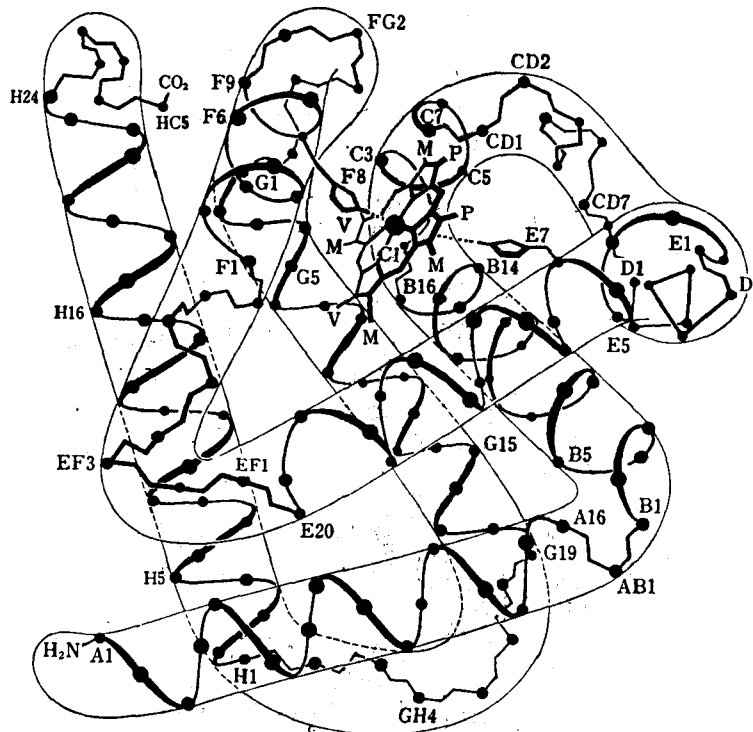


図 3-15 ミオグロビンの立体構造  
(Karlson: Biochemie 9版 p. 46 (1974))

② 鎖間水素結合をもつ構造 不溶性タンパク質の場合にペプチド鎖が  $\alpha$ -helix 構造をとらず、他のペプチド鎖との間に水素結合を作って cross link するものがある。毛髪の線維性タンパク質はケラチンと呼ばれているが、このタンパク質を高温で加熱しながら引張ると約2倍の長さになる。これは  $\alpha$ -helix 構造をとっていたケラチン ( $\alpha$ -ケラチン) が張力により引きのばされて鎖内水素結合が

切れ、鎖間水素結合を作って cross link した ( $\beta$ -ケラチン) ためと考えられている。このような場合にタンパク質はいわゆるひだ紙構造 (pleated sheet) を取るという。絹の線維タンパク質ヒプロインもこのようなひだ紙構造を取っていると考えられている。図 3-16 にひだ紙構造の模形を示した。

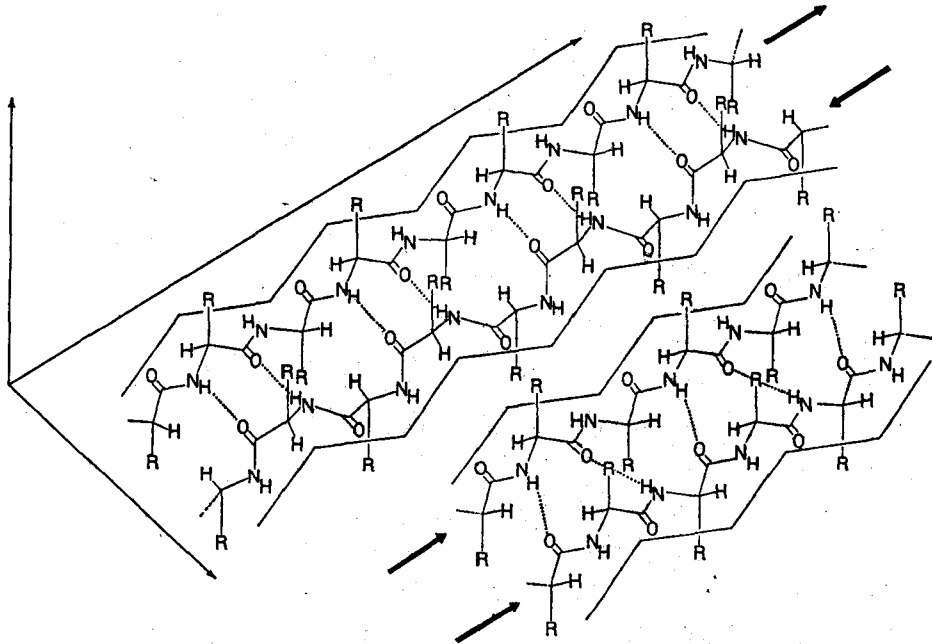


図 3-16 ひだ紙構造の模形

他方真皮、腱を構成する線維タンパク質であるコラーゲンも鎖間水素結合によって cross link した構造を取っている。このタンパク質を構成しているアミノ酸残基の約 1/3 はプロリンとヒドロキシプロリンが占めていて、このアミノ酸残基のためにコラーゲンのペプチド鎖はゆるいらせん状をしている。このペプチド鎖が3本互いに鎖間水素結合によってよじれ合った線維を作り(トロポコラーゲン)これが更に並行して集ってコラーゲン線維を作っていると考えられている。

以上  $\alpha$ -helix やひだ紙構造のように水素結合によって cross link した構造をタンパク質の第2構造と呼んでいる。

ii) タンパク質の第3構造 タンパク質の立体構造は水素結合の外にアミノ酸残基の側鎖の相互作用により更に強く cross link して安定な構造を保っている。すなわちリジン、アルギニンなどの塩基性アミノ酸残基やアスパラギン酸、グルタミン酸などの酸性アミノ酸残基の側鎖はそれぞれ陽電荷と陰電荷をもっており、これらが互いにイオン結合を作っていると考えられる。またフェニルアラニン、チロシンなどの芳香族アミノ酸残基の側鎖やロイシン、イソロイシン、バリンなどの疎水性アミノ酸残基の側鎖は van der Waals 力で結合する。特にこれらの基が溶媒の水と反発しあうことによって相互に強く結合するようになるとき、この結合を疎水性結合 (hydrophobic bond) と呼んでいる。

他方シスチン残基は -S-S 結合による共有結合によってペプチド鎖の間を結合している。この結合を SS 結合又はジスルフィド結合と呼んでいる。

このようにタンパク質は水素結合による第2構造に加えて、イオン結合、疎水性結合、SS 結合など

により更に安定化された構造を保っている。このような構造をタンパク質の第3構造と呼んでいる。

iii) タンパク質の第4構造: サブユニット タンパク質の多くのものは第3構造を持ったペプチドが数コ集まってその分子を構成している。このような構造をタンパク質の第4構造と呼ぶ。この第4構造を構成する単位ペプチドをサブユニット (subunit) と呼ぶ。例えばホスホリラーゼ-a は4コと同じ種類のサブユニットからなる4量体である。このような構成を均一第4構造と呼ぶ。これに対しヘモグロビンも4コのサブユニットからなるタンパク質であるが2種類の異なったペプチドがそれぞれ2コずつ集まって出来た4量体である。このような構成を不均一第4構造と呼ぶ。

多くの酵素は第4構造を取っている。これらの酵素は第4構造を取った時に活性を示し、サブユニットのままでは活性はないと考えられている。酵素の第4構造のサブユニットへの解離と会合が酵素作用の調節に関係している場合が知られている(49頁, アイソザイムの項参照)。

### 3.1.5 タンパク質の物理化学的特性

#### 1) 分子量

一般の有機化合物の分子量は沸点上昇, 氷点降下等の分子数, すなわちモル濃度に比例する物理化学的特性を利用して測定されるが, タンパク質のような巨大分子の場合には, これら物理化学的特性の変化量を正確に測定できる濃度の溶液 (0.01~0.1 M) を調製することが困難であるとともに, タンパク質に混存する微量の小分子不純物によって激しく影響を受けるために利用できない。したがってタンパク質の分子量は分子の大きさに関係する物理化学的特性が利用されている。

i) 沈降速度による分子量の測定 溶液中の溶質粒子が遠心力を受けて沈降する速度は遠心力の強さ, 粒子の大きさ, 形, 密度及び溶媒の密度によって定まる。しかしタンパク分子が実際に沈降するためには重力の数十万倍の遠心力が必要である。Svedberg は, 1925年にこのような目的にかなう高い回転数を持った遠心器——超遠心器 (ultracentrifuge)——を製作し, これによってタンパク質の分子量の測定が可能になった。

今, 沈降速度を  $\frac{dx}{dt}$  とすれば

$$\frac{dx}{dt} = s\omega^2 x \quad (5)$$

$x$  は粒子の中心からの距離,  $\omega$  は角速度である。タンパク質の分子量  $M$  は次式で与えられる。

$$M = \frac{RTs}{(1-\rho_L/\rho_P)D} \quad (6)$$

$R$  は気体定数,  $T$  は絶対温度,  $D$  は拡散定数,  $\rho_L$  は溶媒の密度,  $\rho_P$  はタンパク質の密度である。

$S$  は粒子に特有な定数で沈降定数と呼ばれ, タンパク質の場合には一般に  $10^{-13}$  sec の大きさである。  $1 \times 10^{-13}$  sec を 1 S (Svedberg 単位) と呼び  $S$  で表す。次頁に実測された沈降定数と分子量を示した。

ii) ゲル透過法 タンパク分子の大きさにほぼ匹敵する程度の大きさの網目を持った粒子をタンパク質溶液に加えると, 小さいタンパク分子はその網目の中により容易に入りうるが, 大きいタンパク分子はその網目に入りにくい。このような一定の大きさの網目をもった粒子を支持体としてガラス管につめてタンパク質溶液を溶出すれば, 大きいタンパク分子はより速やかに溶出され, 小さいタンバ



タンパク質	$s_{20}(S)$	$D \times 10^7$ $\text{cm}^2 \text{sec}^{-1}$	$1/\rho_p$ $\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$	$M$ $\text{g mol}^{-1}$
リボスクレアーゼ	1.85	13.6	0.709	12,700
シトクロム c	1.9	10.1	0.707	15,600
ペプシン	3.3	9.0	0.75	35,500
卵白アルブミン	3.60	7.8	0.75	44,700
フマラーゼ	8.51	4.05	0.75	204,000
ウレアーゼ	18.6	3.46	0.73	480,000
タバコモザイクウイルス	17.4	0.3	0.727	59,000,000

ク分子は遅れて溶出される。このような原理によって分子を篩い分けする方法をゲル濾過法、あるいは分子篩法と呼ぶ。この方法を用いて分子量既知のタンパク質と溶出速度を比較することにより未知試料のタンパク質の分子量を求めることができる。

この目的に用いられる支持体としてはゼキストラン(セファデックス)、ポリアクリルアミドゲル、ガラス等の粒子があり、市販されている。

iii) ドデシル硫酸を用いたディスク電気泳動法による分子量の測定 タンパク質の分子量は後述するディスク電気泳動法によって測定することができる。タンパク質は水溶液中ではそれぞれ個有な電荷を持っているので、ある一定の pH で直流電圧をかけるとそれぞれ個有の電荷に従って電極へ向かって泳動する。しかしタンパク質溶液に一定濃度のドデシル硫酸ナトリウムを加えるとドデシル硫酸がタンパク質の表面に結合してすべてのタンパク質の陰電荷の密度が等しくなる。したがって分子篩作用をもった支持体を用いて泳動すればタンパク質はそれぞれに個有な電荷で泳動するのではなく、同じ密度の陰電荷をもった粒子として泳動するから、支持体の分子篩作用によって分子量の小さいものほど速く泳動する。この方法によって分子量既知のタンパク質を同時に泳動することによって未知試料の分子量を知ることができる。分子篩作用を持った支持体としてはアクリルアミドを化学的に重合して作ったポリアクリルアミド・ゲルが用いられている(次頁、電気泳動法の項参照)。これを SDS-ディスク電気泳動法と呼ぶ。

## 2) タンパク質の溶解度

多くのタンパク質は塩類を含まない水溶液には溶解しにくい。ある種のタンパク質はほとんど溶解しない(オイグロブリン)。この水溶液に塩類を加えるとタンパク質は溶解してくる。この現象を“salting in”と呼ぶ。これはタンパク質の荷電基が塩類イオンと相互作用をおこし、溶解度が増すためと考えられる。しかし塩類濃度を更にあげていくとタンパク質は再び沈殿してくる。これは塩類のために水の有効濃度(活量)が低下し、タンパク質と水との相互作用よりも、タンパク質とタンパク質の相互作用が増すためと考えられる。この現象を salting out 塩析という。

タンパク質の溶解性は塩類の濃度(重量濃度、あるいはモル濃度)よりもイオン強度に依存する。モルイオン強度(molar ionic strength)を  $\Gamma/2$  で表すと

$$\Gamma/2 = \frac{\sum C_i Z_i^2}{2}$$

で与えられる。 $C_i$  は  $i$  番目のイオンのモル濃度、 $Z_i$  はそのイオンのもつ電荷である。

塩析に対するタンパク質の濃度と塩類のイオン強度との関係は次式で表される。

$$\log S = \beta' - K_s' \frac{I}{2}$$

$S$  はタンパク質の溶解度 (g/l),  $\beta'$  はイオン強度零における仮想的な溶解度の対数,  $K_s'$  は塩析定数である。  $K_s'$  は比較的大きい定数であって、イオン強度のわずかな変化によって溶解度は大きい影響を受ける。

### 3) タンパク質の電気的性質

タンパク質はペプチド鎖の N-末端及び C-末端の他に構成アミノ酸残基の側鎖にある解離基のために溶液中ではそのタンパク質に特異的な荷電状態をとっている。したがってタンパク質溶液の pH を変化すればタンパク質の荷電状態は大きく変化する。ある特定の pH においてはタンパク質の陽電荷と陰電荷の数が等しく、すなわち実効電荷 (net charge) が零になる pH が存在する。この pH をタンパク質の等電点 (isoelectric point) と呼び、タンパク質によって定まった値をもっている。等電点においてはタンパク質の実効電荷は零となるが荷電基の総和はむしろ最大である。タンパク質は等電点において溶解度が最低となり、最も沈殿しやすい。

### 4) 電気泳動法

タンパク質をある値の pH をもった緩衝液に溶かすと等電点が緩衝液の pH よりも酸性側にあるタンパク質は実効電荷が負となり、一方等電点が緩衝液の pH よりもアルカリ側にあるタンパク質は実効電荷が正となる。したがってこのようなタンパク質溶液に直流電圧を加えると、実効電荷が正のタンパク質は陰極に、実効電荷が負のタンパク質は陽極に向かって移動する。この現象を電気泳動 (electrophoresis) と呼ぶ。その際、タンパク質の移動速度は泳動速度あるいは易動度 (mobility) と呼ばれ、1 cm 当り 1 ボルトの電圧勾配において 1 秒間に移動する距離 (cm) で表す。

電気泳動法は膠質化学の領域においては古くから利用されていた方法であったが、1937年 Tiselius

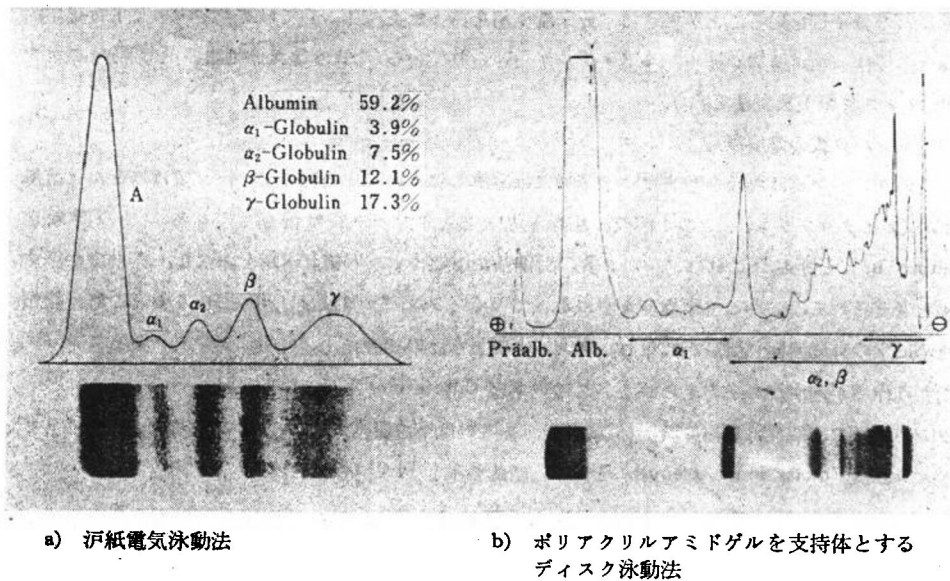


図 3-17 ヒト血清の電気泳動像  
(Karlson: Biochemie 9版 p. 55 (1974))

はこれに根本的な改良を加えてタンパク質のような無色の物質をも分離・定量できる装置を考案した。この Tiselius 型の電気泳動装置によってそれまでほとんど不可能であったタンパク質の混合液、特に血清中の各種タンパク質の分離と各成分の定量とが可能になった。血清にアルブミン、 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ -グロブリンが存在するのも電気泳動法によって見出された。

その後 Graßmann や Durrum によって沔紙を支持体とする電気泳動法——沔紙電気泳動法——が考案され、この方法が簡便なために広く利用されるようになった。更にその後、寒天ゲル、セルロース・アセテート膜、デシブングル、ポリアクリルアミド・ゲル等が支持体として開発され、分析の微量化と分離能の改善が行われている。特にポリアクリルアミド・ゲルを支持体とする電気泳動法は理想に近い電気泳動法として広く利用されている。この方法は単にタンパク質の分離・同定に用いられるだけでなく、前述のようにタンパク質の分子量の測定、最近では核酸の分析にも広く利用されている。

### 5) タンパク質の変性

タンパク質は熱処理、あるいはまた酸、アルカリ、有機溶媒、高濃度の尿素やグアニジン塩酸塩等によって変性を受ける。変性という言葉は、タンパク質の性質が変化するという程度の漠然とした定義のもとに用いられていたが、今日では、これをタンパク質の第3構造の部分的ないしは完全な“unfolding”というように定義できる。変性したタンパク質は第3構造が、一部又は全部ほどけて線維状タンパク質のようになり溶解度が低下する。酵素、ホルモン等の場合には生物学的活性が失われる。一方変性によって、それまでかくされていたアミノ酸残基の側鎖の一部が“unmask”されてその反応を受けやすくなる。このことは、変性タンパク質におけるシステインの -SH 基、システインの -S-S- 基、チロシンの phenol 基等の反応性の増加ということからもうかがわれる。またその結果、変性タンパク質は消化酵素等の作用を受けやすくなっている。変性は一般に非可逆的であるが、可逆的なものもある。

### 3.1.6 タンパク質の分類

#### 1) 溶解性の難易による分類

i) 可溶性タンパク質 (soluble protein) 溶けた状態で存在しているタンパク質、あるいは希薄塩類溶液に抽出されてくるタンパク質をいう。このようなタンパク質はほぼ球形をしており、球状タンパク質 (globular protein) とも呼ばれている。その代表的なものは血清タンパク質である。

アルブミンとグロブリン 元来はタンパク質溶液に飽和硫酸溶液を等量加える (50% 硫酸飽和) と塩析してくるタンパク質をグロブリン (globulin)、なお溶液に溶けているタンパク質をアルブミン (albumin) と呼んだ。しかし前述のように Tiselius によって考案された電気泳動法によって、例えば血清タンパク質は泳動速度の速いものからアルブミン、 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ -グロブリンの4群に分けられるようになった。塩析法によって分類されるアルブミンは電気泳動的には大部分がアルブミンであるが、なおかなりのグロブリンを含んでいる。

グロブリンは一般に透析等によって塩類を除去すると沈殿することが多い。このようなグロブリンを特にオイグロブリン (euglobulin) と呼ぶ。これに対し溶解しているものを疑グロブリン (pseudo-globulin) と呼ぶ。

ii) 不溶性タンパク質 (insoluble protein) 皮膚、骨等の生体の支柱組織のタンパク質がこの分類に入る。これらのタンパク質はほとんどが線維状で互いに絡まりあって強靱なタンパク構造を作っている。線維タンパク質 (fibrous protein) あるいは硬タンパク質 (scleroprotein) とも呼ばれている。真皮、骨等の結合組織中のコラーゲン、毛髪、上皮のケラチン、フィブリン、絹のフィブロイン、筋肉の収縮に関するミオシン等がこの分類に入る。

2) タンパク質に結合する非タンパク部分——補欠結合族 (prosthetic group)——による分類

i) 単純タンパク質 (simple protein) ポリペプチド鎖のみからなるタンパク質をいう。アルブミン、多くのグロブリン、加水分解酵素等多くの酵素がこの分類に入る。

ii) 複合タンパク質 (conjugated protein) タンパク質に結合する補欠結合族の種類により更に分類される。

核タンパク質 (nucleoprotein) 核酸と結合して存在するタンパク質である。体細胞核から取り出される核タンパク質のタンパク部分はヒストン (histone) と呼ばれ、精子の核タンパク質のタンパク部分をプロタミン (protamine) と呼び、それぞれ塩基性アミノ酸を多く含むアルカリ性のタンパク質である。

糖タンパク質 (glycoprotein) 含水炭素を結合したタンパク質をいう。含水炭素の含量の多いものを特に粘液タンパク質 (mucoprotein) と呼ぶことがある。血清グロブリンに含まれる  $\alpha_1$ -酸性糖タンパク質はその重量の 41% が含水炭素である。含水炭素を構成している糖としてはガラクトース、マンノース等のヘキソースの他に *N*-アセチルヘキソサミン、シアル酸、フコース等が含まれている。

リポタンパク質 (lipoprotein) 脂質を結合したタンパク質をいう。正常ヒト血清は約 0.5~0.7% の脂質を含むが、これらの脂質はタンパク質と結合して存在している。血清  $\alpha_1$ -グロブリンに属す  $\alpha_1$ -リポタンパク質はその重量の約 67% が脂質である。そのうちリン脂質が 29%、総コレステロール 30%、中性脂肪が 8% を占めている。

リンタンパク質 (phosphoprotein) リン酸を結合したタンパク質をいう。牛乳のカゼイン (casein) は約 0.9% のリンを含む。卵黄より分離されるホスビチン (phosvitin) は 10% のリンを含む。これらのリンは一般にはセリン残基の水酸基とリン酸エステルを形成している。

色素タンパク質 (chromoprotein) ヘモグロビン、シトクロム、フラボプロテイン等の有色タンパク質をいう。前2者は色素部分としてポルフィリン誘導体を、後者はフラビン誘導体を結合している。色素タンパク質の多くのものは金属イオンを同時に結合している。

金属タンパク質 (metalloprotein) 金属イオンを結合したタンパク質をいう。上記のヘモグロビンも  $\text{Fe}^{2+}$  イオンを結合した金属タンパク質の1種である。血清中のトランスフェリン (transferrin) は  $\text{Fe}^{3+}$  イオンを結合したタンパク質である。一方、肝、脾臓中には約 20% の  $\text{Fe}^{3+}$  イオンを結合したフェリチン (ferritin) と呼ばれるタンパク質が存在している。このタンパク質とトランスフェリンとは鉄代謝に重要な役割を演ずる。セルロプラスミン (ceruloplasmin) は  $\text{Cu}^{2+}$  イオン (0.34%) を結合した金属タンパク質であって血清に含まれている。軟体動物の呼吸に関係するヘモシアニン (hemocyanin) も  $\text{Cu}^{2+}$  イオンを結合したタンパク質である。その他炭酸脱水酵素 (carbonic anhydrase)、多くの脱水素酵素 (dehydrogenase) は  $\text{Zn}^{2+}$  イオンを結合したタンパク質である。

## 3・2 酵 素

## 3・2・1 酵素の一般的性質

## 1) 酵素はタンパク質である

1926年 Sumner によって尿素の分解を触媒する酵素ウレアーゼ (urease) が結晶化され、これが単純タンパク質であることが実証されたことによって、酵素がタンパク質そのものであるかどうかの論争に終止符が打たれた。1897年 Buchner によって脱水素酵素がタンパク質部分(アポ酵素)と直接にその部で酵素反応が起ると考えられる非タンパク部分である補酵素の二つの部分からなっていることが見出されて以来、多くの酵素がアポ酵素と補酵素とから構成されていることが発見された。このことから Willstätter (1920) はすべての酵素は化学的活性をもっている基と、それを保持しているコロイド物質の二つの部分からなっていると主張した。Willstätter のいう化学的活性基は補酵素をさしており、コロイド物質はアポ酵素をさしている。したがって、上述のようにウレアーゼが結晶化された場合にもタンパク質そのものが酵素活性をもつとは考えられないとし、非タンパク性の化学的活性基が発見されるはずだと主張した。しかし、その後 Northrop らによってペプシン、キモトリプシン、トリプシン等、多くの酵素が結晶化され、これらが単純タンパク質であることが示されるに至り、タンパク質そのものが酵素活性を持っていることが確実となった。

## 2) 生物学的触媒としての酵素

酵素は生物学的触媒である。化学反応の速度を促進させるが、その反応の平衡そのものには影響しない。図 3・18 にリパーゼによるエステル水解反応の例を示した。この図から明らかなように *n*-ブチル・*n*-ブチリル・エステルの水解と合成とは共にリパーゼによって触媒されるが、水解、合成のいずれの方向から反応を行っても反応は同一の平衡に達して終了する。このように酵素はある化学反応をより速やかに平衡に導く作用を持った物質である。しかし尿素の分解のように事実上ほとんど不可逆の反応においては酵素は一定方向の反応だけを触媒する。すなわち尿素の分解はウレアーゼによって触媒される。その逆反応である尿素の生成は別の反応経路を通して、すなわち別の酵素によって触

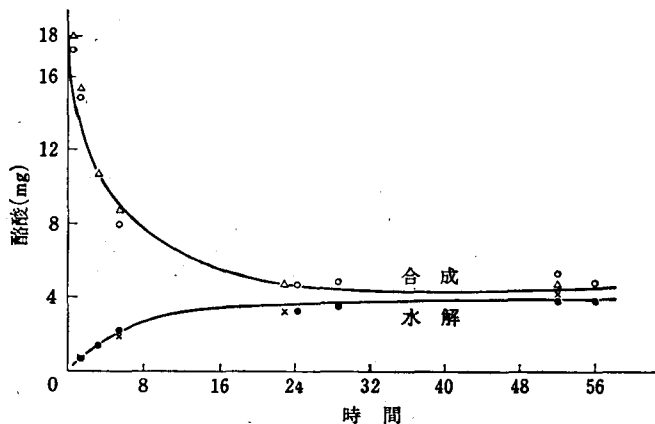
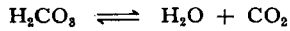


図 3・18 プタ膵臓リパーゼによる *n*-ブチル・*n*-ブチリル・エステルの水解と合成 (Rona, Ammon: *Biochem. Z.* 249, 446 (1932))

媒される。タンパク質、デンプン、グリコーゲン等の水解と合成も同様である。

体内で起るあらゆる反応がすべて酵素によって触媒されていると言っても過言でない。例えば炭酸ガスの交換も赤血球に多量に含まれている炭酸脱水酵素 (carbonic anhydrase) という酵素によって触媒され、肺胞内におけるガス交換をスムーズに保っている。



### 3) 酵素作用の特異性

i) 作用特異性 アミノ酸を例にとれば、酸化されて  $\alpha$ -ケト酸とアンモニアに分解するか、脱炭酸を受けてアミン誘導体を生成するか、あるいは他の  $\alpha$ -ケト酸にアミノ基を転移して自らは  $\alpha$ -ケト酸になると同時に新しいアミノ酸を生成する等と種々の反応が可能である。しかし酵素は多くの可能な反応のうち一つだけを触媒する。この特異性を酵素の作用特異性と呼ぶ。図 3・19 に示したようにアミノ酸の酸化反応はアミノ酸化酵素により、脱炭酸反応はアミノ酸脱炭酸酵素により、アミノ基の転移反応はアミノ転移酵素により、それぞれ特異的に触媒されている。

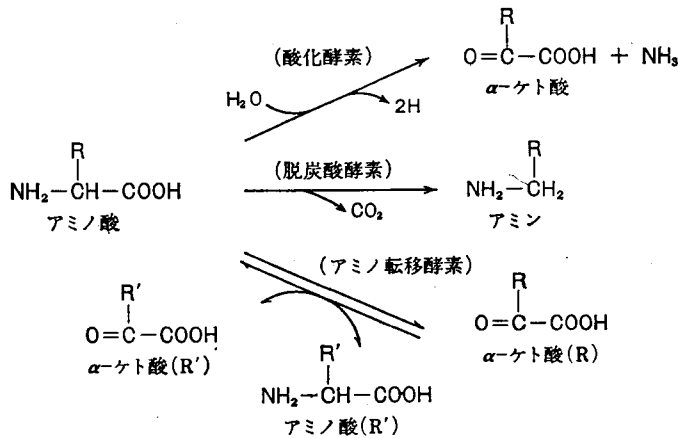


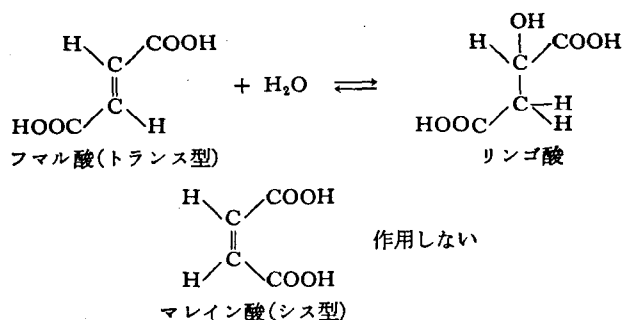
図 3・19 酵素の作用特異性の例

ii) 基質特異性 (substrate specificity) 酵素の作用を受ける物質を基質 (substrate) という。酵素は特定の基質又は基質群にだけ作用する。この特異性を酵素の基質特異性という。基質特異性の程度は酵素によって異なるが、一つの基質にだけ作用する酵素は絶対基質特異性 (absolute specificity) の酵素と呼ぶ。例えばアセト酢酸脱炭酸酵素がこの部類に入る。以前はウレアーゼ、フマル酸の加水反応を触媒するフマラーゼ、アルギニン分解してオルニチンと尿素を生成する反応を触媒するアルギナーゼ等多くの酵素が絶対基質特異性の酵素と見なされていたが、最近の基質特異性の研究によって、これらの酵素が基質と構造のよく似た他の合成基質にも作用することが明らかとなった。

アルコール脱水素酵素は同時に二つの基質を要求する酵素であると考えられるが、一方の基質と考えられる補酵素 (NAD) に対しては厳しい特異性を示すが、もう一つの基質であるアルコールに対しては特異性があまく、低級アルコールから高級アルコールに至るアルコール類が基質となりうる。他方エステラーゼ、ホスファターゼ、ペプチダーゼ等の水解酵素の基質特異性はあまく、それぞれカルボン酸エステル、リン酸エステル及びペプチド結合一般に作用する。このような特異性を群特異性

(group specificity) と呼ぶ。

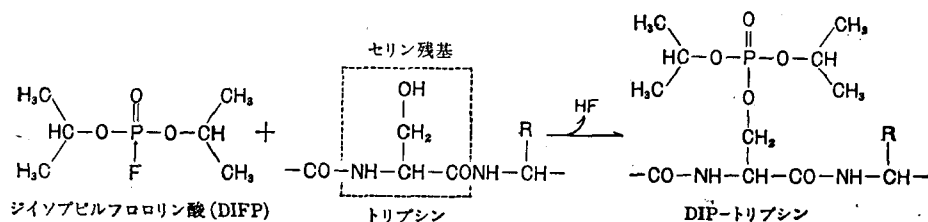
iii) 立体特異性 (stereospecificity) 酵素は一般に基質の光学異性体の一方にしか作用しない。D-アミノ酸化酵素は D 型アミノ酸のみを酸化し、L-乳酸脱水素酵素は L-乳酸のみを脱水素する。アスパラギン酸アミノ転移酵素は L-アスパラギン酸と  $\alpha$ -ケトグルタル酸に作用してオキサロ酢酸と L-グルタミン酸を生成する反応を可逆的に触媒する酵素であるが、D-アスパラギン酸には作用せず、また生成するグルタミン酸は必ず L 型である。フマラーゼはトランス型のフマル酸を加水してリンゴ酸を生成する反応を触媒する酵素であるが、幾何異性体であるシス型のマレイン酸には作用しない。



#### 4) 酵素の活性中心

酵素分子の大きさに比べると基質分子の大きさははるかに小さい。したがって酵素の活性部位は酵素分子全体に分布しているのではなく、酵素分子の一定の部位に集中していると考えられる。このような活性部位を酵素の活性中心 (active site, active center) と呼ぶ。

コリンエステラーゼ、タンパク水解酵素等に対するジイソプロピルフルオロリン酸の阻害作用の研究に始まった、いわゆる向活性中心不可逆性阻害剤 (active-site-directed irreversible enzyme



inhibitor) の研究、後述する競争阻害剤の研究、特に酵素タンパク質のアミノ酸配列と立体構造の解明によって酵素の活性中心の構造は漸次明らかにされ、酵素の構造と反応機構との関係が明瞭になって来ている。以下リゾチームについて説明する。

リゾチームは細菌の細胞壁を構成する含水炭素鎖であるムレインを水解する酵素であるが、卵白に多量に含まれている。この卵白リゾチームは第1構造はもちろん完全な第3構造まで明らかにされた最初の酵素である。図3・20に卵白リゾチームの第1構造を示す。分子は129個のアミノ酸残基よりなり、4個の-S-S-結合によって cross-link している。第3構造は図3・21に示した。よく見ると分子内の疎水基や親水基はポリペプチド中にばらばらに分布しているのではなく、それぞれ疎水基同志、あるいは親水基同志が集まって幾つかのかたまりを作っていることがわかった。また  $\alpha$ -ヘリッ

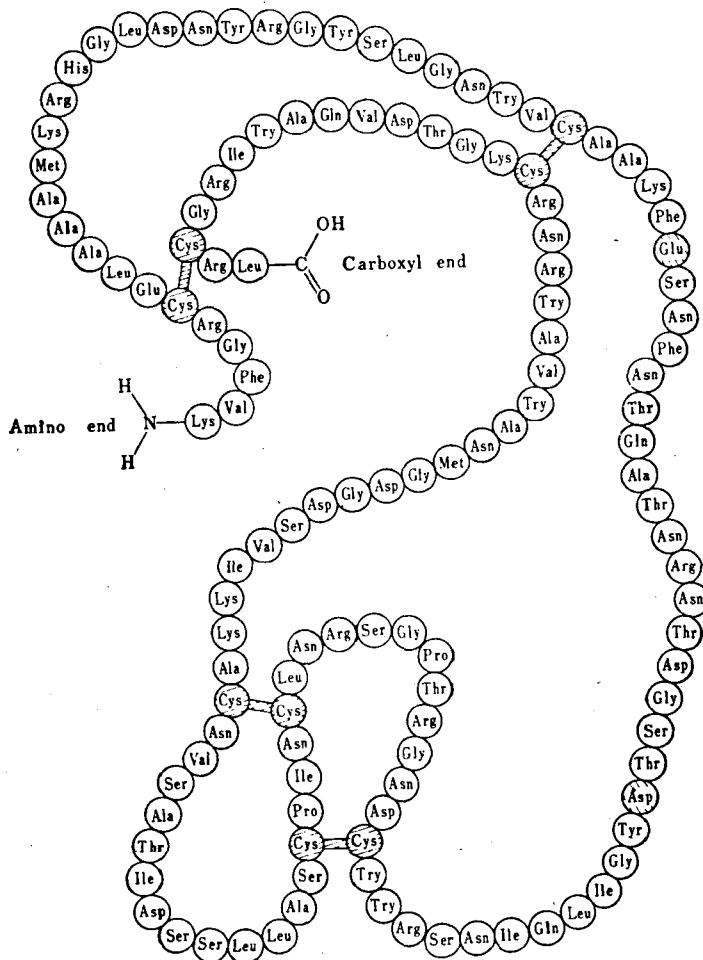


図 3-20 卵白リゾチームの第1構造

クス構造が長く続いて保たれている部分はほとんどなく 5~15, 24~34 そして 88~96 番目の残基の三つの部分に  $\alpha$ -ヘリックス構造が見られる。リゾチームの分子モデルの一つの著しい特徴は、その中に1カ所割れ目 (cleft) を有することである。恐らくここに基質が結合するものと思われる。

リゾチーム結晶に競争阻害剤である *N*-acetylglucosamine や *N*-acetylmuramic acid を塗抹するとリゾチーム分子の割れ目 (cleft) にこれらの阻害剤が直接とり込まれることが証明されている。この際結晶の大部分の原子はもとの位置を保っているが一部にわずかながら shift (0.75 Å) が起ることが明らかにされた。この変化はたとえわずかであっても induced fit 説を支持する上で十分なものと考えられた。酵素と酵素・阻害剤結合物の構造上の相違はまた数学的に計算され、その結果、タンパク質の構造が酵素・阻害剤結合物でも本質的に変化のないことが確認され、また酵素分子内における阻害剤の正確な場所が決定された。こうして競争阻害剤は酵素の割れ目の部分に結合することが確定せられた。*N*-Acetylglucosamine の酵素への付着は *N*-acetylglucosamine の -NH- とアスパラギン酸残基 (101 残基) の  $\beta$ -カルボキシレートの酸素との間に水素結合を形成して行われる (図 3-22 参



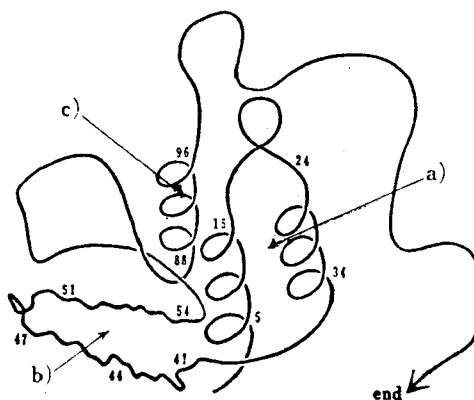


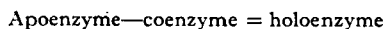
図 3.21 リゾチームの活性部分の「割れ目」を構成する各成分  
 a) N-末端近くの 2 コの  $\alpha$  ヘリックス (5-15, 24-34 残基) による疎水性のヘリックス翼, b) 親水性の逆平行ひだ紙構造 (41-54 残基), c) 88-96 残基の作る第 3 の  $\alpha$ -ヘリックス. a), b), c) 構造の協同によって割れ目を作っている.

照). この水素結合は決定的な重要さをもっている. すなわち, 酵素の割れ目の中によく深くはめ込まれる少糖類は, すべて最初に基質の acetylglucosamine 残基 (図 3.22 R<sub>2</sub>-基) の -NH- と酵素タンパクとの間にこのような水素結合を作る. その結果糖の D 残基は安定な椅子型から C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub> の炭素原子, 及び C<sub>1</sub>~C<sub>3</sub> 間の酸素原子が全て同一平面に来るような構造に変形される. その結果張力が働き, それが D-E 間結合を弱め, 開裂に導く. 割れ目の大きさをよく調べると 6 コの単糖からなる少糖が最もよく適合することがわかった.

基質の結合が図 3.22 のように起るならば開裂は D と E との間で起る. D-E 結合に対する酵素の活性部位をみると, この部分に二つの強力な触媒活性をもつアミノ酸側鎖が認められる. すなわちアスパラギン酸 (52 残基) の  $\beta$ -カルボキシル基とグルタミン酸 (35 残基) の  $\gamma$ -カルボキシル基である. そこでこれら両者のうち一つはカルボン酸, 他はカルボキシルイオンとして働き, いわゆる酸塩基触媒反応が起り, これが D-E 結合を開裂すると考えられる (57 頁参照).

### 3.2.2 補酵素 (coenzyme)

既に述べたように, 酵素はタンパク質である. しかし非タンパク部分を補欠分子族 (prosthetic group) として必要とする酵素が多く存在している. このような酵素の補欠分子族を一般に補酵素と呼ぶ. 補酵素を必要とする酵素のタンパク部分をアポ酵素 (apoenzyme), 全酵素をホロ酵素 (holoenzyme) と呼ぶ.



酵素の場合に補酵素と補欠分子族とはしばしば同意語に用いられているが, 元来補欠分子族は核タンパク質の核酸部分に対して用いられた用語である. 酵素の場合には補欠分子族を補酵素と呼び, 両者の区別は明瞭ではないが, 最近ではアポ酵素から比較的容易に分離されうる補酵素を特に補酵素と呼び, 酵素と固く結合しておいて, 酵素を変性させなければ分離しがたい補酵素を補欠分子族と区別

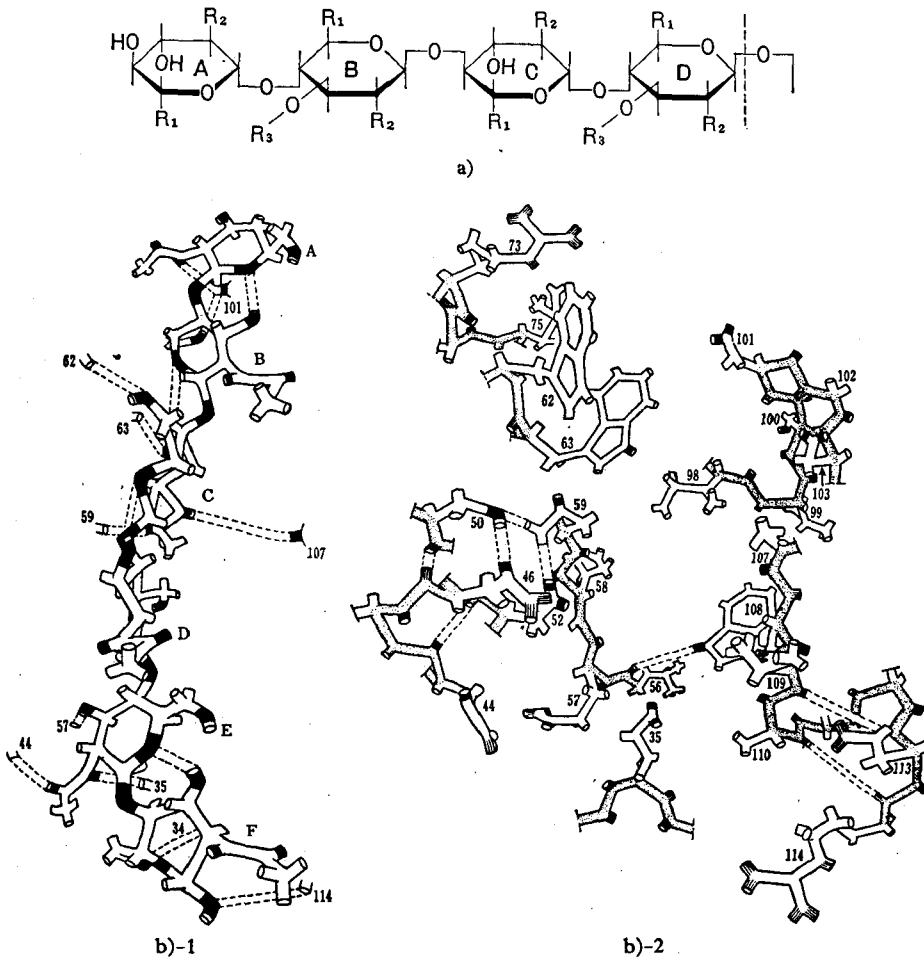


図 3.22 a) 卵白リゾチームの基質(ムレイン)  $R_1: -CH_2OH$ ,  $R_2: -NH-CO-CH_3$ ,  $R_3: \text{ペプチド鎖}$  b) リゾチームの基質(b-1)と活性中心(b-2)の間の相補的な構造。A, C, E: *N*-acetylglucosamine 残基, B, D, F: *N*-acetylmuramate 残基

して呼ぶようになってきている。例えば脱水素酵素の NAD は補酵素と呼ばれ、フラビン酵素の FDP は補欠分子族と呼ばれている。しかしここでは補酵素を広い意味に用いる。

補酵素の作用は一般に転移反応と深い関係がある。水素の転移反応(脱水素酵素)、アミノ基の転移反応(アミノ転移酵素)、メチル基の転移反応(メチル転移酵素)、炭酸転移反応(カルボキシラーゼ)等の転移反応に関係する酵素は補酵素を必要とする。これに対し一般的水解酵素ではほとんどの場合に補酵素を必要としない。トリプシン、アミラーゼ、エステラーゼ、ウレアーゼ、アルギナーゼ等がそれである。

上のような補酵素を必要とする酵素の場合に実際の反応は補酵素の部位で行われている。アポ酵素は反応には直接には関係しないが特異性等補酵素が反応を行うための条件を整えるものと考えることができる。

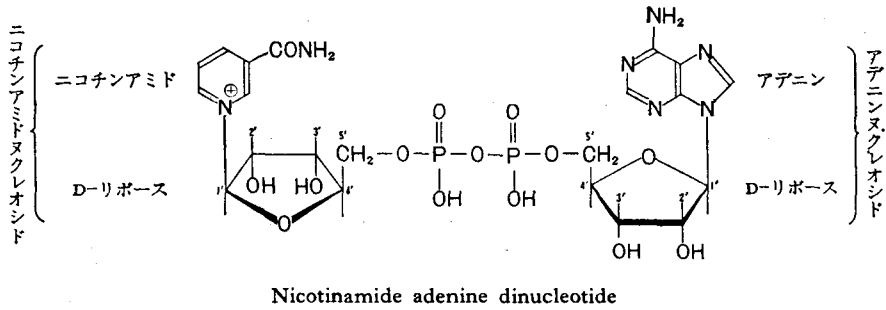
1) 酸化還元酵素の補酵素

i) **Nicotinamide nucleotide** 酸化還元酵素——脱水素酵素——の補酵素として2種類の nicotinamide nucleotide が知られている。すなわち, nicotinamide adenine dinucleotide (NAD) と nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADP) である。

NADP は adenine nucleoside の D-リボースの 2' 位の -OH 基がもう1分子のリン酸とエステルを形成したものである。

表 3・2 脱水素酵素の補酵素特異性

酵 素 名	反 応	補酵素
アルコール脱水素酵素	$\begin{array}{c} \text{R-CH}_2\text{OH} \\ \text{アルコール} \\ \text{COOH} \end{array} \rightleftharpoons \begin{array}{c} \text{R-CHO} \\ \text{アルデヒド} \\ \text{COOH} \end{array}$	NAD
リンゴ酸脱水素酵素	$\begin{array}{c} \text{HCOH} \\ \text{HCH} \\ \text{COOH} \\ \text{L-リンゴ酸} \\ \text{COOH} \end{array} \rightleftharpoons \begin{array}{c} \text{C=O} \\ \text{HCH} \\ \text{COOH} \\ \text{オキサロ酢酸} \end{array}$	NAD
リンゴ酸脱水素酵素(脱炭酸化)	$\begin{array}{c} \text{HCOH} \\ \text{HCH} \\ \text{COOH} \\ \text{L-リンゴ酸} \\ \text{COOH} \end{array} \rightleftharpoons \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \text{C=O} + \text{CO}_2 \\ \text{CH}_3 \\ \text{ビルビン酸} \\ \text{COOH} \end{array}$	NADP
イソクエン酸脱水素酵素 (ミトコンドリア性)	$\begin{array}{c} \text{HCOH} \\ \text{HC-COOH} \\ \text{HCH} \\ \text{COOH} \\ \text{イソクエン酸} \\ \text{COOH} \end{array} \rightleftharpoons \begin{array}{c} \text{C=O} \\ \text{HCH} + \text{CO}_2 \\ \text{HCH} \\ \text{COOH} \\ \alpha\text{-ケトグルタル酸} \\ \text{COOH} \end{array}$	NAD
イソクエン酸脱水素酵素 (シトゾール性)	$\begin{array}{c} \text{HCOH} \\ \text{HC-COOH} \\ \text{HCH} \\ \text{COOH} \\ \text{イソクエン酸} \\ \text{CH}_3 \end{array} \rightleftharpoons \begin{array}{c} \text{C=O} \\ \text{HCH} + \text{CO}_2 \\ \text{HCH} \\ \text{COOH} \\ \alpha\text{-ケトグルタル酸} \\ \text{CH}_3 \end{array}$	NADP
乳酸脱水素酵素	$\begin{array}{c} \text{HCOH} \\ \text{COOH} \\ \text{L-乳酸} \end{array} \rightleftharpoons \begin{array}{c} \text{C=O} \\ \text{COOH} \\ \text{ビルビン酸} \end{array}$	NAD
グルコース 6-リン酸・ 脱水素酵素	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{HO-P-O-CH}_2 \\   \\ \text{OH} \end{array} \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{O} \\   \\ \text{OH} \\   \\ \text{OH} \\   \\ \text{OH} \end{array} \rightleftharpoons \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{HO-P-O-CH}_2 \\   \\ \text{OH} \end{array} \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{O} \\   \\ \text{OH} \\   \\ \text{OH} \\   \\ \text{C=O} \end{array}$	NADP
	<p style="text-align: center;">グルコース 6-リン酸                      グルコノ-δ-ラクトン-6-リン酸</p>	



脱水素反応における水素原子の授受は補酵素のニコチンアミド環で行われていると考えられている。

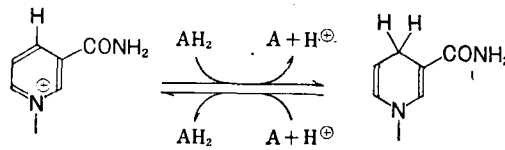
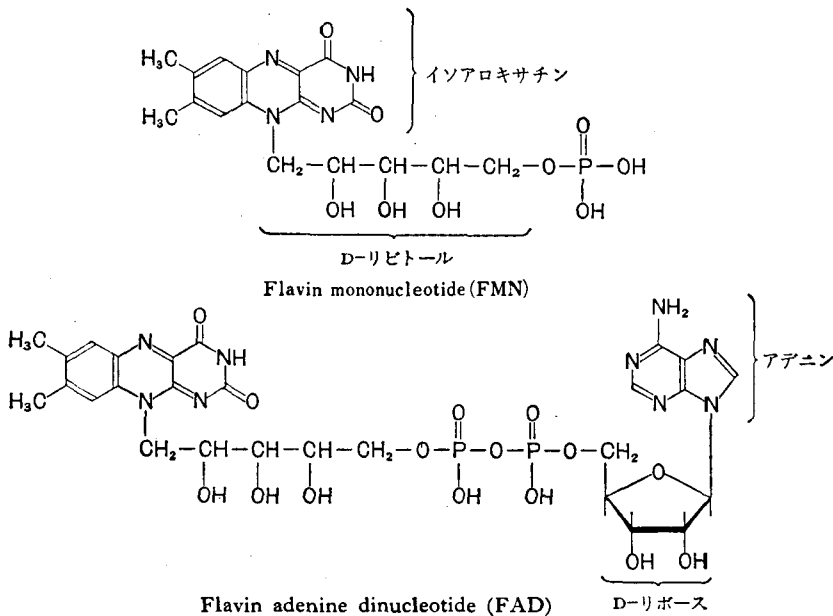
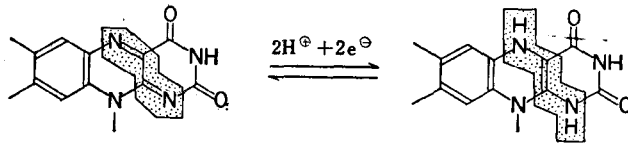


表3・2に nicotinamide nucleotide を補酵素とする代表的な脱水素酵素の補酵素に対する特異性を示した。

ii) **Flavin nucleotide** フラビン酵素の補酵素である。2種類のもが知られている。すなわち、flavin mononucleotide (FMN) と flavin adenine dinucleotide (FAD) である。この補酵素は nicotinamide nucleotide と異なりアポ酵素に強固に結合しているのでフラビン酵素、あるいは flavo-protein と呼ばれている。



水素原子の授受は補酵素の isoalloxazine 環で行われていると考えられている。



フラビン酵素のある種のものはその還元型酵素が分子状の酸素と反応して過酸化水素を生成する。このようなフラビン酵素を自動酸化フラビン酵素と呼ぶ。例えば D-アミノ酸化酵素がそれである。

表 3.3 フラビン酵素の補酵素特異性

酵 素 名	反 応	補 酵 素
NADPH-ジオホラーゼ (黄色酵素)	$\text{NADPH} + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{NAD}^+ + \text{AH}_2$ A (水素受容体)	FMN 非自動酸化
L-アミノ酸化酵素	$\text{NH}_2-\text{CH}(\text{R})-\text{COOH} + \text{O}_2 \rightleftharpoons \text{NH}_3 + \text{O}=\text{C}(\text{R})-\text{COOH} + \text{H}_2\text{O}_2$	FMN自動酸化
コハク酸脱水素酵素	$\text{COOH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH} + \text{A} \rightleftharpoons \text{COOH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{COOH} + \text{AH}_2$ A (水素受容体)	FAD 非自動酸化
リポアミド脱水素酵素	$\text{NADH} + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{NAD}^+ + \text{H}_2\text{C}(\text{CH}_2)_4-\text{CONH}-\text{S}-\text{S}-\text{CH}(\text{CH}_2)_4-\text{CONH}-$ 酸化型リポアミド 還元型リポアミド	FAD 非自動酸化
D-アミノ酸化酵素	$\text{NH}_2-\text{CH}(\text{R})-\text{COOH} + \text{O}_2 \rightleftharpoons \text{NH}_3 + \text{O}=\text{C}(\text{R})-\text{COOH} + \text{H}_2\text{O}_2$	FAD 自動酸化
キサンチン酸化酵素	$\text{キサンチン} + \text{O}_2 \rightleftharpoons \text{尿酸} + \text{H}_2\text{O}_2$	FAD 自動酸化

る。あるいは D-アミノ酸化酵素の水素供与体は D-アミノ酸であり、水素受容体は酸素分子であると説明できる。

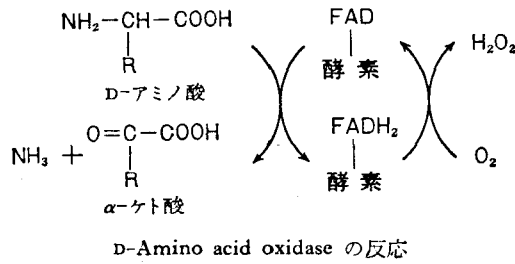
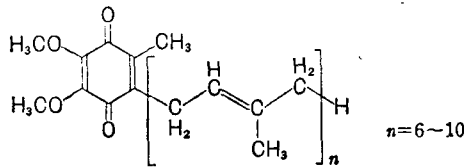
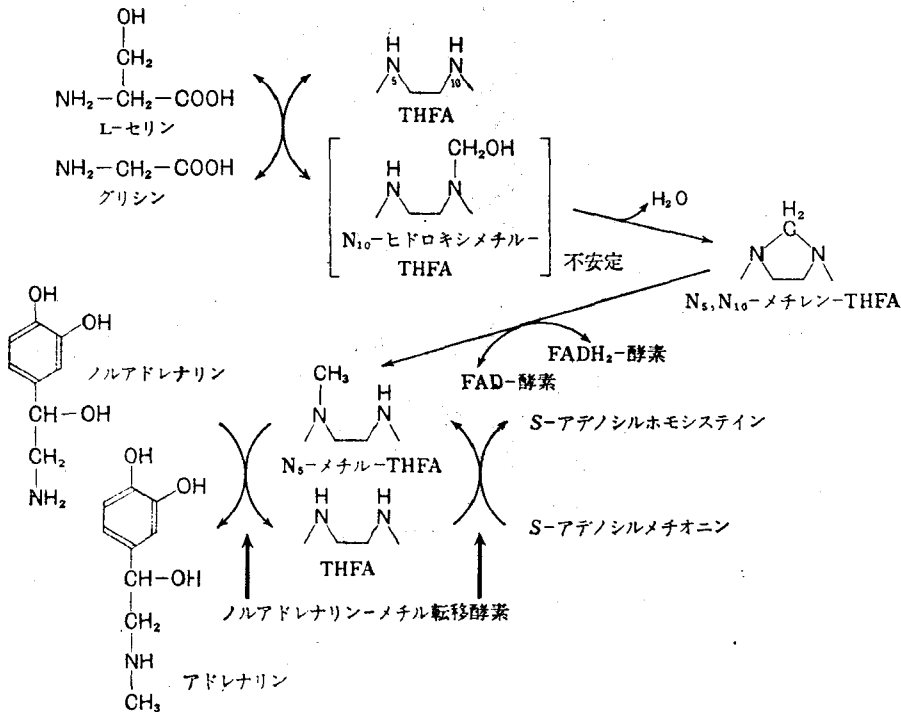


表 3.3 にフラビン酵素の補酵素に対する特異性を示した。

iii) Ubiquinone; Coenzyme Q Ubiquinone の構造は次の通りである。



Ubiquinone はいわゆる呼吸鎖の中で還元型フラビン酵素の水素受容体であるとともに、電子をシトクロム系に伝達する反応に関係する酵素の補酵素である。その反応は第5章で詳しく述べる。

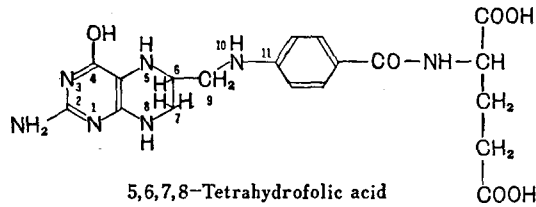


11-70/H

D3

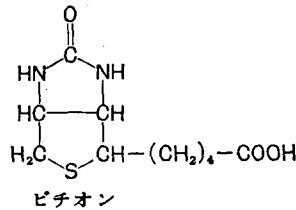
2) 炭素原子1コからなる反応基の転移反応に関する補酵素

i) **Tetrahydrofolic acid (THFA)** Tetrahydrofolic acid はビタミンの一つである葉酸 (folic acid) が還元されて4原子の水素を結合したものである

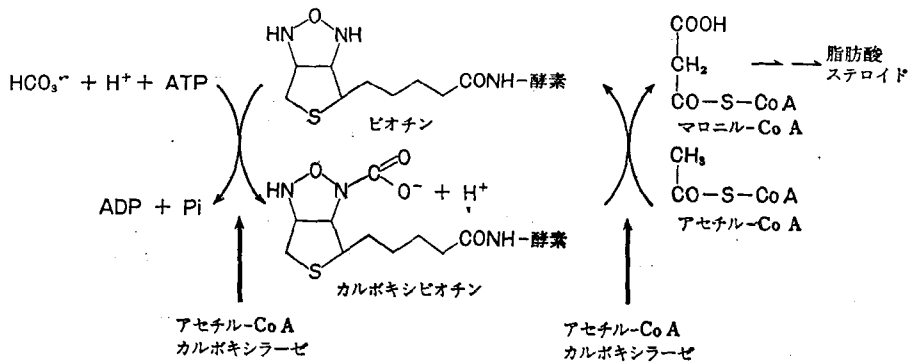


メチル基 ( $-\text{CH}_3$ ), ヒドロキシメチル基 ( $-\text{CH}_2\text{OH}$ ), アルデヒド基 ( $-\text{CHO}$ ), 及びホルミニノ基 ( $-\text{CH}=\text{NH}$ ) の転移反応に関する補酵素である。それらの転移反応の際に転移基は THFA の5位又は10位の窒素原子と結合して更に転移されるのであるが、結合した転移基にそれぞれ特異的な酸化還元酵素により THFA に結合したまま酸化還元させてから転移される。その反応機構の1例を図3.23に示した。

ii) **Biotin (ビタミン H)** カルボキシル基の転移反応 (carboxylation) に関与する補酵素である。脂肪酸、ステロイドの合成に重要な役割を演じている。脂肪酸の生合成の最初の反応を触媒するアセチル-Co A カルボキシラーゼの反応を次に示した。



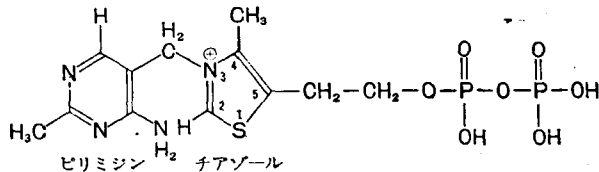
アセチル-Co A カルボキシラーゼの反応を次に示した。



3) 炭素原子2コからなる反応基の転移反応に関する補酵素

i) **Thiamine pyrophosphate (TPP)** Thiamine (ビタミン B<sub>1</sub>) のチアゾール環に結合したヒドロキシエチル基のピロリン酸エステルである (次頁構造式参照)。

TPP は一般に脱炭酸酵素 (decarboxylase) の補酵素として働いている。その際に反応に直接にあずかるのはチアゾール環の2位の炭素である (第4章ピルビン酸脱水素酵素の反応, 78 頁参照)。



ii) リポアミド (lipoamide) Dihydrolipoyl transacetylase の補酵素である。その作用機構は第4章で述べられるように TPP に結合した hydroxyethyl を酸化してアセチル基にすると同時に Co A に転移する反応の補酵素として働く。

iii) Coenzyme A (Co A) パントテン酸を含む adenine nucleotide の一つであって、アセチル化酵素の補酵素として働く。Lipmann によって coenzyme A と名付けられた。その構造は図 3-24 の通りである。

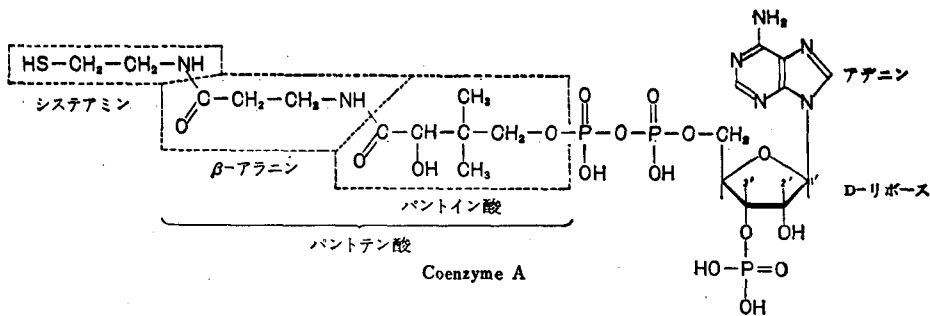
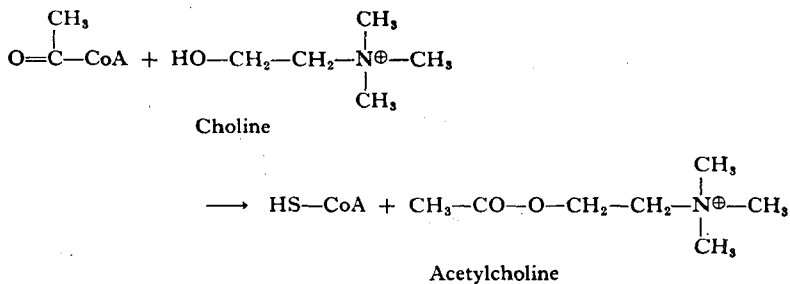
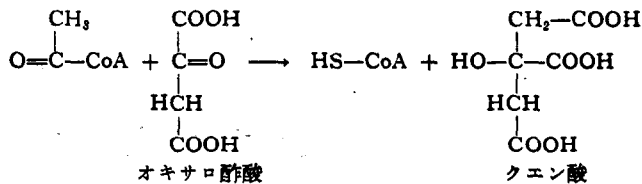


図 3-24

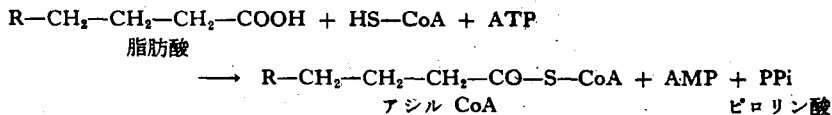
Choline acetyltransferase



Citrate synthetase クエン酸合成酵素



Acyl-CoA synthetase

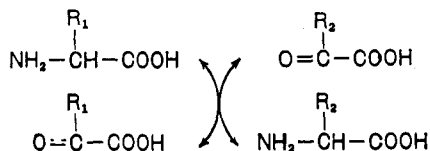




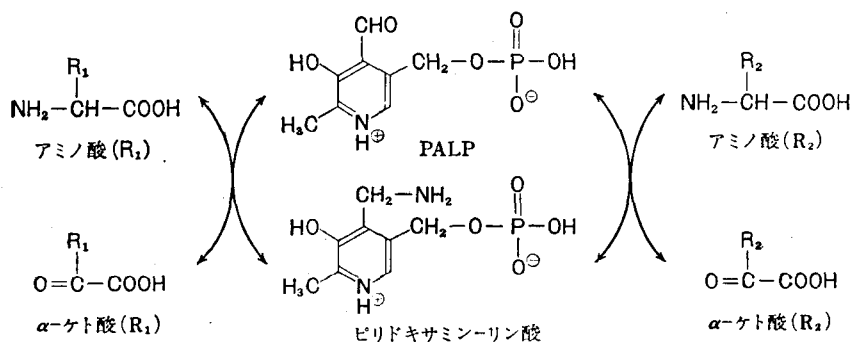
アセチル化反応 acetylation は coenzyme A の cysteamine 残基の -SH 基が直接に関係しチオールエステルを形成し、これが転移される。アセチル Co A は hydroxyethyl-TPP が活性アルデヒドと呼ばれるのに対し活性酢酸と呼ばれている。Coenzyme A はアセチル基のみならず脂肪酸とも反応してアシル Co A を形成する。後者は脂肪酸の代謝に最も重要な代謝物質である。Coenzyme A が関係する酵素反応としては後述の pyruvate dehydrogenase complex があるが、その他前頁に示したようなものがある。

#### 4) アミノ転移反応に関する補酵素：ピリドキサルリン酸

アミノ基の転移反応は transaminase によって触媒される。この transaminase はアミノ酸と  $\alpha$ -



ケト酸との間のアミノ転移反応 (transamination) を触媒する酵素であるが、実際の転移反応は直接アミノ酸とケト酸との間で起るのではなく、pyridoxal phosphate (PALP) を介して行われる。



この場合 PALP はアミノ酸のアミノ基と Schiff base (アルドイミン) を形成し、この Schiff base を介して転移反応が進むと考えられている (4章, 107頁, アミノ転移反応の項参照)。

PALP を補酵素とする酵素として transaminase の他にアミノ酸脱炭酸酵素やアミノ酸ラセミ化酵素がある。これらはいずれもアミノ酸のアミノ基と PALP が先ず Schiff base を形成し、次いで脱炭酸あるいはラセミ化がそれぞれ進むと考えられている。図 3.25 に PALP の作用機構を示した。

グリコーゲン及びデンプンのリン酸分解を触媒する phosphorylase も PALP を結合しているが、その役割はいまだ不明である。

#### 3.2.3 Isoenzyme (等価酵素)

同じ反応を触媒する酵素であって、同じ種属、あるいは同じ組織に存在するが物理化学的性質をやや異にするものを isoenzyme 又は isozyme と呼ぶ。物理化学的性質の差としては構成アミノ酸残基の差による電荷の相違が主役をなしているので電気泳動法を用いて isoenzyme を互いに分離し、同定するのが一般である。

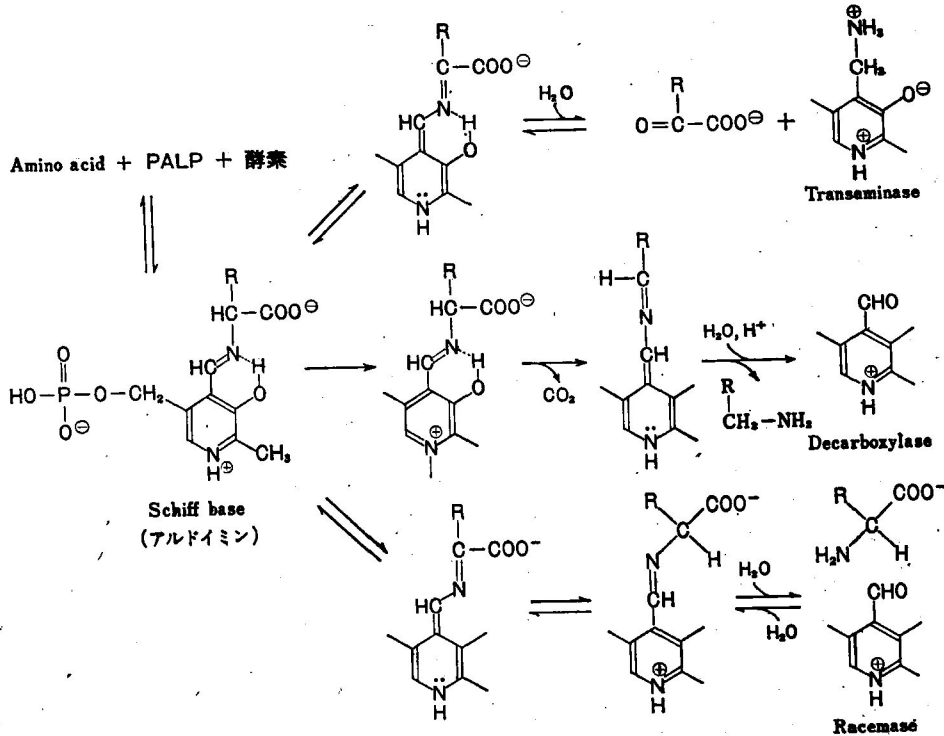


図 3-25 アミノ酸の反応と PALP の作用機構

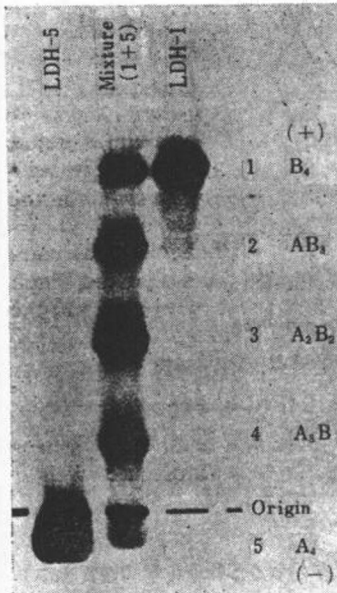


図 3-26 LDH-isoenzyme の電気泳動 (Markert, Science 140, 1329 (1963))

例えば骨髄筋抽出液を電気泳動法にかけたあと乳酸脱水素酵素 (LDH) を検出すれば、泳動速度の異なる5種の LDH を証明する。その際、泳動速度の最も小さい分画が主成分である。一方心筋抽出液を同様に処理すると骨髄筋の場合と同じ位置に5種の LDH を検出するが、泳動速度の最も大きい分画が主成分である。これらの5種の LDH-isoenzyme の分子量はすべて約 135,000 で4つの同じ大きさの subunit からなる4量体 (tetramer) である。すなわち骨髄筋の主な LDH は骨髄筋型の subunit 4つからなり ( $A_4$ )、心筋の主な LDH は心筋型 subunit 4つ ( $B_4$ ) からなっている。その他の LDH-isoenzyme はこの骨髄筋型 subunit と心筋型 subunit が組合されて出来た4量体である ( $A_3B$ ,  $A_2B_2$ ,  $AB_3$ )。図 3-26 は純粋に分離された  $A_4$ -LDH と  $B_4$ -LDH と両者を等量混合し、NaCl を 1M の濃度に加え凍結して1昼夜放置後に電気泳動したもので、混合物の場合には  $A_4$  と  $B_4$  から  $A_3B$ ,  $A_2B_2$ ,  $AB_3$  がそれぞれ生じて5種の LDH 分画として検出されている。

血清にも LDH-isoenzyme が含まれている。これが諸種の疾患時に特定の分画の LDH が特に増加するので LDH-

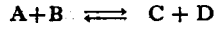
isoenzyme の分析は臨床化学の分野で行われる方法である。例えば心筋硬塞の場合には心筋が融解して血中に入るから血清の心筋型 LDH (B<sub>5</sub>) は著しく増加する。

LDH 以外に phosphatase, aldolase, creatine kinase 等の多くの酵素の isoenzyme が臨床化学の分野で利用されている。

### 3.2.4 酵素の反応

#### 1) 活性化エネルギー

熱力学の基礎、自由エネルギーの項で述べられているように、一つの可逆反応



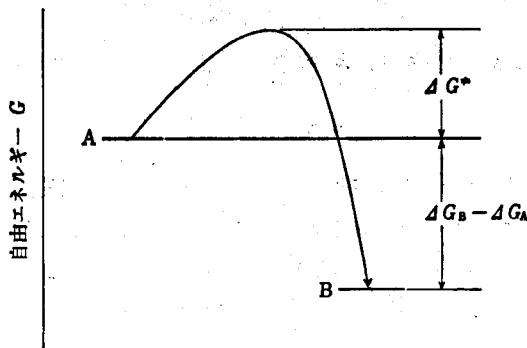
$$K = \frac{[C][D]}{[A][B]}$$

における自由エネルギーは

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln \frac{[C][D]}{[A][B]} \quad (7)$$

で与えられる。ただし  $R$  は気体定数、 $T$  は絶対温度、 $\Delta G^\circ$  は標準自由エネルギーである。ここで  $\Delta G$  は反応が平衡に達した時の化学的位置エネルギーを零とした場合の反応開始時の化学的位置エネルギーの意味である。反応は  $\Delta G$  が負の値、すなわち自由エネルギーを放出する (exergonic) 方向に進む。いずれにしても可逆反応においてはその反応の平衡定数  $K$  が既知であれば、その反応の方向は平衡に関係する分子種 (A, B, C 及び D) の濃度と温度とのみによって決まってしまう。

ところで、すべての熱力学的に可能な反応が自然に進行するとすれば、あらゆる反応はまたたく間に平衡に達し、新たな反応が起る可能性はなくなってしまう。特に生命現象のように熱力学的な平衡状態から最もかけはなれた高い化学的位置エネルギーを保ちつつけていると考えられる系が存在する可能性は全くなくなってしまう。しかし実際にはそうではなくて熱力学的に可能であるということがそのままで反応が進行することにはならない。A という状態が安定であるのはそれが一つの自由エネルギーの谷間にあつて、それがより低い谷間 B に移るためには一つの自由エネルギーの山を越さね



A: 始めの状態, B: 終わりの状態,  
M\*: 活性化状態

図 3.27

ばならないからである(図3・27を参照)。このエネルギーの山と始めの状態 A との間の標準自由エネルギーの差を活性化エネルギーと呼び、 $\Delta G^*$  で表す。いいかえれば活性化エネルギーの大きさだけその状態は安定化していることになる。

Eyring らの絶対反応速度論によれば、反応速度定数  $k$  は次の式で表される。

$$k = \frac{kT}{h} e^{-\Delta G^*/RT} \quad (8)$$

ただし  $k$  は Boltzmann 定数、 $h$  は Planck の定数である。ところで(8)式は反応速度論において古くから経験的に知られてきた Arrhenius の式

$$k = Ae^{-E_a/RT} \quad (9)$$

の量子化学的表現にほかならない。ここで  $A$  は頻度係数 (frequency factor) と呼ばれ、分子の衝突回数に比例する定数と考えられる。 $E_a$  は与えられた反応系の活性化エネルギーである。

(9) 式を変形すれば

$$\ln k = \ln A - \frac{E_a}{RT} \quad (10)$$

したがって種々の温度における反応速度定数を実測し、 $\ln k$  と  $1/RT$  をそれぞれ両軸にとってプロットすれば直線がえられるはずである。 $E_a$  はえられた直線の勾配から容易に与えられる。

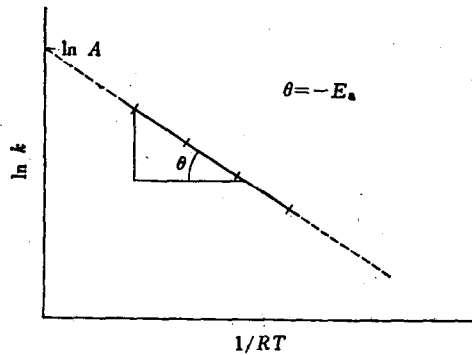
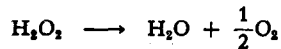


図 3-28

このようにして、過酸化水素の分解反応の活性化エネルギーを求めると、自然分解に対しては



18 kcal, 白金触媒を用いた場合は 11.7 kcal, 肝カタラーゼを用いた場合は 2 kcal, と計算される。この値から逆にそれぞれの反応の反応速度定数を算出すれば、過酸化水素の分解速度は白金触媒を用いることにより、自然分解の場合の 25,000 倍, カタラーゼを用いた場合には  $2.0 \times 10^{11}$  倍, と飛躍的に増大する。すなわち、活性化エネルギーのわずかな低下によって反応速度は飛躍的に増大するのがわかる。

このように考えれば酵素は触媒する反応の活性化エネルギーを減少し、いわゆる自由エネルギーの山を低くすることによって反応速度を増大する物質であるといえる。この際、酵素が反応の平衡状態

に影響をしないこともよく理解できる。

## 2) 酵素の動力学

化学反応速度を量的に取扱う学問を動力学 (kinetics) と呼ぶ。

i) 酵素活性の表しかた：初速度 酵素の活性は単位時間(分)あたりに分解される基質，又は生成する生産物の量で表す。ところで基質濃度は反応時間とともに減少し，生産物の濃度は増加する。またしばしば生産物が酵素の活性を阻害することもある。更に不安定な酵素は時間とともに漸次失活してくる。したがって反応速度は時間の経過につれて減少してくる。このために酵素活性を表すためには生産物及び酵素の失活による影響を極力排除するために基質過剰の状態で，しかもできるだけ短時間に活性を測定する。理想的には基質の変化量と反応時間とのグラフを描き反応零時間の反応速度すなわち初速度 (initial velocity) を求めて，それを酵素活性とする。

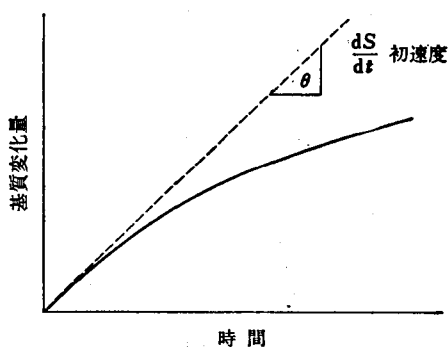


図 3-29

ii) 酵素活性に及ぼす基質濃度の影響：最大速度 酵素量を一定に保ち基質濃度を変えて反応速度を測定すると図 3-30 のような曲線が得られる。

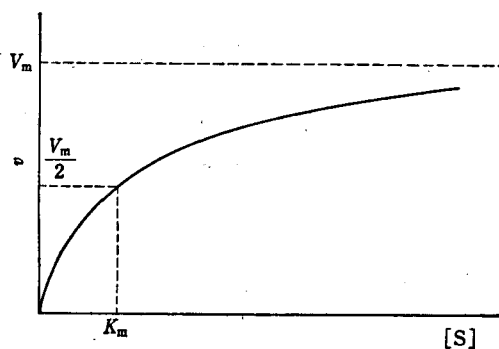
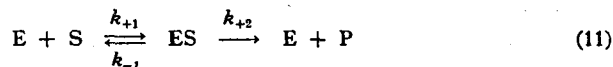


図 3-30

基質の濃度を増加すれば反応速度は増加するが，ある濃度以上では反応速度はほとんど変化せず一定の値を示すようになる。この時の反応速度を最大速度 (maximum velocity) と呼び  $V_m$  で表す。

このように酵素反応においては一定量の酵素を用いれば反応速度は基質濃度がある濃度以上に達すれば基質の濃度に無関係に一定の値を示す。このことは次式に示すように酵素反応が酵素基質複合体

の形成を経て起ることを示している。



すなわち基質 (S) はまず酵素 (E) と結合して酵素基質複合体 (ES) を形成し、これが次いで酵素と生産物 (P) に分解する。このように考えれば反応速度 (v) は ES の分解速度であるので ES の濃度 [ES] と分解速度定数  $k_{+2}$  の積で表される。

$$v = k_{+2}[ES]$$

したがって基質濃度を高めてゆくと、すべての酵素が ES を形成し、それ以上基質濃度を高めても [ES] は変化しない。したがって反応速度は一定になる。このような酵素基質複合体の形成を仮定して酵素反応の動力学を始めて体系化したのが Michaelis と Menten である。

iii) Michaelis と Menten の学説 (1913) 酵素反応式 (11) において全酵素濃度を  $[E_0]$ 、遊離の酵素濃度を [E]、酵素・基質複合体の濃度を [ES] とすれば

$$[E_0] = [E] + [ES] \quad (12)$$

反応速度は [ES] に比例する。

$$v = k_{+2}[ES] \quad (13)$$

すべての酵素が酵素基質複合体を形成すれば

$$[ES]_{\max} = [E_0] \quad (14)$$

すなわち

$$V_m = k_{+2}[E_0] \quad (15)$$

したがって

$$\frac{V_m}{v} = \frac{[E_0]}{[ES]} = \frac{[ES] + [E]}{[ES]} = 1 + \frac{[E]}{[ES]} \quad (16)$$

いま ES の分解速度が解離速度に比し非常に小さいとすると ES の解離定数  $K_s$  は

$$K_s = \frac{[E][S]}{[ES]} \quad (17)$$

(17) 式を (16) 式に代入すれば

$$\frac{V_m}{v} = 1 + \frac{K_s}{[S]} \quad (18)$$

又は

$$v = \frac{V_m[S]}{K_s + [S]} \quad (19)$$

このように酵素反応において酵素量は正確に知られなくても一定量の酵素を用いて  $V_m$ ,  $v$ , [S] を実測することによって酵素と基質の解離定数を求めることができる。しかし、(11) 式から明らかなよ

うに実際の酵素反応においては生成した ES は一部 E と P に分解されるから、実測される  $K_s$  は ES の真の解離定数ではない。この実測された解離定数を真の解離定数  $K_s$  と区別して  $K_m$  と記し、これを Michaelis-Menten の定数とよぶ。しかし実際には ES の解離平衡はすみやかに達成されるのに反し ES の分解は遅いので  $K_m$  値は  $K_s$  値にはほぼ等しい。したがって (18) 式及び (19) 式は次のように記すことができる。

$$\frac{V_m}{v} = 1 + \frac{K_m}{[S]} \quad (20)$$

又は

$$v = \frac{V_m[S]}{K_m + [S]} \quad (21)$$

上の式を Michaelis-Menten の式と呼ぶ。(20) 式と図 3.30 からわかるように  $v=1/2 V_m$  を与える基質濃度  $[S]_{1/2}$  が  $K_m$  に等しい。しかし図 3.30 から正確な  $V_m$  は求めにくい。

(20) 式を変形すれば

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V_m} \left( 1 + \frac{K_m}{[S]} \right) \quad (22)$$

$1/v$  と  $1/[S]$  を両軸とするグラフを描けば一つの直線が与えられる。この直線の  $1/v$  軸を切る点が  $1/V_m$ 、 $1/[S]$  軸を切る点が  $-1/K_m$  を与える。このようなプロットを Lineweaver-Burk のプロット (図 3.31) と呼ぶ。

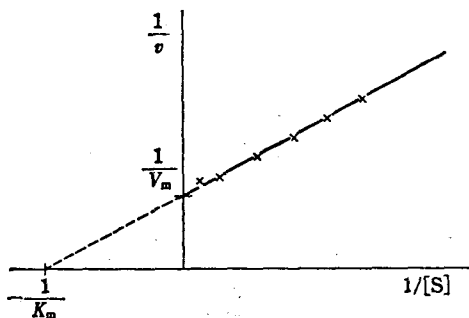
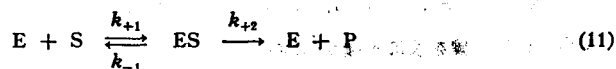


図 3.31

iv) 定常状態における酵素の動力学 (Briggs と Haldane, 1925) Michaelis-Menten の学説は ES の分解速度が ES の解離速度に比して非常に小さく酵素と基質の反応を一つの平衡反応  $E + S \rightleftharpoons ES$  と見なして誘導された学説である。しかし酵素反応がこのような平衡関係からだけ説明されるものではない。Briggs と Haldane は定常状態の概念を用いて酵素動力学のより一般的な解明を行った。



$k_{-1}$  に比し  $k_{+2}$  が無視できない場合においても ES の生成と分解の速度の等しい状態、すなわち定常状態 (steady state) においては、

ES の生成速度は

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_{+1}[S][E]_0 - k_{+1}[S]([E_0] - [ES]) \quad (23)$$

一方 ES の分解速度は

$$-\frac{d[ES]}{dt} = (k_{-1} + k_{+2})[ES] \quad (24)$$

定常状態においては

$$\frac{d[ES]}{dt} = -\frac{d[ES]}{dt} \quad (25)$$

であるから

$$k_{+1}[S]([E_0] - [ES]) = (k_{-1} + k_{+2})[ES] \quad (26)$$

すなわち

$$\begin{aligned} \frac{k_{-1} + k_{+2}}{k_{+1}} &= \frac{[E_0][S]}{[ES]} - [S] \\ [ES] &= \frac{[E_0][S]}{\frac{k_{-1} + k_{+2}}{k_{+1}} + [S]} \end{aligned} \quad (27)$$

(13) 式から  $v = k_{+2}[ES]$  であるから

$$v = \frac{k_{+2}[E_0][S]}{\frac{k_{-1} + k_{+2}}{k_{+1}} + [S]} \quad (28)$$

(15) 式から  $k_{+2}[E_0] = V_m$  であるから

$$v = \frac{V_m[S]}{\frac{k_{-1} + k_{+2}}{k_{+1}} + [S]} \quad (29)$$

$\frac{k_{-1} + k_{+2}}{k_{+1}} = K_m$  とすれば

$$v = \frac{V_m[S]}{K_m + [S]} \quad (30)$$

(30) 式は Michaelis-Menten の (19) 式と同じものである。

$k_{-1} \gg k_{+2}$  であれば

$$\frac{k_{-1} + k_{+2}}{k_{+1}} = \frac{k_{-1}}{k_{+1}} = K_s$$

したがって  $K_m$  と ES の解離定数  $K_s$  とは等しくなる。

### 3) 酵素活性に影響を及ぼす種々の因子

1) pH の影響 一般に酵素はある一定の pH 範囲内でだけ活性を示す。しかもその pH 範囲内で活性が極大になる pH をもっている。この pH をその酵素の至適 pH (optimum pH) と呼ぶ。

pH によって酵素の活性が変化する理由としては次の三つのものが考えられる。



- ① 実際に酵素の活性が変化する。
- ② 酵素と基質の親和性が変化し、 $K_m$ が増大し、酵素基質複合体の濃度が低下したために外見上の活性低下を来す。
- ③ 酵素の不可逆の変性によって活性低下を来す。

このうち ② の場合は反応液の基質の濃度を高めることによって活性を増強できる。この意味で酵素活性は各 pH における  $V_m$  で表す必要がある。③ の場合は pH を変化させた後で、再び pH を至適 pH に戻して活性を測定することによって確かめることができる。

以下第 ① の理由について考えてみよう。

酵素による触媒は一般にいわれる Brönsted の酸による酸触媒と Brönsted の塩基による塩基触媒の共役によっている。例えば卵白リゾチームの場合である。この酵素はすでに活性中心の項 (39 頁参照) で述べたように活性はペプチド鎖の 35 番目のグルタミン酸残基  $\text{Glu}^{35}$  の  $\gamma$ -カルボキシル基と 52 番目のアスパラギン酸残基  $\text{Asp}^{52}$  の  $\beta$ -カルボキシル基の共役触媒によると考えられている。その  $\text{Glu}^{35}$  の  $\gamma$ -カルボキシル基の pK は 5.9,  $\text{Asp}^{52}$  の  $\beta$ -カルボキシル基の pK は 4.5 と報告されている。したがってこの酵素の至適 pH 5.2~5.5 においては  $\text{Glu}^{35}$  の  $\gamma$ -カルボキシル基は Brönsted の酸 ( $-\text{COOH}$ ) として、他方  $\text{Asp}^{52}$  の  $\beta$ -カルボキシル基は塩基 ( $-\text{COO}^-$ ) として作用すると考えられる。今 pH を酸性に傾けると  $\text{Asp}^{52}$  の  $\beta$ -カルボキシル基の解離が抑えられて塩基的触媒作用を失い、逆にアルカリ性に傾けると  $\text{Glu}^{35}$  の  $\gamma$ -カルボキシル基が解離して酸触媒作用を失う。このように酵素の活性は酸及び塩基の共役触媒によると考えれば、酵素活性はこれら酸基及び塩基の解離と平行する。したがって pH-活性曲線は酸基及び塩基の解離曲線にほぼ一致したベル型の曲線を示すことになる。

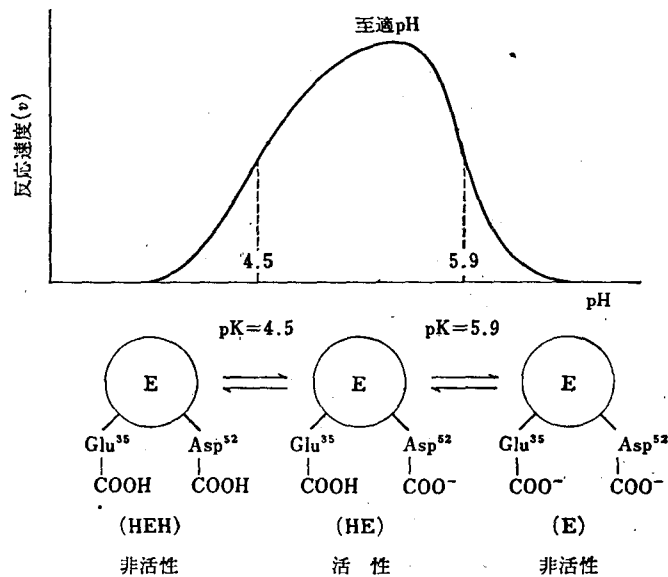
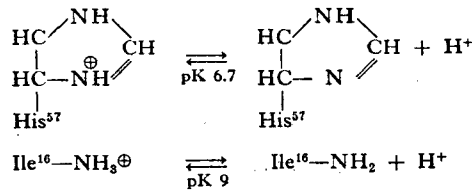


図 3-32 卵白リゾチームの pH-活性曲線

同じことがキモトリプシンについても知られている。キモトリプシンの場合は  $\text{His}^{57}$  のイミダゾール基 (pK=6.7) が塩基触媒基とし、N-末端の  $\text{Ile}^{16}$  の  $\alpha$ -アミノ基 (pK=9) が酸触媒基として作用

している。

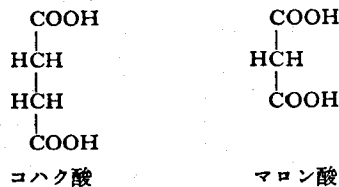


pH を 6.7 より酸性に傾けると His<sup>57</sup> のイミダゾール基はプロトンと結合し、酵素は活性を失い、逆に pH 9 よりもアルカリ性に傾けると Ile<sup>16</sup> のアミノ基はプロトンを失い、酵素の活性は消失すると考えられている。なおキモトリプシンの活性に Asp<sup>194</sup> が関係しているが、これは活性キモトリプシンにおいては N-末端 Ile<sup>16</sup> の α-アミノ基 (—NH<sub>3</sub><sup>⊕</sup>) と Asp<sup>194</sup> の β-カルボキシル基とがイオン対をなしているが pH をアルカリ側に傾けると Ile<sup>16</sup> の α-アミノ基の荷電が消失するために、陰電荷をもった Asp<sup>194</sup> の β-カルボキシル基が直接活性中心をおおうためであると説明されている。

ii) 温度の影響 化学反応は温度によって影響される。温度に対する依存の仕方は Arrhenius の式(51頁, 活性化エネルギーの項参照)に従う。酵素反応も同様に Arrhenius の式に従うが、酵素タンパク質は熱に不安定なタンパク質であるので、温度上昇に伴い熱変性が起り、活性がかえって小さくなる。一般には 45°C くらいまでは Arrhenius の化学反応速度論から予期される通り、反応速度は温度とともに増加するが、45°C を越えると熱変性が問題となり、55°C に達すると酵素は速やかに変性を起し失活してしまう。

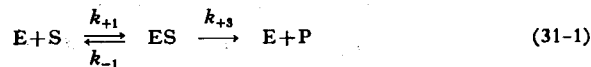
iii) 酵素阻害剤 (enzyme inhibitor) 酵素反応の阻害には二つの種類が知られている。一つは競争阻害 (competitive inhibition) であり、他は非競争阻害 (noncompetitive inhibition) である。

① 競争阻害 例えばコハク酸脱水素酵素の反応液に マロン酸を加えると反応は著しく低下する。これはマロン酸が基質のコハク酸と構造がよく似ているために酵素とコハク酸とが結合して出来



るいわゆる Michaelis-Menten の ES 複合体の基質の結合する位置にマロン酸が結合するためであると説明している。このように基質と構造が類似しているために基質と競争し、ES 複合体の形成を妨げる物質を競争阻害剤 (competitive inhibitor) と呼ぶ。

今阻害剤を I, そのモル濃度を [I], 全酵素の濃度を [E<sub>0</sub>] とすれば



$$K_i = \frac{[E][I]}{[E]} \quad (31-3)$$

$$[E_0] = [E] + [ES] + [EI] \quad (31-4)$$

上式から

$$k_{+1}[S]([E_0] - [ES] - [EI]) = (k_{-1} + k_{+3})[ES]$$

$$k_{+2}[I]([E_0] - [ES] - [EI]) = k_{-2}[EI]$$

$$v = k_{+3}[ES]$$

$v$  に対して解くと

$$v = \frac{V_m}{1 + k_m/[S](1 + [I]/K_i)} \quad (32)$$

ただし

$$K_m = \frac{k_{-1} + k_{+3}}{k_{+1}}$$

$$K_i = \frac{k_{-2}}{k_{+2}}$$

(32) 式において  $[S]$  を十分大きくすれば分母の第2項は零となり,  $v = V_m$  となる. すなわち, 阻害剤に対して基質が大過剰であれば酵素はすべて  $ES$  複合体を作り, 反応速度は最大速度を示す. このように競争阻害においては最大速度の値は変化しない.

(32) 式を変形して Lineweaver-Burk の式を誘導すれば

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V_m} \left[ 1 + \frac{K_m}{[S]} \left( 1 + \frac{[I]}{K_i} \right) \right] \quad (33)$$

となる. したがって Lineweaver-Burk のプロットを作れば図 3-33 に示したように阻害剤のない場合 ( $[I]=0$ ) と同じ位置で  $1/v$  軸を切り, 勾配が  $(1 + [I]/K_i)$  だけ大きい直線を与える.

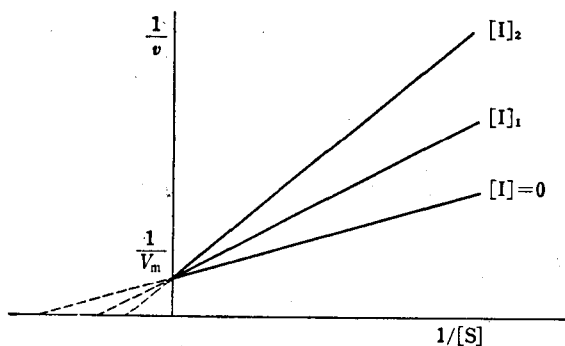
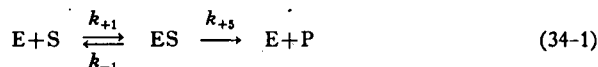


図 3-33

② 非競争阻害 競争阻害剤に対して, 基質と酵素の結合には影響しないが酵素と結合して酵素の活性を消失させる物質を非競争阻害剤 (noncompetitive inhibitor) と呼ぶ. すなわち  $K_m$  値には変化はないが  $V_m$  を減少させる阻害剤である.



この型の阻害では阻害剤は基質の結合には影響せず、逆に基質も阻害剤の結合に影響しないと考えられるから  $k_{-1}/k_{+1}=k_{-4}/k_{+4}=K_s$ ,  $k_{-2}/k_{+2}=k_{-3}/k_{+3}=K_i$  である、したがって

$$K_s[ES] = [S]([E_0] - [ES] - [EI] - [ESI])$$

$$K_i[EI] = [I]([E_0] - [ES] - [EI] - [ESI])$$

$$K_s[ESI] = [S][EI]$$

$$K_i[ESI] = [I][ES]$$

$$v = k_{+2}[ES]$$

$v$  に関して解くと

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V_m} \left( 1 + \frac{[I]}{K_i} \right) \left( 1 + \frac{K_m}{[S]} \right) \quad (35)$$

すなわち最大速度は  $1/(1+[I]/K_i)$  だけ減小することになる。Lineweaver-Burk のプロットを作れば図 3-34 に示すように阻害剤の有無にかかわらず  $1/[S]$  軸を  $-1/K_m$  で切る直線がえられる。

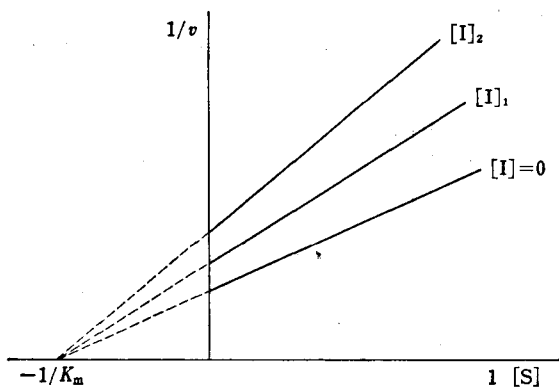


図 3-34

③ アロステリック阻害 (allosteric inhibition) 酵素分子の基質が結合する位置とは違った位置に結合して酵素分子の立体構造を変化させて基質の結合を妨げることによって阻害を起す物質をアロステリック阻害剤と呼ぶ。この場合  $K_s$  値は増大し、 $V_m$  は減少する。

アロステリック阻害は代謝調節に大きい役割を持っている。すなわち、代謝過程においていわゆるフィードバック阻害というものが知られているが、これは代謝の終産物とその代謝の早い段階の酵素

反応を阻害する現象であって、この作用により不必要に代謝が進むのを防いでいる。このフィードバック阻害は一般にアロステリック阻害である。例えば、aspartate transcarbamylase は carbamyl-phosphate と L-アスパラギン酸から *N*-carbamyl-L-aspartate を生成する酵素であって、ピリミジン・ヌクレオチド合成の最初の段階であるが、この酵素は最終産物の一つである cytidine triphosphate によって阻害される。

アロステリック効果が酵素活性を促進する場合も知られている。例えばグリコーゲンホスホリラーゼの場合である。この酵素は筋肉中ではリン酸を結合した a 型 (分子量 400,000) と a 型がリン酸を失い分子量が a 型の 1/2 となった b 型の 2 種のものが存在する。この 2 種のホスホリラーゼは筋肉中に同時に存在するホスホリラーゼ・ホスファターゼとホスホリラーゼ・キナーゼの作用により細胞の活性に関与した一定の割合で存在している。このうちホスホリラーゼ b は AMP が存在しないと活性がないが AMP を加えると a 型と同じ強さの活性を示す。この時 b 型は 2 分子集まって、丁度 a 型と類似の構造をとっている。この機構はグリコーゲンの代謝調節に深い関係を持っている。

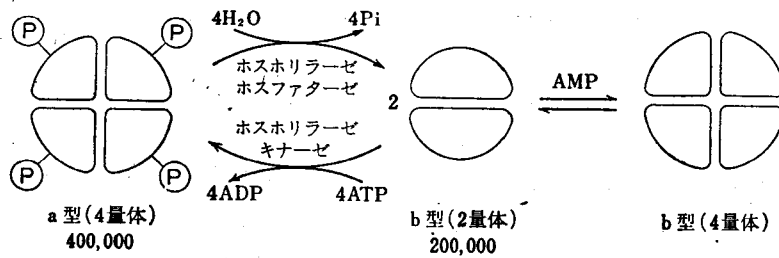


図 3.35

### 3-2.5 酵素の分類と命名法

現在千余種の酵素が知られているが、これらの命名と分類については 1961 年国際生化学連合 (International Union of Biochemistry, IUB) の酵素委員会は一つの提案を行い、1972 年 1 部修正を行っている。それによると ① 酵素はその触媒する化学反応に従って六つの群に分ける。② 酵素名は二つの部分からなる。始めの部分は基質名であり、第 2 の部分は触媒する反応の形式を表し ase で終る。もし反応の性質を明瞭にするために必要ならば参考事項を括弧内につけ加えてもよい。③ 各酵素は個々の系統番号を持つ。第 1 の数は群、第 2 の数は小群、第 3 の数は組を表し、いずれも反応形式で分類する。第 4 の数は酵素に個々のものである。例えば malic enzyme と呼ばれ  $\text{NADP}^+$  を補酵素とし、L-リンゴ酸を脱水素すると同時に脱炭酸してピルビン酸を生成する反応を触媒する酵素は IUB 命名法に従えば酵素番号は EC1.1.1.40、酵素名は L-Malate: NADP oxidoreductase (decarboxylating) となる。系統番号は最初の 1 は酸化還元酵素、次の 1 は一つの炭素に結合している  $-\text{OH}$  基と  $-\text{H}$  基から  $\left( >\text{C} \begin{array}{l} \text{OH} \\ \text{H} \end{array} \right)$  水素が奪われる反応、第 3 の 1 は NAD 又は NADP を水素の受容体とする反応を示し、最後の 40 はこの酵素に個々の数である。

しかしこのような系統的な命名法で呼ぶと煩雑な場合には慣用名が同時に用いられる。例えば筋肉のホスホリラーゼであるが、系統名は 1,4- $\alpha$ -D-Glucan: orthophosphate  $\alpha$ -glucosyltransferase であるが IUB の酵素委員会の推薦する慣用名は glycogen phosphorylase である。

一方 chymotrypsin, pepsin 等のように系統的命名が不可能なものは古来用いられて来た慣用名がそのまま用いられている。

以下代表的な酵素について IUB の酵素委員会推薦による分類と系統名, 慣用名( [ ] 内)を示す。

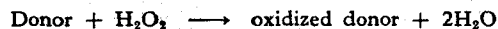
### 1) Oxidoreductase (酸化還元酵素)

二つの基質 A と B との間の酸化還元を触媒する酵素である。脱水素酵素 (dehydrogenase), 酸化酵素 (oxidase), オキシゲナーゼ (oxygenase), ペルオキシダーゼ (peroxidase) などがこの群に入る。

1.1.1.1. Alcohol: NAD oxidoreductase [Alcohol dehydrogenase]

1.9.3.1. Ferrocyclochrome c: oxygen oxidoreductase [Cytochrome c oxidase]

1.11.1.7. Donor: hydrogen-peroxide oxidoreductase [Peroxidase]

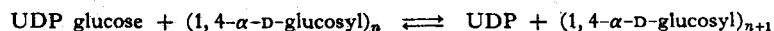


### 2) Transferase (転移酵素)

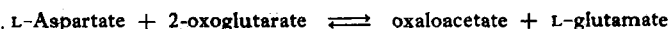
1組の基質 A と B の間で水素以外の基 (G) の転移を触媒する酵素。転移される基の種によって小群に分けられる。

2.1.3.2. Carbamoylphosphate: L-aspartate carbamoyltransferase [Aspartate carbamoyltransferase]

2.4.1.11. UDP glucose: glycogen 4- $\alpha$ -glucosyltransferase [Glycogen synthase]



2.6.1.1. L-Aspartate: 2-oxoglutarate aminotransferase [Aspartate aminotransferase]



この酵素は一般には glutamate oxaloacetate transaminase, 略して GOT と呼ばれているものである。

2.7.1.1. ATP: D-hexose 6-phosphotransferase [Hexokinase]



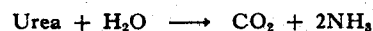
### 3) Hydrolase (加水分解酵素)

3.1.1.8. Acylcholine acylhydrolase [Cholinesterase]

3.2.1.1. 1,4- $\alpha$ -D-Glucan glucanohydrolase [ $\alpha$ -Amylase]

3.2.1.2. 1,4- $\alpha$ -L-Glucan maltohydrolase [ $\beta$ -Amylase]

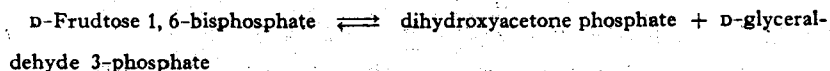
3.5.1.5. Urea amidohydrolase [Urease]



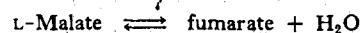
### 4) Lyase (リアーゼ, 分解酵素)

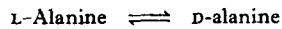
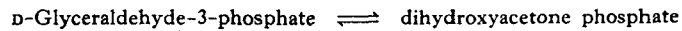
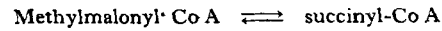
水解以外の分解によって基質から基を除去し, 二重結合を残す反応を可逆的に触媒する酵素群。

4.1.2.13. D-Fructose 1,6-bisphosphate D-glyceraldehyde-3-phosphate-lyase [Fructose bisphosphate aldolase]

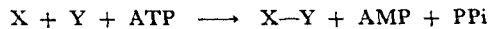
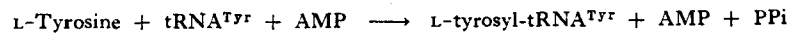
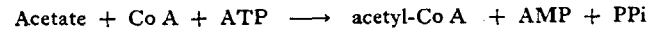
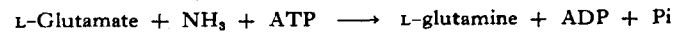


4.2.1.2. L-Malate hydro-lyase [Fumarate hydratase]



5) **Isomerase** (イソメラーゼ)5. 1. 1. 1. **Alanine racemase** [Alanine racemase]5. 3. 1. 1. **D-Glyceraldehyde-3-phosphate ketol-isomerase** [Triosephosphate isomerase]5. 4. 99. 2. **Methylmalonyl-Co A Co A-carboxylmutase** [Methylmalonyl-Co A mutase]6) **Ligase** (リガーゼ, 合成酵素)

ATP 又は類似化合物のピロリン酸結合の開裂と共役して 2 個の化合物を結合させる反応を触媒する酵素

6. 1. 1. 1. **L-Tyrosine: tRNA<sup>Tyr</sup>ligase (AMP-forming)** [Tyrosyl-tRNA synthetase]6. 2. 1. 1. **Acetate: Co A ligase (AMP-forming)** [Acetyl-Co A synthetase]6. 3. 1. 2. **L-Glutamate: ammonia ligase (ADP-forming)** [Glutamine synthetase]





## 第4章 エネルギーを放出する反応

代謝 (metabolism) とは生体内で起っている合成反応及び分解反応をいい、多くの酵素によって触媒される連続した化学反応である。この代謝は、熱力学からみた場合、二つの反応系に分けられる。その一つは、カロリー源として貯蔵されている物質を分解してエネルギーを発生するという発エルゴン反応を行う、いわゆるエネルギーを放出する反応系であって異化経路 (catabolism) と呼ばれる。もう一つの系は、ATP のエネルギーを用いて生体成分を合成するという共役反応を行う、いわゆるエネルギーを要求する反応系であって同化経路 (anabolism) と呼ばれる。

### 4.1 糖質代謝

生物界に存在する糖質は構成成分としての多糖類であるセルロース、ムコ多糖類などと、カロリー源としての多糖類であるグリコーゲン、デンプンなどの二つに大別される。食物に含まれる糖質は主として植物性多糖類であるが、二糖類のスクロース、単糖類のグルコース、フルクトース、ガラクトースなども多少含まれる。

高等動物では、糖質は経口摂取後、消化管内でグルコースまで分解され、腸管から吸収される。吸収されたグルコースは肝臓内でグリコーゲンに合成され貯蔵される。このグリコーゲンは必要に応じてまたグルコースに分解され、エネルギーを放出する反応系によって分解される。このとき遊離される自由エネルギーは化学エネルギーとして保存され、生体活動に利用される。

糖質の代謝は次のように分けて考えることができる。

- ① グリコーゲンの形成 (glycogenesis): グルコースからのグリコーゲン形成。
- ② グリコーゲンの分解 (glycogenolysis): グリコーゲンのグルコースへの分解。
- ③ 解糖 (glycolysis): グルコースの Embden-Meyerhof 経路によるピルビン酸又は乳酸への分解。
- ④ TCA 回路 (tricarboxylic acid cycle 又は Krebs cycle): アセチル CoA の炭酸ガスと水への完全酸化経路。
- ⑤ ペントースリン酸経路 (pentose phosphate cycle, hexose monophosphate shunt 又は Warburg-Dickens cycle): 解糖に対する側路であり、グルコースの酸化的代謝経路。

① のグリコーゲンを形成する反応系はエネルギーを要求する系に属するので6章で述べる。

### 4.2 グリコーゲンの分解 (glycogenolysis)

グリコーゲンは  $\alpha$ -D-グルコースが  $\alpha$ -1,4 結合をした多糖であるが高度に枝分れをしていて、その枝分れの構造は  $\alpha$ -1,6 結合である。

哺乳動物におけるグリコーゲンの分解経路はグリコーゲンからグルコースの間の経路と考えられ

る。図4・1にグリコーゲン分解系の概略を示す。

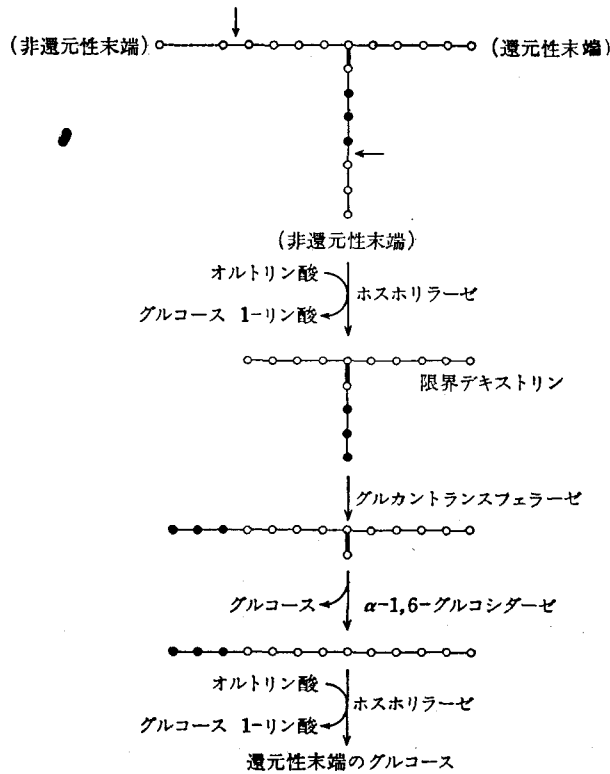


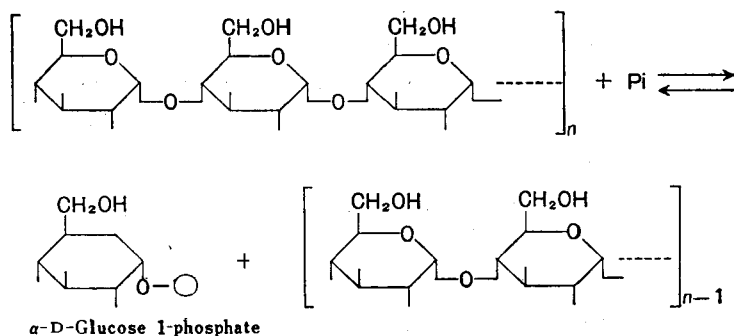
図 4-1

- グルコース
- トランスフェラーゼによって転位されるグルコース
- $\alpha$ -1,4-結合
- $\alpha$ -1,6-結合
- ...○ 数多くの  $\alpha$ -1,4-結合
- ↓ ホスホリラーゼ作用が停止する位置

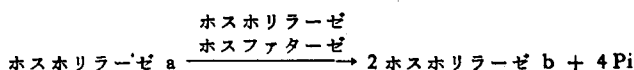
#### 4.2.1 グリコーゲン分解系の諸反応

##### 1) $\alpha$ -1,4-グルカンホスホリラーゼ

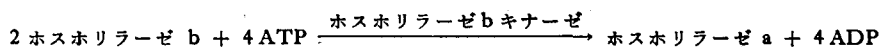
グリコーゲンの分解は  $\alpha$ -1,4-グルカンホスホリラーゼによる加リン酸分解で始まる。この酵素は、グリコーゲンやデンプンを非還元性末端から順序よく加リン酸分解してグルコース 1-リン酸を生じる。しかしこの分解反応は、枝分れをしている付近で止まる。こうして、グリコーゲンはこの酵素により  $\alpha$ -1,6-分枝の両側に約 4 コのグルコース残基が残るまで分解される。このホスホリラーゼは補欠分子族としてピリドキサルリン酸をもつが、その役割は不明である。哺乳動物の筋肉における活性型のホスホリラーゼは、同じサブユニット 4 コからなる 4 量体であって、ホスホリラーゼ a と呼ばれる。各サブユニットは、リン酸化されたセリン残基一つとピリドキサルリン酸と結合しているリジン残基一つを有している。このホスホリラーゼ a は、そのホスホセリンのリン酸基がホスホリラーゼホ



スファターゼによって特異的に加水分解されるとホスホリラーゼ b とよばれる 2 量体に開裂する。



ホスホリラーゼ b はホスホリラーゼ a が反応する条件下では不活性である。ホスホリラーゼ b は、ホスホリラーゼ b キナーゼの作用によりリン酸化されて、ホスホリラーゼ a にもどる。ホスホリラーゼ b は、AMP の共存下でホスホリラーゼ作用を発揮して、グリコーゲンをグルコース



1-リン酸に加リン酸分解することができるが、筋肉中にはそれほど多くの AMP は存在していない。

ホスホリラーゼによる反応の平衡定数は、

$$K = \frac{[(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_n][\text{Pi}]}{[(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_{n-1}][\text{G-1-P}]} = 3 \quad (\text{pH } 7, 25^\circ\text{C})$$

(ただし G-1-P: グルコース 1-リン酸, Pi: 無機リン酸)

である。この反応は可逆的であるから、グルコース 1-リン酸の濃度が高いか、無機リン酸の濃度が低ければ反応は容易に逆行してグリコーゲンの合成に進むはずである。しかし、次のような事実からこの反応は生体内ではグリコーゲンの分解のみを行い、合成には関与していない。その事実、この反応の K は 3 であるのに、筋肉中では、Pi/G-1-P は 300 ぐらいの高い値でもグリコーゲンの合成がおこること、アドレナリン、グルカゴンあるいは高濃度の Na<sup>+</sup> 等によりホスホリラーゼ活性を増大させるとグリコーゲンは合成されるよりもむしろ分解の方が促進されること、遺伝的にホスホリラーゼが欠けている患者 (Hers 病) の肝臓においてグリコーゲン量は高いこと、などである。

## 2) 分枝除去酵素 (debranching enzyme)

グリコーゲンの分解はホスホリラーゼの作用だけでは -1,6-結合をもつ枝分れのところで止まってしまい、完全に分解されない。そこでグリコーゲンの完全分解には α-1,6-結合を切断し分枝を除去する必要がある。しかし、この α-1,6-結合を切断するアミロ-1,6-グルコシダーゼは末端にある α-1,6-結合しか切断できない。そこでホスホリラーゼにより短くなったグリコーゲン分子の α-1,4-

結合鎖に  $\alpha$ -1,4 $\rightarrow$  $\alpha$ -1,4-グルカントランスフェラーゼが作用して短い枝を同じ分子の他の場所に転位させ、 $\alpha$ -1,6-結合を末端に露出せしめてからグルコシダーゼが作用して  $\alpha$ -1,6-結合を切断し、グルコースを遊離する。このグルカントランスフェラーゼ活性とグルコシダーゼ活性は、酵素を精製する過程で常に一定の比率で観察されることから、一つの酵素タンパク質が両酵素活性をあわせもっていると考えられる。

#### 4.2.2 グリコーゲン分解系の制御

グリコーゲン分解系の制御機構は、動物の種や臓器が異なると多少異なっている。筋肉におけるグリコーゲン分解の制御は図4.2に示すような仕組みになっていると考えられる。

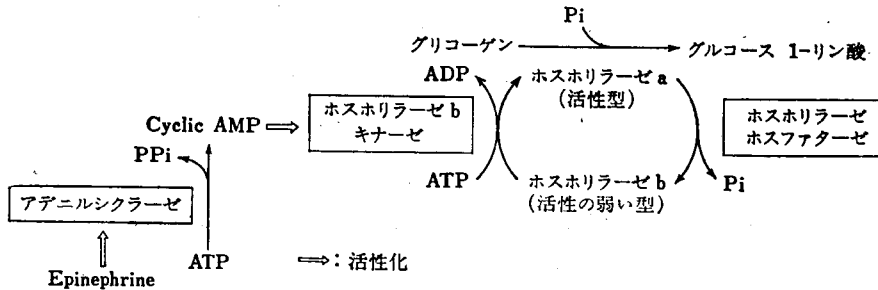


図 4.2 筋肉グリコーゲンの分解調節機構

つまり、エピネフリンによってアデニルシクラーゼが活性化され、細胞内の cyclic AMP が増加し、それによってホスホリラーゼ b キナーゼが活性化される。そのキナーゼによってホスホリラーゼ b がリン酸化されて活性型のホスホリラーゼ a に変化し、グリコーゲンの分解を引き起す。この一連の反応中エピネフリンに依存して cyclic AMP 濃度が増加するまでは安定している反応であるが、cyclic AMP がホスホリラーゼを活性化する反応は複雑であるらしい。還流心筋を用いた実験では、還流液中から  $\text{Ca}^{2+}$  を除くとエピネフリンはホスホリラーゼ b キナーゼを活性化はするが、ホスホリラーゼを活性化できない。しかし還流液中に  $\text{Ca}^{2+}$  を加えると、グリコーゲンの分解が発現するので  $\text{Ca}^{2+}$  がグリコーゲンの分解系において重要な役割を演じていることがわかる。筋収縮時のグリコーゲン分解促進は、収縮に依存して筋小胞体から細胞質に放出される  $\text{Ca}^{2+}$  がホスホリラーゼ b キナーゼを活性化するからである。

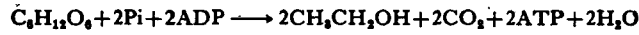
肝臓中のグリコーゲンホスホリラーゼは筋肉中のそれと似ていて、活性型と不活性型が存在してホルモンによって制御されていると考えられる。筋肉の場合と異なるのはグルカゴンによっても影響を受けることである。

#### 4.3 解糖 (glycolysis)

解糖は主に Embden, Meyerhof 及び Parnas らにによって研究された組織内でのグルコースの嫌氣的分解反応、すなわちグルコースが乳酸まで酸化される一連の反応系のことで、その平衡式は



である。一方、解糖とよく似た反応が酵母で起るが、この反応はグルコースがエタノールに酸化される一連の反応であってアルコール発酵とよばれ、その平衡式は



である。解糖と発酵は初めと終りの過程を除くとほとんど同じである。この解糖及び発酵はエネルギーを放出する反応であって、そのエネルギーは ATP に保存される。図4.3に解糖及びアルコール発酵の概略を示す。

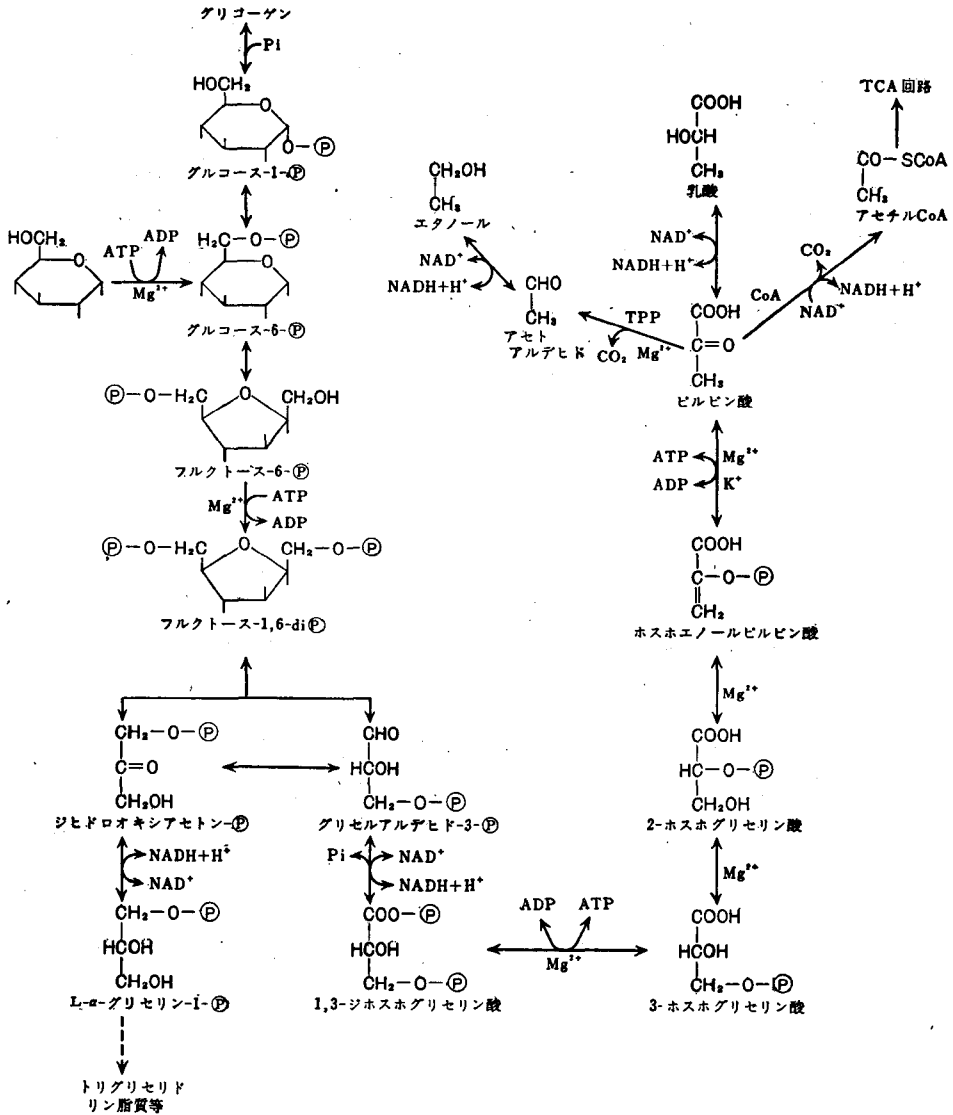


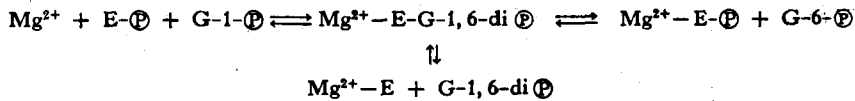
図 4.3 解糖とアルコール発酵

解糖系に属する酵素は細胞の可溶画分に局在し、それらはほとんど結晶化されよく研究されている。解糖の第1段階はグルコース 6-リン酸の生成であるが、グルコース 6-リン酸を生成する反応には次の二つがある。その一つは、グリコーゲンの分解によって生成されたグルコース 1-リン酸がホスホグルコムターゼによってグルコース 6-リン酸に変えられる反応である。もう一つは、グルコースがヘキソキナーゼによってグルコース 6-リン酸に変えられる反応である。

#### 4.3.1 解糖系の諸反応

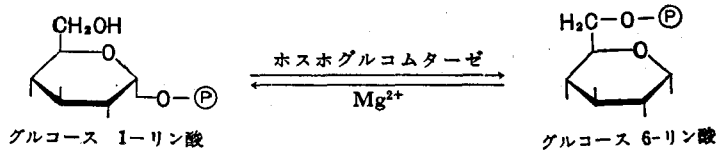
##### 1) ホスホグルコムターゼ

ホスホグルコムターゼはグルコース 1-リン酸をグルコース 6-リン酸に変える酵素である。かつてグルコース 1,6-ニリン酸が補酵素的に作用すると考えられたが、その後の研究によるとグルコース 1,6-ニリン酸は必ずしも必須の中間体ではなく、リン酸化された酵素はグルコース-1- $\text{P}$ 、あるいはグルコース-6- $\text{P}$  からグルコース-1,6-di $\text{P}$  を作るが、これは酵素から遊離されないままでグルコース-6- $\text{P}$  とリン酸化酵素とに分解する。反応系に添加したグルコース-1,6-di $\text{P}$  が反応を促進するのは、単にリン酸化された酵素の不活性化を防止するためであることがわかった。現在この酵素の反応機構は次のように考えられている。



酵素と結合しているリン酸は、酵素の活性中心と考えられるセリン残基に結合している。グルコムターゼはウサギの骨格筋から結晶化された(分子量 62,000)。

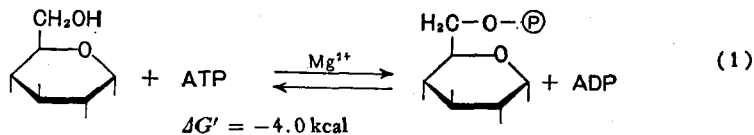
ホスホグルコムターゼは結局次の反応を触媒することになる。



$K_{\text{eq}}$  (グルコース 6-リン酸/グルコース 1-リン酸) は  $20^\circ\text{C}$  で 19.8 であって、平衡はグルコース 6-リン酸側によっている。これは、グルコース 1-リン酸の加水分解の  $\Delta G'$  が  $-5.0 \text{ kcal/mol}$  と高く、グルコース 6-リン酸 (加水分解の  $\Delta G' = -3.3 \text{ kcal/mol}$ ) のような低エネルギー化合物と高エネルギー化合物の中間に位置することに基づいている。

##### 2) ヘキソキナーゼ

ヘキソキナーゼはグルコースを ATP によりリン酸化する酵素であって、この反応はいろいろな生物がグルコースを利用する場合の第1段階である。



この酵素は酵母から結晶化され、分子量は 99,000、基質特異性はかなり広く、グルコースの外にフルクトース、マンノース、グルコサミンなどにも作用する。ヘキソキナーゼは  $Mg^{2+}$  を要求する酵素であるが、これは  $Mg\ ATP^{2-}$  複合体が真の基質になるためである。この酵素はグルコースが解糖に入る速度を調節する律速酵素であり、反応産物であるグルコース 6-リン酸によって阻害される。したがって細胞内にグルコース 6-リン酸が過剰に蓄積されると、その過剰分が代謝されるまではヘキソキナーゼはグルコース 6-リン酸により一時的に阻害される。

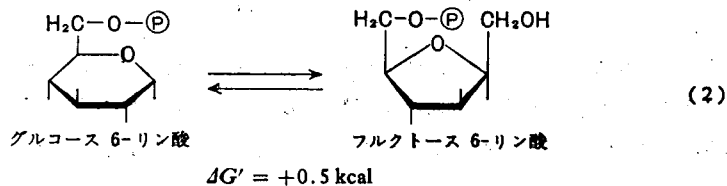
ここで、ヘキソキナーゼ反応のエネルギー変換を調べてみよう。

ヘキソキナーゼで生成されたグルコース 6-リン酸は低エネルギーリン酸化合物であって、この化合物の加水分解の  $\Delta G'$  は  $-3.3\text{ kcal}$  である。一方、グルコースのリン酸化に使用されるリン酸は ATP の末端のリン酸基であって、このリン酸基の加水分解の  $\Delta G'$  は  $-7.3\text{ kcal}$  である。したがってヘキソキナーゼ反応は、ATP の加水分解で生ずるエネルギー ( $7.3\text{ kcal}$ ) のうち  $3.3\text{ kcal}$  がグルコース 6-リン酸の生成に使われ、残りの  $4.0\text{ kcal}$  が熱として遊離する。結局、この酵素反応は全体として  $-4.0\text{ kcal}$  の自由エネルギーが減少する強い発エルゴン反応である。この反応の  $K_{eq}$  は  $3.8 \times 10^2$  であって右に片寄っている。この反応は細胞内では事実上不可逆的であり、リン酸化の逆反応はホスファターゼによって行われる。このヘキソキナーゼで生成されたグルコース 6-リン酸は解糖のほか、ペントースリン酸回路、グリコーゲン形成などの様々の代謝経路においても出発点になっている。

筋肉、肝臓、脳にはヘキソキナーゼのほか、グルコースに特異的なグルコキナーゼとフルクトースに特異的なフルクトキナーゼ(ケトヘキソキナーゼ)があって糖の第一級アルコールのリン酸化を触媒する。肝臓にはフルクトースの 1 位のアルコールを特異的にリン酸化するフルクトキナーゼもある。

### 3) グルコースホスフェートイソメラーゼ

ヘキソキナーゼでリン酸化されたグルコース 6-リン酸は、グルコースホスフェートイソメラーゼによってフルクトース 6-リン酸に変えられる。

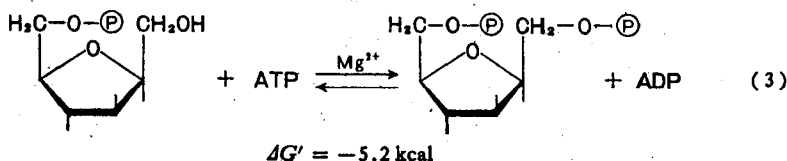


この酵素はキナーゼ類やムターゼ類と異なり cofactor として  $Mg^{2+}$  を要求しない。筋肉の酵素は分子量 130,000 であるが、解離すると分子量 61,000 のサブユニットを生ずる。この異性化反応は、 $K_{eq}=0.5$ 、 $\Delta G'=+0.5\text{ kcal}$  でよく平衡している。ごく少し解糖の逆行に有利であるが前の (1) 式の反応が強い発エルゴニックであるのと、フルクトース 6-リン酸の濃度が低いので、この反応は目的方向に進行する。この異性化反応は、有機化学的には Lobry de Bruyn-Alberda van Ekenstein 反応(グルコース、フルクトース、マンノースの 3 種の糖は希アルカリで容易に互変換する反応)に似ているが、酵素反応の場合はフルクトース 6-リン酸とそれぞれのアルドース 6-リン酸に特異的である。この反応は開環型で進行し、中間体としてはエンジオールが考えられている。

### 4) ホスホフルクトキナーゼ

前の (2) 式の反応で生じたフルクトース 6-リン酸はホスホフルクトキナーゼによりフルクトース 1,

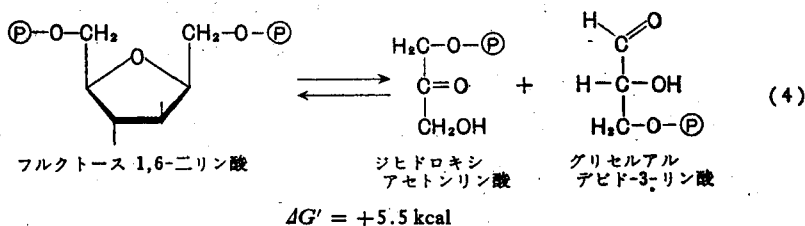
6-ニリン酸へとリン酸化される。



リン酸基の供与体は ATP であり、ATP の加水分解反応が共役して、反応を発エルゴンの ( $\Delta G' = -5.2 \text{ kcal}$ ) にしている。したがって、この反応は自由エネルギーの減少を伴うので逆行しにくい。この酵素の分子量は 360,000 であって解離すると4コのサブユニットを生ずる。酵素の反応速度と基質濃度の関係はアロステリック酵素に典型的なシグモイド型曲線を示す。事実、ホスホフルクトキナーゼ活性は過剰の ATP やクエン酸で阻害されるが、cyclic AMP, AMP, ADP, Pi, フルクトース 6-リン酸で回復する。この酵素反応が逆行しにくいのは上記の  $\Delta G'$  のためばかりでなく、これらのアロステリックエフェクターが働くためでもある。

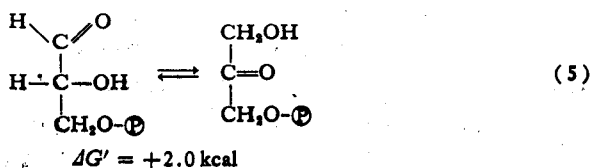
### 5) アルドラーゼ

解糖過程で次に起る反応はフルクトース 1,6-ニリン酸が三糖類であるグリセルアルデヒド-3-リン酸とジヒドロキシアセトンリン酸に開裂する反応である。この反応はアルドラーゼによって触媒される。



アルドラーゼはウサギの筋肉から結晶化され、分子量は 150,000 であるが酸性にすると4コの不活性なサブユニットに分かれる。筋肉のこの酵素は反応に金属を必要としない。

この反応は  $\Delta G' = +5.5 \text{ kcal}$  で著しく吸エルゴンのであり、生成物のトリオースリン酸が



で相互転換しうるので、次の平衡関係がえられる。

$$K_{\text{eq}} = \frac{[\text{Gd-3-P}][\text{DHA-P}]}{[\text{F-1,6-di-P}]} = \frac{[\text{トリオースリン酸}]}{[\text{F-1,6-di-P}]} = 1.5 \times 10^{-8}$$

ただし Gd-3-P: グリセルアルデヒド-3-P  
DHA-P: ジヒドロキシアセトンリン酸

したがって反応はフルクトースニリン酸のほうに片寄っているから、解糖が進むにはトリオースリ

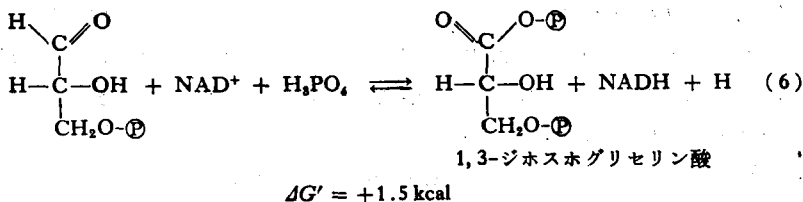


ン酸濃度が、フルクトース 1,6-二リン酸の 1/10~1/40 以下でないといけない。この目的方向への進行は、(4)式においてフルクトース 1,6-二リン酸の生成反応が強い発エルゴンのことと、反応産物のトリオースリン酸が速やかに除去されることで達成される。この反応のように、1分子の反応物質が2分子の反応産物に分解する反応の平衡点は反応物質の濃度の影響を受ける。実際の細胞内におけるフルクトース 1,6-二リン酸の濃度は約 0.1 mM であって  $\Delta G'$  の算出に仮定した濃度 (1.0 M) より低いので、フルクトース 1,6-二リン酸のかなりの量は反応が平衡に達する以前に分解する。

アルドラーゼの反応で生じたトリオースリン酸のうち、グリセルアルデヒド-3-リン酸だけが解糖の次の反応で分解され、解糖は目的方向に進行する。しかし、もう一方のジヒドロキシアセトンリン酸はトリオースホスフェートイソメラーゼ (5) 式の反応を触媒する) によって可逆的にグリセルアルデヒド 3-リン酸に変化する。解糖系において、アルドラーゼとトリオースイソメラーゼの両者が作用するとグルコース 1 分子より結局グリセルアルデヒド-3-リン酸 2 分子が生成されたことになる。

6) グリセルアルデヒドホスフェートデヒドロゲナーゼ

グリセルアルデヒド-3-リン酸はグリセルアルデヒドホスフェートデヒドロゲナーゼにより 1,3-ジホスホグリセリン酸に酸化される。



この反応は解糖過程で最初に起る酸化還元反応であり、高エネルギーリン酸化合物 (1,3-ジホスホグリセリン酸) の出来る最初の反応である。この酵素はウサギの筋肉及び酵母から結晶化され、分子

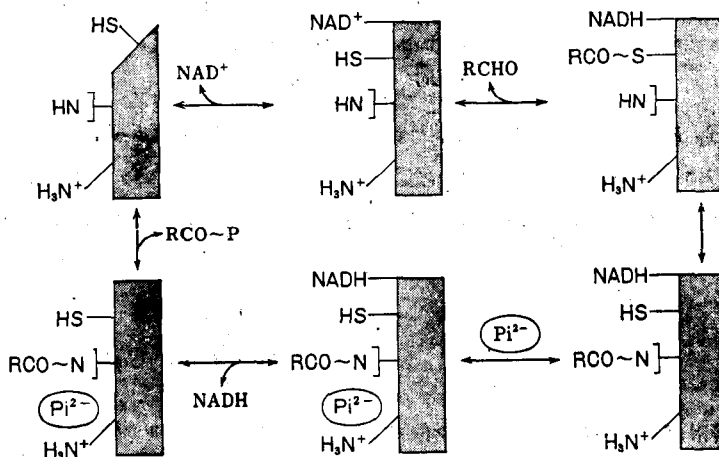


図 4.4 グリセルアルデヒド-3-リン酸脱水素酵素の可逆的触媒反応サイクルを説明するための仮定的な図

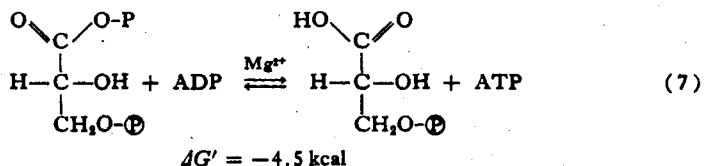
RCHO=グリセルアルデヒド-3-リン酸. HS=システイン-149; HN]=ヒスチジン-38 のイミダゾール; H<sub>3</sub>N<sup>+</sup>=リジン-183 の ε-アミノ基; Pi<sup>2-</sup>=HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup>

量は 140,000, 4 コの等しいサブユニットからなっている。サブユニットは約 330 コのアミノ酸からなる 1 本のペプチド鎖から出来ていて、4 コのサブユニットのそれぞれに NAD が 1 分子強固に結合している。この結合 NAD は反応中も活性部位に結合したままである。この酵素は SH 酵素であって、-SH 基は触媒作用に必要な作用基である。反応については図 4.4 のような機構が考えられている。

この反応は、 $\Delta G' = +1.5 \text{ kcal}$  であるので、基質と反応産物の濃度に依存して左右どちらにも進む。

#### 7) ホスホグリセレートキナーゼ

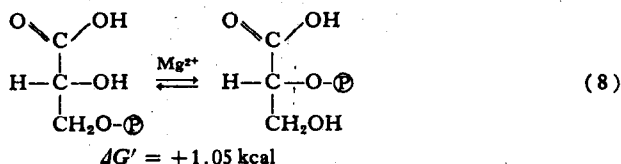
前の反応で生成された 1,3-ジホスホグリセリン酸はホスホグリセレートキナーゼによって 3-ホスホグリセリン酸に代謝される。



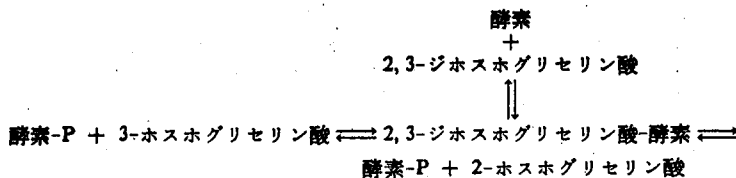
この反応は、 $\Delta G' = -4.5 \text{ kcal}$  であり、発エルゴニックで、前の反応で作られたアシルリン酸のリン酸を ADP へ転移して ATP を生成する。このように、ホスホグリセレートキナーゼ反応は著しく発エルゴニックであるのですぐ前の反応の平衡を完結させるように作用していることになる。

#### 8) ホスホグリセロムターゼ

反応式 (7) で生成された 3-ホスホグリセリン酸はホスホグリセロムターゼによって 2-ホスホグリセリン酸に変えられる。

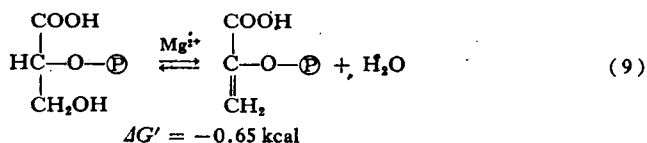


この反応は、 $K_{eq} = 0.17$  であり、可逆的である。この酵素はホスホグリセロムターゼに類似して共同因子として 2,3-ジホスホグリセリン酸を必要とする。ホスホグリセロムターゼは酵母及びウサギの筋肉から結晶化されている。この酵素にはリン酸基が結合しているので次に示す反応機構が考えられている。



#### 9) ホスホピルベートヒドラーゼ(エノラーゼ)

2-ホスホグリセリン酸は本酵素の作用で高エネルギーリン酸基をもつホスホエノールピルビン酸を生ずる。



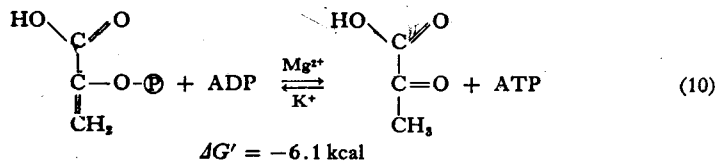
この酵素は幾つかの材料から結晶化され、分子量は 85,000、活性には  $\text{Mg}^{2+}$  又は  $\text{Mn}^{2+}$  を必要とする。この反応は、 $K_{\text{eq}}=3$  であり、 $\Delta G'=-0.65 \text{ kcal}$  であるので可逆的である。

反応産物のホスホエノールビルビン酸は生物にとって最も高い高エネルギー化合物であって、この物質の加水分解の際の自由エネルギーの変化は  $-12.8 \text{ kcal}$  である。ホスホエノールビルビン酸がこのような高エネルギー化合物である理由は第2章で論じた。

ホスホビルベートヒドラーゼ活性はフッ素イオンで強く阻害される。この阻害はリン酸が存在すると著しくなるが、これはほとんど解離しないマグネシウムフルオロリン酸錯塩を生じ、 $\text{Mg}^{2+}$  を反応系から除くためである。

#### 10) ビルベートキナーゼ

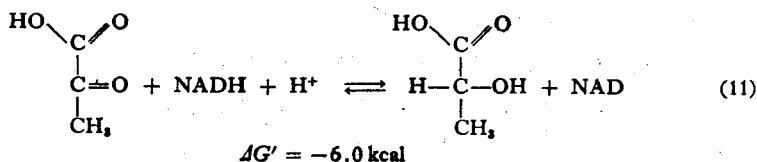
次の反応はホスホエノールビルビン酸の高エネルギーのリン酸結合部が ADP に転移されて ATP を生成してビルビン酸になる反応である。この反応はビルベートキナーゼによって触媒される。



この酵素はヒトとネズミの筋肉、及び酵母から結晶化され、酵母から得られた酵素の分子量は 165,000 で解離すると 4 コのサブユニット (分子量 42,000) になる。反応には  $\text{K}^+$  及び  $\text{Mg}^{2+}$  又は  $\text{Mn}^{2+}$  のイオンが必要である。ビルベートキナーゼの反応は著しい発エルゴンのためであり、実際の細胞内の条件では逆反応は進行しない。その理由は  $K_{\text{eq}}$  が  $3.2 \times 10^3$  と大きいばかりでなく、この酵素のビルビン酸に対する  $K_m$  値が  $1 \times 10^{-2} \text{ M}$  であって、ホスホエノールビルビン酸の  $7 \times 10^{-3} \text{ M}$  に比べ非常に大きいこと、正反応の最大速度が逆反応の 200 倍も大きいこと、等による。

#### 11) ラクテートデヒドロゲナーゼ

解糖過程の最終段階はビルビン酸が還元されて乳酸になる反応である。この反応はラクテートデヒドロゲナーゼにより触媒される。



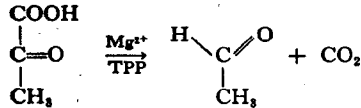
反応には NADH を必要とするが、この NADH はグリセルアルデヒドホスフェートデヒドロゲナーゼ反応 (反応(6)) で生成した NADH を使用する。こうして、反応(6) で還元され生成された NADH を反応(11) で NAD に酸化することにより解糖過程を連続して行うことができる。この酵素は種々の動物組織から結晶化されている。そのアイソザイムについては第3章で述べた。この反応

は、 $\Delta G' = -6.0 \text{ kcal}$ ,  $K_{eq} = 2.5 \times 10^4$  であり、乳酸生成に片寄っている。

乳酸は嫌気的条件下での解糖過程の最終産物であり、この解糖により1分子のグルコースから2分子の乳酸が生じたことになる。

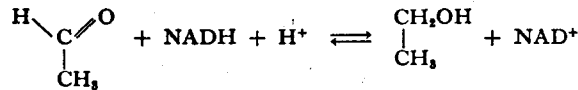
#### 4.3.2 アルコール発酵

酵母などアルコール発酵を行う微生物は解糖と異なり乳酸よりむしろアルコールと  $\text{CO}_2$  を生成する。この場合、アルコール発酵はグルコースからピルビン酸を生成するまでの過程は解糖と全く同じ経路をたどる。アルコール発酵においては、ピルビン酸はまず脱炭酸されてアセトアルデヒドと  $\text{CO}_2$  に変えられる。この反応はピルビン酸脱炭酸酵素によって触媒される。



この反応機構は、まずアセトアルデヒド-TPP 複合体が生じ、それが分解してアセトアルデヒドと TPP を生成する。反応は発エルゴニックであり逆行しない。この酵素は  $\text{Mg}^{2+}$  と TPP を要求する。

アルコール発酵の最後の反応はアセトアルデヒドの還元によるアルコールの生成である。この反応はアルコールデヒドロゲナーゼによって触媒される。この酵素は補酵素として  $\text{NAD}^+$  を要求する。



アルコールデヒドロゲナーゼはパン酵母、ウマの肝臓から結晶化されているが、後者ではアルコール発酵を行わないので他の目的に役立っているらしい。最近、それがステロイドの第一級アルコールの酸化に関係していることが示された。アルコールデヒドロゲナーゼ反応で使用される  $\text{NADH}$  はやはりグリセルアルデヒドホスフェートデヒドロゲナーゼ反応(反応(6))で生成された  $\text{NADH}$  である。この反応の平衡はアルコールのほうに片寄っている。

かくて、アルコール発酵においては1分子のグルコースから2分子のアルコールが生じることが明らかになった。解糖とアルコール発酵は最後のピルビン酸の反応以外は全く同じ経路をたどることは驚異に値する事実である。

#### 4.3.3 解糖における ATP の生成

解糖は多くの微生物、高等動物植物にみられる糖質の代謝経路の一つであるが、この代謝経路でグルコースが代謝されると、グルコースのエネルギーの一部が ATP として取り出される。ここで、解糖における ATP の生成量について考えてみよう。

嫌気的条件下で1モルのグルコースが解糖又はアルコール発酵によって代謝されると2モルの ATP が消費され、4モルの ATP が回収される。したがって、正味2モルの ATP が生成されたことになる。いま、この2モルの ATP が  $\text{ADP}$  と  $\text{P}_i$  に加水分解されたとすると約  $18 \text{ kcal}$  が放出される。一方、1モルのグルコースが乳酸まで分解されると  $48 \text{ kcal}$  が生産されるわけであるから、1モルのグルコースの分解で産生されるエネルギーの約  $1/3$  が ATP の化学的エネルギーとして保存

されたことになる。

好氣的条件下では、ピルビン酸は乳酸へ還元されず別の反応を受ける。すなわちピルビン酸はミトコンドリアに入り、TCA 回路を通過して完全に  $\text{CO}_2$  と  $\text{H}_2\text{O}$  とに酸化される。このときは、グリセルアルデヒドホスフェートデヒドロゲナーゼによる反応 ((6) の反応) で生成された NADH はラクテートデヒドロゲナーゼやアルコールデヒドロゲナーゼで再酸化されるのではなく、第5章で述べる電子伝達系によって酸化を受ける。ピルビン酸や NADH が好氣的に酸化されるときは、はるかに多量の ATP が生成される。1モルのグルコースが解糖過程で代謝される場合、グリセルアルデヒドホスフェートデヒドロゲナーゼ反応で産生される NADH は2モルである。一方、2モルの NADH が呼吸鎖で酸化されるときに産生される ATP は6モルであるから、結局、好氣的に1モルのグルコースが解糖過程でピルビン酸まで酸化されると8モルの ATP が産生されたことになる。

4.4 トリカルボン酸サイクル

嫌氣的条件下では解糖過程で生成されるピルビン酸は乳酸に還元される。しかし、好氣的条件下で

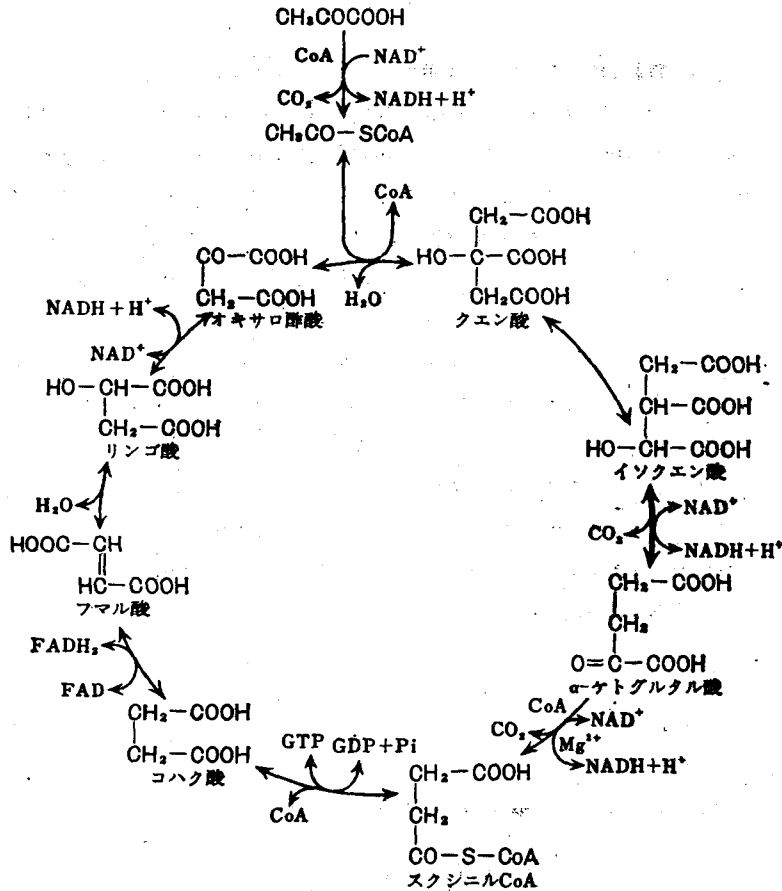
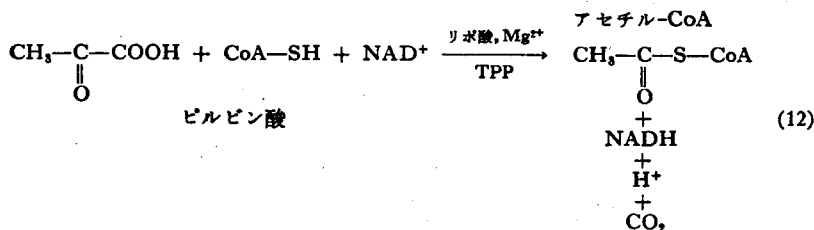


図 4.5 トリカルボン酸サイクル

は、ピルビン酸は乳酸に還元されるよりも酸化的脱炭酸を受けてアセチル-CoA に代謝される。このアセチル-CoA はトリカルボン酸サイクル (TCA 回路, Krebs 回路ともいう) によって  $\text{CO}_2$  と  $\text{H}_2\text{O}$  に酸化されて、更に大量の ATP を産生することになる。この TCA 回路による酸化とそれに伴う ATP の生成 (呼吸鎖リン酸化) は細胞のミトコンドリアの中で行われ、両系統の反応の間には巧みな連繋が保たれている。図 4.5 に TCA サイクルの概略を示した。

#### 4.4.1 アセチル-CoA の生成

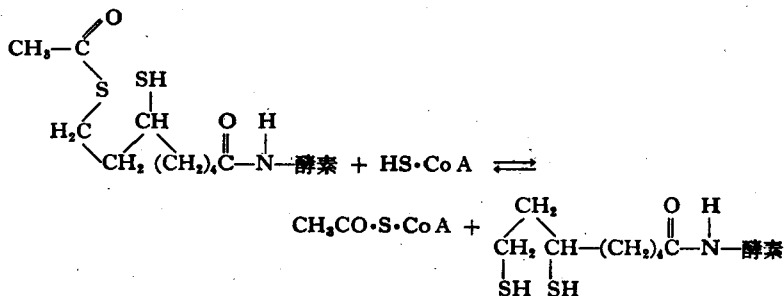
ピルビン酸は TCA 回路に入る前にピルビン酸脱水素酵素系 (pyruvate dehydrogenation complex) と呼ばれる複合酵素系により酸化的脱炭酸反応を経て、アセチル-CoA になる。

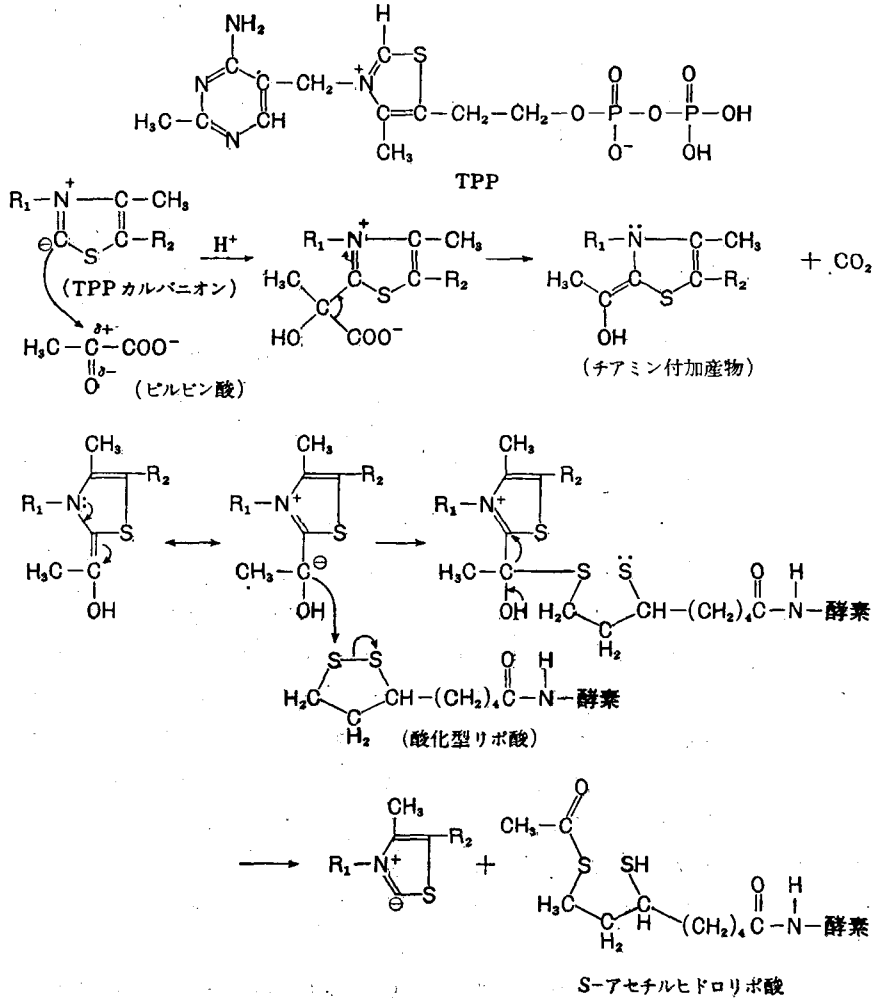


この反応には3種類の酵素 (ピルベートデカルボキシラーゼ, ジヒドロリポイルトランスアセチラーゼ, ジヒドロリポイルデヒドロゲナーゼ) の外に6種類の coenzyme や cofactor (TPP, CoA,  $\text{NAD}^+$ , FAD, lipoic acid,  $\text{Mg}^{2+}$ ) が要求される。このピルビン酸脱水素酵素複合体は大腸菌とブタ心臓から精製され、大腸菌の酵素の分子量は400万である。この反応は全体として、 $\Delta G' = -8.0 \text{ kcal}$  で発エルゴニックである。このピルビン酸脱水素酵素複合体によるピルビン酸の酸化的脱炭酸 (oxidative decarboxylation) の機構を詳しく分析してみよう。この反応は3段階に分けられる。

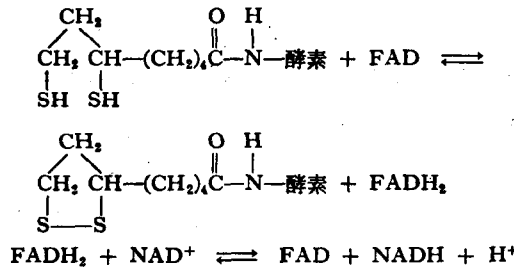
**第1段階** ピルビン酸は、まずピルベートデカルボキシラーゼにより脱炭酸されてアセトアルデヒド-TPP 複合体になる。アセトアルデヒド-TPP 複合体は酵素と共有結合している酸化型リボ酸と反応し付加物を作る。これが分子内電子移動を起して分解し、アセチル-リボ酸複合体を生じ、TPP のカルバニオンを再生する。この際、分子内電子移動に基づく酸化還元により、アセトアルデヒド部分は酸化されてアセチル基になり、酸化型リボ酸はジヒドロリポ酸に還元される。それに伴ってアセチルジヒドロリポ酸の高エネルギーチオエステルが出来る (次頁反応式参照)。

**第2段階** 次の段階でアセチル基はリポエートトランスアセチラーゼの作用により CoA に移り、アセチル-CoA が生じ酵素から離れる。





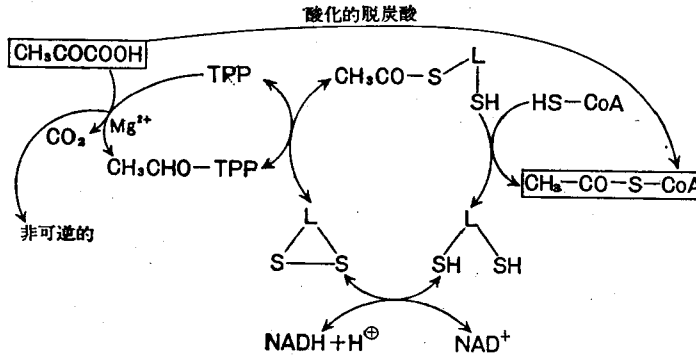
第3段階 最後の段階は酵素に結合したままで還元されたリポ酸が FAD を含むジヒドロリポイルデヒドロゲナーゼにより再酸化される反応である。この際生じた FADH<sub>2</sub> は NAD<sup>+</sup> により再酸化される。



以上一連の反応の結果を総合すると結局反応(12)になるが、この際チアミン ニリン酸は脱炭酸剤として、リポ酸はチアミン ニリン酸から CoA へのアセチル基の伝達体として働く。この複雑な反

応で酸化をうけもつのは  $\text{NAD}^+$  である。第2及び第3段階の反応は可逆的であるが、第1段階の脱炭酸反応が不可逆であるため、系全体としては不可逆反応である。

全体の反応を模式的に示す。

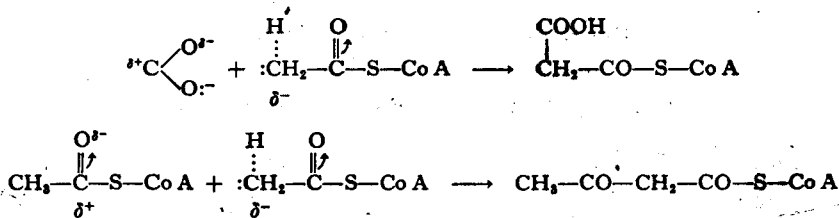


この酵素複合体は解糖系の中間産物によって活性化され、 $\text{NADH}$  及びアセチル-CoA によって不活性化される。また  $\text{ATP}$  の濃度が上昇すると、adenylate cyclase が活性化され、環状 AMP が生じる。これはこの酵素複合体のトランスアセチラーゼ反応を触媒する部位に強固に結合している特異的な調節酵素である protein kinase を活性化する。次いで後者が酵素複合体の二つの異なるペプチドの一方のセリン残基をリン酸化すると複合体全体が不活化される。 $\text{ATP}$  が減少すると環状 AMP も減少し、protein kinase は不活化され、特異的なホスファターゼが働いて酵素に結合したセリンを取り除き酵素活性を回復させる。このホスファターゼ酵素に結合しているわけではないが  $\text{Ca}^{2+}$  が酵素への付着を誘発し結合型ホスファターゼを活性化する。

アセチル-CoA のアセチル基と S との間のチオエステル結合も、高エネルギー結合でその  $\Delta G'$  は  $-8.2 \text{ kcal}$  である。

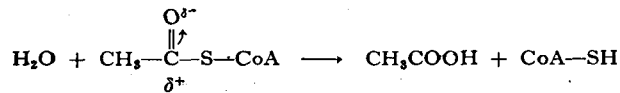
アセチル-CoA は多くのアセチル化反応でアセチル基の供与体となる。例えば、スルファミンを飲むと、それはアセチルスルファミンとして排泄されるが、その際のアセチル基はアセチル-CoA から移される。

$\text{CH}_3\text{CO-S-CoA}$  の反応性はそれがチオエステル結合であることに帰せられる。すなわち、このような化合物では酸素原子も硫黄原子もともに電気陰性度が高いから、カルボニルの炭素原子は正の傾向 ( $\delta^+$ ) をもち、 $\alpha$ -メチレンの一つの水素原子はプロトンとして解離し、 $\alpha$ -炭素をマイナスの傾向 ( $\delta^-$ ) をもつカルバニオンとする傾向を示す。その結果、 $\text{CO}_2$  及びアセチル-CoA 自身のカルボニル炭素による親電子攻撃を受けやすくなる。





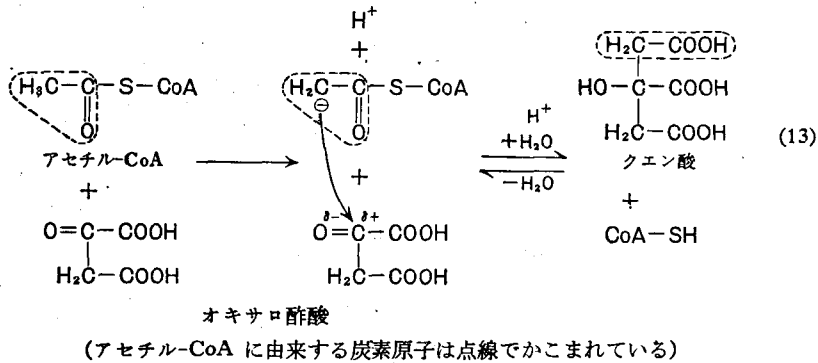
一方,  $\text{H}_2\text{O}$  のような求核試薬による攻撃も受けることができる.



#### 4.4.2 TCA 回路の諸反応

##### 1) シトレートシンターゼ(シトレート縮合酵素)

この酵素はアセチル-CoA とオキサロアセテートとを縮合してクエン酸を生じる反応を触媒し, アセチル-CoA が TCA サイクルに入る反応をつかさどる.



この際, チオエステルが分解して  $\text{CoA}-\text{SH}$  が再生される. この反応はアセチル-CoA の高エネルギーチオエステル結合の水解を伴う共役反応であり,  $\Delta G' = -7.5 \text{ kcal}$ ,  $K_{\text{eq}} = 3.2 \times 10^5$  で全体として発エルゴニックであってクエン酸の生成方向に片寄っている.

この酵素は TCA サイクルの律速酵素であり, 細胞のエネルギー充足率

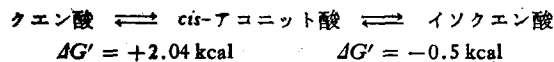
$$\left[ \text{エネルギー充足率} = \frac{1}{2} \left( \frac{[\text{ADP}] + 2[\text{ATP}]}{[\text{AMP}] + [\text{ADP}] + [\text{ATP}]} \right) \right]$$

の影響を受け, ATP によって阻害を受ける.

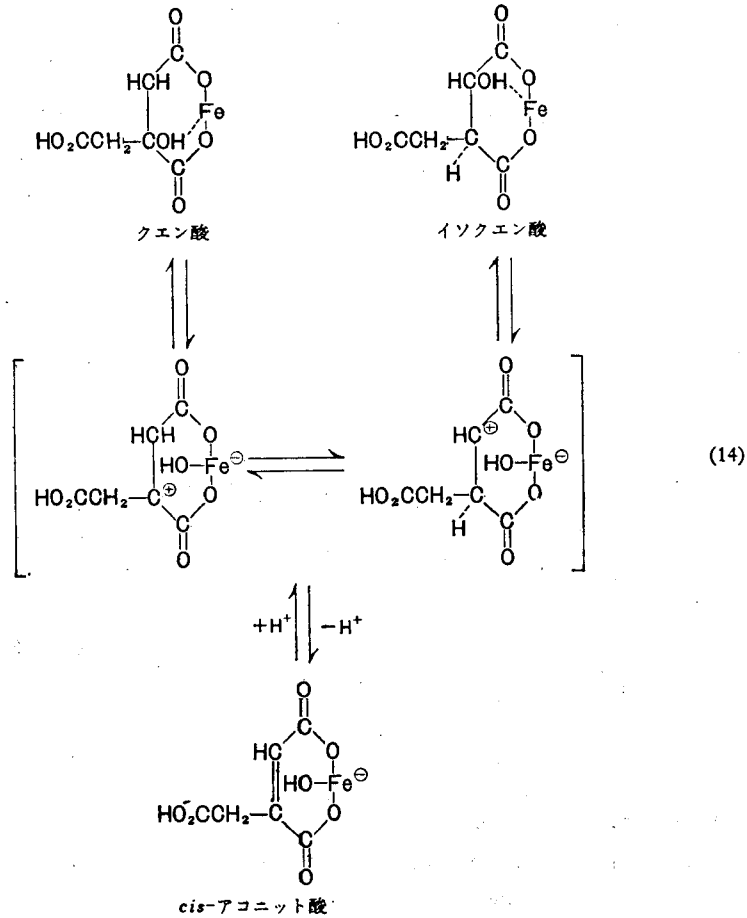
##### 2) アコニテートヒドラターゼ(アコニターゼ)

この酵素はクエン酸, *cis*-アコニット酸, イソクエン酸の3種のトリカルボン酸の相互間の異性化反応を触媒し平衡を成立させる(反応式, 次頁).

活性が十分に発揮されるためには,  $\text{Fe}^{2+}$  と還元型グルタチオン又はシステインを必要とする.  $\text{Fe}^{2+}$  が必要な理由は,  $\text{Fe}^{2+}$  が水酸基の解離を促進し, カルボニウムイオンの生成を助けるためであろう. 平衡時における3者の相対的割合は, pH 7.4 でクエン酸 90%, *cis*-アコニット酸 4%, イソクエン酸 6% で, その自由エネルギー変化は次の通りである.



このように平衡時ではクエン酸を生成する方向に片寄っているが, 細胞内ではイソクエン酸が次の



段階に進むので全体として目的の方向に向かう。

なお興味あることは、基質であるクエン酸は対称的な分子構造をもつが、アコニテートヒドラーゼは非対称的に作用する。すなわち、クエン酸からイソクエン酸が出来るとき、水酸基はアセチル-CoAのメチル基由来の炭素原子でなく、オキサロ酢酸由来の炭素原子につく。これについて Ogston は次のように3点結合で説明している。

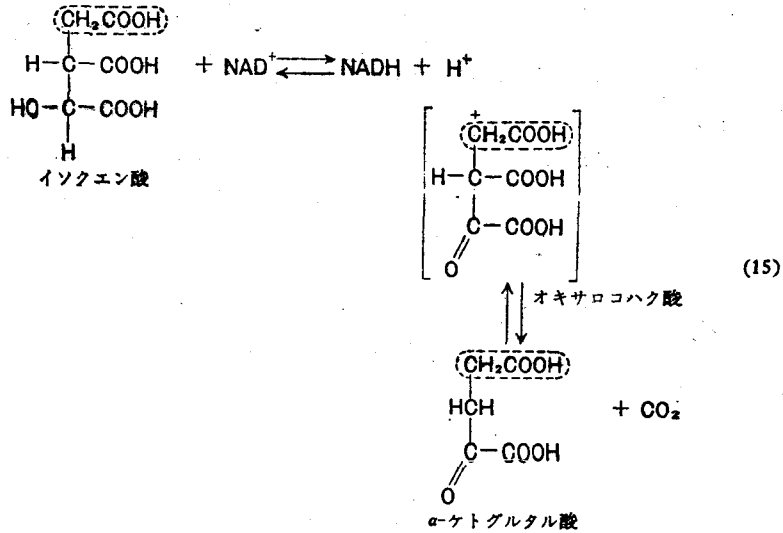
すなわち次のような条件

- ① 基質分子は酸素と少なくとも3点で結合する。
- ② 酵素表面のこの3点は互いに異なり、非対称的に配列している。
- ③ 基質分子の構造は、中心の炭素に二つの同じ基がついているが、残る他の二つは異なっている。

が満たされるとき、基質は対称でも酵素-基質の反応は非対称的に起りうる。

### 3) イソシトレートデヒドロゲナーゼ

この酵素はイソクエン酸を酸化的に脱炭酸して  $\alpha$ -ケトグルタル酸と  $\text{CO}_2$  に変える。この反応には  $\text{Mg}^{2+}$  や  $\text{Mn}^{2+}$  のような2価の陽イオンと酸化剤として  $\text{NAD}^+$  が要求される。この反応は次のように2段階に進むと考えられている。



まず、イソクエン酸は脱水素反応(酸化反応)によってオキサロコハク酸になり、次にこのβ-ケト酸は脱炭酸されてα-ケトグルタル酸とCO<sub>2</sub>になると考えられている。しかし、この反応の中間体と考えられているオキサロコハク酸は強く酵素表面に結合したままで脱炭酸反応を受け遊離の状態では存在しないことが確かめられている。反応の平衡は生理的条件下ではα-ケトグルタル酸側に片寄っている。

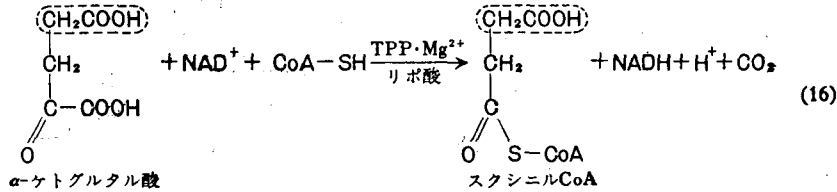
動物組織には2種類のイソシトレートデヒドロゲナーゼがあり、一つはNAD<sup>+</sup>を要求しミトコンドリアに存在する。もう一つはミトコンドリアと細胞質の両方に存在しNADP<sup>+</sup>を要求する。TCA回路の中でイソクエン酸の酸化を触媒しているのはNAD<sup>+</sup>要求性の酵素である。NADP<sup>+</sup>に特異的な酵素はサイクルが嫌氣的に働くときに補助的に役立っている。ミトコンドリアにおけるイソクエン酸の酸化的脱炭酸反応は、TCA回路全体の律速段階であり、その調節にADPが関与している。すなわち、ADPはイソシトレートデヒドロゲナーゼの正のエフェクターとして作用する。ADPの酵素への結合は酵素のV<sub>max</sub>の変化を伴わずに、基質のイソクエン酸に対するK<sub>m</sub>値を減少させる。イソシトレートデヒドロゲナーゼ活性はATPやNADHによって影響を受け、細胞内のATPやNADH濃度が高いときは酵素活性が下り、TCA回路全体の活性も低下する。これはATPやNADHがNAD<sup>+</sup>と競合することにより酵素を阻害するためである。ATPが消費されADP濃度が増大するとこの酵素の活性は増大し、TCA回路全体の活性も増大する。細胞内のNADHの濃度増大もこの酵素の活性を低下させるが、過剰のNADHが呼吸系によって消費されると阻害は除かれ酵素活性は増大する。

TCA回路の調節は、またクエン酸によっても間接的に効果的に行われる。イソシトレートデヒドロゲナーゼ活性が低下すると、イソクエン酸とクエン酸濃度が増大する。これはアコニテートヒドラーゼの反応平衡がクエン酸側に片寄っているからである。クエン酸はアロステリックにフルクトースジホスファターゼとアセチル-CoAカルボキシラーゼを活性化させる。これらの酵素はいずれもTCA回路に入る基質の量を減少させるように働く。イソシトレートデヒドロゲナーゼはモノマー(分

子量: 33万) 又はダイマーになっている。モノマーは ADP の存在により会合してダイマーになる。この ADP に依存したモノマーのダイマーへの会合は NADH によって阻害される。低濃度の ADP の存在下ではモノマーよりダイマーの方が強い酵素活性を持つ。

#### 4) $\alpha$ -ケトグルタレートデヒドロゲナーゼ

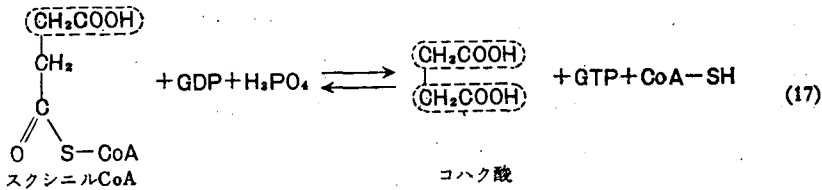
この酵素は  $\alpha$ -ケトグルタル酸をスクシニル-CoA と  $\text{CO}_2$  に変える反応を触媒し、 $\alpha$ -ケトグルタレートデカルボキシラーゼ、リポエートスクシニルトランスフェラーゼ、リポエートデヒドロゲナーゼの3種類の酵素の複合体である。



反応には、TPP,  $\text{NAD}^+$ , FAD, CoA, リポ酸及び  $\text{Mg}^{2+}$  等が必要である。反応産物のスクシニル-CoA はコハク酸のカルボキシル基の一方が高エネルギーのチオエステルになっている。反応機構は前に述べたピルビン酸の酸化的脱炭酸の反応機構に類似している。脱炭酸反応であるため、簡単には逆行しない。

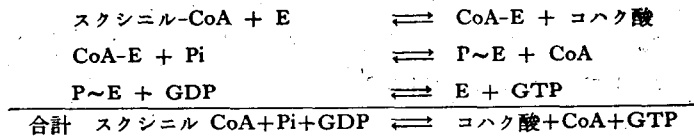
#### 5) スクシニル-CoA シンテターゼ(スクシネートチオキナーゼ)

この酵素は高エネルギーのチオエステルであるスクシニル-CoA からコハク酸と高エネルギーリン化合物である GTP を作る反応を触媒する。したがってただの加水分解反応ではなく、エネルギー保存反応である。



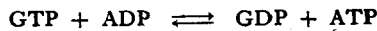
この反応は  $\Delta G' = -0.8 \text{ kcal}$  で反応の推進力は極めて弱い。

スクシニル-CoA シンテターゼの反応は次の3段階に進む。



Pi は酵素タンパク質中のヒスチジン残基に結合することが知られている。

この反応で作られた GTP はその末端のリン酸基を ADP に与え ATP を生成する。



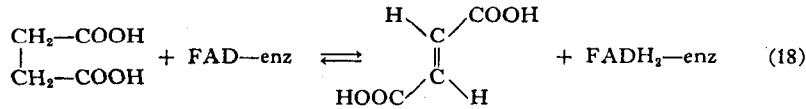
$$K_{\text{eq}} = 1$$

この反応は nucleoside diphosphokinase により触媒される。

スクシニル-CoA の脱アシル化と共役した ATP の生成は、電子伝達系における酸化的リン酸化の脱共役剤である 2,4-ジニトロフェノールによって阻害されない。

#### 6) スクシネートデヒドロゲナーゼ

コハク酸は、この酵素の作用により水素原子を失い、フマル酸になる。



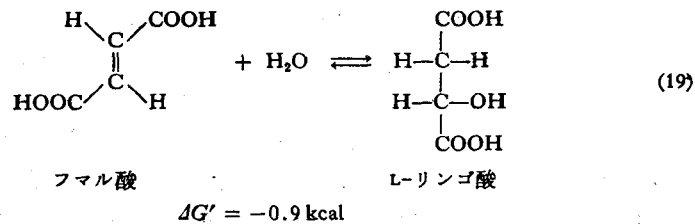
この反応は TCA 回路のうちでピリジンスクレオチドが関与しない唯一の脱水素反応である。この酵素反応における直接の電子受容体は酵素に共有結合で結合している FAD である。

スクシネートデヒドロゲナーゼはミトコンドリア内膜に強く結合している不溶性の酵素である。しかし酵素は、界面活性剤を用いると可溶化することができる。ウシの心臓及び酵母から可溶化したものは、酵素 1 分子 (分子量 200,000) につきフラビン 1 分子と非ヘム鉄 4 原子を含んでいる。この酵素に結合している FAD は、酵素タンパク質をトリブシン処理すると離れる。

この酵素はコハク酸、フマル酸、リン酸によって活性化され、オキサロ酢酸により競合的に阻害されるのでアロステリック酵素と考えられる。オキサロ酢酸は TCA 回路上にある有機酸では最後に位置するジカルボン酸であり、細胞内にオキサロ酢酸が蓄積することによりスクシネートデヒドロゲナーゼ活性は低下し、ひいてはオキサロ酢酸が過剰に生成されるのを阻害することになる。

#### 7) フマレートヒドラターゼ(フマラーゼ)

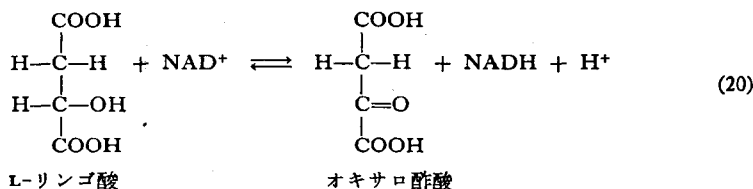
この酵素はフマル酸に水を添加して、L-リンゴ酸を生ずる反応を触媒する。



この反応は、自由エネルギーの変化が比較的小さいので可逆的反應である。この酵素はブタの心臓から結晶化され、分子量は約 200,000 で 4 コのサブユニットから出来ている。酵素はサブユニットのペプチドに解離すると酵素活性を示さなくなる。この酵素は厳しい立体特異性を示し、トランス型の不飽和酸と L-オキシ酸のみにしか作用しない。酵素がフマル酸に作用した際、フマル酸の二重結合のところにトランス型に H と OH が加わる。OH 基はフマル酸の二重結合の一方側のみに付加される結果、L-リンゴ酸が特異的に生じるのである。

#### 8) マレートデヒドロゲナーゼ

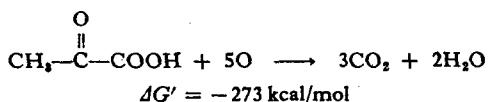
この酵素は、リンゴ酸が  $\text{NAD}^+$  により酸化されてオキサロ酢酸を生ずる反応を触媒する。この反応で TCA 回路は完結する。



みかけの平衡定数は  $1.3 \times 10^{-5}$  であって、反応平衡は L-リンゴ酸側に片寄っている。しかし、続いて起るオキサロ酢酸とアセチル-CoA との縮合反応はクエン酸を生ずる向きに強い発エルゴン反応であり、連続的にオキサロ酢酸を取り除くので上の反応はオキサロ酢酸側に進行する。高等動物には二つのマレートデヒドロゲナーゼが存在し、一つはミトコンドリア内に存在するが、もう一方の酵素は細胞質に含まれる。この二つの酵素は分子量、アミノ酸組成、酵素化学的諸性質が全く異なっている。

#### 4.4.3 TCA 回路の意義

解糖過程で生じたピルビン酸は、好氣的条件下では酸化的脱炭酸を受けてアセチル-CoA になる。このアセチル-CoA が TCA 回路によって完全に酸化されて  $\text{CO}_2$  と  $\text{H}_2\text{O}$  になると、全体の反応を通じて 273 kcal の自由エネルギーの遊離が行われることになる。

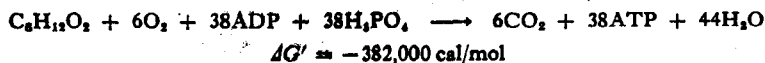


このピルビン酸が酸化されて  $\text{CO}_2$  と  $\text{H}_2\text{O}$  になる代謝経路上には五つの酸化段階(反応 12, 15, 16, 18, 20)がある。上式の 5 コの酸素原子は 4 分子の  $\text{NAD}^+$  と 1 分子の  $\text{FAD}$  を通して、5 章で述べる電子伝達系を通して最終的には 5 分子の  $\text{H}_2\text{O}$  に還元される。しかし、シトレートシンターゼ(反応 13)とマレートヒドラターゼ(反応 19)の反応で 2 分子の  $\text{H}_2\text{O}$  が使われ、またスクシニル-CoA シンターゼ(17の反応)で生じた GTP が ATP を経て使われるときに  $\text{H}_2\text{O}$  1 分子を消費するので、結局、ピルビン酸の TCA 回路によって生成する水は、上式の通り 2 分子となる。

この TCA サイクルでピルビン酸が酸化されると 3 分子の  $\text{CO}_2$  が出来るが、直接ピルビン酸に由来する  $\text{CO}_2$  を生成する反応はピルビン酸脱水素酵素系(反応 12)だけで、あと二つはイソシトレートデヒドロゲナーゼ(反応 15)と  $\alpha$ -ケトグルタレートデヒドロゲナーゼ(反応 16)のところであって、この場合の  $\text{CO}_2$  は、直接はオキサロ酢酸の二つのカルボキシル基に由来する。しかし、TCA 回路が何回もまわればピルビン酸に由来したことになる。

TCA 回路によって還元された補酵素は  $\text{NADH}$  が 4 分子、 $\text{FADH}$  が 1 分子である。ところでこれらの還元型の補酵素が 5 章で述べる電子伝達系で酸化されると、4 分子の  $\text{NADH}$  から 12 分子の ATP, 1 分子の  $\text{FADH}$  から 2 分子の ATP がそれぞれ生成される。一方、スクシニル-CoA シンターゼによる反応(反応 17)による基質レベルでのリン酸化により 1 分子の ATP が生成されるから、結局 1 分子のピルビン酸が TCA 回路によって酸化されると 15 分子の ATP が生成されることになる。したがってエネルギー保存効率は、 $15 \times (-8,000) / (-273,000) \approx 0.44$  すなわち、約 44% である。

同様にグルコースが最終的に  $\text{CO}_2$  と  $\text{H}_2\text{O}$  とに酸化されるときエネルギー保存効率を求めることができる。1分子のグルコースが解糖系で好氣的にピルビン酸まで酸化されると前(4.3.3)に述べたように8分子のATPが生成される。一方、先のTCA回路によるピルビン酸の酸化で生成する30分子のATPを加えると計38分子となる。したがってエネルギー保存効率は、 $38 \times (-8,000) / (-686,000) \approx 0.44$  すなわち、44%となる。グルコースの解糖とTCA回路による酸化、それに伴うリン酸化を一括して示すと、

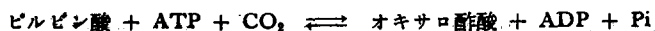


となる。

TCA回路が糖質の酸化に重要な役割を果たすことは上述の通りであるが、しかしそれは糖質ばかりではなく、脂質及びアミノ酸の酸化も行う。事実、次節に述べるように、脂肪酸は生体内で $\beta$ -酸化を受けて最終的にアセチル-CoAになり、TCA回路に入って酸化される。また、アミノ酸は酸化的脱アミノあるいはアミノ基転移反応によりピルビン酸、オキサロ酢酸、 $\alpha$ -ケトグルタル酸等になるとTCA回路を通して酸化されることになる。

しかし、TCA回路は単に酸化だけでなく、合成にも関与する。すなわちTCA回路上に位置する代謝産物であるオキサロ酢酸や $\alpha$ -ケトグルタル酸は、それぞれアミノ基転移を受けてアスパラギン酸やグルタミン酸に変りタンパク合成に利用される。スクシニル-CoAはグリシンと反応しヘムの合成に使われる。

このようにTCA回路の中間体が、回路から取り除かれ、他の物質の合成に使用されると、中間体の濃度が低下しTCA回路の速度が低下することが予想される。しかし、中間体が他の物質の合成に使用されたときは、これらの中間体は別の反応によって補充され、ミトコンドリア内におけるこれらTCA回路上の中間体の濃度は一定に保たれる。TCA回路の中間体を補充する反応を補充反応(anaplerotic reaction)と呼ぶ。代表的な補充反応として、ピルビン酸をカルボキシ化してオキサロ酢酸にする酵素反応がある。この反応はピルベートカルボキシラーゼによって触媒される。



TCA回路上にあるオキサロ酢酸やその他の中間体の濃度が低下したり、これらの物質が欠けた時にはこのピルベートカルボキシラーゼが働いてピルビン酸よりオキサロ酢酸を生成して補充する。ミトコンドリア内のオキサロ酢酸が過剰になった場合は、逆にオキサロ酢酸は脱炭酸されてピルビン酸と $\text{CO}_2$ になる。このピルベートカルボキシラーゼはアロステリック酵素であってアセチル-CoAにより調節されている。アセチル-CoAが過剰になるとこの酵素反応は促進され多量のオキサロ酢酸が生成される。その結果、TCA回路は更に多量のアセチル-CoAを酸化するようになる。

#### 4.5 ペントースリン酸回路

嫌氣的解糖(Embden-Meyerhof経路)はヘキソースを嫌氣的に分解する主な経路である。これはヘキソースの唯一の分解経路ではなく、動植物中には他の代謝経路が幾つかある。それらの経路のう

ち重要なものがペントースリン酸経路である。これはまた hexose monophosphate shunt 又は direct oxidative pathway 又は Warburg-Dickens-Horecker 図式ともいう。

このペントースリン酸経路の存在が考えだされた実験は次の通りである。

解糖過程の阻害剤であるヨード酢酸やフッ化物を組織に加えてもグルコースは消費されること、また、Warburg は  $\text{NADP}^+$  を発見し、グルコース 6-リン酸が 6-ホスホグルコン酸に酸化されることを発見したが、この反応は解糖にはないものであること、更にグルコース- $^{14}\text{C}$  を用いた実験の結果、グルコースの 1 位の炭素原子が 6 位の炭素原子より速やかに酸化されて  $^{14}\text{CO}_2$  となること、等である。最後の場、もし解糖系がグルコースのただ一つの分解過程なら、グルコース 1- $^{14}\text{C}$  もグルコース 6- $^{14}\text{C}$  もピルビン酸 3- $^{14}\text{C}$  に変り、いずれも  $\text{CO}_2$  に分解されるから、 $^{14}\text{CO}_2$  の生成速度は等しいはずである。これらの結果をもとにしてペントースリン酸サイクルが明らかにされた。ペントースリン酸回路上の酵素は細胞質の可溶部分に含まれる。

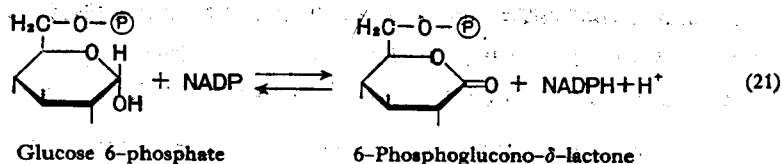
この回路の全体は図 4-6 に示す通りである。

ペントースリン酸回路は反応の順序から、2 相に分けられる。最初の相はグルコース 6-リン酸が脱水素、脱炭酸を受けリブコース 5-リン酸を生じる。もう一つの相は主として 2 種の酵素、トランスケトラーゼ、トランスアルドラーゼによるリブコース 5-リン酸のグルコース 6-リン酸への再転換である。

#### 4.5.1 ペントースリン酸回路の諸反応

##### 1) グルコース 6-ホスフェートデヒドロゲナーゼ

この酵素はグルコース 6-リン酸を 6-ホスホグルコノ- $\delta$ -ラクトンに転換する反応を触媒する。



この反応は  $\text{NADP}$  を必要とし、 $\text{NADPH}$  を産生する重要な反応の一つである。酵素は 6-ホスホグルコノ- $\delta$ -ラクトン存在下に  $\text{NADPH}$  を酸化するから可逆的である。しかし、全体としての反応の平衡は  $\text{NADPH}$  の生成方向に片寄っている。

Primaquine sensitivity という遺伝病の患者は primaquine (抗マラリア剤) 等の薬物によって溶血をひき起す。これはこの患者の赤血球に本酵素が欠如してその結果  $\text{NADPH}$  の生成が不足し、それがまた酸化型グルタチオンの還元型への変換を抑制することになり、その結果還元型グルタチオンの欠乏を来し、赤血球の薬剤に対する抵抗性を減じるためであると考えられている。

##### 2) 6-ホスホグルコノラクトナーゼ

この酵素は 6-ホスホグルコノ- $\delta$ -ラクトンの分子内エステルを加水分解して 6-ホスホグルコン酸を生ずる反応を触媒する。



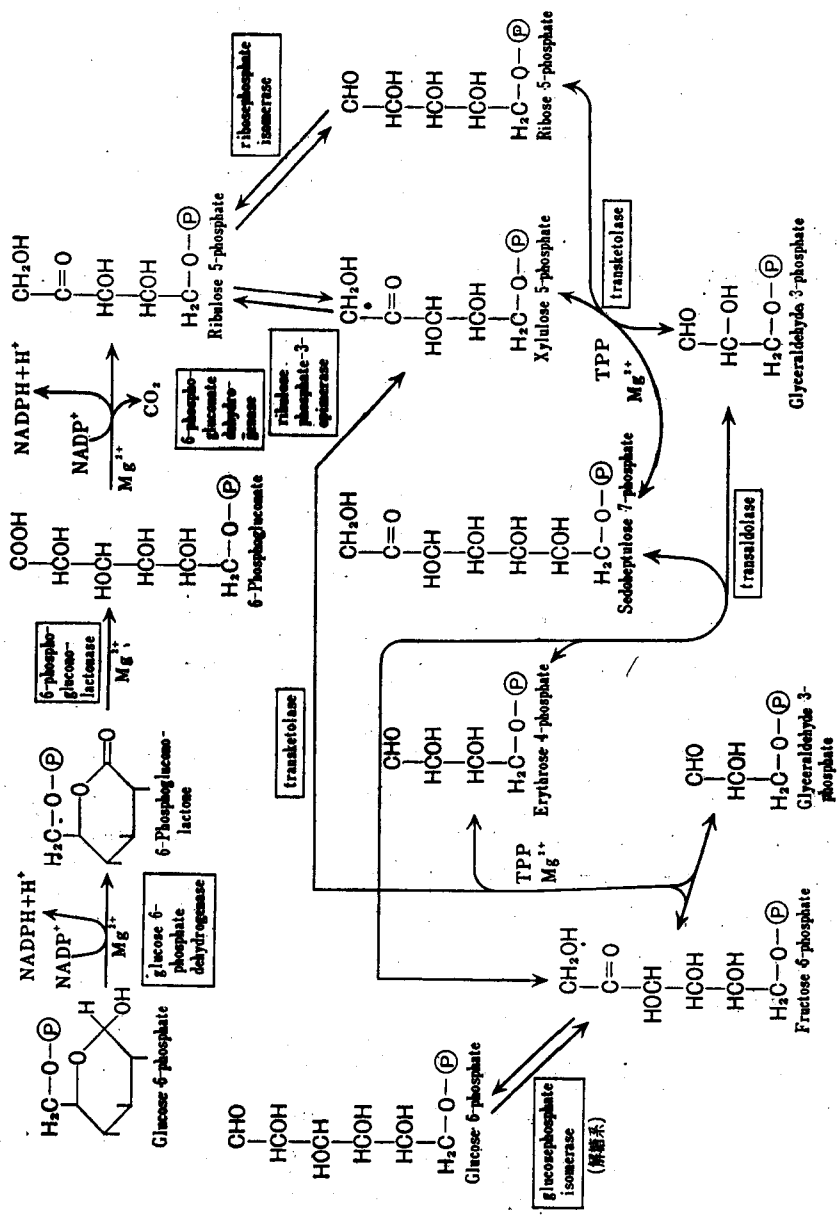
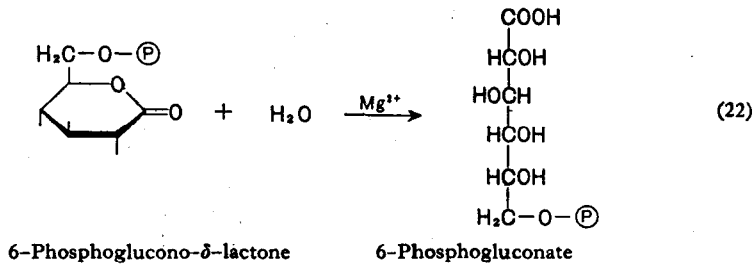


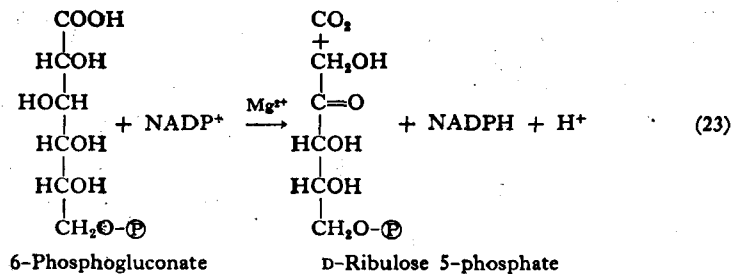
図 4-6 ベントースリン酸経路



6-ホスホグルコノ- $\delta$ -ラクトンの加水分解反応は非酵素的にも進行するが、細胞内ではこの酵素によって加速されている。ラクトンの加水分解の  $\Delta G'$  は大きいため、この酵素反応は不可逆である。

### 3) 6-ホスホグルコネートデヒドロゲナーゼ

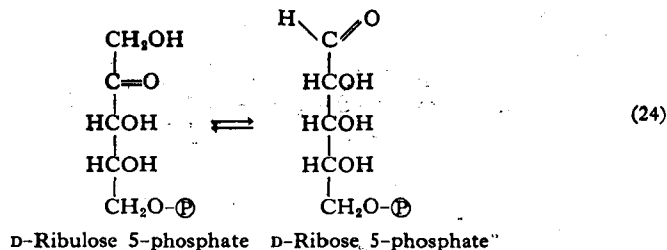
この酵素は 6-ホスホグルコン酸を D-リブ로스 5-リン酸へ変換する反応を触媒する。



この反応は、酸化と脱炭酸の両方を含み、 $\text{NADP}^+$  と 2 価陽イオン ( $\text{Mg}^{2+}$  又は  $\text{Mn}^{2+}$  等) を必要とする。6-ホスホグルコネートデヒドロゲナーゼはグルコース 6-ホスフェートデヒドロゲナーゼ同様  $\text{NADPH}$  を生成する重要な反応を司り、生成された  $\text{NADPH}$  は脂肪酸やステロイド等の還元の生合成の際の電子供与体として使われる。この酵素反応と、前述の 6-ホスホグルコノラクトナーゼの反応が不可逆なので、ペントースリン酸回路は全体として不可逆である。この酵素はフルクトース 1,6-ニリン酸及び  $\text{NADPH}$  ( $K_1=2 \times 10^{-3} \text{ M}$ ) で阻害される。

### 4) リボースホスフェートイソメラーゼ

この酵素はケトペントースであるリブ로스 5-リン酸とアルドペントースであるリボース 5-リン酸の相互変換を触媒する。

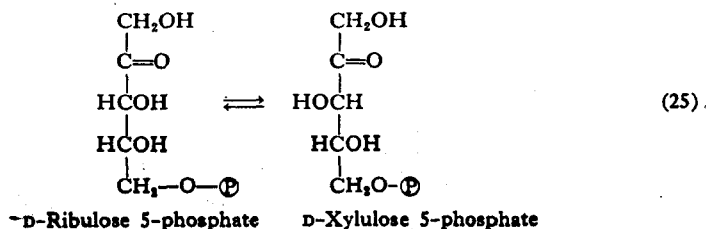


この反応は解糖経路のグルコースホスフェートイソメラーゼと相似している。反応の平衡定数は約 3 である。反応産物の D-リボース 5-リン酸は RNA やペントースを含んだヌクレオチドの生合成に

使用される。

### 5) リブローズホスフェート-3-エピメラーゼ

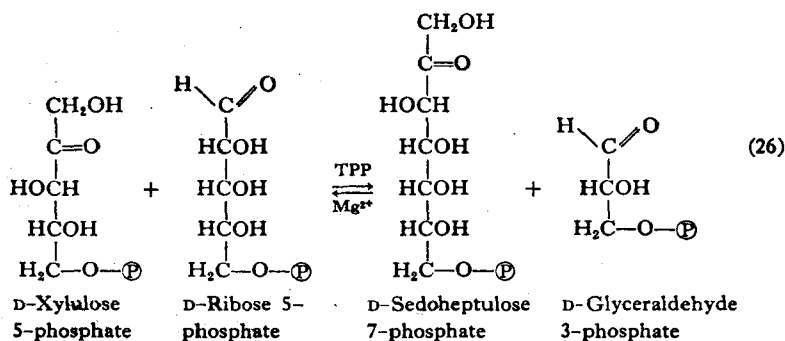
D-リブローズ 5-リン酸は前述のリブローズホスフェートイソメラーゼのほかに、このリブローズホスフェート-3-エピメラーゼの作用で異性化反応を受けて代謝されていく。この酵素はリブローズ 5-リン酸の C-3 の空間配位をかえ、エピマーのケトペントースであるキシロース 5-リン酸を生ずる反応を触媒している。



反応の平衡定数は 0.8 である。

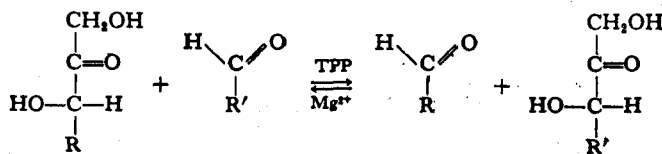
### 6) トランスケトラーゼ

この酵素はペントースリン酸回路上で次式 (26) に示す反応を触媒する酵素である。



この反応は TPP と  $\text{Mg}^{2+}$  を必要とする。

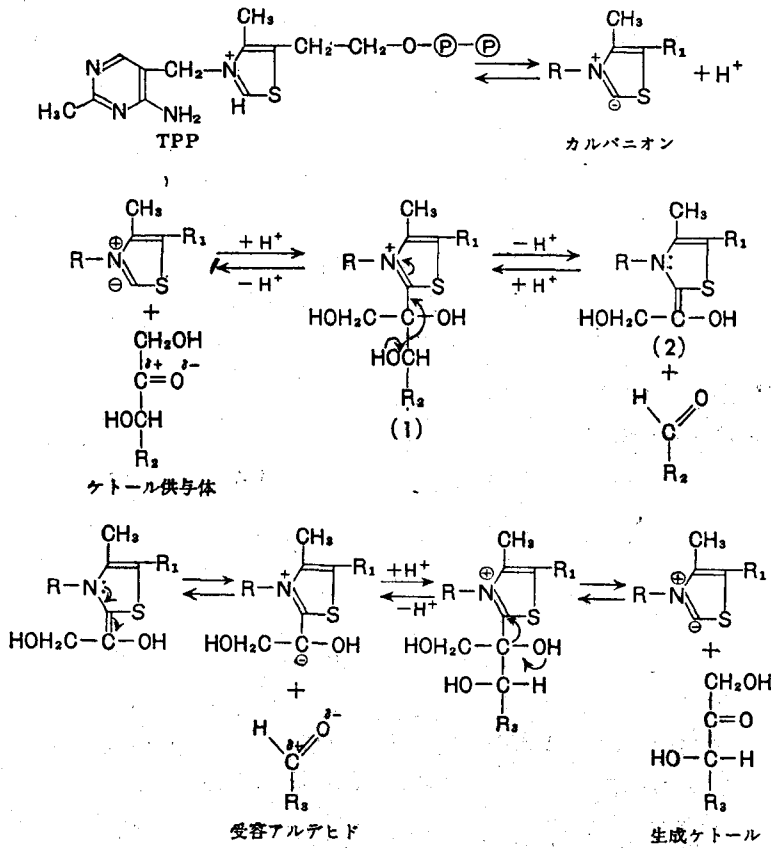
トランスケトラーゼはケト糖の C-1, 2 からなる単位をアルド糖のアルデヒド炭素へ転移する反応を触媒する。この反応を一般式で表せば次の通りである。



結局この酵素は、ケト糖を炭素数が 2 コ少ないアルド糖にかえ、アルド糖を炭素数が 2 コ多いケト糖にかえる。

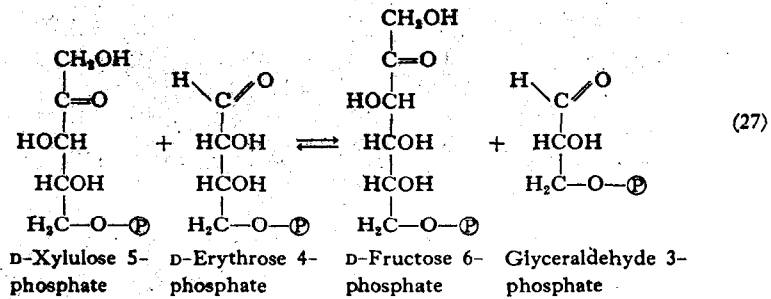
この反応において、補酵素の TPP はチアゾール核のプロトンが解離してカルバニオンを生じ、ケトール供与体と付加化合物を作る。次に付加化合物は、分子内電子移動が起ってアルデヒドを遊離

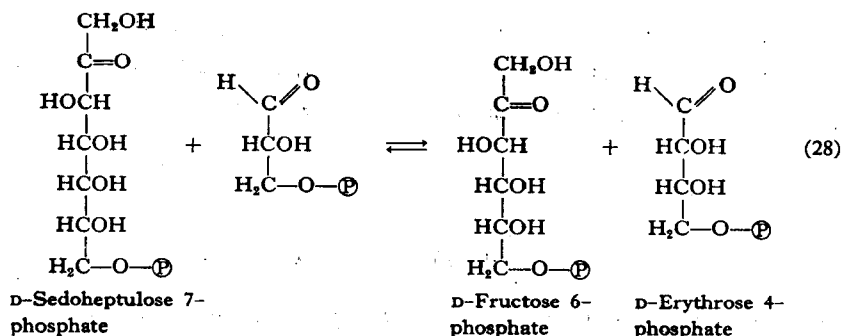
し、いわゆる活性グリコールアルデヒドを生じる。これが受容体アルデヒドと反応してケトールを生成する。



7) トランスアルドラーゼ

この酵素は反応 (27), (28) に示すようにフルクトース 6-リン酸やセドヘプテュロース 7-リン酸のジヒドロキシアセトンリン酸部分を適当なアルドースに転移させる反応を触媒する。





トランスケラーゼ、トランスアルドラーゼの反応はいずれも可逆的であるからペントースからヘキソースとトリオースが出来るし、逆にトリオースとヘキソースからペントースも合成される。この反応で生じたフルクトース 6-リン酸はホスホヘキソイソメラーゼの作用でグルコース 6-リン酸に転換されるし、グリセルアルデヒド-3-リン酸は2分子でグルコース 6-リン酸1分子を解糖の逆行反応によって再生できるから、このペントースリン酸回路はグルコースを完全に酸化できる。

#### 4.5.2 ペントースリン酸回路の代謝的意義

ペントースリン酸回路は解糖とは著しく異なっている。それはグルコース 6-リン酸の分解が好氣的過程で行われるということと、解糖系では生じない炭酸ガスを生じることである。このペントースリン酸回路は二つの重要な役割をもっている。第1は NADPH の生成で、グルコース 6-リン酸がこの回路に入ると反応 (21) と (23) において計2分子 NADPH が出来る。解糖系の場合、NADH はその系自体の別の反応で再酸化されるが、ペントースリン酸回路にはそのような NADPH の再酸化を行う反応は含まれていない。一般に NADPH は NADH とは異なり生体内において生合成反応に伴う各種の還元反応に利用される。このことは細胞内で NADPH/NADP<sup>+</sup> 比がいろいろな組織で5以上になっていることから裏書きされる。すなわち NADPH は長鎖脂肪酸の生合成、グルコースからソルビトールの生成、ジヒドロ葉酸からテトラヒドロ葉酸の生成、グルクロン酸から L-グルクロン酸の生成、マレートデヒドロゲナーゼによるピルビン酸のリンゴ酸への還元的カルボキシル化反応等に関与している。また、不飽和脂肪酸の形成、フェニルアラニンのチロシンへの水酸化及びステロイドの水酸化等にも関与している。したがって副腎皮質、脂肪組織、授乳期の乳腺等生合成反応の盛んな組織ではこの回路の酵素活性は強い。このように細胞内で NADPH が消費されるから NADP の還元機構が必要であり、ペントースリン酸回路がその役割を果たしていると考えられる。したがってこのペントースリン酸回路の主要な機能の一つは NADPH の供給である。

ペントースリン酸回路のもう一つの主要な役割はヌクレオチドや核酸の構成成分となるペントースの供給である。この回路は反応 (22), (23) を除いて可逆反応であるから、ヘキソースとトリオースからペントースを非酸化的に作り出すこともできる。筋肉組織などではグルコース 6-リン酸デヒドロゲナーゼ活性や、6-ホスホグルコン酸デヒドロゲナーゼ活性が低いにもかかわらず、リボースを合成しうるから、非酸化的に作りだしていると考えられる。

解糖系とペントースリン酸回路がそれぞれどのような役割でグルコースの代謝にあずかっているか

を知るためには、 $C_1$  又は  $C_6$  原子を  $^{14}C$  でラベルしたグルコースから生成する  $^{14}CO_2$  量を比較すれば良い。このようにして測定された結果、ネズミの肝臓において、 $^{14}CO_2$  の約 30% がペントースリン酸回路から生成され、乳腺では更に高い値を示すことがわかった。

#### 4.6 脂質代謝

哺乳動物においては脂質は体重の少なくとも 10% を占めている。そのうち代謝上重要なのは中性脂質、リン脂質、糖脂質、ステロイド及びそれらの代謝産物である遊離脂肪酸、グリセリン、ケトン体などである。

中性脂質はグリセリンと脂肪酸のエステル、すなわちトリグリセリドとして大量に貯蔵されている。組織の中に含まれている脂肪はエネルギー源としては不活発なものと考えられ、熱量の不足したときのみ利用されると考えられていた。しかし 1935 年 Schönheimer と Rittenberg らは重水素を用いた実験により組織中の脂肪も代謝されていることを明らかにした。すなわち、重水素でラベルした脂肪酸をエネルギー的に均衡を保っているハツカネズミに投与し、4 日間で貯蔵脂肪の大部分が食物中の脂肪と置き換わることを認めた。この際貯蔵脂肪の総量に変化なく、新生された脂肪と等量の脂肪が代謝されたものと考えられた。この研究は脂肪の代謝に関する生化学の今日の基礎を築いたものである。

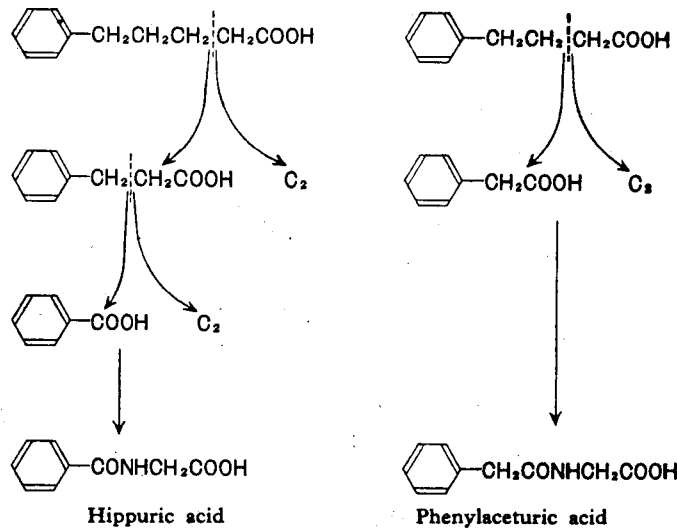
摂取した食物の総カロリーが動物の消費量を上回ると、過剰分は大部分トリグリセリドとして貯えられ(貯蔵脂肪)、一部が肝臓及び骨格筋のグリコーゲンとして貯えられる。しかし、成長した動物では貯蔵脂肪の全量が過剰にならないように食欲が調節されているように思われる。細胞がエネルギーを必要とするときは、貯蔵脂肪はすみやかに動員され、分解されてエネルギーを供給する。脂肪 1g の燃焼熱は 9.3 kcal で糖質の 4.1 kcal、タンパク質の 4.3 kcal に比べるとはるかに高い。これは脂肪が著しく還元された状態にあるためである。

トリグリセリドは異化作用を受ける前段階としてまず脂肪酸とグリセリンに加水分解されなければならない。この加水分解は大部分脂肪組織で行われ、同時に血漿へ遊離脂肪酸が放出される。そして放出された脂肪酸は組織に吸収され酸化される。一方グリセリンは ATP とグリセロキナーゼの作用で  $\alpha$ -グリセロリン酸となり、解糖系に入る。

##### 4.6.1 脂肪酸の $\beta$ -酸化

1904 年 Knoop は動物体内で変化しにくいフェニル基を末端メチル基に導入した幾つかの脂肪酸をイヌに与え、その尿中の代謝産物を調べた。すなわち  $C_1 \sim C_8$  の直鎖脂肪酸のフェニル誘導体をイヌに投与後、尿中の排泄物を調べたところ、奇数炭素を持つ脂肪酸のフェニル誘導体からは安息香酸のグリシン誘導体である馬尿酸が排泄され、偶数炭素をもつ脂肪酸のフェニル誘導体からは、フェニル酢酸のグリシン誘導体であるフェニルアセツール酸が排泄されることを発見した。

この事実を説明するため、彼は脂肪酸が代謝される場合は  $C_2$  単位で取除かれると考えた。これがいわゆる  $\beta$ -酸化説で、それが本質的に正しいことがその後多くの研究者によって明らかにされた。

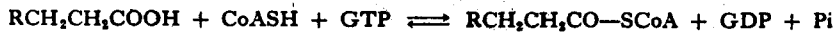


1952年ウィスコンシンの Green とミュンヘンの Lynen が脂肪酸の  $\beta$ -酸化に必要な 5 種の酵素を分離精製した。それによると脂肪酸は次の 5 段階を経て炭素数 2 コ少ないアシル-CoA に変わり、アセチル-CoA 1 分子を生じる。

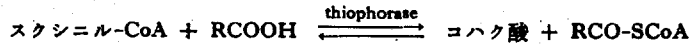
1) アシル-CoA シンターゼ(チオキナーゼ)による活性化



このような酵素は 3 種類知られており、脂肪酸の炭素鎖の長さに対応した基質特異性を有する。これらの酵素はいずれもミトコンドリア外膜に存在するが、ミトコンドリアにはこの他 ATP の代りに GTP を利用して次のような反応を触媒する活性化酵素も存在する。

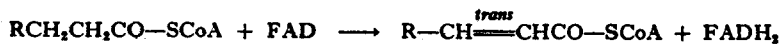


また短鎖の脂肪酸に対してはスクシニル-CoA から直接 CoA が渡される機構も存在している。



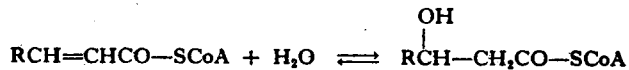
本酵素は肝臓では少ないか欠如している。

2) アシル-CoA デヒドロゲナーゼによる不飽和化



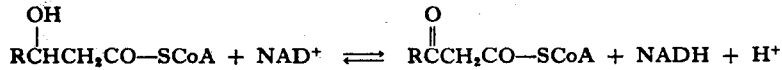
この反応を触媒する酵素は 4 種類知られており、アシル-CoA の炭素鎖に対応した基質特異性を有する。この酵素の還元型 FAD (FADH<sub>2</sub>) の FAD への再酸化は FADH<sub>2</sub> から電子がミトコンドリアに含まれる electron transferring flavoprotein と呼ばれる酵素によって電子伝達系に渡されることによって行われる。

3) エノイル-CoA ヒドラーゼによる加水反応



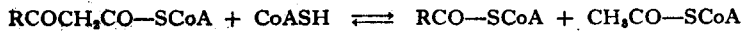
単一の酵素が  $C_4 \sim C_{18}$  のエノイル-CoA に作用することが知られている。この酵素反応によって生成されるヒドロキシアシル-CoA は  $L(+)$ - $\beta$ -ヒドロキシアシル-CoA である。この酵素は  $\beta, \gamma$ -不飽和脂肪酸の CoA エステルに作用すると、対応する  $\beta$ -ヒドロキシアシル-CoA を与える。

4)  $\beta$ -ヒドロキシアシル-CoA テヒドロゲナーゼによる脱水素反応



本酵素は  $\text{NAD}^+$  に特異的であって、脂肪酸の炭素鎖に対する特異性は低い。本酵素は  $L$  型にのみ作用し  $D$  型には働かない。

5)  $\beta$ -ケトアシル-CoA チオラーゼによる開裂反応



脂肪酸の炭素鎖の長さに対応して基質特異性の異なる数種の酵素が存在する。

これらの反応 [2)~5)] の繰り返しのよって脂肪酸はアセチル CoA に分解され、生じたアセチル-CoA は TCA 回路に入っていく(図 4.7)。

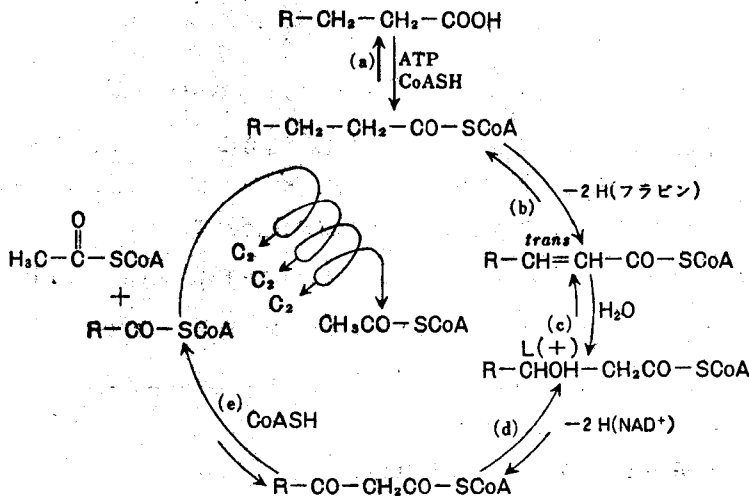


図 4.7  $\beta$ -酸化回路

Carnitine ( $\beta$ -hydroxy- $\gamma$ -trimethylammonium butyrate,  $(\text{CH}_3)_3\text{N}^+\text{CH}_2\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{COO}^-$ ) は長鎖脂肪酸の酸化を促進する。これはアシル基をミトコンドリアに運搬する役目を果たしていると考えられている。ミトコンドリア内外には低分子のアシル-CoA と反応するアセチルトランスフェラーゼ及び長鎖脂肪酸の CoA 誘導体と反応するアシルトランスフェラーゼの 2 種の酵素がある。アシル-CoA 誘導体はミトコンドリアの膜を容易には通過し得ないので、これらの酵素によってアシル基がカルニチンに渡され、アシルカルニチンとしてミトコンドリアの膜を通過するものと考えられている。





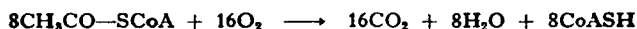
FADH <sub>2</sub> 系	7×2 = 14
NADH 系	7×3 = 21
計	35

すなわち、合計 35 コの高エネルギー化合物が作り出される。最初活性化に ATP 1 コが消費されたのでこれを差し引くと、

$$35 - 1 = 34$$

34 コの高エネルギー化合物が生成される。

次にパルミチン酸から生じた 8 コのアセチル-CoA が TCA 回路において、次式に従って炭酸ガスと水とに分解される際生ずる ATP 量を計算して見よう。



この過程で生成される ATP 量は、

$$8 \times 12 = 96$$

すなわち 96 コの高エネルギー化合物が生成される。したがってパルミチン酸が炭酸ガスと水に分解される際、細胞が利用できる高エネルギーリン酸化合物は、

$$34 + 96 = 130$$

130 コである。

ATP のエネルギー保有量を 8,000 cal/mol とすると、パルミチン酸の完全燃焼に伴うエネルギー保存効率は

$$\frac{130 \times 8,000 \times 100}{2,338,000} = 44 (\%)$$

44% である。つまりパルミチン酸の完全酸化により遊離されるエネルギーの理論値の約 44% は仕事をするために利用できる形として保存され、残りは熱として放出される。このように生体細胞が高い保存効率でエネルギーをとらえて、それを利用していることは注目すべきことである。

#### 4.6.4 不飽和脂肪酸の酸化

Bernhard らは <sup>14</sup>C-オレイン酸をネズミに経口投与し、8 時間後に肝又は非臓器部脂肪酸やコレステロールの比活性をみた。

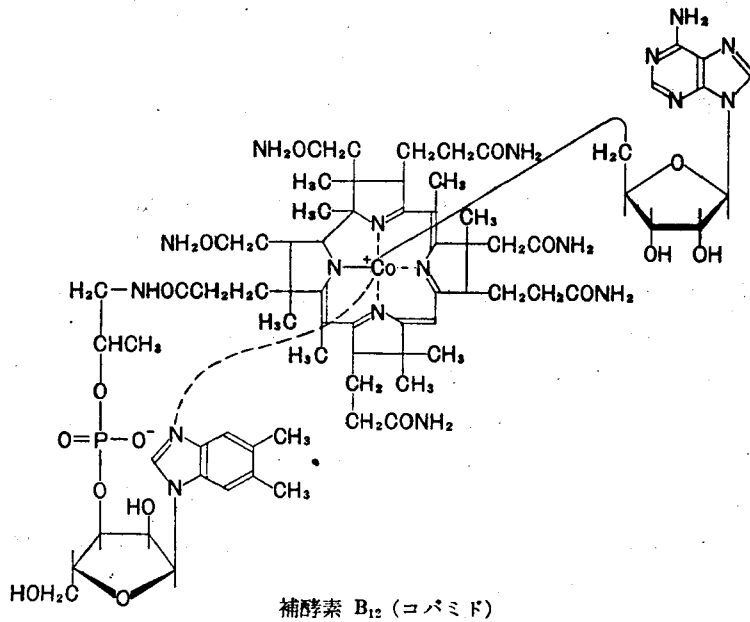
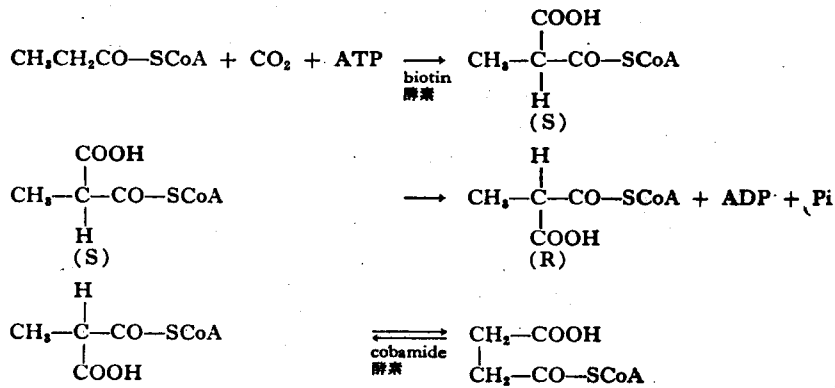
その結果、ステアリン酸とパルミチン酸の比活性はほぼ同じでコレステロールのそれより低かった。もしオレイン酸に直接水素添加が行われるならば、生成されるステアリン酸の比活性が最も高いはずである。

また Mead らは [1-<sup>14</sup>C] パルミトオレイン酸をネズミに投与したのち <sup>14</sup>C-パルミチン酸を分離して調べた結果、カルボキシル基の炭素のみならず C<sub>2</sub>~C<sub>16</sub> の炭素に <sup>14</sup>C がとり込まれていることを発見した。これら二つの実験結果からも明らかなように、動物組織では不飽和脂肪酸への直接的な水素添加反応は行われず、いったん低級脂肪酸に分解されたのち飽和脂肪酸に再合成される。不飽和脂肪酸の低級脂肪酸への酸化では、これらの酸の CoA エステルが、<sup>3',4'</sup>-cis-acyl-CoA あるいは、

$\Delta^2,^3$ -cis-acyl-CoA のどちらかが形成されるまで (これはもとの酸の二重結合の位置によってきまる)  $\beta$ -酸化を受ける。前者は  $\Delta^2$ -cis- $\Delta^2$ -trans-enoyl-CoA isomerase によって  $\Delta^2$ -trans-enoyl-CoA に異性化され、再び  $\beta$ -酸化回路につながる。一方  $\Delta^2,^3$ -cis-acyl-CoA はまずエノイルヒドラーゼによって D(-)- $\beta$ -hydroxyacyl-CoA になり、これは更に 3-hydroxyacyl-CoA-3-epimerase によってエピメリゼーションを受けて、 $\beta$ -酸化経路の基質となり得る L(+)- $\beta$ -hydroxyacyl-CoA となり  $\beta$ -酸化系によって酸化される。

4.6.5 奇数脂肪酸の酸化

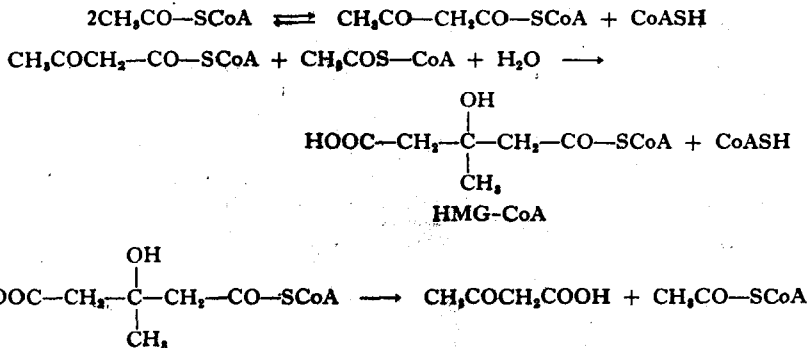
奇数脂肪酸はバリンやロイシン等のアミノ酸の代謝過程で生じるが、これらは偶数脂肪酸同様に  $\beta$ -酸化を受ける。しかし、炭素数が奇数であるため最終的には1分子のプロピオニル-CoAを生じる。このプロピオニル-CoA は次のような変化をうけてスクシニル-CoA に変換した後 TCA 回路に入る。



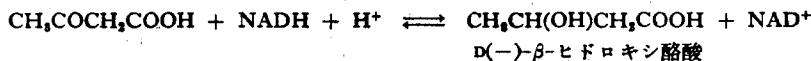
上の反応で methylmalonyl-CoA の succinyl-CoA への異性化には cobamide を補酵素とする methylmalonyl-CoA mutase が関与する。悪性貧血は胃液中に含まれるある種のムコタンパクの欠乏のためビタミン B<sub>12</sub> の吸収が障害されて起ると考えられているが、このような患者では尿中にプロピオン酸やメチルマロン酸の排泄が異常に増加している。

#### 4.6.6 ケトン体

脂肪酸分解あるいは合成が正常に行われているときは普通中間代謝物質は蓄積しないのであるが、ある条件下ではいわゆる「ケトン体」と呼ばれる中間代謝物質ないしはその誘導体が蓄積し、血中ならびに尿中に増加することが知られている。ケトン体にはアセト酢酸、β-ヒドロキシ酢酸及びアセトンがある。これらはすべてアセトアセチル-CoA から導かれる。アセトアセチル-CoA 自身は脂肪酸の分解、あるいは2分子のアセチル-CoA のチオラーゼによる縮合によって生じる。このアセトアセチル-CoA はアセチル-CoA と縮合して 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA (HMG-CoA) になる。生じた HMG-CoA はコレステロール合成の出発物質となるわけであるが(154頁参照)、ある条件下では分解して遊離のアセト酢酸になる。



β-ヒドロキシ酢酸はアセト酢酸の D(-)-β-hydroxybutyric acid dehydrogenase による還元によって生じる。



基質が遊離の酸であること、ならびに生成物が D(-) であることから本酵素は β-酸化経路のアシル-CoA デヒドロゲナーゼとは異なるものと考えられる。

アセトンはアセト酢酸の酵素的脱炭酸によって生成する。

アセト酢酸は肝臓では活性化酵素 (thiophorase, 95 頁参照) がないために利用されないで血流中に放出され組織によって吸収される。そこでは thiophorase によって活性化を受けてアセトアセチル-CoA となり β-酸化系路に入っていく。

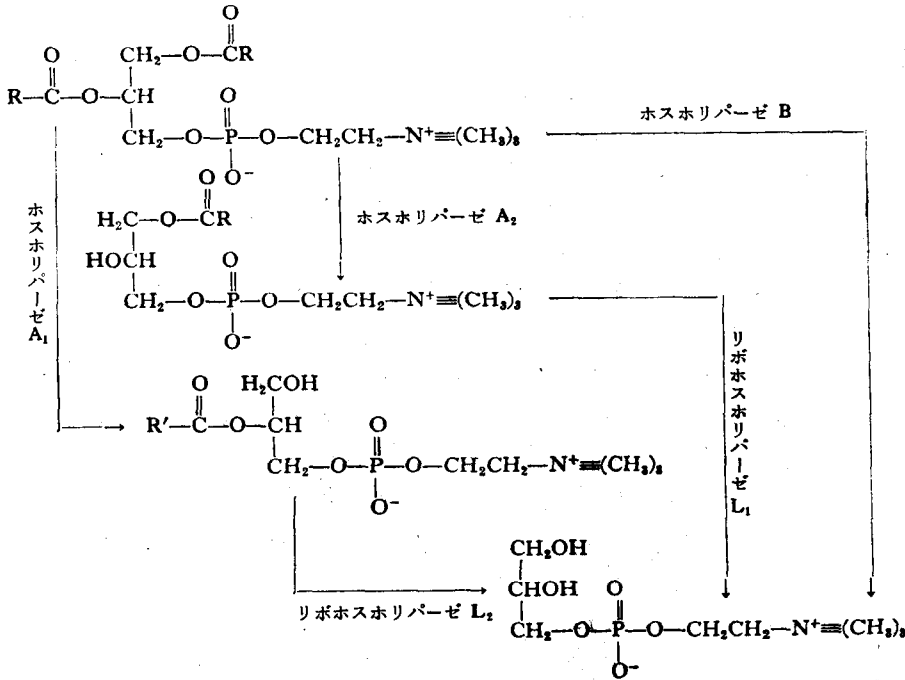
D(-)-β-Hydroxybutyric acid は組織でチオキナーゼにより活性化され、次いで脱水素酵素により酸化されてアセトアセチル-CoA となり、β-酸化回路に入ってゆく。

アセトンは二つの経路により代謝され得る。一つは C<sub>2</sub> 単位と C<sub>1</sub> 単位に分解していく経路であ



## 4.6.7 リン脂肪の代謝

動物組織中でのリン脂質の分解はまずホスホリパーゼにより遊離脂肪酸が生じる反応から始まる。



例えばレシチンの場合、上図のようにまず最初におのおのの構成成分に分解されたのち、個々の代謝を受ける。

## 4.6.8 スフィンゴリピド代謝

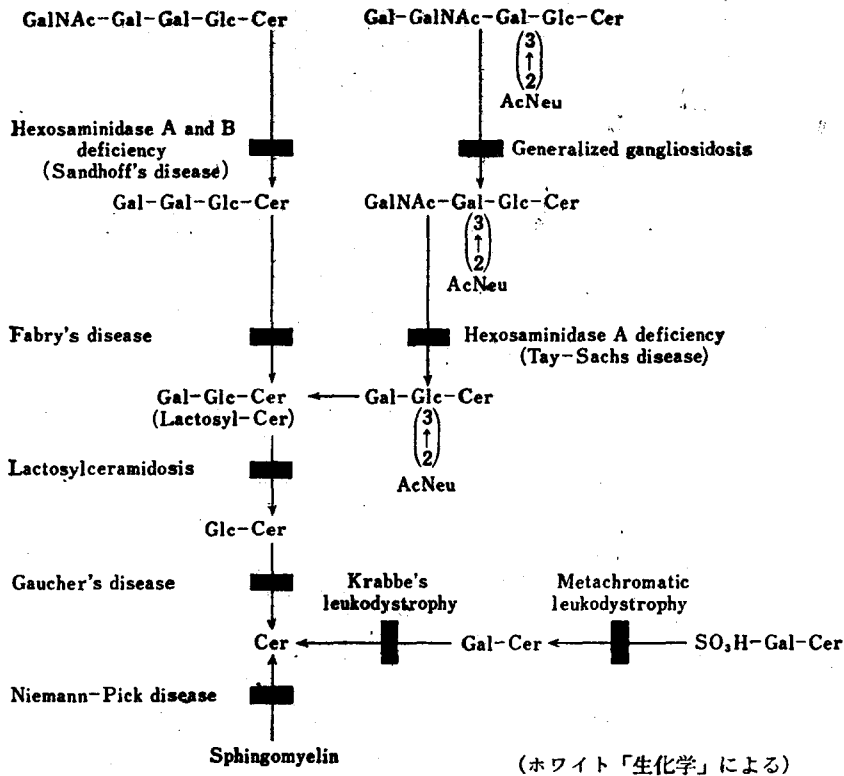
グリコスフィンゴリピド、スルファチデート(セレブロシドの硫酸エステル)、及びスフィンゴミエリンは体内で constant に合成され、また分解されて一定の流動平衡を保っている。しかし分解酵素のいずれかが欠損している時はこれらの脂質が神経系を中心に蓄積する。それら分解酵素の欠損部位とその疾患名を一括して次頁に示す。

## 4.6.9 コレステロールの代謝

コレステロールは脂肪酸と異なりエネルギー的には全く意義のないものである。生体内においてコレステロールが代謝される主たる経路は

- ① 胆汁酸への分解
- ② コレステロールのままの胆汁への排泄
- ③ ステロイドホルモンへの変換
- ④ ビタミン D<sub>3</sub> への変換

などがある。しかしながら ③、④ は生理的に重要ではあるが、量的にはごく微量であり、代謝経路としてあまり意味をもたない。

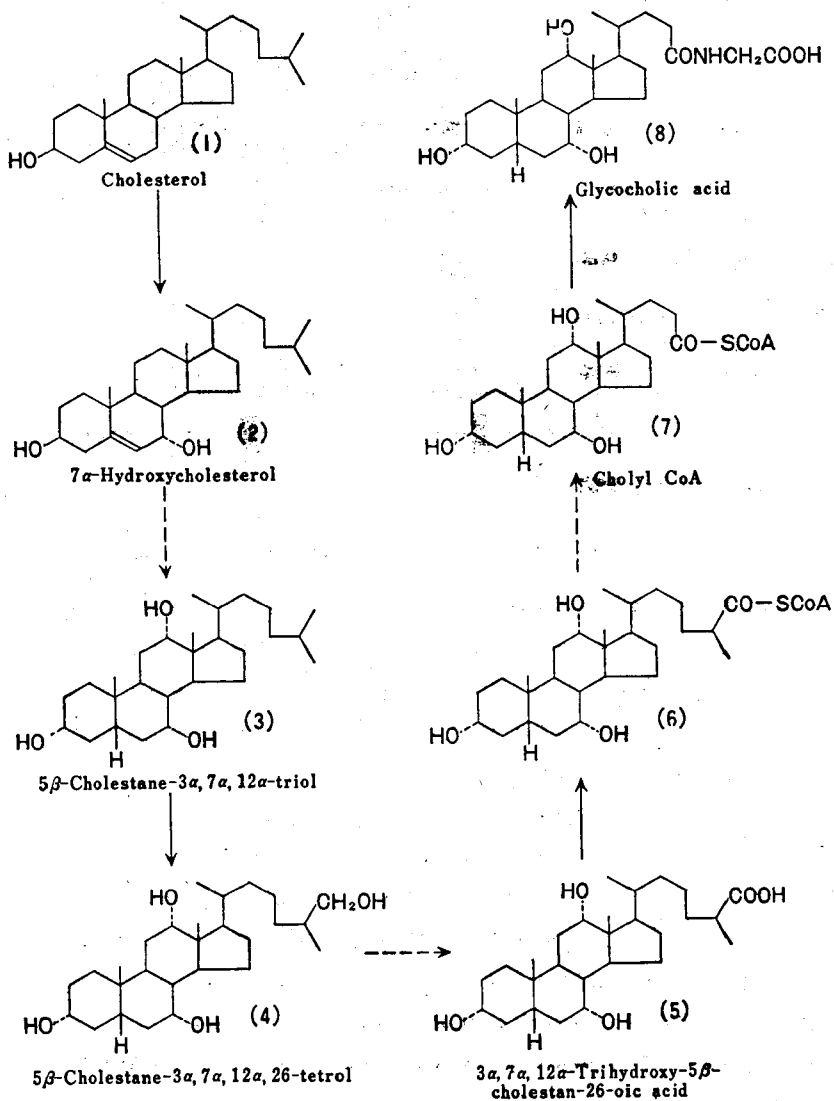


体内コレステロールの 80~90% は胆汁酸にかえられ、残りは中性ステロールとして糞便中に排泄される。胆汁酸は肝臓においてコレステロールが種々の変化を受けて生じる。コレステロールから胆汁酸が生成される経路は二つある。一つはコール酸生成に向かう道でコレステロールより胆汁酸への代謝の大部分を占める。他はコレステロールよりケノデオキシコール酸生成に向かう経路でコール酸生成の経路上のある点から枝分かれするものと考えられている。

コレステロールとコール酸の構造上の相違はそれらの構造を比較すればわかるように大きく二つに分けられる。一つは核の相違であり、他は側鎖の相違である。コレステロールがコール酸に代謝される第1段階はコレステロールの7位の水酸化、いいかえれば7 $\alpha$ -ヒドロキシコレステロールの生成である。この反応がコレステロールから胆汁酸生成の律速段階と考えられている。7 $\alpha$ -ヒドロキシコレステロールは更に核で水酸化、二重結合の飽和化、C<sub>3</sub>位の水酸基の $\beta$ -配位から $\alpha$ -配位への転換等の変化を受けて、5 $\beta$ -cholestane-3 $\alpha$ , 7 $\alpha$ , 12 $\alpha$ -triol に代謝される。つまりコレステロールはまず最初に核が変化してコール酸と同じ母核を有する 5 $\beta$ -cholestane-3 $\alpha$ , 7 $\alpha$ , 12 $\alpha$ -triol に変換される。次いでこの物質は側鎖に種々の修飾を受けて炭素数3コ少ないコール酸になるわけである。先ず側鎖の末端メチル基が水酸化され、更にアルコール脱水素酵素ならびにアルデヒド脱水素酵素により2段階の酸化を受けてカルボン酸 (3 $\alpha$ , 7 $\alpha$ , 12 $\alpha$ -trihydroxy-5 $\beta$ -cholestan-26-oic acid) になる。この酸はついで脂肪酸の $\beta$ -酸化と同様な方法によって側鎖の酸化切断が行われ、コリル-CoA となる。コリル-CoA はグリシンと抱合してグリコール酸になるか、タウリンと抱合してタウロコール酸になる。

胆汁中に高濃度に排泄される胆汁酸塩は大部分腸粘膜より再吸収され、門脈を経て肝臓に取り込まれ、再び胆汁中に排出される。このような胆汁酸のたどる循環を腸肝循環と呼ぶ。この際胆汁酸は腸内細菌により代謝を受け、いわゆる2次胆汁酸となる。

コレステロール自身も胆汁中に排出され、腸内細菌により飽和化等の代謝を受けてコレスタノール、コプロスタノール等の中性ステロールとして糞便中に排出される。





## 4.7 タンパク質とアミノ酸の代謝

タンパク質とその構成成分であるアミノ酸の代謝は前述の糖質や脂質の代謝と異なる点が多い。グリコーゲンや脂質は生体が必要とするエネルギーを供給するための貯蔵物質としての役割が中心である。これに対してタンパク質やアミノ酸は前二者と同様に酸化分解されてエネルギー源となるが、多くのタンパク質やペプチドは酵素やホルモンそのものである。更にアミノ酸はその代謝過程において諸種のビタミンやホルモン等の生理的に重要な含窒素化合物を供給している。

### 4.7.1 窒素平衡と必要アミノ酸

このようにタンパク質は生命現象に密接に関係する生体物質である。しかしタンパク質は一度合成されれば変化することなく長期間作用し続けるのではなく、絶えず分解と合成とを繰り返し、いわゆる動的平衡状態にある。Schönheimerらは同位元素を含むアミノ酸を用いた実験から、体重70kgの成人男子1人あたり1日に分解あるいは合成されるタンパク質の総量は約400gであると計算している。その内約100gは酸化分解されて消費するか、脂肪あるいはグリコーゲンに転換される。したがって動的平衡を保つためには100gのタンパク質を食餌として摂取する必要がある。このようなタンパク質の代謝回転の速度は動物種によっても異なり、また同一の個体においても組織により異なる。一般に腸粘膜、肝、腎、脾、膵及び骨髄において速く、筋、皮膚、脳などでは比較的遅い。

このようにタンパク質は生体内においてかなり激しい動的平衡を保っているが、この平衡は生体の窒素出納を測定することによって計測することができる。すなわち、生体外に排出される窒素は尿及び糞便を分析することにより実測される。他方窒素の摂取量は食餌中の総窒素量を測定することにより求められる。いま摂取した窒素量と排出した窒素量とが等しいとき、窒素出納は平衡の状態(nitrogen balance)にあるという。つまり窒素出納は零である。摂取した窒素量が排出した窒素量より多い状態を窒素出納が正(positive nitrogen balance)という。すなわち生体内におけるタンパク質合成が分解よりも優勢である状態である。成長期にある幼児、乳児、あるいは妊婦、重症疾患の回復期等に見られる。これに対して摂取窒素量より排出窒素量が多い状態を窒素出納が負(negative nitrogen balance)という。飢餓、栄養失調、熱性疾患、火傷、外傷の時に見られる。このような負の窒素出納の状態においてはタンパク質の消費が合成よりも強く、その結果、特に血清中のタンパク質が減少し、いわゆる低タンパク血症の病状を呈す。この場合アルブミン分画の損失が最も顕著である。

動物が窒素平衡を保つためには摂取するタンパク質が量的に十分であればよいのではなく、質的な構成が重要である。すなわち、ある種のアミノ酸を欠く食餌を摂取した場合には摂取タンパク量として十分であるとしても窒素出納は負となり、動物の発育は阻害される。この場合に特定のアミノ酸を添加すれば窒素平衡の状態に戻り正常の発育を続ける。このように窒素平衡を保つに必要なアミノ酸を必要アミノ酸(essential amino acid)と呼ぶ。

W. C. Roseは、純粋なアミノ酸を用いた栄養実験により、ヒトに対する必要アミノ酸は次の8種であることを明らかにした。すなわち、L-バリン、L-ロイシン、L-イソロイシン、L-トレオニン、L-リジン、L-フェニルアラニン、L-トリプトファンとL-メチオニンである。シロネズミではそれに

L-ヒスチジンが加わる。

必要アミノ酸は生体内で合成できないアミノ酸である。それはそのアミノ酸の炭素骨格を合成できないためだと考えることができる。例えば L-フェニルアラニンの場合にこのアミノ酸を欠く食餌を与えると窒素出納が負になるが、フェニルピルビン酸を与えることにより窒素平衡の状態に戻すことができる。すなわち生体はベンゼン核を合成できないと考えることができる。

#### 4.7.2 タンパク質の消化

体内で消費されたタンパク質は食餌としてタンパク質の形で補充されるのが一般である。食餌中のタンパク質はそのままでは吸収されず、消化管の中で諸種の酵素により水解されてアミノ酸となって初めて腸管から吸収される。吸収されたアミノ酸はその動物の種、個体に特異的なタンパク質として改めて合成される。

タンパク質の水解はペプチダーゼと呼ばれる一群の酵素によって行われる。ペプチダーゼは水解するペプチド結合の位置により endopeptidase と exopeptidase の2群に分類される。前者はタンパク質のポリペプチド鎖の内部のペプチド結合を水解する酵素である。これに対し後者はペプチド鎖の末端のペプチド結合を水解する酵素である。

Endopeptidase は水解するペプチド結合に特異性を持っている。胃粘膜から分泌されるペプシノーゲンはそのままでは活性がないが塩酸やペプシンによって活性化されてペプシンとなる。ペプシンはペプチド鎖中のチロシン、フェニルアラニン及びロイシン残基のアミノ基側とカルボキシル基側のペプチド結合を選択的に水解する。膵臓から分泌されるトリプシノーゲンとキモトリプシノーゲンは腸内において活性化され、それぞれトリプシンとキモトリプシンとなる。トリプシンはペプチド鎖のアルキル及びリジン残基のカルボキシル基側のペプチド結合を水解し、一方キモトリプシンはチロシン、フェニルアラニン、トリプトファン等の芳香族アミノ酸残基及びロイシン等の疎水性アミノ酸残基のカルボキシル基側のペプチド結合を水解する。

Exopeptidase としては N-末端アミノ酸残基のペプチド結合を水解するアミノペプチダーゼ、C-末端アミノ酸残基のペプチド結合を水解するカルボキシペプチダーゼと、遊離の  $\alpha$ -アミノ基と  $\alpha$ -カルボキシル基とを隣接して持っているジペプチドのペプチド結合を水解するジペプチダーゼの3群の酵素が知られている。

このような諸種のペプチダーゼの作用によって食餌中のタンパク質は腸管内においてアミノ酸にまで水解されて腸管から吸収されると考えられている。

細胞はリゾソームにタンパク質を水解する一群の酵素を含んでいる。これらはカテプシンと呼ばれている。カテプシンはその作用特異性から亜型に分類されている。トリプシンと類似の特異性を持つものをカテプシン B、ペプシンと類似の特異性を持つものをカテプシン D、ペプチド鎖の N-末端からペプチドを開裂するカテプシン C などである。それらの酵素特性及び細胞内における役割についてはいまだ明らかでないが、細胞内におけるタンパク質の分解と合成に重要な役割を持っていると考えられている。

106-11

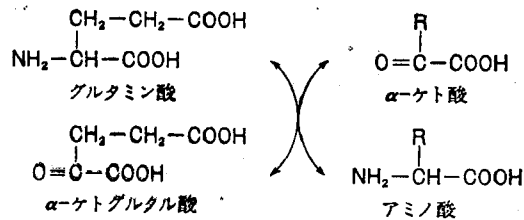
B6

## 4.7.3 アミノ酸の代謝

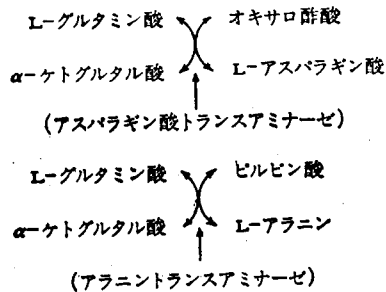
一般にアミノ酸はアミノ転移反応、あるいは脱アミノ反応によってまず $\alpha$ -アミノ基を失って $\alpha$ -ケト酸となり、それぞれの $\alpha$ -ケト酸に特有な代謝過程を経て、最終的にはピルビン酸、オキサロ酢酸、あるいはアセト酢酸等にまで代謝されて糖質又は脂質の中間代謝経路に入って更に代謝されていく。一方ある種のアミノ酸は脱炭酸反応を受けて種々のアミン誘導体を生成する。このようにアミノ酸の代謝はアミノ酸の化学構造からアミノ基の代謝、カルボキシル基の代謝及び炭素骨格の代謝の三つに分けて考えることができる。

## 1) アミノ基の代謝

1) アミノ転移反応 (transamination) アミノ転移反応とはアミン化合物のアミノ基がカルボニル化合物に転移されて前者はカルボニル化合物に、後者はアミン化合物に変換される反応である。アミノ酸の場合にはアミノ酸と $\alpha$ -ケト酸との間にアミノ基の転移が行われ、アミノ酸は $\alpha$ -ケト酸に、 $\alpha$ -ケト酸はアミノ酸に変換される。この反応を触媒する酵素がアミノ転移酵素 (transaminase) である。



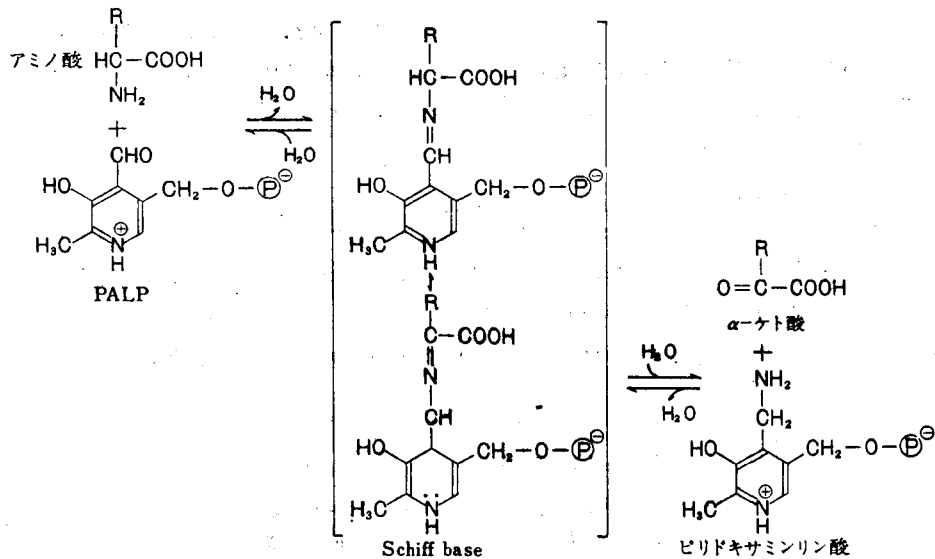
この酵素は Braunstein と Kritzmann (1937) によって初めてハトの胸筋に見出された。その後種のアミノ酸に特異的なトランスアミナーゼが見出されている。その際興味あることはほとんどのトランスアミナーゼのアミノ基の供与体、あるいは受容体の一方が L-グルタミン酸、あるいは $\alpha$ -ケトグルタル酸であることである。このようにアミノ転移反応において L-グルタミン酸は重要な役割を演じている。代表的なトランスアミナーゼとしてはアスパラギン酸トランスアミナーゼ (以前はグル



タミン酸・オキサロ酢酸トランスアミナーゼ: GOT と呼ばれていた), アラニン・トランスアミナーゼ (グルタミン酸・ピルビン酸トランスアミナーゼ: GPT) がある。

トランスアミナーゼの作用機序については既に酵素の項で述べた。すなわちすべてのトランスアミナーゼは補酵素としてピリドキサール 5-リン酸 (pyridoxal 5-phosphate, PLP) を必要とする。

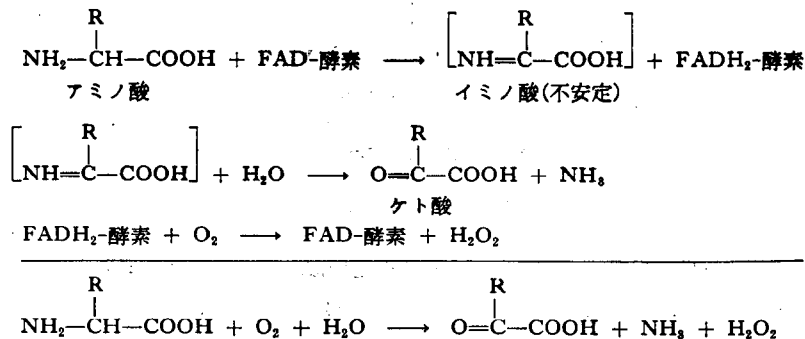
PALP は酵素分子の表面でアミノ酸と直接結合して Schiff base を形成し、この Schiff base を仲介としてアミノ基が転移されるものと考えられている。



## ii) 酸化的脱アミノ反応

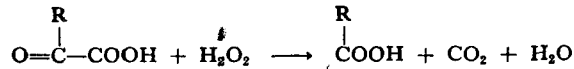
D-アミノ酸化酵素 (D-amino acid oxidase) 1935年 H. Krebs は腎又は肝の切片に種々のアミノ酸を酸素分子を消費しながら酸化分解し、同時にアンモニアを生成する酵素が存在することを見出し、この酵素をアミノ酸化酵素と呼んだ。その後この酵素は結晶化されたが D-アミノ酸に特異的に作用することから動物のアミノ酸代謝における役割は疑問視されて来た。その後 L-アミノ酸に特異的なアミノ酸化酵素も報告されているがその役割は明らかでない。

D-アミノ酸化酵素は補欠分子族として FAD を持ったフラボタンパク質の一つである。この FAD を仲介としてアミノ酸と酸素分子との間の水素転移反応を触媒する酵素である。その反応を次式に示す。

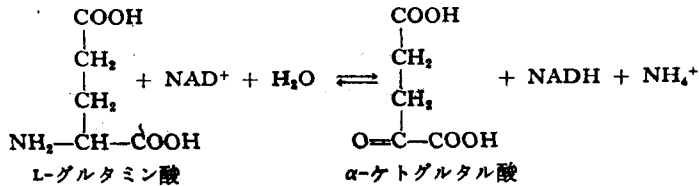


生成した  $\text{H}_2\text{O}_2$  は細胞内においてはカタラーゼによって直ちに水と酸素に分解されるが、酵素標

品が精製されカタラーゼが混存していない場合には  $\alpha$ -ケト酸は  $\text{H}_2\text{O}_2$  により酸化されて炭素原子の1コ少ないカルボン酸と  $\text{CO}_2$  に分解される。



**L-グルタミン酸脱水素酵素** L-グルタミン酸脱水素酵素は NAD を補酵素として L-グルタミン酸の酸化的脱アミノ反応を可逆的に触媒する酵素である。この酵素はアミノ酸の窒素代謝に重要な酵素であって、すべての細胞のミトコンドリア中に存在している。

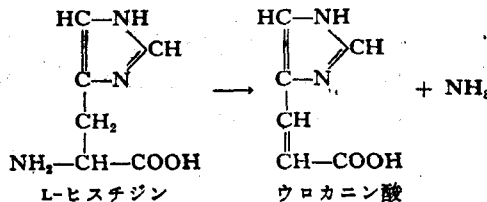


尿素生成の項で述べるが、尿素分子の2コの窒素原子の中の1コはカルバミルリン酸の形で供給されるが、このカルバミルリン酸の生成に必要なアンモニアのほとんどは L-グルタミン酸脱水素酵素の作用によって L-グルタミン酸から生じるアンモニアに由来するものと考えられている。

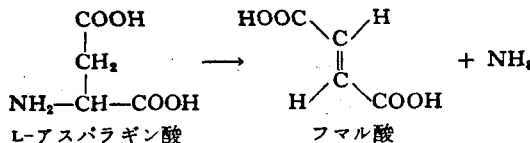
iii) 非酸化的脱アミノ反応 種々のアミノ酸は非酸化的に脱アミノ化されてアンモニアを生じる。この反応を触媒する酵素は2群に分けられる。すなわち、アミノ酸の  $\alpha$ -アミノ基を直接脱アミノ化する酵素(デアミナーゼ)と先ず脱水反応を触媒する酵素(デヒドラターゼ)である。後者の反応で生じたイミノ酸は自動的に水解して  $\alpha$ -ケト酸とアンモニアを生じる。

デアミナーゼ:

ヒスチダーゼ(L-ヒスチジンデアミナーゼ)



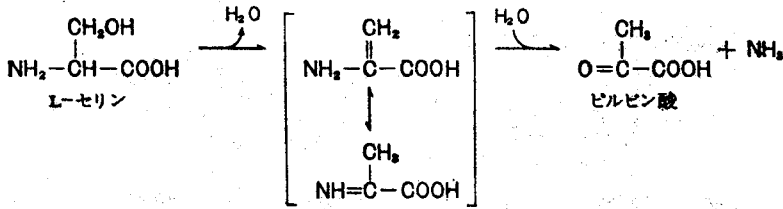
アスパルターゼ(L-アスパラギン酸デアミナーゼ)



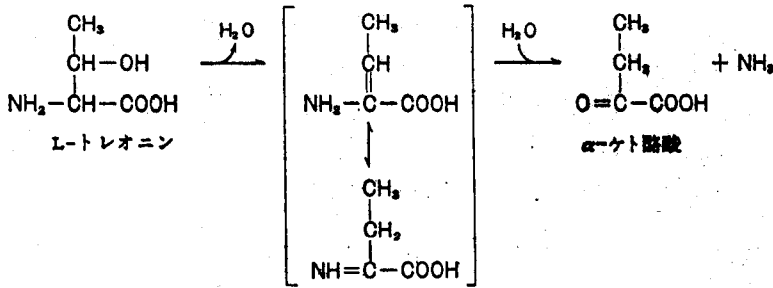
デヒドラターゼ:

L-セリンデヒドラターゼ

11-7011



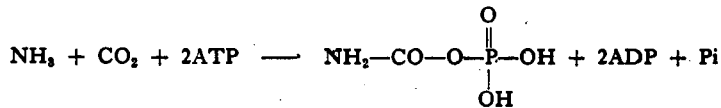
L-トレオニンデヒドラターゼ



iv) 尿素生成 動物においては窒素代謝の終末産物はアンモニア、尿素、尿酸のいずれかである。ある種の魚類や無脊椎動物ではアンモニアが窒素排泄の主要終末産物である。鳥類、爬虫類では尿酸が終末産物である。哺乳動物の大部分ではほとんど総て尿素の形で尿中に排泄される。

1932年 Krebs と Hensleit はネズミの肝切片を用いてアンモニアが尿素に合成されることを証明した。Krebs らはアンモニアの他にアルギニン、オルニチン、チトルリンのうち、どれか一つだけを添加しても尿素生成が著しく高まること、しかも添加された量をはるかに上回る量の尿素が生成されること、を見出した。これらの実験結果に基づき尿素生成に対する反応回路を提案した。この反応回路を尿素回路 (urea cycle)、あるいはオルニチン回路 (ornithine cycle) と呼んでいる。この回路の存在はその後多くの実験事実により実証され、補足されている。その大略は次の通りである。

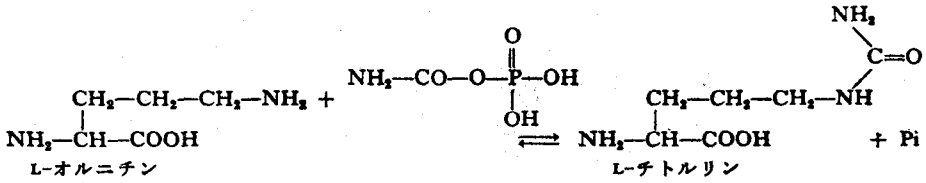
アンモニアの代謝とチトルリンの生成 L-グルタミン酸脱水素酵素及び非酸化的脱アミノ反応等によって生じたアンモニアはカルバミルリン酸合成酵素によって ATP を消費して CO<sub>2</sub> とカルバミルリン酸を生じる。



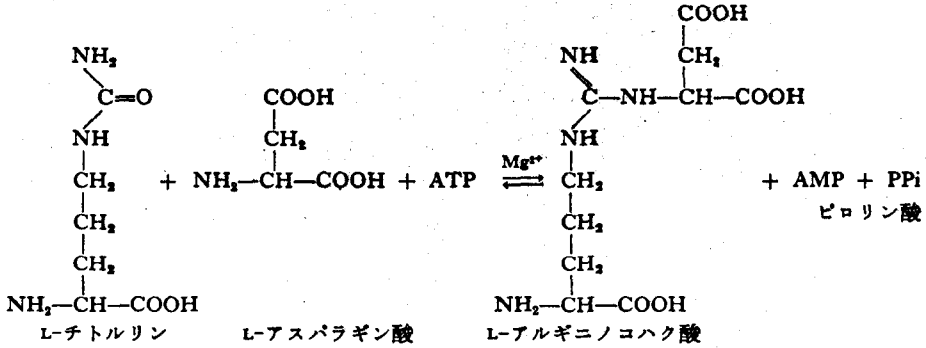
この反応にはカルバミルリン酸1モルの生成に対し2モルの ATP が必要であるが、その他 N-アセチルグルタミン酸が cofactor として必要である。N-アセチルグルタミン酸は ATP の存在下で CO<sub>2</sub> を活性化すると考えられている。

生じたカルバミルリン酸はオルニチントランスカルバミラーゼの作用によりオルニチンと反応してチトルリンを生成する。

110

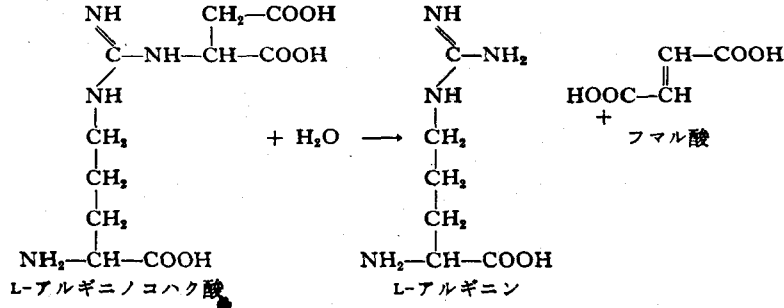


アルギニンの生成 生成したチトルリンは ATP を消費してアスパラギン酸と反応してアルギニノコハク酸を生成する。この反応はアルギニノコハク酸合成酵素により触媒される。この反応は可逆反応であるが、肝臓中には強いピロホスファターゼ活性があり、ピロリン酸は速やかに正リン酸に水

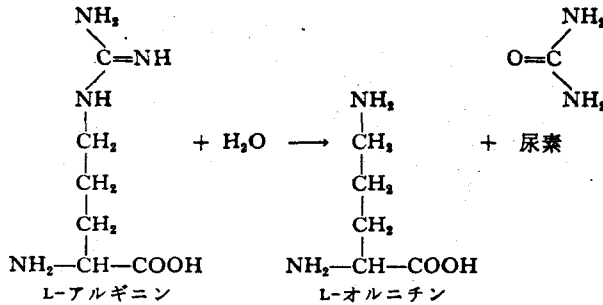


解される。このため反応はほとんど合成反応の方へ不可逆に進むと考えられている。

次いでアルギニノコハク酸はアルギニノスクシナーゼの作用によって L-アルギニンとフマル酸に分解される。



L-アルギニンより尿素の生成 L-アルギニンはアルギナーゼの作用により不可逆的に L-オルニチンと尿素に水解される。



アルギナーゼの作用は不可逆であるので、尿素回路は全体として尿素生成の方向にのみ進行する。アルギナーゼは尿素を排泄する動物の肝臓以上に記したアルギニン合成酵素系とともに存在しているが、尿酸を終末産物として排泄する鳥類の肝臓には存在していない。

以上のようにアミノ酸のアミノ基は最終的には尿素として尿中に排泄される。次にアミノ酸のアミノ基の代謝をまとめて図示した(図4・8)。

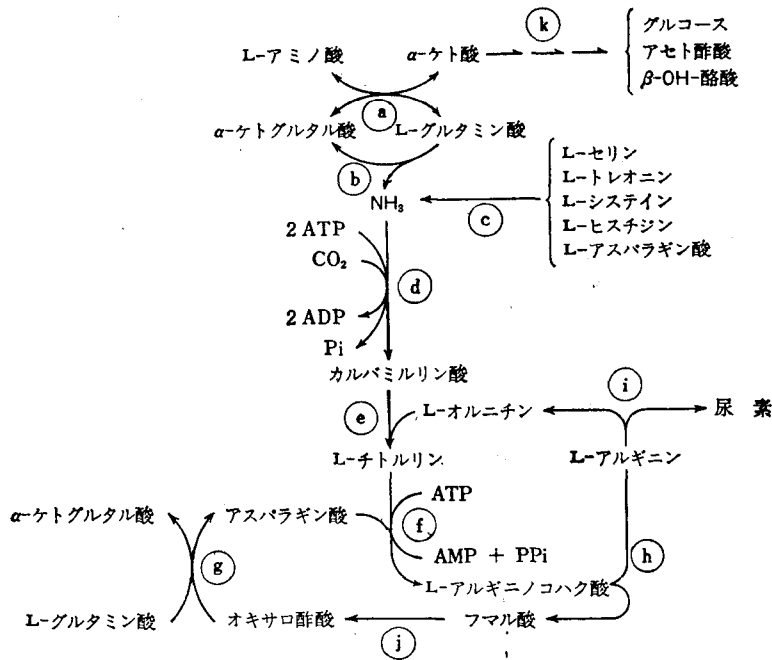


図4・8 アミノ酸の代謝

- |   |                    |   |                  |
|---|--------------------|---|------------------|
| a | トランスアミナーゼ          | g | アスパラギン酸トランスアミナーゼ |
| b | L-グルタミン酸脱水素酵素      | h | アルギノスクシナーゼ       |
| c | 非酸化的脱アミノ反応         | i | アルギナーゼ           |
| d | カルバミルリン酸合成酵素       | j | Krebs クエン酸回路     |
| e | L-オルニチントランスカルバミラーゼ | k | アミノ酸代謝           |
| f | アルギニノコハク酸合成酵素      |   |                  |

尿素生成系は哺乳動物では肝臓のほか、わずかながら脳、腎などに存在している。

以上のように1分子の尿素を合成するために3分子のATPが消費される。尿素分子の炭素原子はCO<sub>2</sub>に由来し、2コの窒素原子のうち1コはアンモニアから、他はアスパラギン酸のアミノ基に由来している。このアンモニアの大半はL-グルタミン酸脱水素酵素によるL-グルタミン酸の酸化的脱アミノ反応により生じたもので、他方アスパラギン酸はトランスアミナーゼの作用によりオキサロ酢酸とL-グルタミン酸から合成されるとすれば、尿素分子中の窒素は直接・間接に主にL-グルタミン酸のアミノ基に由来していると考えられる。

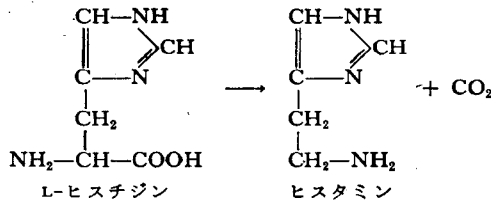
## 2) アミノ酸のカルボキシル基の反応: 脱炭酸反応

アミノ酸が微生物によって脱炭酸されて種々のアミンを生じることは食品タンパク質の一般的腐敗過程の一つであって、その結果種々のプトマインを生じることはよく知られている。例えばリジンか

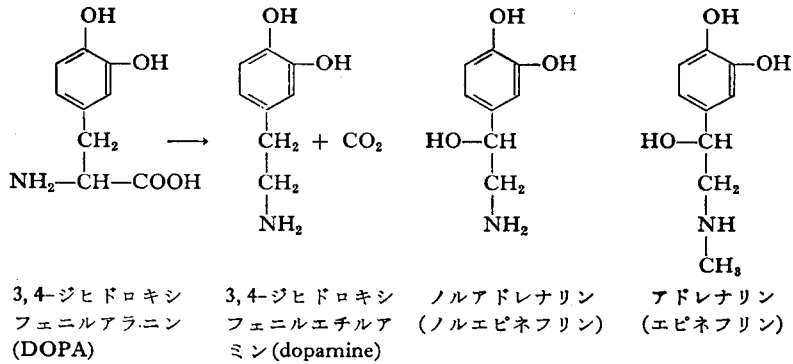


ラカダペリン、チロシンからはチラミン、アルギニンからはアグマチン等である。いずれも強い血管収縮作用等の生理学的、薬理学的作用を持った物質である。このようにアミノ酸を脱炭酸する一群の酵素はアミノ酸脱炭酸酵素と呼ばれ動植物界に広く存在している。生理学的に重要なアミンの多くのものも、このアミノ酸脱炭酸酵素の作用によって生じる。

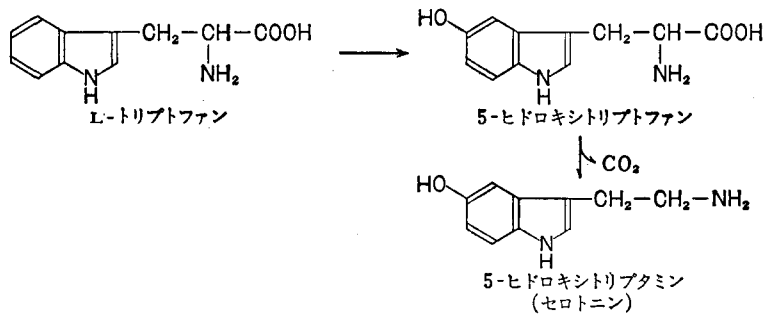
動物組織から最初に分離されたアミノ酸脱炭酸酵素はヒスチジン脱炭酸酵素である。生成するヒスタミンは強い血管拡張、血圧降下等の生理作用を持っている。



DOPA 脱炭酸酵素はチロシンの中間代謝産物である 3,4-ジヒドロキシフェニルアラニン (DOPA) を脱炭酸してドパミン (dopamine) を生じる反応を触媒する酵素である。この酵素は主に副腎髄質中に存在する。Dopamine はノルアドレナリン及びアドレナリンの材料となる物質である。

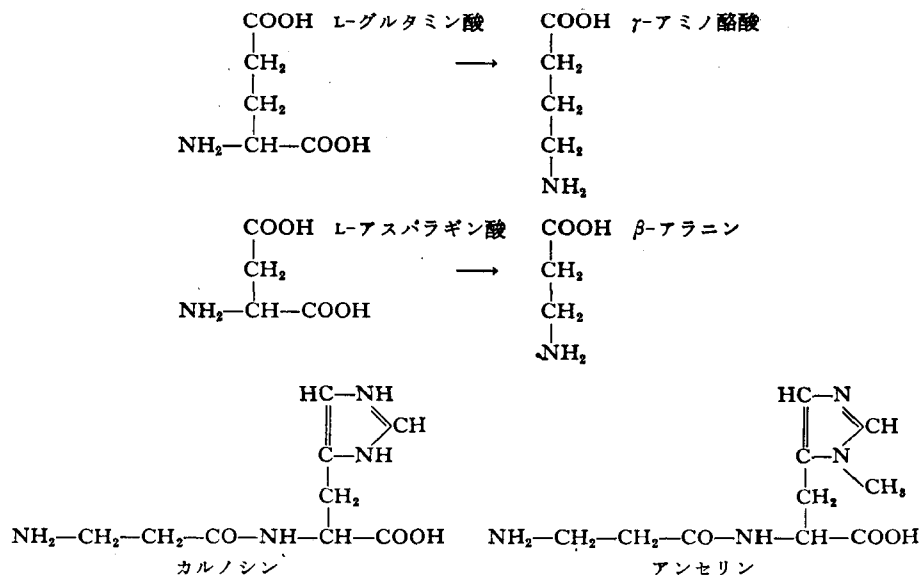


中枢神経系の細胞に見出されるセロトニン(5-ヒドロキシトリプトファン)はトリプトファンの中間代謝産物の一つである。このアミンも DOPA 脱炭酸酵素によって 5-ヒドロキシトリプトファンを脱炭酸によって生じると考えられている。セロトニンは神経刺激の伝達に必要な一種のホルモンと考えられている。その末梢血管収縮作用は止血機構に関係していると考えられている。



モノアミノジカルボン酸の脱炭酸酵素は一般に  $\alpha$ -位のカルボキシル基の脱炭酸を触媒する。したがって  $\omega$ -アミノ酸が生じる。L-グルタミン酸脱炭酸酵素はグルタミン酸から  $\gamma$ -アミノ酪酸 (GABA) を生じる。 $\gamma$ -アミノ酪酸は哺乳動物の脳に存在しており、神経組織でシナプシスの興奮伝導を抑制する作用を持つと考えられている。

同じグルタミン酸脱炭酸酵素によって L-アスパラギン酸は脱炭酸されて  $\beta$ -アラニンを生じる。 $\beta$ -アラニンはパントテン酸及び CoA の構成成分である。その他筋肉に存在するカルノシン ( $\beta$ -アラニルヒスチジン)、アンセリン ( $\beta$ -アラニル-1-N-メチルヒスチジン) の構成成分である。



### 3) アミノ酸の炭素骨格の代謝

個々のアミノ酸の代謝はアミノ転移反応、あるいは脱アミノ反応によって生じた  $\alpha$ -ケト酸の代謝と考えることができる。これらの  $\alpha$ -ケト酸は体内においては最終的には糖質あるいは脂質と同じ中間代謝経路に入って代謝される。

既に述べたようにアラニン、システインあるいはセリンはアミノ基を失って直接ピルビン酸を生成する。アスパラギン酸はアミノ基を失ってオキサロ酢酸又はフマル酸を生じ、グルタミン酸は  $\alpha$ -ケトグルタル酸を生成する。

一方バリン、ロイシン、イソロイシンのような側鎖アミノ酸の場合には、アミノ基を失って生成する  $\alpha$ -ケト酸がピルビン酸の酸化的脱炭酸反応と類似の反応によってそれぞれのアシル-CoA を生じ、これが脂肪酸の代謝に見られるアシル-CoA の代謝と同様な経路を通過して酸化分解を受ける。このようにしてバリンからはメチルマロニル-CoA を経てスクシニル-CoA が生成し、ロイシンからは  $\beta$ -ヒドロキシ- $\beta$ -メチルグルタリル-CoA を経てアセト酢酸とアセチル-CoA が生成する。一方イソロイシンからはアセチル-CoA とプロピオニル-CoA が生成するが、後者は更にメチルマロニル-CoA を経てスクシニル-CoA に変換される。

このようにそれぞれのアミノ酸の炭素骨格は最終的にはピルビン酸、オキサロ酢酸、アセチル-

CoA, アセト酢酸等を生じ、糖質及び脂質と同じ中間代謝経路を通して代謝される。この際、ピルビン酸及びオキサロ酢酸、スクシニル-CoA, フマル酸等の TCA 回路のメンバーは TCA 回路とグルコース新生成機構 (gluconeogenesis) の経路を通してグルコース, あるいはグリコーゲンに変換さ

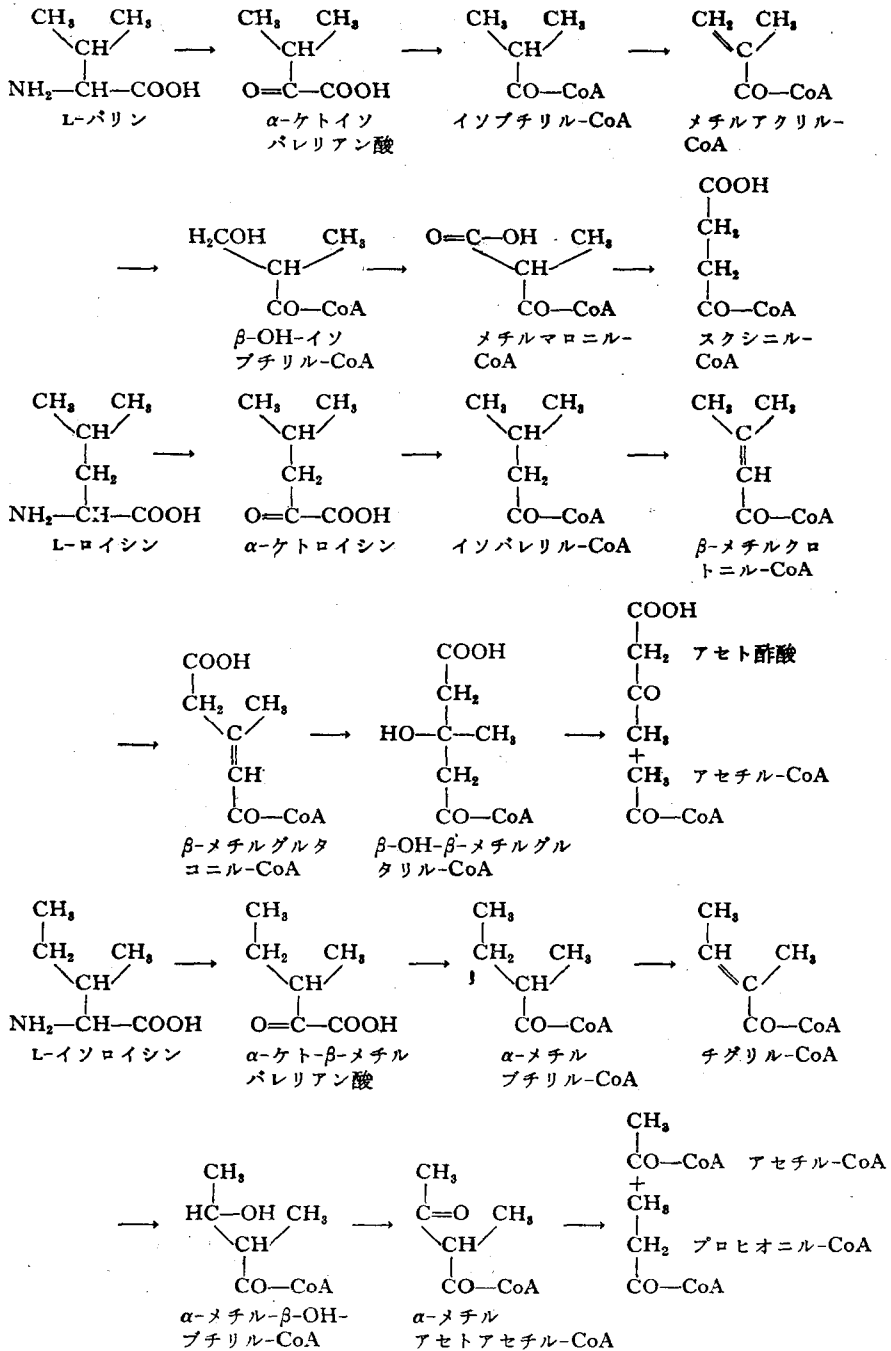


図 4.9 側鎖アミノ酸の代謝経路

れ、他方アセチル-CoA 及びアセト酢酸は脂質の代謝経路に入って代謝されるが、アセト酢酸はケトン体そのものであり、アセチル-CoA もミトコンドリアに蓄積すればアセト酢酸を生じる。

以上のようにアミノ酸は最終的には糖質の代謝経路に入って代謝されグルコースを生成するものと、脂質の代謝経路に入って代謝されてケトン体を生成するものに分類することができる。前者に属するアミノ酸を *glycogenic amino acid*, 後者に属するアミノ酸を *ketogenic amino acid* と呼ぶ。例えば上記の三つの側鎖アミノ酸のうちバリンは *glycogenic*, ロイシンは *ketogenic* であり、イソロイシンは *glycogenic-ketogenic amino acid* である。

#### 4.8 核 酸 の 代 謝

プリン、ピリミジン塩基の代謝については  $^{15}\text{N}$  でラベルしたこれらの化合物を投与することによって調べられた。

哺乳動物では投与したプリン誘導体である、グアニン、キサンチン、あるいはヒポキサンチンは大部分尿酸やアラントインの形で尿中に排泄される。アデニンの場合には経口投与の場合でも組織の核タンパクに一部とりこまれるが、 $^{15}\text{N}$  の一部はグアニンにもとりこまれる。いずれにしてもプリン核は完全には分解されず、これから生じる尿素やアンモニアはごく少量である。

これに対してピリミジン誘導体であるウラシル、シトシン、チミン等は経口投与されると、速やかに代謝されて尿素やアンモニアの形で排泄される。

##### 4.8.1 プリンの代謝

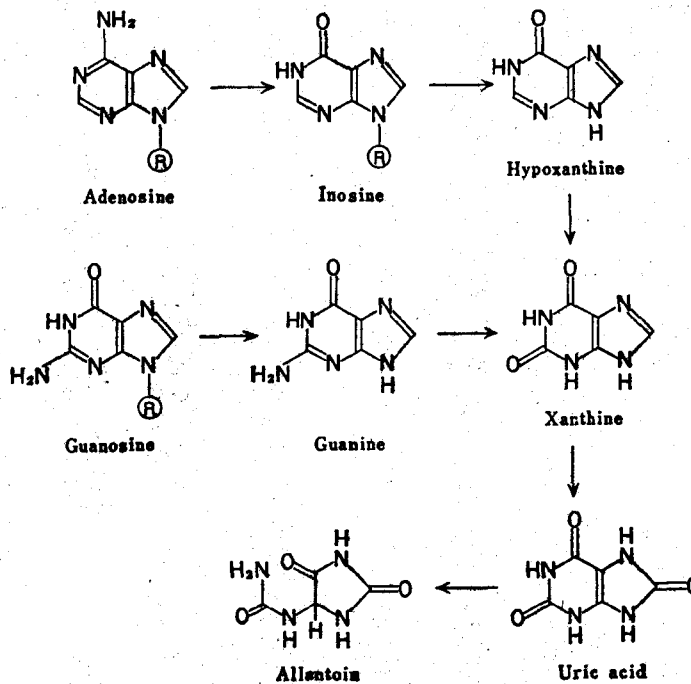


図 4.10 プリンヌクレオシドの代謝経路

プリンヌクレオシドであるアデノシン、グアノシンの代謝経路は前頁に示した通りである。

グアノシンはまず nucleoside phosphorylase によりリボース 1-リン酸を遊離してグアニンになり、次いで guanase の作用を受けて脱アミノ化されてキサンチンとなる。これに対しアデノシンはまず adenosine deaminase の作用により糖が結合したままのヌクレオシドの形で脱アミノ化されてイノシンとなり、これが nucleoside phosphorylase によってリボース 1-リン酸を遊離してヒポキサンチンになる。ヒポキサンチンは xanthine oxidase の作用によってキサンチンに酸化され、後者は更に同じ xanthine oxidase の作用で尿酸に酸化される。

Xanthine oxidase は肝臓より分解精製されている。この酵素はリボフラビンを補欠分子族としたフラボタンパク質の一つ (3.2.2 の ii) flavin nucleotide の項, 44 頁参照) であるが、同時に鉄及びモリブデンを補助因子としている。

哺乳動物では尿酸の生成は主として肝臓で行われ、ヒト、霊長類ではプリン核の最終代謝産物であ

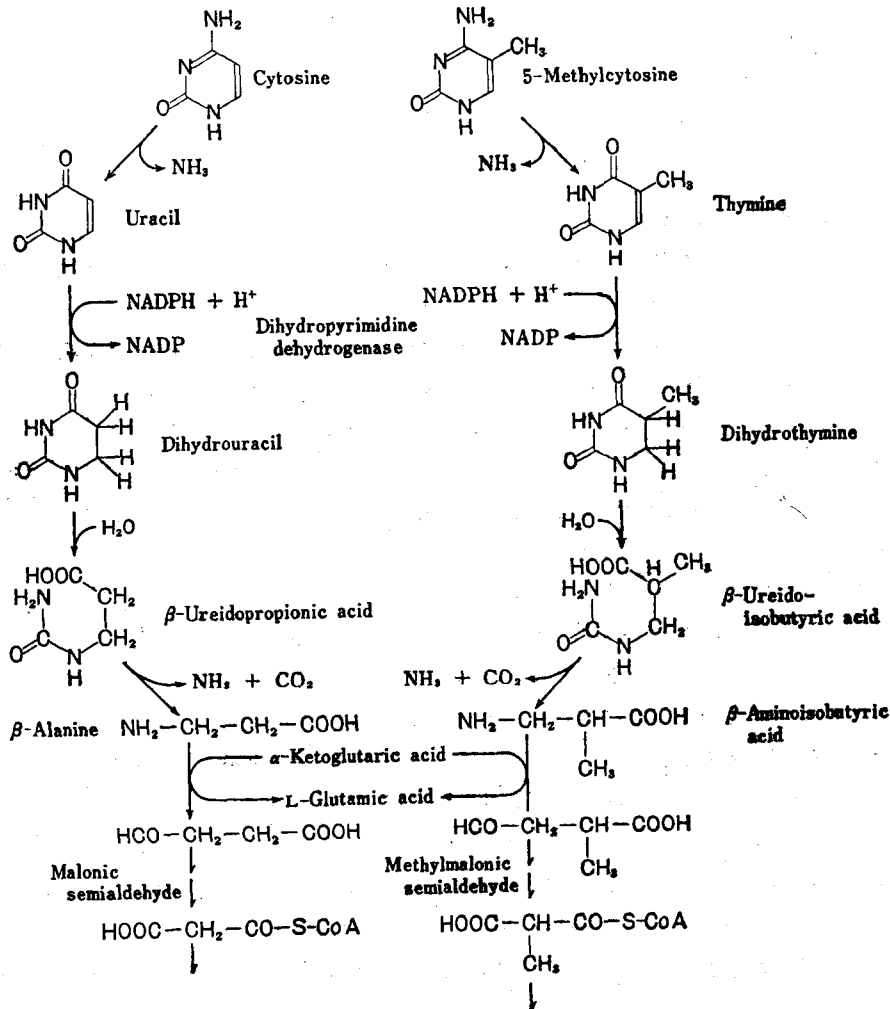


図 4.11 ピリミジンの代謝過程

るが、他の哺乳動物では尿酸は uricase によって更に分解されアラントインの形で排泄される。

尿酸以外にも種々のプリン誘導体が正常ヒト尿中に見出される。それらはヒポキサンチン、キサンチン、アデニン、グアニン等である。痛風では関節中に尿酸が蓄積する。

#### 4.8.2 ピリミジンの代謝

ピリミジンの代謝過程は図 4.11 の通りである。

ピリミジンの分解は主として肝臓で行われる。ピリミジン核は開裂して一部の炭素は炭酸ガスとして呼気中に排出される。シトシン、5-メチルシトシンも同じように脱アミノ化されて、それぞれウラシルとチミンになる。次いで NADP を補酵素とする脱水素酵素により還元されてジヒドロ化合物となり、加水分解による核の開裂、加水分解等の反応をうけてシトシンやウラシルからは  $\beta$ -アラニンが、5-メチルシトシンやチミンからは  $\beta$ -アミノイソ酪酸が生成される。 $\beta$ -アラニン及び  $\beta$ -アミノイソ酪酸は transaminase の作用を受けて脱アミノ化され、それぞれマロン酸セミアルデヒドを生じ、一般の中間代謝過程に入って更に代謝されてゆくと考えられている。

#### 4.9 ポルフィリンの分解

成熟赤血球は絶えず破壊と新生が繰り返され赤血球全体の動的平衡が保たれている。

胆液色素排出量から計算した赤血球の回転率は1日当り全赤血球の約 0.85% で、血液 50 ml の赤血球量に相当する。したがって赤血球の寿命は骨髓を出て約 120~130 日程度であると考えられる。破壊された赤血球から出たヘモグロビンはそのままの形では再利用されず、網内上皮細胞組織で分解される。ヘムはまず酸化されてコリグロビンと呼ばれる緑色の色素を生じる。これはポルフィリン環の  $\alpha$ -メチン炭素一つが失われ、4つのピロール環を結んでいた結合が一方所で開裂したもので、グロビンと鉄がまだ結合している。この物質がまだよく分かっていない反応によってグロビンと鉄を失うとビリベルジンが生じる。遊離した鉄はフェリチンと結合して貯蔵鉄となるか、あるいは骨髓に運ばれて新しいヘモグロビン合成に利用される。ビリベルジンは NAD 又は NADP を補酵素とする還元酵素により還元されてビリルピンを生じる。このビリルピンは赤い色素で主としてアルブミン又はグロブリンと結合し、複合体を形成して網内上皮細胞から肝臓に運ばれる。肝臓でタンパク質と分離したビリルピンはその場で UDP-グルクロン酸と抱合してビリルビンジグルクロニドとなり、胆液と共に腸内に排出される。胆液色素はヒトの胆液の乾燥重量の 15~20% を占めている。腸内に排出された胆液色素は腸内細菌によって還元される。まず一つのビニル基がエチル基に還元されて  $\alpha$ -ウロノーゲンが形成され、更に第2のビニル基が還元されて  $\epsilon$ -ウロビリノーゲンが生じる。後者は更に還元されると  $\delta$ -ステルコビリノーゲンを与える。

この無色のステルコビリノーゲンは大気中で自動酸化され、平常な便の色である褐色色素、ステルコビルン ( $\delta$ -ウロビルン) を生じる。図 4.12 にポルフィリンの分解過程を示した。

ビリルピンの還元物質は一部腸管から再吸収され、改めて門脈を通して肝臓に導かれる。これは胆液酸の場合と同様に腸肝循環がなされているわけである。

胆液色素の大部分は糞便中に排出されるが、尿中にもわずかながらウロビリノーゲン、 $\epsilon$ -ウロビル

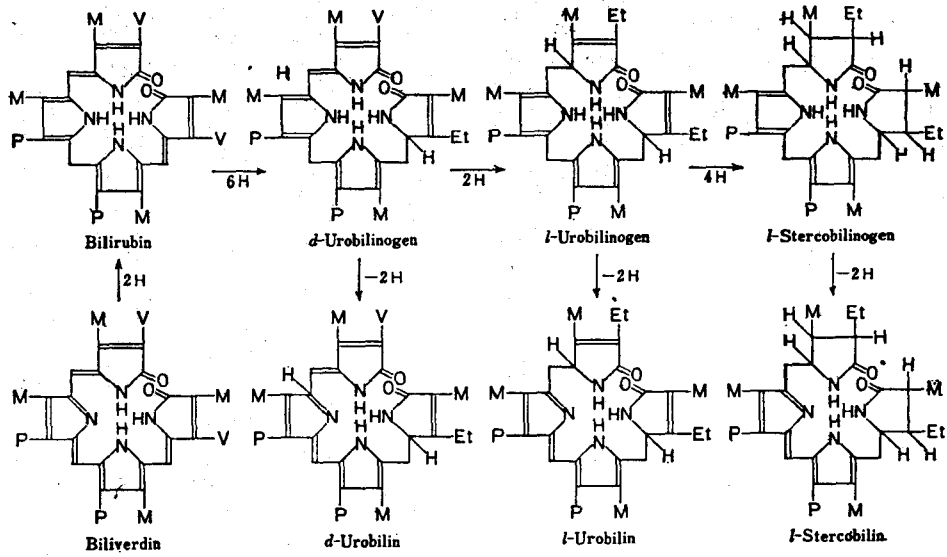


図 4.12 ポルフィリンの分解過程

ン、ならびにメゾビリルビノーゲンが排泄される。これらの微量成分のために尿は着色しているわけである。

種々の肝臓疾患の際にビリルビンの生産が増大して、肝細胞の透過性が高まり、そのためにビリル

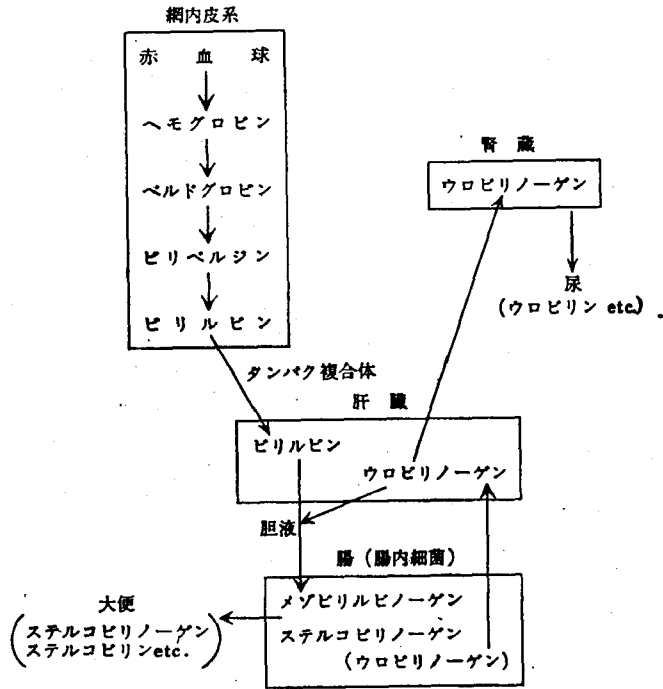


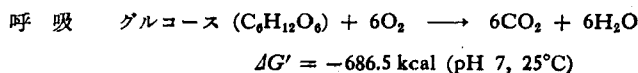
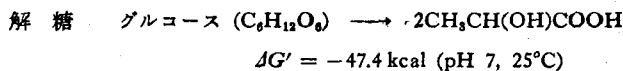
図 4.13 胆液色素の代謝過程

ビングルクロニド(直接ビリルビン)と遊離ビリルビン(間接ビリルビン)が血液中に移行する。そこから更に組織に拡散する。また胆管が閉じてしまっても同様な症状が起る。この症状を黄疸という。それゆえビリルビンの定量は临床上重要である。



## 第5章 エネルギー変換反応

生物のエネルギー変換反応としては、光合成、呼吸、及び発酵があるが、初めに述べたように光合成は生物による太陽エネルギーの1次的な転換であつて、直接に生物の生活を支えるエネルギーは、動物はもちろん光合成生物においても光合成によってえられた有機物質のより簡単な物質への分解、すなわち異化過程 (catabolism) で遊離されるエネルギーである。高等動物や多数の微生物細胞によって広く行われている酸素呼吸は、この異化過程と共役して有機物質に潜在するエネルギーを利用可能な形に転換する手段である。特定の生物では  $O_2$  の代わりに  $NO_3^-$  のような無機化合物の酸化剤が用いられることもあり、これらは無酸素呼吸と総称せられる ( $NO_3^-$  の場合は硝酸呼吸という)。嫌氣的微生物や好氣的生物の一部の組織細胞では、炭水化物が  $O_2$  又は他の酸化剤によって酸化されるのではなく、単なる分解を受ける際に遊離されるエネルギーが利用されている。これには発酵及び解糖も含まれる。この場合にも、その分解過程には酸化過程が含まれていて、これが主なエネルギーの遊離段階となっている。しかし経路中にはこの酸化と等価の還元が含まれていて、全体としては酸化が行われておらず、その遊離するエネルギー量はわずかである。これに対して呼吸の場合には、1栄養物質の完全な分解までの間には多数の酸化反応があつてエネルギー遊離が非常に大きい。例えばグルコースの解糖と呼吸ではその自由エネルギー変化量は次のように著しく違う。



生体内の基本的なエネルギー遊離反応は酸化反応であるが、各種のエネルギー要求反応はこの酸化反応と直接に共役するわけではなく、ATPの加水分解反応と共役して行われる。そしてこのATPの加水分解反応の逆反応、すなわちATPの合成反応が酸化反応と共役して起っているので、結果的に各種のエネルギー要求反応は酸化反応において遊離するエネルギーによつていくことになる。このように酸化反応と共役して高エネルギーリン酸化反応が起ることを酸化的リン酸化 (oxidative phosphorylation) という。これには2種類あつて、一つは基質レベルでのリン酸化 (substrate level phosphorylation)、他は呼吸鎖リン酸化 (respiratory chain phosphorylation) である。

### 5.1 ミトコンドリア

呼吸鎖リン酸化はミトコンドリアで行われる。ミトコンドリアは内膜と外膜の二つの膜をもっている。外膜はひだがなく滑らかであるが、内膜はクリステといわれる内側に向かった多数のひだを持っている。ミトコンドリアの内側の隔室にはマトリックスといわれるゲル状の半固体が入っている。マ

トリックスの50%はタンパク質からなりたっている。

ミトコンドリアの内部構造には臓器間で差が認められる。一般に多数のクリステを持ったミトコンドリア(例えば好氣的に働く筋肉のそれ)は主に呼吸とエネルギー生産を行い、クリステの数の少ないもの(例えば肝臓のそれ)は多くの合成酵素を含んでいる。その他ミトコンドリアの数や位置も組織によって一定の生理的機能に応じた特色を示している。すなわち、筋肉においては細胞の収縮要素にほとんどサンドウィッチ状にはさまれて存在しており、ミトコンドリアによって生成したATPが収縮要素に最短距離の拡散で到達するようになっている。また精子の尾部ではこの鞭毛状器官の運動に関与している縦に並んだ小繊維にとり囲まれているし、能動輸送を営む上皮細胞では、ミトコンドリアは拡大され高度に折れこんだ表面膜の近辺に輸送方向に沿って配列し、能動輸送に対してATPの供給がし易いようになっている。更に活発なタンパク合成を行っている細胞においては、ミトコンドリアの周囲をリボソームの付着した粗面小胞体がとりまいていることも観察されている。ミトコンドリアはまた、細胞内において燃料となる脂肪滴のまわりに配列していることがしばしば観察されている。

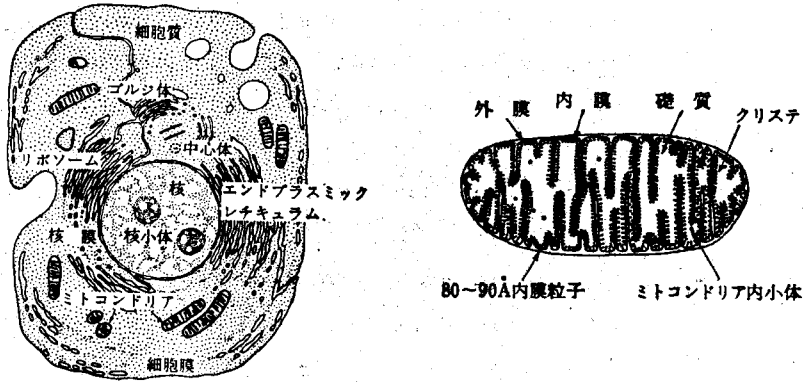


図 5.1 ミトコンドリアの模式図

ミトコンドリアの膜はタンパク質及びリボプロテインよりなる二重膜であるが、膜の性質はリポタンパク質に含まれる脂質(リン脂質, カルジオリピン等)により左右される。内膜の repeating unit は図 5.2 に示すように三つの部分からなる。

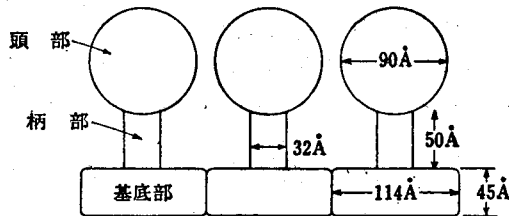


図 5.2

すなわち、基部、柄部及び頭部からなる。これはミトコンドリア1コにつき $1 \times 10^6$ コぐらいあるという。柄部と頭部は基部と基部の連続性を壊すことなく分離することができる。これらの三

つの部分は基本粒子といわれる。外膜は基本粒子を持たないが、内膜のものより小さい、形状の異なった repeating unit からなり立っている。その repeating unit の分子量は 400,000~500,000 である。膜に含まれる構造タンパク質は 50% に達するがこれは酵素反応活性を持っていない。膜では構造タンパク質と酵素タンパク質が一定の方法で結合している。膜ならびにマトリックスに含まれる酵素は一定の局在性を示すので、これらの酵素はまたそれぞれのコンパートメントの marker enzyme として利用される。

表 5.1\* ミトコンドリアに含まれる酵素の局在

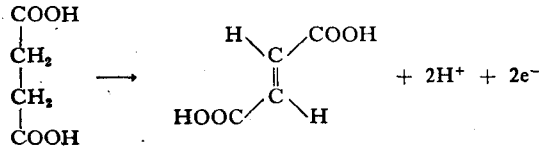
外 膜	膜間スペース	内 膜	マトリックス
モノアミン酸化酵素 脂肪酸チオキナーゼ	アデニレートキナーゼ ヌクレオシドジホスホ キナーゼ	呼吸鎖酵素 ATP 合成酵素	クエン酸合成酵素 イソクエン酸脱水素酵 素
キヌレン水酸化酵素 ロテノン不感受性シト クロム c 還元酵素 脂肪酸酸化酵素		$\alpha$ -ケト酸脱水素酵素 コハク酸脱水素酵素 D- $\beta$ -ヒドロキシ酪酸脱 水素酵素 carnitine fatty acyl transferase	フマラーゼ マレートデヒドロゲナ ーゼ アコニターゼ グルタミン酸脱水素酵 素

ミトコンドリアの外膜は低分子の物質を比較的に通し易いが、ミトコンドリアの内膜が自由に通すのは水だけで、その他のものに対しては一定の選択的な透過性を示す。ミトコンドリア内膜への透過について最もよく知られているのは ADP 及び ATP のそれで、ADP のミトコンドリア内膜への取込みには同時に ATP のミトコンドリア外への放出を必然的に伴うことが明らかにされた。このような透過は exchange diffusion といわれるが、これは ADP-ATP に特異的で他のヌクレオシド二リン酸-ヌクレオシド三リン酸には働かない酵素のような基質特異性をもつタンパク質によって触媒される。この輸送機構は、atractyloside といわれる配糖体により阻止される。同様な輸送機構は TCA 回路のメンバーについても知られている。

分離したミトコンドリアは 2 価の陽イオン ( $\text{Ca}^{2+}$  など) を蓄積する作用がある。この過程は 2,4-dinitrophenol や cyanide で阻害される。したがってこの過程は明らかに呼吸によって遊離されるエネルギーに依存していることがわかる。 $\text{Ca}^{2+}$  の蓄積と同時にリン酸の取込みも行われ、その  $\text{Ca}^{2+}$  に対する割合は hydroxyl apatite の比と同じであるという。このように  $\text{Ca}^{2+}$  の蓄積が行われているときは酸化的リン酸化は起らない。したがって、呼吸鎖によって電子の移動が行われるときは ATP の生成あるいは  $\text{Ca}^{2+}$  の蓄積という二つの過程のいずれかが共役するものと考えられる。ミトコンドリアが  $\text{Ca}^{2+}$  及びリン酸をこのようにして取り込む働きを示すことは、それが骨組織における石灰化及び脱石灰化、あるいは筋弛緩時における  $\text{Ca}^{2+}$  の遊離と関係があることを示すものと考えられる。1 価の陽イオンについては 2 価のそのような作用は知られていないが、抗生剤である valinomycin や gramicidine 存在下では普通ならば非透過性の  $\text{K}^+$  や  $\text{Na}^+$  が通過して蓄積される。これはこれらの 1 価のイオンが抗生剤とコンプレックスを作り、抗生剤の疎水性に助けられてミトコンドリアに入るものと考えられる。このときも呼吸に伴って起るリン酸化は見られなくなる。

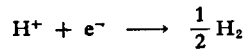
## 5.2 酸化還元反応の熱力学的考察

酸化とは電子を奪うことであり、還元とは電子を与えることである。いま



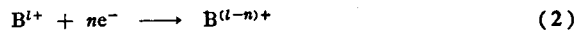
なる反応を考えて見よう。上の式は電子の出入りだけを示し、それを授受する物質を示していない。このような式を半反応式という。

これらの物質が電子を与えたり、電子をもらったりする傾向や能力は、もちろんその物質の性質と濃度で決まり、なにかを基準にすれば比較することができる。その基準として1気圧の  $\text{H}_2$  を選び、pH 0 における酸化還元電位を  $E^\circ = 0.000 \text{ V}$  と決める。

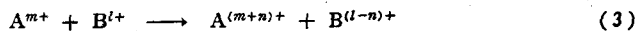


上の反応ではプロトンが使われるから電位は pH により変化する。pH 7.0 での酸化還元電位 ( $E'$  と表す) は  $-0.420 \text{ V}$  になる。これを基準にして水素と還元反応を行いうる化合物の電位を決めることができる。この電位は表 5.2 に示される。酸化還元反応は還元反応で示されている。表 5.2 の任意の2反応を組合せると、酸化還元電位の高い反応はそのまま右に進んで還元反応が起り、酸化還元電位の低い方の反応を左に進ませる。すなわち酸化反応を起させる。いいかえれば、酸化還元電位の高い  $\text{O}_2$  や  $\text{Fe}^{3+}$  は有効な酸化剤で、酸化還元電位の低い  $\text{H}_2$  や  $\text{NADH}$  は還元剤である。

いま



なる二つの半反応を考えて見よう。半反応式 (1) では  $\text{A}^{m+}$  が酸化されて  $\text{A}^{(m+n)+}$  になることを意味し、式 (2) では  $\text{B}^{l+}$  なる物質が還元されて  $\text{B}^{(l-n)+}$  になることを表している。いまこの両反応が組合さって  $\text{A}^{m+}$  から放出された電子が  $\text{B}^{l+}$  にとらえられるものと考え、全体としては (1) と (2) とを加え合せて得られる式



なる反応が起ったことになる。これは還元型の  $\text{A}^{m+}$  が酸化型の  $\text{B}^{l+}$  によって酸化されて  $\text{A}^{(m+n)+}$  になり、一方この際酸化剤として働いた  $\text{B}^{l+}$  は還元されて  $\text{B}^{(l-n)+}$  になったことを意味している。一般に酸化還元反応は以上のようにして起るものと考えてよい。以上の酸化還元反応における Gibbs の自由エネルギーを計算してみよう。

いま酸化剤側の半反応 (式 2) の  $E_2^\circ$  と還元剤側の半反応 (式 1)  $E_1^\circ$  の差  $E_2^\circ - E_1^\circ$  を  $\Delta E^\circ$  とおくと、 $n$  コの電子が  $E_1^\circ$  なる電気ポテンシャルから  $E_2^\circ$  なるポテンシャルに移動する際の自由エネルギー変化量は  $-n\text{e}\Delta E^\circ$  で与えられる。標準自由エネルギー変化を求めるためには第2章の式 (14)

表 5.2 酸化還元電位

半反応(還元反応として表す)	$E^{\circ}$ (pH 7.0 で) [V]
$\frac{1}{2}\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{H}_2\text{O}$	0.816
$\text{Fe}^{3+} + e^- \longrightarrow \text{Fe}^{2+}$	0.771
シトクロム a- $\text{Fe}^{3+} + e^- \longrightarrow$ シトクロム a- $\text{Fe}^{2+}$	0.290
シトクロム c- $\text{Fe}^{3+} + e^- \longrightarrow$ シトクロム c- $\text{Fe}^{2+}$	0.250
$\text{CoQH} + 2\text{H}^+ + e^- \longrightarrow \text{CoQH}$	0.010
デヒドロアスコルビン酸 + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ アスコルビン酸	0.060
酸化型グルタチオン + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ 2 グルタチオン	0.040
フマル酸 + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ コハク酸	0.030
シトクロム b- $\text{Fe}^{3+} + e^- \longrightarrow$ シトクロム b- $\text{Fe}^{2+}$	-0.040
オキサロ酢酸 + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ リンゴ酸	-0.102
黄色酵素 + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ 還元型黄色酵素	-0.122
アセトアルデヒド + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ エタノール	-0.163
ピルビン酸 + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ 乳酸	-0.190
$\text{FAD}^+ + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{FADH}$	-0.219
1,3-ジホスホグリセリン酸 + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ グリセルアルデヒド 3-リン酸 + リン酸	-0.290
$\text{NAD}^+ + \text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{NADH}$	-0.320
アセチル-CoA + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ アセトアルデヒド + CoA	-0.410
$\text{H}^+ + e^- \longrightarrow \frac{1}{2}\text{H}_2$	-0.420
リボ酸 $\text{L} \begin{matrix} \text{S} \\ \leftarrow \\ \text{S} \end{matrix} \longleftarrow$ リボ酸	$\text{L} \begin{matrix} \text{SH} \\ \leftarrow \\ \text{SH} \end{matrix} \quad -0.420$
フェレドキシン + $e^- \longrightarrow$ 還元型フェレドキシン	-0.432
酢酸 + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ アセトアルデヒド + $\text{H}_2\text{O}$	-0.468

の  $a_A = a_B = a_0 = \dots = 1$ , なる条件が満たされていなければならない。ここでは 1 mol の  $\text{A}^{n+}$  が酸化され 1 mol の  $\text{B}^{m+}$  が還元されるのであるから、この場合移動する電子の数は  $nN = (N$  はアボガドロ数), それによって生ずる自由エネルギー差は  $-nNe\Delta E^{\circ}$  にほかならない。したがって,

$$\Delta G^{\circ} = -nNe\Delta E^{\circ}$$

(-符号は右辺に相当する仕事を系が外部に対して行うことを意味する)

が得られる。Ne はすなわち Faraday 定数 ( $F$ ) にほかならないから,

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

と書くことができる。このことから、上の酸化還元反応が進行しうるためには  $\Delta G^{\circ} < 0$ , すなわち  $\Delta E^{\circ} > 0$  でなければならないということが帰結される(熱力学第2法則)。

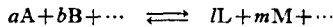
いま上式 (3) の酸化還元反応の平衡定数を  $K$  とすると,  $\Delta G^{\circ} = -RT \ln K$  であるから、上の式から

$$-RT \ln K = -nF\Delta E^{\circ}$$

が得られる。これを变形すると

$$\Delta E^{\circ} = \frac{RT}{nF} \ln K$$

なる式がえられる。反応が標準状態で行われぬ一般の場合で、酸化還元反応が次のように行われるときは、



第2章の式(14)から、その自由エネルギー変化は、

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln \frac{a_L^l \times a_M^m \times a_N^n \times \dots}{a_A^a \times a_B^b \times a_C^c \times \dots}$$

で表される。これに上の関係  $\Delta G^\circ = -nF\Delta E^\circ$  を適用し、 $\Delta G/nF$  を  $\Delta E$  とおくと

$$\Delta E = \Delta E^\circ - \frac{RT}{nF} \ln \frac{a_L^l \times a_M^m \times a_N^n \times \dots}{a_A^a \times a_B^b \times a_C^c \times \dots}$$

となる。ここで  $\Delta E$  は電極電位、 $\Delta E^\circ$  は標準電極電位と呼ばれる。これをそれぞれ  $E$  及び  $E^\circ$  と書き直すとよく知られた Nernst の式

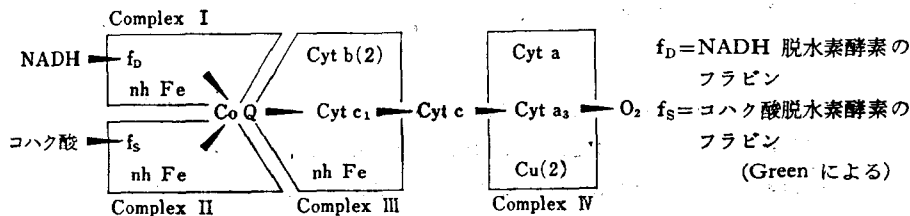
$$E = E^\circ - \frac{RT}{nF} \ln \frac{a_L^l \times a_M^m \times a_N^n \times \dots}{a_A^a \times a_B^b \times a_C^c \times \dots}$$

がえられる。

### 5.3 電子伝達系

TCA 回路によって還元された  $\text{NADH} + \text{H}^+$  は更にミトコンドリアの電子伝達系によって酸化され、最終的には酸素が acceptor となって還元され水が生じる。

このような電子伝達系の配列は酸化還元電位の測定、分光学的測定、阻害剤による研究、分離抽出による研究等、数多くの生化学的、物理化学的方法を駆使して一応推定できるようになった。これらの電子伝達系は4つの複合酵素系から成り立っている。Complex I は  $\text{NADH-coenzyme Q reductase}$ , complex III は還元型  $\text{coenzyme Q-cytochrome c reductase}$ , そして complex IV は  $\text{cytochrome oxidase}$  作用を示す。一方コハク酸からの電子は complex II ( $\text{succinate-coenzyme Q reductase}$ ) を通って次の電子伝達系に入る。これらの complex はまたそれ自体一つの小さな電子伝達系を構成している。



電子伝達系の酸化還元にあずかる原子団は、フラビン、ヘム、非ヘム鉄及び銅の4種類である。フラビンは complex I (FMN) 及び complex II (FAD) における最初の電子受容体である。非ヘム鉄は鉄と硫黄の結合を含んだ構造に対する総称で complex I, II, III に見出される。非ヘム鉄及び銅は酸化還元にあずかる「単位」として分離することはできない。鉄や銅は色々の薬品ではずすことがで

E102-71

B1

きるがその場合は無機鉄あるいは無機銅が遊離する。電子スピンスペクトルの研究によれば金属の配位子場は高度に非対称的であるという。

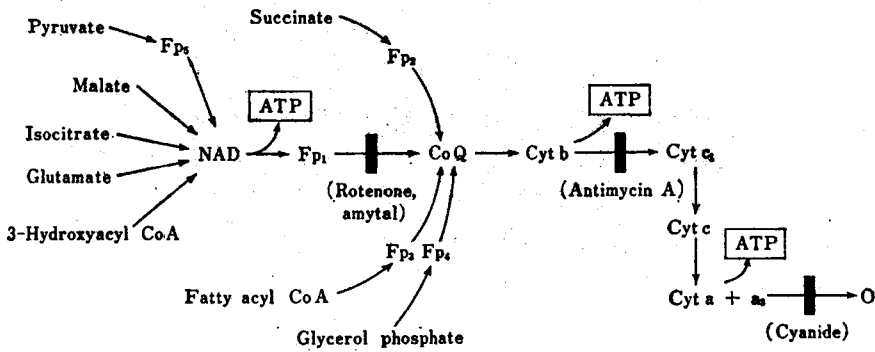
一つの完全な電子伝達系はコハク酸脱水素酵素のフラビン1分子, NADH デヒドロゲナーゼのフラビン1分子, シトクロム c1 分子, シトクロム b 2 分子, 及びシトクロム a ならびに  $a_3$  各3分子, 銅6原子, 非ヘム鉄18原子, ならびに complex から complex の間を往復する成分としてユビキノン15分子, シトクロム c 2 分子, 及び NADH 30分子が含まれている。

呼吸鎖における以上3コの complex (I, III, IV) は単に呼吸鎖の断片を表しているのではなく, 電子伝達とエネルギー保存の共役の一つの単位を表している。すなわち, 1対の電子がこれらの三つの complex のいずれか一つを流れると1コの ATP が作られるのである。

このような complex 内における電子の流れについては,

- ① 各成分の酸化還元電位の測定から熱力学的に可能な順序の設定
- ② *In vitro* での再構成
- ③ 高感度分光分析機による各成分の瞬間的酸化還元状態の測定

等によって現在一応下図のような経路が推定されている。



このようなミトコンドリアにおける電子伝達系の研究には色々な種類の阻害剤が利用されている。阻害剤は種類によりその結合点が異なるので電子伝達系の解析には極めて有効である。図5.3にその

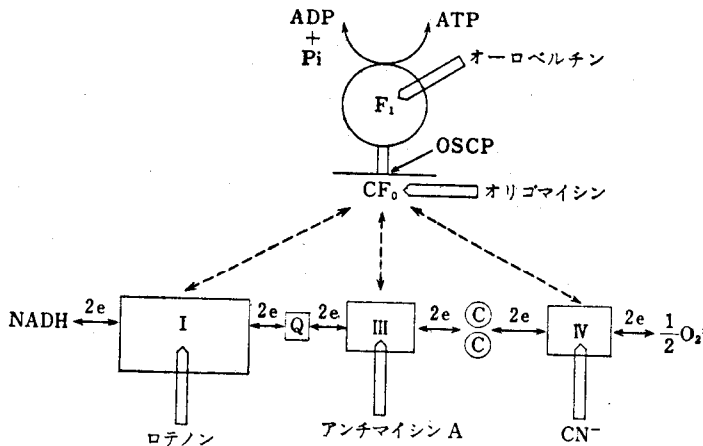


図 5.3 阻害剤の結合部位 (E. C. Slater による)

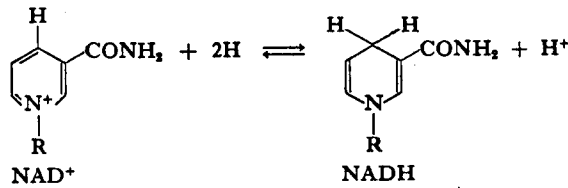
名称と結合部位を示す。

最近の研究によれば、酸化的リン酸化系に含まれる各高分子タンパクのこれらリガンドとの結合には、特異的な強固な結合部位が関与していることが明らかになり、ロテノン<sup>1</sup>は NADH-Co Q reductase に、アンチマイシン<sup>2</sup>は Co Q H<sub>2</sub>-cytochrome c reductase に、そしてシアン<sup>3</sup>は cytochrome oxidase にそれぞれ結合することが示された。

## 5.4 呼吸鎖の各成分

### 5.4.1 ピリジン酵素

補酵素として NAD<sup>+</sup> あるいは NADP<sup>+</sup> を要求するものをピリジン酵素という。その反応は次のように行われる。



NAD<sup>+</sup> が還元されて NADH になると 4 位に立体化学的に異なる 2 コの水素が出来ることになる。それらはそれぞれ R 及び S の配位を持っている。還元によって新たに付加される H 原子が R 配位であるか S 配位であるかは、還元酵素によって一定に定まっている。すなわち、アルコール脱水素酵素は R 位に H 原子が移され、pyridine nucleotide transhydrogenase,  $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase では S<sub>2</sub> 位に H 原子が移される。

NADH と NAD の吸収スペクトルは図 5.4 に示されているが、図から明らかのように NADH は 340 nm に一つの吸収のピークを示すが NAD<sup>+</sup> にはそれがない。それでこの波長での吸光度の変化を求めることにより NADH の増減を知ることができる。この方法は広く NAD<sup>+</sup> や NADP<sup>+</sup> の

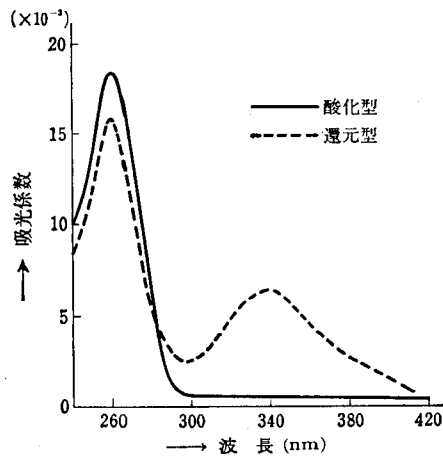
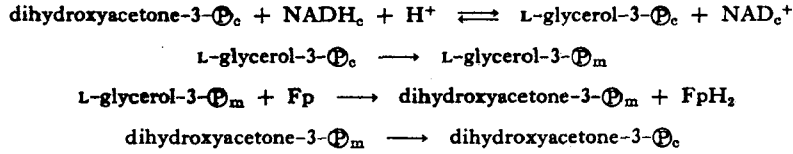


図 5.4 酸化型、還元型 NAD(P) の吸収曲線



関与する酸化還元反応の測定に応用されている。

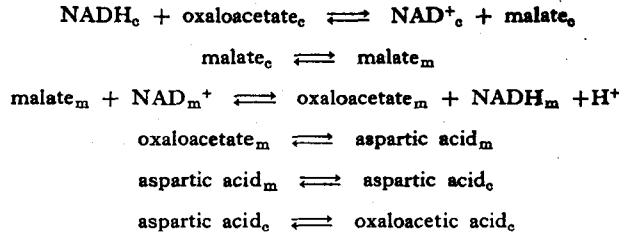
$\text{NAD}^+$  はミトコンドリアのみならず細胞質にも存在する。しかしこの細胞質の  $\text{NADH}$  はミトコンドリアの膜を通過することはできない。それにもかかわらず細胞質中に生じた  $\text{NADH}$  はミトコンドリアにより間接的に酸化され  $\text{NAD}^+$  が再生する。これは shuttle と呼ぶ特別な機構に基づいている。それは次のように行われる。すなわち、グリセロールリン酸 shuttle は下のように行われる。



ただし  $c$  は細胞質内を表し、 $m$  はミトコンドリア内を表す

結局、細胞質の  $\text{NADH}$  はミトコンドリアの伝子伝達系の flavoprotein (Fp) を還元したことになる。後者は電子伝達系で更に酸化される。このときは  $1 \text{ mol}$  の  $\text{NADH}$  の酸化により  $2 \text{ mol}$  の  $\text{ATP}$  が作られない。この反応は細胞質の  $\text{NADH}$  の酸化に利用されるが、逆向きの反応には利用されない 1 方向性の反応である。

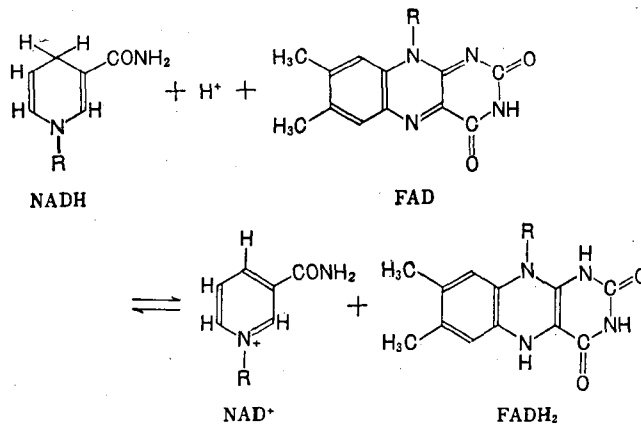
Malate shuttle は次のように行われる。



この反応は可逆的であって左右いずれの方向にも進み得る。

#### 5.4.2 フラビン酵素

これらの酵素は FMN, あるいは FAD を補酵素としている。呼吸鎖の中には  $\text{NADH}$  脱水素酵素, コハク酸脱水素酵素が含まれる。



フラビン酵素の反応は前頁に示したように行われる。

コハク酸脱水素酵素の場合は酵素に強固に結合しているフラビン補酵素 (FAD) が直接還元される。

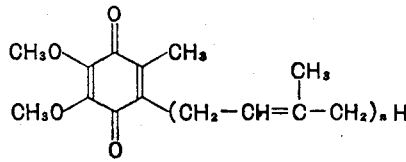
#### 5.4.3 非ヘム鉄タンパク質

前述のようにこの種のタンパク質は complex I, II, III に含まれており、その分子量は 6,000~1,2000 である。1 分子あたり 2~8 コの鉄原子が含まれており、それが電子伝達系において電子の授受を行っていることは間違いないが、どの鉄が関与しているかはまだよくわからない。

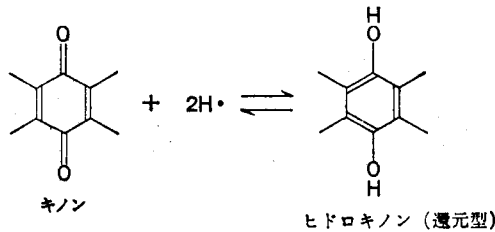
#### 5.4.4 ユビキノン

フラビン、ヘム、非ヘム鉄及び銅はいずれもタンパク質 (アポ酵素) と結合し (シトクロム c は例外)、それぞれ complex 内に局在しているのに反し、NAD 及びユビキノン (CoQ ともいう) はいずれも特定のタンパク質と結合せず complex 間を往き来して電子の運搬を行っている (これを shuttle しているという)。

ユビキノンの構造は次の通りである。側鎖の長さは色々な細胞のミトコンドリアで異なる。動物組織のキノンは  $n$  が 10 のものでユビキノン<sub>10</sub> (UQ<sub>10</sub>) という。これをミトコンドリアから抽出してしまうと、基質から酸素に至る電子伝達が阻害されるが、添加してやれば回復する。



この物質は容易に酸化され complex I と III 及び complex II と III の間を結ぶ電子伝達体として作用すると考えられている。



#### 5.4.5 シトクロム類

電子伝達系において、フラビン補酵素と酸素との間をつなぐのはシトクロム類である。還元型フラビン補酵素の電子は前述のように非ヘム鉄、UQ<sub>10</sub> を介してシトクロム b, c<sub>1</sub>, c, a, a<sub>3</sub> を経て最後に O<sub>2</sub> に渡される。

シトクロムはヘム鉄を含み、その原子価が 2 価と 3 価とに変動することによって電子を伝達する。したがって 1 分子のシトクロムは 1 コの電子しか授受できないので、1 分子で 2 コの電子を与える還

元型フラビン補酵素1分子の再酸化には2分子のシトクロムが必要である。

シトクロムの還元型(2価)と酸化型(3価)とでは吸収スペクトルが異なる。それらを図5.5に示す。

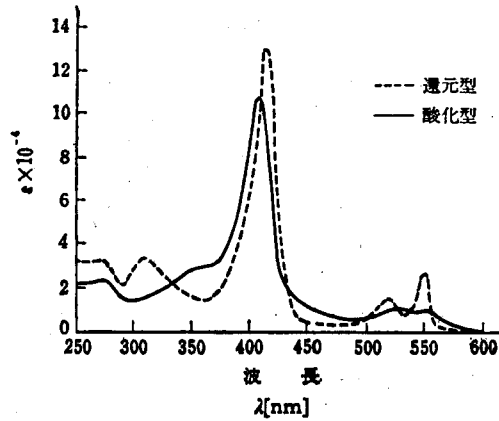


図 5.5 酸化型と還元型のシトクロムの吸収スペクトル  
[D. Keilin, E. C. Slater, *Brit. Med. Bull.* 9, 89 (1953).  
The British Council, London より再録 (E. Margoliash のデータ)]

還元型は可視部に鋭い二つの吸収帯をもつことが多く、これを長波長側から  $\alpha$  帯、 $\beta$  帯と呼ぶ。酸化型では可視部に鈍い吸収帯が一つあるだけである。両者とも近紫外部には著しく大きな吸収があって、これを  $\gamma$  帯又は Soret band と呼ぶ。シトクロムの分類は歴史的には還元型の  $\alpha$  帯の位置によって行われて来たが、これは同時にヘムの種類(ポルフィリンの化学構造)の違いによることが明らかになってきたので、現在では後者が分類の規準になっている。このヘムの種類の検定にはアルカリ性でビリジンを加えたときのヘモクロモゲンの吸収によるのが便利である。

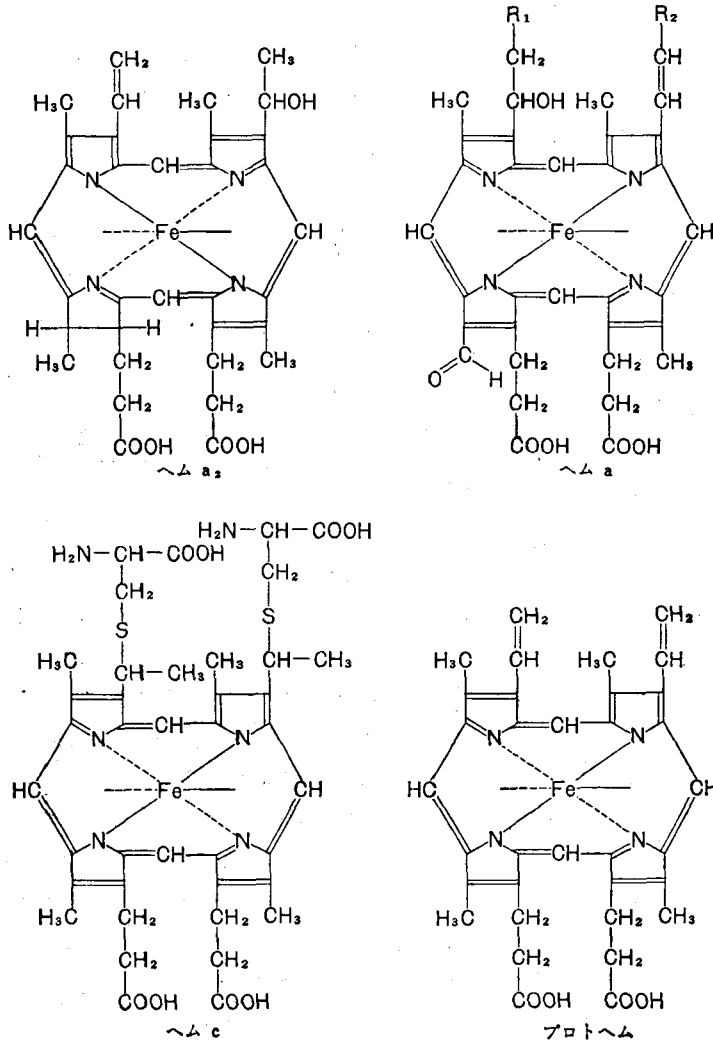
多数のシトクロム c について全アミノ酸配列が決定され、そのうち幾つかは第3構造まで明らかにされている。色々な動物の心臓筋肉からのシトクロム c は 104 コのアミノ酸からなる 1 本鎖で、N 末端のアミノ酸残基はすべてアセチル化されている。ヘムとタンパク質との結合は 2 コのシステインを通しての共有結合である。ヘム鉄は周囲のヘム窒素と共有結合している他、第 5、第 6 配座を通してヒスチジン-18 のイミダゾール窒素、メチオニン-80 の S と結合している。したがって還元型シトクロム c は  $O_2$  や  $CO$  と反応しないし、酸化型シトクロム c は  $CN^-$ 、 $S^{2-}$  や  $N_3^-$  と反応しない。

表 5.3 シトクロムの分類の基準

群	還元型 $\alpha$ 帯の位置 (nm)	ヘムの種類*	ビリジンヘモクロモゲンの $\alpha$ 帯の位置 (nm)
a	600 付近	ヘム a (緑色ヘム)	585~587
b	560 付近	プロトヘム (赤色ヘム)	557
c	550 付近	ヘム c (ヘマトヘム)	550
d	630 付近	ヘム $a_2$ (緑色ヘム)	613~620

\* ヘムの化学構造は次頁に示す。

シトクロムは HCN, CO, H<sub>2</sub>S などの物質と錯化合物を形成する。それは特有の吸収スペクトルによって確認される。CO が生物に強い毒性を持つのは、CO とシトクロム a<sub>3</sub> (cytochrome oxidase) の Fe<sup>2+</sup> とが結合するためにはかならない。



### 5.5 酸化的リン酸化

呼吸鎖内の二つの電子伝達体の間をプロトン又は電子が移動するとき、両者の酸化還元電位の差を  $\Delta E^\circ$  とすると、その際のある自由エネルギーの変化は、先に述べたように

$$\Delta G' = -nF\Delta E^\circ$$

で示される。ここで  $n$  は移動する電子(又は H<sup>+</sup>)の数を表す。

すべての呼吸基質は 2 原子ずつの脱水素反応を受け、呼吸系内の伝達体のなかにも NAD, フラビ

ンタンパク質, CoQ,  $O_2$  のように2当量の酸化還元を行うものが多いので(シトクロムのように1電子伝達体もあるが),  $2H^+$  又は2電子が呼吸鎖内を1組になって移動するものと仮定すると, 上の式は  $\Delta G' = -46.1 \times \Delta E' \text{ kcal}$  となる. 一方1分子の ATP の加水分解の  $\Delta G'$  は約  $-8 \text{ kcal}$  であるから, この反応と共役し得る電子伝達段階を探すと, 図5.6に示したように,  $NAD \rightarrow Fp$ ,  $Cyt\ b \rightarrow Cyt\ c_1$  間及び  $Cyt\ a \rightarrow O_2$  間となる. したがって, 呼吸鎖リン酸化の共役する部分はこの3カ所であると推定せられる. これらをそれぞれ site I, II 及び III と呼び, それぞれ complex I, III, IV の中に含まれている. しかし, このような推定は必ずしも絶対的なものではない. まず第1に, 呼吸鎖中で作用している状態での各電子伝達体の電位が厳密にはわかっていないし(特に  $Fp$ ,  $CoQ$ ,  $Cyt\ b$ ,  $Cyt\ c_1$  など), 上の計算では便宜的に pH 7.0 における  $E'$  を用いたが実際の活動状態にある系の pH は明らかでない. また電子伝達体の酸化型と還元型が等量ずつ保持されて反応が進行しているわけでもないから  $E'$  をそのまま適用することにも問題がある. 更に ATP の合成の  $\Delta G$  についても pH や,  $ADP$ ,  $P_i$  などが標準状態にあるわけでもないから,  $\Delta G'$  をそのまま適用すべきでないし, 第1この  $\Delta G'$  そのものの値もあまり正確なものではない. したがって上述のような計算からは大体の可能性が推定されるだけである.

呼吸鎖リン酸化において1原子の O が還元されて  $H_2O$  になる際に, 高エネルギーリン酸結合に組込まれる  $P_i$  の量を P:O 比という. コハク酸が基質として使われ  $O_2$  まで呼吸鎖が働いた場合, この P:O 比は実測の結果2であることがわかった. 一方  $\beta$ -ヒドロキシ酪酸が基質として酸化されたときは P:O 比は3となった. この実験事実から site I が  $NAD$ -flavoprotein ( $NADH$  が脱水素酵素)のところであることが裏づけられる.

また Chance は無損傷なミトコンドリア分散液を用いてその中の各伝達体を分光学的に測定解析する手段を考案し, これによってリン酸化の部位を推定している. ミトコンドリア分散物から  $ADP$  を除いて ATP が合成できないようにしておくと, 基質や  $O_2$  が十分にあっても呼吸は著しく抑制される. これは ATP 合成が行えないとその合成が共役している部位の電子伝達が抑制されるからで, このとき  $ADP$  を加えるとこの電子伝達が急に速やかになって呼吸速度が増加する. このように, ある特定の部位(例えば A—B)間で急に電子伝達が速くなると,  $ADP$  添加前の状態に比べて, A はより酸化され, B はより還元されることになる. このように  $ADP$  の添加によって酸化還元状態が添加前と逆転する箇所を  $ADP$  による crossover point といい, ここで ATP 合成が共役していると考えることができる. Chance の測定によると, crossover point は  $Cyt\ c \rightarrow Cyt\ a$  間に見出された. ほかの部位では電子の入ると出るとの影響が重なって, はっきりした逆転箇所がみあたらなかった. しかし  $N_3^-$  (シトクロム a の阻害剤)の少量を入れて  $O_2$  へ逃げる電子を制約して  $ADP$  の影響をみると, 今度は  $Cyt\ b \rightarrow Cyt\ c + Cyt\ c_1$  間に逆転がみられ, 更に  $N_3^-$  の濃度を上げて行くと今度は  $NAD \rightarrow Fp$  間に逆転がみられた. 最初の  $Cyt\ c \rightarrow Cyt\ a$  間は熱力学的な推定の結果と異なっているが, このシトクロム a 付近の反応機構は複雑で実際の電子伝達の経路もはっきりしないので, この不一致もそのためかも知れない.

この酸化的リン酸化反応は芳香核を含みかつイオン化し得る基をもつ一連の薬物 (2,4-dinitrophenol, dicumarol 等)によって, その酸化とリン酸化という二つの反応の結びつきが断ち切られる. この際, 呼吸は正常あるいはややそれを上回る程度に行われるが, それに伴うリン酸化が起らない.

そのためこのような試薬は uncoupling agent と呼ばれる。

一方オリゴマイシンは ATP の合成を阻害する。この際は電子伝達も同時に止まってしまうが、2,4-dinitrophenol を加えると後者は回復する。したがってオリゴマイシンは電子伝達系ではなく energy coupling の機構に働くものと考えられている。

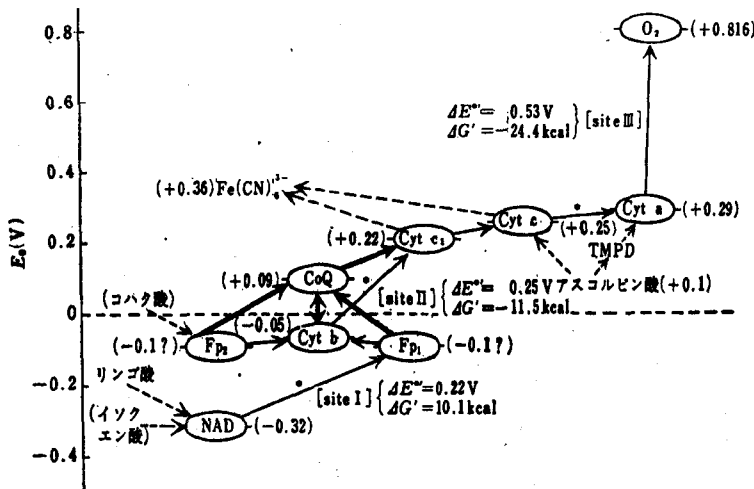
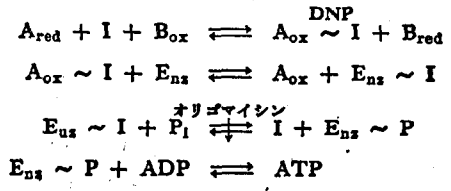


図 5-6 各電子伝達体の pH 7 での標準酸化還元電位 ( $E^\circ$ ) と 2 電子伝達に伴う標準自由エネルギー変化  
点線は実験的に行う人工的経路を示し、\* は Chance の crossoverを示す。

5.5.1 呼吸鎖リン酸化の機構

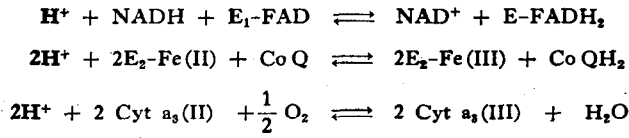
呼吸鎖リン酸化の機構を説明しようとする説は大きく分けると三つ存在する。第1の説は化学的カップリング説と呼ばれるもので、高エネルギー中間体 ( $A_{ox} \sim I$ ) を仮定することによって、基質単位のリン酸化とほぼ同様な機構で説明しようとするものである。すなわち、



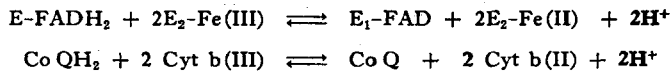
なる一連の反応によって最終的に ADP が ATP にリン酸化されるとするものである。しかし、20年に渡る精力的な研究にもかかわらず I で表されている高エネルギー運搬体が見つかっていない。また酸化的リン酸化はミトコンドリアの膜構造を必要とするものであるのに、この仮説ではそれをうまく説明することができない。

第2の説はいわゆる化学浸透カップリング説といわれるもので Mitchell により提唱されているものである。この説では電子が呼吸鎖を通して流れるのに伴ってミトコンドリアの内部で  $H^+$  が吸い上げられミトコンドリアの外に放出される結果、ミトコンドリアの膜の内外に  $H^+$  の濃度勾配が生

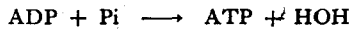
じ、電子の流れによって起る自由エネルギーの低下分はこの濃度勾配として保存されるとしている。したがって、ミトコンドリアの膜は当然  $H^+$  の自由な通過を許さないものと仮定する。ミトコンドリアの膜の内側からの  $H^+$  の吸い上げと膜の外への放出の機構は、ミトコンドリアの膜に存在する電子伝達系の配置が、 $H^+$  を必要とする以下の反応において



必要な  $H^+$  は全てミトコンドリアの内部から取り入れるように、一方  $H^+$  を放出する次の反応において



生成される  $H^+$  はすべて膜の外に放出されるように仕組みられているものと仮定することによって容易に説明することができる。こうして膜内外に生じた  $H^+$  の濃度勾配に基づく自由エネルギーは最終的に ADP のリン酸化に使われて ATP を生産するというわけである。すなわち



なる吸エルゴン反応を進行させるためには生成物である  $H_2O$  を除去することが必要であるが、化学浸透説によれば ADP と  $Pi$  からの  $H_2O$  の除去は  $H^+$  と  $OH^-$  の形で行われ前者はミトコンドリアの内部に入りそこに高まっている  $OH^-$  を中和し、一方後者は膜の外側に出てそこに高まっている  $H^+$  を中和するものと考えられるわけである(図 5.7)。

第3の説は電子伝達に伴って起るミトコンドリアの膜構造の変化に自由エネルギーの保存を関係づけようとするものであって、Boyer らにより提唱されている。香川、Racker らによって分離された coupling factor ( $F_1$ ) はミトコンドリア ATPase とも呼ばれているが、これは別にミトコンドリアか

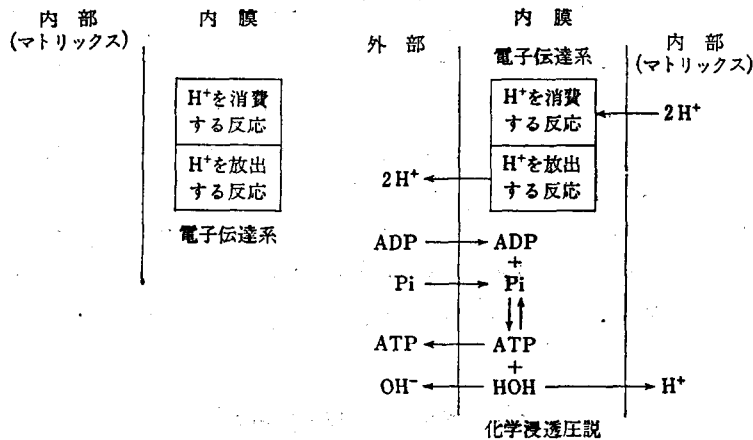


図 5.7

ら分離された膜 ( $CF_0$ ) に oligomycin-sensitivity conferring protein (OSCP) を介して付着している (図5.3). この系は ATP の分解のみならず  $P_i$  の ATP へのとり込み (ATP 合成) も触媒する. いま complex IV を例にとってコンホメーション説を説明すると次のようになる. Complex IV の補欠分子族が還元されるとタンパクのコンホメーションを変化させる. この変化は  $CF_0$  と OSCP との接触を経て ATPase のコンホメーションに変化をもたらす. 酸素への電子移動は酸化型複合体を作り出すが, 新しく誘起された ATPase のコンホメーションの状態下では, 少なくともしばらくの間は還元型複合体のコンホメーションの状態を維持している. この場合 ATPase と complex IV のそれぞれのコンホメーションでの組合せは不安定で, もとのコンホメーションへ戻ろうとしている. この状態では ATPase はエネルギー的に ADP 及び  $P_i$  と反応しうる状態になっている. この反応が終ると ATPase はもとの低エネルギーのコンホメーションに戻る. このサイクルをひと回りする間に 2 電子が流れ, 1 分子の ATP が合成されサイクルが完結する. 同様な変化が complex II, III についても起るものと仮定すると酸化的リン酸化をうまく説明することができる.

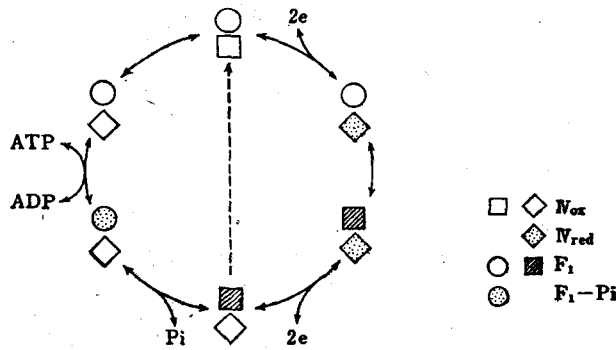


図 5.8 Site III におけるリン酸化(コンホメーション変化による)  
(E. C. Slater による)

### 5.6 ミトコンドリアにおける水酸化

副腎皮質ミトコンドリアにはシトクロム P-450 と呼ばれる一種のヘムタンパク質が含まれていて, それがステロイドの水酸化反応に重要な役割を果たしている. シトクロム P-450 とは NADPH 又はジチオナイト存在下で  $CO^-$  差スペクトル上 450 nm に極大吸収をもつヘムタンパク質である. 副腎皮質ミトコンドリアの  $CO^-$  差スペクトルは図 5.9 のようである.

シトクロム P-450 が関与するステロイドの水酸化反応は, 次頁に示すように行われるものと考えられている(大村ら). したがってこの経路は NADPH の再酸化の重要な 1 経路でもある. Adrenodoxin は木村らにより発見精製された non-heme iron protein である.

### 5.7 ミトコンドリアにおける代謝調節

ミトコンドリアにおける電子伝達及びそれに伴う ATP の産生は, ADP, ATP,  $P_i$  の濃度に依存



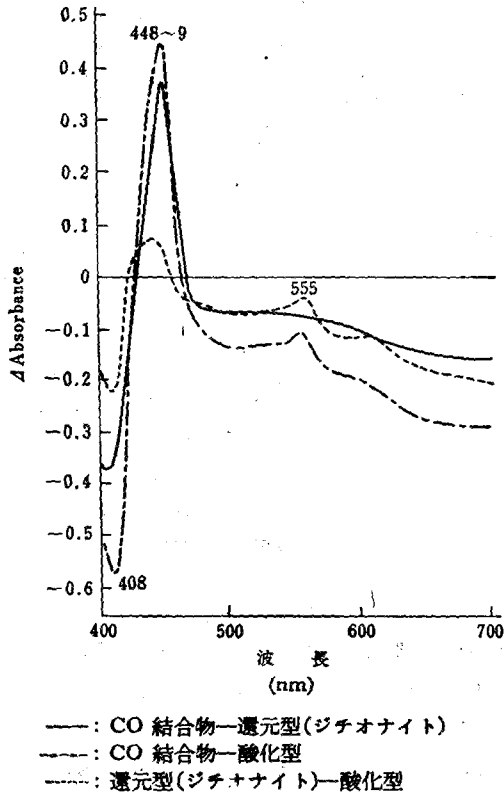
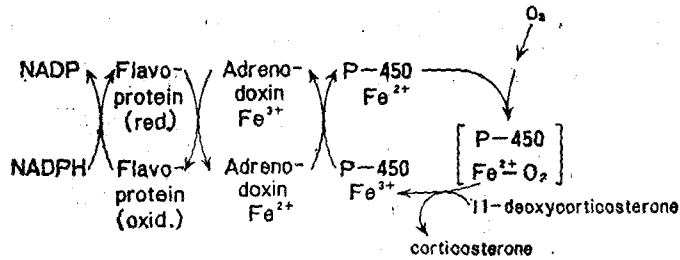


図 5-9 ウシ副腎皮質ミトコンドリアの超音波破砕顆粒の差スペクトル (T. Kinoshita ら)



し、ピルビン酸等呼吸の基質には依らない。呼吸基質が十分にある場合、ATP 濃度が低く、ADP, Pi 濃度が高い時に呼吸は最も盛んである。この逆の場合ミトコンドリアは最高時のたかだか 5~10% の呼吸を行うに過ぎない。これら三つの物質のうちでは ADP が最も重要である。ADP を取り出したミトコンドリアに ADP を加えると呼吸は著しく促進される (state III, active respiration)。これは ADP がリン酸化されてほとんど消失するまで続き、そこで急に再びもとの休止状態 (state IV) にもどる。このように呼吸が ADP に依存することを respiratory control, あるいは acceptor control という。これは生きた細胞の中(筋肉)でも認められている。

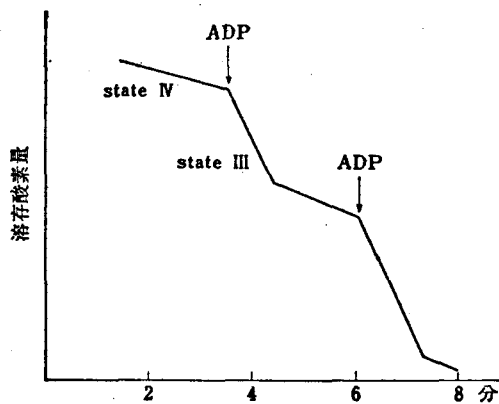


図 5.10

## 5.8 Pasteur effect

解糖が酸素呼吸によって抑制される現象は最初 Pasteur によって100年ほど前に発見された現象で、その名前をとって Pasteur 効果とよばれる。表 5.4 に示すように、この現象は普通好氣的条件下での乳酸形成が嫌氣的条件下におけるよりも少ないことで観察されているが、単に最終生産物の乳酸形成が少ないだけではなく、中間体のトリオースリン酸の形成やグルコースの消費も抑制されている。なお Pasteur 効果の逆と考えても良いような現象を Crabtree 効果といい、解糖作用が呼吸に比して著しく強い細胞(例えば癌細胞のようなもの)に観察される。これは多量のグルコースの添加により呼吸が抑制される現象である。

嫌氣的解糖では、遊離するエネルギーは少なく、グルコース 1 分子当たり ATP 生成量は 2 分子であるが、一方解糖系と TCA 回路による完全酸化では著しく大きなエネルギーが遊離して ATP の生

表 5.4 各組織の呼吸と好氣ならびに嫌氣的解糖

		呼吸 ( $Q_{O_2}$ )	好氣的解糖 ( $Q_{AO_2}$ )	嫌氣的解糖 ( $Q_{AN_2}$ )
正 常 組 織	ラット 筋肉	21	0	3
	ラット 肝臓	12	0.6	3
	ラット 脾臓	12	2	8
	ラット 胸腺	6	0.6	8
	ラット 脳	11	2.5	19
	ラット 網膜	31	45	88
	ラット 胎盤	7	10	14
癌 組 織	Jensen 肉腫 (ラット)	9	17	34
	自然発生病 (マウス)	11	9	16
	ラウス肉腫 (ニワトリ)	5	20	30

$Q_{O_2}$ : 乾燥重量 1 mg 当り 1 時間当りの酸素消費量 ( $\mu l$ )

$Q_{AO_2}$ : 好氣的に乾燥重量 1 mg 当り 1 時間に生成した乳酸に相当する  $CO_2$  発生量 ( $\mu l$ )

$Q_{AN_2}$ : 同上嫌氣的。

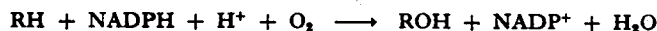
成量も 32~38 分子である。細胞での生活に必要なエネルギー要求、すなわち ATP 要求は特殊な場合を除いて比較的一定であるから、ATP 生成量の多い酸素呼吸がある場合には、解糖が著しく抑制されても細胞内のエネルギー要求を満たしうるはずである。この意味で Pasteur 効果はエネルギー源物質(グルコースやグリコーゲン)の無駄な消費を防ぐには極めて好都合な代謝調節作用であるといえる。

乳酸の生成は NADH によるピルビン酸の還元によって行われるが、好氣的条件下では NADH は shuttle system を介してミトコンドリアの電子伝達系で酸化され、しかもその NADH に対する親和性は乳酸脱水素酵素のそれよりはるかに高いので、グルコースより生じたピルビン酸はアセチル-CoA に直接酸化されてしまい、その結果エネルギー充足率(4章 81 頁参照)が速やかに 1.0 に近づくことが Pasteur 効果の原因と考えられている(エネルギー充足率が 1.0 に近づけば解糖系のホスホフルクトキナーゼが阻害され解糖は抑制される)。

癌細胞においては酸素呼吸が行われている条件下でも乳酸が蓄積する。すなわち Pasteur 効果が認められない。その原因は癌細胞では細胞質の中にグリセロリン酸脱水素酵素が欠如して先に述べた NADH のグリセロリン酸 shuttle が起らないので NADH はミトコンドリアの呼吸鎖で酸化できないため乳酸脱水素酵素が代りに使われる。そのため好氣的条件下でも乳酸の生成が起るのである。

### 5.9 ミクロソームにおける電子伝達

ミクロソームに見出される酸化反応のうち最も多いのは分子状酸素による水酸化反応である。



ミクロソームにおける電子伝達はこれに伴って行われるが、それは次に示すように副腎皮質ミトコ

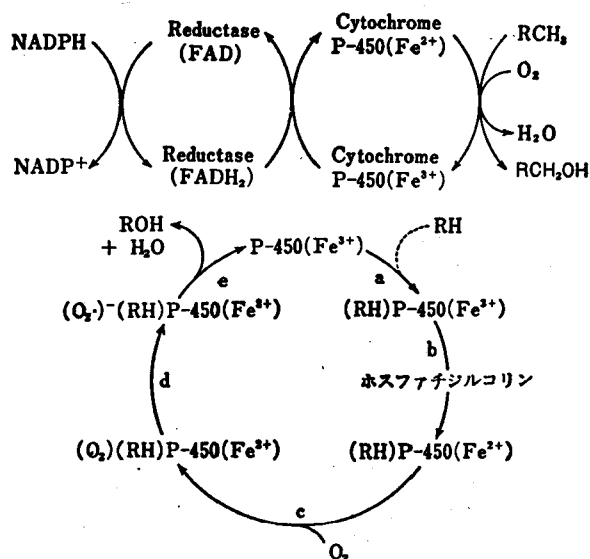


図 5.11. ミクロソームのシトクロム P-450 による水酸化の反応機構

ンドリアにおける電子伝達とよく似ている。

肝臓ミクロソームにおけるこのような水酸化は、薬物の解毒、ステロイドの代謝、その他に関与する。ある種の薬物 (phenobarbital, 20-methylcholanthrene) を投与すると NADPH specific reductase 及びシトクロム P-450 の生成が増大する。

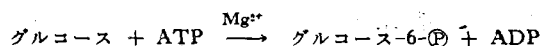
最近このような水酸化反応には酸素の superoxide anion ( $O_2^{\cdot-}$ ) が関与することが示され、前頁に示したような反応機構が提案されている (図 5・11)。

## 第6章 エネルギーを要求する反応

### 6.1 糖質の合成

天然に知られている多糖類は、デンプン、セルロース、レバン、キチン、コロミン酸、グリコーゲン及びムコ多糖類と数多いが、哺乳動物の体内で作られるのはグリコーゲンとムコ多糖類だけである。このうちグリコーゲンはエネルギー貯蔵の役目をするもので、糖質、タンパク質を過剰に摂取したとき肝臓、筋肉及びその他の組織で作られる。しかしその合成は肝臓と筋肉で最も盛んである。ヒトの場合、肝臓では糖質を多く含んだ食事のあとでは、グリコーゲン量が肝重量の5%くらいに達することもあるが、食事後12~18時間経つと消失する。

グルコースのグリコーゲンへの合成に当っては、まず最初にグルコースのリン酸化が行われねばならない。これは解糖系に属する glucokinase (71頁参照) によって触媒される。

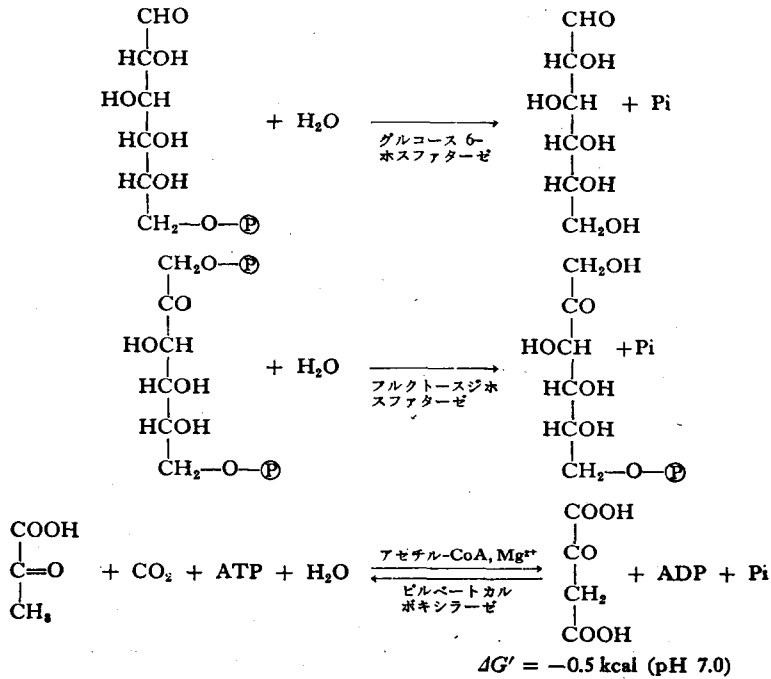


この酵素はグルコース-6- $\textcircled{\text{P}}$  で阻害されないこと、その  $K_m$  値が  $10^{-2}$  M で hexokinase のそれ ( $10^{-3}$  M) よりはるかに高いこと、ホルモン処理等で肝臓の糖質含量を下げるとこの酵素の肝臓含有量が減ること、グルコース過多が一般には見られない胎児の肝臓ではこの酵素が見出されないこと等の点から、この酵素は解糖系に属する hexokinase とは異なり、グリコーゲン合成 (glycogenesis) に関与しているものと考えられている。

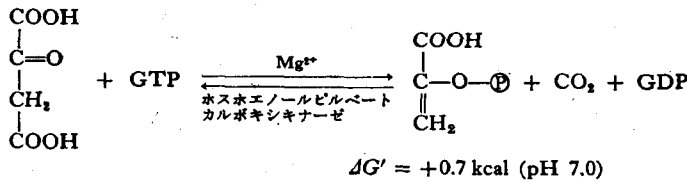
この酵素の基質となるグルコースは食餌に含まれる糖質から供給される他、またアミノ酸、乳酸、ピルビン酸等から解糖の逆行によって作られる。これを gluconeogenesis という。しかし、解糖系の逆行は必ずしもストレートには進行しない。なぜなら、解糖系に含まれるヘキソキナーゼ、ホスホフルクトキナーゼ、ピルベートキナーゼはいずれも高エネルギーリン酸化合物の水解を伴う反応であるため一般には逆反応を触媒しないからである。

そこでこれらの反応の逆行はこれらと等価な反応によって置き換えられて行われる。すなわち、ヘキソキナーゼの逆行はグルコース 6-ホスファターゼにより、ホスホフルクトキナーゼの逆行はフルクトースジホスファターゼにより、そしてピルベートキナーゼの逆行はピルベートカルボキシラーゼとホスホエノールピルベートカルボキシキナーゼにより行われる。

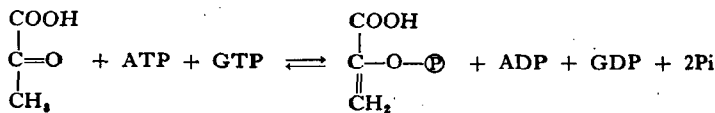
最後の反応はミトコンドリアで行われる。この酵素はピオチンを含み、その活性にはアロステリック正エフェクターとしてアセチル-CoA が関与する。脂肪酸の酸化が盛んでアセチル-CoA が十分に存在するときこの反応が進行し、解糖の逆行が起る。ニワトリ肝臓から分離された本酵素の分子量は 660,000 で分子量 150,000 のサブユニット4コからなり、各サブユニットは1コのピオチンを含む。



この反応によって生じたオキサロ酢酸は次にホスホエノールピルベートカルボキシキナーゼによりホスホエノールピルビン酸に変えられる。



この二つの反応を組合せると結局



となりピルベートキナーゼが逆行したと同じことになる。この式から見ても明らかなようにピルベートキナーゼ反応 ( $\Delta G' = -6,100 \text{ cal}$ ) の逆行は単なる逆行 ( $\Delta G' = +6,100 \text{ cal}$  の吸エルゴン反応) ではなく2モルの高エネルギーリン酸化合物の消費を伴う発エルゴン反応である。

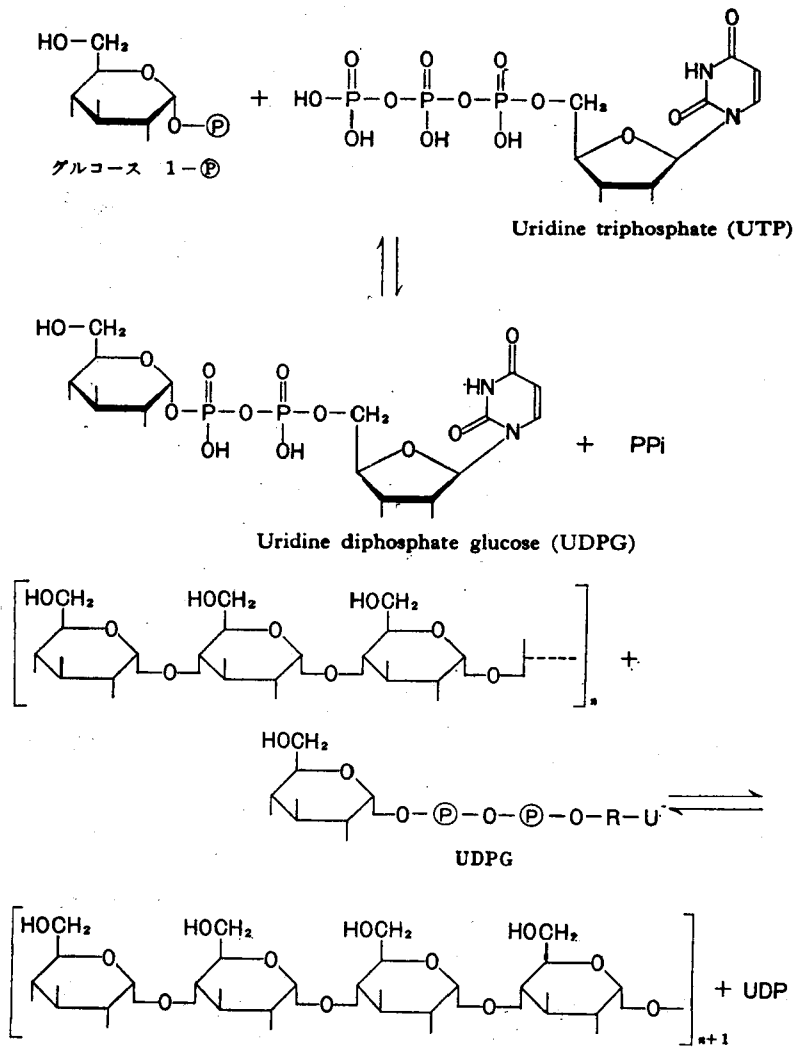
ホスホエノールピルベートカルボキシキナーゼがミトコンドリアに含まれている時は上のように反応は進行し、生じたホスホエノールピルビン酸が細胞質に出てゆく。しかし、この酵素が細胞質に含まれているときは、ピルベートカルボキシラーゼで生じたオキサロ酢酸はミトコンドリアの膜を通り得ないから malate shuttle (第5章, 129頁参照) を通して外に出てゆくことになる。

かくて、2モルの乳酸が以上の糖新生系によって1モルのグルコースに変換されるとすると結局6

セルの ATP を消費することになる。これは一見エネルギー的には無駄なことと思われるかも知れないが、生体がエネルギー供給の関係からこのような“エネルギーの貯蔵”を行うことは必要なことと思われる。

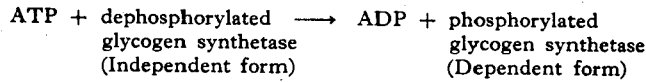
生じたグルコース 6-リン酸は更に酵素ホスホグルコムターゼの作用によりグルコース 1-リン酸にかえられる。この反応は可逆的であり、グリコーゲンの分解によって生じたグルコース 1-リン酸をグルコース 6-リン酸に転換する働きをもっている。グルコース 1-リン酸は uridine triphosphate (UTP) と反応し、uridine diphosphate glucose (UDPG) を生じる。この反応は uridine diphosphate pyrophosphorylase によって触媒される。

ここに生じたピロリン酸は UTP 由来のリン酸である。この UDPG がグリコーゲン合成に際しての原料となる。すなわち、UDPG は uridine diphosphate glucose-glycogen glucosyl transferase (グリコーゲン合成酵素)によって多糖類に組込まれる。



この反応のグルコース 1 mol 当りの  $\Delta G'$  は  $-3,000 \text{ cal}$  で平衡は大きくグリコーゲン合成側に傾いている。この酵素は UDPG のみではグリコーゲンを作ることはできない。受容体としてポリグルコース鎖が存在する必要がある。受容体としてはグリコーゲン、アミロース、アミロペクチン、あるいはマルトテトロース以上のオリゴサッカライドがなり得る。この酵素はポリグルコース鎖の非還元末端に UDPG のグルコース部分を  $\alpha$ -1,4-結合によって付加する。

グリコーゲン合成酵素にはグルコース 6-リン酸の添加によりアロステリックに活性化され安定化されるもの(従属型)と、それほど影響を受けないもの(独立型)の2種がある。従属型(D型)はリン酸化された酵素で、独立型(I型)は脱リン酸化された酵素である。Phosphorylase のときと同じように独立型の従属型への変換を触媒する酵素は cyclic AMP 依存の protein kinase である(この酵素は dephosphophosphorylase には働かないが, dephosphophosphorylase kinase をリン酸化することができる)。



また逆に D 型の酵素は glycogen synthetase phosphatase により脱リン酸化されて I 型になる。この酵素は phosphorylase phosphatase とは異なる。この酵素はグリコーゲン自身によって阻害を受ける。

アドレナリンは adenylyl cyclase による cyclic AMP の合成を刺激する。その結果前に述べたようにホスホリラーゼが活性化されるが、この際同時にグリコーゲン合成酵素の I 型から D 型への変換も高まる。D 型のグリコーゲン合成酵素はグルコース 6-リン酸濃度の低い条件下では活性が低いので、アドレナリンの全体としての影響はグリコーゲンの分解を促進し、グリコーゲンの合成を抑えることになる。

グリコーゲン合成酵素は  $\alpha$ -1,4-結合のみを作り出す。したがって  $\alpha$ -1,6-結合により枝分かれしている本来のグリコーゲンを作るためには別に branching enzyme (amylase-1,4 $\rightarrow$ 1,6-transglucosidase)

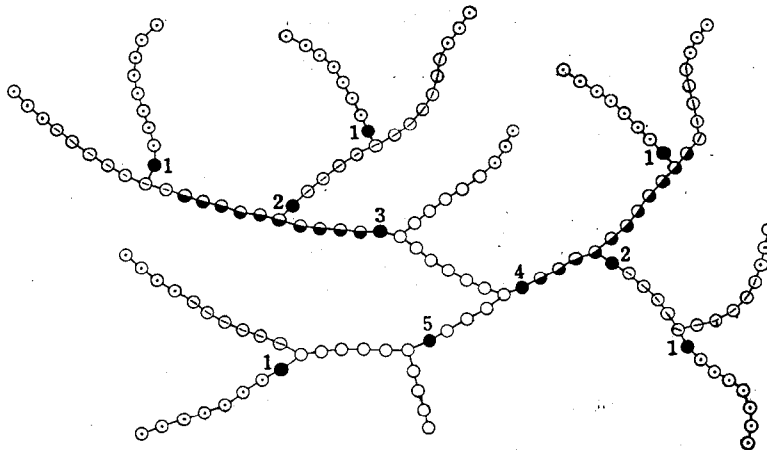


図 6.1 グリコーゲンホスホリラーゼによりそれぞれ最初, 2 回目, そして 3 回目に消化された場合遊離されるグルコース残基



という酵素の関与が必要である。グリコーゲン合成酵素によって、受容体のグルコース鎖がグルコース残基にして更に6~11コ延長されると、本酵素が働いてグルコース6~7コからなるグルコース鎖が隣り合う鎖にα-1,6-結合でつながるように転移される。

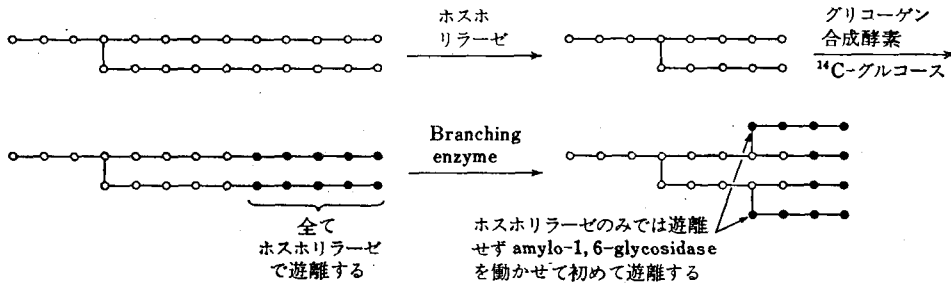
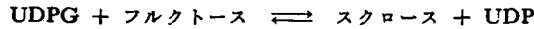
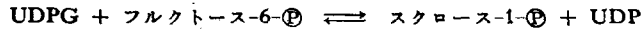


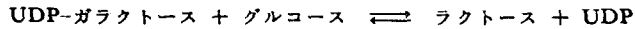
図 6.2 グリコーゲン合成を示す模式図

- ラベルされていないグルコース残基
- 14C-グルコース残基

Leloir によると植物におけるスクロースやスクロース 1-リン酸の合成も UDPG よりのグルコースの転移によって行われることが明らかにされている。

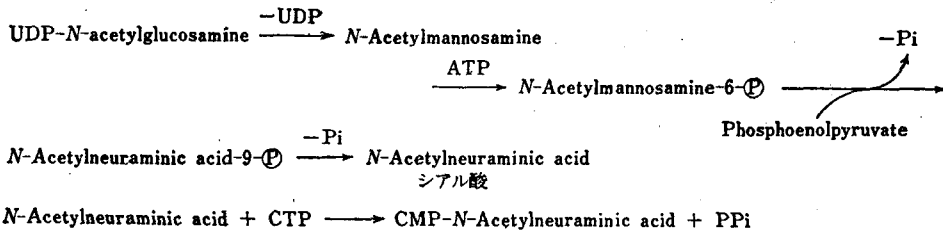


乳膜におけるラクトースの合成もほぼ同様に行われる。

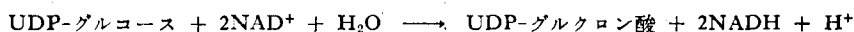


この反応は細胞の Golgi 装置に存在する膜酵素と、α-ラクトアルブミンとの1:1結合物によって触媒される。α-ラクトアルブミンがないときは膜酵素は UDP-ガラクトースのガラクトース部分を N-アセチルグルコサミンに転移して α-D-galactose (1 → 4)-N-acetylglucosamine (lactosamine) を生成するという異なる反応を触媒する。

シアル酸の生合成にも同じようにヌクレオチド糖が関与する。シアル酸と CTP との縮合によって生じた CMP-N-acetylneuraminic acid はシアル酸供与試薬として働く。



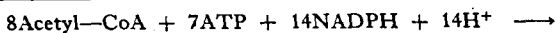
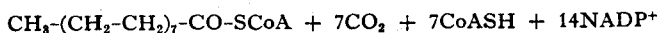
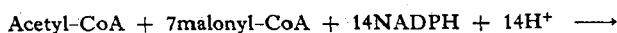
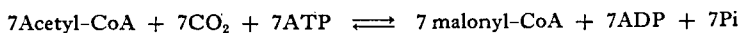
UDPG は酸化されると UDP-グルクロン酸になるが、これはムコ多糖類の合成や、解毒(グルクロン酸抱合)におけるグルクロン酸供与試薬として働く。



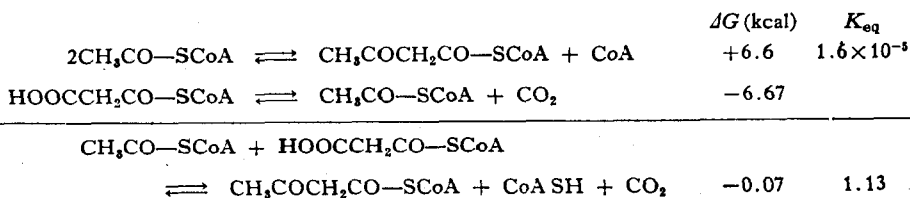
## 6.2 脂肪酸の合成

Brady と Gurin は肝ホモジネートを用いると酢酸から脂肪酸が合成されることを観察したが、Stanley 及び Beinert は精製した  $\beta$ -酸化系と酢酸をインキュベートしても高級脂肪酸の生成は起らないことを観察し、脂肪酸は  $\beta$ -酸化の逆反応で作られるものではないことを明らかにした。1959年になって Wakil は重炭酸塩があると肝臓抽出液でアセチル-CoA から脂肪酸の合成が起ることを観察し、先ずアセチル-CoA からマロニル-CoA が生成し、それが縮合して長鎖脂肪酸になることを明らかにした。

パルミチン酸の合成はアセチル-CoA から次に示すように2段階の反応を経て行われる。

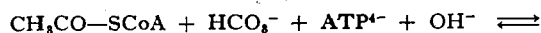


このように脂肪酸の合成が  $\beta$ -酸化の逆反応ではなく、マロニル-CoA を通して行われることの意義は熱力学的立場から容易に理解することができる。すなわち、次に示すように  $\beta$ -ケト酸の合成にアセチル-CoA の代りにマロニル-CoA を用いると、縮合に伴う脱炭酸によって、チオラーゼの反応平衡が  $\beta$ -ケト酸の生成に都合のいい方向に移動する。



すなわち、アセチル-CoA 2分子が縮合してアセトアセチル-CoA が出来る反応の平衡は著しく分解の方に片寄っている。計算によると1003分子のアセチル-CoA から出発すると、アセトアセチル-CoA は3分子(0.3%)しか出来ない。合成の経路としてはまことに好ましくない平衡である。マロニル-CoA が縮合単位であれば、縮合の起るたびに脱炭酸が起るので好都合である。CO<sub>2</sub> は気体として出ていくから反応は合成方向に進む。

マロニル-CoA の合成は細胞質に存在するアセチル-CoA カルボキシラーゼによって行われる。

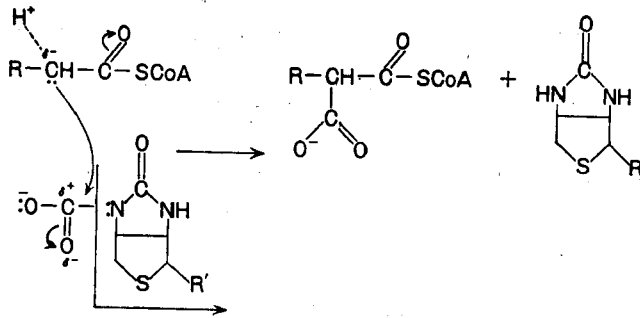
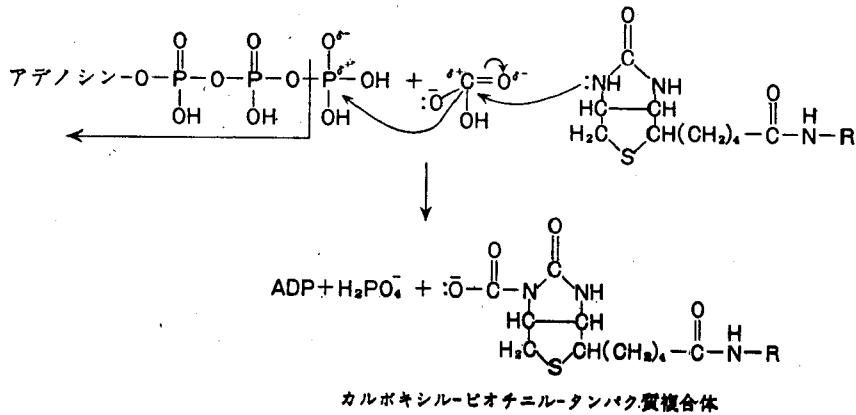


この酵素はアピジンにより極めて敏感に阻害される。これはこの酵素がビオチンを含むことを示唆

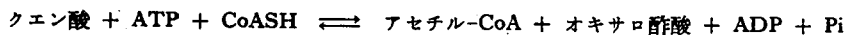
F-102-71

B8

するものであるが、このことはその後確かめられ、現在次のような反応機構が考えられている。

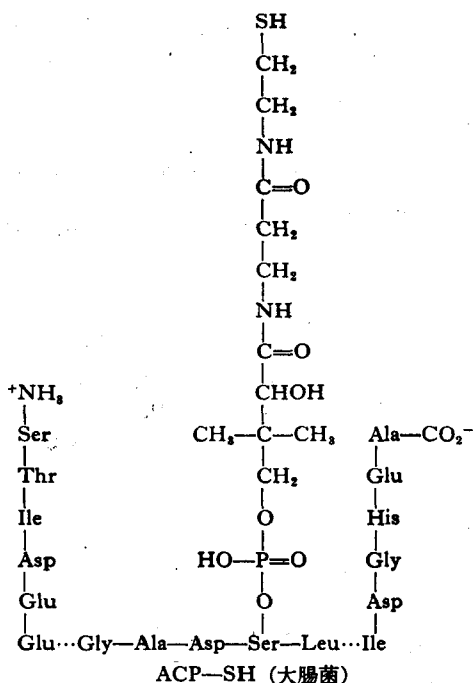


上の反応の基質であるアセチル-CoA はミトコンドリアにおけるピルビン酸の酸化によって作られるが、アセチル-CoA はミトコンドリアを自由には通過し得ない。したがってミトコンドリアで生成したアセチル-CoA はオキサロ酢酸と縮合してクエン酸になった後ミトコンドリア外に出てゆき、そこでクエン酸開裂酵素の作用を受けて再びアセチル-CoA にもどる。

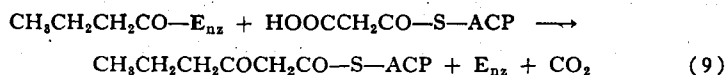
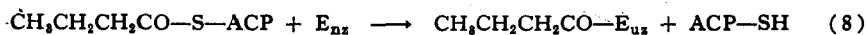
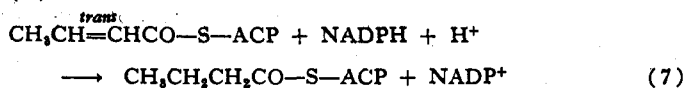
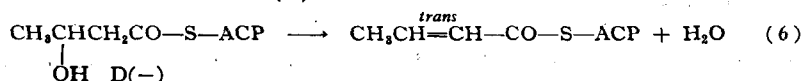
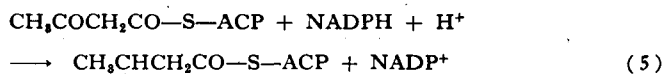
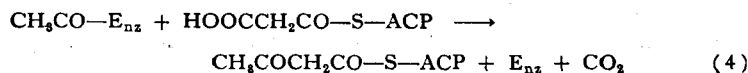
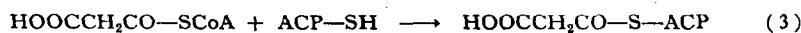
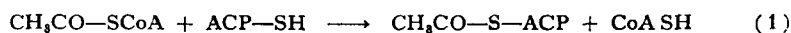


ラット肝臓のクエン酸開裂酵素の活性は飢餓やアロキサン糖尿病のように脂肪酸合成が低下している時には低く、逆に飢餓状態から再び食餌を投与されるなど肝臓の脂肪酸合成が盛んになっているときには増加している。このことからこの酵素はクエン酸の脂肪酸への合成を調節しているものと考えられている。

脂肪酸合成に当っては以上の他に更に一つタンパク性の因子が必要であることがその後明らかにされた。この物質は acyl carrier protein (ACP) といわれるもので、アシル基の運搬を行う。植物やバクテリアに見出されたものは耐熱性で分子量 77,000 で、1分子に1コの SH をもつ。この -SH はセリンに結合した 4'-ホスホパンテテインのもので、これにアシル基が結合する。バクテリアの酵素は精製するとアシル-ACP にしか作用しなくなる。すなわちアシル-CoA は利用されなくなる。



細菌においては脂肪酸合成は次のような個々のステップから成り立っている。



このようにして  $\text{C}_2$  単位ずつ伸長してゆき、パルミチル-ACP に至ると脱アシル化を受けてパルミチン酸が遊離する。(2)式で示されている  $\text{E}_{nz}$  は  $\beta$ -ケトアシル-ACP シンターゼを示すが、この酵

素は SH 酵素で SH 試薬によって阻害される。しかしアセチル-ACP を先に加えてインキュベートした後では阻害を受けない。一方マロニル-CoA にはそのような作用が認められないことから、上のような反応機構が考えられた。

酵母及び動物においては細菌におけるように個々の酵素はばらばらには分離できない。それらは全体として一つの機能を持つ複合酵素系の中に組み込まれている。すなわち、これらは七つの酵素からなる酵素複合体である。この複合体での脂肪酸合成は図 6.3 に示したような経路に従って行われ、途中で中間体が遊離されることはない。

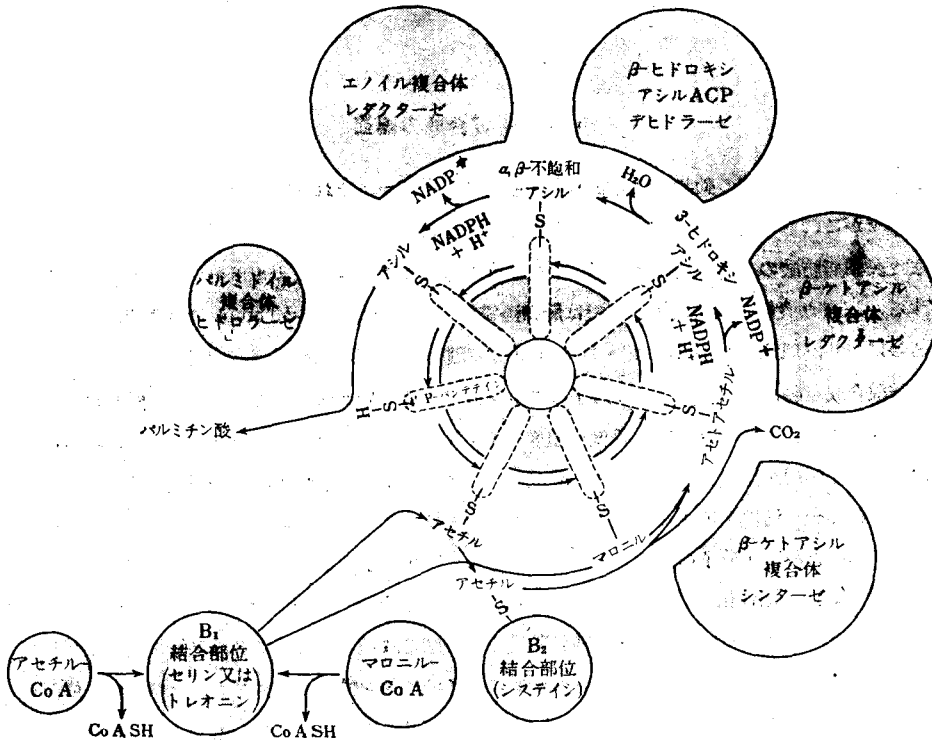


図 6.3 哺乳動物の II 型脂肪酸合成系 (Porter による)。アセチル-CoA とマロニル-CoA が中心の ACP 様タンパクの結合部位に C<sub>2</sub> と C<sub>3</sub> を与えると、あとはこの複合体型基質が周りの作用を受けて合成が進む

脂肪酸合成の道が β-酸化の逆反応の道とは異なることは、enoyl-CoA hydratase の基質となるのは β-酸化の際は L(+)-β-hydroxyacyl-CoA であるのに対し、合成系で β-ketoacyl-ACP reductase 及び β-hydroxyacyl-ACP dehydrase の基質になるのは D(-)-β-hydroxyacyl-ACP であること、アシル-CoA デヒドロゲナーゼは補酵素として FAD を要求するが、エノイル複合体レダクターゼは NADPH を要求すること、β-ヒドロキシアシル-CoA デヒドロゲナーゼは補酵素として NAD<sup>+</sup> を要求するが β-ケトアシル複合体レダクターゼは NADP を要求すること、アシル基のキャリアーが β-酸化系では CoA であるのに合成系では ACP である点、β-酸化系はミトコンドリアで行われるのに合成系は細胞質で行われること等から明らかである。

動物では脂肪酸合成酵素によって作られるのはパルミチン酸 (80%) 及びステアリン酸 (20%) まで

で、それ以上長鎖の酸の合成はミトコンドリアやミクロソームの elongation system で行われる。炭素鎖の伸長はミトコンドリアではアセチル-CoA, ミクロソームではマロニル-CoA から  $C_2$  単位が与えられる。ミトコンドリアでは NADPH 依存の enoyl reductase が決定的役割を果たすが、これ以外の酵素はミトコンドリアの脂肪酸酸化系と同様な酵素が関与するものと考えられている。

ミクロソームにおいても炭素鎖の伸長は NADPH の関与する二つの還元反応を除きミトコンドリアと同様  $\beta$ -酸化の逆に沿って行われる。炭素鎖の伸長は単にパルミチン酸のみでなくミリスチン酸以上の不飽和脂肪酸にも起る。

### 6.3 脂質合成の調節

飢餓状態又は糖尿病の動物では脂肪酸合成能が低下するが、それは組織のアセチル-CoA カルボキシラーゼがこれらの動物で低下しているためと考えられている。

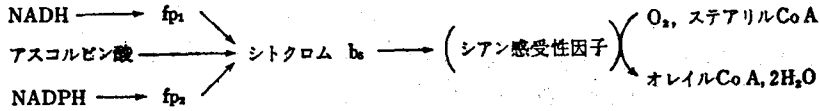
また長鎖脂肪酸の CoA 誘導体は  $10^{-11}$  M 程度でもアセチル-CoA カルボキシラーゼを拮抗的に阻害する。正常な食餌を与えたネズミでは肝臓湿重量 1g あたり 30~60 nmol の長鎖脂肪酸誘導体があるのに対し、飢餓のときには 80~180 nmol、高脂肪食では 200 nmol を示すという。

脂肪酸合成を調節するいま一つの因子はクエン酸である。Vagelos によるとクエン酸及びその他の TCA 回路の有機酸は  $5 \times 10^{-3}$  M 程度の濃度でもアセチル-CoA カルボキシラーゼの会合状態に対し非常に大きな作用を持つという。クエン酸がないとこの酵素は分子量 400,000~500,000 のプロトマーとして存在し全く活性を示さない。個々のプロトマーは4コの子ユニットからなり、それぞれ1コのピオチンを含み、1分子のアセチル-CoA ならびにクエン酸を結合し得る。クエン酸あるいはイソクエン酸によって活性化されるとプロトマーは会合して分子量  $5 \times 10^6 \sim 5 \times 10^7$  のフィラメント状の複合体になる。したがってクエン酸が哺乳動物の脂肪酸合成において一つの調節的役割を果たしていることが考えられる。そしてこのクエン酸量はまたイソクエン酸デヒドロゲナーゼの活性に依存している。イソクエン酸デヒドロゲナーゼは ATP 及び AMP によってアロステリックに調節されているので、結局脂肪酸合成は ATP を介しての組織のエネルギー需給に応じて調節されていることになる。

### 6.4 不飽和脂肪酸の合成

動物はステアリン酸からオレイン酸を合成することはできるが、リノール酸、リノレン酸及びアラキドン酸を合成することはできない。もしこれらの脂肪酸を摂取しないであると一定の欠乏症状を示すようになる。すなわち生長が低下し、生殖能力が減退する。したがってこれらの酸は「必要脂肪酸」、又はビタミン F ともいわれる。

オレイン酸の合成は佐藤らによればミクロソームにおいて cytochrome  $b_5$  が関与した次のような系によって行われる。



$\text{fp}_1$ : NADH-シトクロム  $b_5$  還元酵素  
 $\text{fp}_2$ : NADPH-シトクロム  $b_5$  還元酵素

Mead によれば高度不飽和脂肪酸は体内で次のように二重結合の増加や、炭素数の増加を受けて出来る。その相互関係は図 6.4 に示す通りである。

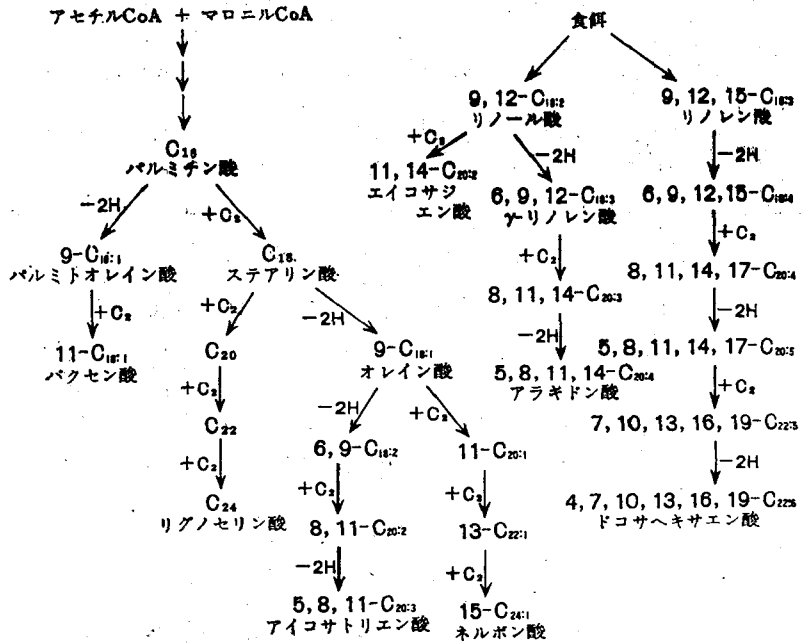


図 6.4 哺乳動物での脂肪酸生成

太字の数字は二重結合の位置を示す。小さい数字は炭素の数及び二重結合の数(：印の右側)を示す

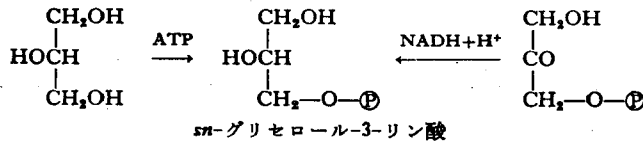
Bergström によるとプロスタグランジンは高度不飽和脂肪酸から作られるという。プロスタグランジンは血管拡張作用があり、また平滑筋を刺激する。そのほか脂肪組織にも影響を及ぼし、ノルアドレナリンによる脂肪組織からの脂肪動員を抑制する。プロスタグランジンは  $E_1, E_2$  等、数種知られている。

6.5 トリアシルグリセロール及びリン脂質の合成

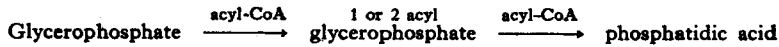
リン脂質は親水性と疎水性の二つの基をもついわゆる amphipathic な性質を持つとともに dipolar ion として存在するユニークな物質で広く生体膜に分布し、イオンの輸送や透過に重要な働きをしている。

リン脂質の合成は Kennedy らによって解析され、次のような合成経路をとることが明らかになった。

反応の最初の段階はグリセリンのリン酸エステル化、あるいはジオキシアセトンリン酸の還元による 3-*sn*-グリセロール-3-リン酸 (glycerophosphate) の合成である。

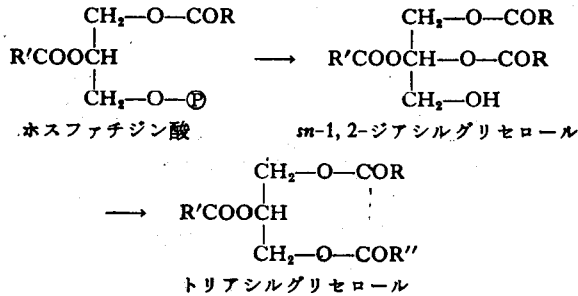


生じた L- $\alpha$ -グリセリン酸は2段階にアシル化を受けて 3-*sn*-phosphatidic acid になる。

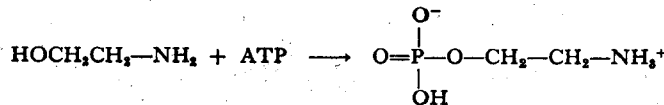


肝臓にはこの他にジヒドロキシアセトンリン酸のアシル化、ケトン基の還元、生じた水酸基へのアシル化という一連の反応によって 3-*sn*-ホスファチジン酸を作る経路が存在する。

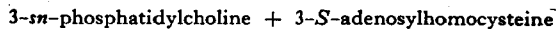
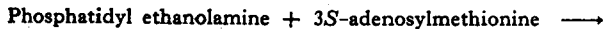
Phosphatidic acid はホスファターゼにより水解されると *sn*-1,2-diacylglycerol になる。後者がアシル化されるとトリアシルグリセロールが生成する。



一方エタノールアミンは ATP とキナーゼによってリン酸化されると phosphoethanolamine になり、ついで CTP と反応して CDP-ethanolamine になる。



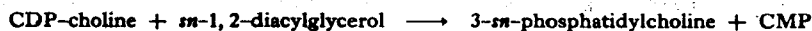
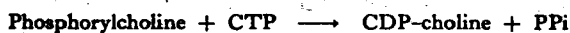
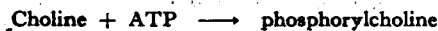
CDP-ethanolamine は diacylglycerol と反応して phosphatidylethanolamine を生成する。これに *S*-adenosylmethionine から3コのメチル基が与えられると 3-*sn*-phosphatidylcholine が生じる。



この反応は肝臓で行われる。哺乳動物では以上のような *de novo* の合成だけでは不十分なので、

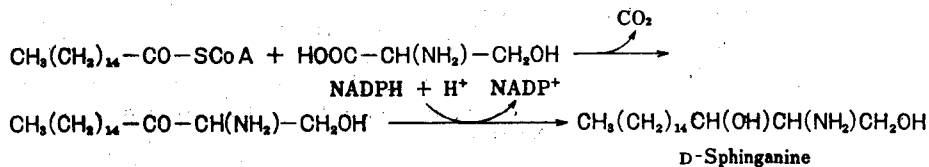


別に食餌に含まれる choline から作られるいわゆる salvage pathway が存在する。

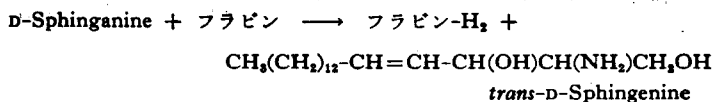


### 6.6 スフィンゴリピドの生合成

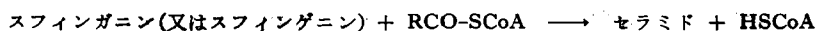
脳にはパルミトイル-CoA とセリンから sphinganine を作る系がある。



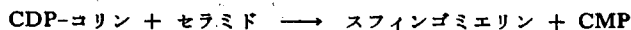
Sphinganine はヘキサデセン酸からこれと同様に作られるか、又はここに生じた sphinganine の脱水素によって作られる。



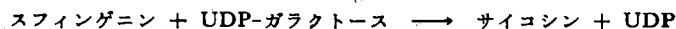
セラミドは脂肪酸のアシル誘導體からアシル基が移されて生成する。



生じたセラミドに CDP-コリンからホスホコリンがコリンリン酸セラミドトランスフェラーゼによって移されるとスフィンゴミエリンが生成する。



スフィンゲニンに UDP-ガラクトースからガラクトースが与えられると psychosine が生じる。



セラブロシドはセラミドに UDP-ガラクトースあるいは UDP-グルコースから糖が転移して生成する。



セラブロシドはサイコシンの N-アシル化によっても生成する。

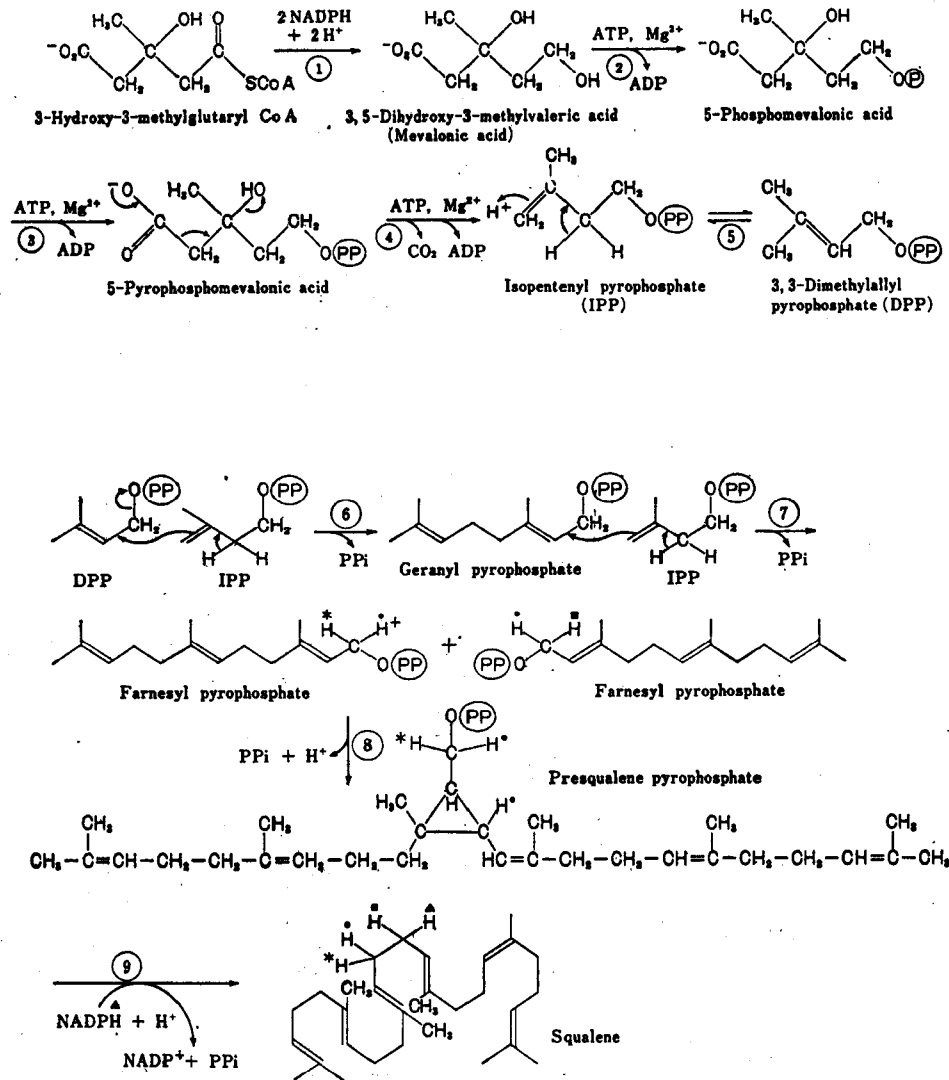
ガングリオシドはセラミドが逐次活性化された単糖と反応して生成する。

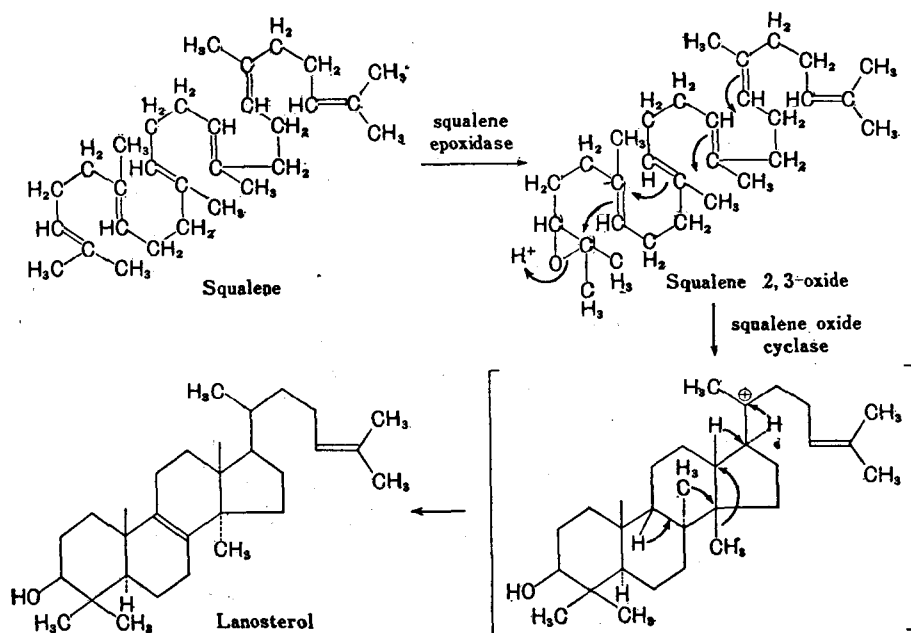
### 6.7 コレステロールの生合成

コレステロールは図(154~156頁)のような経路に従ってアセチル-CoA から合成される。肝臓は

コレステロール合成の主要器官である。

コレステロール合成における調節点の一つは  $\beta$ -hydroxy- $\beta$ -methylglutaryl CoA の還元所にある。他の一つは多分スクアレンからラノステロールへの変換の所にあるものと考えられている。HMG-CoA レダクターゼの調節はコレステロールによるフィードバック阻害によって行われている。すなわちコレステロール含有量の多い食餌をとるとこの酵素の活性は減少し、カロリーの多い食餌をとると増加する。糖尿病の動物では本酵素の活性は増加し、コレステロールの合成が増加する。

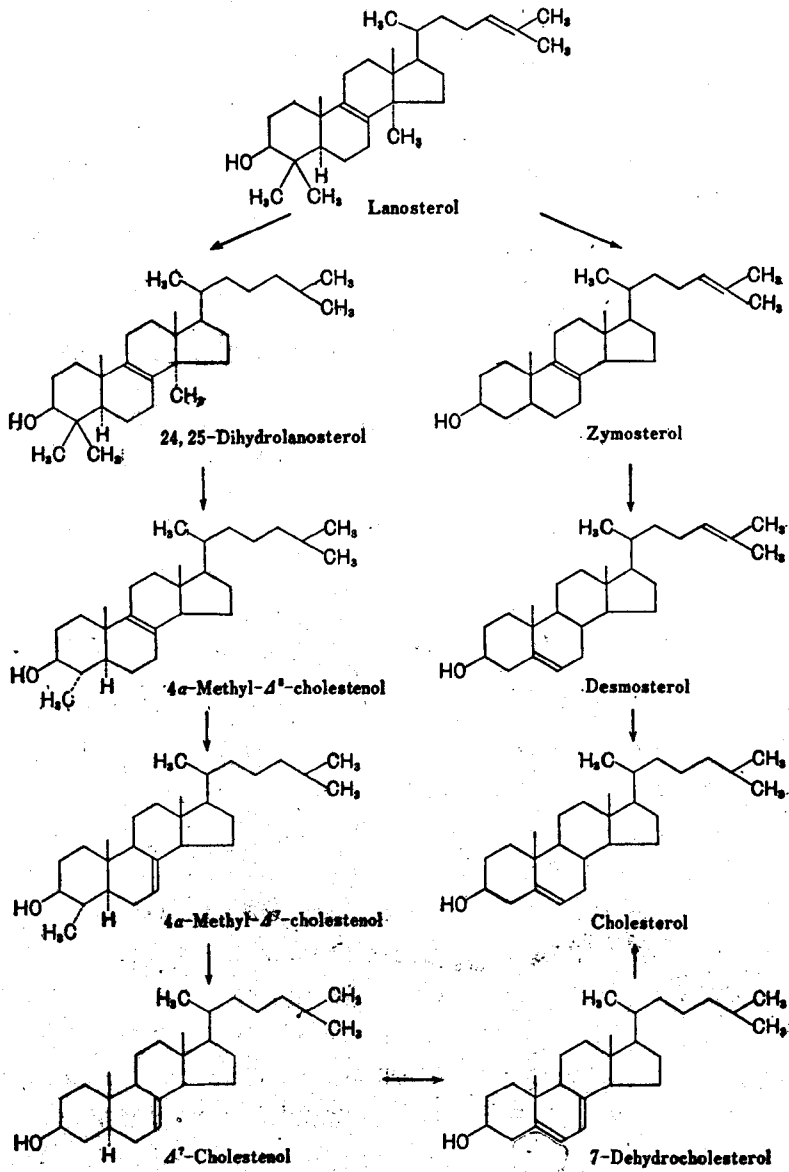


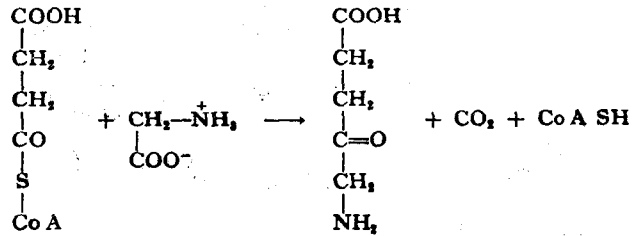


## 6.8 ポルフィリンの合成

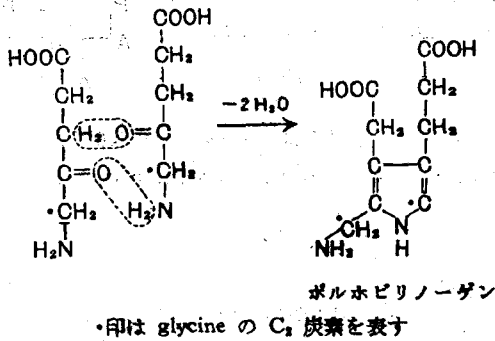
ポルフィリンはクロロフィル、ヘモグロビン及びミオグロビン、シトクロム、カタラーゼ、ペルオキシダーゼ等に補欠分子族として含まれ、それぞれ光合成、酸素の輸送、酸素への電子伝達及び過酸化水素の除去等、生体にとって極めて重要な働きの中核的役割を担っている。

ポルフィリン合成は4段階に分けることができる。最初の段階はミトコンドリアに存在する  $\delta$ -アミノレブリン酸合成酵素の作用でグリシンとスクシニル-CoA が縮合して  $\delta$ -アミノレブリン酸を作る反応である。この酵素はピリドキサルリン酸と  $Mg^{2+}$  を要求する SH 酵素である。ピリドキサルリン酸はこの酵素の活性中心にある SH 基とチオヘミアセタール結合を作り、次いでグリシンと Schiff 塩基を作る。こうして生じた複合体はスクシニル-CoA と縮合して  $\delta$ -アミノレブリン酸を作る。この酵素はヘム及びヘミンによってフィードバック阻害ならびに抑制を受ける。したがって、この酵素はヘム合成の調節酵素である。Allylisopropylacetamide (AIA) はニワトリ胚の肝臓の  $\delta$ -アミノレブリン酸合成酵素を8倍増加させる。他の組織ではこの酵素は誘導的に作られない。この薬剤の作用はアポレプレッサー(第7章参照)に結合しているコレプレッサー(この場合はヘム、ヘミン等)と活性中心を競り合い、これがアポレプレッサーと結合するとアポレプレッサーはオペレーターと結合しておられなくなって抑制が解除されると考えられている。したがって AIA はインデューサーの働きを示すわけである。この酵素は代謝回転が速く半減期はヒト肝臓で1時間とされている。



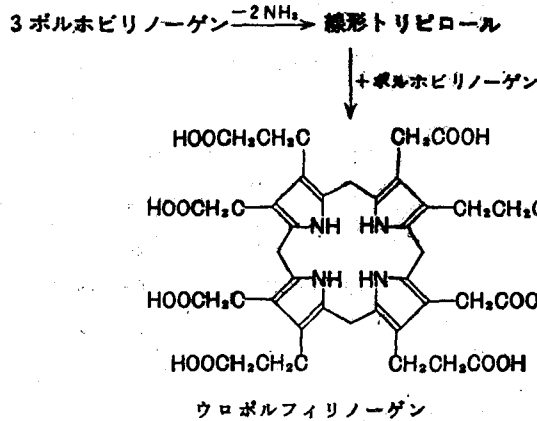


次に2分子のδ-アミノレブリン酸がδ-aminolevulinatase dehydrataseの作用で縮合してポルホビリノーゲン (porphobilinogen) を与える。



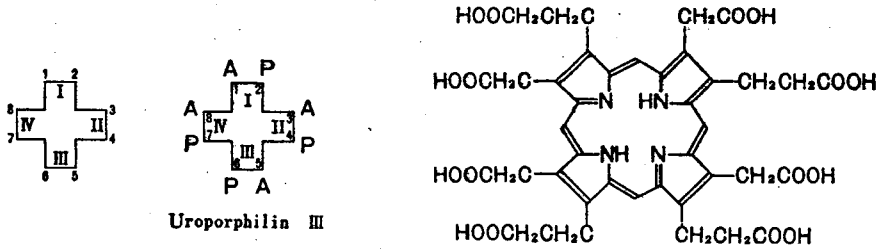
この酵素はヘミンによってフィードバック阻害を受ける。

第3の段階では4コのポルホビリノーゲンが縮合してウロポルフィリノーゲン III を与える。この

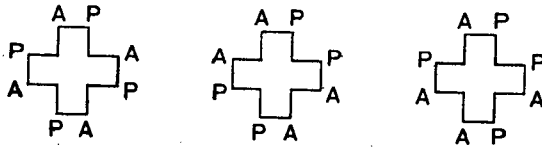


場合、第4環の縮合の仕方が他の三つと異なる。四つの環とも同じような縮合をした場合はウロポルフィリノーゲン I を与える。これはポルフィリン症等の病的状態のときに観察される。

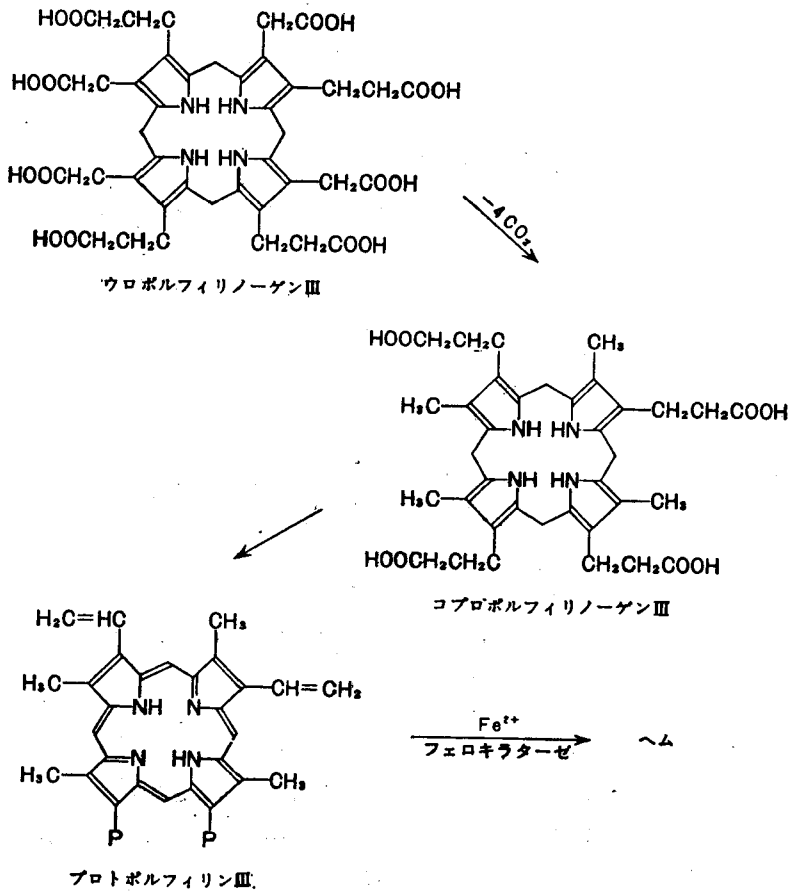
ウロポルフィリノーゲン及びその脱水素によって生ずるウロポルフィリンにはそれぞれ四つの異性体が考えられる。いまウロポルフィリンを次のように書くと



となり、他の三つの異性体はそれぞれ次のようになる。



第4の段階ではウロポルフィリノーゲン III は acetate 基に脱炭酸を受けてコプロポルフィリノーゲンになり、後者は更に脱炭酸および酸化をうけてプロトポルフィリンになる。そして最後にミトコ



ンドリアに存在するフェロキラーターゼという酵素によって2価鉄が挿入されてヘムの合成は完結する。すなわち、ウロポルフィリノーゲン III はウロポルフィリノーゲン脱炭酸酵素によってコプロポルフィリノーゲン III になる。後者はミトコンドリアに入りそこで coproporphyrinogen oxidase の作用を受けてプロピオン酸基の酸化脱炭酸を受けプロトポルフィリノーゲンになる。プロトポルフィリノーゲンは protoporphyrinogen oxidase により  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$  の各メチレン基が酸化されてメチン基となり, protoporphyrin III (protoporphyrin type III, protoporphyrin No IX, あるいはまた単に protoporphyrin IX と書く, この protoporphyrin IX の IX は H. Fisher が IX 番目に発見したという意味の IX であって, I, II, III のように異性体の種類を表すものではない)になる。最後に heme synthetase (あるいは ferrochelatase ともいう) により protoporphyrin に2価鉄が挿入される。

## 6.9 核酸とタンパク質の生合成

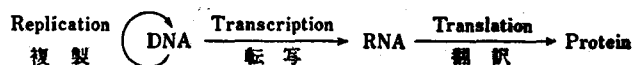
### 6.9.1 遺伝と核酸

ある一つの生物種の形質, すなわち形態, 機能は世代から世代へと伝えられていく。換言すれば, 生物はその秩序のある構造を自ら再生産(自己増殖)する。遺伝学はこの形質の発現が“遺伝子”によって支配され, 遺伝子は生物の自己増殖に伴って複製されることを明らかにした。

一方, 生体を構成する成分のうちでタンパク質は, 生体の機能の素過程において極めて重要な役割を果たしている。それらはそれぞれ一定の構造を持っていて, あるものは酵素として特定の化学反応を触媒し, あるものはエネルギー転換機能を持ち, またあるものは脂質や多糖類などとともに生体構造を作りあげるなど, さまざまの働きをする。これらのタンパク質の秩序ある機能の統合されたものを, われわれは生物の複雑な形態や機能として観察しているのである。

このような働きをするタンパク質は20種類のアミノ酸がペプチド結合を介して重合したポリペプチドである。ポリペプチド鎖は, 複雑に折りたたまれ, 鎖上のいろいろな部分に相互作用が起って特定の高次構造を作っている。個々のタンパク質の特異的な機能の発現には, このような高次構造が必要であることが知られている。タンパク質の物理化学的研究によって, このタンパク質の高次構造を決定するのは, その1次構造, すなわちアミノ酸配列であることが明らかにされた。

現在, 遺伝子の物質的実体が DNA であり, 生体内では DNA がもつ遺伝的情報に基づいて, 一定のエネルギー供給のもとに合成素材であるアミノ酸から一定の配列をもったタンパク質が作られること, その遺伝情報は生物の自己増殖に伴って複製されること, が明らかにされている。すなわち生体高分子を合成するための情報の伝達系の大きな道筋は次のように表される。



#### 1) 核 酸

物質としての核酸の大きな特徴の一つは, それが巨大分子であるということにある。その分子量

は、最も小さいもので  $2.3 \times 10^4$ 、大きいものでは  $10^{10}$  に及んでいる。これはタンパク質の分子量  $5 \times 10^5$  ないし  $10^6$  をはるかに上回る。核酸分子の他の特徴は、比較的少ない種類の構造単位、主として4種のヌクレオチドから出来ていながら、その分子内での配列がタンパク質分子内でのアミノ酸配列と同様に極めて多様性に富むことである。このため核酸分子はその分子内にヌクレオチド配列によって多量の情報を貯え、遺伝情報の伝達体としての役割を果たすことができる。

## 2) 核酸の分布

F. Miescher (1869) は、膿の白血球の核からリン含量の高い酸性物質 (nuclein) を発見したが、その物質は後になって核酸と名づけられた。近年発達した細胞化学の方法、細胞内構成要素の分画法、微量分析技術、電子顕微鏡による微細構造の観察などによって、核酸が細胞内で核だけでなく、細胞質にも広く分布することが明らかになった。

DNA は普通核の染色体にあるが核小体にも存在する。核外 DNA の例としてはミトコンドリア DNA、植物葉緑体 DNA がある。RNA は核にも細胞質にも存在するが、核内では核小体内に特に濃度が高い。小胞体の膜に付着するリボソームには、細胞全体の約 80% の RNA が見出される。RNA はミトコンドリアにも存在し、細胞の可溶性部分には tRNA として存在する。

細菌では核の存在がはっきりしないが、DNA は細胞内の特定の領域に局在している。細菌の RNA は、80% がリボソーム中に、残り 15% くらいは tRNA として可溶性画分に存在する。ウイルスはその粒子中に DNA か RNA のどちらか一方だけを含んでいる。

## 3) 核酸の構成成分と基本構造

核酸はヌクレオチドとよばれる構造単位が重合して出来たポリヌクレオチドである。ヌクレオチドは三つの成分、塩基、糖、リン酸が、塩基-糖-リン酸のようにつながったものである。ヌクレオチドをアルカリで温和な条件で加水分解すると、ヌクレオシドといわれる塩基-糖化合物と無機リン酸がえられる。またおだやかに酸水解すると、糖-リン酸エステルがえられる。

塩基としては、アデニン (A)、グアニン (G) のプリン塩基と、チミン (T)、ウラシル (U)、シトシン (C) のピリミジン塩基とがある。A, G, C は DNA, RNA のいずれにも見出されるが、原則として T は DNA に、U は RNA に存在する。糖成分としては、2-デオキシ-D-リボースと-D-リボースとがあり、前者は DNA、後者は RNA の成分である。

核酸中のデオキシリボースとリボースはいずれもフラノース型の構造をとっている。塩基と糖の結合は、糖の1位の炭素原子と塩基の環状窒素の間に生じるグルコシド結合である。核酸分子内では、ヌクレオシドの糖の3位の炭素 (3'-という) の OH 基と、隣りのヌクレオシドの糖の5位の炭素 (5'-という) の OH 基との間でリン酸がそれぞれエステル結合をしている (図 6.5)。すなわち、核酸中のリン酸は解離基を一つしか持っていない。このような 3', 5'-ホスホジエステル結合により、多くのヌクレオシドがつながって核酸分子が出来ている。したがってリン酸ジエステル結合には方向性があり、普通ヌクレオシドの左側に p を記して糖成分の 5'-OH 基にリン酸が、右側に p を記して糖成分の 3'-OH 基にリン酸が結合していることを表す。例えば、図 6.5 の DNA と RNA の部分構造は、





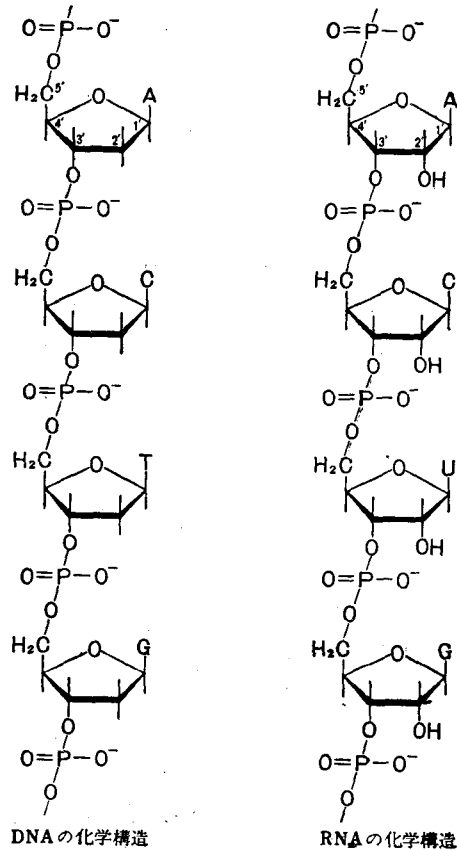


図 6.5 スクレオチド間の結合様式

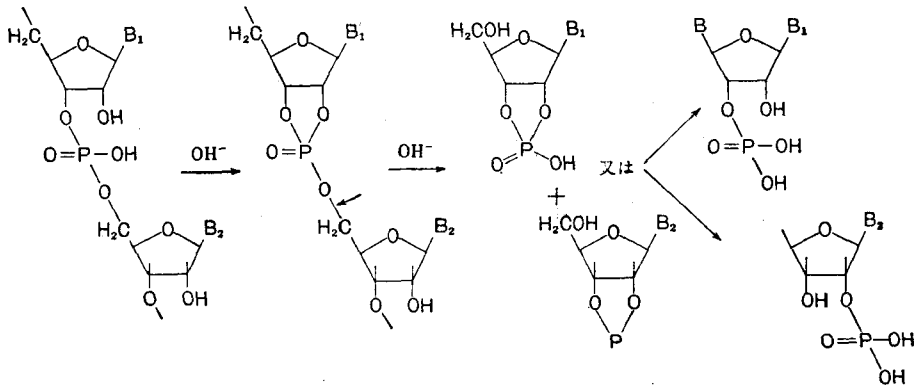
と略記される。また、 $\text{ApCpTpGp}$  は末端のアデニル酸の  $5'\text{-OH}$  は遊離しているが、他の末端のグアニル酸の  $3'\text{-OH}$  基にはリン酸がエステル結合をしていることを示している。

遺伝情報は核酸の構造にスクレオチドの配列順序として刻みこまれていることが明らかにされている。糖とリン酸はどの分子でも同じであるから、塩基の種類やその配列の順序が最も問題となる。しかし、その研究には色々の困難がある。分子が巨大であることや、構成スクレオチドの種類が少ないので、核酸分子内の部分構造の特徴がつかみにくいことがその要因である。したがってタンパク質のアミノ酸配列の研究に比べて、核酸の第1構造の研究はまだそれほど進歩していない。しかし1965年、Holley らによる tRNA の塩基配列の完全決定以来、この種の比較的低分子の RNA は次々とその構造が明らかにされるようになり、情報伝達の仕組みを解く有力な手がかりがえられるようになってきた。

#### 4) 核酸の化学的性質

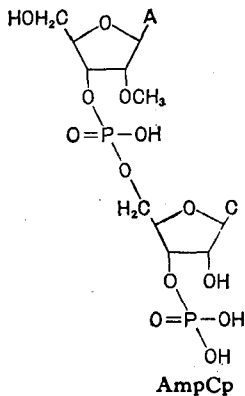
1) アルカリに対する作用 RNA は穏和なアルカリ処理 (例えば  $0.3\text{N KOH}$ ) によって加水分解を受けてモノスクレオチドにまで分解する。それは次頁に示すようにリボースの  $2'\text{-OH}$  とリン酸との間にエステル結合が生じ、1種の環状リン酸トリエステルとなることから始まる。この中で  $5'\text{-C}$

部位のエステル結合が一番不安定なので、切れてヌクレオシド 2',3'-環状ジエステルを生ずるが、これが開環するとき 2'C と 3'C の結合のどちらが切れるかによってヌクレオシド 3'-リン酸又はヌク



レオシド 2'-リン酸を生ずる。通常、両者の混合物が得られる。次に述べる RNA 分解酵素(リボヌクレアーゼ)では、どちらで切れるかが決まっておき、1種類しか生じない。

DNA はアルカリによって二重鎖がほどけて一重鎖となる(後述)が分解はしない。それは、デオキシリボースの 2'C 位に OH 基がないので、環状リン酸エステルが生じ得ないからである。同様のことは RNA でもリボースの 2'O 位がメチル化した部分に起り、その結果このようなジヌクレオチドを生ずる。このような 2'-O メチル化ジヌクレオチドは理論上 16 種類(4×4)存在するはずであるが、動物のリボソーム RNA 中には 50~100 ヌクレオチドに一つ程度、このようなメチル化が存在し、ほぼすべての組合せが認められる。



ii) 核酸分解酵素 核酸を分解する酵素が細胞内や細胞外の消化液などに見出されている。DNA を分解する酵素をデオキシリボヌクレアーゼ (DNase), RNA を分解する酵素をリボヌクレアーゼ (RNase) という。また分解様式に従って核酸分子の内部から切断してゆくものを

エンドヌクレアーゼ (endonuclease)、3' 末端ないしは 5' 末端から一つずつヌクレオチドをはずしてゆくものをエキソヌクレアーゼ (exonuclease) という。

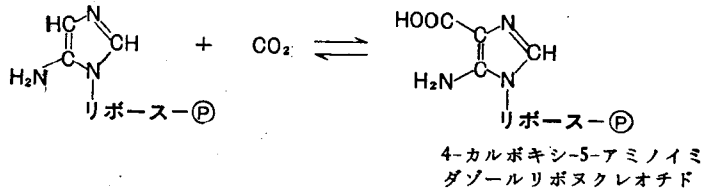
DNase には DNase I, DNase II 等があり、RNase には膵臓 RNase (RNase I, RNase A などともいわれる), RNase T<sub>1</sub>, RNase T<sub>2</sub>, RNase U<sub>2</sub> などがある。それぞれ切断の仕方や至適条件等に差があるが、特に各種の RNase はその特異性を利用して、RNA の第 1 構造(ヌクレオチド配列)の研究に用いられる。例えば膵臓 RNase はピリミジン・ヌクレオチドの 3' 側でリン酸を残して切断するし、RNase T<sub>1</sub> はグアニンヌクレオチドの 3' 側でリン酸を残して切断するので、それぞれ図 6-6 のようなヌクレオチドを生ずる。





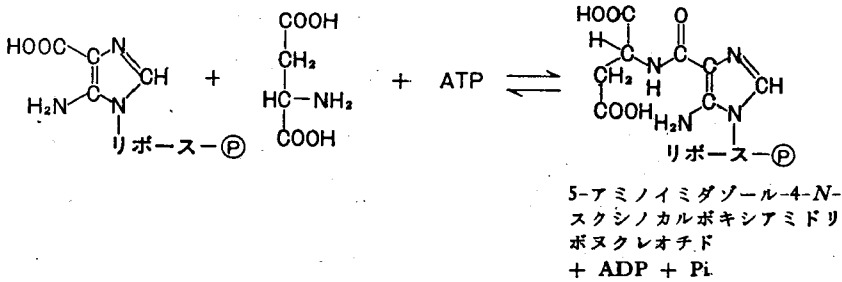


次に生じたイミダゾール環の C<sub>4</sub> に CO<sub>2</sub> が入る。

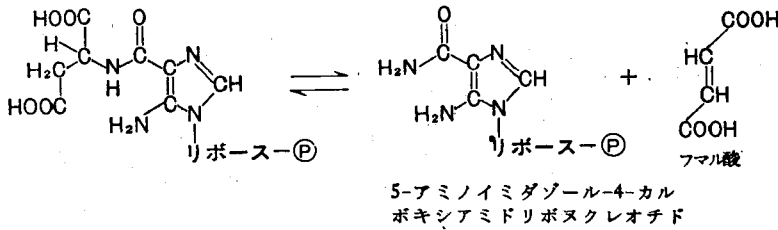


この反応にはビオチンが補酵素として要求されると思われる(バクテリアでは証明されている)。

次にアスパラギン酸から窒素原子が与えられる。



生じたスクシノカルボキシアミド誘導体はアスパルターゼ型反応でフマル酸を脱離する。



プリン核の完成に必要なあと一つの炭素はホルミル-FH<sub>4</sub> から与えられる。

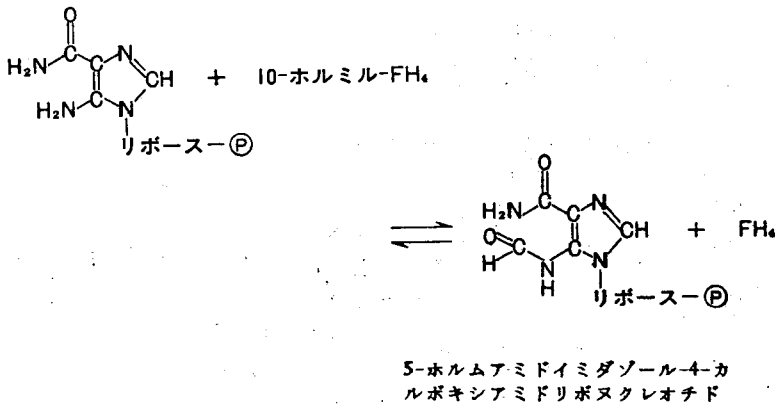
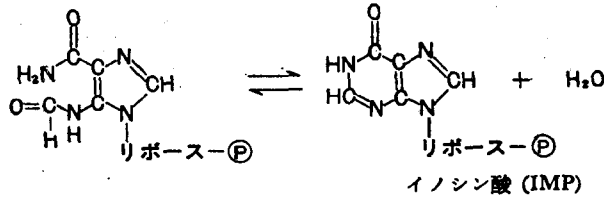


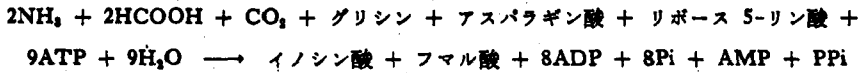
Fig - 11

ついで生成物は H<sub>2</sub>O を除去して閉環する。



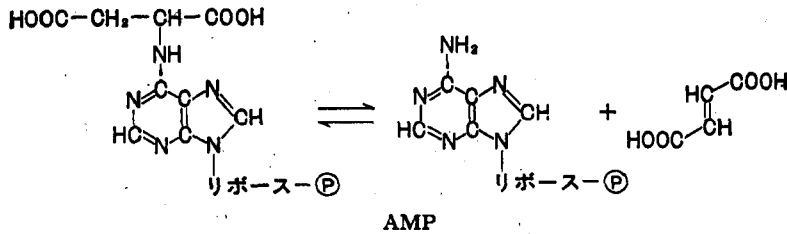
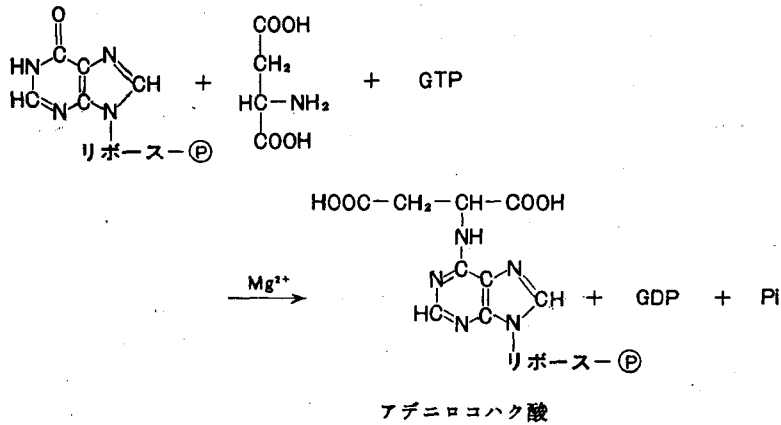
生成物はイノシン酸で、これは生体内で遊離に存在し、また tRNA の成分としても見出される。

以上の反応でメチル-FH<sub>4</sub>、ホルミル-FH<sub>4</sub>、及びグルタミンの再生に各々1コずつの ATP が用いられるとして合計9コの ATP が消費され8コの ADP と1コの AMP と8コの無機リン酸及び1コのピロリン酸が生じる。これはエネルギーを必要とする生合成反応に ATP の高エネルギーが利用される例である。



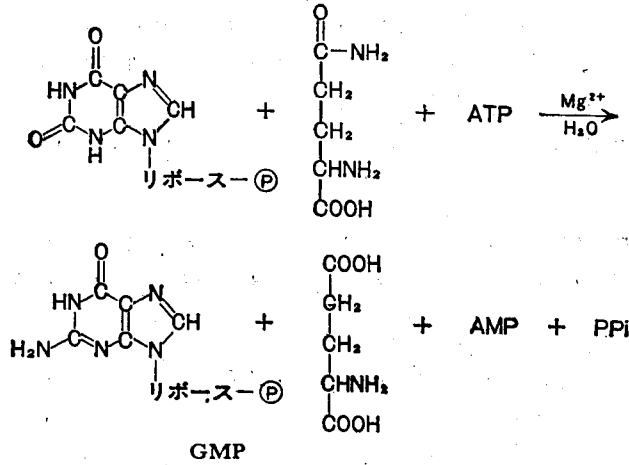
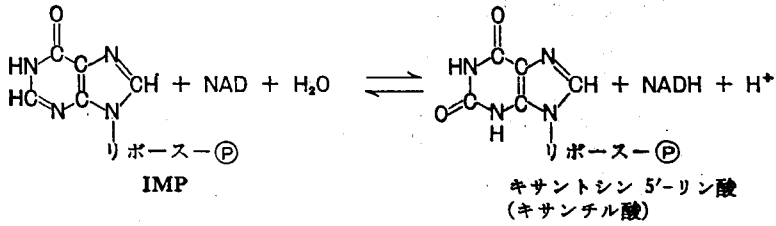
2) プリンヌクレオチドの相互変換

イノシン酸から AMP や GMP が作られる。AMP の合成は次の通り行われる。



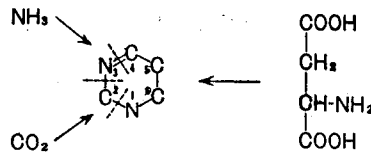
アデニロコハク酸合成に必要なエネルギーは GTP から供給される。

GMP の合成は次のように行われる。

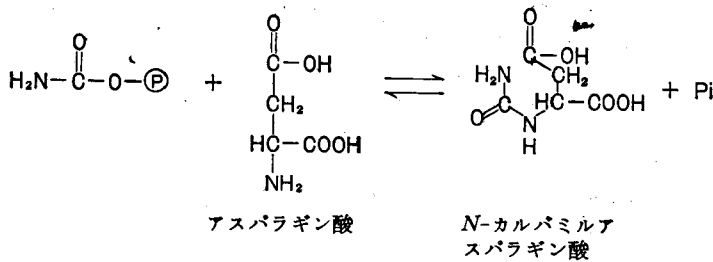


3) ピリミジン生成

ピリミジン核の6コの原子は次に示すように  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NH}_3$ , アスパラギン酸から出来る。



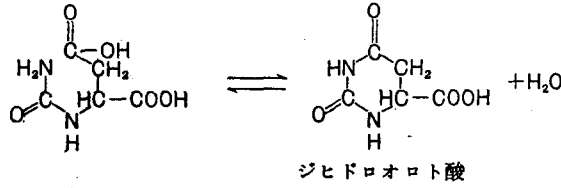
ピリミジン生成の最初の反応はカルバミルリン酸からアスパラギン酸にカルバミル基を移して *N*-カルバミルアスパラギン酸(ウレイドコハク酸)を生ずる反応である。ここで用いられるカルバミルリン酸は尿素サイクルに用いられるものと異なる経路で細胞可溶性分画内に作られる。



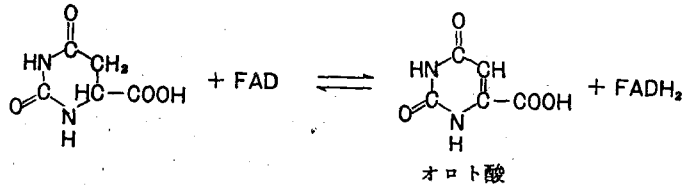


この反応を触媒する酵素はアスパルテートトランスカルバミラーゼといわれ、最終生成物である CTP によりフィードバック阻害を受ける。

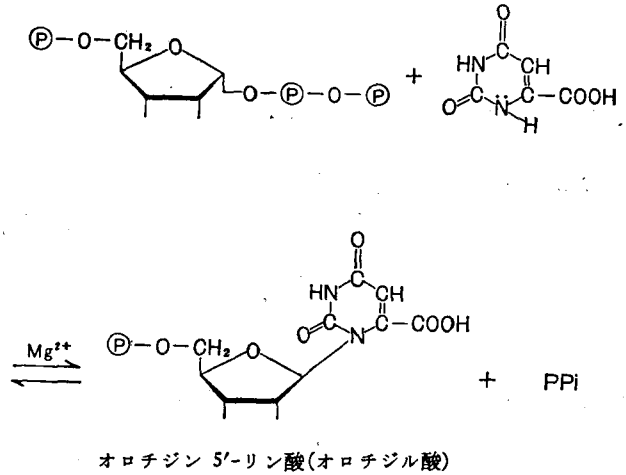
N-カルバミルアスパラギン酸はジヒドロオロターゼの作用で閉環し、ジヒドロオロト酸を生ずる。



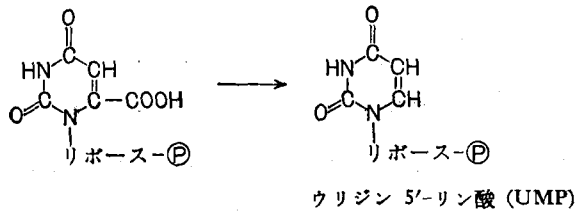
ジヒドロオロト酸はジヒドロオロトデヒドロゲナーゼというフラビン酵素により隣接炭素原子から 2 コの水素原子を失い、オロト酸になる。



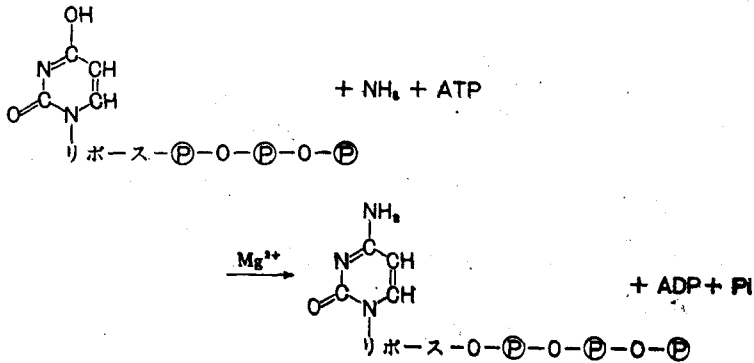
オロト酸は PRPP と反応し、5-ホスホリボシル基をえてオロチジン 5'-リン酸になる。



最後にオロチジル酸がデカルボキシラーゼの作用で脱炭酸され、ウリジン 5'-リン酸 (UMP) となる。

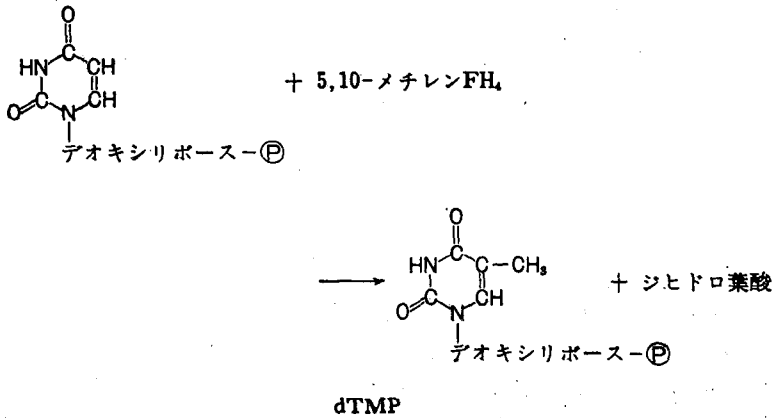


シチジン誘導体は UMP のアミノ化ではなく、UTP のアミノ化で生成する。そのアミノ基はバクテリアでは  $\text{NH}_3$  から直接に、動物組織ではグルタミンから供給される。



#### 4) デオキシリボヌクレオチドの合成

デオキシリボヌクレオチドは対応するリボヌクレオシド二リン酸の還元によって作られる。この反応を触媒する系は二つ知られているが、その詳細はなお明らかでない。チミジン誘導体の合成は次のように進む。

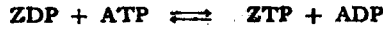


#### 5) ヌクレオシド二リン酸、三リン酸の合成

プリンヌクレオシド、ピリミジンヌクレオシドの一リン酸から二リン酸、三リン酸の合成は容易に行われる。すなわち個々のリボシドやデオキシリボシドに ATP からリン酸基を移すホスホトランスフェラーゼがある。



ここで Z はプリン又はピリミジン塩基を表す。デオキシリボシド一リン酸も同様な反応を受ける。また二リン酸はヌクレオシドホスフェートキナーゼによってリン酸化され三リン酸を生ずる。



これらの反応により RNA や DNA の合成に必要なリボヌクレオシド三リン酸、デオキシリボヌクレオシド三リン酸が出来る。

#### 6) *De novo* 合成と salvage 経路

6.9.2 の 1)~3) で述べたヌクレオチドの生合成は低分子物質からのヌクレオチドの全合成経路であり、これは *de novo* 合成経路と呼ばれる。これに対して生細胞内では各種塩基からヌクレオシドを経て、あるいは直接にヌクレオチドを合成する経路がある。前者は塩基にヌクレオシドホスホリラーゼ (nucleoside phosphorylase) の作用でリボースーリン酸からリボースを付け、ヌクレオシドとし、更にアデノシンホスホキナーゼ (adenosine phosphokinase) の作用で ATP からリンを与えるか、あるいはヌクレオシドホスホトランスフェラーゼ (nucleoside phosphotransferase) の作用で AMP や IMP からリンが転移してヌクレオチドを作る。

一方、後者は塩基と PRPP から、ヌクレオチドピロホスホリラーゼ (nucleotide pyrophosphorylase) の作用で直接に、ヌクレオチドが生成される反応である。これらの経路を回収経路 (salvage pathway) という (図 6.7)。

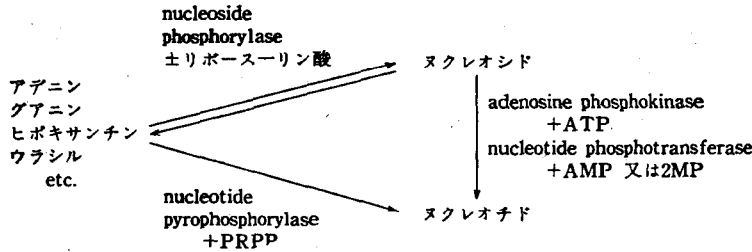


図 6.7

ヌクレオチドの生合成に *de novo* 合成経路と salvage 経路のどちらが主として用いられるかは、細胞の種類による。例えばピリミジンヌクレオチドについていえば肝細胞では *de novo* 経路が盛んであり、腫瘍細胞では概して salvage 経路が優勢である。

### 6.9.3 DNA の構造とその複製

#### 1) DNA の遺伝的機能

DNA が遺伝物質であることを示す最も直接的な証拠として次の二つの事実がある。

i) 細菌の形質転換 肺炎双球菌には、抗原性を示す多糖類で出来ている莢膜を持ち、なめらかな集落を作る S 型と、この多糖類を作る能力を欠き、周囲がぎざぎざの集落を作る R 型とがある。S 型には病原性があるが R 型は病原性を示さない。R 型の株は S 型の株の突然変異によって生じたものである。1928 年、F. Griffith は病原性のない R 型の生菌と一緒に病原性のある S 型の死菌をラットに注射すると、ラットは肺炎にかかりしかも体内に S 型の生菌が出現することを発見した。

R 型の生菌のみ、又は S 型の死菌だけを注射しても、このようなことはみられないから、上の結果は S 型の死菌のなんらかの作用によって、R 型の菌が抗原多糖類を作る能力と病原性を獲得して S 型の菌に変わったことを示すと考えられる。その後、O. T. Avery ら (1944) は試験管内で S 型菌の抽出物を R 型の生菌に与えても R 型菌が S 型に転換することを見出し、S 型菌の抽出物の形質転換に有効な成分は DNA であることを明らかにした。このような形質転換の現象は、抽出精製された DNA を用いた実験で、インフルエンザ菌や枯草菌などでも認められた。種々の栄養要求性や薬剤抵抗性などの形質も DNA によって転換することが見出されている。

ii) バクテリオファージの増殖 大腸菌 (*E. coli*) を宿主として増殖する T 系のバクテリオファージは、“頭”と呼ばれる部分とその先端についた“尾”から出来ている。DNA はこれらの部分を構成するタンパク質の中に包みこまれている。このファージは大腸菌に感染すると、菌体内で速やかな増殖をする。約 20 分後には溶菌が起り、親ファージと同じ性質を持つ子ファージが 100 コくらい放出される。

A. D. Hershey と M. Chase (1952) は、大腸菌を  $^{35}\text{S}$  又は  $^{32}\text{P}$  を含む培養液で培養し、そこに T2 ファージを感染させた。ファージ粒子のタンパク質は P を含まず、また DNA には S が存在しない。したがって、先のような方法でファージを増殖させると、DNA とタンパク質のどちらか一方のみをラジオアイソトープでラベルすることができる。 $^{32}\text{P}$  又は  $^{35}\text{S}$  でラベルされたファージを大腸菌に感染させ、数分後にワーリングブレンダー中で激しく攪拌後、菌体内外の放射能を調べると、 $^{35}\text{S}$  は菌体外に存在するのに  $^{32}\text{P}$  はほとんど菌体内に入っていることがわかった。しかも増殖した子ファージの中には感染した親ファージの 1% 以下しか  $^{35}\text{S}$  は含まれないが、 $^{32}\text{P}$  は 30% 以上含まれる。この結果から、ファージが大腸菌の細胞壁に吸着すると、ファージの DNA は細胞内に注入されるが、タンパク質部分は細胞外にとどまることが明らかとなった。そして注入された DNA は子ファージにも受けつがれてゆくことも証明された。したがって、大腸菌の細胞内でファージ粒子の合成に直接関与し、子ファージの形質を決定するのは DNA であることがわかった。

## 2) DNA の構造

i) DNA の塩基組成とその規則性 1950 年ごろから核酸の塩基組成分析が正確に行われるようになってから、数多くの生物材料の DNA が分析された。分析は主として、ギ酸又は過塩素酸によって DNA を加水分解したのち、遊離したヌクレオチドをペーパークロマトグラフ法によって分別して定量する。ペーパークロマトグラム上の塩基成分は濾紙に紫外線をあててみると UV を吸収する暗い斑点として観察される。この部分を切りとってうすい酸で溶出し、塩基に特徴的な UV 吸収 (260 nm 付近) を分光光度計で測定して各塩基の量を求める。種々の生物材料からえられた DNA の分析結果を表 6・1 に示した。

Chargaff らは、これらの分析結果には、どんな材料の DNA も必ずアデニン (A) とチミン (T) のモル比は 1 であり、グアニン (G) とシトシン (C) のモル比も 1 であるという規則性があることを見抜いた。このことは、プリン塩基 (A と G) は常にピリミジン塩基 (C と T) の量と同じだけあるということと、プリン塩基の 6 位置又はピリミジンの 4 位置にアミノ基をもつ塩基 (A と C) と同じ位置にケト基 (G と T) をもつ塩基の量が等しいということの意味している。これらの結論は、DNA が 2 本のポリヌクレオチド鎖から出来ていて、2 本の鎖の間に A と T, G と C が相補的に水素結

表 6.1 DNA の塩基組成

	A	G	C	T	MC	$\frac{A+G}{T+C}$	$\frac{A+C}{G+T}$
ウシ 脾臓	28.2	21.2	21.0	28.2	1.3	0.98	1.02
肝臓	28.8	21.0	21.1	29.0	—	0.97	1.00
腎臓	28.3	22.6	20.9	28.2	—	1.03	0.97
精子	28.7	22.2	20.7	27.2	1.3	1.03	1.03
コムギ 胚	26.8	23.2	16.7	28.0	5.3	1.00	0.95
酵母	31.3	18.7	17.1	32.9	—	1.00	0.94
大腸菌	26.0	24.9	25.2	23.9	—	1.04	1.05
結核菌	15.1	34.9	35.4	14.6	—	1.00	1.02
大腸菌ファージ T2	32.5	18.2	16.7	32.6	—	1.03	0.97
大腸菌ファージ $\phi$ X174	24.3	24.5	18.2	32.3	—	0.97	0.75

MC: 5-メチルシトシン

ファージ T2 の C≡5-ヒドロキシメチルシトシン

合を作っているという Watson-Crick の DNA モデルを生む一つの原因となった。

ここで注意すべきことは、上の規則にあてはまらない例外もあることである。それは大腸菌を宿主とする  $\phi$ X174 というバクテリオファージの DNA である。この DNA は1本のポリヌクレオチドから出来ている。また高等生物の DNA には、C のほかに 5-メチルシトシン (MC) が含まれているが、その場合は MC と C とを加えたものが G の含量に等しい。更に、ある種のバクテリオファージの DNA は、C を全く含まず、その代りに 5-ヒドロキシメチルシトシン (HMC) を含み、その量が G の量に等しい。

DNA の塩基組成は生物材料によって異なるが、それは  $(G+C)/(A+T)$  の比にみられる。したがって、G と C の和が全塩基中で占める割合 (GC 含量という) によっても種々の DNA の塩基組成を表すことができる。末岡は、種々の生物材料の DNA の GC 含量をまとめ、生物の系統発生と DNA の塩基組成との間に興味ある関連性を見出した。バクテリアやウイルスではその種類によって GC 含量が 25% のものから 75% のものまでいろいろある。しかし、高等な生物になるに従ってその範囲が狭まり、脊椎動物ではほとんど 40~44% という値を示すようになる。細菌の塩基組成は広範囲にわたっているが、例えば腸内細菌で互によく似た大腸菌 (GC 含量 50~52%)、チフス菌 (同 50~54%)、赤痢菌 (同 50~54%) は DNA の塩基組成も似ている。

ii) DNA のヌクレオチド分布 DNA を適当な条件で分解すると、ピリミジン塩基だけをもつヌクレオチドが幾つか連なった部分とプリン塩基だけをもつヌクレオチドが幾つか連なった部分とがえられ、それぞれ定量することができる。このようにして、DNA 分子内のピリミジンヌクレオチドのかたまり具合とプリンヌクレオチドのかたまり具合をつきあわせてみると、同じ長さのピリミジンヌクレオチドとプリンヌクレオチドは、どの長さの場合もほぼ等量ずつ存在することがわかった。このことは、Watson-Crick のモデルが正しければ、塩基組成に規則性があるばかりでなく、一方の鎖の特定の部分に対応して、他方の鎖には相補的な塩基配列があるという予測を実証している。このようなことは、Kornberg らの DNA ポリメラーゼを用いた実験で、DNA のヌクレオチド配列において隣合ったヌクレオチドの出現頻度を調べる方法によっても認められている (後述)。

しかしながらこのような方法では DNA 分子内のヌクレオチドの分布状態を知ることはできても、分子の端から端までのヌクレオチドの配列順序を決定することは、いままでのところ不可能である。全く別の方法で、ヌクレオチド配列順序を決める試みが行われている。DNA の塩基部分に、8-アミノ-1,3,6-ナフタレントリスルホン酸をジアゾ化してカップルさせて、これを酢酸ウランで処理すると、DNA の塩基部分に重い金属ウラン原子が数コ付着する。この試料を電子顕微鏡で観察すると、DNA の鎖に沿って塩基の位置に3コずつのウラン原子のマークが見出される。もし、各塩基に特異的に反応する物質を用いて、このような実験を行えば、写真の上でヌクレオチドの配列を端から端まで調べることができるかも知れない。

### iii) DNA の高次構造

a) DNA の Watson-Crick モデル: DNA の塩基組成には、一般に、 $(A+G)=(C+T)$ ,  $A=T$ ,  $G=C$  という規則性が認められる。この事実と Wilkins が DNA の結晶の X 線回折像の解析によってえた成果とを総合して、1953年に Watson と Crick は、今日の分子生物学の重要な礎石となった DNA 構造のモデルを提唱した(図6・8)。

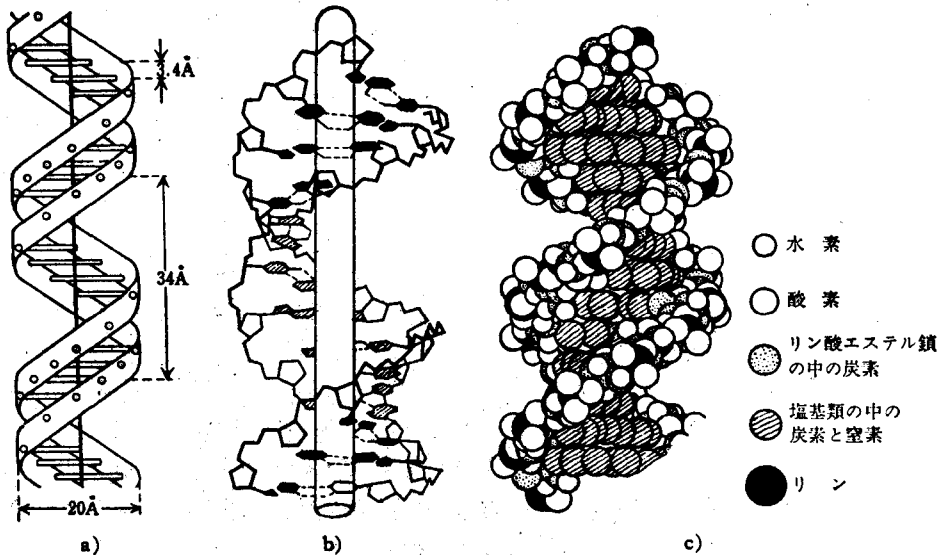


図 6・8 DNA に対して提案された構造の模型

- a) Watson と Crick が提案した DNA 分子の模式図。2本のリン酸-糖鎖をリボンで表し、2本の鎖を支える塩基対を水平の棒で示した。  
 b) DNA らせんの模式図、点線は塩基対の水素結合を表す。

- ① DNA 分子は糖とリン酸が交互に連なった鎖状の骨格が2本より合って二重らせんの形をとっている。このことは DNA の密度が約  $1.74 \text{ g/cm}^3$  という高い値を示すことを説明する。2本のらせんは右巻きであり、互いに逆方向に走行している。らせんをその回転軸を中心に  $180^\circ$  回転させても分子の外観は変化しない。
- ② 二重らせん構造は、2本の異なる鎖の相対する塩基が互いに水素結合することによって安定化している。水素結合をする塩基対には  $A=T$ ,  $G \equiv C$  の二つがあり、前者には2本、後者には3本の水素結合がある(図6・9)。

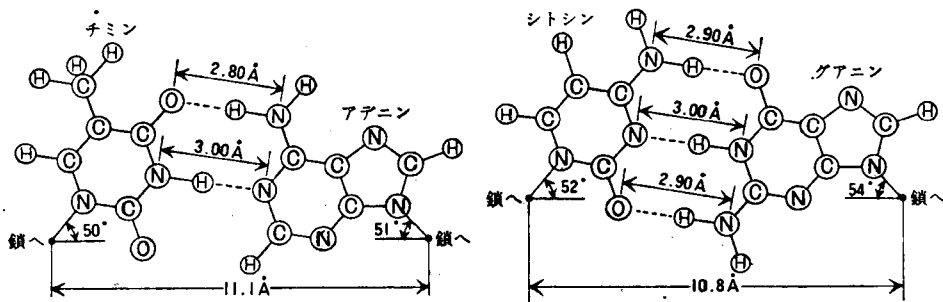


図 6.9 DNA 塩基間の水素結合 (A=T, G≡C)  
水素結合は点線で示す (L. Pauling & R. B. Corey, 1956)

- ③ 対になった塩基対は同一平面上に存在し、らせんの中心軸に対してほぼ垂直方向にらせんの内側につきだしている。連続した塩基対は互いに平行に積み重なっている。糖の炭素骨格の作る面は塩基平面に対してほぼ垂直となっている。
- ④ 隣接した塩基対の間隔は  $3.4 \text{ \AA}$  であり、らせんの1ピッチに対して10コの塩基対が等間隔に並んでいる。らせんの直径は  $20 \text{ \AA}$  である。

このような DNA 構造は、その結晶に対して考えられたものであるが、その後の研究により、溶液中や生体細胞内でも二重らせん構造をとっていると考えられている。

b) DNA の変性と再生: DNA を薄い中性塩溶液に溶かして加熱していくと、 $80 \sim 100^\circ\text{C}$  の一定温度に達したとき、非常に狭い範囲の温度変化で、 $260 \text{ nm}$  の吸収の増加がみられ、同時に比旋光度が急に減少する。このような紫外線吸収の増加(約40%)は、hyperchromic 効果とよばれ、DNA の二重らせんの構造がほだけ、その結果塩基の規則正しい積み重ねがなくなることによるものと考えられている。また比旋光度はらせん構造と密接に関係しており、その減少はらせん構造の破壊を示すものと考えられる。このように DNA の二重らせん構造が失われて単鎖構造に変わることを DNA の変性 (denaturation) という。DNA の変性に伴って、その分子量が半分になることも確かめられた。

加熱による二重鎖から一重鎖への転移は、非常に狭い温度範囲で起るので1種の相転移と考えられる。紫外線吸収の増加の中間に対応する温度を融解温度  $T_m$  という。DNA 溶液は、 $T_m$  近くの温度で上のような光学的変化以外に、粘度の減少、密度の増加、赤外スペクトルの変化、ホルムアルデヒドに対する反応性の出現などの物理化学的变化を示す。また DNA の変性は、加熱のほかアルカリ、ホルムアミドなどの添加によっても起ることが知られている。

種々の生物からとった DNA について  $T_m$  を測定すると、 $T_m$  と GC 含量の間には直線的な関係が存在することが見出された。すなわち、一定の条件(イオン強度、pH など)では、 $T_m$  は G+C 含量が多いほど高い。このことは G-C 間の水素結合エネルギーが A-T 間の水素結合エネルギーよりも大きいことで説明される。換言すれば G+C 含量の高い DNA ほど二重らせんがほだけににくいことを示している。

DNA を  $T_m$  以上に加熱して急冷すると、その溶液の物理化学的性質は未変性のものと異なったものになる。これは一重鎖のまま止まっているためこれを変性 DNA と呼ぶ。急冷ではなく極め

てゆっくり、例えば 80°C から室温にまで下げるのに 5~6 時間かけると、物理化学的性質は未変性のものにほぼ一致するほど回復することがある。この現象を再生 (renaturation) という。これは、いったんほどけた DNA が再び相補的な塩基対結合によって二重らせんを作ることによるが、バクテリアファージのような比較的小さい DNA について起り易く、動物細胞の DNA のように非常に大きく複雑な DNA については、相補的な配列の衝突の機会が少ないため起りにくい。徐冷により再生が起るのは、 $T_m$  付近の温度で塩基間の水素結合に不安定な平衡状態が存在し、その平衡が温度の極めてゆっくりとした低下により水素結合を作る方向に傾き、相補的な 2 本鎖が長い部域にわたって水素結合で結ばれた安定な状態を次第にとるようになるためと考えられる。このような再生は、2 本鎖の塩基配列の相補性を直接的に示すものである。

以上のような変性と再生の現象を基盤として、異なる生物種間の DNA の塩基配列の相補性や DNA と RNA 間の塩基配列の相補性が調べられ (DNA-DNA 又は DNA-RNA hybridization 法)、遺伝情報の伝達機構解明に役立っている。

c) DNA の大きさと形: 細菌や動物組織から普通の方法で DNA を抽出すると、 $10^7$  程度の分子量を持つものがえられるが、これは決して細胞内での DNA 分子の大きさをそのまま示すものではなく、抽出過程で機械的に切断されて生じた断片であることが知られている。

1 コの T2 ファージに含まれる DNA が 1 分子であるとする、その分子量は T2 ファージ粒子 1 コ当りの DNA 含量から  $150 \times 10^6$  くらいと計算される。このような高分子の DNA の分子量は通常の物理的手段によって直接決めることは非常に困難である。 $^{32}\text{P}$  でラベルした T2 ファージから注意深く抽出した DNA を写真乳剤中にうずめて一定時間後に現像すると、1 分子の DNA が存在する位置から星状にでる  $\beta$  線の飛跡が観察される。一つの中心点からでる飛跡の数は、DNA 中の  $^{32}\text{P}$  の量、すなわち DNA 分子の大きさに比例する。したがって飛跡の数から分子量を求めることができる。この方法で、T2 ファージ 1 コには  $130 \sim 160 \times 10^6$  の分子量をもつ DNA 分子が含まれていることが明らかになった。このような巨大分子として抽出された DNA は、溶液中で攪拌したり、ピペットで吸ったりすると、容易に切断されて 1/2 の大きさとになり、更に 1/4 に切れる。種々の大きさの DNA を切断するのに要する力を比較してみると、大きい分子ほど簡単に切れることがわかった。したがって、T2 ファージ DNA よりも大きい分子量をもつ DNA が存在したとしても、それらは抽出操作中に更に容易に機械的に切断されることが予想されるので、その分子量の決定は極めて困難である。

Cairns (1963) は、チミン要求性の大腸菌を  $^3\text{H}$ -チオキシチミジンを含む培地で培養し、DNA を  $^3\text{H}$  でラベルした。菌を機械的衝撃を与えないようにして溶菌し、DNA を濾紙上に集めてオートラジオグラムを作ると、DNA は全長 1,400  $\mu$  前後の環状構造をもっていることがわかった。これは大腸菌の染色体 1 コが 1 分子の DNA からなると仮定したときの分子量  $3.6 \times 10^6$  に相当する。普通、大腸菌細胞は 2 コの染色体をもっているから、1 コの細胞中に 1.4 mm の長さの環状 DNA 分子が 2 分子存在するわけである。大腸菌の細胞の大きさは、約  $1 \mu \times 1 \mu \times 2 \mu$  であるから、このことは、 $2 \text{ cm}^3$  の小箱に長さ 14 m の細い糸が 2 本たみこまれているのにたええることができる。

### 3) DNA の複製

i) 複製過程 Watson と Crick によって提唱された DNA の構造モデルは、DNA の化学的、



物理的性質を巧みに説明したばかりでなく、その複製の機構についても次のような示唆をした。すなわち、DNA はらせん構造をとっていた2本の鎖が、まず二つの1本鎖に分かれ、ついでそれぞれの上に遊離のデオキシリボヌクレオチドがそれぞれ特異な相補的塩基対を形成するように並び、新しい鎖を作れば、結果として元の親分子と全く同一構造をもった2本鎖のDNAが2組できるはずである(図6.10)。

Meselson と Stahl は、非常に独創的な実験を行い、DNA の複製が行われるときには、二重らせんのおのおのの1本鎖は保存されていることを明らかにした。彼らはまず、DNA を重い  $^{15}\text{N}$  でラベルするために、大腸菌を14世代にわたって同位元素的に96.5%の純度をもった  $^{15}\text{NH}_4\text{Cl}$  を唯一の窒素源とする培養液中で育てた。こうして  $^{15}\text{N}$  でラベルされたDNAは  $^{14}\text{N}$ -DNA よりその比重が0.8%大きい。次に細胞を  $^{14}\text{NH}_4\text{Cl}$  を窒素源とする

培養液に移して培養を続けた。そこから、数世代の間一定の間隔で菌体試料をとりだした。おのおのの試料は SDS で処理することによって溶菌させ、DNA が沈降平衡に達するように、140,000 xg, 20時間濃い塩化セシウム ( $\text{CsCl}$ ) 中で遠心分離した。この遠心の間に、 $\text{CsCl}$  が沈降平衡に達するために遠心管の中には一定の密度勾配が出来る。 $^{14}\text{N}$ -DNA のバンドは  $\text{CsCl}$  勾配中の密度  $1.71 \text{ g/cm}^3$  の位置に見出される。遠心分析の過程で UV 吸収写真を撮ると、DNA バンドの位置がわかる。

$^{15}\text{N}$  に移した直後の菌体からとった DNA は、重い  $^{15}\text{N}$  でラベルされた核酸に相当する1本の単一バンドとして現れた。次に、 $^{14}\text{N}$  を含んだバンドが現れ始め、 $^{14}\text{N}$  添加後丁度1世代たつと、 $^{15}\text{N}$ - $^{14}\text{N}$  のハイブリッドの分子のみが現れる。続いて半分ずつラベルされた DNA ( $^{14}\text{N}$ - $^{15}\text{N}$ ) とラベル

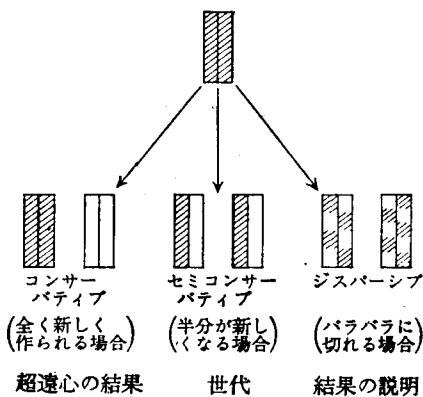


図 6.11 複製の方法

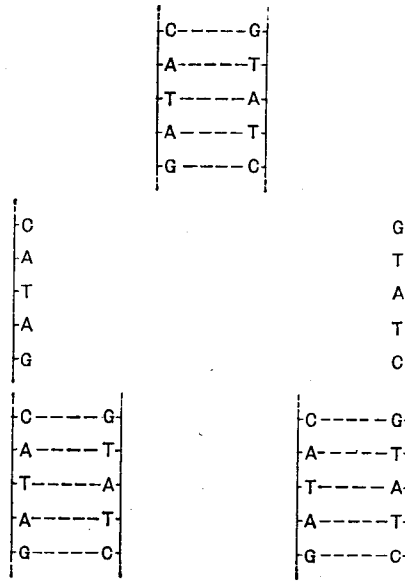


図 6.10 DNA 分子の一部分の2本の鎖の分離と、おのおの分かれた鎖の上での新しい鎖の形式を示した模式図

されない DNA ( $^{14}\text{N}$ ) の二つの成分が現れ始め、 $^{15}\text{N}$  を添加して2世代の時間が経過したときには、半分ラベルされた DNA と、全くラベルされていない DNA 分子が等量存在する。それ以後の世代ではラベルされていない DNA が量的に増加してくる。更に  $^{15}\text{N}$ - $^{14}\text{N}$  のハイブリッドの分子を加熱して遠心すると、それぞれ  $^{15}\text{N}$  と  $^{14}\text{N}$  のみを含んだ単一の鎖に分離することがわかった(図6.11, 6.12)。

このような実験から、DNA 複製においてはおのおの DNA 分子は2本の単一鎖に分離し、2本

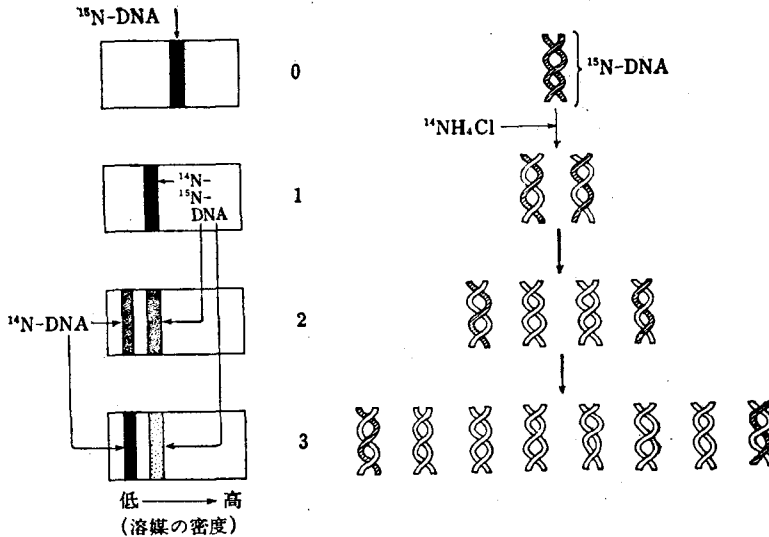


図 6・12 DNA の複製は半保存型であることを示す  
Meselson と Stahl の実験(本文参照)

の単一鎖は互いにかかれて異なる娘分子の中に入ることがわかる。この娘分子中の対をなす他の単一鎖は新しく合成されたものである。これら単一鎖はそれ以上の小単位に分かれることなく、しかも多くの世代を重ねても変化を受けることなく保存される。

高等生物の染色体の複製が行われるときも、DNA のそれぞれの単一鎖は保存されることがわかっている。すなわち、細胞分裂時の DNA 合成期間中に DNA に特異的な前駆物質  $^3\text{H}$ -チミジンを植物体に与えると、生じた二つの細胞の染色体はともに  $^3\text{H}$  でラベルされている。ついで  $^3\text{H}$ -チミジンを除いて次の分裂を行わせると、染色体の複製によって生ずる 2 本の染色体は、一方はラベルされ、他はラベルされていない染色体を作ることが見出された。

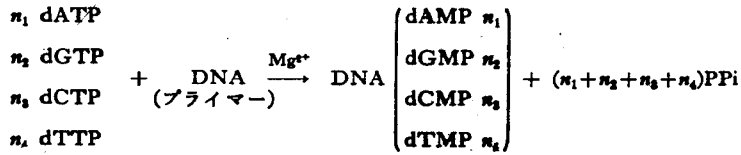
ii) DNA ポリメラーゼ その後 DNA の複製機構を無細胞系で解析する試みがなされ、1956 年 A. Kornberg らは大腸菌抽出液の中に  $^{14}\text{C}$ -デオキシチミジンを DNA とみなされる酸不溶性物質にとりこませる酵素系のあることを見出した。デオキシチミジンは次のような経路を経て DNA にとりこまれる。



この第 3 の反応に関与する酵素が DNA ポリメラーゼである。DNA ポリメラーゼの反応は、基質として DNA が含む 4 種のデオキシリボヌクレオチドをそれぞれ三リン酸の形で要求し、かつ DNA の存在が不可欠である。

この酵素 (DNA ポリメラーゼ I) はその後の研究によって実際に大腸菌の DNA の複製に用いられる酵素ではなくて、その修復 (repair) に用いられる酵素であることがわかった。それは、この酵素をほとんど欠損した大腸菌の突然変異株が十分な増殖能力を持つことから明らかとなった。実際の複製に用いられる酵素は DNA ポリメラーゼ III と呼ばれ、膜に結合して存在するが、酵素反応の

基本的機構はほぼ同じである。



iii) DNA 酵素的合成反応の DNA 依存性 プライマー (primer: 火付け役) DNA は単にヌクレオチドの重合反応の開始に必要な火付け役だけでなく、新たに合成される DNA の塩基配列を決定するいわゆる鋳型 (template) の役割をもつことが明らかになっている。このようなプライマー DNA の役割を明らかにした実験として次の四つがある。

a) 新たに合成された DNA は、プライマー DNA と全く同じ塩基組成を持ち、 $A=T, G=C$ 、という関係は、たとえ4種の基質のモル濃度比をいかに変えても必ず一致する。

b) 生細胞で DNA にとりこまれるプリン又はピリミジン塩基のアナログは、DNA ポリメラーゼによる反応で正常な塩基の代りに DNA にとりこまれるが、それはその物質が Watson-Crick のモデルで置換される物質と同様な水素結合を作りうる場合に限られている。例えば 5-ブロモウラシル (BU) はチミン (T) のメチル基が -Br で置き換えられたもので、T の代りにアデニン (A) と水素結合を作りうるが、他の塩基の代りにはなりえない。DNA ポリメラーゼの反応で、dTTP の代りに dBUTP を用いれば反応は起るが、その他の dXTP の代りに用いた場合は反応は起らない。

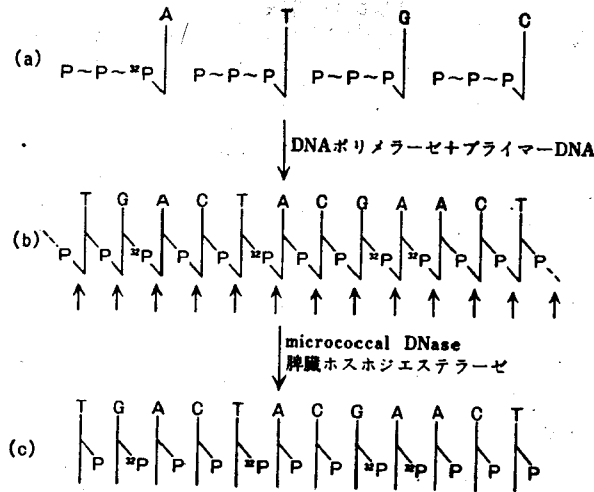
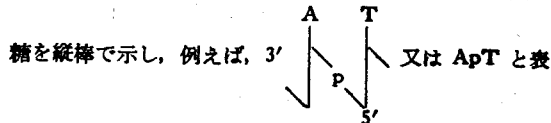


図 6.13 DNA 中の隣接ヌクレオチドの出現頻度を調べる方法 (a) 基質である dXTP. (b) 合成された DNA, 矢印はヌクレアーゼによって切断される個所を示す. (c) 分解産物である 3'-ヌクレオシド-リン酸. ヌクレオシド配列は



す。この例ではアデニル酸の 3' 位とチミジル酸の 5' 位とでホスホジエステル結合をしている。

同様に次のような置換のみが可能である。dTTP→ウラシル、5-フルオロウラシルのデオキシリボヌクレオシド三リン酸、dCTP→5-オキシメチル、5-メチル、5-プロモ、5-フルオロシトシンのデオキシリボヌクレオシド三リン酸、dGTP→ヒポキサンチンデオキシリボヌクレオシド三リン酸。

c) 合成された DNA の塩基組成だけでなく、その隣接塩基の出現頻度もプライマー DNA のそれとよく一致する。このことは、合成された DNA の塩基配列はプライマー DNA のそれを反映していることを示している。いま、基質として  $\alpha$  位のリン酸を  $^{32}\text{P}$  でラベルした dATP を他の3種のヌクレオチド、dGTP、dTTP、dCTP とともに反応系に加えて DNA を合成する。合成された DNA 鎖中では  $^{32}\text{P}$  は常にデオキシアデノシンの5'位に存在する。この DNA を図6.13のように micrococcal DNase と脾臓ホスホジエステラーゼで加水分解すると、DNA はヌクレオシド-3'-リン酸(3'-ヌクレオチド)になる。 $^{32}\text{P}$  は DNA 鎖中で A の5'側に隣接するヌクレオチドの3'位に結合した形で回収される。したがって分解物を紙電気泳動で4種のヌクレオチドを分別して、 $^{32}\text{P}$  の放射活性を測定すれば、DNA 中で A の5'側に隣接していた各ヌクレオチドの量を知ることができる(nearest neighbor analysis)。このような実験を各基質ヌクレオチドを一つずつ  $^{32}\text{P}$  でラベルして行えば、各ヌクレオチドの隣にくるヌクレオチドの出現頻度がわかる。その例として、コウシ胸腺の DNA をプライマーした場合の隣接ヌクレオチドの頻度を表6.2に示した。

表 6.2 プライマー DNA (コウシ胸腺) と、酵素的に合成された DNA の最隣接塩基の頻度

最隣接塩基配列	プライマーとして天然のコウシ胸腺 DNA	プライマーとして酵素的に合成したコウシ胸腺 DNA
ApA, TpT	0.089, 0.087	0.088, 0.083
CpA, TpG	0.080, 0.076	0.078, 0.076
GpA, TpC	0.064, 0.067	0.063, 0.054
CpT, ApG	0.067, 0.072	0.068, 0.074
GpT, ApC	0.056, 0.052	0.056, 0.051
GpG, CpC	0.050, 0.054	0.057, 0.055
TpA	0.053	0.059
ApT	0.073	0.075
CpG	0.016	0.011
GpC	0.044	0.042

(Josse ら, 1961)

この表から DNA ポリメラーゼで合成された DNA に関する次のことがわかる。

- ① プライマー DNA に特有の隣接ヌクレオチド頻度がえられる。
- ② 種々の隣接ヌクレオチドの出現頻度は、ランダムな分布からはずれている。
- ③ 常に同量ずつ存在する2種のヌクレオチド配列がある。

表にはそれらを並べてある。図6.14には *M. phlei* (霊菌) DNA を鋳型として合成される DNA の最隣接塩基の頻度を括弧内に示してある。2本の DNA 鎖が同一方向に走っていると仮定すると、結果が全く合わないことが知られるであろう。

天然の DNA をプライマーとして作られた DNA と、天然の DNA をプライマーとして酵素的に合成された DNA を改めてプライマーとして作られた DNA の隣接ヌクレオチドの出現頻度は同じである。

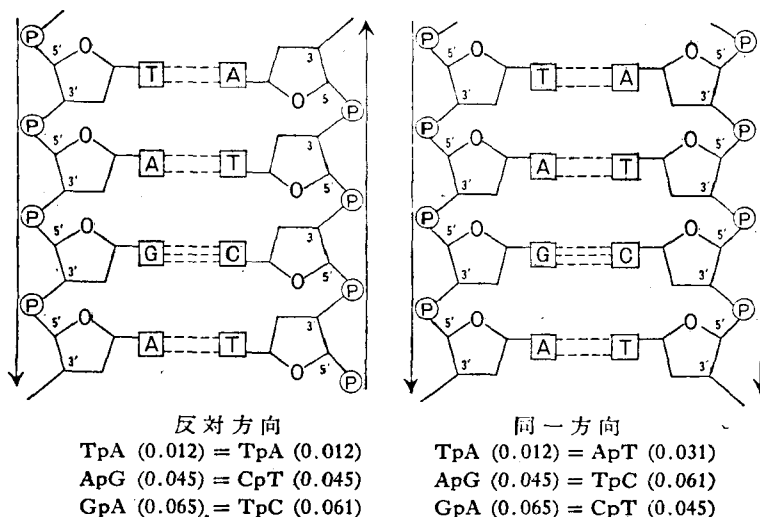


図 6.14 反対方向及び同一方向に走行する 2 本鎖の DNA モデル比較 (Josse, J. ら, 1961)

d)  $\phi$ X174 ファージの 1 本鎖 DNA をプライマーとして反応を行うと、合成された DNA 量がプライマー DNA 量の 20% の段階では、合成 DNA は  $\phi$ X174 ファージ DNA と相補的な塩基組成及び塩基配列をもっている。しかし、合成された DNA 量がプライマー DNA 量の 6 倍に達すると、生成された DNA の塩基組成及び塩基配列は  $\phi$ X174 ファージ DNA のそれと相補的な DNA の中間値を示す。これらの結果は、反応の初期ではプライマー DNA が鋳型となるため、それと相補的な DNA が作られるが、合成が進むとプライマー DNA と合成された DNA との両方が鋳型になることを示している。

iv) DNA 鎖伸長の機構 DNA ポリメラーゼによる DNA 合成反応において、DNA の末端の 3'-OH が重要な働きをしていることが示されている。

a) 1 種類の dXTP だけを基質として、プライマー DNA とともにポリメラーゼを働かせると、1~数コのスクレオチドがプライマー DNA にとりこまれる(限定反応)。この反応後に、DNA を 3' 末端から段階的に分解する蛇毒のホスホジエステラーゼで処理すると、分解が少し起きたところでとりこまれたスクレオチドが全部遊離する。このことは、スクレオチドがプライマー DNA の 3' 末端に結合していることを示している。

b) 脾臓や大腸菌の DNase の 1 種であるエンドヌクレアーゼは DNA 鎖の内部のホスホジエステル結合を加水分解して、新たな 3'-OH 末端を作る。この酵素で処理した DNA をプライマーとして 4 種の dXTP の存在下でポリメラーゼを作用させると、スクレオチドの DNA へのとりこみは著しく増加する。これに対して、3'-P 末端を生成する脾臓の DNase で処理した DNA をプライマーとした場合は、スクレオチドのとりこみは著しく低い。すなわち DNA の 3'-OH 末端の増加はプライマー活性を促進し、3'-P 末端は反応を阻害する。

c) DNA を大腸菌のエキソヌクレアーゼ III で処理すると、両鎖の 3' 末端から、モノスクレオチドを遊離しながら、図 6.15 のように DNA 鎖の 5' 側が部分的に 1 本鎖になったものがえられる。

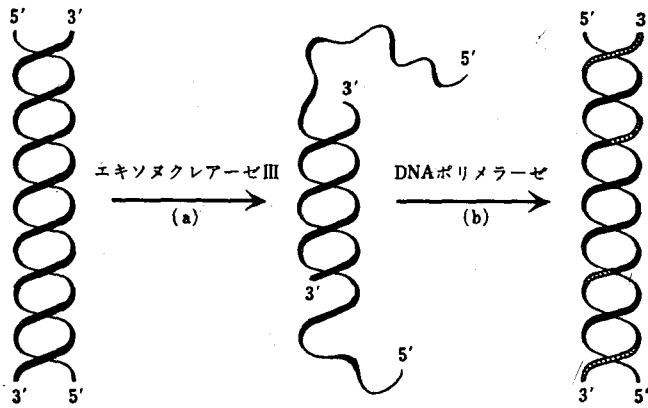


図 6.15 エキソヌクレアーゼ III によって部分分解された DNA のポリメラーゼによる修復

エキソヌクレアーゼ III を 2 本鎖 DNA に作用させると、3'-OH 末端から逐次モノヌクレオチドを遊離してゆき、図のような 1 本鎖部分の多い DNA がえられる (a)。DNA ポリメラーゼによってこのような DNA 分子の分解された部分を修復してもとの二重らせん構造にもどすことができる (b)。(C. C. Richardson ら, 1964)

4 種の dXTP は DNA ポリメラーゼの作用によって、このような DNA 分子の分解された部分にとりこまれ、もとの二重らせん構造になる。

これらの実験の結果から、DNA ポリメラーゼによる DNA の合成反応では、プライマー DNA の 3'-OH 末端が重要な役割を果たしており、DNA 鎖の伸長は DNA の末端の 3'-OH の dXTP に対する nucleophilic attack (図 6.16) によって進行することを示唆している。

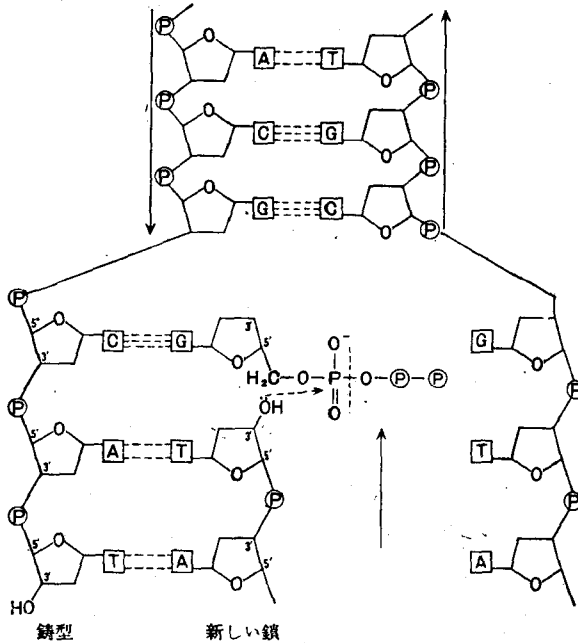


図 6.16

種々の実験から、染色体 DNA の複製は、染色体上の特定の1点で始まり、一方向に向かって進むことが示されている。

DNA ポリメラーゼは DNA 鎖を 3' 方向にしか伸ばし得ないから反対方向に走る二重鎖 DNA を一方向に伸ばすには同時に 5' 方向に伸ばす酵素も必要と考えられた。

しかし多くの検索にもかかわらず、なかなかこの酵素は発見されなかったが、遂に岡崎らが DNA

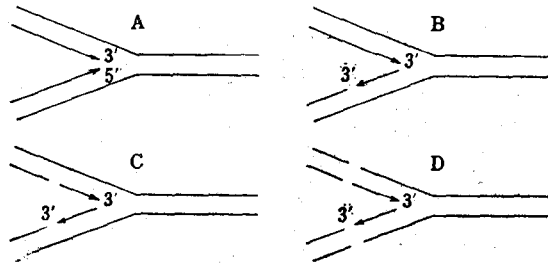


図 6-17 DNA 複製点の構造

現在までの実験成績では C 又は D の構造が妥当と考えられる。

の両鎖とも 5'→3' 方向に短い単位(岡崎フラグメント)として合成され、後にそれらが結び合されることを見出してこの謎が解かれた。

すなわち、DNA の複製点は図 6-17 のような構造を持っており両鎖共 5'→3' 方向に 1,000~

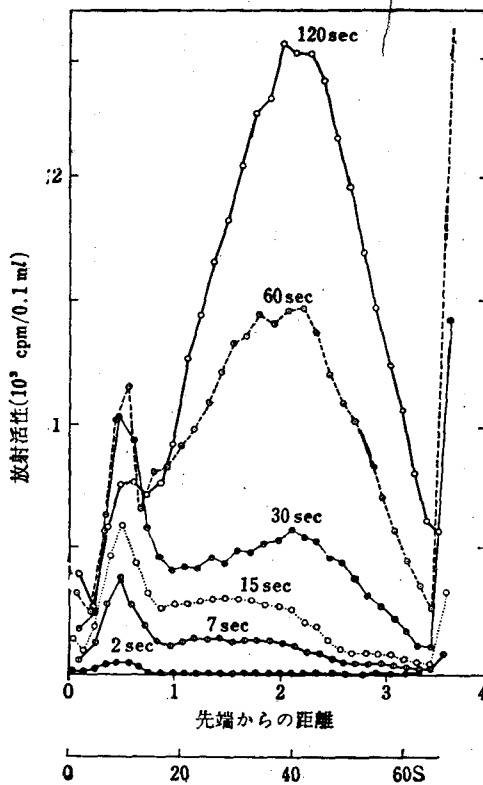


図 6-18

大腸菌にバクテリオファージ T4 を感染させ 20°C で  $[^3\text{H}]$  チミジンで所定の時間だけラベルし、DNA を NaOH-EDTA 処理で抽出してアルカリショ糖密度勾配遠心法で分析した。S 値は  $\phi$ A ファージ (19S) を規準とした。

2,000ヌクレオチド(シストロン1コの大きさとほぼ一致する)ごとに作られ、それが DNA ligase という酵素によって結合されてゆく。すなわちこの酵素はポリヌクレオチドの 3'-OH 末端と 5'-P 末端をつなぐ役目をするのである。この説の基礎となった実験の一つを図6・18に掲げておく。因みに DNA ligase が温度感受性になったバクテリオファージ T4 を高温で増殖させると、パルスラベルした DNA はショ糖密度勾配上小さい S 値(沈降定数)の所に蓄積するが、これを再び低温にもどしてやると、そのラベルは大きな DNA の方へと移動してゆく。これはまさに ligase が高温で働かなくなることから予想される結果である。

v) 生物活性をもつ DNA の合成 遺伝的特性、例えば形質転換能をもった DNA は *in vitro* における DNA ポリメラーゼのみによる合成反応では得ることができなかったが、1967年になって Kornberg らは大腸菌に対して感染能を有する  $\phi$ X174 ファージの DNA を *in vitro* で合成することに成功した。 $\phi$ X174 ファージ DNA は環状1本鎖構造をしている。このファージが大腸菌に感染すると、細胞内にファージ DNA 鎖 [(+) 鎖] に相補的な鎖 [(-) 鎖] が合成され、環状二重鎖構造をもつ増殖型 (RF: replicative form) DNA が出来る(189頁参照)。環状 (+) 鎖、(-) 鎖ともに大腸菌に感染させると子ウイルスを作る活性をもっている。(+) 鎖 DNA は煮沸した大腸菌抽出液存在下で DNA ポリメラーゼ反応の鋳型となり、(-) 鎖が合成される。このとき、DNA ligase を加えておくとその作用によって環状構造が形成される。こうして合成された環状 (-) 鎖を分離して、同じように環状 (+) 鎖をポリメラーゼと ligase の反応によって作る事ができる。このようにして合成された (+)、(-) の二つの環状 DNA がともに、ファージ感染時に大腸菌細胞内にみられる (+) (-) 環状 DNA と同程度の感染能をもつことが示されたのである。

vi) RNA ウィルス 多くの生物では遺伝子は DNA であるが、ウィルスでは1本鎖の RNA を遺伝子としてもつものがある。最も有名な例は、1935年 Stanley によって結晶化されたタバコモザイクウィルス (TMV) である。TMV は全体として棒状の構造をしているが、図6・19のように、タ

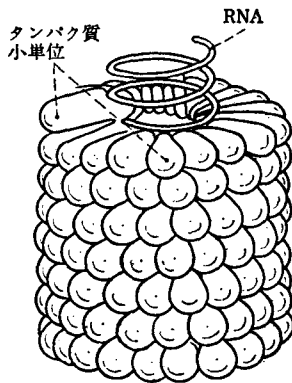


図 6・19

タバコモザイクウィルス粒子の一部で、タンパク質の小単位がらせん状の配列をもつことを示す。RNA はタンパク質の小単位の中から存在する。図では RNA らせんの上部の2回旋した部分を示すためにタンパク質の小単位を一部分取り去って示してある。

ンパク質の小単位がらせん状配列をしており、RNA はその中にらせん状にうめこまれている。TMV には多くの変異株があり、それらはタバコの葉に起す病変、血清学的性質、タンパク質のアミノ酸組成などによって互いに区別される。Fraenkel-Conrat (1955) は TMV の二つの株からそれぞれタンパク質と RNA を分離し、一方のタンパク質と他方の RNA を混ぜると互いに異なる株からの RNA とタンパク質をもち、しかも感染能をもつ再構成ウィルスが出来ることを見出した。この再構



成ウイルスをタバコの葉に感染させてウイルスを増殖させると、生じた子ウイルスの性質は、RNAを提供した株の性質と一致することがわかった。更に Fraenkel-Conrat は RNA だけでも感染が起ることを見出した。これらの実験は、TMV の形質が RNA のもつ情報によって支配されていることを意味している。他の RNA ウィルスにおいてもウイルスから単離された RNA によって増殖をひき起すことが明らかにされている。

バクテリオファージの1種である Q $\beta$  という RNA ウィルスが、その宿主である大腸菌に感染すると、その RNA の複製に必要な RNA 合成酵素 (RNA レプリカーゼ) が出来る。春名と Spiegelman (1965) はこの酵素を精製して、試験管内で遺伝子 RNA の合成を試み、その鋳型として Q $\beta$  RNA を加えると、ウイルス活性をもった RNA の合成ができることを見出した。この発見は活性のある遺伝子の *in vitro* 合成としては最初の実験である。

6.9.4 タンパク質の生合成——遺伝情報の発現

細胞内でタンパク質が合成される過程を模式化すると図6.20のようになる。タンパク質の特異性、

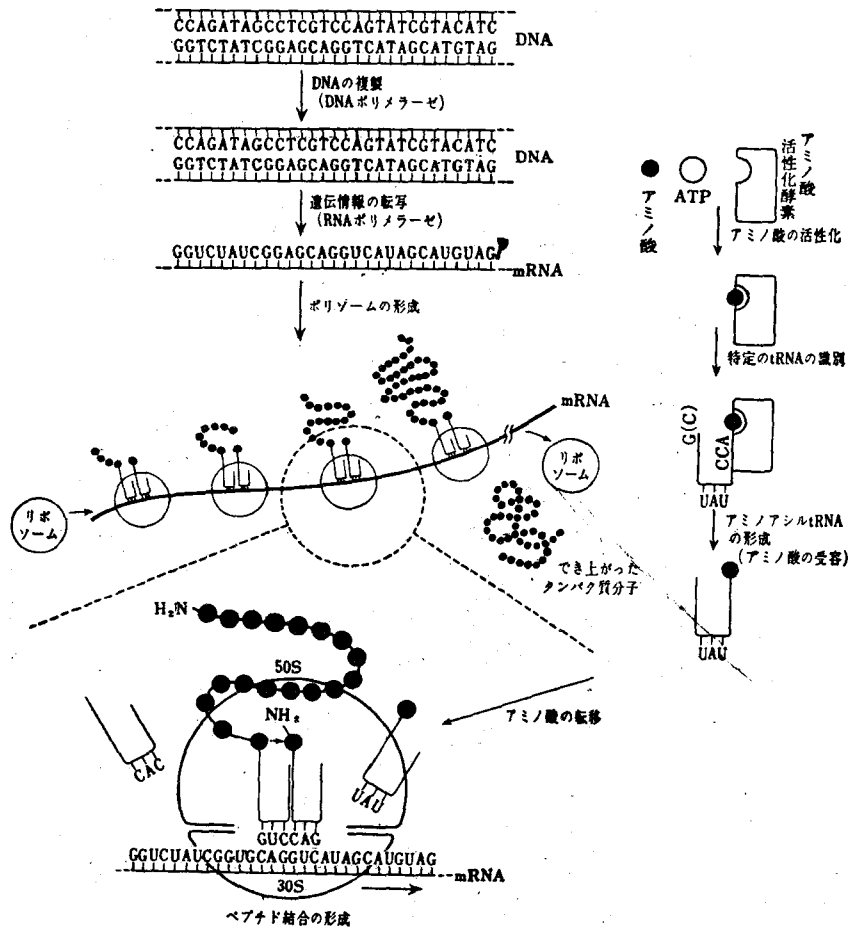


図 6.20 タンパク質合成過程の模式図

すなわちそれぞれのタンパク質に特有の一定のアミノ酸配列を決める情報は遺伝子である DNA 分子の塩基配列の中に記録されている。遺伝子が“活性化”されるとこの情報は mRNA へと転写される。mRNA のヌクレオチド配列は DNA のヌクレオチド配列と相補的である。mRNA は、合成されるタンパク質のアミノ酸配列を決める直接の鋳型として作用するが、これは数コのリボソームと呼ばれる RNA-タンパク質複合体と結合してポリソームというタンパク合成の場を形成する。一方、タンパク質の構成単位であるアミノ酸は、まず ATP により活性化され、ついで tRNA と結合する。tRNA には 20 種の異なるアミノ酸に対して特異的な分子が少なくとも 1 種類存在する。アミノ酸はそれぞれ自己に特異的な tRNA と結合する。あるアミノ酸に特異的な tRNA は、そのアミノ酸に対応する遺伝暗号と相補的な構造を分子内にもっており、その部分がポリソーム上の mRNA 上の遺伝暗号に対応して mRNA と結合する。こうして、mRNA のリボソームと結合した部分に、その部位の遺伝暗号にあうアミノ酸を結合した tRNA が順次付加してアミノ酸分子間にペプチド結合が形成され、mRNA のヌクレオチド配列によって指定される通りのアミノ酸配列をもったポリペプチド鎖が伸長していく。出来上がったポリペプチドは立体的に折れたたまって機能をもったタンパク質分子となる。

### 1) RNA とタンパク質合成

Brachet や Caspersson により 1930 年代から 1940 年代にかけて行われた細胞化学的な研究によって、タンパク質の合成に RNA がなんらかの方法で関与していることが示唆されていた。Brachet (1933) は動物卵の発生に際して、全核酸(リン酸として定量)の変動と DNA 量との変動が平行しないことを報告し、DNA 以外の核酸の重要性を示したが、更に Kunitz が膵臓から精製したリボヌクレアーゼを用いて、動物細胞の細胞質に多量に存在する核酸は RNA であることを明らかにした(1941)。一方、Caspersson (1941) は、細胞の微細部分の UV 吸収を測定する装置を開発し、細胞質に多量の核酸が存在することを証明し、動物の細胞について腸間膜>肝臓>膵臓>リンパ節>腎臓の順で RNA 量の多いこと、またこの順でタンパク合成量の大きいことを明らかにした。更にタンパク質を多量に生産する細胞の系統的な研究から、“リボ核酸のあるところ、必ずタンパク質の合成あり”という一般命題をだした。

### 2) 遺伝情報の転写——mRNA の合成

i) mRNA の発見 1956年、Volkin と Astrachan は、T2 フェージが宿主である大腸菌に感染したときにみられる RNA 合成の変化の様相を解析した。それによると、T2 フェージの感染により RNA 量の正味の増加は停止するにもかかわらず、培養液中に加えられた  $^{32}\text{P}$ -リン酸は急速に RNA 画分にとりこまれる。 $^{32}\text{P}$  をとりこむ RNA の塩基組成は、T2 フェージの DNA の塩基組成と類

表 6.3 T2 フェージ感染後に出来る RNA の塩基組成 (mol %) の比較

	A	C (HMC)	G	U (T)
<i>E. coli</i> DNA	26	25	25	24
<i>E. coli</i> RNA	23	23	32	22
T2 フェージ DNA	32.5	16.7	18.2	32.6
T2 感染後の RNA	32	18	18	32

(E. Volkin, 1962.)

似しており、大腸菌の RNA の塩基組成とは全く異なっている (表 6.3).

またファージ感染菌に  $^{32}\text{P}$  をとりこませてから、大量の非放射性的  $^{31}\text{P}$ -リン酸を加えて  $^{32}\text{P}$  を希釈すると、RNA 中にとりこまれていた  $^{32}\text{P}$  の大部分が直ちに失われる。このことは、この RNA が速やかに *turn over* している (合成後速やかに分解される) ことを示している。野村, Spiegelman ら (1960) は、この RNA が rRNA (16S と 23S) とは異なり、約 8S の沈降定数をもつことを示すとともに、細胞をできるだけ温和にこわして、この RNA を抽出し、それが大腸菌のリボソーム顆粒の 30S 成分とゆるく結合していることを明らかにした。そしてまた、この RNA が変性した T2 DNA とよく hybridize する (DNA-RNA ハイブリッドを形成する) ことを示し、T2 の遺伝情報を転写した分子であることを証明した (次節)。

タンパク質合成の研究の進歩によって、リボソーム顆粒が細胞内でのタンパク合成の場であることが明らかとなっていたので、ファージ感染後に出来るこの RNA は、ファージ DNA からタンパク質への遺伝情報伝達に重要な役割を果たす中間体であることが示唆された。そのうち、ファージ感染後に現われる塩基組成の点で特異的な *turn over* の速いこの RNA は、細菌、高等動物細胞などにも普遍的に存在することが実証され、この種の RNA は遺伝情報の伝達者という意味で、*messenger RNA* (mRNA) とよばれるようになった。

一方そのころ、DNA を鋳型として4種類のリボヌクレオシド三リン酸から RNA を合成する RNA ポリメラーゼといわれる酵素が、種々の材料から抽出、精製された。この酵素による反応は、完全に DNA の添加に依存し、生成した RNA の塩基組成は DNA と一致する。またこの反応系で合成される RNA は *in vitro* でタンパク合成反応を促進することも見出され、mRNA 合成の酵素反応は RNA ポリメラーゼによって触媒されることが結論されている。

ii) mRNA の性質 DNA の保存する遺伝的情報は、mRNA にそのリボヌクレオチド配列として移されていると考えられる。バクテリオファージの DNA の塩基組成と、ファージ感染後に出来る mRNA の塩基組成とはよく一致するが、DNA と RNA はそれぞれ4種類のための塩基によって構成されるものであるから、塩基組成の一致は必ずしもヌクレオチド配列の一致を意味するものではない。もし、mRNA がファージ DNA の二重鎖のどちらか、あるいは両方に対して G-C, A-T, U-A, C-G の対応にみられるような塩基対の対応を保持して、DNA の塩基配列を相補的に写しとっているとすると、DNA の2本の鎖の間におけると同様に DNA 鎖と mRNA 鎖の間は塩基対による水素結合で DNA-RNA ハイブリッドを作ることが可能なはずである。

Spiegelman ら (1961) は、ファージが大腸菌に感染した後数分で合成される mRNA を  $^{32}\text{P}$  でラベルし、一方、 $^3\text{H}$  チミジンでラベルした T2 ファージ DNA を調製した。 $^3\text{H}$ -DNA をその  $T_m$  以上に加熱して1本鎖とし、 $^{32}\text{P}$ -mRNA を加えてゆっくり冷却して DNA-RNA ハイブリッドの形成を徐冷混合物を CsCl の密度勾配遠心にかけて調べた。RNA と DNA の密度は異なるから、もし両者がハイブリッドを作らなければ  $^3\text{H}$  と  $^{32}\text{P}$  は密度勾配中で別々のところに位置するはずである。実際の結果、 $^3\text{H}$  と  $^{32}\text{P}$  とは全く同じ位置にあることがわかり、DNA と RNA とからハイブリッドが形成されたことが明らかとなった。このハイブリッドは薄い RNase で処理しても消失せず、ハイブリッド中で DNA のポリヌクレオチド鎖と RNA のポリヌクレオチド鎖とが塩基対を形成して二重鎖になっていることが示唆される。このようなハイブリッド形成は、T2 ファージ DNA

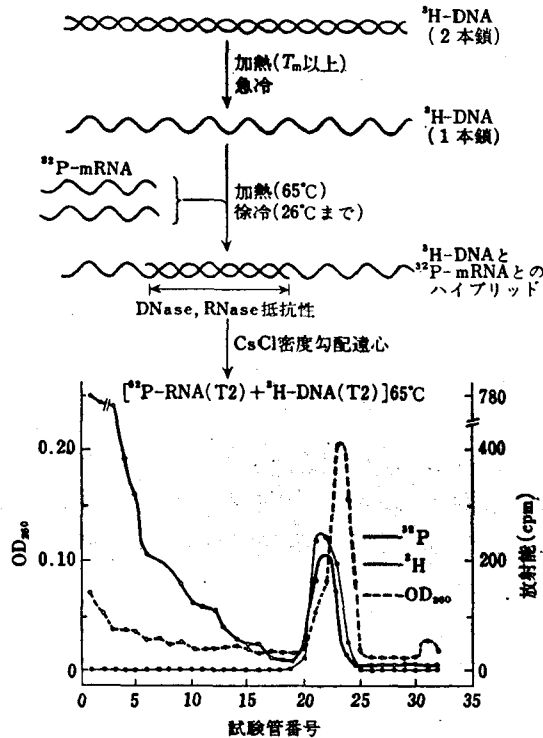


図 6-21 DNA-RNA ハイブリッドの形成  
(B. D. Hall と Spiegelman, 1961)

を大腸菌の DNA や T5 ファージ DNA で置き換えるとみられなくなる。これらの結果から、T2 ファージ感染後に出来る mRNA は T2 ファージの塩基配列を転写した相補的な構造をもっていると考えられる。

mRNA が DNA を鋳型として作られるとき、DNA の 2 本鎖がともに鋳型として用いられるのか、それとも DNA の 2 本鎖の一方だけが鋳型となるのであろうか。常識的に考えて、DNA の一つの鎖が遺伝情報を持っているとすれば、それと相補的な鎖が何か意味のあるヌクレオチド配列を持っているとは考え難い。したがって生体内では二重鎖 DNA の 1 本の鎖(同じ部分に関しては)のみが RNA に転写されるであろうと想像される。事実、通常の細胞から注意深く調製された mRNA の塩基組成を調べると、必ずしも  $A=U$ ,  $G=C$  とならないこと、また mRNA は DNA と異なり加熱による変性現象が起らないこと、RNase によって容易に加水分解されること、から mRNA は 1 本鎖であると考えられている。このことは、mRNA には DNA の一方の鎖の塩基配列だけが転写されることを暗示している。この可能性は次のような実験によっても確かめられた。

枯草菌に感染する SP8 というファージの DNA は、G+C 含量が 17.5% である。この DNA は、二重鎖の状態ではその密度 ( $\rho$ ) が 1.743 であるが、熱変性すると L 鎖 ( $\rho=1.756$ ) と H 鎖 ( $\rho=1.762$ ) の 2 本の密度の異なる 1 本鎖 DNA に分かれる。L 鎖と H 鎖の密度の差はピリミジンとプリン塩基の両鎖への分布が異なることに起因する。

Marmur ら (1963) は、 $^3\text{H}$ -ウリジン存在下で SP8 を枯草菌に感染させて  $^3\text{H}$ -mRNA を作り、SP8 DNA の H 鎖と L 鎖と独立にハイブリッド形成処理をした。CsCl 密度勾配遠心を行った後、RNase 処理により分解されないで残る放射能活性の分布を測定すると、H 鎖を含む分画に  $^3\text{H}$  が分布していることがわかった。すなわち SP8 感染によって合成された mRNA は、ほとんどすべてがこのファージの H 鎖とだけ相補的結合によってハイブリッドを形成し、L 鎖とはほとんどハイブリッドを形成しないことが示された。同様の実験が林ら (1963) によって行われた。彼らは天然に存在するバクテリオファージで、その DNA が 1 本鎖から出来ている  $\phi\text{X174}$  を用いた。このファージが大腸菌に感染するとその塩基組成がファージ、宿主菌の DNA のいずれとも異なる二重鎖 DNA が形成される (RF-replicative form)。RF-DNA の一方の鎖は  $\phi\text{X174}$  ファージ DNA と同じ塩基組成をもち、他方の鎖はそれと相補的な構造をもっている。 $\phi\text{X174}$  ファージの感染によって合成される  $^3\text{H}$ -mRNA を、 $\phi\text{X174}$  ファージ DNA 及び RF-DNA ( $^{32}\text{P}$ ) と独立にハイブリッドを形成し、 $^3\text{H}$  と  $^{32}\text{P}$  の分布状態が調べられた。その結果、mRNA は RF-DNA とのみハイブリッドを形成し、その塩基組成は  $\phi\text{X}$ -DNA の組成と一致することがわかった。したがって RF に含まれる  $\phi\text{X}$ -DNA と相補的な塩基配列をもつ鎖のみが mRNA に写しとられていることがわかる。しかし、 $\phi$ ファージなどでは、必ずしも同じ鎖のみが転写されているわけではないので、一続きの DNA ゲノムを持つ生物でも場所(遺伝子)により異なる鎖が読まれるものと考えられる。これは同時に DNA 上に mRNA の読まれる方向が逆であることも意味する。

mRNA の寿命に関しては、誘導酵素である  $\beta$ -ガラクトシダーゼ合成系の mRNA について詳細な実験が行われ、一度生成された mRNA は 2~3 分しか存続しないこと、半減期は 1 分であることが明らかにされた。また大腸菌の発育時の種々の mRNA の半減期は 3.5 分であるといわれている。mRNA はこのように比較的短時間に崩壊するが、その崩壊はエネルギーの供給を止めたり、クロラムフェニコールを加えることによりタンパク合成を阻害すると著しく保護される。したがって、大腸菌においては mRNA はその機能発現後速やかに崩壊することが強く示唆される。

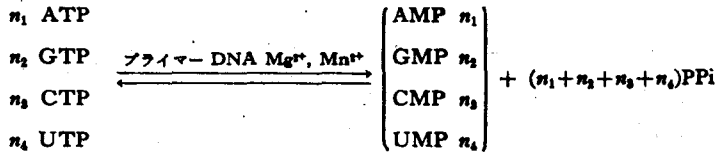
一方、動物細胞においては細胞質、特にポリソーム(後述)内に mRNA が証明されるが、その寿命は比較的長いものが多く、半減期は数時間から数日、あるいは更に長いものもある。肝臓のアルブミン mRNA や、網状赤血球中のヘモグロビン mRNA などはそのよい例である。ちなみに mRNA の単離精製は、適当な動物細胞を用いた方が容易であることは、上記の性質からも想像されよう。しかし肝臓などの多方面の機能を有する臓器の細胞は、それだけ多種類のタンパクを合成しており、それに比例して多くの mRNA を持っているはずだから、材料としては適当でない。高度に分化して、一つのタンパク質のみを大量に作っている細胞集団がこの目的には望ましい。その例として、網状赤血球(ヘモグロビン)、カイコの後部絹糸腺細胞(フィブロイン)、ミエローマ細胞(免疫グロブリン)などがある。例えばマウスにフェニルヒドラジンを注射して貧血を起させ、増加した網状赤血球から RNA を取り、これをシオ糖密度勾配遠心法で分画すると、約 9S の沈降定数の部分に小さなピークが見られ、これがヘモグロビン mRNA であることがわかった。9S の大きさは約 500 ヌクレオチドであるから後に述べるトリプレットによると丁度ヘモグロビン分子 ( $\alpha$  鎖: 141 アミノ酸,  $\beta$  鎖: 146 アミノ酸) をコードするのに十分な大きさであることがわかる。この遠心法のみでは多量に存在するリボソーム RNA などの汚染のために純粋なヘモグロビン mRNA をとることは困難であったが、

後に動物細胞の mRNA の大部分(ヒストン mRNA 以外はすべてといわれる)は、その 3' 末端に poly (A) 配列がついていることがわかり、これを利用して比較的容易に mRNA の精製が行われるようになった。

すなわち poly (dT) や poly (U) を共有結合的にセルロースや agarose につけたものでカラムを作り、そこに上記 RNA を通すと、一定の塩濃度では poly (A) を持つ RNA のみがくづつく。この方法と上記遠心法を利用して、ヘモグロビン mRNA は高度に精製され、その構造や機能が詳しく調べられ始めている。

### iii) RNA ポリメラーゼ

**反応様式** 1959年から1960年にかけて、アメリカの幾つかの研究室で、DNA 存在下で4種類のリボヌクレオシド三リン酸を RNA と思われる酸不溶性画分にとりこむ酵素活性が、細菌、動物組織に存在することが見出された。反応に DNA を必要とする点で、この活性が DNA から RNA への情報の転写(transcription)の素過程のかぎを握る酵素によるものであることが予測された。その後、この酵素は広範な細胞から抽出、精製され(DNA 依存 RNA ポリメラーゼ, RPass), 次式によって示される反応を触媒することが証明された。



DNA を加えない場合は反応はほとんど起らず、生成 RNA の  $n_1:n_2:n_3:n_4$  はプライマー DNA の A:G:C:T にほぼ等しいことが示された。

RNA ポリメラーゼによる反応で生成した RNA がプライマー DNA の塩基配列を相補的に移しとっていることは、塩基組成の一致ばかりでなく、隣接ジヌクレオチド分布を調べることによって確かめられている。表 6.4 から、プライマーとしてコウシ胸腺 DNA と生成 RNA のジヌクレオチド

表 6.4 プライマーと生成 RNA のジヌクレオチド分布

ジヌクレオチド	コウシ胸腺 DNA			
	プライマー		合成 RNA	
ApA UpU	0.089	0.087	0.088	0.087
CpA UpG	0.080	0.076	0.077	0.077
GpA UpC	0.064	0.067	0.062	0.076
CpU ApG	0.067	0.072	0.070	0.066
GpU ApC	0.056	0.052	0.058	0.048
GpG CpC	0.050	0.054	0.049	0.050
UpA	0.053		0.050	
ApU	0.073		0.076	
CyG	0.016		0.021	
GpC	0.044		0.044	

プライマーの値は U について T と置き換えたものである。  
(Hurwitz ら, 1962)

分布がよく一致していることがわかる。また、 $\phi$ X174 ファージの1本鎖 DNA をプライマー DNA として用いると、それと相補的な塩基組成をもった RNA が合成される。更に生成 RNA はプライマー DNA とハイブリッドを作ることが明らかになり、DNA と mRNA とにみられたような対応が、DNA と RPase によって生成した RNA との間にも成立することがわかった。したがって RPase の反応では、プライマー DNA は鋳型として働き、生成する RNA は DNA のヌクレオチド配列を相補的によみとっていると考えられる。

**鎖伸長の機構と方向** RNA ポリメラーゼ反応の分子機構について Hurwitz ら (1965) は次のような実験を行った。すなわち  $\beta, \gamma$  位のリン酸基を  $^{32}\text{P}$  でラベルした ATP を他の3種のリボヌクレオシド三リン酸とともに基質として RPase 反応を行わせ、合成された RNA をアルカリ分解した。アルカリ分解産物中には  $\beta, \gamma$  位に  $^{32}\text{P}$  をもつアデノシン四リン酸 (pppAp) が回収された。RNA はアルカリ処理によって162頁の図のように分解されるから、この結果は 3'-OH 末端とヌクレオチドの 5'-三リン酸とが反応してエステル結合を形成することを示している。しかし、これのみではこの RNA 鎖が 3' 方向へ伸長するのか (a)、あるいは 5' 方向へ伸長するのか (b) を区別することはできない。Bremer ら (1965) は、 $^{32}\text{P}$  でラベルした ATP を用いて RPase 反応を行わせ、途中で過剰の非放射性の ATP を加えてその比放射能を下げ、しかる後、反応を止めて上述の pppAp の比放射能の変化をみた。もし、RNA 鎖が (b) の機構で伸びるとするならば、アルカリ分解で生ずる pppAp の比放射能は強く減少するであろう。しかし結果はこれに反し、pppAp の比放射能に大きな変化が認められず、これが反応の初期にとりこまれたものであることが明らかとなった。すなわち RNA 鎖は 5'  $\rightarrow$  3' 方向に伸長するのであり、これは細胞内の mRNA 合成の方向とも一致するものである。

**鎖選択** *In vitro* の RPase 系では、塩基組成や最隣接ジヌクレオチド分布などから想像されるように、二重鎖 DNA の両鎖共転写される場合が多い。mRNA の所で述べたように通常 *in vivo* では同じ DNA の片方の鎖のみが転写されているはずであるから、これら *in vitro* の系では何らかの鎖選択能力が欠除していると考えられる。しかし近年、無傷な DNA と RPase をとる方法が進歩して、特殊な系では *in vitro* でも正しい鎖選択を行わせることができるようになった (非対称的転写, asymmetric transcription)。例えば林ら (1964) は  $\phi$ X174 ファージの複製形 (二重らせん) を鋳型として用いると、細胞内で mRNA が合成されるときによまれる側の DNA 鎖のみが鋳型となることを示した。

一方、ウイルスゲノムやミトコンドリアゲノムの転写の一部は *in vivo* でも対称的であると考えられるデータも報告されている。すなわち *in vivo* で作られる RNA が互いに hybridize して二重鎖 RNA を作る能力があるのである。これらは特殊な場合と考えられるが、その生理的意義はよく

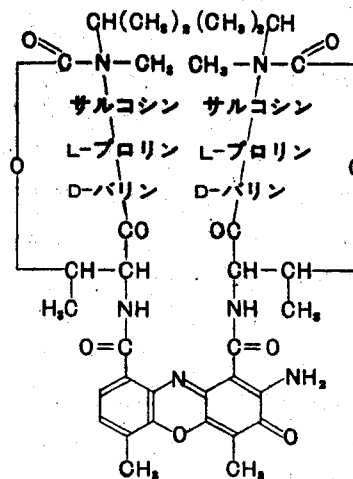


図 6.22 アクチノマイシンの構造

わかっていない。

iv) **RPase のサブユニットと多様性** 大腸菌の RPase は十分に精製され調べられたが、その分子量は約 50 万であり、4 種のサブユニットから構成されていることがわかった。すなわち  $\alpha, \beta, \beta', \sigma$  の四つのサブユニットであって、分子量はそれぞれ 39,000, 155,000, 165,000 及び 95,000 である。通常、酵素は  $\alpha$  サブユニット 2 コと他のサブユニット各 1 コから成る  $\alpha_2\beta\beta'\sigma$  の構造を持つが (holo 酵素と呼ぶ)、ホスホセルロースカラムにかけると  $\sigma$  サブユニット ( $\sigma$  因子と呼ばれる) のみがはずれて  $\alpha_2\beta\beta'$  となる。これを core 酵素と呼ぶ。Core 酵素は nick の入った DNA をよく読むが、無傷の T4 DNA を転写することができない。

これに  $\sigma$  を加えて holo 酵素にしてやると、この鑄型をよく読むことができる。したがって、 $\sigma$  サブユニットは、DNA 上の転写開始部位を認識して、そこへ酵素が結合するのを助けていると考えられる。いろいろな実験から各サブユニットが、かなり分担した機能を持つらしい。例えば  $\beta'$  サブユニットは DNA との結合に関与し、 $\beta$  サブユニットは基質 XTP を結合して、phosphodiester 結合を形成していくのに主要な役割を果たす。 $\alpha$  の作用はよくわかっていないが、いずれのサブユニットもそのみでは十分その作用を発揮できず、完全な酵素として集合した時にのみ正しく作用を発現することはタンパクの集合による機能の変化ないしは調節の見事な例であろう。

近年、有核細胞の RPase が精製分画されたが、それらには少なくとも 3 種の異なる RPase が存在することが明らかとなった。その一つは核小体内に存在するもので、RPase I (又は A) と呼ばれ、恐らくリボソーム RNA の合成に関与しているものであり、他の一つは核質内に存在する RPase II (又は B) であって、恐らく mRNA や他の核 RNA を転写していると考えられる。もう一つの RPase III (又は C) は転移 RNA や 5S RNA を合成しているらしい。これら有核細胞の RPase も数コサブユニットによって構成されていることが明らかになっている。

v) **RPase 反応の阻害** 抗生物質の一つであるアクチノマイシン D (図 6-22) はグラム陽性細菌

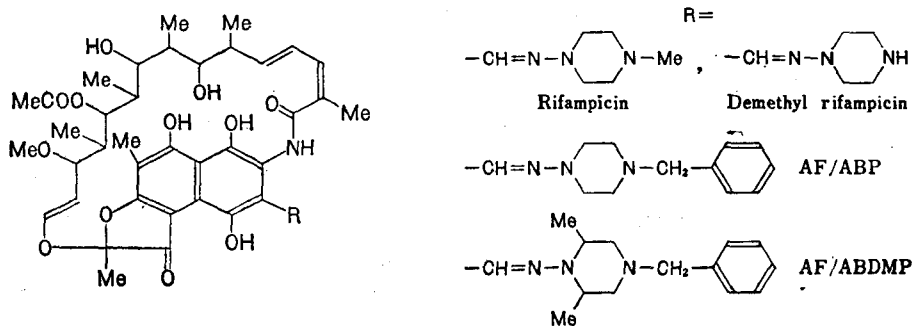


図 6-23 リファンピシンとその誘導体

の RNA 合成の強い阻害剤である。Hurwitz ら (1962) は、RPase 反応におけるアクチノマイシン D の作用を詳細に調べ、次のようなことを明らかにした。

- ① アクチノマイシン D は低濃度で RPase 反応を特異的に阻害する。
- ② その阻害の程度はプライマー DNA の G 含量と比例して強くなる。
- ③ ポリ dT や dAT コポリマー、dC ホモポリマーをプライマーとする反応には全く影響を及ぼさない。



またその後の研究により、アクチノマイシン D は DNA の GMP と特異的に結合することがわかった。したがってアクチノマイシン D は RPase そのものに作用する阻害剤ではなく、DNA との相互作用によって、そのプライマーとしての能力を失わせるものであると考えらる。

一方、RPase そのものに働く抗生物質としてはリファンピシンがある(図 6.23)。これは大腸菌などの RPase の  $\beta$  サブユニットに結合して転写の開始を阻止するが、いったん転写を開始した RPase には働かない。このリファンピシンの誘導体は有核細胞の RPase や、後に述べる RNA 依存 DNA 合成酵素をも阻害することが見出された。有核細胞の RPase に関しては、*Amanita phalloides* (毒茸の 1 種) から取った  $\alpha$ -amanitin (図 6.24) が RPase II の特異的阻害剤であることが知られてい

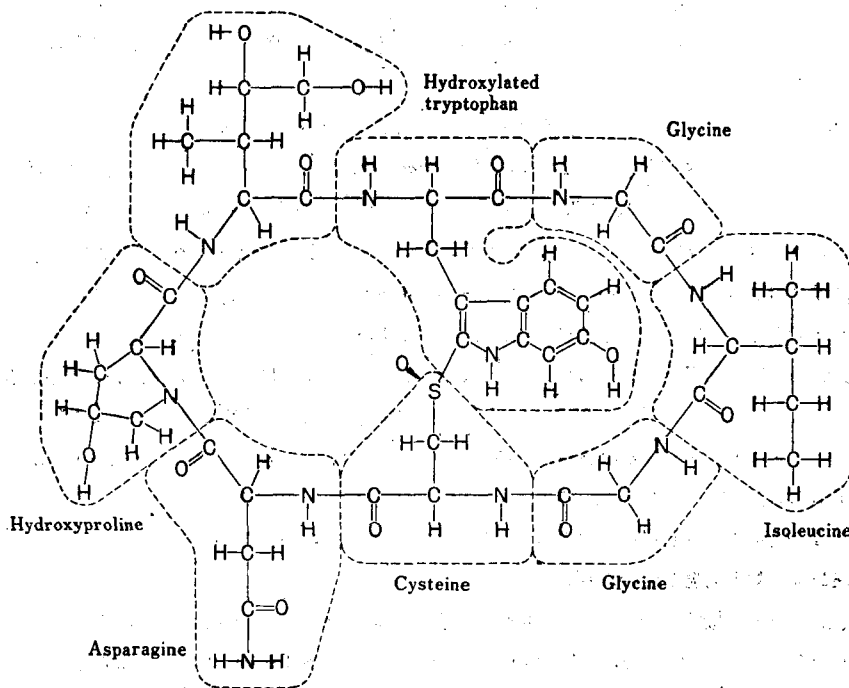


図 6.24  $\alpha$ -アマニチン

る。この作用は極めて特異的で RPase I には全く作用しない。

この作用機序は転写開始ではなく、鎖伸長を止めるものである。

vi) 形質発現調節の機構——ヒストンと酸性タンパク質——多細胞生物の DNA は、細胞内で遊離の状態で存在しているのではなく、ヒストンとよばれる分子量の比較的小さい塩基性タンパク質や非ヒストンタンパク質又は酸性タンパク質と呼ばれる複雑なタンパク質と結合している。また多細胞生物の体細胞は、一つの種ではどれも同じ染色体、すなわち一連の同じ遺伝子をもっている。しかし、個々の細胞は、個体発生の過程で分化し、その結果、それぞれに特有のタンパク質を合成して、特異的な機能を営むようになる。これらのことは、種々の細胞で DNA がもっている遺伝情報は、常にすべて発現されているわけではなく、DNA の特定部分、すなわち特定の遺伝子の情報だけが発現して、それによってタンパク質が合成されていることを意味している。

このように細胞ごとに異なる遺伝子が機能するようになるためには、なんらかの仕組で遺伝子の機能を抑制することが必要であるが、そのような役割を果たすものとして、ヒストンが注目されている。

Huang と Bonner (1962) とはエンドウマメの胚芽からクロマチン (chromatin)——主成分として、DNA-ヒストン及び酸性タンパク質を含む——を抽出して、RNA ポリメラーゼ反応のプライマーとしての活性を調べた。それによると、クロマチンをそのままプライマーとして用いると、別に同じ胚芽から単離精製した DNA に比べてプライマー活性が極めて低いこと、クロマチンからヒストンを取り除くと活性が著しく増加することがわかった。

一方 DNA-ヒストン複合体(ヌクレオヒストン)にクロマチンの酸性タンパクを添加すると、その鋳型活性は高まる。これはヒストンが DNA の転写を制限し、酸性タンパクがこれを解除していることを推察させる。

その後、クロマチンを鋳型にして *in vitro* で作られる RNA を DNA-RNA hybridization competition 法によって調べた結果、その組織が *in vivo* で合成している RNA と相似た配列を持つ RNA が作られ、組織によって特異性があることが明らかとなった。Paul と Gilmour (1969) や Spelsberg, Hnilica (1970) は、クロマチンを DNA, ヒストン及び酸性タンパクに解離した後、再構成する方法を用い、異なる組合せによって生じた再構成クロマチンを鋳型として作られる RNA を調べた。その結果、RNA の組織特異性を決めるのは DNA でもヒストンでもなくて、酸性タンパクであるという結果を得た。最近ではヘモグロビン遺伝子の転写が酸性タンパク質によって規定されるという報告もある。クロマチンの酸性タンパクはその種類が多く、SDS-アクリルアミドゲル電気泳動によるバンドのパターンは組織特異的であるという。これらは一般に代謝回転が速い上にリン酸化などの修飾も盛んらしい。ヒストンのアセチル化、リン酸化、等の修飾も知られているが、これら核タンパク質の代謝が形質発現の制御において果たす役割は今後の重要な課題である。

### 3) 逆転写酵素の発見とその意義

最近まで、遺伝情報は DNA から RNA を通してタンパク質に伝わると考えられその逆方向の伝達は全く考えられていなかった。Mizutani と Temin 及び Baltimore はそれぞれ独立に RNA 腫瘍ウイルスが RNA を鋳型として、それと相補的な DNA を合成する酵素を持っていることを見出した (1970)。これらの RNA 腫瘍ウイルスは C 型ウイルスともいわれ、ラウス肉腫(トリ)、トリ白血病、マウス白血病、マウス肉腫、ネコ白血病等、多くの動物に肉腫や白血病、あるいは乳癌(このものは B 型粒子といわれる)を起す 1 群のウイルスである。

これらの精製したウイルス粒子を試験管内で界面活性剤で壊して 4 種の dXTP と共にインキュベートすると、DNA が合成されることがわかった。生成物は始めはウイルス RNA (30~40S のサブユニットより成る 70S といわれる) とのハイブリッドとして形成されるが、やがて、2 本鎖 DNA が合成されて来る。最初に来る DNA がウイルス RNA と相補的であることはハイブリッド形成により証明されるが、この *in vitro* の系ではウイルス RNA の一部のみが、よく鋳型となっており、全体が完全に逆転写されているのではない。しかし、この酵素 (RNA 依存 DNA 合成酵素、又は逆転写酵素) が存在することは、このウイルスゲノムが *in vivo* で DNA の形に逆転写され得ることを示すものであり、RNA 腫瘍ウイルスが DNA の形で宿主細胞の DNA 中に組み込まれるという仮

説を支持する大きな証拠となった。現在、この酵素は高度に精製されているが、最初にハイブリッドを作る酵素と、それを鋳型として2本鎖DNAを作る酵素とは分離できず、同一物と考えられている。この酵素とよく似た性質を示す酵素(1種のDNAポリメラーゼ、ただしRNAをよく鋳型とする)は、正常細胞からも検出されるが、その生理学的意義はよくわかっていない。

#### 4) タンパク質合成の場合

i) ミクロソーム Claude (1946), Hogeboom (1948) らは、等張のショ糖溶液中で細胞を破壊すると、色々な細胞構成成分がうまく元の形のままでとりださうことを報告した。例えば0.25Mショ糖溶液中で肝臓をホモジナイズして遠心分画すると、核・ミトコンドリアを分取することができる。ミトコンドリアを取り除いた上清を更に強く遠心すると、核やミトコンドリアとは異なる直径200nmの顆粒から構成された顆粒状画分、ミクロソームがえられる。ミクロソーム画分には、細胞に含まれるRNAの大半が局在している。1955年、Littlefield らはミクロソームをデオキシコール酸で処理してリボタンパク質とリボヌクレオタンパク質(RNAとタンパク質複合体)顆粒とに分離した。

ii) ミクロソームとタンパク合成 生きた細胞のどこでタンパク合成が行われるかという問題に対して、このようにして確立された細胞成分の分離法と放射性同位元素でラベルされたアミノ酸の使用は極めて有効であった。

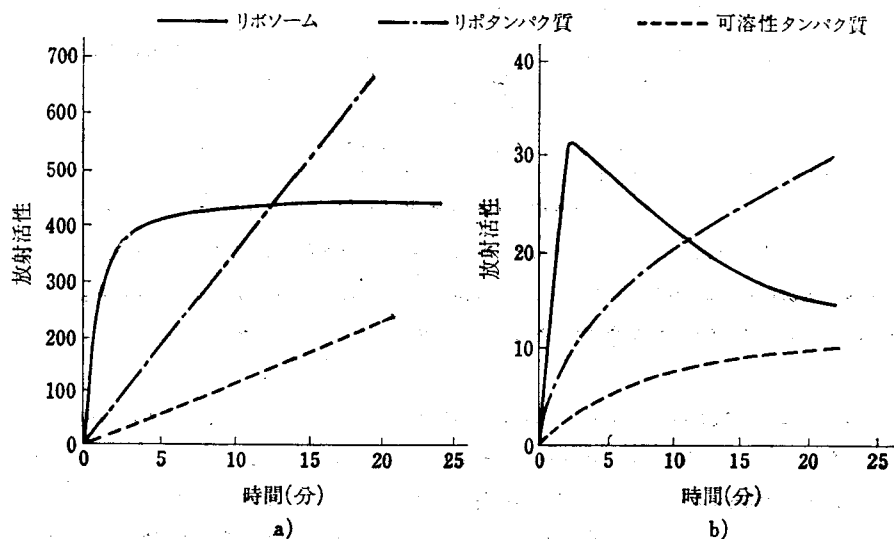


図 6-25 ネズミ肝臓のミクロソームの各区分への <sup>14</sup>C-ロイシンのとり込み

a) <sup>14</sup>C-ロイシンを十分量注射した場合.

b) <sup>14</sup>C-ロイシンを微量注射した場合.

[J. W. Littlefield, E. B. Keller, T. Gross, P. C. Zamecnik,  
J. Biol. Chem. 217, 111 (1955)]

Littlefield らは <sup>14</sup>C でラベルしたアミノ酸を動物に注射して、一定時間ごとに一群の動物を殺して肝臓をとりだし、直ちに冷却して細胞抽出液を調製して遠心分画を行い、各分画におけるタンパク質へのアミノ酸のとりこみを測定し、図 6-25 のような結果をえた。

マイクロソームリボ核タンパク部分へのアミノ酸のとりこみは極めて急速に進行し、数分でこの部分のタンパク質の放射比活性は飽和に達する。一方、可溶性タンパク質及びリボタンパク質へのアミノ酸のとりこみは一定速度で増加していく。この結果は、リボ核タンパクでタンパク質の合成が最初に起り、作られたタンパク質が可溶性タンパク質及びリボタンパク質の部分に移っていくこと、すなわちリボ核タンパクで合成されたタンパク質は、可溶性タンパク質、リボタンパク質の中間体であることを示唆している。このことは次のような実験で確かめられた。ごく少量の $^{14}\text{C}$ -ロイシンを動物に注射すると〔図 6・25 b〕、細胞内のロイシンはごく短時間高い放射比活性をもつが、その後生産される $^{14}\text{C}$ を含まないロイシンにより急激に薄められてしまう。この場合各画分への $^{14}\text{C}$ -ロイシンのとりこみを調べると、まずリボ核タンパクの放射比活性は数分間に急速に高まり、以後速やかに減少する。これに対して、可溶性タンパク質やリボタンパク質部分の比活性は、時間とともに上昇し、やがて一定値に達する。この結果は、リボ核タンパク部分のタンパク質がリボタンパク質及び可溶性タンパク質へ移っていくことを明確に示している。すなわちマイクロソームのリボ核タンパクがタンパク合成の場であると考えられる。同様の実験がウサギの網状赤血球でのヘモグロビン合成、肝臓での血清アルブミンの合成についても行われ、これらの特異的タンパク質の合成の場が、リボ核タンパクであることが確立された。

iii) リボソーム アミノ酸のとりこみ実験の進展と並行して電子顕微鏡 (EM) 技術の発達により、リボ核タンパクの存在が形態学的にも確かめられた。すなわち、

- ① 細胞の超薄切片を EM で観察すると、ミトコンドリアや核とは異なる膜状構造体 (endoplasmic reticulum, ER) がありその表面に直径  $150\sim 200 \text{ \AA}$  の小粒子が並んでいる。
- ② ミクロソームの EM 観察から、ミクロソームは ER の断片であることがわかり、その表面にも小粒子が並んでいることが明らかにされた。
- ③ ミクロソームをデオキシコール酸で処理すると、膜構造は消え小粒子のみになる。

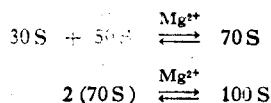
その後、この小粒子がさきに述べたリボ核タンパクであることが明らかにされるとともに、種々の組織の細胞、植物細胞、細菌にも存在することが証明された。このようにすべての生物細胞に普遍的に存在し、タンパク合成に重要な働きをするリボ核タンパク粒子をリボソームという (Roberts, 1959)。

iv) リボソームの一般的性質 リボソームは細胞をホモジナイズして、核ミトコンドリアなどの大きな顆粒を除いたあと、 $100,000 \text{ g}$  で  $90\sim 120$  分間遠心すると沈殿物としてえられ、細胞の全 RNA の  $70\sim 85\%$  がこの部分に回収される。多くの高等生物の細胞では、リボソームは ER に附着しており、細胞抽出液からはミクロソーム画分に回収されるが、細胞内で遊離の状態で存在するものもある。ミクロソームに附着したリボソームは、デオキシコール酸で処理して膜構造の成分であるリボタンパク質を溶かし去ると、 $100,000 \text{ g}$  の遠心で回収される。

リボソームの溶液を分析用超速心機で観察すると沈降定数が  $30\text{S}\sim 120\text{S}$  の数成分からなることがわかる。

各成分の割合は  $\text{Mg}^{2+}$  の濃度により変動するが結局小さい粒子と大きい粒子の二つの成分が存在し、それらの集合によって異なる沈降定数の成分が生ずることがわかった。

細菌のリボソームは  $30\text{S}$  と  $50\text{S}$  の二つの成分から成り、 $\text{Mg}^{2+}$  濃度によって次のように変化する。



Huxley と Zubay (1960) は電子顕微鏡による観察から、次のように各成分の形態を明らかにした。



高等動物や酵母(一般に有核細胞)では、リボソーム大小粒子がそれぞれやや大きく、60Sと40Sであるが、それが結合すると80Sのリボソームを生じ、これが細菌の70S粒子に相当するタンパク質合成に必要な一つの単位である。

これらの各成分は沈降定数が異なることから、分画遠心法で単離される。

動物のリボソーム成分は、35~50%のRNA(rRNA)と65~50%のタンパク質からなり、細菌のリボソームはRNA 37%、タンパク質 63%から出来ている。

リボソームからRNA(ribosome RNA, rRNA)を抽出すると、沈降定数の異なる2成分があることがわかる。動物、酵母の40Sリボソームには18S RNAが1分子、60Sリボソームには28S RNAが1分子と5S及び5.8S RNAが各1分子、細菌の30Sリボソームには16S RNAが1分子、50Sリボソームには23S RNAが1分子、及び5S RNAが1分子含まれている。28S RNAは約5,000ヌクレオチド、18S RNAは約2,000ヌクレオチドという大きな分子であって、1本鎖から成るが、塩基成分の70%以上は分子内で水素結合に関与しており、かなり複雑な高次構造を持つと考えられる。rRNAは、mRNAと同様にDNAの特定部位とハイブリッドを作り、RNAと相補的構造をもつDNAの部分が存在し、DNAを鋳型として合成されることが示される。

16S RNAと23S RNAはDNAの異なる部位とハイブリッドを作るから共通の配列は持っていないと考えられる。しかし、この二つのシストロンは極めて近くに存在し、事実有核細胞では18Sと28S RNAと一緒に転写された大きな前駆体RNA(45S RNA)が作られ、それが一定の処理を経て切断されて、それぞれのリボソームRNAになることが調べられている。しかも有核細胞では、このリボソーム・シストロンが数百も重複して存在し、それが染色体上の核小体オーガナイザー(nucleolar organizer)部分に集まっていることが証明されている。そしてそれが働いてリボソーム合成を行っている場所が核小体(仁)なのである。

リボソームのタンパク質は多種類あり、大腸菌の30S粒子には20種、50S粒子には34種のタンパク質が認められる。その分子量は7,700~68,000にわたり、2~3万のものが多い。

これらのタンパク分子はリボソーム粒子中に各々1コずつ(あるものは必須成分ではない可能性もある)存在すると考えられ、かつ大・小粒子の間で共通なタンパクは1~2種に過ぎないようである。野村ら(1969)は大腸菌の16S RNAと20種のリボソームタンパク質とを一定の順序で混合することにより30Sリボソーム粒子を再構成することに成功した。これはself assemblyであって、この組立てに要する情報はすべてリボソームRNAとリボソームタンパク質中に含まれていることになる。

大沢ら(1971)は大腸菌のリボソームタンパク質の変異株を用いて、リボソームタンパク質の遺伝子の位置を決定し、それらが1カ所に集まっていることを指摘した。その位置は3カ所に分かれて存在するリボソーム RNA の遺伝子の一つと近接しており、それらの調節機構の関連性が注目される。

有核細胞のリボソームタンパク質は、リボソームの大きさからもわかるように前核細胞の約2倍の種類があるものと考えられる。その完全な分離は、最近二次元アクリルアミド電気泳動法によって果たされ、研究が進みつつある。

v) ポリソーム ウサギの網状赤血球は極めて活発にヘモグロビン合成を行っている。この赤血球に放射性アミノ酸を加えてヘモグロビン合成を行わせた後、赤血球をこわしてシロ糖密度勾配遠心で分画すると、リボソームの76S成分(通常の80Sと同じ)に放射活性が見出される。すなわち、76Sリボソーム上でタンパク合成が行われている。しかしできるだけおだやかに赤血球をこわすと、より重い170S粒子に放射活性が存在する。Richら(1963)は76Sと170S成分をEMで観察し、170S成分は76S成分が会合している粒子であること、また170S成分をRNaseで処理すると沈降定数が小さくなり、76S成分が単離することを示した。このようなリボソームの会合した粒子はポリソームといわれる。個々のリボソームを連結しているものは、mRNAであり、赤血球のヘモグロビン合成系のポリソームでは、直径230Åのリボソーム(76S)の五つが約100Åの間隔で並んでいる。mRNAの全長は約1,500Åであり、この長さはヘモグロビンタンパク質のアミノ酸配列を決定するのに必要かつ十分である。すなわち、1コのアミノ酸を決めるmRNA上のヌクレオチド配列は3ヌクレオチドであるが、ヘモグロビンは4本のペプチド鎖から構成され、そのおのおのは約150コのアミノ酸から出来ている。したがってヘモグロビンの1本のポリペプチド鎖に対応するmRNAのヌクレオチド数は約450となる。各ヌクレオチド間の距離は3.4Åであるから、mRNAの長さは約1,500Åとなる。

このようなポリソームは、肝臓、大腸菌などでも見出され、いずれの場合も、1コのリボソームに比べて、ポリペプチド合成に際して極めて活発にアミノ酸をとりかこむことが明らかにされている。

高浪ら(1963)はリボソームを30Sと50S成分に分離し、そのいずれにmRNAが結合するかを

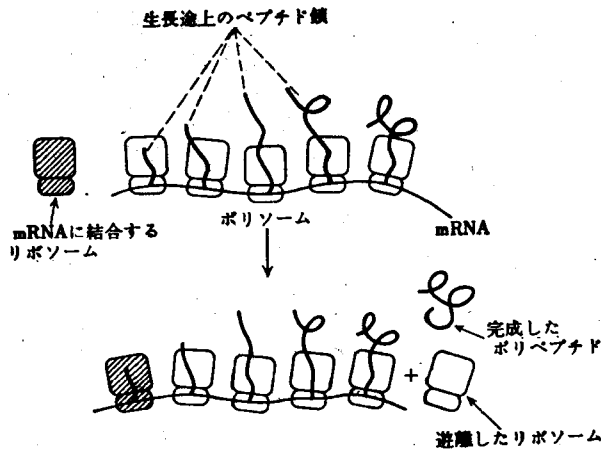


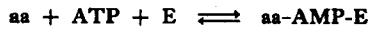
図 6-26 ポリソームとその機能の模式図

調べ、30S 成分にのみ mRNA が結合することを示した。この結合物を RNase で処理すると、mRNA は、リボソームと結合している部分を除いて加水分解され、リボソームと結合した部分は 25~30 コのヌクレオチドを含んでいることがわかった。

リボソーム上でポリペプチドが合成されるときの想定図の概略を図 6.26 に示す。リボソームは mRNA の 5' 末端に近い開始コードのある部分に結合 (30S 粒子が先ず結合し、次いで 50S 粒子が入る) してタンパク合成を開始し、ペプチド鎖を伸長させながら 3' 末端方向に移動する (詳しくは 6.9.4-6 参照)。リボソームが mRNA の 3' 末端の近くの終止コードに達すると、リボソームは mRNA からはずれ、同時に完成したポリペプチドが遊離する。

### 5) アミノ酸の活性化と転移

i) アミノ酸の活性化とアミノアシル tRNA 合成 1955 年から 1956 年にかけて、動物細胞、酵母、大腸菌の細胞抽出液中に、アミノ酸 (aa) を ATP と反応させて、そのカルボキシル基が活性化された形、すなわちアミノアシル AMP (アミノ酸のカルボキシル基と 5'-アデニル酸のリン酸基の縮合した酸無水物) に変える酵素 (E) (アミノ酸活性化酵素) が存在することが明らかにされた。この酵素反応は、タンパク質合成の第 1 段階であり、アミノ酸の活性化といわれる。



この反応では、アミノアシル AMP は活性化酵素と結合したままで存在する。

Hoagland ら (1957) は、ミクロソームとアミノ酸活性化酵素を含む画分から構成された系で  $^{14}\text{C}$ -アミノ酸のタンパク質へのとりこみを調べている間に、アミノ酸が、ミクロソームにとりこまれる前に、この酵素画分に含まれる RNA にいったんとりこまれることを発見した。すなわち上記の反応系からミクロソームを除くと、RNA と結合した  $^{14}\text{C}$ -アミノ酸が大量に蓄積し、そこにミクロソームを加えると、 $^{14}\text{C}$ -アミノ酸がこの RNA からミクロソーム画分へ移行する。このことは、RNA にとりこまれたアミノ酸がミクロソームで合成されるタンパク質の前駆体であることを示している。この RNA が転移 RNA (transfer RNA, tRNA) とよばれるもので、細胞抽出液から強い遠心で核、ミトコンドリア、ミクロソームを除いた上清に見出される。tRNA は細胞の全 RNA の 10~20% を占め、分子量約 27,000 の比較的小さい RNA である。

活性化されたアミノ酸、すなわちアミノアシル AMP-活性化酵素の複合体は tRNA と反応してアミノアシル tRNA を作る事がタンパク質合成の第 2 段階である。



アミノ酸と tRNA の結合は、アミノ酸のカルボキシル基と tRNA の末端の糖の水酸基 (3'-OH) の間のエステル結合である。これらの反応を触媒するためにこのアミノ酸活性化酵素は一名アミノアシル tRNA 合成酵素 (ARS) とも呼ばれる。

ii) tRNA のアミノ酸特異性 Preiss ら (1959) は次のような実験を行った (図 6.27)。まず、ある 1 種のアミノ酸 ( $aa_1$ ) を大量に tRNA 混合物と反応させ、それに過ヨウ素酸を作用させる。過ヨウ素酸は、tRNA の末端ヌクレオチドの 2'-OH, 3'-OH が両方とも遊離している場合に限り、2'-3' 間の C-C 結合を開裂してジアルデヒドを作る。次に pH を 10 にして、tRNA に結合している  $aa_1$  をはずし、種々のアミノ酸 ( $aa_1, aa_2, aa_3, \dots$ ) に対する受容能を調べる。もしも、1 種類の tRNA が

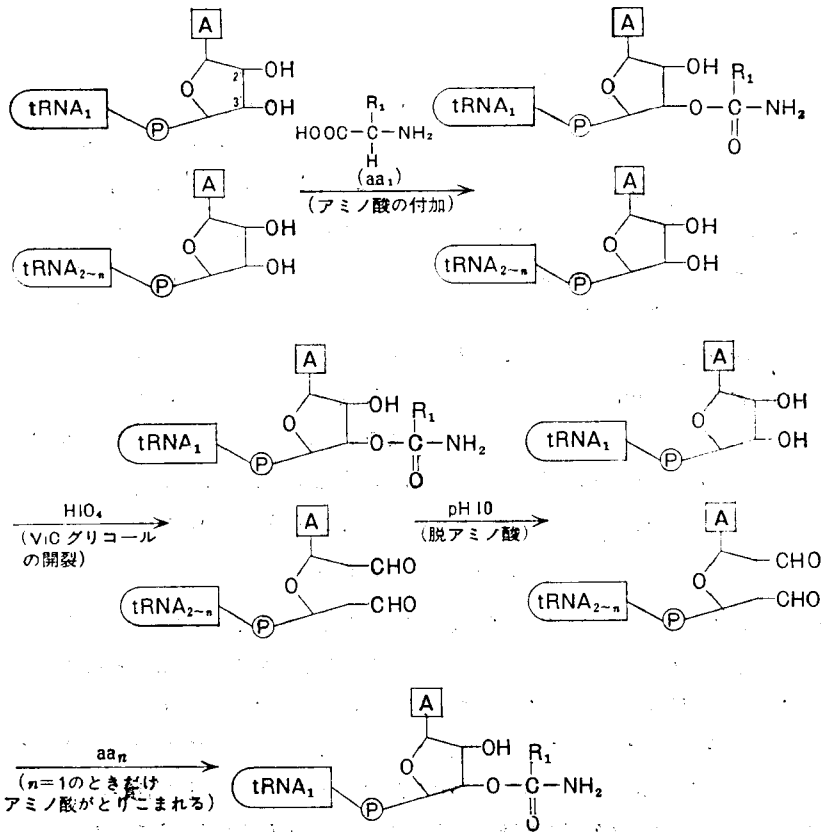


図 6-27 アミノ酸に特異的な tRNA の証明

tRNA のアデニン末端だけが示してある (J. Preiss ら, 1959 の実験)

すべてのアミノ酸に共通であれば、すべての tRNA は最初の反応でアミノ酸と結合し、3'-OH がふさがれているために過ヨウ素酸化を受けず、したがって全アミノ酸に対する受容能が保存されていると考えられる。しかし実験の結果、aa<sub>1</sub> の受容能は残っているが、それ以外のアミノ酸に対する受容能は失われていた。このことは、各アミノ酸に特異的な tRNA が存在すること、すなわち一つのアミノ酸に対する tRNA は他のアミノ酸とは反応しないことを示している。その後、それぞれのアミノ酸に特異的な tRNA を単離することが可能となり、各アミノ酸に少なくとも1種は特異的な tRNA 分子が存在することが明らかとなった。

ARS にも各アミノ酸に特異的な酵素がそれぞれ存在する。ARS のアミノアシル AMP 形成反応におけるアミノ酸に対する特異性は不完全である。例えば大腸菌のイソロイシン ARS はイソロイシン以外にバリンを活性化する。しかし、このような誤りは tRNA への転移の段階で修正される。すなわちバリン AMP はこの酵素によっては tRNA へ転移されないが、イソロイシル AMP は tRNA へとりこまれる。これはイソロイシン ARS が、バリンに特異的な tRNA を基質とすることができないことによると考えられる。同様なことは他のアミノ酸についても確かめられた。したが



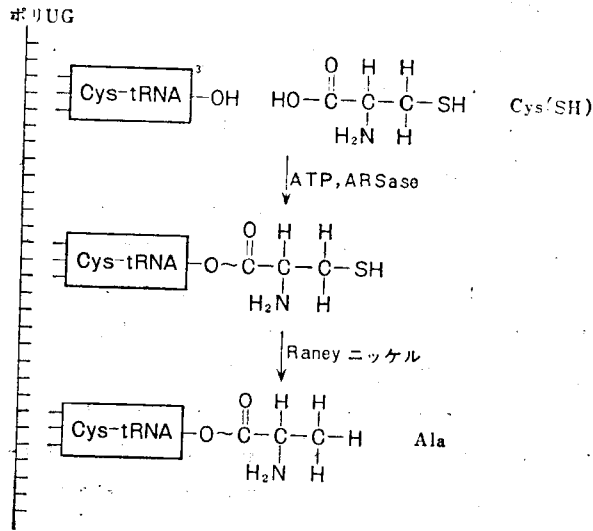


図 6.28 Cys-tRNA のアミノ酸部分の変換

アミノ酸部分が変化をしても、Cys-tRNA はアンチコードンの指令通りそのアミノ酸を運んでゆく (F. Chapeville ら, 1962).

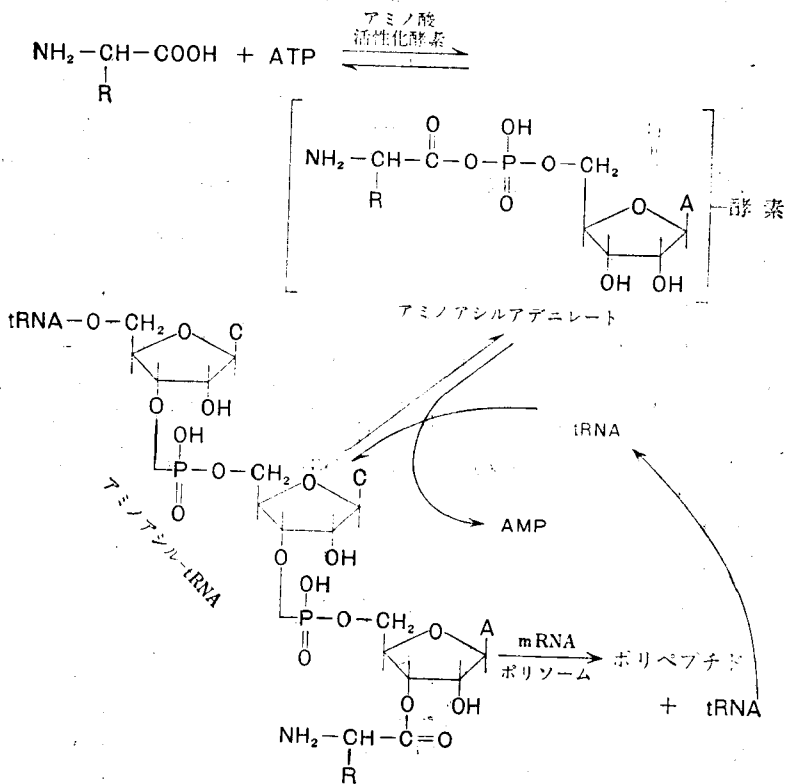


図 6.29 アミノ酸活性化とアミノアシル tRNA 形成の概要

って、ARS が種々の tRNA が存在していてもそれぞれに特異的な tRNA とのみ反応することができるのは、tRNA の構造中にアミノ酸ごとに異なる構造(ヌクレオチド配列として存在) -tRNA の認識部位があり、この部位に特定の ARS が結合するためであると考えられている。

iii) アミノアシル tRNA のリボソームへの転移 「遺伝暗号」の項で述べるように3コのヌクレオチドの配列(トリプレット)が1コのアミノ酸を指定することによって、mRNA のヌクレオチド配列として刻みこまれた特異的なタンパク質合成のための情報がリボソーム上で読みとられる。しかし、核酸中の塩基間の距離は  $3.4 \text{ \AA}$ 、タンパク質中のアミノ酸残基間の距離は  $3.7 \text{ \AA}$  であるから、単純にアミノ酸が mRNA 上に配列して重合するとすれば、3コのヌクレオチドと1コのアミノ酸との対応は考えにくい。Crick (1958) は3コのヌクレオチドに相補的に結合する adaptor を仮定し、この adaptor とアミノ酸が結合すると考えた。すなわちリボソームでは、この adaptor が mRNA と結合することを意味する。その adaptor として tRNA が考えられた。tRNA が adaptor であるとするならば、その構造中にコードンと相補的なヌクレオチド配列をもつ部分(アンチコードン)があることが予想される。またどのアミノ酸がポリペプチドへととりこまれるかは、tRNA のアンチコードンによって一義的に決められることになる。

Chapeville ら (1962) は次のような実験を行い、アダプター説の正しいことを証明した(図 6-28)。まずシステインに特異的な ARS を用いてシステイニル tRNA を作る。次に tRNA に結合したシステインを Raney-ニッケルで還元してアラニンに変えると、システインに特異的な tRNA にアラ

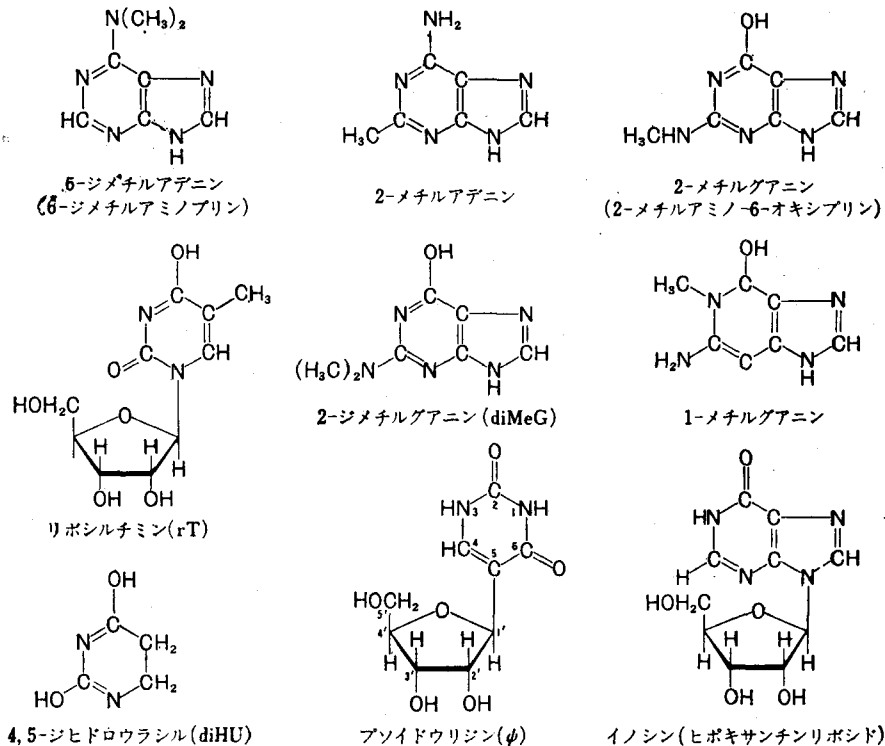


図 6-30 tRNA 中の数種の微量成分

ニンが結合したものがえられる。Nirenberg と Matthaei によって見出された大腸菌の無細胞タンパク合成系 (p. 210) の mRNA としてポリ UG を用いるとシステインはポリペプチドにとりこまれるが、アラニンのとりこみは起らないことが知られている。しかし、上述の方法で調製されたアラニル tRNA はポリ UG を鋳型とする反応でポリペプチドにとりこまれることが見出された。

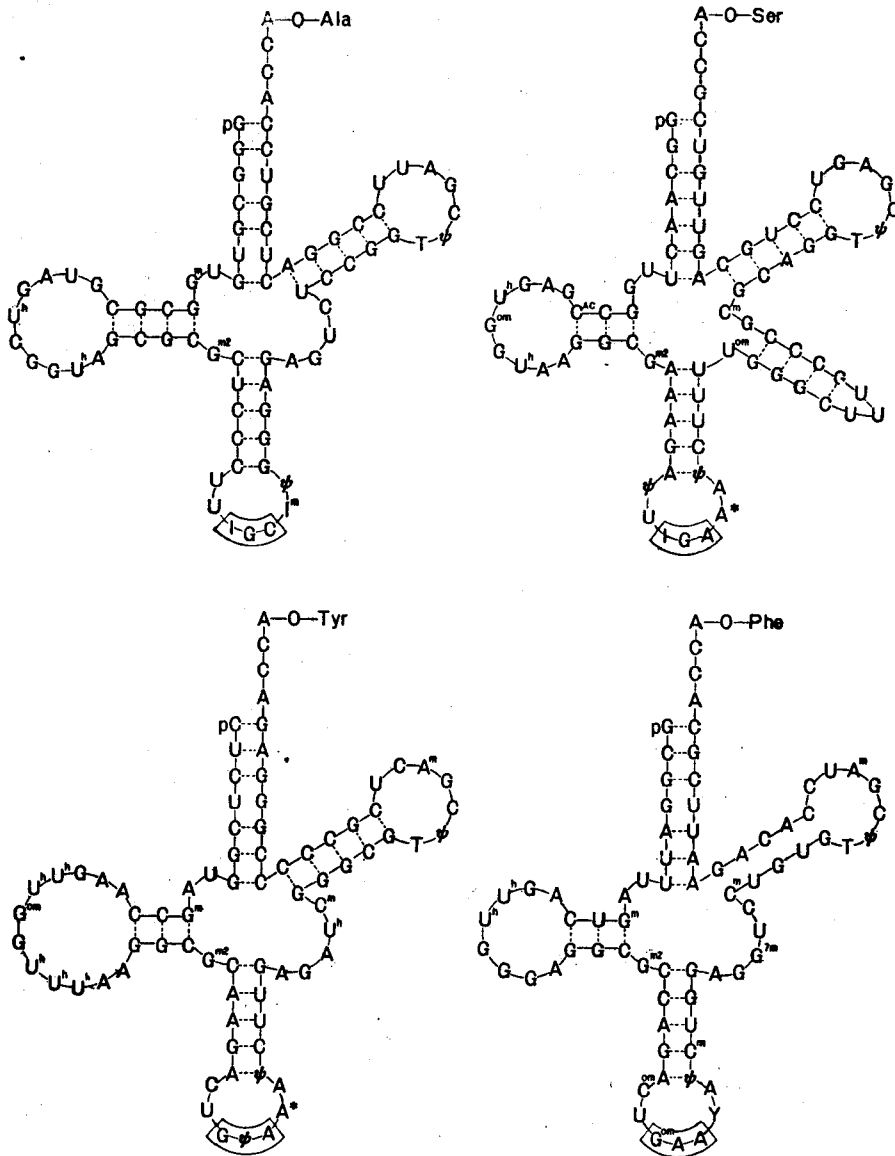


図 6.31 酵母のアラニン-tRNA, セリン-tRNA, チロシン-tRNA 及びフェニルアラニン-tRNA の2次構造の推定模型

図中の塩基略号は図 6.6 と同一、フェニルアラニン-tRNA 中に Y で示されたヌクレオチドは、構造が未定のものである。塩基間の点線は水素結合を示し、塩基対を形成していることを表している。それぞれの tRNA の下方に扇形に囲んだ塩基は、mRNA と水素結合により塩基対を形成して結合すると考えられる anticodon を示している。

タンパク合成において、tRNA はまず特異的なアミノ酸と図6・29に示したように結合する。このtRNA は結合したアミノ酸のコードンと相補的な構造をもつアンチコードンを有し、この部分と mRNA 上のコードンとの間で水素結合を作る。こうしてアミノ酸を結合した tRNA が mRNA 上のコードンの順序に従って順次 mRNA に結合する。その結果、mRNA によって指定される通りのアミノ酸配列をもつタンパク質が合成される。

iv) tRNA の構造 tRNA には、A と U、G と C が等モルに近い割合で含まれている。また他の RNA にみられる4種のヌクレオチドのほかに、図6・30に示したような微量塩基成分も含まれている。更にウラシルとリボースの結合が、ウリジルのウラシルの3位置の N とリボースの1位置の C との間の N-C 結合ではなく、ウラシルの5位置で C-C の結合したプソイドウリジル酸は、tRNA 1分子あたり平均3分子含まれており、tRNA の機能に重要な役割を果していると考えられている。

また、RNA は DNA と異なり、一般に安定な二重鎖構造はとりにくいことが知られているが、tRNA の場合、X線回折、融解曲線、リボヌクレアーゼに対する抵抗性などの研究から、分子内のかなりの部分が塩基間の相補的な水素結合によってらせん構造をとっていると考えられている。

tRNA は分子が比較的小さく、そのヌクレオチドの総数は70~80である。この機能のはっきりした RNA は、RNA の一次構造のよい研究対象となった。Holley らは、パン酵母から抽出した tRNA を向流分配法でアラニン、バリン、ヒスチジン及びチロシンに特異的な tRNA を分別することに成功し、1965年に77残基のヌクレオチドから構成されたアラニン tRNA の塩基配列を決定した。その方法は次のようなものである。まず、RNA 中のグアニル酸とその3'側のヌクレオチドの間を選択的に加水分解する RNase T<sub>1</sub> を 0°C でアラニン tRNA に作用させて、RNA をほぼ同じ大きさの二つの部分に分ける。次に、それぞれを RNase T<sub>1</sub> と膵臓 RNase で分解してえられるオリゴヌクレオチドの構造を決定し、その構造から全構造を推定するのである。

tRNA の構造中で共通な点は、アミノ酸の結合する3'末端側がすべて...CpCpA となっていることである。更に Watson-Crick 型の塩基対が分子内で最も多く出来るように、tRNA の2次構造を組み立てると、図6・31のように、どの tRNA も三つ葉あるいは四つ葉のクローパのような形になり、塩基対を作りえないループ部分に微量塩基成分やプソイドウリジル酸が多く存在している。アラニンのコードンは GCX (X: A, C, U) であるから (p. 211)、X が I と対応するとすれば、アラニン tRNA のアンチコードンとしては IGC という配列が考えられるが、そのヌクレオチド配列中にはこのような配列が1カ所みられる。このアンチコードンはループ部分に存在するが、このことは他の RNA でも同様である。

tRNA が特異的な ARS を認識する部位がどのヌクレオチド配列に対応するかはいまだ明らかではない。ここで注意すべきことは、tRNA と ARS の相互作用は、タンパク質が核酸と直接接触してアミノ酸を読むことを意味しており、DNA → mRNA → tRNA と情報伝達が行われるときのような塩基間の相補的結合による情報伝達形式とは全く異質のものであることである。

v) tRNA の縮重 一つのアミノ酸には二つ又はそれ以上のコードンがあることが知られている(コードの縮重) (p. 209)。したがって一つのアミノ酸に特異的な tRNA にも別々のアンチコードンをもつ二つ以上の種類のあることが予想されるが、事実一つのアミノ酸に対し二つ以上の tRNA の

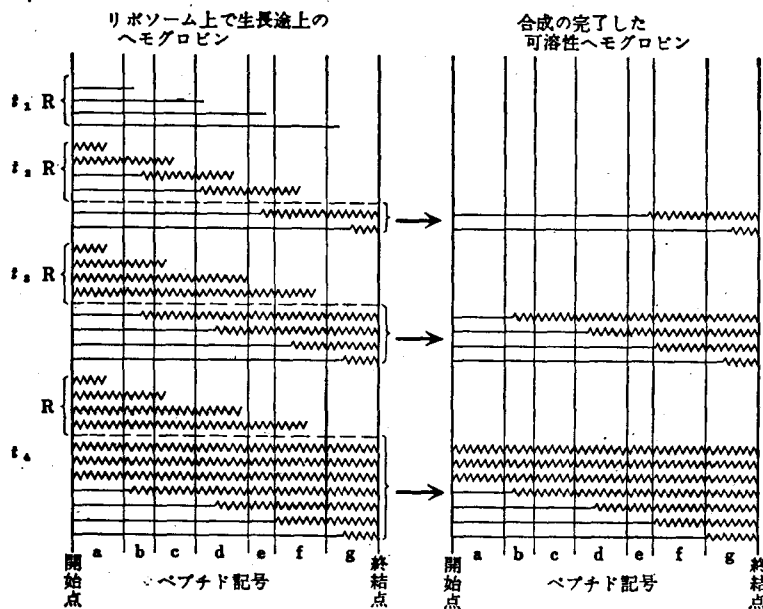


図 6.32 ペプチド鎖の生長模型

直線は  $^3\text{H}$ -ロイシンを加える前に合成途上にあったヘモグロビンを示し、時間  $t_1$  で  $^3\text{H}$ -ロイシンを加えると、 $^3\text{H}$ -ロイシンが合成途上のペプチド鎖にとり込まれて生長し、放射活性をもつようになる。波型の線で示した部分は放射活性を含むペプチド部分で、時間が  $t_1, t_2, t_3$  と長くなるほど放射活性は高くなる。R は合成未了の鎖を示し、完了したペプチドは可溶性となる (H. M. Dintzis, 1961)。

存在が示されている。例えば、大腸菌のロイシンに特異的な tRNA には三つの分子種が存在する。これらのリボソームへのアミノ酸の転移機能が、Nirenberg と Matthaei の大腸菌無細胞タンパク合成系で調べられた。それによると、第1のロイシン-tRNA はポリ UC、第2はポリ U、第3のものはポリ UG をそれぞれ鋳型として加えたときに反応する。すなわち、これら3種類の tRNA は異なっている。

#### 6) 翻訳の機構

1) ペプチド鎖の合成方向 アミノアシル tRNA では、アミノ酸は tRNA と C 末端で結合しているから、ポリペプチドの合成は N 末端から起ることが予想される。Dintzis (1961) は、ウサギの網状赤血球に  $^3\text{H}$ -ロイシンを加えてヘモグロビン合成を行わせポリペプチド鎖は N 末端から C 末端の方向に伸長することを示した。この実験は次のような考えに基づいている(図 6.32)。

ポリペプチド鎖がどちらかの末端から合成されると仮定する。ヘモグロビン合成を行っている赤血球に  $^3\text{H}$ -ロイシンを加えた瞬間には、リボソーム上には合成されつつあるヘモグロビンが結合している。このとき、あるリボソーム上ではヘモグロビンの 10% 程度しかペプチド鎖が伸びていないものもあれば、他のリボソーム上では 90% 近くペプチド鎖が合成されているものもあることが予想される。短時間後 ( $t_2$ ) には、部分的に合成されていたペプチド鎖に  $^3\text{H}$ -ロイシンがとりこまれてペプチド鎖は伸長する。完成したペプチドはリボソームからはなれる。したがって、完成したヘモグロビンのうちで、 $^3\text{H}$ -ロイシンを加えたときにペプチド鎖が完成直前にあったものが、 $^3\text{H}$ -ロイシンによる

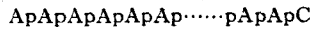
F102-11

放射活性が最も低く、ペプチド鎖の合成が始まったばかりのものの放射活性が最も高いことになる。また、ヘモグロビンをトリプシンで部分分解してえられるペプチドのうちで、ペプチド合成の開始点に近い位置から由来したペプチドの放射活性は最も低く、ペプチドの合成の終点付近のペプチド鎖から由来したペプチドの放射活性が最も高いことになる。

Dintzis は種々の時間赤血球を  $^3\text{H}$ -ロイシンで処理してヘモグロビン合成を行わせた後ヘモグロビンを抽出して  $\alpha$  鎖と  $\beta$  鎖に分離し、おのおのをトリプシンで分解し、どのペプチドにどの程度  $^3\text{H}$ -ロイシンが含まれているかを調べて、 $\alpha$  鎖、 $\beta$  鎖ともに C 末端に近いペプチドほど放射活性が高いことを示した。

同様の実験がリゾチームや大腸菌のアルカリ性ホスファターゼについてもなされ、ペプチドの伸長方向は、N 末端  $\rightarrow$  C 末端であることが明らかにされた。

ii) mRNA の読みとり方向 Ochoa ら (1965) は mRNA の読みとり方向を決めるために、無細胞タンパク合成系の mRNA として、



を加えて、どんなポリペプチドが合成されるかを調べた。このポリヌクレオチドは、アスパラギンのコードンである ApApC を 3' 末端にもっているが、他の部分は ApApA のリジンのコードンである。もしこの mRNA が 5'  $\rightarrow$  3' の方向に読まれるとすると、C 末端にアスパラギンをもったポリリジンが合成され、3'  $\rightarrow$  5' 方向に読まれるとすると、N 末端にアスパラギンをもったポリリジンが合成されるはずである。このタンパク合成系の産物は、ポリリジルアスパラギンであり、5'  $\rightarrow$  3' 方向に mRNA が読みとられることを示している。

iii) リボソーム上でのペプチド結合の形成 リボソーム上でのタンパク合成の機構を図 6-33, 34 に示した。これらの機構は大部分、大腸菌の無細胞系で解析されたが、ほぼ、そのまま高等動物の系にも当てはまるといってよい。まず、リボソーム上にはアミノ酸を運んで来た tRNA を結合する場所が二つあって、mRNA の 5' 側のものを P 部位 (peptidyl tRNA site), 3' 側のものを A 部位

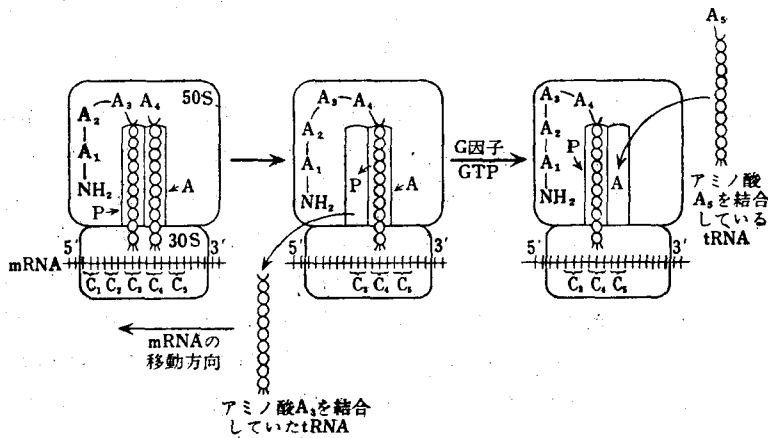


図 6-33 ポリソーム上の個々のリボソームの機能

A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>… はアミノ酸を, C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>… はそれぞれのアミノ酸に対応した mRNA 上の codon を示す。

211

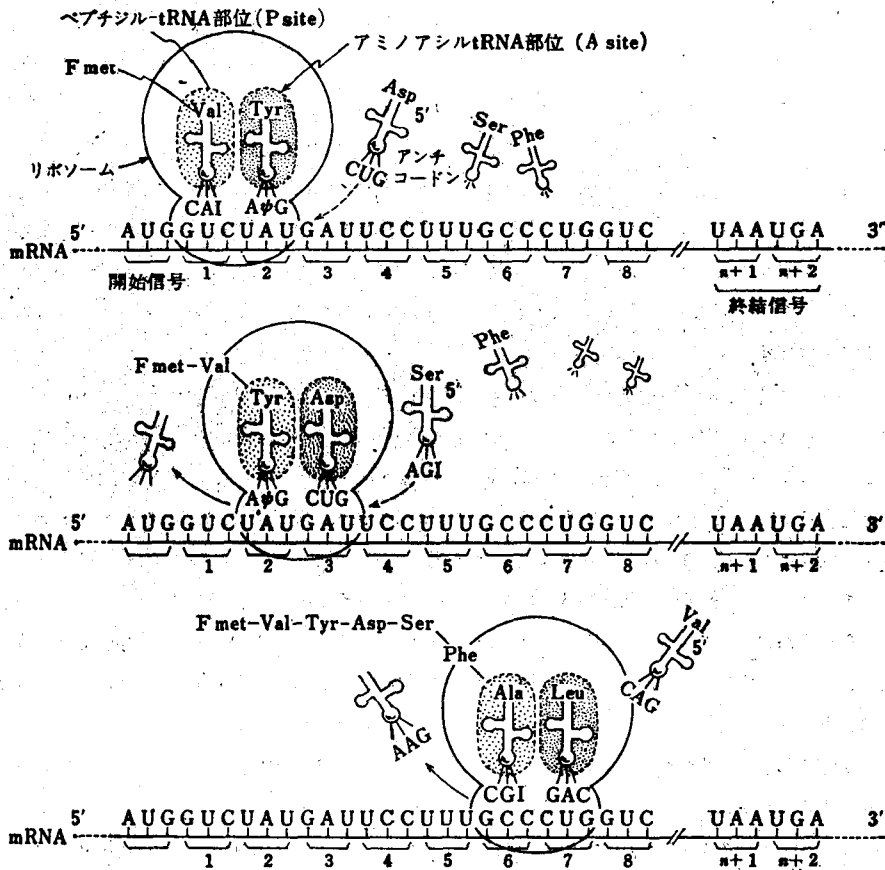


図 6-34 mRNA のもつ情報がタンパク質の第1構造へ解読される機構図  
 終結信号はある mRNA では二つ重なっていることが知られている。mRNA の 5' 末端にも 3' 末端にもタンパク質構造とは関係のない配列が幾つかついている。  
 (J. N. Davidson, 1972 より改変)

(aminoacyl tRNA site) と呼ぶ。

P 部位には伸長過程にあるペプチドを持った tRNA が結合しており、そこへアミノ酸を結合した aminoacyl tRNA がアンチコードの部分で mRNA のコードを正しく読んで隣の A 部位に入る。次いで P 部位の tRNA に結合しているペプチドが A 部位の tRNA に結合しているアミノ酸のアミノ基に移されペプチド結合が成立する。次いで P 部位の tRNA が離脱すると同時に A 部位でペプチドを受取った tRNA (peptidyl tRNA) が mRNA と共にリボソーム上を移動して P 部位へ来る。これを転位 (translocation) と呼ぶが、見方によっては、リボソームが mRNA 上を移動したと見られることもできる。かくして再び A 部位があき、そこへ、mRNA の新しいコードに従って新しいアミノアシル tRNA がやって来る。そして再び前と同様にペプチド結合が形成され、以下同様にして次々とアミノ酸が付け加えられペプチド鎖が伸長していくことになる。

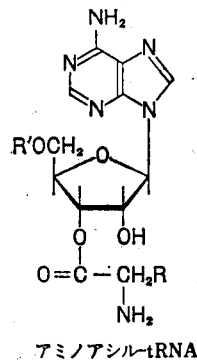
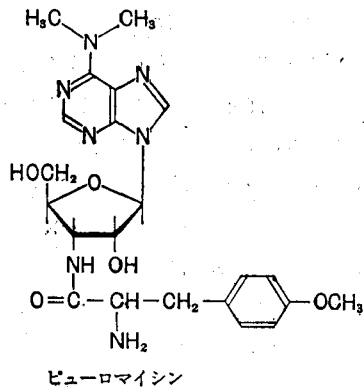
この伸長反応 (elongation) には、mRNA、リボソーム、アミノアシル tRNA の他に GTP, K<sup>+</sup>,

$Mg^{2+}$  が必要であり、更に少なくとも3種のタンパク性の伸長因子 (elongation factor) が働いていることが明らかとなっている。アミノアシル tRNA が A 部位に結合するため、ペプチド結合が出来た後のリボソームの転位のためにそれぞれ1コずつの GTP が消費され GDP と  $P_i$  になる。またこの転位反応はフシジン酸 (抗生物質の1種) で強く阻害される。

ところで、上記ペプチド鎖の伸長機構では、リボソームの P 部位に既にペプチジル tRNA が結合していることを前提とした。それでは最初に P 部位に入るアミノアシル tRNA はどのようなものだろうか。すなわちタンパク合成の開始 (initiation) はどのようにして起るのであろうか。最近までの研究は大まか次のようなメカニズムを明らかにした。すなわち、開始暗号子 (initiation codon) を読む tRNA は大腸菌では  $tRNA_F$  と呼ばれ、メチオニンを受容するが、そのメチオニンはある種の酵素によってホルミルテトラヒドロ葉酸を用いてホルミル化される。このホルミルメチオニル  $tRNA_F$  がタンパク合成開始に用いられる。タンパク合成は、リボソーム 30S 粒子が mRNA 上の開始暗号 (AUG) に結合することから始まる。30S 粒子は mRNA 上の開始部位の特殊な構造 (恐らくこの AUG の 5' 側の幾つかの配列によって決まる高次構造) によって mRNA 内部のメチオニンを指定する AUG と区別するのであろう。次に 30S-mRNA 複合体に前記のホルミルメチオニル  $tRNA_F$  が結合するが、この時 P 部位に入るのである。次いでリボソーム 50S 粒子が結合してホルミルメチオニル tRNA をもった 70S 開始複合体 (initiation complex) が完成する。これらの各段階には合計3種のタンパク性開始因子 (initiation factor) が関与しており、それが開始反応の特異性を保証していると考えられる。この開始複合体を作るのにも GTP が1分子分解され、そのエネルギーが利用されている。

動物細胞においても開始反応はほぼ同様であるが、ただホルミル化酵素がないために、開始 tRNA についたメチオニンに、ホルミル化が起らない。

次にタンパク合成の終結 (termination) は次のようにして起る。終結暗号子 (termination codon) は UAA, UAG 及び UGA であるが、これらに対応する tRNA (すなわち、これらと相補的なアンチコードンを持つ tRNA) は通常、存在しない。その代りに3種類のタンパク性因子 (release factor; RF-1, RF-2 及び RF-3) が存在して RF-1 は UAA 及び UAG, RF-2 は UAA 及び UGA にそれぞれ特異的に作用してペプチドを tRNA から切り離し、かつ、リボソームを mRNA から離脱させる。RF-3 はこの反応を促進すると考えられている。





ビューロマイシンはアミノアシル tRNA に以た構造を持っており、アミノアシル tRNA と入れかわってペプチド部位のペプチドと結合してしまう。しかし、この物質の3'-アミノ基と methoxyphenylalanine のカルボキシル基との結合は酸アミド結合であるため容易に切れないので正常なペプチド伸長が起らなくなる。またビューロマイシンはアンチコードを持たないため、この peptidyl-puromycin はリボソームから離れてしまう。これらのことはこの抗生物質の作用機構を明らかにしたのみでなくペプチド鎖の伸長がペプチド鎖のカルボキシ末端にアミノ酸を付加するものであることを裏付けるものである。

### 7) 遺伝暗号

i) トリプレット説 タンパク質分子のアミノ酸配列は、DNA の塩基配列によって決定される。その塩基配列は mRNA に転写され、mRNA の塩基配列によってタンパク質のアミノ酸配列が指定される。タンパク質は20種類のアミノ酸から構成されているが、核酸を構成する主な塩基成分は4種類しかない。したがってわずか4種類のもの配列が、どのようにして20種類のもの配列を決定するかということが遺伝暗号の問題である。

4種のヌクレオチドの配列により20種のアミノ酸の配列が決める場合、少なくとも3コのヌクレオチド配列が1コのアミノ酸を規定すると考えなければ、20種のアミノ酸のそれぞれに対して異なる暗号を与えることはできない。すなわち4種の塩基から二つの塩基の組合せは  $4^2=16$  しか作れないが、三つの組合せでは  $4^3=64$  出来る。

数学者の Gamow (1954) は3コのヌクレオチドの組合せでアミノ酸1コが規定されるが、3コのヌクレオチドのうち2コまでが隣のアミノ酸を決めるために用いられるという overlapping code を考えた。例えば次のように3コずつのヌクレオチドが2コずつ重なり合いながらアミノ酸を1コずつ指定するのである(図6・35)。

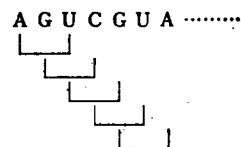


図 6・35

また3種のヌクレオチドの配列で1種のアミノ酸が指定されれば、アミノ酸の数より暗号の数が44も多くなるが、Gamow は1種以上の暗号が同じアミノ酸を指定すると考えた——暗号の「縮重」。

その後多くの人たちによって遺伝暗号(コード)に対する考察が行われたが、overlapping code という考え方では、アミノ酸配列が決定できないことが明らかとなった。例えば、もしコードが overlap しているならば一つの DNA 塩基の変化は必ず三つの連続したアミノ酸の変化を起すはずである。コードの縮重で、例外はあるかも知れないが、多くの場合二つないし三つの変化したアミノ酸が現れてよいと考えられる。ところがヒトの多くの異常ヘモグロビンはずべてたった1コのアミノ酸の変化によることがわかった。また次田, Fraenkel-Conrat はタバコモザイク病ウイルスの RNA を亜硝酸で処理して突然変異を起させその外套タンパクの変化を調べたが、一つの突然変異に対して一つのアミノ酸の変化しか起っていないことを突きとめた。Crick ら (1961) は、T4 フェージを用いた遺伝的研究により、互いに重ならない3種のヌクレオチドの配列によりアミノ酸1コが規定され、かつ一つのアミノ酸と次のアミノ酸の間のコンマないしは空白の記号はなく続けて書かれていること、そして正しい読みとりのために一定の開始部位があることを明らかにした(non-overlapping triplet theory)。この3種の塩基の組合せは codon (コードン) といわれる。

トリプレット説の正しさは、ヘモグロビン合成系の mRNA の大きさや一つのタンパク質のアミ

ノ酸配列を決定する情報をもつ遺伝子の単位であるシストロンが、ほぼアミノ酸数×3のヌクレオチドから構成されている事実からも推察される。またタバコの葉に感染するある種の小型ウイルスはRNAを遺伝子として持っているが、そのRNAは1,200コのヌクレオチドから構成されている。一方、そのタンパク質の構成単位は372コのアミノ酸残基を含んでいる。このことは、1コのアミノ酸を決定するヌクレオチド数は決して3以上ではないことを示している。

ii) コードンの決定 ひとつひとつのアミノ酸に対応するコードンの決定は、Nirenberg と Matthaei (1961) が開発した大腸菌の無細胞タンパク合成系を用いた研究によって始まった。この系は、リボソーム、tRNA 及びタンパク合成に必要な種々の酵素を含み、ATP と ATP を再生する酵素系、GTP, Mg<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup> 等をアミノ酸混合物とともに加えると、RNA に依存した酸不溶性画分(タンパク質)へのアミノ酸のとりこみを行う。加える RNA は、天然の RNA でも人工的に合成されたポリリボヌクレオチドでもよい。Nirenberg と Matthaei は、ウリジンヌクレオチドの重合したポリ U を RNA として加えると、<sup>14</sup>C フェニルアラニンがタンパク質にとりこまれ、ポリフェニルアラニンが生成することを見出した。すなわち、フェニルアラニンに対する RNA の暗号はポリ U 中の U の配列であり、そのコードンは UpUpU ということになる。これはアミノ酸に対するコードンが決定された最初の重要な実験である。その後 Nirenberg らや Ochoa らは色々な合成ポリヌクレオチドを作り、これらを RNA として 20 種の各アミノ酸のコードンを決めることを試みた。これらの実験で用いられた合成ポリヌクレオチドはポリヌクレオチドホスホリラーゼという酵素で合成される。この酵素は、リボヌクレオシド 5'-ニリン酸からポリヌクレオチドを合成する。例えば、ADP を基質とすれば、



の反応によってポリ A を合成する。またヌクレオシドニリン酸の混合物を用いると、共重合したコポリマーを合成する。例えば、UDP と GDP を 5:1 の割合で混合したものを基質とすれば、U と G を 5:1 の割合で含んだ UG コポリマーが形成される。しかしコポリマー中でのヌクレオチド配列には一定の規則性がない。1963 年ごろまでにはこの酵素によって合成された 4 種のヌクレオチドを種々の割合で含むコポリマーを用いて、どんな塩基をどのような比率で含むトリヌクレオチドが、いかなるアミノ酸に対応するかということは決定されたが、コードン中のヌクレオチド配列は不明であった。

この問題は、Nirenberg ら (1964) や Khorana ら (1966) によって解決された。タンパク合成機構の研究の発展によって、リボソーム、mRNA、アミノアシル tRNA は複合体を形成し、アミノ酸を <sup>14</sup>C でラベルしておく、放射活性がリボソームに見出されることがわかっていた。Nirenberg らは mRNA の代りに塩基配列のわかったトリヌクレオチドを用いても、そのトリヌクレオチドはリボソームに吸着され、アミノアシル tRNA が結合することを見出した。そこでどのようなトリヌクレオチドにいかなるアミノ酸をもった tRNA が結合するかを調べ、ある一定のヌクレオチド配列をもったトリヌクレオチドには 1 種類のアミノ酸が対応することを明らかにし、このような系を用いて個々のアミノ酸に対応したトリヌクレオチドよりなるコードンが決定された(表 6・5)。

一方、Khorana, 西村らは、酵素と化学的手法を用いて順序の決った人工 mRNA を合成して、こ

Figure 11

1111

れを鋳型として合成されるポリペプチドを分析するという方法を開発した。例えば UAUUAUA... 又は UAAUAAUAA... という配列のポリヌクレオチドを作って、Nirenberg の系に入れてみると、前者では Tyr-Ile-Tyr-Ile..., 後者では, poly (Asn) 及び poly (Ile) が作られることがわかった。前

表 6.5 20 種のアミノ酸に対応したトリヌクレオチドからなる code 表\*

		第 2 番目のヌクレオチド					
		Up	Cp	Ap	Gp		
5' 末端 ヌクレオチド	Up	Phe	Ser	Tyr	Cys	U	3' 末端 ヌクレオチド
		Phe	Ser	Tyr	Cys	C	
		Leu	Ser	ochre**	opal**	A	
		Leu	Ser	amber**	Trp	G	
	Cp	Leu	Pro	His	Arg	U	
		Leu	Pro	His	Arg	C	
		Leu	Pro	Gln	Arg	A	
		Leu	Pro	Gln	Arg	G	
	Ap	Ile	Thr	Asn	Ser	U	
		Ile	Thr	Asn	Ser	C	
		Ile	Thr	Lys	Arg	A	
		Met	Thr	Lys	Arg	G	
	Gp	Val	Ala	Asp	Gly	U	
		Val	Ala	Asp	Gly	C	
		Val	Ala	Glu	Gly	A	
		Val	Ala	Glu	Gly	G	

\* この表の読み方は、UpCpU はセリンの、CpApC はヒスチジンの codon というふうを読む。  
\*\* ochre, amber 及び opal は、変異株の大腸菌ファージについて観察されたもので、UpApA, UpApG 及び UpGpA はどのアミノ酸にも対応せず、タンパク質合成の終点を指定する (F. H. C. Crick: *Sci. Amer.* 215 (4), 55 (1966))

者はどこで切れても、またどこから読み始められても UAU 及び AUA の二つのコードの交互の連続となるのでどちらかが、チロシンかイソロイシンのコードであることが予想される。後者の人工 mRNA は読み初め方によって UAA, AAU 及び AUA の三つうちの一つのみが続くメッセージとなる。ここで前者と共通のコードンから AUA がイソロイシンであって、UAU はチロシンのコードであることがわかる。すると後者の mRNA で出来るアスパラギンは AAU 又は UAA であるが、UAA は停止コードンであることがわかっているから AAU がアスパラギンのコードであることが知られる。

この表から明らかなように、1 種のアミノ酸で 6 種のコードンをもち、コードが著しく縮重したものの(ロイシン, セリン, アルギニン)から、1 種のコードンしか持たないアミノ酸(トリプトファン, メチオニン)もある。またコードンの中にはタンパク合成の開始や終了の暗号もある。例えば大腸菌のタンパク合成系では、開始の暗号は AUG と GUG であるといわれている。UAA, UAG, UGA はどのアミノ酸にも対応しないから読み終りの暗号であると考えられている。

このような遺伝暗号は大腸菌で確立されたものであるが、酵母や種々の動物でも同様の結果がえられつつあり、コードンには生物種による違いは存在しないように見える。

## 第7章 生体反応の調節

前章までは、生物が捕捉した太陽エネルギーをどのように利用し、自己の保存と複製を行っているかが述べられてきた。自己の保存と複製という生物の2大機能は種々の酵素反応によって遂行されている。ところで、生命を支えているこの酵素反応は多種多様であり、幅狭している。この生命を維持するためには、多数の酵素によって触媒される多くの反応が秩序正しく制御されていなければならない。さもなければ、生物は到底生命を維持していくことは不可能であろう。したがって生物における代謝の調節は、生体が生命を維持するための合目的な機構と考えられる。“がん”はそのような意味で、ある特定の細胞群の制御がきかなくなった状態と考えられ、放置すれば個体の“死”に至るのである。多くの疾患の中には、代謝調節の異常が徴候として現れてくるものがある。

### 7.1 代謝調節の原理

既に述べられているように、酵素反応は反応が平衡に達する速度を促進するものであって、反応の可能性 ( $\Delta G$ ) を変えたり、平衡の状態 ( $K$ ) を変えるものではない。いままでの数章では、酵素分子の構造や機能について述べてきたが、これらは生体から抽出、精製された酵素標品について調べられた事柄である。生体中における一連の酵素反応は決して平衡状態、すなわちエントロピーの最大な状態ではない。生体の反応が平衡状態に達したということは個体の死を意味している。生体は生命を維持するためにエントロピーの増大を防ぐ各種の機構をもっている。しかし、生体の中では多くの反応が一見平衡状態にあるかにみえる。すなわち合成され、代謝されていく物質の量は一定である。こうして生体内における代謝物質の濃度は個体差はあってもほぼ一定に保たれていて各種の臨床検査の基礎となっていることは周知のことであろう。このように生体内では物質は連続的に合成され、かつ連続的に代謝されていく定常状態が保たれているのである。この定常状態の維持のために各種の代謝調節が働いている。

### 7.2 代謝調節に関与する諸因子

代謝調節に関与する因子には、

- ① 酵素反応速度に影響を与える動力学的因子
- ② 酵素量に変化を与える因子
- ③ 代謝の分岐
- ④ 細胞の構造因子

等が考えられる。次にそれぞれの因子について述べる。

## 7.2.1 動力学的因子

動力学的因子としては一般的环境因子、特定物質との相互関係の二つがある。

## 1) 一般的环境因子

既に述べたように、酵素反応の速度は pH, 温度, イオン強度等によって左右される。また光や圧力も酵素タンパク質に変化を与える場合もある。このような一般的环境因子を通して代謝調節を行う場合も少なくない。

## 2) 特定物質との相互作用

特定の低分子又は高分子の物質が酵素反応速度に影響を与える場合があり、次の四つが考えられる。

i) 酵素反応に関与する補酵素や金属等の補欠因子の濃度に依存した代謝調節。

ii) 阻害物質又は活性化物質の供給による代謝調節。この阻害物質又は活性化物質には酵素基質の構造類縁物質と構造類縁でない物質の2種類がある。後者を allosteric effector と称し、この物質に依存した酵素の阻害又は活性化をアロステリック効果という。Allosteric effector は代謝経路上の最終反応産物である場合が多く、またこの allosteric effector の影響を受ける酵素はその代謝経路上の最初の酵素の場合が多い。この代謝調節をフィードバック制御 (feedback control) と称する。

iii) 酵素タンパク質の修飾に依存した代謝調節。Zymogen (酵素前駆体) が別の酵素によって活性化される機構や、酵素タンパク質がタンパク質分解酵素によって分解される機構によって代謝調節が行われることもある。また酵素タンパク質のペプチドが酵素的に修飾される反応機構もある。すなわち筋肉の b 型グリコーゲンホスホリラーゼが特定の酵素によってリン酸化され、活性型の a 型酵素に転換する反応がその例である。

iv) 幾つかの酵素が会合して複合酵素を作り代謝調節に関係している場合もある。

## 3) フィードバック阻害

一連の反応系列の最終生産物が初めの段階に影響を及ぼすことをフィードバックという。

いま次の反応系列で最終生産物 D が a 酵素 (A → B の反応を触媒する) を阻害することにより、D 自身の前駆体の B 生成を阻害するような場合、これを負のフィードバックといい、それによって起る阻害をフィードバック阻害という。この場合阻害を受けるのはペースメーカー反応にあずかる酵素(今の場合 a 酵素)である。この a 酵素を調節酵素という。この a 酵素は阻害を受けると全反応系列が制御されるから、ペースメーカーといえる。このような例は今日多くの酵素について知られているが、大腸菌におけるアスパラギン酸とカルバミルリン酸からの CTP 生成もその一つで、詳しく研究されている。CTP が生成されて、ある一定濃度に達すると、CTP がペースメーカー段階、アスパルテートトランスカルバミラーゼ (ATCase) を阻害し、自身の生成を遅らせる。CTP が消費されてその濃度が低くなると、阻害がなくなり合成が再開される。

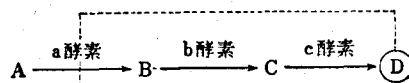


図 7.1 1 個のフィードバック阻害

このようにフィードバック機構は、代謝中間体を必要なだけ合成するよう自動調節機能をもつ。通常、最終産物が合成初期の反応を阻害する。したがって細胞中に無用な中間体は蓄積しない。

一般にフィードバック阻害を受ける酵素はアロステリック酵素であり、阻害剤はその負エフェクターである。

生体内における代謝経路は複雑であるので、実際にはフィードバック阻害の仕組みも単純ではなく、幾つかの仕組みがある。次に種々のフィードバックの仕組みについて述べてみよう。

i) 1価のフィードバック阻害 上述のように1本道 ( $A \rightarrow D$ ) の反応で最終生産物 (D) が反応系の第1段を阻害する仕組みを1価のフィードバック阻害という(図7.1)。

ii) 2価のフィードバック阻害 反応系が2本に分かれ、D; E 二つの最終生産物が生じ、D, E の両者が  $A \rightarrow B$  の反応を阻害する場合がある。この阻害の仕組みを2価のフィードバック阻害という(図7.2)

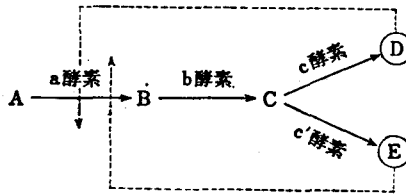


図 7.2 2 価のフィードバック阻害

もし D のみが第1段の反応を阻害すれば1価のフィードバックの仕組みであるが、D が増量すると E の生成もできなくなって、生体にとっては具合の悪い場合がある。このような場合、生体は他の幾つかの仕組みでこの問題を解決している。

iii) 同じ作用の酵素が2種類ある場合 第1段階の酵素が2種類 (a 酵素, a' 酵素) あり、a 酵素は E により阻害を受けるがもう一つの a' 酵素は阻害を受けない。逆に a' 酵素は G によってフィードバック阻害を受けるが a 酵素は阻害を受けない場合を考えてみよう。この場合、E によって a 酵素は阻害されるが a' は作用を続けるから E はやはり増量を続けることになる。したがって E は反応系のもう1カ所を阻害する必要がある。このためには E は c 酵素を、G は c' 酵素を阻害すればよい。E が過剰に産生されると a 酵素と c 酵素が阻害されて E 自身の産生量が低下する。しかし G の産生は全く阻害を受けない(図7.3)。

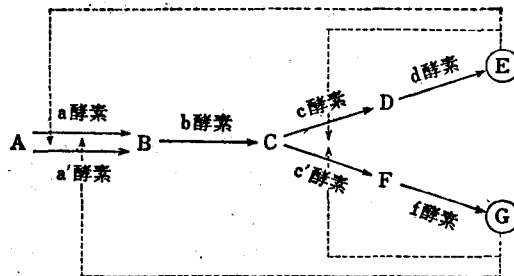


図 7.3 同じ作用の酵素が2種類ある場合

L-アスパラギン酸から L-リジン, L-メチオニン, L-イソロイシンが合成される系でこのフィードバック阻害の仕組みが働いている。

iv) 連続的フィードバック阻害(系列フィードバック阻害) 分岐した反応を含む系で、第1段階の a 酵素は E, G のどちらによっても阻害されないが、E は中間体 C から E への分れ道の最初の c 酵素を、G は c' 酵素を阻害する。c 酵素及び c' 酵素が阻害を受けると C が蓄積してこれが a 酵素を阻害する。その結果、反応系全体が阻害される(図 7.4)。

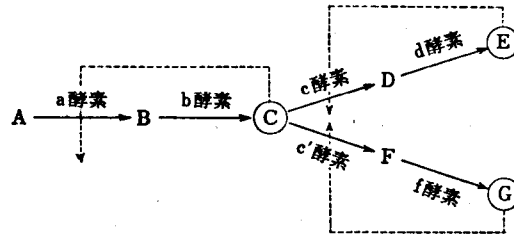


図 7.4 連続的フィードバック阻害

v) 協調的フィードバック阻害 分岐された反応を含む系で、第1段階の a 酵素は E 又は G 単独では阻害を受けませんが、この両者が共存すると阻害される。更に E は c 酵素を、G は c' 酵素をも阻害する(図 7.5)。

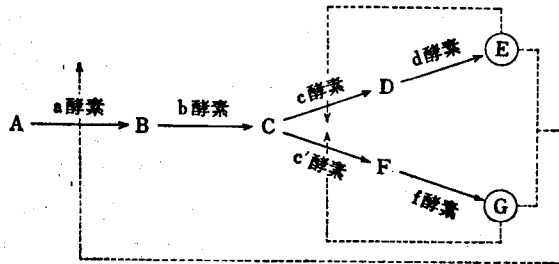


図 7.5 協調的フィードバック阻害

vi) 協同的フィードバック阻害 このフィードバック阻害の仕組みが上記の協調的フィードバック阻害と異なる点は、E, G いずれによっても第1段階の a 酵素が阻害されることである。いま E による a 酵素の阻害率を 30%、G による阻害率を 20% としよう。しかし E, G の両者が共存する条件下では、それぞれ単独の場合の阻害の和よりもはるかに強い阻害を受ける(図 7.6)。

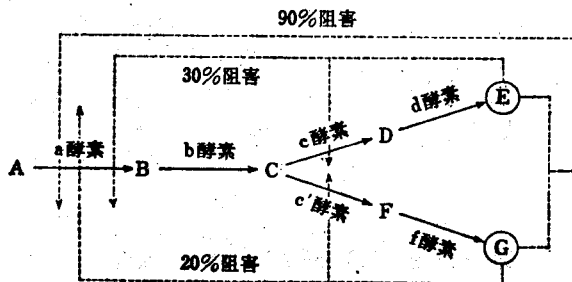


図 7.6 協同的フィードバック阻害

vii) 累積的フィードバック阻害(相乗フィードバック阻害) このフィードバック阻害の仕組みは E



と G が過剰になると、それぞれは単独に a 酵素を一部阻害するが、両者が共存する場合は相乗効果を発揮する。いま、E が過剰になると a 酵素は 30% 阻害され、70% の活性が残存したとする。G は 50% 阻害を示し、50% の活性が残存したとしよう。両者が共存する場合の残存活性は

$$70\% \times \frac{50}{100} = 35\%$$

となる。したがって、この場合の阻害率は 65% である(図 7.7)。

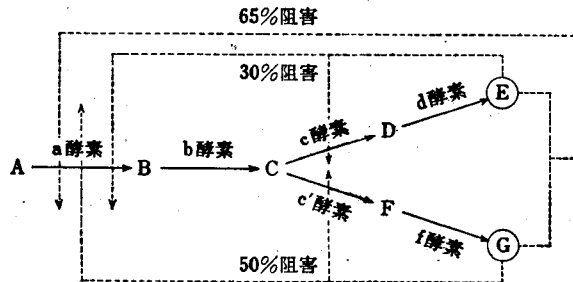


図 7.7 累積的フィードバック阻害

#### 4) アロステリックタンパク質の構造とその変化

アロステリックエフェクターは、アロステリックタンパク質(アロステリック酵素)の活性中心以外の場所に結合してタンパク質の立体構造を変え、その酵素活性に変化を与えると考えられる。アロステリックタンパク質においてアロステリックエフェクターの結合する部位を制御部位 (regulatory site) 又はアロステリック部位 (allosteric site) という。Monod, Wyman, Changeaux らはアロステリックタンパク質はオリゴマーであると提唱している。事実、ATCase は 2 種類のサブユニットに解離することができる。一方のサブユニットは酵素活性を示すが、エフェクターと結合する能力はなく、その酵素活性もエフェクターによって影響を受けない。他方のサブユニットは酵素活性は全くないが、エフェクターである CTP と結合する能力がある。前者を catalytic subunit, 後者を regulatory subunit という。この両者が結合すると CTP の制御を受ける ATCase になる。X 線回折や電子顕微鏡的研究によって ATCase は 6 コの catalytic subunit と 6 コの regulatory subunit からなるオリゴマーであることが明らかになっている。

図 7.8 はアスパラギン酸濃度と ATCase 活性の関係を表したものであるが、反応系に CTP を加えると、図から明らかなように曲線はシグモイド性が増強されかつ右側(高濃度側)にずれる。Catalytic subunit のみではこのようなシグモイド性は示さず、一般の酵素と同じミカエリス型である。これからわかるように ATCase は CTP (エフェクター) がいない時はミカエリス型の反応を行い、CTP が過剰になるとシグモイド型の反応を行って触媒反応を抑制している(図 7.8)。

ATCase その他のアロステリック酵素についてリガンド(基質とエフェクターを一緒にして ligand と呼ぶ)の結合によってタンパク質の構造が変化するという幾つかの実証がある。

#### 7.2.2 酵素量に変化を与える因子

細胞における代謝調節の一つとして酵素の量を調節する仕組みがある。それには誘導、抑制、翻訳レ

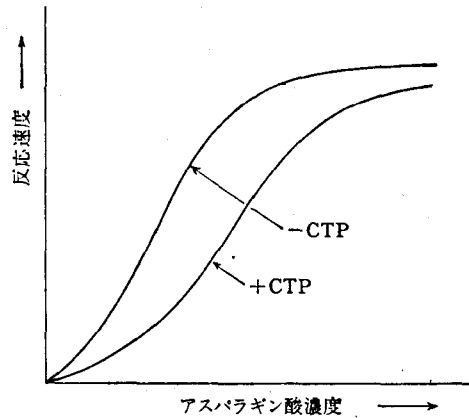


図 7-8 ATCase に対する CTP の影響

ベルでの調節，遺伝子数による調節等がある。この酵素タンパク質合成の調節機構は主として細菌を用いてなされてきた。

### 1) 誘 導

ある基質が細胞内に達すると，それに作用する酵素の生合成が増大することがある。例えば野生株の大腸菌はグルコースが培地にあるとラクトースは利用しないが，ラクトースを唯一の炭素源とする培地に入れると大腸菌は  $\beta$ -ガラクトシダーゼを合成するようになる。この  $\beta$ -ガラクトシダーゼはラクトースを D-グルコースと D-ガラクトースに加水分解するので，大腸菌細胞はラクトースを唯一の炭素源として利用できるようになるのである。このような現象を誘導 (induction) といい，誘導を起す基質を誘導物質 (inducer)，誘導によって生じた酵素を誘導酵素 (inducible enzyme) という。酵素誘導はよく研究され，

- ① 誘導は単に基質ばかりでなく，関連物質によってもひき起されること
- ② 誘導酵素が作られる場合は，それに対応する遺伝子が存在する。もしそのような遺伝子がない場合は酵素誘導は起らない。したがって，誘導酵素は一般に正常にある酵素と同じであること
- ③ 誘導酵素は新たにアミノ酸から合成されるものであること

等が明らかになった。

このような誘導酵素が，ある特定の物質の代謝過程に応じて幾つか作られることがある。すなわち A なるインデューサーによって A を B に変える酵素が誘導され，ついで B を C に変える第2の酵素，更に C を D に変える第3の酵素が誘導されて作られる場合である (ただし，A の代謝経路は  $A \rightarrow B \rightarrow C \rightarrow D \dots$  であるものとする)。このような現象を系列誘導 (sequential induction) といい，C を与えたときは第3の酵素は誘導されるが，第1の酵素は誘導されないし，第2の酵素はわずかに誘導されるだけである。

菌における誘導酵素系にはラクトース系，ガラクトース代謝系，アラビノース代謝系，ペニシリンーゼ系等がある。

高等動物でも基質によってトリプトファンピロラーゼ，チロシントランスアミナーゼなどの活性上昇，酵素タンパク質の増加などが認められている。

## 2) 抑 制

前述の誘導とは逆にある低分子の物質が、それが作られる生合成過程の初期段階の酵素の生成を抑制する場合がある。この現象を抑制 (repression) といい、抑制を引き起す物質を抑制物質 (corepressor), 抑制された酵素を抑制酵素 (repressible enzyme) という。例えば、大腸菌はグルタミン酸からアルギニンを合成するが、培地中にアルギニンを加えると、オルニチンからチトルリンを生ずる酵素オルニチントランスカルバミラーゼの合成が抑制される。この場合オルニチントランスカルバミラーゼの合成は直ちに抑制されて停止するが、細胞内に残存する酵素は分解や細胞の生長で希釈されるまで作用している。このように、抑制はフィードバック阻害のように既存の酵素タンパク質自体に作用する阻害ではないから、阻害作用の発現までに一定の時間を必要とする。したがってフィードバック阻害のように連続的に代謝を自動制御できないが、酵素タンパク質の合成が抑制され細胞の生育に必要な量以上に無駄な酵素を合成しないようにすることによって、アミノ酸を他の必要なタンパク質の合成にまわすことができる。フィードバック阻害を代謝の微調節と考えれば、この酵素量の変化による調節は粗調節ともいえよう。

菌における抑制酵素系には、トリプトファン合成系、アルカリホスファターゼ、メチニオン合成系等数多くある。

高等動物でも抑制が作用している例がある。例えばニワトリの肝にグリシン→グアニド酢酸→クレアチンの代謝系が存在するが、クレアチンを全く含まない食餌から 2% のクレアチン含有飼料に変えると、20 時間後にこの系の初期段階の酵素であるグリシントランスアミダーゼだけが約 1/2 になり、数日後には著明に低下する。このグリシントランスアミダーゼ自体は、クレアチン、クレアチリン酸で阻害されないから、この酵素活性の低下は酵素タンパク質の合成抑制と考えられている。

## 3) 誘導と抑制の機構

J. Monod 及び F. Jacob は誘導と抑制について仮説を立てた。それによると、遺伝子には構造遺伝子 (SG) と調節遺伝子 (RG) の 2 種類がある。構造遺伝子は酵素タンパク質の 1 次構造を決定する情報をもつ。例えば、さきの大腸菌の  $\beta$ -ガラクトシダーゼの構造遺伝子は  $z$  と呼ばれ、約 5,000 コのヌクレオチドから構成されている。調節遺伝子は酵素の生産を抑制する repressor (R) と呼ばれるタンパク質を合成するために必要な mRNA を作るコードを含む部分である。大腸菌の  $\beta$ -ガラクトシダーゼの場合、この遺伝子は  $i$  と呼ばれ、 $\beta$ -ガラクトシダーゼやパーミエースの生産を抑制するレプレッサーの生産にあずかっている。

染色体上で互いに隣接して位置している幾つかの構造遺伝子の集合体をオペロンといい、このオペロンは一つのレプレッサーの支配下にある。オペロンの一端には、オペレーター (O) と呼ばれレプレッサーの作用を受ける部分がある。オペレーターはレプレッサーと結合する部位であって、オペロンの機能の発現に関与している。オペレーターと調節遺伝子の間にプロモーター (promoter) と呼ばれる部分があり、プロモーター (P) は、mRNA を合成するための DNA 依存性 RNA ポリメラーゼの結合場所と考えられている。

大腸菌のラクトース系の誘導と抑制の機構を要約すると、いま調節遺伝子をもった大腸菌 ( $i^+$  の菌) にインデューサーを加えると、インデューサーはレプレッサーに働いて、これを不活性化する。その結果レプレッサーはオペレーターに付加しておれなくなりオペレーターからはずれる。すると抑制が

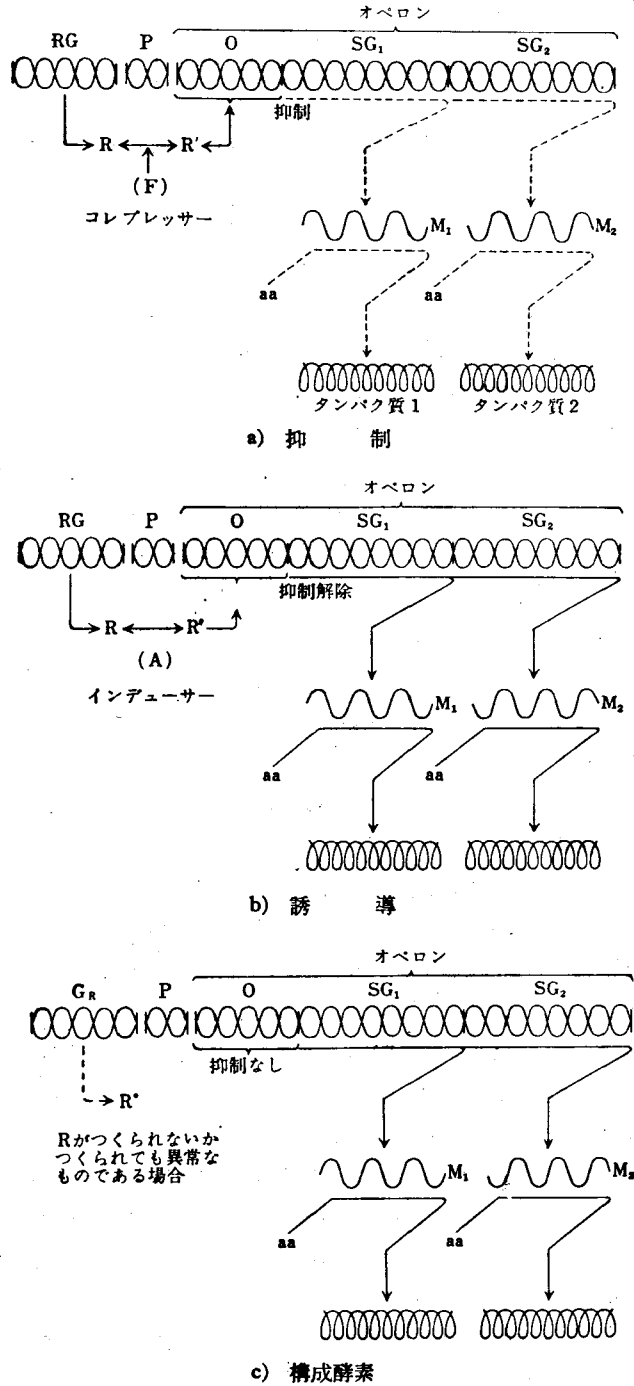
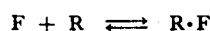


図 7.9

RG: 調節遺伝子, P: プロモーター, O: オペレーター, SG: 構造遺伝子, M: mRNA, R: レプレッサー, R': 活性型レプレッサー, R'': 不活性型レプレッサー, R<sup>o</sup>: 異常なしレプレッサー

解除され、プロモーターに結合している RNA ポリメラーゼが作用し始め、mRNA を構造遺伝子の方に向かって作ることになる。一方、コレプレッサーが与えられると、レプレッサーはその活性を回復し、オペレーターに付加結合する。すると、RNA ポリメラーゼがプロモーターに結合していても、それから先へ mRNA の転写を行うことはできない。突然変異等により調節遺伝子  $i$  が異常な形 ( $i'$ ) になると、レプレッサーを生産しないか、又は不活性なレプレッサーしか作れなくなるので、インデューサーがなくても  $\beta$ -ガラクトシダーゼを生産するのである。一方、構造遺伝子  $\sigma$  に突然変異を起したもの ( $\sigma'$ ) では  $\beta$ -ガラクトシダーゼを全く作りえないか、又はアミノ酸配列が正常と異なった酵素タンパク質を作る。また突然変異によりオペレーターが消失すると酵素は必要の有無にかかわらず無制限に作られるのでそれは構成酵素と同じになる。これを構成酵素型突然変異という。細胞の多くの酵素は構成酵素である (図 7.9 参照)。

以上述べたように、誘導酵素及び抑制酵素のいずれにおいても、その酵素タンパク質の合成は、それぞれの酵素に特異的な比較的低分子の物質 (インデューサーやコレプレッサー) と調節遺伝子によって調節されている。いま低分子の物質を F (エフェクター)、調節遺伝子の生産物を R (レプレッサー) で表すと



であって、誘導酵素においては R が活性レプレッサーであり F (この場合はインデューサー) が結合すると活性を失う。抑制酵素では R は不活性なレプレッサー (アボレプレッサー) であり、F (この場合はコレプレッサー) と結合して活性のあるレプレッサーになる。このように酵素の誘導と抑制による調節は基本的には同様な機構によって行われている。

#### 4) レプレッサー

最近幾つかの系でレプレッサーが単離されているが、そのいずれも本態はタンパク質である。大腸菌のラクトース分解系のレプレッサーはアミノ酸配列順序が明らかにされ、分子量は 150,000 と算出された。このレプレッサーはテトラマーであって、分子量 38,000 のサブユニット 4 コに解離する。活性型のレプレッサーはテトラマーであって、大腸菌の染色体 1 コあたり 10~20 分子が存在する。レプレッサーとオペレーターは 1:1 の割合で結合することが知られている。しかし、レプレッサーは 1 本鎖状態のオペレーターには結合しない。レプレッサーとインデューサー又はコレプレッサーの結合は共有結合ではなく、比較的弱い水素結合、イオン結合、ファン・デル・ワールス力による結合等である。その結果レプレッサーはすばやくインデューサーやコレプレッサーと結合したり離れたりできるのである。ラクトースオペレーターの長さは 8nm (24 ヌクレオチドの長さに相当) であって、これはレプレッサーのサブユニットが 2 コ並んだ長さに相当する。またレプレッサーの結合するオペレーター部位の塩基配列も既に明らかになっている。

*In vitro* でラクトースオペロン DNA から mRNA を RNA ポリメラーゼにより合成する系に精製したレプレッサーを加えると、ラクトースオペロンの mRNA 合成は阻害される。したがってラクトースレプレッサーは mRNA の転写レベルで酵素タンパク質の合成を抑制していることがわかる。ラクトースオペロンの転写には cyclic AMP receptor protein (CR protein) が要求される。この CR protein は、分子量 44,600 で 2 コの同種のサブユニットからなり、cyclic AMP と 1:1 で

結合する。この CR protein-cyclic AMP 結合体がプロモーターの一部に結合すると RNA ポリメラーゼが結合しやすくなると考えられている。

#### 5) 異化代謝産物による抑制

一般に細菌をある化合物を唯一の炭素源として培養すると、細菌はそれを代謝するのに必要な酵素を生産するようになる。前述のように野生株の大腸菌は普通ラクトースを利用できないが、ラクトースのみを炭素源として与えるとラクトースを代謝する酵素を産生するようになる。しかしこれにグルコースを加えるとラクトースを代謝する酵素の合成は停止してしまう。この現象は、用いた炭素源の代謝産物が酵素の合成を阻害するためと考えられ、異化代謝産物抑制 (catabolite repression) と呼ばれる。最近この現象の機構が明らかになってきた。前述のグルコースによるラクトースの代謝系酵素の合成阻害が cyclic AMP により解除されることが見出された。そして実際にグルコースを与えると細胞内の cyclic AMP 濃度は急速に低下することも観察された。Cyclic AMP は前に述べたように CR protein と結合し、この複合体がプロモーター部位に結合して RNA ポリメラーゼのプロモーター部への結合を促進させる。グルコースが大腸菌の cyclic AMP 濃度を低下させる機構ははっきりわからないが、グルコースは cyclic AMP を細胞外に排泄させる作用を促進させることが知られている。

異化代謝産物抑制をうける酵素系の例としては、ラクトースオペロン、アラビノースオペロン、ガラクトースオペロン、マルトースオペロン等の誘導酵素系がある。

#### 6) 翻訳レベルでの調節

前述の mRNA が出来る転写レベルでの酵素合成の調節のほかに、mRNA に依存してペプチドが合成される翻訳レベルでの調節機構も存在する。これには、

- ① tRNA が本来のものと異なったものに修飾されたりする tRNA レベルでの調節
- ② mRNA の高次構造の変化に依存した調節
- ③ リボソームレベルでの調節

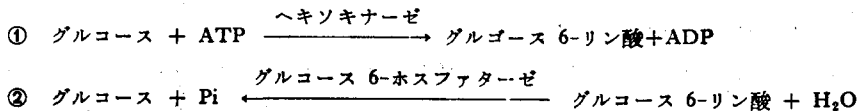
等である。

#### 7) 遺伝子数による調節

酵素量の調節も遺伝子の数によって行われる場合がある。例えばカエルの発生時にはリボソームの遺伝子数が数千倍に増加することが明らかになっている。

### 7.2.3 代謝の分岐

細胞内で本来は不可逆反応であるのに、2種の酵素が関与すると、あたかも可逆的にみえる反応が幾つかある。例えば、



の反応のように ① と ② は全く別の反応であるが、細胞内ではこの2種の酵素は調節をとって作用している。もし、① と ② の反応を繰り返すと、ATP は ADP と Pi に加水分解されてしまう。

## 7.2.4 構造因子

細胞の内部は核、ミトコンドリア、リボソーム、小胞体膜、Golgi 体、細胞質というように一定の隔室(コンパートメント)に分かれており、更にそれぞれの隔室の中も、ミトコンドリアでは外膜、内膜、クリステ、マトリックスというように細分されている。これら隔室はそれぞれの膜組織で周囲と距てられている。これらの膜はリン脂質、タンパク質及び多糖類からなる固有の構造をもち、各種の物質の出入に対して一定の能動的機能を果たしている。その結果、ADP/ATP 比、 $\text{NAD}^+/\text{NADH}$  比、 $\text{NADP}^+/\text{NADPH}$  比、リン酸イオン濃度、 $\text{Mg}^{2+}$  イオン濃度、酸素分圧、炭酸ガス分圧等は隔室中で一定に保たれていると考えられる。隔室中の物質代謝もそれぞれの隔室で異なる濃度で、異なった濃度の酵素や共同因子のもとに代謝を受けている。そして細胞の中ではこのように隔室間の相互に異なる機能が巧みな調節を受けていると考えられる。このような隔室間の相互の連繋がなんらかの機転で乱されると細胞内の代謝調節が混乱し、正常な代謝が保たれなくなると考えられる。

しかも、細胞は上述のような意味での隔室化による代謝調節のみならず、更に各隔室にある酵素群をも一定の反応を行うために都合の良いように空間内に局在化することによって代謝機能の効率的な運用を行っている。例えばミトコンドリア上で電子伝達系と酸化的リン酸化を行う系の酵素群が互いに協調して働きるように配列されていることなどはその良い例といえよう。

## 7.3 内分泌による代謝調節

内分泌による代謝調節の機構が現れたのは生物が分化した器官をもつてからである。個体発生の過程での段階的变化、生体内の各器官の代謝的相関、更には同一臓器、同一細胞内での異質な代謝経路の相関を調節している。Karlson らによれば、昆虫の変態過程の研究で、脳からエクジソン (ecdysone) が分泌されると、これが epidermis に作用して幼虫脱皮が重ねられ、最後の脱皮によって成虫に発達するが、この間、脳の直後にあるアラタ体から幼若ホルモン (juvenile hormone: 成熟形への発達を阻止する) がでていてエクジソンの作用を抑制している。Karlson はエクジソンがユスリカの 1 種である *Chironomus tentans* の唾液腺染色体のパフを誘導することから、エクジソンは遺伝子に作用し、タンパク質の転写及び翻訳を促進させるという仮説を提出した。しかしエクジソンの作用に関する分子機構については不明な点が多い。

ホルモンの作用機構については 8 章参照のこと。

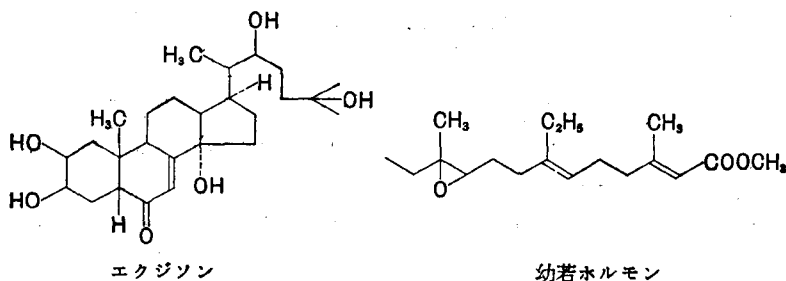


図 7.10 エクジソン及び幼若ホルモンの化学構造

## 7.4 中間代謝相互の調節

糖質、脂質、タンパク質は3大栄養素といわれ、生物はこれらの栄養素を酸化して、その際、遊離される自由エネルギーを利用して生きていることはこの本の初めにも述べた通りである。しかし、中間代謝の項で述べられているように、これらの3栄養素の代謝はある点でつながっている。すなわち、

- ① 糖質はアセチル-CoA を経由して脂肪に変化するし、
- ② TCA 回路のメンバーの中間体のケトン酸はアミノ基転移を受けて、アスパラギン酸やグルタミン酸に変わりうる。
- ③ 脂肪もアミノ酸に変わりうる。
- ④ 脂肪は糖質に変化しない。それは、アセチル-CoA 分子の炭素原子と同数の炭素原子が、ジカルボン酸生成前に  $\text{CO}_2$  となって失われるからである。もちろん、グリオキシル酸回路の存在する植物、ある種のバクテリア、カビ類は脂肪から糖質を作る。
- ⑤ アミノ酸には、糖質に変るもの (glycogenic) とケトン体を生成するもの (ketogenic) と、そして glycogenic でもあり ketogenic でもあるものの3種類がある(表7.1)。

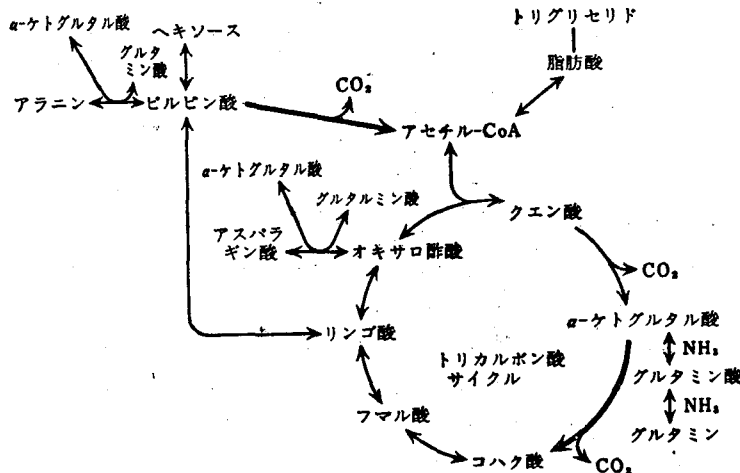


図 7.11 糖質、脂質、ある種のアミノ酸の相互変化

生体はこのように複雑にからみあった代謝をいかに制御し調節しているのだろうか。生体は個々の代謝系における調節のみならず、当然代謝系間の相互調節も行っているであろう。次に1例として血糖値の調節について述べる。

糖質の生合成において、グルコース → グルコース 6-リン酸、フルクトース 6-リン酸 → フルクトース 1,6-二リン酸、ホスホエノールリン酸 → ピルビン酸の3反応の逆行は熱力学的に障害されているから前2者はホスファターゼ、後者はピルベートカルボキシラーゼとホスホエノールピルベートカルボキシキナーゼで代行される。これらの酵素は糖の生合成反応に関与し、糖新生のペースメーカーをなしていると考えられ、key gluconeogenic enzyme といわれる。同様にグルコキナーゼ、ホスホフルクトキナーゼ、ピルベートキナーゼの3酵素は key glycolytic enzyme といわれる。これらの



表 7.1 Glycogenic 及び ketogenic アミノ酸

Glycogenic		Ketogenic	Glycogenic and/or ketogenic
Alanine	Hydroxyproline	Leucine	Isoleucine
Arginine	Methionine		Lysine
Aspartic acid	Proline		Phenylalanine
Cystine	Serine		Tyrosine
Glutamic acid	Threonine		
Glycine	Tryptophan		
Histidine	Valine		

key enzyme はそれぞれ糖新生あるいは解糖に関する functional genic unit (FGU) というゲノムに支配されている。

もし血糖値が下がると副腎髄質と膵臓の  $\alpha$  細胞が感知し、それぞれアドレナリンとグルカゴンの分泌を増加させる。アドレナリンは cyclic AMP の生成を促進し、ホスホリラーゼの活性化を行うが、これはまた視床下部を通して脳下垂体前葉に作用して ACTH の分泌を促し、その結果、副腎皮質からグルココルチコイドの分泌を増加させる。こうして副腎皮質ホルモンによって key gluconeogenic enzyme が増加する。したがってこの現象は副腎皮質ホルモンによる「誘導」と考えられる。一方血糖値が上がると膵臓の  $\beta$  細胞からインシュリンの分泌が増加し、血中グルコースの細胞内への取込みを促進するとともにこれらの酵素の生合成を「抑制」する。しかし、インシュリンの作用はそれだけにとどまらず、更に glucokinase, glycogen synthetase 及び glycolytic enzyme の「誘導」も行う。これらホルモンによる「誘導」や「抑制」は“緩慢な適応”であるが、ホルモンはこのほか血中遊離脂肪酸を介して“急速な適応”も行っている。すなわちアドレナリンやグルココルチコイドによって組織から動員された遊離脂肪酸は肝臓に集まり、そこで key glycolytic enzyme (特にピルベートキナーゼ) を阻害し、解糖の進行を阻害する。また遊離脂肪酸はグルコース 6-リン酸脱水素酵素、6-ホスホグルコン酸脱水素酵素反応も阻害し NADPH の生成を減少させ遊離脂肪酸の生合成を阻止する。更にまた遊離脂肪酸はイソクエン酸脱水素酵素及びフマラーゼを阻害し糖新生の前駆体が TCA 回路に入るのを抑制し糖新生に向かわせる。これに伴って遊離脂肪酸自身の燃焼も盛んになり糖質に代ってエネルギーの生産を行うとともに糖新生のための必要なエネルギーも提供し、ピルベートカルボキシラーゼの active effector としてのアセチル-CoA も提供することになる。同時に糖新生に必要な NADH も提供する。一方血糖値が上昇したときインシュリンはペントースリン酸回路の酵素活性を増加させ脂肪酸合成に必要な NADPH を提供するとともに、グルコースやピルベートからの脂肪酸の合成を促進する。またインシュリンはアミノ酸からのタンパク合成をも促進しそれらの物質が糖新生系に向かうことを抑制する。

F102-71

B12

## 第8章 生体の生化学

### 8.1 栄 養

ヒトは外部から食物を摂取し、組織や細胞に化学的エネルギー源を保持し、生命の維持や外部的仕事のためにこれを利用している。生体の活動エネルギー源は ATP の分解により放出される化学的エネルギー (8,000 cal/mol) に基づいており、生体活動のエネルギーに転換した最終は熱エネルギーとなる。熱エネルギーの一部は体温保持に利用されるが、生体は熱をエネルギー源として利用し得ず、体表面から放散してしまう。したがって放散する熱エネルギー量(カロリー)をみれば、生体の活動の全貌をうかがうことが可能となる。このように生体の代謝過程を物質のもつエネルギーからみたものがエネルギー代謝である。

なお、エネルギー源が他のエネルギーに転換するには複雑な過程を経るが、 $O_2$  による酸化が必要であり、エネルギー代謝には  $O_2$  調達が決定的な要素であり、主要な課題である。したがって酸素消費量を測定して消費熱量を算出することも可能である。

1日に体表面から放散される熱量(消費熱量)を適当な方法で算定すると、約 2,300 Cal となる。そこでこの熱量に相当する熱源を食物として摂取して補給しなければならない。

摂取する食物のうち、エネルギー源となり得るものは、3大栄養素とよばれる糖質、脂肪、タンパク質である。その生理的燃焼値を示すと次の通りで、この値はカロリー計算の基準となっている。

	物理的燃焼値	生理的燃焼値
糖 質	4.10 Cal/g	4.0 Cal/g
脂 質	9.45	9.0
タンパク質	5.65	4.0

栄養学で取扱う熱量単位は kcal であり、単にカロリーと呼び Cal と大文字ではじまる。

生体が日常の生活機能を正常に営んでいくためには、消費熱量に相当した食物(栄養素)を適切な均衡を保った状態で摂取していかなければならない。また、その生体の消費量がそのまま摂取所要量とはならないで、この上に消化吸収率、個人差、生体の利用度、安全率、発育期、作業条件などを考慮しなければならない。

必要量 (requirement) とは、それ以下では健康が保証されないといういわば、生理的に最低限必要な栄養量で、安全率を加味しない実験的な根拠をもつものを指す。これに対して、所要量 (allowance) とは我が国ではこの必要量に安全率を考慮したところの摂取すべき量をいう。安全率とは、個人間の生理的な差異、個人についての生理的な変動、環境の変化、などの要素を総合的に配慮したものであ

表 8-1 年齢別・性別の基礎代謝基準値, 体表面積, 基礎代謝量及び所要量

	男				女			
	基礎代謝基準値	体表面積	基礎代謝量	所要量	基礎代謝基準値	体表面積	基礎代謝量	所要量
月	Cal/m <sup>2</sup> /h	m <sup>2</sup>	Cal/日	Cal/kg	Cal/m <sup>2</sup> /h	m <sup>2</sup>	Cal/日	Cal/kg
0~				120				120
2~	48.7	0.403	471	110	48.4	0.389	452	110
6~				100				100
才				cal				cal
1~	53.6	0.518	666	950	52.6	0.507	640	950
2~	56.2	0.588	793	1,200	55.1	0.575	760	1,150
3~	57.2	0.640	879	1,350	55.6	0.629	839	1,300
4~	56.5	0.681	923	1,500	54.0	0.670	868	1,400
5~	55.1	0.719	951	1,600	51.6	0.708	877	1,450
6~	52.9	0.789	1,002	1,700	49.5	0.768	912	1,550
7~	51.1	0.848	1,040	1,800	47.6	0.824	941	1,650
8~	49.3	0.914	1,081	1,900	46.2	0.889	986	1,750
9~	47.5	0.978	1,115	2,000	44.8	0.975	1,048	1,900
10~	46.2	1.051	1,165	2,100	44.1	1.066	1,128	2,050
11~	45.3	1.139	1,238	2,250	43.1	1.170	1,210	2,200
12~	44.5	1.236	1,320	2,400	42.2	1.273	1,289	2,350
13~	43.5	1.350	1,409	2,600	41.2	1.352	1,337	2,450
14~	42.6	1.460	1,493	2,700	39.8	1.404	1,341	2,450
15~	41.7	1.550	1,551	2,800	38.1	1.442	1,319	2,400
16~	41.0	1.590	1,565	2,800	36.9	1.459	1,292	2,300
17~	40.3	1.617	1,564	2,800	36.0	1.464	1,265	2,250
18~	39.6	1.614	1,534	2,700	35.6	1.460	1,247	2,200
19~	38.8	1.620	1,509	2,650	35.1	1.456	1,227	2,150
(20)	38.3	1.615	1,485	2,550	34.7	1.447	1,205	2,100
20~	37.5	1.608	1,447	2,500	34.3	1.425	1,173	2,000
30~	36.5	1.592	1,395	2,400	33.2	1.433	1,142	2,000
40~	35.6	1.570	1,341	2,300	32.5	1.431	1,116	1,900
50~	34.8	1.545	1,290	2,200	32.0	1.406	1,080	1,800
60~	33.7	1.507	1,219	2,000	31.5	1.350	1,021	1,700
70~	32.3	1.452	1,126	1,800	31.0	1.276	949	1,550

(上田彰, 栄養生理学 昭48. 南江堂)

## 8-1-1 所要熱量

消費する熱量を補給するために摂取すべき総熱量を所要熱量と呼び, この熱量に相当した食物をとらねばならない. 日本人の所要熱量は生活活動指数 (20才の成年男女では0.56) を用いて, 次の式で表されている.

$$A = B + Bx + \frac{1}{10} A \quad (1)$$

A: 1日のカロリー所要量

B: 1日の基礎代謝量

x: 生活活動指数

1/10 A: 特異動的作用(食物摂取によってエネルギー代謝の亢進する現象)に使われる熱量

これで所要熱量を計算すると、普通の労働に従事する成人男女では約 2,550, 2,100 Cal となる。年齢別にみた基礎代謝量、所要熱量などは表 8-1 にまとめた。乳幼児、妊婦、授乳婦、重労働者についてはそれぞれに応じた増加が必要である。

### 1) 基礎代謝

基礎代謝 (basal metabolism) とは、快適な温度 (20°~25°C) のもとに、肉体的にも精神的にも安静状態にある時の消費エネルギーであり、生命を維持するための最小の消費熱量に相当する。

基礎代謝量は所要熱量や作業時のエネルギー代謝率測定などの基準ともなり、また臨床的にも甲状腺疾患の診断や栄養指導にしばしば用いられる重要なものである。

基礎代謝量の測定は食後 12~14 時間を経過した早朝空腹時に、20°~25°C の快適な測定室で 30 分以上安静休息させたのちに、筋肉及び精神緊張を緩和させ、目覚めた状態で行う。被検者の呼吸を採取し、呼吸分析により消費熱量を計算する。

基礎代謝は体積に比例し、20 才の男子では体表面積 1 m<sup>2</sup> あたり毎時 38.3 Cal、女子では 37.4 Cal である。1日に換算すると男子で約 1,480 Cal、女子で 1,200 Cal となる。

### 2) 生活活動指数

男女各年齢児について、基準体位を有し特殊な運動を行っておらず、学校でも家庭でも普通の生活を送っている者を構ひ、消費カロリーを実測して平均を求め、これにその年齢児の平均 1 年間の体重増加から計算した発育分のカロリーを加えたものが必要カロリーである。更に安全率 10% を加えて、その年齢のカロリー所要量が算出されるのであるが、この数値を (1) 式に入れると  $x$  の値が出る。このようにして得られる  $x$  はその集団の人々の生活の全体的な活動度を示すもので生活活動指数とよばれる。

年齢	男	女
5	0.49	0.49
10	0.62	0.63
20	0.56	0.56
50	0.51	0.51

#### 8.1.2 摂取タンパク量

糖質や脂肪は生体の構成成分としても重要であるが、むしろ分解により生体に必要なエネルギーを供給することが主目的である。これに反してタンパク質は高分子そのものが生理作用をもち、筋肉活動、酵素作用、ホルモン、抗体など特定の機能をもっている。タンパク質は絶えず酸化分解と再生を繰り返しているが、窒素をもたない糖質や脂肪では代替できない。そこで摂取するタンパク質が低下すると、これらの重要な機能をもつタンパク質の合成ができなくなってくる。このように、タンパク質はカロリー源として以外に、タンパク質のもつ生理的機能上の必要性からその所要量が独自に定められている。

生体のタンパク質は常に一定の速度で酸化や分解をうけており、尿、糞便、汗、毛髪、皮膚、爪を通して絶えず体外に失われる。その 1 日のタンパク質の損失量は、男子で体重 1 kg あたり 0.56 g、女子で 0.46 g に達する。男子の平均体重を 59 kg とするとタンパク質の損失量は 1 日で 32.8 g となり、女子では 51 kg として 27.4 g となる。そこで、タンパク質の摂取量を定めるにあたっては、この損失量を基準にして日常の摂取タンパクの生物価 85、消化吸収率 90% を考慮した最低必要量の 1.7 倍を所要量としている。1.7 倍とは安全率 50%、個人差 20% を含めて代謝予備タンパク質の 70%

増を考慮した数値である。

$$\text{男子} \quad 0.56 \times \frac{100}{85} \times \frac{100}{90} \times 1.7 = 1.24 \text{ g/kg}$$

$$\text{女子} \quad 0.54 \times \frac{100}{85} \times \frac{100}{90} \times 1.7 = 1.20 \text{ g/kg}$$

成人男子の平均体重を 59 kg, 女子を 51 kg とすれば 1 日あたり所要量は 73 g, 61 g となる。

青少年のような発育期, 妊娠や授乳期にはそれらに応じた摂取量の増加が必要である。

摂取するタンパク質の量は上の式でみるようにタンパク質の生物価で異なるが, 日本人が日常摂取するタンパク質の栄養価は動物性タンパク質の比率を 40% として 85 となっている。一般にタンパク質の栄養価は, 主としてそれに含まれている必要アミノ酸の割合で決まるが, その評価方法として生物実験で得られる生物価 (biological value) を基にしている。生物価とはある食品中のタンパク質 100 分が体タンパク質の何分を代償できるかを示したものである。

$$\text{生物価} = \frac{\text{体内に保留された窒素量}}{\text{体内に吸収された窒素量}} \times 100$$

動物を無タンパク質で飼育して尿中と糞便中に排泄された窒素量を測定し, それぞれ  $N_1$ ,  $N_2$  とする。被検タンパク質を含む食餌をあたえた場合の尿中と糞便中の排泄窒素量を  $N_1'$ ,  $N_2'$  とすれば次のようにして求められる。

$$\text{体内に保留された窒素量} = (\text{摂取タンパク質の体内吸収窒素量}) - (N_1' - N_1)$$

$$\text{体内に吸収された窒素量} = (\text{摂取食物中の全窒素量}) - (N_2' - N_2)$$

### 8.1.3 脂肪の所要量

所要カロリーの内訳を定めるにあたり, タンパク質は独自にその所要量を定めたが, 脂肪や糖質についても正確には同様なことが存在するはずであり, 一方が極端に少なくは正常な発育や生活は営めない。従来は両者の所要量は取りきめてなかったが, 日本人の食物は穀類が多く糖質偏重で, 脂肪の摂取が少なかった。しかし高脂肪食, 特に動物性脂肪の過剰摂取は心臓や動物疾患の原因となりやすく, 一方植物性脂肪は一般にその予防効果があるとされている。脂肪全体として多すぎても少なすぎても好ましくない。またリノール酸, リノレン酸, アラキドン酸は体内合成のできない高度不飽和脂肪酸であり, 食物として摂取しなければならない。脂溶性ビタミンの供給源としても重要である。そこで総カロリー中に占める脂肪のカロリーが 20% であることが望ましいという表現がなされている。1 日に約 50 g の脂肪に相当する。

Linoleic acid: 炭素数 18, 二重結合 2 コ。各種のタネ油にある。トウモロコシ, ラッカセイ, ダイズ。

Linolenic acid: 炭素数 18, 二重結合 3 コ。前者としばしば共存。

Arachidonic acid: 炭素数 20, 二重結合 4 コ。

### 8.1.4 糖質の所要量

糖質は脂肪とともに生物にとって重要なエネルギー源であり, 一般に食物の熱量価の 60% 以上は

デンプンとして摂取されている。糖尿病などで糖質摂取を止むを得ず制限する場合に熱源の上では他のものでも代用されるが、脂肪代謝を円滑にし、ケトン体の生成を防ぐ上からも摂取熱量 100 Cal あたり最小限度 5 g の糖質をとる必要がある。

### 8-1-5 無機質・ビタミンの所要量

その他に所要量が示されているものには無機質(カルシウム、鉄、塩化ナトリウム)とビタミンがある。これらのものは熱源とはならないが生活機能を正常に保つために必要である。

カルシウムの所要量	男女	0.6 g
鉄	成人男子	10 mg
	成人女子	15 mg
塩化ナトリウム	成人	15 g
ビタミン A	成人	2,000 単位
ビタミン B <sub>1</sub>		0.45 mg/1,000 Cal
ビタミン B <sub>2</sub>		0.5 mg/1,000 Cal
ニコチン酸		8.0 mg/1,000 Cal
ビタミン C		1.0 mg/kg
ビタミン D		400 国際単位

乳幼児、成長期、妊娠、授乳期などではそれぞれ所要量が別に定めてある。

## 8-2 消化及び吸収

無機物やビタミンなどのように、そのまま消化管粘膜を通して体内に取り入れられるものもあるが、一般にはそのままの形では吸収されないで構成成分に分解をうけて吸収される。糖質、脂質、タンパク質等の食物を加水分解して生物学的特異性をなくし、消化管から吸収可能な形に変えるのが消化 (digestion) であり、消化された食物を消化管よりとり込むのが吸収である。消化の際に起る化学変化は消化管に分泌される加水分解酵素群によって行われる。

消化器は消化管、すなわち口腔から肛門に至る内面が粘膜におおわれた筋肉性の管系と唾液腺、膵臓、肝臓、胆嚢などの付属外分泌腺からなる。これらの消化器系は独立に作用するのではなくて、神経及びホルモンにより有機的に結びついてその機能を果たしている。

### 8-2-1 口腔での消化

口腔には3対の唾液腺——耳下腺、舌下腺、及び顎下腺——から、それぞれ特有の唾液が分泌されている。耳下腺は漿液性でプテアリンに富む液を、舌下腺は粘液性でムシン (mucin) に富む液を、そして顎下腺は少量のプテアリンを含み、粘液に富む液を分泌する。唾液の成分は分泌を刺激する刺激の種類によって異なる。

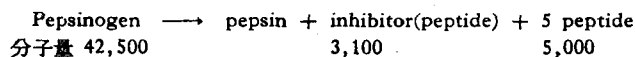
唾液は1日に1~1.5 l 分泌される(平均 pH は 6.7 で生理状態により異なる)。その 99.4% は水

で、0.2%の無機物、0.3%の有機物及び0.1%の浮遊固形物を含む。唾液は口腔内の潤滑油の働きをし、嚙んでいる間に食物をしめらせ、のみ込みやすい食塊とする。唾液はまたある種の無機イオン ( $K^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $HCO_3^-$ , 及び  $SCN^-$ ) やある種の薬剤 ( $I_2$ , アルコール, モルフィン等) の排出経路にもなっている。唾液中には  $\alpha$ -アミラーゼ (ptyalin) が含まれており、この酵素は pH 4.0 以下で失活するので胃内の pH では働かない。しかし、食物が口腔内にある時間は極めて短いが、食塊と共に胃内に入り、胃液 HCl の分泌で強酸性となるまで消化反応は続いている。通常摂取する糖質はデンプンが主であり、そのほかにショ糖、乳糖などがあるが、唾液中のアミラーゼ ( $\alpha$ -amylase) は、デンプンの  $\alpha$ -1,4 結合を切断して、デキストリンとマルトースにまで分解する。ショ糖や乳糖には作用せず、これらは小腸で単糖類に分解をうける。

小腸に入ると膵臓からアミラーゼが分泌されるが、唾液アミラーゼよりも強力な  $\alpha$ -amylase である。遊離したマルトースは小腸粘膜のマルターゼにより2分子のグルコースに分解をうける。デンプン中のアミクペクチンの枝分れの  $\alpha$ -1,6 結合は唾液や膵  $\alpha$ -アミラーゼでは切断できず、小腸の oligo-1,6-glucosidase により分解をうける。

### 8-2-2 胃における消化

胃壁の粘膜には三つの型の分泌細胞がある。すなわち塩酸を分泌する壁細胞、ペプシノーゲン (pepsinogen) を分泌する主細胞及びムコタンパク質を分泌する副細胞である。胃液は1日に2~3l 分泌される。胃液の pH は 1.5~2.0 で、正常人では 20~40 mEq/l の酸度を示す。主細胞中でのペプシノーゲンは pre-enzyme の一つでそれ自身は消化作用がなく、胃内へ分泌されたのち HCl あるいはペプシン自身の作用により自己触媒的に活性化されてペプシンになる。この際、ペプシンの作用を阻止していた分子量 3,100 のペプチドと5コのペプチドがペプシノーゲンから切り離される。



ペプシンの至適 pH は 2~3 で、胃液の HCl による酸性下で、その作用が発揮される。タンパク質の消化は胃で始まるが、ペプシンはエンドペプチダーゼの1種だが基質特異性は低く、主として芳香族アミノ酸が関与するペプチド結合を切断し、タンパク質をペプチドの混合物にまで変える。しかしアミノ酸までは分解し得ない。ペプシンはミルク凝固作用をも示す。

胃液の塩酸は壁細胞において生ずる。炭酸脱水酵素 (carbonic anhydrase) の働きで二酸化炭素から生じた  $H_2CO_3$  が解離して  $H^+$  を生じ、一方  $HCO_3^-$  は血流中に移行し、代りに  $Cl^-$  が血中より壁細胞に入り、電荷を補償する。その結果として壁細胞に塩酸を生成する。胃癌患者では胃液に遊離塩酸が欠如していることが多く、また胃潰瘍や十二指腸潰瘍は、ペプシンが胃壁粘膜を消化するために起る疾患であるが、これらの患者の胃液では遊離塩酸が高い場合が多い。

胃液中にはリパーゼも含まれているが、その作用は弱く脂肪の消化にどれほどの意義があるかは不明である。ビタミン  $B_{12}$  の吸収に関する Castle の内因子が粘液中に存在するという。

胃液分泌は脳相、胃相、腸相にその機構が分けられる。脳相は心理的メカニズムで反射的刺激や化学的刺激により胃液の分泌が起る。また食物中の分泌刺激物質が幽門部粘膜に作用して分泌刺激ホルモンであるガストリン (gastrin) の産出を促し、これが血行を介して壁細胞に作用し、塩酸の多い胃



液の分泌を促す。腸期は酸性の胃内容物が腸粘膜を刺激してセクレチン (secretin) が産生され、血行を介して胃粘膜を刺激してペプシンの多い胃液を分泌させる。

### 8・2・3 腸における消化

#### 1) 膵液

十二指腸には膵管が開口しており、十二指腸に開口する直前に総輸胆管が膵管に合流している。胃で消化が行われている間に胃の内容物 (chymus) は、幽門弁を通過して間欠的に十二指腸に送り込まれる。膵液及び胆汁はアルカリ性が強く、chymus の酸を中和する。膵液は成人では1日に 500~800 ml 分泌される。それにはトリプシノーゲン (trypsinogen)、キモトリプシノーゲン (chymotrypsinogen)、プロカルボキシペプチダーゼ (procarboxypeptidase)、などの非活性のタンパク質分解酵素前駆体を含み、小腸内でいずれも活性化をうける。トリプシノーゲンは十二指腸腺より分泌されるエンテロキナーゼによりアミノ酸6コよりなる Val-(Asp)<sub>4</sub>-lysine を遊離してトリプシンとなる。エンドペプチダーゼとしての作用をもち、アルギニン又はリジン残基のカルボキシ側を加水分解する。キモトリプシノーゲンも十二指腸で2コのペプチドが遊離してキモトリプシンとなり、チロシン、フェニルアラニン、トリプトファンなどの芳香族アミノ酸残基のカルボキシ基側を加水分解するエンドペプチダーゼとして作用する。膵液にはその他にリパーゼ、 $\alpha$ -アミラーゼ、リボヌクレアーゼ (ribonuclease) 及びコレステロールエステラーゼ (cholesterol esterase) 等を含む。小腸に入った脂肪は胆汁酸塩の作用により乳化をうけ、膵リパーゼ (steapsin) により加水分解をうける。トリグリセリドに作用して  $\alpha$  ( $\alpha'$ ) 位を特異的に水解する。生成したモノグリセリド、ジグリセリドは更にイソメラーゼやリパーゼの作用をうける。膵液の分泌はホルモンと迷走神経によって二重に支配されている。十二指腸上部に到着した大きなペプチド(ペプシン消化で生じた)やあるいは胃液から送られてきた酸が周囲の腸壁に刺激を与え、セクレチン (secretin) というホルモンを血行中に遊離する。これは直接分泌細胞に刺激を与え、その結果うすい水様で酵素濃度は低いが高重炭酸濃度の高い膵液の分泌を促進する。一方、迷走神経によって分泌が促進されたときは、酵素濃度の高い重炭酸塩濃度の低い膵液を分泌する。酵素濃度の高い膵液の分泌はまたパングレオザイミン (pancreozymin) によっても促進されるという報告がある。ガストリンもまた膵酵素分泌刺激作用を示すということが最近明らかにされた。

#### 2) 腸液

腸液は Brunner 腺や Lieberkühn 腺から分泌されるが、これは酵素をほとんど含まない。しかし、腸管にはエンテロキナーゼ、アミノペプチダーゼ、ジペプチダーゼ、マルターゼ、シュクララーゼ、ラクターゼ、リパーゼ、ヌクレアーゼ、nucleotidase、nucleosidase、lecithinase 及びホスファターゼ等の酵素活性があることが知られている。Disaccharidase 活性は腸内腔では低く、小腸絨毛の上皮細胞にある刷子縁 (brush border) に活性が高いため、分子が小さく透過性の基質が絨毛をぬって通過する間に作用するものと考えられる。

#### 3) 胆汁

胆汁は肝臓の実質細胞で作られ、輸胆管を経て胆嚢に貯えられる。胆汁には胆汁酸と胆汁色素が含まれている。一方、胆嚢は神経の刺激によっても、また十二指腸粘膜からでるコレチストカイニンというホルモンの刺激によっても収縮する。胆嚢は単なる貯蔵の袋ではなく、水分や電解質を吸収して

胆液を濃縮し、ムコタンパク質を分泌する。胆汁酸はコレステロールの異化物質で強い表面活性作用を有し脂肪と結合して親水性とし、乳化作用により脂肪の消化吸収や脂溶性ビタミンの吸収を助ける。ヒトの胆汁に含まれる胆汁酸塩は、コール酸、デオキシコール酸及びケノデオキシコール酸のグリシン又はタウリン抱合体である(図8-1)。

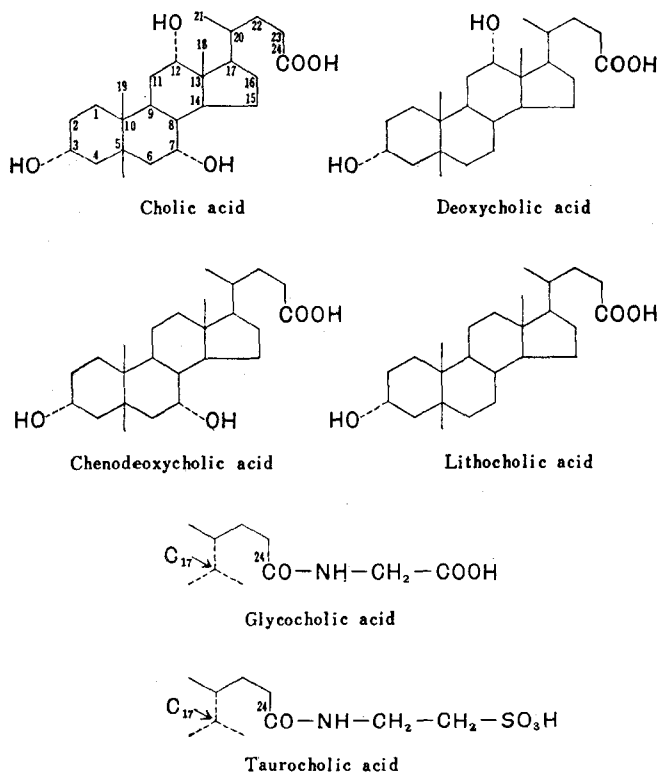


図 8-1

コレステロールから毎日生産される胆汁酸の量は成人では 0.8 g である。胆嚢におけるコール酸、デオキシコール酸及びケノデオキシコール酸の貯留量はそれぞれ 1.38, 0.77, 1.45 g である。また、コール酸の半減期は 2.3 日である。

これら胆汁酸塩は消化吸収のための分泌物というよりコレステロール(肝臓における1日の生産量は約 1~1.5 g, 肝臓のコレステロールプールは 3.5 g)の代謝終末産物としての排泄物であると考えられる。放射性コレステロールを用いた実験によれば、体内コレステロールの 85% 以上が胆汁酸に代謝されるという。胆汁酸塩の一部は腸で再吸収され、門脈を経て再び肝臓に戻る。これを胆汁酸の腸肝循環という。胆汁色素は網内系でポルフィリンが分解された結果生成するが、生じたビリルビンは肝細胞内でプロピオン酸基がグルクロン酸抱合をうけて、直接型ビリルビンとなり、胆汁中に排泄されている。

## 8.2.4 吸 収

摂取された食物は、消化酵素の作用によって小さな分子にまで分解されるが、それぞれの最小終末産物は糖質では単糖類、タンパク質ではアミノ酸や小さなペプチド、脂質では遊離脂肪酸, monoglyceride, diglyceride 及びグリセリンである。単糖類、アミノ酸及び小さなペプチドは小腸で受動輸送(浸透と拡散)あるいは能動輸送によって吸収され、門脈を通して肝臓に運ばれる。遊離脂肪酸, monoglyceride 及び diglyceride は胆汁酸の助けをえて、小腸の粘膜細胞内に入り、そこで腸リパーゼ作用を受け、更に水解されたあと、再び triglyceride に再合成される。それは腹腔内リンパ系に移行し、胸管を経て血液中に入る。このとき直径 $1\mu$ ぐらいの lipoprotein 粒子、いわゆる chylomicron として観察される。牛乳等に見出される炭素数 10~12 以下の脂肪酸や腸内腔で遊離されたグリセリンはほとんど完全にエステル化を受けずに門脈血に入る。リン脂質は親水性であるから吸収されて直接門脈を通り肝臓にゆく。コレステロールは吸収されてリンパ系に入る。その吸収は脂肪酸とエステルを伴うことによって容易になる。核酸は膵臓や腸液の酵素により分解を受け、nucleoside や遊離塩基にまで分解を受けて小腸粘膜から吸収される。しかし、一部の adenine を除き組織の核酸の材料とならず、尿酸などに酸化を受けて尿中に排泄される。

## 8.3 呼 吸

動物はその活動のエネルギーを糖質、脂肪及びタンパク質等の食物の酸化によってえているが、そのような栄養素の酸化は各組織で行われる。その際に必要な酸素を肺から組織に供給し、代謝によって生じた二酸化炭素を肺に運んで体外に排泄する。この運搬の機能を果たすのが血液である。ヒトが1日に3,000 Cal の食物を酸化するとすると、600 l の酸素(27 mol)を消費し、480 l の $\text{CO}_2$  (22 mol)を生成することになる。この生じた $\text{CO}_2$  を $\text{H}_2\text{CO}_3$  として $\text{H}^+$ 量に換算すると、濃塩酸 2 l の量にも相当する。しかもこれらの $\text{CO}_2$  が血液に入り、肺胞からでていくにもかかわらず、血液の pH は数十分の一も変化しないことは驚くべきことである。

吸気中の気体が肺胞の細胞膜に接すると、拡散によるガス交換が行われる。肺胞気中の酸素分圧は約 107 mmHg であり、静脈血のそれは 40 mmHg であるから、圧の差 67 mmHg が酸素を肺胞から血中へ移行させるのに役立つ。一方、肺胞気中の二酸化炭素の分圧は 36 mmHg であり、静脈血では 46 mmHg である。その差は 10 mmHg と比較的到低いが $\text{CO}_2$  は拡散速度が早いために容易に血中から肺胞気に移行する( $\text{CO}_2$  の Bunsen 係数は $38^\circ\text{C}$ の血液で、0.510、 $\text{O}_2$  のそれは 0.024 と低いので $\text{CO}_2$  の拡散は $\text{O}_2$  よりもはるかに速い)。ところで、酸素が血液に単に物理的に溶解するだけだとすると、100 ml あたりわずかに 0.39 ml 溶解するにすぎない。この程度の酸素では到底代謝の要求には応じられない。実際には約 20 vol% の酸素を血液は保持しているが、このような大きな酸素保持能力は、赤血球の中に含まれるヘモグロビンに負っている。血液には 100 ml につき 14.5 g のヘモグロビンを含んでおり、1 g のヘモグロビンは 1.34 ml の $\text{O}_2$  と結合しうるので、十分酸素化された血液では、物理的溶解量の 70 倍もの酸素を含んでいることになる。

## 8.3.1 ヘモグロビン (hemoglobin, Hb)

ヘモグロビンはタンパク質の一つであるグロビンと補欠分子族であるヘム (heme) とからなる複合タンパク質である。動物の Hb はそれぞれその性質を異にするが、それらはタンパク質であるグロビン部分の相違に基づくものである。すべての脊椎動物及び多くの無脊椎動物の Hb には ferroprotophyrin III を含んでいる点が共通である。

ヒトの Hb の分子量は 64,450 で、4 コのペプチド鎖からなる4量体で、ヘムが各ペプチド鎖に1

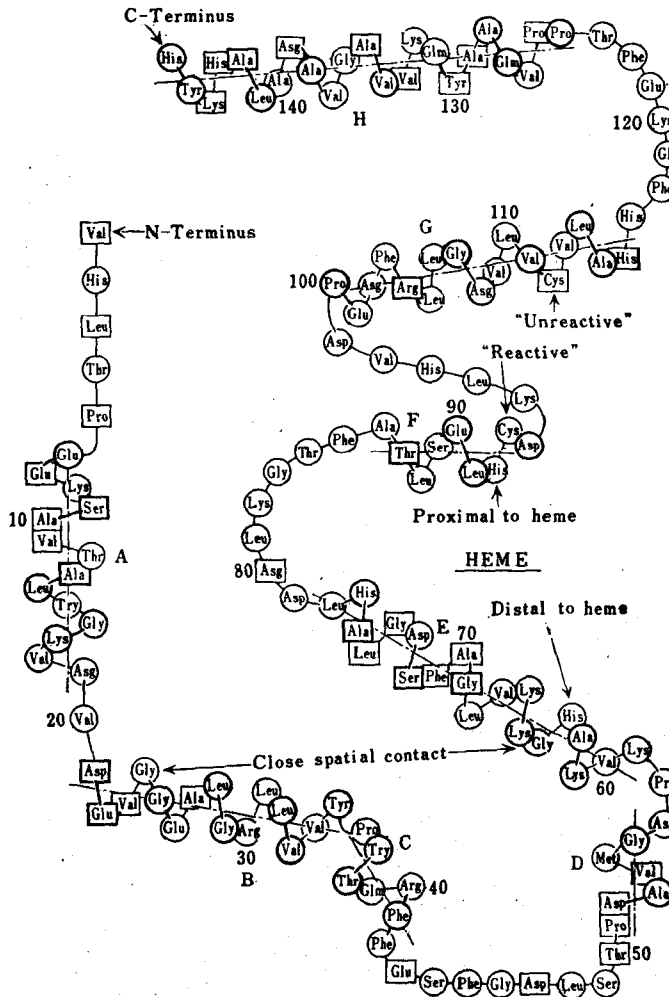


図 8.2 ヒトのヘモグロビンの  $\beta$ -鎖の構造

$\alpha$ -ヘリックス部分は A, B, C, D で示されている。アミノ末端から各 10 番目の残基ごとに番号がつけられている。93 残基のシステインは SH 試薬と反応する。 $\gamma$ -鎖は  $\beta$ -鎖と同じ長さで、アミノ酸配列もよく似ているので上の構造は  $\gamma$ -鎖にも適用しうる ( $\beta$ -鎖と  $\gamma$ -鎖とくい違っているところは矩形の枠で囲まれている)。 $\alpha$ -鎖では AB 部分がアミノ酸の 2 コ分長くなり、CD 部分では 1 コ分短くなっている。また D ヘリックス部分 (54~58 残基) が  $\alpha$ -鎖では欠けている。しかしこれらの相違はいずれもヘム基の位置の近傍でないことは注目に値する (W. A. Schroeder)。

コずつ結合している。正常人の Hb は Hb<sub>A</sub> といわれるが、グロビン部分は2本の  $\alpha$  鎖 (141 コのアミノ酸) と2本の  $\beta$  鎖 (146 コのアミノ酸) から構成されている。これを  $Hb_A = \alpha_2^A, \beta_2^A$  と書き表す。

胎児ヘモグロビン (fetal hemoglobin) では成人の  $\beta$  鎖の代わりに  $\gamma$  鎖がおき代り、 $\alpha_2\gamma_2$  の構成からなる。胎児血液のヘモグロビンは、胎盤中の母親の血液が飽和されていない酸素張力のもので、十分に飽和されねばならぬ条件が要求されている。胎児ヘモグロビンには成人ヘモグロビンに存在しないイソロイシンをもち、-SH 基をただ一つ有している。酸素 30 mm, 37°C, pH 6.8 で母親の血液は33% 飽和されているが、胎児血液は 58% 飽和されている。酸素親和性は胎児ヘモグロビンの構造のみならず、胎児赤血球の構造にも関連があると思われる。

$\alpha$ ,  $\beta$  鎖はアミノ酸の1次構造のみならず(図8・2)、空間構造をも完全に決定されている。

4本の鎖、すなわち2本の  $\alpha$  鎖、2本の  $\beta$  鎖は4面体の形に配列した立体構造をとっている。その  $\alpha$ ,  $\beta$  鎖は共に類似の長さの  $\alpha$  ヘリックス構造を有し、また同じ角度と方向の屈曲をもった類似の第3構造をとっている。いずれの各鎖もミオグロビンに似た空間構造を有している点は興味深い。

ヘモグロビンの完全な構造では、4コのパепチドは密にからみあって内部にほとんど遊んだ空間を残さないような結合をしている。四つのペプチド鎖間の結合は共有結合を含まず、van der Waals 結合、水素結合、イオン結合及び疎水結合とからなる。内部の疎水性の部分は低い透電率を有しているが外部の親水性のアミノ酸残基によって Hb タンパクは高い溶解性を有してくる。

ヘム基はヘモグロビンのポケット様のくぼみの中に入り込んでおり、ヘムの疎水性 vinyl 基はグロビンの疎水性のアミノ酸側鎖によってとり囲まれており、水との接触によるヘムの酸化が保護されている。それぞれのヘムの2コのプロピオン酸基はリジンやアルギニンの正に帯電した窒素原子の近くに位置している。ヘムの鉄はグロビタンパクのヒスチジンのイミダゾール基と結合するが、 $\alpha_1$  鎖とは N 端より数えて87番目のものと、 $\beta_1$  鎖では92番目のものと配位結合をしている。更に鉄は  $\alpha_2$  鎖の58番目のヒスチジンと結合し、 $\beta_2$  鎖とは63番目のヒスチジンと少し離れた状態でゆるく結合している。メトヘモグロビンでは1コの水分子が鉄とヒスチジンの間にあるが、ヘモグロビンでは空になっており、 $O_2$  の結合はこの部でおきる。酸素がヘムの Fe と結合することは、Hb 及び  $O_2$  が常磁性であるのに  $HbO_2$  が反磁性であることから推定せられる。このような性質はヘモグロビンのヘムの多くがグロビン分子の疎水基におおわれていて、その周囲の透電率が低くなっていることに基づく。またヘム鉄がヒスチジンのイミダゾール基に配位していることが、その正常な機能にとって必要であるとも考えられている。

ヘモグロビンの特長はヘム Fe の原子価(2価)を変えることなく  $O_2$  と可逆的に結合しうることである。しかし Fe が3価 ( $Fe^{3+}$ ) の状態になったメトヘモグロビン (methemoglobin) では  $O_2$  と結合する能力を有しない。

### 8.3.2 ヘモグロビンの異常

ヘモグロビンの酸素結合能はその構造と密接な関係があり、グロビタンパクの構造の変化からヘム部の酸素結合能に影響を与えたり、またヘム構造の2価鉄が3価鉄に酸化をうけていて酸素結合能を失い、貧血や溶血などの臨床症状を呈することがある。

グロビンのペプチド鎖に異常のある先天性異常が異常ヘモグロビン症 (hemoglobinopathy) であり、ヘムの異常によるものがメトヘモグロビン血症 (methemobinemia) である。

### 1) 異常ヘモグロビン

近年、ヘモグロビンの化学構造が明らかになるに及んで種々の先天性異常ヘモグロビンの存在が数多く報告されるに至った(表8・2)。ヘモグロビン間の化学的相違はグロビンのアミノ酸配列順序(1次構造)を固定することによって明らかにされる。グロビンの次のような位置にアミノ酸の置換がおきると Hb の機能が障害されて貧血などの臨床症状を呈してくることになる。

- ヘムの結合に関係しているアミノ酸
- $\text{Fe}^{2+}$  の2価の維持に関与するアミノ酸(特に58位のヒスチジンがチロニンに置換)
- $\alpha$ ,  $\beta$  鎖間の結合に関係しているアミノ酸

正常人のヘモグロビンは2本の $\alpha$ 鎖と2本の $\beta$ 鎖からなり、これを $\text{Hb A}=\alpha_2^A\beta_2^A$ と表示するが、Aはヘモグロビンが得られたソースを表し、ギリシャ文字はペプチド鎖を、数字はペプチド鎖の数を表す。胎児のヘモグロビンは成人のものとは異なり $\text{Hb F}=\alpha_2^F\beta_2^F$ で表される。ヘモグロビンタンパクの合成機構は一般の遺伝的に制御をうけるタンパク合成系の場合と同じ様式である。生後数カ月の赤血球には胎児 Hb が幾分かは残っているが、やがて正常の HbA だけを含むようになる。しかし、ある種の貧血では正常ならば、胎児ヘモグロビンが消失している年齢であるにもかかわらず、なおかかる Hb を合成しつづけている異常例が報告されている。

鎌状赤血球貧血にみられる異常 Hb S においては、 $\alpha$ 鎖は正常のものと同じのアミノ酸配列をしているが、 $\beta$ 鎖では N 末端から6番目がグルタミン酸であるべきものに対してバリン残基が入っており、 $\alpha_2^A\beta_2^{\text{Val}}$ の構成である。この1種のアミノ酸が別のアミノ酸で置換される結果をもたらす突然変異は triplet code 中の nucleotide の塩基が1種かわっただけに由来している。グルタミン酸残基を失うことにより、電荷分布が異なり、溶解度の変化をきたす。還元型 Hb S は特に難溶性となり、著しい粘度の上昇をきたす。 $\beta$ 鎖の置換により生じた6-バリンが N 末端のバリンと分子内で結合して環を作り、これが $\alpha$ 鎖中に突出して連絡をする形態をとっている。かかる Hb S の分子の環が赤血球内に析出して赤血球膜をつきあげて特異な鎌状 sickling の奇形態を呈するという。

Hb M 症はヘム鉄の状態( $\text{Fe}^{3+}$ )からはメトヘモグロビン症に属するが、( $\alpha$ 鎖 87,  $\beta$ 鎖 92), ( $\alpha$ 鎖 58,  $\beta$ 鎖 63)の酸素結合に関与するヒスチジンのうち1コがチロニンに置換されたことに由来している。その結果、 $\text{Fe}^{2+}$ が酸素により酸化をうけて $\text{Fe}^{3+}$ の状態に固定され、酸素結合能を失ったものである。現存まで知られている Hb M 症はすべて、heterozygote であり、Hb M 含有量は20~30%にしすぎない。臨床症状も皮膚、粘膜に特有のチアノーゼ様色調を呈する程度である。

### 2) メトヘモグロビン症

体内、体外を問わず血液が酸化物に接するとヘモグロビンの2価鉄は容易に3価鉄に酸化されて、メトヘモグロビンを生ずる。3価鉄は酸素との結合が全く起らないので組織への酸素分子の供給が不可能となる。しかし酸化により生じたメトヘモグロビンは体内の還元系により正常ヘモグロビンに還元が繰り返されており、正常赤血球には約1%前後しか存在していない。メトヘモグロビンは暗褐色の物質で、流血中に増加して1.5~2.0%に及ぶとチアノーゼ様となる。著明なチアノーゼと呼吸困難がメトヘモグロビン血症の主症状であり中毒性と先天性メトヘモグロビン血症とに大別される。

表 8.2 異常ヘモグロビンの組成

Hemoglobin		組 成
A <sub>1</sub>	$\alpha_2^A \beta_2^A$	
F	$\alpha_2^A \gamma_2^F$	$\gamma$ 鎖の N 末端は glycine, $\beta$ 鎖の N 末端は valine, glycine である。 $\gamma$ 鎖は他にも相違点があり, 実質的に $\beta$ 鎖とは類似していない
C	$\alpha_2^A \beta_2^{6Lys}$	$\beta$ 鎖の 6- の glutamic acid の代りに lysine
D <sub><math>\alpha</math></sub>	$\alpha_2^D \beta_2^A$	$\alpha$ 鎖に異常があるとされている
D <sub><math>\beta</math></sub>	$\alpha_2^A \beta_2^D$	$\beta$ 鎖に異常があるとされている
E	$\alpha_2^A \beta_2^E$	$\beta$ 鎖 glutamic acid が 1 $\rightarrow$ lysine に置換されている
G* (San Jose, Calif.)	$\alpha_2^A \beta_2^{7Gly}$	$\alpha$ 鎖の 7- の glutamic acid の代りに glycine
G* (Philadelphia)	$\alpha_2^{68Lys} \beta_2^A$	$\alpha$ 鎖の 68- が asparagine の代りに lysine
G* (Singapore, Hong Kong)	$\alpha_2^{30Glu} \beta_2^A$	$\alpha$ 鎖の 30- の glutamic acid の代りに glutamine, Singapore 及び Hong Kong hemoglobin G は同一のもと考えられる (Swenson, et al.: <i>J. Biol. Chem.</i> 237, 1517 (1962))
H	$\beta_4^A$	$\alpha$ 鎖 2 本の代りに $\beta$ 鎖がもう 2 本
I	$\alpha_2^{16Asp} \beta_2^A$	$\alpha$ 鎖の 16- の lysine の代りに aspartic acid
S	$\alpha_2^A \beta_2^{6Val}$	$\beta$ 鎖の 6- が glutamic acid の代りに valine
M (Boston)	$\alpha_2^{58Trp} \beta_2^A$	$\alpha$ 鎖の 58- が histidine の代りに tyrosine
M (Iwate)	$\alpha_2^{87Tyr} \beta_2^A$	$\alpha$ 鎖の 87- が tyrosine, $\beta$ は正常
M (Kankakee)	M (Iwate) に同じ	
M (Saskatoon)	$\alpha_2^A \beta_2^{63Tyr}$	$\alpha$ 鎖正常, $\beta$ 鎖の 63- が tyrosine
M (Milwaukee)	$\alpha_2^A \beta_2^{67Glu}$	$\alpha$ 鎖正常, $\beta$ 鎖の 67- が glutamic acid

\* Hemoglobin G は最初 Edington, Lehman: *Lancet* 2, 173 (1954) によって記載されたが, それ以後 8 種類の hemoglobin が報告されている。それらは電気泳動的には同一にみえるが, 少なくとも 2, 3 の例ではそのアミノ酸組成に差がある。このような非常に近縁な hemoglobin を区別するには, それが最初に発見された地名を示す添書を使用するのがよいと思う (ハーバー「生化学」より)。

i) 中毒性メトヘモグロビン血症 強力な酸化作用を有する薬剤, 例えばアニリン, フェナセチン, アセトアニリド, スルファミンなどの大量ないし長期投与でおきてくる。

ii) 先天性メトヘモグロビン血症 メトヘモグロビン還元酵素の欠損による異常症と, ヘムが 3 価に固定されているヘモグロビン M 症がある。

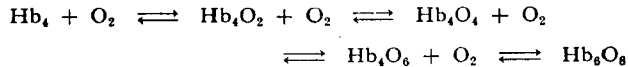
### 8.3.3 酸素の運搬

Hb と酸素との結合は, 酸素張力及び CO<sub>2</sub> 張力によって影響をうける。酸素結合曲線は図 8.3 に示すとおり S 字状である。

$\text{Hb} \cdot \text{O}_2 \rightleftharpoons \text{Hb} + \text{O}_2$  の反応が質量作用の法則に従って反応するとした場合の直角双曲線型にはならない。すなわち次の Hill の方程式

$$[\text{Hb} \cdot \text{O}_2] = 100 \frac{(P/P_{1/2})^n}{1 + (P/P_{1/2})^n}$$

において  $n$  が1ではない値をとる。 $n$  の値は動物により異なるがヒトでは 2.9 という値をとる(ただし  $P_{1/2}$  は 50% 飽和度を与える  $\text{O}_2$  の分圧である)。このことはヘモグロビンの4本の鎖の共同作用に基づくものである。1本の鎖に  $\text{O}_2$  が負荷されるとアロステリック効果によって分子の形に変化をもたらし、その結果、次の3分子の  $\text{O}_2$  がより強く結合するようになる。



したがって、酸素との結合反応は極めて迅速で 0.01 秒以内に終了する。酸素結合曲線が S 字型であることは、双曲線型に比してはるかに多くの  $\text{O}_2$  を組織に与えることが可能で生理機能上からも極めて重要である。ちなみにミオグロビンは1分子に1コのヘムしか有しないが、その解離曲線は図 8・3 の破線で示すように直角双曲線型である。血液の酸素解離曲線は図 8・3 に示すように  $P_{\text{CO}_2}$  の増加に伴って右方へ、低下に伴って左方に移動しているが、この現象を Bohr 効果とよんでいる。この変動の効果はこれに伴う  $\text{H}^+$  の変化に基づくものである。曲線の左方移動は Hb の  $\text{O}_2$  親和性の増大を、右方移動は減少を意味する。

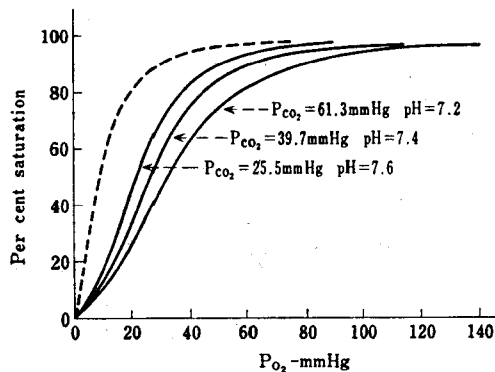


図 8・3 血液の酸素結合曲線

pHs は血漿の pH (破線は myoglobin 溶液曲線)

Bohr 効果はヘモグロビンのサブユニットと同様の構造をもつミオグロビンでは見られない。ヘモグロビンがかかる Bohr 効果を示すためには、 $\alpha$  と  $\beta$  鎖などの 2 種のサブユニットの共存が必要とされている。一つのサブユニットの oxygen linked acid group (酸素の結合により、解離状態の変化する基で  $\beta$  鎖の 146 番目のヒスチジンと  $\alpha$  鎖の 1 番目のバリンが想定されている) と共存する他種のサブユニットとの間の相互作用により発現するものとされている。Bohr 効果はまた赤血球中に存在するある種のイオン {ATP, 2,3-diphosphoglyceric acid (DPG)} によっても影響される。すなわちこれらのリン酸化合物がグロビンに結合すると Hb の酸素に対する親和性は減るように働く。



胎児赤血球は成人に比し DPG 含量が少ない。これは低酸素分圧下での Hb の酸素飽和を要求する胎盤内での酸素運搬に役立っているものと考えられている。

この事実はヘモグロビンの酸素運搬機能から考えて、極めて合目的である。なぜなら、Bohr 効果のゆえに、 $P_{CO_2}$  の低い細胞では Hb  $O_2$  の飽和度が一定の  $O_2$  分圧下で高くなり、逆に  $P_{CO_2}$  の高い組織では、一定の  $O_2$  分圧下で Hb  $O_2$  はより多くの  $O_2$  を解離して、組織に与えることができるのである。

動脈血の  $P_{O_2}$  は 100 mmHg で、 $P_{CO_2}$  は 40 mmHg である。図 8.3 から動脈血のヘモグロビンの  $O_2$  は 96% 飽和していることがわかる。肺以外の細胞間液の  $P_{O_2}$  は約 35 mmHg であり、 $P_{CO_2}$  は 50 mmHg である。したがって  $O_2$  は赤血球から血漿を通して細胞間液に移り、一方  $CO_2$  は逆に働く。血液は毛細管中を速やかに通るにもかかわらず、血液と細胞間液の平衡は速やかに完成し、組織から帰ってくる静脈血は休息時  $P_{CO_2}$  46 mmHg,  $P_{O_2}$  40 mmHg になっている。 $CO_2$  の拡散は  $O_2$  よりはるかに高いから、 $CO_2$  の分圧の差はそれほど大きいことが必要でない。こうして静脈血のヘモグロビンの酸素飽和度は 64% となる。したがって、その差 32% (96% - 64%) が組織に与えられたことになる。100 ml の血液が 14.5 g のヘモグロビンを含み、ヘモグロビン 1 g が 1.34 ml の  $O_2$  を結合すると、100 ml の血液に含まれる  $O_2$  のうち、 $0.32 \times 1.34 \times 14.5 = 6.4$  ml が組織に渡されたことになる。

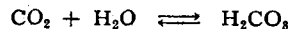
#### 8.3.4 $CO_2$ の運搬

血液中の  $CO_2$  量は、100 ml の血液に減圧下で鉱酸を加えた際に発生する  $CO_2$  ガス量で表される。動脈血の  $CO_2$  含量は 50~53% (v/v) であり、静脈血は 54~60% (v/v) である。したがって 100 ml の血液は組織から肺臓へ 4~10 ml の  $CO_2$  を運んでいることになる。

組織の動脈血と静脈血の  $P_{CO_2}$  の差は、6 mmHg である。 $CO_2$  が単に物理的に溶解しているだけとすれば、Bunsen 吸収係数から計算して  $CO_2$  の増加量は 0.4 vol% にすぎない。また仮にこれだけの  $CO_2$  が血液に単に溶解していると仮定しても、その pH の変化はかなりのものになるはずである。しかし、事実は pH はほとんど変らない。したがって  $CO_2$  の運搬に対しても、動脈血は何か特別の機構をもっていることが伺われる。

動脈血が毛細管に達すると、そこでは周囲の  $P_{CO_2}$  が高く  $P_{O_2}$  が低いから、Hb  $O_2$  は解離して  $O_2$  が細胞間液に移行する。

一方、 $CO_2$  はその 85% が赤血球のほうに拡散する。赤血球に到達した  $CO_2$  は、そこに含まれる炭酸脱水酵素 (carbonic anhydrase) の作用で、 $H_2CO_3$  に水和される。この酵素は Zn を含み、赤血



球中のヘモグロビンと結合している。他にも、筋肉組織、膵臓、精子に少量見出されるが、胃の壁細胞には活性が高く塩酸の分泌機構に関係し、腎の尿細管細胞にもあり水素イオンの排泄に重大な役割を果たしている。本酵素の作用で生成した  $H_2CO_3$  は、生理的 pH で直ちに解離して、



重碳酸イオンと  $H^+$  とに分かれる ( $H_2CO_3$  の  $pK'_1$ : 6.1).

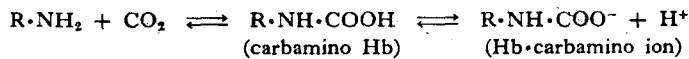
一般にタンパク質がそうであるように、ヘモグロビンも緩衝作用を示すが、ヘモグロビンの場合は、一つの特長事情がある。すなわちヘモグロビンが酸化されて  $HbO_2$  になると、ヘモグロビンはより強い酸として働く。

酸化ヘモグロビンの解離定数  $2.4 \times 10^{-7}$

還元ヘモグロビンの解離定数  $6.6 \times 10^{-9}$

逆に  $HbO_2$  が酸素を放出して還元  $Hb$  になると、 $H^+$  に対する親和性が増加し、ヘモグロビンは  $H^+$  を結合する。 $HbO_2$  が 1 mol の  $O_2$  を放出して還元  $Hb$  にもどると、0.7 mol の  $H^+$  を結合し得る。更に、組織で生成された  $CO_2$  の一部は別の方法でも運搬されている。

$CO_2$  はヘモグロビタンパクの遊離アミノ基 ( $-NH_2$ ) とカルバミノ (carbamino) 結合をすることができる。



カルバミノ結合  $CO_2$  は血中の  $CO_2$  総量の約 20% を占めるに過ぎないが、反応が速く、気体の交換に重要である。Carbamino Hb の解離指数は 6 以下であるため、その大部分は解離して、カルバメートイオンとなっている。更に組織から血液の中に入ってきた  $CO_2$  のごく 1 部は、血漿中で水和されて  $H_2CO_3$  になり解離するが、 $CO_2$  の水和反応は非酵素的には緩徐にしか進行しないから、この反応による  $CO_2$  運搬の役割は小さい。

このように、組織で生成した  $CO_2$  は上記の 3 通りの方法により運搬されるが、水和及びそれに続く解離の結果生じた  $H^+$  は、ヘモグロビン自身及び血液の緩衝系に取り込まれ、血液の pH はほとんど変化しない。

以上のように組織で生成された  $CO_2$  は血液に入り、赤血球内の炭酸脱水酵素により  $H_2CO_3$  を生成し、 $H^+$  は大部分ヘモグロビンなどの赤血球内容の強い緩衝作用により消去され、血球の pH をほとんど変えることがない。

同時に血球内の  $HCO_3^-$  は血漿内濃度に比して大幅に増加したことになる。そのために赤血球膜内外の  $HCO_3^-$  の均衡が破れ、血球内の  $[HCO_3^-]$  は血漿中にでゆく。しかし、このとき陽イオンを伴うことができないから、移動する  $HCO_3^-$  と当量の  $Cl^-$  が血漿より血球内に移動することにより、電気的中性を維持する。この現象を塩素移動 (chloride shift) という。以上の一連の働きの結果、血漿は全血液の運ぶ  $CO_2$  の 60% を  $HCO_3^-$  として肺に運ぶことになる。またヘモグロビンの carbamino 基によって運ばれる  $CO_2$  の量 (全体の 27%) と、赤血球内に存在する  $HCO_3^-$  の量 (7%) を加えると、血液によって運ばれる  $CO_2$  の 90% 以上は、ヘモグロビンの働きに負っているということになる。

血液が肺に達すると、以上の反応は逆に進行し、肺胞においては  $CO_2$  分圧が低いから、 $CO_2$  は血液から肺胞気の中へ出てゆく。同時に  $O_2$  は血液の中へ入ってゆき、 $HbO_2$  を作る。血漿の  $HCO_3^-$  は血球内に入り、 $HbO_2$  から放出されたプロトンと結合して  $H_2CO_3$  となる。Carbonic anhydrase は  $H_2CO_3$  を  $H_2O$  と  $CO_2$  とに分解する。そして生じた  $CO_2$  は肺胞に拡散してゆき、呼気中に出

ていく。Carbamino 基も  $P_{CO_2}$  の減少と、Hb の  $HbO_2$  への変換の結果(親和性が減るから)、 $CO_2$  を遊離することになる。

以上の結果、血液は代謝に必要なかつ十分な量の酸素を吸気から組織に送り、また組織代謝の結果生じた  $CO_2$  を組織間液や血液の pH を大きく変えることなく肺に運ぶことが可能となる(図 8・4)。

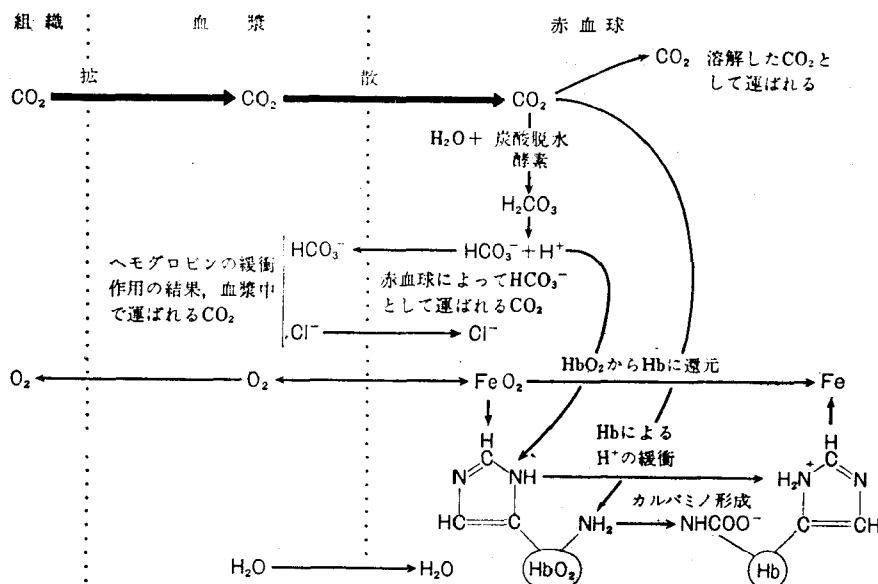


図 8・4 二酸化炭素が組織から赤血球にはいるときの過程を模式的に示した図

ヒスチジンのイミダゾール環をヘモグロビン分子の反応部位として示す。

(H. W. Davenport, "The ABC of Acid-Base Chemistry" 3d ed., University of Chicago Press, Chicago, 1950 より)

### 8-3-5 CO との結合 (カルボキシヘモグロビン carboxyhemoglobin)

ヘモグロビンは CO とも結合する。ヒトのヘモグロビンの一酸化炭素に対する親和性は、酸素に対するよりも 200 倍以上も大きい。肺胞内に 14% の酸素と 0.047% の一酸化炭素が共存したとすると、血中ヘモグロビンの半分が一酸化炭素ヘモグロビンとなる。一酸化炭素中毒症は血液の酸素容量の減少に基づく hypoxia によるものであるが、生じた一酸化炭素ヘモグロビンと同量のヘモグロビンを失った貧血の場合よりも症状が強い。この差は一酸化炭素と結合したヘモグロビンが単に酸素結合能を失うばかりでなく、残りの正常ヘモグロビンの酸素平衡機能に対しても影響を与えるためと考えられる。一酸化炭素ヘモグロビンの鮮紅色は特徴的で、中毒患者の皮膚や組織にはっきりと現れる。

## 8・4 体液及び酸塩基平衡

生命を維持するために代謝過程が常に進行しているが、その代謝の場を形成しているのが体液である。体液量は成人男子で体重の平均 60%、女子で 50~55%である。体液は細胞外液と内液に区別す

ることができる。

全体液量 60%  $\left\{ \begin{array}{l} \text{細胞内液} 45\% \\ \text{細胞外液} 15\% \end{array} \right.$

細胞内に存在しない部分を細胞外液とよぶが、そのうち 10% はほとんどの細胞が浸っている細胞間液が占め、5%を血漿、リンパ、脳脊髄液がしめる。

図 8・5 は体液の電解組成を表したものである。図から明らかなように、細胞外陽イオンの中心は  $\text{Na}^+$  であるが、細胞内液では  $\text{K}^+$  や  $\text{Mg}^{2+}$  が主な陽イオンである(細胞外液の組成は先カシプリア紀の海水のそれと似ており、生命の発生を考える上に興味深い。表に出ているのは現在の海水であるが、当時よりも塩分の濃度が蒸発により増加している。しかし細胞外液の組成は変化なく、一定に保たれてきたと考えられる)。

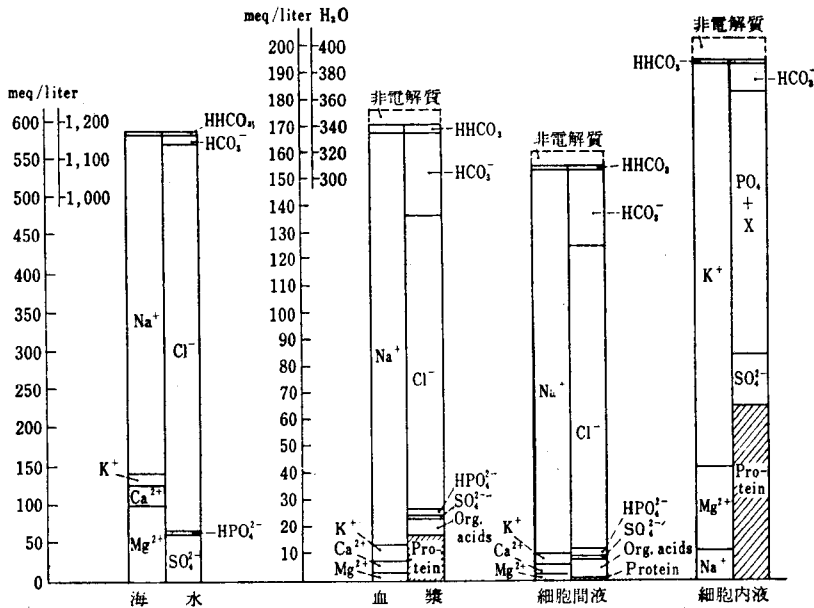


図 8・5 体液の電解質成分

$\text{PO}_4 + \text{X}$  (細胞内液の成分) は陽イオンで規定される総当量から  $\text{SO}_4^{2-} + \text{HCO}_3^- + \text{タンパク質}$  に相当する量を差引いてえられた (J. L. Gamble).

8-4-1 膜と輸送

このように細胞内液と細胞外液との間にイオン濃度の差が生ずるのは間を隔てる細胞膜がイオンの

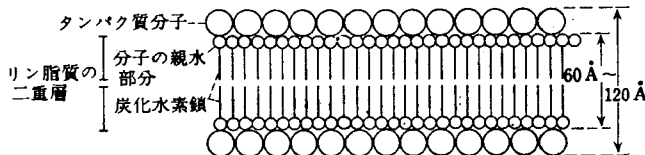


図 8・6 生体膜の構造

通過に対して一定の選択性をもっていることによる。この細胞膜は図8.6に示すように3層から成り立っている。

いま濃度  $c_1$  の相から濃度  $c_2$  の相へ 1 mol の溶質が移るとしよが、その際の自由エネルギーの変化は、 $c_2$  の相における化学ポテンシャルの増加量と、 $c_1$  の相における減少量の差  $\Delta G^\circ = \mu_2 - \mu_1$  で表される。いま化学ポテンシャルに第2章の式(9)を代入すると

$$\Delta G^\circ = \mu_2 - \mu_1 = \mu^\circ + RT \ln c_2 - \mu^\circ - RT \ln c_1 = RT \ln \frac{c_2}{c_1}$$

となる。もし  $c_2 < c_1$  であるとする、すなわち溶質が低濃度の相から高濃度の相へ移行するものとする、 $\Delta G^\circ < 0$ 、すなわち反応は発エルゴン反応である。一方  $c_2 > c_1$  である場合は反応は  $\Delta G^\circ > 0$  の吸エルゴン反応となる。前者の場合反応は自然に起りうるはずであってこれを受動輸送あるいは自由拡散という。

受動輸送は熱力学的に可能であっても必ずしも十分な速さで進行するわけではない。このような場合この反応(輸送)を促進するためにキャリアーと呼ばれるある種のタンパク質の存在することが知られている。このような輸送を facilitated transport という。この輸送は熱力学的には発エルゴン反応であるが、

- ① 基質に対する立体特異性を示すこと
- ② 拡散速度と膜の片側の代謝物質濃度との間に Michaelis-Menten の式が成立すること
- ③ ある種の試薬 (*N*-ethylmaleimide, SH 試薬, ジニトロフルオロベンゼン等) によって阻害されること

などの点において受動輸送とは異なる。このキャリアーはしたがって透過酵素とも呼ばれる。小腸からの糖の吸収その他の多数の例について本輸送が行われていることが知られている。これまでに結晶化されたキャリアーは分子量 9,000~40,000 の比較的小さいタンパク質である。本輸送は膜に存在する特異的なキャリアータンパクが膜の外側の代謝物質と特異的に結合して複合体を形成し、拡散、回転、振動などによって膜の内側に移動し、そこで代謝物質を手放すといった機構で行われるものと考えられている。

以上の二つの場合と異なり  $\Delta G^\circ > 0$  なる場合、すなわち濃度勾配に逆らった輸送は自然には起り得ない。このような場合輸送は共役反応によって行われる。この輸送の特徴は

- ① この反応に共役する発エルゴン反応(解糖, 呼吸)をある種の阻害剤(フルオリド, ヨード酢酸, ヒ酸, シアニド, 2,4-ジニトロフェノール)でブロックすると阻止される
- ② この輸送は一方向にのみなされる

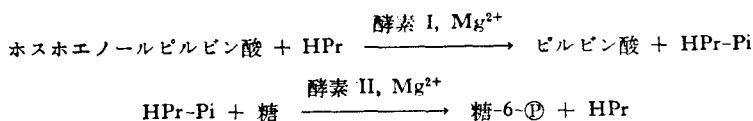
ということである。赤血球膜は  $\text{Na}^+$  を外に排出し、 $\text{K}^+$  を中に取り入れる方向にだけ働く能動輸送系を持っている。これは先に述べた facilitated transport が2方向に行われるのと明らかに違っている。イオンに関する能動輸送はまた電解質ポンプといわれる。赤血球の  $\text{Na}^+$  排出、 $\text{K}^+$  取り込みの機構は  $\text{Na}^+$  と  $\text{K}^+$  のいずれによっても刺激される1種の ATPase が関与することが明らかになった。しかもこの ATPase の活性は強心配糖体の一つである ouabain によって阻害される。後者は赤血球膜の  $\text{Na}^+$  排出、 $\text{K}^+$  取り込みそのものを阻害することがよく知られているから ATPase が赤血球の  $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$  イオンポンプに関与していることは明白である。このような ATPase 活性は他の

多くの動物組織についても認められており、特に脳、神経、筋、腎臓皮質、唾液腺に多く存在することも明らかにされている。この ATPase の分子量は 670,000 で、1 コの赤血球には 5,000 分子含まれており、1 分子の酵素は 1 秒間に 20 コの  $\text{Na}^+$  を排出し  $\text{K}^+$  を取り込むものと計算されている。

アミノ酸の細胞内への取り込みに関する能動輸送には二つの系が関与する。一つは通常の facilitated transport を行う系であり、他はこの系にエネルギーを与え濃度勾配に逆らったの輸送を行わせる系である。後者のエネルギーは  $\text{Na}^+$  の濃度勾配によって与えられる。すなわちアミノ酸の濃度勾配に逆らって内向き (uphill) 輸送と共役して  $\text{Na}^+$  の濃度勾配に従ったの (downhill) 輸送が行われる。この際  $\text{Na}^+$  の濃度勾配は ATP のエネルギーを利用して作られる。

小腸におけるグルコースの吸収についても上に述べたアミノ酸輸送と同様な能動輸送系が関与しているようである。

細菌の細胞内へのグルコースの能動輸送は更に複雑な仕組みで行われる。この輸送には次の反応が関与する。



HPr (heat stable, protein) は分子量 9,600 のタンパクで、1 分子に 2 コのヒスチジン残基を有し、その一つのイミダゾール-N-1 にリン酸基が結合する。酵素 I と HPr は水溶性で細胞質液に含まれる。いずれも糖とは結合せずキャリアーとならない。酵素 II は膜に結合したタンパクで糖に対する特異性を示す。この酵素は誘導酵素である。この輸送の機構について図 8・7 に示すようなモデルが提案されている。

ヒトの血漿と赤血球(細胞内液)との電解質の分布で最も特長的なことは、 $\text{Na}^+$  と  $\text{K}^+$  の配分である。赤血球の内外をへだてる赤血球膜が  $\text{Na}^+$  や  $\text{K}^+$  に透過性を有しているにもかかわらず内外のイオンに大きな濃度差が保たれている。両液を区分している細胞膜は、タンパク質、リン脂質、ガンマリオンドを含む脂質、多糖類がモザイク状に寄り合った構造をもっている。膜自身も透過性に対する選択性はもっているが、細胞内外の電解質組成の差は選択的透過性のみでは説明できない。そこで細胞の代謝活性によるエネルギーを利用した電解性ポンプの存在が考えられる。 $\text{Na}^+$  が赤血球膜で能動輸送 (active transport) をうけ、濃度勾配や電位勾配にさからって、 $\text{Na}^+$  が赤血球内から外へ絶えず排出されつづけている輸送機構に基づいている。 $\text{Ca}^{2+}$  は一般に細胞外液のイオンであり、赤血球内にはほとんど証明されない。これに対して  $\text{Mg}^{2+}$  は本来細胞内性のもので血漿中には少ない。

血漿中に含まれる無機イオンの主なるものは  $\text{Cl}^-$  と  $\text{HCO}_3^-$  で、ともに赤血球膜を自由に通過して能動輸送をうけない。この両陰イオン間では一方の減少は他方の増加である程度補われる。血漿タンパク質は陰荷電し、 $\text{HCO}_3^-$  と共に緩衝塩基としての役割をも果たしている。したがって細胞内には細胞を構成するタンパク質を初め、各種の無機物が存在し、生命活動に必要な代謝を営んでいる。これらの溶存物質により体液は一定の浸透圧を有している。

血漿浸透圧は 37°C において、約 7.7 気圧 (5837 mmHg) に相当し、その大半は NaCl などの低分子化合物に基づいている。分子量の大きい血漿タンパクは浸透圧の約 0.5% を分担しているにすぎ

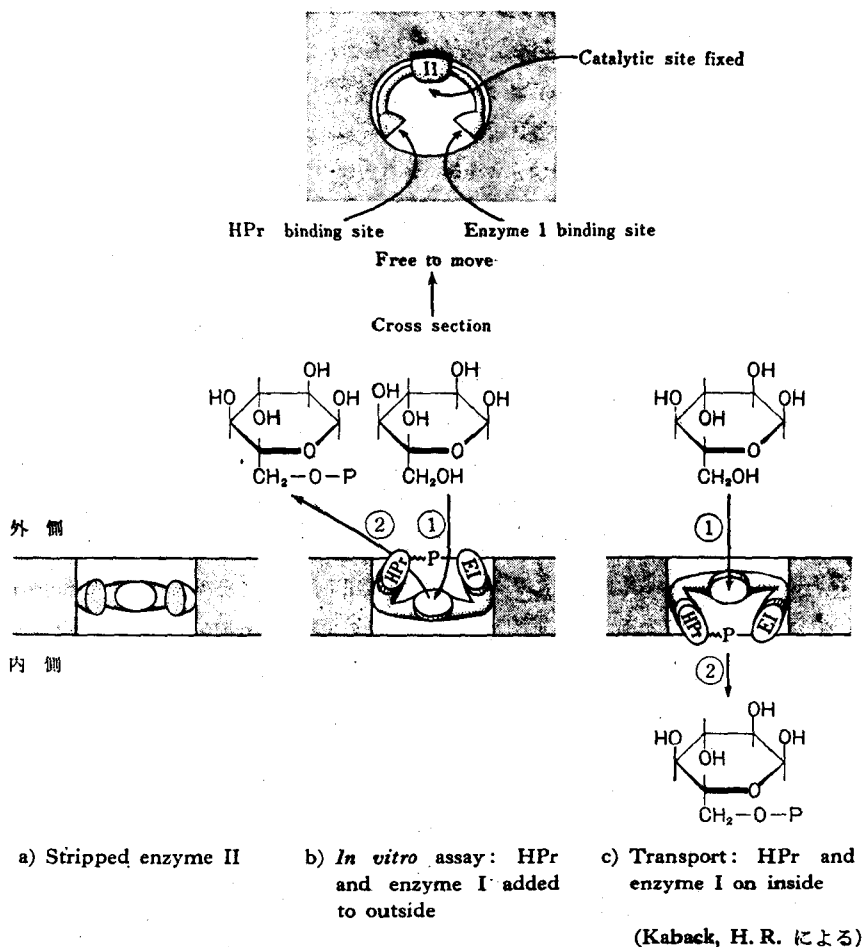


図 8-7

ないが、毛細血管壁を通しての水分の出入には大きな役割を演じており、特にこれを膠質浸透圧と呼んでいる。

細胞内液は半透膜である細胞膜によって外液と接するため、外液と常に同じ浸透圧を保っていなければならない。しかしヒトが摂取する水分や無機物の量には変動があり、また発汗、その他により大量の水分や塩分を失うこともある。体は細胞内液の正常の浸透圧から著しく離れた浸透圧には長く堪えることはできないし、高張圧や低張圧は中枢神経系にも不可逆的な致死的な変化をもたらす。そこで浸透圧の変化を防ぐため、生体には一定の調節機能が存在している。

#### 8-4-2 細胞外液の調節

ヒトは1日に約1,500 mlの水を排泄する。そのうち350~400 mlは皮膚から失われ、150~450 mlは呼吸から失われる。これらを不感蒸泄と称し、水の摂取量に関係なく常に起り、その量もあまり変動しない。不感蒸泄では電解質はほとんど失われず、体熱の放熱に関与している。そして500~

1,000 ml が尿から排泄される。これより多くの水をとった場合はすべて尿中に排泄される。グルコースや脂肪の燃焼で、1日約 300 ml の酸化水が生成されるから、ヒトは1日最低 1,200 ml の水をとらねばならない。もし不足するとそれに相当する量が体液から失われる。

$\text{Na}^+$  や  $\text{Cl}^-$  については、水のような不可避免的な排泄は認められない。すなわち  $\text{Na}^+$  や  $\text{Cl}^-$  を摂取しないと数日後にはその尿中への排泄が止まる。それ以後は尿の他の成分が変らなくても、 $\text{Na}^+$  と  $\text{Cl}^-$  だけを含まない尿ができるようになる。普通の食事では1日 100~200 meq の  $\text{Na}^+$  や  $\text{Cl}^-$  が供給されている。このうち汗や糞便中に少量排泄されるのを除いて大部分は尿中にする。ヒトは1日 40~60 meq の  $\text{K}^+$  を排泄しているが、 $\text{K}^+$  の摂取が止まると、数日後にその排泄は 10~20 meq/day に減少する。

尿中の  $\text{NaCl}$  濃度は脳下垂体後葉から分泌されるバソプレシンの抗利尿作用（水分吸収を促進する）、及び副腎皮質から分泌されるミネラルコルチコイド（中でもアルドステロン）による  $\text{Na}^+$  の再吸収促進という形で、二重に調節されている。かかるホルモンの血中量は、細胞外液の浸透圧や、 $\text{Na}^+$  イオン濃度によって影響を受ける。その結果、腎臓は血清の塩濃度が低下すると低張の尿を排泄し、血清の塩濃度が高まると高張の尿を排泄する。また動物は細胞外液の濃度（したがって浸透圧）が高くなると渴きを感じて水を摂取するようになるが、これは視床下部にある浸透圧受容器（osmoreceptor）で感じられるらしい。視床下部からはまた、バソプレシンの生産をも制御しているホルモンが分泌されている。

#### 8.4.3 酸塩基平衡

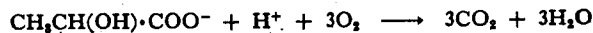
体液の pH は、 $7.4 \pm 0.05$  と極めて狭い変動域を示すに過ぎない。体液の pH を変動させる要因としては、つぎのようなものがある。

- ① 呼吸性アシドーシス（これは肺炎、心不全、喘息、肺気腫及びモルヒネ中毒等によって起る呼吸中枢の抑制等の際に起る）
- ② 呼吸性アルカローシス（これは発熱や、ヒステリー性 hyperventilation, 中枢神経系の障害、サリチル酸中毒、高所における過呼吸及び肝性昏睡等に見られる）
- ③ 嘔吐（ $[\text{Cl}^-]/[\text{HCO}_3^-]$  比が正常血清の値である 4 より大きい胃液が失われるので細胞外液の  $\text{Cl}^-$  は減少する。そうすると電気的中性原理を保つために失われた  $\text{Cl}^-$  に相当する  $\text{HCO}_3^-$  が利用されるようになる。その結果体液の  $\text{HCO}_3^-$  が上昇しアルカローシスになる）
- ④ 下痢（嘔吐と逆で  $[\text{Cl}^-]/[\text{HCO}_3^-]$  比が 4 より小さい液が失われるのでアシドーシスに傾く）
- ⑤ 中間代謝物質

例えばグルコースの代謝によって乳酸が生成したとすると、



となり 2 コの  $\text{H}^+$  が生じる。もし乳酸が直ちに代謝されるとすると



となり最終生産物に  $\text{H}^+$  が生じないので体液への pH 変動要因とはならない。しかし、先の反応で生じた乳酸が直ちに代謝されないで生じた  $\text{H}^+$  がアシドーシスの要因となる。ケトーシスの場合も同



様でアシドーシスになる。アミノ酸についても硫黄を含まない中性アミノ酸の場合は上と同様の議論が成り立つ ( $2\text{CH}_3\text{-CH}(\text{NH}_2)\cdot\text{COOH} + 6\text{O}_2 \rightarrow \text{NH}_2\cdot\text{CO}\cdot\text{NH}_2 + 5\text{CO}_2 + 5\text{H}_2\text{O}$ )。しかし含硫アミノ酸の場合はメチオニン、システイン等中性アミノ酸として体内に摂取されても、S は体内で代謝され最終的に  $\text{SO}_4^{2-} + 2\text{H}^+$  となる。これは  $\text{ROSO}_3^-$  として排泄されるから結局含硫アミノ酸1分子は1分子の  $\text{H}^+$  を“生産”することになる。これはアシドーシスの要因となる(メチオニンを多く含む動物タンパクが酸性食品といわれるのはこのためである)。

一方、有機酸の Na 塩を摂取した場合、これは乳酸のそれと同様  $\text{H}^+$  を取って中性の水並びに炭酸ガスに変わるのでアルカローシスの要因となる ( $\text{RCOONa} + \text{H}^+ \rightarrow \text{RCOOH} \rightarrow n\text{H}_2\text{O} + m\text{CO}_2$ , もちろん遊離の酸の形で摂取すればアシドーシスの要因となるが、普通食品に含まれるのは Na 塩のような塩の形であるからアルカローシスの要因となるわけである。植物性食品はこのように有機酸の塩を多く含むためアルカリ性食品といわれる)。要因③④⑤では上の論議から明らかなように  $\text{HCO}_3^-$  の濃度に変化を与えてアシドーシスあるいはアルカローシスを生ずる。そのためこれらの要因によって起ったアシドーシス、アルカローシスはそれぞれ、代謝性アシドーシス、代謝性アルカローシスといわれる。体液 pH の変動を引き起す原因としては以上の他に腎疾患による酸塩基平衡維持機能の失調があげられる。

以上のように体液の pH を変動させようとする因子はいろいろとあるが、pH は安定した一定値を保っている。これは弱酸と強アルカリ塩の共存による緩衝系や電解質によるものである。

細胞外液の主な緩衝系は重炭酸塩系である。したがってその pH は、Henderson-Hasselbalch の式によって表される。

$$\text{pH} = \text{pK}' + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]}$$

$$\text{pK}' = 6.1 + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]} = \frac{27}{1.35 \text{ meq/l}} = 20$$

ところで、血漿の  $\text{H}_2\text{CO}_3$  の濃度は血漿に溶存する非解離炭酸の濃度  $[\text{CO}_2]$  と一定の比例関係を保っており、

$$\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}_2\text{CO}_3$$

$$\frac{[\text{H}_2\text{CO}_3]}{[\text{CO}_2][\text{H}_2\text{O}]} = K$$

$$[\text{H}_2\text{CO}_3] = K[\text{H}_2\text{O}] \cdot [\text{CO}_2] = K'[\text{CO}_2]$$

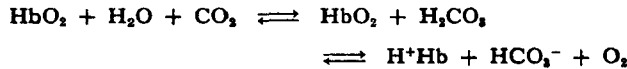
かつ  $[\text{CO}_2]$  は Henry の法則により、 $\text{CO}_2$  の張力  $p\text{CO}_2$  との間に  $[\text{CO}_2] = k p\text{CO}_2$  なる関係が成り立つから、上式は結局、

$$\text{pH} = 6.1 + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{p\text{CO}_2}$$

と書き換えることができる。

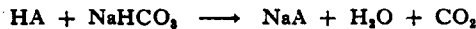
細胞外液には予備アルカリとして腎尿細管での再吸収による多量の  $\text{HCO}_3^-$  が含まれており、また  $\text{CO}_2$  は常に組織呼吸によって供給されているから、このような緩衝系は生体にとって大変有利であり、重要なものと考えられる。

一方、血液の pH は重炭酸塩炭酸系による緩衝系の他に、次式によって示されるようにヘモグロビンによっても一定の緩衝作用を受けている。



このように二重の緩衝作用を受ける結果、血液の pH は驚くほど一定に保たれている。しかもこの化学的な緩衝作用の他に体液の pH は、更に二つの生物学的な調節機構によっても調節されている。その一つは呼吸による  $\text{pCO}_2$  の調節であり、他は腎臓による  $[\text{HCO}_3^-]$  の調節である。

例えば体内に酸 (HA) の蓄積をきたした場合をあげると、細胞外液の主なる緩衝系である重炭酸緩衝液により、HA は緩衝をうける。



その結果、緩衝に要した  $\text{HCO}_3^-$  の濃度の減少をきたし、代謝性 acidosis を生ずる。しかし、pH は、Henderson-Hasselbalch 式の  $\text{HCO}_3^-/\text{pCO}_2$  に依存するためかすかに低下するにすぎない。初発症状として、 $\text{HCO}_3^-$  成分の減少のあることが特徴である。

細胞外液の pH がかすかでも低下すると生体は細胞外液の pH と  $\text{pCO}_2$  濃度に敏感な神経系の呼吸中心と頸動脈体の二つの部位を刺激して呼吸を促進させ、 $\text{CO}_2$  の排泄をはかり、 $\text{pCO}_2$  を低下させる。その結果として  $[\text{HCO}_3^-]/\text{pCO}_2$  の比は、正常値の 20:1 に近づき、見掛上は pH を 7.4 に返すことができる。すなわち、 $\text{HCO}_3^-$  の減少を初発症状とする代謝性 acidosis の場合には、 $\text{pCO}_2$  の低下 (呼吸性 alkalosis) を併発するという代償機構が働くことになる。しかしこの呼吸による代償機構の欠点として、血液の  $\text{pCO}_2$  が低下すると、それが再び神経系の呼吸中心に働き、呼吸を緩徐にする逆方向の作用を促すため、呼吸による調節のみでは完全な pH の制御はできない。

呼吸が細胞外液の  $\text{pCO}_2$  を調節するのに対し腎臓は  $[\text{HCO}_3^-]$  濃度を調節することによって pH を制御する。呼吸による補償は迅速ではあるが、完全ではない。しかし腎臓は、効果の発現は遅いが完全に正常値まで pH を下げる特長を有している。

腎臓は体内に生じた酸を排泄しており、その総量は1日平均 80 meq の  $\text{H}^+$  にも相当している。しかし、尿の pH の下限は約 5.0 であるので、1日の尿量を 1.5 l と仮定しても遊離の  $\text{H}^+$  として腎が排泄する量は 0.075 meq に過ぎない。そこで大部分の酸は遊離の  $\text{H}^+$  以外の型として排泄していることになる。その一つは第一リン酸塩 ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ) であり、第2は  $\text{NH}_4^+$  である。

$\text{NaH}_2\text{PO}_4$  による排泄 10~30 meq/日

$\text{NH}_4\text{Cl}$  による排泄 30~50 meq/日

すなわち、血清中の  $\text{HPO}_4^{2-}$  が尿中へは  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  として排泄される。1 mol の  $\text{HPO}_4^{2-}$  が遠位尿細管上皮で血清より 1 atom の  $\text{H}^+$  をとり  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  に変換することにより、酸を血中から排泄している。それに応じて 1 当量の  $\text{HCO}_3^-$  が血清中に予備アルカリとして回収される。また腎臓はアンモニウムイオンを排泄することによっても、血液より  $\text{H}^+$  の排泄を行う。まず遠位尿細管上皮において、グルタミンナーゼによるグルタミンの分解や L-アミノ酸酸化酵素によるアミノ酸分解によって、 $\text{NH}_3$  を生じる。生じた  $\text{NH}_3$  はイオンではないために陽イオンとの交換を起すことなく、細胞膜を容易に通過して、尿中の  $\text{H}^+$  と速やかに結合して  $\text{NH}_4^+$  となる。この機構は血清の pH の急激な

変化には直ちに反応しないが、長く続く acidosis の場合には非常に重要な役割をもってくる。図 8.8 に腎臓の pH の補償の仕方をまとめた。

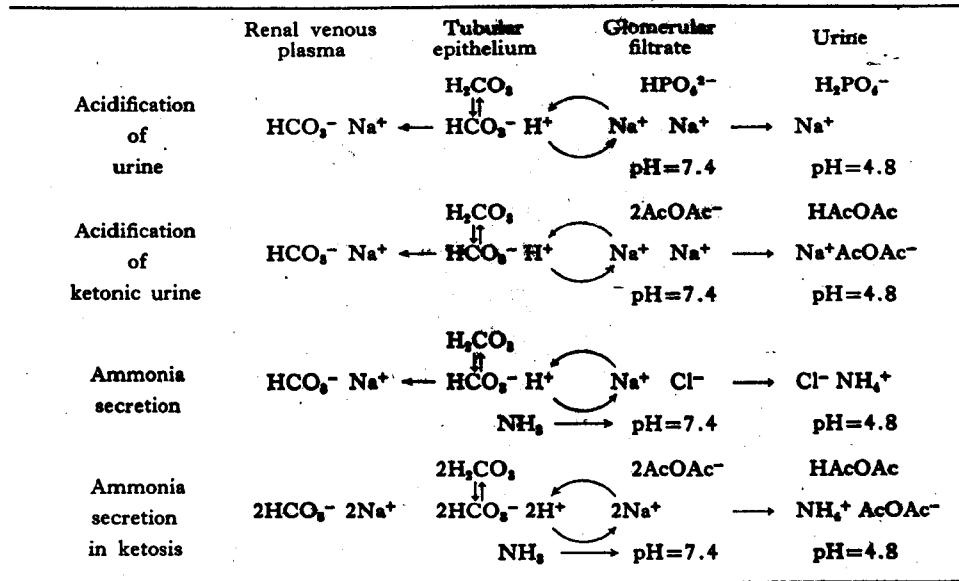


図 8.8 Acidosis に対する腎臓の代償

尿の生成は尿細管上皮の辺縁部から右へ進み、電解質の腎静脈血漿への帰還は左へ進む。AcOAc<sup>-</sup> は acetoacetate イオンを示す (White, Handler, Smith, Principles of Biochemistry, McGraw-Hill, New York, 689, 1964 より)。

過呼吸などにより、細胞外液の pCO<sub>2</sub> が低下して、pH が上昇する呼吸性 alkalosis の場合には、腎臓は HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> の排泄増加をはかり、血中より HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> を減少させて、pH を見掛け上 7.4 に近づける。この結果、腎から HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> の排泄の増加の他に、HPO<sub>4</sub><sup>2-</sup> や Na<sup>+</sup> の排泄をも伴ってくる。したがってこのときの尿の pH はアルカリ性に傾く。こうした Na<sup>+</sup> の排泄は細胞外液の浸透圧を一定に保つために水分の排泄を伴うので、しばしば既存の脱水症状を増悪させることがある。

また肺から CO<sub>2</sub> の排泄が低下して、体液の pCO<sub>2</sub> 濃度が高くなる呼吸性平衡異常は、臨床的に良くみられるものである (呼吸性 acidosis)。かかる場合の代償機能として、腎臓は尿細管より NaHCO<sub>3</sub> の再吸収を増加させて、HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>/pCO<sub>2</sub> を正常値の方向に回復し、pH を 7.4 に返すように働く。

### 8.5 筋 肉

筋肉の生化学的目標は筋細胞内で起る化学変化のエネルギーがいかなる機序で収縮という機械的な仕事のエネルギーに転換するかを明らかにすることにある。

筋肉組織は形態学的並びに生理学的に不随意筋である平滑筋と随意筋(骨格筋)である横紋筋に大別される。全身の筋肉の 75% は水で 25% がタンパクを主体とする固形成分である。

## 8.5.1 筋肉タンパク質

筋肉中には固形成分の 80% に及ぶタンパク質が含まれており、ミオシン (myosin) とアクチン (actin) という 2 種の主な基本的なタンパク質からなっている。図 8.9 に示すように、筋組織を KCl 水で順次処理していくと各種タンパク質が抽出される。

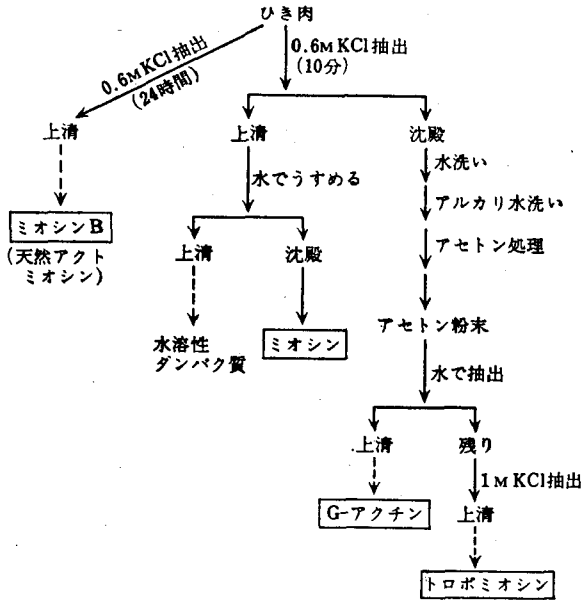


図 8.9

筋肉を 0.6 M の KCl で抽出すると、短時間で最初に抽出されてくるものにミオシン (A) があり、その他に myogen, globulin X などの水溶性タンパク質も得られる。長時間にわたり 0.6 M KCl で抽出を行うと、粘度の高いミオシン B が得られるが、アクトミンとも呼ばれる。高濃度の塩類溶液でも抽出されずに残った不溶液部分が stroma である。

## 全タンパク質に対する百分比

Myosin	57%
Myogen, globulin X	27%
Stroma	16%

ミオシン (myosin) は分子量約 840,000 で長さ 150 mm の棒状構造を有している。ミオシン分子の電子顕微鏡的研究から、それは図 8.10 のような構造をもっていることが明らかになった。ミオシンにトリプシンを働かせると分子量約 15 万の L-メロミオシン (light meromyosin, LMM) 及び分子量約 35 万の H-メロミオシン (heavy meromyosin, HMM) に分かれる。

H-メロミオシンは更に subfragment 1, 2 に分けられるが、ATPase 活性とアクチンとの結合は HMM の S-1 の部分に局在している。重合性、すなわちフィラメントを形成する性質は L-メロミオシンの部分にある。ミオシンは後述のアクチンと 3:1 の割合に結合するとアクトミオシン (actomyosin) と呼ばれるタンパク質を形成するが、これが筋タンパク質の主成分となっている。このよう

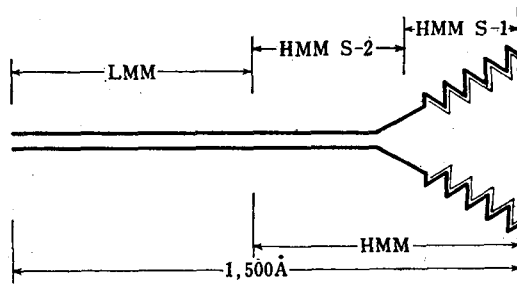


図 8.10 ミオシン分子の構造

にミオシン自身のもつ ATPase 活性, アクチンとの結合性及び低イオン強度での会合性は, それぞれ成分である H 及び L-メロミオシンによって分担されているのである。

アクチン (actin)

筋肉の 0.6 M KCl 抽出残渣 (stroma) のアセトン粉末から水抽出により得られる。水溶液では分子量約 60,000 の粘度の低い球状のタンパク質であって, 1 分子あたり 1 モルの ATP を結合している。この状態のときを G-アクチン (globular actin) という。G-アクチンの水溶液のイオン強度をあげると会合が起り, 粘度が極めて高くなる。これは繊維状に会合を起したためで, これを F-アクチン (fibrous actin) という。G-アクチンの F-アクチンへの変化には  $Mg^{2+}$  が必要である。このとき G-アクチンに結合している ATP は脱リン酸されて, ADP になる。この際に無機リン酸は遊離するが, ADP はタンパク質に結合したままである。これに ATP を加えるか, creatine kinase の存在下にクレアチンリン酸を加えると, ATP と結合した G-アクチンになる (F-アクチン溶液に ATP を単に加えるだけでも, 結合した ADP と ATP とが置き換り, F-アクチンは解重合して, G-アクチンに変る)。

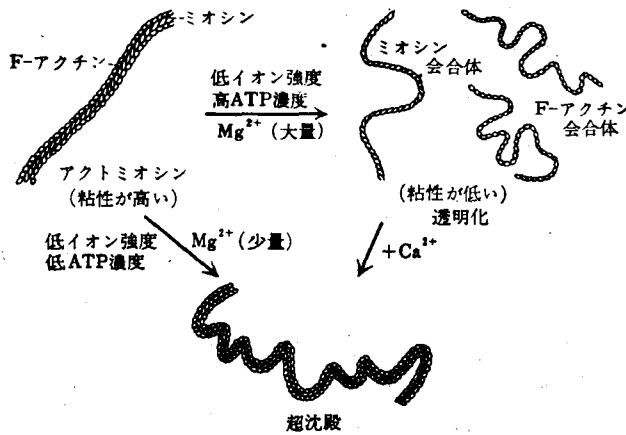


図 8.11

アクトミオシン (actomyosin)

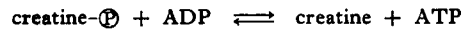
ミオシンはアクチンと 3:1 の割合に結合してアクトミオシンというタンパク質を生成する。アクトミオシンの浮遊液は, 0.15~0.2 M KCl の低濃度で ATP と大量の  $Mg^{2+}$  とを加えると透明にな

る。これを透明化反応 (clearing response) という。このときアクトミオシンはアクチンとミオシンの会合体に解離する。透明化反応は低いイオン強度で、筋肉を弛緩させる物質 (キレート剤, 尿素, ホルムアミド等) を加えても起る。このような状態に少量の  $\text{Ca}^{2+}$  を加えると、アクトミオシン分子は激しく収縮し、いわゆる超沈殿 (super precipitation) の現象を示す。

一方、アクトミオシンはイオン強度を 0.1 程度に下げると、肉眼的な沈殿を形づくるが、これに ATP を加えると、激しく収縮し超沈殿をひき起す。このアクトミオシンの超沈殿には少量の  $\text{Mg}^{2+}$  の存在が必要である。しかし、 $\text{Mg}^{2+}$  が過剰になると透明化が起る。これに少量の  $\text{Ca}^{2+}$  を加えると更に超沈殿へと変る。これを図式化すると図 8・11 となる。すなわち  $\text{Ca}^{2+}$  は弛緩状態にあるアクトミオシン (F-アクチン会合体とミオシンの会合体に分れている状態) を超沈殿させる引金の作用をもっているものと考えられている。超沈殿は筋肉の収縮に対応し、透明化は筋肉の弛緩の状態を表すものであると考えられるに至った。アクトミオシンのこのような変化に対応して大きくその性質が変るのは、アクトミオシンの ATPase 活性である。すなわちミオシンがアクチンと結合してアクトミオシンを作ると、ミオシンの ATPase 活性は著しく増強する。超沈殿を起したときの ATPase の活性増加は特に著しい。一方、透明化のときは、その活性は著しく減少する。透明化のときはミオシンがアクチンと反応もせず、お互いに解離しているためと考えられている。

### 8・5・2 筋肉収縮のための ATP の供給

静止筋も他の組織と同様、代謝を維持するためにはエネルギー源として一定の ATP が必要であり、運動をしている筋では、はるかに大量の ATP をほとんど瞬間的に要求する。しかし静止時の ATP 貯蔵量は筋肉の運動を 0.5 秒程度保つに過ぎない。運動時のヒトの筋肉は、静止時の ATP 要求量の 1000 倍にも達する (骨格筋では  $10^{-3}$  moles/g/min である)。しかし酸素の消費は 200 倍程度しか増加しないので、筋肉には嫌気的な ATP 産生機構を持っていることがうかがわれる。脊椎動物でこの働きをするものがクレアチンリン酸 (creatine phosphate) である。静止時では ATP の 4~6 倍量のクレアチンリン酸を含んでいる。筋肉にはクレアチンリン酸から ATP への高エネルギーリン酸の転位を触媒する creatine kinase という酵素を含んでいる。



クレアチンリン酸の加水分解における自由エネルギーの変化は 11,000 cal/mol で ATP のそれより高いので、上の共役反応は可能である。しかしクレアチンリン酸そのものは直接には筋肉の収縮には関係しないので、クレアチンリン酸は筋肉におけるエネルギー貯蔵の役目をするものと考えられる。またこの反応は可逆的でもあるので、筋収縮後の回復期には ATP を利用してクレアチンリン酸に再合成される。骨格筋には 1,3-diphosphoglyceric acid からクレアチンへ直接リン酸基転移を触媒する酵素も含んでいる。In vivo ではアクチンに結合した ADP がクレアチンリン酸の存在下に creatine kinase によってリン酸化されて ATP となる。もう一つの経路として、ADP の末端のリン酸結合のエネルギーを利用することもできる。筋肉の収縮の際に ATP が利用されることはいままで述べた通りであるが、その際には結果として ADP が生ずる。この  $\beta$  位のリン酸結合の自由エネルギーは約 6,000 cal で、ATP の末端結合のそれとほぼ等しい。ADP は筋肉に直接エネルギーを供給するこ

とはできないが、筋肉中には myokinase (adenylate kinase) が存在して ATP が作られる。この酵素により、ADP の高エネルギーリン酸を他の ADP に与えて ATP を作り、その ADP は AMP に転換する。



分離された筋肉の実験を解糖系の阻害剤であるモノヨード酢酸の存在下で行うと、クレアチンリン酸や ADP の末端リン酸基のエネルギー利用による 8~10 秒程度の収縮が起るが、これらのものを使いはたすと収縮しなくなる。このように筋肉に対する緊急のエネルギーの供給は、即座に利用し得てかつエネルギーの貯蔵型でもあるクレアチンリン酸がまかなうが、ATP やクレアチンリン酸のすべてを動員しても、筋肉の収縮を持続させることはできない。ATP の連続的な供給はグルコース解糖系から供給されることを示している。

グリコーゲン分解のグルコース 1 mol あたり、3 mol の ATP が合成される。筋収縮はグリコーゲンやクレアチンリン酸からの ATP の供給が止むまで継続する。骨格筋の持続的収縮では、グリコーゲンを乳酸までしか分解しえず、筋肉は強直する。しかし筋肉が生体内で間欠的に刺激されて収縮する場合には、生成された乳酸は細胞間液を通過して肝臓に運ばれる。乳酸は肝で再びグリコーゲンに再合成される(糖新生)。肝臓で生成したグリコーゲンはそこで貯蔵されるか、あるいはグルコースまで分解されて血液中に放出される。筋肉は血液から供給されたグルコースからグリコーゲンを合成して貯蔵する (Cori の cycle)。

一方、静止筋や緩徐に運動する平滑筋では要求するエネルギーを主として脂肪酸やアセト酢酸の燃焼に求めており、グルコースの消費に依存する割合は少ない。心筋も筋繊維間にミトコンドリアが多数存在し、多量の酸素をとり込み乳酸の利用に働く。また脂肪酸やアセトン体の利用も著しく高く、酸素消費の 2/3 は脂肪の酸化によるものとされている。

### 8・5・3 筋肉の収縮

筋肉の収縮タンパク質であるアクチンが特異的に ATP を分解し、その化学エネルギーを使って筋肉の収縮を起す。しかしその詳細については明らかでない点が多い(図 8・12 参照)。

#### 1) R. E. Davies の分子レベル反応機構

まず、ATPase 活性をもつ H-メロミオシン(弛緩型)の一部(HMM S-1)には ATP が結合しているが、H-メロミオシンの負電荷と ATP の負電荷による反発のためにポリペプチドは非らせん性の伸びた構造をとっている。ついで筋肉の小胞体(myofibril の間にある膜系)から  $\text{Ca}^{2+}$  イオンが放出されると、 $\text{Ca}^{2+}$  は H-メロミオシンの ATP の端のリン酸基と F-アクチンに結合している ADP とを連絡させる。その結果、H-メロミオシンの ATP のリン酸基の負電荷が中和され、H-メロミオシンポリペプチド内の負電荷の反発が消失するために、ポリペプチド鎖はヘリックス構造をとって収縮する(収縮型)。この収縮により、H-メロミオシンの ATPase と ATP が接近して、端のリン酸基が  $\text{Ca}$  塩として除かれると共にアクチンとミオシンの結合が切られる。ついで ATP がポリペプチド鎖のなかに再形成されると、負の静電気斥力が再び働いて、弛緩すると共に収縮を繰り返す。しかし ATP が消費されると  $\text{Ca}^{2+}$  は筋小胞体に組み込まれて、反応は停止する。

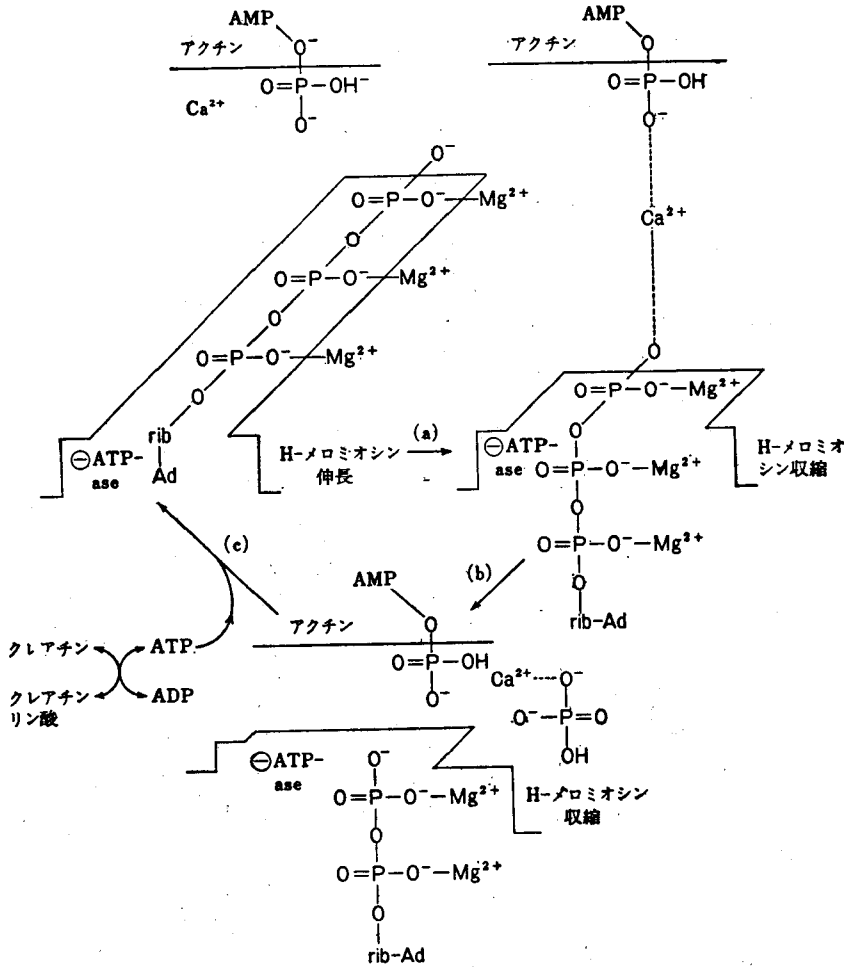
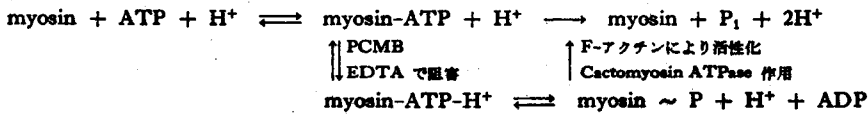


図 8.12 筋収縮の模型図 (Davis)

2) 殿村のミオシンリン酸

ATPase の活性の変動が筋収縮と弛緩に関係があるものと考え、次のような分子論的説明を試みている。



ミオシン分子は Mg 存在下に ATP 1 分子と結合し、ついで ADP を遊離し、高エネルギーリン酸化合物である myosin-Ⓣ を生ずる。この反応は極めて速い。このとき H<sup>+</sup> の出入りとタンパク質の構造変化が伴い、超沈殿(収縮)という現象が現れる。F-アクトンがこのリン酸化ミオシンに作用するとリン酸がはずれるので、ATPase として観察されるわけである。

ミオシンの ATPase 活性中心近傍の第1構造が—Asp(NH<sub>2</sub>)·Pro·Pro·Lys—を含むことが明



らかになり、helix 構造をとりえないプロリンが2コ並んでいるためこの部における第2構造が特に不安定で特異的にずれやすく、それに伴って分子の形態がかなり変ることが最近明らかにされた。

3) 電子顕微鏡的観察

筋肉収縮の機構は、位相差顕微鏡や電子顕微鏡による観察に基づく筋肉の微細構造の解明と筋肉タンパク質の生化学的研究によって著しく明らかになった。位相差顕微鏡での研究によると、筋肉繊維は直径  $1\mu$  の筋原繊維 (myofibril) から成り立っている。この繊維には明暗二つの帯が交互に認められる。暗帯は複屈折性を示さず I 帯と呼ばれる。I 帯の中央に Z 線がある。これは繊維を横切っており、A 帯や I 帯を秩序よく並べている。電子顕微鏡での観察によれば、図 8-13 のように A 帯の断面図は二つの形のフィラメントを示す。太いフィラメントは直径約  $10\text{nm}$  で長さ  $1.6\mu$  である。これらのそれぞれをとりまいて、直径  $5\text{nm}$  の6コの細いフィラメント (長さ  $1\mu$ ) がある。そしてそれらはまた、周囲をとりまく6コの太いフィラメントで共有されている。筋原繊維は数百コのこうしたフィラメントから成り立っている。A 帯の最も密度の低いところは H 帯と呼ばれるが、この部の断面は単に太いフィラメントだけを示す。太いフィラメントはミオシンで、細いフィラメントはアクチンから成り立っている。

以上の観察から Huxley は筋肉の収縮に対して“すべり説”を提出した。収縮した筋原繊維では

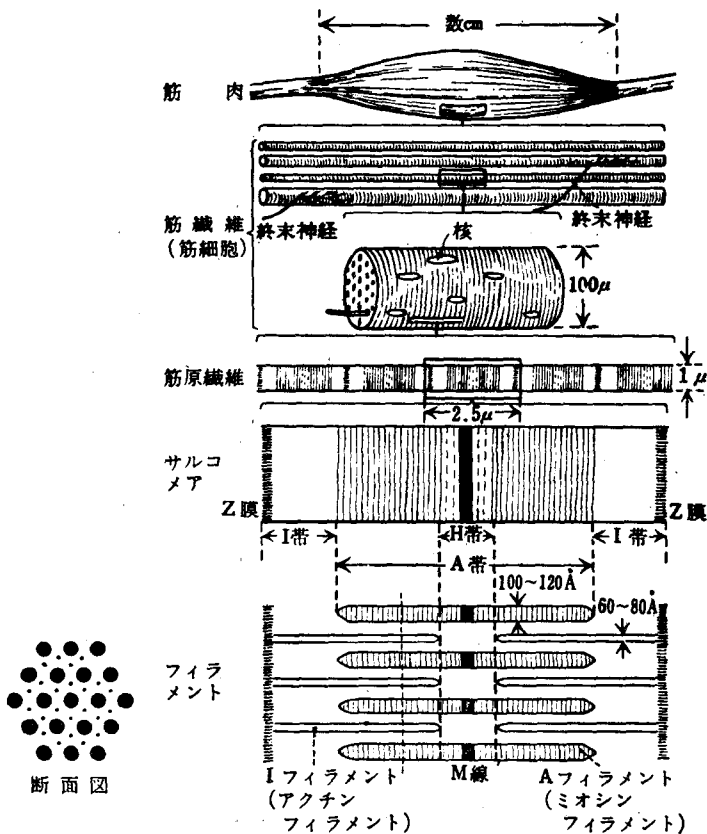


図 8-13 横紋筋の構造 (H. E. Huxley, 1958)

myosin filament の長さは変わらないが、I 帯は事実上消える。これはアクチンフィラメントが H 帯の中へすべり込むためであろうと考えた。静止した筋肉をとりまく液は高度に ATP を含むが、myosin ATPase はアクチンフィラメントの繊維を互いにすべり込ませるために働くと考えた。この説は、位相差顕微鏡や電子顕微鏡による観察に従来なされてきた生化学的研究の結果を考慮したものである。しかし仮説の域をでないものであって、実証されているわけではない。アクチンとミオシンが互いにすべり込むという運動を説明する分子論的説明は、今日まで明らかにされていない。化学的エネルギーの機械的への転換という生物のもつ絶妙なエネルギー変換機構の解明のためには、まだまだ多くの実験研究がなされなければならないであろう。

### 8.6 神経組織

脳や神経は、従来主として解剖学や生理学の立場から研究されてきた。しかし近年になって、生化学的分析技術が長足に進歩するに及んで、脳や神経も生化学的研究の対象となるに至った。

脳は同一種類の細胞で構成されているのではなくて、神経細胞や各種のグリア細胞の混在する不均一な組織からなっている。中枢神経系を神経細胞とグリア細胞からなる灰白質と有髄繊維とグリア細胞からなる白質部とに大別するが、化学組成の上にも大きな差がある。

表 8.3 白質と灰白質の化学組成の比較

	白 質 (%)	灰 白 質 (%)
水	70	84
タンパク質	10	8
リン脂質	8.5	3.7
セレブロシド	5	3
コレステロール	5	0.7
無機質	0.8	0.8

(Bartley, Biochemistry of tissue 1968)

また部位や機能により同じ神経細胞でも大きさや形態が異なり、異なった物質代謝や代謝特長をもっている。例えば黒質の神経細胞はドパミンとその合成酵素を有し、中脳網様体のあるものにはセロトニンやノルアドレナリンを含み、小脳のプルキンエ細胞は  $\gamma$ -アミノ酪酸を含んでいるなどである。

化学的には脂質に富むことが特長で、白質部では乾燥重量の 57% を、灰白質では 32% を占めている。脂質組成もリン脂質、セレブロシド (cerebroside)、ガングリオシド (ganglioside) 及びコレステロールを多く含んでいる。中性脂質は含まれない。神経軸索の周囲を同心円状にとりまくミエリンには脂質含量が高い。ミエリンには脳のオリゴデンドロイドの細胞膜に由来する中性性ミエリンと末梢神経のシュワン細胞の細胞膜に由来する末梢性ミエリンとがある。前者にはセレブロシドが多く、後者にはスフィンゴミエリンの含量が高い。

神経の電解質成分は他の組織の細胞内成分と大差ないが、ただ神経では陽イオンに見合うだけの陰イオン(リン酸、硫酸、重炭酸、タンパク等)がない。多分、神経組織に多い二塩基性アミノ酸が不足分をまかなっているのであろう。

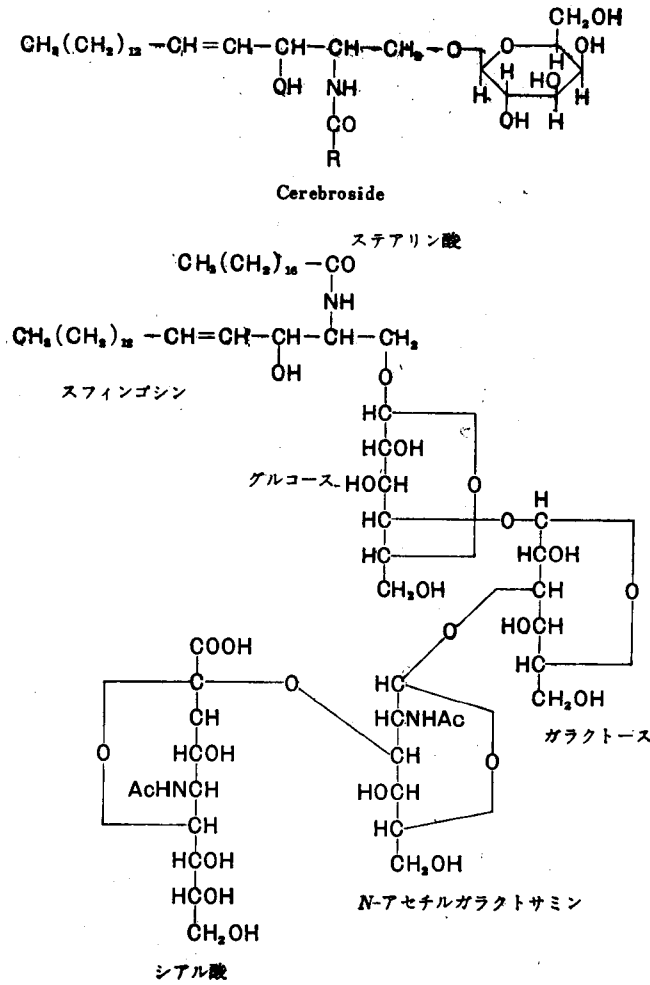


図 8-14

8-6-1 血液-脳関門 (blood-brain barrier)

循環血液中の低分子物質が他の組織に比べて脳にはいりがたいということは、組織学的にも生化学的にも古くから知られていた。かかる現象を説明するために、血中成分の脳への移行にあたり、透過性に対して障壁のようなものが存在すると説明されてきた。この障壁のことを血液-脳関門、あるいは血液-脳脊髄液関門という。これには幾つもの生化学的な機構が働いて、色々な形の分子(例えば電荷を有する分子とか電解質とか、比較的分子量の大きい脂質、多糖類、ペプチド等)の透過を制限しているものと考えられる。この関門の透過性は恒常ではなく、疾病等の条件で変化する。例えば、iodofluorescein は正常な脳の血液-脳関門を透過しえないが、脳腫瘍をもったヒトの脳関門は透過しうる。この事実、放射性的の <sup>131</sup>I でラベルした色素を使って腫瘍の位置を探ることに利用される。

### 8.6.2 炭水化物代謝

脳は生理的条件下ではグルコースの  $\text{CO}_2$  への完全酸化によって生ずるエネルギーのみを利用して (RQ=1)。血液から脳に移行するグルコースの約半分は組織成分の中へ取り入れられて、エネルギー源に利用される。脳のエネルギー源はグルコースであり、胎生期では解糖によるエネルギー生産が主であるが、生後は徐々に呼吸系サイクルによる酸化過程が主流になってくる。多量のエネルギーの供給を必要とするニューロンやシナプスの部分にはミトコンドリアを多く含んでいる。ヒトの脳には組織 1g あたり 5 nmol のチアミン ( $\text{B}_1$ ) があり、他の組織に比べて保持能力が高い。ビタミン  $\text{B}_1$  欠乏時には、神経系の機能不全が起るが、 $\text{B}_1$  欠乏がピルビン酸のアセチル-CoA への変換のところで働くことを考えると、神経系における TCA 回路が糖代謝に占める重要性をうかがい知ることができる。またピリドキサルリン酸 ( $\text{B}_6$ ) は、脳組織内ではアミノ基転移反応などの重要な反応に関与している。

低血糖時には、グルコースのみならずアミノ酸や脂質が酸化されるようであるが、その量は十分でない。脳のグリコーゲン含有量は約 0.1% と非常に低く、脳に蓄えられているグルコースやグリコーゲンの量は約 10 秒くらいで消費されてしまう程度である。脳は糖の供給が不足すると長く耐えることができない。インシュリンの投与により、血糖値が 10 mg% 以下に下がると昏睡に陥る。これは精神分裂症のインシュリンショック療法に応用されている。脳は休息時の全酸素消費量の 25% を消費する。休息時と活動時とでは電気的には大きな差があるが、酸素消費量には変化が少ない。脳はこのような高い酸素消費量を示すので、anoxia に非常に敏感であり、わずかの hypoxia のあとでも昏睡や不可逆的な破壊が生じる。

### 8.6.3 アミノ酸及びタンパク質代謝

脳の遊離アミノ酸は N 量で 38 mg% で、他の組織に比して高く、特にグルタミン酸を初め酸性アミノ酸の濃度が高い。グルタミン酸、グルタチオン、グルタミン、 $\gamma$ -aminobutyric acid、アスパラギン酸は、脳の非タンパク性アミノ窒素の 80% を占める。アミノ酸のうち、グルタミン酸は脳のなかでもかなりの速度で代謝されている。ある程度はエネルギー源として利用されており、アンモニアの捕捉にも働いている。

$\gamma$ -Aminobutyric acid は脳に高濃度に含まれるアミノ酸として発見されたもので、脳のある種の抑制性シナプスで神経刺激伝達物質として働いていることが明らかとなった。

$\gamma$ -アミノ酪酸が脳に特異的に存在するのは、それを形成するグルタミン酸脱炭酸酵素が脳に特異的に存在するためである。生じた  $\gamma$ -アミノ酪酸はアミノ酸転位反応を通じて分解されるが (図 8.15)、その他に種々のペプチドや誘導体を作る。

脳のタンパク質は乾燥重量の 40% を占め、血清のアルブミンや肝臓のタンパク質について代謝回転率が高い。これは脳にグリコーゲン量が少なく、糖の供給が不足したときタンパク質が燃焼してエネルギーを生産するためと考えられる (低血糖によるけいれん発作のとき、タンパク質や脂肪の代謝回転は著しく増強する)。

最近、脳やその他の神経組織の機能に、ある種の特異的タンパク質が重要な機能を有するという報告が集積しつつある。特に酸性タンパク質が注目をあびている。P-100 タンパク質と呼ばれているも

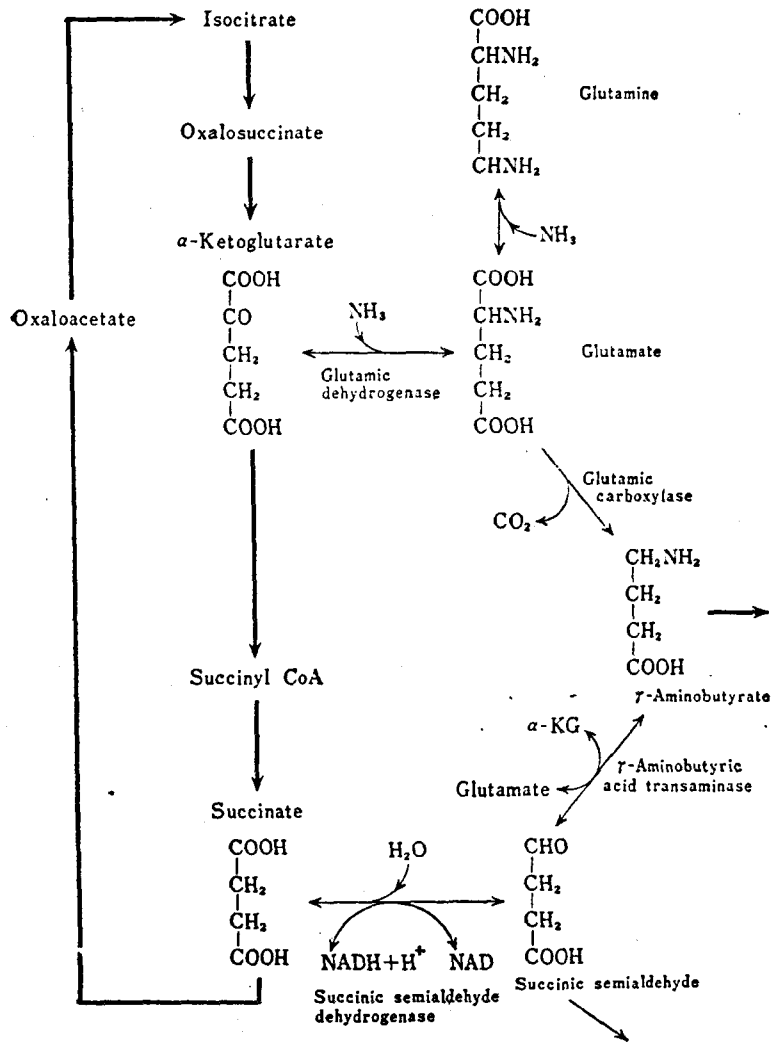


図 8.15 GABA-shunt の代謝経路

のは、100% 飽和硫酸に可溶性タンパク質というもので (pH 4 では沈殿する), 分子量は 30,000 で 3 の遊離 SH 基を有し, グルタミン酸, アスパラギン酸が全体の 30% 前後を占めている. 脊椎動物では中枢, 末梢ともに存在し, 神経における伝達機構に関与している可能性が考えられている.

#### 8.6.4 核酸代謝

神経細胞は高い RNA 含有量を示す. また神経が活動している時に RNA の代謝は亢進している. すなわち神経を刺激すると, 細胞は増大し, 核小体 (nucleolus) も大きくなり, 同時に核小体の RNA 濃度も増大する. このようなことから, 記憶は RNA によって蓄えられるのではないかと考えも提出されている.

## 8.6.5 脂質代謝

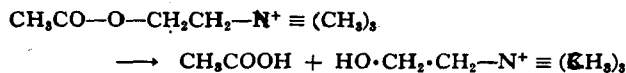
脳には固形成分の約 50% の脂質を含んでいるが脂質の大部分は代謝的に不活発であり、白質部のスフィンゴミエリンは、構成成分としての役割が大きい。

しかし放射性同位元素でラベルした前駆体を用いた研究によって、inositol phosphate やガングリオシドの合成速度が高いことが示された。これらの複合脂質が proteolipid 中のタンパクと密接に結びついていることや、それらの物質が脳や他の神経組織のある種の膜構造に、なんらかの役割を果たしていることを示唆しているようである。またガングリオシドは分子中に極性基と非極性基をもち、水溶液中ではミセルを形成する性質をもつため、膜の構成成分の 1 員である可能性をも示している。膜に結合したガングリオシドは水層から脂質層に向かっての物質輸送の場合に、陽イオン交換系として重要な役割を演ずるものと考えられる。またシナプス部におけるセロトニンのレセプターとも考えられるし、*N*-アセチルシアル酸基によって  $\text{Ca}^{2+}$  との強い結合能をもっているため、これが神経膜の興奮やイオン透過性と密接な関連があるようである。

## 8.6.6 機能から見た神経の生化学

神経系には末梢と中枢との間に中継点としてシナプス (synaps) と呼ばれるものがあり、ここでは二つの神経単位 (neuron) は非常に接近はしているが、形態的には連絡はしていない。興奮が神経繊維の中を伝わり、シナプスに到達すると、ある化学伝達物質が終末で遊離されてシナプス間隙に放出される。このシナプス間隙に放出される化学伝達物質が、後シナプス膜に存在するレセプター機構を通じて、膜の分子構造をかえ、イオン透過性を変化し、細胞を興奮させるものと考えられる。

密度勾配遠心法などにより、神経終末のシナプス部には、生理活性アミンを含むシナプス小胞 (synaptic vesicle) が存在している。アセチルコリン (acetylcholine) を含む小胞にはコリンとアセチル-CoA からアセチルコリンを合成するアセチルコリンアセチラーゼを含んでいる。一方、アセチルコリンを加水分解して、活性を失わせるアセチルコリンエステラーゼ (acetylcholine esterase) は膜の外に存在している。



アセチルコリン合成酵素により、アセチルコリンが合成されて顆粒状に蓄積し、アセチルコリンが遊離して機能を果たしたのちに膜外にある分解酵素がこれを分解するものと考えられる。しかしアセチルコリンがどのようにして神経細胞の膜の透過性を変えるのかについてはまだ確たる定説はない。

Adenyl cyclase や  $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$  は細胞膜に存在しており、化学伝達物質が結合して活性化したレセプターにより、これらの酵素タンパクのコンホメーションが変化し、活性の増大をきたす。その結果として、環状 AMP や GMP が合成されて、膜の構造タンパクがリン酸化やメチル化などの修飾をうけて、膜のイオン通路が一方向的に開くという考え方もある。また化学伝達物質がレセプターに結合すると後シナプス膜のイオン通路が開くという見方もある。

神経末端にあるミトコンドリアは、酢酸と CoA からアセチルチオキナーゼによりアセチル-CoA が合成される時に必要な ATP の供給に働く。また神経の活動電流により細胞膜が脱分極したときの

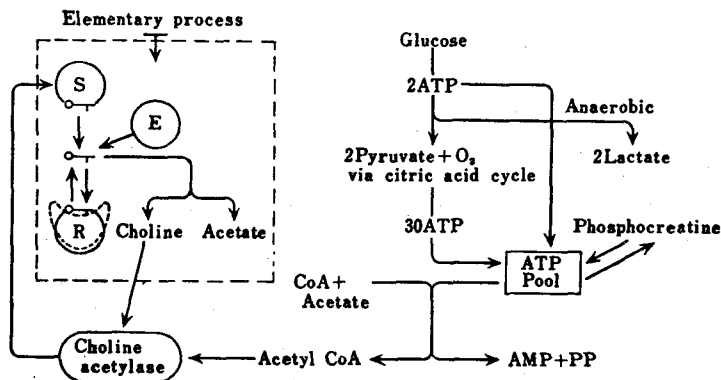


図 8.16 伝導に伴うエネルギー変換の反応及び神経細胞の代謝過程へのアセチルコリンの関与 (Nachmansohn)

○: アセチルコリン

神経末端への  $\text{Na}^+$  の流入をとり除くにも、ATP が必要である。

現在、神経伝達物質として確立したものとしてはアセチルコリン、ノルアドレナリン、 $\gamma$ -アミノ酪酸をあげることができる。交感神経の節後線維を除くほとんどすべての自律神経では、アセチルコリンが伝達物質である。体性神経では運動神経がコリン作動性であり、末梢の交感神経の刺激伝達物質はノルアドレナリン(アドレナリンの脱メチル)である。伝達物質はこれですべて解決したわけではなく、高等動物の中枢神経系、特に脳の伝達物質については明らかでない点が多い。脳にもノルアドレナリン、アドレナリン、3-OH-チラミン等が存在しているが、これらは脳細胞の細胞質及び顆粒に含まれており、カテコールアミンと総称されている。カテコールアミンは刺激の伝達、その他の細胞機能に重要な働きをしていると考えられているが、このものも脳にはかなり大量に含まれている。その他に伝達物質としてあげられているものに、L-グルタミン酸、substance Pなどがある。

モノアミンオキシターゼ(MAO)の阻害剤は脳内のカテコールアミン量を増加させ、動物では運動過多など中枢性の興奮をひき起す。ヒトでは興奮のみでなく、全く影響されなかったり、あるいは逆に鎮静又は緊張感の消失をきたすことがある。この阻害剤はセロトニンの代謝をブロックし、セロトニンの *N*-acetyl あるいは *N*-methyl 誘導体の生成を増加させる。

レセルピン(reserpine)などのアルカロイド、あるいはベンズキノリジン誘導体はカテコールアミン及びセロトニンを組織から遊離するため、脳内におけるこれらの物質の濃度低下をもたらす、動物に鎮静作用を与える。レセルピン投与後の尿にはセロトニン及びその代謝産物である 5-hydroxyindolacetic acid が増加している。

## 8.7 結合組織

結合組織は臍、靭帯、皮膚を初めそのほか、肝臓や筋肉等の実質臓器をまとめあげ、これを支持する働きをしている。結合組織は細胞成分と細胞間物質とによって構成される。細胞成分には基本的成分として、線維芽細胞(fibroblast)があるが、その他に大食細胞(macrophage)、肥満細胞(mastcell)、

ときには少数の他の未分化の細胞も関与している。細胞間物質は線維成分(コラーゲン, エラスチンなど)と礎質(ground substance, ムコ多糖類)とに区分される。

表 8.4 結合組織の組成

	皮 膚 (%)	アキレス腱 (%)	項 靱 帯 (%)
水	65	63	58
無機質	1	0.5	0.5
有機質	30	37	42
線維成分			
コラーゲン	23	32	7
エラスチン	3	2	32
ムコ多糖類	3>	1.3	0.5

(今井陽: 生化学入門, 朝倉書店昭49年)

結合組織の機能は終局的にはこれらの細胞間物質の性状に帰着する。

細胞成分 .....線維芽細胞

細胞間物質.....線維成分(コラーゲン, エラスチン)

礎質(ムコ多糖類)

8.7.1 コラーゲン (collagen, 膠原線維)

結合組織の不溶性の線維がコラーゲンである。これは生体内に最も多く含まれているタンパク質で、全体の約 1/3 に当り、体重の約 6% を占める。ヒトの組織で湿性重量に対する割合でみると、皮膚 (197 mg/g)、骨 (69 mg/g) に高く、骨格筋がそれに続いている。

コラーゲンは線維芽細胞で作られ、可溶性モノマー(トロポコラーゲン, tropocollagen)として細胞外に排出され、細胞外でポリマー化されて線維を作る。したがってコラーゲンは細胞外に存在している(図 8-17)。

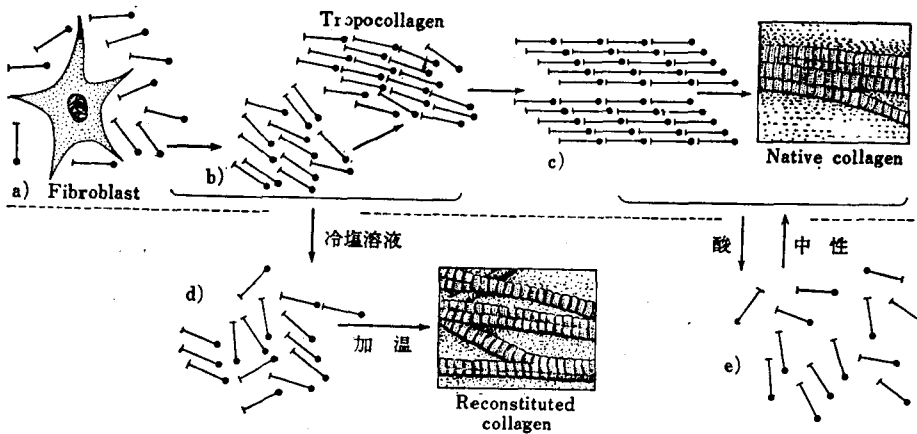


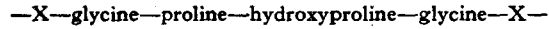
図 8-17

(Jerome Gross; Collagen Science May, 1961)



このコラーゲンの基本単位であるトロポコラーゲンは幅 1.4 nm, 長さ 280 nm, 分子量 350,000 である。このトロポコラーゲン分子が互いに 1/4 ずれた形で平行に並ぶために、コラーゲン線維の電子顕微鏡所見にみる 70 nm ごとの周期性の横紋が形成されることになる。

コラーゲンのアミノ酸組成は特長的で、アミノ酸の 1/3 がグリシンであり、プロリン及びヒドロキシプロリンの両者が 21% を占め、アラニンが 11% を占める。この 4 種のアミノ酸でコラーゲンの 60% に達する。



ヒドロキシプロリン、ヒドロキシリジンは、コラーゲン特有のアミノ酸であり、トリプトファンとシステインは存在しない。一般にヒドロキシアミノ酸はコラーゲンの水素結合の機構に大きな役割を果たしている。基本単位であるトロポコラーゲンは三重のらせん構造をとっており、2本の  $\alpha_1$  鎖と 1本の  $\alpha_2$  鎖から成っている。 $\alpha_1$  と  $\alpha_2$  とはアミノ酸組成の点では可成り異なっている。

全体の構造は各らせん間の水素結合によって結ばれているが、各らせんはまた、ところどころで共有結合によって結ばれている。その結合の詳細は不明であるが、アスパラギン酸やグルタミン酸  $\alpha$  carboxyl 基と糖やペプチドなどの水酸基との間のエステル結合、あるいはリジンの  $\epsilon$ -アミノ基の酸化を生じるアルデヒド ( $\epsilon$ -リジラール) の関与する結合などが考えられている。

ある種の豆 (*Lathyrus odoratus*, スイートピーの 1 種) を摂取すると、その中に含まれているアミノプロピオニトリル ( $\text{H}_2\text{N—CH}_2\text{—CH}_2\text{—CN}$ ) がリジンの  $\epsilon$ -リジラールへの酸化を阻害するため、幼若な動物では正常なコラーゲン線維のクロスリンクが阻害され、その結果 lathyrism といわれる骨格の発育不全が起る。

コラーゲンは熱変性によって、ゼラチンと呼ばれる可溶性物質となるが、コラーゲンの分子の特有な 3 次構造を失っている。年齢とともにコラーゲンは難溶性を増し、線維は厚くなるが、加齢とともに隣接したトロポコラーゲンの共有結合性 (cross linkage) が増すものと思われる。

一般に、タンパク質合成の場は遊離のポリソームであるが、コラーゲンなどのように細胞外に分泌されるタンパク質は、endoplasmic reticulum 膜結合ポリソームによって、合成されることがほぼ認められている。 $^{14}\text{C}$  でラベルしたヒドロキシプロリンやヒドロキシリジンはコラーゲンにとり込まれないので、コラーゲン分子中のヒドロキシプロリンやヒドロキシリジンはいずれも遊離型からとり込まれるのではなくて、プロリン、リジンとしてとり込まれ、ついでペプチド鎖中で水酸化を受ける。機序については酸素添加反応により行われ、アスコルビン酸が直接に関与している。ヒドロキシプロリンの生成には propyl hydroxylase (protocollagen proline hydroxylase) の cofactor として  $\text{Fe}^{2+}$ , アスコルビン酸,  $\alpha$ -ケトグルタル酸が必要である。この酵素の基質特異性として、1 本鎖で長さの長いほど良い。 $^{18}\text{O}_2$  を用いた実験では 1 原子はヒドロキシプロリンに入るがもう 1 原子は  $\alpha$ -ケトグルタル酸から生ずるコハク酸に入るという。リジンの水酸化反応も類似の酵素反応によって行われる。

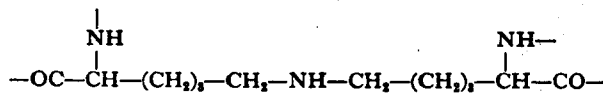
一度生成したコラーゲンは代謝的にはほとんど不活性で、その半減期は何年という長さである。しかし、コラーゲンはある状況のもとでは急激に合成される。また逆に他の条件下では、例えば骨折治療過程や出産後の子宮などでは比較的急速にコラーゲンが減少する。動物では炎症組織、産後子宮、皮膚、骨などにコラゲナーゼの存在が認められている。コラゲナーゼの研究によると、この酵素は 3



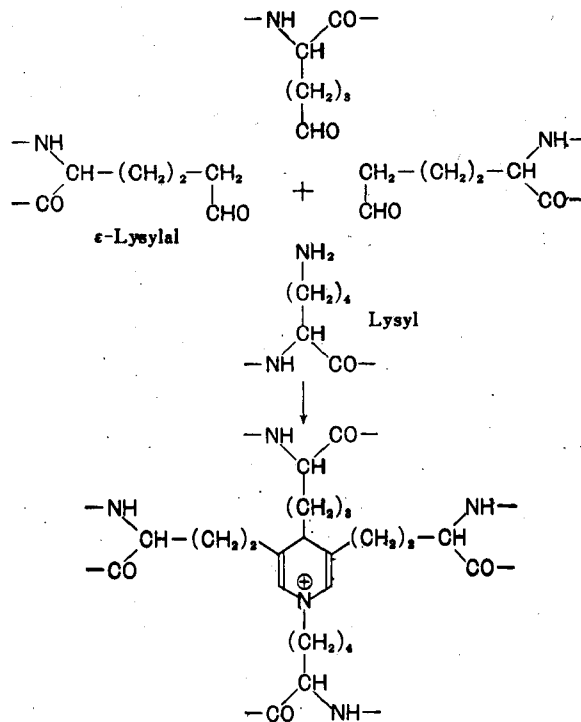
8.7.2 エラスチン

エラスチン (elastin) は結合組織の第2の重要なタンパク質である。コラーゲンと違って、これは熱してもゼラチンにならないし、そのアミノ酸組成もコラーゲンとは異なるので、両者は別のタンパク質である。全アミノ酸の約1/3はグリシンで、プロリン、アラニン、バリンの4種のアミノ酸で80%を占めるが、オキシプロリンは非常に少ない。コラーゲンが白色結合組織に多いのに対して、エラスチンは黄色結合組織に多い。したがって靭帯や大血管の壁のような弾性構造のタンパク質に多く含まれている。結合組織を弱アルカリで水解すると、エラスチンは溶解しないで残る。

エラスチン線維はより小さな球状のコンパクトな分子が強固な cross linkage によって線維状の鎖に結び合されて出来たものである。この cross linkage には三つの形が知られており、それらはデスマシン、イソデスマシン及びリジノルロイシンである。デスマシン、リジノルロイシンの構造は図8.19に示す通りであるが、これらの形成にはリジンが酸化されて生ずるε-リジラールが関与している。デスマシン、イソデスマシンは年齢とともにその数が増してゆく。Lathyrism の場合はリジンのε-リジラールへの酸化が傷害されるのでデスマシンは生成されず、またコラーゲン中でもリジラール



a) リジノルロイシン残基



b) デスマシン残基

図 8.19

ルを介した cross linkage は起らなくなる。

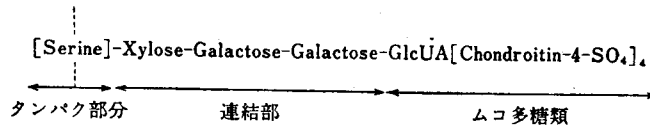
### 8.7.3 ムコ多糖類

礎質は結合組織の線維成分や細胞間をみたす無定形の高分子の成分で、ムコ多糖類及び糖とタンパク質の複雑な組合せにより構成されている。礎質の性状や占める割合は動物種、臓器、組織により、またその性、年齢により著しく異なる。礎質の機能は組織のホメオスタシスの保持、細胞間隙の保持、コラーゲンとの相互維持、細菌、感染の防御、生長、分化、再生などにあずかり、また炎症、浮腫、老化、膠原病などのおきる場でもある。

礎質の無定形高分子物質は、ムコ多糖タンパク質複合体 (mucopoly saccharide protein complex) と称せられる群と糖タンパク質 (glycoprotein) よりなる。

#### 1) ムコ多糖からなるタンパク質複合体

構造はタンパク質部分、ムコ多糖部分と両者を結ぶ連絡部分の3者からなる。結合様式の1例を示すと次の通りである。



ムコ多糖類の鎖は通常長く、アミノ糖とともにウロン酸や硫酸残基を含むため、強い酸性を呈する。この糖部分を酸性ムコ多糖類 (acid mucopolysaccharide) ともいう。これにはコンドロイチン 4-硫酸、コンドロイチン 6-硫酸、ヒアルロン酸、デルマトン硫酸、ケラタン硫酸、ヘパリン、ヘパラン硫酸、コンドロイチン等が知られている。ムコ多糖類の合成の直接の前駆体は、それぞれの糖の UDP (ウリジン二リン酸) の誘導体である。ムコ多糖類の合成は二糖類の合成と同様に行われると考えられる。また硫酸エステル化は、初めに出来た多糖類が、3'-ホスホアデノシン 5'-ホスホスルホン酸 (PAPS) と反応して行われるものと考えられている (図 8-20)。

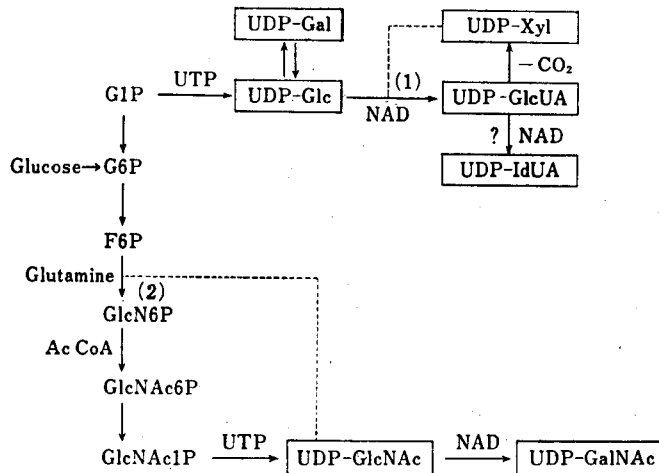


図 8-20 Nucleotide-sugar の合成経路

(大久保達也: 基礎皮膚科学, p. 379, 朝倉書店, 昭 48 年より)

タンパク部分は全体の 5~10% を占め、分子量は 100 万から 1,000 万ほどの巨大分子である。ペプチド鎖のセリン残基の水酸基に連結部の糖が結合している。

## 2) 糖タンパク質

数% から 40% の糖質を含んでおり、ポリペプチド鎖のアスパラギンのアミド基から *N*-glycoside 型に単糖又は少糖類が 1 ないし数百結合した構造をもつが、タンパク質分子が優位を占める巨大分子である。

糖部分には、ムコ多糖タンパク複合体と異なりウロン酸を含まず、その構成はアミノ糖として *N*-アセチルグルコサミンが、単糖類としてグルコース、ガラクトース、マンノース、フコースなどからなっている。このような糖タンパクは単に結合組織のみならず、細胞膜、核膜、ミトコンドリア膜、血漿、分泌液などにも広範に存在している。

## 8.8 骨とビタミン D

骨形成には二つの経路があり、一つは骨端における軟骨性化骨で、軟骨細胞の増殖とこれに続く骨との置換による長軸方向への伸びであり、他の一つは骨芽細胞の周辺でおきる石灰化である。前者の過程は骨の成長が終ると共に終了するが、後者は骨芽細胞に生じた matrix の石灰化であり生涯継続する。身体全体のカルシウムの 98% (約 1,000 g) は骨に集中しており、骨はカルシウムの貯蔵庫としての役割を果している。

成熟した骨では骨の吸収(破壊)と形成とが大体同じ速度で行われ、常に骨質の入れ換りがおきている。したがってカルシウム代謝と骨自身の代謝とは、互いに密接な関係をもっている。

骨の組成はほぼ 55% が無機成分で残りは 35% の有機成分と 15% の水分とからなっている。有機基質の大部分はコラーゲン線維で糖タンパク質複合体などを含んでいる。無機成分は X 線回折上では、ハイドロキシアパタイト (hydroxyapatite) の回折像を表しており、 $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  の構造に近似している。この組成のほかに  $\text{CO}_3^{2-}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Fe}^{3+}$  なども数% 含み、変異に富んだ組成を有している。

化骨にあたっては、線維芽細胞由来の骨芽細胞が骨基質の主体であるコラーゲンを合成し、ついでこの基質の上に血清 Ca に由来する石灰化がおきてくる。

血清中の総 Ca 濃度は、9~11 mg/100 ml で、そのうち一部 (約 5 mg/100 ml) は生理作用を示すイオン型で存在し、他は血清タンパク質なかんずくアルブミンと結合している。細胞外液と骨とは莫大な表面積で接しており(アパタイトの結晶は小さく、重量あたりの表面積は広がる)、細胞外液になんらかの原因でカルシウムの欠乏が起るとその不足分だけ骨から骨塩が動員をうけ、血清のカルシウムはホメオスタチックに調節されていて、一定値を保っている。一方、食物として摂取したカルシウムは、腸管から吸収されて血中に入り、腸管、尿、汗の中へ排泄されており、これもカルシウムの平衡にあずかっている。

血清中の無機リン酸は、Ca と異なりタンパク質とは結合していない。その濃度は 3.5~4 mg/100 ml で、これもまたホメオスタチックな調節を受けている。Ca と同様に骨はリンの貯蔵や放出を行う。リン酸は主として腎から排出される。血清の  $\text{Ca}^{2+}$  活量と  $\text{HPO}_4^{2-}$  活量の積は一定で、成人

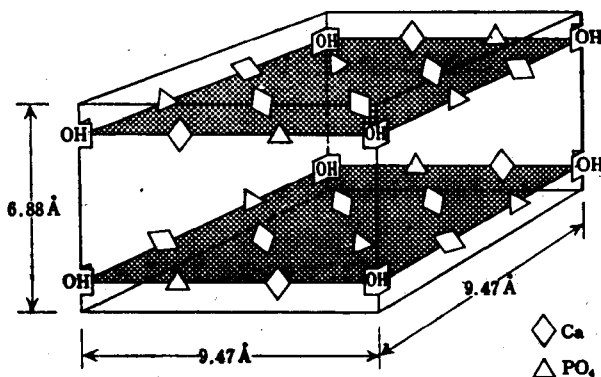


図 8-21 Hydroxyapatite  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$

2つの平面は上下の面を表している。原子は図をみやすくするため圧縮して描かれている。二つの面の中心にある6つのCa原子はこのunit cellにのみ属し、周辺にある8つのCa原子は周囲のunit cellに共有されている。したがって4つのCa原子がこのunit cellに属することになる。中央にある2つの $\text{PO}_4$ 基はこのunit cellに属する。周辺にある8つの $\text{PO}_4$ 基は周囲のunit cellに共有されている。したがって4つの $\text{PO}_4$ 基だけがこのunit cellに属することになる。周辺にある8つのOH基は8つのunit cellで共有されている。すなわち4つのunit cellが各コーナーの2つのOH基を共有していることになる。したがって各コーナーにおいて1/2つのOH基がunit cellに所属していることになる。各unit cellは4つのコーナーをもつから各unit cellには2つのOH基が属することになる。この割合が格子で保たれると結局結晶全体の組成は $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ になる(Robinson)。

では  $0.89 \times 10^{-7}$ 、小児では  $1.7 \times 10^{-7}$  という溶解積を保っている。

血中カルシウムの濃度は、ビタミンD、副甲状腺ホルモン及びカルシトニンの三つの調節因子が十二指腸、骨組織、腎の三つの器官に働いて調節をうけており、血中カルシウムの濃度を10 mg/dl (2.5 mM) に保っている。

ビタミンDはカルシウムの吸収や骨塩を血中に溶出させる働きを有している。また副甲状腺ホルモンは腎尿細管からリン酸の再吸収を阻止して尿中にリン酸排泄量を増大させて、血中のP濃度を低下させると共に、骨組織から骨塩を溶出させて血中Ca濃度を維持する働きをも有している。カルシトニンは副甲状腺ホルモンとは逆に、血清カルシウムの上昇により分泌が刺激され、骨吸収を阻止することによって、逆に血清カルシウムやリンのレベルを低下させる。このように三つの調節因子は相互に関連をもって、血中のカルシウム濃度の維持をはかっている。

カルシウムの出納を維持するために必要なカルシウム所要量は男女とも1日0.6gとされている。成長期にあるものは骨の発育に必要な量が追加されなければならない。妊婦は妊娠全期間を通じて1gとされており、授乳期は少し余裕をもたせて1.1gと定められている。カルシウムは小腸、殊に近位部で吸収されるが、吸収にはビタミンDが不可欠である。通常600~800mgのCa摂取量のうち、吸収される量は15~59%である。ところでカルシウムの吸収に必要なビタミンDは生体内では合成されず、食物として摂取され、小腸から吸収される。ついでリンパ管を経て、肝に運ばれ分子的構造

変化をうける。ビタミン D 分子の 25 番目の炭素が水酸化をうける (25-OH-D<sub>3</sub>)。このビタミン D の 25-ヒドロキシル化にあずかる酵素 (25-hydroxylase) はミクロソームに存在し、Mg<sup>2+</sup>、NADPH、O<sub>2</sub> を必要とする。

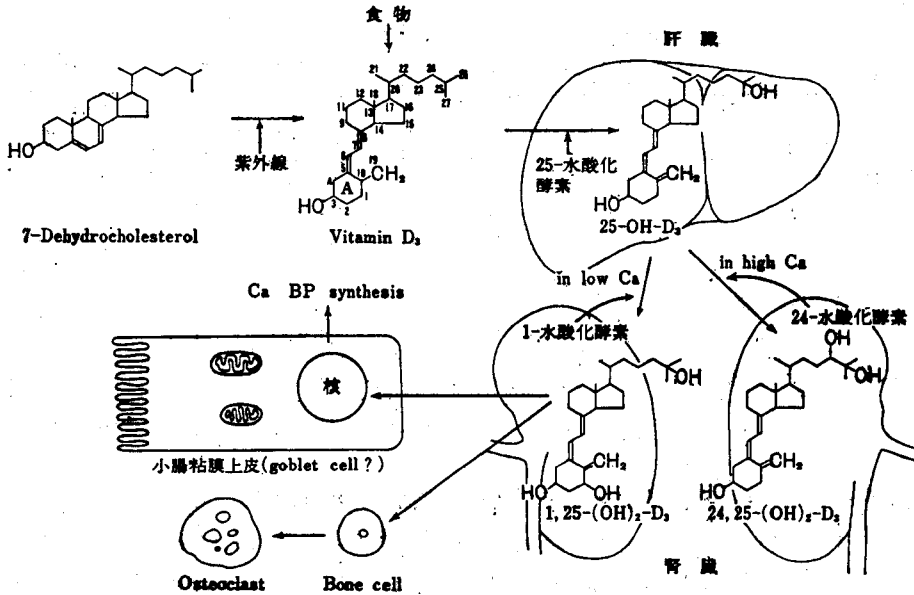


図 8-22 生体内におけるビタミン D<sub>3</sub> の代謝経路 (須田, 堀内; 代謝 Vol. 10 (7), p. 23, 1973 より)

この過程の水酸化反応は、product inhibition の機構のもとに調節されており、過剰摂取による障害を防ぐ意味で重要な役割をはたすものと思われる。肝で生成した 25-OH-D<sub>3</sub> はついで腎に運ばれ、尿細管細胞で D<sub>3</sub> の 1 位 (1, 25-dihydroxycholecalciferol, 1, 25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub>)、又は 24 位炭素 (24, 25-dihydroxycholecalciferol, 24, 25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub>) が更に水酸化をうけている。

後者の 24, 25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> は血清カルシウムレベルが 9 mg/dl 以上のとき腎で作られる。これに反して、前者の 1, 25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> は血清カルシウムが正常よりわずかに低くなると (8~9 mg/dl)、尿細管細胞のミトコンドリアで生成が急激に高くなる。

両者ともに腎で作られるが、この物質の合成のバランスが血清カルシウムの濃度により調節されていることは極めて重要である。血清カルシウムが正常値より低下すると、小腸でのカルシウム輸送を促進すると考えられる 1, 25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> の生成が急激に増加することになる。24, 25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> の生理的意義は明らかではないが、骨組織と腎臓に多量に存在しており、骨の石灰化促進因子として、また腎ではカルシウムの再吸収阻害因子として副甲状腺ホルモンと拮抗して働いている可能性もある。このように腎で合成される物質が、ビタミン D の最終の活性型代謝産物であるとすれば、腎摘出動物では小腸や骨組織に対して、ビタミン D の作用を示さないはずである。1972 年、Boyle や Holick らによって、小腸のカルシウム輸送や骨吸収に対してこれを証明した。表 8-5 は尿管結紮によって尿毒症(血清尿素窒素: 144 mg/dl) を起しても 25-OH-D<sub>3</sub> (5 単位) の投与で小腸のカルシウム輸送を促進しうるので、25-OH-D<sub>3</sub> は腎で水酸化をうけて活性型となっている。しかし、両側性腎摘出を

E109-71

A15

行くと、1,000 単位の 25-OH-D<sub>3</sub> を投与してもカルシウム輸送は全く促進しない。

1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> は摘出動物でも効果のあることを示しており、ビタミン D の生理作用の発現には腎での水酸化が必要である。

表 8.5 腎摘出ラットにおける小腸でのカルシウム輸送に及ぼす  
25-OH-D<sub>3</sub> と 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> の効果の比較

	正 常 動 物	両 側 性 尿管結紮動物	両 側 性 腎 摘 出 動 物
95% エタノール	1.7±0.13	1.6±0.08	1.7±0.18
25-OH-D <sub>3</sub> 5 IU	3.4±0.24	2.6±0.18	1.7±0.15
1000 IU	—	—	1.8±0.15
1,25-(OH) <sub>2</sub> -D <sub>3</sub> 5 IU	3.3±0.24	2.8±0.11	3.1±0.26
serum urea N (mg/100 ml)	20 ±1.3	144 ±3.4	129 ±3.0

(Boyle, I. T., et al.; *Endocrinology* 90, 605 (1972))

小腸でカルシウムの輸送を促進する最終的な活性物質が 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> であるという根拠が数多く報告されるに至った。ビタミン D 代謝産物のうち、1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> が最も能率よく、小腸でのカルシウム輸送を促進したり、ビタミン D の受容器であると思われる小腸粘膜に集まることは、何らかの形でカルシウムに親和性の強いタンパク質 calcium protein の合成に関与しているらしい。カルシウムイオンは小腸粘膜の microvilli border から Ca-依存性 ATPase により漿膜側に運ばれ、2 コの Na<sup>+</sup> と交換される。細胞内にとり込まれた Na<sup>+</sup> は小腸の漿膜側に局在している Na<sup>+</sup>K<sup>+</sup>-依存性 ATPase によって、細胞外に排出される。このようなビタミン D<sub>3</sub> の関与により、小腸でのカルシウムの輸送が行われる。一方、1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> は骨細胞に対しては破骨細胞を誘導し、骨吸収を盛んにして血清カルシウム濃度を高める作用を有している。

## 8.9 視 覚

網膜 (retina) は眼の光感覚装置であり、角膜、水晶体、硝子体を通して網膜に達した光が、網膜の特有の色素に吸着され、最終的に視神経の活動電位を起すことになる。網膜は生体内で単位重量あたり、最高の酸素消費量を示すし、五炭糖リン酸回路、嫌氣的・好氣的解糖活性をも示し、RQ は 1 である。TCA 回路の活性は、桿体の inner segment にある光感受器の成熟とともに著しく増加してくる。

網膜を構成している細胞は視細胞、水平細胞、双極細胞、無軸索細胞、視神経細胞とこれらの間隙をうめている Müller 細胞からなっている。視細胞の機能が解糖に依存していることは、ヨード酢酸の投与で網膜の機能が障害される実験からも伺われる。

網膜は透明であるが、その下にある色素上皮と脈絡膜上に散在する色素により、吸収層が形成されている。視細胞は微光を捕え得るが、これには黑白の光感覚に関して感度の高い桿体と色覚に関与す



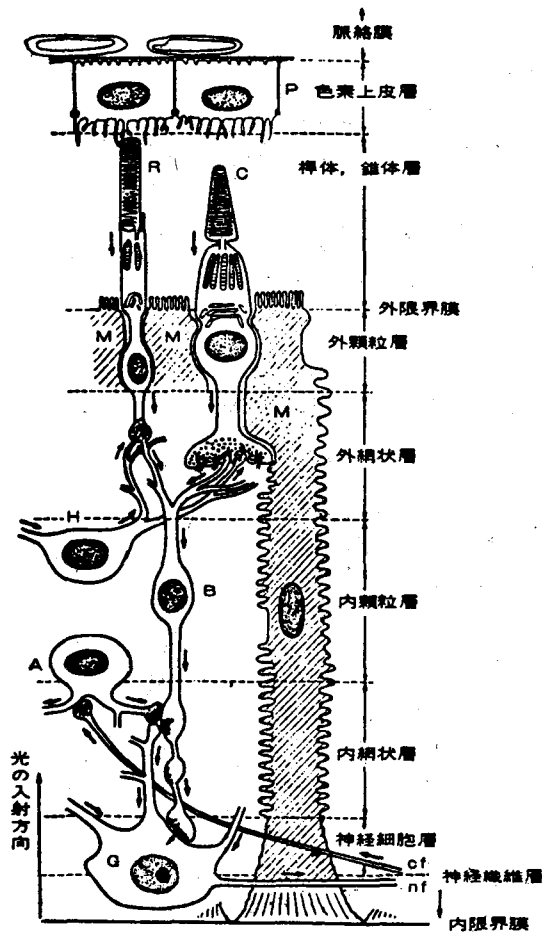


図 8.23 脊椎動物の網膜の構造模式図

P: 色素上皮細胞 R: 桿体 C: 錐体 M: Müller 細胞 H: 水平細胞 B: 双極細胞 A: 無軸索細胞 G: 視神経細胞 cf: 遠心性神経繊維 nf: 視神経繊維  
(山田英智: 生体の科学 18, 54, 1967 より)

る錐体とがある。両者の視細胞は、ともに核、ミトコンドリア、リボソーム、ゴルジ体の存在する内節と視色素の局在する外節とから構成されている。

桿体、錐体いずれの視色素もオプシン・タンパクにレチナールが結合したロドプシン (rhodopsin) よりなり、これにリン脂質が会合している。レチナールは *cis* 型のビタミン A アルデヒドであり、ビタミン A とは retinene 脱水素酵素による可逆的な酸化還元の関係にある。視色素はこのレチナールを発色団とした脂質タンパク質ということになる。視物質のうち、最も良く研究されているのはウシやカエルの桿体外節のロドプシンである。カエルの桿体外節は長さ  $50 \mu\text{m}$ 、幅  $6 \mu\text{m}$  の細長い細胞膜の袋で、この中に約 1,800 枚の円板膜が積み重ねたように詰まっている。電子顕微鏡オートラジオグラフィーを用いた研究では、この円板機構は外節基部で絶えず形成されている。他方の外節の先端では、色素上皮細胞の phagocytosis によりちぎりとられ、2次リソソームの作用により分解を受け

る。この円板膜は脂質タンパク質の二重膜構造を示し、膜タンパク質の 80% 以上がロドプシンで、残りが酵素タンパク質 (アデニル酸シクラーゼ, スクレオチドホスホジエステラーゼ, レチナル脱水素酵素など) と考えられている。

円板膜の主要タンパク質であるロドプシンは分子量は約 37,000 前後で、タンパク質特有の 275 nm の吸収以外に 498 nm に極大を有する幅広い吸収帯を示す。また、別に 340 nm にも弱い吸収帯を有している。ヒトの眼の微光に対する桿体の感受性を波長別に測定すると、このロドプシンの吸収スペクトルに一致するし、ヒトの眼の薄明感度はロドプシン含有量と比例的関係にある。これらの事実から、ロドプシンが薄明視の光受容色素であることを示している。

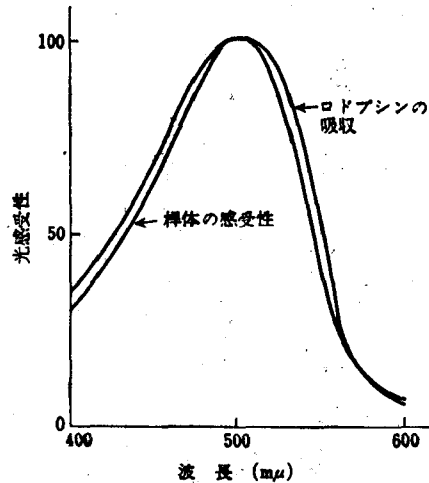


図 8.24 種々の波長における桿体の感受性とロドプシンの吸収との比較

ロドプシン (rhodopsin) は、オプシン (opsin) と呼ばれるタンパク質のリジン残基とレチナル (retinal) のアルデヒド基とが Schiff 塩を作り結合したものであるが、光とこの視物質との反応は Wald 一派によって明らかにされた。

視物質の発色団はレチナルであり、光と視物質との反応はレチナルを *cis* 型から *all-trans* 型に異性化することにあるとされている。ヒトの眼に  $10^{16}$  コに近いロドプシンがあるが、そのうちのロドプシンが光の吸収によりかかる変化を生じ、これらが膜興奮を起す現象は次のように考えられている。

ロドプシンが光退色すると円板から細胞膜に向かって何らかの伝達物質が放出され、細胞膜の hyperpolarization を起して膜電位の変化をひき起し、これが視神経細胞の末端部に到達して、視神経に伝達される。

レチナル/オプシン相互作用は不連続的に変化する。この過程は視物質が紅色から黄色、更に無色になるので退色過程と呼ばれている。生じた *all-trans* 型レチナルはオプシンと結合しえないので、哺乳動物ではロドプシンの Schiff 塩結合が加水分解されて、*all-trans* 型レチナルとオプシンが遊離することになる。ロドプシンが光退色をうけたのちに再生が起らなければ日常の視覚は成立し

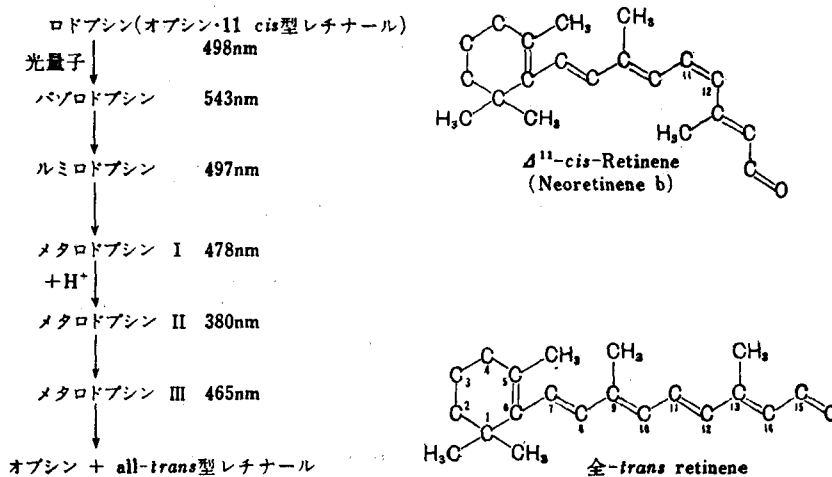


図 8.25 ロドプシンの光退色中間体

ないが、再生の過程は次のように大別されている。

- ① all-trans 型レチナールの 11-cis 型への逆行及び、オプシンとの結合
- ② 桿体膜の生成に伴う *de novo* 生合成

1876年 Boil により光退色後に網膜を暗処に放置すると、ロドプシンが再生する暗順応の現象が見出された。再生反応が暗順応の間に起こることから、all-trans レチナールの 11-cis レチナールへの異性化反応は光を必要とせず、酵素によると考えられた。しかし、暗順応では 11-cis ではなく 9-cis レチナールを生成することが判明した。その後、照射のもとで 11-cis レチナールに異性化するレチナールイソメラーゼの存在が確認されるに至った。しかし最近、その酵素的実体すら疑わしい結果が報告されており問題点が多い。

ついで桿体膜の生合成に伴うロドプシンの生成は、電子顕微鏡オートラジオグラフィーの研究により明らかになった。円板膜構造のロドプシンは外節基部で絶えず合成されている。カエルに放射性アミノ酸を注射すると約2時間で円板膜に放射能が現われ、40分に1枚の速さで作られ、約7週間で先端に達するという。円板膜にとり込まれた主要タンパク質がロドプシンであることは、放射性ロドプシンを抽出精製して確認されている。

円板膜の移動について興味があるのは、桿体外節膜の40%がリン脂質から成りたっていることである。ホスファチジルエタノールアミンとホスファチジルセリンがリン脂質の約80%を占めている。そのリン脂質に含まれる脂肪酸の大半が不飽和脂肪酸で、docosahexaenoic acid (22:6)の含量が高く、炭素数24-不飽和結合4の脂肪酸の存在をも報告されている。このように高度不飽和脂肪酸の含有量の高いことは桿体外節膜の流動性を説明する上に好都合である。

これらの高度不飽和脂肪酸は生体内では *de novo* 合成されず、linoleic acid (18:2 ω6), linolenic acid (18:3 ω3) がその前駆体であるが、Anderson らは興味ある実験を報告している。両脂肪酸を含め飼料で、シロネズミを生後から飼育し、L-<sup>3</sup>H-フェニルアラニン及びL-<sup>3</sup>H-ロイシンを注射して、オートラジオグラフィーで円板の放射能を時間とともに追求している(注射後1.3-8.10日)。

表 8-6 桿体外節膜のリン脂質組成 (%)

	ホスファチジル エタノールアミ ン	ホスファチジル コリン	ホスファチジル セリン	ホスファチジル イノシトール	スフィンゴミエ リン
ウシ	38.5~43.0	36.0~51.7	7.2~13.7	1.7~5.9	1.0~3.6
カエル	25.2~37.3	44.6~49.4	9.5~15.1	1.4~2.4	1.6~6.4
ネズミ	36.6	41.0	12.6	2.2	2.6

(F. J. M. Daemen; *Biochim. Biophys. Acta* 300, 255 (1973))

表 8-7 桿体外節膜の脂肪酸組成 (%)

	脂肪酸 (炭素数: 二重結合数)									
	<16	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	20:4	22:4-22:5	22:6	
ウシ	0.2~2.5	13.2~19.4	0.1~1.7	18.9~23.5	4.3~7.8	0.8~2.1	4.6~8.4	2.7~7.2	22.6~37.2	
カエル	1.3~13.8	13.0~19.3	3.9~4.5	8.6~18.3	4.5~7.0	0.8~3.4	1.2~3.6	5.6~7.8	15.9~37.1	
ネズミ	0.5	10.0	—	29.4	9.5	0.3	5.3	1.3	35.0	

(F. J. M. Daemen; *Biochim. Biophys. Acta* 300, 255 (1973))

正常食餌群では、放射能を示す円板が桿体基部から先端へと移動しているにもかかわらず、不飽和脂肪酸を含ませ食餌群では、新しい円板生成はほとんど認められず、高度不飽和脂肪酸の役割を強調している。

### 8-10 免疫抗体

生体は自己本来の成分以外のものを認識し、これを排除する機構をもっている。排除機構には自分の体成分と異なる物質 (抗原, antigen) に特異的に結合するタンパク質 (抗体, antibody) を合成して体液中に分泌する場合と、抗原に特異的な細胞反応として感作リンパ球を産生してこれが直接に抗原と結合して処理にあたる場合とがある。抗原には天然抗原としてタンパク性抗原 (酵素, 細菌毒素, ホルモンも含まれる), 脂質抗原 (Wassermann 反応の cardiolipin, 糖脂質), 多糖類抗原 (肺炎双球菌, 多糖類, 結核菌多糖体, 血液型物質), 核酸抗原, ウイルス性抗原などがある。人工抗原とはタンパク質を化学的に修飾したもので、抗原決定基の研究などに用いる。

抗体を合成し、分泌する細胞が形質細胞 (plasma cell) であることはほぼ認められており、産生された抗体は抗原の特定部位と特異的に結合しうる構造をもったタンパク質である。抗体は多様性であるが、その物理化学的性質や電気泳動の易移度の上からは血清  $\gamma$ -グロブリンに属し、2~10% の少量の糖質を含む1種の糖タンパク質である。そこで、抗体活性をもつタンパク質ということから免疫性グロブリン (immunoglobulin) と総称されている。大部分の動物には、数種類の免疫性グロブリンが存在するが、その種類は後述する H 鎖の構造の違いに基づいている。ヒトでは IgG, IgA, IgM のほかに IgD, IgE の微量成分を加えて5クラスに大別されている。

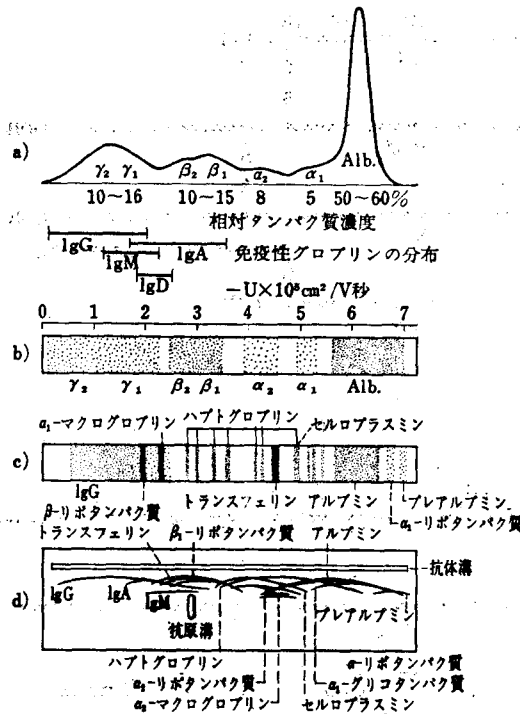


図 8-26 ヒト血清タンパク質の電気泳動易動度の分布

a) チゼリウス型電気泳動, b) 濾紙電気泳動, c) デンブングル電気泳動, d) 免疫電気泳動 (抗原溝 antigen well はヒト血清を, 抗体溝 antibody well は抗ヒト血清-ウサギ血清).

8.10.1 抗体の構造

哺乳動物の正常血清に最も多く含まれ(免疫グロブリンの75%), また抗原刺激により多量に産出されるのが IgG クラスのものである。そこでこれについて抗体の基本構造を述べてみる。IgG は(約 1.2 g/dl) 分子量が 150,000~160,000 で、糖の含有量は免疫性グロブリンのうちでは最も低くて、2~2.8% である。この IgG 分子は、おのおの相同の2本の heavy chain (H 鎖, 分子量 50,000) と2本の light chain (L 鎖, 分子量 23,000) の4本のポリペプチド鎖より構成されている。各ポリペプチド鎖はそれぞれ単離が可能で、化学構造や生物学的諸性質も良く知られている。

構成ポリペプチドの H, L 鎖の分離は、まず H 鎖と L 鎖、H-H 鎖間の S-S 結合をメルカプトエタノールなどの還元剤により切断し、遊離の SH 基をアルキル化によりブロックする。ついで鎖間の非共有結合を切るためにプロピオン酸を用いて H 鎖、L 鎖を解離させると、構成成分の H 鎖、L 鎖を分解することができる。ウサギの IgG では、H 鎖 75%、L 鎖 25% の割合である。IgG の H 鎖と L 鎖の間には1コの S-S 結合があり、H 鎖間の S-S 結合は動物種により一定しない。

L 鎖は抗原性の差異によって K 鎖と λ 鎖の2型に分けられ、それぞれアミノ酸配列も異なっている。H 鎖も免疫グロブリンによって、抗原特異性をもっているため、IgG、IgA、IgM、IgD、IgE、

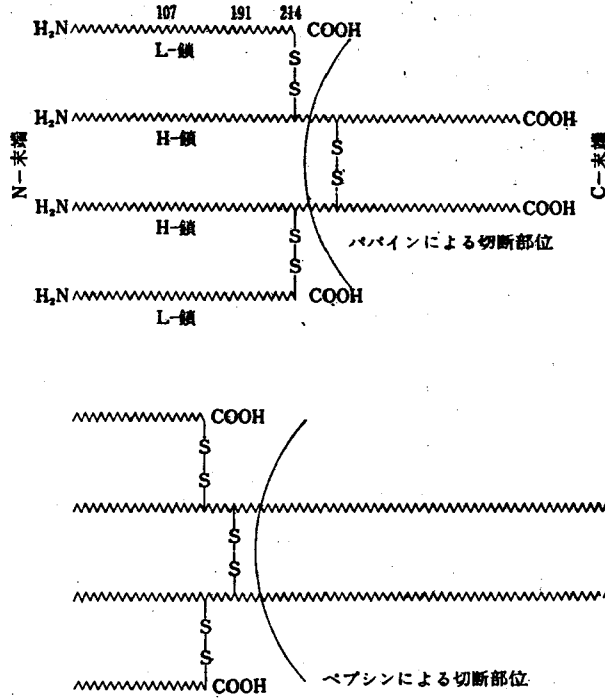


図 8-27 IgG の構造とパパイン、ペプシンによる切断部位

の H 鎖はそれぞれ  $\gamma$  鎖,  $\alpha$  鎖,  $\mu$  鎖,  $\delta$  鎖,  $\epsilon$  鎖と名づけられている。したがって、例えば IgG においては抗原性から,  $K_2\gamma_2, \lambda_2\gamma_2$  が存在することになる。

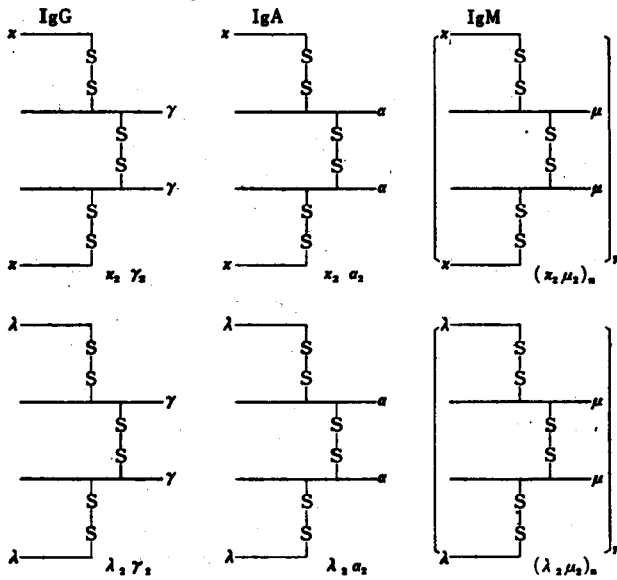


図 8-28 免疫グロブリンの分類

抗体構造の研究は、1940年頃にウマのジフテリア抗毒素をペプシンやトリプシンで分解して得られたフラグメントが、なお抗毒素活性をもっていることを見出したことに始まる。これが抗体の構造上、機能上の基本単位の研究の緒となった。Porter はウサギの IgG をシステインを含むリン酸緩衝液中でパインで分解させ、CM・セルロースカラムを用いて、3画分のフラグメントを得ることを報告した。これは現在の  $F_{AB}$  フラグメント2コと  $F_C$  フラグメント1コに相当するものである。

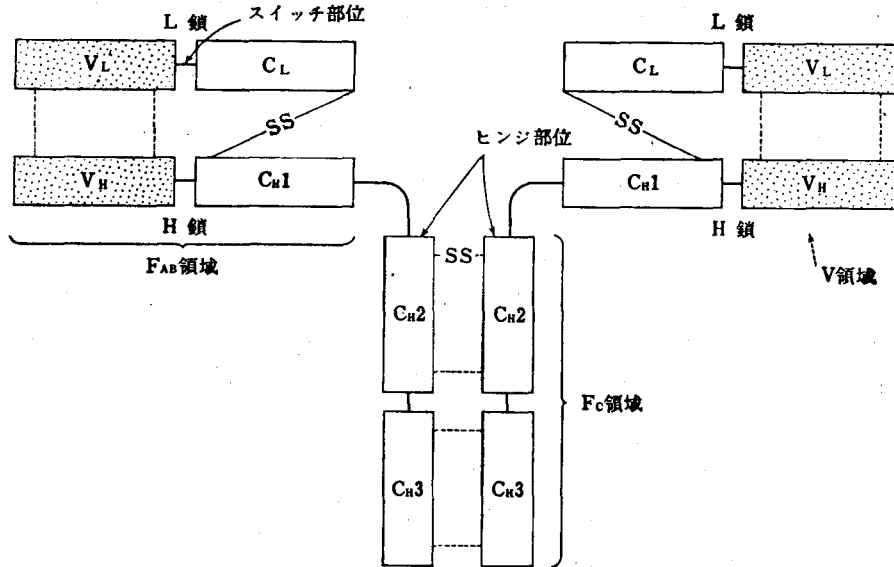


図 8.29 IgG 分子の基本構造

(中村弘：蛋白質核酸酵素 Vol. 19 (10), 71, 1974 より)

IgG の抗体分子のなかで2コの  $F_{AB}$  と1コの  $F_C$  とを連結している部は、ヒンジ部 (hinge region) と呼ばれ、ここに H 鎖間を結ぶ S-S 結合が存在している。抗体が抗原を結合する部位は  $F_{AB}$  フラグメントのみであり、 $F_C$  には存在せず抗体としての生物活性を有しない。IgG 分子が  $(F_{AB})_2F_C$  という構成であるということは、IgG 抗体が2コの抗原結合部位を有する2価抗体であるという点からも証明される。これに対して、補体との結合、皮膚感作などは、 $F_C$  の構造に依存することが確かめられている。抗体分子の立体構造として1コの  $F_C$  部分に2コの  $F_{AB}$  部分が Y 型に結合したモデルが Noelkan らによって提案されている。

多発性骨髄腫 (multiple myeloma) の患者の尿中にみられる Bence-Jones タンパク質が抗体類似のタンパクであることから、1次構造が決定されてこれが IgG の L 鎖に由来することがわかった。この患者の尿から L 鎖が多量にかつ純粋に分解されうることになり、L 鎖のアミノ酸組成の研究に著しく貢献をした。N 末端から半分くらいまでペプチド部分のアミノ酸配列が各コの Bence-Jones タンパク質で高い頻度で異なり、これに反して C 末端から半分までのアミノ酸配列には差異のないことがわかった。前者を V-region (variable region)、後者を C-region (constant region) と呼んでいる。これらのことから IgG は少しずつアミノ酸組成に差がある分子の混合物とも考えられ、これ

が抗体活性の多様性を示す説明となっている。

IgM 抗体は分子量 930,000 で、沈降定数が 18~19S であり、血清中には約 125 mg/dl 含まれている。分子構造は、分子量 185,000 のサブユニット 5 コが各 1 本の S-S 結合で連結された環状の 5 量体と考えられている。IgG 抗体を沈降定数より 7S 抗体と呼ぶのに対して、IgM は 19S 抗体とも呼ばれる。同種血球凝集素、寒冷凝集素、リウマチ因子、ワッセルマン抗体、抗体性溶血性貧血の抗体などを含んでいる。IgM 抗体は抗原刺激に対して、短時間のうちに産生されるが、抗体価の下降も早い。このように IgM は IgG 抗体に比して産生量も少なく、一過性ではあるが凝集反応や溶血反応は強く、初期防御作用として効果が大きいものと考えられる。

IgA 抗体は正常血清中には 210 mg/dl の濃度で含まれ、IgG に比すれば低いが、IgM よりも高い。沈降定数 6.9S で、分子量は 170,000 である。糖含有量は約 10% で IgG の数倍に及んでいる。種々の分泌液では IgA が免疫性グロブリンの主成分を占めており、粘膜保護のために重要な機能を果たしているものと考えられる。耳下腺の唾液、涙、鼻粘膜や気管枝の分泌液中に存在し、初乳中では特に含有量が高く 151 mg/dl にも及んでいる。

IgD 抗体はミエローマ・タンパクとして見出されたものであるが、血清中の量は約 3 mg/dl にしかすぎない。沈降定数は 6.2~6.5S で、分子量は約 170,000 である。糖含量は 11.3% と高い。補体結合能もなく、生体内の機能は明らかでない点が多い。

IgE 抗体は綿実・花粉などに対するアレルギー患者の皮膚感作体、すなわちレアギン (reagin) の抗体として見出されたものである。

### 8.10.2 抗体産生機序

外界から自己と異なる抗原性をもつ抗原が入ってくると、ある種の細胞(例えばマクロファージ)にとり込まれ、より有効な形の抗原となるように化学的な修飾をうける。

この処理をうけた抗原が免疫担当細胞 (immunocompetent cell; 胸腺由来のリンパ球である T 細胞と骨髄由来の抗体産生前駆細胞 B 細胞とがある) にわたされる。ついでこの免疫担当細胞の分化分裂が起り、感作リンパ球の出現をみたり、抗体産生細胞 (antibody-forming cell) へと移行する。実際に抗体の合成を行う細胞は、リンパ系の成熟形質細胞であることが知られている。

免疫担当細胞には明らかに機能を異にする細胞が存在している。胸腺由来細胞 (thymus derived cell, T 細胞) と骨髄由来細胞 (bone marrow-derived cell, B 細胞) がある。T 細胞は遅延型過敏症、移植免疫に関与するとともに、体液性抗体産生では抗原と反応して抗体産生前駆細胞が抗体産生細胞に分化をとげる際の補助細胞として働く。B 細胞は抗体産生前駆細胞であり、抗原刺激によって抗体産生細胞に分化をとげる。したがって胸腺依存型抗体産生には T 細胞と B 細胞が共にあたり、胸腺非依性の抗体産生には B 細胞が、感作リンパ球の出現には T 細胞があたると考えられている。

生成される抗体がタンパク質である以上、その生合成は一般のタンパク質の合成と異なるところはない。しかし、抗原の刺激により抗体の生成が起り、その合成された抗体はその抗原とのみ特異的に反応する。抗原認識機構について多くの知見が報告されている。



## 8-10-3 自己免疫疾患

生体は一般に自己の成分に対しては抗体を作らないようにしているが、この原則に反して生体が自己の構成成分に対して免疫反応を示すことが臨床的にしばしば証明されている。かかる一群の疾患を自己免疫疾患 (autoimmune disease) と呼んでいる。かかる現象の要因として考えられるものとして、以下のものがあげられる。

- ① 抗原が変性又は修飾をうけて自己抗原性をもつ場合
- ② 交叉反応に基づく場合
- ③ 生体成分が胎生期に存在せず、生後分化発生したために免疫担当者と接触できなかった抗原の場合
- ④ 抗体産生機構そのものの異常

自己免疫疾患として全身性の結合織や血管系を中心に広く病気のおきる全身性紅斑性狼瘡 (SLE)、慢性関節リウマチなどの膠原病 (collagen disease) と、特定の臓器組織に対する局在性の疾患 (橋本病、後天性溶血性貧血) や溶連菌感染やある種のウイルス感染の折にみられる一過性のものなどがある。

**全身性紅斑性狼瘡 (systemic lupus erythematosus, SLE)**

発熱、特徴的な発疹、関節痛、腎炎などを主症状として全身の臓器組織がおかされてくる重篤な疾患である。SLE では赤血球、白血球、血小板、 $\gamma$ -グロブリンなどの多くの体成分に対する抗体が出現する。特徴的なことは核及びその構成成分に対するものである。患者の骨髄や末梢血をとりこれに処置を加えると、中性嗜好性顆粒白血球が無構造の LE 体と呼ばれる封入体を取り込んでおり、核が辺縁部に圧迫されている特有の像がみられる (LE 細胞)。これは患者血清中に存在する抗核体 (LE 因子) が細胞の核に作用し、核の崩壊を起して LE 体となり、食食されやすくなって、他の正常な多核白血球にとり込まれたためである。

**慢性関節リウマチ (rheumatoid arthritis)**

この疾患の免疫学的病像のうちで特徴的なことは、患者血清中には抗 IgG 抗体活性を示すリウマチ因子 (rheumatoid factor, RF) の出現することである。

**橋本病**

著明な症状を示さずして甲状腺の機能低下があり、硬いびまん性の甲状腺肥大が認められる。患者血清中には甲状腺の構成成分に対する自己抗体が高率に証明される。抗原としてはチログロブリン、甲状腺ミクロソームやコロイド中で CA-2 抗原などがあり、自己抗体は 7S IgG が主体である。

## 8・11 血液凝固

血液壁に破損がおきると、血液がその場所で凝固 (coagulation) を起し、それ以上の出血を防ぐ。この止血 (hemostasis) の機序は血液の凝固と血管の収縮とによる。血液凝固の機序は極めて複雑で、血中の不活性因子が活性化をうけ、次から次へと段階的に反応が進んでいく。しかし、その凝固の中心過程は血漿中の可溶タンパクであるフィブリノーゲン (fibrinogen) がトロンビン (thrombin) の作用で、不溶性のフィブリン (fibrin) に変化するすることにある。

血液凝固の過程に関係している因子は、表 8・8 に記載した I から XIII までの 12 因子 (VI 因子

表 8・8 血液凝固因子番号命名法

因子	名 称	凝 固 異 常 症
I	Fibrinogen	無フィブリノーゲン症
II	Prothrombin	低フィブリノーゲン症
III	Thromboplastin	
IV	Calcium	
V	不安定因子 proaccelerin, accelerator (Ac-) globulin	先天性バラ血友病
VII	Proconvertin, 血清 prothrombin conversion accelerator (SPCA), cothromboplastin, autoprothrombin	安定因子欠乏症(ジクマロール処置, ビタミン K 欠乏, 肝疾患)
VIII	Antihemophilic 因子, Antihemophilic globulin (AHG)	血友病 A
IX	血漿 thromboplastin component (PTC) (Christmas 因子)	血友病 B
X	Stuart-Power 因子	ジクマロール処置, ビタミン K 欠乏, 肝疾患, 先天性欠乏症
XI	血漿 thromboplastin antecedent (PTA)	血友病 C (PTA 欠乏症)
XII	Hageman 因子	先天性欠乏症 (Hageman 形質)
XIII	Laki-Lorand 因子 (LLF) (フィブリナーゼ, 血漿トランスグルタミナーゼ)	

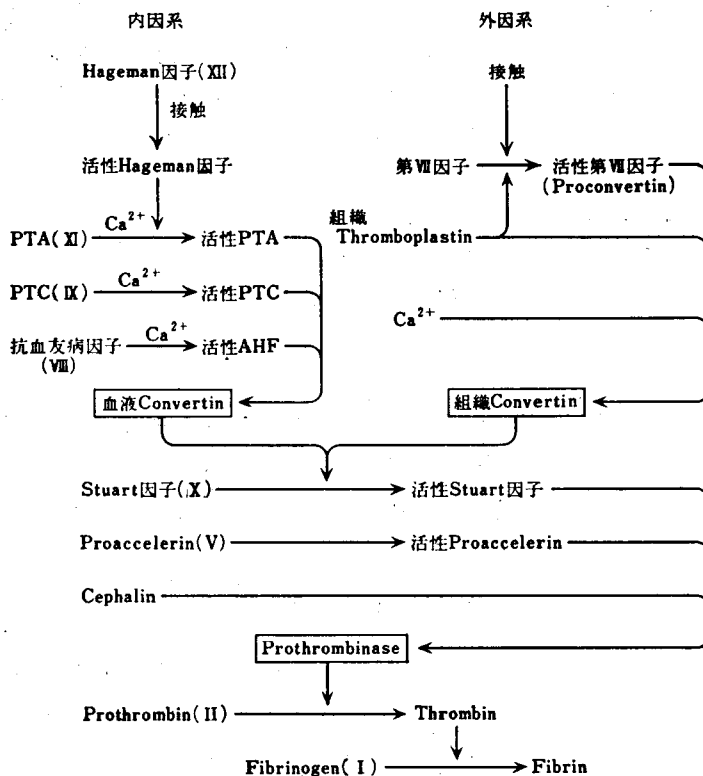


図 8・30 凝固の始動に関する外因及び内因系

削除)がある。これらが凝固の始動にあたり、段階的に活性化をうけていく順序を図8・30に示した。

内因系とは血漿中に存在しており、血管外組織から凝固因子の関与なくして凝固がおきる過程である。この内因性機序では、血管内膜以外の組織や異物面と接触した第 XII 因子は、活性 XII 因子となり、非活性 XI 因子を活性化す。更に第 IX, VIII, X 因子と活性化がつづき、最後に第 II 因子の prothrombin が活性化されて thrombin となる。外因系の凝固過程は、組織傷害により遊離した組織因子によって開始されるものである。いずれにもせよ、これらの凝固過程は各段階における非活性型の proenzyme から活性型 enzyme の転化に他ならず、非活性型が基質で、活性型が酵素作用を発現することになる。临床上に報告されている種々の凝固異常は各反応段階の因子の欠損、減少によるものと考えられている。

### 8-11-1 Fibrinogen から fibrin の生成

フィブリノーゲン (fibrinogen) はヒトの血漿中に 100 ml あたり 250~350 mg 含まれており、主に肝の実質細胞で合成されている。フィブリノーゲンの分子は図 8-31 に示すような直線上に三つのふしを並べたような構造で、分子量は 330,000~400,000 である。3本のポリペプチド鎖  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  よりなる。分子内の S-S 結合を切断すると分子量は 1/6 の約 58,000 となり、1本のポリペプチド鎖がそれぞれ 1対ずつ計 3コ存在すれば良い計算となる。したがって 3コのポリペプチド鎖をもつ 2 量体と考えられる。各鎖はいずれも 3% の糖(マンノース, ガラクトース, グリコサミンなど)を含んでいる。トロンピンによるフィブリン生成にあたり  $\gamma$  鎖は構造変化をうけないが、 $\alpha$ ,  $\beta$  鎖は特有の限定分解をうける。 $\alpha$ ,  $\beta$  鎖からはトロンピンによりフィブリノーゲン A, B をそれぞれの N 末端から遊離することが知られている。A は  $\alpha$  鎖の N 末端側の Arg<sup>16</sup>-Gly<sup>17</sup> のところで、B は Arg<sup>16</sup>-Gly<sup>18</sup> のところで限定分解をうけたものである。

トロンピンにより限定分解をうけて生じたフィブリン分子は、その両端で end to end に延長し、更に 2本が side to side に会合して重合化を起すものとされている。この重合したポリマーは更に凝集して、フィブリン網を作りながら、ゲル化を起す。ゲル化したフィブリンは Ca<sup>2+</sup> の存在下に第 XIII 因子 (Laki-Lorand 因子) により不溶性フィブリンに変化するが、この際に  $\beta$  鎖が安定化フィブリンの形成に重要な役割をはたす。第 XIII 因子はシステインや Ca<sup>2+</sup> の共存でフィブリンのグルタミン残基の  $\gamma$ -酸アミドを活性化して、NH<sub>2</sub> を遊離させてリジン残基の  $\epsilon$ -アミノ基へ転位させ、イソペプチド結合を形成する働きをもっている。したがって、第 XIII 因子はフィブリナーゼとかトランスグルタミナーゼとも呼ばれるこのイソペプチド結合は、フィブリン 1モルあたり 1.2~2.8 モル形成するが、このような cross linkage は恐らく  $\gamma$ - $\gamma$  鎖間に生ずるものと推測され、これがフィブ

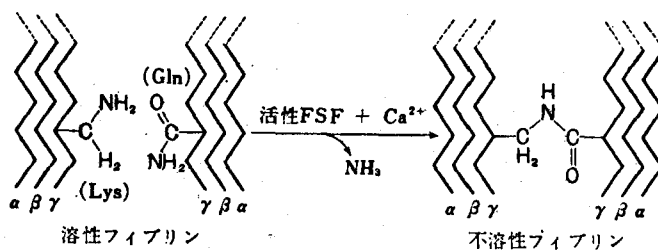


図 8-31 不溶性フィブリンの生成

リングルを強固に安定化するのに役立つものとされている。

8.11.2 トロンピン (thrombin)

血中では不活性のプロトロンピンとして存在し、止血反応の過程で第 V 因子やリン脂質、Ca<sup>2+</sup>、第 X 因子によって活性化を受ける。トロンピンはフィブリノーゲンの α, β 鎖の Arg-Gly 結合を特異的に水解し、フィブリノペプチド A と B を N 末端側から遊離させて、フィブリンを生成する酵素である。プロトロンピンは 10% の糖を含む分子量 66,000~70,500 の 1 本鎖のポリペプチドであり、総アミノ酸残基は約 560 である (ウシプロトロンピン, Magnusson)。トロンピンはプロトロンピンの約半分の分子量 (約 34,000) であるが、両者は 2 量体の関係ではなくて、トロンピンはプロトロンピンの C 末端に存在しており、314 のアミノ酸残基に相当していることがほぼ明らかとなった。トロンピンの構造は A 鎖 (49 残基)、B 鎖 (265 残基) よりなるが活性中心は B 鎖側にあり、トリプシンやキモトリプシンなどのセリンプロテイナーゼに類似したアミノ酸配列を示しているという。

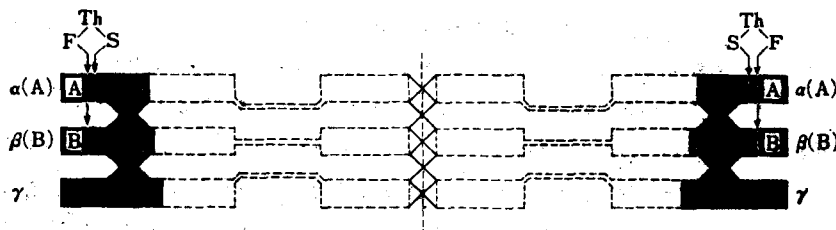
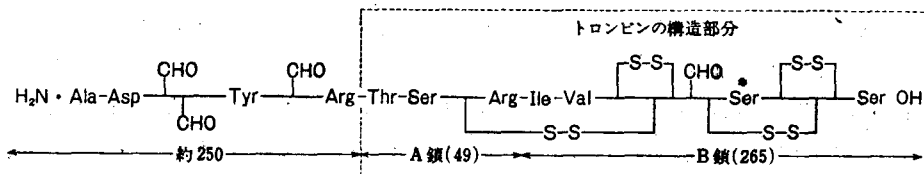


図 8.32 ヒトフィブリノーゲンの分子モデル

ヒトフィブリノペプチド並びにフィブリンの N 末端近傍の構造矢印はトロンピンの水解位置を示す。



CHO は Sialyl-Gal-Man-glucosaminyl 残基。\* は活性セリン残基を示す。

図 8.33 ウシプロトロンピンの部分 1 次構造

CHO は sialy-Gal-Man-glucosaminyl 残基。\* は DIP 化される活性セリン残基。

8.11.3 血栓とフィブリンの溶解

血栓は血管内凝固であるが、血小板と血管壁との相互関係が血栓形成の初期現象として注目されるに至った。血小板は骨髓巨核球由来の細胞であり、細胞外膜には酸性多糖類が多く、シアル酸由来の陰性荷電を有し、これが凝集、粘着力と関係が深く、血栓の形成に働くと考えられている。その他に血管収縮因子(セロトニン)の遊離や血小板外膜には、第 XII, XI, V 因子などの凝固因子も含んでおり、これらが血管壁の粘着、凝固から、fibrin 形成にまで重要な役割をはたすものと思われる。

血液は凝固する機構をもっている反面、生じた凝固血塊を溶解する機構をも有している。血中のプ

ラスミン (plasmin, fibrinolysin) とよばれるタンパク分解酵素の働きによるもので、正常では不活性型のプラスミノゲン (plasminogen, profibrinolysin) として存在している。

プラスミノゲンの分子量は約 130,000 で、活性因子の一つに多くの組織や血漿中に見出される fibrinokinase (fibrinolysokinase) があり、尿中にも活性化因子の urokinase とよばれているものが見出されている。また単に plasminogen をクロロホルムで振りまぜた操作のみでも活性化をうける。

プラスミンは血栓が融解する酵素と考えられており、血栓症のうえに極めて重要なものであろう。

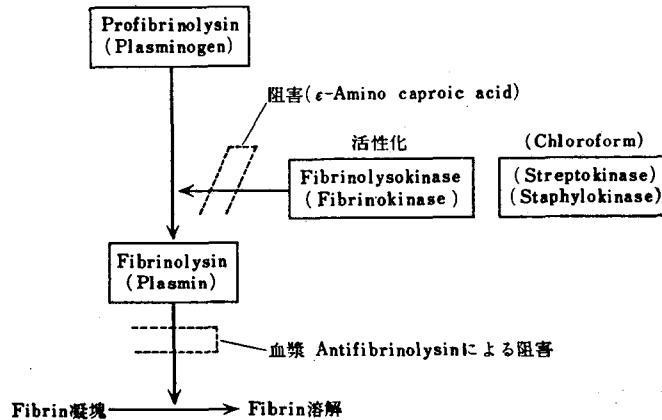


図 8-34 Fibrin 溶解系

## 8.12 ホルモン

ホルモン (hormone) は内分泌臓器によって生産された化学物質で直ちに血行を通じて標的臓器 (target organ) に運ばれ、代謝過程を触媒し調節する働きをもっている。ホルモンは生体内の代謝を調節してその機能を正常に維持するために、酵素とともに欠くことのできないものである。ホルモンの生理的半減期は比較的短いとされており、生理的機能を正常に維持するためには、ホルモンは絶えず合成分泌されねばならず、その作用効果を速やかに発現したのちは不活性化されなければならない。したがってホルモンの合成、分泌、作用、代謝過程を明らかにすることは、生体内の代謝調節と制御現象を理解するうえで重要である。

ホルモンの種類は、化学構造の上からはタンパク質、ポリペプチド系、アミノ酸からの誘導体とステロイド系に大別される。

### 8.12.1 ホルモンの作用機構

ホルモンの作用は直接的に立証され難い点もあるが、一般的な機構として次のような可能性が考えられている。

#### 1) 細胞核レベル

多くのホルモン、特にステロイド系ホルモンは直接に標的細胞の細胞核で RNA の合成を促進し、特定の酵素の生合成を増加させる。Karlson (1965) が昆虫ホルモンである ecdyson (前胸腺ホルモン)

を昆虫に投与すると、唾液染色体に puffing が起ることを見出した。これはバフに相当する部分で、DNA が部分的にほぐれ、順序立った RNA 合成が促進されているためである。ホルモンが直接に核のクロマチンに働き遺伝子の情報発現を変化させたものと考えられる。

同様の作用機構はグルココルチコイドが肝のグリコーゲンを増加させる作用や、ヒキガエルの膀胱膜に対してアンドロゲンがナトリウム透過を増加させる作用などにおいても考えられる。また、ホルモン投与による酵素活性の増加がアクチノマイシン D のような RNA 合成の特異的阻害剤で阻止できることは、ホルモンによる酵素活性の増加が RNA を介しておきていることを示している。ホルモンが DNA に直接的に作用するよりも repressor タンパクと結合して特定の遺伝子を depress する考えた方が良いかもしれない。

## 2) Ribosome レベル

生長ホルモンの投与をうけた動物から分離したリボソームは、正常の mRNA 存在下のタンパク合成能と比較して変っている。リボソームの酵素タンパクの合成にあずかる機構にもホルモンが作用している。

## 3) 酵素自身の活性化

分離した組織をある種のホルモンで処理すると酵素活性が変化し、しかもその際に酵素タンパク質の合成がみられないことがある。

## 4) 細胞膜に対する作用

ホルモンが細胞膜の透過性を高め、酵素の活性を増強させる。このほかに化学的メッセンジャーとして、直接細胞膜に作用して細胞内の一定の酵素系に必要な基質、イオン、無機物などの輸送に特異的に作用することがある。

## 5) Cyclic AMP とホルモン作用

Cyclic AMP (cyclic 3', 5'-AMP) がホルモンから酵素反応への second messenger となり、細胞内の酵素系に働きかけて細胞の機能を調節する。この際に、ホルモンは cyclic AMP の合成を抑制

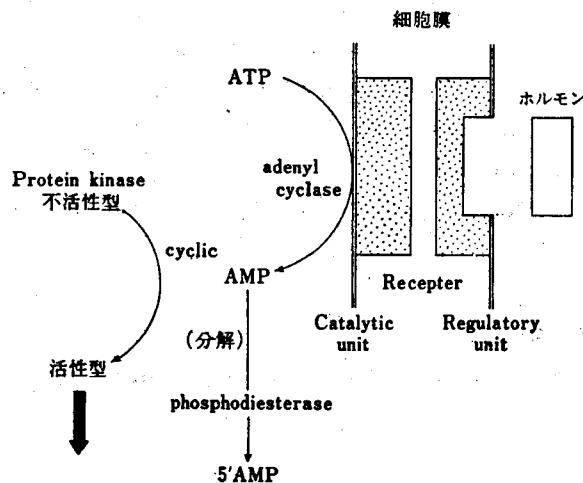


図 8-35

又は促進するものと考えられる。

現在、TRH, LH-RH, ACTH, TSH, LH, FSH, MSH, FTH, グルカゴンなどのペプチドホルモンは cyclic AMP を細胞内酵素系への second messenger として作用するとされている。したがって標的細胞の細胞膜にはホルモン受容体 (hormone receptor) が存在するものとされている。この受容体はホルモンを認識して特異的に結合し (regulatory subunit), その結果なんらかの構造、機能上の変化を起し、それにより細胞膜に局在している catalytic subunit (adenyl cyclase) を活性化して、ATP から cyclic AMP を生成し、細胞内部にホルモンによる情報を伝えて生理作用を発現させる。ペプチドホルモンの多くは受容体を細胞膜表面に持っているが、ステロイドホルモンの受容体は細胞内にあると考えられている。近年、cyclic AMP につぐ cyclic nucleotide として cyclic GMP の意義が注目されている (図 8-35)。

ホルモン作用の伝達物質として cyclic AMP の他にプロスタグランジンがある。本物質は多くの組織に存在が知られ、生体に対する生理効果も多様である。プロスタグランジンは cyclic AMP の合成阻害に働くと仮定すると説明しやすくなる。

### 8-12-2 ホルモンの各論

ホルモンをその化学構造からみると、

- ① アミノ酸から誘導されるホルモン
- ② ペプチドあるいはタンパク質ホルモン
- ③ ステロイドホルモン

の3群に分けることができる。

### 8-12-3 脳下垂体前葉

#### 1) 生長ホルモン (somatotropin, STH)

小腸でカルシウムの吸収を増加させ、長管骨骨端部及び軟部組織の発育を促進する。また動物のタンパク合成全体を促進して窒素、リン酸などの貯留をひき起す。解糖を抑制しアミノ酸からの糖新生をもひき起し、脂肪組織の分解、肝では遊離脂肪酸の酸化を盛んにする。生長ホルモンはヒトでは分子量 21,500 (アミノ酸 188) の直鎖状構造で動物により構造が異なり、ウジでは分岐のある Y 字型構造を有している。生長ホルモンの分泌を促進又は抑制する視床下部ホルモンが GRH (GIH) である。

#### 2) 甲状腺刺激ホルモン (thyroid-stimulating hormone, TSH)

甲状腺の発育及びその機能の促進をきたす。チオグロビンの分解を増し、また無機ヨウ素の有機化を起す。In vitro の現象として、グルコースの酸化過程の促進があることが特有である。TSH の分泌を調節する視床下部ホルモンが TRH (TIH) である。

#### 3) 性腺刺激ホルモン (gonadotropic hormone)

これには卵泡刺激ホルモン (follicle stimulating hormone, FSH), 黄体形成あるいは間質細胞刺激ホルモン (luteinizing hormone, LH or interstitial cell stimulating hormone, ICSH), ルテオトロピン (luteotropic hormone LTH, prolactin, PL) とがあり、ゴナドトロピン (gonadotropin) とも総称される。これらのホルモンの分泌を促す視床下部ホルモンがそれぞれ FRH, LRH, PRH である。

表 8.9 (その1)

器管とホルモン	作用部位	主要な作用	構成成分
脳下垂体前葉 卵巣刺激ホルモン (FSH)	卵巣	卵巣細胞の発育促進エストロゲンの分泌及び排卵 細精管の発達, 精子形成	糖タンパク質
黄体形成, 間質細胞刺激ホルモン (LH, ICSH)	卵巣	黄体形成, プロゲステロン分泌 間質細胞の発達, アンドロゲンの分泌	糖タンパク質
甲状腺刺激ホルモン (TSH)	甲状腺	甲状腺ホルモンの合成分泌の促進	糖タンパク質
ルテオトロピン (LTH)	乳房	乳腺増殖と乳汁分泌開始 黄体の最終的発達	単純タンパク質
生長ホルモン (STH)	全身	生長促進	単純タンパク質 (アミノ酸 190 分子)
副腎皮質刺激ホルモン (ACTH)	副腎皮質	副腎皮質ホルモンの合成分泌の促進	アミノ酸 39 分子
脳下垂体中葉 色素細胞刺激ホルモン (MSH)	メラニン色素細胞	色素細胞の刺激	アミノ酸 13 分子
脳下垂体後葉 オキシトシン バソプレシン	平滑筋 細動脈 腎尿管	子宮収縮 血圧上昇 水分再吸収	アミノ酸 8 分子 アミノ酸 8 分子
視床下部 —RF 又は —RH	脳下垂体前葉	前葉ホルモンの合成分泌の調節	ペプチド
松果腺 メラトニン	メラニン色素細胞 性腺	色素の集合(カエル) 性腺機能の調節(哺乳類)	5-メトキシ-N-アセチルトリプタミン
甲状腺 チロキシン ( $T_4$ , $T_3$ ) カルシトニン	甲状腺 骨格	組織の代謝率と酸素消費 カルシウム代謝	γ-アミノ酸 アミノ酸 32 分子
上皮小体 副甲状腺ホルモン	骨格	カルシウム代謝	アミノ酸 84 分子
膵臓 インシュリン グルカゴン	全身 肝臓 脂肪組織	糖質の利用, 脂質生成, 血糖低下 グリコーゲン分解, 血糖上昇 脂質の放出	アミノ酸 48 分子 アミノ酸 29 分子
睾丸 テストステロン	付随性器 全身	成熟と正常機能 第2次性徴発現	ステロイド

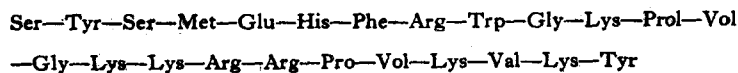


表 8・9 (その2)

器管とホルモン	作用部位	主要な作用	構成成分
精囊(腺)その他 プロスタグランジン	平滑筋, 血管脂肪組織	血圧, 平滑筋, 脂肪代謝	不飽和脂肪酸
卵巣 エストロンと エストラジオール	付 属 性 器 乳 腺 身	成熟と正常周期機能 管系の生長 第2次性徴発現	ステロイド
黄体 プロゲステロン	子宮 乳 腺	卵子の着床準備, 妊娠の維持 胞状系の発育	ステロイド
胎盤 プロゲステロン エストロゲン		卵巣ホルモンと同じ 黄体ホルモンと同じ	ステロイド
副腎皮質 副腎皮質ホルモン アルドステロン コルチコステロン コルチゾール	全 身	電解質, 水分代謝 タンパク質, 糖質, 脂質代謝  循環系と血管系の恒常性の維持, 炎症, 感染に対する抵抗	ステロイド
副腎髄質 エピネフリン  ノルエピネフリン	心筋・平滑筋 肝 筋 脂肪組織 細動脈 脂肪組織	平滑筋の収縮, 血圧 グリコーゲン分解 脂質の放出 収縮, 末梢抵抗増加 脂質の放出	カテコールアミン
消化器系 ガストリン セクレチン パンクレオチミン コレシストキニン	胃  膵 腺 膵 腺 胆 嚢	酸の分泌 膵液の分泌 消化酵素の分泌 収縮と内容排出	17 コのアミノ酸 27 コのアミノ酸 33 コのアミノ酸 33 コのアミノ酸

## 4) 副腎皮質刺激ホルモン (adrenocorticotropic hormone, ACTH)

副腎皮質ホルモンの合成を促進させるのみならず, その分泌をも増加させる。ウシ, ヒツジ, ウマ, ブタなどの ACTH は N 末端から数え 23 コのアミノ酸が共通である。ヒトにおいても同様で, この 23 コのペプチド部分が生物活性の発現に必要であり, 残りの部は生物活性を有しないアミノ酸配列で, 動物の種類によって異なっている。



ACTH の分泌を促進する視床下部からのホルモンは CRH (CIH) である。

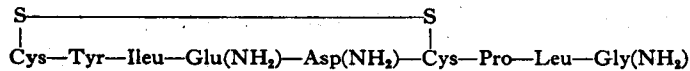
## 8.12.4 脳下垂体中葉

中葉のホルモンは、初めカエルやオタマジャクシの下等脊椎動物に投与すると、色素細胞内のメラニン顆粒が細胞内に拡散し、皮膚の暗色化を起すことより発見されたものである。したがって melanocyte-stimulating hormone (MSH) とよばれる。MSH には  $\alpha$ ,  $\beta$  の2型がある。 $\alpha$ -MSH は13コまで ACTH と同配列である。 $\beta$ -MSH は動物の種類により異なり、ヒトでは22コのアミノ酸配列とも共通である。したがって ACTH にも弱いながらも MSH 活性がある。

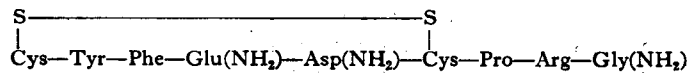
## 8.12.5 脳下垂体後葉

少なくとも二つの活性ペプチドがあり、子宮収縮性因子であるオキシトシン (oxytocin) と昇圧性、抗利尿因子であるバソプレシン (vasopressin) とからなる。両者とも視床下部の室旁核の視索上神経細胞で作られ、下垂体漏斗内の軸索を通過して後葉に運ばれて下垂体中に貯えられている。

オキシトシンは8コのアミノ酸をもつ環状ペプチドで、分子量は約1,000である。Du Vigneaud らにより化学構造が決定し、ペプチドホルモンのうちで最初に構造が明らかになったもので合成にも成功した。後葉の子宮収縮ホルモンの主たるもので、産科的にも子宮収縮剤として広く用いられている。



バソプレシンの構造はオキシトシンのそれと非常に良く似ている。その差はアミノ酸が二つ違うだけである。Isoleucine が phenylalanine になっていることと、leucine が lysine に (ブタ, lysine vasopressin) また arginine に (ウシ及び他の動物, arginine vasopressin) 置換している。このホルモンは末梢血管を収縮させて血圧を上昇させる作用と、抗利尿作用とを有している。抗利尿作用とは腎臓の尿細管に作用して一過性の水の再吸収を起させるものである。したがって、このホルモンは抗利尿ホルモン (antidiuretic hormone, ADH) とよばれる。これが不足すると diabetes insipidus が起り1日30lにも及ぶ尿の排出をみることもある。



## 8.12.6 視床下部

視床下部が脳下垂体前葉からのホルモンの放出を調節していることは古くから知られていた。下垂体は基部により視床下部の正中隆起に直接につながっている。神経連絡はなく、特殊な下垂体門脈系が存在している。視床下部の室旁核と視索上核からの神経末端が基部にある下垂体門脈系の血管叢に、ある化学物質を放出し(前葉ホルモン放出因子)、血行を介して前葉に至る。そこで血管は再び血管叢を形成してその物質を前葉に与える。この視床下部で作られた物質は視床下部ホルモン (hypothalamic hormone) と前葉ホルモン放出因子 (hypothalamic releasing factor) とも呼ばれる。前葉のホルモンにそれぞれ対応して放出因子が存在し、前葉ホルモンの分泌を調節している。

いずれも量的にはわずかであるが、現在知られている限りでは構造は比較的少数のアミノ酸からな

るペプチドである。

Corticotropin (ACTH)-releasing hormone (factor) CRH or CRF

Thyrotropin (TSH)-releasing hormone (factor) TRH or TRF

Luteinizing hormone (LH)-releasing hormone (factor) LRH or LRF

Follicle-stimulating hormone (FSH)-releasing hormone (factor) FRH or FRF

Growth hormone (GH)-releasing hormone (factor) GRH or GRF

Melanocyte stimulating hormone (MSH)-releasing hormone (factor) MRH or MRF

Prolactin releasing hormone (factor) PRH or PRF

### 1) Thyrotropin releasing hormone (TRH)

TSH の分泌合成を刺激するもので、化学構造が判明した最初の下垂体視床下部ホルモンである。1966年 Schally らはブタの視床下部組織から精製し、ヒスチジン、プロリン、グルタミン酸の三つのアミノ酸からなることを報告し、1969年に Schally や Guillemin らが、ブタ、ヒツジの TRH は単純なペプチドではなく pyroglutamylhistidyl-prolinamide であることを報告した。また合成したものが強力な TRH の作用のあることや、質量分析、核磁気共鳴、赤外線分光分析などでも天然と合成の両者に差異はなく、天然の TRH がこの構造を有している可能性が大きくなった。

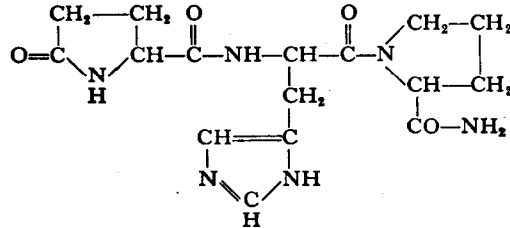


図 8.36 TRH の構造

Pyroglutamyl-histidyl-proline amide (pyroGlu-His-Pro-NH<sub>2</sub> と略記する。Pyroglutamic acid=2-pyrrolidone-5-carboxylic acid)

### 2) Corticotropin releasing hormone (CRH)

1955年に Saffran, Schally により存在が確かめられた最初の視床下部ホルモンであったが、化学的に不安定なため分離精製が遅れている。タンパク分解酵素により活性がなくなることから他の視床下部ホルモンと同様にペプチドであろうと考えられている。

### 3) Luteinizing hormone releasing hormone (LRH) と Follicle stimulating hormone releasing hormone (FRH)

これについては単一ホルモン支配説と二つの別個ホルモンによる前葉の LH, FSH 支配説とがある。単一支配説では視床下部には LRH, FRH という別個のホルモンはなく、ただ一つのゴナドトロピン放出ホルモンが存在し下垂体からの LH, FSH の放出がこのホルモンより支配されるという。1971年に松尾らにより、LH-releasing hormone の化学構造が (pyro) Glu-His-Trp-Ser-Tyr-Gly-Leu-Arg-Pro-Gly-NH<sub>2</sub> と解明されたが、*in vitro*, *in vivo* ともに下垂体からの LH の放出のみならず FSH の放出をも促進した。視床下部ホルモンの構造や性状が明らかになると、臨床的応用に期

待が大きい。下垂体前葉の FSH, LH にかわって無月経、無排卵周期症の不妊婦人に対する排卵の人工誘発、黄体機能不全症による不妊や月経困難症の治療、無精子症や精子欠乏症、性欲低下症などの治療が期待されている。事実、1968年に五十嵐らはウシ視床下部から抽出された FRH を含む分画を用いて世界最初の臨床実験を報告した。投与により血中の FSH は増加し、また続発無月経ないし持続無排卵周期症では、子宮頸管粘液の増加が認められている。

### 8.12.7 松果腺

松果腺には両生類や魚類のメラニン細胞に作用して、メラニン顆粒を核の周囲に凝集させて退色させる作用をもつ物質の存在が、1917年に見出されていた。Lerner (1958年) は本物質が 5-methoxy-acetyltryptamine であることを示し、メラトニン (melatonin) と命名した。哺乳動物では性腺の活動を調節するホルモンとして興味をもたれている。

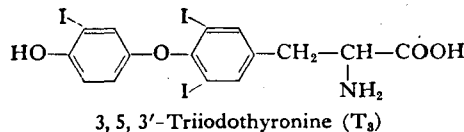
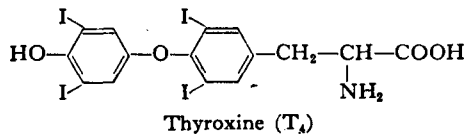
メラトニンの合成酵素である hydroxyindole-*o*-methyltransferase は哺乳動物の組織のうち松果腺にのみ存在し、この酵素は *N*-acetylserotonin の 5-OH 側鎖に *S*-adenosylmethionine からメチル基転移を触媒するものである。メラトニンはほとんどの組織で代謝をうけるが、主なる経路はインドール環の 6 位の水酸化、ついで硫酸又はグルクロン酸との抱合がおきる。メラトニンは哺乳動物で特に性腺に対して抑制的に作用する。松果腺組織が破壊される腫瘍をもつ少年は早発性の性的成熟を起し、また松果腺の摘出によって動物は発情期の開始が早くなり、卵巢の重量また睾丸、前立腺や精巣の重量が増加してくる。

興味あることはメラトニンの合成に対する光の影響であって、未成熟のラットを長期間持続的に照明のもとにさらすと、卵巢の重量を増し、発情の出現をきたす。更にメラトニン、セロトニンの減少がみられる。しかも卵巢に対する光の影響は松果腺抽出物の投与で防ぎうる事が明らかとなった。持続照明のもとにある動物に  $^3\text{H}$ -メラトニンを注射すると、松果腺や卵巢におけるメラトニンのとりこみが対照の動物よりはるかに低かったという実験もある。両眼球を摘出したラットでは、光によるメラトニン生成酵素への影響がみられないので、松果腺に対する光の作用は網膜の受容器を介することは明らかである。

### 8.12.8 甲状腺

#### 1) チロキシン (thyroxine)

甲状腺ホルモンの主な機能は生体の酸化反応の触媒と物質代謝の速度調節である。化学構造からはチロキシン (thyroxine,  $\text{T}_4$ ) やトリヨードチロニン (3, 5, 3'-triiodothyronine,  $\text{T}_3$ ) で、いずれもヨ-



ドを含んだチロシンの誘導体である。

腸から吸収されたヨウ素は血中を経て甲状腺に入るが、ヨウ素は酸化をうけて遊離基となる。チロシンのヨウ素化はマクログロブリンに属する thyroglobulin のチロシン残基に対して行われる。Thyroglobulin は分子量 660,000 で、1 分子中の 115 コのチロシン残基に対するヨウ素化は 3 の位置が、ついで 5 の位置がヨウ素化されて、monoiodotyrosine (MIT) 及び diiodotyrosine (DIT) を生成する。ついで 2 分子の DIT が結合して thyroxine ( $T_4$ ) が作られ、MIT と DIT とが結合すると triiodothyronine ( $T_3$ ) となる。Thyroglobulin は甲状腺のコロイド内にあるタンパク分解酵素により分解をうけ、thyroxine 及び  $T_3$  が甲状腺から遊離される。

血漿中では  $T_3$ 、 $T_4$  はほとんど特異的な carrier タンパクである thyroxine-binding protein (globulin, prealbumin) と結合している。タンパクとの結合能を上回ると血清アルブミンとも一部結合する。また血液中の thyroxine の約 0.05% は遊離の形で存在しており、血清タンパク結合型との間には平衡関係が成立している。

Thyroxine はフィードバック機構によって甲状腺からの分泌を阻害するが、この作用は主として下垂体に働いて TSH の分泌を抑制するためと考えられている。

甲状腺機能亢進症の代表的なものに Basedow 病 (Graves 病) があり、びまん性の甲状腺腫と甲状腺中毒症状とを主症状とし、しばしば眼症状を合併するのが特徴である。1956 年 Adams は患者の血清中に 60~70% の陽性率で TSH と作用が類似しているが、その甲状腺刺激効果の発現が TSH より遅く、かつ長く持続する物質の存在を発見した。本物質をその作用態度から long acting thyroid stimulator (LATS) と呼んでいる。この物質は IgG に属する免疫グロブリンで、自己抗体であるとされ、本病物質として関心をもちたれるに至った。TSH とは産生部位、構造なども全く異なるものであるが、LATS は甲状腺に作用して TSH と同様に甲状腺ホルモンの生成、分泌を促進する。しかし、negative feedback 機構には従わない。甲状腺機能亢進が TSH の過剰分泌に基づくならば、外因性に甲状腺ホルモンを投与すると TSH の分泌は抑制され、機能亢進は抑制されるが、LATS はこの機構には従わない。

## 2) カルシトニン (calcitonin)

副甲状腺ホルモン以外で血漿カルシウム濃度を調節し、骨に直接に作用するものとして期待されたホルモンである。哺乳動物では甲状腺から、鳥類、魚類、両棲類では鰓後腺から分泌されている。化学構造は 32 のアミノ酸からなる分子量 3,600 の単鎖のペプチドであり、各種の動物において種差が認められている。その構造に共通点はあるが、これらの 32 のアミノ酸のほとんどすべてが生物学的な作用に必要である。カルシトニンの作用として血清カルシウムの下降作用があり、骨に直接作用して副甲状腺ホルモンとは逆の効果を現すが、両者の作用点は同一ではない。骨のカルシウムは身体の 99.5% を占めており、血中カルシウムの変動により容易に血中に動員され、骨へのカルシウムの沈着と骨からの溶出との間には動的平衡が保たれている。カルシトニンの血清カルシウム低下機構は副甲状腺ホルモンの骨吸収促進作用を抑制してカルシウムの溶出を抑制することにある。血清カルシウムの低下とともに著明な無機リン酸の低下を伴っている。カルシトニンの腎に対する直接作用として、尿中リン酸の排泄増加が認められている。

## 8.12.9 副甲状腺ホルモン

副甲状腺ホルモン (parathyroid hormone) は84コのアミノ酸からなる単鎖ポリペプチドで、合成ホルモンについての研究によると骨や腎組織に対する生理作用は、N末端から数えて34コのアミノ酸の中に含まれている。このホルモンの投与により血清カルシウム量の上昇、血清リンの低下をきたす。また、尿中へのカルシウム及びリンの排出を増加する。

## 8.12.10 膵 臓

膵臓は消化に主役をはたす数々の主要な酵素を生成する消化腺であるのみならず、インシュリンとグルカゴンの二つのホルモンを分泌する重要な内分泌腺でもある。

## 1) インシュリン (insulin)

膵臓の Langerhans 島細胞群のβ細胞から分泌される分子量6,000のタンパク様ホルモンである。

2本のA、Bペプチド鎖がS-S結合でつなぎ合された分子構造を有している(図8.37)。

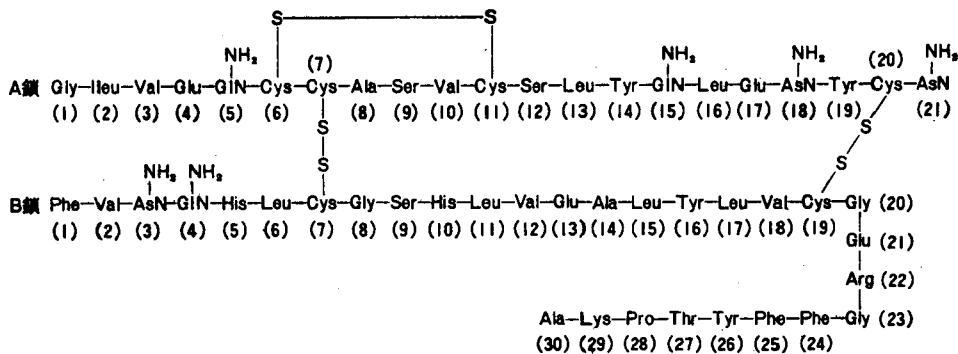


図 8.37 ヒトのインシュリンの構造

動物の種類により分子内アミノ酸組成に多少の違いがあるが、他種の動物に対して十分な生物活性を有している。しかし、この相違はインシュリンが抗原として作用し得るに十分な相違でもある。

インシュリンはβ細胞で一般のタンパク質と同じく粗面小胞体のリボソームで作られる。当初はA、B鎖が別個に合成されたのちに、S-S結合で鎖が結ばれると考えられた。しかし1967年 Steinerにより前駆物質としてのプロインシュリンの存在が確認され、Chance (1968年)により構造が明らかとなった。その結果分子は一つのポリペプチド鎖からなりNH<sub>2</sub>-(B鎖)-Arg・Arg-(直結部ペプチド)-Lys・Arg-(A鎖)-COOHで表現し得る。プロインシュリンがリボソーム上で合成されながら、小胞体の中にとり込まれて正常の立体構造をとり、ついでGolgi装置に運ばれて、インシュリンへの転換がおきる。特異なタンパク分解酵素の存在は明らかではないが、プロインシュリンの連結ペプチドの両端にある塩基性アミノ酸がそれぞれ2分子ずつはずれ、インシュリンと生物活性のない連結部のCペプチドとを生成する。Cペプチドはいったん貯蔵顆粒の中にとどめられ刺激に応じてインシュリンと等モルずつ細胞外に放出されて血中に移行する。Langerhans島からの血液は消化管からの血液と共に肝門脈に入るため、肝臓は末梢組織に比して高濃度のインシュリンにまずさらされることになる。ついで心臓を経て体循環に移行する。しかし糖尿病の処置として注射されたインシュリンは肝

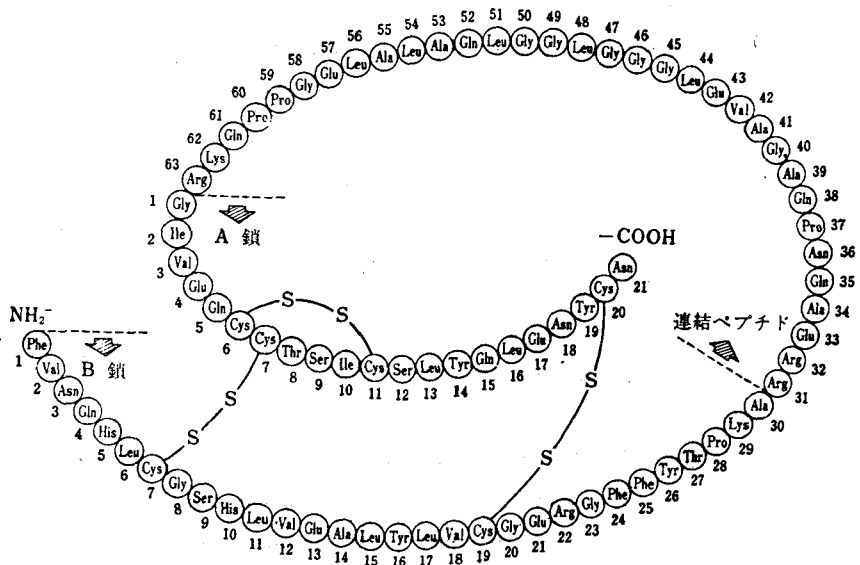


図8.38 プタ proinsulin の構造 (Chance ら: *Science* 161, 166, 1968 より改写)

門脈ではなくて末梢血管に直接入り、高濃度のものが非生理的な分布をすることになる。

ヒトの血中インシュリン活性の半減期は約30分であるが、血糖値に及ぼす効果は投与後2~4時間で最大に達する。したがってインシュリンは組織に取り込まれた後にその作用を現すことになる。組織にとり込まれた後のインシュリンの不活性化は種々の臓器で起るが肝臓でその作用が最も高い。分解はA鎖とB鎖とを連結するS-S結合がglutathione insulin transhydrogenaseによりまず還元分解をうける。この反応には還元型グリタチオンが必要である。還元分解によって生じたA鎖とB鎖はタンパク分解酵素によって更に分解をうける。

組織にとり込まれたインシュリンの作用は多種多様であり、生じた効果が1次的なものか2次的なものかを決定することは困難である。代謝上インシュリンにより大きな変化をうける組織は筋肉、脂肪組織、肝臓の3種であるが、主な作用点としては次のようなものがある。

- 膜透過性の促進……………糖, アミノ酸,  $K^+$  など
- タンパク合成の促進……RNA polymerase やリボソームの活性の増加
- 脂肪合成の促進及び分解の抑制
- Cyclic AMP の組織含有量の変化……cyclic AMP 系の拮抗阻害

i) 筋肉及び脂肪組織 両組織に対する作用のうちで最も重要なものはグルコース, アミノ酸,  $K^+$ , nucleotide, 無機リン酸などのとり込み促進である。実験的に sepharase-インシュリン (直径 60~300  $\mu$ ) のように細胞内に入り得ない巨大分子としたインシュリンを脂肪細胞 (直径 50~100  $\mu$ ) に作用させても、インシュリンとほぼ同じ濃度でグルコースのとり込みを増して酸化を促進する。このような結果は、インシュリンが膜に働いて透過性を高めると共に細胞内にも侵入して酵素活性を高めるという機構よりも、それが second messenger に情報を与えて透過性や酸化を発現することを示している。肝細胞についても同様と考えられている。結合については脂肪やリン脂質を必要とせず、膜を Triton X-100 で処理し、可溶性としたものからレセプターを精製することができる。分子量は約

30万とされている (Cauatrecasas).

筋肉及び脂肪組織では細胞によるグルコースの摂取が以後の細胞内でのグルコースの代謝を律速することになり、これに伴う糖代謝・脂肪酸の合成が促進を受ける。またインシュリンはエピネフリンやグルカゴンによる脂肪組織からの脂肪酸の遊出を抑制する。

ii) 肝臓 筋肉や脂肪組織と異なり、インシュリンの代表的な作用であるグルコースの膜透過促進作用 (cell permeability effect) は肝臓では認められない。肝臓におけるインシュリンはグルカゴンやエピネフリンの作用に対して阻害的に働いており、肝の代謝はインシュリンとグルカゴン・エピネフリンとの拮抗的な作用のバランスによって調節されている。したがってインシュリンはグリコーゲン分解、糖新生、尿素生成、ケトン体生成ならびにカリウムの放出作用に対して阻害的に働き、グリコーゲン合成や糖利用に促進的に作用する。

ところでインシュリンの酵素に対する作用には、グリコーゲン合成酵素にみられる非活性型より活性型への転換による短時間発現様式と、数時間ないし数日を要して酵素タンパク量の変化を伴う誘導様式とがある。誘導酵素として Weber らは、glucokinase, phosphofructokinase, pyruvate kinase などの monofunctional な律速酵素 (key enzyme) をあげ、pyruvate carboxylase, phosphoenolpyruvate carboxylase, fructose 1,6-diphosphatase, glucose 6-phosphatase などの糖新生にあずかる酵素の合成を抑制することも見出した。誘導酵素における活性発現は、あらかじめ actinomycin D や puromycin で処理を加えておくと、インシュリンによる酵素活性の変化は認められなくなる。

iii) 糖尿病状態 糖尿病の特長は組織の要求を満たすだけのインシュリンが不足するために起る代謝障害である。筋肉や脂肪組織へのグルコースの輸送及び組織へのグルコースの摂取が障害されて過血糖を起す。肝臓では key enzyme の酵素タンパクの合成が抑制され、逆に糖新生系の酵素は抑制がとれるため過血糖を助長する。結果的には細胞外にブドウ糖が充満しているのとは逆に、細胞内ではブドウ糖の欠乏状態となる。一般に細胞代謝のエネルギー源はブドウ糖の異化過程に基づいて

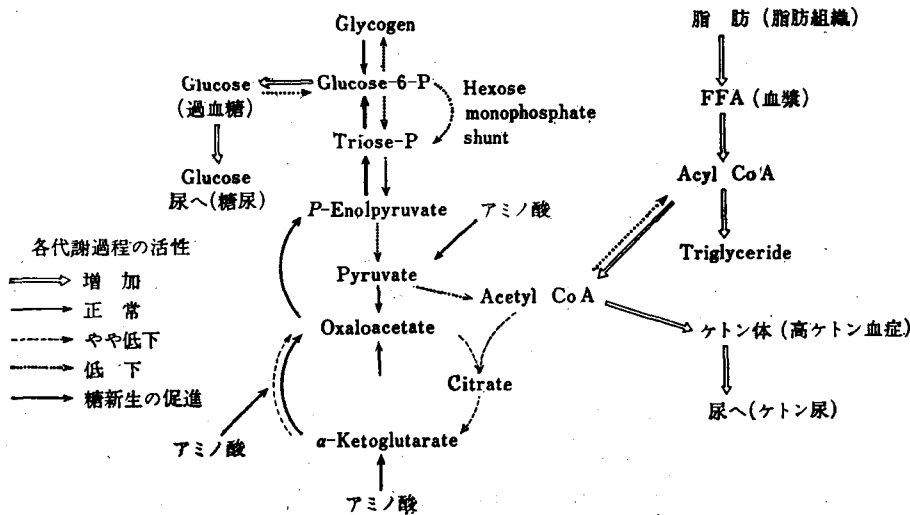


図 8-39 未治療の糖尿病にみられる肝臓の代謝異常 (ヘーパー生化学 (原書 14 版), 昭 50 年 3 月, 丸善版)





濃度の  $10^{-11} \sim 10^{-10} M$  でグルカゴンの作用がみられる。肝の解糖作用や糖新生がグルカゴンの主たる生理作用と考えられている。その他に心筋、消化管、膵  $\beta$  細胞、腎、副腎髄質、下垂体前葉、甲状腺に対する作用も報告されている。

インシュリンとグルカゴンとは標的臓器に対する効果が逆であるが、インシュリンとグルカゴンの比が代謝産物の臓器からの放出か貯蔵かの方向づけをするものであろう。

	インシュリン	グルカゴン
グリコーゲン分解	阻害	促進
グリコーゲン合成	促進	阻害
糖新生	抑制	促進
K <sup>+</sup> 放出	阻害	促進
ケトン体生成	抑制	促進
糖利用	促進	阻害
尿素生成	抑制	促進
タンパク分解	抑制	促進

8.12.11 副腎髄質

副腎髄質は自律神経系のうち交感神経系に由来するもので、エピネフリン(adrenaline, epinephrine)

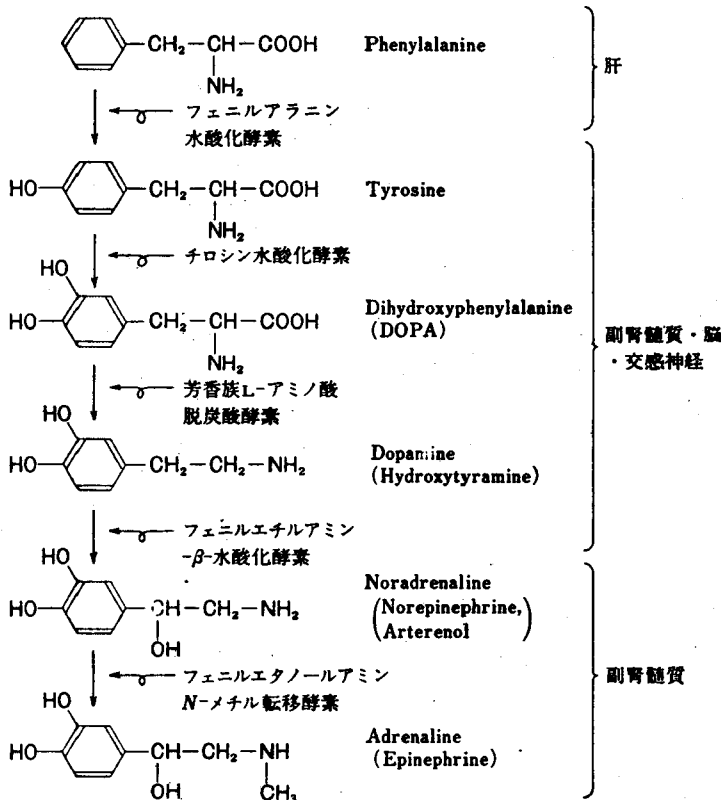


図 8.41 CA 主要合成経路

(カテコールアミン, 今泉礼治; 医学書院, 1968年)

とノルエピネフリン (noradrenaline, norepinephrine) とをホルモンとして分泌する。化学構造上からカテコールアミン (catecholamine) と総称されている。主要合成経路としてチロシンから形成されるが、可溶性画分にあるフェニルアラニン水酸化酵素によりフェニルアラニンは水酸化をうけて生ずる。チロシン以後の変化は副腎髄質中で行われる。

副腎髄質以外に脳や交感神経などにもカテコールアミンは存在している。しかし、副腎皮質以外の組織にはエピネフリンは少なく、主として dopamine, noradrenaline である。

脳には血液-脳関門が存在しており、血中のドパミンやノルアドレナリンは関門を通過しえないので、血中から移行しうるフェニルアラニン、チロシン、DOPA などが材料となって脳で合成される。Parkinson 病で脳中のカテコールアミン合成を高めるために L-DOPA を投与するのはこの理由に基づく。

チロシンから dihydroxyphenylalanine (DOPA) の反応にあずかるチロシン水酸化酵素はカテコールアミン生成酵素のうち最も活性が低く、調節機構上に重要な意義を有している。チロシン、フェニルアラニンなどは拮抗的に阻害し、DOPA, dopamine, ノルエピネフリンなどの代謝産物も反応を阻害する。この後者の阻害は補酵素である tetrahydropteridine と拮抗している。

生じた DOPA はピリドキサルリン酸を補酵素とする脱炭酸酵素により dopamine となるが、この DOPA 脱炭酸酵素の活性は生合成系で最も高く、律速酵素とは考え難い。ついで dopamine の側鎖の  $\beta$  位が dopamine  $\beta$ -hydroxylase で水酸化をうけてノルエピネフリンとなる反応は、disulfiram (Antabuse) で抑制をうけ、カテコールアミンの合成が低下するので、この薬剤が高血圧の治療に用いられる。ノルエピネフリンからエピネフリンへのメチル化は S-アデノシルメチオニン (S-adenosyl methionine) を用いて phenylethanolamine N-methyltransferase によって触媒される。

エピネフリン、ノルエピネフリンは類似した種々の作用を呈するが、両者間には幾らかの差異がある。循環系への影響として、ノルエピネフリンは心臓以外のほとんどすべての組織において血管収縮を起させるが、エピネフリンは骨格筋の血管、冠状動脈及び内臓血管をむしろ拡張させて、他の組織の血管は収縮させる。心筋の被刺激性を高めて、心筋の収縮力や心拍出量を増加させるが、ノルエピネフリンの心拍出量の増加はエピネフリンよりも少ない。両者共に心臓血管系への作用の結果から血圧を上昇させるが、血圧上昇作用はノルエピネフリンの方が強い。糖質代謝に対してはエピネフリンは cyclic AMP を介するグリコーゲン分解促進作用があり、グルカゴンの機構と類似している。しかし肝臓でグリコーゲンを分解し、血糖を上昇させる作用はグルカゴンの方が強く、筋肉のグリコーゲン分解はエピネフリンがはるかに強い。エピネフリンは脂肪組織にも作用して、脂肪分解を起し遊離脂肪酸の放出を促す。また交感神経の刺激伝達に関係している。

外部から投与されたカテコールアミンは短時間に消失する。一部 (5~6%) はそのままの形で尿中に排泄されるが大部分は組織内でベンゼン核のメチル化や側鎖の酸化などをうける。ヒトでは最終産物として vanilmandelic acid (VMA) が多く、metanephrine がこれにつぐ。3-Methoxy-4-hydroxyphenylglycol (MOPG), 3,4-dihydroxymandelic acid (DOMA) なども排泄されている。代謝経路としては catechol O-methyltransferase (COMT) による代謝産物と monoamine oxidase (MAO) によるものがある。前者の経路が 70% 前後、後者が 30~50% を占める。これらの化合物が尿中に排出される場合は、遊離型もあるが大部分が硫酸やグルクロン酸と抱合している。

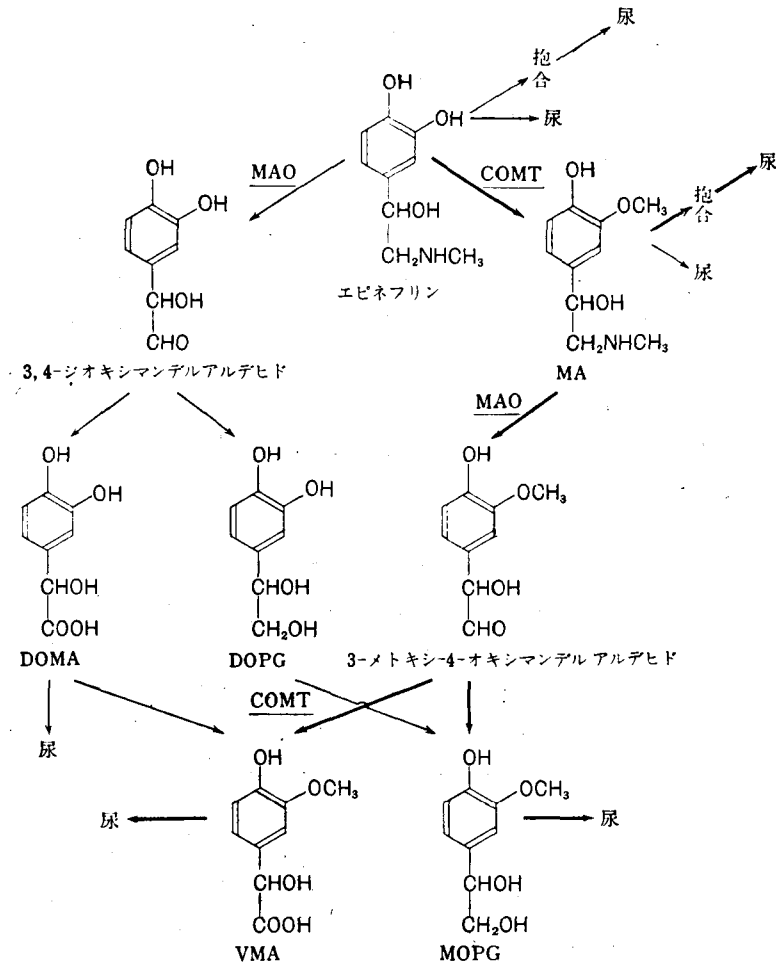


図 8.42 エピネフリンの代謝

## 8.12.12 副腎皮質

副腎皮質ホルモンはコレステロール誘導体で、cyclopentanoperhydrophenanthrene 核を有している。副腎皮質ステロイドは分子構造上更に二つの型に分類される。

**C-19 ステロイド** D 環の 17 の位置に酸素原子又は水酸基をもち、炭素原子の総数が 19 で、アンドロゲン活性を有している。大部分のものが 17 の位置にケトン基をもつため 17-ketosteroid と呼ばれる。

**C-21 ステロイド** D 環の 17 の位置に炭素原子 2 コからなる側鎖をもつもので、炭素原子が 21 のものを総称する。17 の位置に OH 基を有するものを 17-ヒドロキシコルチコイド (ヒドロキシコルチコステロイド) と呼んでいる。更に機能上から、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$  の排泄作用の強い無機質コルチコイド (mineralocorticoid) と糖質やタンパク代謝に対する作用の強い糖質コルチコイド (glucocorticoid) に分類する。

副腎皮質は糖質コルチコイド、無機質コルチコイドと生殖機能に対する影響は低い性ホルモンの3種を分泌している。皮質の組織は通常3層に区別され、外側から球状帯、束状帯、網状帯と呼ぶが、糖質コルチコイドと性ホルモンはすべて3層で分泌され、無機質コルチコイドは外側の球状帯で分泌されると考えられている。また球状帯で無機質コルチコイド、束状帯で糖質コルチコイド、網状帯で性ホルモンともいわれている。

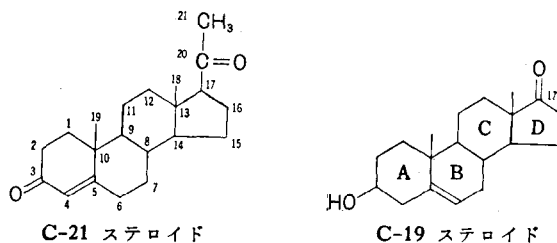


図 8・43 副腎皮質ステロイドの構造

### 1) 副腎皮質ホルモンの生合成

ステロイドの前駆体は acetyl-Co A でありコレステロールから側鎖の切断や酸化をうけてプレグネノロン (pregnenolone) となるが、これがステロイド生合成の中心的存在となる。多くの種類のステロイドが副腎組織から分離抽出されているが、生理活性を有するものは7種 (A, B, E, F aldosterone, dehydroepiandrosterone, androstenedione, 図 8・44) である。そのうち主な副腎皮質ホルモンの作用は次の通りである。

糖質コルチコイド作用 (C-21)……………cortisol (F) が強い  
 無機質コルチコイド作用 (C-21)……………aldosterone が最強で、cortisol (F) が最も弱い  
 性ホルモン作用 (C-19)……………dehydroepiandrosterone, androstenedione

生体内でプレグネノロンからの合成経路は、まずA環に3-ケト構造が生じ、ついで21の位置に水酸基が、最後に11の位置にも水酸基が結合する。睾丸にも類似のステロイド合成系があるが11-hydroxylase 活性がないため、glucocorticoid や mineral corticoid の合成は睾丸ではできず副腎に限られる。一般に糖質・無機質コルチコイド活性には21位の水酸化が必要で、11位にOH又はケトン基、17位にOHをもつものは糖質コルチコイド作用の方が増強する。無機質コルチコイドの aldosterone は18位が水酸化をうけて、メチル基がアルデヒド基に変えられたものである。18-Hydroxylase は皮質の球状帯にのみ存在しているので aldosterone の合成はこの外層のみでおこる。水酸化反応は分子状の酸素と NADPH<sub>2</sub> とを要求するもので、フラビンタンパク、非ヘム鉄タンパク、シトクロム P-450 を電子伝達系の構成成分としている。

副腎皮質由来の男性ホルモンは dehydroepiandrosterone (DHEA) 及び androstenedione であるが、17-hydroxypregnenolone の側鎖が切断して生ずる。

### 2) 副腎皮質ホルモンの生理作用

ステロイドホルモンに対する受容体は細胞質の中にあり、受容体とホルモンとの複合体は細胞核に入り、クロマチン上の特異部位に結合して RNA 及びタンパク合成を促進する。

i) 糖質コルチコイド作用 (glucocorticoid) グルコースの摂取、解糖、タンパク合成を低下させ、脂肪組織では脂肪分解を増大させる。このように末梢組織での分解を促進し、グルコースを節約する

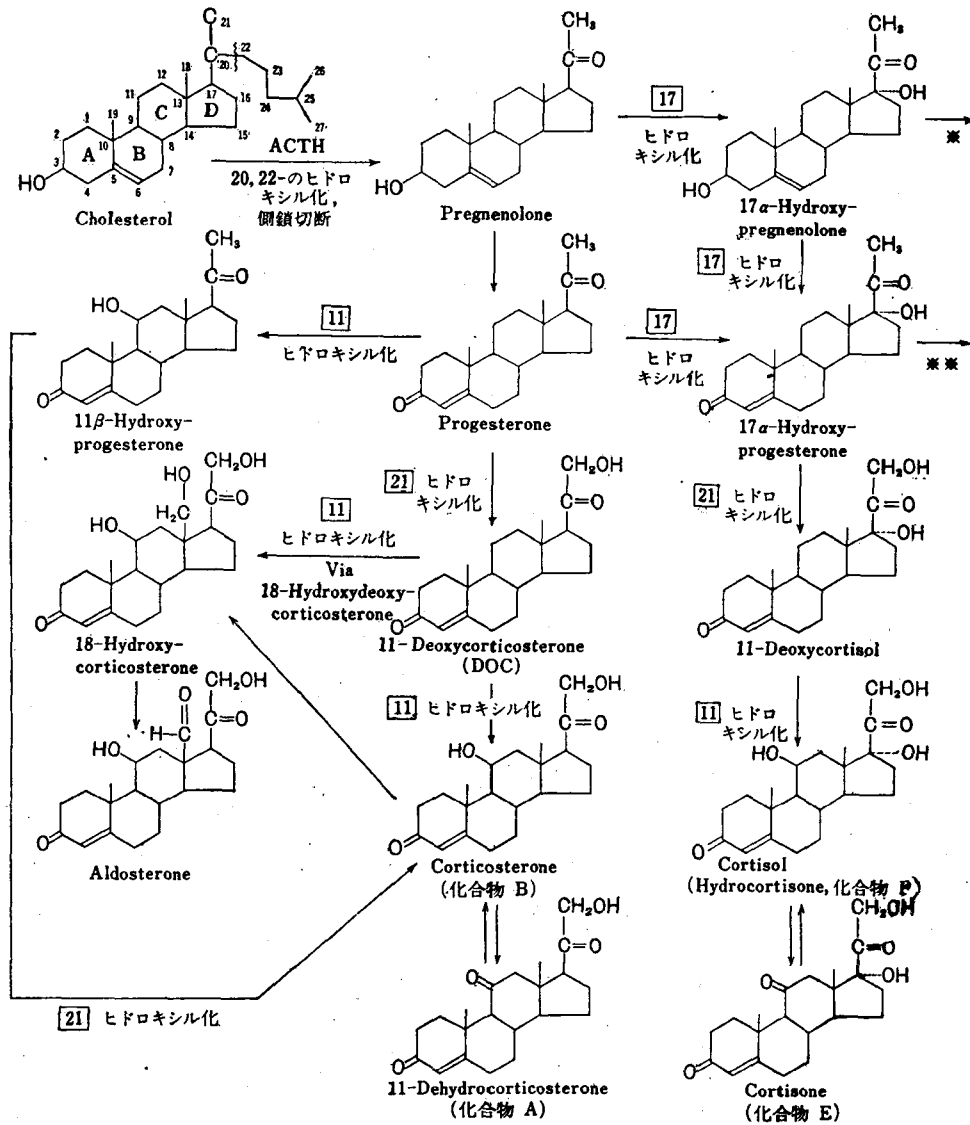
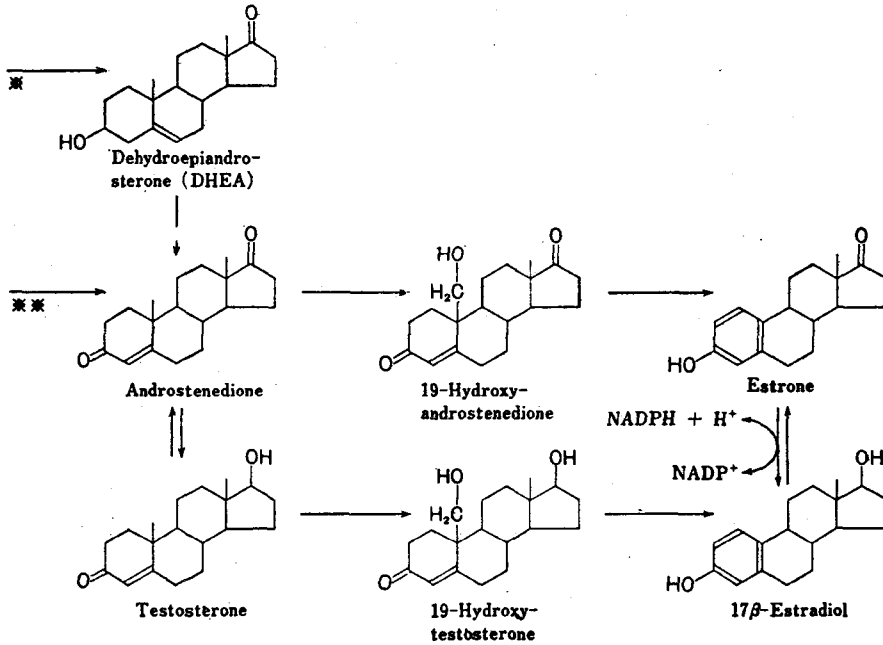


図 8-44 副腎 corticosteroid の生合成

作用をもつたために、タンパク分解の増大は肝臓でのグリコーゲン生成及び糖新生を増大させる。この結果として血糖の上昇が起る。末梢組織に対して抗インシュリン作用をもつたために既存の糖尿病患者ではこれを悪化させる。この他に細胞の防御反応を減少させる作用もあり、抗炎症作用を有し、また免疫抑制作用をも有している。胃腸系に対しては胃酸やペプシン分泌が増大し、胃液の刺激作用に対して胃粘膜の抵抗性も変化してくる(消化性潰瘍の患者には禁忌となる)。

ii) 無機質コルチコイド (mineralocorticoid) 作用 男性ホルモンを除いて副腎皮質ホルモンは一般に尿細管での Na, Cl の再吸収を増大させ、汗腺、消化管、唾液腺からの排泄を減少させる。Aldo-



Androgen 及び estrogen の生合成

sterone は最もこの作用が強く、Na が細胞内に貯留するため、細胞内カリウムが外液のナトリウムと交換されてカリウムの排泄を増大する。

iii) 性ホルモンの作用 副腎で男性ホルモンが合成されていることは事実で、去勢した尿に性ホルモンが存在していることからわかる。一般に睾丸と副腎との男性ホルモンの合成能は質的にはほぼ等しい。しかし男性ホルモンとしては精巣から分泌するテストステロンが最も強い作用を有しており、副腎のものはテストステロンの 1/5 又はそれ以下の活性しか有していない。ある種の副腎腫瘍では、テストステロンを作るものがある。女性ホルモンとしてのエストラジオール (estradiol) の合成系が副腎にも存在していることも事実で、卵巣を除去した女性に ACTH を注射すると尿中の女性ホルモン量が増加する (性腺刺激ホルモンでは調節されていない)。しかし正常では副腎での分泌量は少なく生理作用を示さない。副腎皮質のエストロゲン分泌腫瘍では女性化する報告がある。

### 3) 副腎皮質ホルモンの代謝

コルチコイドの分解の主なる臓器は肝臓である。大部分のものは最初に hydrogenase により A 環の還元を、ついで NAD (NADP) を要求する dehydrogenase により 3-ケトン基の還元 (OH 基へ) をうけて tetrahydrocortisol となった後に、グルクロン酸に抱合をうける。遊離型、抱合体のステロイドは胆汁から腸へ排泄される。抱合体は循環血中に入るが、血漿タンパクに結合しないで腎から排泄される。

無機質コルチコイドも糖質コルチコイドの代謝と同じであるが、17-ケトステロイドを生成しない。性ホルモンは 17-ケトステロイドとして尿中に排泄される。

## 糖質コルチコイド

コルチゾール → テトラヒドロコルチゾール・グルクロン酸抱合体

10% ↓  $\xrightarrow{\text{一部}}$  コルチゾン-テトラヒドロコルチゾン・グルクロン酸抱合体

17-ケトステロイド

## 4) 合成ステロイド

副腎皮質ホルモンの誘導体が数多く合成されているが、天然のステロイドよりも作用が強いものが多い。Prednisone (cortison 系), prednisolone (cortisol 系) は 9 $\alpha$  のハロゲン置換をしてえた抗炎症作用をもつステロイド剤である。C-1 と C-2 の間に二重結合を有するものでは、塩類貯留作用が比較的弱くなる。Prednisolone の誘導体である dexamethasone (9 $\alpha$ -fluoro-16 $\alpha$ -methylprednisolone) は抗炎症作用が強くなり cortisol の約 30 倍に達する。C-11 に OH をもつものにメチル基を二つの位置に入れると、Na の貯留, K の消失作用が増強されてくる (2-methyl-9 $\alpha$ -fluorocortisol)。

## 5) Cushing 症候群

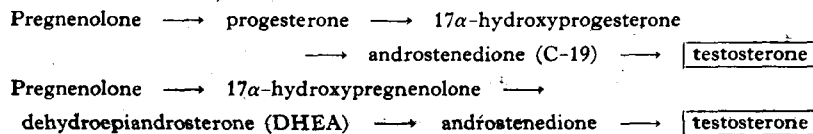
糖質コルチコイドの過剰の時にみられる臨床症状である。糖質コルチコイドの分泌が高まった腫瘍や ACTH の分泌過多や糖質コルチコイドの過剰投与でも生じてくる。糖質コルチコイドの性状からタンパク分解が増大するため、皮膚、皮下組織は薄く、筋の発達も不十分となり、毛髪の成長も阻害される。タンパク分解によりアミノ酸からの糖新生を起し、末梢での糖利用の低下と共に高血糖症を起す。体脂肪の分布は腹壁、顔面や上脊部に集まり、特有の容貌を呈する。多量の糖質コルチコイドのため、一部有している無機質コルチコイドの性質も現れ、Na, 水分が保持され、顔面の肥満も加わって、特有の満月状の様相を示す。またカリウムの排泄を伴い虚弱ともなる。更に骨の軟化や電解質の喪失より骨格の変形をも来し、また精神障害を引き起して来る。

## 8.12.13 生殖腺

睾丸及び卵巣は性器の発育と成長を調節するステロイドホルモンを合成している。下垂体の gonadotropin 支配をうけており、性ホルモンは強いタンパク同化作用を有している。副腎皮質でも性ホルモンが一部合成されているが、その量は正常では低い。

## 1) 男性ホルモン (androgen)

Testosterone が男性ホルモンのうちでは最も重要であり、睾丸の間質の Leydig 細胞でコレステロールから pregnenolone を経て合成される。17 の位置に OH をもった C-19 ステロイドである。



合成系は副腎皮質ホルモンと質的に類似している。ただし、11-, 21-ヒドロキシラーゼを睾丸に有しないため、無機質、糖質ステロイドの合成は起らない。睾丸では 17 の位置の側鎖を切断し、ここを水酸化してテストステロンを生成し、androgen としての生理作用を示す。男性の第 2 次性徴を促進し、またタンパク同化作用は他のいずれの天然ステロイドよりも強い。

テストステロンの大部分は肝臓で分解をうけて、17-ケトステロイドとなり尿中に排泄されるが、ア



ンドロゲン活性をも有している(テストステロンの1/5以下)。尿中に排泄されている17-ケトステロイドの約1/3が睾丸に由来するホルモンで、残り2/3は副腎のアンドロゲン(デヒドロアンドロステロン)と肝臓でコルチゾールが代謝をうけた産物に相当している。

## 2) 女性ホルモン

卵巢から分泌される女性ホルモンは主として、発育卵胞から作られる卵胞ホルモン (follicular hormone, estrogenic hormone) と黄体で作られる黄体ホルモン (luteal hormone, progestational hormone) である。

i) 卵胞ホルモン 卵巢、胎盤、副腎、睾丸などで生成されるもので、エストロゲン (estrogen) と総称される。構造は男性ホルモンと異なり、10位のメチル基がなく、3位はOH基で、炭素数18のステロイドである。卵巢から分泌される主要なエストロゲンはエストラジオール (estradiol) で、血中ではエストラロン (estrone) と平衡している。エストラロンはエストリオール (estriol) に代謝される。これら3種のうちエストラジオールが最も生物活性が強い。肝臓ではこれらは酸化をうけ、抱合体となって排泄される。

ii) 黄体ホルモン Progesterone とは排卵後の卵胞で生ずる黄体ホルモンで妊娠後期の胎盤からも作られる。副腎皮質でも作られ、皮質ホルモンの前駆体ともなっている。

生理作用は子宮粘膜に変化を起し、着床の便を計る。妊娠中の子宮の肥大、胎盤の発育を促す。

Progesterone の主な排泄型はプレグナジオール (pregnenediol) で、3; 20位が水酸化をうけており、グルクロン酸の抱合型となっている。尿中にプレグナジオールの排泄のあることは、子宮粘膜が卵胞期ではなく黄体期にあることを示している。

## 8・12・14 プロスタグランジン (prostaglandin)

ヒトの精液中に子宮筋を収縮、あるいは弛緩させるものがあり、前立腺由来と考えてプロスタグランジンと名付けた。しかし、この命名は正確ではなく、前立腺には強い合成能はみられない。

プロスタグランジン (PG) の特徴は広範な分布と多彩な生物活性である。精液 (100 mg/ml) のほか、含有量は1 mg/gと低下するが、精囊、肺、胸腺、脳、神経、子宮、血小板、網膜、腎、腸、胃、脾と広く分布しており、しかも臓器組織によって、分布量のみならず種類をも異にしている。

生合成は炭素20の不飽和脂肪酸(アラキドン酸)を前駆体としており、5員環を形成している。合成酵素の活性はミクロソーム分画に局在している。PGの示す多彩な生物作用を根元的に説明しうる機構は、まだ明らかではない。Cyclic AMPとの関連性にしてもすべての場合に適合するとはいえない。炎症や陣痛誘起に果たす役割など未知の分野が多い。

## 8・13 遺 伝

100年前 Mendel によって開かれた遺伝学は、近年になって Beadle, Tatum, Lederberg らによって生化学的遺伝学へと発展せられるに至った。

## 8-13-1 突然変異

例えばアカバシカビ (*Neurospora crassa*) の分生子を放射線や化学薬品で処理し突然変異を起させると、ある物質の合成能を失ったカビが出来る。このカビは最小培地 (糖類、硝酸塩又はアンモニウム塩、幾つかの無機塩類とビオチンだけを含む) には生育できないが、一定の物質 (ビタミンあるいはアミノ酸) を加えると生育するようになる。すなわち培地に加えられた物質が突然変異株では作られないということがわかる。

タンパク質の生合成のところで述べたように、遺伝的情報を貯え伝達するものは DNA であるから、突然変異は DNA の塩基の組合せが入れ代ったり、新しい塩基が挿入されたり、又は既に存在していた塩基が取り除かれることによって起るものと説明することができよう。これらの変化を起させる機構はよくわからない。X 線や  $\gamma$  線を照射すると水が分解されて H, OH のフリーラジカルが生じ、その作用でリン酸の 2 コのエステル結合が同じ場所で切れるとこわれるが、一方だけ切れた場合は、二重らせん構造の水素結合が強いので DNA 分子の形は変わらない。鎖を相互につなぐ水素結合をイオン化照射で切る場合もある。DNA 分子のある部分の水素結合が切れると、らせん構造が破壊され、複製能力が損われる。

紫外線照射は隣接したチミンを結合してチミン・ダイマーを作るが、これは通常細胞に存在する DNA の修復機構によって除去され修復される。しかしこの修復が正確に行われないと突然変異の原因となる。硫黄マスタード  $[S(CH_2CH_2Cl)_2]$  や窒素マスタード  $[R-N(CH_2CH_2Cl)_2]$  などの二つの反応基をもつアルキル化剤はヌクレオチド塩基の窒素原子と反応し、近接塩基同志をアルキル基でつなぐ。これは専らグアニンの 'N' 位に起るといわれている (図 8-45)。そうすると DNA の二重らせんは分離できなくなるので複製に支障をきたし、染色体がこわれたり突然変異を起す。その他突然変異を起させる化学試薬には亜硝酸や 5-ブロムウラシルがある。亜硝酸は DNA のシトシンをウラシルに変える。5-ブロムウラシルはチミンの代りに DNA 分子に入り、DNA 複製の際に間違いを起させる。

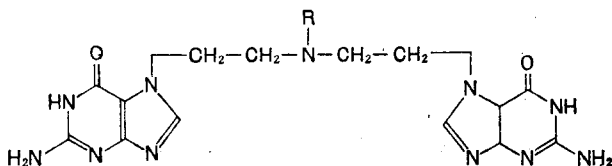


図 8-45 窒素マスタードによるグアニン間の架橋

## 8-13-2 溶原性

細菌に付着した溶菌を起すバクテリオファージは毒性ファージ (virulent phage) と呼ばれる。これに対して感染してもある条件のもとではほとんど宿主菌を溶菌させず、しかも宿主細胞内ではその染色体に付着し、それと同じような行動をとる非感染型のプロファージ (prophage) がある。プロファージは宿主菌の染色体の分裂と同調して 2 分裂し、子孫に伝わっていく。プロファージを持った菌は溶原菌 (lysogenic bacteria) と呼ばれ、ファージ産生能のほかにそのファージに対する免疫性を持ち、追加感染を受けない。

プロファージを持った溶原菌は、紫外線や他の放射線などの作用を受けるとファージは染色体を離

れ、増殖をはじめ、溶菌を起すようになる。すなわち、プロファージから毒性ファージへ変る。このようにプロファージが毒性ファージに変わり他の菌に侵入するとき、もとの宿主菌の遺伝形質の一部を持ち込むことがある。これを形質導入 (transduction) という (図 8-46)。

例えば Zinder と Lederberg によれば、*Salmonella typhimurium* の遺伝形質は P<sub>22</sub> ファージによって栄養要求性、糖の分解能、薬剤耐性、鞭毛の運動性などの遺伝子のどれか一つが導入されることを報告している。しかし、ときには染色体上で近い位置の遺伝子は2コ以上連鎖したままで同時に持込まれることもある。この現象を利用して、染色体の近い位置にある遺伝子の分析を行うことができる。

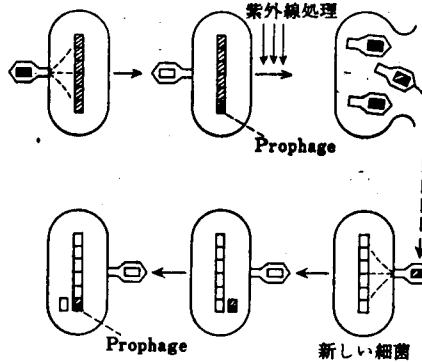


図 8-46 形質導入 (transduction) を示す模型図

このようにファージの媒介によって細菌の遺伝形質が一部変化する。

例えば P<sub>1</sub> ファージを *E. coli* にかけたとき、トリプトファン合成酵素を支配する遺伝子の導入を行うのでこの部分の染色体地図を作ることができる。それによると、図 8-47 のように、シキミ酸 5-リン酸からトリプトファンに至る合成酵素系が染色体上に順序よく並んでいることが明らかにされた。

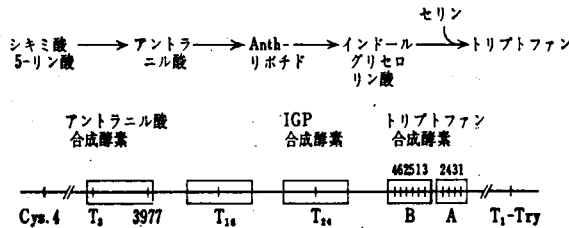


図 8-47 トリプトファン合成経路とそれを支配する遺伝子

P<sub>1</sub> や P<sub>22</sub> ファージのように染色体上のどこにでも座を占めうるファージと異なって、 $\lambda$ -ファージや  $\phi$ -ファージは大腸菌 K-12 株の遺伝子のうち特定の位置にしか座を占めることができない。このようにファージはその占める座の近傍の遺伝子しか導入できない。例えば  $\lambda$ -ファージはガラクトース発酵能 (Gal) だけ、 $\phi$ 80-ファージはトリプトファン合成系の遺伝子 (Try) だけしか導入できない (図 8-48)。

このように溶原ファージの感染によって宿主菌の性質に大きな変化が起ることはしばしば観察され

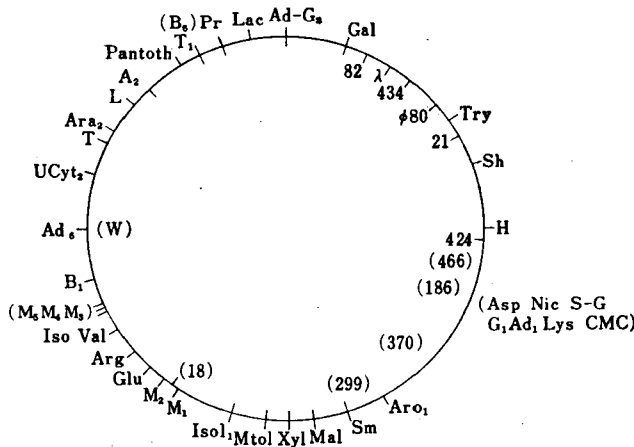


図 8.48 大腸菌 K-12 株の染色体地図

環の外側は遺伝的マーカー、環の内側はプロファージ、  
( ) は uv-non inducible

ている。例えば、無毒のジフテリア菌が β-ファージの感染によって有毒株になる。

8.13.3 エピソーム

細菌にはエピソーム (episome, 遺伝子副体) といわれる遺伝子のようなものが存在することが知られている。これは宿主の増殖とは独立に細胞質中で自立的に増殖する。また宿主細菌のゲノムに統合されて宿主細胞の増殖に同調する場合もある。

エピソームとして知られているものに溶原性ファージ、細菌の性決定因子、コリシン因子、多剤耐性因子などがある。いずれも化学的本態は DNA である。

性決定因子 野性型の菌に紫外線照射などを行って栄養要求の異なる突然変異株を分離し、このうち二つの突然変異株を混合培養して適当な選択培地にまくとコロニーを作る。これらの突然変異株を単独にまいたのではコロニーを全然作らないから、この現象は大腸菌同志が接合して遺伝子を交換したものと考えられる。この接合の様子は後に実際に電子顕微鏡写真によって認められた。

その後の研究によって、F<sup>-</sup> という突然変異株はどうしても組替えを起さず、F<sup>+</sup> のみが組替えを起すことがわかり、F<sup>+</sup> が雄で遺伝物質を雌の F<sup>-</sup> に移入するということが明らかにされた。

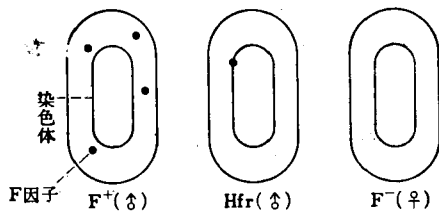


図 8.49 大腸菌 K-12 における F<sup>+</sup>, Hfr 及び F<sup>-</sup> の模型図

F<sup>+</sup> 菌は染色体以外の場所に別に自己増殖する F 因子 (fertility の意) というものを持っており、一方 F<sup>-</sup> 菌はそのような因子をもっていないと考えられている。F<sup>+</sup> 菌にアクリジン色素を作用させると F 因子が消去されてしまい F<sup>+</sup> 菌は F<sup>-</sup> 菌になる。しかし、F 因子が染色体の上ののっているような (Hfr 菌、Hfr は high frequency of recombination の略) はそのような処理では F<sup>-</sup> 菌に変わらない(図 8.49)。

Hfr 菌は F 因子の付着場所の違いに応じて多種類のものが出来る。いま Hfr 菌と F<sup>-</sup> 菌とを混ぜると、まず機械的に衝突するが、F 因子のついた場所で接触すると両者の間に接合橋 (conjugation bridge) が形成され、Hfr 菌の染色体が一定の順序で F<sup>-</sup> 菌の方向に移動する。大腸菌の染色体は普通の状態では環状で、移入の際付着点の近くで切れて 1 本の鎖になる。移動の先端は Hfr 菌の種類によっても異なるが、F 因子の付着点に近いのが普通である。後尾は F 因子の付着点そのもので、F 因子が後押しをしている形になる (図 8.50)。

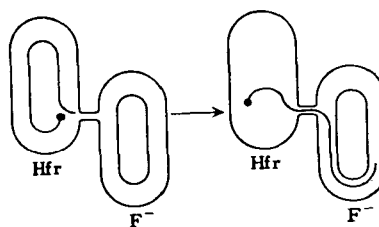


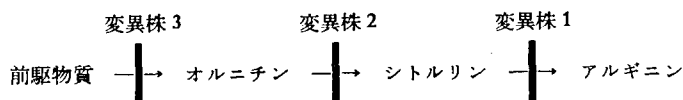
図 8.50 大腸菌 K-12 における Hfr と F<sup>-</sup> の接合を示す模型図

染色体移入の速度は一定であるので、接合が起ってから時間を追って機械的にウォリングブレンダーなどで接合管を切ると、何分間ではどこの遺伝子まで移入されたかがわかり、この時間で遺伝子の座間距離を測定して染色体地図を描くことができる。

F 因子は細胞の表面に特異な物質を形成し接合に必要な構造を作り、またあるバクテリオファージに感染する性質を持つなど、宿主にそれまでなかった性質を持たせるほか、接合後染色体の移動を起すような性質も与える。F 因子自身にも突然変異があるし、また宿主の染色体断片と行動をとにもすることもある。

#### 8.13.4 遺伝生化学

アルギニンの生合成 *N. crassa* (アカパンカビ) にはアルギニン代謝に関係のある変異株が 3 種ある。これらは最小培地にアルギニン、シトルリン、オルニチンのどれかを添加しないと成育しない。このうち変異株 1 ではアルギニンだけが有効でオルニチン、シトルリンは無効である。変異株 2 では、シトルリンとアルギニンとが有効でオルニチンは無効である。変異株 3 では、オルニチン、シトルリン、アルギニンのどれでも有効である。この結果を示すと次のようになる。



縦線は、変異株で代謝が妨害されている位置を示す。

これらの変異株は、代謝妨害よりあとの段階の基質を与えれば成育するが、阻害点以前の基質では成育しない。場合によっては中間体がそれ以上代謝されないので蓄積することもある。変異株 1 ではシトルリンをアルギニンに変える酵素がないのでシトルリンが蓄積する。これらの結果から、オルニチン → シトルリン → アルギニンという経路でアルギニン合成が進むと結論される。

このような方法で新しい代謝経路を知り、又は既知経路を確かめることができる。アミノ酸、核酸、ビタミン、ポルフィリン、色素、脂肪酸などの代謝を研究するため種々の変異株が利用された。このような研究から、Beadle と Tatum は 1 遺伝子が 1 酵素の生合成を制御しているという仮説を立てた (one gene-one enzyme 仮説)。このような立場からすると、遺伝子の変化が酵素活性に影響を与えるには少なくとも 3 通りの場合がある。

表 8-10A 欠損あるいは修飾された酵素又はタンパク質が既に同定されている  
ヒトの遺伝的代謝異常の例

異 常	影響される酵素又はタンパク質
有棘赤血球症	$\beta$ -リポタンパク質
無カタラーゼ血症	カタラーゼ
無フィブリノーゲン血症	フィブリノーゲン
無ガンマグロブリン血症	$\gamma$ -グロブリン
白子	チロシナーゼ
アルカプトン尿症	ホモゲンチジン酸オキシダーゼ
無アルブミン血症	血清アルブミン
アルギニノコハク酸血症	アルギニノスクシナーゼ
ガラクトース血症	ガラクトース 1-リン酸ウリジルトランスフェラーゼ
グリコーゲン蓄積症	
I型 (von Gierke 型)	グルコース 6-ホスファターゼ
III型	アミロ-1, 6-グルコシダーゼ
IV型	アミロ-(1, 4 $\rightarrow$ 1, 6)-トランスグリコシラーゼ
V型 (McArdle 型)	筋ホスホリラーゼ
VI型 (Hers 型)	肝ホスホリラーゼ
甲状腺腫 (家族性)	ヨードチロシンデハログナーゼ
Hartnup 病	トリプトファンピロラーゼ
ヘモグロビン症	ヘモグロビン
血友病 A	抗血友因子 A
血友病 B	抗血友因子 B
ヒスチジン血症	ヒスチダーゼ
過ビリルビン血症 (Gilbert 病)	ウリジンジリン酸グルクロン酸トランスフェラーゼ
低リン酸酵素症	アルカリホスファターゼ
楓糖蜜尿症	アミノ酸デカルボキシラーゼ
メトヘモグロビン血症	メトヘモグロビンレダクターゼ
オロト酸尿症	オロチジン 5'-リン酸ピロホスホリラーゼ
バラ血友病	促進グロブリン
ペントース尿症	L-キシロースデヒドロゲナーゼ
フェニルケトン尿症	フェニルアラニンヒドロキシラーゼ
ウイルソン病	セルロプラスミン
キサントニン尿症	キサントニンオキシダーゼ
Lesch-Nyhan 症候群	ヒポキサントニン-グアニン ホスホリボシルトランスフェラーゼ

- ① 酵素分子の構造が変る場合
- ② 酵素を作れなくなり、そのため反応速度が小さくなる場合
- ③ 酵素自身は変化しないが、別の間接的影響を受ける場合

で、これらについては代謝調節の項で論ぜられた。

### 8-13-5 遺伝性疾患

遺伝子障害に基づく遺伝性疾患は、表 8-10 に掲げる。

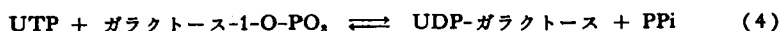
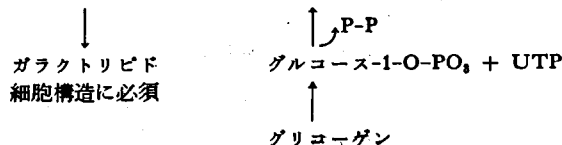
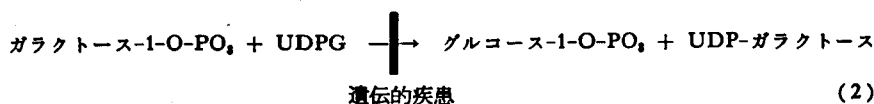
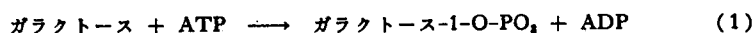
次に 2, 3 の例について検討してみよう。

F102-11

表 8-10 B 影響されるタンパク質が未同定な遺伝的疾患

具 常	生 化 学 的 な 徴 候
先天性脂肪下痢症	脂質の消化及び(あるいは)吸収の障害
シスチン尿症	シスチン, リジン, アルギニン, オルチニンの排泄
シスチン蓄積症	アミノ酸特にシスチンの利用不能 アミノ酸の細胞内への移行障害
Fanconi 症候群	アミノ酸の排泄増加
果糖糖尿症	果糖の排泄
ガルゴイリズム (Hurler 症候群)	コンドロイチン硫酸 B の過剰排泄
Gaucher 病	組織におけるセラブロシド, セラミドの蓄積
Niemann-Pick 病	組織におけるスフィンゴミエリンの蓄積
ボルフィリヤ	ウロポルフィリンの排泄増加
Tay-Sachs 病	組織におけるガングリオシドの蓄積

ガラクトセミアの患者の新生児は、ラクトースから出来るガラクトースやガラクトース 1-リン酸を代謝できない。体重が減少し、肝臓肥大、白内障が起る。ガラクトースを摂らなければ病気は起きない。ガラクトースは主としてガラクトリピドになる。これは神経組織と膜を構成する重要成分であ



る。それには、

ガラクトセミアの患者には、式 (2) の反応を触媒する hexose phosphate uridylyltransferase が欠除している。

新生児の肝臓では (4) 式を触媒する galactose 1-phosphate uridylyltransferase がほとんどないが、新生児が数年間生き抜くことができれば、年とともにこの酵素の活性が増してくるので、(1)→(2)→(3)の経路によらずに、(1)→(4)→(3)の経路によってガラクトースを処理できるようになり、ガラクトースを摂取してもよいようになる。反応 (3) を触媒する酵素は UDP-glucose 4-epimerase という。

**Phenylketone 尿症** この代謝性欠陥を示す小児では知能発育の遅延がしばしばみられる。Phenylketone 尿症患者はフェニルアラニンを正常のように代謝することができない。そのためフェニルアラニンは血中に蓄積して、血漿中のレベルは 15~63 mg/100 ml という濃度にまで達することが報告されている(血漿中のフェニルアラニンの正常範囲は 1~4 mg/100 ml)。このほかにかかなり多量のフェニルアラニンとその代謝産物 (phenylpyruvic acid, phenyllactic acid, phenylacetic acid, phen-

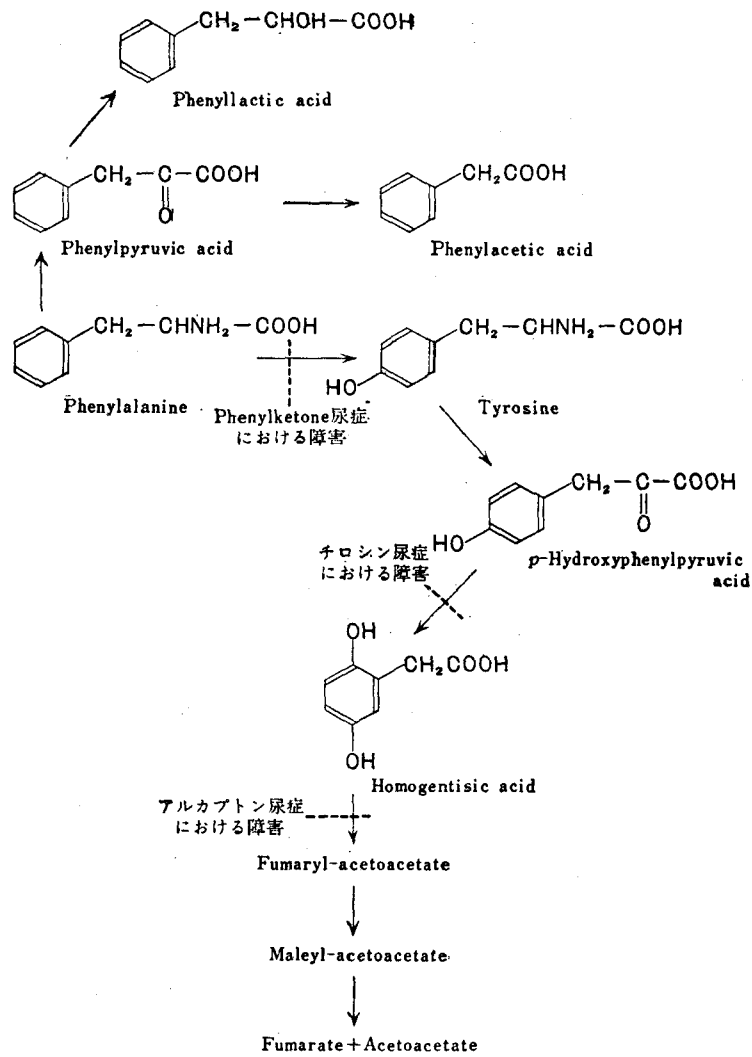


図 8.51

ylacetyl glutamine) が尿中に排出される。

Phenylketone 尿症では phenylalanine hydroxylase 活性が肝臓で欠除していることが明らかとなった(図 8.51)。チロシン代謝に関する他の遺伝疾患(アルカプトン尿症, チロシン尿症)の代謝上の障害部位も図に示されている。

## 8.14 癌とウイルス

### 8.14.1 癌細胞

癌という病気は古くから記載されているが、それが細胞単位の病気であるとはっきり認識されるようになったのは Virchow (1858) 以来であろう。癌にもいろいろな種類や病像があるが、その共通点



を整理すると、次のようにいうことができる。

「細胞が不可逆的な変化を起し、自律的増殖を行って遂に宿主を斃すに至る。このような細胞群を癌細胞と呼ぶ」

癌性変化が本当に不可逆であるかどうかは明らかでないが、簡単に可逆的でないことは、癌細胞が細胞分裂を行っても、癌細胞であり続けることから当然予想される。

自律的増殖は癌の中心概念とも言うべく、単に増殖が速いだけでは、正常な骨髄細胞や胎児の細胞などは、これに優るとも劣らない。しかしこれらはよくコントロールされた増殖であって、常に個体としての全身から制御を受けている。この制御を受けつけなくなるところに癌の本質があるのである。

この原因について、生化学的研究が盛んに行われているがまだ明らかにされていない。多くの癌細胞にみられる性質として嫌氣的解糖の増加、呼吸の減少 (Warburg, 1923) や一定の酵素活性パターンの収斂 (Greenstein, 1954) などが報告されたが、これらの多くは、急速な増殖のために好都合な代謝パターンを示すに過ぎない。事実 Morris (1960) は母体となった肝臓と極めてよく似た代謝パターン (酵素活性のパターン) を示す幾つかの肝癌を作ることに成功した (Morris 肝癌, 最小偏奇肝癌)。現在は癌細胞に特有でありかつ共通の代謝パターンの変化というものは捉えられていない。

#### 8.14.2 発癌の分子機構

正常細胞が癌細胞に変ることを発癌というが、この機構はまだ不明である。発癌の原因としては

① 化学物質 (発癌剤)、② 放射線等の物理的作用及び、③ ウイルスがある。

発癌剤の多くは同時に突然変異誘起性を持っており、少なくとも核酸と強い相互作用があることは、発癌が何か遺伝物質の変化に基づくのではないかと疑わせる。これは、先に述べた癌性変化の不可逆性 (安定性) とも通じるものである。放射線やウイルスの作用もそのレベルで考えることができる。

しかし一方、発癌が遺伝物質としての DNA 自身の変化ではなく、DNA 上の情報発現の異常、換言すれば分化の異常であると考えられる人々もいる。いずれが正しいかはまだ不明であるが、細胞が自律的増殖を起す条件が揃えばよいのだから両方の場合があるのかも知れない。いずれにせよ、ほとんどすべての種類の細胞が癌細胞になり得ることや、いったん癌化した細胞は、形態的にも代謝的にもよく似たパターンへ近づくとなどは、細胞の制御機構の極めて微妙な変化によって、一斉に自律的増殖へ向う機構が働き出すようなメカニズムが想像される。この後半の機構 (増殖機構) は正常の細胞増殖と基本的には変わらないと考えられるので問題は最初の引金となるような機構であるが、これを分子レベルで見出すことは容易ではない。しかし以下に述べる腫瘍ウイルスによる解析が最も有望なアプローチとして期待されている。

#### 8.14.3 ウイルス発癌

現在、各種の動物にいろいろな癌を起させるウイルスが知られているがそれはそのゲノムによって DNA 腫瘍ウイルスと RNA 腫瘍ウイルスに分けられる。

## 1) DNA 腫瘍ウイルス

代表的なものは SV40 やポリオーマのように小型(分子量  $3 \times 10^6$ ) 環状 DNA を持つものと、アデノウイルスのように中型線状 DNA (分子量  $2 \sim 2.5 \times 10^7$ ) をもつもの、及びヒトのある種のリンパ肉腫との関係が疑われている EB ウイルス (分子量  $9 \sim 10 \times 10^7$ ) などがある。これらのウイルスは自然宿主細胞内では、増殖してウイルスを産生し、その細胞を破壊するが、異なる細胞に感染すると増殖できず、潜伏してその細胞を癌化するようなことが多い。この時、ウイルス DNA は宿主細胞 DNA の中に組み込まれ、かつ癌化した細胞内で、そのゲノムが RNA に転写されていることが明らかとなっている。そしてこのようなことが起ることが、細胞の癌化に必要な条件らしい。現在はこれら DNA ウイルスの DNA 断片のみで細胞を癌化することができるようになったので、ゲノムのどの部分が癌化に必要なか、そしてその部分はどのような情報を持っているかが追究されつつある。

## 2) RNA 腫瘍ウイルス

この代表的なものはマウス白血病、マウス肉腫、トリ白血病、トリ肉腫 (Rous 肉腫) などであり電子顕微鏡上 C 型粒子と呼ばれる構造を持つ。マウス乳癌ウイルス (B 型粒子) もよく似た性質を持つ。これらはすべてゲノムとして 70S RNA (30~40S のサブユニットより成る) を持ち、細胞から出芽 (budding) によって原形質膜の一部を被って出てくる。このウイルス粒子が逆転写酵素 (p. 194) を持っていることは既に述べたが恐らくこれを用いて、感染細胞内でこの RNA と相補的な DNA、次いで二重鎖 DNA を作り、これは細胞内 DNA 中に組み込まれる (プロウイルス, provirus, Temin, 1964)。感染細胞の癌化にはこの組み込みとそのゲノムの転写が必要であるらしい。

Huebner と Todaro (1969) は多くのマウス細胞研究から、C 型ウイルスゲノムはすべての動物細胞に存在しており、その一部の癌遺伝子が switch-on されると、細胞は癌化し、全体として RNA に転写されると RNA 腫瘍ウイルスとして出てくると考えた (virogene-oncogene 説)。その後、いろいろな条件によって細胞から内因性ウイルス (endogenous virus) の誘発が行われ、この説に支持が与えられている。

ヒトの癌がウイルスによるかどうかは、なお確証がないが、それを疑わせる証拠は、白血病などを中心に蓄積されつつある。

## 8.14.4 担癌生体

癌を持っている個体はやがて栄養が低下し、貧血が起り、悪液質 (cachexia) に陥る。これは癌が血中から栄養分を大量に取り上げて了うだけでなく、何らか有毒な物質を分泌しているのではないかと考えられた。中原 (1948) は癌細胞の抽出物がマウス肝臓のカタラーゼ活性を強く低下させることを見出し、この原因物質をトキシホルモンと名付けた。この物質の化学的本態は多くの研究者の努力にもかかわらずいまだ明らかでないが、単一物質でない可能性も指摘されている。

最近、担癌生体における免疫不全状態が注目されている。健康な人に比べて癌患者には細胞性免疫が出来難いという。

これは癌の発生にも重大な結果を及ぼしているのかも知れない。すなわち、生体内で時折発生する癌細胞は健康人では細胞性免疫が生じて殺されてしまうが、何らかの原因で免疫不全状態にある人は、その発育を許し、遂に癌細胞の大きな集団が出来上る可能性がある。

## 8・15 進 化

約 45 億年前に地球が誕生してから、生命と呼びうる形態が出現するまでの時間よりもそれが生じてから現在に至るまでの時間(30 億年)の方が長いのは驚くべきことである。更に詳しく見るならば前核細胞から真核細胞が生ずるまでに要した時間は 10 数億年であって、これは、地球が生れてから生命が誕生するまでの時間に匹敵する。真核細胞が生まれてから多細胞生物となり、更に多くの種に分化していく過程は比較的急速に見える。これら進化の過程は、その基底には情報高分子の変化があるわけであり、その主なものは DNA (=遺伝子) であると考えられる。DNA 上の突然変異がタンパク質の 1 次構造の変化を起し、それが生物の形質の変化として現れる。

各種の生物のタンパク質を比較すると、進化の過程において次のようなことが起ったことが伺われる。

- ① 系統発生の各段階において同じ機能を満たすタンパク質(酵素)、例えば homologous gene によって合成の方向が定められると思われる解糖系の酵素やシクロム c 等は著しく改造されてきた。
- ② ある種のタンパクは消失し、
- ③ 多くの新しいタンパクが現れてきた。

タンパク質の構造や分布は種の表現形を示すものであるから、これら三つの主な変化は進化の作用そのものを表すものと考えられる。第 3 章でも述べたように、タンパク質(酵素)の種による違いは活性中心以外の場所に存在し、活性中心そのものの構造は多数の種について一定である。例えば、イーストとヒトが共通の先祖から分化して以来、突然変異に基づいてアミノ酸の置換がこれらの種に蓄積されてきたと考えられるが、これらのタンパク質の活性中心の構造は両者共通に残っているのである。

同様のことは RNA についても見出される。すなわち、動物のリボソーム RNA は大きな前駆体として読み取られ(45S RNA)、それが次第に切れて遂に 18S と 28S RNA になるが、その途中で、この 18S+28S に近い長さの部分が切り取られ分解して棄てられることがわかっている。ここでリボソーム中に残る 18S と 28S RNA は近縁の種では極めて近い配列を持っているが、前駆体の中の棄てられる部分はかなり異なる配列を持つことが明らかとなった。このように分子の中で重要な機能を司る部分は進化の過程で変りにくいことは明らかである。古生物学によれば、ヒトとウマは 1~1.5 億年前に共通の先祖から分離したと考えられる。両者のヘモグロビンの  $\alpha$ -鎖は 18 カ所において異なっている。これはそれぞれの種が 9 コの突然変異をその間に蓄積してきたことになる。それは 1200 万年の間に一つの割合で突然変異が起ってきたことになる。

このような「分子進化」の研究は、ヒトを含む生物の進化の機構を解明する上に重要な基礎を提供するであろう。



# 付 録

## 1. 糖類の構造と名称

### 1.1 単 糖 類

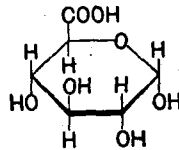
糖質を分類すると単糖類、少糖類(加水分解により2~10コの単糖を生ずるもの)及び多糖類(加水分解により10コ以上の単糖を生ずるもの)に分かれる。

単糖類は不斉炭素原子の中で最大の番号を持つもの(炭素の番号はカルボニル炭素の番号がより低い値をとるように定められている)の配位がDであればD系列に属し、LであればL系列に属する。

Fisher 投影法により糖の構造を環状に書いたとき新たに生ずる不斉炭素原子(anomeric carbon)につくヘミアセタールの水酸基が、最大の番号をもつ不斉炭素原子(reference carbon)と同じ配位であるときは $\alpha$ 、逆向きの際は $\beta$ と名付ける。

Anomeric carbon のヘミアセタール水酸基がアルコールと縮合しアセタール結合を生ずるとこれをグリコシドという。この命名には糖の名称の末尾の-eを-ideに置き換える。そしてアルコールのalkyl部の名前を前に離して書く(例: methyl\* $\alpha$ -D-glucopyranoside)。

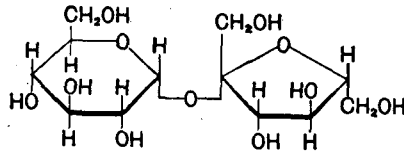
アルド糖の末端の-CH<sub>2</sub>OH基が酸化されると-COOHとなるがこれをウロン酸という。ウロン酸の名称は糖の名称の末尾の-oseをuronic acidに変えて得られる。



$\alpha$ -D-Glucopyranuronic acid

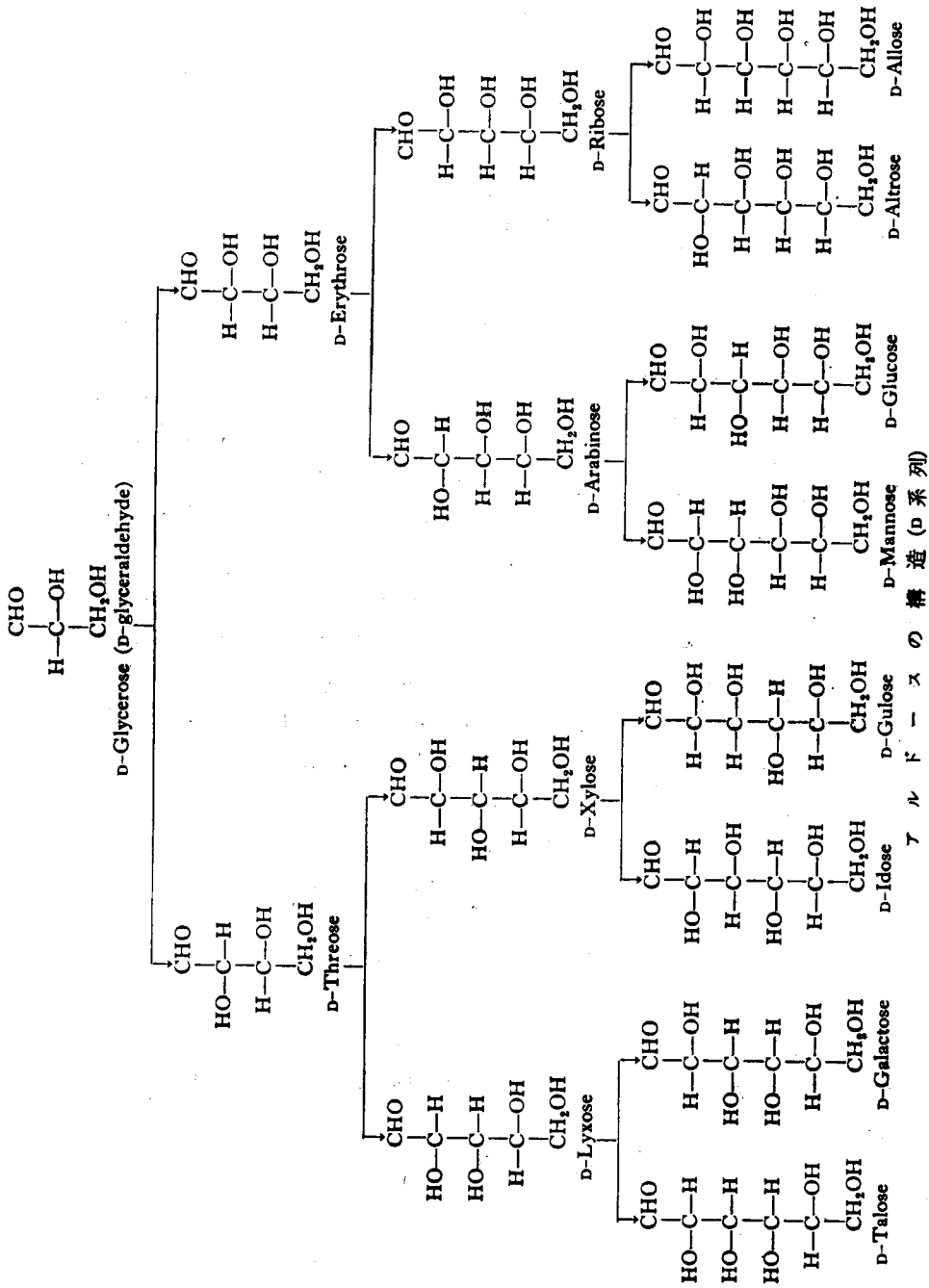
### 1.2 少 糖 類

二糖類は還元性を有するものと有しないものとに分かれるが、前者は glycosyl glycoside として命名する。

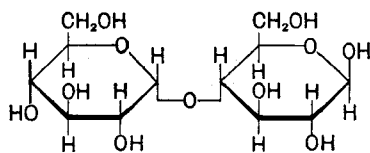


Sucrose  $\beta$ -D-fructofuranosyl\*  $\alpha$ -D-glucopyranoside  
 $\alpha$ -D-glucopyranosyl\*  $\beta$ -D-fructofuranoside

\* この位置にハイフンは不用(グリコシドであるからアルコール供与体は離して書く)

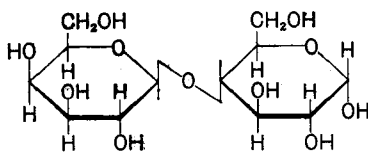


後者は glycosylglycose として命名する。



$\beta$ -Maltose 4-O- $\alpha$ -D-glucopyranosyl\*- $\beta$ -D-glucopyranose

三炭糖以上の少糖類では、還元糖は glycosylglycosylglycose として命名される。二つの glycosyl 基の間に二つの炭素番号を入れこれを矢印 (glycosyl 炭素に相当する炭素の番号から結合に関与している水酸基を含む炭素の番号に向かって矢印をする) をしかつ全体をかっこで括る。二糖類でもこの命名は使われる (例: ラクトース)。



4-O- $\beta$ -D-Galactopyranosyl- $\alpha$ -D-glucopyranose  
O- $\beta$ -D-Galactopyranosyl-(1  $\rightarrow$  4)- $\alpha$ -D-glucopyranose

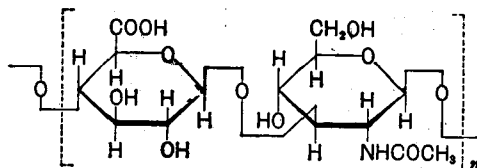
### 1.3 多糖類

多糖類は部分水解によって少糖類を与える repeating unit よりなる。アミロースの repeating unit はマルトースであり、アミロペクチンのそれはマルトースとイソマルトース (6-O- $\alpha$ -D-glucopyranosyl-D-glucopyranose) である。したがって、後者は  $\alpha$ -(1  $\rightarrow$  4) 結合の鎖が  $\alpha$ -(1  $\rightarrow$  6) 結合の所で枝分かれしている。

グリコーゲンもマルトースとイソマルトースの二つの repeating unit をもつ枝分かれ構造をしている。

### 1.4 ヘテロポリサッカライド

ヘテロポリサッカライドもそれぞれ特有の repeating unit からなりたっている。代表的なヘテロポリサッカライドの repeating unit を次に示す。

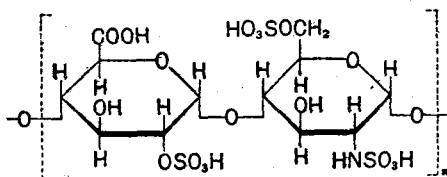


D-グルクロン酸 N-アセチル-D-グルコサミン  
ヒアルロン酸の repeating unit

\* この位置にはハイフン必要(水酸基に対するグリコシル置換基と見なすから)







D-グルクロン酸 2-硫酸 D-グルコサミン N-硫酸  
6-硫酸

ヘパリンの repeating unit

## 2. 脂質の構造と名称

脂肪酸の慣用名と系統名は一括して表付1, 2に示す。

表付1. 飽和脂肪酸

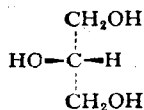
慣用名	系統名	構造式
酢酸		$\text{CH}_3\text{COOH}$
プロピオン酸		$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}$
酪酸		$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$
Caproic	<i>n</i> -hexanoic	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{COOH}$
Caprylic	<i>n</i> -octanoic	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$
Pelargonic	<i>n</i> -nonanoic	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
Capric	<i>n</i> -decanoic	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{COOH}$
Lauric	<i>n</i> -dodecanoic	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$
Mysistic	<i>n</i> -tetradecanoic	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$
Palmitic	<i>n</i> -hexadecanoic	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$
Stearic	<i>n</i> -octadecanoic	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$
Arachidic	<i>n</i> -eicosanoic	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COOH}$
Behenic	<i>n</i> -docosanoic	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{20}\text{COOH}$
Lignoceric	<i>n</i> -tetracosanoic	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{22}\text{COOH}$

表付2. 不飽和脂肪酸

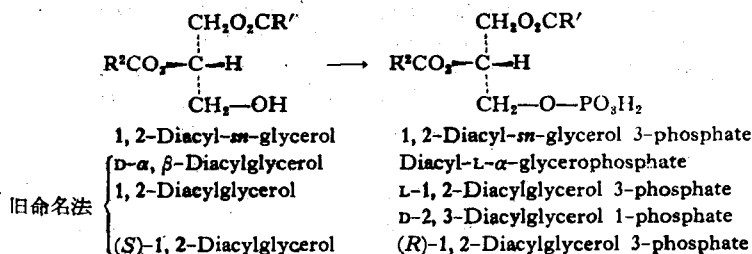
慣用名	系統名	構造式
Palmitoleic*	9-hexadecenoic	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
Oleic*	<i>cis</i> -9-octadecenoic	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
Elaidic	<i>trans</i> -9-octadecenoic	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
Vaccenic	11-octadecenoic	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_9\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$
Linoleic*	<i>cis, cis</i> -9, 12-octadecadienoic	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
$\alpha$ -Linolenic	9, 12, 15-octadecatrienoic	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
$\gamma$ -Linolenic	6, 9, 12-octadecatrienoic	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_4\text{COOH}$
Eleostearic	9, 11, 13-octadecatrienoic	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
Arachidonic*	5, 8, 11, 14-eicosatetraenoic	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$
Nervonic	<i>cis</i> -15-tetracosenoic	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_{13}\text{COOH}$

## 2.1 グリセリドの命名法

グリセリドの命名に関しては1960年に新しい提案がなされた。現在はこの提案がIUPAC-IUBの生化学命名委員会によって採用されている。その基本的な考え方はグリセロールの二つのカルビノール基を区別して考えようとするものである。このことはクエン酸の非対称的反応についての Coston の説明(82頁)に基礎を置いている。すなわち Fisher 投影法



で示したグリセロールにおいて、OH 基が左側に来たときは上側のカルビノール炭素を1とし、下側のものを3とすることにし、その命名が stereospecific numbering であることを示すため *sn* という記号を化合物名の前につける。したがって上に記したグリセロールは *sn*-glycerol ということになる。このように書くと、O 置換基がいずれの炭素に来てても炭素の番号は変わらない。この表示法と従来の表示法との違いを見るため、1,2-*sn*-diacylglycerol のリン酸化反応を新旧の命名法で表すと次のようになる。なお中性脂肪についても triglyceride とか diglyceride という不完全な名称の代りに、

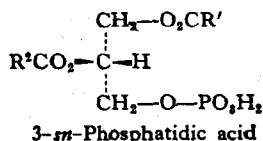


triacylglycerol, diacylglycerol という名称を用いる方が好ましいとされている。

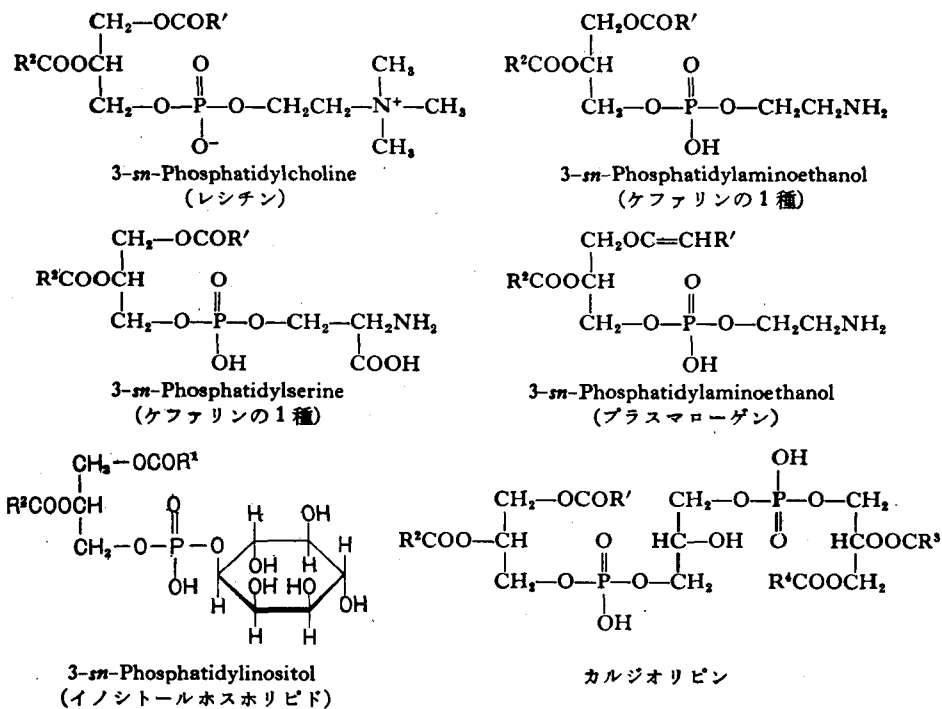
## 2.2 リン脂質

グリセロリン酸が少なくとも一コの O-acyl, O-alkyl あるいは O-alk-1'-en-1-yl 基を含むときは phosphoglyceride と呼び "choline phosphoglyceride" というように表現する。

グリセロリン酸の残る二つの水酸基がともにエステル化しているときは phosphatidic acid という。

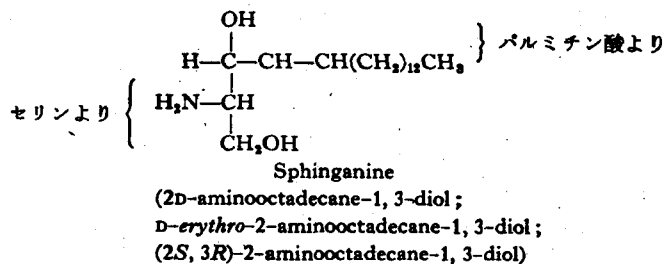


リン脂質は phosphatidic acid の誘導体と見なされる。その主なものの構造と名称は次の通りである。

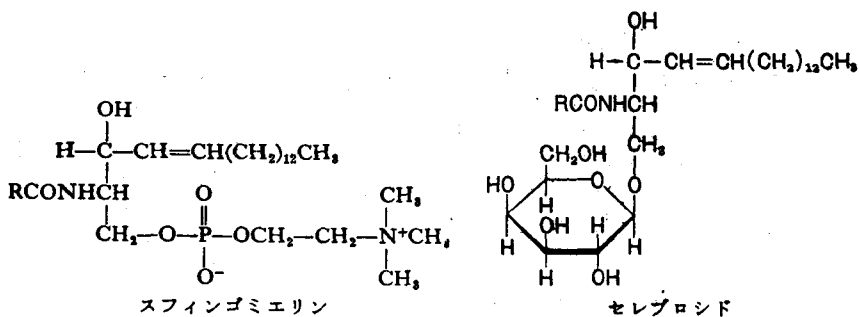


## 2.3 スフィンゴリピド

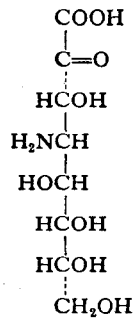
スフィンゴリピドは sphinganine の誘導体と考えることができる。Sphinganine の構造は次の通りである。



代表的なスフィンゴリピドの構造を次に示す。



## 2.4 ノイラミン酸



Neuraminic acid

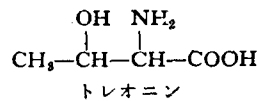
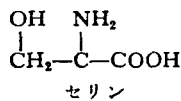
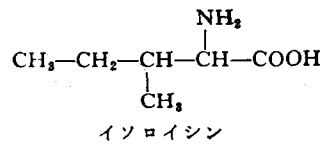
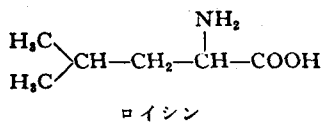
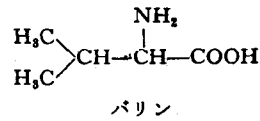
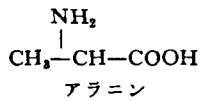
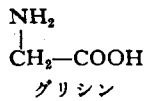
(5-amino-3, 5-dideoxy-D-glycero-D-galacto-nonulosonic acid)

Sialic acid は *N*-acetylneuraminic acid 並びにそのエステル, その他アルコール性水酸基の誘導体の総称である。

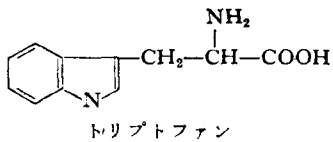
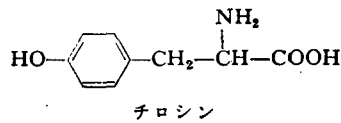
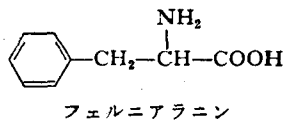
## 3. アミノ酸

アミノ酸の構造と名称は一括して次に示す。

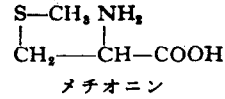
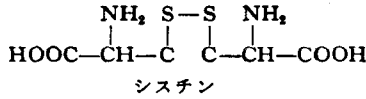
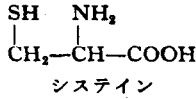
## 中性アミノ酸



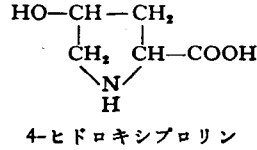
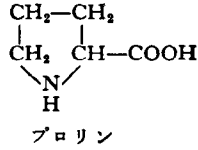
## 芳香族アミノ酸



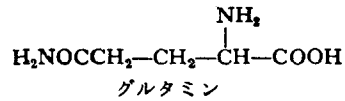
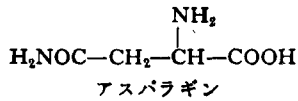
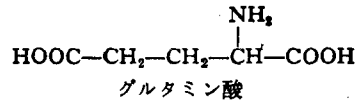
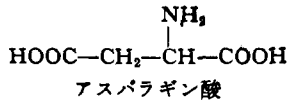
## 含硫アミノ酸



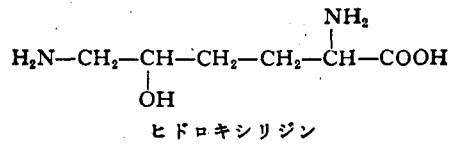
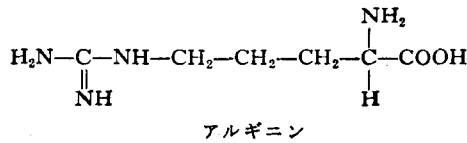
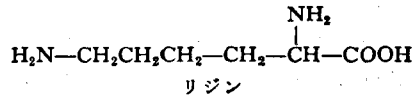
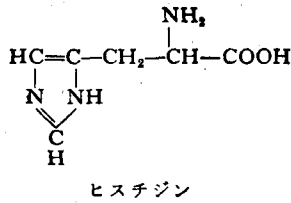
## イミノ酸



## 酸性アミノ酸



## 塩基性アミノ酸



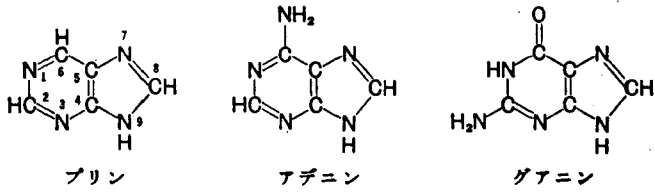
## 4. プリン及びピリミジン塩基

核酸を加水分解して得られる塩基はプリン及びピリミジン誘導体である。

11-70/4

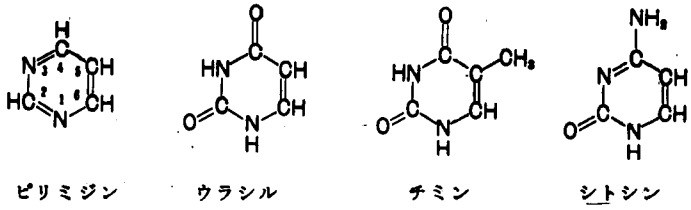
4.1 プリン塩基

普通に見られるプリン塩基は次の2種である。



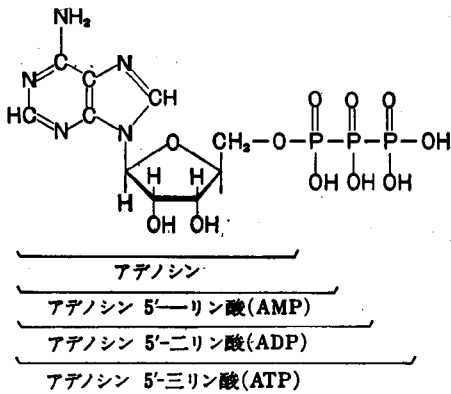
4.2 ピリミジン塩基

普通に見られるピリミジン塩基は次の3種である。



4.3 ヌクレオシド及びヌクレオチド

ヌクレオシドはプリンやピリミジン塩基が糖とβ-N-グリコシド結合したものである。又ヌクレオチドはヌクレオシドのリン酸エステルである。グリコシド結合する糖には2種類あり、一つはD-リボース、他は2-デオキシ-D-リボースである。結合はプリン塩基の場合は9位のNとピリミジン塩基の場合は1位のNとの間に行われる。リン酸エステルの種類にはモノ、ジ、及びトリリン酸エステルの3種類がある。いまアデニンを例にとって説明すると次のようになる。AMPはまたアデニル酸とも呼ばれる。



11V

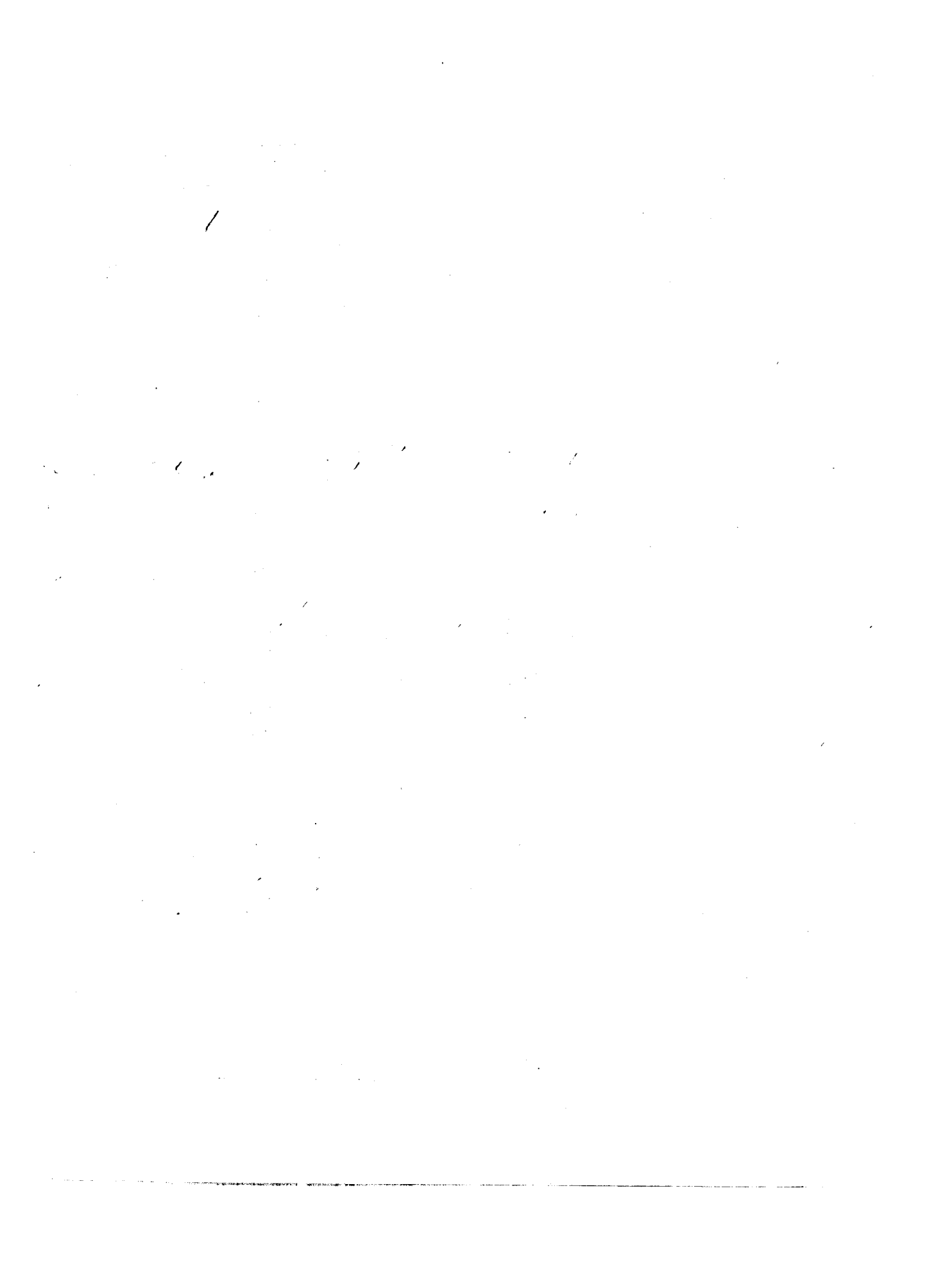
普通に見られるヌクレオチドは次の通りである。

リボヌクレオチド

塩 基	糖	リ ン 酸	名 称
アデニン	リボース	一リン酸	AMP (アデニル酸)
アデニン	リボース	二リン酸	ADP
アデニン	リボース	三リン酸	ATP
グアニン	リボース	一リン酸	GMP (グアニル酸)
グアニン	リボース	二リン酸	GDP
グアニン	リボース	三リン酸	GTP
シトシン	リボース	一リン酸	CMP (シチジル酸)
シトシン	リボース	二リン酸	CDP
シトシン	リボース	三リン酸	CTP
ウラシル	リボース	一リン酸	UMP (ウリジル酸)
ウラシル	リボース	二リン酸	UDP
ウラシル	リボース	三リン酸	UTP

デオキシリボヌクレオチド

塩 基	糖	リ ン 酸	名 称
アデニン	2-デオキシリボース	一リン酸	dAMP (デオキシアデニル酸)
アデニン	2-デオキシリボース	二リン酸	dADP
アデニン	2-デオキシリボース	三リン酸	dATP
グアニン	2-デオキシリボース	一リン酸	dGMP (デオキシグアニル酸)
グアニン	2-デオキシリボース	二リン酸	dGDP
グアニン	2-デオキシリボース	三リン酸	dGTP
シトシン	2-デオキシリボース	一リン酸	dCMP (デオキシシチジル酸)
シトシン	2-デオキシリボース	二リン酸	dCDP
シトシン	2-デオキシリボース	三リン酸	dCTP
チミン	2-デオキシリボース	一リン酸	dTMP (デオキシチミジル酸)
チミン	2-デオキシリボース	二リン酸	dTDP
チミン	2-デオキシリボース	三リン酸	dTTP





## 人名索引

Astrachan 186  
Avery 172  
Baltimore 194  
Beadle 305, 308  
Bergmann 19  
Bergström 151  
Bernhard 98  
Braehet 186  
Braunstein 107  
Cairns 176  
Caspersson 186  
Chance 133  
Changeaux 217  
Chase 172  
Claude 195  
Corey 28  
Davies 255  
Dintzis 205  
Embden 68  
Eyring 52  
Fisher 159  
Fraenkel-Conrat 184  
春名 185  
林 189  
Henderson-Hasselbalch 249  
Hershey 172  
Hoagland 199  
Hogeboom 195  
Hurwitz 191, 192  
Huxley 257  
Karlson 223  
Kendrew 30  
Khorana 210  
Kitzmann 107  
Kornberg 178, 184  
Langerhans 294

Lederberg 305  
Lineweaver-Burk 55  
Marmur 189  
Matthaei 210  
Mead 98  
Meselson 177  
Meyerhof 68  
Miescher 160  
Mizutani 194  
Monod 217  
Nirenberg 210  
野村 187  
Northrop 37  
Ogston 322  
Parnas 68  
Pauling 28  
Rittenberg 94  
Rose 105  
佐藤 150  
Schönheimer 94, 105  
Sørensen 19  
Spiegelman 185, 187  
Stahl 177  
Stanley 184  
Sumner 37  
Svedberg 32  
Tatum 305, 309  
Temin 194  
殿村 256  
Vagelos 150  
Volkin 186  
Wakil 146  
Warburg-Dickens-Horecker 88  
Wilkins 174  
Wyman 217

# 件名索引

## A

**A 帯** 257  
 accepter control 137  
*N*-acetylglucosamine 40  
*N*-acetylmannosamine 145  
   -6-Ⓢ 145  
*N*-acetylmuramic acid 40  
*N*-acetylneuramic acid 145  
   -9-Ⓢ 145  
 ACTH 225, 289  
 active center 39  
 active site 39  
 acyl carrier protein (ACP) 147  
 $\Delta^2,^3$ -*cis*-acyl-CoA 99  
 $\Delta^3,^4$ -*cis*-acyl-CoA 98  
 adaptor 202  
 adenosine deaminase 117  
*S*-adenosylmethionine 152  
 adenyl cyclase 144  
 adenylate kinase 255  
 ADP 11  
 adrenocorticotrophic hormone 289  
 adrenodoxin 136  
 $\beta$ -alanine 117  
 aldosterone 301  
 allosteric effector 214  
 allowance 227  
 allylisopropylacetamide (AIA) 155  
 $\alpha$ -amanitin 193  
 amino acid sequencer 27  
 aminoacyl tRNA site 207  
 $\gamma$ -aminobutyric acid 260  
 $\beta$ -aminoisobutyric acid 117  
 AMP 11, 61  
 ampholyte 19  
 anaplerotic reaction 87  
 anomeric carbon 317  
 anoxia 260  
 antabuse 299  
 arackidic acid 321  
 Arrhenius の式 52  
 aspartate transcarbamylase 61  
 asymmetric transcription 191  
 ATP (adenosine triphosphate) 10  
   合成酵素 123  
 atractyloside 123  
 アビジン 146  
 アデニン 116, 160, 326, 327

アデニレートキナーゼ 123  
 アデニロコハク酸 167  
 アデニル酸 326  
 アデニルシクラーゼ 68  
 アデノシン 117  
   —ホスホキナーゼ 171  
 アデノウイルス 314  
 アドレナリン 113, 144, 225, 263  
 アグマチン 113  
 アイソザイム 75  
 アカバシカビ 306  
 アコニターゼ 81, 123  
 アコニテートヒドラターゼ 81  
 アクチン 252  
 アクチノマイシン D 192, 286  
 アクトミオシン 253  
 アミノアシル tRNA 合成酵素 200  
 5-アミノイミダゾール-4-カルボキシアミドヌクレオチド 166  
 5-アミノイミダゾール-4-*N*-スクシノカルボキシアミドリボヌクレオチド 166  
 8-アミノ-1,3,6-ナフタレントリスルホン酸 174  
 アミノペプチダーゼ 106, 233  
 アミノプロピオニトリル 265  
 $\gamma$ -アミノ酪酸 114  
 $\delta$ -アミノレプリネートシンターゼ 155  
 $\delta$ -アミノレブリン酸 155  
 アミノ酸分析装置 24  
 アミノ酸活性化酵素 199  
 D-アミノ酸酸化酵素 45, 108  
 L-アミノ酸酸化酵素 45, 250  
 アミノ転移反応 49, 107  
 アミノ転移酵素 107  
 $\alpha$ -アミラーゼ 232  
 アミロ-1,6-グルコシダーゼ 67  
 アミタール 127  
 アンチコードン 202  
 アンチマイシン A 127  
 アンモニア 110  
 アンセリン 114  
 安息香酸 94  
 アポ酵素 41  
 アラキドン酸 150, 230, 305, 321  
 アラニン 324  
   —トランスアミナーゼ 107  
 アラントイン 116  
 アロステリック部位 217  
 アロステリック効果 214  
 アロステリック酵素 71

アロステリック阻害 60  
 アルブミン 35  
 アルドラーゼ 71  
 アルギナーゼ 111  
 アルギニン 111, 113, 309, 325  
 アルギニノコハク酸 111  
   合成酵素 111  
   —血症 310  
 アルギニノスクシナーゼ 111  
 アルカプトン 321  
   尿症 310  
 アルカロージス 249  
   代謝性— 249  
 アルコールデヒドロゲナーゼ 76  
 アルコール発酵 2, 69, 76  
 アセチル-CoA 78, 81, 86, 115, 141  
   —カルボキシラーゼ 83, 146  
*N*-アセチルグルタミン酸 110  
 アセチルジヒドロリポ酸 78  
 アセチルコリン 262  
   —アセチラーゼ 262  
   —エステラーゼ 262  
 アセチル-リポ酸複合体 78  
 アセチルスルファミン 80  
 アセチルトランスフェラーゼ 96  
 アセトアルデヒド-TTP 複合体 78  
 アセトアセチル-CoA 100  
 アセトン 100  
 アセト酢酸 100  
 アシドージス 248  
   代謝性— 249  
 アシル-ACP 147  
 アシル-CoA デヒドロゲナーゼ 95  
 アシル-CoA シンテターゼ(チオキナーゼ) 95  
 アシルカルニチン 96  
 アシルリン酸 11  
 アシルトランスフェラーゼ 96  
 アスコルビン酸 97  
 アスパラギン 325  
 アスパラギン酸 87, 111, 168, 214, 325  
   L— 109, 114  
   —トランスアミナーゼ 107  
 アスパルターゼ(L-アスパラギン酸デアミナーゼ) 109  
 アスパルテートトランスカルバミラーゼ(ATCase) 169, 214, 217

## B

Basedow 病 293  
 behenic acid 321  
 Bence-Jones タンパク質 279  
 biotin 47  
   酵素 99  
 blood-brain barrier 259

Bohr 効果 240  
 Boltzmann 定数 52  
 branching enzyme 144  
 Brönsted の酸基 20  
 馬尿酸 94  
 バリン 324  
   L— 105, 115  
 パソプレシン 248, 290  
 ベンゾキノリジン 263  
 ビオチン 141, 146, 166  
 ビリベルジン 118  
 ビリルビン 118  
   —ジグルクロノド 118  
 ビタミン  
   A アルデヒド 273  
   B<sub>12</sub> 232  
   D 269, 270  
   D<sub>3</sub> 102  
   F 150  
   の所要量 231  
 分配クロマトグラフィー 22  
 分子篩法 33  
 分枝除去酵素 67  
 分子量 32  
 5-プロモウラシル 179  
 プロムシアン 24

## C

C-region 279  
 capric acid 321  
 caproic acid 321  
 caprylic acid 321  
 carbamino Hb 242  
 carbonic anhydrase 38  
 carnitine 96  
 casein 36  
 Castle の内因子 232  
 catalytic subunit 217  
 catechol *O*-methyltransferase (COMT) 299  
 CDP-ethanolamine 152  
 5 $\beta$ -cholestane-3 $\alpha$ , 7 $\alpha$ , 12 $\alpha$ , 26-tetrol 104  
 5 $\beta$ -cholestane-3 $\alpha$ , 7 $\alpha$ , 12 $\alpha$ -triol 103  
 choline 153  
   —acetyltransferase 48  
 chromoprotein 36  
 chylomicron 235  
 citrate synthetase クエン酸合成酵素 48  
 CMP-*N*-acetylneuramic acid 145  
 CO<sub>2</sub> の運搬 241  
 CoA (coenzyme A) 48, 78  
   —-SH 13  
 cobamide 酵素 99  
 codon 209  
 coenzyme Q 46

— cytochrome c reductase 126  
 competitive inhibitor 58  
 complex I, II, III, IV 126  
 core 酵素 192  
 corepressor 219  
 Cori の cycle 255  
 corticosterone (B) 301  
 corticotropin (ACTH)-releasing hormone  
 (factor) CRH or CRF 291  
 cortisol (F) 301  
 coupling factor (F<sub>1</sub>) 135  
 Crabtree 効果 138  
 creatine kinase 254  
 crossover point 133  
 CTP 145, 153, 214  
 Cushing 症候群 304  
 cyanide 123, 127  
 cyclic AMP 68, 144, 225, 286  
 — receptor protein 221  
 cyclic GMP 287  
 cytochrome oxidase 126  
 テグリル-CoA 115  
 チミン 116, 117, 160, 326, 327  
   ダイマー 306  
 沈降速度 32  
 チオエステル 13  
 チオヒダントイン法 25  
 チラミン 113  
 チラタン硫酸 268  
 チロキシン 292  
 チロシン 113, 299, 321, 324  
   水酸化酵素 299  
 窒素平衡 105  
 窒素マスタード 306  
 窒素出納  
   負の状態 105  
   平衡状態 105  
   正の状態 105  
 テトルリン 110  
 超遠心器 32  
 腸肝循環 104  
 直接ビリルビン 120  
 長鎖脂肪酸 150  
 調節遺伝子 219  
 中性ステロール 104

## D

Dansyl chloride 25  
 debranching enzyme 67  
 dehydroepiandrosterone 301  
 dexamethasone 304  
 diabetes insipidus 290  
 diacylglycerol 322  
 dicumarol 133

diglyceride 322  
 dihydropyrimidine dehydrogenase 117  
 dihydrothimine 117  
 dihydrouracil 117  
 1,25-dihydroxycholecalciferol 271  
 3,4-dihydroxymandelic acid (DOMA) 299  
 dihydroxyphenylalanine (DOPA) 299  
 diiodotyrosine 293  
 2,4-dinitrophenol 123, 133  
 2,3-diphosphoglyceric acid 240  
 direct oxidative pathway 88  
 disulfiram 299  
 DNA 159  
   の鏡型 179  
   の塩基組成とその規則性 172  
   の変性 175  
   の形 176  
   の大きさ 176  
   の再生 175  
   の修復 (repair) 178  
   鎖伸長の機構 181  
 — DNA 又は DNA-RNA hybridization  
   176  
 — ligase 184  
 — ポリメラーゼ I, III 178  
   — III 178  
 DNase I, II 162  
 DNFB 法 25  
 DNP 化 25  
 DNP-ペプチド 25  
 DOPA 脱炭酸酵素 113, 299  
 dopamine 299  
 —  $\beta$ -hydroxylase 299  
 downhill 輸送 246  
 男性ホルモン 304  
 デアミナーゼ 109  
 デヒドラターゼ 109  
 デカルボキシラーゼ 76  
 電解質ポンプ 245  
 電気泳動 34  
 デオキシコール酸 234  
 デオキシリボヌクレアーゼ 162  
 デオキシリボヌクレオチド 170  
 2-デオキシ-D-リボース 160  
 デルマタン硫酸 268, 320  
 デスマシン 267  
 ディスク電気泳動法 33  
   ドデシル硫酸 33  
   同化経路 65  
   毒性ファージ 306  
   ドバミン 113  
 動力学 53

E

EB ウイルス 314  
 elaidic acid 321  
 electron transferring flavoprotein 95  
 eleostearic acid 321  
 elongation system 150  
 endopeptidase 106  
*Δ<sup>2</sup>-trans-enoyl-CoA* 99  
*Δ<sup>2</sup>-cis-Δ<sup>2</sup>-trans-enoyl-CoA isomerase* 99  
 essential amino acid 105  
*N*-ethylmaleimide 245  
 euglobulin 35  
 exchange diffusion 123  
 exopeptidase 106  
 易動度 34  
 エキソヌクレアーゼ 162  
 エクジソン 223  
 エンドヌクレアーゼ 162  
 エネルギー充足率 81, 139  
 エネルギーの貯蔵 143  
 塩基組成 163  
 エノイル-CoA ヒドラーゼ 95  
 エノイル複合体レダクターゼ 149  
 エノールリン酸 13  
 塩析 33  
 塩素移動 242  
 エンテロキナーゼ 233  
 エントロピー 4  
 エピネフリン 68  
 エピソーム 308  
 エラスチン 267  
 エストラジオール 303, 305  
 エストリオール 305  
 エストロゲン 305

F

Fabry's disease 103  
 facilitated transport 245  
 FAD 78  
 fibrinokinase 285  
 flavine adenine dinucleotide 44  
 flavine mononucleotide 44  
 flavine nucleotide 44  
 follicle stimulating hormone (FSH) 287  
 follicle stimulating hormone (FSH)-releasing hormone (factor) FRH or FRF 291  
 functional genic unit 225  
 φX174 ファージ 181  
 — DNA 184  
 フェニアラニン 311, 324  
 L- — 105  
 水酸化酵素 299

フェニルアセツール酸 94  
 フェニルチオイソシアネート 25  
 フェニルゲトン尿症 310  
 フェニルビルビン酸 106  
 フェニル酢酸 94  
 フェリチン 36, 118  
 フェロキラーターゼ 159  
 フィブリナーゼ 283  
 フィブリノーゲン 281, 283  
 フィブリノペプチド A 284  
 フィードバック 214  
   制御 214  
   阻害 214  
   1 価の — 215  
   2 価の — 215  
   協調的 — 216  
   協同的 — 216  
   系列 — 216  
   連続的 — 216  
   累積的 — 216  
   相乗 — 216  
 フィタン酸 97  
 負エフェクター 215  
 不飽和脂肪酸の酸化 98  
 不感蒸泄 247  
 フッ化物 88  
 複合タンパク質 36  
 副腎皮質 300  
   — 刺激ホルモン 289  
 副腎髄質 298  
 副甲状腺ホルモン 270, 294  
 複製 159  
   過程 176  
 フマラーゼ 39, 123  
 フマレートヒドラーターゼ(フマラーゼ) 85  
 フマル酸 39, 85, 109  
 フラビン 85  
   — H<sub>2</sub> 153  
   — 酵素 129  
 フルクトキナーゼ 71  
 フルクトースホスファターゼ 83, 142  
 フルクトース 6-リン酸 71, 92  
 フルクトース 1, 6-二リン酸 72  
 フシジン酸 208  
 フッ素イオン 75  
 不溶性タンパク質 36

G

G-アクチン 253  
*α*-D-galactose-(1 → 4)-*N*-acetyl glucosamine (lactosamine) 145  
 galactose 1-phosphate uridylyltransferase 311  
 Gaucher's disease 103  
 GC 含量 173

Gibbs の自由エネルギー 6  
 Gilbert 病 310  
 globulin 252  
 glucokinase 141  
 gluconeogenesis 141  
 L-glutamic acid 117  
 glutathione insulin transhydrogenase 295  
 glycogen synthetase phosphatase 144  
 glycogenesis 65  
 glycogenic amino acid 116, 225  
 glycogenolysis 1  
 glycolysis 65  
 glycoprotein 36  
 gonadotropin 287  
 gonadotropic hormone 287  
 GOT 107  
 GPT 107  
 gramicidine 123  
 growth hormone (GH)-releasing hormone (factor) GRH or GRF 291  
 GTP 84  
 guanase 117  
 糖 312  
 ガングリオシド 153, 258, 262  
 ガラクトリピド 311  
 ガラクトセミア 311  
 $\beta$ -ガラクトシダーゼ 218, 219  
 ガラクトース血症 310  
 ガストリン 232  
 下痢 248  
 ゲル濾過法 32  
 疑グロブリン 35  
 グアニジウムリン酸化合物 14  
 グアニン 116, 117, 160, 326, 327  
 グアノシン 117  
 群特異性 38  
 グリコーゲン 65, 141  
   合成酵素 143  
     独立型 144  
     従属型 144  
   蓄積症  
     I 型 (von Gierke 型) 310  
     III 型 310  
     IV 型 310  
     V 型 (McArdle 型) 310  
     VI 型 (Hers 型) 310  
   ホスホリラーゼ 61  
 グリココール酸 103  
 グリコフィンゴリピド 102  
 グリセリド 322  
 3-*sn*-グリセロール 3-リン酸 152  
 グリセロールリン酸 shuttle 129  
 グリセルアルデヒドホスフェートデヒドロゲナーゼ 73  
   反応 75

グリセルアルデヒド-3-リン酸 72  
 グリシン 87, 324  
 —アミドリボヌクレオチド 164  
 グロビン 236  
 グロブリン 35  
 グルカゴン 68, 225, 297  
 $\alpha$ -1, 4-グルカンホスホリラーゼ 66  
 $\alpha$ -1, 4 $\rightarrow$  $\alpha$ -1, 4-グリカントランスフェラーゼ 68  
 グルコキナーゼ 71  
 グルココルチコイド 225  
 グルコース 6-ホスファターゼ 142  
 グルコース 6-ホスフェートデヒドロゲナーゼ 88  
 グルコースホスフェートイソメラーゼ 71  
 グルコース 1-リン酸 66, 70, 143, 145  
 グルコース 6-リン酸 70, 88, 143, 144  
 グルコース 1, 6-二リン酸 70  
 グルクロン酸抱合 145  
 グルタミナーゼ 250  
 グルタミン 325  
 グルタミン酸 325  
   L- — 109, 112  
     脱水素酵素 109, 112  
     脱水素酵素 123  
 逆転写酵素 194

## H

H-メロミオシン (heavy meromyosin, HMM) 252  
 Hartnup 病 310  
 HbM 238  
 HbS 238  
 heavy chain (H 鎖) 277  
 $\alpha$ -helix (構造) 29, 30  
 heme synthetase 159  
 Henry の法則 249  
 Hers 病 67  
 hexokinase 141  
 hexose monophosphate shunt 88  
 hexose phosphate uridylyltransferase 311  
 Hfr 菌 308  
 Hill の方程式 240  
 HMG-CoA レダクターゼ 154  
 HPr 246  
 hydrophobic bond 31  
 D(-)- $\beta$ -hydroxyacyl-ACP 149  
 D(-)- $\beta$ -hydroxyacyl-CoA 99  
 L(+)- $\beta$ -hydroxyacyl-CoA 99  
 3-hydroxyacyl-CoA-3-epimerase 99  
 D(-)- $\beta$ -hydroxybutyric acid dehydrogenase 100  
 hydroxyindole-O-methyltransferase 292  
 hydroxyl apatite 123

$\beta$ -hydroxy- $\beta$ -methylglutaryl-CoA 154  
 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA (HMG-CoA) 100  
 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase 128  
 hyperchromic 効果 175  
 半反応式 124  
 橋本病 281  
 発エルゴン反応 9, 65  
 ヘキソキナーゼ 70  
 ヘミン 155  
 ヘモグロビン 118, 131, 235, 236  
 —症 310  
 ヘモシアニン 36  
 ヘム 87, 155, 236  
 変性 58  
 — DNA 175  
 ヘパラン硫酸 268  
 ヘパリン 268  
 ヒアルロン酸 268, 319  
 ヒプロイン 31  
 ひだ紙構造 31  
 ヒドラチン分解法 27  
 $\beta$ -ヒドロキシアシル ACP デヒドラーゼ 149  
 L(+)- $\beta$ -ヒドロキシアシル-CoA 96  
 $\beta$ -ヒドロキシアシル-CoA デヒドログナーゼ 96  
 5-ヒドロキシメチルシトシン (HMC) 173  
 7 $\alpha$ -ヒドロキシコレステロール 103  
 17-ヒドロキシコルチコイド 300  
 ヒドロキシプロリン 265  
 4- — 325  
 D(-)- $\beta$ -ヒドロキシ酪酸 100  
 ヒドロキシリジン 265, 325  
 $\beta$ -ヒドロキシ酢酸 100  
 5-ヒドロキシトリプトファン 113  
 非ヘム鉄 85, 126  
     タンパク質 130  
 非競争阻害剤 59  
 頻度係数 52  
 ヒポキサンチン 177  
 ヒステダーゼ (L-ヒチスジンデアミナーゼ) 109  
 ヒステジン 325  
     L- — 106, 109  
     脱炭酸酵素 113  
     —血症 310  
 ヒストン 36, 193  
 非対称的転写 191  
 必要アミノ酸 105  
 必要量 227  
 脾臓ホスホジエステラーゼ 163  
 補充反応 87  
 補欠分子族 41  
 補酵素 41  
 骨 269  
 翻訳 159

の機構 205  
 ホロ酵素 41  
 ホルミル-FH<sub>4</sub> 166  
 ホルミルグリシンアミドリボスクレオチド 164  
      $\alpha$ -N- — 165  
 ホルミルメチオニル tRNA<sub>P</sub> 208  
 ホルミルテトラヒドロ葉酸 208  
 ホルモール滴定法 19  
 5-ホルムアミドイミダゾール-4-カルボキシアミドリボスクレオチド 166  
 ホスビチン 36  
 ホスファターゼ 233  
 3'-ホスホアデノシン 5'-ホスホスルホン酸 (PAPS) 268  
 ホスホエノールピルベートカルボキシキナーゼ 142  
 ホスホエノールピルビン酸 13, 74, 142  
 ホスホフルクトキナーゼ 71  
 ホスホグリセレートキナーゼ 74  
 2-ホスホグリセリン酸 74  
 3-ホスホグリセリン酸 74  
 ホスホグリセロムターゼ 74  
 ホスホグルコムターゼ 70, 143  
 6-ホスホグルコネートデヒドログナーゼ 90  
 6-ホスホグルコノラクトナーゼ 88  
 6-ホスホグルコノ-8-ラクトン 88  
 6-ホスホグルコン酸 88, 90  
 4'-ホスホパンテテイン 147  
 ホスホピルベートヒドラターゼ 74  
 5-ホスホリボシル-1-アミン 164  
 5-ホスホリボシル-1-ピロリン酸 164  
 ホスホリパーゼ A, B 102  
 ホスホリラーゼ 144  
     — a 66  
     — b 67  
         キナーゼ 67, 68  
 ホスホセリン 66  
 ホスホトランスフェラーゼ 170  
 標準自由エネルギー変化 8

I

I 帯 257  
 IgA, D, E, G, M 276  
 induction 268  
 initiation codon 208  
 initiation complex 208  
 inositol phosphate 262  
 iodofluorescein 259  
 International Union of Biochemistry (IUB) 61  
 interstitial cell stimulating hormone (ICSH) 287  
 isoenzyme 49  
 遺伝 159

暗号 209  
 情報の転写 186  
 遺伝性疾患 310  
 遺伝子 159  
   調節—— 219  
   構造—— 219  
 異常ヘモグロビン 238  
 異化経路 65  
 異化代謝産物抑制 222  
 イミノ酸 22  
 イノシン 117  
 イノシン酸 167  
 イノシトールホスホリビド 323  
 インシュリン 19, 260, 294  
 硫黄マスタード 306  
 イオン交換カラムクロマトグラフィー 24  
 イオン強度 33  
 イソバレリル-CoA 115  
 イソブチリル-CoA 115  
 イソデスモシン 267  
 イソクエン酸脱水素酵素 123, 150  
 イソマルトース 319  
 イソロイシン 324  
   L— 105, 115  
 イソシトレートデヒドロゲナーゼ 82

## J

自動酸化フラビン酵素 45  
 ジヒドロキシアセトンリン酸 72  
 3,4-ジヒドロキシフェニルアラニン 113  
 ジヒドロオクターゼ 169  
 ジヒドロオロトデヒドロゲナーゼ 169  
 ジヒドロオロト酸 169  
 ジヒドロリポイルデヒドロゲナーゼ 79  
 ジヒドロリポイルトランスアセチラーゼ 78  
 ジヒドロリポ酸 78  
 1,3-ジホスホグリセリン酸 73  
 2,3-ジホスホグリセリン酸 74  
 ジソプロピルフルオロリン酸 39  
 自己免疫疾患 281  
 1,5-ジメチルアミノナフタレン-1-スルホニル  
   クロリド 25  
 ジニトロフルオロベンゼン 24, 245  
 ジペプチダーゼ 106, 233  
 ジシクロヘキシルカルボジイミド 19  
 ジスルフィド結合 31  
 自由拡散 245  
 受動輸送 245

## K

ketogenic amino acid 116, 225  
 $\alpha$ -ketoglutaric acid 117  
 ketonemia 101

ketonuria 101  
 ketosis 101  
 key glycolytic enzyme 224  
 key glyconeogenic enzyme 224.  
 kinetics 53  
 Krabb's leukodystrophy 103  
 過ビリルビン血症 310  
 カダベリン 113  
 楓糖糖尿病 310  
 化学平衡 6  
 化学浸透カップリング説 134  
 化学的カップリング説 134  
 カイコの後部絹糸腺細胞 189  
 解離定数 54  
 開始暗号子 208  
 開始複合体 208  
 解糖 65, 121  
 核酸 159  
   分解酵素 162  
     とタンパク質の生合成 159  
 核小体オーガナイザー 197  
 核タンパク質 36  
 鎌状赤血球貧血 238  
 還元型グルタチオン 81, 88  
 環状 AMP 80  
 環状リン酸トリエステル 161  
 間接ビリルビン 120  
 間質細胞刺激ホルモン 287  
 桿体 272  
 加リン酸分解 66  
 N-カルバミルアスパラギン酸 168  
 カルバミルリン酸 109, 110, 168, 214  
   合成酵素 110  
 カルボベンゾキシクロリド 19  
 4-カルボキシ-5-アミノイミダゾールリボヌク  
   レオチド 166  
 カルボキシヘモグロビン 243  
 カルボキシペプチダーゼ(法) 28, 106  
 カルジオリジン 323  
 カルノシン 114  
 カルシトニン 270, 293  
 活性中心 39  
 活性化エネルギー 51  
 カタラーゼ 108  
 カテコールアミン 299  
 カテプシン 106  
   —B, C, D 106—  
 活量係数 7  
 可溶性タンパク質 35  
 カゼイン 36  
 ケファリン 323  
 系列誘導 218  
 形質導入 307  
 形質細胞 276  
 形質転換 171



- 血管収縮因子 284  
 ケノデオキシコロール酸 103, 234  
 β-ケラチン 31  
 ケラタン硫酸 320  
 β-ケトアシル-ACP シンターゼ 148  
 β-ケトアシル-CoA チオラーゼ 96  
 β-ケトアシル複合体レダクターゼ 149  
 β-ケトアシル複合体シンターゼ 149  
 α-ケトグルタレートデヒドロゲナーゼ 84  
 α-ケトグルタレートデカルボキシラーゼ 84  
 α-ケトグルタル酸 82, 87, 109  
 ケトヘキソキナーゼ 71  
 α-ケトイソバレリアン酸 115  
 α-ケト-β-メチルバレリアン酸 115  
 ケトン体 100  
 α-ケト酪酸 110  
 α-ケトロイシン 115  
 α-ケト酸脱水素酵素 123  
 17-ケトステロイド 305  
 血友病 A, B 310  
 血糖値 225  
 飢餓状態 150  
 キモトリブシン 57, 106  
 キモトリブシノーゲン 106, 233  
 筋原繊維 257  
 筋肉 251  
 キヌレニン水酸化酵素 123  
 金属タンパク質 36  
 キサンチン 116  
   酸化酵素 45  
   —尿症 310  
 キサントシン5'-リン酸 168  
 キシルロース5-リン酸 91  
 基質レベルのリン酸化 121  
 基質特異性 38  
   絶対— 38  
 基礎代謝 229  
 奇数脂肪酸の酸化 99  
 コバミド 99  
 高エネルギー化合物 10  
 抗原 276  
 膠原病 281  
 コハク酸 58, 84  
   脱水素酵素 45, 123, 127, 130  
 甲状腺 292  
   刺激ホルモン 287  
   —腫(家族性) 310  
 抗核体 281  
 向活性中心不可逆性阻害剤 39  
 国際生化学連合 61  
 呼吸 121, 235  
 呼吸鎖酵素 123  
 呼吸鎖リン酸化 121  
 呼吸性アルカロージス 248  
 呼吸性アシドーシス 248  
 コンドロイチン 268  
   —4-硫酸 268  
   —6-硫酸 268  
   —硫酸 A 320  
   —硫酸 C 320  
 コプロスタノール 104  
 コラーゲン 31, 264  
 コラゲナーゼ 265  
 コレチストカイニン 233  
 コレプレッサー 221  
 コレスタノール 104  
 コレステロールの代謝 102  
 コリグロビン 118  
 コリンエステラーゼ 39  
 コリンリン酸セラミドトランスフェラーゼ 153  
 コリル-CoA 103  
 コリシン因子 308  
 コール酸 103, 234  
 構成酵素型突然変異 221  
 膠質浸透圧 247  
 酵素基質複合体 54  
 酵素の分類と命名法 61  
 酵素前駆体 214  
 抗体 276  
   の構造 277  
   産生機序 280  
   産生細胞 280  
   産生前駆細胞 B 細胞 280  
 硬タンパク質 36  
 後天性溶血性貧血 281  
 骨髄由来細胞 280  
 コウシ胸腺 180  
 構造遺伝子 219  
 クエン酸 81, 83, 147, 150  
   合成酵素 123  
   開裂酵素 147  
 クレアチンリン酸 14, 254  
 クロラムフェニコール 189  
 胸腺由来細胞 280  
 競争阻害 58  
   —剤 58  
 共役反応 9, 65  
 吸エルゴン反応 9  
 球状タンパク質 35  
 吸収 235
- L**
- L-メロミオシン (light meromyocin, LMM)  
   252  
 lauric acid 321  
 lecithinase 233  
 LDH 50  
 LE 因子 281  
 LE 細胞 281

- Lesch-Nyhan 症候群 310  
 ligand 217  
 light chain (L 鎖) 277  
 lignoceric acid 321  
 linoleic acid 150, 230, 321  
 linolenic acid 150, 230  
    $\alpha$ - — 321  
    $\gamma$ - — 321  
 lipoprotein 36  
 Lobry de Bruyn-Alberda van Ekenstein 反応 71  
 long acting thyroid stimulator (LATS) 293  
 luteinizing hormone (LH) 287  
 luteinizing hormone (LH)-releasing hormone (factor) LRH or LRF 291  
 luteotropic hormone (LTH) 287
- M**
- malate shuttle 129, 142  
 malonic semialdehyde 117  
    $\beta$ -maltose 319  
 melanocyte-stimulating hormone (MSH) 290  
 melanocyte-stimulating hormone (MSH)-releasing hormone (factor) GRH or GRF 291  
 metachromatic leukodystrophy 103  
 metalloprotein 36  
 metanephrine 299  
 3-methoxy-4-hydroxyphenylglycol (MOPG) 299  
 20-methylchoranthrene 140  
 5-methylcytosine 117  
 methylmalonic semialdehyde 117  
 methylmalonyl-CoA 100  
   — mutase 100  
 Mg<sup>2+</sup> 78  
 Michaelis-Menten の式, 定数 55  
 monoamine oxidase (MAO) 299  
 monoiodotyrosine 293  
 monooxygenase 97  
 Morris 肝癌 313  
 mRNA  
   動物細胞の — 190  
   の発見 186  
   の半減期 189  
   の性質 187  
   の読みとり方向 206  
 mucoprotein 36  
 myogen 252  
 myokinase 255  
 mysistic acid 321  
 マグネシウムフルオロリン酸 75  
 $\alpha_2$ -マクログロブリン 266  
 慢性関節リウマチ 281  
 マレイン酸 39  
 マレートデヒドロゲナーゼ 85, 123  
 マロニル-CoA 146  
 マロン酸 58  
 マルターゼ 232, 233  
 マルトース 329  
 メチオニン 105  
   L- — 105  
 メチルアクリル-CoA 115  
    $\alpha$ -メチルアセトアセチル-CoA 115  
    $\alpha$ -メチルブチリル-CoA 115  
    $\beta$ -メチルグルタコニル-CoA 115  
   メチルマロニル-CoA 115  
    $\beta$ -メチルクロトニル-CoA 115  
   メチルマロン酸 100  
    $\alpha$ -メチル- $\beta$ -OH-ブチリル-CoA 115  
   5-メチルシトシン (MC) 173  
 免疫抗体 276  
 免疫担当細胞 280  
 メラトニン 292  
 5,10-メテニルテトラヒドロ葉酸 164  
 メトヘモグロビン 237  
   —血症 310  
     中毒性 — 239  
     先天性 — 239  
   —症 238  
 ミエリン 258  
 ミエローム細胞 189  
 ミクロソーム 195  
   における電子伝達 139  
 ミネラルコルチコイド 248  
 ミオシン 252  
 ミトコンドリア 121  
   ATPase 135  
   DNA 160  
   における水酸化 136  
   における代謝調節 136  
   の外膜 121  
   のクリステ 121  
   の marker enzyme 123  
   のマトリックス 121  
   の内膜 121  
   の repeating unit 122  
 網状赤血球 189  
 網膜 272  
 網内皮細胞組織 118  
 モノアミン酸化酵素 123  
 モノヌクレオチド 161  
 モル分率 6  
 無アルブミン血症 310  
 無フィブリノーゲン血症 310  
 無ガンマグロブリン血症 310  
 無カタラーゼ血症 310  
 無機質の所要量 231  
 $\Delta$ コ多糖(類) 145, 268

ムレイン 39  
無酸素呼吸 121

## N

NAD (nicotinamide adenine dinucleotide) 43  
NAD<sup>+</sup> 78, 128  
NADH-coenzyme Q reductase 126  
NADH デヒドロゲナーゼ 127  
NADP (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate) 43  
NADP<sup>+</sup> 128  
NADPH 93  
——ジアホラーゼ 45  
NADPH/NADP<sup>+</sup> 93  
nearest neighbor analysis 180  
negative nitrogen balance 105  
nervonic acid 321  
Niemann-Pick disease 103  
nitrogen balance 105  
noncompetitive inhibitor 59  
non-overlapping triplet theory 209  
nucleosidase 233  
nucleoside diphosphokinase 85  
nucleoside phosphorylase 117  
nucleotidase 233  
粘液タンパク質 36  
燃焼熱 94  
熱力学第1, 第2法則 4  
熱力学ポテンシャル 6  
2次元クロマトグラフィー 24  
ニンヒドリン 21  
——反応 21  
能動輸送 245  
ノイラミン酸 324  
脳下垂体中葉, 後葉 290  
ノルアドレナリン 113, 263  
ノルエピネフリン 299  
ヌクレアーゼ 233  
——S<sub>1</sub> 163  
ヌクレオチド 160, 326  
  の *de novo* 合成 171  
  の salvage 経路 171  
  ピロホスホリラーゼ 171  
ヌクレオシド 160, 326  
  ホスフェートキナーゼ 170  
  ホスホキナーゼ 123  
  ホスホリラーゼ 171  
  ホスホトランスフェラーゼ 171  
  2', 3'-環状ジエステル 162  
  2'-リン酸 162  
  3'-リン酸 162  
尿酸 110, 116  
尿素 110, 111  
——回路 110

乳酸 68  
脱水素酵素 50

## O

Ogston の3点結合説 82  
3-OH-チラミン 263  
 $\beta$ -OH-イソブチリル-CoA 115  
 $\beta$ -OH- $\beta$ -メチルグルタリル-CoA 115  
oleic acid 321  
oligo-1, 6-glucosidase 232  
oligomycin-sensitivity conferring protein (OSCP) 136  
one gene-one enzyme 仮説 309  
osmoreceptor 248  
ouabain 245  
oxygen linked acid group 240  
黄疸 120  
オイグロブリン 35  
岡崎フラグメント 183  
オキサロアセテート 81  
オキサロコハク酸 83  
オキサロ酢酸 85, 86, 87, 142  
オキシトシン 290  
オペレーター 219  
オペロシ 219  
オブシン 274  
オレイン酸 98, 150  
オリゴマイシン 134  
オロチジン 5'-リン酸(オロチジル酸) 169  
オロト酸 169  
——尿症 310  
オルニチン 110, 309  
  L-—— 111  
——回路 110  
——トランスカルバミラーゼ 110  
黄色酵素 45  
黄体ホルモン 305  
嘔吐 248

## P

P-100 タンパク質 260  
palmitic acid 321  
palmitoleic acid 321  
PALP 49  
Pasteur effect 138  
pelargonic acid 321  
peptidyl tRNA 207  
phenobarbital 140  
phenylacetic acid 311  
phenylacetic glutamine 311  
phenylethanolamine *N*-methyl transferase 299  
phenyl ketone 311

- phenyllactic acid 311  
 phenylpyruvic acid 311  
 phosphatidic acid 322  
 3-*m*-phosphatidic acid 152  
 3-*m*-phosphatidylcholine 152, 153  
 phosphatidylethanolamine 152  
 phosphoethanolamine 152  
 phosphoprotein 36  
 phosphorylcholine 153  
 phosvitin 36  
 Planck の定数 52  
 P:O 133  
 poly (A) 190  
 positive nitrogen balance 105  
 prednisolone 304  
 prednisone 304  
 primaquine 88  
   sensitivity 88  
 progesterone 305  
 prolactin releasing hormone (factor) PRH or PRF 291  
 propanediol 101  
 propyl hydroxylase 265  
 protein kinase 144  
 prothrombin 283  
 pseudoglobulin 35  
 psychosine 153  
 ptyalin 232  
 puffing 286  
 pyridine nucleotide transhydrogenase 128  
 pyridoxal phosphate 49  
 パンクレオザイミン 233  
 パラ血友病 310  
 パルミチン酸 97, 146  
 パルミチル-ACP 148  
 パルミトオレイン酸 98  
 ペントース 93  
 —尿症 310  
 —リン酸回路 65, 87  
   の代謝的意義 93  
 ペプチド結合 17  
 ペプチド鎖の合成方向 205  
 ペブシン 106  
 ペブシノーゲン 106, 232  
 ペースメーカー反応 214  
 ピリドキサルリン酸 49, 66, 155  
 ピリドキサル5-リン酸 (PALP) 107  
 ピリジン酵素 128  
 ピリジン塩基の代謝 116  
 ピリジン生合成 168  
 ピロホスファターゼ 111  
 ビルベートデカルボキシラーゼ 78  
 ビルベートカルボキシラーゼ 87, 142  
 ビルベートキナーゼ 75, 142  
 ビルビン酸 75, 110  
   の酸化的脱炭酸 78  
 ポリオーマ 314  
 ポリペプチド 17  
 ポリソーム 198  
 ポルフィリン  
   の分解 118  
   の合成 155  
 —症 157  
 プライマー 179  
   DNA 180, 190  
 プラスマローゲン 323  
 プラスミン 285  
 プラスミノーゲン 285  
 プリン 116, 326  
   の代謝 116  
 プロファーゼ 306  
 プロインシュリン 294  
 プロカルボキシペプチダーゼ 233  
 プロモーター 219  
 プロピオニル-CoA 99, 115  
 プロピオン酸 100, 321  
 プロリン 325  
 プロスタグランジン 151, 287, 305  
 プロタミン 36  
 プロトポルフィリン 158  
 プトメイン 113  
 ビューロマイシン 209
- R**
- regulatory subunit 217  
 repressible enzyme 219  
 repression 219  
 repressor 219, 221  
 respiratory control 137  
 requirement 227  
 retinene 脱水酵素 273  
 RF-replicative form 189  
 rheumatoid factor (RF) 281  
 RNA 160  
   分解酵素 162  
   ポリメラーゼ 187, 190  
   レプリカーゼ 185  
   腫瘍ウイルス 314  
   とタンパク質合成 186  
 RNase 162  
   A, I, T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, U<sub>2</sub> 162  
 RPase  
   大腸菌の 192  
   —I 192  
 酪酸 321  
 ラクターゼ 233  
 ラクテートデヒドロゲナーゼ 75  
 ラクトース 145, 218, 319  
 卵胞ホルモン 305

ラノステロール 154  
 レアギン 280  
 レチナール 273  
 レセルピン 263  
 レシチン 323  
 リボホスホリパーゼ L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub> 102  
 リボスクレアーゼ 19, 162  
 リボソーム 160, 196  
     の一般的性質 196  
 D-リボース 160  
 リボース 5-リン酸 90  
 リブローズホスフェート-3-エピメラーゼ 91  
 リブローズ 5-リン酸 90  
     D- — 90, 91  
 リファンピシン 193  
 リジン 113, 325  
     L- — 105  
 リジノノルロイシン 267  
 ε-リジラール 267  
 リンゴ酸 39  
     L- — 85  
 リノレン酸 150, 230  
 リノール酸 150, 230  
 隣接塩基の出現頻度 180  
 リン脂肪の代謝 102  
 リンタンパク質 36  
 リパーゼ 37, 233  
 リポアミド 48  
     脱水素酵素 45  
 リポエートデヒドロゲナーゼ 84  
 リポエートスクシニルトランスフェラーゼ 84  
 リポエートトランスアセチラーゼ 78  
 リポ酸 78  
 リポタンパク質 36  
 リウマチ因子 281  
 立体特異性 39  
 リゾチーム 39, 57  
 リゾソーム 106  
 ロドプシン 273  
 膵刺激ホルモン 287  
 ロイシン 324  
     L- — 105, 115  
 濾紙電気泳動法 35  
 濾紙クロマトグラフィー 22  
 ロテノン 127  
     不感受性シトクロム c 還元酵素 123  
 ルテオトロピン 287  
 両性電解質 19

S

salting in 33  
 salting out 33  
 Sandhoff's disease 103  
 Schiff base 49, 108

SDS-ディスク電気泳動法 33  
 sequential induction 218  
 sialic acid 324  
 site I, II, III 133  
 somatotropin 287  
 Soret band 131  
 sphinganine 153, 323  
 sphingenine 153  
 spirit 2  
 SS 結合 31  
 steady state 55  
 stearic acid 321  
 stereospecific numbering 322  
 STH 287  
 succinate-coenzyme Q reductase 126  
 sucrose 317  
 superoxide anion 140  
 SV 40 314  
 Svedberg 単位 32  
 サブユニット 32  
 最大速度 53  
 最小培地 306  
 最小偏奇肝癌 313  
 酢酸 321  
 3大栄養素 227  
 α-酸化 97  
 β-酸化のエネルギー収支 97  
 ω-酸化 97  
 酸化還元電位 124  
 酸化的脱アミノ反応 108  
 酸化的リン酸化 121, 132  
 酸性タンパク 194  
 酸素の運搬 239  
 作用特異性 38  
 セドヘプテュロース 7-リン酸 92  
 生物価 230  
 生長ホルモン 287  
 制限酵素 163  
 制御部位 217  
 生活活動指数 228, 229  
 性決定因子 308  
 生理的燃焼値 227  
 性腺刺激ホルモン 287  
 生殖腺 304  
 セクレチン 233  
 線維タンパク質 36  
 染色体地図 307, 309  
 セラミド 153  
 セレブロシド 153, 258, 323  
 セリン 324  
     L- — 110  
     — デヒドラターゼ 109  
 セロトニン 113, 263, 284  
 セルロプラスミン 36  
 摂取タンパク量 229

シアル酸 145  
 脂肪の所要量 230  
 脂肪酸 321  
   チオキナーゼ 123  
   のβ-酸化 94  
   酸化酵素 123  
 シチジン 170  
 仕事 1  
 視覚 272  
 シキミ酸 5-リン酸 307  
 色素タンパク質 36  
 シナプス 262  
 伸長反応 207  
 伸長因子 207  
 進化 315  
 神経組織 258  
 浸透圧受容器 248  
 白子 310  
 脂質代謝 94  
 視床下部 290  
   —ホルモン 290  
 シスチン 325  
 システイン 81, 325  
 至適 pH 56  
 シトクロム  
   —a 127  
   —b 127  
   —b<sub>5</sub> 150  
   —c 127  
   —P-450 136, 140  
   —類 130  
 シトレートシンターゼ 81  
 シトレート縮合酵素 81  
 シトルリン 309  
 シトシン 116, 117, 160, 326, 327  
 消費熱量 227  
 松果腺 292  
 植物葉緑体 DNA 160  
 硝酸呼吸 121  
 初速度 53  
 少糖類 317  
 所要熱量 228  
 所要量 227  
 終結暗号子 208  
 シュクラゼ 233  
 疎水性結合 31  
 オペリ説 257  
 スフィンゴミエリン 102, 153, 323  
 雑体 272  
 膵臓 294  
 スクアレン 154  
 スクシネートデヒドロゲナーゼ 85  
 スクシニル-CoA 84, 87, 99, 100, 115, 155  
   シンターゼ(スクシネートチオキナーゼ)  
   84

スクロース 145  
 スルファチデート 102  
 スルファミン 80  
 ステアリン酸 150  
 ステロイドホルモン 102  
 ステルコピリン(L-ウロピリン) 118

## T

T細胞 280  
 Tay-Sachs disease 103  
 TCA 回路 65, 77  
   の意義 86  
 testosterone 304  
 tetrahydrofolic acid 47  
 thiamine pyrophosphate 47  
 thiophorase 95, 100  
 thyroglobulin 293  
 thyroid-stimulating hormone (FSH) 287  
 thyrotropin (TSH)-releasing hormone (factor)  
   TRH or TRF 291  
 thyroxin-binding protein 293  
 TPP 76, 78, 91  
 transaminase 107  
 transamination 107  
 transcription 190  
 translocation 207  
 triacylglycerol 322  
 triglyceride 322  
 3α, 7α, 12α-trihydroxy-5β-cholestan-26-oic  
   acid 103  
 tRNA (transfer RNA) 160, 200  
   のアミノ酸特異性 199  
   の構造 204  
   の縮重 204  
 タバコモザイクウイルス (TMV) 184  
 多発性骨髄腫 279  
 胎児ヘモグロビン 237  
 代謝 65  
   調節 213  
 胆液酸 102  
 胆液色素 118  
 胆汁酸 233  
   塩 233  
   の腸肝循環 234  
 胆汁色素 234  
 単純タンパク質 36  
 タンパク質  
   第1構造 24  
   第2構造 28  
   第3構造 31  
   第4構造 32  
   合成の終結 208  
   の変性 35  
   の溶解度 33

炭酸脱水酵素 38, 232, 241  
 単糖類 317  
 多糖類 319  
 タウロコール酸 103  
 多剤性因子 308  
 低エネルギー化合物 15  
 定常状態 55, 213  
 低リン酸酵素症 310  
 転移 RNA 160, 199  
 転写 159, 190  
 テトラヒドロテリジン 97  
 等電点 20, 34  
 透過酵素 245  
 トキソホルモン 314  
 特異動的作用 228  
 透明化反応 253  
 糖尿病 101, 296  
 トランスアルドラーゼ 92  
 トランスフェリン 36  
 トランスグルタミナーゼ 283  
 トランスホルミラーゼ 164  
 トレオニン 324  
   L- — 105, 110  
   — デヒドラターゼ 110  
 トリアシルグリセロール 152  
 トリグリセリド 94  
 トリカルボン酸サイクル 65, 77  
 トリオースホスフェートイソメラーゼ 73  
 トリプレット説 209  
 トリプシン 106  
 トリプシノーゲン 106, 233  
 トリプトファン 307, 324  
   L- — 105  
 トリヨードチロニン 292  
 トロンビン 281, 283, 284  
 トロポコラーゲン 265  
 糖質の所要量 230  
 糖質代謝 65  
 糖タンパク質 36  
 痛風 118

## U

ubiquinone 46  
 UDP-*N*-acetylglucosamine 145  
 UDP-ガラクトース 145  
 UDP-glucose-4-epimerase 311  
 UDP-グルクロン酸 118, 145  
 uncoupling agent 134  
 unfolding 35  
 unmask 35  
 $\beta$ -ureido-isobutyric acid 117  
 $\beta$ -ureidopropionic acid 117  
 uricase 118  
 uridine diphosphate glucose (UDPG) 143

uridine diphosphate glucose-glycogen gluco-  
 syl transferase 143  
 uridine diphosphate pyrophosphorylase 143  
 uridine triphosphate (UTP) 143  
 urokinase 285  
 内向き (uphill) 輸送 246  
 ウイルソン病 310  
 ウイルス 160  
 ウラシル 116, 117, 160, 326, 327  
 ウレアーゼ 37  
 ウレイドコハク酸 168  
 ウリジン 5'-リン酸 (UMP) 169  
 $\epsilon$ -ウロビリノーゲン 118  
 ウロカニン酸 109  
 $\alpha$ -ウロノーゲン 118  
 ウロポルフィリノーゲン III 157

## V, W, X

V-region 279  
 vaccenic acid 321  
 valinomycin 123  
 van der Waals 力 29  
 van Slyke のアミノ窒素測定法 17  
 vanilmandelic acid 299  
 virulent phage 306  
 vital force 2

Watson-Crick モデル 174

xanthine oxidase 117

## Y

予備アルカリ 249  
 ヨード酢酸 88  
 溶原菌 306  
 溶原性ファージ 308  
 幼若ホルモン 223  
 抑制 219  
   — 物質 219  
   — 酵素 219  
 ユビキノン 127  
   —<sub>10</sub> (UQ<sub>10</sub>) 130  
 誘導 218  
   系列 — 218  
   — 物質 218  
   — 酵素 218  
 融解温度  $T_m$  175  
 遊離脂肪酸 101, 225  
 有棘赤血球症 310

## Z

Z 線 257

zwitterion	19	ゼラチン	265
zymogen	214	絶対反応速度論	52
全身エリテマトーデス (SLE)	281	絶対基質特異性	38
前葉ホルモン放出因子	290		