

生化学講座

中間代謝の化学 I



4

生化学講座

4

編 集

赤 堀 四 郎
伊 勢 村 寿 三
市 原 碩
浮 田 忠 之 進
内 野 仙 治
江 上 不 二 夫
片 桐 英 郎
佐 橋 佳 一
島 蘭 順 雄
鈴 木 友 二
田 中 正 三
広 畑 竜 造
牧 野 堅
森 高 次 郎

中間代謝の化学 I



共立出版株式会社

第4卷 編集担当者

東京大学医学部 島 蘭 順 雄

執 筆 者

東京大学医学部 島石 順 雄
九州大学医学部 神谷 川 晋 次
北海道大学医学部 安田 知 弥
日本医科大学 触媒研究所 二上 瓶 一
大 学 研 究 所 代 表 三
(執筆順)

序

本巻には糖質の異化、脂質・ポルフィリンの代謝、エネルギー代謝の諸項をおさめた。動的生化学の第1ページが本巻説くところからはじまるといってよいであろう。ことに糖質の分解と酸化は現代生化学の金字塔ともいべき分野で、その研究の歴史はそのまま生化学の発展史となっている。発酵と解糖には Pasteur, Embden, Myerhof, Cori ら、また酸化の経路には Warburg, Krebs ら、そのほか数多くの生化学者の名が永久に記念せられている。Krebs によって発見された糖の終末酸化経路は脂肪やアミノ酸の酸化に対しても重要な意義を有するばかりでなく、生体成分の合成に果す役割も大きい。糖の代謝系の研究はこのような歴史を有しながらなお現在も続々と新しい知見を加えつつあり、たとえばウリジンヌクレオチドが糖代謝における意義など最近の収穫である。

脂質の代謝では Knoop の歴史的な業績により脂肪酸の酸化型式が明らかにされてから 50 年余の歳月を経たが、その酸化の各段階が酵素学的に明らかにされたのは最近のことで、Lipmann によるコエンザイム A の発見がその鍵となった。脂肪酸やステロイドの合成経路は現在生化学の研究課題である。リン脂質の合成におけるシチジンヌクレオチドの意義が発見されたのも最近の収穫であった。一般に生合成経路の解明は生化学の発達を如実に示しており、ポルフィリン代謝においてもその合成の経路が解明されつつある。ポルフィリンは血色素、呼吸酵素の構成成分となっている重要な化合物であるが、その代謝の研究は比較的新しいもので、今後の発展が期待される分野である。

エネルギー代謝は高エネルギー結合の概念によって現代生化学の発展を特長づけることとなった。ここにも Lipmann の功績がある。かつてのアデノシン三リン酸をはじめとする高エネルギー性リン酸化合物の発見は、現代の動的生化学の基礎を築いた。こうして物質代謝とエネルギー代謝との関連、酸化に伴う高エネルギー性リン酸結合の生成が認められた。しかしなおこの酸化的リン

酸化の機構の解明は現代生化学の課題である。

動的な代謝研究の裏づけとして酵素の研究は必須である。代謝の解明は酵素の研究なくしては不可能である。現代生化学の実験方法や実験器械の発達は酵素の精製分離を容易にしこの方面の研究を推進したばかりでなく、細胞の形態学的構成成分と代謝との関係や、酵素分布の研究を可能とした。細胞あるいは組織における代謝調節の化学的機構の解明に進むことによって、現代生化学は生命現象の把握に向かって一步を進めることになるであろう。

昭和 35 年 3 月

編集担当 島 蘭 順 雄

目次

第1章 糖質の異化

1.1 緒論	1
1.2 解糖系	3
A. 解糖の概観	3
B. 解糖系の酵素反応	6
C. ピルビン酸の酸化とアセチル-CoA	25
D. 解糖の逆反応	31
E. 解糖と呼吸との関係	33
1.3 糖の相互変換	36
A. 五炭糖リン酸サイクル	36
B. 五炭糖リン酸サイクル周辺の系	52
C. 酸化還元を含む糖の相互変換	54
D. ウリジンヌクレオチドの関係する反応	55
E. ウロン酸およびオン酸の代謝	60
F. ホスホリラーゼ	72
G. 多糖類および少糖類の水解による分解	75
1.4 TCA サイクル	78
A. TCA サイクル概説	78
B. TCA サイクルの酵素	82
C. TCA サイクル酵素の細胞分布	97
1.5 TCA サイクル周辺の系	99
A. C_2 -二カルボン酸の脱炭酸と炭酸固定	99
B. プロピオン酸の酸化	103
C. グリオキシル酸サイクル	105
D. その他の分解反応	108
E. TCA サイクルの合成機能	110
参考文献	115

第2章 脂質の代謝

2.1 脂質の消化吸収および排出	125
A. 脂質の消化と吸収	125
B. 消化吸収率	126
C. 脂肪の排出	128
D. リン脂質の吸収	129
E. ステロールの吸収と排出	129
F. コレステロールの排出	134
2.2 脂肪の酸化	135
A. グリセリンの酸化	136
B. 脂肪酸の酸化	136
C. β -酸化の機序	137
D. TCA (三塩基性酸) サイクル	139
E. アセトン体の生成	140
F. アセト酢酸の生成と消費	142
2.3 脂質の合成および分解	144
A. 脂肪の合成	144
B. 複合脂質の合成	147
C. コレステロールおよび類似ステロールの生合成	154
D. コレステロールの分解	158
2.4 組織および血液の脂質	160
A. 食物の脂肪と体脂肪	160
B. 脂肪組織の代謝機能	161
C. 組織のリン脂質	163
D. 血液の脂質	165
E. 脂質代謝と肝臓	167
参考文献	169

第3章 エネルギー代謝

3.1 はしがき	171
----------	-----

3.2 エネルギー論(熱力学)の諸概念	171
A. エネルギーの概念	171
B. エントロピーの概念	173
C. 自由エネルギー(化学ポテンシャル)	175
D. 自由エネルギー変化と濃度	176
E. 分子統計論的熱力学の概念	178
F. 統計論と熱力学的関数の関係	181
G. ΔS と物質の状態変化	183
3.3 生体におけるエネルギー変換	185
A. 結合エネルギーとエネルギー変換	185
B. 高エネルギー結合と中間代謝	186
C. エネルギー代謝における ATP の特性	188
3.4 エネルギーを供給する生体反応	190
A. 呼吸系	190
B. 基質レベルのリン酸化	192
C. 酸化的リン酸化	195
D. TCA 回路	197
E. アミノ酸・蛋白質の代謝と自由エネルギー変化	198
F. 微生物による特殊な嫌気呼吸(発酵)	199
G. グルコース酸化の別型	203
H. 光合成におけるエネルギー変換	204
I. エネルギー供給系の制御	206
3.5 生体反応におけるエネルギー需要系	210
A. 生合成	210
B. その他のエネルギー需要系	217
参考文献	218

第 4 章 ポルフィリンの代謝

4.1 概 説	219
A. ポルフィリン	219

B. ポルフィリンの化学構造	220
4.2 ポルフィリンの合成	223
A. ポルフィリン合成の過程	223
B. ポルフィリン合成の素材	225
C. ALA の生成とコハク酸-グリシン回路	229
D. ALAC 生成の機構	230
E. ポルホピリノゲン(PBG) の生成	231
F. PBG からプロトポルフィリンへの過程	232
4.3 ポルフィリンの利用	233
A. ポルフィリンの代謝異常(ポルフィリン症)	235
B. B ₁₂ 分子のポルフィリン様部分の合成	238
C. プロトポルフィリンへの鉄の導入	238
D. ヘモグロビンの合成	240
E. ヘミン酵素生成の酸素適応	242
4.4 ポルフィリンおよびヘム化合物の分解	244
A. ポルフィリンの分解	244
B. ビリベルジンの生成	245
C. ヘモグロビンの分解経路	246
D. ヘモグロビン分解の模型反応	247
E. その他のヘムの分解	258
F. 有機酸の共存による模型分解反応	259
4.5 ヘム蛋白質代謝産物の運命	260
A. ビリベルジンの酵素的還元	260
B. ビリルビンの排出	261
C. ウロビリニン体	263
D. ウロビリニン体の腸肝循環および尿中排出	265
参考文献	267
索引	1~10

第1章 糖質の異化

1.1 緒 論

糖質の生体内での異化は生化学のうちでも最も早く研究の対象となった領域で、糖代謝に関する研究の歴史は生化学史そのものと表裏一体の関係をなしている。そして糖の異化、発酵、解糖についての研究史は、Pasteurをはじめとして生化学史上の巨星たちの名でかざられている。このように糖代謝に関する生化学が、他の分野での生化学に一步さきんじたことの原因はいろいろと考えられるであろうが、蛋白や脂肪と異なって、糖の構造が比較的簡単なパターンから組み立てられているという内部的理由以外に、Pasteurらの研究についてもわかるように、発酵化学という形での産業へのつながり、または細菌学という形での医学との強い結びつきを除いて考えることはできない。実際このようにして現在までに糖代謝に関するグランドプランはほぼ明らかにされ、しかも生細胞のもつ基本的ないくつかの生化学的パターンのうちでエネルギー獲得の手段が明るみに出されたことは、生化学の得た最も大きな収穫の一つといえよう。

しかしここにひとたびふりかえって、糖代謝についてわれわれはすべてを知り尽くしたかという点、事実はまったく反対である。なるほどわれわれは糖代謝に関する基本的酵素系は知っているが、これらの糖質代謝が生細胞内でどのようなメカニズムで調節されているかということになるとほとんど無知に等しい。

Pasteur がすでに前世紀末に酸素の存在下において発酵が抑制される現象を発見して、以後この現象は彼の名を冠して呼ばれるようになったが、このPasteur 効果の内部メカニズムの解明には多くのすぐれた生化学の研究者たちがたちむかったにもかかわらず、いまだに一定の結論が得られていないのであ

る。山積されている問題の中から他の一例をとれば、高等動物では器官によって特異な糖代謝が存在するが、このような場合それがどのようにコントロールされているかということが問題である。たとえば神経細胞は電気的刺激を与えると解糖がいちじるしく増す。すなわち神経細胞の興奮と解糖の増加との間には一定の因果関係があるらしい。しかしわかっているのはここまでであって、そのさき、つまりこの二つの現象の間にどのような内部的連関があり、生細胞の中ではそれがどのような条件で規制されているかということについては、われわれはほとんど無知に等しい。比較生化学上の問題も近ごろようやく手をそめられたばかりの状態で、その知識は断片的であり、したがって、生化学的進化論は絶えずその不完全さのゆえに書きなおされる必要があり、正しい結論は

以下本章においては次のような省略記号を使う。

DPN: diphosphopyridine nucleotide, 助酵素 I

TPN: triphosphopyridine nucleotide, 助酵素 II

FAD: flavin-adenine dinucleotide

FMN: flavin mononucleotide

Co A: coenzyme A

ATP, ADP, AMP: それぞれ adenosine tri-, di-, monophosphate

GTP, GDP, GMP: それぞれ guanosine tri-, di-, monophosphate

UTP, UDP, UMP: それぞれ uridine tri-, di-, monophosphate

UDPG, UDPGal, UDPGA: それぞれ uridine diphosphate glucose, galactose, glucuronic acid, ウリジンニリン酸-ブドウ糖, ガラクトース, グルクロン酸

CTP, CDP, CMP: それぞれ cytidine tri-, di-, monophosphate

ITP, IDP, IMP: それぞれ inosine tri-, di-, monophosphate

G-1-P: glucose-1-phosphate, ブドウ糖-1-リン酸

G-6-P: glucose-6-phosphate, ブドウ糖-6-リン酸

F-1-P: fructose-1-phosphate, 果糖-1-リン酸

F-6-P: fructose-6-phosphate, 果糖-6-リン酸

HDP: hexose diphosphate, 六炭糖ニリン酸

F-1, 6-P: fructose-1, 6-diphosphate, 果糖-1, 6-ニリン酸

R-5-P: ribose-5-phosphate, リボース-5-リン酸

S-7-P: sedoheptulose-7-phosphate, セドヘプトロース-7-リン酸

GAD-3-P: glyceraldehyde-3-phosphate, グリセロアルデヒド-3-リン酸

3-PGA: 3-phosphoglyceric acid, 3-リングリセリン酸

2-PGA: 2-phosphoglyceric acid, 2-リングリセリン酸

DPGA: diphosphoglyceric acid, ニリングリセリン酸

PEP: phosphoenolpyruvic acid, リンエノールピルビン酸

Pi: inorganic phosphate, 無機リン酸

今後に残されている。

糖質代謝に関する研究はこのような未開拓の領域に今後発展していくであろうが、そのためにはまず、よく研究目的が意識され、それに沿って研究が組織され計画されることが必要であり、また一方、実際にあたって生化学者がここ 10 数年間に手に入れた数々の強力な研究の手段もこれらの問題を解くにあたっては、必ずしも有効とはいえず、研究手段のうえに新しい方法が出現することが期待される。

ひるがえって糖質の代謝系に関する研究は酵素学へと発展し、単一酵素の分離、その性質の観察から、蛋白としての構造の研究に至っており、代謝学から一応分離したようにみえる。しかし、この方面からも酵素の機能が理解され、ひいて代謝上の問題がこれらの知見に基づいて理解されることも期待できよう。3-リングリセロアルデヒド脱水素酵素のように多量に結晶として得られる酵素では、構造と機能の問題は相当つっこんで研究されたが、今後この観点を進め、蛋白構造と機能との関連が物理化学の立場からとり上げられるであろう。

1.2 解糖系 (Embden-Meyerhof 系, EM 系)

A. 解糖の概観

解糖は生細胞の主要なエネルギー獲得手段の一つである。それはほとんどすべての細胞に存在する過程である。このことは、この過程を発生学的にきわめて古いものと推定させる。生物の種類によって細部の Modification はあっても、主要な点は生物進化の全段階にわたって一貫して存在している。

解糖の定義はいろいろ考えられるであろうが、今のところ糖質を分解して乳酸を発生する過程と考えよう。その過程は簡単にはブドウ糖を起点とするとき、次の式によって書きあらわされる。



実際には生じる自由エネルギーの一部分は 2 分子の ATP となってたくわえら

れ、細胞によって外界になされるいろいろの仕事に使われていく*。

アデニル酸系の関与を考慮に入れたうえで反応式を書けば



となる (式中 Pi は無機リン酸をあらわす)。

動物の細胞では大部分最終産物としては L-乳酸を生じる形でブドウ糖が分解されるが (乳酸発酵)、他の生物、特に細菌類では終末産物は多種多様である。よく知られているように、酵母の場合はエチルアルコールを生じる (アルコール発酵)。そのほか酢酸、プロピオン酸などの有機酸を生じる場合、グリセロールのような多価アルコールを生じる場合など、糖の分解は生物によって大差を示すが、これらの発酵現象については、ほかに記述をゆずって、ここでは主として乳酸発酵 (つまり解糖) とアルコール発酵について述べていく。

この過程はよく研究されていて不明なところはない。それは図 1.1 に掲げた経路による。この図からわかるように、解糖は全体としてみた場合、酸化と還元が一段階ずつ含まれ、互に打ち消し合う嫌氣的 (anaerobic) な過程であるが、組織中では酸素の存在下でもブドウ糖分解の第一段階として起る (好氣的解糖)。この場合は三炭糖の酸化によって生成したピルビン酸の一部はさらに酸化されてアセチル-CoA となり、クエン酸サイクル (TCA サイクル) に入っていくが、他の一部は嫌氣的条件においてと同様 DPNH によって還元された乳酸として蓄積する。どれだけの部分が酸化され、どれだけの部分が乳酸としてたまるかは、そのときに細胞のおかれた条件によって左右されるもので一概にはいえない。しかし、たとえば、筋肉を激しく労作させたとき、神経細胞を電気刺激によって興奮させたときなどには、酵素の存在下で好氣的解糖による乳酸の発生がいちじるしく増加することが知られている。このことは細胞のもつ解糖系が TCA サイクルに比べて能力 (または容量といってもよい) にか

* 従来 ATP の末端のリン酸結合の水解に伴う自由エネルギーの変化は 10 kcal 前後と推定されていた。それに基づいて解糖の場合のエネルギー効率の計算が行われてきたが、最近の実験結果 (ミオシン ATPase を使った) は ATP の末端リン酸基の水解によって生じる ΔF の値は実際はずっと低く、5~6 kcal 前後であることを示している。それで一応今まで行われてきた効率計算は訂正される必要があり、さらに ATP がいわゆる "high energy compound" であるという意味も、単に水解反応によって出る自由エネルギーの問題だけでなく、他の種々の生物学的条件をも考慮に入れたものでなくてはならない。

なりのゆとりをもつものであり、細胞のエネルギー要求の増加によってその解糖系の能力が動員されることが可能であることを示していると考えられる。

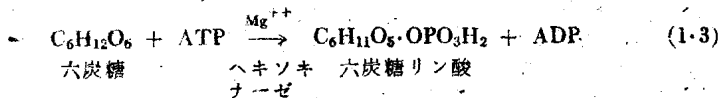
この場合、好気的な条件下ではブドウ糖代謝は嫌気的な解糖とは別の経路をとるという考え方がある。具体的には五炭糖リン酸サイクルを通るのではないかという考えがその代表的なものであるが、現在までに得られた実験結果はこのような考え方を支持しない。この点についてはのちにさらにふれたいと考える。

解糖酵素系の他の一つの特長はその構成酵素がすべて細胞内の可溶性蛋白として存在していることである*。これは TCA サイクルに関係する酵素が電子伝達系とともにミトコンドリアという細胞内顆粒に結合して存在しているのに比べて、きわだっただ対照をなしている。このことはこれらの酵素系を系統発生的に考察する場合に考慮しなければならないことであろう。

以下解糖の各段階を順を追って記述していくことにする。

B. 解糖系の酵素反応

a. ブドウ糖のリン酸化反応　ブドウ糖またはその他の六炭糖が利用されるとき通常まずリン酸化を受ける（直接酸化を受ける経路もあるがこの系の生理的意義は不明である）。六炭糖のリン酸化は次のような方式によって一般的にヘキソキナーゼ (hexokinase) と呼ばれる酵素によって起る。

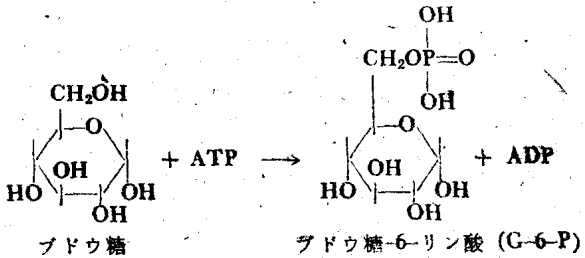


一般的名称“ヘキソキナーゼ”で呼ばれる理由は、組織によって酵素の性質が違い、ブドウ糖のみをリン酸化するもの、ブドウ糖、果糖、マンノースなど多くの糖をリン酸化するものが知られていて、そのリン酸化を受ける位置もブドウ糖の場合は6位にリン酸化されるが果糖の場合は1位（特異なフルクトキナーゼによって）というようにまちまちで、すべてをひっくるめてヘキソキナーゼと呼ぶわけである。それらのうちよく研究されているものについてさらにふ

* もっとも、このことには例外がある。最近、二、三の脊椎動物の脳のミトコンドリアには解糖に必要な酵素全部が結びついていることが明らかになった。

れておく。

i) 酵母のヘキソキナーゼ ビール酵母からは結晶のヘキソキナーゼがとり出された¹⁾。酵母のヘキソキナーゼは特異性が低くて、ブドウ糖、果糖、マンノース、グルコサミンに働く。ATP, Mg^{++} を必要とし、生成するリン酸エステルはすべて 6-リン酸エステルである。上の基質に対して、turnover number はそれぞれ 13,000, 26,000, 12,000, 6000/enzyme molecule/min であり、 K_m はそれぞれ 1.5×10^{-4} , 1.5×10^{-3} , 1.0×10^{-4} , 1.0×10^{-4} である。これらの糖は基質として互に競合阻害を示し、これらのリン酸化が同一の酵素により同一の活性中心によって触媒されることを示している。

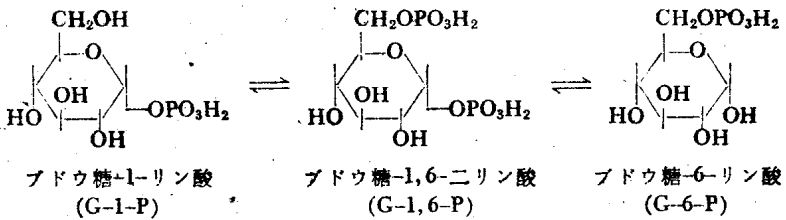


ii) 動物組織のヘキソキナーゼ 動物組織のヘキソキナーゼは器官によって酵素の性質が大いに違っている。そのうちよく研究されているのは脳および肝²⁾のヘキソキナーゼであって、そのほかは腸粘膜のヘキソキナーゼも糖質吸収の問題とからんでとり上げられている。脳のヘキソキナーゼは酵母のヘキソキナーゼにその性質が似ていて、特異性が低く、果糖、ブドウ糖、2-デスオキシ果糖、グルコサミン、マンノースがリン酸化される。ヌクレオチドとしてATPを、金属として Mg^{++} を要求する点は酵母のヘキソキナーゼと同一であるが、反応産物であるG-6-PまたはADPで阻害を受ける点が異なっている。また脳のヘキソキナーゼの大部分は、細胞の可溶性部分でなく顆粒性部分に結びついた形で存在することも特長的なことである。

一方、肝はこれらと異なり特異性の高い2種のヘキソキナーゼ、すなわちブドウ糖に作用するグルコキナーゼ (glucokinase) と果糖に作用するフルクトキナーゼ³⁾ (fructokinase) をもっていて、グルコキナーゼの場合反応産物はG-6-P

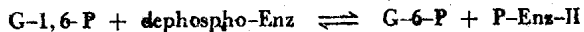
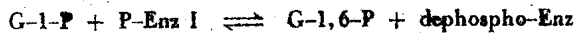
であるがフルクトキナーゼの場合は反応産物は F-1-P である。筋も肝と似たタイプのヘキソキナーゼをもっていることが知られている。植物の場合はあまり報告がないが、そのタイプは酵母のヘキソキナーゼに似ているといわれる。

b. ブドウ糖-1-リン酸 \rightleftharpoons ブドウ糖-6-リン酸 1.3 E. で述べるとおり、グリコーゲンは加リン酸分解によって G-1-P を生ずるが、この G-1-P はホスホグルコムターゼ (phosphoglucomutase) によって6の位置にリン酸を転位する。

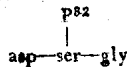


初め Leloir ら⁴⁾ が、ブドウ糖-1,6-ニリン酸 (G-1,6-P) をこの反応の副因子として提唱し、さらに反応の中間段階としてリン酸化された酵素 (P-Enz) の存在も Najjar ら⁵⁾ によって確認された。さらに Koshland らは標識した P-Enz をつくったのちに、これを酵素的に水解しセリンを含んだペプチドを取り出しているので、この場合セリンが酵素蛋白とリン酸との結合に役割を果たしていると考えられる*。

さてその反応機構は次のようなものと考えられる。



* ホスホグルコムターゼを P³² で標識して得られるリン酸化ペプチドは



という構造をもっている。これと同様のリン酸化ペプチドが、DFP³² (diisopropylfluorophosphate) で標識したキモトリプシンまたはトリプシンからも得られた。このように機能的にまったく異なる酵素が P-セリン周辺に同一の構造をもっていることは興味深い事実である。

このように酵素蛋白中のセリン残基は蛋白とリン酸の結合に役だっているわけであるが、セリン残基だけが唯一の“活性中心”ではないということは最近 Koshland ら (1958) が同じくホスホグルコムターゼの反応にヒスチジンが関係するらしい間接証明を与えたことからも想像される。