

18

酵素触媒反応の機構・ ビタミンの有機化学

野菜や果物に含まれるビタミン

ライム：ビタミン A, C, K, 葉酸

サヤインゲン：ビタミン A, B₁,
B₆, C, K, 葉酸, リボフラビン

リンゴ：ビタミン A, C, K, 葉酸

キュウリ：ビタミン A, C, K, パ
ントテン酸塩

アスパラガス：ビタミン A, B₁,
B₆, C, E, K, 葉酸, ナイアシン,
リボフラビン

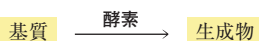


ビタミン(vitamin)とは、ヒトの体内では生産できないが、正常な身体の機能を維持するためにごく少量必要な物質である。この章では、細胞内で起こる、ビタミンが関与するいくつかの有機反応について学ぶ。

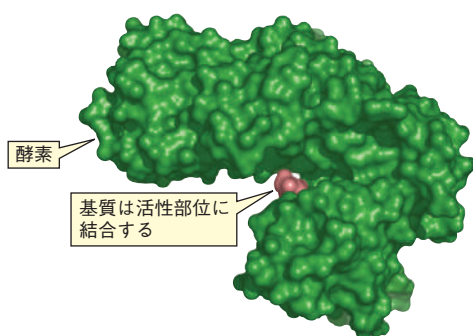
生体内で起こるすべての有機化学反応には本質的に触媒が必要である。触媒とは、それ自身は反応の前後で消費されたり変化したりせず、化学反応の速度を増大させる物質であることを思い出そう(5.10 節参照)。ほとんどの生体触媒はタンパク質である(17.0 節参照)。化学反応を触媒するタンパク質を**酵素(enzyme)**と呼ぶ。それぞれの生体反応は異なった酵素によって触媒される。酵素は非常に優れた触媒であり、それによりもたらされる分子間反応の加速効果は 10^{16} 倍にも及ぶ場合がある。それに対して非生体系の触媒による加速効果は 10^4 倍をめったに超えることはない。

18.1 酵素触媒作用

酵素触媒反応の反応物は**基質(substrate)**と呼ばれる。



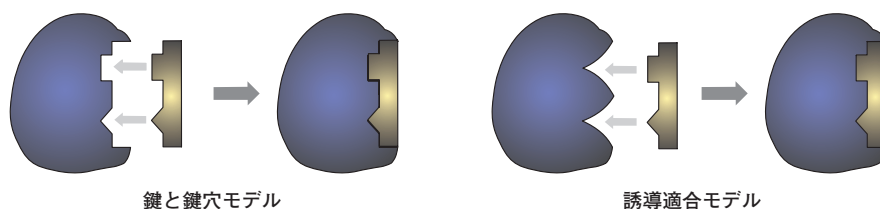
酵素はその表面のくぼみにあるポケット、すなわち**活性部位(active site)**で基質と結合する。すべての反応において、基質が生成物に変換される過程で起こる結合の形成や切断は、基質が活性部位に取り込まれた状態で進行する。



酵素は非生体触媒とは異なり、それが反応を触媒する基質に対して特異性を示す(6.7節参照)。すべての酵素が同じ程度の特異性を示すわけではない。あるものは特定の化合物のみに高い特異性を示す。たとえば、グルコース-6-リン酸異性化酵素はグルコース-6-リン酸の異性化のみを触媒する。一方、よく似た構造をしたいくつもの化合物の反応を触媒する酵素もある。たとえば、ヘキソキナーゼはどのようなD-ヘキソースのリン酸化でも触媒する。基質に対する酵素の特異性は**分子認識**(molecular recognition)、すなわち、ある分子と別の分子を区別する能力として知られている現象のもう一つの例である。

活性部位に存在する特定の**アミノ酸側鎖**(amino acid side chain)(α 置換基)は、酵素の特異性に寄与している。たとえば、負に帯電した側鎖をもつアミノ酸は基質の正に帯電した部位と相互作用し、水素結合供与基をもつアミノ酸側鎖は基質の水素結合受容基と相互作用する。また、疎水性のアミノ酸側鎖は基質の疎水基と相互作用する。

1894年、Emil Fischerは、酵素の基質に対する特異性を説明するために**鍵と鍵穴モデル**(lock-and-key model)を提唱した。このモデルでは、鍵が鍵穴にうまく合致するように、基質は酵素の活性部位にうまく適合する。



1958年、Daniel Koshlandが酵素と基質の結合に対する**誘導適合モデル**(induced-fit model)を提唱した。このモデルでは、基質が酵素に結合するまでは、活性部位の形は基質の形と完全に相補的であるわけではない。基質が結合することによって放出されるエネルギーは、酵素の構造変化を誘発し、それにより基質と酵素活性部位との結合がより緊密なものとなる。誘導適合の例を図18.1に示す。

酵素が驚異的な触媒機能を発揮する理由は単純には説明できない。それぞれの酵素は独特の触媒作用を駆使して反応を触媒している。多くの酵素に共通して見られる触媒作用を次に示す。

- 活性部位において、反応部位は互いに反応に都合のよい方向を向いて配置されている。
- 酵素のアミノ酸側鎖のいくつかは酸、塩基、および求核触媒として機能する。これらの触媒反応基はまさに反応を受ける基質の方向を向いて配置されている。

酸触媒は、反応物にプロトンを供与することにより反応速度を増大させる。

塩基触媒は、反応物からプロトンを引き抜くことにより反応速度を増大させる。

求核触媒は、反応物と新しい共有結合を形成することにより反応速度を増大させる。

- アミノ酸の側鎖は、van der Waals 相互作用、静電的相互作用、および水素結合などを利用して反応の遷移状態や中間体を安定化する。化学種が安定であるほど生成しやすいということを思い出そう(5.7節参照)。これらのアミノ酸側鎖は遷移状態を安定化できるよう適切に配置されている。

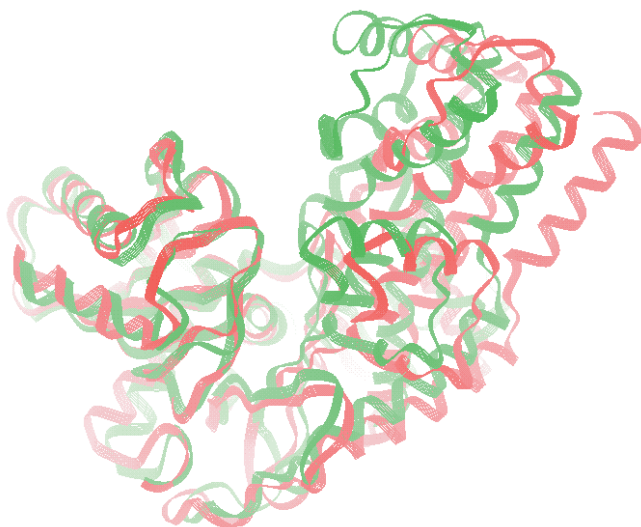


図 18.1 ▶

基質と結合する前のヘキソキナーゼの構造を赤色で、基質と結合したあとのヘキソキナーゼの構造を緑色で示してある。

反応基、触媒官能基、および遷移状態の安定化に関与する官能基を適切な位置に配置することが、反応速度を増大させるのにどれほど重要であるかを理解するために、反応速度に影響を与える因子について見ていこう。

化学反応の速度は、ある決められた時間(単位時間)内に十分なエネルギーと適切な配向をもった分子どうしが衝突する回数で決まる(5.8節参照)。

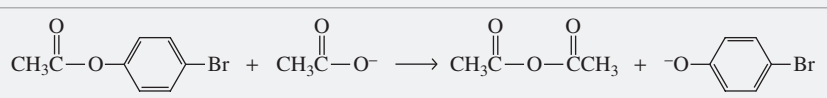
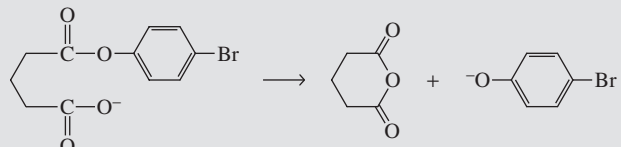
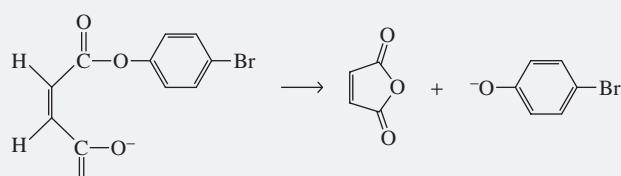
$$\text{反応速度} = \frac{\text{衝突回数}}{\text{単位時間}} \times \left(\frac{\text{十分なエネルギーをもった衝突の割合}}{\text{衝突の割合}} \right) \times \left(\frac{\text{適切な配向をもった衝突の割合}}{\text{衝突の割合}} \right)$$

したがって、反応基や触媒官能基が、酵素活性中心において互いに適切な配向で衝突できるように配置されていると、反応速度は増大する。表 18.1 に示した相

対速度は、非酵素反応においても反応部位が適切に配向されていると、速度が大きく増大することを示している。〔**相対速度**(relative rate)とは、ある一連の反応においてそれぞれの反応の速度定数を、最も遅い反応の速度定数で割ったものである。〕

表 18.1 に示した反応 **A** はエステルとカルボキシラートイオンの分子間反応である。一方、反応 **B** と **C** は、反応 **A** の場合と同じ二つの反応基が一つの分子中にある分子内反応である(8.6 節参照)。反応 **B** では各反応基が結合で連結されているので、それぞれが溶媒中に拡散することなく容易に反応できる。そのため反応 **A** よりも 1,000 倍速い。反応 **B** では、二つの反応基が一重結合で連結されているが、この一重結合は自由回転できるので二つの反応基は常に反応にとって好ましい配向を取っているわけではない。

表 18.1 一つの分子間反応(A)と二つの分子内反応(B~C)の相対反応速度

反 応	相 対 反 応 速 度
A 	1.0
B 	1×10^3
C 	1×10^7

一方、反応 **C** では、二つの反応基が二重結合で連結されているため、それらが互いに遠ざかるような結合の自由回転が起こらない。これにより好ましい配向で反応する確率が増大し、反応 **A** の場合より 1,000 万倍速く反応が進行する。

以上のことから、酵素が反応基、触媒官能基、および遷移状態の安定化に参与する官能基を酵素活性部位の適切な位置に配置することにより膨大な反応の加速をもたらすことが理解できたであろう。

問題 1 ◆

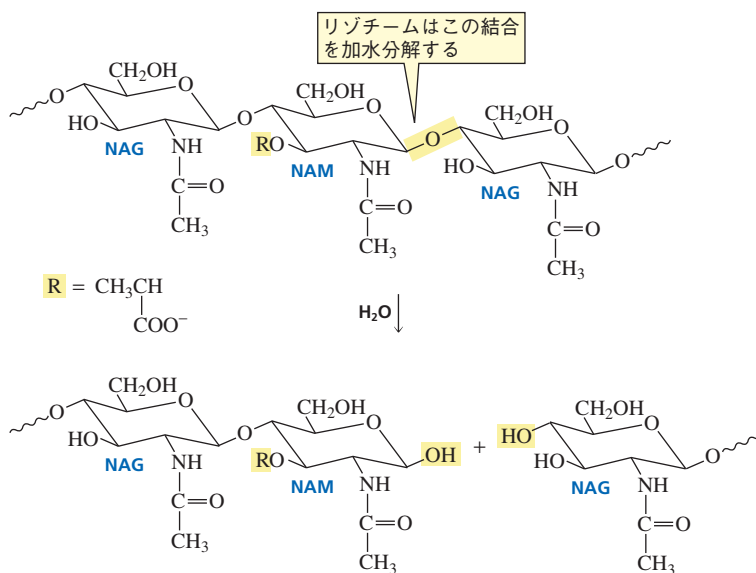
cis-アルケン(**C**)の反応の相対速度が表 18.1 にある。トランス異性体の反応速度はどのようになると推定されるか。

ではこれから四つの酵素触媒反応機構を見ていこう。酵素反応で使われている酸、塩基、および求核触媒は、有機化学反応で使われている酸、塩基、および求核触媒と同じであることに注目しよう。この章で参照されている各節を見返して

みると、これまで学んできたほとんどの有機化学反応が、生体系にある化合物の反応にも適用できることがわかるだろう。酵素の驚くべき触媒機能の一端は、酸、塩基、および求核触媒などの異なった触媒作用を一つの反応で同時に作用させることができることに起因している。これにより、酵素は高い活性化エネルギーを必要とする中間体を形成することなく反応を進行させることができる。

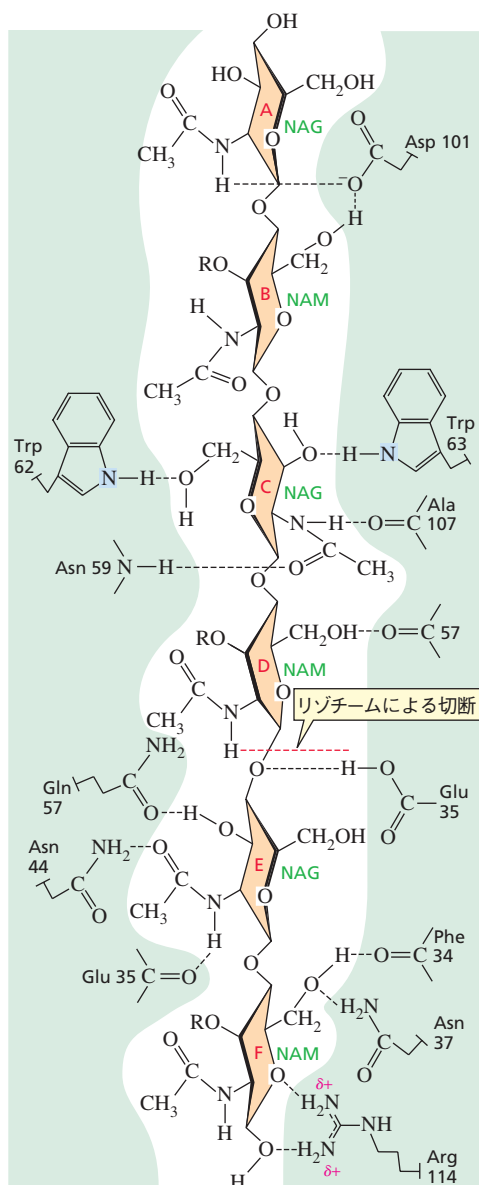
18.2 二つの連続する S_N2 反応を含む酵素触媒反応

リゾチームは細菌の細胞壁を破壊する酵素である。細菌の細胞壁は β -1,4'-グリコシド結合(16.9節参照)で交互につながった *N*-アセチルムラミン酸(NAM)と *N*-アセチルグルコサミン(NAG)からできている。リゾチームは NAM-NAG 結合を加水分解することにより細胞壁を破壊する。



リゾチームの活性部位は基質の六つの糖残基と結合する。図 18.2 では六つの糖残基はそれぞれ **A**, **B**, **C**, **D**, **E**, および **F** とラベルしてある。酵素の活性部位にあるさまざまなアミノ酸側鎖が基質を適切な位置に結合させるために使われている様子が図 18.2 に示されている。NAM の RO 基は **C** または **E** の結合部位には適合できない。したがって、NAM ユニットは **B** か **D** か **F** と結合する必要がある。よって、加水分解は **D** と **E** の間で起こる。

リゾチームの活性部位には二つの触媒反応部位、すなわち Glu 35 と Asp 52 が存在する。この酵素触媒反応はアノマー炭素の立体構造が保持されたまま進行するため、一段階の S_N2 反応ではないことを示している。(S_N2 反応は、立体配置の反転を伴って進行することを思い出そう；8.1節参照。)したがって、一段階の S_N2 反応ではなく、二つの連続した S_N2 反応か、もしくは、求核攻撃の方向が酵素によりブロックされ一方のみに限定された中間体への S_N1 反応であると結論できる。リゾチームはその反応機構が 40 年近くも詳細に研究されてきた最初



◀ 図 18.2

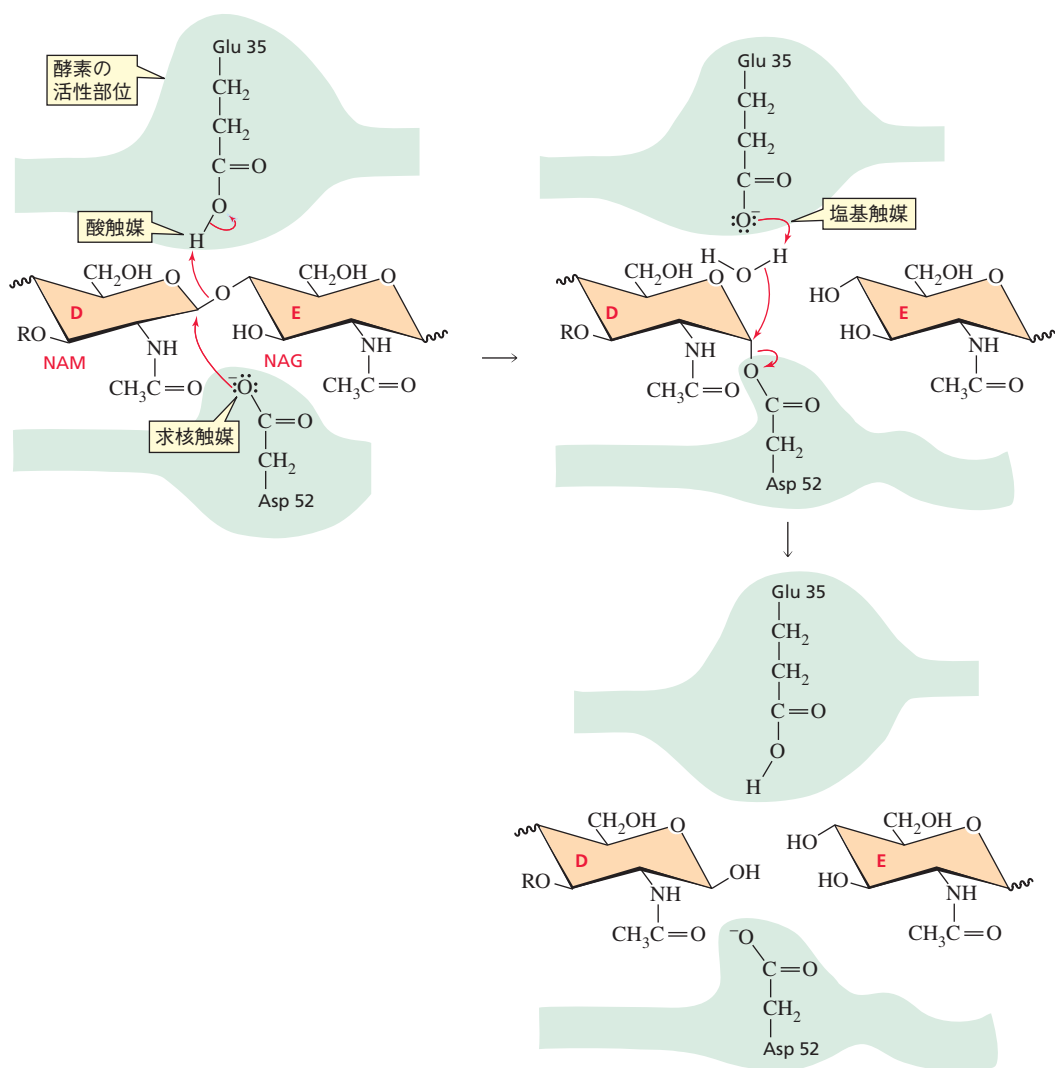
リゾチームの活性部位において基質結合に関与するアミノ酸.

の酵素であるが、二つの連続した S_N2 反応で進行することを示すデータが得られたのはつい最近になってからである。

問題 2 ◆

$H_2^{18}O$ をリゾチームの加水分解反応に用いた場合、標識した酸素原子は NAM と NAG のどちらに含まれるか。

リゾチームの触媒反応機構



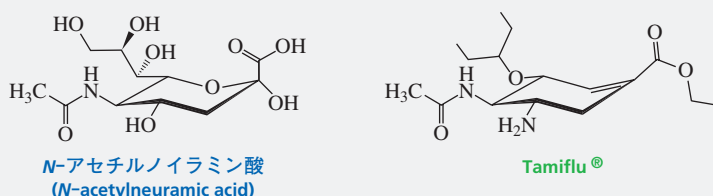
- S_N2 反応の一段階目において、Asp 52 が求核触媒となり、NAM 残基のアノマー炭素(C-1 位)を攻撃し、脱離基と置き換わる。Glu 35 は酸触媒として機能し、脱離基をプロトン化することにより、それを弱い塩基、つまり優れた脱離基にして脱離しやすくしている。求核攻撃と脱離基のプロトン化が一つの段階で同時に起こるように二つの触媒官能基が配置されていることに注目しよう。

Glu 35 を Asp に置き換えると酵素の活性が弱くなることがわかった。明らかに、Asp はプロトン化されるべき酸素原子に対して適切な位置と角度がない。Glu 35 を酸触媒として機能しえない Ala に置き換えると、酵素の活性は完全になくなる。

- S_N2 反応の二段階目では、Glu 35 は一般塩基触媒として働き、水分子の求核性を高める。

Tamiflu® の作用

Tamiflu® は現在入手可能な数少ない抗ウイルス剤の一つであり、A 型と B 型の両方のインフルエンザの予防と治療に使われている。ウイルス粒子が宿主細胞から放出されるためには、ノイラミナーゼと呼ばれる酵素によって宿主細胞の表面にある糖タンパク質から糖鎖(N-アセチルノイラミン酸)が切除される必要がある(16.11 節参照)。N-アセチルノイラミン酸と Tamiflu® はよく似た形をしているので、この酵素はこれらの分子を見分けることができない。したがって、酵素はどちらの化合物も活性部位に取り込んでしまう。酵素が Tamiflu® を取り込んだ場合、N-アセチルノイラミン酸は酵素に結合できなくなる。これにより、ウイルス粒子は宿主細胞から放出されなくなり、新しい細胞に感染できなくなる。たくさんの細胞がウイルスに感染してしまったあとでは効果が小さくなるので、Tamiflu® を用いた早期治療が肝心である。この 10 年間に 5 億人もの人びとが Tamiflu® を服用した。

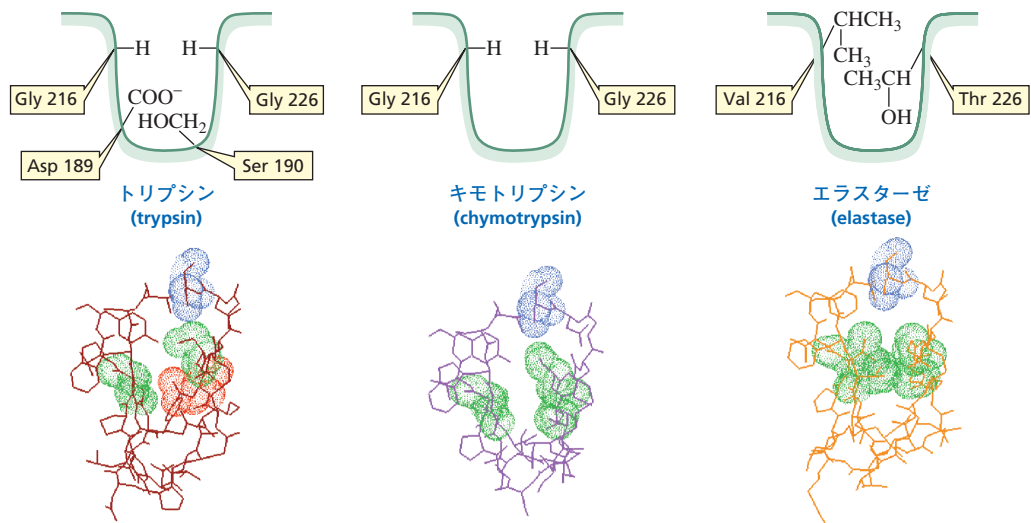


18.3 アミドおよびエステルの酸触媒加水分解反応を含む酵素触媒反応

トリプシン、キモトリプシン、およびエラスターゼは、エンドペプチダーゼという酵素群に属し、総称してセリンプロテアーゼと呼ばれる。(エンドペプチダーゼはペプチド鎖の非末端ペプチド結合を切断する酵素であることを思い出そう；17.10 節参照)。これらの酵素はタンパク質のペプチド鎖の加水分解を触媒するのでプロテアーゼと呼ばれる。これらの酵素はそれぞれ触媒反応に関与するセリン残基を活性部位にもっているのでセリンプロテアーゼと呼ばれる。

さまざまなセリンプロテアーゼは類似の一次構造をもっており、進化論的に関連があるとされている。そして、これらの酵素はすべて活性部位に同じ三つの触媒側鎖をもっている(それは、Asp, His, および Ser である)。しかし、一つの重要な違いがある。すなわち、加水分解を受けるペプチド結合のアミノ酸側鎖と結合するための活性部位のポケットの構成である(図 18.3)。このポケットにより各セリンプロテアーゼの基質特異性が異なる(17.10 節参照)。

トリプシンのポケットは狭く、活性部位の底の部分にセリンと負に帯電したアスパラギン酸のカルボキシ基をもっている。このような基質結合部位の構造と電荷のため、正電荷をもった長鎖のアミノ酸(Lys と Arg)の側鎖をより強く結合する。このような理由で、トリプシンはアルギニンやリシンの C 側のペプチド結合のみを加水分解する。キモトリプシンのポケットは狭くて、非極性アミノ酸が並んでいる。したがって、キモトリプシンは平らで非極性な側鎖をもつアミノ酸(Phe, Tyr, Trp)の C 側のペプチド結合を切断する。



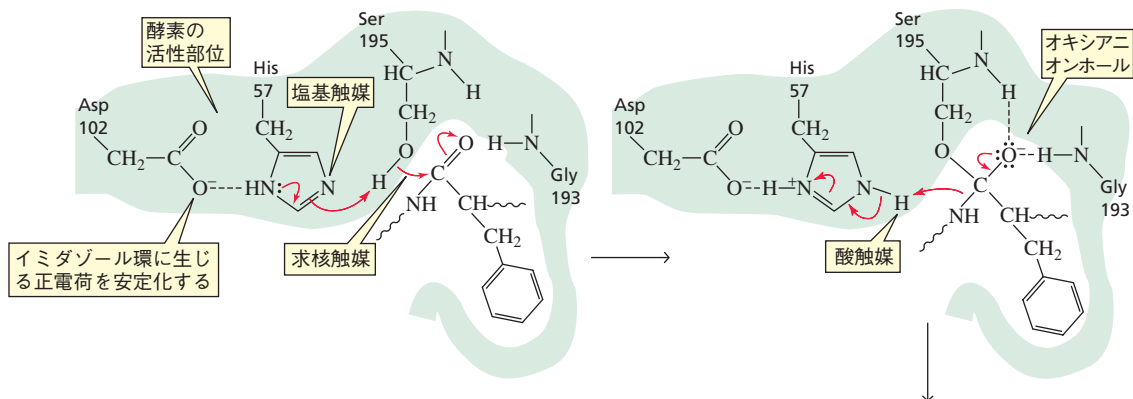
▲ 図 18.3

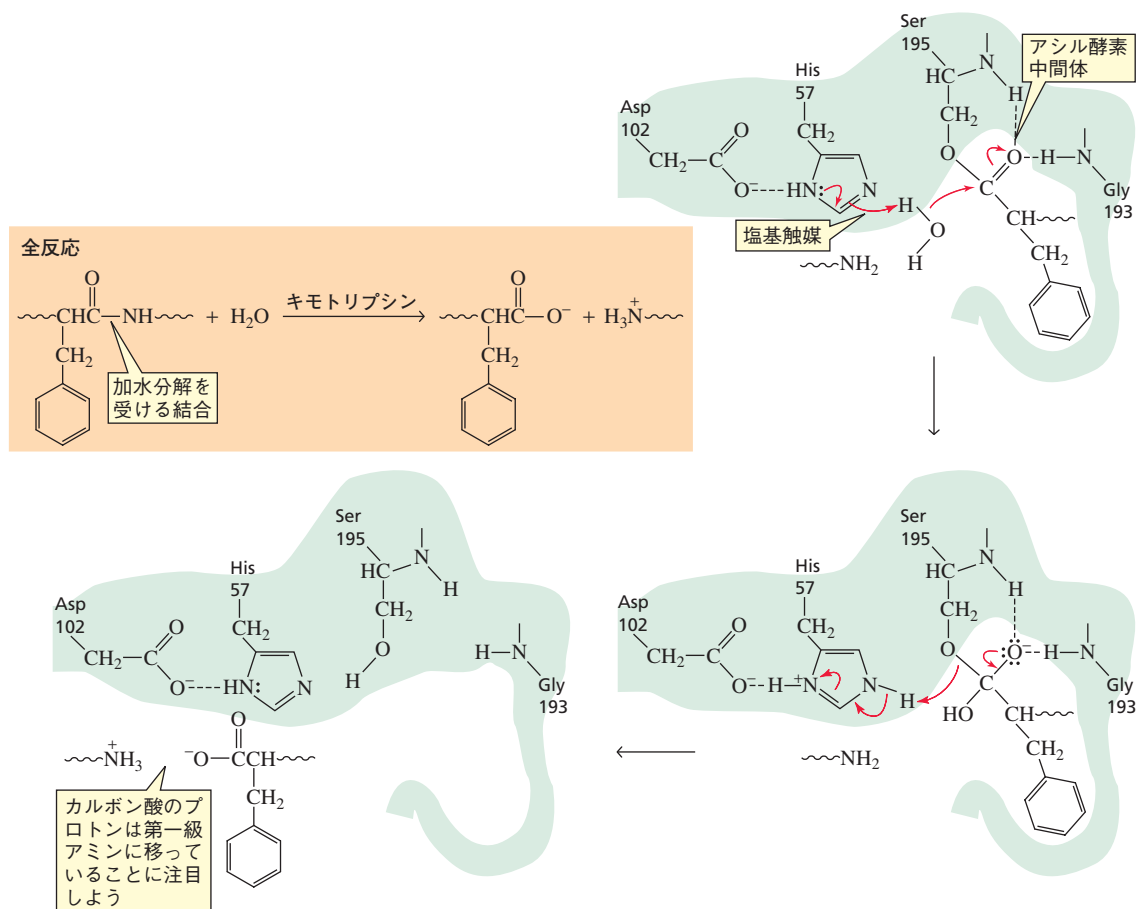
トリプシン、キモトリプシン、およびエラスターゼの基質結合ポケット。負に帯電したアスパラギン酸は赤色で、また、比較的非極性なアミノ酸は緑色で、そしてポケットの上部にあるアミノ酸は青色で示してある。基質結合ポケットの構造を見れば、なぜトリプシンが長鎖の正電荷をもったアミノ酸と結合し、キモトリプシンが平らで非極性なアミノ酸と結合し、エラスターゼが小さなアミノ酸のみと結合するのがわかる。

一方、エラスターゼでは、トリプシンやキモトリプシンのポケットに存在する二つのグリシンが比較的高いバリントレオニンに置き換わっている。その結果、小さなアミノ酸の側鎖しか活性部位のポケットに適合できない。したがって、エラスターゼは小さなアミノ酸(Gly, Ala, Ser, および Val)のC側のペプチド鎖を加水分解する。

ここにはキモトリプシンによるペプチドの加水分解の推定機構を示す。この反応は二つの連続した求核アシル置換反応を含んでいることに注目しよう。最初は、アミドへの求核付加による四面体型中間体の形成と、そこからの脱離であり、次は、エステルへの求核付加による四面体型中間体の形成と、そこからの脱離である(11.4節参照)。ほかのセリンプロテアーゼも同じ反応機構に従う。

セリンプロテアーゼの触媒反応機構





- 平らで非極性なアミノ酸側鎖が疎水性のポケットに結合することにより、加水分解を受けるアミド結合が Ser 195 に非常に近い位置に固定される。His 57 が塩基触媒として働き、カルボニル基に付加するセリンの OH 基の求核性を高める。この過程は、Asp 102 によって促進される。この Asp 102 はその負電荷を用いて His 57 上に生じる正電荷を安定化し、かつ、His 57 の五員環の塩基性 N 原子をセリンの OH 基の方向へ保持することにより、反応を進行しやすくする。このように、ある電荷が反対の電荷により安定化されることを**静電的触媒作用 (electrostatic catalysis)**と呼ぶ。四面体中間体が生成することにより基質タンパク質の立体配座がわずかに変化し、負に帯電した酸素が、前は占有されていなかったオキシアニオンホールと呼ばれる部分に移動する。オキシアニオンホールでは、基質中間体の負に帯電した酸素が酵素の二つのペプチド基(Gly 193 と Ser 195)と水素結合して、四面体中間体を安定化する。
- 次の段階では、四面体中間体が崩壊し、アミノ基が放出される。この場合、脱離するアミノ基は非常に強い塩基なので、プロトン化してアミノ基の脱離能を高める酸触媒として機能する His 57 の助けがないと脱離できない。これにより脱離基の塩基性が弱まり、優れた脱離基となる。二段階目の生成物は

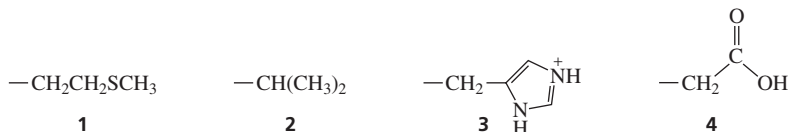
酵素のセリン残基がアシル化されたものであり、つまりアシル基と置き換わっており、**アシル酵素中間体**(acyl-enzyme intermediate)と呼ばれる。

- 三段階目は一段階目とよく似ている。しかし、この場合にはセリンではなく水が求核剤となる。水がアシル酵素中間体のアシル基に付加し、ここでも His 57 が塩基触媒として働き水の求核性を高めるとともに、Asp 102 が再び生成するヒスチジン側鎖上の正電荷を安定化する。
- 最後の段階では、四面体中間体はセリンを切り離して崩壊する。この段階では His 57 は酸触媒として機能し、セリンの脱離能を高める。(アミンはカルボキシラートイオンより強い塩基なので、この最終段階ではカルボン酸生成物からアミン生成物へプロトンが移動することに注目しよう。)

最初の二段階はアミドのアルコールシス反応であり、次の二段階はエステル加水分解であることに注目しよう。非酵素系の反応では、それぞれの二段階反応は6工程を必要とするが(11.10 および 11.16 節参照)、酵素反応では反応に関与する各官能基を適切な場所に適切に配備することによりいくつかの工程が同時に進行する。

問題 3 (解答あり)

次のアミノ酸側鎖のうち、脱離基の解離を助けるものはどれか。



解答 1と2には酸性のプロトンが存在しない。したがって、これらのアミノ酸側鎖は脱離基をプロトン化してその解離を助けることはできない。一方、3と4は酸性のプロトンをもっているので、脱離基の解離を助けることができる。

問題 4 ◆

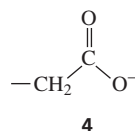
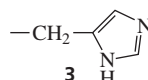
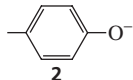
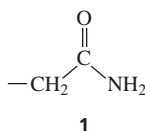
アルギニンとリシンの側鎖はトリプシンの結合ポケットに適合する(図 18.3)。これらのアミノ酸側鎖のうちの一つは、セリンと直接水素結合するとともに、アスパラギン酸と(水分子を介して)間接的に水素結合する。また、もう一つのアミノ酸側鎖はセリンとアスパラギン酸の両方と直接水素結合している。どちらがどちらのアミノ酸側鎖か。

18.4 塩基触媒エンジオール転移反応を含む酵素触媒反応

解糖系とは、グルコースを2分子のピルビン酸に変換する一連の酵素触媒反応に与えられた名称である(19.5 節参照)。解糖系の2番目の反応は、グルコース-6-リン酸からフルクトース-6-リン酸への異性化反応である。グルコースはアルドヘキソースであるが、フルクトースはケトヘキソースであることを思い出そう。したがって、この反応を触媒するグルコース-6-リン酸異性化酵素は、アルドースをケトースに変換する酵素である。この反応機構の工程2と3はエンジオール転移反応の反応機構(16.5 章参照)と同じであるが、酵素触媒反応では、四段階

問題 5 ◆

次のアミノ酸側鎖のうち、アルデヒドの α 炭素からプロトンを引き抜けるものはどれか。



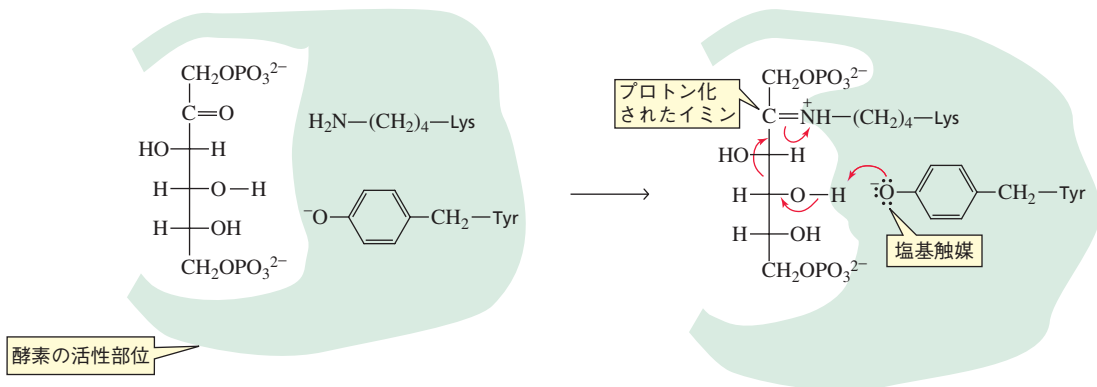
問題 6

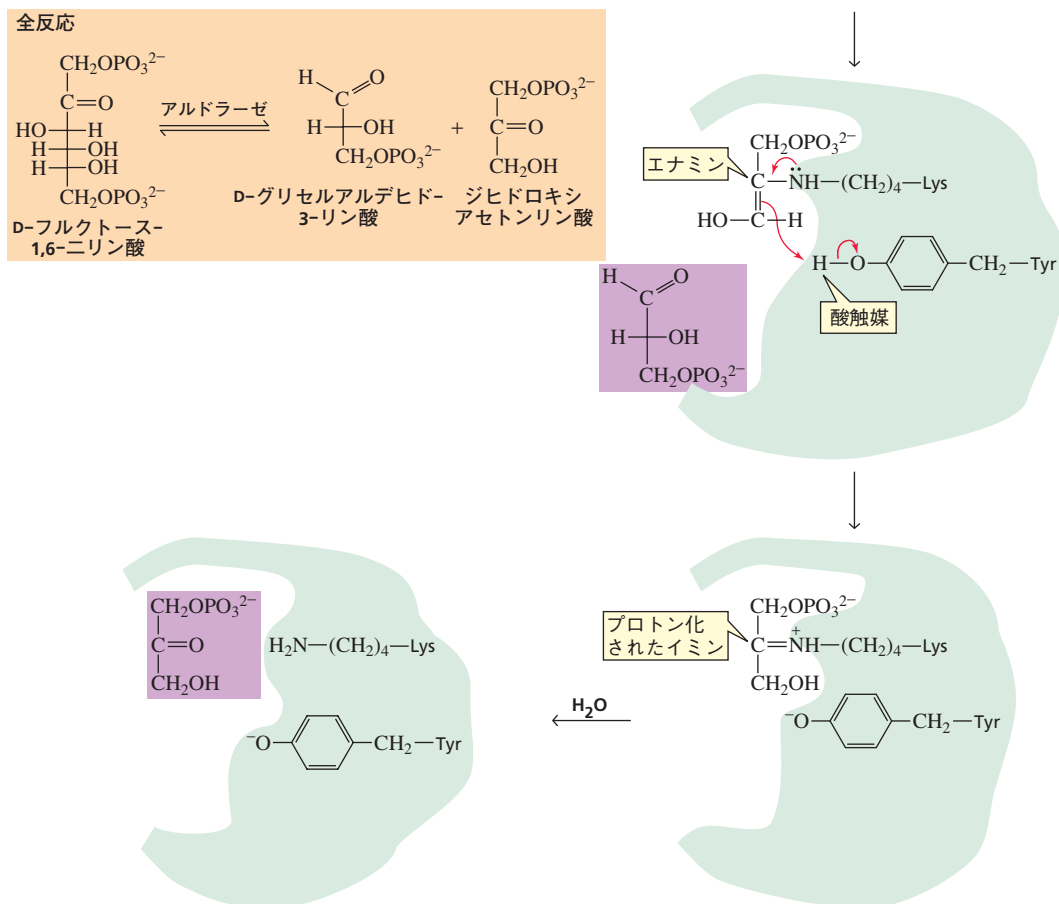
グルコースが酵素の存在しない系で塩基触媒によって異性化した場合、マンノースが生成物の一つとして得られる(16.5節参照)。酵素触媒反応でマンノースが生成しないのはなぜか。

18.5 逆アルドール付加反応を含む酵素触媒反応機構

解糖系として知られている一連の反応における最初の酵素触媒反応の基質となるのはD-グルコース(6炭素化合物)である。一方、解糖系の最終生成物は2分子のピルビン酸(3炭素化合物)である。したがって、一連の酵素触媒反応のどこかに、6炭素化合物が切断され2分子の3炭素化合物になる段階がある。酵素のアルドラーゼがこの切断反応を触媒する。アルドラーゼはフルクトース 1,6-二リン酸を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変換する。この酵素はレト-アルドール付加反応、すなわちアルドール付加反応の逆反応(13.5節参照)を触媒するので、アルドラーゼと呼ばれる。

アルドラーゼの触媒反応機構

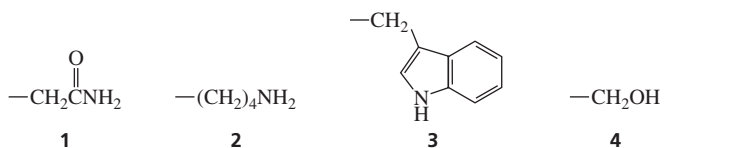




- 一段階目では、フルクトース-1,6-ニリン酸が酵素活性部位のリシン側鎖とプロトン化されたイミンを生成する(12.8節参照)。
- 次の段階では、チロシンが塩基触媒として働き、C-3とC-4の間の結合が切れる。この段階で生じたグリセルアルデヒド-3-リン酸(3炭素生成物の一つ)が酵素から解離する。
- 生成した中間体がプロトン化されたイミンに転位する。このときチロシン側鎖は酸触媒として働く。
- プロトン化されたイミンが加水分解を受け、もう一つの3炭素生成物であるジヒドロキシアセトンリン酸を放出する。

問題 7 ◆

次のアミノ酸側鎖のうち、基質とイミンを形成できるのはどれか。



問題 8

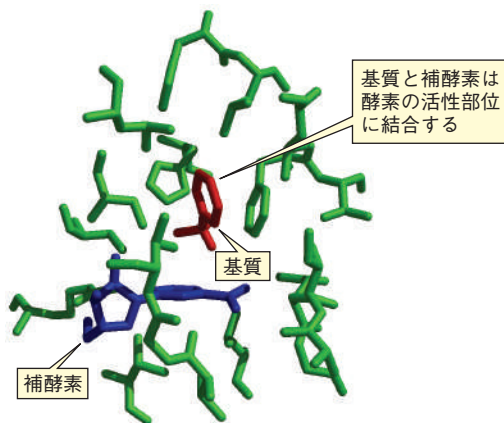
水酸化物イオンを触媒とするフルクトース-1,6-二リン酸の開裂機構を書け。

問題 9

酵素がイミンを生成することの利点は何か。

18.6 ビタミンと補酵素

多くの酵素は補酵素(coenzyme)の助けがなければ触媒能を発揮できない。補酵素は一般にビタミンとして知られている有機化合物から誘導される。ビタミンとは、体の機能を正常に保つために少量ではあるが必要な物質である。しかし、体内では合成されない。食物に含まれる必須な化合物として最初に認知されたものがアミン(ビタミン B₁)であったので、科学者はそのような必須化合物はすべてアミンであると誤って結論した。そのため、当初は vitamine(“生命に必要なアミン”)と呼ばれた。名前の最後にある e は、そののち取れてなくなった。表 18.2 にビタミンと、化学的に活性なそれらの補酵素誘導体を並べて示す。



実験室で行われている有機反応の触媒として使われている酸、塩基、および求核剤は、細胞のなかで起こっている有機反応の触媒として使われている酵素の酸性、塩基性、および求核性のアミノ酸側鎖と同じであることをこれまでに学んだ(18.2～18.5節)。この章では、補酵素は酵素のアミノ酸側鎖にはできないさまざまな化学的役割を担っていることを学ぶ。ある補酵素は酸化剤や還元剤として機能し、あるものは電子を非局在化させ、またあるものは官能基をさらに活性化したり、個々の反応に必要な優れた求核剤や強い塩基を提供したりする。

体にとってこのような化合物を1回限りで捨てるのはとても効率が悪いので、補酵素は再利用される。すなわち、反応の途中で変化を受けた補酵素は、そのあとでもとの形に戻される。

初期の栄養学において、ビタミンは水溶性ビタミンと非水溶性ビタミンの二つに分類された(表 18.2)。

表 18.2 ビタミン, それらを前駆体とする補酵素, および補酵素の化学的機能

ビタミン	補酵素	触媒される反応	ヒトにおける欠乏症
水溶性ビタミン			
ナイアシン(ビタミン B ₃)	NAD ⁺ , NADP ⁺ NADH, NADPH	酸化 還元	ペラグラ
リボフラビン(ビタミン B ₂)	FAD FADH ₂	酸化 還元	皮膚の炎症
チアミン(ビタミン B ₁)	チアミンピロリン酸(TPP)	アシル基転移	脚気
リボ酸(リボ酸塩)	リボ酸 ジヒドロリボ酸	酸化 還元	—
パントテン酸(ビタミン B ₅)	補酵素 A (CoASH)	アシル基転移	—
ビオチン(ビタミン H あるいは ビタミン B ₇)	ビオチン	カルボキシ化	—
ピリドキシン(ビタミン B ₆)	ピリドキサルリン酸(PLP)	脱炭酸, アミノ基転移, ラセミ化, その他の アミノ酸の反応	貧血
ビタミン B ₁₂	補酵素 B ₁₂	異性化	悪性貧血
葉酸	テトラヒドロ葉酸(THF)	1 炭素移動	巨赤芽球性貧血
アスコルビン酸(ビタミン C)	—	—	壊血病
非水溶性ビタミン			
ビタミン A	—	—	—
ビタミン D	—	—	くる病
ビタミン E	—	—	—
ビタミン K	ビタミン K _{H2}	カルボキシ化	—

ビタミン K は補酵素の前駆体として機能する唯一の非水溶性ビタミンである。ビタミン A は正常な視覚のために必要とされ, ビタミン D はカルシウムやリン酸の代謝を調節し, ビタミン E は抗酸化剤として機能する。これらのビタミンは補酵素としては働かないので, 本章では取り上げない。(ビタミン A と E については 4.1 節および 14.7 節で述べる。)

ビタミン C 以外の水溶性ビタミンはすべて補酵素の前駆体である。ビタミン C はビタミンという名称に反して, 高い摂取量が必要であり, ほとんどの哺乳動物の体内で合成されるので, ビタミンではない(16.6 節参照)。しかし霊長類とモルモットだけはビタミン C を体内でつくれないので, 食餌から摂取する必要がある。ビタミン C とビタミン E はラジカル阻害剤であり, 抗酸化剤として働くことはすでに学んだ。ビタミン C は水溶液中で発生したラジカルを捕捉し, ビタミン E は非極性環境下で生成したラジカルを捕捉する(14.7 節参照)。

水溶性ビタミンは過剰に摂取しても, 余分なものは体外に排泄されてしまう。しかし, 非水溶性のビタミンは, 過剰に摂取すると体外へ簡単には排泄されず, 細胞膜や体の非極性部位に蓄積される。たとえば, 過剰のビタミン D は軟組織の石灰化の原因となる。腎臓はとくに石灰化を受けやすく, 腎疾患を引き起こす。ビタミン D は太陽光の紫外線による光化学反応により皮膚中に生成する。最近, 日焼け止めクリームが多用されているので, 多くの子ども達がビタミン D 欠乏症になっている。

ビタミン B₁

Christiaan Eijkman (1858~1930) は 1886 年に東インド諸島へ脚気の研究をするために送られた研究チームの一員であった。その当時、すべての病気は微生物によって引き起こされると考えられていた。脚気の原因となる微生物が発見できなかったので、その研究チームは東インド諸島をあとにしたが、Eijkman はそこに残って新しい微生物研究所の所長になった。1896 年、Eijkman は研究用に飼っていたニワトリに脚気の徴候が現れるのを見て、偶然病気の原因を突き止めた。彼は、病院の患者のために用意された精白米をニワトリに与えると、病気の徴候が現れることを見つけた。その徴候は玄米を与えると現れなくなった。そののち、米の粉殻にチアミン(ビタミン B₁)が含まれていることがわかり、米の精白によりそれが取り除かれてしまうことが判明した。

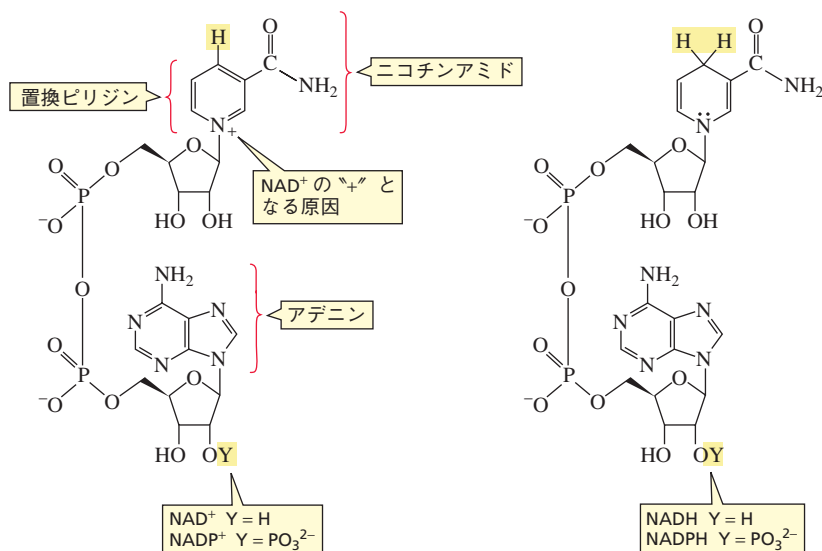


18.7 ナイアシン：多くの酸化還元反応に必要なビタミン

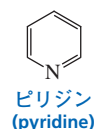
アミノ酸側鎖には酸化剤や還元剤として働くものがないので、酸化反応や還元反応を触媒する酵素はすべて補酵素を必要とする。この場合、補酵素が酸化剤あるいは還元剤として機能する。酵素は基質と補酵素を適切な位置に保持して、酸化反応や還元反応を効率よく進行させる役割を担っている(691 ページのモデル参照)。

ピリジヌクレオチド補酵素

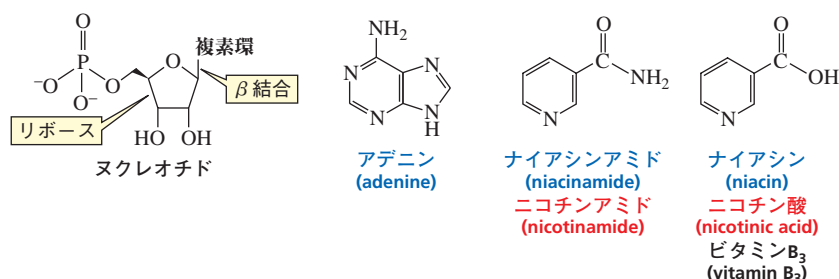
酸化反応を触媒する酵素の補酵素として用いられる最も一般的なものは、ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド(nicotinamide adenine dinucleotide, NAD^+)である。また、還元反応を触媒するのに用いられる最も一般的な補酵素は、還元型のニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH)である。



NAD^+ が基質を酸化すると、補酵素自身は NADH に還元される。 NADPH が基質を還元すると、補酵素自身は NADP^+ に酸化される。酸化反応を触媒する酵素は、 NADH よりも NAD^+ とより強く結合する。酸化反応が終わったときには、比較的弱く結合している NADH は酵素から離れる。同様に、還元反応を触媒する酵素は、 NADP^+ よりも NADPH とより強く結合し、還元反応が終わったときには、比較的弱く結合している NADP^+ が酵素から離れる。これらの補酵素はピリジン環を含んでいるので、**ピリジンヌクレオチド補酵素** (pyridine nucleotide coenzyme) として知られている。



NAD^+ はリン酸基によって互いに結ばれた二つのヌクレオチドからできている。ヌクレオチド (nucleotide) は、リン酸化されたりボースの C-1 位に β 結合で付加した複素環化合物から構成されている (21.1 節参照)。複素環化合物 (heterocyclic compound) は炭素以外の元素を環に一つ以上含んでいる。



NAD^+ においてはヌクレオチドの複素環部位の一つはニコチンアミドであり、もう一つはアデニンである。これが補酵素の名称 (ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド: nicotinamide adenine dinucleotide) の由来である。略号 NAD^+ の正電荷は、置換ピリジン環の窒素上の正電荷を示している。 NADP^+ はアデニンヌクレオチドのリボースの 2'-OH 基にリン酸基が結合しているところのみが NAD^+ と異なっており、そのため名前に "P" がついている。

🧪 ナイアシン欠乏症

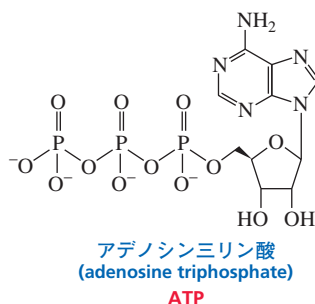
ナイアシンの欠乏は、皮膚炎から始まって精神障害や死に至るペラグラの原因となる。1927 年、アメリカで、おもに単調な食事しかできなかった貧困層の人びとにおいて 12 万以上ものペラグラの症例が報告された。ビタミン B_3 の合成過程に存在する因子がペラグラを抑制することは知られていたが、それがニコチン酸であることがわかったのは 1937 年になってからである。軽度の欠如は、代謝を遅くし、肥満の原因となりうる。

パン工場でパンにニコチン酸を添加して販売しようとしたとき、



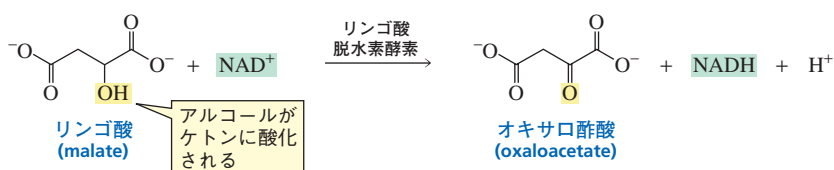
ニコチン酸という名前は有害物質であるニコチンを連想させ、ビタミン入りのパンに悪い印象を与えるおそれがあったので、ナイアシンという名前に変えられた。

補酵素のアデニンヌクレオチド部位は ATP から誘導される。ナイアシン(ビタミン B_3)は、体内で合成できないために、食餌から摂取しなければならない補酵素の一部である。(ヒトはアミノ酸のトリプトファンから少量のビタミン B_3 を合成できるが、代謝のために必要十分な量はまかなえない。)

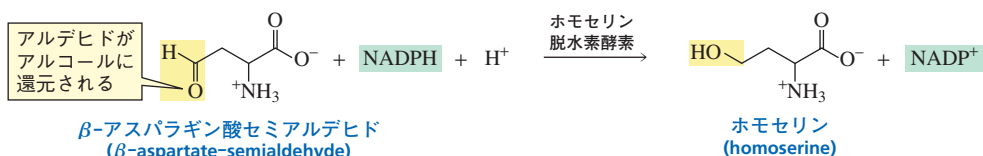


NAD^+ と NADH は一般的に異化反応 (catabolic reaction) (細胞にエネルギーを供給するために起こる複雑な生体分子の生分解反応) で使われる補酵素であり、 NADP^+ と NADPH は一般的に同化反応 (anabolic reaction) (生体内で必要とされる複雑な生体分子の生合成反応) で使われる補酵素である (19.0 節参照)。

リンゴ酸脱水素酵素は異化過程に含まれるクエン酸回路におけるリンゴ酸の第二級アルコール基を酸化してケトンに変える反応を触媒する酵素である (9.5 節参照)。 NAD^+ はこの反応で酸化剤として働く。酸化反応を触媒する酵素のほとんどは脱水素酵素と呼ばれている。いいかえれば、脱水素酵素は基質から水素を取り除く酵素である。



β -アスパラギン酸セミアルデヒドは同化においてホモセリンに還元されるが、この場合は NADPH が還元剤である。



これらの酸化-還元反応を触媒する酵素の強い特異性により、ある種の補酵素については、同化で使われるものと異化で使われるものがはっきりと区別されて

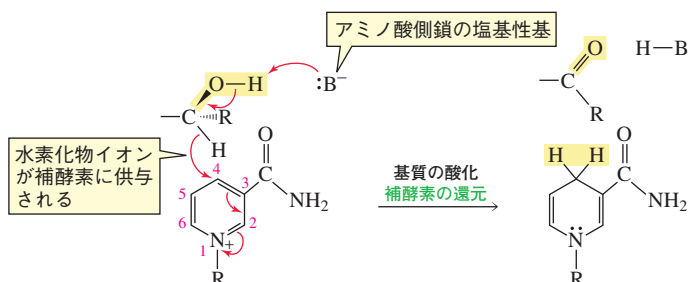
いる。たとえば、酸化反応を触媒するある酵素は NAD^+ と NADP^+ とを簡単に区別できる。その酵素が異化のものであれば NAD^+ と結合するが、 NADP^+ とは結合しない。

細胞中の補酵素の相対濃度も適切な補酵素の利用を可能にしている。たとえば、異化反応のほとんどは酸化反応であり、同化反応のほとんどは還元反応である。細胞中では $[\text{NAD}^+]/[\text{NADH}]$ の比は1000近くに保たれており、 $[\text{NADP}^+]/[\text{NADPH}]$ の比は約0.01に保たれている。これにより、細胞中では NAD^+ が酸化反応のための補酵素として、また、 NADPH が還元反応のための補酵素として利用されやすくなっている。

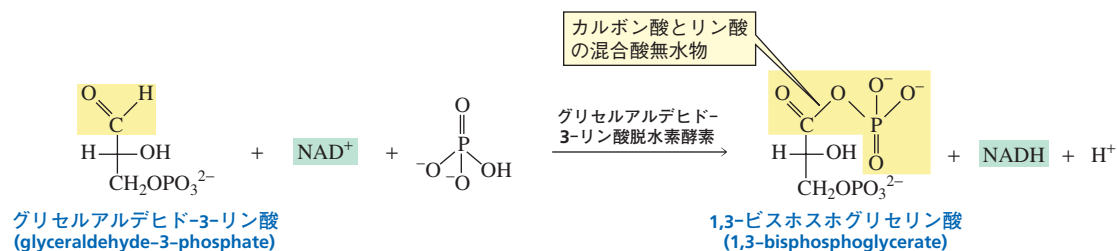
NAD^+ はどのようにして基質を酸化するのか？

ビリジンスクレオチド補酵素の反応はすべてビリジン環の4位で起こる。分子のほかの部分は、基質を認識し、酵素活性部位に結合するためのアンカーとしての役割を担っている。

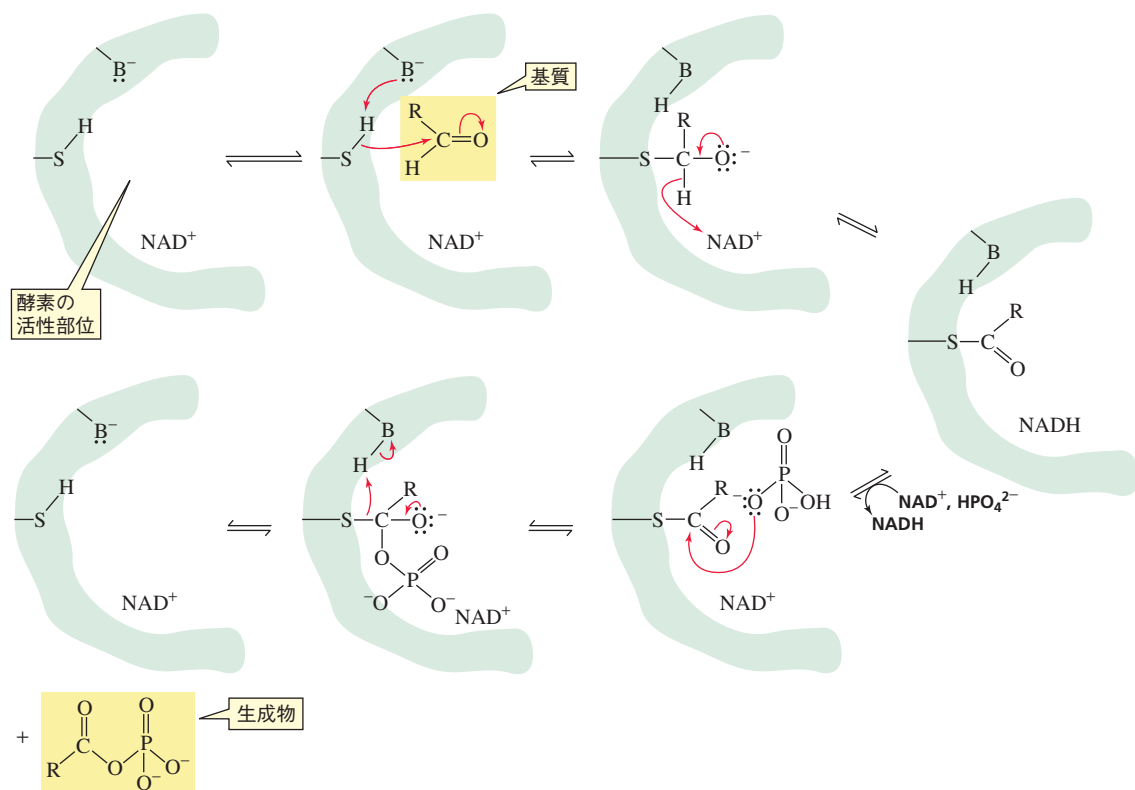
酸化反応を受ける基質は、ビリジン環の4位に水素化物イオン(H^-)を与える。たとえば次の反応では、第二級アルコールはケトンに酸化されるが、酵素の塩基性アミノ酸側鎖が基質の酸素原子からプロトンを引き抜いて反応を助けている。(本章に示した反応機構において、 HB と $:\text{B}^-$ はそれぞれ酵素活性部位で、プロトンを与えたり、引き抜いたりすることのできるアミノ酸側鎖を示している。)



グリセルアルデヒド-3-リン酸脱水素酵素は、基質の酸化に NAD^+ を利用するもう一つの例である。この酵素はグリセルアルデヒド-3-リン酸のアルデヒド基の酸化を触媒し、カルボン酸とリン酸の混合酸無水物を与える。



グリセルアルデヒド-3-リン酸脱水素酵素 (GAPDH) の触媒反応機構

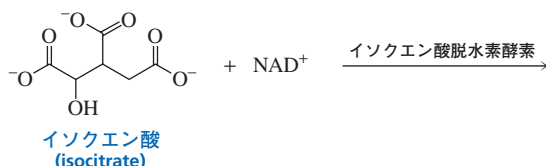


- 基質(グリセルアルデヒド-3-リン酸)が酵素の活性部位に結合する。
- システイン側鎖の SH 基(求核剤)がグリセルアルデヒド-3-リン酸のカルボニル炭素に付加して四面体中間体が生成する。このとき酵素の塩基性側鎖がシステインからプロトンを引き抜いて求核性を高める。
- 四面体中間体から水素化物イオンが脱離して、酵素の活性部位の近傍に結合している NAD^+ のピリジン環の 4 位に移動し、 NADH が生成する。
- 生成した NADH は酵素から離れ、酵素は新しい NAD^+ に結合する。(NADH が酸化されて NAD^+ に戻る経路については 19.6 節で説明する。)
- リン酸がチオエステルに付加して四面体中間体を生成し、ここからチオラートイオンが脱離して混合酸無水物を与える。チオラートイオンの脱離能はプロトン化により高められ、その結果、チオラートイオンの塩基性が弱まり、優れた脱離基となる。

反応の最後で酵素の構造は、反応の出発時点とまったく同じ形になっているので、ほかのグリセルアルデヒド-3-リン酸分子との反応が可能となり 1,3-ビスホスホグリセリン酸が再び生成することに注目しよう。

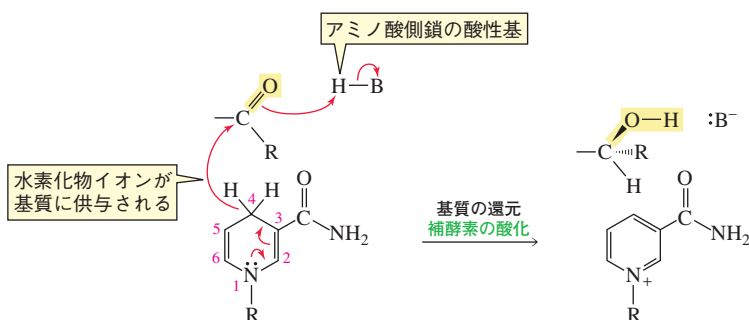
問題 10 ◆

次の反応の生成物は何か。



NADPH はどのようにして基質を還元するのか？

NADPH による還元反応の機構は、 NAD^+ による酸化反応の機構の逆である。基質が還元される場合、ジヒドロピリジン環はその4位から水素化物イオンを基質に供与する。酵素の酸性アミノ酸側鎖は基質をプロトン化して反応を助ける。



NADPH は水素化物イオンを供与することによって化合物を還元するので、それらは NaBH_4 や LiAlH_4 ，すなわちすでに学んだ非生体反応において還元剤として使われる水素化物供与体(12.7 節参照)の生体内における等価体と見なせる。

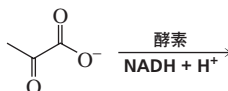
ではどうして生体内の酸化剤や還元剤は、実験室で同様の反応を行うために用いる反応剤よりも複雑な構造をしているのであろうか。NADH と LiAlH_4 はいずれも水素化物イオンの供与によって化合物を還元するが、NADPH は確かに NaBH_4 よりも複雑な構造をしている。補酵素の構造上の複雑性は、分子認識(molecular recognition)，すなわち、酵素が補酵素を見分けて結合するために必要なのである。本章で補酵素を学ぶとき、それらの構造の複雑さを見て気おくれしないようにしよう。補酵素のごく一部分のみが実際の化学反応に関与していることに注目しよう。

構造が複雑であるもう一つの理由は、細胞中で用いる反応剤は、実験室で用いる反応剤よりも高い選択性を必要とするため、反応性は低くなければならない。たとえば、生体内の還元剤は還元できる官能基をもつ化合物をすべて還元してしまうわけではない。生体反応は非常に注意深く制御されていなければならない。その結果、補酵素は非生体反応剤に比べると反応性が比較的低いので、酵素がなければ、基質と補酵素の反応はまったく進行しないか、したとしても非常に遅いものである。たとえば、NADPH によるアルデヒドやケトンの還元は、酵素がなければ進行しない。 NaBH_4 や LiAlH_4 はより活性の高い水素化物供与体であるため、実際には細胞中のような水溶性環境のなかでは(水とすばやく反応するため)

存在すらできない。同様に、 NAD^+ は実験室で使う一般的な酸化剤よりも非常に反応性の低い酸化剤である。たとえば、 NAD^+ は酵素がない限りアルコールを酸化できない。

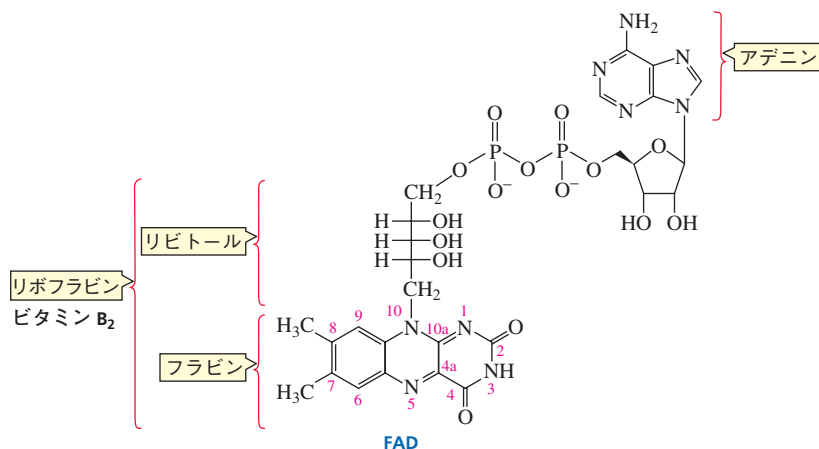
問題 11 ◆

次の反応の生成物は何か。



18.8 リボフラビン：酸化還元反応で用いられるもう一つのビタミン

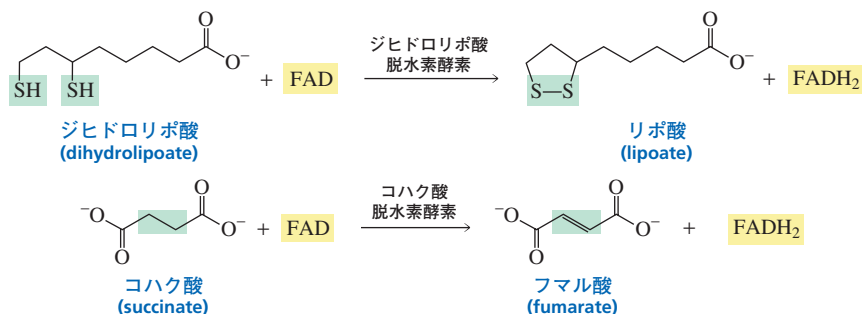
フラビンアデニンジヌクレオチド (flavin adenine dinucleotide, FAD) は、 NAD^+ と同様に、基質を酸化する補酵素である。その名称が示すように、 FAD はジヌクレオチドであり、複素環の一つはフラビンで、もう一つはアデニンである。 FAD はリボースの代わりにリボースの還元体(リビトール基)をもっていることに注目しよう。フラビンとリビトールでできた部分はリボフラビンまたはビタミン B_2 と呼ばれる。フラビンは明るい黄色の化合物である。*flavus* はラテン語で“黄色”を意味する。ビタミン B_2 の欠乏は皮膚の炎症を引き起こす。



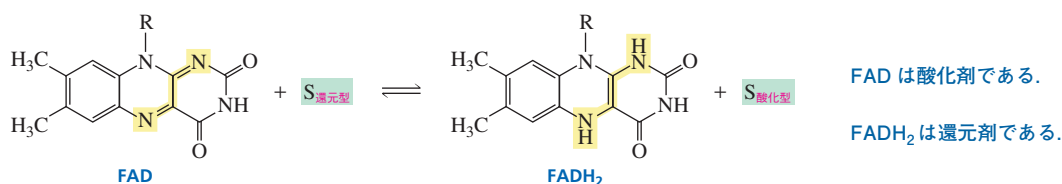
フラビントタンパク質とは、 FAD を含む酵素である。ほとんどのフラビントタンパク質は、 FAD と非常に強く結合している。このような強い結合は、酵素による補酵素の酸化還元電位の制御を可能とする。(酸化還元電位が高ければ高いほど強い酸化剤である。) 結果的に、いくつかのフラビントタンパク質はほかの酵素よりも強い酸化剤となりうる。

NAD^+ ではなくて FAD を酸化補酵素として使うのはどのような酵素なのだろうか。大まかにいえば、 NAD^+ はおもにカルボニル化合物を生成物として与える酵素触媒酸化反応の補酵素であるのに対して、 FAD はこれとは異なるタイプの基質の酸化反応の補酵素として用いられる。たとえば、 FAD はジチオールをジス

ルフィドに、飽和アルキル基をアルケンへ酸化する。

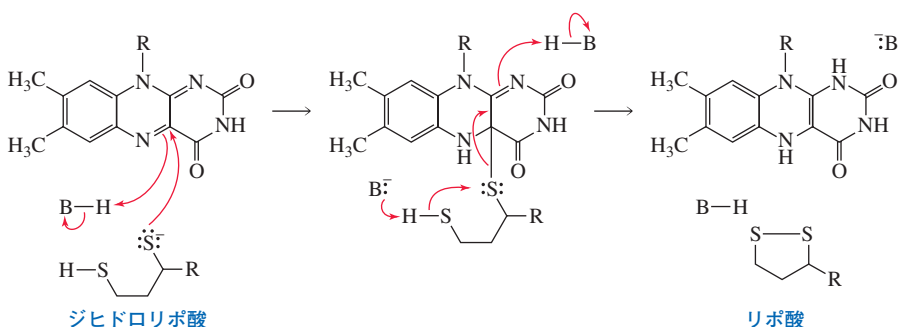


FAD が基質(S)を酸化すると、補酵素は FADH₂ に還元される。FADH₂ は、NADPH と同様に還元剤である。すべての酸化-還元反応はフラビン環上で起こる。



FAD を触媒とするジヒドロリポ酸からリポ酸への酸化反応の機構を次に示す。

ジヒドロリポ酸脱水素酵素の反応機構



- チオラートイオンがフラビン環の 4a 位に付加する。これは酸触媒反応であり、N-5 窒素の近くにあるアミノ酸側鎖がプロトンを供与する。
- 2 番目のチオラートイオンが補酵素に共有結合した硫黄を攻撃し、酸化生成物と FADH₂ を与える。これは塩基触媒反応であり、塩基が硫黄からプロトンを引き抜いてその求核性を高めている。

問題 12◆

次の化合物中にはいくつの共役二重結合が存在するか。

a. FAD

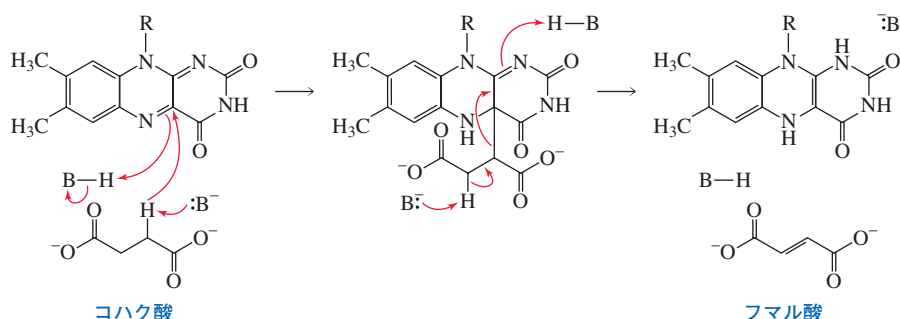
b. FADH₂

問題 13◆

4a 位への付加と N-5 位へのプロトン化とは別に、チオラートイオンが 10a 位に付加し、N-1 位がプロトン化される経路も考えられる。しかし、実際には 4a 位への付加で反応が進行するのはなぜか。(ヒント：どちらの窒素の塩基性が強いかな。)

FAD を触媒とするコハク酸からフマル酸への酸化反応機構は、上記の FAD を触媒とするジヒドロリボ酸からリボ酸への酸化反応機構と同じである。

コハク酸脱水素酵素の触媒反応機構



- 塩基は α 炭素からプロトンを引き抜いて求核剤となり、フラビン環の 4a 位に付加する。これと同時に N-5 位の窒素がプロトン化される。
- 塩基がもう一つの α 炭素からプロトンを引き抜き、酸化生成物と FADH_2 を与える。

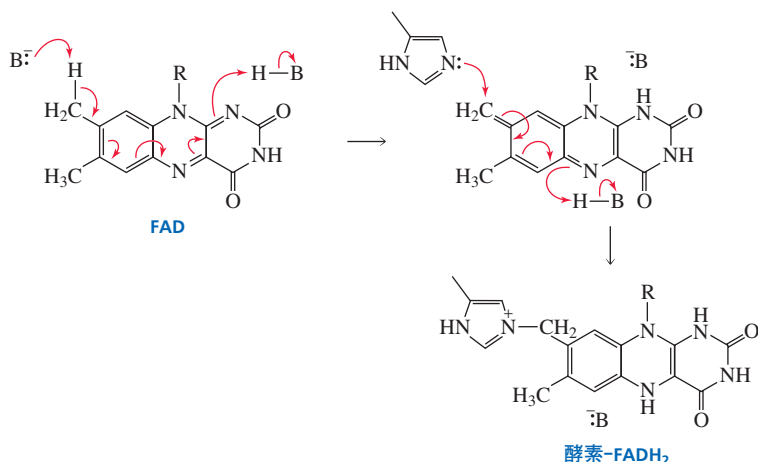
NAD^+ は酵素に弱く結合して、 NADH に還元されたのち、酵素から解離すればよい。これに対して、 FAD は酵素に強く結合しているので (E = 酵素; S = 基質), 触媒として回転するためには、 FADH_2 に還元されたのちに FAD に再酸化される必要がある。このための酸化剤は NAD^+ または O_2 である。それゆえ、 NAD^+ 以外の酸化補酵素を利用する酵素は、還元型の補酵素を再酸化するために NAD^+ を必要とする。



問題 14(解答あり)

コハク酸脱水素酵素では、塩基による C-8 位のメチル基の脱プロトン化と、酸による N-1 位のプロトン化により FAD は酵素に共有結合で固定化されている。そして、C-8 位のメチレン炭素への酵素のヒスチジン側鎖の付加と、N-5 位へのプロトン化が起こる。酵素結合型の FADH_2 を与えるこれら二段階の反応機構を書け。

解答



酵素への結合過程において、FAD は FADH₂ に還元されることに注目しよう。この還元体は続いて NAD⁺ によって FAD に酸化される。いったん共有結合で固定化されると、補酵素は酵素から解離しなくなる。

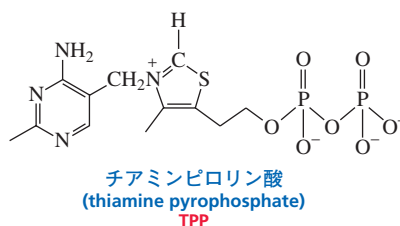
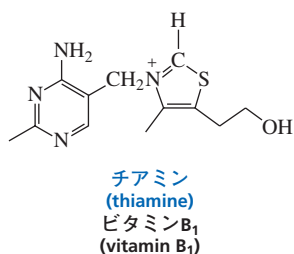
問題 15

C-8 位のメチル基の水素のほうが、C-7 位のメチル基の水素よりも酸性であるのはなぜかを説明せよ。

18.9 ビタミン B₁：アシル基の転位に必要なビタミン

チアミンは最初にビタミン B 類として同定された化合物なので、ビタミン B₁ として知られるようになった。食餌にチアミンが欠乏すると脚気という病気になる、心臓に障害を与えたり、反射神経を損なったりし、ひどくなると麻痺を引き起こす (693 ページ)。

ビタミン B₁ 由来の補酵素体はチアミンピロリン酸 (thiamine pyrophosphate, TPP) である。TPP はある分子からほかの分子へのアシル基の転移を触媒する酵素の補酵素である。



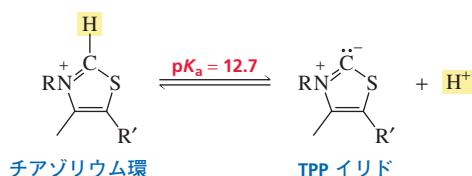
ピルビン酸脱炭酸酵素はチアミンピロリン酸を必要とする酵素である。この酵素はピルビン酸の脱炭酸を触媒し、それにより生成するアシル基をプロトンに渡して、アセトアルデヒドに変換する。脱炭酸酵素は、基質からの CO₂ 解離反応を触媒する酵素である。

チアミンピロリン酸(TPP)はある分子からほかの分子へのアシル基転移反応を触媒する酵素の補酵素である。

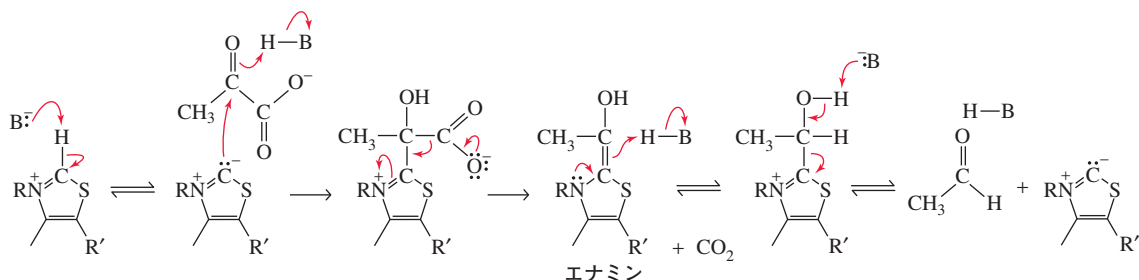


ピルビン酸から CO_2 が抜けたあとに生じる負電荷は、もはやカルボニル酸素上に非局在化できないのに、どうしてピルビン酸のような α -ケト酸が脱炭酸を起こすのか不思議に思うかもしれない。これは補酵素のチアゾリウム環が電子を非局在化させるための場を提供するからである。

TPP のイミン炭素に結合している水素は、ほかの sp^2 炭素に結合した水素と比べて比較的酸性が強い ($\text{p}K_{\text{a}} = 12.7$)。これはプロトンが引き抜かれて生成する TPP イリドが正電荷をもつ隣りの窒素によって安定化されるからである。この TPP イリドは優れた求核剤である。



ピルビン酸脱炭酸酵素の触媒反応機構



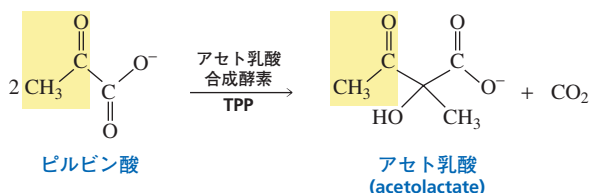
- プロトンが脱離したのち、TPP イリドは α -ケト酸のカルボニル炭素に付加する。酵素の酸性側鎖はカルボニル炭素の求電子性を高める。
- 生成した四面体中間体からは脱炭酸が容易に進行する。これは、 CO_2 が脱離したあとに残る電子が正電荷をもった窒素原子上にまで非局在化できるからである。脱炭酸で生じる生成物はエナミンである。(エナミンとは、窒素原子が sp^2 炭素に結合した第三級アミンである。)
- このエナミンの炭素がプロトン化を受け、続く塩基触媒による脱離反応によりアセトアルデヒドが生成し、TPP イリドが再生する。

電子が非局在化する部分を電子貯め (electron sink) と呼ぶ。正に帯電した TPP の

窒素は、これまでに見てきたβ-ケト酸のβ-ケト基よりも効率的な電子貯めである。β-ケト酸の場合も電子を受け取って簡単に脱炭酸を引き起こす(13.9 節参照)。

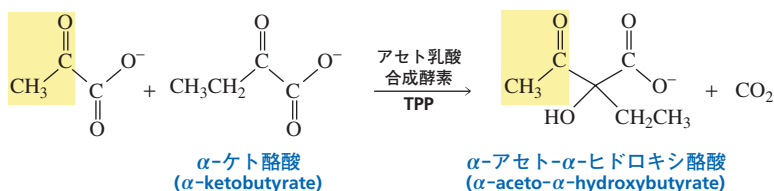
問題 16

アセト乳酸合成酵素はもう一つの TPP 依存酵素である。この酵素もやはりピルビン酸の脱炭酸を触媒するが、この場合には脱炭酸で生成したアシル基がほかのピルビン酸分子に移動してアセト乳酸を生成する。この反応はアミノ酸のバリンやロイシンの生合成過程の一段階目である。この反応機構を示せ。

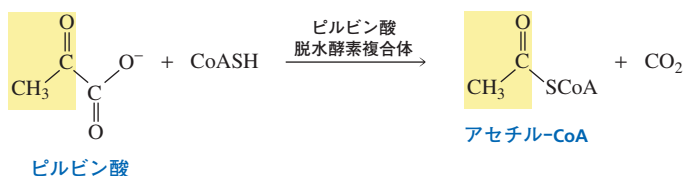


問題 17

アセト乳酸合成酵素はまた、ピルビン酸由来のアシル基をα-ケト酪酸に移すこともできる。この反応はアミノ酸イソロイシン合成の一段階目である。この反応機構を示せ。

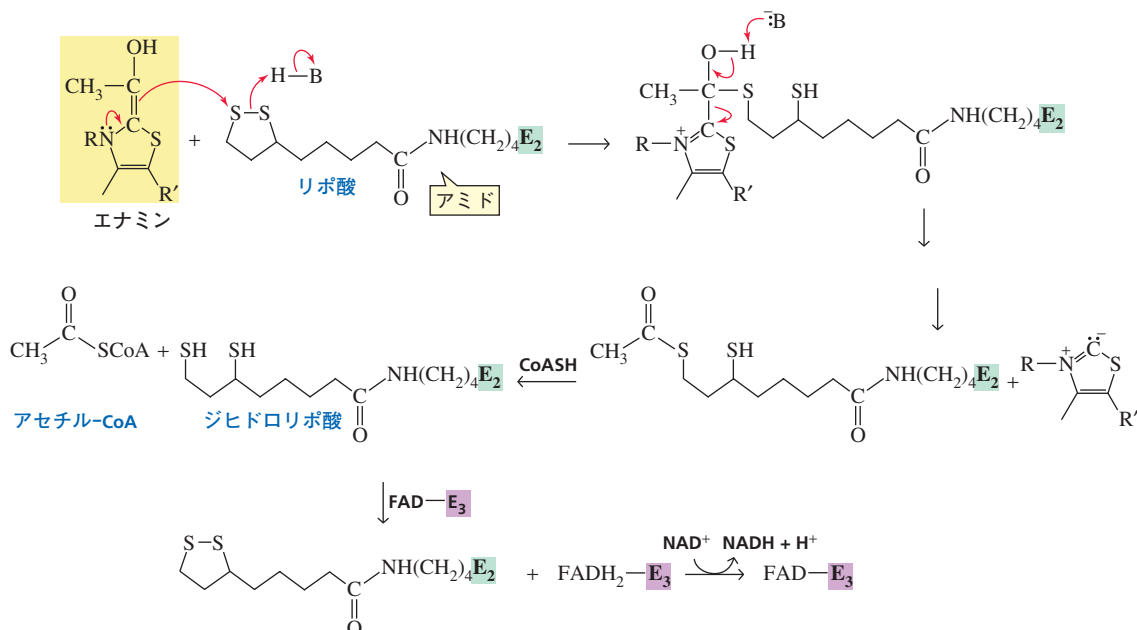


炭水化物代謝の最終生成物はピルビン酸であることを 19 章で学ぶ。ピルビン酸がさらに代謝されるためには、ピルビン酸はアセチル-CoA に変換されなければならない。ピルビン酸脱水酵素複合体は三つの酵素から成り立っており、ピルビン酸のアシル基を CoASH に移して、アセチル-CoA を与える。



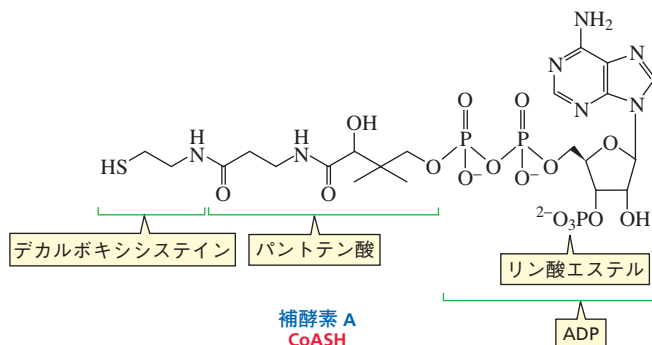
ピルビン酸脱水酵素複合体は TPP のほか、リポ酸、補酵素 A (CoASH)、FAD、および NAD⁺ の四つの補酵素を必要とする。

ピルビン酸脱水酵素複合体の触媒反応機構



- この複合体(反応は 703 ページに示した)において, 最初の酵素が TPP イリドとピルビン酸の反応を触媒し, ピルビン酸脱水酵素や問題 16 および 17 で取り上げた酵素の場合と同様のエナミンを生成する。
- 複合体の 2 番目の酵素(E₂)は, リシン側鎖を用いて補酵素[リポ酸(lipoate)]との間にアミドを生じる。リポ酸のジスルフィド結合は, エナミンによる求核攻撃を受ける際に開裂する。
- TPP イリドは四面体中間体から解離する。
- 補酵素 A (coenzyme A, **CoASH**)が, 生成したチオエステルとチオエステル交換反応(チオエステル基がほかのチオエステル誘導体に変換される反応)を起こし, 補酵素 A がジヒドロリポ酸と置き換わる(11.7 節参照)。この時点で, 最終生成物(アセチル-CoA)が生成する。
- 次の触媒サイクルが始まる前に, ジヒドロリポ酸は酸化されてリポ酸に戻る必要がある。この反応は FAD 依存性の 3 番目の酵素(E₃)によってなされる。この反応の機構については 18.8 節で取り上げた。ジヒドロリポ酸が FAD によって酸化され, FAD は FADH₂ に還元される。
- FADH₂ は NAD⁺によって酸化され FAD に戻る。

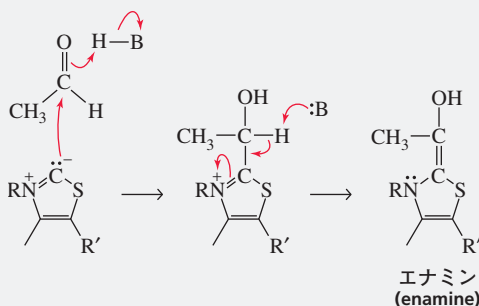
補酵素 A をつくるために必要なビタミンはパントテン酸である。補酵素 A において, パントテン酸はデカルボキシシステイン(システインはアミノ酸であることを思い出そう)とリン酸化した ADP に結合している。CoASH は生体系においてカルボン酸をチオエステルに変換して活性化することはすでに学んだ(11.16 節参照)。



🍷 二日酔いをビタミン B₁ で治す

アルコール飲料を飲み過ぎたあとに起こる不快な症状(二日酔い)は、エタノールが酸化されてできるアセトアルデヒドが原因である(9.5 節参照)。一般的に、ビタミン B₁ がアセトアルデヒドを取り除いて二日酔いを治すと信じられている。ではこのビタミンがどのようにしてそれを可能にしているか見ていこう。

TPP イリドがアセトアルデヒドのカルボニル炭素に付加する。次いで生じた四面体中間体からプロトンを引き抜いて、エナミンを与える。このエナミンは、ピルビン酸脱炭酸酵素やピルビン酸脱水素酵素複合体の反応で生成するエナミンと同じものであるが、唯一違うのは、カルボキシ基の代わりに、プロトンが脱離して生じるところである。そのあとは、ピルビン酸脱水素酵素複合体の場合と同じようにして、エナミンがリボ酸と反応する。結果としてアセトアルデヒドは分解されて、アセチル-CoA に変換される。



ある一定の時間内に、アセトアルデヒドがアセチル-CoA に変換される量には限界がある。したがって、ビタミンは過度な飲酒で生じるアセトアルデヒドの分解に対応できなくなり二日酔いとなる。

問題 18

ピルビン酸—TPP 中間体からの脱炭酸と、 β -ケト酸からの脱炭酸が類似していることを構造式を用いて示せ。

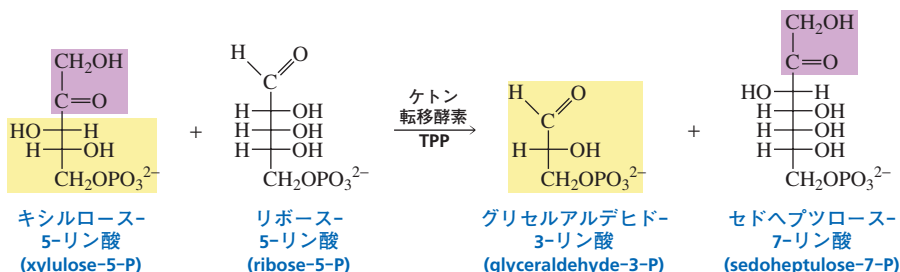
問題 19◆

- ピルビン酸脱炭酸酵素はどのような 2 炭素断片をプロトンに受け渡すか。
- ピルビン酸脱水素酵素複合体はどのような 2 炭素断片を補酵素 A に受け渡すか。

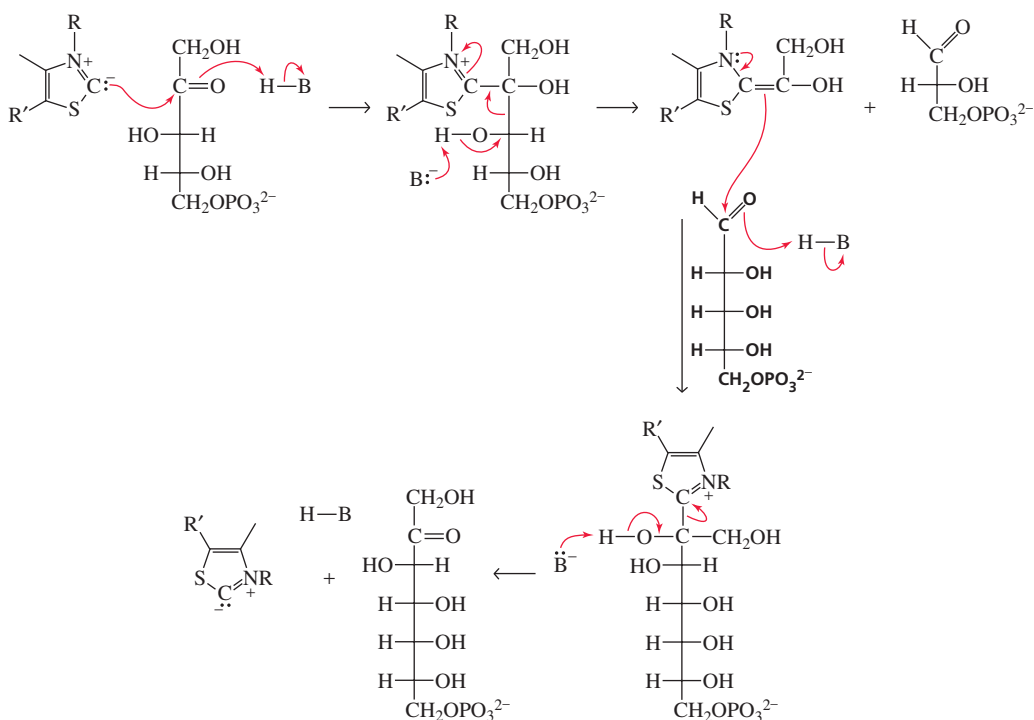
問題 20(解答あり)

TPP はケトン転移酵素の補酵素である。この酵素はケトペントース(キシロース-

5-リン酸)やアルドペントース(リボース-5-リン酸)のアルドトリオース(グリセルアルデヒド-3-リン酸)やケトペントース(セドヘプツロース-7-リン酸)への変換を触媒する。反応物と生成物の総炭素数は(5 + 5 = 3 + 7)で同じであることに着目して、この反応の機構を示せ。



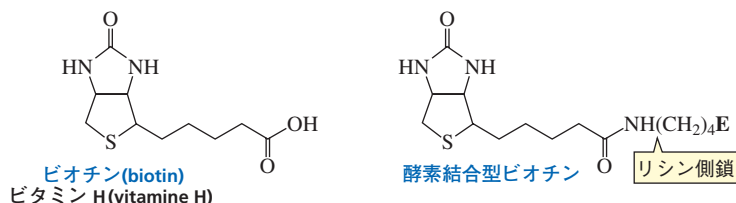
解答 この反応では、アシル基(紫色の部分)がキシルロース-5-リン酸からリボース-5-リン酸に転移する。酵素はTPPを必要とするので、TPPがこのアシル基の脱離と転移にかかわっているに違いない。だとすると、反応はTPPイリドがキシルロース-5-リン酸のカルボニル基へ付加するところから始まるはずである。ここでは、カルボニル基からの電子を受容するための酸性基と、エナミンの生成を助けるための塩基性基が必要となるであろう。この場合、ほかのTPPが触媒する反応と同じように、アシル基の脱離によって生じる電子がチアゾリウム環の窒素上まで非局在化する。次に、エナミンがリボース-5-リン酸のカルボニル炭素に付加してアシル基が移動する。ここでもまた、酸性基がカルボニル基からの電子を受容し、塩基性基がTPPイリドの脱離を助ける。



TPPを必要とするすべての酵素において、TPPは同じ役割を果たしていることがわかる。それぞれの反応において、TPPイリドは基質のカルボニル炭素に付加し、結合の開裂によって生じる電子をチアゾリウム環の窒素原子へ非局在化することでそれを助ける。続いてアシル基が、ピルビン酸脱炭酸酵素の場合にはプロトンへ、ピルビン酸脱水素酵素系の場合にはリポ酸を介して補酵素Aへ、そして問題16, 17, 20の場合にはカルボニル基へと転移する。

18.10 ビタミンH: α 炭素のカルボキシ化に必要なビタミン

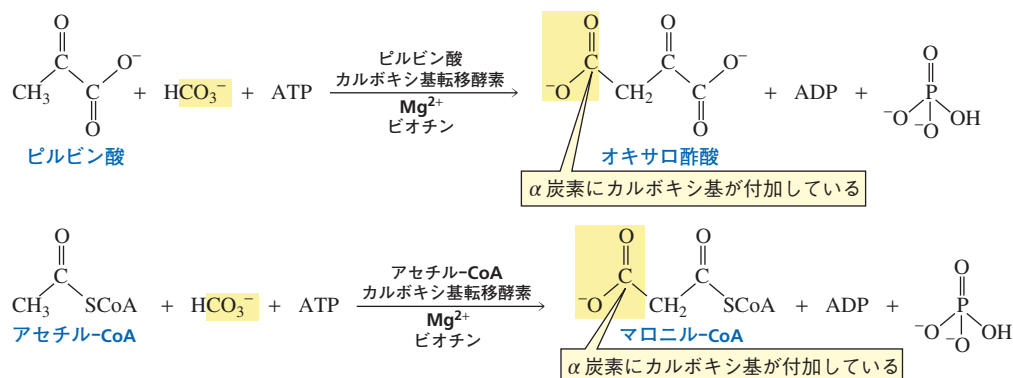
ビオチン(biotin, ビタミンH)は、腸管に生息する細菌によって生産されるので、通常のビタミンとは異なり、私たちの食餌に含まれている必要はなく、欠乏症もほとんどない。しかし、生卵を多く摂る人にはビオチン欠乏症が起こりうる。これは卵白にはビオチンと強く結合するタンパク質(通称アビジン)が含まれており、補酵素としてののはたらきを阻害するからである。卵を調理するとアビジンは変性し、ビオチンとの結合能力を失う。ビオチンはリポ酸の場合と同様、リシン側鎖のアミノ基とアミド結合を形成して酵素(E)と結合している。



ビオチンは α 炭素(カルボニル基の隣りの炭素)をカルボキシ化する酵素の補酵素である。そのために、補酵素としてビオチンを必要とする酵素はカルボキシ基転移酵素と呼ばれる。

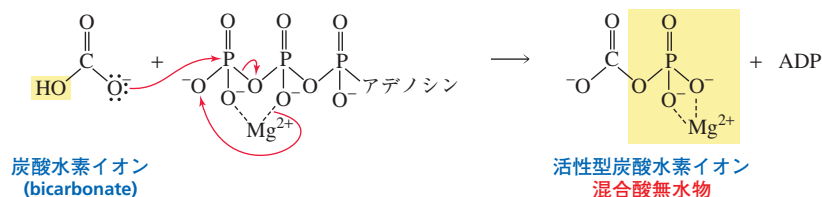
たとえば、ピルビン酸カルボキシ基転移酵素はピルビン酸をオキサロ酢酸に変換し、アセチル-CoAカルボキシ基転移酵素はアセチル-CoAをマロニル-CoAに変換する。ビオチン依存酵素は炭酸水素イオン(HCO_3^-)を出発物質にして基質の α 炭素にカルボキシ基を導入する。

ビオチンは α 炭素のカルボキシ化を触媒する酵素の補酵素である。



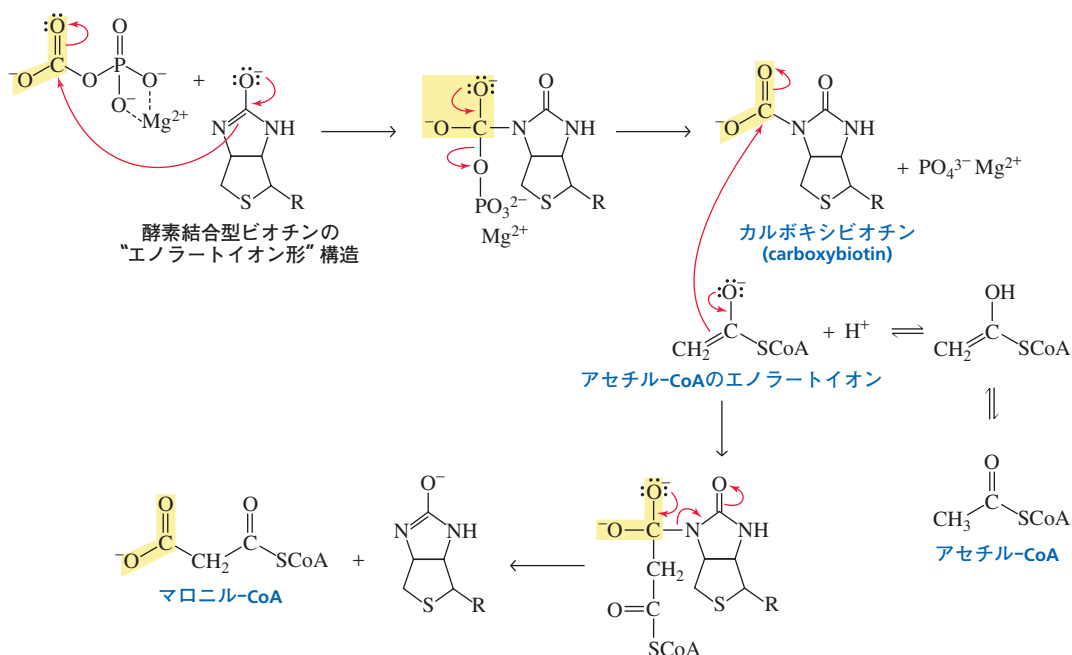
ビオチン依存酵素は、炭酸水素イオンに加えて ATP と Mg^{2+} を必要とする。 Mg^{2+} の役割は、ATP の負に帯電した二つの酸素と錯体を形成して、ATP 分子全体の負電荷を軽減することである。ATP の負電荷が軽減されなければ、求核剤が ATP に近づけない(図 11.2 参照)。

ATP の役割は、炭酸水素イオンに優れた脱離基を導入して“活性型炭酸水素イオン”に変換し、炭酸水素イオンの反応性を高めることである。“活性型炭酸水素イオン”を生成するために、炭酸水素イオンは ATP の γ -リン酸基を攻撃し、ADP を放出する(11.16 節参照)。ここで“活性型炭酸水素イオン”はカルボン酸とリン酸の混合酸無水物であることに注目しよう。



炭酸水素イオンが活性化されると、触媒反応が開始される。アセチル-CoA のカルボキシ化の反応機構を次に示す。

アセチル-CoA カルボキシ化酵素の触媒反応機構



- ビオチンは、活性型炭酸水素イオンと反応し、求核アシル置換反応を経てカルボキシビオチンに変換される。ビオチンのアミド窒素は求核性がないので、脱プロトン化して生成するエノラートイオン形構造がビオチンの活性種となる(13.3 節参照)。

- 基質(この場合は、アセチル-CoA のエノラートイオン)がカルボキシビオチンと反応し、もう一度求核アシル置換反応を経てカルボキシビオチンのカルボキシ基が基質に転移する。

すべてのビオチン依存酵素は同じ三つの段階を経由して反応する。すなわち、ATP による炭酸水素イオンの活性化、活性型炭酸水素イオンとビオチンとの反応によるカルボキシビオチンの生成、そしてカルボキシビオチンから基質へのカルボキシ基の移動である。

【問題解答の指針】

16 個の炭素からなる飽和脂肪酸のパルミチン酸を 1 モル合成するために、何モルのアセチル-CoA がマロニル-CoA に変換される必要があるか。

この問題に答えるためには、脂肪酸がどのようにして生合成されるのかを思い起こす必要がある(13.10 節参照)。脂肪酸の生合成はアセチルチオエステル 1 分子とマロニルチオエステル 1 分子の反応による 4 炭素脂肪酸の生成からはじまる。それに続くマロニルチオエステル 1 分子との反応ごとに 2 炭素分ずつ増炭されていく。パルミチン酸を合成するためにはあと 12 炭素必要なので、6 分子のマロニル-CoA が必要となる。したがって、パルミチン酸の合成には 7 モルのアセチル-CoA がマロニル-CoA に変換される必要がある。

問題 21 へ進もう。

問題 21 ◆

20 炭素からなる飽和脂肪酸のアラキドン酸を 1 モル合成するためには、何モルのアセチル-CoA がマロニル-CoA に変換される必要があるか。

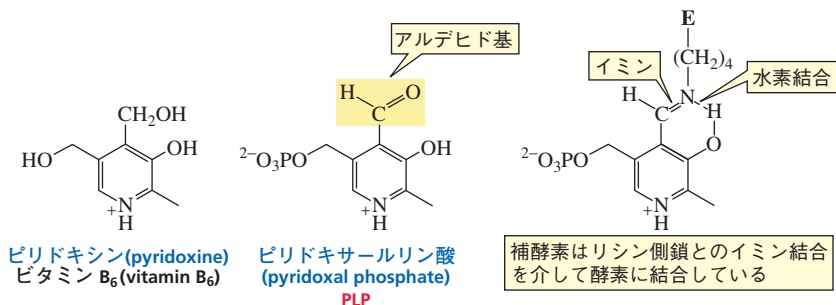
問題 22 (解答あり)

1 モルのパルミチン酸をつくるためには何モルの ATP が必要か。

解答 16 炭素からなる脂肪酸を 1 モル合成するためには、1 モルのアセチル-CoA と 7 モルのマロニル-CoA が必要である。アセチル-CoA のカルボキシ化反応により 1 モルのマロニル-CoA を合成するためには、1 モルの ATP が必要である。したがって、1 モルのパルミチン酸をつくるためには 7 モルの ATP が必要である。

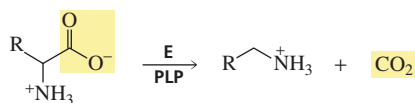
18.11 ビタミン B₆：アミノ酸の変換反応に必要なビタミン

補酵素のピリドキサルリン酸(pyridoxal phosphate, PLP)はピリドキシンとして知られているビタミン B₆ から誘導される(pyridoxal の接尾語 “al” は、この補酵素がアルデヒドであることを示している)。ビタミン B₆ の欠乏は貧血の原因となり、極度の欠乏は発作や死を引き起こす。

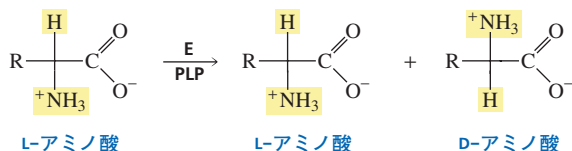


PLP はアミノ酸の脱炭酸, アミノ基転移, ラセミ化などの反応を触媒する酵素の補酵素である。

脱炭酸

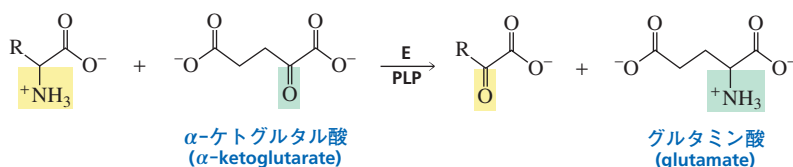


ラセミ化



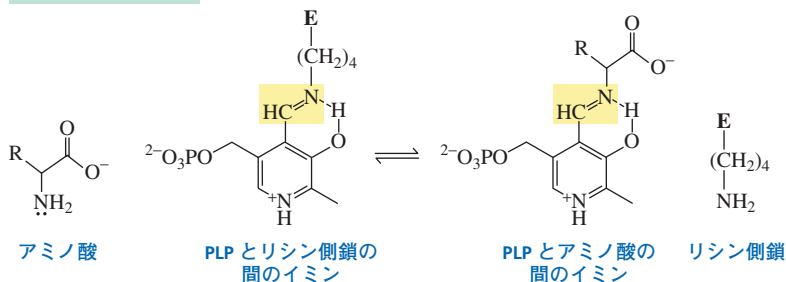
アミノ基転移

ピリドキサルリン酸(PLP)はアミノ酸の化学変換反応を触媒する酵素の補酵素である。

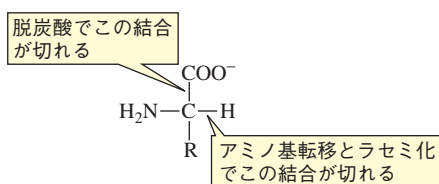


PLP はリシン側鎖のアミノ基とイミンを形成して酵素に結合する。PLP 依存酵素が触媒するすべての反応に共通な一段階目は、**イミノ基転移**(transimination)反応である。この反応では、一つのイミンがほかのイミンに変換される。すなわち、基質であるアミノ酸が、PLP とリシン側鎖の間で形成したイミンと反応して、PLP との間で新たなイミンを形成し、リシン側鎖が外れる。

イミノ基転移反応



いったんアミノ酸と PLP の間でイミンを形成すると、次の段階でアミノ酸の α 炭素の結合が開裂する。脱炭酸反応では、カルボキシ基と α 炭素との間の結合が切れ、アミノ基転移とラセミ化では、水素と α 炭素との間の結合が切れる。

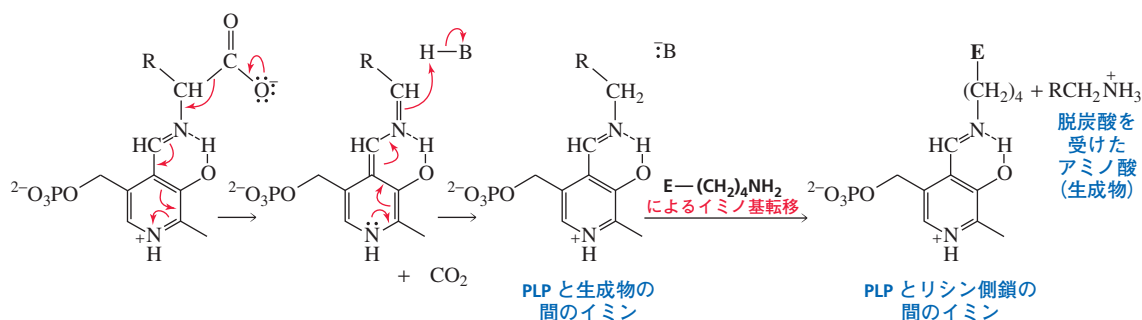


結合が切れて生じる電子が、プロトン化されて正電荷を帯びたピリジン(ピリジニウム)環の窒素上にまで非局在化できるために、 α 炭素の結合は切断されやすくなる。したがって、プロトン化されたピリジン窒素は電子貯めとして機能する。OH 基をピリジニウム環から除去すると、補酵素の活性はほとんど失われる。このことから、OH 基を介した水素結合が α 炭素の結合を弱めていることは明らかである。

脱炭酸

アミノ酸の脱炭酸反応を触媒するすべての酵素は次に示したような反応機構で進行する。

PLP 依存酵素触媒によるアミノ酸の脱炭酸の反応機構

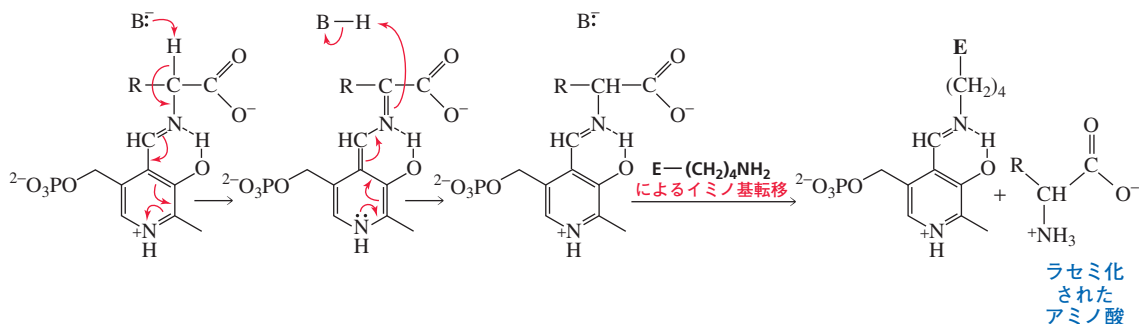


- 一段階目で α 炭素からカルボキシ基が脱離する。残された電子は正に帯電したピリジン環の窒素まで非局在化する。
- ピリジニウム環の芳香族性が電子の再配列によって回復し、アミノ酸のものと α 炭素にプロトン化が起こる。
- すべての PLP 依存酵素は、最後の段階でもう一度イミノ基転移を行う。酵素触媒反応によって生じた PLP と生成物の間に形成したイミンは酵素のリシン側鎖と反応して PLP のイミンが再生し、生成物を放出する。

ラセミ化

PLPを触媒とするL-アミノ酸のラセミ化の機構を次に示す。エナンチオマー間の相互変換機構は、一段階目でアミノ酸の α 炭素から脱離する置換基の違いを除けば、脱炭酸反応の機構と同じである。

PLP 依存酵素触媒によるL-アミノ酸のラセミ化の反応機構



- α 炭素からプロトンが脱離し、残された電子は正に帯電したピリジン環の窒素まで非局在化する。
- ピリジニウム環の芳香族性が電子の再配列によって回復し、アミノ酸のものと α 炭素にプロトン化が起こる。
- リシン側鎖との間でイミノ基転移反応が起こり、反応の生成物(ラセミ化されたアミノ酸)が放出され、酵素とPLPの間のイミンが再生する。

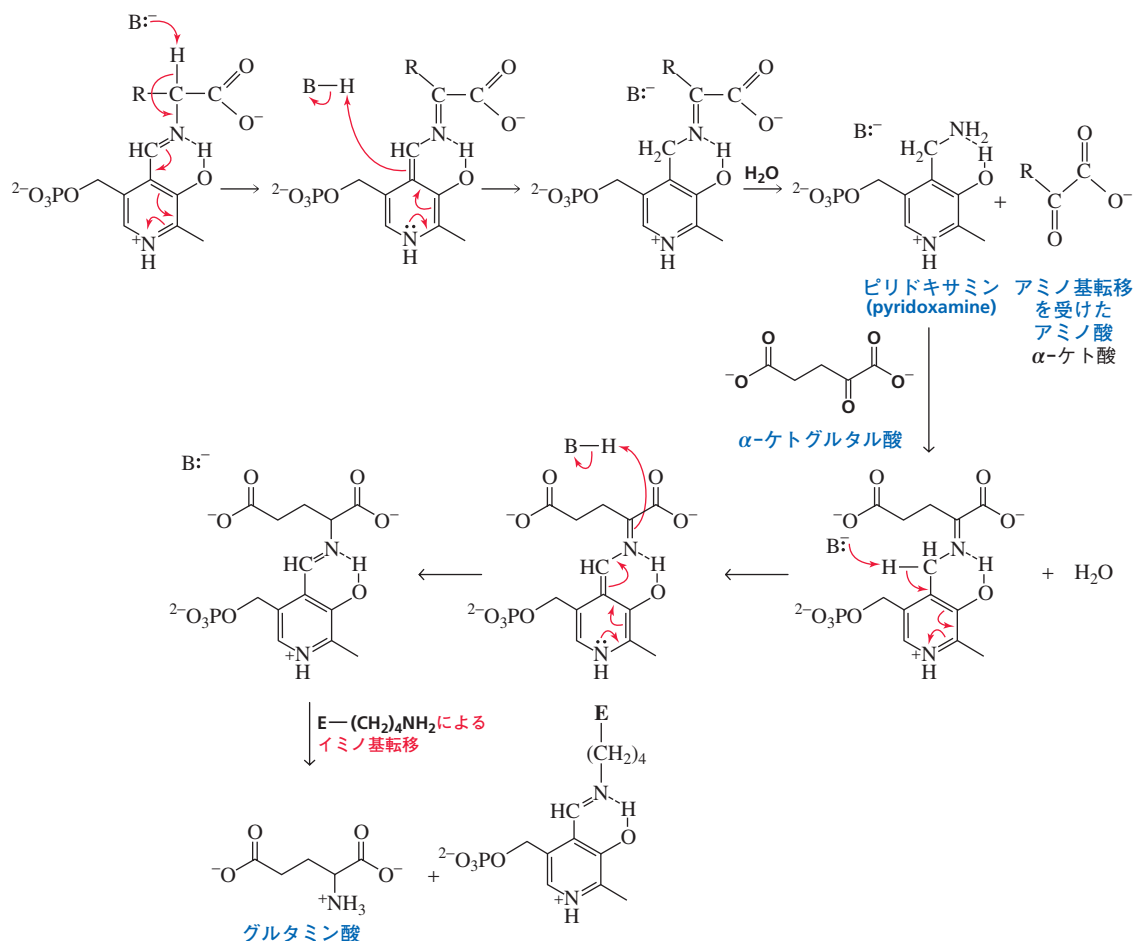
反応の二段階目において、プロトン化は sp^2 炭素に起こるが、この場合には二重結合で規定された平面のどちら側からでもプロトンの付加が可能である。その結果、D-およびL-アミノ酸の両方が生成する。いいかえれば、L-アミノ酸がラセミ化される。

アミノ基転移

ほとんどのアミノ酸の異化の最初の反応は、アミノ基のケト基による置換である。これはアミノ基転移(transamination)反応と呼ばれるが、この反応ではアミノ酸のアミノ基はなくなるのではなく、 α -ケトグルタル酸のケト基と置き換えられてグルタミン酸が生成する。

アミノ基転移反応を触媒する酵素はアミノ基転移酵素と呼ばれる。それぞれのアミノ酸に対応したアミノ基転移酵素が存在する。アミノ基転移により異なるアミノ酸のアミノ基が一つのアミノ酸(グルタミン酸)に集められる。これにより、過剰の窒素は簡単に排泄される。(アミノ基転移と、前述したイミノ基転移を混同しないようにしよう。)

PLP 依存酵素触媒によるアミノ酸のアミノ基転移の反応機構



- 一段階目で α 炭素からプロトンが脱離し、残された電子は正に帯電したピリジン環の窒素まで非局在化する。
- ピリジニウム環の芳香族性が電子の再配列によって回復し、ピリジン環に直接結合した炭素がプロトン化される。
- イミンの加水分解により、アミノ基転移を受けたアミノ酸 (α -ケト酸) とピリドキサミンが生成する。

この時点で、アミノ酸からアミノ基が脱離し、ピリドキサミンのアミノ基は次の触媒の回転が起こる前に、酵素のリシン側鎖とイミンを形成できるカルボニル基に変換される必要がある。

- ピリドキサミンは 2 番目の基質である α -ケトグルタル酸とイミンを形成する。
- ピリジニウム環に直接結合した炭素からプロトンが脱離し、残された電子が正に帯電したピリジン環の窒素まで非局在化する。
- ピリジニウム環の芳香族性が電子の再配列によって回復し、 α 炭素がプロト

ン化される。

- リシン側鎖とのイミノ基転移反応により，反応生成物であるグルタミン酸が放出され，PLP と酵素のリシン側鎖の間のイミンが再生する。

前述の反応において，二つのプロトン移動過程が逆であることに注目しよう。アミノ酸のアミノ基が PLP へ移動するときには，アミノ酸の α 炭素からプロトンが脱離して，ピリジニウム環に結合している炭素のプロトン化が起こる。ピリドキサミンから α -ケトグルタル酸へのアミノ基転移反応では，これらの段階は逆である。すなわち，ピリジニウム環に結合している炭素からプロトンが脱離し， α -ケトグルタル酸の α 炭素がプロトン化される。

PLP を触媒とするアミノ基転移の二段階目と，PLP を触媒とするラセミ化の二段階目を比較してみよう。アミノ基転移を触媒する酵素では，酸性基は酵素の活性部位において補酵素のピリジニウム環に結合している炭素にプロトンを供与するのにちょうどよい位置にある。これに対して，脱炭酸やラセミ化を触媒する酵素にはそのような酸性基はなく，そのため，基質の α 炭素が再プロトン化を受ける。いいかえれば，補酵素が化学反応を行うのであるが，反応の経路を決めるのは酵素自身である。

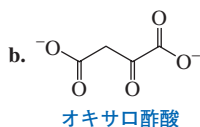
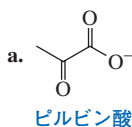


心臓発作後の損傷の測定

心臓発作が起こると，アミノ基転移酵素やほかの関連酵素が損傷を受けた心臓の細胞から血流に放出される。血液中のアラニンアミノ基転移酵素やアスパラギン酸アミノ基転移酵素の濃度を測定すると損傷の大きさがわかる。

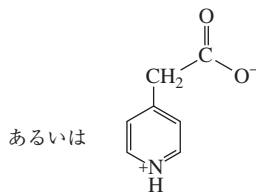
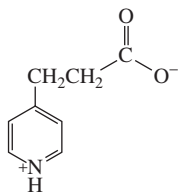
問題 23 ◆

酵素が触媒するアミノ基転移反応では， α -ケトグルタル酸以外の α -ケト酸もピリドキサミンからアミノ基を受け取ることができる。次の α -ケト酸がアミノ基を受け取ると，どのようなアミノ酸が生成するか。



問題 24 ◆

次の化合物のうち脱炭酸反応を受けやすいのはどちらか。



問題 25 ◆

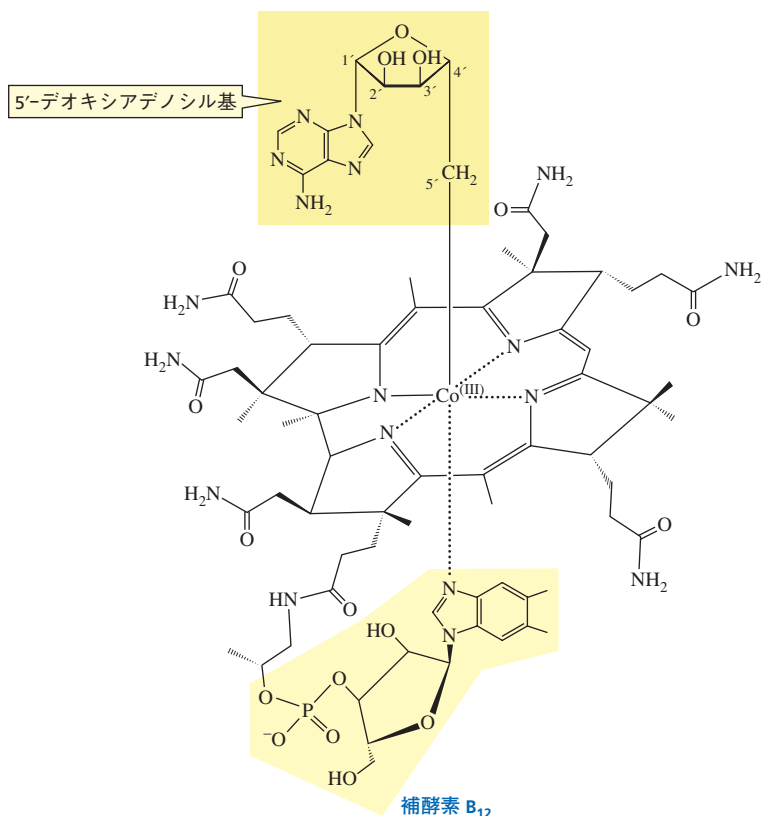
PLP 依存酵素の反応をピリジン窒素がプロトン化されない pH で行った場合，アミノ酸に変換する PLP の触媒機能が大きく低下するのはなぜかを説明せよ。

問題 26 ◆

PLP の OH 基を OCH₃ 基に置き変えると、アミノ酸に変換する PLP の触媒機能が大きく低下するのはなぜかを説明せよ。

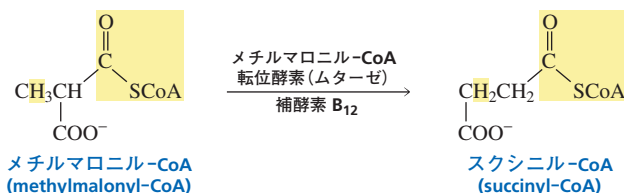
18.12 ビタミン B₁₂：異性化反応に必要なビタミン

いくつかの異性化反応を触媒する酵素は補酵素 B₁₂ (coenzyme B₁₂) を必要とする。この補酵素はビタミン B₁₂ から誘導される。このビタミンはコバルトに配位したシアノ基(または HO⁻ か H₂O)をもっている。補酵素ではシアノ基が 5'-デオキシアデノシル基に置き換わっている。



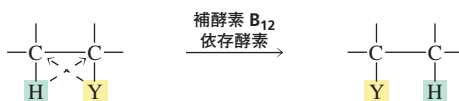
動物や植物はビタミン B₁₂ を合成できない。実際にビタミン B₁₂ を合成できるのはごく少数の細菌のみである。ヒトは必要なすべてのビタミン B₁₂ を食餌、とくに肉類から摂取しなければならない。欠乏症は悪性貧血を引き起こす。ビタミン B₁₂ はごく少量あれば十分なので、ビタミンの過剰消費による欠乏症はまれである。しかし、動物由来の食物を摂らないベジタリアンには欠乏症が起こる場合がある。ほとんどの欠乏症は腸からビタミンを吸収できないことが原因で起こる。

補酵素 B₁₂ を必要とする酵素触媒反応の例を次に示す。ムターゼとは、官能基をある場所から別の場所に移す反応を触媒する酵素である。



補酵素 B_{12} を必要とするこれらの酵素反応においては、ある炭素に結合した水素とその隣りにある炭素に結合した置換基(Y)の場所が入れ替わる。

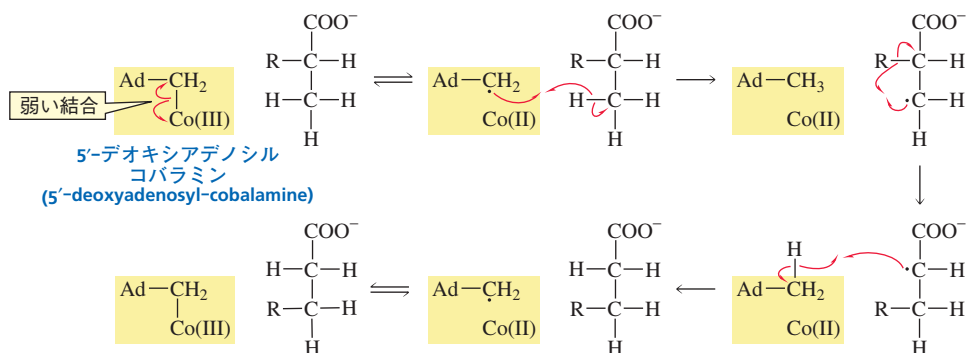
補酵素 B_{12} は、ある炭素に結合している置換基と、その隣りの炭素に結合している水素間の交換反応を触媒する補酵素である。



たとえば、メチルマロニル-CoA 転位酵素(ムターゼ)は、ある炭素に結合した H とその隣りの炭素に結合した $\text{C}(=\text{O})\text{SCoA}$ 基の場所が入れ替わる反応を触媒する。

補酵素 B_{12} の化学反応は、コバルトと 5'-デオキシアデノシル基との結合形成から始まる。それは異常に弱い結合である(C-H 結合の結合エネルギーが 99 kcal mol^{-1} であるのに対して、 26 kcal mol^{-1} の結合エネルギーしかない)。次の反応機構では、 $\text{C}(=\text{O})\text{SCoA}$ を R と略して示す。

メチルマロニル-CoA 転位酵素 (ムターゼ) の触媒反応機構



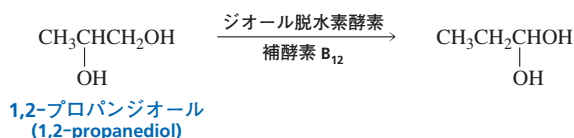
- Co-C 結合が均等開裂して 5'-デオキシアデノシルラジカルが生成し、Co(III) は Co(II) に還元される。
- 5'-デオキシアデノシルラジカルは、ほかの置換基と位置が入れ替わる水素原子を引き抜く。
- R 基が隣りの炭素へ移動し、新たなラジカルを生じる。
- 新たに生じたラジカルが 5'-デオキシアデノシンから水素原子を引き抜くことにより、転位生成物とともに 5'-デオキシアデノシルラジカルが再生する。
- 5'-デオキシアデノシルラジカルが Co(II) と再結合することで補酵素が再生し、酵素-補酵素複合体が次の触媒サイクルへ入る。

補酵素 B_{12} 依存酵素のすべての触媒反応は、基本的に同じ反応機構で進行する

と考えてよい。補酵素の役割は、基質から水素原子を引き抜くことである。いったん水素原子が引き抜かれると、隣の置換基の転位は容易に起こる。補酵素は転位した置換基がもともとあった位置の炭素に水素原子を戻して反応が完結する。

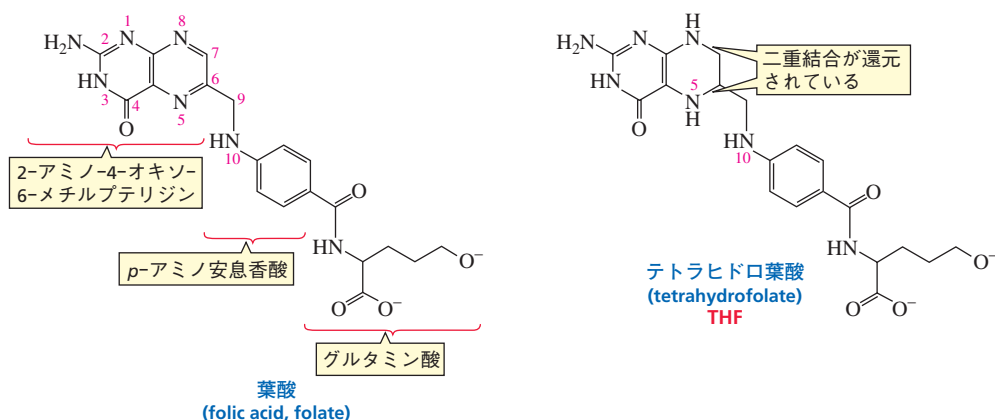
問題 27 ◆

ビタミン B₁₂ を必要とする次の酵素触媒反応では、どの置換基とどの置換基が置き換わっているか。

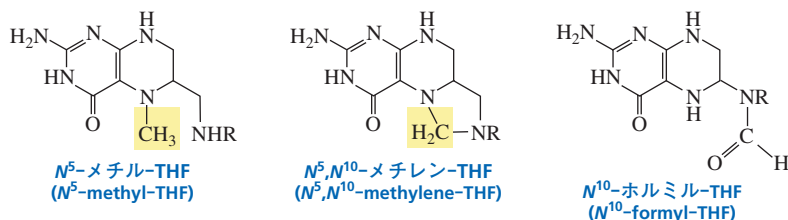


18.13 葉酸：1 炭素転移反応に必要なビタミン

テトラヒドロ葉酸(tetrahydrofolate, THF)は、1 炭素からなる原子団を基質に移す反応を触媒する酵素の補酵素である。1 炭素原子団としては、メチル基(CH₃)、メチレン基(CH₂)、またはホルミル基(HC=O)などがある。テトラヒドロ葉酸はその前駆体ビタミンである葉酸の二つの二重結合が還元されて生じる。微生物は葉酸を合成できるが、哺乳類は合成できない。

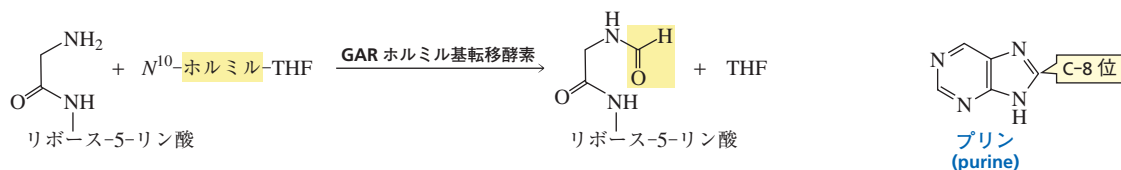


3 種類の THF 補酵素を下に示す。N⁵-メチル-THF はメチル基の転移、N⁵,N¹⁰-メチレン-THF はメチレン基の転移、N¹⁰-ホルミル-THF はホルミル基の転移を行う。



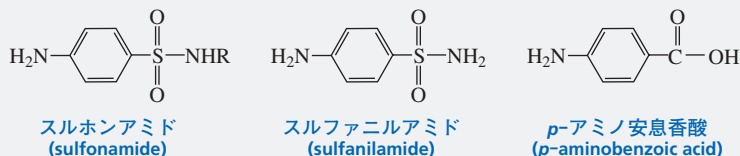
テトラヒドロ葉酸(THF)は1炭素原子団を基質に移動させる酵素の補酵素である。

グリシンアドリボヌクレオチド(GAR)ホルミル基転移酵素は THF 補酵素を必要とする酵素である。基質由来のホルミル基は最終的にプリン の C-8 位の炭素に移る。DNA と RNA を形成する四つの複素環塩基のうちの二つがプリンである (21.1 節参照)。



最初の抗菌剤

一般にサルファ剤として知られているスルホンアミドは、1934 年に最初の有効な抗菌剤として医療に導入されたものである。イギリスの細菌学者であった Donald Woods は、当時、最も広く用いられたスルホンアミドであるスルファニルアミドが、細菌増殖に必要な化合物である *p*-アミノ安息香酸の構造に似ていることに気づいた。



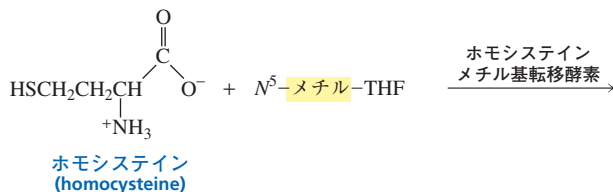
Woods は、スルファニルアミドが *p*-アミノ安息香酸を葉酸に組み込む反応を担う酵素を阻害すると推定した。酵素はスルファニルアミドと *p*-アミノ安息香酸を区別できないので、両化合物は競争して酵素の活性部位に結合する。葉酸がなければ、細菌は死ぬ。この薬物はヒトに悪い影響を及ぼさない。なぜならば、ヒトは葉酸を合成せず、すべて食餌から摂取しているからである。

問題 28◆

なぜこの補酵素はテトラヒドロ葉酸と呼ばれるのか。

問題 29◆

次の反応によりどのようなアミノ酸がつくれるか。

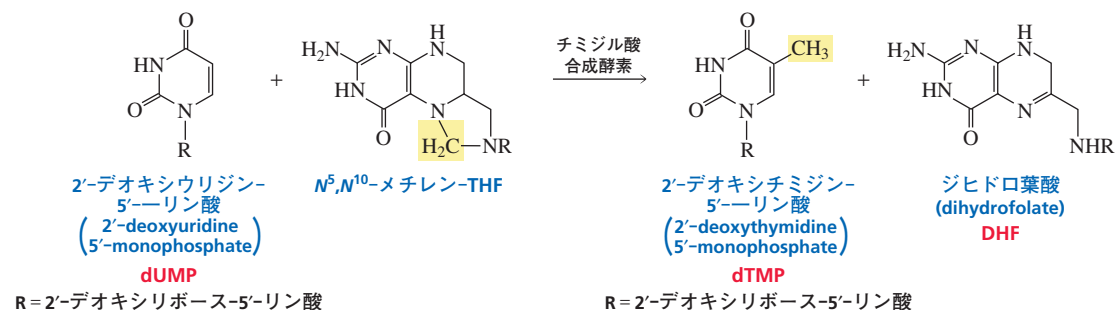


チミジル酸合成酵素：U を T に変換する酵素

RNA の複素環塩基は、アデニン、グアニン、シトシン、およびウラシル (A,G,C,U) である。DNA の複素環塩基は、アデニン、グアニン、シトシン、およびチミン (A,G,C,T) である。いいかえれば、RNA と DNA の複素環塩基は、RNA が U を含むのに対して DNA が T を含んでいることを除けば同じである。(これらの塩基については 21.1 節で述べる。DNA がなぜ U の代わりに T を含んで

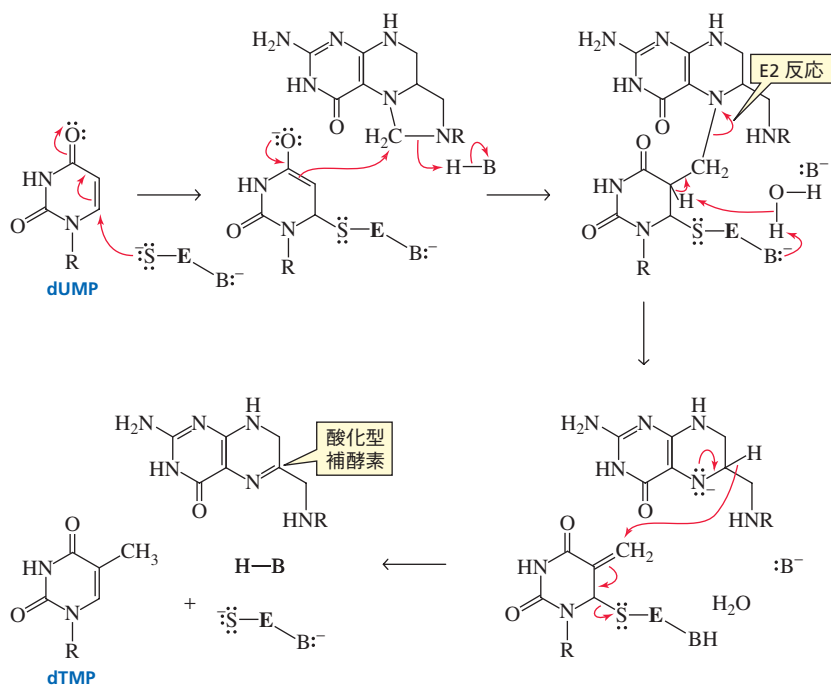
いるのかについては 21.10 節で説明する.)

DNA の生合成に必要な T は, N^5, N^{10} -メチレン-THF を補酵素とするチミジル酸合成酵素により U から合成される. 実際の基質は dUMP (2'-デオキシウリジン 5'-リン酸) で, 生成物は dTMP (2'-デオキシチミジン 5'-リン酸) である.



U と T の唯一の構造上の違いはメチル基ではあるけれども, T の合成では, 最初に U へメチレン基が転移する. そしてメチレン基はメチル基に還元される. 反応の機構を次に示す.

チミジル酸合成酵素の触媒反応機構



- 酵素活性中心の求核的なシステインが dUMP の β 炭素に付加する. (これは共役付加反応の例である; 12.10 節参照.)
- dUMP のエノラートイオンによる N^5, N^{10} -メチレン-THF のメチレン基への求核攻撃により, dUMP と補酵素の間に共有結合が形成される. これは S_N2 反

応である。脱離基はプロトン化されて脱離しやすくなっている。

- 塩基が α 炭素からプロトンを引き抜き、補酵素はE2反応で解離する。この場合の塩基は水分子であり、酵素のチロシン側鎖の O^- 基(図中の $:B^-$)により塩基性が強められると考えられている。
- 水素化物イオンが補酵素からメチレン基へ移動して酵素から解離し、dTMPとジヒドロ葉酸(DHF)が生成する。

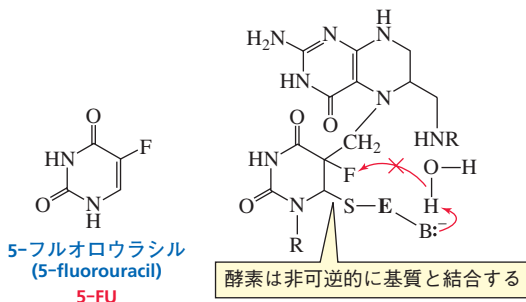
補酵素が、メチレン基を基質に移したあと、さらに還元剤として働き、基質に移したメチレン基をメチル基に還元することに注目しよう。補酵素は還元剤であるので、補酵素は酸化されてジヒドロ葉酸になる。(C-H結合数の減少は酸化を意味することを思い出そう。)ジヒドロ葉酸はジヒドロ葉酸還元酵素によってテトラヒドロ葉酸に還元され、テトラヒドロ葉酸補酵素が再生する。これによって生成する補酵素はジヒドロ葉酸である。



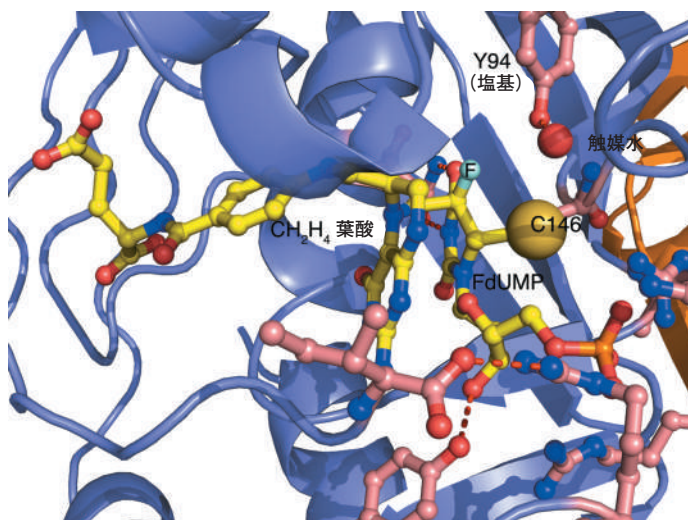
がんの化学療法

がんとは、細胞の成長が制御不能となり急激に増殖する状態を指す。細胞はDNAを合成できなければ増殖することができないので、科学者は長年チミジル酸合成酵素やジヒドロ葉酸還元酵素を阻害する化合物を探索してきた。細胞がチミジン(T)を合成できなければDNAも合成できない。細胞には限られた量のテトラヒドロ葉酸しか存在しないので、ジヒドロ葉酸還元酵素を阻害すればチミジンの合成を抑制できる。したがって、ジヒドロ葉酸還元酵素を阻害してジヒドロ葉酸をテトラヒドロ葉酸に戻せないようにすれば、細胞はチミジンの合成を維持できなくなる。

5-フルオロウラシルはチミジル酸合成酵素を阻害する一般的な抗がん剤である。5-フルオロウラシルはdUMPと同じように酵素と反応する。しかし、フッ素は電気陰性度が大きいので、脱離反応(前ページの反応機構の三段階目)の段階で F^- を放出することができず、5-フルオロウラシルが酵素の活性部位に結合したままになる。その結果、酵素は5-フルオロウラシルと永久的に結合した状態となり、反応はここで停止する(図18.4)。酵素の活性部位は5-フルオロウラシルでふさがれてdUMPと結合できなくなるので、dTMPがそれ以上合成できなくなる。dTMPがなければDNAが合成できなくなり、がん細胞は“チミン不足”で死に至る。



残念ながら，ほとんどの抗がん剤はがん細胞と正常細胞を区別できない．その結果，がん化学療法が重大な副作用をもたらすこともある．しかし，がん細胞は正常細胞よりもはるかに早く分裂するので，抗がん剤の攻撃を正常細胞よりも強く受けることになる．



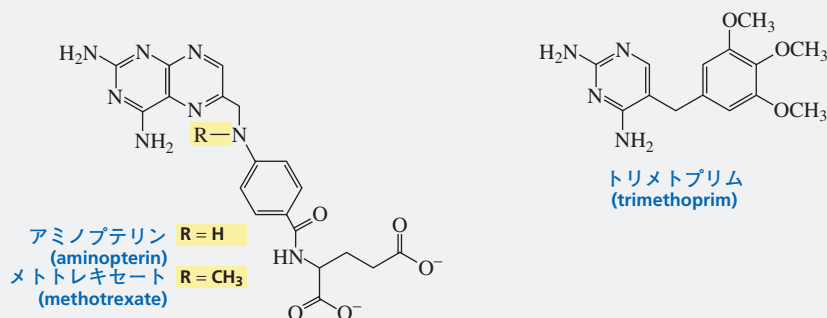
◀ 図 18.4

テトラヒドロ葉酸補酵素と酵素のシステイン 146(C146)に共有結合した 5-フルオロ-dUMP (FdUMP) を黄色で示す．フッ素素(青緑色)，チロシン 94(Y94)，および触媒水も示してある．活性部位で補酵素を適切な位置に保っている側鎖はピンク色で示してある．

5-フルオロウラシルは正常な酵素の反応機構に準拠して開発された阻害剤，メカニズム準拠型阻害剤 (mechanism-based inhibitor) である．すなわち，正常の触媒機構の一部に介入して酵素を阻害する．これはまた，自殺型阻害剤 (suicide inhibitor) とも呼ばれる．なぜならば，酵素がそれと反応すると，酵素は“自殺する”からである．5-フルオロウラシルが治療に使える事実は，酵素反応機構解明の重要性を示している．つまり，科学者がいったん反応機構を知れば，酵素反応のある段階を停止するような阻害剤をデザインできるからである．

拮抗阻害剤

アミノプテリンとメトトレキサートはジヒドロ葉酸還元酵素の阻害剤であるとともに抗がん剤でもある．構造がジヒドロ葉酸と似ているので，これらはジヒドロ葉酸と競争して酵素の活性中心へ結合する．さらに，これらの化合物はジヒドロ葉酸よりも 1000 倍強く酵素に結合するので，この結合の競争に勝って酵素の活性を阻害する．このような化合物を拮抗阻害剤 (competitive inhibitor) という．



アミノプテリンとメトトレキセートは THF の合成を阻害するので、合成の一過程で THF 補酵素を必要とする化合物の合成を妨げる。したがって、これらの阻害剤はチミジンの合成のみならず、DNA 合成のために必要なプリンであるアデニンやグアニンの合成も阻害する。なぜならば、アデニンやグアニンの合成にも THF 補酵素 (719 ページ参照) が関与しているからである。がん細胞と闘うため、致死量のメトトレキセートを患者に与えて、がん細胞を殺したあとに、 N^5 -ホルミル-THF を与えて命を救うというやり方がある。

トリメトプリムは抗生物質として使われるが、これはヒトのジヒドロ葉酸還元酵素よりも微生物のジヒドロ葉酸還元酵素により強く結合するからである。

抗がん剤と副作用

科学者は、がんの化学療法の副作用を抑えるため、がん細胞と正常細胞を見分けることのできる薬を探求している。現在、臨床試験で用いられている新薬は、非常に毒性の高い物質をがん細胞だけに届けることができる。

Herceptin[®] は、1998 年からある種の乳がんの治療に使われてきた。最近になって科学者は、毒性が高すぎて直接使えないような抗がん剤に Herceptin[®] を結合させることに成功した。いったん Herceptin[®] が乳がん細胞に結合すると、その毒性の高い薬剤が放出されてがん細胞を殺す。進行性の乳がんに侵され、この複合剤治療を受けた女性は、ほかの抗がん剤や Herceptin[®] を単独で用いた治療を受けた女性患者に比べて、副作用も少なく、延命期間がほぼ 1 年延びた。

問題 30◆

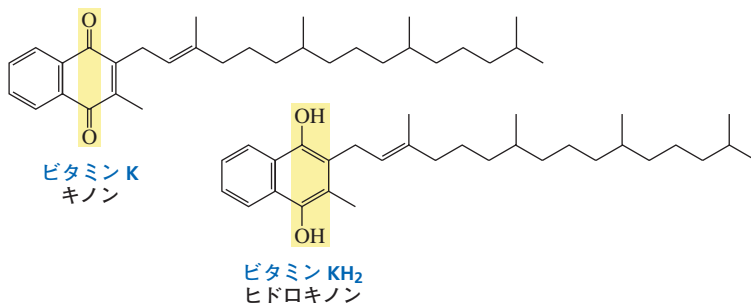
テトラヒドロ葉酸とアミノプテリンの構造上の違いはどこか。

問題 31

チミジンのメチル基の供給源は何か。

18.14 ビタミン K：グルタミン酸をカルボキシ化するために必要なビタミン

ビタミン K は血液凝固を正常に保つために必要な化合物である。K という文字はドイツ語で“凝固”を意味する *koagulation* に由来する。ビタミン K は緑色植物の葉にも存在する。ビタミン K も腸内細菌によって合成されるので、欠乏症はまれである。ビタミン KH_2 (vitamin KH_2 , ビタミン K のヒドロキノン体) はビタミンの補酵素体である。

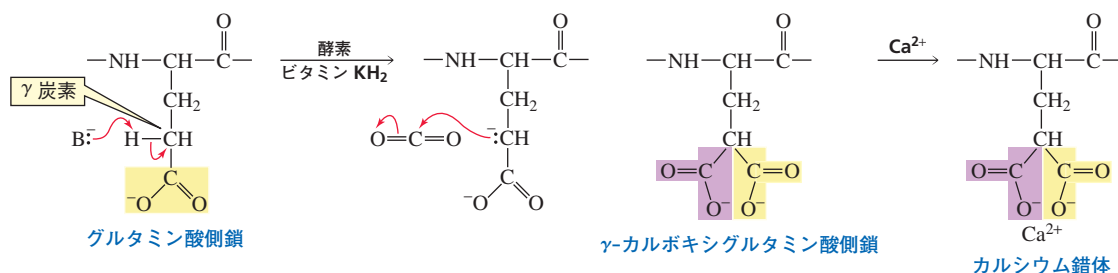


六つのタンパク質からなる一連の反応が血液凝固作用に関与している。血液が固まるためには、血液凝固タンパク質が Ca^{2+} と結合しなければならない。γ-カ

カルボキシグルタミン酸はグルタミン酸よりも効率よく Ca^{2+} と錯体を形成する。よって血液が凝固するためには、グルタミン酸は γ -カルボキシグルタミン酸に変換されなければならない。

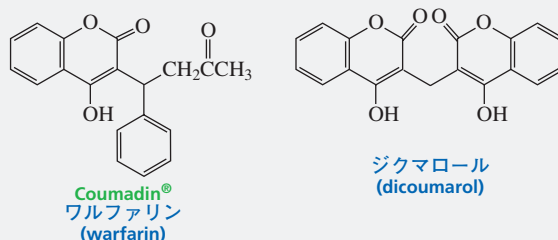
ビタミン KH_2 は、グルタミン酸を γ -カルボキシグルタミン酸に変換する酵素に必要な補酵素である。この補酵素から強い塩基が生じ、 γ 炭素から脱プロトン化が起こり CO_2 と反応する。この酵素は CO_2 を使ってグルタミン酸側鎖にカルボキシ基を導入する。血液凝固に関与するタンパク質はすべてタンパク質のN末端付近にいくつかのグルタミン酸をもっている。たとえば、血液凝固タンパク質のプロトロンビンは7, 8, 15, 17, 20, 21, 26, 27, 30, 33の位置にグルタミン酸をもっている。

ビタミン KH_2 はタンパク質中のグルタミン酸側鎖の γ 炭素をカルボキシ化する反応を触媒する補酵素である。



🧪 抗凝血剤

ワルファリン (warfarin, Coumadin[®]) とジクマロール (dicoumarol) は抗凝血剤として臨床治療に使われている。グルタミン酸の γ 炭素の脱プロトン化に必要な塩基を生成するために、ビタミン KH_2 はビタミン K エポキシドに変換される。これらの化合物は、酵素の活性部位に結合して、ビタミン K エポキシドからビタミン KH_2 への変換を阻害して、血液の凝固を抑制する。これら二つの化合物は、酵素がビタミン K エポキシドとの違いを区別できないので、拮抗阻害剤である。ワルファリンは“ねこいらず(殺鼠剤)”としてもよく使われており、内出血を引き起こしてネズミを殺す。



最近、ビタミン E も抗凝血薬として作用することがわかった。この化合物はグルタミン酸のカルボキシ化をつかさどる酵素を阻害する。

ブロッコリーはもうたくさん

凝血作用の異常を示す女性二人に Coumadin[®] を投与しても病状が改善しなかった。彼女らの食事を調べてみたところ、一人の女性は1日に1ポンド(約454 g)以上のブロッコリーを食べており、もう一人の女性は毎日ブロッコリーのスープとサラダを食べていることがわかった。そこで食事からブロッコリーを取り除いたところ、Coumadin[®] が効果を発揮するようになり、凝血作用の異常は治まった。ブロッコリーには多くのビタミン K が含まれており、酵素活性中心に結合する薬物と十分競合するだけのビタミン K を摂取していたため、薬が効かなかったのである。



覚えておくべき重要事項

- **触媒**は化学反応の速度を増大させるが、それ自身は反応によって消費されたり変化したりしない。
- **酸触媒**は反応物にプロトンを供与することにより反応速度を増大させる。
- **塩基触媒**は反応物からプロトンを引き抜くことにより反応速度を増大させる。
- **求核触媒**は求核剤として働いて反応速度を増大させる。この場合、触媒と反応物との間に共有結合中間体が生成する。
- ある電荷のそれとは反対の電荷による安定化を**静電的触媒作用**と呼ぶ。
- 化学反応の速度は、2分子間あるいは分子内の二つの基の間で十分なエネルギーをもって、適切な配向で、ある特定の時間内に衝突する回数で決まる。
- ほとんどの生体触媒は**酵素**である。酵素触媒反応における反応物は**基質**と呼ばれる。酵素は特異的に**活性部位**で基質に結合し、すべての結合形成反応および結合開裂反応は基質が酵素活性部位に結合した状態で進行する。
- 酵素の基質特異性は**分子認識**の一例である。
- **誘導適合**とは、酵素が基質を結合することによって起こる酵素の立体構造変化である。
- 酵素の非常に高い触媒活性に寄与する二つの重要な因子は、1. 活性部位において各反応部位を互いに反応に適した位置に配向させること、2. 基質が触媒作用および遷移状態の安定化を受けるのに適した位置にアミノ酸側鎖を配置できることである。
- **補酵素**は酵素のアミノ酸側鎖だけではできない多種多様な化学的役割を果たす。あるものは酸化剤や還元剤として機能し、あるものは電子の非局在化を助け、またあるものはさらなる反応のために官能基を活性化したり、反応に必要な優れた求核剤や強塩基を提供したりする。
- 補酵素は**ビタミン**から誘導される。ビタミンは正常な体の機能を保つうえで微量だけ必要な化合物であり、体内では合成されない。
- ビタミン C 以外のすべての水溶性ビタミンは補酵素の前駆体である。ビタミン K は補酵素の前駆体である唯一の非水溶性ビタミンである。
- **異化反応**では、複雑な生体分子を分解してエネルギーや単純な分子を得る。一方、**同化反応**では、エネルギーが消費され、複雑な生体分子が合成される。
- **NAD⁺**と**FAD**は、酸化反応を触媒するために利用される補酵素である。
- **NADPH**と**FADH₂**は、還元反応を触媒するために利用される補酵素である。
- **ピリジンヌクレオチド補酵素**の化学反応はすべてピリジン環の4位で起こる。**フラビン補酵素**の反応はすべてフラビン環上で起こる。
- **チアミンピロリン酸(TPP)**はアシル基の移動を触媒する酵素の補酵素である。
- **ビオチン**はカルボニル基の隣りの炭素のカルボキシ化を触媒する酵素の補酵素である。
- **ピリドキサルリン酸(PLP)**は、脱炭酸、アミノ基転移、

およびラセミ化などの各種アミノ酸変換反応を触媒する酵素の補酵素である。

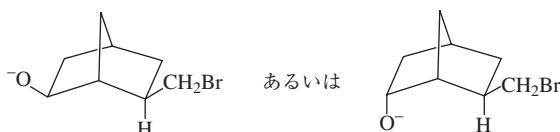
- **イミノ基転移反応**では、あるイミンがほかのイミンに変換され、**アミノ基転移反応**では、基質からアミノ基を除去して、その部分にケト基を残してほかの分子に変換する。
- **補酵素 B₁₂** 依存酵素反応では、ある炭素に結合している原子団が隣りの炭素に結合している水素と置き換わる。
- **テトラヒドロ葉酸(THF)**は、基質へメチル基、メチレ

ン基、またはホルミル基などの1炭素原子団の移動を触媒する酵素の補酵素である。

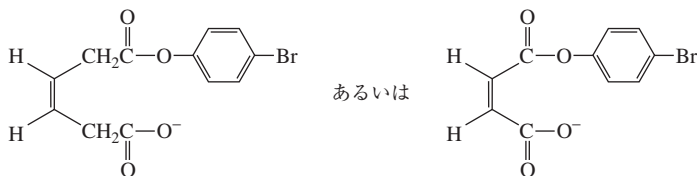
- **ビタミン K_{H2}**は、凝血作用に必要な反応であるグルタミン酸側鎖のγ炭素のカルボキシ化を触媒する酵素の補酵素である。
- **自殺型阻害剤**は通常触媒経路に介入して酵素反応を阻害する。
- **拮抗阻害剤**は基質と競争して酵素の活性部位へ結合する。

章末問題

32. 次の二つの化合物のうち、塩基性溶液中で HBr の脱離がより速く進行するのはどちらか。



33. 酸無水物がより速く生成するのはどちらの化合物か。



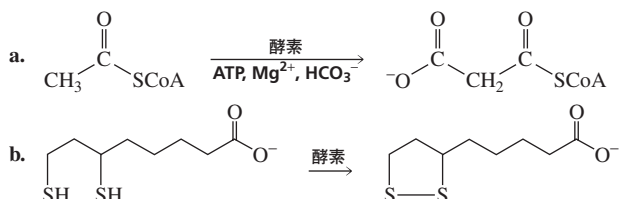
34. 次の補酵素はどのようなビタミンから誘導されるか。

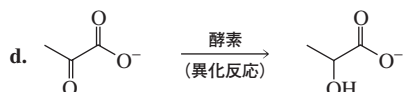
- a. NAD⁺ b. FAD c. ピリドキサルリン酸 d. N⁵-メチレンテトラヒドロ葉酸

35. 次の質問に答えよ。

- a. ある基質からほかの基質へアシル基の転位を触媒する補酵素は何か。
- b. ピルビン酸脱水素酵素複合体における FAD の機能は何か。
- c. ピルビン酸脱水素酵素複合体における NAD⁺ の機能は何か。
- d. ビタミン K_{H2} が触媒する血液凝固作用が正しく進行するために必要な反応は何か。
- e. カルボキシ化反応に使われる補酵素は何か。
- f. カルボキシ化を触媒する補酵素はどのような種類の基質に作用するか。

36. 次のそれぞれの反応について、反応を触媒する酵素と必要な補酵素の名称をあげよ。



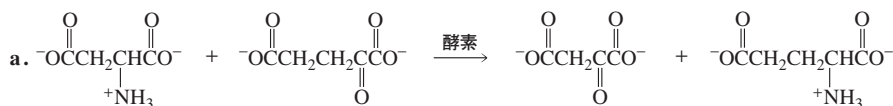


37. セリンプロテアーゼは、基質アミノ酸の加水分解を受ける部位がD体である場合、加水分解反応を触媒できないのはなぜかを説明せよ。たとえば、トリプシンはL-ArgやL-LysのC側を加水分解するが、D-ArgやD-LysのC側は加水分解しない。

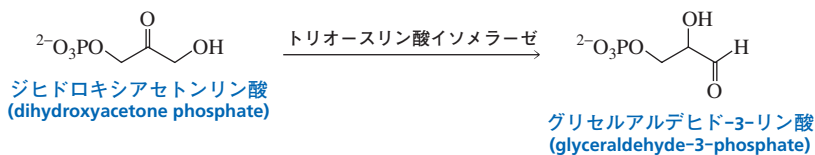
38. 次の反応の生成物は何か。



39. 次の酵素触媒反応に必要な補酵素の名称を示せ。



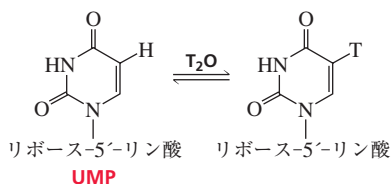
40. トリオースリン酸異性化酵素(TIM)はジヒドロキシアセトンリン酸をグリセルアルデヒド3-リン酸に変換する反応を触媒する。酵素の触媒反応部位はGlu 165とHis 95である。反応の一段階目でこれらの触媒反応部位はそれぞれ塩基触媒と酸触媒として機能する。反応機構を示せ。



41. 解糖系において、アルドラーゼによる開裂反応が起こる前に、グルコース-6-リン酸がフルクトース-6-リン酸に異性化されなければならないのはなぜか。

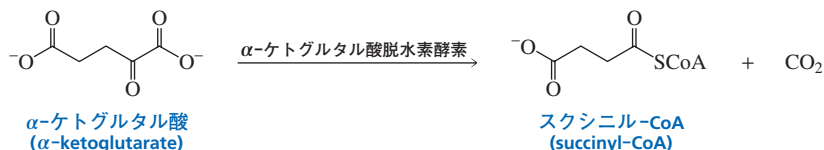
42. チアミンピロリン酸を補酵素とする反応によって転位するアシル基はどのようなものであるか。(ヒント：問題 16, 17, 18, 20, 44, 45 を見よ。)

43. UMP を T_2O ($T = {}^3H$, すなわち二つの中性子をもつ水素原子) に溶かすと、5 位の H が T に置き換わる。この交換反応の機構を示せ。



44. α -ケトグルタル酸脱水素酵素は、クエン酸回路において α -ケトグルタル酸をスクシニル-CoA に変換する酵素であるが、これには五つの補酵素が必要とされる。

- a. 必要とされる五つの補酵素をあげよ。 b. この反応の機構を示せ。



45. アミノ基転移反応によって、枝分かれをもつ三つのアミノ酸(パリン、ロイシン、イソロイシン)はメーブルシロップのにおいのする化合物に変換される。また、枝分かれをもつ α -ケト酸脱水素酵素はこれらの化合物を CoA エステルに変換する。この酵素をもたない人は、いわゆるメーブルシロップ尿症(尿からメーブルシロップのにおいがするのでこのように呼ばれる)として知られる遺伝病にかかっている。

- a. メーブルシロップのようないのする化合物を書け。
 b. CoA エステルを書け。
 c. 枝分かれをもつ α -ケト酸脱水素酵素は 5 種類の補酵素をもっている。それらを示せ。
 d. メーブルシロップ尿症の治療法を提案せよ。

46. フルクトース 1,6-二リン酸を反応混合物に加える前に、ヨウ化酢酸を加えるとアルドラーゼは活性を示さなくなる。なぜか。