

## 生体における炭素-炭素結合の生成とその意義 Carbon-carbon bond formation *in vivo* and its significance

川口洋子, 今野美智子, 會川義寛

Yoko KAWAGUCHI, Michiko KONNO, Yoshihiro AIKAWA

(お茶の水女子大学ライフサイエンス)

### 【目次】

1. はじめに
2. 分子の工作と芯・被覆モデル
  - (1) 被覆の脱ぎ替へ
  - (2) 芯の継ぎ接ぎ
3. 解糖
4. 活性酢酸の附加 —  $\beta$ -酸の雄性合成
  - (1) オキサロ酢酸への附加 (枸橼酸へ)
  - (2) 酢酸への附加 (ケトン体へ)
  - (3) アセト酢酸への附加 (メバロン酸経路)
  - (4)  $\beta$ -ケト酸からの脱離 ( $\beta$ 酸化)
5. 炭酸附加 (ビオチン) —  $\beta$ -酸の雌性合成
  - (1) 酢酸への附加 (マロン酸へ)
  - (2) プロピオン酸への附加 (Me マロン酸へ)
  - (3) ピルビン酸への附加 (オキサロ酢酸へ)
  - (4) ピルビン酸の活性化
  - (5)  $\beta$ -ケト酸の脱炭酸
  - ※ 糖への炭酸附加 (ルビスコ)
6. 脱炭酸 —  $\alpha$ -酸の分解
  - (1)  $\alpha$ -ケト酸の酸化的脱炭酸 (チアミン)
  - (2)  $\alpha$ -アミノ酸の脱炭酸 (ビタミン B<sub>6</sub>)
7. メチル附加
  - (1) 活性メチル基の発生
  - (2) 汎用メチル化剤 (メチレン還元葉酸)
  - (3) 活性メチオニン (アデノシル Met)
8. おわりに

### 1. はじめに

生体においては蛋白質 protein を消化するとアミノ酸 amino acid になり, 澱粉 starch を分解すると葡萄糖 glucose になる. また逆に蛋白質や澱粉はアミ

ノ酸や葡萄糖をその出発点として合成する. アミノ酸を両断する蛋白質分解や, 葡萄糖を経ない三炭糖などからの澱粉直接合成はない. これは, 有機物の芯 core・被覆 clad 構造による.

芯・被覆モデル core-clad model では, 芯 core は有機物中の炭素鎖を表はし, 被覆 clad はこの炭素鎖に共有結合してある部分を表はす. そこでは, 被覆の脱ぎ換へや変化は比較的容易であるのに対し, 芯部の切断・生成は相対的に困難である. このモデルによれば, いま述べた生体高分子 biopolymer (蛋白質や澱粉) 中における単量体 monomer 部分 (アミノ酸や葡萄糖) は芯部の単連結領域 simply connected domain に相当してをり, 生体高分子の生成・分解は芯 core 部に影響を与へない反応となつてゐる (Fig. 1). すなはちこの反応において芯部は (その電子状態を含めて) 保存されてゐる. ゆゑに単量体 (アミノ酸や葡萄糖) は壊れずに, 反応中の一単位として振る舞へるのである.

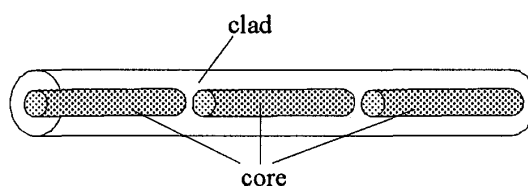


Fig.1 Core-clad model for organic molecule

しかしこの芯部を保存する反応だけでは生体の代謝 metabolism 反応は営めない. もとより芯部の結合と切断は生体反応の単量体を準備する段階においても必須である. 単量体であるアミノ酸を合成したり分解したりするといふ, 単量体内の炭素-炭素共有結合の生成・分解を取り扱ふ作業である.

すなはち、芯 core 部に手を就けることが必要となる。本稿ではこの部分を考察したい。

考察の順序として、生体反応における core 接合・切断の一般型としてのアルドール aldol ならびにクライゼン Claisen 縮合 condensation・開裂 cleavage をまづ述べる。特にその中で炭素数を 2 個ずつ増減する例を示す。酢酸または活性酢酸 (アセチル CoA) が脱着する。

次にこれも生体反応においてよく見られる炭酸附加 carboxylation とその逆反応である脱炭酸 decarboxylation について解説する。この炭素数の増減は 1 である。ビオチン biotin やチアミン thiamin、ビタミン B<sub>6</sub> などの補酵素 coenzyme・ビタミン vitamin が活躍する。

そして最後に、同じく炭素数 1 を増やすメチル附加について述べる。ただしこれは新たに炭素-炭素結合を生成して分子芯部を変へる反応ではなく、N-メチル化や O-メチル化などのメチルカチオンとしての置換反応が主であり、本稿の主旨とはややはずれてゐる。しかしこれは核酸 nucleic acid の修飾メチル化 methylation において本質的な役割を担つてゐるので、簡単にではあるが触れる。活性メチオニン Met や還元葉酸 folic acid が重要な役割を演ずる。

## 2. 分子の工作与芯・被覆モデル

芯・被覆モデル core-clad model で表はされる有機分子の変化には、大きく分けて 2 つの種類がある。ひとつは被覆の脱ぎ替へ (置換) であり、これは芯の連結状態を変へない変化である。もうひとつは芯の継ぎ接ぎ (接合) であり、分子としては本質的な変化を受ける。

### (1) 被覆の脱ぎ替へ

被覆の脱ぎ替へには 3 種類の型がある。

第 1 は芯の状態を全く変へない被覆の脱ぎ換へである。ここで言ふ「芯の状態」とは、芯全炭素の酸化数分布状態をいふ。いずれの炭素の酸化数をも変化させない脱ぎ替へである。OH 基を NH<sub>2</sub> 基で置換する反応はこの例である。また、エステル結合やアミド結合、加水分解もこの範疇に入る。

切れたり繋がつたり入れ替つたりする部分は被覆であり、芯には全く変化がないからである。たとへ分子が切断されても芯は切れてをらず無傷である。

第 2 は、芯の局所状態は変化するが、芯全体としての状態 (酸化数) は変化しないものである。例えばジヒドロキシアセトン dihydroxyacetone がグリセルアルデヒド glyceraldehyde (三炭糖) や乳酸 lactic acid (オキシ酸) になつたり、グリセリン酸 glyceric acid がエノールピルビン酸 enol-pyruvic acid やピルビン酸 pyruvic acid に変化する反応は、個々の炭素の酸化数は変化するが、芯全体としての酸化数は保存されてゐる。互変異性反応などはすべてこの範疇に入る。

第 3 は、芯全体としての状態 (酸化数) を変化する被覆の置換である。アルコールをアルデヒドやカルボン酸にしたり、アミノ酸をケト酸に変へたりする反応がこれである。

以上はいづれも被覆に変化があり、その結果、芯の酸化状態にも変化があるかも知れないが、芯の連結状態には変化がない場合である。

### (2) 芯の継ぎ接ぎ

芯の継ぎ接ぎにおいては、芯の切断部分や接合部分の状態が必然的に変化するもので、芯部の状態を局所状態まで含めて全く変へないことは不可能である。したがつて芯の継ぎ接ぎは、継ぎ接ぎ前後の芯全体の酸化数が保存されるか保存されないかにより 2 つに分類される。ただし後者は、芯の継ぎ接ぎ反応と酸化還元反応とが 2 段階で起こつたものと考へることができるので、そうすれば、芯の継ぎ接ぎ反応としては、酸化数の変化がない場合だけを考慮すればよい。以下、その様に考へて論を進める。

さて、芯の継ぎ接ぎ (接合) を行なふには、まづその接合を行なはうとしてゐる箇所の被覆を剥がして、接合部の芯を一旦剥き出しに (露出) しなければならない。そしてその露出した芯同士を接合し、そののちに、その接合部をまた適切な被覆で覆つてやることになる。

このとき、接合しようとする 2 つの露出芯部は

互いに相補的でなければならない。(未結合)電子対 electron pair を有する雄性露出芯 exposed male core はこれを持たない雌性露出芯 exposed female core とのみ接合できる (heterogenic formation). 不対電子 unpaired electron を持つ中性露出芯 (ラジカル) は同じく不対電子を持つ中性露出芯とのみ接合することが出来る (homogenic formation). この様にして2つの芯部が接合することにより結合電子対を有する共有結合が形成される (Fig.2). ただ、後者のラジカル反応はやや乱暴なので生体では余り用ゐられない. したがってここでもラジカル反応は扱はない.

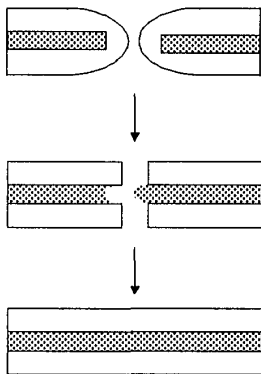


Fig.2 Heterogenic formation of conjugated core through exposed male and female

最も一般的な雄性露出芯の作り方は、カルボニル $\alpha$ -プロトンの解離によって作られるカルボニル $\alpha$ 炭素アニオンである. このプロトンがはずれて露出した芯部、すなはちカルボニル $\alpha$ 炭素アニオンは、それまでプロトンと共有してゐた電子対をそのまま未結合電子対としてプロトン解離後も所持しこれをそのまま外に曝してゐるため、典型的な雄性露出芯となつてゐる.

雌性露出芯として専らよく用ゐられるのはカルボニル炭素である. カルボニル炭素は  $sp^2$  構造を持ち、 $C=O$  二重結合の  $xy$  平面内  $\sigma$ 電子は酸素  $O$  に引き寄せられ、 $z$  方向  $\pi$ 電子も酸素  $O$  側に偏つてゐるので、もともと電子の被覆が少ない構造になつてゐる. もし何らかの適切な酵素 (の  $Zn^{2+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $His$  の  $H^+$  など) により外部から、カルボニル酸素  $O$  の  $xy$  平面内孤立電子対 lone electron pair を介してさらに電子を吸ひ出せば、カルボニル炭素上の

電子の雲は取り払はれ、立派な雌性芯が露出する.

このカルボニル $\alpha$ 炭素の雄性露出芯と (もうひとつ別の) カルボニル炭素の雌性露出芯とを接合して、新たな1つの連結した芯を作る反応をアルドール縮合 aldol condensation といふ. その逆反応をアルドール開裂 aldol cleavage といふ. 以下まづ、このアルドール反応を用ゐた生体内の炭素鎖接合・切断について述べる.

### 3. 解糖

六炭糖の葡萄糖 glucose (Glc) を2分子の乳酸 lactic acid に分解する反応を解糖 glycolysis といふ. 6炭素鎖芯を2本の3炭素鎖芯に二分する反応である.

一般に生体における分子の芯部連結変化を伴ふ反応では、その分子をあらかじめ活性化 activation しておかなければその芯部を変化させることはできない. 糖の場合その活性化は糖の水酸基  $OH$  を  $ATP$  で磷酸化 phosphorylation することによつて行なはれる (以下、活性化した分子を\*印をつけて表はす). したがって解糖に先立つて葡萄糖もまづ磷酸化される (活性化葡萄糖  $Glc^* = 6GP$ ). そしてアルドール開裂すべく互変異性を介して活性化果糖  $Fru^*$  にする. そして解糖後2分子になることに備へて二重活性化すべくもう一度磷酸化する ( $Fru^{**} = FBP$ ). 分子の構造式においては一々活性化型で表はすのは煩雑なので、以下では活性化葡萄糖\*, 活性化果糖\*などをもとの葡萄糖, 果糖の形で図示する (Fig.3).

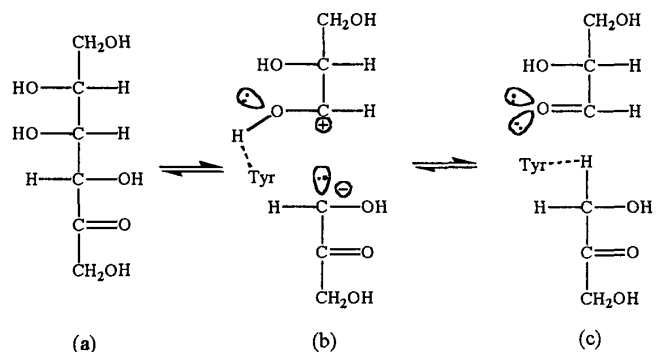


Fig.3 Glycolysis from fructose\* to triose\*

果糖は Fig.3a においてカルボニル炭素が下から2番目に来てをり、その1つ上の炭素がカルボニル $\alpha$ 炭素である。ゆゑに6個の炭素からなる分子芯をこの上側、すなはち分子の真中で切断したとき、このカルボニル $\alpha$ 炭素は雄性炭素とならなければならない。すなはち分子芯切断においては共有結合電子対は下側の炭素が受け継ぎ、上側の炭素は電子対を持たない雌性炭素となるべきである (Fig.3b)。この様な形態で分子芯を真中で切断したのち、下側の雄性端にはプロトンがついてその雄性をなだめ、上側の雌性端からは C-OH のプロトンがはずれて C=O となってその雌性をいやす。すなはち、それぞれの切断端の被覆を行なつて、このアルドール開裂は完了する (Fig.3c)。

この解糖におけるアルドール開裂を触媒するアルドラーゼ aldorase には、動植物の I 型と、菌・藻類の II 型とがある。果糖のカルボニル炭素からの電子吸ひ取りを Lys の $\epsilon$ -アミノ基でシッフ塩基化して行なふのが I 型、 $Zn^{2+}$ イオンで行なふのが II 型である。

分子芯を真中で二分して生成したグリセルアルデヒド\* (GAP) とジヒドロキシアセトン\* (DHAP) はともに酸化されグリセリン酸を経てピルビン酸 pyruvic acid ( $\alpha$ -ケトプロピオン酸) となる。その際、分子の芯内外の電子移動 (酸化過程) に伴つて NADH を得、芯内の電子移動によつて ATP を新生する。ピルビン酸はこの生成した NADH で還元されて乳酸になる (乳酸醗酵 lactic acid fermentation)。

#### 4. 活性酢酸の附加 — $\beta$ -酸の雄性合成

活性酢酸 (アセチル CoA) は多くの生体構成物質の基本原材料として用ゐられる。これは細菌や植物では ATP を使つて酢酸を直接活性化して作るが (アセチル CoA 合成酵素)、動物は解糖により生じたピルビン酸 ( $\alpha$ -ケトプロピオン酸) をチアミン thiamin (Vitamin B<sub>1</sub>) により酸化的脱炭酸して作る (その際 NADH を生成)。この反応は不可逆である。

酢酸\* (活性酢酸) の $\alpha$ -プロトンは上述のカルボニル $\alpha$ -プロトンそのものなのでやはり解離しやす

く、解離後に残つた $\alpha$ 炭素アニオンは雄性露出芯となる。すなはち酢酸\*は雄性分子として雌性のカルボニル炭素に結合しうる。雌性カルボニル炭素分子がアルデヒドやケトンならばその背後から結合して $\beta$ -オキシ酸を生ずる (Aldol condensation)。雌性カルボニル炭素分子がカルボン酸ならば $\beta$ -ケト酸を生ずる (Claisen condensation)。いずれにせよ $\beta$ -酸を生成する (Fig.4.1)。

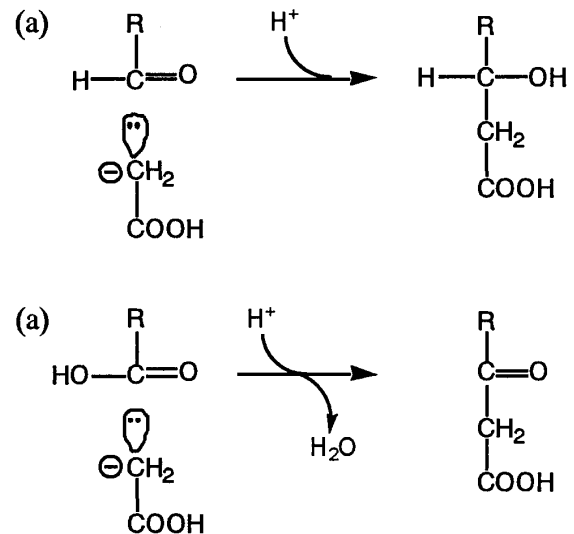


Fig.4.1 Synthesis of (a)  $\beta$ -hydroxy acid from aldehyde and (b)  $\beta$ -keto acid from carboxylic acid by addition of acetic acid\*

#### (1) オキサロ酢酸への附加 (枸橼酸へ)

酢酸\*は生体分子の合成素材として使われるが、汎用燃料としても使用される。酢酸\*を燃料として使用するには、これをその爐である枸橼酸回路 citric acid cycle にくべなければならない。この爐への投入は次の様にしてなされる。

まづ、酢酸\*カルボキシル基の C=O 酸素の孤立電子対を枸橼酸合成酵素 syntase の His プロトンが吸ひ出す。酢酸\* $\alpha$ -プロトンの方はやはり枸橼酸合成酵素の Asp 陰イオンが解離させる。この結果、酢酸\* $\alpha$ 炭素は露出して雄性となる。

この酢酸\*雄性 $\alpha$ 炭素がオキサロ酢酸 ( $\alpha$ -ケトマロン酸) の雌性 $\alpha$ -ケト基炭素と結合する (Fig.4.2)。この結果、枸橼酸\*が生成する。

この反応は平衡であるが、枸橼酸\*は生成と同時に CoA がはずれて非活性化されるので、実際には回路への酢酸\*投入が逆流することはない。

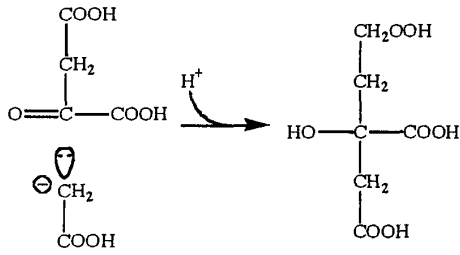


Fig.4.2 Synthesis of citric acid\* from oxaloacetic acid by addition of acetic acid\*

(2) 酢酸への附加 (ケトン体へ)

一般にカルボニル基を持つ分子は、そのカルボニル炭素自身を見れば雌性であり、その隣のα炭素を見れば雄性なので、実は雌雄両性として働きうる可能性がある。そこで (雄性の) 酢酸\*の附加対象を (雌性としての) 酢酸自身とすることもできる。

酢酸に酢酸\*を附加すればアセト酢酸\* (β-ケト酪酸\*) が生成する (Fig.4.3)。しかしこの場合、附加される酢酸も活性酢酸\*でなければならない様である。

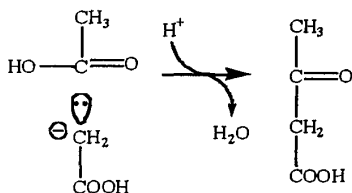


Fig.4.3 Synthesis of acetoacetic acid from two acetic acids\*

生成したアセト酢酸を還元すれば D-3-ヒドロキシ酪酸 (β-オキシ酪酸) となる。アセト酢酸を脱炭酸すればアセトンとなる。この3者を併せてケトン体 ketone body と総称する。葡萄糖に替る飢餓時の脳の主な栄養源である。これらは酢酸\*がありさへすれば作ることができるので、その意味で酢酸\*を作ることができる性質をケト原性 ketogenic といふ。

(3) アセト酢酸への附加 (メバロン酸経路)

アセト酢酸\* (β-ケト酪酸\*) に酢酸\*を附加すると、3-ヒドロキシ-3-メチルグルタル酸\*HMG\* (β-オキシ-β-メチルグルタル酸\*) が得られる (Fig.4.4)。

これは枸橼酸の中央のカルボキシル基をメチル基に還元したものである。この HMG の一方のカルボキシル基を 2NADH でアルコールに還元したものをメバロン酸といふ。メバロン酸\*の脱炭酸・脱水によりイソペンテノール\*、イソプレンを得る。二次代謝生成物テルペノイド terpenoid の原料である。

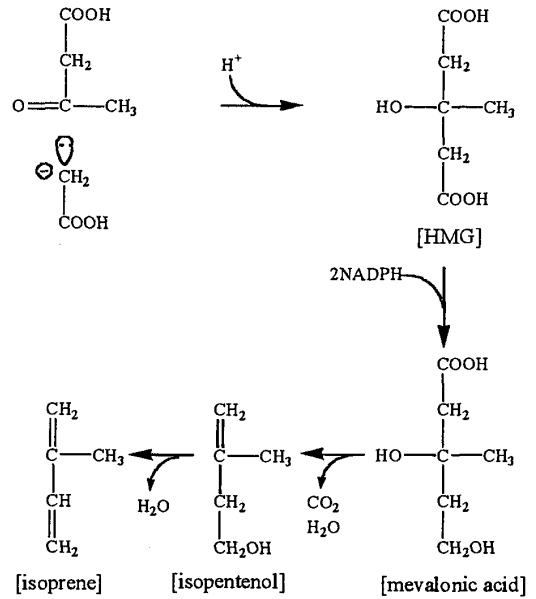


Fig.4.4 Mevalonate pathway to terpenoids

(4) β-ケト酸からの脱離 (β酸化)

脂肪酸はω側からα側へと炭素鎖を伸長し、α側からω側へと分解・脱離する。すなはち炭素鎖の接合・切断はいづれもα端で行なふ。伸長・切断の単位は先に述べた活性酢酸\* (アセチル CoA) である。これが雄性として作用し附加・脱離することは上で述べた。

脂肪酸からα端側の2つの炭素を酢酸として取り外すには、まづ生体反応の前提として脂肪酸を活性化しなければならない。脂肪酸の活性化は酢酸の場合と同様にカルボキシル基を ATP を使って CoA チオエステル化することによってなされる。すなはち活性脂肪酸\*である。

脂肪酸\*の芯部をなすα-β炭素結合を切断して酢酸\*を切り出さうといふのであるから、いつもの芯切断と同じく、α炭素は切断の際に雄性になる様にし、β炭素は雌性になる様に準備しなければならない。このためにβ炭素の被覆を水素 H から酸素 O

に換へて、 $\beta$ 炭素の電子を前以て剥いておく必要がある。

まず、 $\beta\text{C}-\gamma\text{C}$  結合を脱水素酸化により  $\beta\text{C}=\gamma\text{C}$  二重結合にする ( $\text{FADH}_2$  が生成). この二重結合に  $\text{H}_2\text{O}$  を附加する. 附加は  $\text{OH}^-$  が  $\beta$ 位に,  $\text{H}^+$  が  $\gamma$ 位に付く形でおこる. これで  $\alpha\text{-H}$  と  $\beta\text{-OH}$  が揃った.  $\beta$ -オキシ酸の誕生である.

ここで, 新たに生成する 2 炭素分短い脂肪酸の新たな  $\alpha$ 末端をカルボキシル基にするために,  $\beta$ 炭素をさらに酸化してカルボニル  $\text{C}=\text{O}$  とする ( $\text{NADH}$  が生成).  $\beta$ -ケト酸である.

$\beta$ -ケト酸の開裂 (**Claisen cleavage**) は, これまでのカルボン酸への酢酸附加 (**Claisen condensation**) の逆反応である. 切断後, 酢酸側は雄性  $\alpha$ 炭素が生じてプロトンを求め, 短くなった脂肪酸側は雌性カルボニル炭素が電子対によるいやしを待っている. そこで, アセチル CoA アシル転位酵素の酸性基が  $\beta$ -ケト酸の雄性  $\alpha$ 炭素にプロトンを供与しつつ, 同酵素の Cys 側鎖が硫黄 S の孤立電子対で  $\beta$ カルボニル雌性炭素をなだめた上で,  $\alpha$ - $\beta$ 炭素-炭素結合を引き離す. 生じたアシル基末端のカルボニル雌性炭素には直ちに  $\text{OH}$  基を与えて落ち着かせる (Fig.4.5).

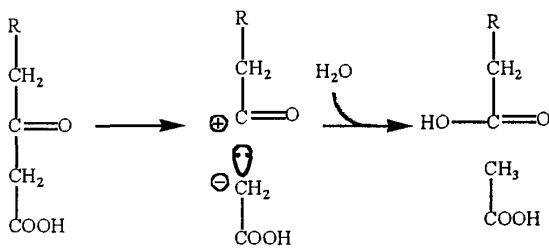


Fig.4.5 Elimination of acetic acid\* from  $\beta$ -fatty acid\*

## 5. 炭酸附加 (ビオチン) — $\beta$ -酸の雌性合成

炭素を完全に酸化すると酸化数+4の炭酸ガス(二酸化炭素)  $\text{CO}_2$  になる. この無機物を炭素鎖に附加して炭素鎖数を 1 つ延ばして有機物の一員として迎へたい.

$\text{CO}_2$  炭素は電子対を持たない雌性なので, 附加先の炭素鎖接合部は電子対を有する雄性でなければならない. この点が雌性炭素鎖に雄性酢酸\*を附加する延長反応とは丁度逆になつてゐる. すなは

ち, 酢酸\*附加が雄性附加であつたのに対し, 炭酸\*附加は雌性附加である.

炭酸に附加される雄性分子はカルボニル基を持つてをり, その  $\alpha$ -プロトンを解離することにより雌性炭酸の附加を待つ. 附加した炭酸は新しく生成した分子中ではカルボキシル基となるが, 附加された雄性分子の元からあつたカルボニル炭素は, この新たに生成したカルボキシル基から見て  $\beta$ 位にあることになる. したがつて, 附加される雄性分子がアルデヒドかケトンであれば,  $\beta$ -ケト酸が生成する. カルボン酸であればジカルボン酸, すなはちマロン酸 malonic acid を骨格とした分子が生成する (Fig.5.1).

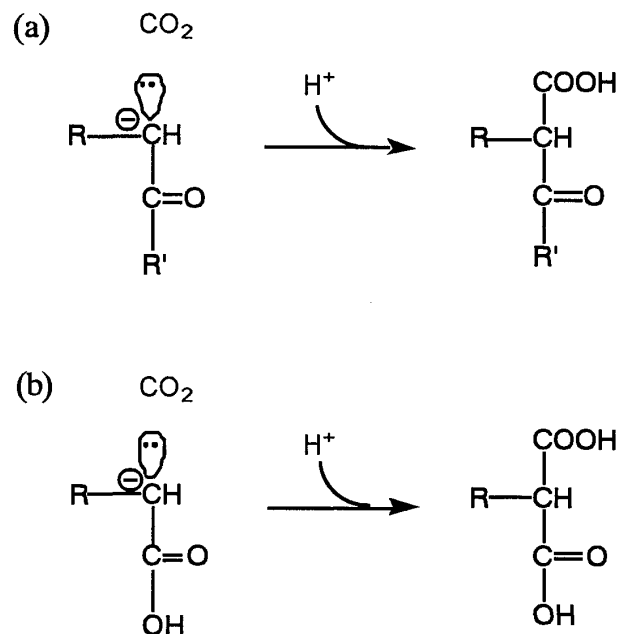


Fig.5.1 Synthesis of (a)  $\beta$ -keto acid from keton and (b) malonic acid from carboxylic acid by addition of carbon dioxides\*

炭酸に雌性附加分子として活躍して貰ふには, やはり活性化してやらなければならない.

炭酸ガス (二酸化炭素)  $\text{CO}_2$  は sp 混成軌道型の直線状分子で,  $\text{CO}_2$  炭素は両側の酸素とそれぞれ二重結合してゐる (Fig.5.2a). 従つてその  $\pi$ 電子は酸素側に偏つてゐるといへども  $\text{CO}_2$  炭素附近にかなり濃厚に存在する. このため  $\text{CO}_2$  炭素の雌性はこの  $\pi$ 電子によつて遮蔽され, 十分には発揮されない.

この状態を変へて、 $\text{CO}_2$  炭素の酸化数+4 に見合ふ雌性を十分に発揮させるには、直線状の  $\text{CO}_2$  を  $60^\circ$  折り曲げて  $\text{sp}^2$  混成軌道型にしなければならない。さうすれば炭酸ガス  $\text{CO}_2$  中の  $\text{CO}$  二重結合は通常のカルボニル基となり、前節で述べたカルボニル雌性炭素となる (Fig. 5.2c).

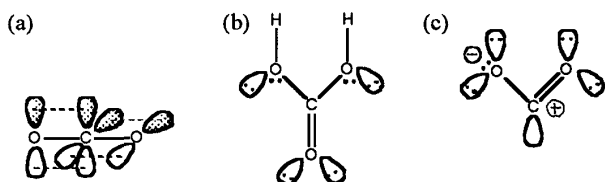


Fig. 5.2 Electron structures of (a) carbon dioxide, (b) carbonic acid, (c) activated carboxyl group

しかし炭酸ガスは一旦水に溶解すると炭酸  $\text{H}_2\text{CO}_3$  となり、 $\text{CO}_3$  4原子軌道系に  $6\pi$  電子共軛系といふむしろ  $\pi$  電子に富む形態となつてしまふ。この炭素も  $\text{sp}^2$  混成軌道型ではあるが、炭素-炭素結合が可能なほど雌性にはなつてゐない (Fig. 5.2b)。そこで、炭酸とはせず、かつ  $\text{sp}^2$  型の  $\text{CO}_2$  (Fig. 5.2c) を作ることが必要となる。これを行なふのが  $\text{ATP} \cdot \text{Mg}^{2+}$  複合体であり、これにより直線状  $\text{CO}_2$  は折り曲げられて  $\text{sp}^2$  型のカルボキシリン酸となる。そして補酵素ビオチン biotin がこの雌性  $\text{sp}^2$  型  $\text{CO}_2$  の形状を維持しながら活性炭酸として運び、カルボニル  $\alpha$  雄性炭素の上に置いて附加させるのである。

補酵素ビオチンは、イミダゾリン環とテトラヒドロチオフェン環とが *cis* 縮合したものに吉草酸側鎖が (C4 炭素に) ついた構造をしてをり、ビオチン・イミダゾリン環は、尿素・イミダゾリン環と類似してゐる。 $\text{CO}_2$  附加時には、このビオチン・イミダゾリン環 N1 窒素 (ウレイド窒素) に附いてゐるプロトンはずして  $\text{CO}_2$  を結合させる (carboxybiotinyl 酵素)。結合した  $\text{CO}_2$  はカルボキシルイオンとなつて  $\text{sp}^2$  型を維持してゐる (Fig. 5.3)。

carboxybiotinyl 酵素により基質まで運ばれた活性化  $\text{CO}_2$  は、 $\text{sp}^2$  混成軌道型を維持したまま carboxybiotinyl 酵素 N1 窒素からはずされるので、極めて強い雌性活性を有する。このため、カルボニル  $\alpha$ -プロトンの解離した雄性  $\alpha$  炭素と容易に結合して、炭酸附加がやうやく可能になる。

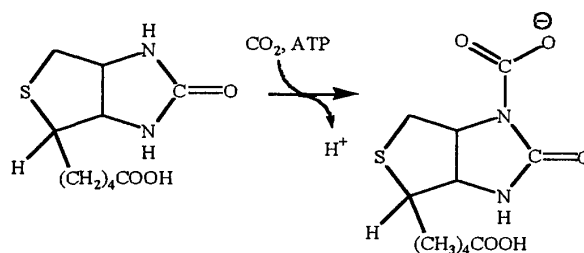


Fig. 5.3 Activation of  $\text{CO}_2$  by biotin

結局、活性炭酸 (ビオチン化炭酸、またはカルボキシビオチン) は他の分子の活性型と同じく、 $\text{ATP}$  を1個使ふことにより作られてゐる。

### (1) 酢酸への附加 (マロン酸へ)

これは分子鎖延長における附加側の雌雄の両横綱、炭酸\*と酢酸\*の結合である。勿論炭酸\*はビオチンの附いた活性炭酸であり、酢酸\*は  $\text{CoA}$  の附いた活性酢酸である。両者が合体してジカルボン酸であるマロン酸\*を生成する (Fig. 5.1b)。2つのカルボキシル基はどちらから見ても互ひに  $\beta$  位にあり、対称である。反応はアセチル  $\text{CoA}$  カルボキシラーゼがビオチンを用ゐて触媒する。

脂肪酸  $\alpha$  端からの酢酸脱離について先ほど述べたが、この逆反応である酢酸附加は、なぜだか分からないが、活性酢酸を使つて直接的に行なふことができない。脂肪酸の  $\alpha$  端延長は、酢酸\*附加ではなく、それより炭素数の1つ多いマロン酸\*附加したのち脱炭酸することにより、炭素数が2個多い活性  $\beta$ -ケト脂肪酸\*を漸く得る。すなはち3足して1引くのである。これは後述の活性ピルビン酸をわざわざ炭素数の1つ多いオキサロ酢酸を脱炭酸して作る工程や、先述の活性酢酸をわざわざ炭素数の1つ多いピルビン酸を酸化的脱炭酸して作る工程に類似する。この脂肪酸合成に必要なマロン酸\*を作るのが、ここで述べた炭酸\*と酢酸\*の結合反応なので、この反応は極めて重要である。

### (2) プロピオン酸への附加 (Me マロン酸へ)

一般に生体脂肪酸の炭素数は偶数なので、 $\alpha$  端から酢酸\*を1つつ取り外していけば ( $\beta$  酸化)、最後には酢酸\*が2個となり、脂肪酸はすべて酢酸\*に分解霧消する。ところが炭素数が奇数の脂肪酸の

場合は、最後に炭素数3の脂肪酸、すなはちプロピオン酸が残る。この処理はどうすべきであらうか。

プロピオン酸\* (プロピオニル CoA) のカルボキシル基隣接メチレン基は $\alpha$ -プロトンを解離して雄性 $\alpha$ -炭素アニオンとなる。これに雌性の活性炭酸  $\text{CO}_2^*$  が附加してメチルマロン酸\* (メチルマロニル CoA) を生成する (Fig. 5.1b)。この附加反応は、プロピオン酸\* を $\alpha$ -メチル酢酸\* と考へれば、酢酸\* への炭酸\* 附加によるマロン酸\* 生成と同様であることが明らかであらう。

メチルマロン酸\* はその後、補酵素アデノシルコバラミン cobalamin (ビタミン  $\text{B}_{12}$ ) を有するムターゼにより琥珀酸\* (スクシニル CoA) となる。この琥珀酸\* まで漕ぎ着ければ、あとはフマル酸を経由して、苹果酸 ( $\alpha$ -オキシ琥珀酸) になるのも、アスパラギン酸 ( $\alpha$ -アミノ琥珀酸) になるのも、オキサロ酢酸 ( $\alpha$ -ケト琥珀酸) になるのも、自由自在である。枸橼酸回路の一部でもある。

### (3) ピルビン酸への附加 (オキサロ酢酸へ)

ピルビン酸は $\alpha$ -ケトプロピオン酸 (Fig. 3.3) である。ピルビン酸末端のメチル基は $\alpha$ -ケト基から見れば $\alpha$ 位にあるので、そのメチル基 $\alpha$ -プロトン了解離して雄性 $\alpha$ -炭素となる。これに雌性の活性炭酸  $\text{CO}_2^*$  が附加してオキサロ酢酸 ( $\beta$ -ケト琥珀酸) を生成する (Fig. 5.4)。これは $\beta$ -ケト琥珀酸であると同時に $\alpha$ -ケト琥珀酸でもある。この反応によりピルビン酸は枸橼酸回路と導通してゐる。反応はピルビン酸カルボキシラーゼがビオチンを用ゐて触媒する。

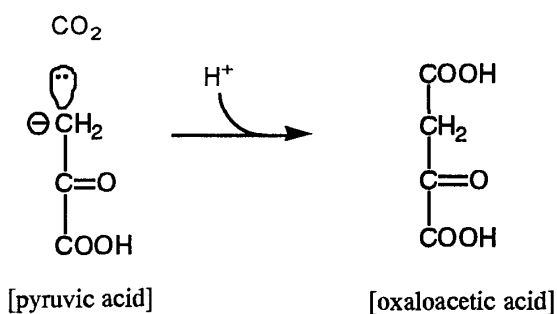


Fig.5.4 Synthesis of oxaloacetic acid from pyruvic acid by addition of carbon dioxide

この反応は、附加する側の炭酸は活性炭酸であるが、附加される側のピルビン酸は活性型ではない。これを反映して生成するオキサロ酢酸も活性型ではない。

### (4) ピルビン酸の活性化

ピルビン酸の活性型はそのエノール型を磷酸化したフォスフォエノールピルビン酸 phosphoenol pyruvic acid である。この活性ピルビン酸 (フォスフォエノールピルビン酸) からは、解糖反応を逆に辿ることができる。すなはち葡萄糖の合成が可能である。したがって活性ピルビン酸 (活性 $\alpha$ -ケトプロピオン酸) を作ることができる性質を糖原性 glucogenic といふ。これに対して活性酢酸を作ることができる性質をケト原性 ketogenic といふことは先に述べた。一般に糖原性のものはケト原性でもあるが、その逆は必ずしも成り立たない。

ピルビン酸を活性化する方法は以下の通りである。すなはち、ピルビン酸 ( $\alpha$ -ケトプロピオン酸) に炭酸附加をしてオキサロ酢酸 ( $\alpha$ -ケト琥珀酸または $\beta$ -ケト琥珀酸) とする。これは前述の通り不活性型のオキサロ酢酸である。そしてこの $\alpha$ -ケト基を GTP で磷酸化しつつ、附加したばかりのカルボキシル基を脱炭酸することにより、活性ピルビン酸 (フォスフォエノールピルビン酸) を得る。

活性ピルビン酸が不活性化するときには ATP が1個生成する。ピルビン酸を活性化する際には ATP ではなく GTP が必要である。もつとも、ピルビン酸に炭酸附加をする際に前以て炭酸を活性化させなければならないが、そのとき ATP を使ふので、全体としてはピルビン酸活性化には ATP, GTP が各1個づつ必要であり、不活性化の際に生成するエネルギーよりも多くのエネルギーを必要とする。

### (5) $\beta$ -ケト酸の脱炭酸

これはビオチンによるケトンへの炭酸附加の逆反応である (Fig. 5.1b)。ただしここでは補酵素ビオチンは必要ない。 $\beta$ -ケト酸が脱炭酸すればケトンが残る。

これまで見てきた様に、 $\beta$ -ケト酸の作り方は一通りではない。アルデヒドに炭酸\* 附加しても作る



ことができるし (Fig. 5.1a), カルボン酸に酢酸\*附加しても, メカニズムは異なるが, 同様に作ることができる (Fig. 4.1b).

β-ケト酪酸であるアセト酢酸は, アセトンに炭酸\*附加して合成するのではなく, 酢酸\*に酢酸\*附加して合成する. すなはち炭素数でいふと, C<sub>3</sub> (アセトン) + C<sub>1</sub> (炭酸\*) → C<sub>4</sub> (アセト酢酸) ではなく, C<sub>2</sub>\* (酢酸\*) + C<sub>2</sub>\* (酢酸\*) → C<sub>4</sub>\* (アセト酢酸\*) として合成される. しかし生成したアセト酢酸 (β-ケト酪酸) はβ-ケト酸なので, 酵素なしに脱炭酸してアセトンとなる (Fig. 5.1a). すなはち解離反応は炭素数に関して不均化であり, C<sub>4</sub> (アセト酢酸) → C<sub>3</sub> (アセトン) + C<sub>1</sub> (炭酸) となつてゐる.

※ 糖への炭酸附加 (ルビスコ)

光合成 photosynthesis は炭酸ガス CO<sub>2</sub>\*を固定 assimilation する. この固定は五炭糖\*\*pentose に CO<sub>2</sub> を附加してから2分子に分離し, それぞれを還元して2個の三炭糖\*triose とすることにより行なはれる. この炭酸固定を行なふ酵素をルビスコ rubisco といふ (Fig. 5.5).

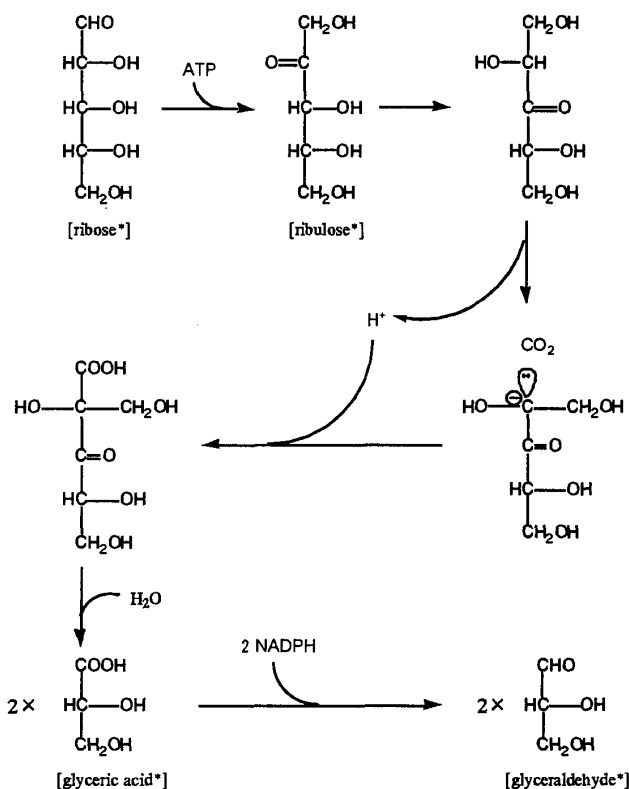


Fig.5.5 Assimilation of carbon dioxide by rubisco

活性化五炭糖リボース\*ribose (リボース 5-リン酸 R5P) は異性化酵素 isomerase により互変異性を介してカルボニル基を1つずらしたリブロース\*ribulose (Fig. 3.6) となり, かつさらにリン酸化されてリブロース\*\* (リブロース 1,5-ビスリン酸 RuBP) となる. これがさらに互変異性しつつカルボニル基を炭素鎖の中央に持つてくればその隣の炭素がプロトン解離して雄性α炭素となり, 雌性 CO<sub>2</sub> を取り込む. これは直ちにアルドール開裂して2分子のグリセリン酸\* (3PG) となり, 継いで NADPH によりそれぞれ還元されて三炭糖のグリセルアルデヒド\* (GAP) となる. すなはち CO<sub>2</sub>\*によつて五炭糖\*\*に持ち込まれた酸化数+4 は, 2つのグリセリン酸\*にそれぞれ酸化数+2 として分配され, これがまたそれぞれNADPHにより2電子還元されて, CO<sub>2</sub> はめでたく酸化数 0 の糖の一部となるのである.

6. 脱炭酸 — α-酸の分解

前節までは酢酸\* (雄性) と炭酸\* (雌性) の附加・脱離による分子芯の接合・切断を考察してきた. その結果いづれもβ-酸の合成と解離とが起こすことが分かつた. 本節ではα-酸について述べる.

(1) α-ケト酸の酸化的脱炭酸 (チアミン)

β-ケト酸を脱炭酸するとケトンになる (Fig. 5.1a) のと同様に, α-ケト酸を脱炭酸するとアルデヒドになる. ただし, β-ケト酸の脱炭酸には特別な酵素を必要としなかつたが, α-ケト酸の脱炭酸には補酵素チアミン thiamin (ビタミン B<sub>1</sub>) 二リン酸 TPP が不可欠である.

また, この脱炭酸反応の逆反応である炭酸附加は, ケトンに炭酸附加してβ-ケト酸を合成することは前節で説明した様にビオチンを用ゐることにより可能であつたが, アルデヒドに炭酸附加してα-ケト酸を合成することはできない.

すなはち, β-ケト酸は, 炭酸附加により合成もできるし (補酵素ビオチン), 脱炭酸分解も酵素を必要とせず可能である. これに対しα-ケト酸は, 炭酸附加による合成は行なふことができず, 脱炭酸も酵素 (チアミン) がなければできない. α-ケ

ト酸の方が万事難しいのである。

チアミンはピリミジン環とチアゾール環とがメチレン基で結合した形をしてゐる。チアミンのチアゾール環 C2 炭素は容易にプロトンを解離して雄性炭素となる。このチアミン雄性炭素と、 $\alpha$ -ケト酸の雌性カルボニル炭素 ( $\alpha$ -ケト炭素) とが一旦結合して、 $\alpha$ -ケト酸の $\alpha$ カルボニル炭素とカルボキシル炭素との間の結合をゆるめて、脱炭酸させる。その結果、分子の端にカルボニル炭素 ( $\alpha$ -ケト炭素) が残り、アルデヒドを得る (Fig. 6.1)。この反応は先述の通り不可逆である。

チアミン (実際にはチアミン二リン酸 TPP) 酵素はピルビン酸 ( $\alpha$ -ケトプロピオン酸) (Fig. 6.1) を脱炭酸してアセトアルデヒドにするが、酵母は引き続き嫌気条件下でこれを還元してエタノールにする。この解糖からピルビン酸を経てエタノールに到るまでの反応をアルコール醗酵 *alcoholic fermentation* といふ。この還元に必要な NADH はグリセルアルデヒド\*をグリセリン酸\*に酸化する時に得たものを使ふので、結果として糖からのアルコール醗酵は酸化還元反応ではない。したがってこのアルコール醗酵は NADH を作ることはしないし、また、できないが、グリセリン酸\*から生成する活性ピルビン酸 (フォスフォエノールピルビン酸) をピルビン酸に不活性化する時に ATP を 1 個生成するので、酵母にとっては全くの無駄ではない。この事情はピルビン酸を脱炭酸しないで還元して乳酸にする一般の解糖の場合も同じである。

$\alpha$ -ケト酸脱水素酵素 *dehydrogenase* はチアミンやリポアミドを含む複合体であり、立方体構造を取る。この酵素は $\alpha$ -ケト酸を脱炭酸してアルデヒドにするにとどまらず、これをさらに酸化して (NADH を生成) 活性カルボン酸にする。すなはち、 $\alpha$ -ケト酸は炭素数の 1 つ少ないカルボン酸\*になり、その酸化の際 NADH を生成する。これを酸化的脱炭酸 *oxidative decarboxylation* といふ。酸化的脱炭酸によつてピルビン酸 ( $\alpha$ -ケトプロピオン酸) は酢酸\* (アセチル CoA) となり、 $\alpha$ -ケトグルタル酸は琥珀酸\* (スクシニル CoA) となる。

$\alpha$ -アミノ酸はアミノ転位によりアミノ基を $\alpha$ -ケトグルタル酸に渡してみづからは $\alpha$ -ケト酸になる

が、その $\alpha$ -ケト酸はここで述べたチアミン (実際には $\alpha$ -ケト酸脱水素酵素) による酸化的脱炭酸によつて分解される。アミノ基を渡された $\alpha$ -ケトグルタル酸はグルタミン酸 Glu になるが、アミノ酸のうちグルタミン酸だけは Glu デヒドロゲナーゼによる酸化的脱アミノ反応によりアンモニアを放出して $\alpha$ -ケトグルタル酸に戻ることができる。

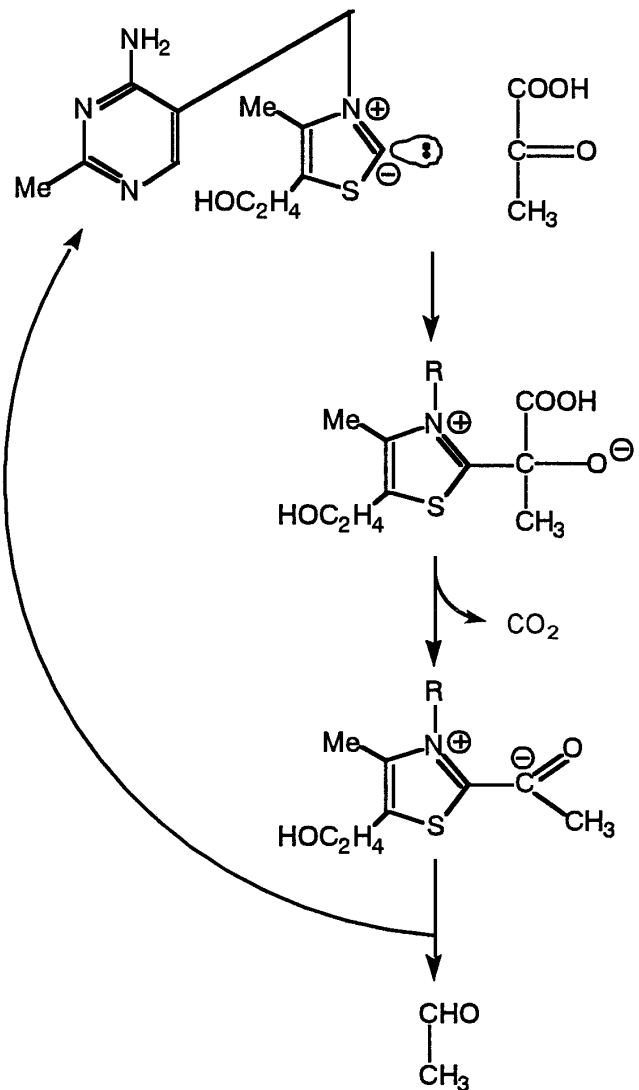


Fig.6.1 Decarboxylation of pyruvic acid by thiamine

## (2) $\alpha$ -アミノ酸の脱炭酸 (ビタミン B<sub>6</sub>)

$\alpha$ -アミノ酸を $\alpha$ -ケト酸にせず、そのまま脱炭酸すると、種々の生理活性アミン *physiologically active amine* が得られる。例へば、チロシン Tyr からドーパミン *dopamine* が、トリプトファン Trp からトリプタミン *tryptamine*・セロトニン *serotonin* が、ヒス

チデン His からヒスタミン histamine が, セリン Ser からエタノラミン ethanolamine が, グルタミン酸 Glu からガバ GABA が得られる. これらの生理活性アミンは情報伝達物質として使はれる.

このアミノ酸脱炭酸を触媒するのが補酵素ピリドキサル PL (ビタミン B<sub>6</sub>) 5-リン酸 PLP である. ピリドキサールのアルデヒド基は $\alpha$ -アミノ酸のアミノ基とシッフ塩基を形成する. 継いで,  $\alpha$ -アミノ酸のカルボキシル基をはずして脱炭酸し, 生理活性アミンを得る (Fig. 6.2).

生理活性アミンの不活性化は酵素 MAO (補酵素 FAD) を使ふ酸化脱アミノによりアルデヒドにすることによつて行なふ.

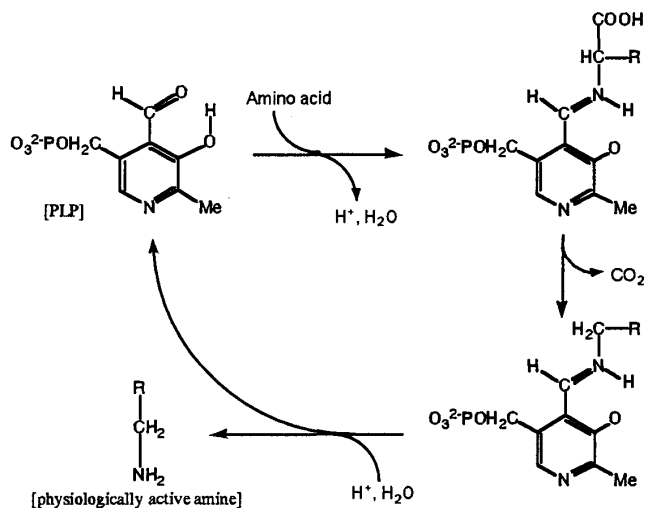


Fig.6.2 Decarboxylation of amino acid by pyridoxal to form physiologically active amine

## 7. メチル附加

酢酸附加を行なふためには ATP を1個使つて酢酸を活性化して活性酢酸 (アセチル CoA) にしなければならなかつた. 炭酸附加を行なふためには ATP を1個使つて二酸化炭素を活性化して活性炭酸 (カルボキシビオチン) にしなければならなかつた. これと同様に, メチルカチオン附加を行なふためにはメチルカチオン  $H_3C^+$  を活性化しなければならない.

生体では多くのメチル化反応が知られてゐる. その中で, 核酸塩基のウラシル Ura からチミン Thy へ, シトシン Cyt から 5-Me シトシンへ (遺傳子刷

込) のメチル化は, いづれも新たな炭素-炭素結合を生成するものである.

ところが, 炭素-炭素結合生成を行なふメチル化ではなく, アミノ基や水酸基のプロトンをメチルカチオンで置換する所謂 N-Me 化, O-Me 化も頻出する. N-Me 化としてはエタノラミン ethanolamine からコリン choline へ, ノルアドレナリン noradrenalin からアドレナリン adrenalin へ, キサンチン xanthine からカフェイン caffeine へ, グアニン Gua から 7-Me グアニン (mRNA の cap 構造) などの生化学的に重要な反応があり, また, O-Me 化としては生理活性アミンの不活性化などこれまた重要な反応を担つてゐる.

### (1) 活性メチル基の発生

メチルカチオン<sup>\*</sup>は概念的にはメタノール<sup>\*</sup>MeOH<sup>\*</sup>またはメチルアミン<sup>\*</sup>MeNH<sub>2</sub><sup>\*</sup>のメチル基から得る. そのメタノール<sup>\*</sup>MeOH<sup>\*</sup>はセリン Ser の側鎖を2電子還元して, メチルアミン<sup>\*</sup>MeNH<sub>2</sub><sup>\*</sup>はその残りのグリシン Gly を脱炭酸して得る. この両者より水酸基またはアミノ基を陰イオンとはずして発生期 Me カチオン<sup>\*</sup>を得る.

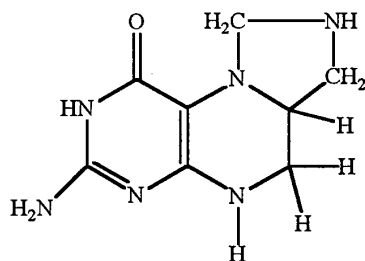
### (2) 汎用メチル化剤 (メチレン還元葉酸)

葉酸 folic acid は, 核酸グアニン Gua のプリン purine 環をプテリジン pteridine 環に置き換へた構造を有する. これを NADPH で4電子還元したものが還元葉酸 (THF) である.

この還元葉酸は種々の酸化状態の炭素をその活性状態を保つたまま分子内に含有することができる. 酸化数  $z = -2$  のメチルカチオン  $H_3C^+$  は還元葉酸 5 位のプロトンと交換して保つ. 酸化数  $z = 0$  のメチレンカチオン<sup>-</sup>-CH<sub>2</sub><sup>-</sup> は 5, 10 位の2個のプロトンをはづして間に入れ, 5員環構造として含有する (Fig. 7). 酸化数  $z = +2$  のフォルミルカチオン HOC<sup>+</sup> は 10 位プロトンと交換して保有する. この3つの酸化還元状態の異なる炭素保有還元葉酸は NADPH を用ゐることにより互ひに推移することができる. すなはち, 5,10-メチレン還元葉酸を2電子還元 (NADPH 使用) して5-メチル還元葉酸を得, 2電子酸化 (NADPH 生成) して10-フォルミル還

元葉酸を得る。さらに、還元葉酸自体が葉酸の (NADPH による) 4 電子還元体であり様々な酸化還元状態を取ることができるので、これらの酸化数の異なる炭素を他分子に提供するときにも甚だ便利である。

このメチレン還元葉酸 THF が行なふ Me 化には、ホモシステイン SH 基を Me 化してメチオニン Met にする反応や、メチオニン Met のアミノ基を蟻酸アミド化して fMet にする反応などがある。ウラシル Ura からチミン Thy へ、シトシン Cyt から 5-Me シトシンへの Me 化は炭素-炭素結合を新生するが、これもメチレン還元葉酸 THF が行なふ。



[5,10-methylene THF]

Fig.7 Structure of 5,10-methylene tetrahydro folic acid

### (3) 活性メチオニン (アデノシル Met)

メチオニン Met の SMe 基に ATP を 1 個使つてアデノシル基をつけると、メチオニン尖端のメチル基が活性化される。すなわち活性メチオニン<sup>\*</sup> (アデノシル Met) である。生体内 N-Me 化、O-Me 化の酵素として働く N-Methyl Transferase や O-Methyl Transferase はこの活性メチオニン<sup>\*</sup> (アデノシル Met) を Me カチオンの供与体として用ゐる。

### 8. おはりに

生体はカルボン酸の  $\alpha$  位にアミノ基-NH<sub>2</sub> や水酸基-OH やケト基=O を有する分子、すなわち  $\alpha$ -アミノ酸、 $\alpha$ -オキシ酸、 $\alpha$ -ケト酸を利用してゐる。これらの  $\alpha$ -酸は互ひに容易に変換しうる。

ところがこの  $\alpha$ -酸は生体では直接的には合成できない様に見える。すでに見てきた様に、 $\beta$ -酸ならばビオチンによるカルボン酸  $\alpha$ -炭素への炭酸附加により容易に合成できる。しかし  $\alpha$ -酸にはその

経路はない。

それでは生体はどの様にして  $\alpha$ -酸を合成してゐるのかを見ると、すべて 3 炭素鎖の  $\alpha$ -酸、すなわち  $\alpha$ -プロピオン酸を出発点にしてゐる様に見える。すなわちアラニン Ala ( $\alpha$ -アミノプロピオン酸) や乳酸 ( $\alpha$ -オキシプロピオン酸)、ピルビン酸 ( $\alpha$ -ケトプロピオン酸) である。これをひとたび脱炭酸して酢酸または酢酸<sup>\*</sup> (アセチル CoA) にしてしまつたら、もう再び  $\alpha$ -酸に戻すことはできず、 $\beta$ -酸しか作れなくなつてしまふ。 $\beta$ -酸を  $\alpha$ -酸に変換することはできない。

それでは 3 炭素  $\alpha$ -酸は何から作るものであらうか？ これは糖から作つてゐる。六炭糖の葡萄糖でもよいし、最小の糖である三炭糖のグリセルアルデヒドでもよい。グリセルアルデヒド<sup>\*</sup> を酸化したグリセリン酸とピルビン酸とは脱水・加水の関係であり、ピルビン酸は容易に三炭糖を経て葡萄糖まで遡れる。すなわち糖原性を有する。しかし二炭素のエチレングリコールでは駄目の様である。

そこでおおもとに戻つて糖はどの様にして作つてゐるのかを考えると、結局、光合成におけるルビスコによる炭酸固定に行き着く。信じにくいことであるが、すべての  $\alpha$ -酸は植物のルビスコ反応に頼らなければ合成できない様に見える。

$\alpha$ -酸と  $\beta$ -酸の壁は何なのであらうか？ 再び考え込んでしまふのである。

### 【参考文献】

1. ヴォート「基礎生化学」東京化学同人。
2. Lubert Stryer, "Biochemistry, forth edition", W. H. Freeman and Company, 1998.
3. The Beetles, "Molecular Biological of THE CELL, forth edition", Garland Science, 2002.