TCA サイクルをめぐる調節機構

香 月 裕 彦

Hirohiko KATSUKI

京都大学理学部化学教室

I. 概 説^(1,2)

1. TCA サイクルの発見

1911年に始まる Knoop, Batelli らの有機酸の酸化機構の研究以来、幾多の紆余曲折を経て、1937年、Krebsらが循環回路による酸化機構を提唱した。その後も最近に至るまで幾多の修正説が出されたが、現在では図1に示すように、Krebsの提唱したものとほとんど同じ形に落ち着いている。Krebsは最初「クエン酸サイクル」と称したが、彼の名にちなんで「Krebs サイクル」ともいわれ、現在ではトリカルボン酸サイクル (TCA サイクル) ともいわれている。しかし、CA から ICA に至る中間体として酵素蛋白質に結合したカルボニウムイオンを考えて、ACA を除いた教科書や、ICA から KGA に至る中間体として酵素蛋白質に結合した OSA を考えて、OSA を除いた教科書もある。

現在までに、TCA サイクルを触媒する酵素の大部分が精製または結晶化に成功している。各酵素について詳細な酵素化学的研究が行なわれており、その触媒する反応は、平衡定数は種々異なるが、KGA dehydrogenase を除いてすべて可逆的である。したがって、正常なサイ

クルの回転は正の方向 (時計回り) に限られる。

本稿では、サイクルの反応のみに限定しないで、必要に応じてその周辺の反応にもふれることにする。また、今回はサイクルの機能と調節機構とに重点をおき、各酵素の蛋白質としての記述は避けることにした。

2. サイクルの酵素系の細胞内局在性

TCA サイクルに関与する酵素系の大部分は、電子伝達系とともに、動植物細胞ではミトコンドリアに、細菌類では膜系に不溶性の形で局在することはよく知られている。チトプラズマ中に、TCA サイクル系の一部の反応を触媒する可溶性アイソザイムが存在する場合は知られているが、TCA サイクルの系としては1つの独立した複雑な複合酵素系として存在すると考えてよい。

TCA サイクルの存在の証明にしばしばトレーサー法が用いられ、特定化合物のラベリングパターンを調べることがある。その際、留意しなければならないことは、反応の立体特異性である。ACA ase 反応において、CA が対称性構造をもつにもかかわらず、酵素と基質とが3個以上の部位で結合する場合には、立体特異的な反応が起こる。図1に、サイクルに入る PA ならびに固定さ

この総説において使用した略号は次の通りである。

トリカルボン酸: TCA, ホスホエノールビルビン酸: PEP, 乳酸: LA, ビルビン酸: PA, 酢酸: AA, クエン酸: CA, *cis*-アコニット酸: ACA, *threo*-Ds-イソクエン酸: ICA, オキサロコハク酸: OSA, α -ケトグルタル酸: KGA, コハク酸: SA, フマル酸: FA, L-リンゴ酸: MA, オキサロ酢酸: OAA, L-グルタミン酸: Glu, L-アスパラギン酸: Asp

CoA 誘導体はそれぞれの酸の略号の後に CoA を付すことにした。

アセチル CoA: AA-CoA, サクシニル CoA: SA-CoA

酵素名についても略号を使用した。

ビルビン酸脱水素酵素: PA dehydrogenase, アコニターゼ: ACA ase, リンゴ酸酵素: MA enzyme.

その他, P_i: リン酸, PP_i: ピロリン酸

図 1 TCA サイクルおよびラベルの行方

1次ラベル：○CO₂, ●CH₃, ×CO, ▲COOH (ランダムゼーションによる2次ラベルは省略した)

れる CO₂ をラベルした場合に、サイクルの回転に伴うラベルの行方を示した。CA から KGA を経て SA を生成すると同時に、SA の構造の対称性のためにランダムゼーションが起こる。また、CO₂ 固定によって生じた OAA は、MA を経て FA に還元されると同時にランダムゼーションを受ける。

3. TCA サイクルの機能

TCA サイクルの酵素系は、後に述べるように、生物の種類により少しずつ特色をもっており、とくにその調節機構に至っては、生物の違いにより著しい多様性を示

している。したがって、サイクルの機能は生物の種類により多少異なるはずである。ここでは、サイクルの典型的な機能について述べることにする。

a) 末端酸化系としての機能

生体はたえず生体物質を分解して、その際に生成する化学エネルギーを利用して ATP をつくらなければならない。ATP は生体物質の基質レベルの化学反応においても生成するが、好気性生物では、大部分は電子伝達系を介して TCA サイクルと共役した酸化的リン酸化の系によって合成される。事実、生体内において、糖質、アミノ酸（または蛋白質）および脂肪酸などが異化的分解

図 2 物質およびエネルギー代謝における TCA サイクルの調節緩衝系としての機能

d) 物質代謝およびエネルギー代謝の調節緩衝系としての機能

TCA サイクルは、すでに述べたように、糖、アミノ酸、脂肪酸などの生体物質分解反応のターミナルのはたらきをすると同時に、多くの生合成反応の出発点ともなっている。従属栄養生物に例をとると、外界からこれらの生体物質の 1 種類が与えられた場合、これらを消費して化学エネルギーを産生すると同時に、他の生体物質を合成しなければならない。このような見方からすると、TCA サイクルはこれらの生体物質の異化-合成 相互変換の中心的ターミナルとみることができる。

以上に述べた物質代謝は、それ自身エネルギー代謝から独立して存在するものではなく、両者は表裏一体の関係にある。エネルギー代謝は、 $ATP \rightleftharpoons ADP$ (または AMP)、 $NAD \rightleftharpoons NADH_2$ 、または $NADP \rightleftharpoons NADPH_2$ の 3 系の平衡のバランスの問題ともみることができる。生細胞ではこれらのバランスはある範囲内に保たれているが、平衡点がある方向に移動する場合には、一定時間の後には元に戻そうとする反応が起こる。いうまでもなく、これらの反応は必ず物質代謝と共役して起こる。

TCA サイクルは、物質代謝の面からみれば、サイクルに流入または流出する物質の流れを、この地点において生物の目的にかなうように切り換えや調整を行なう機

能を営んでいる。また、エネルギー代謝の面からみれば、エネルギーバランスを一定範囲に保つ緩衝機能の役目を果たし、分解代謝に消費する基質の量を調節し、生合成反応へ供給するエネルギー量の調節を行なっているといえることができる。

一言にしていえば、TCA サイクルは物質代謝とエネルギー代謝との中心的な調節緩衝系とみなすことができる。この間の関係を模式的に示したのが 図 2 である。調節緩衝系としての機能は、TCA サイクルを構成する酵素の調節機構と密接な関係にあるので、後にふれることにする。

II. 代謝の調節機構⁽⁴⁻⁶⁾

生体の代謝活性は、常に内的・外的要因により活性化または抑制などの巧妙な調節を受けている。代謝活性に影響を与える因子としては、多くの因子が考えられるが、次章以下に述べる TCA サイクルの機能ならびに調節機構の理解を容易にするための必要最少限の調節機構を列挙するにとどめたい。

代謝活性を調節する機構として、反応を触媒する酵素の量の調節と酵素活性の調節との 2 つをあげる必要がある。ここでは、この問題を生体にとっての合目的性という見地からとりあげることにする。

1. 酵素量の調節

生体内の酵素には、種々の栄養条件のもとで、あまり酵素レベルの変動しないものと大きな変動を受けるものがある。ある化合物を与えた場合、特定の酵素の蛋白合成が促進され、酵素の誘導 (induction) が起こる場合と、逆に阻害が起こり、酵素の抑制 (repression) が起こる場合とがある。生長時の細胞にグルコースまたは解糖中間体を加えると、しばしば特定の化合物の分解代謝系の酵素が抑制を受けることが観察され、とくに catabolite repression といわれる。この現象は、その化合物が異化的に分解されて解糖およびその末端酸化系に流入するときにみられ、細胞にとって利用しやすい糖または解糖中間体が与えられたときは、まずそれを優先的に利用し、その間はその化合物の分解を節約するという効果をもつ。

2. Allosteric control⁽⁷⁻⁹⁾

生物の複雑な代謝系のうちで特定の位置にある酵素は、しばしば特殊な性質をもち、基質、生成物、cofactor とは関係のない第3の metabolite により、その活性を促進されたり阻害されたりする。この酵素を allosteric enzyme といい、促進因子を allosteric activator、阻害因子を allosteric inhibitor と称している。1つの allosteric enzyme がその酵素の属する代謝系の中で果たす役割を代謝調節という観点からみると、次のような型に分類することができる^(6,10)。

まず、生合成代謝系には、主として次の5型がみられる。

i) End product inhibition :

Aから最終的にEを生じる場合に、Eが初発段階の酵素 a を阻害し、Eの過剰生成を止める。

ii) Precursor activation :

Aが数段階後の酵素 d の活性を促進し、Eの生成を促す場合である。

iii) Compensatory activation :

CおよびDが反応してEを与える際に、Dのレベルが高くCのレベルが低い場合、Cの生合成系の酵素 a を活性化し、CおよびDのバランスの均衡をはかる効果をもっている。

iv) Relief switching inhibition :

Eの生成に2つの合成系が関与する場合に、一方の系の precursor が他方の系を阻害し、Eの過剰生産の節約をはかる場合である。

v) End product switching activation :

AからCおよびEに至る2つの経路がある場合、一方の end product が他の流れを増大させ、自らの流量を小さくする。

これに対して異化的代謝の場合には、エネルギー代謝との関連が深いので、種々のヌクレオチドや、 P_i または PP_i などにより調節される。Atkinson は、この調節をエネルギーバランスの点から考察し、0~1 までの数値をとるエネルギーチャージ

$$\frac{ATP + 0.5 ADP}{ATP + ADP + AMP}$$

によって示すことを提案した⁽⁶⁾。この値が高いときには anabolic route は促進され、低いときには catabolic route が促進されることになる。catabolic allosteric enzyme にみられる典型的な型は次の通りである⁽¹⁰⁾。

vi) AMP または ADP による活性化 :

これらの調節効果の生理的意義は図2から明らかである。

vii) ATP による阻害 :

viii) $NADH_2$ による阻害 :

TCA サイクルなどの amphibolic metabolism につ

いては、i)～viii) の調節形式のほとんどすべてがここにみられる。

III. 種々の生物における TCA サイクルと
環境変化に対する適応性

TCA サイクルは、普通、好気条件下に生育する生物には存在するが、純嫌気性生物には一般に認められていない。したがって、高等動物、高等植物、糸状菌をはじめとする好気性生物には、完全な形のサイクルが証明されている。酵母や多くの細菌にみられる通性好気性菌では、好気条件下では完全な形のサイクルが存在する。しかし、嫌気条件下では、純嫌気性菌と同様に、サイクルは途中で切れており、不完全な形で存在し、その程度もさまざまである。また、高等動物を除く多くの生物では、栄養条件によって他の反応と連結し、異なった形の循環系としてはたらいっていることがある。

これまでに、種々の生物について TCA サイクルの存在を証明しようとする研究が行なわれてきたが、高等動物以外の生物では、その存在を証明することが必ずしも容易ではなかった。その主な理由の1つとして、サイクルの構成有機酸を与えても、細胞内に透過しない場合があることがあげられる。このため、細胞を乾燥処理、凍結融解、溶媒処理などの操作をほどこし、膜透過を容易にするなどの方法がとられた。または、フルオル酢酸やマロン酸を用いる阻害法、または透過しやすい基質をトレーサーでラベルして与え、一定時間後に KGA や Glu をとり出し、その分子内のラベリングパターンを調べるなどの方法が用いられて、サイクルの存在が推定された。

次に、TCA サイクルが完全な形で存在しない場合、もしくは変形されたサイクルについて述べる。

1. グリオキシル酸サイクル^(11,12)

多くの微生物および高等植物については、特別な栄養条件では、ICA lyase および MA synthase が関与して、一部の TCA サイクルの酵素と共同し、図3に示すように、グリオキシル酸サイクルが形成される。すなわち、これらの生物に主な炭素源として酢酸または脂肪酸を与えると、ICA lyase および MA synthase が誘導され、たとえばグリオキシル酸および C₄-二塩基酸が供給されてサイクルが維持されると同時に、糖新生が行なわれる。

したがって、グリオキシル酸サイクルは次式に示すよ

図3 グリオキシル酸サイクル

うに、AA から正味の C₄-二塩基酸生成（糖新生）を行なう系ということができる。

解糖時には、MA synthase、とくに ICA lyase が誘導されないため、グリオキシル酸サイクルははたらかない。

MA synthase は、ある種の生物にとっては構成酵素であるが、大腸菌では AA を炭素源にした場合とグリオキシル酸を用いた場合とで異なった酵素を生成すると報告されている⁽¹³⁾。これに対して、ICA lyase は常に AA によって誘導され、LA や SA などの C₃ および C₄ 化合物によって抑制を受ける⁽¹⁴⁾。また、ICA lyase は PEP や PA によってアロステリック阻害を受けることが知られており、この酵素の生理的役割とよく調和している⁽¹⁵⁾。Rhodospirillum rubrum には ICA lyase が存在しないことが知られており、グリオキシル酸サイクルとは異なった機構が存在すると想像されている⁽¹⁶⁾。高等動物では、この2つの酵素が欠けているため、グリオキシル酸サイクルは存在せず、脂肪酸からの糖新生に関しては、まったく不明の状態である。

2. 嫌気条件における通性好気性菌の TCA サイクル
後でも述べるが、TCA サイクル系の酵素のレベルの調節は個々ばらばらに行なわれるのではなく、3つの群をなして行なわれる。

- A 群：CA synthase, ACA ase, ICA dehydrogenase
B 群：KGA dehydrogenase

表 1 種々の条件下に培養した大腸菌の KGA dehydrogenase のレベル (Amarasingham ら⁽¹⁷⁾)

培 地	条件	生長量 (O.D.)	酵 素 レ ベ ル (unit/mg 蛋白)
AA (0.4%)	好気	1.0	405
Glu (0.4%)	好気	1.0	282
グルコース (1%)	嫌気	1.0	<2
グリセロール(0.4%) + Glu (0.2%)	嫌気	1.0	<2
グルコース (1%)	好気	1.0	<2
〃	〃	2.0	40
グルコース (1%) + AA (0.4%)	好気	0.2	<2
〃 + AA (2%)	〃	0.2	20
〃 + Glu (0.4%)	〃	1.0	55
〃 + KGA(0.4%)	〃	1.0	38

C 群 : SA dehydrogenase, FAase, MA dehydrogenase

3 群の酵素のうち, B 群の KGA dehydrogenase は, 嫌気条件下に培養した菌では完全に活性がみられない。表 1 は, 大腸菌を種々の条件下で培養した場合の KGA dehydrogenase の酵素レベルを調べたものである⁽¹⁷⁾。

この結果から, 嫌気条件下で生長した菌では KGA dehydrogenase が存在しないため, TCA サイクルは切断され, 不完全な形でしか存在しないことがわかる。また, KGA dehydrogenase は AA や Glu (おそらく KGA) によって誘導され, グルコースや LA によって抑制される。

グルコースや LA を炭素源にした場合でも, 生長が進むにつれて酵素レベルの上昇がみられるのは, AA または KGA が蓄積されるためによるものと思われる。したがって, 嫌気条件におかれた大腸菌では, 図 4 に示すように, OAA から, 一方は SA への還元, 他方は KGA への酸化が共役して起こる。当然, 好気条件におけるよ

図 4 嫌気条件における通性好気性菌のサイクルの切断

うなエネルギー生成系としての機能は少なく, むしろ生合成素材の供給系としての役割を果たすことになる。

3. 嫌気性菌における TCA サイクル⁽¹⁸⁾

多くの場合, OAA から SA に至る還元系は認められる。しかし, 場合によっては SA への還元系をも欠くことがある。たとえば, *Streptococcus faecalis* に ¹⁴C-エタノールを与えると, AA-CoA を経て脂肪酸へとりこまれるにもかかわらず, TCA サイクル中間体にはとりこまれないことが報告されている⁽¹⁹⁾。また, ペプトン培地では, *Microbacterium thermosphactum* は CO₂ を要求するが, ¹⁴CO₂ を与えた場合, OAA を経て Asp および Asp 族のアミノ酸のみにとりこまれ, TCA サイクル中間体には, 放射能は入らないことが認められている⁽²⁰⁾。

4. 光合成菌の TCA サイクル^(21,22)

光合成菌にもいろいろの種類があり, 一般的に述べることは困難である。しかし, *Rhodospseudomonas spheroides* や *Rhodospirillum rubrum* などは, 好気条件下ではもちろん, 嫌気条件においても光を照射すれば色素を形成して生長することが知られている。好気条件のもとでは必ずしも光を照射する必要がなく, 暗好気条件下ではまったく色素を形成しなくなる。このような光合成菌では, 前述の 2. および 3. とはかなり異なった代謝機構がみられる。

a) 暗好気条件

暗好気条件における光合成菌には, 明瞭なサイクルの存在が認められている。

b) 光嫌気従属栄養条件

MA を炭素源として, 光嫌気条件下で培養した *R. rubrum* に ¹⁴C-NaHCO₃ または ¹⁴C-AA を与え, Glu へのとりこみを調べた結果では, TCA サイクルを経由すると考えた場合と異なるラベリングパターンが得られた⁽²³⁾。しかし, この菌から無細胞抽出液を調製して同様な実験を行なった結果によると, TCA サイクルがはたらいっていることが証明された⁽²⁴⁾。生菌では, おそらく基質の酸化還元準位や光エネルギーによる還元力などの環境要因によってサイクルは機能せず, 部分的酸化還元系として機能するものと思われる。この菌におけるトレーサー実験の解釈に当たっては, SA から出発する

図 5 還元的 TCA サイクル (左: 長経路, 右: 短経路) (Buchanan ら⁽²²⁾)

Shemin サイクルの可能性や⁽²⁵⁾, III・1 に述べた新しい機構の可能性も考えられるので, 今後の研究に待たなければならない。

c) 光嫌気独立栄養条件⁽²²⁾

水素および炭酸ガスを通じた極端な還元条件のもとで光を照射して培養した光合成菌から, 次のような反応を触媒する酵素が発見された。

これらの酵素は, それぞれ PA synthase, KGA synthase と命名され, この反応は試みられたすべての光合成菌から証明された。

これらの事実から, 上記のような培養条件下に生長した光合成菌では, 次のような種類の「還元的 TCA サイクル」によって逆まわりの代謝サイクルがはたらいっていると考えられている (図 5)。

サイクルが 1 回転することにより, 前者では $4\text{CO}_2 \longrightarrow \text{OAA}$, 後者では $2\text{CO}_2 \longrightarrow \text{AA-CoA}$ に示されるように, 炭酸固定の結果, それぞれ OAA および AA-CoA を生成することができる。これらの反応は, いずれも菌の無細胞抽出液を用いて証明がなされている。

PA より PEP を生成する PEP synthase は, 動物には存在しないが, 大腸菌⁽²⁶⁾や *Chlorobium thiosulfatophilum*⁽²⁷⁾ などの光合成菌で証明されている。光エネルギーを利用して得られる強い還元的炭酸固定によるこれらのサイクルは, 主としてアミノ酸や脂質の生合成に役

立っていると考えられる。還元的炭酸固定反応は光合成菌以外からも発見されているが, これらの菌に還元的 TCA サイクルが存在するか否かは明らかにされていない。

IV. TCA サイクルの各部における調節

1. 糖代謝と TCA サイクルとを結ぶ連結部における調節⁽²⁸⁻³⁰⁾

解糖の結果, PA を経て生成する AA-CoA は, OAA と縮合し CA を生成する。これが解糖系から TCA サイクルに至る導入点となる。しかし, すでに述べたように, 生合成活性が大であるときには, OAA の供給は, 解糖の結果生じる C₃-化合物への炭酸固定反応に仰がねばならない。炭酸固定による OAA 生成反応には次の 2 つがあり, いずれをもつかによって生物群は 2 群に分けられる。

i) PA carboxylase: 高等動物, 酵母, 糸状菌, *Pseudomonad* の一部

ii) PEP carboxylase: 高等植物および大腸菌などの真正細菌類

PEP carboxykinase および MA enzyme は, 生体からとり出した場合には CO₂ 固定を行なうことができる。しかし, 細胞内で C₃-化合物に CO₂ 固定を行なうことができるのは, 普通の条件下では, 上記 2 群の酵素とされている。これを裏づける事実として, PEP carboxylase を欠いた大腸菌などの細菌の変異株は, グルコース培地

表 2 種々の生物の PEP carboxylase 調節因子

生 物	活 性 化 因 子				阻 害 因 子		
	AA-CoA	FDP	FFA (-CoA)	CDP	Asp	MA	FA
<i>Escherichia coli</i>	+	+	+		+	+	+
<i>Salmonella typhimurium</i>	+	+		+	+		
<i>Thiobacillus thiooxydans</i>	+				-		
<i>Ferrobacillus ferrooxydans</i>	+				+		
ホウレンソウ	-				-		

FDP: フルクトース-1, 6-ジリン酸, FFA (-CoA): 脂肪酸またはその CoA 誘導体

には生存できないが、TCA サイクル上の有機酸, Asp または Glu を加えることにより、よく生長することが知られている⁽³¹⁾。

a) PEP carboxylase⁽²⁹⁾

PEP carboxylase は多くの場合 allosteric enzyme であり、とくに大腸菌や *Salmonella* の場合には複雑な調節を受ける酵素である。表 2 に生物の種類と調節因子を示す。

また、図 6 に大腸菌を種々の化合物を炭素源として培養した場合の PEP carboxylase のレベルを示す⁽³²⁾。

Salmonella や大腸菌の酵素は、dioxane や alkylcellosolve などの有機溶媒によって活性化されることが報告されていたが、最近生理的な調節因子は脂肪酸または CoA チオエステルであることがわかった⁽³³⁾。これは脂肪酸を活性化調節因子とする珍しい例である。

図 6 は、PEP carboxylase のレベルがグルコース、ついで解糖中間体を炭素源として培養した場合に高く、TCA サイクル上の有機酸, Asp, Glu およびカゼイン水解物を炭素源にした場合に低いという結果を示している。すなわち、PEP carboxylase は解糖時に増加し、糖新生時には低下することが明らかにみられる。

これらの実験事実から、大腸菌の PEP carboxylase を中心とする TCA サイクルへの導入部の調節機構は、次のように考えられる (図 7 参照)。
すでに述べたように、解糖時にこ

の酵素がとくに重要なはたらきをするとすれば、この酵素がグルコースにより誘導され、フルクトース-1, 6-ジリン酸により precursor activation を受けることはきわめて好都合である。次に、PEP から代謝経路が 2 つに分かれ、一方は AA-CoA を、他方は OAA を生成するが、両者は均衡がとれていないとサイクルへの導入が順調に進行しない。この場合、AA-CoA のレベルが上昇すると、それにつれて OAA 生成系を活性化する機構は、compensatory activation と end product switching activation との融合した調節形式であり、きわめて合目的である。脂肪分解時には、脂肪酸またはその CoA 誘導体のレベルが、ひいてはその分解によって生じる AA-CoA が上昇し、PEP carboxylase を活性化する。一方、サイクルを通じての酸化を促進する機構は end product switching activation に属する調節効果をもっている。これに対して、TCA サイクル上の有機酸またはこれからただちに導かれる Glu や Asp のレベルが高いときには、むしろ糖新生の要求が高く、PEP carboxylase がはたらく必要はない。このような状態は Asp, MA, FA のような二塩基酸のレベルに反映され、これらの化合物から十分に OAA が供給される。

このような場合に、PEP carboxylase を阻害する機構は、relief switching inhibition に属する調節形式ともみることができ、サイクル導入部における巧妙な調節の機構であろう。また、見方によっては、PEP から Asp を生合成する系の end product inhibition の一つともみることができる。

PEP carboxylase は、トウモロコシやサトウキビなど

図 6 種々の栄養条件における大腸菌の PEP carboxylase および PEP carboxykinase のレベル (Teraoka ら⁽³²⁾)

図 7 大腸菌の PEP carboxylase の調節

ある種の植物にとっては、TCA サイクルの機能維持以上に、次の反応を触媒する pyruvate phosphate dikinase と共役して、空気中の炭酸ガスを固定し、有機化合物を合成するうえに重要な機能を果たしていると考えられている^(34~36)。

b) PEP carboxykinase

この反応の基質であるヌクレオチドの特異性は生物の種類によって異なるが、普通の条件のもとでは、この酵素は糖新生のために OAA より PEP を生成する役目を担っていると考えられている。このことは、きわめて微弱的な PEP carboxykinase 活性しかもたない大腸菌の変異株が、種々の糖を含む培地には生育するが、KGA, SA, MA などの有機酸を炭素源とするときには生長しない事実からも理解できる⁽³⁷⁾。また、図 6 に示したように、種々の培地に生育させた大腸菌の PEP carboxykinase レベルを調べた結果も、この酵素が強い catabolite repression を受ける事実を示しており、この酵素の機能を反映している。

c) PA carboxylase の調節⁽³⁸⁾

PA carboxylase はビオチン酵素であり、動物や酵母

の場合には、この酵素が allosteric enzyme であることが証明されている。表 3 に、種々の生物の PA carboxylase およびその調節因子を示す。

動物の場合、AA-CoA が PA carboxylase の活性化因子としてはたらくことは、微生物の場合と同様な調節形式に属することを示す。この酵素のレベルは解糖時に高く、SA などの C₄-二塩基酸を与えた場合に低いことは、大腸菌の場合と同様である。しかし、LA や PA を与えた場合にも高い値を示す点において異なった挙動を示す。大腸菌の場合には、PEP synthase の作用により PA より PEP を合成できるが、動物の場合にはこれを欠くため (PA kinase は PEP の分解方向へのみはたら

表 3 種々の生物の PA carboxylase の調節因子

生 物	活 性 化 因 子			阻害因子 Asp
	AA-CoA	CoA	palmityl-CoA	
動 物	+	-	-	-
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	+	+	+	+
<i>Aspergillus niger</i>	-			
<i>Pseudomonas citronellolis</i>	-			
<i>Chromatium</i>	+			

く), 次の反応により PEP を合成する.

2. TCA サイクルの諸酵素の酵素合成における調節

TCA サイクルの諸酵素は, 蛋白合成レベルにおいて複雑な調節を受けることが知られている. もちろん, その調節は生物の種類によって異なるが, ここでは通性好気性菌について述べることにする.

TCA サイクルを構成する酵素は, すでに述べたように, 3 群に分けることができ, 各群の酵素はそれぞれ独立に 1 つの単位体として誘導または抑制の調節を受けているようにみえる.

これらの群の酵素の合成は, a) 酸素の存在の有無, b) グルコースによる catabolite repression, c) 栄養条件により規定される異化的要求と同化的要求のバランス, の 3 つの因子によって影響を受ける.

a) 酸素の影響

一般に, サイクルの酵素レベルは, 好気条件下で高く, 嫌気条件下ではその数分の 1 に低下する⁽³⁹⁾. 最も影響を受けやすいのは, III・2 で述べた B 群の KGA dehydrogenase で, 嫌気条件下ではほとんど完全に抑制を受け, サイクルの回転は停止し, これとともに, A 群および C 群の酵素はそれぞれ独自の機能を営む.

b) グルコースによる catabolite repression

サイクルのすべての酵素はグルコースによる catabolite repression を受けるが, これはペプトンやイーストエキスを含む複合培地において著しい. 無機塩・グルコース培地では, 生合成の需要が大きいため, KGA dehydrogenase の場合(前述)を除いて, その効果は削減される⁽³⁹⁾. 表 4 は大腸菌についての結果を示す. 無機塩・グルコース培地におけるこの catabolite repression の緩和は, 合成的要求に基づく derepression として解釈できる. 事実, Glu dehydrogenase を調べると, ペプトン・グルコース培地より, 無機塩・グルコース培地に

表 4 大腸菌の TCA サイクル酵素レベルに及ぼす栄養条件の影響 (Gray ら⁽³⁹⁾)

酵 素	複 合 培 地			無 機 塩・ グルコース
	グルコース	MA	無添加	
CA synthase	0.83	7.28	9.05	3.08
ACAase	11.8	104	45.2	19.1
ICA dehydrogenase	8.58	70.7	69.8	85.3
SA dehydrogenase	115	518	312	231
FAase	75.2	237	113	50.8
MA dehydrogenase	72	179	371	225

表 5 *Bacillus subtilis* における TCA サイクル酵素レベルに及ぼす種々の化合物の影響 (Hanson ら⁽⁴⁰⁾)

添加物	ACAase	ICA-DH*	SA-DH*	FAase	MA-DH*
Glu	—	—	+	0	0
KGA	—	—	—	—	—
プロリン	—	—	—	—	0
アルギニン	—	—	—	—	0
オルニチン	—	—	—	—	0
リジン	0	—	—	—	0
ヒスチジン	0	—	—	—	0
SA	0	0	—	—	—

* の -DH は dehydrogenase を示す.
— は強い repression, + は弱い induction を, 0 は効果がないことを示す.

生長した菌のほうが, はるかに高い酵素レベルを示す.

c) KGA または Glu などによる抑制

A 群の酵素の機能の 1 つは KGA を経て Glu を合成することにあることはすでに述べたが, 有機酸やアミノ酸による A 群酵素の抑制実験の結果は, その解釈の正当性を反映している. 表 5 は無機塩・グルコース培地に種々の有機酸またはアミノ酸を加え, *Bacillus subtilis* の酵素量に及ぼす影響を調べた結果である⁽⁴⁰⁾.

この結果から, A 群の ACA ase は, KGA, Glu, または分解代謝により Glu を与えるようなアミノ酸 (プロリン, アルギニン, オルニチンなど) により強く抑制を受けるが, C 群の酵素は影響を受けないことがわかる.

次に, サイクルの各部分の調節機構について, さらに詳細に述べることにする.

3. C₆-トリカルボン酸部分の調節

a) CA synthase

これはエネルギー生成系酵素の特性を示し, ATP または NADH₂ により阻害的調節を受ける. すなわち, 牛

の肝臓や心臓の場合には ATP による阻害を⁽⁴¹⁾、豚の心臓の場合にはこのほかに palmityl-CoA により強い阻害を受ける⁽⁴²⁾。また、大腸菌では NADH_2 ⁽⁴³⁾、palmityl-CoA⁽⁴⁴⁾ ならびに KGA⁽⁴⁵⁾ により強い阻害を受け、AMP⁽⁴³⁾ により活性化されることが知られている。

b) CA の分解酵素

動物では、次の反応を触媒する CA cleavage enzyme が知られている⁽⁴⁶⁾。

この酵素は、ミトコンドリア外に輸送された CA を分解して AA-CoA を生じ、脂肪酸合成に役立たせるための酵素と考えられている。動物にフルクトースなどを与えた場合のように、脂肪酸合成活性が高いときには、この酵素のレベルは上昇し、飢餓または脂肪酸分解活性が大である場合には、酵素レベルが低下することが知られている。

細菌の場合には、CA cleavage enzyme は存在せず、CoA および ATP を必要としない citritase が知られている。

たとえば、大腸菌を CA 培地に生長させると本酵素が誘導され⁽¹⁹⁾、またこれに伴って特別な OAA decarboxylase (ビオチン酵素) が誘導されてくることが知られている⁽⁴⁷⁾。

c) ICA dehydrogenase^(10,48)

多くの生物は 2 種または 3 種の ICA dehydrogenase

表 6 種々の生物の ICA dehydrogenase とその調節因子

生 物	酵素 (補酵素要求性)	調 節 因 子	
		活性化	阻 害
動 物	1. NAD	ADP	NADH_2 , ATP
	NADP { 2. チトプラズマ性 3. ミトコンドリア性		
植 物	1. NAD 2. NADP	CA	NADH_2
酵母, 糸状菌	1. NAD	AMP, CA	
	2. NADP		
大腸菌など多くの細菌	1. NADP 2. NADP	CA	NADH_2
	{ <i>Acetobacter</i> , <i>Euglena</i> , <i>Xanthomonas</i>		

をもっている。その概要を表 6 に示す。

多くの生物が NAD 要求性の酵素と NADP 要求性の酵素とをもつが、例外として、大腸菌などの細菌には NADP 要求性のものしか発見されていない。NAD 酵素は、多くの場合 allosteric enzyme であることが証明されており、種々な調節を受ける。すなわち、 NADH_2 または ATP による阻害、AMP または ADP による活性化、ならびに CA による precursor activation などを受ける。NADP 酵素には、動物および大腸菌などでは、アイソザイムの存在が知られている。

4. SA と OAA とを結ぶ部分の調節

大腸菌などの細菌を好氣的に培養した場合には、SA を脱水素するための通常の SA dehydrogenase が見いだされるが、嫌氣的に培養した菌、もしくは偏性嫌気性菌からは、異なった酵素が証明された⁽⁴⁹⁾。この酵素 (FA reducing enzyme) は SA dehydrogenase とは分離されていないが、FA に対しより小さい K_m をもち、FA を SA に還元する機能をもつものと思われる。

動物の FAase に関して、ATP による弱い阻害、AMP による弱い活性化が報告されている。酵母の FAase も ATP により弱い阻害を受ける⁽⁵⁰⁾。

MA dehydrogenase については、動物の場合は、アイソザイムが存在し、一方はミトコンドリアに、他方はチトプラズマに分布する。大腸菌についても 2 種類の酵素が発見されており、一方は嫌気条件下に生長した菌から、他方は好気条件下に生長した菌から見いだされている⁽⁵¹⁾。後者は誘導酵素で、 NADH_2 により阻害を受ける⁽⁵²⁾。

5. MA enzyme の調節

多くの生物の MA enzyme は NADP 要求性であるが、例外として、MA 培地に生長させた数種の乳酸菌、さらにブドウ汁を含む培地に培養した *Schizosaccharomyces pombe* の酵素は、NAD 要求性であることが知られている。大腸菌の酵素も、NADP 要求性のものについては以前から知られていたが、このほかに、NAD 要求性の別種の酵素も存在することが証明された。これまでのところ、補酵素要求性を異にする 2 種の酵素が証明されているのは大腸菌のみである。動物については、NADP 酵素に 2 種のアイソザイムがあり、一方はミトコンドリ

図 8 大腸菌の 2 つの MA enzyme の調節

アに、他方はチトプラズマに含まれることが証明されている⁽⁵³⁾。

MA enzyme の生理機能については次のような説が唱えられているが、必ずしも一致をみていない。1) PA への CO_2 固定。2) MA の脱炭酸。3) MA より PA を経て AA-CoA の生成にあずかる。4) NADPH_2 を生成し、脂質などの生合成を促進する (NADP 要求性酵素の場合)。

このうち、1) の CO_2 固定説は可能性は低いと考えられる。少なくとも微生物の場合には、大腸菌をはじめ数種の細菌について、PEP carboxylase を欠いた変異株が得られ、これらが、TCA サイクル構成有機酸またはこれから導かれるアミノ酸を加えなければ、生長しえない事実⁽³¹⁾ から、通常の条件下では MA enzyme は CO_2 固定を行わないと考えてよい。

MA enzyme の生理機能もしくは調節機作について、とくに補酵素を異にする 2 つの酵素をもつ大腸菌についての研究結果を述べる^(54,55)。図 8 に示したように、両酵素ともグルコースによる catabolite repression を受ける点は共通であるが、NAD 酵素はこのほかに MA により誘導を受ける。また、NADP 酵素は PA および AA の共同作用による抑制を受ける。酵素の活性面における調節としては、NAD 酵素は Asp による活性化を、

NADP 酵素は AA-CoA, NADPH_2 および NADH_2 による阻害を受ける。

これらの事実から、NAD 酵素は MA の脱炭酸を行ない、 C_4 -二塩基酸 (MA, FA, SA, Asp など) のレベルの調節を行ない、NADP 酵素は MA より PA を経て AA-CoA を生成する機能を持ち、おそらく脂質その他の生合成ならびに TCA サイクルを経由する C_4 -二塩基酸の酸化に関与するものと推測される。このほか、NADP 酵素は NADPH_2 の生成を通じ、種々の生合成反応に寄与することはすでに述べた通りである。

MA cleavage enzyme の生理機能ならびに調節に関しては明らかでない。

TCA サイクルの機能ならびに調節機構について、その概略を紹介した。TCA サイクルと脂質代謝およびアミノ酸代謝とを結ぶ部分の調節や、酵素の細胞内分布と代謝調節との関連性についてもふれるべきであったが、今回は誌面の都合で割愛した。

文 献

- 1) Lowenstein, J.M.: "Metabolic Pathway", Vol. 1 (ed. Greenberg, D.M), Academic Press, 1967, p.147.
- 2) Krampitz, L.O.: "The Bacteria", Vol. 2 (ed. Gunsalus, I.C. & Stanier, R.Y.), Academic Press, 1961, p.209.

- 3) Kornberg, H. L. : Symp. Soc. Gen. Microbiol., 15, 8 (1965).
- 4) “代謝調節”, 蛋白質 核酸 酵素(別冊) 10, 564 (1965).
- 5) 勝沼信彦, 市原明: “代謝調節”, 朝倉書店, 1968.
- 6) Stadtman, E. R. : “The Enzyme”, Vol. 1, 1970, p. 398.
- 7) 早石修: 化学と生物, 3, 114 (1965).
- 8) Atkinson, D. E. : “The Enzyme”, Vol. 1, 1970, p. 398.
- 9) “フロステリック効果”, 蛋白質 核酸 酵素(別冊) 15, 1244 (1970).
- 10) Sanwal, B. D. : *Bact. Rev.*, 34, 20 (1970).
- 11) Kornberg, H. L. & Elsdén, S. R. : *Adv. in Enzymol.*, 23, 401 (1961).
- 12) 山本幸男: 蛋白質 核酸 酵素, 7, 9 (1964).
- 13) Falmagne, P., Vanderwinkel, E. & Wiame, J. M. : *Biochim. Biophys. Acta*, 99, 246 (1965).
- 14) Kornberg, H. L. : *Biochem. J.*, 99, 1 (1966).
- 15) Ashworth, J. M. & Kornberg, H. L. : *Biochim. Biophys. Acta*, 73, 519 (1963).
- 16) Porter, J. & Merrett, M. J. : *FEBS Letters*, 7, 271 (1970).
- 17) Amarasingham, C. R. & Davis, B. D. : *J. Biol. Chem.*, 240, 3664 (1965).
- 18) Wood, W. A. : “The Bacteria”, Vol. 2 (ed. Gunsalus, I. C. & Stanier, R. Y.), Academic Press, 1961, p. 59.
- 19) Kamihara, T. : *Arch. Biochem. Biophys.*, 133, 137 (1969).
- 20) Collins-Thompson, D. L., Witter, L. D. & Ordal, J. : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 40, 909 (1970).
- 21) 菊地吾郎: 蛋白質 核酸 酵素, 10, 1458 (1965).
- 22) Buchanan, B. B. & Arnon, D. I. : *Adv. in Enzymol.*, 33, 119 (1970).
- 23) Shigesada, K., Hidaka, K., Katsuki, H. & Tanaka, S. : *Biochim. Biophys. Acta*, 112, 182 (1966).
- 24) Kawaguchi, A., Morishita, M., Shigesada, K. & Katsuki, H. : Memoirs of the Faculty of Science, Kyoto University (A), 33, 1 (1968).
- 25) Shigesada, K., Ebisuno, T. & Katsuki, H. : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 39, 135 (1970).
- 26) Cooper, R. A. & Kornberg, H. L. : *Biochim. Biophys. Acta*, 104, 618 (1965).
- 27) Buchanan, B. B. & Evans, M. C. W. : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 22, 484 (1966).
- 28) 香月裕彦: 生物物理, 6, 253 (1966).
- 29) 香月裕彦: 生化学, 39, 377 (1967).
- 30) Scrutton, M. C. & Utter, M. F. : *Ann. Rev. Biochem.*, 34, 249 (1968).
- 31) Ashworth, J. M. & Kornberg, H. L. : *Proc. Roy. Soc. (B)*, 165, 179 (1966).
- 32) Teraoka, H., Nishikido, T., Izui, K. & Katsuki, H. : *J. Biochem.*, 67, 567 (1970).
- 33) Izui, K., Yoshinaga, T., Morikawa, M. & Katsuki, H. : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 40, 949 (1970).
- 34) Hatch, M. D. & Slack, C. R. : *Biochem. J.*, 101, 103 (1966).
- 35) Slack, C. R. & Hatch, M. D. : *Biochem. J.*, 103, 660 (1967).
- 36) Hatch, M. D. & Slack, C. R. : *Biochem. J.*, 106, 141 (1968).
- 37) Hsie, A. W. & Rickenberg, H. V. : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 25, 676 (1966).
- 38) Utter, M. F. & Scrutton, M. C. : Current Topics in Cellular Regulation, 1, 253 (1969).
- 39) Gray, C. T., Wimpenny, J. W. T. & Mossman, M. R. : *Biochim. Biophys. Acta*, 117, 33 (1966).
- 40) Hanson, R. S. & Cox, D. P. : *J. Bacteriol.*, 93, 1777 (1967).
- 41) Jangaard, N. O., Unkeless, J. & Atkinson, D. E. : *Biochim. Biophys. Acta*, 151, 225 (1968).
- 42) Wieland, O. & Weiss, L. : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 13, 26 (1963).
- 43) Weitzman, P. D. J. : *Biochim. Biophys. Acta*, 139, 526 (1966).
- 44) Srere, P. A. & Wissen, N. : *Federation Proc.*, 26, 559 (1967).
- 45) Wright, J. A., aebe, P. & Sanwal, B. D. : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 29, 34 (1967).
- 46) 竹田義朗: 生化学, 41, 309 (1969).
- 47) Stern, J. R. : *Biochem.*, 6, 3545 (1967).
- 48) Plaut, G. W. E. : Current Topics in Cellular Regulation, 2, 1 (1970).
- 49) Hirsch, C. A., Raminsky, M., Davis, B. D. & Lin, E. C. C. : *J. Biol. Chem.*, 238, 3770 (1963).
- 50) Cohen, L. H. & Penner, P. E. : *Federation Proc.*, 24, 357 (1965).
- 51) Amarasingham, C. R. : *Federation Proc.*, 23, 487 (1964).
- 52) Sanwal, B. D. : *J. Biol. Chem.*, 244, 1831 (1969).
- 53) 磯橋文秀, 柴山キヨ子, 丸山悦子, 青木洋三, 和田文雄: 生化学, 41, 577 (1969).
- 54) Murai, T., Tokushige, M., Nagai, J. & Katsuki, H. : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 43, 875 (1971).
- 55) Murai, T., Tokushige, M., Nagai, J. & Katsuki, H. : 未発表.

近 刊

EARLY GASTRIC CANCER

—GANN Monograph on Cancer Research No. 11—

Edited by Japanese Cancer Association

B 5 判/302 pp./定価 7,500 円

Including 30 pages of color photos

11月末刊行予定

東京都文京区 振替東京 59964
本郷東大構内 東京大学出版会 電話 811-8814