

呼吸で生じる ATP の数とエネルギー変換の効率

早稲田大学 園池公毅

1. はじめに

呼吸と発酵は、高等学校で学ぶエネルギー代謝の根幹であり、グルコースなどの有機物の形から ATP の形へのエネルギー変換反応である。教科書では、呼吸の反応によりグルコースの二酸化炭素への酸化にともなって多数の ATP が生成する一方、発酵の場合は生成する ATP の数が少なく「効率が悪い」といった記述がよくみられる。本稿では、呼吸や発酵で実際に生じる ATP の数と、それぞれの代謝におけるエネルギー変換の効率について考えよう。

2. 基質レベルのリン酸化

解糖系の反応(図 1A)は呼吸と発酵で共通であり、この過程でグルコース 1 分子あたり正味 2 分子の ATP が生成する。解糖系で生じた 2 分子のピルビン酸は、アセチル CoA を経てクエン酸回路に送られ 6 分子の CO_2 に酸化され、ここで ATP (動物の場合は GTP) 2 分子が生じる(図 1B)。これらの酵素反応では、反応の基質と産物の間に明確な量的関係(化学量論比)が存在する。生じる ATP の数は、条件によらずグルコース 1 分子あたり合計 4 分子である。

3. 電子伝達系と ATP 合成

解糖系とクエン酸回路で生じた NADH と FADH_2 は、電子伝達系(図 1C)への電子供与体となり、最

終的に酸素により酸化される過程でプロトン(水素イオン)の濃度勾配がミトコンドリア内膜を隔てて形成される。このプロトン濃度勾配を駆動力として ATP 合成酵素により ATP が生じる。

基質レベルのリン酸化では、高エネルギー物質(例えばホスホエノールピルビン酸)から ATP が酵素的に合成される。一方、電子伝達系においてはプロトン濃度勾配という高エネルギー状態が ATP の合成を駆動しているという「化学浸透説」がピーター・ミッチェルによって唱えられ、この功績により 1978 年にノーベル賞が与えられている。この酸化的リン酸化による ATP 合成は、代謝の過程でプロトン濃度勾配という「高エネルギー状態」を経るため、化学反応式からだけでは ATP の生成数を判断することは難しい。

4. 流れる電子の数と ATP の数の関係の実測

解糖系とクエン酸回路から供給される電子伝達系の出発物質は、グルコース 1 分子あたり NADH が 10 分子、 FADH_2 が 2 分子である(図 1)。酸化的リン酸化で生じる ATP の数を反応式から予測することは難しくとも、NADH や FADH_2 が酸素によって酸化される過程でどれだけ ATP が合成されるかを、実際に定量することはできる。そのような実験は、1930 年代の後半から行われ、1 分子の NADH から

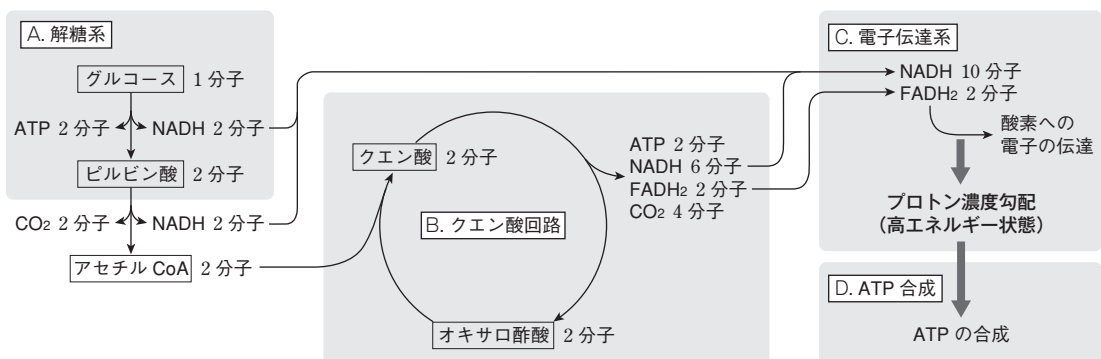


図 1 呼吸の概略 グルコースがピルビン酸に分解される解糖系(A)。ピルビン酸はアセチル CoA を経てクエン酸回路において二酸化炭素へと完全に酸化される(B)。これらの過程で生じた NADH と FADH_2 が電子伝達系で酸素によって酸化され、これに伴ってプロトン(水素イオン)の濃度勾配が形成される(C)。この濃度勾配の高エネルギー状態を利用して ATP が合成される(D)。

おおよそ 2~3 分子の ATP, $FADH_2$ からはおおよそ 1~2 分子の ATP が生じるという結果が得られていた。このような実験では、多くの場合、値が小さく出ることあっても大きく出ことは少ないこと、当時は、何らかの化学量論比に基づいて、比は整数になると考えられていたことから、「本当の」比率は 3 ATP/NADH および 2 ATP/ $FADH_2$ であると結論された。10 分子の NADH から 30 分子の ATP, 2 分子の $FADH_2$ から 4 分子の ATP が生じることになるので、合計で 34 分子となる。解糖系とクエン酸回路による 4 分子の ATP 合成を加えて、グルコース 1 分子あたり 38 分子の ATP が生成されるというこれまでの教科書に載っている値が得られる。

これらの実験は、電子伝達系により酸素が還元されて消費される量を、初期には気体の体積変化として、のちには酸素電極により測定し、ATP の合成量は、無機リン酸の取込みや ATP の生成量を測定することによって行っていた。それらの測定には様々な問題が生じうるが、それらの技術的な問題点を考慮して過去の多くの測定結果を 2005 年に考察した Hinkle は、実際の比率は約 2.5 ATP/NADH および約 1.5 ATP/ $FADH_2$ であると結論している(参考文献 1)。この値を採用した場合、グルコース 1 分子あたり生成する ATP の数は、電子伝達系で約 28 分子、基質レベルのリン酸化を加えて約 32 分子となる。

5. 流れる電子の数とプロトンの数の関係

上述の電子と ATP の数の関係の実測においては、酸素に流れる電子の数と生成する ATP の数を直接測定しており、その間に存在するはずのプロトンの動きはブラックボックスになっている。次に電子伝達系におけるプロトンの動きを考えてみよう。

(1) 複合体 I

呼吸の電子伝達系の出発点となる複合体 I は、NADH-ユビキノン酸化還元酵素であり、NADH を酸化してユビキノン(図 2 では UQ と表記)を還元し、この際、膜を隔てて 1 電子あたり 2 個のプロトンを輸送する(参考文献 2)。このプロトンポンプ機能の構造的基盤は、現在も完全には解明されていないが、近年発達したクライオ電子顕微鏡の技術によって複合体の構造解析が進んだことにより、電子の伝達に共役してプロトンポンプ部分が構造変化を

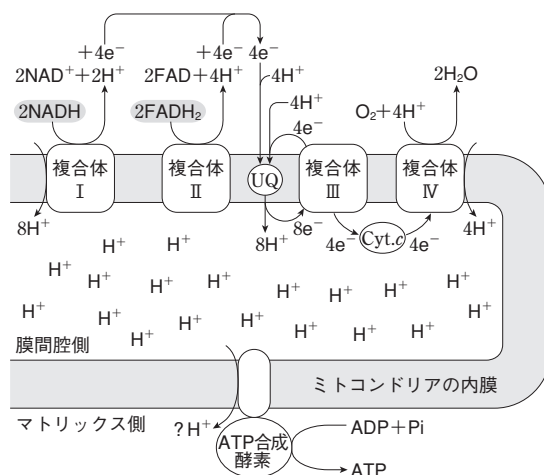


図 2 電子伝達系とプロトンの動き

起こすメカニズムの理解が深まりつつある。

(2) 複合体 II

複合体 II は、コハク酸-ユビキノン酸化還元酵素であり、コハク酸をフマル酸に酸化してユビキノンを還元する。この複合体 II は、プロトンポンプ機能を持たないので、プロトン濃度勾配の形成には寄与しない。しかし、クエン酸回路の構成成分でもあるので少し解説を加えておこう。

一般的に、クエン酸回路のコハク酸脱水素酵素がコハク酸をフマル酸に酸化する際に $FADH_2$ が生じ、その $FADH_2$ が電子伝達系の複合体 II により酸化されてユビキノンを還元される、と記述されることが多く、図 1, 2 においても簡略化しているものの、そのように描いている。しかし、実際にはコハク酸脱水素酵素と複合体 II は、同一のものである。しかも、 $FADH_2$ は、NADH とは異なってタンパク質に強固に結合して外れないので、コハク酸からユビキノンへ電子が渡る酸化還元反応は複合体内で全て完結する。従って、 $FADH_2$ がクエン酸回路から電子伝達系へと電子(還元力)を運ぶようにも取れる図 1, 2 は、誤解を招くとの誹りは免れない。実際には細胞内で様々な相互作用をしている代謝系を、解糖系、クエン酸回路、電子伝達系といったいくつかの要素に分けてわかりやすく説明することを優先した結果であって、それらの要素が細胞内で完全に分離して存在しているように考えるのは誤りであることに注意する必要がある。

(3) 複合体 III

複合体 III は、ユビキノン-シトクロム c 酸化還元

酵素である。この複合体自体は、一般的な意味でのプロトンポンプ機能は持たないが、後述するようにユビキノンを介してプロトンの輸送に寄与する。この複合体は、その構成成分から、シトクロム bc_1 複合体ともよばれ、その構造と機能は、光合成の電子伝達系のシトクロム b_6f 複合体と極めて類似している。光合成系においては、ユビキノンの代わりにプラストキノンが働くが、キノンの動きによってプロトンが輸送されるメカニズムも同一である。これらの複合体には、キノンを酸化する部位と還元する部位があり、電子の一部を複合体からキノンに還元させるキノン回路(Q サイクル)によって、膜を隔てて1電子あたり2個のプロトンをキノンに輸送させることができる。このキノン回路のメカニズムを最初に提案したのも、化学浸透説を唱えたピーター・ミッチェルである(参考文献3)。そのメカニズムについては、参考文献4を参照してほしい。

(4) 複合体IV

複合体IVはシトクロム c -酸素酸化還元酵素である。シトクロム c を酸化して得た電子で酸素を還元して水を生成し、その際に、1電子あたり1個のプロトンを輸送する(参考文献5)。呼吸の電子伝達系の最後に位置することから末端酸化酵素複合体、あるいは単にシトクロム c 酸化酵素複合体と呼ばれる。

ここまで説明した複合体の働きにより、NADHが電子供与体となる時には、1電子あたり5個(1分子あたり10個)のプロトンが輸送され、 $FADH_2$ が電子供与体となる時には、1電子あたり3個(1分子あたり6個)のプロトンが輸送されることになる。従ってグルコース1分子から生成する10分子のNADHと2分子の $FADH_2$ により合計112個のプロトンが膜を隔てて輸送される。

6. プロトンの数とATPの数の関係

上記のプロトン数が正しければ、ATP合成酵素におけるプロトン/ATPの比率を調べることで、ATPが何分子生成するのかを明らかにすることができる。そしてATP合成酵素の構造解析が進むにつれて、実際にプロトン/ATPの比率を構造の面から考えることができるようになった。

ATP合成酵素のマトリックス側に突き出た頭のような部分は、 α と β と呼ばれるサブユニット3つずつから形成されて3回対称の構造をしており、 β

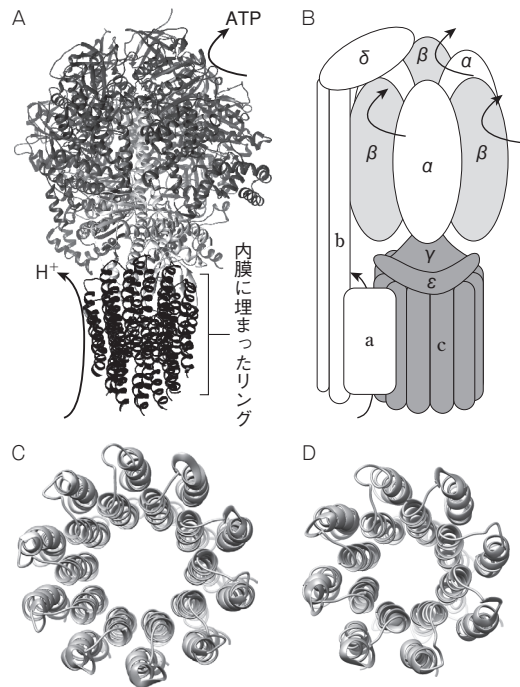


図3 ATP合成酵素の構造 ATP合成酵素の三次元構造(酵母ミトコンドリア, A)、モデル図(B)、 C_{10} リング構造(酵母, C)および C_8 リング構造(ウシのミトコンドリア, D)。A,CはPDB:2XOK, DはPDB:2XNDからChimeraを用いて作図。

サブユニットにATP結合部位が存在する(図3A,B)。 α β サブユニットからなる頭の部分の中央で頭を貫く心棒の役割をしている γ サブユニットが回転することによりATPが合成されるので、1回転により3分子のATPが合成される。

γ サブユニットは膜に埋まったリング状の構造と結合しており、このリングの1か所をプロトンが通過するとリングと γ サブユニットが一定の角度だけ回転する。リングは多数の c サブユニットから構成されており、このサブユニットの個数と同じ数のプロトンが通過すると360度回転して3分子のATPが生成する(図3B)。様々な実験から c サブユニットの個数は9から12個程度であると考えられていたため、当初はプロトン3個でATPが1分子形成される(c サブユニットが9個)か、プロトン4個でATPが1分子合成される(c サブユニットが12個)可能性が考えられた。

ところが、実際に酵母のミトコンドリアのATP合成酵素の立体構造がX線結晶構造解析によって明らかになると、 c サブユニットの数が10個という結果が得られた(図3A,C, 参考文献6)。このこ

とは、プロトンと ATP の数の比率はそもそも整数にはならず、3.3 個のプロトンで 1 分子の ATP が合成されることを意味している。このような基本的な比率が整数にならないという事実だけでも驚きをもって受け止められたが、さらに、様々な生物で ATP 合成酵素の構造が調べられると、c サブユニットの数は、ウシのミトコンドリアで 8 個(図 3D)、マイコバクテリアで 9 個、フソバクテリアで 11 個、好アルカリ性細菌で 13 個と、生物種によって異なることが明らかとなった。これは、葉緑体やシアノバクテリアの光合成においてはたらく ATP 合成酵素の場合も同じで、シアノバクテリアだけでも、c サブユニットの数は 13 ~ 15 個と多様性を示す。

これらの数と、前項でみた 1 分子のグルコースあたりに 112 個のプロトンが輸送されるという計算から考えると、電子伝達系により合成される ATP は、c サブユニットが 8 個であれば約 42 分子、c サブユニットが 10 個であれば約 34 分子となる。従って、グルコース 1 分子から合成される ATP の数は、生物種によって大きく異なることになる。さらに真核生物の場合、ミトコンドリアからサイトゾルへの 1 分子の ATP の輸送にあたって 1 個のプロトンが消費される。これを計算に入れると、1 分子のグルコースから電子伝達系により合成される ATP は、8 個の c サブユニットを持つ生物で約 31 分子、10 個の c サブユニットを持つ生物で約 26 分子となる。1 分子のグルコースあたり約 28 分子の ATP が生成するという先に述べた実測値がミトコンドリア画分などで測定されたものである。その場合、この約 28 分子という値は ATP のサイトゾルへの輸送に関わるプロトンを考慮に入れた値と比較するのが妥当と考えられ、実際によく一致している。

7. おわりに

以上のように、グルコース 1 分子から生成される ATP の数を、生物種を限定せずに議論することにはあまり意味がない。グルコース 1 分子から発酵で ATP が 2 分子生成するのに対して、呼吸では 10 倍以上の ATP が合成されるという大雑把な感覚があれば十分であろう。ただし、これをもって、呼吸は発酵よりも「効率が良い」とするには注意が必要である。効率を議論するためには、何あたりの効率で

あるかを明示する必要がある。もし、エネルギー変換効率を考える場合には、グルコースの完全酸化によって放出されるエネルギー (2870 kJ/mol) から 32 分子の ATP (976 kJ) が得られるとした場合は約 34% なのに対して、グルコースの乳酸への酸化に際して放出されるエネルギー (193 kJ/mol) により 2 分子の ATP (61 kJ) が得られる発酵のエネルギー効率は約 32% となる。この 2 つの代謝のエネルギー変換効率はほとんど変わらないのである。

補遺：電子伝達系による ATP の生成数の計算根拠

前提 基質レベルで 10 NADH, 2 FADH₂ が生成

仮定 1 3 ATP/NADH, 2 ATP/FADH₂

$$10 \times 3 + 2 \times 2 = 34 \text{ ATP}$$

(これまでの値)

仮定 2 2.5 ATP/NADH, 1.5 ATP/FADH₂

$$10 \times 2.5 + 2 \times 1.5 = 28 \text{ ATP}$$

(最近の値)

仮定 3 10 H⁺/NADH, 6 H⁺/FADH₂

$$10 \times 10 + 2 \times 6 = 112 \text{ H}^+$$

(グルコース 1 分子によって輸送されるプロトンの数)

仮定 4 8 H⁺/3 ATP

$$112 \times 3 \div 8 = 42 \text{ ATP}$$

(哺乳類の場合)

仮定 5 (8 + 3)H⁺/3 ATP

$$112 \times 3 \div (8 + 3) \approx 31 \text{ ATP}$$

(さらに輸送コストを考慮)

参考文献

- 1) Hinkle (2005) P/O ratios of mitochondrial oxidative phosphorylation. *Biochim. Biophys. Acta* **1706**: 1 - 11
- 2) Wikstöm (1984) Two protons are pumped from the mitochondrial matrix per electron transferred between NADH and ubiquinone. *FEBS Letters* **169**: 300 - 304
- 3) Mitchel (1975) Protonmotive redox mechanism of the cytochrome bc₁ complex in the respiratory chain: Protonmotive ubiquinone cycle. *FEBS Letters* **56**: 1 - 6
- 4) 園池公毅 (2008) 『光合成とはなにか』講談社
- 5) Wikstöm (1977) Proton pump coupled to cytochrome c oxidase in mitochondria. *Nature* **266**: 271 - 273
- 6) Stock et al. (1999) Molecular architecture of the rotary motor in ATP synthase. *Science* **286**: 1700 - 1705