

代謝生化学A定期試験（2・竹中担当分）採点基準

第17章：クエン酸サイクル

1. **20点** （平均64.7%）

「クエン酸サイクルの生理的役割は、異化代謝と同化代謝という物質代謝とエネルギー代謝を関連付けることにある。エネルギー需要の高い時は異化代謝を促進し、エネルギー需要が低い時はクエン酸サイクルの流量は低下する。他方、同化代謝の需要が高い時は流量が増してカタプレロティック反応が引き起こされエネルギー産生も上昇する」。

【論拠】：（17章全般）クエン酸サイクルは、

- ① 糖質・タンパク質・脂質の異化代謝産物の酸化過程である。
  - ② 酸化過程で放出されるエネルギーを還元対として捕捉する。
  - ③ 一方で、それらの生合成過程に原料とエネルギーを供給する。そして
  - ④ クエン酸サイクルの流量は、異化代謝と同化代謝をエネルギー要求度から調節する。
- 各要素について5点とする。

2. **20点** （平均=59.9%）

「ヒマの種子が持つグリオキシル酸サイクルでは、系に取り込まれた2分子の炭素はCO<sub>2</sub>として放出されずにグリオキシル酸となってもう一分子のアセチル CoA と縮合してリンゴ酸を新たに生成し、糖新生の出発物質とする。しかし、我々の細胞ではクエン酸サイクルにアセチル CoA が取り込まれても、サイクルの進行過程で2分子のCO<sub>2</sub>が放出されてクエン酸過程に炭素の正味の増加はない。従ってアセチル CoA は糖新生の出発物質とはなれない。」

（17・5C、p-356-357）

【解A】糖新生は、クエン酸サイクルの中間体であるリンゴ酸が細胞質に移行してオキサロ酢酸となった時に開始する。従って、①を合成するにはオキサロ酢酸またはリンゴ酸が何らかの方法で供給されなければならない。アセチル CoA はクエン酸サイクルに2つの炭素原子を持ち込むが、サイクルの進行過程で2つの二酸化炭素が放出される。そのためアセチル CoA は新たにリンゴ酸を合成することはない、一方、②グリオキシル酸サイクルでは2分子のアセチル CoA からリンゴ酸が新たに合成される。

【解B】糖新生にはリンゴ酸の合成が必要である。アセチル CoA がクエン酸サイクルに取り込まれてリンゴ酸になるためには、先ずこの反応を始めるためにリンゴ酸の消費が必要である。すなわち、1モルのリンゴ酸の生成のために1モルのリンゴ酸を先ず消費することから収支がゼロとなって、アセチル CoA は糖新生に出発物質とはなれない。

●アセチル CoA の炭素がそのままCO<sub>2</sub>となって放出されるのではないが、本設問ではこのことについては不問として、CO<sub>2</sub>として失われるとした解答も正答とした。

3. **35点**： (a) **20点** （平均=62.5%）； (b) **各5点** （平均=45.8%）、計**15点**。

(a) 「どの中間体であれクエン酸サイクルの中間体が減少するとオキサロ酢酸が減少し、クエン酸サイクルが進まなくなる。このことを避けるべくピルビン酸からオキサロ酢酸を合成してクエン酸サイクルの流量を確保する。」

【論拠】：（17・5B、p-355-356）クエン酸サイクルは、どの中間体も自分が反応物であると同

時に自分が生成物である。従って、カタプレロティック反応によって①どの中間体が減少してもオキサロ酢酸の量が減少する。②クエン酸サイクルはオキサロ酢酸とアセチル CoA の縮合反応で開始するから、③オキサロ酢酸の減少はクエン酸サイクルの流量の低下を引き起こす。この不都合を回避するため、ピルビン酸カルボキシラーゼが補充反応として④ピルビン酸からオキサロ酢酸を合成してクエン酸サイクルの進行を確保する。

●クエン酸サイクルが循環代謝系であることがこの設問の前提にあり、解答でどのような場合にオキサロ酢酸濃度が低下するかについての記述を期待した。

(b) 「糖新生、アミノ酸合成、脂質合成、またはポルフィリン合成」

【論拠】：(17・5A、図17・17) カタプレロティック反応は、他の代謝系の賦活のためにクエン酸サイクルの中間体が供給されるものである。他の代謝系としては、糖新生・アミノ酸合成・脂質合成・ポルフィリン合成が該当する。従って解答は、糖新生・アミノ酸合成・脂質合成・ポルフィリン合成から選択することとなる。ただし、核酸合成やタンパク質合成については、最終的にはクエン酸サイクルの中間体が出発物質とはなるが、糖・アミノ酸・脂質と比べると一段階遠い関係である。

4. **各5点、計25点** (平均=69.7%)。当初は誤答は減点する予定でいたが、全てを選択するなどの解答が無かったことから減点処理はしなかった。

- a. 2-オキソグルタル酸デヒドロゲナーゼ反応は不可逆である。(17・3D、図17・2)
- b. その通り。
- c. スクシニル CoA シンテターゼでリン酸化されるのはヒスチジンのイミダゾール基である。
- d. 先ずオキサロ酢酸が結合してからアセチル CoA が結合する逐次反応である。(17・A、図17・9)
- e. その通り。
- f. その通り。
- g. その通り。
- h. その通り。
- i. 大きなカギカッコでくくられている物質は単離同定されたわけではなく、他の物理化学的解析法によってその存在が強く示唆されたものである。(口頭説明)
- j. アセチル CoA が取り込まれてすぐにクエン酸サイクルから放出される CO<sub>2</sub> は、オキサロ酢酸の二つの COOH の炭素である。(図17・2)

## 第 18 章、電子伝達と酸化的リン酸化

### 1. 20点 (平均=31.6%)

「リンゴ酸-アスパラギン酸シャトルが機能しないと、細胞質とマトリックス間で NADH の還元対のやり取りができなくなる。その結果、細胞がエネルギーを要求する状態では、細胞質で生成した NADH のミトコンドリアでの再酸化が進まず、細胞質で NAD<sup>+</sup>を用いる酸化反応が低下する。他方、逆に、細胞が合成反応を促進する状態では、細胞質で賦活されるはずの同化反応が抑制される。この仕組みは細胞質の酸化還元状態をマトリックスに伝え、細胞のエネルギー状態を反映して細胞質の NADH/NAD<sup>+</sup>を変えることで、異化代謝と同化代謝の間の調節を行っている。」

【論拠】リンゴ酸-アスパラギン酸は、細胞質の酸化還元反応の状態をマトリックスに反映する仕組みである。また、細胞質とマトリックスの間でリンゴ酸を交換する機構でもある。

すなわち、オキサロ酢酸を還元することで細胞質の還元対をリンゴ酸に預けてミトコンドリア内膜を透過させることで内膜を隔てて移行させ、電子伝達の基質とする。細胞質で還元対が生成される状態は酸化反応である異化反応が進んでいる状態であるが、これはマトリックスで ATP での合成が求められている状態でもある。他方、細胞質で還元対が要求される場合は、逆の反応でマトリックスから細胞質に還元対を移行させる。細胞質で還元対が要求される状態は同化反応が賦活されている状態である。さらに、この仕組みは細胞質とマトリックスの間でオキサロ酢酸を交換する。

従って、シャトルの障害は、①エネルギーが要求される状態での細胞質での酸化反応を低下させ、生合成反応が要求される状態での細胞質での還元反応を妨げる。②細胞質で NADH は NADP<sup>+</sup>に還元対を渡して NADPH を生成することで生合成反応を賦活することから、この機構の障害は合成反応を低下させることにもなる。糖新生のためのオキサロ酢酸の細胞質への移動は、リンゴ酸が細胞質に移動した後リンゴ酸デヒドロゲナーゼが働けば完結する。さらに、③細胞質で進行する糖新生の基質はオキサロ酢酸であることから糖新生が妨げられる。

これらの中の二点を指摘すればよいとした。

●解答のほとんどが、この仕組みはオキサロ酢酸をマトリックスに取り込んでクエン酸サイクルを稼働するためのものであるとしたものだった。しかし、この仕組みは、還元等量を細胞質からマトリックに移動させて再酸化し、逆に細胞質に NAD<sup>+</sup>を供給するものと考えた方が妥当であろう。

「オキサロ酢酸が細胞質からマトリックに運び込まれなくなり、ATP が合成されなくなる」

「この機構が傷害されるとオキサロ酢酸が細胞質からマトリックに運び込まれず、クエン酸サイクルが停止する」、あるいは

この仕組みが傷害されたからと言ってクエン酸サイクルのオキサロ酢酸の濃度が下がるほど、クエン酸サイクルに寄与しているとは考えられないし、そのような場合にはピルビン酸カルボキシラーゼが働く (17 章試験問題)。むしろ、この仕組みが機能しない場合は、細胞質の NAD<sup>+</sup>のレベルが低下することにより解糖系が減速することで、ピルビン酸の供給が低下し、その結果クエン酸サイクルの流量が低下する可能性はある。但し、その他の寄与について提示された論旨が正しければ文章の内容に応じて適宜 5~8 点加点した。

●内容がつかめない、何を言っているのか判らない解答が多かった。論旨が不明瞭で判断できない時は加点しなかった。

●「NADH はリンゴ酸-アスパラギン酸シャトルのほかに輸送体が有る」とした解答は誤答とした。

●「ミトコンドリア内膜」と「細胞膜」、さらに「ミトコンドリア」と「細胞」、あるいは「マトリ

ックス」と「内膜」を区別していない解答が多かった。論旨の誤りが大きい場合は誤答とし、内容に応じて5～8点加点した。

●「リンゴ酸をオキサロ酢酸とアスパラギン酸にかえて」という表現が多くみられた。本来は誤答であるが、今回は減点対象とはしなかった。

●このシャトルが「プロトン勾配を作り出す」とした解答も多かった。根拠が判らない。誤答とした。もしプロトンの動きが関係するとすれば、プロトンがシャトル反応を駆動しているとした方が理にかなう。しかし、アスパラギン酸もリンゴ酸もジカルボン酸であり、そのようなことがあるという根拠がない。

◎細胞内の NADH が NAD<sup>+</sup>に再酸化されないために、乳酸が蓄積するとして解答があった。その程度は判らないが、面白い着眼点であることから3点を加点した。

## 2. 25点; (平均=80.4%)。

A、3; B、4; C、2; X、2; Y、2; ①、2; ②、4; ③、4; ④、2

実習で経験したものである。

AはADPを加えた後、 $(230-130) = 100$  nmolの酸素を消費した。これは酸素原子にすると200 nmolにあたり、加えたADPが300 nmolだったから、P/Oは1.5となる。従ってAはコハク酸(解答はSuc)である。BはADPを加えた後、 $(230-100) = 130$  nmolの酸素を消費した。これは酸素原子にすると260 nmolにあたり、P/Oは1.1538となる。このように小さいP/Oを示す基質はTMPD+Ascである。そしてCはグルタミン酸(解答はGlu)になる。

TMPD+Ascを基質として呼吸を止めるのは、電子伝達系の阻害剤としてはCN<sup>-</sup>だが、H<sup>+</sup>の移動を止める薬剤としてはこの設問ではオリゴマイシンである。従ってXはオリゴマイシン(解答はOlg)であり、Yは脱共役剤(解答ではUnc)である。

グルタミン酸を基質とした呼吸を止めない電子伝達阻害剤①はテノイルトリフルオロアセトン(解答はTTA)しかない。では次にグルタミン酸が基質の呼吸を止めたのは、ロテノン(解答ではRot)かアンチマイシンA(解答ではAmA)かシアン化ナトリウム(解答ではNaCN)のいずれかである。この場合、コハク酸を加えても既にTTAを加えているから応答が在る筈がない。ところがTMPD+Ascを加えると呼吸が見られたので②はNaCNではない。また、③については、NaCN以外であればTMPD+Ascを基質とした呼吸を止めない。従って、②と③はRotでもAmAでも正しい。Uncを加えて再開した呼吸を④が止めたから、④はNaCNである。

解答で、②と③が単一の解ではない。但し、既に①として加えたTTAではない。従って、②と③にはRotとAmAが該当する。

●問題文には薬剤の記入は略号でとしている。略号で記入していない箇所について1点減点した。

●②と③については、RotとAmAの組み合わせのみを正答とした。なぜならば、TTAは既に加えられており、NaCNならばそれ以降の呼吸が止まる。

## 3. 各5点、計25点。(平均=47.7%)

当初は誤答は減点する予定でいたが、全てを選択するなどの解答が無かったことから減点処理はしなかった。

a. その通り。

b. UCPには少なくとも4までであると言われていた。しかし、現在はUCP-1のみの存在が確かめら

れているらしい。(口頭で説明。斉藤昌之博士からの資料)

- c. その通り。
- d. 例えば複合体 1 と複合体 3 が 1 : 2 の会合たいとして存在し、また F1F0-ATPase も二量体として存在する可能性がある。(口頭説明。スライド)
- e. 電子伝達系で不可逆な過程は複合体 I V である。(18・4A、p-380)
- f. 酸素分子の標準還元電位は+0.815 V で極めて高く、これは強い電子吸引力を持つことを示す。つまり酸化力が高い。(表 18・1、p-364)
- g. その通り。
- h. その通り。
- i. その通り。
- j. クリステの密度は酸化的リン酸化への依存度の高い臓器ほど密である。なぜならば、電子伝達-酸化的リン酸化系は内膜 (=クリステ) に局在するからである。(口頭説明、スライド)

4. **20点** (平均=75.0%)

「電子伝達系の機能は NADH や FADH<sub>2</sub> の再酸化で、①再酸化のエネルギーを内膜を隔てたプロトンの濃度の勾配に置き換える。他方、F1F0-ATPase は形成したプロトン勾配の物理化学量であるプロトン起電力を用いて ATP を合成する。前者は形成したプロトン勾配がどのように解消されるか関知せず、後者はプロトン勾配がどのように形成されるかを関知しない。ところが、②ミトコンドリアの閉じた系では、プロトン勾配が作り出すプロトン起電力を ATP 生成のエネルギーとして両者が協同して機能することから、「共役する」と表現される。」

脱共役剤を添加すると、ATP 合成と関連したプロトン勾配の解消が無くても電子伝達が進行する。これこそが「共役する」ことの説明になる。この設問は 18 章の中心的な命題であり、実習の講義に置いても繰り返し解説した。論旨が合っていれば正答とした。

設問としては、電子伝達と酸化的リン酸化の共役についての解答を求めた。しかしながら、問題文から必ずしも電子伝達と酸化的リン酸化の関係が問われていると受け取れない可能性が否定できないことから、負の自由エネルギーの反応と正の自由エネルギーの反応が合わさっていることを「共役する」として「共役」の一般論を説明した解答には 10 点加点した。

●ATP 合成反応を発エルゴン反応であるとしているものは誤答とした。

5. **10点** (平均=43.7%)

「活性酸素は、タンパク質・核酸・脂質を切断する。タンパク質の場合、酵素であれば失活し構造タンパク質であれば構造に変異をもたらす。核酸であれば遺伝情報を誤らせる。脂質であれば脂質二重膜の変性を引き起こし、生体膜の機能を失わせる。このように、活性酸素は細胞の様々な機能を失わせることから細胞毒性を発揮する。」

【論拠】ヒドロキシラジカルを生成する反応液にタンパク質を加えると、あちこちで一次構造が断片化される。また、脂質二重膜を持つ小胞体も活性酸素と反応して過酸化脂質を形成する。核酸を活性酸素にさらすと、例えばグアニンの塩基が水酸化されたり、ヌクレオチド結合が分断される。このように活性酸素は生体の三大成分に変性を引き起こす。タンパク質であれば酵素の失活、脂質二重膜の構造的な破壊、核酸の分断がおきる。これらは細胞にとって毒性を示すことに他ならない。解答では、①活性酸素の生体物質に対する影響を指摘し、②その結果どのような傷害が起きるかに

ついて記述されているものを正答とした。

NADHが活性酸素によって酸化されることでミトコンドリアの機能が無くなることを理由とした解答も5点とした。ミトコンドリアは活性酸素を生成する細胞器官であり、その機能を守るためにグルタチオンやNADHが活性酸素を消去しているとされるからである。しかしながら、細胞毒性を發揮するのは、より直接的な生体成分の修飾なので、部分点とした。