

「生理学ものがたり」第4回 ATPの合成とADPの呼吸調節作用

滋賀医大名誉教授 北里 宏

ADPの呼吸調節作用

密閉した容器にミトコンドリア浮遊液を入れ、この浮遊液の酸素分圧を連続記録すると、ミトコンドリアによる酸素消費の有様を知ることが出来る。図1にそのような実験の例を示す。まず密閉容器に燐酸緩衝液を入れておく、これにミトコンドリア浮遊液を注入すると、密閉容器内の酸素分圧は僅かに低下する。これにTCAサイクルの中間代謝産物である malate を加えると酸素分圧は緩やかに低下し始める。更にここにADPを加えると、酸素分圧の低下速度は急激に上昇する。しかし酸素消費の増大した状態は長くは続かず、加えられたADPが殆どすべてATPに変化してしまうと、酸素消費速度は低下する。酸素消費速度が低下した時点でADPを加えると酸素消費速度は再び上昇する(図1の曲線(a))。ADPによる酸素消費の促進は、密閉容器内の酸素分圧が0 mmHgに極めて近くない限り、幾度でも起こさせることのできる現象である。この現象は酸素消費とATP合成反応が共役していることを示しているものである。また、ADPがミトコンドリアにおける酸素消費を制御していることをADPの呼吸調節作用という。

ところで、フェノールの誘導体である2,4-dinitrophenol (2,4-DNP) は様々な染料の原料としてかつて用いられていたが、体温上昇と体力低下を来すことから染料の原料としては用いられなくなった。一時は甲状腺機能低下の治療薬として用いられたことがあるとのことである。1950年頃にはこの物質がATP合成を阻害することは知られていた。上記と同様の実験において、密閉した

溶液内のミトコンドリア浮遊液に加えたADPの殆ど全てがATPに変化してしまった後でも、2,4-DNPを注入すると酸素消費速度は上昇し、酸素消費の大きい状態は酸素分圧がほぼ0 mmHgになるまで持続する(曲線(b))。酸素消費をATP合成と無関係に進行するようにさせるような物質、つまり酸素消費とATP合成反応との共役を切る物質を脱共役剤という。ところで2,4-DNPは脂質2分子層に溶解込みH⁺担体となって脂質層を貫いてH⁺を運ぶという性質を持っている。したがって、ミトコンドリア浮遊液に2,4-DPGを加えると、ATP合成系と並行に新たに別のH⁺の経路ができあがり、そこを通して内向きのH⁺電流が増加する。内向きH⁺電流の増加は電子伝達系を外向きに流れる電流の増加をもたらし、電子伝達系を流れる電流と同じ大きさの電流が電子伝達系の内外両界面を通過する。電子伝達系のマトリクス側界面をマトリクスから電子伝達系に向けて流れる電流が増加すると、H₂の生成が増加しO₂消費が増大する。2,4-DNPの効果は、酸素消費を増加させることに加えて、H⁺コンダクタンスの上昇を介して膜電位をH⁺平衡電位に近づけ、H⁺に働く駆動力を減少させることである。膜電位がH⁺平衡電位に近い場合、ADPが十分に存在してもATP合成反応は進行しない。この状態が脱共役の状態である。脱共役を起こす物質は全て内膜のH⁺透過性を増大させる。脱共役剤として知られているものは2,4-DNPの他に、carbonylcyanide-phenylhydrazone, salicylanilide, tetraphenylboron, dimethyldibenzylamide, carbonylcyanide-*p*-trifluoromethoxyphenylhydrazone (FCCP), valinomycin, gramicidin

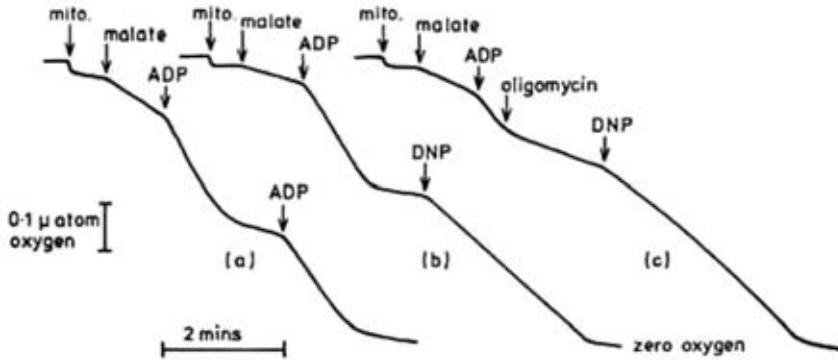


図1. ミトコンドリア浮遊液中の酸素分圧の経時的変化

密閉した容器に燐酸緩衝液を入れ、ミトコンドリアを注入する。各曲線の最初の下向き矢印 mito はミトコンドリアが注入された時点を示す。曲線 (a) の下向き矢印はそれぞれ malate, ADP, 再度 ADP が注入された時点を示す。曲線 (b) の下向き矢印はそれぞれ malate, ADP, DNP (2,4-dinitrophenol) が注入された時点を示す。曲線 (c) の下向き矢印はそれぞれ malate, ADP, oligomycin, DNP が注入された時点を示す。

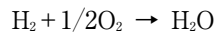
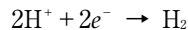
(原図は Hall, D.O., and Palmer, J.M (1969). Nature **221** : 717-723.)

である。様々の物質によって引き起こされる脱共役現象は H^+ 駆動力が ATP 合成反応を駆動するという Mitchell の考え方によって初めて統一的に理解された。

ATP 合成を阻害する物質に脱共役剤とは異なるタイプのものがある。Oligomycin も ATP 合成を阻害する物質である。ミトコンドリア浮遊液に ADP を与え酸素消費が増大しているときに oligomycin を与えると、酸素消費速度は直ちに低下する (曲線 (c))。この実験結果から考えられる事は、ATP 合成系を通る H^+ の流れが阻害されたか、あるいは呼吸鎖が阻害されたかの何れかである。ところで、oligomycin によって酸素消費が抑制されている状態にあるときに 2,4-DNP を与えると、酸素消費は増大し、この場合も曲線 (b) の実験と同様に密閉溶液中の酸素分圧がほぼ 0mmHg になるまで酸素消費が増大した状態は持続する。Oligomycin が存在しても 2,4-DNP が酸素消費を増加させたことは、oligomycin が呼吸鎖を阻害することなく、ATP 合成系を通る H^+ の流れのみを抑制すること示している。

細胞における ATP 消費が増加すると、酸素消費が増加する。一方、TCA サイクルの諸反応が進

行すると炭酸ガスがミトコンドリアのマトリクスで発生するが、マトリクスにおける CO_2 生成に使われる酸素は呼吸基質の分子内にもともと存在していた酸素と水の分解から得た酸素である。細胞外から拡散してきた酸素はミトコンドリアの電子伝達系のマトリクス側界面において消費される。ATP 合成時、ATP 合成系を通して H^+ がマトリクスに流れ込み、膜電位が多少脱分極方向に変化すると共に電子伝達系を通して電流がマトリクス側から外膜側へ流れる。その際、マトリクスから電子伝達系に電流が流れ込み、マトリクス—電子伝達系界面では H^+ が正の電荷を電子伝達系に渡し水素分子が生じる。2 個の H^+ から生じた 1 分子の H_2 はここで細胞外から拡散してきた $1/2$ 分子の酸素と結合し、1 分子の水が生じる。



一方、電子伝達系の外液側界面では電子伝達系から外液に電流が流れ出し、次の反応が起こる。



上記の反応において生じた 2 個の e^- は電子伝達系に残り、電位勾配に従って電子伝達系内をマトリクス方向へ流れ、 H^+ は外液に出る (図 2)。失

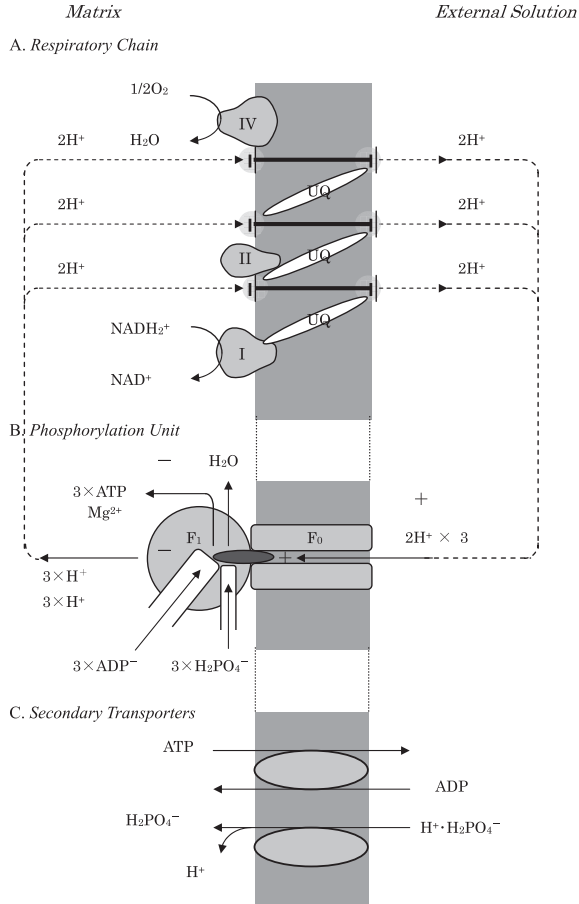
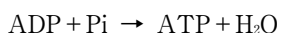


図2. 呼吸鎖（電子伝達系とH₂運搬系）とATP合成系
 A. 呼吸鎖. IはNADH脱水素酵素であり, IIはコハク酸脱水素酵素である. IVはシトクローム酸化酵素である. シトクローム酸化酵素が内膜の外膜側にあってもシトクローム酸化酵素に最も近い電子伝達系のマトリクス側界面とシトクローム酸化酵素がH₂運搬系（ユビキノン）によって結ばれていればこの図と全く等価である. UQはユビキノンを示す. 1分子のNADH₂⁺が1分子の水素を失う度に, 1/2分子の酸素が消費される. その反応に伴って6個のH⁺が電子伝達系から外液に出て行き, 6個のH⁺がマトリクスから電子伝達系に流れ込む.
 B. ATP合成系. F₁とF₀の間の黒い部分はγサブユニットを示す. 2個のH⁺が外液からマトリクスに流れ込む度に, 1分子のATPが合成される. 6個のH⁺マトリクスに流れ込むと3分子のATPが合成される.
 C. ATP/ADP対向輸送系とH⁺/H₂PO₄⁻共輸送系. 細胞質におけるATP消費が増大すると, 細胞質のADPはマトリクスに流れ込み, ATP合成が促進される. その結果, 酸素消費が増加する.

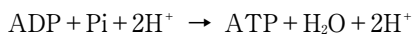
われた H_2 はユビキノンを介して $NADH_2^+$ から供給される。つまり TCA サイクルから供給された H_2 は電子伝達系の外液側界面において消費されるのである。

細胞質の無機リン酸イオン濃度は Cl^- 濃度と較べると遥かに高く、細胞質からミトコンドリア内へ無機リン酸イオンは $H^+ \cdot H_2PO_4^-$ 共輸送系を介して運び込まれている。酸素が十分に供給されている状況下ではミトコンドリア内の ADP 濃度は低い。細胞全体における ATP 消費が増大すると、細胞質の ADP 濃度が上昇する。細胞質の ADP 濃度が上昇すると、ADP/ATP 交換輸送系を介して ADP はマトリクスに運び込まれ、ATP 合成反応が始まる。その結果、ミトコンドリアでの酸素消費が増大する。つまり、細胞における酸素消費はその細胞の ATP 消費に依存することになる。この現象を支えているのが ADP の呼吸調節作用である。なお、ADP/ATP 交換輸送系は atrachtyloside あるいは bonkretic acid によって阻害される (Klingenberg, 1970)。

ATP 合成系における ATP の合成反応は本質的には H^+ の流入を伴う脱水反応である。



この反応を右方向へ進行させるにはエネルギーが必要である。そのエネルギーは H^+ の流入によって与えられる。エネルギーの移動を考慮に入れると、上の化学式は次のように書くべきであろう。



左辺の H^+ はミトコンドリア外液の H^+ であり、右辺の H^+ はマトリクスの H^+ である (図 2)。すなわち、 H^+ の自由エネルギーの差が ATP 合成反応を駆動する。 H^+ の自由エネルギーの差とは H^+ の電気化学ポテンシャル差である。

H^+ の流入は電気化学的現象である。浸透現象ではない。ATP 合成反応は H^+ 流入と共役しているので、ATP 合成反応も電気化学的反応であれば最も効率が良いと考えられよう。ともかく、pH7 に近いマトリクス内では ADP もリン酸も陰イオンと H^+ に解離している。しかもミトコンドリア内外には $H_2/2H^+$ 酸化還元電位に由来する大きな電位差が存在している。この事は ATP 合成反応が電

気化学的反応である可能性を示唆している。しかし現在のところこの点に注目して ATP 合成系の構造を考察しようとする試みは為されていない。この問題については後でもう一度考えてみることにしよう。仕組みについて考える前に、ATP 合成系の構造について現在得られている知識をまとめておくことが必要である。

F₁・F₀ 複合体の形態学

ミトコンドリアを超音波処理すると、マトリクスに突出している内膜の襞が千切れ小胞状になったものが出来る。この小胞はマトリクス側表面を外に向けているものであり、亜ミトコンドリア (submitochondria) と呼ばれる。亜ミトコンドリアにも酸化的リン酸化の能力が残っている。亜ミトコンドリアの表面には正常のミトコンドリア内膜のマトリクス側表面と同様に直径約 85Å の粒子があり、尿素処理を行うとこの粒子は亜ミトコンドリア表面から離れ、ADP を酸化的にリン酸化する能力も失われる。亜ミトコンドリア浮遊液から尿素を取り除き、先ほど取り去った粒子を加え、イオン強度を高めていくと粒子は再び亜ミトコンドリアの表面に結合し、酸化的リン酸化能は回復する (Kagawa & Racker, 1966)。ミトコンドリアにおける ATP 合成の場についての研究はこの所見を中心としてその後展開していった。

内膜表面から取り去られたこの粒子は共役因子 1 (F₁ 粒子, Factor 1) と呼ばれ、それ自体 ATP の加水分解を触媒する能力を持っている。一方、内膜にあって短い茎を介して F₁ と結合する膜蛋白は F₀ (Factor oligomycin) と呼ばれる。F₁ と F₀ との複合体が H^+ 流入と ADP のリン酸化反応の共役の場である。近年、F₁F₀ 複合体の構造はほぼ完全に解明されている。その大略は ATP によって駆動されるモーターの軸と H^+ を送り出すタービンの軸とが結合している様なものである。ATP/ADP 比が高いとき、ATP モーターがタービンを回し、 H^+ をミトコンドリア内から外に輸送する。逆に ATP/ADP 比が低く、ミトコンドリア外からマトリクスに向かう H^+ 電気化学ポテンシャル勾配が大きい場合、マトリクスに向かう H^+ の流れが

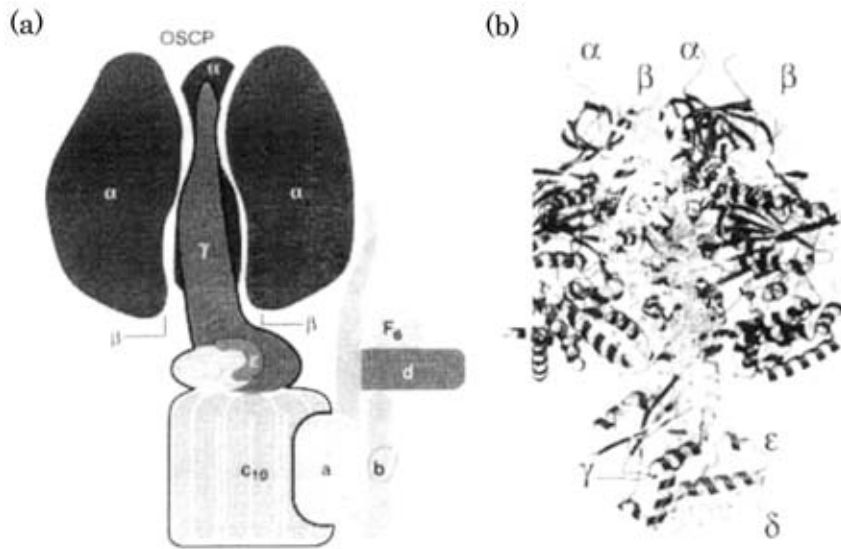


図3. F₁F₀複合体の構造

(a) は F₁F₀ 複合体全体の構造を示す. α , β , γ , δ , ϵ は F₁ のサブユニットであり, a, b, c, d, F₀ は F₀ のサブユニットである. (b) は F₁ のサブユニット構造を示す. (原図は Stock, D., Gibbons, C., Arechaga, I., Leslie, A.G.W., & Walker, J.E. (2000), *Current Opinion in Structural Biology* Vol.10, Issue 6 : 672-679)

タービンを回転させ、これに結合している ATP モータが逆に回され、ADP と無機リン酸から ATP が合成されるといったモデルである。

細胞膜にある Na⁺/K⁺ポンプも ATP を消費して Na⁺ を細胞内から細胞外に排出し、同時に K⁺ を細胞外から細胞内に取り込む。逆に細胞内 ATP 濃度が ADP 濃度に対して極端に低い場合、Na⁺ の細胞内流入および K⁺ の細胞外流出に伴って ADP と無機リン酸から ATP が合成される。この Na⁺/K⁺輸送を担う膜蛋白分子はリン酸化されているときとリン酸化されていないときとは異なったコンフォメーションを示すアロステリック蛋白である。Na⁺/K⁺ポンプはリン酸化されていないとき細胞内 Na⁺ と結合する。Na⁺ と結合したこの蛋白分子は ATP によって容易にリン酸化される。リン酸化された Na⁺/K⁺ポンプ分子にコンフォメーション変化が起こり、この蛋白分子に結合している Na⁺ は分子内のチャンネル様部分をしごかれるようにして細胞外側出口まで押し出される。この過程におけるイオンの移動は分子内の機械的力を受けると共に電位勾配の影響も受ける。細胞外側出口に達し

た Na⁺ が細胞外液中に出て行くと、この蛋白分子からリン酸基が離れる。Na⁺ を放出した Na/K ポンプ蛋白分子に細胞外の K⁺ が結合すると、再びコンフォメーションが変化し、K⁺ はこの蛋白分子内のチャンネル様部分を通り細胞内側へ動かされる。この過程も分子内の機械的力と電位勾配の影響を受ける。細胞内側出口に達した K⁺ は細胞内液に出て行き、空になったイオン結合部位に Na⁺ が結合する。以上のコンフォメーション変化が循環的に起こり、Na⁺ は細胞外へ送り出され、K⁺ は細胞内に取り込まれる。このようなコンフォメーション変化をおこすイオンポンプを E₁/E₂ タイプのイオンポンプと呼ぶ。ミトコンドリアの ATP 合成系は E₁/E₂ タイプの膜蛋白とはかなり異なっているようである。

ミトコンドリアの F₁ 粒子が 3 個の α サブユニットと 3 個の β サブユニット、さらに γ サブユニット、 δ サブユニット、 ϵ サブユニット以上 5 種のサブユニットから成ることは 1970 年代の始めに既に判明していた。またこの頃、ミトコンドリアの F₁ 粒子とほぼ同じものが細菌、真菌のミト

コンドリア、および葉緑体にも存在することが次第に明らかになりつつあった。その後、結合実験から β サブユニットにのみ燐酸化反応の触媒作用があり、3つの β サブユニットはそれぞれ次の何れかの状態にあることが明らかとなった。

- (1) 空になっている状態 β_E
- (2) ADP および P_i と結合している状態 β_{DP}
- (3) ATP と結合している状態 β_{TP}

また、主に電子顕微鏡像から、 α サブユニットと β サブユニットが交互に連なり、全体として $(\alpha\beta)_3$ の構造を持つ1つの環を形成し、 $(\alpha\beta)_3$ 環内に中心から外れて γ サブユニットがあると考えられるようになった。丁度その頃、大腸菌の鞭毛の回転が H^+ 駆動力によって支配されていることを示す報告が幾つかあった。鞭毛の回転が菌体内外の H^+ 電気化学ポテンシャル勾配に依存することは鞭毛の軸を中心に回転するタービン様の構造物を思い浮かべさせる。1970年代の終りに近い頃、長く酸化的燐酸化に関する分野において生化学的手法を用いて実験を続けてきたP.D. Boyerは $(\alpha\beta)_3$ 環の中の γ サブユニットがモータの回転子のように回転し、その回転につれて β サブユニットのコンフォメーションが変化し、ADPおよびATPに対する親和性が周期的に変化するという“binding change mechanism”(rotational catalysis)説を発表した。

“binding change mechanism”の基礎となる γ サブユニットの回転は1997年に至ってNojiらによって見事に証明された。Nojiらは F_1 粒子 α サブユニットのマトリクス側頂点に近いN端をスライドガラスに固定し、 F_1 から F_0 に向かって突出している γ サブユニットに蛍光ラベルしたアクチンフィラメントを結合させ、蛍光顕微鏡を用いてアクチンフィラメントの動きを観察するという方法を採用した。ATPを与えると、 γ サブユニットに結合しているアクチンフィラメントは F_1 粒子の底部から頂点を見て反時計方向に 120° づつステップ状に回転し、加えられたATPが消費し尽くされるまでこの回転は持続すると報告されている。すなわちATP分解が起こる条件下では、 γ サブユニットは $(\alpha\beta)_3$ 環内において回転する。このこと

は、 $(\alpha\beta)_3$ 環内の γ サブユニットをATP分解時に見られた回転とは逆の方向に強制的に回転させると、ADPと P_i からATPが合成されるかもしれないと考えさせる。

F_1 粒子は短い茎を介して内膜の膜蛋白である F_0 と結合し F_1F_0 複合体を形成している。茎の部分は F_1 粒子のサブユニットである γ 、 δ 、 ϵ である。 F_0 の主なサブユニットはa、とcであり、 F_0 とよく似た膜蛋白がミトコンドリア、細菌、および葉緑体にもあるが、cサブユニットの数はそれぞれ異なっている。ミトコンドリアではcサブユニットの数は10であり、10個のcサブユニットは環を形成している。cサブユニット単体は疎水性の強い2本の α ヘリクスから成り、膜を貫いていると見られている。Cサブユニット環の外側にaサブユニットがあり、aサブユニットの外側にbサブユニットが結合している。aサブユニットは F_1 粒子側にも伸び、その先端にOSCP (oligomycin sensitivity conferring protein) が結合し、 F_1 粒子の $(\alpha\beta)_3$ 環を内膜に平行な平面内を回転しないように固定していると考えられている。

F_1 粒子内の γ サブユニットは δ サブユニットおよび ϵ サブユニットと共に F_0 のcサブユニット環と結合し、一体となって回転すると見られている。なお、10個のcサブユニットからなる環が1回転する度に、10個の H^+ がマトリクスに流入すると考えられている。 F_1F_0 複合体の構造については詳細なReviewが幾つかあるので、読んでみられると良い(文末に挙げておく)。

F_1F_0 複合体の構造についてはもはや疑問を抱く余地がないほど厳密に解明されているように見える。それにもかかわらず、ATP合成の仕組みが判然とした形となって現われてこない。釈然とさせない理由は幾つかある。以下その理由を挙げてみることにする。

第1の理由は、コンフォメーション変化という観念的な言葉を使うことから生まれたものである。 γ サブユニットがATP分解の場合とは逆方向に回転してATPが合成される場合、何がコンフォメーションの変化を引き起こすのか、またコンフォメーション変化に由来する分子内の機械的

な力がどのようにして脱水反応を伴う ADP の燐酸化反応を駆動するのかと言う点が具体的に検討されていない点である。

第 2 の理由は、内膜にある F_0c サブユニット環の回転が未だ実験によって示されていないことである。

第 3 の理由は、現在のところ、 H^+ 駆動力が c サブユニット環の回転力に変換される機構が明瞭にされていない点である。

第 4 の理由は、仮に c サブユニット環に回転力が発生したとしても、それを F_1 粒子内の $(\alpha\beta)_3$ 環の β サブユニットに伝える γ サブユニットがその力を伝えるのに十分な剛性を持っているとは考えられないことである。

第 5 の理由は、疎水性の強い c サブユニット環が疎水性環境に直接接触している状況のもとで、果たしてエネルギー損失が少なく効率的に回転するかと言う点である。

第 6 の理由は、 $(\alpha\beta)_3$ 環内を γ サブユニットが一巡すると 3 分子の ATP が合成されることになるが、 γ サブユニットが一巡するあいだに c サブユニット環も 1 回転し、10 個の H^+ がマトリクスに流入するとされている。1 分子の ATP 合成に 2 個より多い H^+ の流入を必要とする機構は余りにも非効率的である点である。

以上のように、現在提唱されているモデルには余りにも問題が多い。

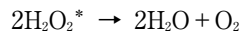
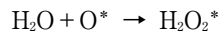
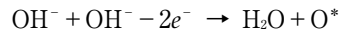
ATP 合成に関する新しい仮説

このコラムでは仮説を書くことが許されている、あるいはむしろ要求されていると思うので、以下に筆者の考えているところを述べさせてもらうことにする。

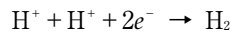
現在までに確実にになったことは、1) F_1 の β サブユニット数は 3 個であり、ある任意の時間断面で見ると、3 個の β サブユニットは空である状態 (β_E)、ADP と結合した状態 (β_{DP})、ATP と結合した状態 (β_{TP}) というそれぞれ互いに異なった状態にあること、2) $(\alpha\beta)_3$ 環内に中心軸から外れて γ サブユニットがあること、3) 内膜から切離された F_1 粒子に ATP を与えると γ サブユニットが

$(\alpha\beta)_3$ 環の中で回転することである。これらの事実と電気化学的によく知られている事とを考えあわせて新しい仮説を組み立てていくことにする。

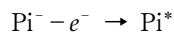
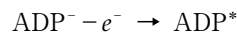
水の電気分解においては陽極で酸素ガスが発生し、その 2 倍量の水素ガスが陰極において発生する。陽極には負の電荷を持つ OH^- が電氣的に引き寄せられ、陽極に負の電氣量を渡し次の反応が起こる。

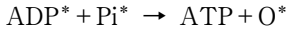


O^* はラジカル状の酸素である。陰極では正の電荷を持つ H^+ が電極に引付けられ、電極から負の電氣量を受け取り次の反応が起こる。

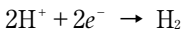


ミトコンドリア内液であるマトリクスはミトコンドリア外液に対して電氣的に大きく負である。もし内膜を貫いてイオンチャネル様のものがあり、その外膜側は外液に開口し、マトリクス側先端部分は電氣を伝える小さな栓によって塞がれ、その栓がマトリクスに突出していれば、その導電性の栓の電位はマトリクスの電位に対して局所的に大きく正となる。これは丁度水の電気分解における陽極と同じ状態である。マトリクス中に電氣的に正である小さいものが突出していれば、この小さいところに陰イオンが引き寄せられる。マトリクス内では ADP は ADP^- と H^+ に解離しており、燐酸もまた陰イオンと H^+ に解離している。マトリクスからこの電氣的に正である栓に通じる通路が ADP^- と Pi^- を選択的に通すならば、 ADP^- と Pi^- はこの電氣的に正である小さい栓に強く引き寄せられる。しかもこの栓の部分の電位がマトリクスに対して正である程度が強いほど、 ADP^- と Pi^- は強く、しかも互いに近くなるように引き寄せられる。更に、この栓は電氣を通しうるので、 ADP^- と Pi^- から負の電氣量がこの栓に渡され、 ADP^- と Pi^- はラジカル状態となり、ラジカル状態の酸素を 1 原子放出して互いに結合して安定した形となる (図 2 参照)。

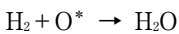




一方、このチャンネルの内腔はミトコンドリア外液とつながっているの、チャンネルのマトリクス側先端を閉ざす栓が負の電気量を受け取ると、栓が受け取ったこの負の電気量はチャンネル内の陽イオン（主としてH⁺）に渡され、栓のチャンネル側表面でH₂が発生する。

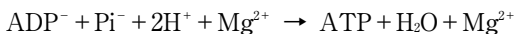


栓の中にユビキノンのようなH₂担体があればH₂はこの栓の中をマトリクス側へ拡散し、マトリクス側で発生したO*と結合して水が出来る。



具体的には、このチャンネル様のものはF₀のcサブユニット環内腔であり、栓の部分がF₁のγサブユニット、γサブユニットとマトリクスをつなぐ通路に相当する部分はβサブユニットである。

(αβ)₃環の中においてγサブユニットが接しているβサブユニットを通してγサブユニットにADP⁻とPi⁻が結合し、負の電気量がγサブユニットの導電性の部分を介してF₀のcサブユニット環内腔のH⁺に渡されると、ラジカル状の酸素が放出されてATPが生成し、βサブユニットはATPと結合した状態になる。βサブユニットがATPと結合した状態になると、このβサブユニットが変形（コンフォメーション変化）し、γサブユニットを空のβサブユニットに押しやり、今度はここにADP⁻とPi⁻がγサブユニットに引き寄せられ、負の電気量がγサブユニットに渡され、ATPとラジカル状の酸素が発生する。一方、先にATPが結合している状態になっているβサブユニットにはマトリクスからMg²⁺が拡散してきて、ATPはATP²⁻・Mg²⁺の状態となると共に2個のH⁺がマトリクスに出る。ATP²⁻・Mg²⁺はマトリクスに出て、一部はH⁺と結合して再びATPとMg²⁺になる。全体として2個のH⁺がミトコンドリア外からcサブユニット環を通してマトリクスに流れ込む形となる。この間に、ADP⁻とPi⁻から1分子の水が抜け、1分子のATPが生じたことになる。反応をまとめて書くと、次のようになる。



左辺のH⁺はミトコンドリア外液から流入したH⁺である。ADPおよびPiから解離した2個のH⁺は、外液から流入したH⁺に代わって、電子伝達系のマトリクス側界面に向かって流れ去る（図2参照）。

βサブユニットに結合しているATPがATP²⁻・Mg²⁺の状態となると、ATP²⁻・Mg²⁺はβサブユニットからマトリクスに出、βサブユニットは空の状態となると共に形（コンフォメーション）がもとの状態に戻る。つまり3つのβサブユニットは各々次のように経時的に変化する。

Time	βサブユニットの番号			γサブユニットが接するβサブユニット
	1	2	3	
T ₀	β _E	β _{TP}	β _{DP}	3
T ₁	β _{DP}	β _E	β _{TP}	1
T ₂	β _{TP}	β _{DP}	β _E	2
T ₃	β _E	β _T	β _{DP}	3
T ₄	β _{DP}	β _E	β _{TP}	1
T ₅	β _{TP}	β _{DP}	β _E	2
T ₆	β _E	β _{TP}	β _{DP}	3
...

γサブユニットが1番目のβサブユニットから2番目、3番目と変わるにつれてβ_{DP}の状態は1番目のサブユニットから2番目、3番目に移っていく。なお、γサブユニットがチャンネル様の構造を持つcサブユニット環のマトリクス側に栓のように押し込まれている状況では、マトリクスとγサブユニットとの間の電位差はミトコンドリアの膜電位とH⁺平衡電位との差になる。このことを説明すると余りにも長くなるので、機会があれば改めて説明する事にしよう。これに関連して、F₁粒子が内膜から切離された状態では、γサブユニットのF₀側はマトリクスと短絡しているの、βサブユニット内腔に接しているγサブユニットとマトリクスの上に電位差はない。この場合、F₁粒子に与えられたATPは自然に分解し、ATP合成時とは反対方向にγサブユニットは回転する。

マトリクスのADP濃度が非常に低ければ、γサブユニットが接しているβサブユニット内でATPの合成反応は起こらない。したがってこの場

合、 γ サブユニットの回転は起こらず、 H^+ は流入せず、酸素も消費されない。

逆にADP濃度が高くなると、 ADP^+ が β サブユニットを通り γ サブユニットに強く引きつけられ、前述の段階を経てATPが合成されると共に H^+ がミトコンドリア外液から内膜を貫いてマトリクスに流入したと表現できる現象が起こる。 H^+ がマトリクスに流入すると同時に電子伝達系を通して外向きに電流が流れ、電子伝達系のマトリクス側界面においては H_2 が発生するので、ここに接するシトクローム酸化酵素部位で酸素が消費され、水が生じ、電子伝達系の外膜側界面においては H_2 が消費され、 H_2 の消費が $NADH_2^+$ 濃度の低下と NAD^+ 濃度の上昇を来し、その結果TCAサイクルの各反応が進行する。これがADPの呼吸調節作用の分子機構であると考えられる。このモデルではATPが合成される度に水がマトリクス側に生じるので、ATPの合成と共にミトコンドリアが膨潤するであろうと予測される。しかし、実際にはATPが合成されている状態にあってもミトコンドリアは膨潤しない。このことはシトクローム酸化酵素の存在部位が実はマトリクス側でなく、外膜側にある事を示しているのかもしれない。シトクローム酸化酵素が外膜側にあるという免疫組織化学的報告もある。シトクローム酸化酵素が外膜側にあっても電子伝達系のマトリクス側界面とシトクローム酸化酵素をむすぶユビキノン系が存在する限り、シトクローム酸化酵素の存在部位

は H^+ 電気化学ポテンシャル勾配形成に影響を与えない。なお、 γ サブユニットには導電性の金属の様なものと H_2 運搬系であるユビキノンの様なものが共存しているのではないかと考えているので、有機溶媒を用いる結晶化といった方法でなく、もっと温和な方法で γ サブユニットの組成と構造を確かめて欲しい。

ミトコンドリア内外の H^+ 電気化学ポテンシャル勾配の発生が全く電気化学現象であるように、ATP合成反応も全く電気化学現象であろうと思う。最近の研究の進展を見ていると、論議がMitchell以前に戻ったような感をおぼえる。生命現象の研究者はもっと電気化学現象に親しみを持ってほしい。電気化学的思考こそ生理学に携わる人々の最も得意とする分野ではなからうか。最後に、事実と結論とを結ぶ思考をコンピュータに預けるのではなく、自分の頭で考えたいものである。

文 献

1. Boyer PD: The ATP synthase—A splendid molecular machine. *Annu. Rev. Biochem.* **66**: 717-749, 1997
2. Abrahams JP, Leslie AGW, Lutter R & Walker JE: Structure at 2.8Å resolution of F_1 -ATPase from bovine heart mitochondria. *Nature* **370**: 621-628, 1994
3. Stock D, Gibbons C, Arechaga I, Leslie AGW & Walker HW: The rotary mechanism of ATP synthase. *Current Opinion in Structural Biology* **10** (6): 672-679, 2000