- 26) W. Zillig, D. Schachtschabel u. W. Krone, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **318**, 100 (1960).
- 27) S. Osawa, Biochim. Biophys. Acta. **43**, 110 (1960).
- 28) E. Otaka and S. Osawa, Nature **185**, 921 (1960).
- 29) 尾崎正明, 内山敬康, 川出由己, 未発表.
- 30) S. W. Luborsky and G. L. Cantoni, Biochim. Biophys. Acta **61**, 481 (1962).
- 31) F. H. Bergman, P. Berg and M. Dieckmann, J. Biol. Chem. **236**, 1735 (1961).
- 32) G. K. Wong and K. Moldave, J. Biol. Chem. **235**, 694 (1960).
- 33) S. Benzer and B. Weisblum, Proc. Natl. Acad. Sci. **47**, 1149 (1961).
- 34) P. Berg, F. H. Bergmann, E. J. Ofengand and M. Dieckmann, J. Biol. Chem. **236**, 1726 (1961).
- 35) G. C. Webster, Biochem. Biophys. Res. Comm. **2**, 56 (1960).
- 36) J. Apgar and R. W. Holley, *ibid.* **8**, 391 (1962).
- 37) C. Yanofsky, D. R. Helinski and B. D. Maling, Cold Spring Harbor Symp. **26**, 11 (1961).
- 38) S. Benzer and S. P. Champe, Proc. Natl. Acad. Sci. **47**, 1025 (1961).
- 39) N. Sueoka and T. Yamane, *ibid.* **48**, 1454 (1962).
- 40) B. Weisblum, S. Benzer and R. W. Holley, Proc. Natl. Acad. Sci. **48**, 1449 (1962).
- 41) V. M. Ingram and J. G. Pierce, Biochemistry **1**, 580 (1962).
- 42) G. L. Cantoni, H. V. Gelboin, S. W. Luborsky, H. H. Richards and M. F. Singer, Biochim. Biophys. Acta **61**, 354 (1962).
- 43) P. C. Zamecnik, Biochem. J. **85**, 257 (1962).
- 44) S. Osawa, Biochim. Biophys. Acta **42**, 244 (1960).
- 45) K. Miura, *ibid.* **55**, 62 (1962).
- 46) S. Osawa and E. Otaka, *ibid.*, **36**, 549 (1959).
- 47) E. Fleissner and E. Borek, Proc. Natl. Acad. Sci. **48**, 1199 (1962).
- 48) J. L. Starr, Biochem. Biophys. Res. Comm. **10**, 428, 181 (1963).
- 49) T. Nihei and G. L. Cantoni, Biochim. Biophys. Acta. **61**, 463 (1962).
- 50) U. Lagerkvist and P. Berg, J. Mol. Biol. **5**, 139 (1962).
- 51) E. Herbert and C. W. Wilson, Biochim. Biophys. Acta **61**, 762 (1962).
- 52) K. Sato and F. Egami, J. Biochem. (Tokyo) **44**, 753 (1957).
- 53) P. Berg, U. Lagerkvist and M. Dieckmann, J. Mol. Biol. **5**, 159 (1962).
- 54) 多田満彦, 蛋白質・核酸・酵素, **4**, 241 (1962).
- 55) M. L. Stephenson and P. C. Zamecnik, Proc. Natl. Acad. Sci. **47**, 1627 (1961); Biochem. Biophys. Res. Comm. **7**, 91 (1962).
- 56) H. G. Zachau, M. Tada, W. B. Lawson and M. Schweiger, Biochim. Biophys. Acta **53**, 221 (1961).
- 57) K. Tanaka and G. L. Cantoni, *ibid.*, **61**, 846 (1962).
- 58) P. Doty, H. Boedtker, J. R. Fresco, R. Haselkorn and M. Litt, Proc. Natl. Acad. Sci. **45**, 482 (1959).
- 59) J. R. Fresco, B. M. Alberts and P. Doty, Nature **188**, 98 (1960).
- 60) M. Spencer, W. Fuller M. H. F. Wilkins and G. L. Brown, Nature **194**, 1014 (1962).
- 61) G. L. Brown and G. Zubay, J. Mol. Biol. **2**, 287 (1960).
- 62) M. Takanami, T. Okamoto and I. Watanabe, J. Mol. Biol. **3**, 476 (1961).
- 63) M. Arcà, C. Calvori, L. Frontoli and G. Tecce, Biochem. Biophys. Res. Comm. **10**, 117 (1963).
- 64) Y. Kawade, Ann. Rept. Inst. Virus Research, **2**, 219 (1959).
- 65) J. T. Penniston, Ph. D. Thesis, Harvard Univ. 1962.
- 66) R. A. Cox and U. Z. Littauer, J. Mol. Biol. **2**, 166 (1960).
- 67) Y. Kawade and P. Doty, unpublished.
- 67 a) S. Nishimura and G. D. Novelli, Biochem. Biophys. Res. Comm., in the press.
- 68) S. A. Yankofsky and S. Spiegelman, Proc. Natl. Acad. Sci. **48**, 1069, 1466 (1962).
- 69) H. M. Goodman and A. Rich, *ibid.* **48**, 2101 (1962).
- 70) D. Giacomoni and S. Spiegelman, Science **138**, 1328 (1962).
- 71) J. Marmur and D. Lane, *ibid.*, **46**, 453 (1960); P. Doty, J. Marmur, J. Eigner and C. Schildkraut, *ibid.*, 461.
- 72) M. Takanami and T. Okamoto, Biochim. Biophys. Acta, in the press.
- 73) M. Takanami, Biochim. Biophys. Acta, **61**, 432 (1962); 蛋白質・核酸・酵素, **6**, no. 11 (増), p. 36.

生体高分子 (主として蛋白質) の X 線構造解析の最近の動向

大阪大学 笹田 義 夫*

1962年度の Nobel 化学賞が Perutz, Kendrew に、医学賞が Watson, Crick, Wilkins にあたえられたのは、このように地味な構造研究の重要さがみとめられ

たものでよろこばしいことであった。この際、生体高分子とくに蛋白質の X 線の研究の発展をふり返り、現在どのような仕事が行われているか、又、今後の問題

* Yoshio Sasada, Institute for Protein Research, Osaka University.

について考えておくことは、有益であろうと思われる。幸い筆者は昨年この方面の研究の中心であるCambridgeのMolecular Biologyの研究所に滞在したので、その際の見聞もふくめて、少しく述べてみたい。

蛋白質や核酸の分子の三次元的構造の完全な解明は複雑微妙な分子レベルの生命現象を根本的に理解する基礎となるであろう。構造の研究には化学的、物理的のあらゆる方法がこころみられた。例えばSangerらによるinsulin分子中のアミノ酸残基の配列順序の決定は、化学的方法の大きな可能性を示し、つづいて多くの蛋白質分子、例えばribonuclease, cytochrome cなどの化学構造が知られるようになった。溶液の物性からは、分子全体の形、大きさなどが求められ、又、とくに旋光分散などによって、分子のらせん構造の含量を求めることも、有用な知見をあたえてくれる。しかし分子内の原子の三次元的配列の全貌は、これらの結果からだけでは、何ら確定的な予測をすることは出来ない。これらの分子が結晶化するときには、その結晶構造の研究から分子内の原子の全配列をきめることが、少くとも現在のところ、唯一つの途である。X線による構造解析は、主としてBragg一門が1910年代に、簡単な無機化合物の原子的構造をあきらかにして以来、理論と実験の進歩により着々とその適用範囲がひろげられて、例えば種々のアミノ酸、低級ペプチドの分子の形、原子間距離、原子価角、水素結合の様式などの知識も、ほとんどがこれらの結晶解析の研究から得られたものである。ところで結晶からのX線回折波は、その振巾のみが実験的に求められて、その位相に関するデータは得られないということが一つの難点である。もしあらゆる回折波の振巾と位相とが求められるならば、あとはただ計算の手間だけの問題で結晶内の電子密度分布、従って原子配列が決定できる。それで、X線構造解析は必要なデータの半分しか持たないで問題を解かねばならない状況にある。低分子の場合には、分子構造に関する知識は大なり小なりすでに知られているので、これから位相を推定して、逐次正しい位相に改良して行くという手続によるわけであるが、蛋白質の場合には、このような手掛りは全くなかった。

Bragg, Bernalらの達見により、蛋白質結晶解析をPerutzら¹⁾がはじめたのは、1937年のことであったが、上にのべたような困難のため、はたして蛋白質の

構造がX線解析の方法でもとめられるかどうかについては、かなり最近まで悲観的な見通しをもつ人が多かったようである。Perutzらの仕事ははじめ数年の間、見るべき成果をあげなかったのも、又、その後蛋白質の構造解析をはじめた二三の研究者が、一時的にせよその研究を放棄したのも止むを得なかったといえる。しかしPerutzらの仕事は第二次大戦による短い中断をのぞいて営々とつづけられ、1947年以来はBritish Medical Research Councilの強力な援助もあって、Cavendish Laboratoryの中庭にMolecular Biologyの研究施設が設けられ²⁾、Perutz, Kendrew, Crickらを中心として蛋白質のX線解析グループが集った。又同じMedical Research Councilの援助で、LondonのKing's CollegeでWilkins, Franklinら³⁾が核酸、ウィールスの研究をはじめた。Wilkinsらの得たDNAセンイの美しい回折写真をもとにして、当時らせん状分子からのX線回折現象の理論的研究を行っていたCrick, 米国からCambridgeに来ていたWatsonとの討論から、核酸の二重らせんモデルが提出され⁴⁾、これが、ある意味では現代の分子遺伝学の基礎となったことは、よく知られている。

球状蛋白質の結晶の研究は、もっと正統的な結晶学の手法によって行われる筈のものであるが、それに伴う上記の難点を克服する方法が、1953年Perutzら⁵⁾によって見出された。これがいわゆる同型置換法で、これからはじめて蛋白質の分子構造を、何らの仮定なしに導こうという計画に、明るい見通しが得られたわけである。同型置換法による解析の方法の発展については、すぐれた数学者でもあるCrickが大きく寄与している。

1958年Kendrewらの発表したmyoglobinの三次構造は、蛋白質分子の予想外に複雑な様相をはじめて人に示したものであり⁶⁾、ひきつづいて1960年、2 Å分解能の電子密度分布の解析で、右まき α -らせんの存在を確証し、多くの側鎖の同定を行った⁷⁾。一方1960年Perutzらはmyoglobinの約4倍の大きさの蛋白質haemoglobinの三次構造を見出し、これとhaemoglobinの機能、性質との関連を論じた⁸⁾。これらの成果は蛋白質の構造化学の門を大きくひらいたものである。

現在CambridgeのMolecular Biologyの研究所はSangerらの蛋白質化学のグループを加えて、Perutz, Kendrewらの構造研究グループ、Crick, Brennerら

* 昨年2月郊外の新研究所に移転した。

の Molecular Genetics のグループより成り約70人ほどの人が、緊密な協力の下に働いている。ここに限らず一般に英国の研究室は新しい装置を何もかもそろえようという風はなく、むしろ非常に厚い研究者の層がそれぞれの個性を充分発揮しながら、しかも何時の間にか、うまく組織された形で、みのり豊かな問題にとっくんでいるように見える。

Kendrew らの myoglobin の仕事は、現在 1.5 Å 分解能の解析によって myoglobin 分子の細部まで知ると同時に、結晶内に入っている水分子の動静もだんだん明らかになっている。又 myoglobin の機能をしらべるための一つのモデルとしてアザイドを導入したものの解析も行われて、アザイドの導入がヘムの向きに少しく影響を及ぼすことを示した。

Perutz らは haemoglobin の解析の分解能を 1.5 Å にますためのデータを集めること (自動カウンター方式による)、及びいろいろの種のいろいろの状態のヘモグロビンについてその構造のちがいを研究している。すでにウマの oxyhaemoglobin の他、ヒトの還元型 haemoglobin, ヒトの oxyhaemoglobin の 5.5 Å 分解能の解析を完了し、還元型と酸化型で α 鎖と β 鎖との相対位置が 7 Å ほどずれることを見出した。あたかも haemoglobin 分子自身が、酸素を呼吸して形をかえるようで興味あることである。いろいろの haemoglobin 構造の関係をみるため rotation function という方法が Rossmann ら⁹⁾により提唱されて有効に用いられた。その他 chymotrypsin, 六方晶系の insulin (Oxford の Hodgkin らと協同) cytochrome c などの解析を進行中である。又、球状ウィールスの高次構造の研究も行われている。

London の Royal Institution では Phillips, North, ら⁹⁾ (いずれも haemoglobin, myoglobin の仕事の協力者であった) が lysozyme の構造を、Birkbeck College では Carlisle ら¹⁰⁾が ribonuclease の構造の研究を行っている。

又、King's College の Wilkins ら¹¹⁾は RNA の構造研究をすすめている。

オランダの Groningen では、J. Drenth ら¹²⁾が papain の構造を研究しており、現在三次元データをあつめつつある。その他 Upsala で Strandberg ら¹³⁾がこの方面の研究をはじめようとしている。

一方アメリカでは C. I. T. の Corey, Marsh ら¹⁴⁾が lysozyme chloride に Nb, Ta の錯イオンを入れたものを用いて、又 Illinois の Dickerson ら¹⁵⁾が lysozyme の nitrate を用いて構造研究をすすめている。

Washington の Kraut ら¹⁶⁾が chymotrypsinogen を、N. I. H. の Davies, Coulter らが γ -chymotrypsin を、Roswell Park Memorial Institute の Harker, Kartha ら¹⁷⁾が ribonuclease を、Columbia の Low ら¹⁸⁾が insulin (orthorombic) の研究を、又 Baltimore の Dintzis らは TMV の sub unit の蛋白質の研究を行っている。この中 lysozyme については Corey Marsh の結果は Philips らの結果と 6 Å 分解能の段階でよく一致した結果をあたえるが、nitrate の結果は必ずしも一致せず、これが nitrate と chloride で蛋白質の分子構造自身がかわるためかどうかは今後の問題である。insulin は最小の蛋白質分子であるが、かえてこのために重原子が入ると分子自身の配列に少しく変化がおこって、同型置換法がそのまま適用できないため、未だ分子の全体的な配列についてしか議論できない。

又核酸関係については Harvard の A. Rich らが合成ポリヌクレオチドについての X 線的研究をつづけている。

アメリカでは、C. I. T. のような古い伝統をもつ研究室は別として、やや研究が散発的で、又、かなりの年月を要する仕事を、ある程度まで固定したスタッフで行うことが、困難であるように見え、この点、英国の行きかたと対照的であってその功罪は考えるべき問題をふくんでいる。

Perutz, Kendrew の成功を期として蛋白質の構造化学の可能性がひらかれたため、いろいろの所で、この方面の研究を新たに、又はより強力にすすめようとする機運がおこっており、人の動きもはげしく Dickerson が C. I. T. に、Kraut が Univ. of California (San Diego) に、又英国から Rossmann, McGandy らが Purdue に移るようである。

装置の面では、回折強度の自動測定、解析の計算を電子計算機にのせる問題は、原理的には解決済みである (とくに米国では I. B. M. 7090 級の計算機はほとんど自由に用いられる)。ただ現在の解析は、主として重原子同型置換法によっているため、重原子の入った同型置換結晶を得ることが条件で、このためには重原子と蛋白質の結合のメカニズムの研究が必要であるし、又、蛋白質自身の結晶を大きく (0.5 mm 程度の大きさのものが得られれば、理想的である) 生長させる方法を組織的にしらべるものぞましい。一方 insulin のように重原子がうまく入らぬものもあるし、又分子量が10万以上のものには、いろいろ新しい困難が出て来るので、新しい解析法の研究も必要である。

いずれにしても蛋白質の分子構造は、われわれの想像よりも、はるかに複雑なものであった。すでに決定された二三の蛋白質の構造だけから、構造と機能についての一般的な見通しをひき出すことは不可能で、いろいろの型の蛋白質分子の構造決定をすることが、当面の問題となるであろう。

文 献

- 1) J. D. Bernal, I. Fankuchen & M. F. Perutz: Nature, **141**, 523 (1938).
- 2) M. H. F. Wilkins, A. R. Stokes & H. R. Wilson: Nature, **172**, 759 (1953), R. E. Franklin & R. G. Gosling: Nature, **171**, 737 (1953).
- 3) J. D. Watson & F. H. C. Crick: Nature, **171**, 737 (1953). F. H. C. Crick & J. D. Watson: Proc. Roy. Soc. A **223**, 80 (1954).
- 4) D. W. Green, V. M. Ingram & M. F. Perutz: Proc. Roy. Soc. A **225**, 287 (1954).
- 5) J. C. Kendrew, G. Bodo, H. M. Dintzis, R. G. Parrish, H. W. Wyckoff, & D. C. Phillips: Nature, **181**, 662 (1958).
- 6) J. C. Kendrew, R. E. Dickerson, R. E. Strandberg, R. G. Hart, D. R. Davies, D. C. Phillips & V. C. Shore: Nature, **185**, 422 (1960).
- 7) M. F. Perutz, M. G. Rossmann, A. F. Cullis, H. Muirhead, G. Will & A. C. T. North: Nature, **185**, 416 (1960).
- 8) M. G. Rossmann & D. M. Blow: Acta Cryst., **15**, 24 (1962).
- 9) C. C. F. Blake, R. H. Fenn, A. C. T. North, D. C. Phillips & R. J. Poljak: Nature, **196**, 1173 (1962).
- 10) H. C. Carlisle: Brookhaven Symposia in Biology で講演 (1962年6月).
- 11) M. F. H. Wilkins: International Symposium on Protein Structure and Crystallography (Madras) で講演 (1963年1月).
- 12) J. Drenth, J. N. Jansonius, R. Koekoek, J. Marrink, J. Munnik & B. G. Wolthers: J. Mol. Biol., **5**, 398 (1962).
- 13) B. Strandberg, B. Tilander, K. Fridborg, S. Lindskog & P. O. Nyman: J. Mol. Biol., **5**, 583 (1962).
- 14) R. H. Stanford, Jr., R. E. Marsh, R. B. Corey: Nature, **196**, 1176 (1962).
- 15) R. E. Dickerson, J. M. Reddy, M. Pinkerton & L. K. Steinrauf: Nature, **196**, 1178 (1962).
- 16) J. Kraut, L. C. Sieker, D. F. High & S. T. Freer: Proc. Natl. Acad. Sci., **48**, 1417 (1962).
- 17) D. Harker, G. Kartha, J. Bello & F. E. De Jarnette: A. C. A. meeting で講演 (1962年6月).
- 18) J. R. Einstein, A. S. McGavin & B. W. Low: Proc. Natl. Acad. Sci., **49**, 74 (1963).

化学

6月号

B5判 88ページ

定価150円(〒12円)

〈巻頭言〉宇宙旅行と生物化学(浮田忠之進)
 〈解説〉低温での遊離基の捕捉(関集三)・イオン反応の反応種の問題-III(石井義郎)・不織布とその最近の問題(辻和一郎)・密閉室とその医学と化学(高橋和民)・6月に来日される Henry Eyring 博士(平井西夫)・いろいろな識物撥水剤(藤本武彦)
 〈日本の化学を築いた人々-XXIX〉中沢岩太先生(中沢良夫)
 〈新しい化学反応〉新しい染料(小田良平)
 〈連載講座〉機器分析講座XIII-赤外吸収分析(熊沢善三郎)・立体化学講座XV I-反応機構と立体化学-III(守谷一郎・谷口宏)
 〈1962年の化学-VI〉無機化学-ジオール塩の結晶構造・分析化学-有機溶媒および有機ポーラログラフ分析法-II・放射化学-(α , β)反応の断面積・有機化学-シアノエチル化反応とシアノメチル化反応・無機工業化学-試作された燃料電池・有機工業化学-有機合成化学反応-VI・高分子化学-ゴムの化学

好評の化学増刊・近刊予告

化学増刊 12

触媒の化学と工学

★6月末刊★

B5判 250ページ

予定価 700円

鍵谷勤・小林晴夫・斎藤弘太郎・田丸謙二・寺西士一郎 共編

「触媒化学(化学増刊2)」が発刊されて6年、その後の触媒化学の進歩発展を解説するのはもちろんのこと、その工学的取扱いをも併せて解説する意図のもとに、基礎編・工学編に編集の重点をおき、応用編としてトピックスを加え、それぞれ第一線で活躍の方がたにより解説する。

京都市中京区柳馬場御池下ル・電話 075-21-0938, -22-3937・振替京都 5702 番

化学同人