ヘリックス-コイル転移の運動学

京都大学 基礎物理学研究所 松田 博 嗣*

ヘリックス-コイル転移のように、蛋白質の立体構造の変化に関連した動的性質の研究は、酵素活性のような分子機能を理解する上に重要な役割をするであろう。ポリペプチドの2次構造に見られるようなヘリックス構造が、溶液の温度、溶媒の混合比、あるいは水溶液における pH やイオン強度などの環境パラメータでランダム・コイル構造に変化するものが、いわゆるヘリックス-コイル転移である。与えられた環境での平衡状態におけるヘリックス含量等、静的性質については、理論的にも実験的にも多くの研究が積み重ねられ、その特質は Zimm-Bragg または Lifson-Roig のモデル^{1),2),3)}によって、ほぼ理解されることが分かった。したがってヘリックス-コイル転移の運動学もこれらのモデルから出発して論じようとするのは自然な考え方であり、この線に沿っていくつかの研究が行なわれてきた。以下これを概観することにする*。

1. Zimm-Bragg (ZB) モデル¹⁾ と Lifson-Roig (LR) モデル²⁾

ポリペプチドは図1に示すような構造をもっている。この分子はRのついたCから出る2つのボンドC-NとC-Cのまわりに分子内回転が許される。図のよう

図1. ポリペプチド
点線は α -ヘリックスを作ったときにできる水素結合。 ϕ , ψ は結合軸のまわり内部回転角。

に、その角度を (ψ_j, ϕ_j) , $(j=1, 2, \dots, N)$ とすると、ポリペプチド分子が α -ヘリックスになっているときは、 (ψ_j, ϕ_j) の値はある狭い領域内にあり、このとき、 j 番目のアミノ酸残基は h 状態にあると呼ぶ。もしそ

の領域外にあるならば、残基は c 状態にあるという。 $j-1, j, j+1$ 番目の残基がすべて h 状態にあれば、図の点線で示すように、NとOの間に水素結合が一つ作られ、これを第 j 番目の水素結合は状態1にあると呼ぶ。もしこの3つの残基の中、1つでも c 状態にあると、上の水素結合は切れ、第 j 番目の水素結合は状態0にあると呼ぶことにする。Zimm-Bragg (ZB) は水素結合の状態に注目して、上記0または1よりなる数列で分子の状態を表し、Lifson-Roig は残基の状態に注目して、上記 h または c よりなる列で分子状態を表した。

LR モデルにおいては h 状態は許される分子内回転角の領域が c 状態に比べて狭く限られていること、相続く3つの h 状態に対しては水素結合が一つ生ずるため、ポテンシャルエネルギーが下り安定化することを考慮して、 c には因子 u 、両隣が共に h である h には因子 w 、そうでない h には因子 v を対応させ、 c と h の数列によって与えられた分子状態の熱平衡における実現確率は、これらの積に比例するとしている。

表1の例から分かるように、LR モデルの一つの分子状態に対して、ZB モデルの分子状態が一義的に定まる。しかし与えられた ZB モデルの分子状態に対

応する LR モデルの状態は必ずしも一つに限らず、たとえば表1の(v)のような状態も(iii)に対応している。ただし $v/u \ll 1$ であるので、実現確率から見ると(v)の方が重要である。したがって両方のモデルで(iii)と(v)が等しい実現確率をもつように、ZB モデルの分子状態

に対しては、1に隣らない0に対して因子1、1に対しては因子 $s=w/u$ 、1に隣る0に対しては $\sqrt{\sigma} = v/u$ を対応させ、その積で状態実現の相対確率を(iv)のように表わすことができる。

相続く0の数が2以下のZBモデルの状態に対応するLRモデルの状態はなく、このような状態は分子の構造上、実現不可能である。しかし容易に想像されるように、 $\sigma \ll 1$ である限り、上のような状態を予め

Kinetics of Helix-Coil Transition;

* Hirotugu MATSUDA: Research Institute for Fundamental Physics, Kyoto University.

* DNA のヘリックス-コイル転移についても同様の問題があるが、紙数の関係でここでは立入らぬこととする^{4),5)}。

表 1.

(i): LR モデルの状態	c	c	h	h	h	h	c	h	h	h	c	c	h	c	h	h	c	c
(ii): (i)の相対実現確率	u	u	v	w	w	v	u	v	w	v	u	u	v	u	v	v	u	u
(iii): (i)に対応する ZB モデルの状態	0	0	0	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(iv): (iii)の相対実現確率	1	1	$\sqrt{\sigma}$	s	s	$\sqrt{\sigma}$	1	$\sqrt{\sigma}$	s	$\sqrt{\sigma}$	1	1	1	1	1	1	1	1
(v): (iii)に対応する LR モデルの状態	c	c	h	h	h	h	c	h	h	h	c	c	c	c	c	c	c	c

排除しておくかどうかは余り重要でない。実際、たとえばヘリックス構造をとる残基数の全残基数 N に対する割合 θ_h とか、1個のヘリックス部分に含まれる平均残基数とかの平衡状態での値は N, s, σ によって決まり、 $\sigma \ll 1$ ではモデル依存性はなくなる。ここに σ は分子構造によって定まり、環境の変化は主に s の値に変化を与えるものと考え、 σ の値として、たとえばポリ- γ -ベンジル-L-グルタメイトでは $\sqrt{\sigma} = 0.0141$ と取ると実験値がよく再現されることが知られている。 $N \gg 1/\sqrt{\sigma}$ のときは上のような量の平衡状態での値は $N \rightarrow \infty$ の極限値にほぼ一致する。この場合 θ_h がほぼ1からほぼ0に急激に変化するヘリックス-コイル転移は、 s の値が1の前後 $\sqrt{\sigma}$ 程度の巾の領域を動くときに起こることが示される。

2. ヘリックス-コイル転移の時間的发展⁶⁾

同じ構造をもつ互いに独立なポリペプチドの集団を考える。時刻 t で分子状態が i である分子の割合を $f_i = f_i(t)$ とし、 f_i の時間変化は

$$\frac{df_i}{dt} = \sum_k \alpha_{ik} f_k \quad (1)$$

で与えられるとする。 k 状態より i 状態への単位時間当りの遷移確率 α_{ik} は環境パラメータ s に依存する。すると前節で述べたような分子状態の関数である物理量の集団平均 θ の時間変化は、(1)より定まる緩和時間 τ_s ($s=1, 2, \dots, 2^N-1$)と係数 β_s を用いて一般に

$$\theta(t) = \theta(\infty) + \sum_s \beta_s \exp(-t/\tau_s) \quad (2)$$

と表される。

N が大きいとき、(1)より緩和時間 $\{\tau_s\}$ を求めることは容易ではないが、緩和時間の逆数の平均 $1/\tau^*$ 、その2乗の平均 $(1/\tau^2)$ は

$$\frac{1}{\tau^*} = \frac{\sum \beta_s / \tau_s}{\sum \beta_s} = \frac{1}{\Delta \theta} \left(\frac{d\theta}{dt} \right)_{t=0}, \quad (3)$$

$$(\Delta \theta \equiv \theta(\infty) - \theta(0))$$

$$\frac{1}{\tau^2} = \frac{\sum \beta_s \tau_s^2}{\sum \beta_s} = - \frac{1}{\Delta \theta} \left(\frac{d^2 \theta}{dt^2} \right)_{t=0} \quad (4)$$

でそれぞれ与えられる。今ある環境で平衡状態にある集団が $t=0$ で突然別の環境に置かれ、新しい平衡状態に移行して行く過程を考えると、(3)、(4)の右辺は初期分布 $\{f_i(0)\}$ より比較的容易に求められるので、緩和時間のおよその見当をつけることができる。これを実行するためには、まず α_{ik} を具体的に与えるようなモデルを設定せねばならない。

3. 種々の動的モデル

⁶⁾ Schwarz は ZB モデルによって時々刻々の分子状態を表わし、状態間転移の素過程としては、前記0と1の数列の中、他はそのままでどこか一カ所だけの0か1かが1または0に転移する single jump の過程のみを考えた。そして、その反応係数は反応箇所の両隣の状態により、表2の(i)に示すように与えられるとした。ただし逆反応は最終的に分布が平衡分布に達するための条件である詳細釣合の条件から定められる。

一方 LR モデルにもとづいて、やはりどこか一カ所だけの状態変化 $h \rightleftharpoons c$ を素過程と考える single jump モデルを考えることもできる。ここで $c \rightarrow h$ の過程では水素結合を切るためのエネルギーは不要であるので、反応係数は常に k_f で与えられると仮定する。すると $h \rightarrow c$ の過程では、反応に伴って切れる水素結合の数を n とすると、詳細釣合の条件からその際の反応係数は

$$k_b(n) = k_f s^{-n} \sigma^{(n-1)/2}, \quad (n=0, 1, 2, 3) \quad (5)$$

で与えられる。

表2で(ii)の欄に(i)に対応する過程を上げた。(II)、(ii)は素過程ではなく、(ii')のような複合過程となる。しかし $\sigma \ll 1$ のときは、 $k_f \ll k_b(0)$ となるため、最後の過程が起こるまでに、最初の2つの過程で結ばれた状態間にはほぼ平衡が成り立ち、全過程の反応係数は大体 $k_f^2/k_b^2(0)$ で与えられることになる。ま

表 2.

I. ヘリックスまたはコイル部分の生長過程

(i) 0 0 1 $\xrightleftharpoons[k_B]{k_F}$ 0 1 1

(ii) c c h h h $\xrightarrow{k_f}$ c h h h h

II. ヘリックスの核生成過程

(i) 0 0 0 $\xrightleftharpoons[\tau_H k_B]{\sigma \tau_H k_F}$ 0 1 0

$(1 \leq \tau_H \leq 1/\sqrt{\sigma})^*$

(ii) c c c c c $\xrightarrow{\sim k_f^2/k_B^2(0) = \sigma k_f}$ c h h h c

(ii') (c c c c c $\rightarrow$ c c h c c $\rightarrow$ c h h c c $\rightarrow$ c h h h c)

III. コイルの核生成過程

(i) 1 1 1 $\xrightleftharpoons[\tau_C k_F]{\sigma \tau_C k_B}$ 1 0 1

$(1 \leq \tau_C \leq 1/\sqrt{\sigma})^*$

(ii) h h h h h $\xrightarrow{k_B(3) \equiv \sigma k_B(1)/s^2}$ h h c h h

(i') (1 1 1 1 1 $\rightarrow$ 1 1 0 1 1 $\rightarrow$ 1 0 0 1 1 $\rightarrow$ 1 0 0 0 1)

$\sim \sigma \tau_C k_B/s^2$

* 核生成が生長より起こりにくいことから、 τ_H, τ_C は $1/\sigma$ を超えぬことが分かる。これらが $1/\sqrt{\sigma}$ 以下ということは余り根拠はないが、このように仮定すると、 $\sigma \ll 1$ で (7) は τ_H, τ_C の値に無関係に成り立つことが示される。

た (III), (ii) は正確には (III), (i') に対応して、複合過程となるが、 $\sigma \ll 1$ ならば全過程の反応係数はほぼ $(\sigma \tau_C k_B)(k_B/k_F)^2 = \sigma \tau_C k_B/s^2$ で与えられる。したがって $k_F = k_F, k_B = k_B(1), \gamma_B = \gamma_C = 1$ と取れば、2つの動的モデルはほぼ同等である。

Poland-Scheraga は RL モデルにもとずく、さらに現実的なモデルとして、一般に任意の j, i に対し、相続く j 個の水素結合が切れて、幾つかの h が c になる過程、相続く i 個の c が同時に h になる過程を素過程に取り入れ、その反応係数をそれぞれ

$$k_{hj} = (\sqrt{\sigma}/s)^j k, \quad k_{ji} = (\sqrt{\sigma})^i k \quad (6)$$

と与え、動的分配関数 (kinetic partition function) なる量を導入して、巧妙な計算により (3) の右辺を求めた。(5) と (6) は i を 1 に限り、 $k_{j1} = k_F$ とおけば対応関係は明らかである。また $\sigma \ll 1$ ならば大きい i, j に対する過程は重要でなくなる。

このように、 $\sigma \ll 1$ における種々のモデル間の密接な関係が分かったが、実際計算の結果によると、モデルによらず、 $s-1 = O(\sqrt{\sigma})$ なる転移領域で次の結果が得られる。今、(3) 式の θ を結ばれている水素結合の

数の全残基数に対する割合とすると、 $4\theta \rightarrow 0$ の極限で

$$\frac{1}{\tau^*} = k_F \{(s-1)^2 + 4\sigma\} \quad (7)$$

となる。したがって τ^* の最大値は

$$\tau_{\max}^* = 1/(4\sigma k_F) \quad (8)$$

である。

ヘリックス生長の素過程は拡散により律速された水素結合の生成である。すると、 k_F は $10^{10} \sim 10^{11}$ 秒の程度と予想される⁸⁾。ゆえに $\sigma = 10^{-4}$ とすると、 $\tau_{\max}^* = 10^{-7}$ 秒と評価される。

4. 実験との比較と討論

Lumry⁹⁾ らのポリ- α -L-グルタミン酸の水溶液における温度ジャンプ法による測定の結果は、ヘリックスよりコイルへの転移は常に 10^{-5} 秒より短い時間内に起こってしまうことを示している。また種々の振動数の音波の吸収による測定より緩和時間の下限が得られ、結局

$$2 \times 10^{-8} \text{ 秒} \leq \tau_{\max}^* < 10^{-5} \text{ 秒} \quad (6)$$

であることが推定された。

さらに Schwarz¹⁰⁾ らは誘電緩和現象に着目して測定を行なった。ヘリックス部分は双極子能率をもち、この双極子はランダムコイルになると近似的になると考えると、誘電緩和としては、通常の分子におけるような分子回転に伴う双極子能率の回転によるもの。他に、ヘリックスコイル転移に伴うものが存在することになり、これは特に $s=1$ 近傍、転移が起こるあたりで顕著に観測されるはずである。このことはポリ- γ -ベンジル-L-グルタメイトについての実験で見事に裏書され、転移の中心 $s=1$ の所で実験的に $\tau_{\max}^* = 5 \times 10^{-7}$ 秒が得られた。

三重水素-水素置換の実験は置換反応が水素結合ができているときには切れているときに比べて著しくおそいことを利用して、ヘリックスコイル転移の機構を探ろうとするものである。¹¹⁾ 置換反応は分のオーダーの時間単位で起こるので、ポリ-L-グルタミン酸の場合 $\tau_{\max}^*$ に対する直接的な情報は得られなかったが、置換反応速度に比べて、ヘリックスコイル転移の緩和時間は遙かに短いと考えてよいことが分かった。

このように Schwarz の緩和時間の評価の正当性は、

一応実験的に確認され、少なくともポリグルタミン酸のようなホモポリマーに関する限り、静的性質のみならず、動的性質も ZB モデル, LR モデル, いずれにもとずいても, $\sigma \ll 1$ のおかげで同等にその本質を理解し得るようである。

むしろ, 異論もあり得るわけで, 実際理論は初期緩和時間を計算したに留まるから, 温度ジャンプの実験は別として, 他の実験できいてくる緩和時間との対応が明らかでない。¹²⁾ かりに(3)に与えたように, それがすべての緩和時間の逆数の平均という意味をもつにしても, (4)を用いると, その標準偏差 $\beta \equiv \sqrt{(1/\tau - 1/\tau^*)^2} / (1/\sigma^*)$ は 5 と評価され, τ^* よりかなり長い緩和時間の存在を許すことになる。⁶⁾

この疑問に解析的に答えることは容易ではないが, 計算機シミュレーションにより探りを入れることができる。¹³⁾ Craig-Crothers は Schwarz モデルに対し, 筆者らは LR の single jump モデルに対して θ の平衡に近づくまでの時間変化をシミュレートさせた。結果はいずれも最終的な平衡状態における値 θ_f からのずれ $|\theta - \theta_f|$ が小さい所では, 自由度有限のため $\ln |\theta - \theta_f|$ に現われるゆらぎの効果を除いては, θ の時間変化はほぼ単一の緩和時間で記述され, しかもその緩和時間は(7)を用いて得られるものと, 表 3 の比較のようにはほぼ一致していることが知れた。このことは τ^* が初期緩和時間という以上に, ヘリックス-コイル転

移を支配している緩和時間を与えていることを示唆する。

表 3.

図 2 より推定された緩和時間 τ と(7)より得られた τ^* の比較¹⁴⁾

s	τ	τ^*
0.95	~ 500	785
1.00	~ 650	835
1.05	~ 1250	785

このようにホモポリマーの場合はかなり転移の本質が明らかになったが, より実際の蛋白質に近いコポリマーの場合はまだはっきりしていない。グルタミン酸とアラニンとのコポリマーの水素置換の実験によれば, アラニン含量が70%を越す場合, 低い pH 領域では, ヘリックス部分はすみやかにコイルに転移し得る“柔い”部分とヘリックス状態が安定な“堅い”部分とからなることが示唆されている。¹⁵⁾ このような現象も果たしてホモポリマーの理論の簡単な拡張で理解し得るかどうかは, 今後の興味ある課題であろう。

図 2. LR の single jump モデルについての計算機実験¹³⁾
 $N=200$, $k_f=0.03$, $\sigma=0.01$

文 献

- 1) B. H. Zimm, J. K. Bragg: *J. Chem. Phys.*, **28**, 1246 (1958); **31**, 526 (1959)
- 2) S. Lifson, A. Roig: *J. Chem. Phys.*, **34**, 1963 (1961)
- 3) 総報としては、たとえば
齊藤信彦, 郷通子: 生物物理学講座 (日本生物物理学会編), **4**, 65, 吉岡書店, 京都 (1965)
- 4) 寺本英: 生物物理学講座 (日本生物物理学会編), **5**, 179, 吉岡書店, 京都 (1966)
- 5) N. S. Goel: *Biopolymers*, **6**, 55 (1968)
- 6) G. Schwarz: *J. Mol. Biol.*, **11**, 64 (1965)
- 7) D. Poland, H. A. Scheraga: *J. Chem. Phys.*, **45**, 2071 (1966)
- 8) K. Bergmann, M. Eigen, L. de Maeyer: *Ber. Bunsenges. Physikal. Chem.*, **67**, 826 (1963)
- 9) R. Lumry, R. Legare, W. G. Miller: *Biopolymers*, **2**, 489 (1964)
- 10) G. Schwarz, J. Seelig: *Biopolymers*, **6**, 1263 (1968)
- 11) A. Ikegami, S. Yamamoto, F. Osawa: *Biopolymers*, **3**, 555 (1965)
- 12) N. Go: *J. Phys. Soc. Japan*, **22**, 416 (1967)
- 13) M. E. Craig, D. M. Crothers: *Biopolymers*, **6**, 385 (1968)
- 14) 萩田直史, 米沢富美子, 上田顯, 松原武生, 松田博嗣: 日本物理学会年会 (東京, 1969年4月)
- 15) A. Ikegami, N. Kono: *J. Mol. Biol.*, **29**, 251 (1967)
池上明: 生物物理, **6**, 101 (1966)

「生物物理投稿規定」

本会の会員は誰でも本誌に投稿することが出来ます。原稿の内容および投稿規定は下記の通りです。原稿の採否は編集実行委員会で決定します。

A. 400字原稿用紙3～4枚

1. **Short Note** 研究の成果を簡単に発表することを目的とする。図表は2つまでとし、オリジナルな研究結果のみに限ります (日本語)。
2. **談話室** 研究室の紹介, 帰朝談, 研究に関する質疑応答など, また面白い研究アイデア等も歓迎します。
3. **学会ニュース** シンポジウムグループ活動の計画, 国内国外における生物物理に関する重大ニュース, また, 人物消息等も含みます。
4. **交 流** 求職, 求人欄, 大学会社等における

求職または求人への仲介を目的とします。

B. 400字原稿用紙15～30枚 (2部必要とします)

1. 解説または総説
 - a) 重要な基礎理論や研究方法の解説とその生物学への応用の総合的な解説。
 - b) 生物物理的な主題について総合的な見地から専門以外の人にも理解できるような解説。
2. 教育または研究体制についてのご意見

原稿送り先 京都市左京区田中門前町87

吉 岡 書 店 販
生物物理編集実行委員会宛