酵素化学領域における有機化学

妹 尾 四 郎

Siro SENOH

サントリー株式会社研究所

喜寿の祝辞をこめて、この小文を
恩師 小竹無二雄先生に捧げる。

まえがき

このたび、執筆のご依頼を受けて簡単にお引き受けしたものの、この課題の大きさとまどい、原稿に手がつかないまま時をすごしてしまった。ただ、この間に考えていたことは、自分のように有機化学を専攻してきた人間が、現在の酵素化学の領域で今後開拓すべき問題があるとするれば、それは何か。またそれとは反対の立場で、もし自分が現在酵素化学を専攻しているものとするれば、どんな場合に有機化学の知識や手法が必要となるのか、またそれによってどんな成果や新しい開発が期待できるのか、ということであった。

自然科学の発展の歴史をふりかえってみると、一つの実験科学分野の発展には、常に過去のいくつかの分野の知識、理論、実験手法のとりこみと融合がみられる。そのようにして新しい分野が確立され、知識がますますに再び分化する。また、それらが他の分野と互いに融合を重ねて次の発展を遂げる。このような連続的あるいは非連続的な融合と分化の繰り返しが、今日の実験科学を築いたのである。

現在の酵素学の領域は、生物学、遺伝学、生理学、医学、薬理学、有機化学、農芸化学、物理化学、物理学などを包含する広い基礎的および応用的学科の共通の研究対象として、めざましい発展を遂げつつある。これらの学科の区分自体が便宜的に作られたものにすぎないけれども、このように独立した学科の専門家たちが、他分野の課題に取り組み、それぞれの専門の立場で消化に努める場合に、われわれはこれを“境界領域”と呼んでいる。この意味からすれば、あらゆる生物現象の化学的および

物理的な解明を目的とする学問、すなわち生化学そのものが、“境界領域”の学問といえる。生物現象の大部分は酵素反応に依存しており、その酵素反応を表題のような意味に制限してまとめること自体に無理があることはいうまでもない。ともかく、ここでは生体が営んでいる反応の解析にこれまで利用されてきた有機化学の知識や手法と、また生体反応を有機化学の対象として仕事をしてきた人たちの業績を、自分なりにまとめることで責を果たそうと考えた。筆者の片よった見解をもとに試みたこの解説に対して、忌憚のないご意見やご叱正を寄せていただければ幸いである。

生化学史についての所感

生物の世界に目を向けると、さまざまな化学変化が行なわれていることに気がつく。自分たちの周囲のあらゆる生物の営みに素朴な畏敬と驚異を感じ、その変化の意味を知ろうと努め、また自分たちの生活の中に積極的にとりこんで利用しようとする考えは、おそらく人類が知恵を身につけて以来、今日に至るまで、本質的には変わっていない。ただ、知識の蓄積による人類の思考と社会環境の変革につれて、自然を理解しようとする尺度が変化しているにすぎない。

どの学問についても同じであるが、これから生化学を学ぼうとする人たちが、あるいは生化学の分野で仕事をする人たちにとって、生化学の発展の歴史のなかから、その進歩の過程や思想的背景を学びとることは、きわめて大切なことである。生化学の発展や酵素の発見の歴史について興味をもたれる方たちには、J. Fruton, S. Simmonds 夫妻の定評ある著書⁽¹⁾をおすすめる。

生化学史をひもといてみると、近代生化学の進歩に画期的な足跡を残した偉大な先覚者たち、構造生化学の頂点として生体の主要有機成分である糖質、脂質、蛋白質

の研究方向を決定づけた Emil Fisher (1852~1919), 呼吸の本質を明らかにして動的生化学の基礎を拓いた Antoine L. Lavoisier (1743~1794), 化学熱力学を確立した Willard Gibbs (1839~1903), 化学動力学の Jacobus Henricus van't Hoff (1852~1911), 電離論の Svante Arrhenius (1859~1927), 発酵の研究で微生物学を確固たらしめた Louis Pasteur (1822~1895), 生体触媒の概念を確立した Jöns Jacob Berzelius (1779~1848) に続く酵素の発見者や酵素学の創始者たちなど、枚挙にいとまがない。

これらの偉大な先駆者たちの陰にかくれて、近代酵素化学の開拓者の一人として、わが国の吉田彦六郎*の名が世に現われることなく見すごされているのを常々残念に思っているの、この機会に紹介させていただく。吉田彦六郎が 1883 年に報告した「うるし(漆)の化学」⁽²⁾は、筆者の知る限りでは、酵素反応に有機化学的な概念と手法を適用した最初の例である。その論文のなかで次のように述べている。「漆の乳液(生漆)は主に 4 種の成分よりなる。それは、ウルシ酸 (85.15%), ガム質 (3.15%), 水分、および揮発成分 (9.42%) と、特殊な触媒活性をもつ物質 (diastase, 2.28%) である。漆の固化の現象はウルシ酸 $C_{14}H_{18}O_2$ のオキシウルシ酸 $C_{14}H_{16}O_3$ への酸化によるものであり、酸素と水の存在で diastase によって起こる」。この反応の基質であるウルシ酸の本体については、のちに数種の類縁化合物の混合物からなり、わが国の有機化学の泰斗、真島利行一門によって、その主成分ウルシオール⁽¹⁾の構造式(図 1)

図 1 ウルシオール

に訂正されたけれども、基質とその酸化を触媒する活性物質の性状の追跡に元素分析法を用い、一定の assay 条件を設定して、活性物質、酸素、水分のいずれか 1 つが欠けても反応がまったく起こらないことを立証し、活性物質の熱に対する安定性と酸化速度との相関関係を証明するなど、この結論に導いた実験手法は敬服に値する。この酵素は、現在ラッカーゼ laccase という名の青色の銅酵素(酸化酵素の一種)として知られており、純粋にとり出されたのは発見ののち 75 年もたってからのことである。

このような優れた萌芽が育つこともなく埋もれてしま

ったことには、漆という素材の特殊性、当時の学界の土壌にもよるのであろうが、吉田彦六郎の業績の重要性を洞察し、継ぐ人がなかったことは、惜しんでも余りある。

生化学と有機化学

つぎに、生化学の範囲について若干ふれておきたい。それによって、生化学と有機化学の関係をある程度浮彫りにできると考えるからである。

J. Fruton, S. Simmonds の著書⁽⁴⁾の冒頭に、「生化学を学ぶとは、1) 生体を形作っている成分、生物によって作られた化学的物質の本質、2) 生物系に存する化学的実体の機能と変化、3) 生体のいろいろな活動のさいに伴って起こる化学的变化、エネルギーの変動、を研究することである。生化学の終局の目標は、「生きている」ということと、「生きていない」ということを区別する現象を化学と物理の言葉でいい表わすことである」と述べている。この定義からも明らかのように、現在の生化学は、1) の生体成分の研究を主とする“静的生化学”と、2), 3) の生命の営みに関係する化学反応の研究を主とする“動的生化学”を両翼として発展してきた。

生化学の静的な面は、現在では有機化学の分野に属するものであり、元来、軌を一にしたものが、知識の拡張とともに独立した学科として分化し、さらに他分野の学科の概念や手法と連繫しながら、複雑な物質の構造を解明する構造有機化学、合成有機化学、高分子化学、またそれらの基礎をなす理論有機化学として発展したのである。

生化学の動的な面は、もともと生理学の課題であったのが、生体の構成物質や成分の動き(物質代謝)に関する知識の蓄積につれて、下等な微生物から高等動物に至るまで、細胞機能の基礎となる基本的な生化学反応が驚くほど同一性を示すことが明らかになり、このような発展の過程で生理化学→生化学として独立分離したものである。知識の発展につれて、生物界における物理的現象(運動、発熱、光の吸収など)を化学的な過程(酵素反応)と関連づけることができるようになり、熱力学、化学動力学の概念や物理化学的な実験法(機器分析法)と結びつくことによって、酵素反応の動的解析が盛んに行なわれるようになった。これらの酵素反応の研究から、その後の生化学の最も大きな成功が生まれたのである。生化学に現在の稊りをもたらした最大の要因は、生命現象を動的に把握する研究法を確立したことであろう。

動的生化学の研究から、生命現象における蛋白質と核酸のもつ重要性が明らかになるとともに、これら生体高

* 東京帝国大学の初代の化学教授 R. W. Atkinson に師事し、1881~1887 年の間に植物成分について 7 編の論文を発表している。

分子の構造研究が最近 20 年間に急速に進展した。現在では、生体高分子の機能に関する研究によって、細胞の構成要素とその役割、遺伝子の核酸と蛋白質合成機構の関係、生体における代謝調節の機構などについての基本的な原理が解明されるようになり、生化学は生命現象を分子のレベルで明らかにしようとする分子生物学、分子遺伝学の方向にたゆみない前進を続けているのである。

酵素反応の研究法にみられる最近の進歩

前章で、酵素化学と有機化学が、互いに連繫し、補いあいながらともに進展を続ける宿縁にあることを述べた。それでは、最近の酵素化学の研究のなかから、他の化学分野の概念や手法が、その進歩に寄与した比較的新しい例を一、二あげてみよう。

1) 同位元素の利用⁽³⁾

原子構造に関する最近の知見から生まれた同位元素の利用は、G. Hevesy による同位元素追跡技術の開拓により、生体内の化学反応の追跡に微量でしかも正確な画期的手段を提供した。とくに、ステロイド類、糖類、アミノ酸類をはじめ、主要な生体成分の生合成研究を飛躍的に進歩させたし、中間代謝に関する化学的研究方法を質的に変化させた。また、三重水素 (T) の利用は、生体に対して生理的条件下で高い放射能をもつ基質の投与を可能にしたので、酵素反応の迅速微量定量法だけでなく、薬理学、医学をはじめ広い分野に応用の途を開いた。

2) 機器分析法⁽⁴⁾

最近 20 年間の機器分析法の普及は、生物化学分野の研究方法を一変させてしまった。

自分たちの周囲の実験室を見わたしてみても、紫外線・可視分光分析器、赤外線分光分析器、核磁気共鳴スペクトル装置 (NMR)、電子スピン共鳴スペクトル装置 (ESR)、蛍光分析器、質量分析器、X線回折装置、旋光分散・円偏光二色性測定器 (ORD, CD)、液体シンチレーションカウンター、電子顕微鏡、その他種々の自動電気滴定装置など、毎年その種類がふえ、機種が改良されてゆくのに気がつく。これらの機器分析法の導入は、有機化学や酵素化学のこれまでの反応解析や物質の性状に対する概念および手法を質的に変化させた。

この新しい分析法がもたらした研究のスピード化と結果の信頼性や、成果の増大による知識の急激な蓄積は、新しい理論の発展をうながし、また基礎的研究で得られた成果を実用的な開発 (たとえば工業化) に結びつける

時間を著しく短縮するのに役立った。機器分析法に代表される現在の研究法は、酵素化学と他の生物科学分野との連繫を一層緊密なものにしているし、他方、専門学科として便宜的に作られた境界線を今まで以上にあいまいなものとすることで特徴づけられる。

3) 精製法

有機化学が実験科学として現在の地位を占めたのは、有機化学の概念と手法が、その初期から物質を純粋に単離し、その性状を克明にしらべ、分解によって既知物質に導く、あるいは既知の物質から合成によって同定するという確実な証明方法を基盤にしているからである。したがって、有機化学の研究のなかで、今でも物質の単離、精製法が大きな比重を占めている。これまで生体成分についてかなりの知識が得られたけれども、微量成分や不安定な成分、あるいは核酸や蛋白質などの高分子成分を、生体に存在するままの姿で取り出すことには、まだまだ困難がある。これらの物質の多くが、性質の似かよった混合物と共存し、水という媒質のなかで、しかも限られた条件下でしか扱えないことが、一層困難を大きなものになっている。

ペーパークロマトおよび薄層クロマトグラフ法やガスクロマトグラフ法の進歩は、機器分析法の発達と相まって構造の近似した混合物や微量成分、あるいは蛋白質、核酸、多糖類など高分子化合物の構成成分の精製、分離、確認に、大きな貢献をした。

また、生体高分子、とくに酵素蛋白の精製についても、イオン交換樹脂、分子篩としての Sephadex、両方の性質を具備した DEAE セルローズなどの画期的なカラムクロマト充填剤の開発、さらにはアクリルアミドゲル、アンホラインなどの担体を利用した電気泳動による分画法の開発によって、著しい進展がみられた。

しかし、精製法がこれだけ進歩しても、まだわれわれの前にたちふさがり問題、たとえば媒質に溶解しない多くの未知成分、操作中にすぐ変質を起こす物質の前で、当惑を感じるのである。

4) 酸素添加酵素 (oxygenase) の研究例

新しい概念や研究方法の導入によって新しい研究領域が開拓された例は、枚挙にいとまがない。適切ではないかもしれないが、身近な例として酸素添加酵素の研究をあげよう。生体内の酸化機構の研究は、比較的最近までは Thunberg 法 (1920) と Warburg 検圧法 (1923) が唯一の確実な追跡方法といってもよかった。ところが、

図 2 酸化酵素とその反応型式

図中の S は基質, X は電子受容体, XH_2 は電子供与体を表す。

標識化合物の利用, 酸素電極や吸収スペクトルなどの機器分析法の応用で, 反応の解析が容易になるとともに, いろいろな型の酸化酵素が存在することがわかった (図 2)。

1955 年 H. S. Mason らは, キノコのフェノラーゼが 3,4-ジメチルフェノールを酸化して 4,5-ジメチルカテコールを生ずる際, 新たに導入された水酸基の酸素が水からの酸素ではなく, 空気中より 1 原子の酸素が直接基質にとりこまれたものであることを (式 6), 酸素の同位元素 (^{18}O) を用いて質量分析によって証明した。また同年, 早石らは細菌ピロカテカーゼによるカテコールから *cis, cis*-ムコン酸への反応で, 生成物中の 2 原子の酸素がいずれも分子状酸素に由来するものであることを (式 5), 同じ方法で証明し, これらの酵素に対して酸素添加酵素と命名した (図 3)⁽⁵⁾。

図 3

この研究を契機として, 分子状の酸素を直接基質分子に移動する新しい型の呼吸酵素の一群が, 生物界に広く存在し, 生理的にも重要な役割を果たしていることが明らかになった。図 4 は必須アミノ酸であるトリプトファンの代謝経路の一部を示したものであるが, 他分野の新しい方法やそれによって得られた概念が, いかに急速に新しい研究領域の開拓に影響するかを, この図は物語っている。

もう 1 つの例として, 1966 年 B. Witkop を中心に NIH のグループによって発見された, 必須アミノ酸フェニルアラニンのチロジンへの水酸化反応機構をあげよう⁽⁶⁾。フェニルアラニン水酸化酵素の活性測定に, パラ位を三重水素化したフェニルアラニンを基質として用いると, 水酸化によって三重水素 (T) が水中に放出されるので,

凍結乾燥による溜液中の放射能を測定するのが簡便な分析法であると予想された (図 5)。

しかしながら, この反応はまったく予想もしなかった方向に進行した。反応後の溶液中には計算量の約 10 % の放射能しか検出されず, 生成物のチロジン中に約 90 % の三重水素が残存していること

が判明した。この結果は直ちに多くの芳香環水酸化酵素について追求され, 現在では図 6 のような反応機構によるものと考えられており, この前例のない転位反応は“NIH シフト”として知られるようになった。

この例は, 酵素反応領域への新しい有機化学的手法の導入による知見が, またもとの有機化学の新しい土壌となることを示している。

酵素化学の今後の問題

過去約 1 世紀にわたる研究から, 生物の営む多様な化学変化は, 酵素とよばれる一群の蛋白質の“触媒力”によるものであり, それが生物系における化学反応の方向をきめ, その速度を調節していることが実証された。現在の酵素化学が, 生細胞における物質代謝の無数の変化のなかから規則性を見つけだし, 多数の酵素の性状と機能を明確にできたのは, 酵素反応における基質と生成物の化学構造の知識に基づいているといってもいいすぎではない。しかしながら, 酵素化学も, 有機化学も, 生物反応を完全に理解するという点については, まだまだ充分とはいえない。たとえば, 有機化学は生体成分, とくに核酸, 蛋白質など生体高分子の研究について最近めざましい進歩を遂げたとはいえ, 精製, 構造決定, 合成などの技術はまだ微力である。また, これらの基質に作用する酵素反応については, なおさらのことである。

ここで, 現在の酵素化学領域における今後の問題点を 2 つだけ提起して, この問題点を中心にあとの話をすすめてゆきたい。

その 1 つは, 酵素の本体に関することである。いろいろな生物からすでに数多くの酵素が純粋に単離され, その性状も明らかにされ, 系統的な分類もなされているが, それらの酵素の実際の機能と化学構造を関係づける試みについては, まだ手がかりをつかみかけているにすぎない。生物体の化学的機能をよりよく理解するためには, できるだけ多くの酵素について, 全構造と触媒として働く実際の姿を明らかにすることがますます重要となってくる。酵素の本体を知るためには, まず化学構造を解明

し、全合成することが1つの方法であるが、現在実施されている方法で数種の酵素について成功したとはいっても、まだ充分有効とはいえない。しかし、この点については、現在の有機化学の概念と手法が、この問題を解く重要な鍵の1つであることはほぼ間違いない。

もう1つの問題は、酵素化学のこれまでの方向——個々の酵素の機能の解明と酵素反応相互間の一連の共役関係の解明——が、物質代謝に伴う無数の変化を完全に理解し、それらの無数の化学変化が生物全体として方向づけられ、調和が保たれている、すなわち生物的に統一されている意味を理解することに、果たしてつながるかという点についてである。生体のなかでは、無数の酵素によって促進される反応が相互に共役して、全体として生命の保持と種の保存を果たしており、それらの酵素系の一部の損傷が生理的異常や死の転機をさまねくのである。この大きな命題を完成するためには、物質代謝の過程に生ずる個々の化学物質や、それに関与するすべての構成物質について、生体に在るがままの姿で追跡できるような分析法についての完全な知識が必要となる。酵素化学が全体として指向しているこの問題に対して、現在の有機化学がどれだけの力となれるであろうか。

酵素の構造と機能

前章で提起した問題点に対して、的確な解答はまだない。F.G.Hopkinsの言葉によれば、「生化学者が心すべきことは、彼らの得たデータは全体としての生体の活性とそれに関連させたとときに、はじめて本当の意味をもつものであるということである。生化学者は実験には勇敢であり、発表には慎重であれ。生化学者の言葉は生命を記述するための最後の言葉とはならないであろうが、その助けなくしては最後の言葉は決して述べられないであろう」。

この章で、酵素の本体の解明に対する最近の研究の動向を紹介する。

1) 蛋白質の1次構造*の決定⁽⁷⁾と合成^(8a)

F.Sangerらは、1945年にウシの膵臓から得られた血糖降下ホルモンであるインシュリン(分子量約6,000)について、はじめて1次構造を決定する課題にとり組み、10年後の1955年にこの難問を解決した。

蛋白質の1次構造を決めるために現在とられている手順は、一般に次のとおりである。純粋な蛋白質について

まず分子量を決定し、さらにアミノ酸組成の決定、末端基の決定を行なう。ついで、その蛋白質を酵素的あるいは化学的方法で部分加水分解(限定分解)して得られるペプチド断片の混合物から、分離精製された個々のペプチドについて構造を決定する。最後に、各ペプチド断片のアミノ酸配列のデータを集積して、もとの蛋白質中の全アミノ酸の配列順序を推定するのである。

このような手順で、現在までに膵臓から分泌されるリボヌクレアーゼ、脳下垂体前葉ホルモンのコルチコロピン、タバコモザイクウイルスの蛋白質、ヘモグロビン、動物の心筋チトクロームc、ニワトリの卵白中のリゾチームをはじめ、多数の蛋白質や酵素について1次構造が明らかにされている。

一方、ペプチドの合成法は、1907年E.Fisherによって開拓されたが、最近では個々のアミノ酸の活性基の優れた保護手段の開発、またジチクロヘキシルカルボイミド(DCCI)で代表される新しい縮合剤の開発によって、画期的な進歩を遂げた。溶液中での反応を主体とするこれらの合成法は、あとで述べる固相法と区別して、現在液相ペプチド合成法とよばれているが、分子量の大きなペプチドの合成には多大の労力と時間を必要とする。1963年にドイツのH.Zahnらや、ついで1965年に中国のY.Kungらによって独立に成功した最初の蛋白質の化学合成、インシュリンの全合成には、20数人の人たちの協力と数年の歳月を要したのである。

1963年にロックフェラー研究所のR.B.Merrifieldによって考案された、不溶性ポリマーに結合させたアミノ酸から順次ペプチド鎖を延長させてゆく固相ペプチド合成法は、合成に要する労力と時間を著しく短縮させた。Merrifieldらは自ら考案したこの方法で、インシュリンの全合成を、2人の研究者の手でわずか19日で完成したのである。現在では、コンピューターに接続したペプチド自動合成装置まで考案されている^(8b)。

本年になって、相ついで2つのグループによる酵素の全合成が報ぜられた。その1つは、固相法を用いたMerrifieldのグループによるウシ膵リボヌクレアーゼA(アミノ酸数124)の合成と、もう1つは液相法を用いたMerckのグループによるリボヌクレアーゼS(アミノ酸数104)の全合成である。現在、世界各地の研究所で種々の酵素の全合成の計画が進められている。酵素の1次的な鎖状構造を合成できれば、複雑な空間構造(高次構造)をもった天然の酵素に復元できるという考えの根拠は、次項5)に述べる酵素の構造と活性の研究の知見に基づくものである。

* 蛋白質中におけるアミノ酸の配列順序を蛋白質の1次構造という。

2) 酵素の活性中心⁽⁷⁾

酵素の特徴は、酵素が複雑な高分子の有機触媒であり、単純または複合蛋白質の性質をもつことと、酵素の触媒作用はきわめて選択的で基質に対して高度の特異性をもつことである。

酵素には、特定の基質とだけ結合し、その反応を触媒する特殊な反応域——活性中心——があり、それは蛋白質特有の高次構造によって保持されると考えられている。したがって、酵素の機能を解明するということは、その特異性を解明することにはかならない。酵素と基質の関係は、L. C. Pauling の血清蛋白の抗原抗体反応の有名な実験で示された鍵と鍵穴のたとえのように、蛋白質の一部に基質に相当する鑄型のような構造部分が存在するのではなかろうかと考えられていた。多くの実験的な裏づけにより、現在では酵素の活性中心はむしろ柔軟 (flexible) な空間構造をもっており、基質との結合によって活性中心が基質分子により適合できるように全体の空間構造に変化が起り、より秩序正しい構造をとるようになると考えられている。

3) 化学修飾と酵素の活性⁽⁷⁾

酵素に活性中心がある理由は明白である。酵素の構成

アミノ酸中の特定のアミノ酸、しかも特定の箇所を化学変化させた場合にのみ酵素活性が失われるが、その他のアミノ酸残基では活性に変化がないことが、多くの例で確かめられている。蛋白質の特定のアミノ酸残基だけに作用する試薬が、すでに 20 種以上も考案されている。

たとえば、トリプシン、キモトリプシン、エステラーゼのような加水分解酵素にジイソプロピルフロロリン酸 (DFP) を作用させると、1モルの DFP が1モルの酵素と結合することにより酵素活性は完全に消失する。

図 7 DFP

DFP が酵素のどの部分と結合したかを確かめるために、放射性リン (³²P) で標識した試薬と酵素を反応させたのち、加水分解すると、酵素のセリンの水酸基に結合したものであることが判明した。一方、他の残基たとえばリジンの遊離アミノ基をアセチル化しても、活性の変化は認められない。

同様の例として、リボ核酸分解酵素リボヌクレアーゼは、早くから構造研究の対象となり、X線解析によって空間構造まで解明されている酵素蛋白の1つであるが、ヒスチジン残基に対してブロム酢酸、リジンに対して

図 8 リボヌクレアーゼの1次構造⁽⁹⁾

1-フロロ-2,4-ジニトロベンゼンなどの化学試薬による化学修飾の研究によって、構成アミノ酸中の 12 番目および 119 番目のヒスチジンと 41 番目のリジンが、酵素活性の発現に関与することが明らかにされている(図 8)。

4) 酵素の断片(フラグメント)と活性⁽⁷⁾

酵素が触媒活性を発揮するためには、その巨大な分子全体が必要なのではなく、ある活性部分だけが必要であるという考えがある。事実、1956 年に R. L. Hills, E. L. Smith によってなされた、パパイヤ果実に含まれる蛋白質分解酵素パパインの有名な実験がある。パパインは約 180 のアミノ酸で構成される単純蛋白質であるが、これにロイシンアミノペプチダーゼという酵素を作用させて、アミノ末端からアミノ酸を順次はずしてゆくと、120 のアミノ酸をはずした残りの分子量約 7,000 の断片に、もとのままの活性が保持されていた。このほか、ペプシンをはじめいくつかの類例があるが、いずれの場合も酵素が活性を保持するためには、まだかなりの大きさの構造分子(分子量約 7,000 以上)が必要と考えられている。

このことは、前項のリボスクレアーゼの活性部位の証明からもうなずけるし、また合成酵素モデルとして加水分解酵素類と同じ活性中心付近のアミノ酸配列をもつペプチドが多数合成されたけれども、いずれも活性がまったくないか、あるとしてもきわめて微弱であった。

5) 酵素の高次構造と活性⁽⁷⁾

酵素が特異な活性を示すために、なぜこのように大きな分子を必要とするのであろうか。これまでに構造が明らかにされた最も小さな酵素の 1 つであるリボスクレアーゼでも、124 個のアミノ酸からなり、約 13,000 の分子量をもっている。酵素の分子量は、小さなものでも 12,000 程度あり、大きなものでは数 10 万という巨大なものまである。大きな酵素は通常、分子量数万の小単位(subunit)が 2 個、4 個、6 個というように会合したものであり、1 つの subunit は 1 ないし数本のペプチド鎖からなる。どの蛋白質をとっても、構成アミノ酸の種類は通常 20 数種であり、個々のアミノ酸がその蛋白質特有の配列順序をとって高次構造の形成に参加しているのである。高次構造の形成に関与する構成アミノ酸の個々の役割については、まだ研究が緒についたばかりである。この問題は、主に酵素の物理的あるいは化学的方法による変性と失活、基質や阻害剤との相互作用を吸収スペクトルや円偏光二色性など物理化学的な測定でとら

える研究方法と X 線解析によって、蛋白質の構造のなかに、コイル型の α -ヘリックス構造部分、 β -構造部分、 α -ヘリックスのない構造部分やその他の構造部分が存在し、複雑な高次構造を形成していることが判明した。変性、失活、基質の吸着などの現象によって高次構造が容易に変化すること、また各構造部分には一定のアミノ酸が存在することがわかってきた。これまで述べてきたことや、リボスクレアーゼの例からも明らかのように、活性中心は特定の近距離のペプチド鎖上に存在するものでなく、同じペプチド鎖上の離れたアミノ酸残基であっても、高次構造の形成によって両者が空間的に接近していると推定せざるをえない。このことは、活性中心の形成のために、なぜ酵素が巨大なペプチド鎖を必要とし、個々のアミノ酸の配列順序がどんな意味をもっているのか、という問に対して、ある程度納得のゆく説明を与えてくれる。

6) 酵素の高次構造の研究における有機化学的手法

B. Witkop ら⁽¹⁰⁾によって開拓されたペプチド鎖の特定位置を化学的に選択開裂する方法は、酵素の構造と活性の研究に対して有機化学者に新しい勇気を与えた。蛋白質の構成アミノ酸の側鎖残基の反応性を利用する新しい開裂法によって、蛋白質の構造研究が画期的な進歩を遂げた。なかでも、メチオン結合を選択的に切断するブロムチアン(Br-CN)法はとくに有用である。これと並行して、アミノ酸自動分析器やペプチド断片の分離精製法の改良が、活性発現に関与するアミノ酸の位置決定を著しく容易にした。

もう 1 つの有機化学者の努力は、酵素のアミノ酸残基の選択的な化学修飾によって生ずる変化を、物理化学的な手段で得られた高次構造に関する知見と関連づけることに向けられている⁽¹¹⁾。これまでの化学修飾法は、ペプチド鎖のアミノ酸配列順序の決定や、活性中心に関与するアミノ酸残基の決定が主であったが、高次構造の研究のためには、生理的条件下とか、反応の可逆性とか、異なったタイプの修飾法が要求される。この目的のために、チロジン、トリプトファン、ヒスチジン、アルギニン、システインなどの特定のアミノ酸残基や、遊離アミノ基、遊離カルボキシル基などに選択的に働く試薬や測定法が考案されている。

たとえば、X 線解析の結果は結晶状態における個々のアミノ酸の位置についての知識を与えてくれるのに対し、化学修飾法ではそれぞれのアミノ酸残基の反応性を知ることができる。また、特定の残基を修飾して物理化学的

性質をしらべれば、溶液中で高次構造あるいはその残基の酵素活性への寄与について研究することも可能となる。このように、物理化学的方法と化学的修飾法との併用によって、さらに詳細な情報を得る可能性ができたのである。

む す び

これまで紹介してきたことは、最近の生化学分野で得られた輝かしい業績のごく一端にすぎないが、1つの分野の発展に、いろいろな分化した学科の概念や手法の連繋が必要であり、それによって蓄積された知識が、またもとの分野の発展の糧となることを多くの例が示唆している。

生物の化学的機能についての知識が深まるにつれて、生化学は医療、農業、工業の上にもますます多くの重要な応用面を開くようになり、人類の福祉に直接貢献してきた。技術革新の波は、複雑な問題に明確な解答を与え、基礎的成果を実用化につなぐ時間の短縮に拍車をかけている。これら実用面の問題も重要なことには相違ないが、この点について生化学に興味をもつ人たちに、2つの問題点を指摘してむすびにしたい。

その1つは、門外漢あるいは直接恩恵をうけている人たちに對するもので、生化学の実用面での貢献を過大評価する危険性についてである。現在の生化学の実用的な成果は確かに大きいし、今後ますます大きくなるに違いない。しかし、これらの応用面での成果の大部分が、最初から実用化をねらって企てられたものでなく、沢山の人たちの地道な研究の蓄積によってもたらされたものであることを忘れてはならないということである。

いま1つは、当事者の立場にある人たちに對するもので、科学の成果は双刃の剣であり、決して現実の利益に酔ってはならないということである。最近の沢山の類例のなかから一、二をあげてみよう。現在の農業は、農薬、品種改良、栽培法などの進歩によって、かつてない繁栄を享受している。しかし、収率向上を追求するあまり、ハロゲン剤や水銀剤などの農薬による収穫物自体の汚染、自然環境の荒廃が最近まで見すごされていた。また、食品や医薬品面でも、現実の利益や成果が過大評価されるあまり、人工的な添加物や薬剤の人体に對する遅効的な影響や遺伝に及ぼす重大な欠陥が見落とされていた例が多い。また、最近の化学工業製品の華として代表される合成樹脂や洗剤にしても、その多くは使用後の処理手段がなく、地表や海洋を汚染のままにまかせているのである。これらの公害問題は最近になってやっと対策が構ぜ

られようとしているけれども、これらはすべて実用的な利益が先行するあまり、基本的な研究や生化学的な面での検討がはるかにおくれているのである。このように一、二の例をあげただけでも、生化学を中心にあらゆる分野の人たちが今後真剣に取り上げるべき課題が山積しているように思われるのである。

文 献

- 1) J. Fruton and S. Simmonds: "General Biochemistry", John Wiley & Sons, Inc. (1953); 丸善(株)より訳本(1956).
- 2) H. Yoshida: *J. Chem. Soc.*, **43**, 472 (1883).
- 3) 蛋白質 核酸 酵素 編集部: 生物化学実験法Ⅲ, "同位元素を用いる実験法" (1964).
- 4) 蛋白質 核酸 酵素 編集部: 生物化学実験法, "物理化学の実験法"(1) (1964), (2) (1965), (3) (1967).
- 5) O. Hayaishi (ed.): "Oxygenases", Academic Press, New York (1962); K. Bloch, O. Hayaishi (ed.): "Biological and Chemical Aspects of Oxygenases", Maruzen Co., Ltd. (1966).
- 6) B. Witkop (妹尾 訳): 蛋白質 核酸 酵素, **12**, 1026 (1967).
- 7) 化学増刊 **15**, "現代の生化学(上) 生体高分子", 化学同人 (1964).
- 8a) 泉屋信夫: 蛋白質 核酸 酵素, **14**, 641 (1969).
- 8b) 杉山 宏: 化学と生物, **7**, 452 (1969).
- 9) H. P. Avey, M. O. Boles, C. H. Carlisle, S. A. Evans, S. J. Morris, R. A. Palmer and B. A. Woolhouse: *Nature*, **557** (1967).
- 10) B. Witkop: *Adv. Protein Chem.*, **16**, 221 (1961); 蛋白質 核酸 酵素, **6**, 557 (1961); 崎山文夫: 蛋白質 核酸 酵素, **13**, 1 (1968).
- 11) 柴田和雄: "高次構造の化学的研究法", 東京大学出版会 (1969).

山口大学農学部農芸化学科

助教授の公募について

当農芸化学科においては、下記の条件で45年度新設講座の助教授(生物物理化学、機器分析学、生物物理化学実験担当)を公募していますので、3月31日までに御推薦くださるよう御依頼申し上げます。

- 1) 博士の学位を有すること。
- 2) 2年以上の教職歴を有すること(ただし研究所勤務ならば不要)。
- 3) 生物物理化学関係の研究業績があること。
- 4) 年齢 30~36 歳。
- 5) 身体強健で思想穩健であること。

〔必要とする書類〕 履歴書(市販のものにて可)/研究業績一覧表およびそれらの別刷/学会および社会における活動状況/上司の推薦書

送り先: 山口市吉田 山口大学農学部農芸化学科主任あて