展望

タンパク質分子の動的挙動

分子構造に基いて物質の物理的、化学的性質が論じられる場合に、分子内の原子の動きが時として忘れられることがある。このことは高分子の場合、とくに重大である。高分子化合物にあっては、その分子が大きいために低振動数の固有振動が存在し、常温でかなり大きな振幅で動くからである。実験的根拠のあるパラフィン分子をまず論じ、この効果が重要な役割を演ずると考えられるタンパク質分子について述べる。

島 内 武 彦*

1. 動的挙動とは何か

A タンパク質分子の動的な挙動というのは何ですか。また、なぜそういう問題を現在の分子生物学の発展の段階で取りあげなければならないのですか。

B 私は分子構造研究の専門家という立場から、かねがね分子生物学の発展の経過に疑問を持っているのです。それはタンパク質にしても、核酸にしても、その分子構造というものを、分子生物学者があまりにも静的に考えていて、生体高分子の中の原子団のミクロブラウン運動を軽視しすぎているということです。

A それはタンパク質にしても、核酸にしても、結晶構造の解析から原子の空間的配置がかなりはっきりわかってきているからではないのですか。これに反して、その原子の熱的な動きはさっぱりわれわれは知らないのです。

B わかっていないということは、無視してよいということにはならないでしょう。いうまでもなく、X線結晶解析によるタンパク質、核酸の研究結果はまったくすばらしいもので、これによってわかった分子構造の知識が生物学に与えた貢献ははかりしれないものがあります。しかし、その結果が明確なものであるだけに、その数値が持つ意味についての正確な認識が必要です。このことはX線回折の専門の方々は、非常にはっきりしておられてしばしば熱振動についてコメントされているのですが。

A X線回折の結果があまりにもすばしかったために、原子の熱的運動に関して専門外の方は軽視してしまったかもしれませんね。

B タンパク質のアロステリック効果が最近問題になっていますが、これは熱的運動を考慮しなければ解決で

きない問題ではないかと思います。しかしこの効果の分子論的解釈についても現在までそれを考慮することがあまりにも少ないのではないのでしょうか。

A ところで動的挙動が、生体高分子の熱的運動、分子内の原子団または原子のミクロブラウン運動に関係したことであることはわかりましたが……。

B そうです。比熱の測定からもわかるように、低温から室温に物質をもってくるためにはかなりの熱量がいります。その熱量は、熱エネルギーとなって分子内に蓄えられます。そのために分子内の原子はある振幅で動いているわけで、その振幅の大きさは高分子の場合にはかなり大きくなるのです。こういう分子の熱的運動を動的挙動ということばで表わしたいと思います。

2. 水溶液中でのタンパク質分子

A タンパク質分子は水溶液中でどのような動的挙動を示すのでしょうか。たとえばミオグロビン分子がX線回折でわかった構造をとっているとして。

B そこにすでに一つの問題があります。結晶したタンパク質中の分子の構造と、水溶液中でのタンパク質分子の構造と同じかということです。

A それについて何か手がかりはないのですか。

B たとえばアミノ酸のような簡単な分子でも、結晶中と水溶液とではコンホメーション（内部回転状態）が違ふことがあります。だからタンパク質のような大きな分子では、当然かなりの変化が予想されます。一方、タンパク質分子中のポリペプチド鎖はS-S結合や水素結合でつながっていたり、いわゆるハイドロフォビック（疎水的）結合力のようなものも考えられますから、一概にはいえません。しかし水溶液中で微妙な変化があることは確かですね。

A 卵アルブミンや血清ヘモグロビンの結晶をつくるような場合でも、生体内から取り出した直後には、それ

* Takehiko SHIMANOCHI 東京大学（理学部化学科・113 東京都文京区本郷 7-3-1）教授・理博
Dynamic Behavior of Protein Molecules

の処理により結晶をつくることができますが、1日、2日でも放置しておくともうだめですね。

B 結晶を水溶液からつくるというプロセスは特別な技術ですね。その間に、ただある分子形をしたタンパク質分子が集まり合うのか、それだけでなく、分子形の変化を伴う結晶化が起こるのか、何かははっきりした根拠がつかまえられるとよいのですが。少なくともタンパク質分子の外側に出ている側鎖のコンホメーションは結晶化によって変わる、あるいはいろいろの回転異性体をとっていたものがその一つに固定されるということは考えなければいけないでしょう。溶媒の水分子が強い水素結合をつくることも考慮して。

3. パラフィン分子の動的挙動

A それではそういう構造変化をとりうる場合もあるとして、タンパク質分子がとっているコンホメーションはどういう動的挙動を示すのですか。

B それがはっきりいえればよいのですが、残念ながらまだそういう段階に達していないのです。ある程度推定する方法はあるのですが、それは後で述べるとして、その前に、動的挙動がはっきりわかっているパラフィン分子について述べたいと思います。

A パラフィン分子は CH_2 基が長くつながっているのですね。ポリペプチド鎖とはかなり違うでしょう。

B もちろん $(\text{CH}_2)_n$ 鎖の bond の強さとポリペプチド鎖の bond の強さとはかなり違います。そういう意味では参考にならないのですが、高分子鎖の動的挙動という意味では非常に参考になります。分子鎖は長くなると、当然鎖は曲りやすくなります。いいかえれば、高分子中の原子は熱運動により大きな振幅で運動しやすくなります。その動きやすくなる傾向を知るためには、パラフィン鎖の知識が大いに役立ちます。

A それではその高分子効果とでもいえるものはどういふものですか。

B 例として n -パラフィン分子 $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_n-\text{CH}_3$ の固体で安定な形であるトランスジグザグ鎖について考えます(第1図)。 n -パラフィン分子は液体や気体ではところどころゴージュ形になったコンホメーションもとりませんが、簡単のためオールトランスの形について考えま

島内武彦氏 昭和16年東京大学理学部化学科卒業。昭和20年助教授、昭和34年教授。専門は構造化学および分子分光学。

す。この分子の内部運動としては分子内の CH_2 基や CH_3 基が局部的に振動する、いわゆる local vibration がありますが、それはさておき、分子の動的挙動がはっきり出てくるのは分子全体が伸縮したり彎曲したりする overall vibration (全体振動) です¹⁾。この例のような棒状分子ではこの全体振動は大別して第1図に示す伸縮振動、面内まがり振動、面外まがり振動、ねじれ振動の4種類になります。ここで面内、面外というのは炭素鎖のつくる平面をいいます。

A そうするとたった4種類ですか。

B 基振動は4種類です。しかしそれはいずれも棒の長さが半波長にあたるもので、波長がその $1/2$, $1/3$, $1/4$ などにあたるいくつものハーモニックスがあります(第2図参照)。

A そういう振動の振動数とか、常温での振幅とかはどうしてわかりますか。

B まず振動数ですが、それはいわゆる分子鎖の振動の分散曲線から算出することができます。ポリメチレン鎖の振動数分散曲線は幸いにしてよくわかっています。第3図は筆者と宮沢、田隅によりいろいろのポリメチレ

第1図 棒状分子の全体振動

第2図 全体振動の基振動($m=1$)と倍振動($m \geq 2$)

ン鎖の赤外線吸収，ラマン効果に現れた固有振動数を説明するものとして得られたものです²⁾。このうち $\nu_1, \nu_2, \nu_3, \nu_4, \nu_6, \nu_7, \nu_8$ (ν_1, ν_6 は波数 3000 cm^{-1} 付近にある CH 伸縮振動で，図には省略してある) は local vibration で， ν_5, ν_9 が問題の全体振動です。図で縦軸は振動数 (波数 cm^{-1}) を表わし，横軸は相隣る 2 個の CH_2

第3図 ポリメチレン鎖振動の分散曲線

第4図 $n\text{-C}_{36}\text{H}_{74}$ のラマン効果³⁾ (左側) と分散曲線 (右側) との対応

基の動きの位相差を表わします。第2図で示すように位相差は基音，倍音でいろいろな値をとりますから，それによって異なった振動数を与えます。第4図に一例として $\text{C}_{36}\text{H}_{74}$ 分子の ν_5 の右側の部分の固有振動，位相差とそれに対応するラマンスペクトルの実測値を示します。分数曲線の正確さはこのようなラマンスペクトルとの対応のよさからも示されたのです。

A 高分子鎖には ずいぶん低波数の振動があるのですね。こういう低い固有振動数は小さい分子では見られないわけですね。

B そうです。ごく例外的に見いだされることはありますが，波数 50 cm^{-1} 以下のものはまずないのです。高分子鎖では ν_5, ν_9 にみられるように 10 cm^{-1} ぐらいのものもあるわけですし，しかもその分子鎖が長くなればなるほど低波数のものが出てきます。波数 10 cm^{-1} の振動といえは真空中の波長にして 1 mm ですから，サブミリ波になるわけです。

A こういう低波数の振動の振幅は常温ではどのくらいになるのでしょうか。

B それが，全体振動の問題点です¹⁾。この振幅の大きさは基準振動の計算の際得られるいわゆる L_X 行列の要素の大きさと，振動数と温度とによって決まります。その式は

$$\begin{aligned} x_i^a &= x_i^0 + d \cdot (L_X)_{xi}^a \sin 2\pi c \nu_a t \\ y_i^a &= y_i^0 + d \cdot (L_X)_{yi}^a \sin 2\pi c \nu_a t \\ z_i^a &= z_i^0 + d \cdot (L_X)_{zi}^a \sin 2\pi c \nu_a t \end{aligned} \quad (1)$$

で表わされます。ここに x_i^a, y_i^a, z_i^a は a 番目の基準振動をしている時の i 番目の原子の x, y, z 方向の位置， x_i^0, y_i^0, z_i^0 は平衡位置における i 番目の原子の座標， $(L_X)_{xi}^a$ などは L_X 行列要素， c は光速， ν_a は a 番目の基準振動の振動数， t は時間です。

A 変位の大きさは係数 d によってきまるわけですね。

B そうです。 L_X を原子量単位， $\text{\AA}$ 単位で計算した時，また，一つの振動自由度に kT のエネルギーを割り当てたとき d は $\text{\AA}$ 単位で

$$d = \frac{6.84}{\nu_a} T^{1/2} \quad (2)$$

で与えられます。振動数が小さいほど d は大きく，また絶対温度 T が大きいほど d が大きくなります。

A 実際の動きの大きさは室温でどのくらいあるのでしょうか。

B 第5図に $\text{C}_{36}\text{H}_{74}$ 分子についての計算結果を示します。図には対称中心を持った振動の振幅だけを書いたのですが，これ以外の振動も大同小異です。また計算は調和振動近似を使っているのだから，実際より大きめになっているかもしれませんが，しかしこの結果からいえることは， $\text{C}_{36}\text{H}_{74}$ のように長い分子では，その長さと同程度

a, b, ..., f は波数の小さい方から示してある。a, b, d, e は面内まがり振動, c, f は伸縮振動に対応する。

第5図 $n\text{-C}_{36}\text{H}_{74}$ 分子の ν_5 振動の振動形 (吉岡, 島内)

(1/4ぐらゐ) の大きさの振幅を持った固有振動があるということです。またこの図でははっきりするように、 ν_5 振動の $\delta=0$ に近いところは伸縮振動であり、 $\delta=\pi$ に近いところは面内まがり振動です。

A ν_9 はどういう振動ですか。

B ν_5 と同様に L_x を計算すればわかりますが、 $\delta=0$ に近いところはねじれ振動であり、 $\delta=\pi$ に近いところは面外曲がり振動です。これらの曲線から、4種類の全体振動とそのハーモニックスの振動数を炭素数の逆数で表わすことができます。それを第6図に示します。 ν_9 の場合は ν_5 よりも振動数はもっと低くなりますから振幅はもっと大きくなるわけです。このように自由分子の場合は C_{36} のような長い分子では振動数の高分子効果が現われて、大きな振幅の動的挙動を示すようになるのです。

A 分子が集まって結晶になった時、このように大きな振幅は許されるのでしょうか。

B 振幅があまり大きくなれば融解することになります。ただし、結晶の場合は全体振動と結晶格子の振動と

がカップルしますから簡単ではありません。しかし最近低波数ラマン効果の測定と結晶格子振動の理論と相まってこの点もだんだん解明されてきました。

A 振動は本来はこのような古典力学でなく量子力学で取り扱うべきでしょうね。

B そうです。しかしこのような低波数の振動では、室温でかなり振動量子数の高い状態をとりますから、振幅については量子力学的に取り扱っても古典力学的に取り扱ってもあまり大きい変化はありません。

A たとえば環をつくった分子だと全体振動はどうなりますか。

B 環がねじれたり、お菓子のハツ橋のようになったりする振動も出てきてその種類が多くなります。 $(\text{CH}_2)_{36}$ の環状分子について全体振動の波数と振動形が低波数ラマン効果と関連して詳しく研究されています^{(6),(7)}。

4. ポリペプチド鎖の全体振動

A パラフィン分子でこのようにはっきりわかってい

a, b, c, d はそれぞれ伸縮振動, 面内まがり振動, ねじれ振動, 面外まがり振動の値を示す。

第6図 全体振動の振動数と炭素数 (N_c) と次数 (m) との関係

るのでしたら、ポリペプチド鎖でもわかるのではないのでしょうか。

B 原理的には可能です。ポリアラニンの α -らせんの場合には第3図の振動数分散曲線にあたるものが伊藤紘一と筆者によって計算されています⁹⁾。それは第7図のようになります。 ν_9 , ν_{10} にあたるものはパラフィンの時よりもっと低い波数を持ちますから、全体振動の振幅ももっと大きくなることが予想されます。 α -らせんの棒の全体の伸縮振動の波数も、長さの関数として計算されますが、アラニン残基の数が30個ぐらいになると波数は 15 cm^{-1} ぐらいです。棒の曲がる振動はもっと波数が小さくなります。つまり α -らせんの棒は室温で水溶液中でも風を受けた細い草の葉のようになったりしていることになります。

A さらにミオグロビンやリゾチームのようなタンパク質分子ではどうでしょうか。

B この場合にはいうまでもなく、さらに複雑になります。現在のところ、そういう分子の基準振動は複雑すぎて手につきませんが、コンピュータの事情が許すようになったらぜひ計算してみたいと思っています。そうすれば分子全体としてどのような変形が起こりやすいかがわかり、水溶液中でのタンパク質分子の動的挙動に関する手がかりが得られるはずです。

A 何か実験的な手がかりはないのでしょうか。

B 今のところいばん有望なのはタンパク質水溶液中でのラマン効果です⁹⁾。Peticolas とその共同研究者は、キモトリプシンにつき低波数ラマン効果の測定に成功しています⁹⁾。これが全体振動とむすびつけばいろいろの

○印は赤外スペクトルの実測値を示す。

第7図 ポリアラニン鎖 α -らせんの分散曲線⁹⁾

ことがはっきりしてくるのですが、残念ながらまだはつきりしていません。しかし理論と実験とが積み重なってゆくにしたがって全体振動の全貌はだんだんに明らかにされてゆくでしょう。この展望では問題を提起しただけで解決をしていないのは恐縮ですが、その重要性は忘れないでいただきたいと思います。

文 献

- 1) T. Shimanouchi: Microsymposium on Polymer Chain Conformation, Plague, (1972); *Pure and Applied Chemistry* (近く印刷)
- 2) M. Tasumi, T. Shimanouchi, T. Miyazawa: *J. Mol. Spectry*, **9**, 201 (1962), **11**, 422 (1963)
- 3) R.J. Schaufele, T. Shimanouchi: *J. Chem. Phys.*, **47**, 3605 (1967)
- 4) 吉岡 薫, 島内武彦: 分子構造総合討論会, 仙台, (1972年10月)
- 5) 島内武彦: 自然, (6), 47 (1971)
- 6) M. Tasumi, T. Shimanouchi, R.F. Schaufele: *Polymer J.*, **2**, 740 (1971)
- 7) R.F. Schaufele, M. Tasumi: *Polymer J.*, **2**, 815 (1971)
- 8) K. Itoh, T. Shimanouchi: *Biopolymers*, **9**, 383 (1970)
- 9) K.G. Brown, S.C. Erfurth, E.W. Small, W.L. Peticolas: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **69**, 1467 (1972)