

生体分子構造解析学特論

シンクロトロン光研究センター

渡邊 信久

第I回

1

隔年開講の「生体分子構造解析学特論」を始めます。前回開講された時は、まだ山根先生が居らしたので、実は私は山根先生と鈴木さんの間で、山根先生に頼まれて小角散乱の話をしました。

山根先生は、X線結晶構造解析の「普通の」講義をされたと思います。普通のという意味は、結晶の対称性の話や構造因子の理論、そしてフーリエ合成でどうやって構造解析が出来るのか、といった話です。

今回、私と鈴木さんで担当し、鈴木さんと話し合った結果、私が前半、鈴木さんが前回同様後半という分担にしましたから、私が山根先生がやっておられた所謂X線結晶学を講義するのが筋かなと思います。

初めてやる講義なので、2月中旬あたりから準備をしようと思いましたが、旧山根研(3講座)以外の学生(つまりX線に触れたり結晶構造解析はする機会が無い学生)も受講だろうということ、結晶構造解析そのものはいくらでも自分で勉強することが出来る、と思い、普通の講義をやるのは止めようと思いました。

講義スケジュール

- 1：混沌の時代から繊維写真の時代
- 2：サイクロール説
- 3：二次構造の解明
- 4：DNAの構造
- 5：結晶構造解析法の発展
- 6：高分解能構造解析の始まり

2

これが、今回の講義のスケジュールです。もしかしたら、ちょっと後半忙しいかもしれませんが、今日を入れて6回のつもりです。5月31日まで。

一応、後半で構造解析の「原理」も分ると思いますが、それだけでなく、 掲示しておいたので、皆さんちゃんと読んで来たと思いますが、蛋白質とDNAの構造研究、そして蛋白質結晶学が成立して行く課程の論文を読みながら、こうした研究がどういう経緯をたどったかをみることにしようと思います。そうして研究とは、学問とは、という雰囲気をちょっとだけ感じてもらおう、というつもりです。

普通のX線結晶学の講義のように式を展開していったりということをしません。歴史的な論文を見ながら進めて行きます。予め、関係論文を指示しますので、それに目を通しておくことが期待されます。

鈴木さんは期末試験をされるはずですが、私の前半部分は試験はしません。その代りに、毎回「簡単」なレポートを作成し、講義「開始時」に提出することを要求します。

1930's - 1960's

1930s	Astbury	ケラチンの繊維写真
1934	Bernal & Hodgkin	ペプシンの結晶回折
1935	Hodgkin	インスリンの結晶化
1936	Wrinch	サイクロール説を提唱
1938	Perutz	ヘモグロビン結晶から回折
1939	Pauling	サイクロール説を批判
1950	Pauling	α ヘリックスの構造
1953	Watson & Crick	DNAの構造
1954	Perutz	重原子同型置換法を構造解析に導入
1957	Kendrew	ミオグロビンのソーセージモデル
1959	Kendrew	ミオグロビンの2Å構造

3

さて、この講義で辿っていく時代、すなわち蛋白質結晶学が成立して来た時代は1930年から60年台にかけてです。

最初は結晶ではなく繊維写真から初めます。 α ヘリックスやDNAの構造のあたりの議論までは繊維写真が主です。DNAの話は、たくさん本も出ていますから、読んだことがある人も居るかも知れません。どのくらい知っていますかね。 . .

(訊いてみる)

Protein dilemma

- discrete macromolecular compounds?
- only colloidal suspensions?
- have fixed molecular weights?
- definite amino acid compositions?
- how amino acids linked together?
- sequences are random?

4

さて、まず、物語が始まる前の状況、つまり時代背景を確認しておきましょう。

皆さんに、今「**蛋白質って何**」と訊いたら、どう答えるでしょうか。今の皆さんの蛋白質の理解と、ここに書いてあることを較べてみたら、どう思いますか？

今や「常識」となっているものは、1930年には決って「常識」ではなかったということです。例えば、今日の宿題は、この2番目と関係していますね。

DNA dilemma

- How are nucleotides linked together?
- order of bases is random?
- what purpose?
- how could anyone think that DNA could be the storehouse?

私の講義の前半のもう一つの主題はDNAですが、これも、1930年には、まだまだ何やら分らない物質だった訳です。

ここに”what purpose?”とあるように、そもそも核酸は何のために存在しているのかすら分ってなかったということがあります。4回目の講義では、みなさんも良く知っているWatson & Clickの論文では、どうこのことに触れているかが出て来ます。

*Molecular biology is essentially
the practice of biochemistry
without a license*
(E. Chargaff 1963)

6

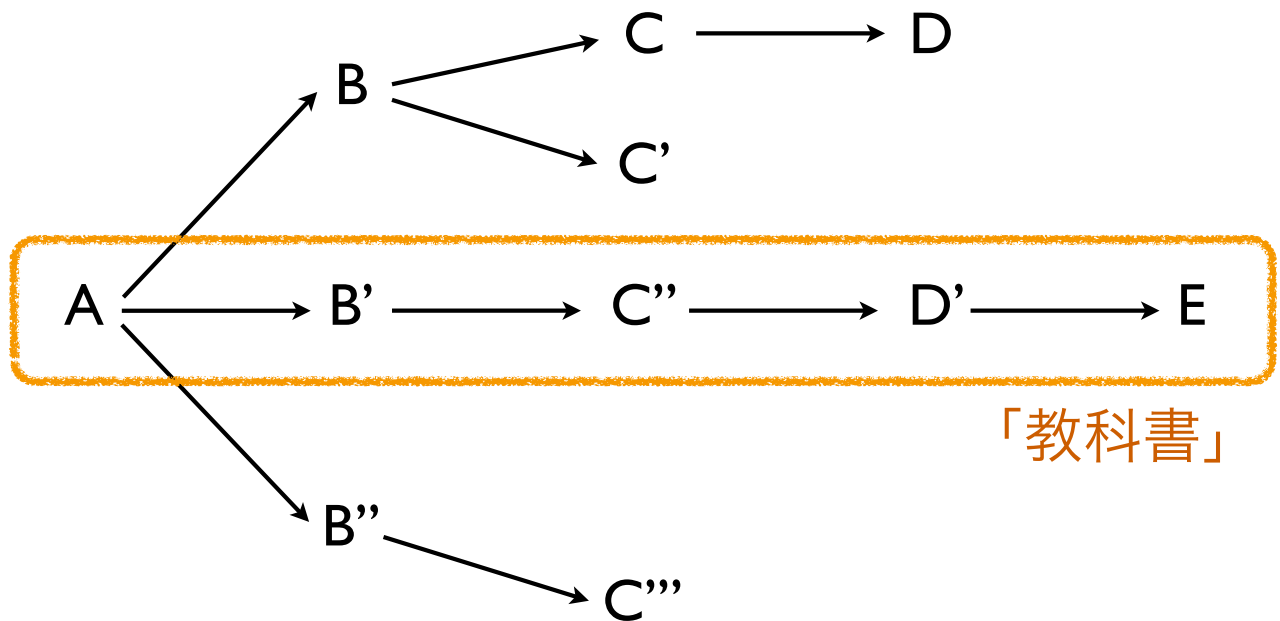
さて、蛋白質とDNAの、当時の理解は今見て来たような感じでした。

そういう状況で、molecular biologyという学問分野が形成されていく訳ですが、その状況をシャルガフはこのような表現しています。

シャルガフって何をした人？

DNA中の塩基対の規則性を発見した人だよね. . .

「歴史」が辿る道筋



7

この講義では、蛋白質などの「構造」の解明の歴史を辿るのですが、一般にものごとの解釈の道筋をマンガにすると、こんな感じだと思います。

Aという事象を解釈するのに、例えばB、B'、B''という3通りの説が出き、それぞれが発展します。

あるものは途中で破綻し、最終的には、それらのうちの 하나가「正解」だったということが分ります。

そして、今、みなさんが手にする教科書に残っているのは、この「正解への道」のみです。

当時の「最新の実験結果」を、当時の知識(や常識)に基いて考察した結果、BやB''のように誤った解釈に陥っている例もあるわけですから。

誤った解釈

「正解」を知っている現在の目から見ると...

- Wrinch: cyclol
- Perutz: α -helix
- Pauling: triple DNA

8

ここに3つの例を上げましたが、リンチのサイクロール(シクロール)説、ペルーツの誤ったヘリックスの構造案、そしてポーリングの三重DNA構造モデルは、その代表的なものでしょう。

この講義では、なぜ、そうなったのか。

そうした中で、一方、どうやって「正しい」解釈が導かれて来たのか。そういうところを見て行くことにします。

(もちろん、後半では、結晶構造解析の「原理」にも触れるように努力しながら...)

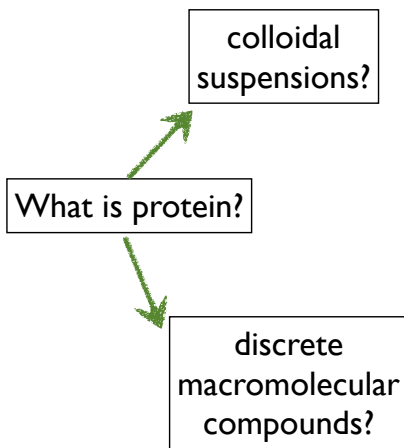
繊維写真の時代

9

さて、前置きが長くなりましたが、始めていくことにしましょう。

まず最初に見ていくのは、「蛋白質」とはいったいどういう内部構造をしたものなのか、それを解明していった時代からです。

「歴史」が辿った道筋



10

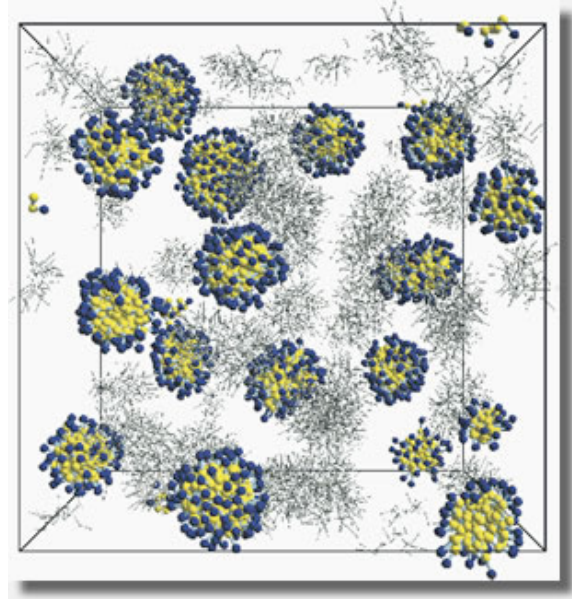
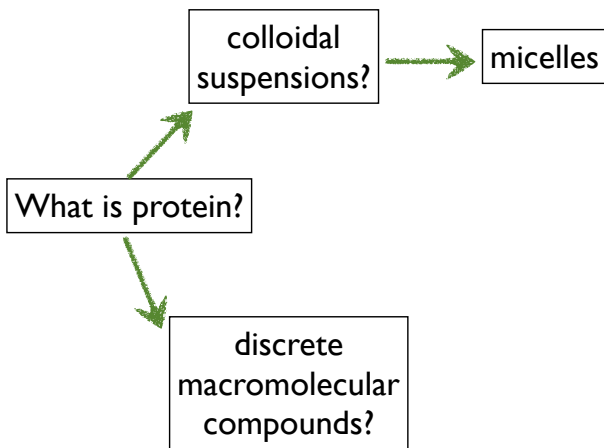
さっき示した「歴史」の辿る道筋を描いてみると、こんな感じかなと思います。

20世紀初頭の生化学はコロイド化学でした。当時の生化学の教科書では、全体が750ページあるとすると250ページはコロイドの記述だったそうです。

蛋白質はいったいどういうものか？コロイドじゃないか？ということです。

コロイドって大丈夫ですか？

「歴史」が辿った道筋



球状ミセル

<http://www.yasuoka.mech.keio.ac.jp/res/mesoscale.php>

11

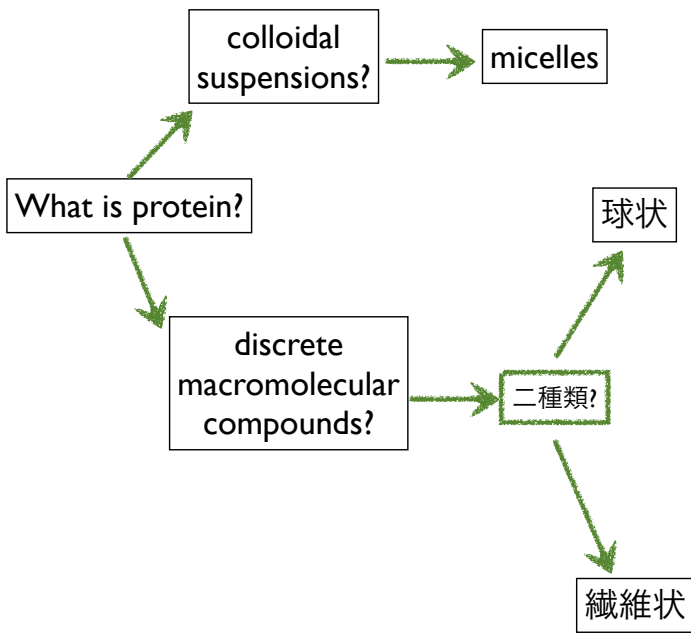
コロイドサスペンションというと、ミセル状かということですが、つまり、蛋白質とは、このような特定の「形」を持たない、ミセル状の物質なのではないか、とも考えられていたということです。

どう思いますか? 変ですか?

でも、そもそも「蛋白質」という漢字は「鳥の卵」という意味です。卵白を考えてみると、これは自然な発想ではないかとも思えます、よね...

今日の宿題は、アストベリの実験では、どうして、蛋白質はこうしたミセル状の物質ではないと言えたのか、というものでした。これからおいおい見ていくことになります。

「歴史」が辿った道筋

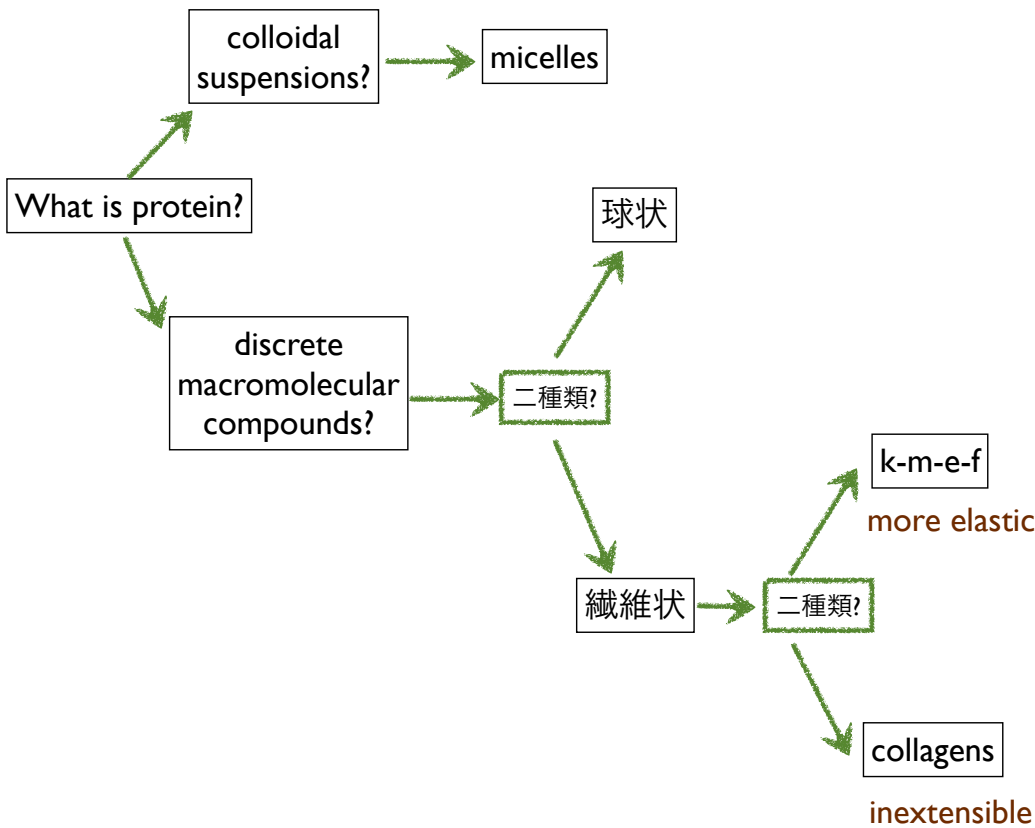


12

ミセルじゃなくて、ちゃんとした形と決った大きさのある物質ではないかという説も現れ、その場合は蛋白質にはどうも球状のものと繊維状のものの2種類あると考えられました。

もっともこの「2つ」が同じもの(つまり両方とも「同種の」蛋白質)なのかというような議論もあって、そうして、さらに繊維状蛋白質にも「2種類」ありそうだ、ということになって来るわけです。

「歴史」が辿った道筋



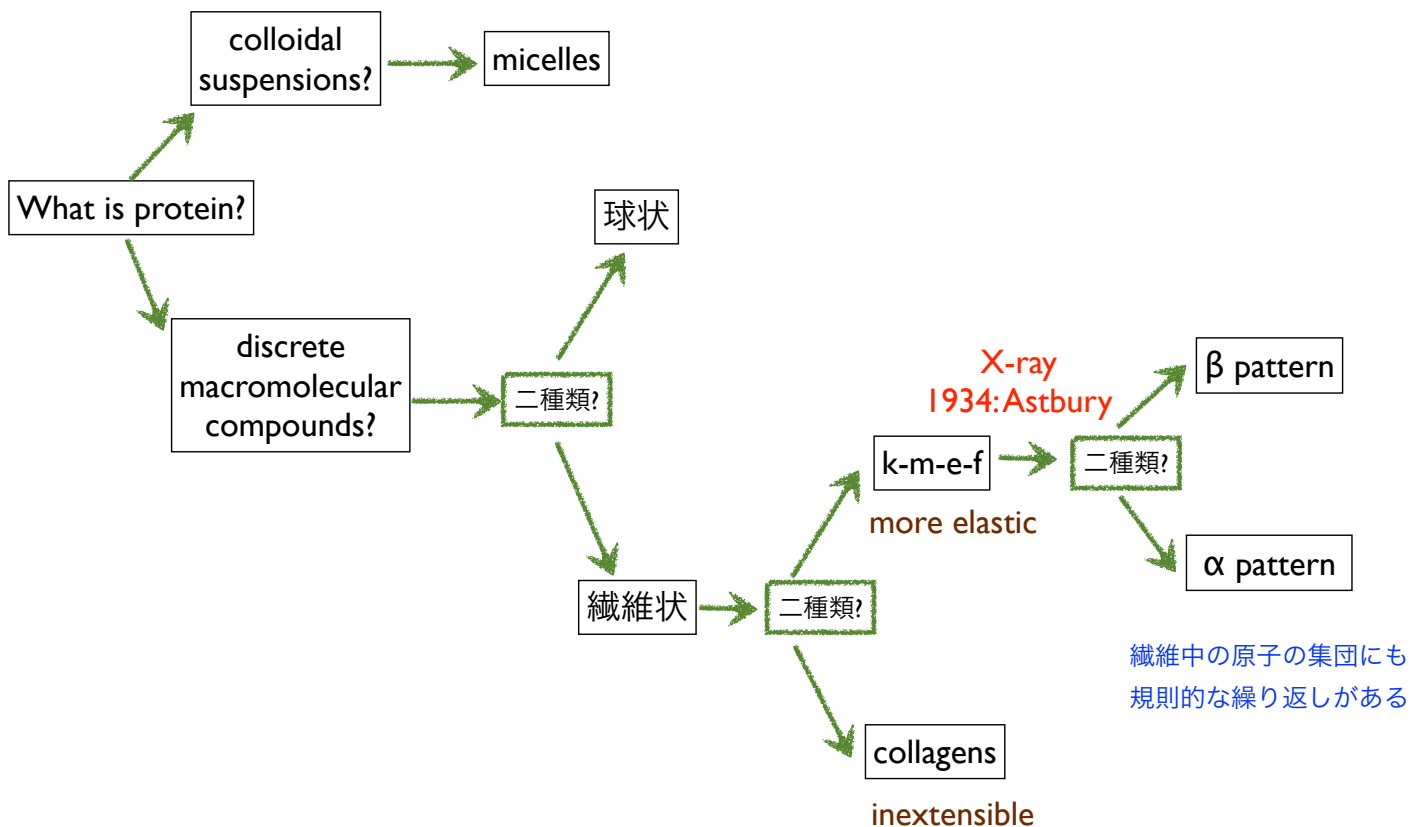
13

一方は絹糸に代表されるような、しなやかな繊維で、k-m-e-fは、ケラチン、ミオシン、エピデルミン、フィブリンノーゲンの頭文字を取ったもの。

もう一方はコラーゲンに代表される剛直な繊維です。

で、さらに、今日の主題であるアストベリーの繊維写真による実験から、k-m-e-fの中にも. . .

「歴史」が辿った道筋

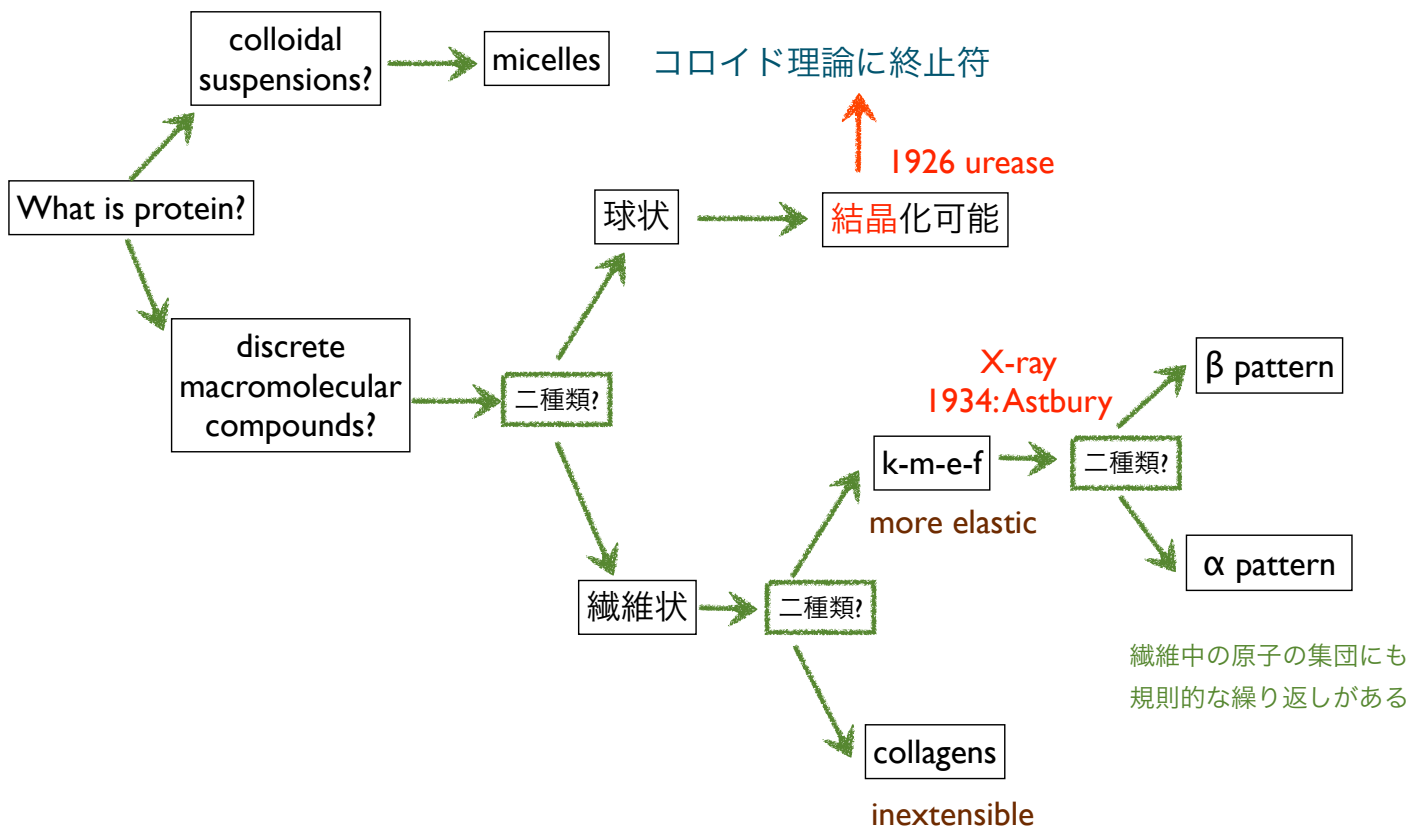


14

繊維写真には「2種類」の回折パターンが得られる。
ということは、内部構造には、異なる2種類があるらしい、
ということになります。

「2種類」の回折写真ですから、日本人なら、さしずめ
「イ」型、「ロ」型と名前を付けるのですが、アス
トベリーは「α」型、「β」型とします。

「歴史」が辿った道筋



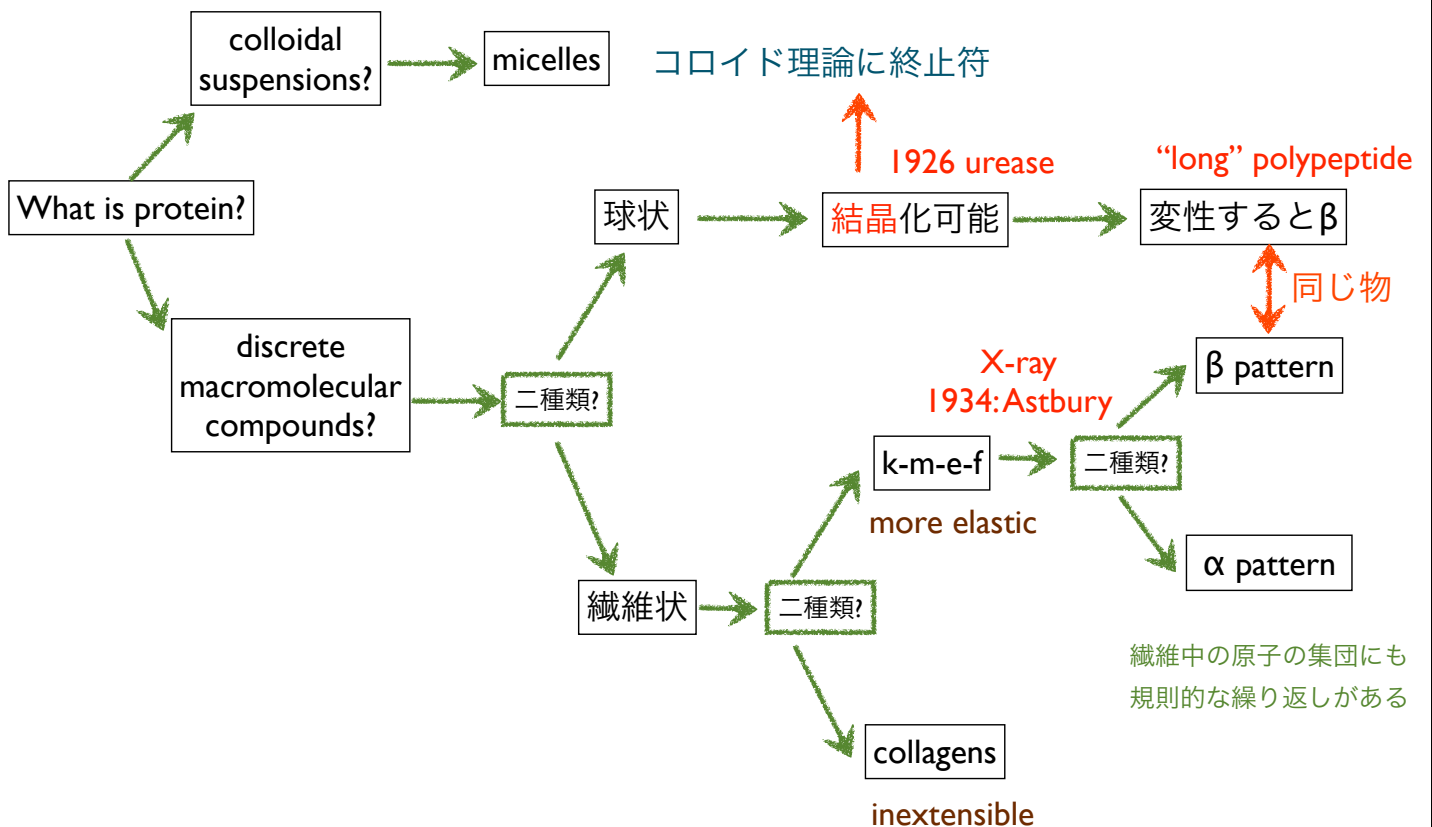
15

そして、今日の話題からは外れますが、1926年にはウレアーゼが結晶化されていて、「コロイド理論」には終止符が打たれることになります。

(なぜですか?)

このように、1930年代には、とりあえず「結晶」はあったのですが、結晶構造解析は当時としては「将来の夢(あるいは実現不可能な夢)」で、蛋白質の構造研究は実際には繊維写真によるものでした。

「歴史」が辿った道筋



16

最後に、この球状蛋白質も変性して伸びると回折パターンはβ型になるということで、これはつまり内部構造が変っているだけで物質としては同じものだ、ということが分ります。

こうしたことは、今では「常識」ですが、こんな「歴史」を辿ったということです。

どうです、面白くないですか？

key paper

*X-Ray Studies of the Structure of Hair, Wool, and Related Fibres.
II.—The Molecular Structure and Elastic Properties of Hair Keratin.*

*By W. T. ASTBURY and H. J. WOODS, Textile Physics Research Laboratory,
The University, Leeds.*

(Communicated by Sir WILLIAM BRAGG, O.M., F.R.S.)

(Received June 30, 1933.)

Phil. Trans. Roy. Soc. London (1934) A232, 333-394

17

随分と前置きが長かった気もしますが、やっと「本題」に入ります。

今日の key paper はこれです。

1934年のアストベリーらの論文ですが、60ページもあるので、全部読んでおけとはなかなか言えない(実は私も全部は読んでない)ので、一部だけを読んでおいてもらいました。

2種類の蛋白質

球状蛋白質

繊維状蛋白質

18

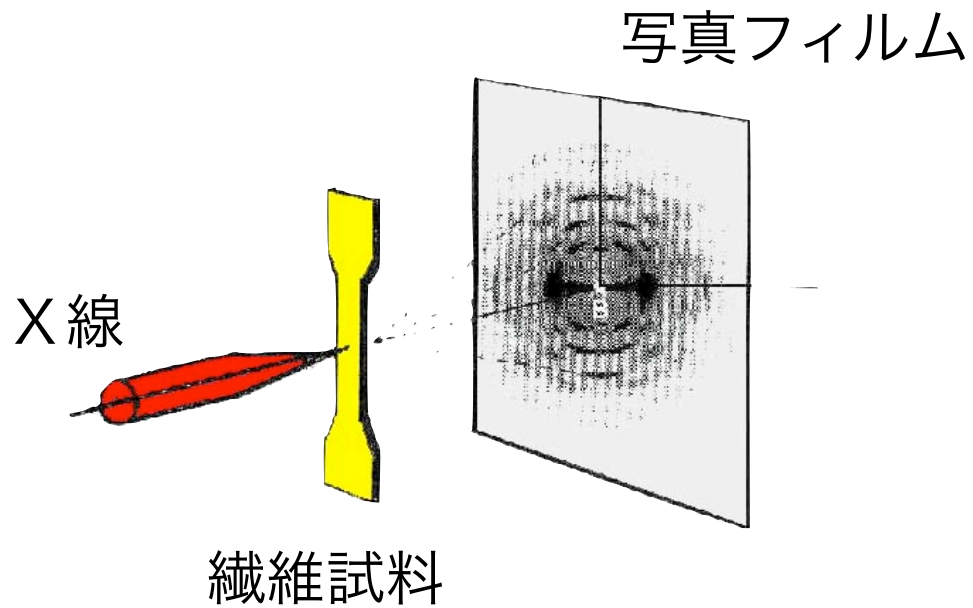
さっきも見て来たように、1930年代には、蛋白質には2種類があるということが知られています。

ここでいう「2種類」とは、球状蛋白質と繊維状蛋白質です。

これから見て行くように、歴史的に最初に「構造」が研究されたのは、球状蛋白質ではなくて繊維状蛋白質です。

なぜでしょうか？

初めは繊維から



19

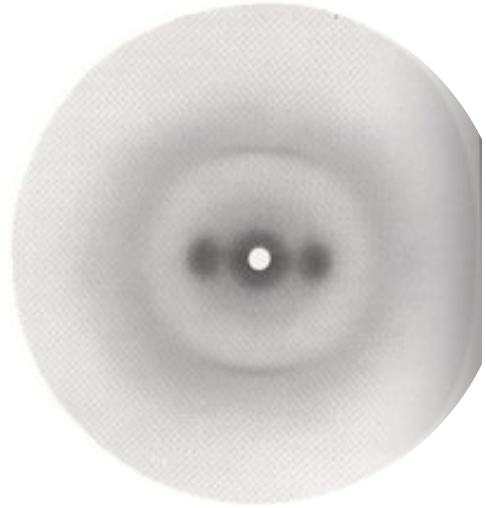
なぜかというと、もともと「繊維」ですから、簡単に引き延して持つことができ、そのままX線を当てることが出来たからです。

こんな感じです。

繊維写真の父：Astbury



1898 - 1961



Mozartの髪の毛の回折写真

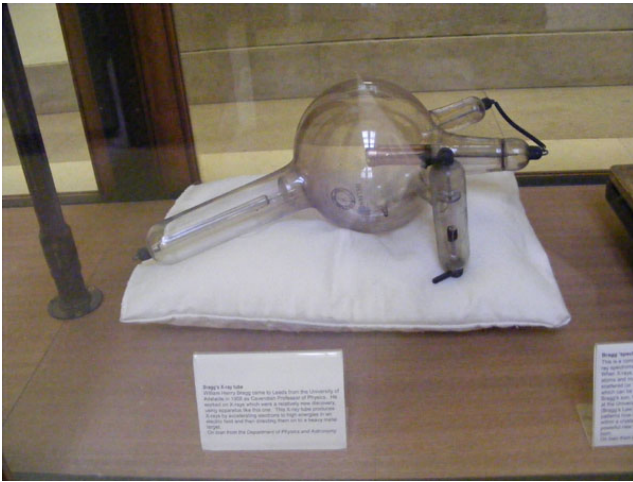
20

今日の主役はアストベリーです。

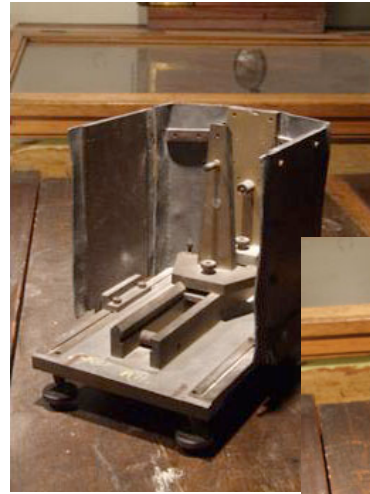
イギリスのリーズ大学のアストベリーは、さまざまな繊維のX線回折実験を行なっていて、繊維写真の父と呼ばれています。繊維状蛋白質の実験だけでなく、DNA繊維の回折実験もやっています。

(蛋白質結晶学のかなりの部分はイギリスの貢献が大きいです)

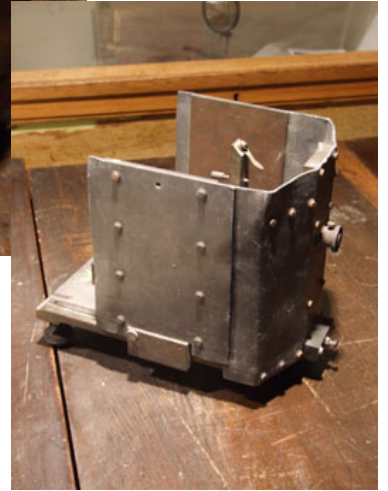
Astburyの道具



X線管



カメラ



<http://www.leeds.ac.uk/heritage/Astbury/>

21

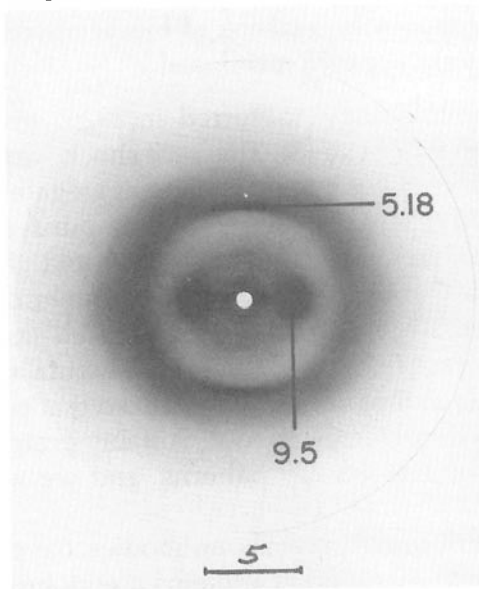
当時使われていた装置も一部は残っています。

これらは、リーズ大学のホームページにある写真です。
こっちが当時のX線管で、こっちにあるのがカメラです。

こういう実験装置を使って、撮影されていた繊維の回折写真が、次のようなものです。

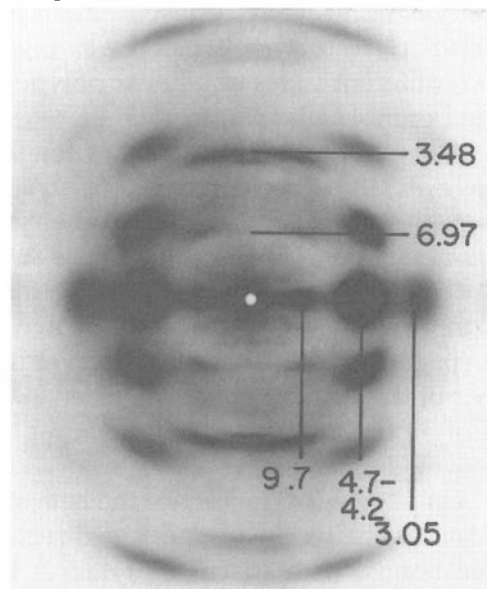
2種類の繊維写真

α pattern



keratin

β pattern



silk fibroin

22

さっきも話したように、繊維状の蛋白質にX線を当て、回折写真を取ると、写真に2つのパターンがあることが分りました。

2つですから、アストベリーが順番に α パターンと β パターンと名前を付けました。 α パターンを与える蛋白質としてはケラチンが、 β パターンを与えるものにはシルク(絹ですね)があります。

つまり、同じ繊維状の蛋白質であっても、どうも構造には2種類があるようだ、ということがこれで分ったわけです。後で出て来ますが、この α とベータがみなさんが良く知っている α ヘリックス、 β シートの「 α と β 」の由来です。

知っていました？

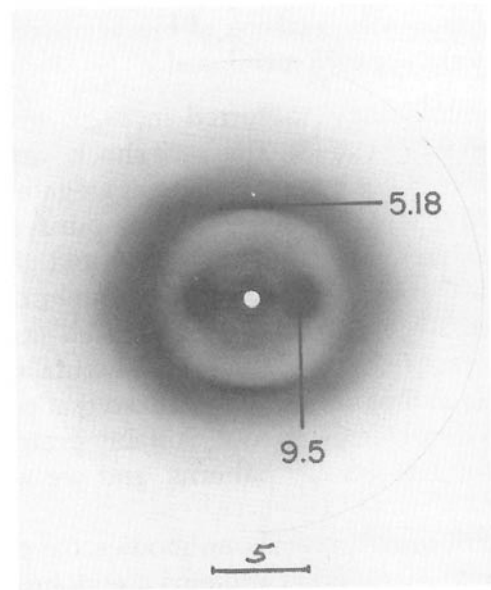
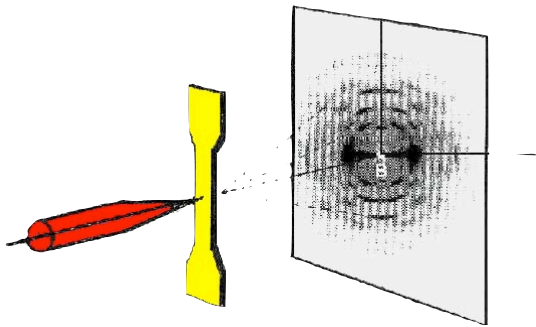
この写真が意味するところは分りますか？それが今日の宿題でした。

回折写真にこういうスポットが写るということは、蛋白質繊維中には何らかの周期的な繰り返し構造がある、ということを示しています(実際にはその辺の話は講義の後半でやるのですが、一応鈴木さんの学生実験はやっているはずなので、分ると思う...)

ここで、数字が書いてありますが、数字は構造中にあるであろう周期です。スポットの位置が写真の中心に近いほど長周期、写真の周辺にあるほど短周期の繰り返し構造があるということです。

それぞれ見てみましょう。

α pattern



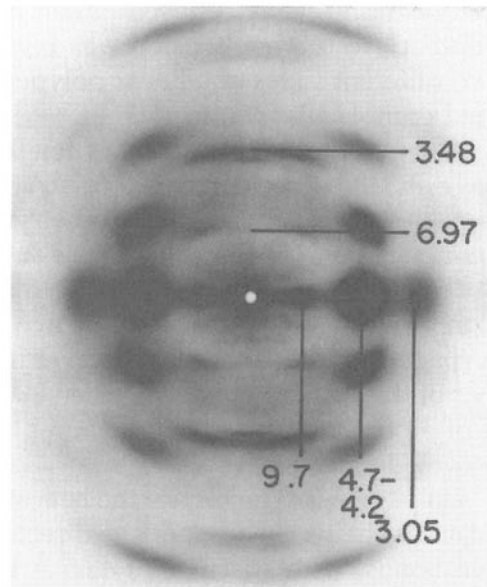
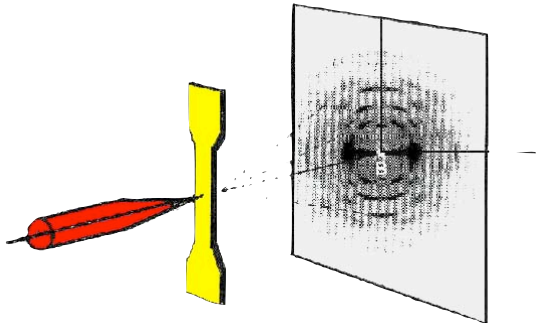
keratin

23

さっきも見たように，実験では，こんなふうに繊維を保持してX線を当てています.

α パターンを与えるケラチンは繊維の方向に約 5.2\AA の周期があり，繊維同士は約 9.5\AA の間隔でパッキングしているらしい，ということができます.

β pattern



silk fibroin

24

こっこの β パターンを与えるシルクの場合は、繊維軸の方向には約 7\AA や 3.5\AA の周期があり、繊維同士の間隔は 9.7\AA 、 $4.7\sim 4.2\text{\AA}$ 、 3.1\AA だということです。それから、こういう実験で、もう一つ大事なことが分りました。それは、

keratinの可逆変化と考察

α pattern \Leftrightarrow β pattern

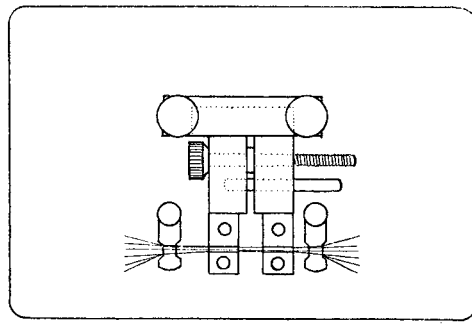
25

通常 α パターンを与えるケラチンが、引っばって伸ばしてやると β パターンになる.

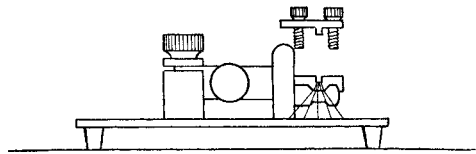
しかも、それは可逆的である、ということです.

それには、どういう装置を使っていたかという、

keratin 繊維の可逆変化



Plan



Elevation

stretching-frame

X-Ray Studies of the Structure of Hair, Wool, and Related Fibres. I. General

Author(s): W. T. Astbury and A. Street

Source: *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series A, Containing Papers of a Mathematical or Physical Character*, Vol. 230 (1932), pp. 75-101

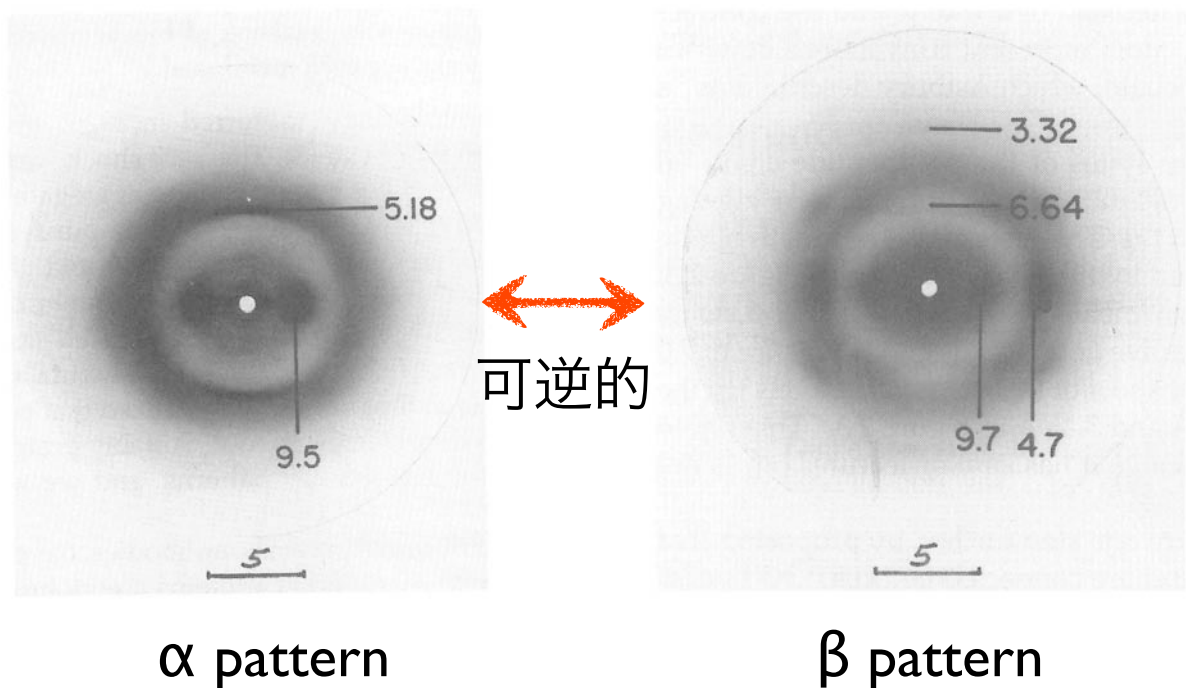
こういう装置です.

ここに繊維を挟んでおいて、ネジで押し広げていくわけです.

そういえば、ケラチンって何ですか？

例えば髪の毛ですよ。だから、こういう風に繊維を束ねて引っぱってみることを、比較的簡単にやってみようとして出来たのだと思います.

keratin 繊維の可逆変化



27

実際にやってみると、面白いことに、 α パターンを与えるケラチンは、その繊維を引き延すと β パターンになり、ゆるめるとまた α パターンに戻ることが分りました。こんな感じです。

これで、どんな大事なことが分ったのでしょうか？

何らかの周期構造があることに加えて、引き延したり戻したり出来る、といことで、繊維蛋白質は、コロイド状の物質なのではなく、**どうやら鎖状の構造をしているようだ**。つまり「ポリペプチド」に違いなさそうだ、ということが分ったわけです。

そのあたりを、**アストベリー**は、皆さんに読んでもらった論文ではどう書いていましたか？

Briefly, the whole argument rests on the discovery† that the X-ray “fibre photograph” which appears to be common to all mammalian hairs, human hair, wool, whalebone, nails, horn, porcupine quills, etc., and which is undoubtedly the diffraction pattern of crystalline, or pseudo-crystalline, keratin, the common fibre substance of all these biological growths, is changed into a quite different fibre photograph when the hair is stretched. The change is a reversible one, recalling that previously discovered by KATZ‡ in rubber, because when the hair is returned to its initial unstretched length, the normal keratin photograph reappears. It is clear that the X-ray effects give a diffraction record of a reversible transformation involving not merely an internal slipping of the fibre substance or a rotation of “micelles” into stricter alignment, but a definite elastic elongation and contraction of the keratin complex itself. It has been proposed, I, to call the two forms of keratin thus revealed by X-ray analysis α -keratin and β -keratin, the former being the shorter, normal form.

1ページ目の下の方ですが...

ケラチン(髪の毛)は、伸ばすと違った繊維写真を与える。
しかも可逆的。

それは、ミセルの回転や内部の繊維状の部分のスリップ
ではなくて、ケラチン分子そのものの弾力的な伸び縮み
だ。

と主張しています。ここで「ミセル」は” “でくくられていますね。アストベリーは「実際にはミセルなんかじゃないよ」と言っている訳です。

伸び縮みの可逆的な変化が 可能な蛋白質の構造とは?

29

蛋白質はミセルではない.

では, こうした α と β ケラチンの間での可逆的な伸び縮みの構造変化が, いったいどういう機構で可能になっているかということが問題です.

つまり, それがちゃんと説明出来る蛋白質の構造を考えてみようということです.

Putting aside for the moment the question of the analysis of the normal fibre photograph (α), it is to be noticed at once that the photograph of stretched hair (β) is closely analogous to that always given by the protein of natural silk*, *fibroin*, whether unstretched or stretched, and there is every reason to believe†, both from X-ray and general physical and chemical evidence, that the fibre substance of silk is for the most part built of fully-extended polypeptide chains of the simple kind postulated by FISCHER. It follows, therefore, that β -keratin is most probably also based on fully-extended polypeptide chains, while α -keratin must be constructed out of the same chains in some shorter, folded form. Natural silk is thus virtually non-elastic, while mammalian hairs, on account of the inherent configurational instability of the extended keratin complex, show long-range elasticity of a most valuable and instructive character.

We may picture a polypeptide chain as a long series of α -amino-acid residues,

each of the general formula $\begin{array}{c} \text{CO} \diagup \\ \text{CH} \\ \text{R} \diagdown \end{array} \text{NH} \diagup$ — a kind of molecular centipede whose

legs represent the various univalent “side-chains” denoted in the general formula by the letter R; and in a fibre such as hair, built, as X-rays show, from a system of

天然のシルクの構造(つまり β 型写真の蛋白質)が伸びた構造であるところを確認した上で、ということは、ケラチンの α 型は折りたたまった短い構造で、引っ張ってやった β 型は伸びた構造だ。ここまではいいですね。

それじゃあ一体どういう内部構造をしているのだろう、ということで、この論文では繊維写真のパターンに基いて推論が展開されていきます。

みなさんにとってはこんなことは「常識」ですが、何を分り切ったことを議論しているのかと思っははいけません。当時は全の未知の構造を繊維写真のパターンから推測している議論だ、ということに注意して下さい。

もしも蛋白質が一本鎖の「ポリペプチド」なのだとしたら、その構造は、こんな感じだろうということで、アストベリーは側鎖 -R が交互に足のように出ている「分子ムカデ」と表現しています。面白いでしょ。...

knowledge of the elastic properties, we must now conclude that the whole process of extension and recovery in the hair fibre is based on a protein chain-system which, under the proper conditions, is capable of being stretched to twice or contracted to half its normal length. These (approximate) limits rest on exhaustive experimental tests of numerous actual fibres, and also find a complete quantitative interpretation in all the available X-ray data, not only of keratin itself, but of other protein fibres also.* The true starting-point of the line of argument is the observation that the X-ray photograph of β -keratin (stretched hair) is in all essentials analogous to that of the fibroin of natural silk, which is the same whether stretched or unstretched. From every point of view we must assume that fibroin is built from fully-extended polypeptide chains lying closely side by side to form long, thin crystalline “bundles” or micelles, and that the effective length of each amino-acid residue in such a system is 3.5 Å.†

さて、それでは、こういう「分子ムカデ」状のポリペプチドであるケラチンが、どうして可逆的に伸び縮みが可能か、ということになります。しかも、**ケラチンは「倍」の長さまで伸ばしたり戻したりすることが出来ます。** そんな蛋白質であるケラチンは、いったいどういう内部構造をしているのだろうか、ということです。

さっきも書いてありましたが、 β ケラチン(つまり伸ばした髪の毛)のX線回折写真は、基本的に絹のフィブロインのものと同じである。そしてフィブロインの回折パターンは、それ以上引き伸ばしても変わらない。このことから、フィブロインは完全に伸びた構造だと考えられる。

It follows therefore that if the postulated analogy between β -keratin and fibroin is sound, the characteristic meridian spacing of β -keratin, I, 3.4 \AA (approximately), corresponds to the average length of an amino-acid residue in the *fully-extended* keratin chains, so that to explain the occurrence of the normal α -form of hair, we have to decide on a method of folding these chains *which will satisfy both the quantitative requirements of the α -photograph and the 100% extension revealed by the generalized load/extension curve*. In addition, the molecular model must give, at least, a qualitative interpretation of the main physico-chemical differences between α - and β -keratin, and also promise a basis for a quantitative treatment of the super-contraction phenomenon. The type of intramolecular transformation which best satisfies *all* these various requirements is shown diagrammatically as follows :—

β ケラチンとフィブロインの構造が似ているという仮定が正しいのであれば、 β ケラチンの繊維写真の子午線方向の 3.4\AA の間隔は伸び切ったケラチンのアミノ酸残基の周期に対応しているだろう。

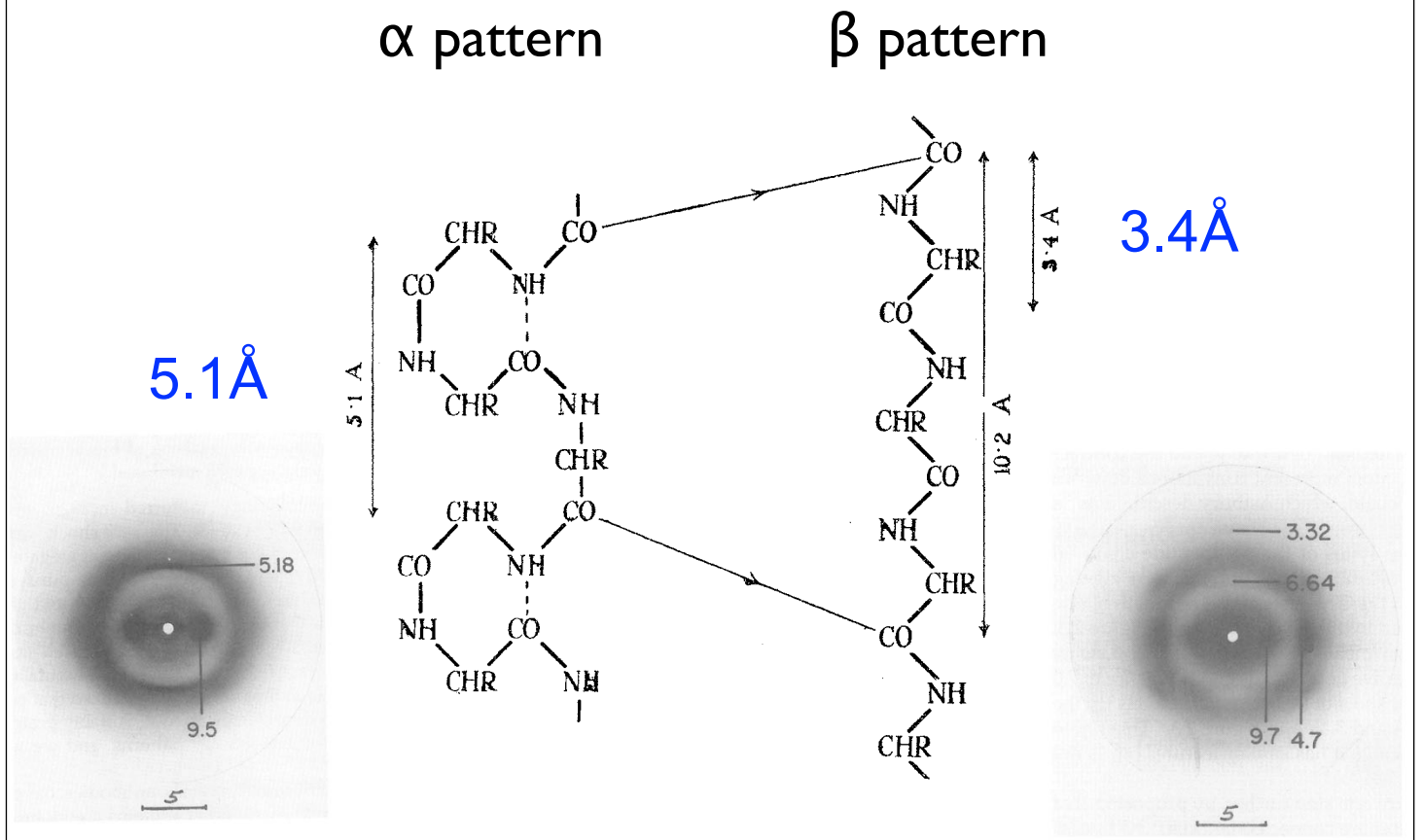
では、 α 型ケラチンの繊維写真を説明出来て、しかも100%も(つまり2倍に)伸びることが出来る構造とは、いったいどんな構造だろうか。

で、アストベリーらが、どう考えたかというところ...

The β -form is thus represented by fully-extended peptide chains in which each amino-acid residue takes up, on the average, a length along the fibre-axis of 3.4 \AA , while the α -form is represented by a series of pseudo-diketopiperazine rings which follow each other according to a pattern of length 5.1 \AA . The unfolding of the rings is clearly accompanied by an elongation of 100%, and the suggested pattern offers an explanation of both the characteristic meridian reflection of the α -form (5.1 \AA) and of the decrease of resistance of the β -form, as compared with the α -form, to the action of reagents such as steam, etc.

β 型は、さっきから何度も出ているように、 3.4\AA の周期を持つ、伸び切った構造で、一方 α 型は 5.1\AA の周期を持つ、擬似的なジケトピペラジンリング型ではないだろうか、という提案をしました。

Astburyのモデル



34

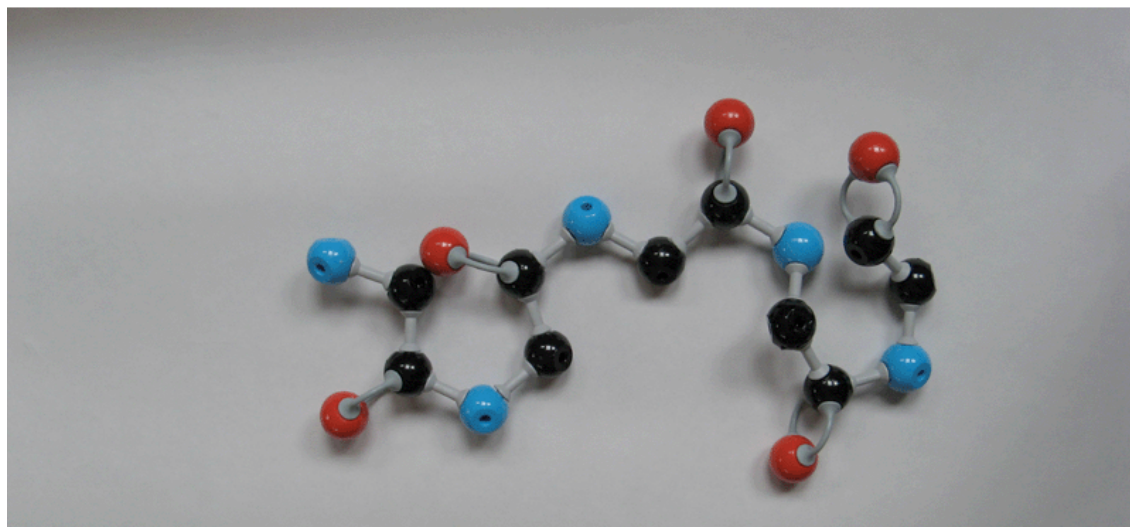
左がアストベリーのらの提案した α 型で、右が β 型です。回折写真では、 α 型は繊維軸方向に5.1Å、 β 型は3.4Åの周期があるはずです。そして100%(つまり2倍に)延び得る構造である必要があります。

この構造であれば、周期もだいたい辻褄が合うし、この点々の部分は水素結合なので、引っ張ったり緩めたりして構造が可逆的に変わることも説明出来ます。

実際、左側の構造モデルは間違っていますが、この右側の構造は「正解」でした。

実は、この間違っている左の α 型の構造(ジケトピペラジン環)は、後の球状蛋白質の構造研究に良くない影響を与えます。そのことはまた後で出て来ます。

Astburyのモデル



<http://www.leeds.ac.uk/heritage/Astbury/>

35

これはおまけ. リード大学のホームページにあるアストベリーのモデルです.

GIFアニメなのでガタガタしていますが, α 型と β 型の構造の違いと, その間の構造変化を示しています.

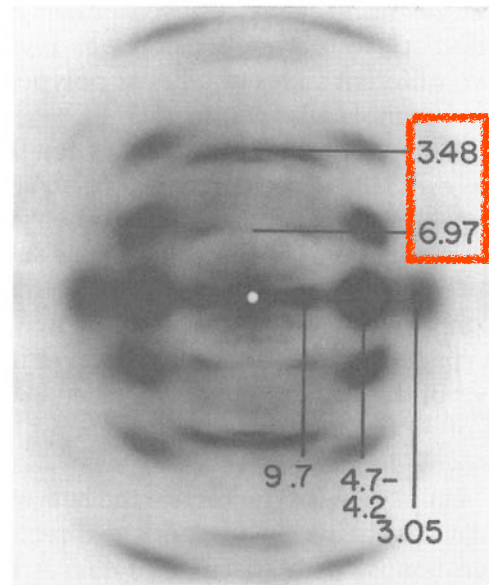
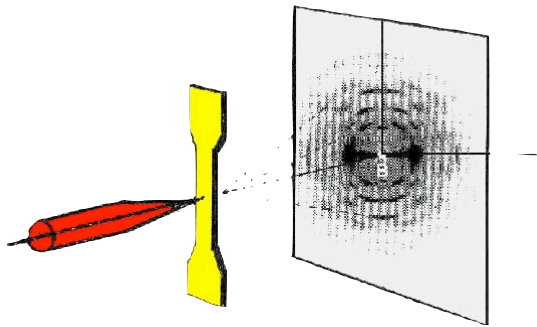
β patternの詳細な考察

36

さて、さっき「正解」と言いましたが、この論文では β 型の詳細な構造が議論されています。

どういうことに基いた議論がされたかというと、

β pattern



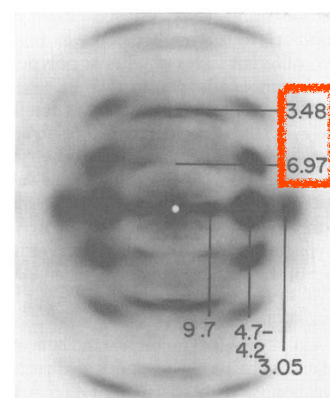
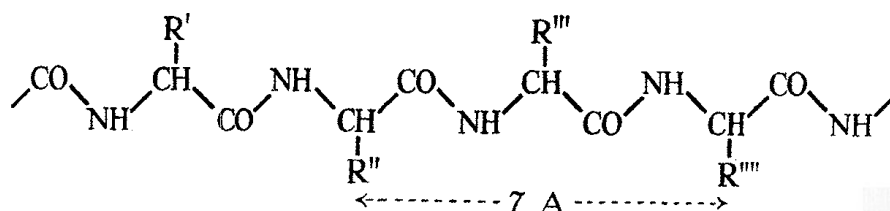
silk fibroin

37

まず、繊維軸の方向の約 7\AA や 3.5\AA の周期について、それを説明することが出来る構造です.

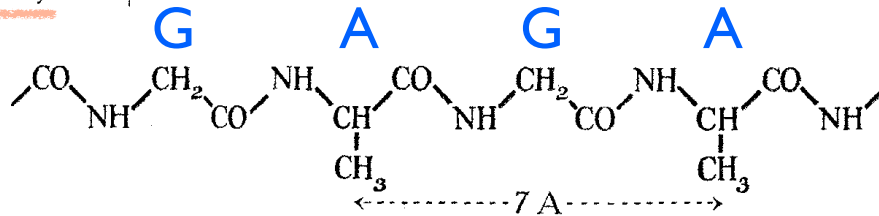
さっき 3.5\AA は残基の周期は既に見ましたが、では、この約 7\AA の周期は、

repetition of pattern parallel to the fibre axis. For silk the period in this direction is about 7 Å,* while for β -keratin it is rather less, something between 6·7 and 6·8 Å.† (for the detailed description of the two keratin photographs, see I). It is not at all probable—for keratin at least (see above)—that lengths such as these represent the true period along a polypeptide chain-system, but are rather an expression of the fact that in the simplest formulation of the fully-extended general chain :—

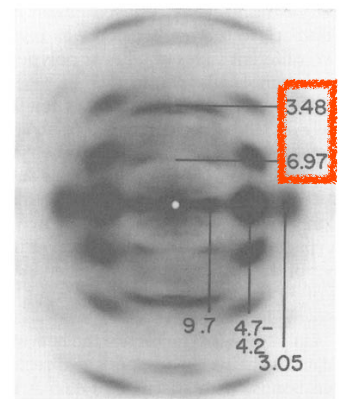


このように、ポリペプチド鎖が伸び切った構造だとすると、側鎖は左右交互に出ますから、その間隔は約7Åということで、これが見えているのだろう、

chains. In silk fibroin the apparent cell given by the X-ray photographs ($a = 9.68 \text{ \AA}$, $b = 7.0 \text{ \AA}$, $c = 8.80 \text{ \AA}$, $\beta = 75^\circ 50'$) is associated with a weight equivalent to four glycine residues and four alanine residues,* from which the simplest conclusion seems to be that the chains are for the most part built out of alternate glycine and alanine residues, thus†:—

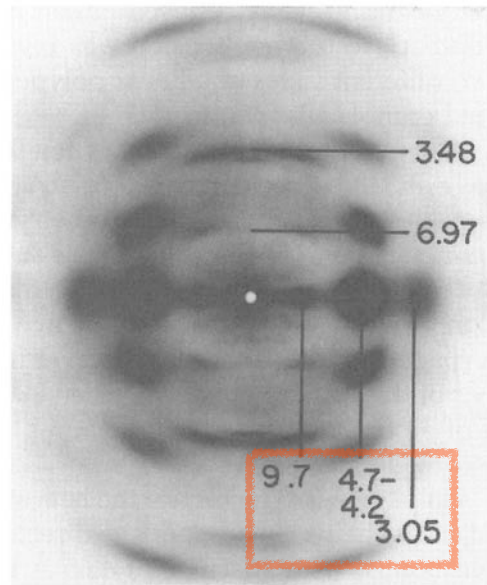
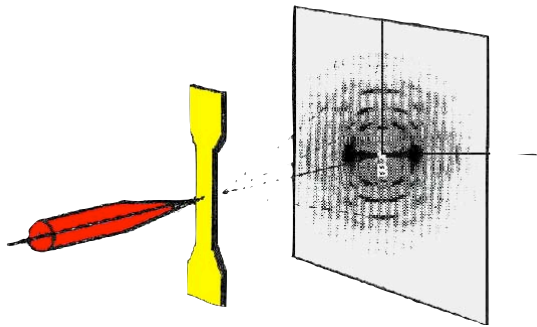


and that four parallel chains constitute a *crystallographic* group.



特に絹フィブロインは poly-(Ala-Gly)だということが知られているので、一つ置きのAlaどうしの間隔と、この約7Å周期が辻褄が良く合う。

β pattern



silk fibroin

次に繊維軸に垂直方向(lateral方向)の周期について考えてみると.

The X-ray photograph of β -keratin, I, is most conveniently referred to an orthogonal cell of dimensions, $a = 9.3 \text{ \AA}$, $b = 6.7-6.8 \text{ \AA}$, and $c = 9.8 \text{ \AA}$. (see footnote†, p. 371), of which b is the most prominent period along the molecular chains, while a and c are “side-spacings.” With regard to the latter two points emerge, (i) that the equatorial “spot” nearer the centre which gives the c -spacing is preserved more or less unchanged when the α -photograph is transformed to the β -photograph, and (ii) that the transformation calls into existence on the equator a very strong spot of spacing $a/2$, i.e., 4.65 \AA . From a study of existing X-ray data on proteins§ the interpretation of these results seems clear, that, in fact, the spacing 9.8 \AA common to both α - and β -photographs arises from the lateral extension of the side-chains (the R-groups of the general formula given above), while the spacing 4.65 \AA represents the distance of approach of the main-chains on those sides free from side-chains. The controlling factor in this closest approach of neighbouring “backbones” is most probably attraction between ($=\text{NH}$) and ($=\text{CO}$) groups, * † ‡, whereby the chains are grouped in pairs; thus :—

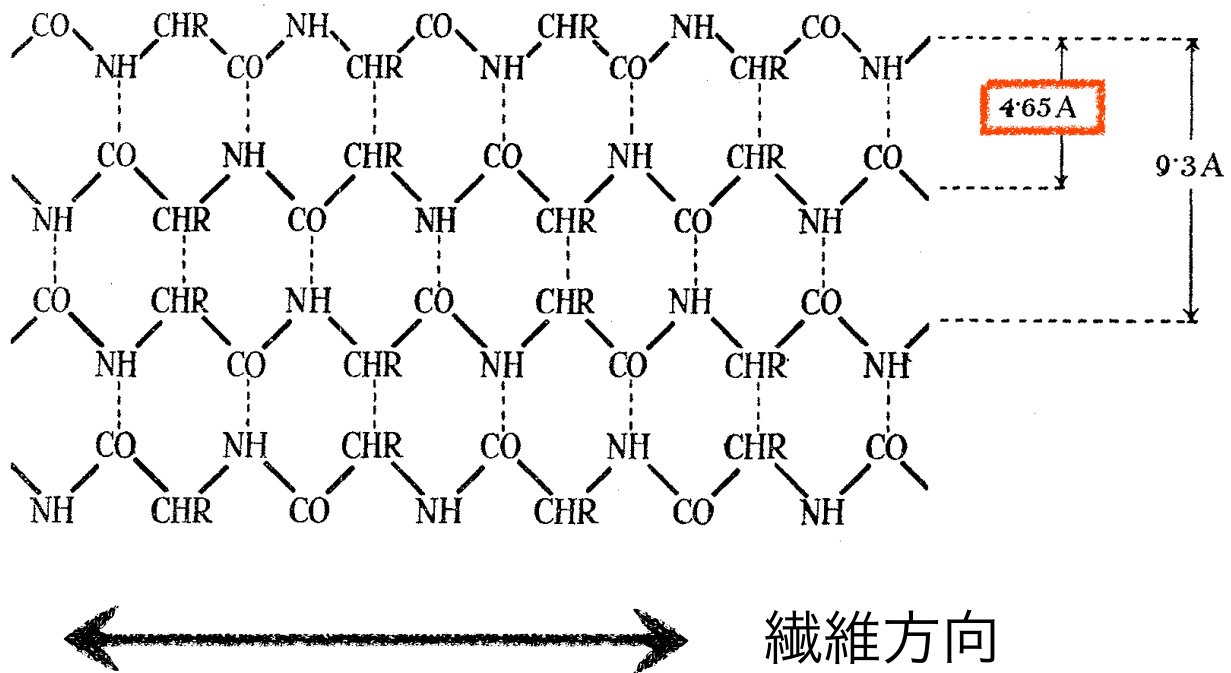
1)中心に近い約9.7(9.8)Åのスポットは、 α 型と β 型の間で共通している。だとすると、これは、側鎖の出っ張りを経て隣接する鎖間の距離によるものだろう。

2) α 型が引っぱられて β 型になると、約4.6Åに強いスポットが現れる。この4.6Åの間隔は、伸びた主鎖間が隣り合ったときの距離ではないかと議論しています。

アストベリーは、この推論から、さらに進んで、ベータシート構造を提案しています。

ここに、 β ケラチンの格子定数が書いてありますが、これは後で見ます。 . . .

βシート構造の提案



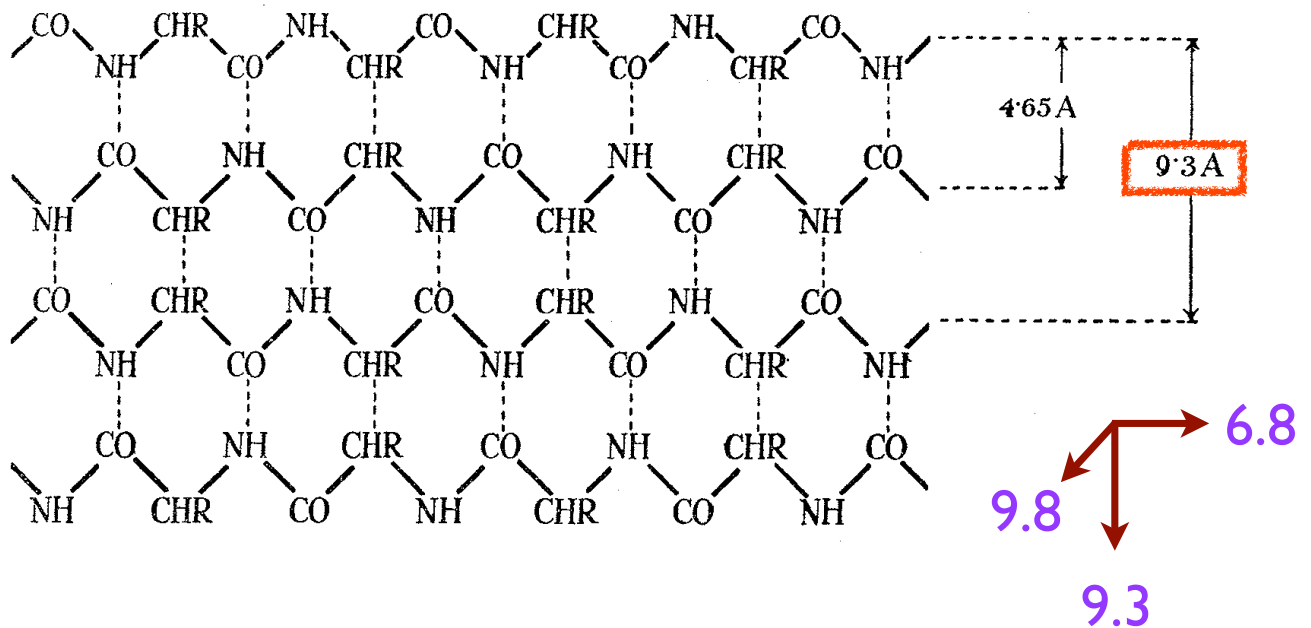
42

この絵はどういうβシート?

逆平行βシート構造ですよね。この構造は、隣りのペプチド鎖が逆方向に向いていて、鎖間に水素結合がかかっています。1934年に、蛋白質がいったいどういう構造をしているのだろうという議論の結構初期に、繊維写真を元にして既に提案されていた、ということです。凄くないですか？

この場合、隣どうしのチェーン間の距離は 4.65\AA で、繊維方向が横向きですから、彼の構造の提案では、シルクはその繊維方向には共有結合の鎖で非常に強く、繊維に垂直な方向には、シート方向の水素結合と、シートに垂直な方向には側鎖を介したファンデルワールス結合がある、ということになります。

βシート構造の提案



The X-ray photograph of β -keratin, I, is most conveniently referred to an orthogonal cell of dimensions, $a = 9.3 \text{ \AA}$, $b = 6.7-6.8 \text{ \AA}$, and $c = 9.8 \text{ \AA}$. (see footnote†, p. 371),

43

さっきちょっと触れた β ケラチンの格子ですが、この絵は隣どうしのチェーン間の距離は 4.65 \AA ですが、厳密な周期はひとつ置きですから、約 9.3 \AA ごとということになります。そして、シート間は側鎖の張り出しでの接触ですから、何枚か前のスライドで議論したように α , β に共通の 9.8 \AA 、そして、フィブロインのところで見たように、主鎖方向には約 7 \AA (6.8)の周期があるということで、この β シートのモデルは、 β ケラチンの格子定数と良く合っていることが分ります。

この構造は、後にポーリングらによって確かめられます。

「歴史」の辿った道...

44

さて、つまりアストベリーらは繊維写真の特徴から色々推論して、

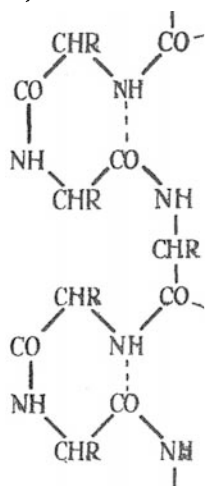
- 1) 蛋白質(少なくとも繊維状蛋白質)がポリペプチド鎖であること
- 2) α 型と β 型間で伸び縮み可能なことが説明できる構造の提案
- 3) β 型については、シート状の構造があるだろう

という説明がされたところまでです。

さっきも言ったように、蛋白質がいったいどういう構造をしているのだろうという議論の結構初期である1934年に、繊維写真を元にして既に β 型の繊維蛋白質の構造が推測され、 β シート構造も提案されていたということです。

今日はここまでです。次回に続く訳ですが、実は、このアストベリーの構造の提案が「不幸」を招きます。

The β -form is thus represented by fully-extended peptide chains in which each amino-acid residue takes up, on the average, a length along the fibre-axis of 3.4 Å, while the α -form is represented by a series of pseudo-diketopiperazine rings which follow each other according to a pattern of length 5.1 Å. The unfolding of the rings is clearly accompanied by an elongation of 100%, and the suggested pattern offers an explanation of both the characteristic meridian reflection of the α -form (5.1 Å) and of the decrease of resistance of the β -form, as compared with the α -form, to the action of reagents such as steam, etc.



pseudo-diketopiperazine rings

「cylcol理論」への道...

途中でも見たように、アストベリーの論文の344ページの α 型の説明に”擬似ジケトピペラジン環”が出て来ました。

実際には、今回のアストベリーの議論では、この構造案は $\alpha \rightleftharpoons \beta$ の構造変化が可能のために提案されたものでした。つまり、その議論からするとこの「環」は共有結合で閉じていてはいけないうことになります。

しかし、この六角形の環構造が、来週議論するシクロール(サイクロール)説を誘発することになります...

次回の key paper

Wrinch は Astbury の
繊維写真の解釈を
どう誤って解釈して
しまったのか

The Pattern of Proteins
By Dr. D. M. Wrinch, Mathematical Institute, Oxford
Nature (1936) 137, 411-412

The Cyclol Theory and the 'Globular' Proteins*
By Dr. D. M. Wrinch
Nature (1937) 139, 972-973

化学結合論による論考

The Structure of Proteins
By LINUS PAULING AND CARL NIEMANN
JACS (1939) 61, 1860-1867

Wrinchの反論

The Geometrical Attack on Protein Structure
By DOROTHY M. WRINCH
JACS (1941) 63, 330-333

46

最初に話したように、この講義は「歴史」を途中の誤りを含めて辿ります。次回は、このシクロール説を、いったいどうしてそういうことになってしまったのか、という観点も含めて議論します。

次回の key paper はこれら4つです。宿題レポートは、

Pauling & Niemannまたは、Wrinchの反論を読んで、現在の論文では考えにくい表現を1つ以上レポートせよ。私が何を言っているかは読んでみてもらえば、たぶん分ると思います...

ということにしましょう。全員が同じのしか読んで来ないと面白くないので、教室の半分ずつにしましょうか。(今度は大して長くないので、もちろん4報全部読んで来てもらえば良いのですが...)