

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3回

1

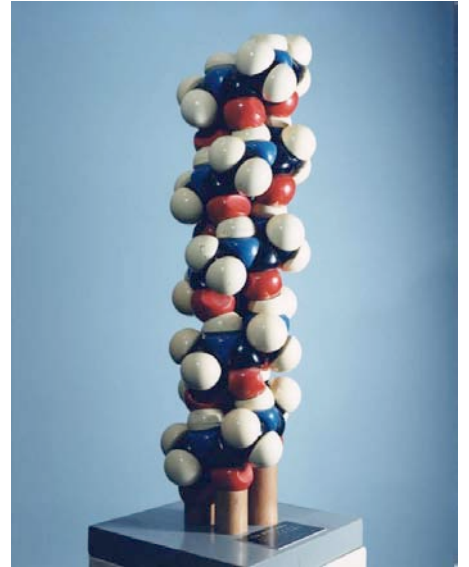
3回目です.

前回は「球状蛋白質の構造」の議論の歴史ということで、シクロールのお話をしました.

(2回目をやってみた感じで、時間がありそうなら、ラボク
イップモデルで実際にヘリックスを組んでみる. 学部2年
生の授業では丁寧に説明しているが、修士1年生の講義だ
とすると、一度「放置」して各自に組ませてみるか?)

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



Space-filling model of the alpha-helix. 1951.
<http://osulibrary.oregonstate.edu/>

2

で、今回は α ヘリックスの構造の解明の話です。

初回にアストベリーが、繊維写真を「解釈」して解明したのは何ですか？

β シート構造の方ですね。アストベリーは α パターンの構造も提案していますが、それは間違っていて、それがきっかけになって、シクロール説が出てしまったのは、先週見ました。

構造解析への期待

Astbury :

immense. Exact analyses of the proteins, though always laborious, need no longer be the thankless tasks they have been. Every possible reliable observation now is urgently needed and must sooner or later be fitted into the puzzle. Above all, *complete* analyses of single proteins are necessary. . . .

Pauling :

It has not yet been possible to make a complete determination with X-rays of the positions of the atoms in any protein crystal; and the great complexity of proteins makes it unlikely that a complete structure determination for a protein will ever be made by X-ray methods alone.⁷ Never-

3

前回は1930年代半ばから40年代にかけての話でした。今日は1950年代にまで飛びます。

この時代の状況の復習ですが、先週も見たように、アストベリーは、積極的に構造解析の必要性を唱えていました。一方、今日の主役のポーリングは、どっちかというところ「そんなの出来っこない」と言っていたのです。

ようやく小さい分子のX線結晶構造解析が可能になって来ていた頃です。ポーリングはタンパク質の複雑さをよく理解しており、それを考えると、タンパク質のX線結晶構造解析は**ずっと無理**だろうと思っていました。「そんなの出来っこない」ですね。

(みなさんだったらどっちでしょう?)

Bernalの決意

J.D.Bernal がタンパク質結晶構造解析の
研究グループを組織



1933年：D.C.Hodgikin

ペプシン, インシュリン



1936年：M. Perutz

ヘモグロビン



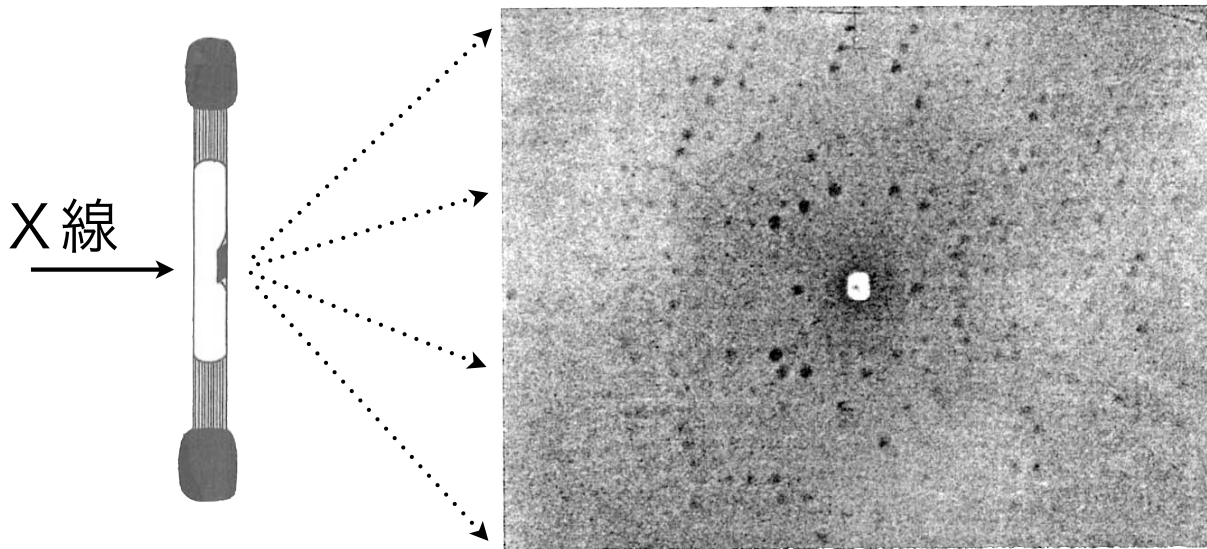
4

ちょっと、今日の内容からすると余談ですが、「時代背景」を
少しだけ見ておくと...

ポーリングが「できっこない」と考えていた時代に、「結晶に
なるなら解析することが出来る」という強い信念で、バナル
がX線結晶構造解析を決意し、イギリスのケンブリッジに研究
室を作りました。1933年にドロシーが、1936年にペルーツが
加わります。

「タンパク質はコロイドかも」という時代は終わっています。
ドロシーが解析したのはペプシンやインシュリン、ペルーツは
ヘモグロビンです。

タンパク質の「結晶」の登場



ヘモグロビンの結晶のX線回折写真
(1937年 ペルーツらが撮影)

5

これは、1937年にペルーツ、ファンクーヘン、バナールが撮影したヘモグロビンの結晶のX線回折写真です。

「結晶化することが出来る」、ということは「**原理的には**」構造を解析することが出来る、ということの意味します。

ヘモグロビンの「**構造**」が発表されたのはいつですか？

でも、ヘモグロビンの $5.5\text{\AA}$ の構造がNatureに発表されたのは1960年ですから、**20年**以上かかっています。

どうです。 すごいですね...

Astburyの繊維写真に

残されていた課題

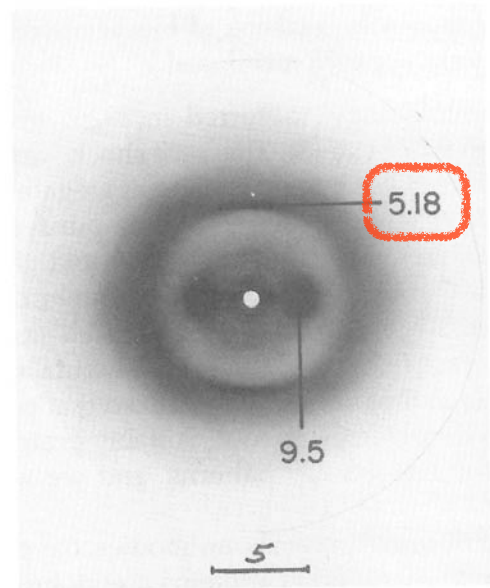
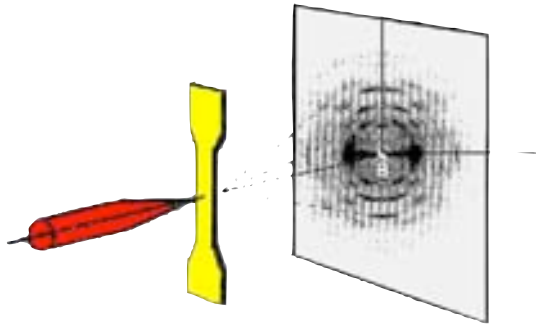
6

話を戻しましょう.

蛋白質分子全体の構造の解明に継がる, 結晶構造解析の話は, ちょっと置いておきます.

今日は, アストベリーの繊維写真の2つのパターンの一方, α 型の構造の解釈の話です.

α pattern



ケラチン繊維

一回目の復習です.

アストベリーの β ケラチンの「伸びた鎖」の構造は一般的に認められていましたが、折り畳まれた α 構造は、まだ謎です. この繊維軸方向の $5.18\text{\AA}$ の周期性を説明することが出来る、もっと良い解釈が求められていました. 実は、この $5.18\text{\AA}$ には、ちょっとだけ落とし穴があったのですが、それはまた後で話します.

key paper

ヘリカルモデルの提案

Polypeptide chain configurations in crystalline proteins

BY SIR LAWRENCE BRAGG, F.R.S., J. C. KENDREW AND M. F. PERUTZ

Cavendish Laboratory, University of Cambridge

(Received 31 March 1950)

Proc. Roy. Soc. London (1950) A203, 321-357

α -helix の提案

「紙」と手による論考

*THE STRUCTURE OF PROTEINS: TWO HYDROGEN-BONDED
HELICAL CONFIGURATIONS OF THE POLYPEPTIDE CHAIN*

BY LINUS PAULING, ROBERT B. COREY, AND H. R. BRANSON*

GATES AND CRELLIN LABORATORIES OF CHEMISTRY,
CALIFORNIA INSTITUTE OF TECHNOLOGY, PASADENA, CALIFORNIA†

Communicated February 28, 1951

Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1951) 37, 205-211

α -helix の実験的検証

No. 4261 June 30, 1951

N A T U R E

1053

NEW X-RAY EVIDENCE ON THE CONFIGURATION OF
POLYPEPTIDE CHAINS

M. F. PERUTZ

Cavendish Laboratory,
University of Cambridge.

Nature (1951) 167, 1053-1054

今日の key paper はこれです.

1報目は、ブラッグ、ケンドリュー & ペルーツ、2報目が
ポーリングらの、そして3報目がペルーツの論文です.

1950年から51年にかけての議論です.

今日は、だいたいこの順番を追って見ていきます.

@ Cambridge



Braggのチーム



Perutz



Kendrew

9

最初はイギリスのケンブリッジですが、バナールはロンドンへ移り、ドロシーも学位を取ってオックスフォードに行きます。バナールの後にはブラッグ(息子の方：ローレンス)がやって来ます。第二次世界大戦中にインドでケンドリューがバナールに逢い、ブラッグの研究室に行くことを勧められます。兵役の後ですから、ケンドリューがブラッグの研究室に入ったのは27, 8歳のころです。

こうしてケンブリッジの構造解析のチームは、ブラッグ、ペルーツ、ケンドリュー体制になりました。

Bragg, Kendrew & Perutz, *Proc. Roy. Soc. London* (**1950**)
A203, 321-357

Polypeptide chain configurations in crystalline proteins

BY SIR LAWRENCE BRAGG, F.R.S., J. C. KENDREW AND M. F. PERUTZ

Cavendish Laboratory, University of Cambridge

(Received 31 March 1950)

結晶学者の論文...

最初のkey-paperは、ブラッグ、ペルーツ、ケンドリュー
体制で書かれた論文です。

「結晶学者の論文」という意味は後で触れます。

Astbury and his co-workers in their pioneer investigations have made an exhaustive study of the fibrous proteins such as the keratin of hair and wool. Their most important result, in the present connexion, is their inference that the marked 5.1 Å repeat along the fibre axis which is shown prominently by X-ray photographs of α-keratin and its analogues corresponds to an element of folded chain containing three amino-acid residues. Briefly, Astbury (private communication, 1949) summarizes the evidence as follows:

5.1 Å

Astburyのα-keratin

β-keratin

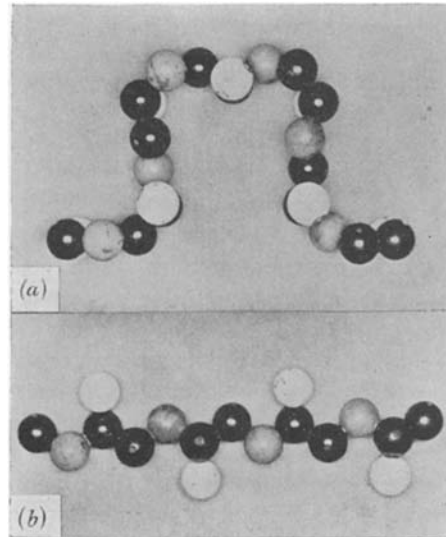


FIGURE 2. Chain configurations proposed by Astbury (1949a) for (a) α-keratin, (b) β-keratin.

さて、繰り返しになりますが、この論文の主題は、アストベリーの繊維写真にある5.1Åの周期構造を説明できる蛋白質の「構造」はどういうものか、ということです。

この論文の図2に、アストベリーの提案したαケラチンとβケラチンのモデルが載っています。

今迄(この論文以前)は、この程度だった、という意味です。

蛋白質が全部同じ「二次構造」を持つことはあたりまえ?

p.328

4. CLASSIFICATION OF CHAIN STRUCTURES

In this and the following sections we attempt to survey systematically all those types of folded polypeptide chain configurations which satisfy certain conditions, established by experiment or plausible on general grounds.

It cannot be assumed as certain that the polypeptide chain has the same configuration in all crystalline proteins, or that a similar configuration occurs in fibrous proteins such as α -keratin. It is, however, not unreasonable to expect that haemoglobin and myoglobin contain chains of the same type, because these proteins appear to be closely related in several ways; and furthermore, the repeat distance, the inter-chain distance, and the number of residues per repeat, are similar in these two proteins to the corresponding features of α -keratin. It will therefore be assumed as a working hypothesis that the chain configurations in large classes of proteins resemble one another closely, while bearing in mind that this hypothesis is based on slender evidence and may have to be abandoned when further experimental data are available.

12

この論文はレポート課題にしませんですが、もしも読んで来た人が居たら、議論にパターンソン関数が出て来ます。ですが、今回の講義では説明しません。

さて今は「1950年」です。

これ、どうでしょう。結晶性(つまり球状蛋白質)は全部同じようなコンフィギュレーションを持っているか、さらには、 α ケラチンと似たような構造か。 **どうですか?**

ここでは、「そうだ」ということが「作業仮説」として仮定されています。

皆さんには「常識」なんでしょうが、これは、そういう時代の研究です。

In our survey of chain configurations

we have adopted the following conditions:

- (a) *Interatomic distances and bond angles*
- (b) *Optical configuration of amino-acids* *laevo only*
- (c) *Symmetry of the chain* *have screw axis*
- (d) *The role of hydrogen bonding* S_R

結晶学者の失敗...

S : screw symmetry

R : # of atoms in the H-bond ring

13

この後、4つのことを「構造」が持つ条件として見て行きます。

(a) 原子間距離と結合角, (b) 光学異性体, (c) ペプチド鎖の持つ対称性, (d) 水素結合の役割. です.

原子間距離と結合角はいいですね. 当時, 小さい分子の結晶構造解析から化学結合に関する知識は蓄積されていますので, それを利用できます. 光学異性体については, 全部(グリシン以外は)左旋光性(levo型)だと分っています.

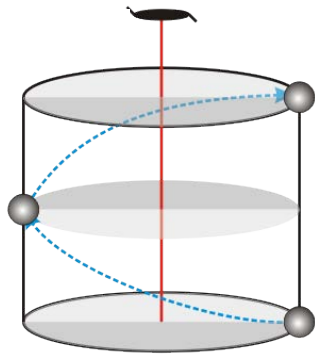
(そういえば, 蛋白質のアミノ酸はD, L体のどちらですか? そのLはlevoのLです. **dextro-rotatory** (右旋性), **levo-rotatory** (左旋性))

さて, 次ですが, 彼等は, ヘリックスが持つ「対称性」として**らせん対称を仮定**しました. そして, ら旋を維持するのが水素結合ですが, それから旋の中で何原子離れた原子間で掛っているかをパラメタにしました. さっきのらせん対称の対称性と, この水素結合の規則性の2つを" S_R "と表記します.

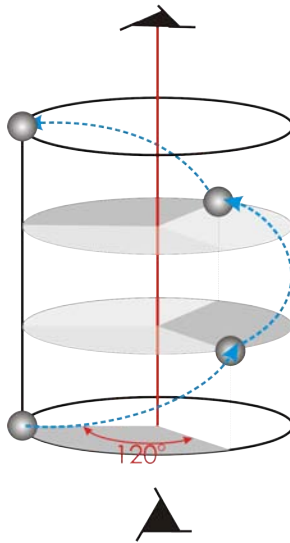
さっきも触れたように, 彼ら3人は「結晶学者」として育っているので, 結晶になるような球状蛋白質の内部構造にも, 厳密は対称性があるだろうと考えてしまった, ということでしょう. 実は, このように「厳密な」**らせん対称**を持つとしたのが「失敗」の原因でした.

そのあたりを見ていきます.

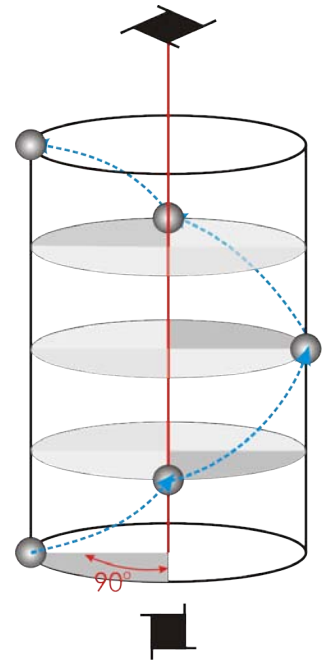
screw axes



2回ら旋



3回ら旋



4回ら旋

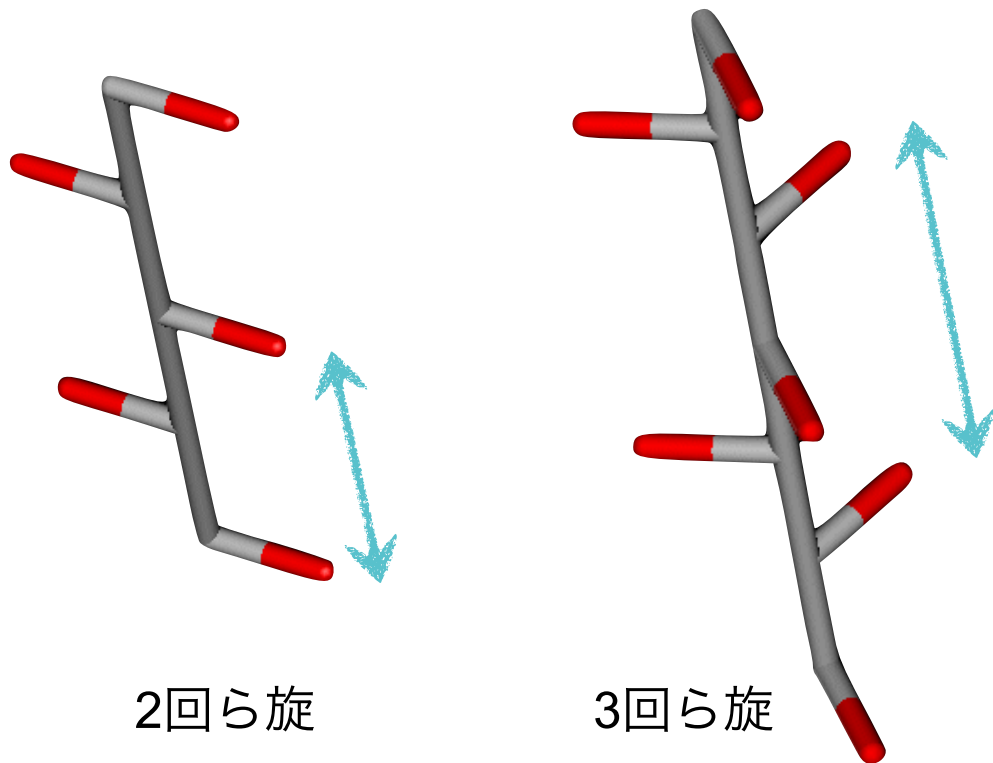
14

らせん対称とはどういうものかという、こういう感じです。

それぞれ、2回、3回、4回ら旋です。一回転(つまり一周期)したら、ちょうど真上に「原子」が来ています。

あと、らせんのポイントは、それぞれ「1/2回転して1/2並進」「1/3回転して1/3並進」や「1/4回転して1/4並進」したら、そこに原子がある、ということです。

screw axes



15

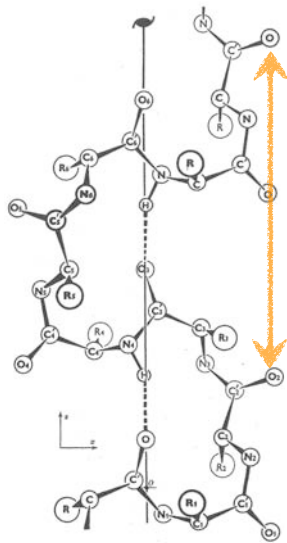
こっちの方が分かり易いかな.

こんなふうに, 矢印が「一回転(一周期)」で, ちょうど元に位置に戻る.

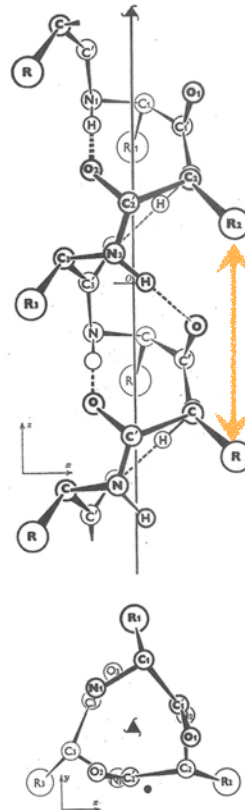
その途中にそれぞれ1/2や1/3回転と1/2, 1/3並進で原子が来ている, そういう「対称性」を持っていることを仮定して, α パターンの「構造」を検討したということです.

screw model

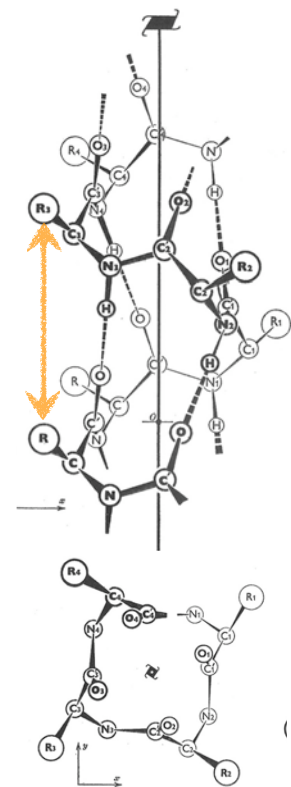
2回ら旋



3回ら旋



4回ら旋



16

さて、論文に戻ります。

彼等は、 α 型の構造として、ら旋構造をいろいろ検討しました。20種類くらい考えて、その中からそれらしいものを発表したのが、この論文です。1950年、**「ら旋型の(ヘリカル)モデル」**の登場です。

この図のように、彼らのモデルはちょうど「整数」の2回ら旋、3回ら旋、4回ら旋になっています。一周回って、ちょうど真上に来る構造です。でも、どれも「これが正しいだろう」という決め手がなく、どれがいいのやら分らないという状況でした。実際には、この「整数性」は間違っていたのです。前回みたサイクロールもそうですが、「自然界には数学的な対称性という美しさがあるはず」という期待は、蛋白質の場合には結局は裏切られています。

(そうした構造が「美しい」かどうかは別ですが)。

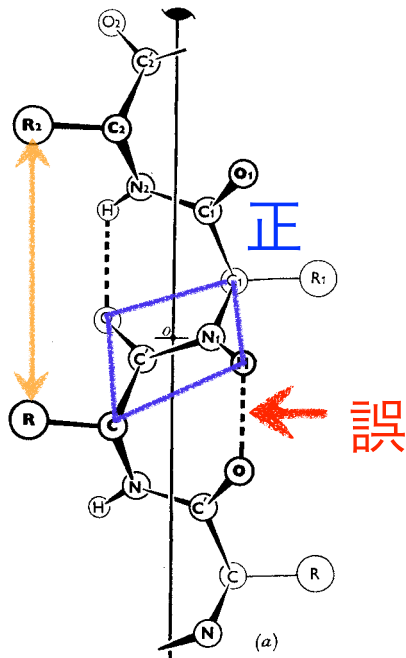
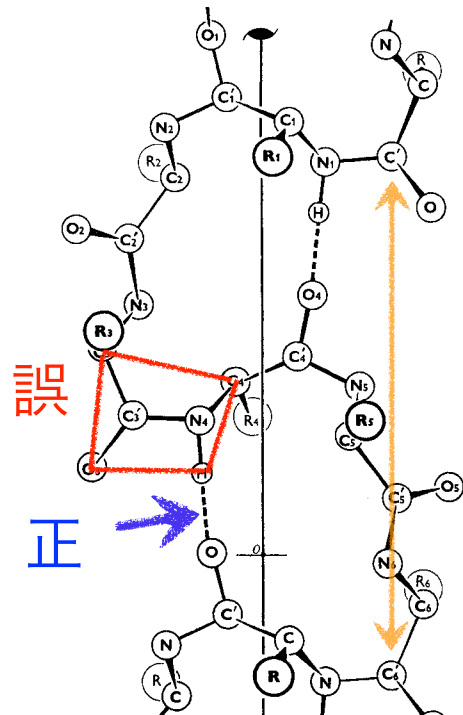
screw
model

S_R

S		R		TABLE 1	
screw axis of symmetry	no. of atoms in ring	repeat distances (Å)	no. of residues per repeat	illustrations (figure no.)	comments
twofold	7a	5·5·6	2	5	structure proposed by Huggins (1943)
	7b	5·5·6	2	6	structure proposed by Zahn (1947) and Ambrose <i>et al.</i> (1949); readily folds in pairs; see §7, 8
	8	4·6-4·8	2	7	structure proposed by Huggins (1943); only one configuration possible; repeat distance too short
	13	10·2	6	8	structure proposed by Astbury & Bell (1941); see §7, 8
	14	10·2	6	9	see §7, 8
threefold	7	7·5	3	—	repeat distance too short
	8	5·4	3	10	hydrogen bonds mutually perpendicular; see §7
	10	5·2	3	11	structure proposed by Taylor (1941) and Huggins (1943); hydrogen bonds oriented nearly parallel to the chain direction; see §8
	11	—	—	—	} no possible structures
	13 14	—	—	—	
fourfold	7	—	—	—	} no possible structures
	8	—	—	—	
	10	—	—	—	} rings somewhat strained; similar to 4 ₁₃ ;
	11	5·4	4	—	
	13	5·6	4	12	a possible structure
	14 or greater	—	—	—	no possible structures
fivefold and higher symmetries	—	—	—	—	all such structures contain more than four amino-acid residues per repeat unit

さっきの S_R という表記で、この表のように「水素結合」の規則性もまとめてあります。

screw の整数性を重視

 S_R 2_7  2_{14} 

彼らのモデルは「整数」のらせん性を重視していて、例えば、ペプチド結合の平面性や水素結合の方向は、あまり厳密に考えていません。

左が 2_7 らせん、右が 2_{14} らせんですが、それぞれどちらかに問題がある構造になってしまっています。

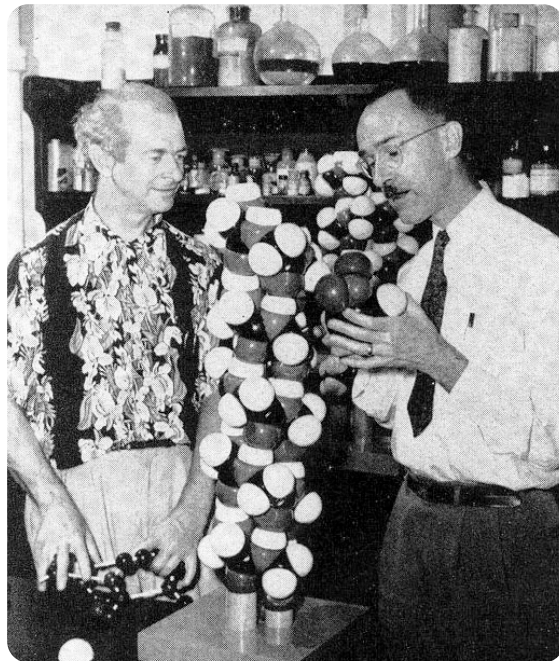
どこが変ですか？

この論文の最初に話したように、彼等は分子内にもきちんとした対称性があるだろうということを仮定してしまっている訳です。この場合は、「結晶学者」だったことが落とし穴になってしまいました。

Pauling

(実は @ Oxford...)

結晶学者で
なかった...



Pauling & Corey

19

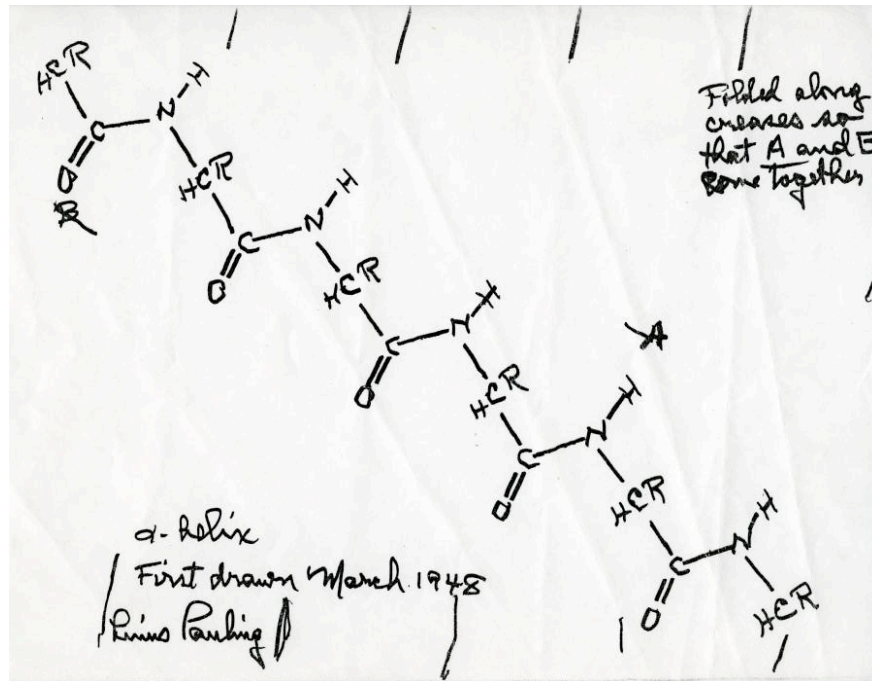
一方、アメリカのカルテックのポーリングもヘリックスの構造を検討していました。3年後に、ポーリングが「 α ヘリックス」のモデルを発表します。

これは、ポーリングとコーリーが $1\text{\AA}$ を1インチに拡大したヘリックスのモデルをいじっている写真です。コーリーはX線結晶学者で、ポーリングに原子間結合距離や結合角度の情報を供給していたのです。

今日、これから見ていく彼等の α ヘリックスの論文は1951年ですが、実は、ポーリングが α ヘリックスのモデルを思い付いていたのはもっと早く、1948年のことです。その年、オックスフォードを訪れていたポーリングはインフルエンザにかかってベッドで休みながら、紙に原子間の結合距離と角度の情報を使って絵を書いて、その紙を折り曲げて、水素結合の様子を検討していました。

Paulingの「紙」モデル

しかし、この後、3年間論文化せず...



Reconstruction of the alpha-helix paper model. Drawn and folded by Linus Pauling, 1982.

<http://paulingblog.files.wordpress.com/>

20

こんな絵です。(これは「そのもの」じゃなくて1982年にポーリングが自分で再現した紙です)

ポーリングの場合は、こういう紙をら旋に巻いた時、どうしたらちょうどいい位置関係になるかをやってみたわけです。そんなふうにしたわけですから、ブラッグ達のようにら旋の「整数性」にはこだわらず、いわば、「ヘリックスのありよう」そのものに従ってみたということになります。

このポーリングがベッドで紙を折って α ヘリックスの構造を検討していたのを、ドロシー・ホジキンは見ていたそうです。「彼(ポーリング)は、X線回折パターンの周期性にこだわらず、ら旋が「あるように」させた」と表現しています。

このベッドでの紙のモデルによる検討で、ポーリングは、ヘリックスの1ターンはペルーツらのような整数ではなく3.6残基であると都合が良いことを発見します。ただ、「あるようにさせた」ら旋の周期はアストベリーの $5.1\text{\AA}$ に一致せず、 $5.4\text{\AA}$ になったので、このモデルを発表しないでしばらく、3年間そのままにしていました。その間にブラッグらが、さっきのら旋対称のヘリックスモデルを発表していたのです。

Proc. Natl. Acad. Sci. USA (**1951**) 37, 205-211

*THE STRUCTURE OF PROTEINS: TWO HYDROGEN-BONDED
HELICAL CONFIGURATIONS OF THE POLYPEPTIDE CHAIN*

BY LINUS PAULING, ROBERT B. COREY, AND H. R. BRANSON*

GATES AND CRELLIN LABORATORIES OF CHEMISTRY,
CALIFORNIA INSTITUTE OF TECHNOLOGY, PASADENA, CALIFORNIA†

Communicated February 28, 1951

さて、そのポーリングらの論文です。

During the past fifteen years we have been attacking the problem of the structure of proteins in several ways. One of these ways is the complete and accurate determination of the crystal structure of amino acids, peptides, and other simple substances related to proteins, in order that information about interatomic distances, bond angles, and other configurational parameters might be obtained that would permit the reliable prediction of reasonable configurations for the polypeptide chain. We have now used this information to construct two reasonable hydrogen-bonded helical configurations for the polypeptide chain; we think that it is likely that these configurations constitute an important part of the structure of both fibrous and globular proteins, as well as of synthetic polypeptides. A letter announcing their discovery was published last year.¹

22

この論文を「レポート課題」で読んでもらった訳ですが(図しか見なかった人も居るかも), 「15年」色々やっているから書き出されています. 感想はどうでしょう.

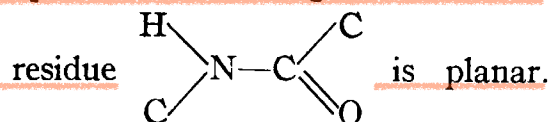
この授業の趣旨は, こういうところも味わって欲しいというものです...

色々と蓄積されて来た情報から, 2つの良さそうな構造モデルを得た. この「らせん構造」が, 球状および繊維状蛋白質の重要な構成要素に違いない, としています. 実際に一方は正解の「 α ヘリックス」でした.

さて, このヘリックスのモデルを, さっきの「紙を折って」考える際に, ポーリングが使った「2つの重要な条件」とは何でしょう?.

2つの重要な「条件」

We assume that, because of the resonance of the double bond between the carbon-oxygen and carbon-nitrogen positions, the configuration of each

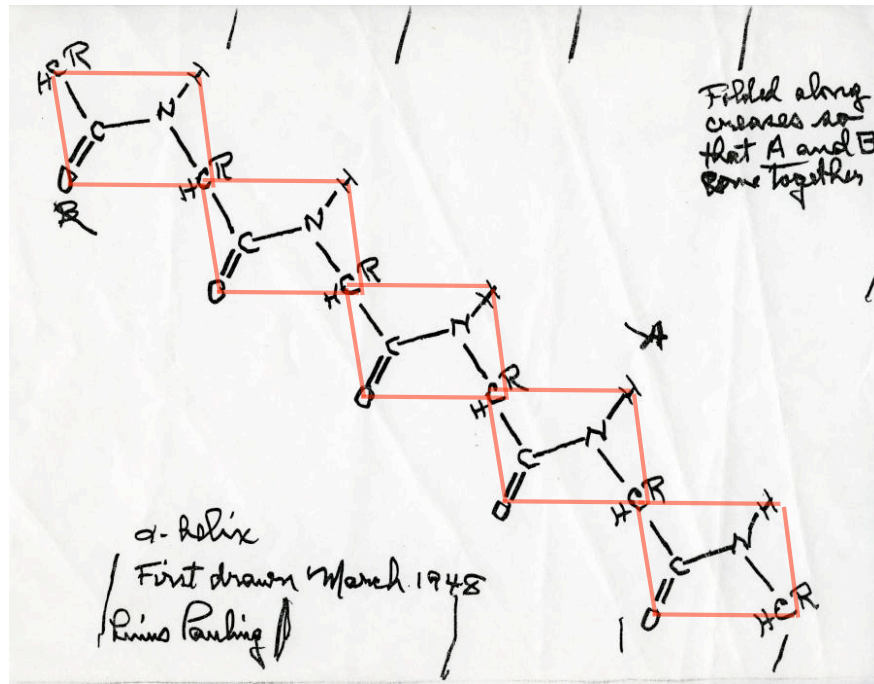


Laboratories. It is further assumed that each nitrogen atom forms a hydrogen bond with an oxygen atom of another residue, with the nitrogen-oxygen distance equal to 2.72 Å, and that the vector from the nitrogen atom to the hydrogen-bonded oxygen atom lies not more than 30° from the N—H direction. The energy of an N—H ··· O=C hydrogen bond is of the order

- 1) ペプチド結合の平面性(前回も出て来ましたが共鳴構造による)
 - 2) 水素結合の向き
- の2つですね.

Paulingの「紙」モデル

しかし、この後、3年間論文化せず...



Reconstruction of the alpha-helix paper model. Drawn and folded by Linus Pauling, 1982.

<http://paulingblog.files.wordpress.com/>

24

さっきの「紙」ですが、そういう理由で、この折り目にも意味があるわけです。

折り曲げてはいけないところはどこですか？

この赤四角ですよ。 (ポーリングの折り跡はちょっとずれている気がしますが...)

そんなふうにしなながら、ここに書いてあるように、このAとここのBが水素結合するように折り曲げてみたということです。

(OHPシートの紙ヘリックスで遊んでみる?)

可能性は 3.7-residue か 5.1-residue helix

p.207

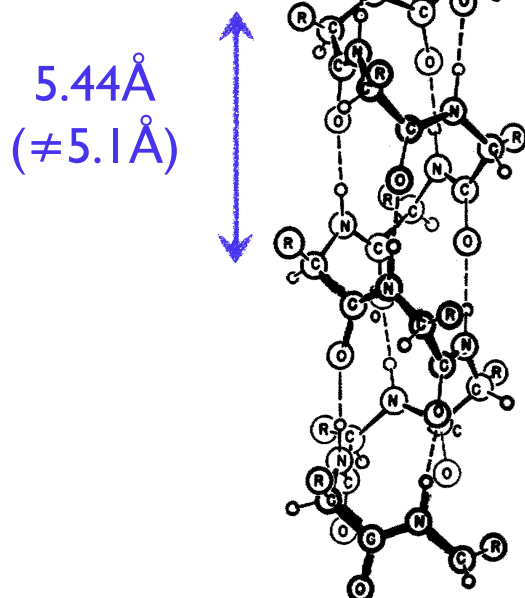


FIGURE 2
The helix with 3.7 residues per turn.

p.208

S_R 3.6₁₃

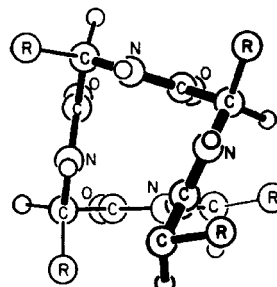


FIGURE 4
Plan of the 3.7-residue
helix.

laevo only???
left turn...

25

そうして、最終的に、Fig 2とFig 3に、2つのらせん構造の案を提案しています。

これは、そのうちのFig 2にある3.7-residue構造と、それを上から見た図(Fig 4)です。

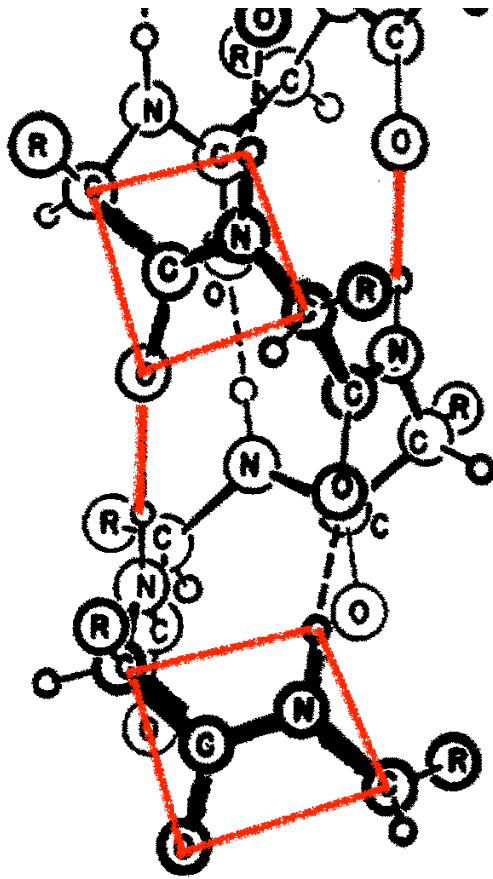
さっきのブラッグやペルーツの S_R の書き方ですと、3.6₁₃になります。"3.6"つまり、らせんの周期がちゃんと整数になっていないのです。

さて、今回のレポートは、これの何が間違っているかというのですが、どこが問題ですか？

両方ともアミノ酸がD体になっていて、Fig2の方は、さらに、らせんが左巻きなんですね。...

さっき見たPerutzらの「4つの前提」にはあったのですが、まあ、ポーリングですら、当時は、まだその辺のことを、ちゃんと認識していなかったということでしょうか。

それはとりあえず置いておくとして、この構造には別の「問題」があります。らせんの周期がアストベリーの繊維写真の5.1Åではなく、5.4Åになってしまうのです。(その食い違いのために、3年間論文にしないで置いておかれたので、もしもブラッグらとの競争が無かったら、この構造は発表されなかったかも知れません。)



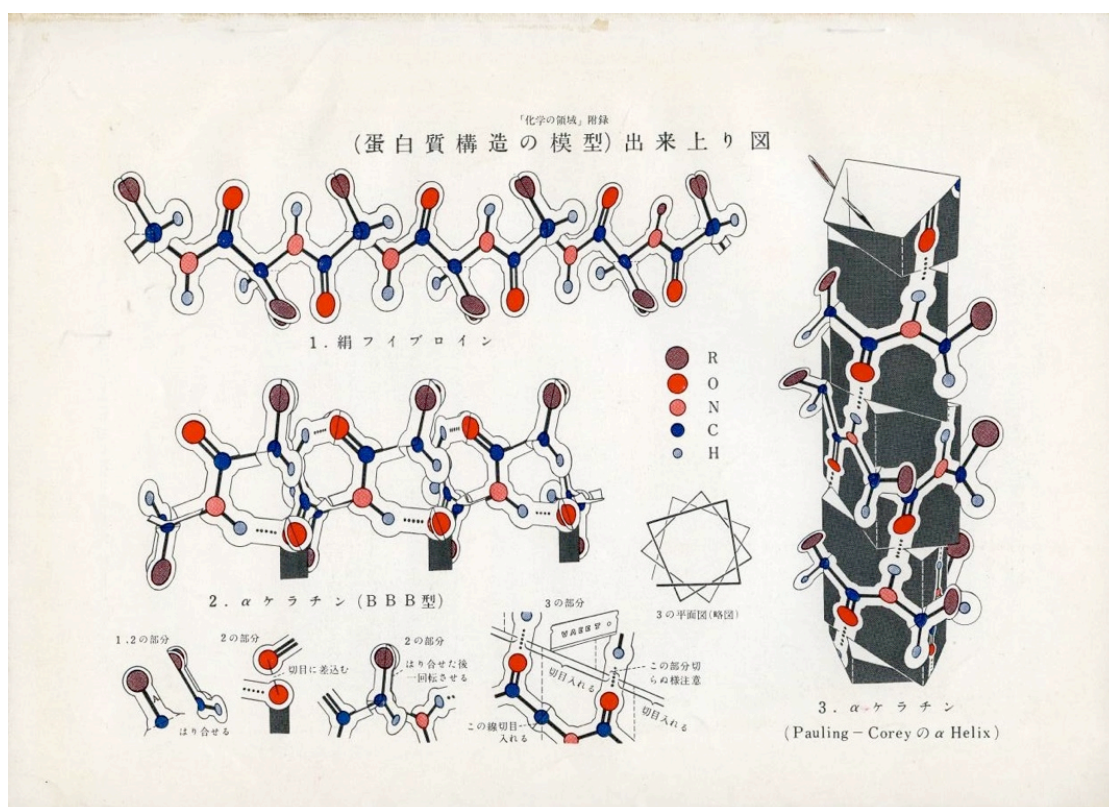
「D体と左巻き」は，とりあえず置いておくことにして，周期の $5.4\text{\AA}$ の問題を除けば，この構造は，ポーリングが「条件」とした，ペプチド結合の平面性も水素結合の方向も問題ないというものでした。

tures involving intramolecular hydrogen bonds, and Bragg, Kendrew, and Perutz extended the discussion to include additional structures, and investigated the compatibility of the structures with x-ray diffraction data for hemoglobin and myoglobin. None of these authors proposed either our 3.7-residue helix or our 5.1-residue helix. On the other hand, we would eliminate, by our basic postulates, all of the structures proposed by them. The reason for the difference in results obtained by other investigators and by us through essentially similar arguments is that both Bragg and his collaborators and Huggins discussed in detail only helical structures with an integral number of residues per turn, and moreover assumed only a rough approximation to the requirements about interatomic distances, bond angles, and planarity of the conjugated amide group, as given by our investigations of simpler substances. We contend that these stereochemi-

繰り返しになるけど、周期の $5.4\text{\AA}$ の問題があるのですが、それを置いておくと、前年に出たブラッグらのヘリックスは間違っていて、自分のが正しいという、ポーリングの自信が読みとれます。

ここにあるように、彼等は、ペプチド結合の平面性も、水素結合の距離や方向を無視してしまっ、らせんの周期の「整数性」にとらわれている、という訳です。

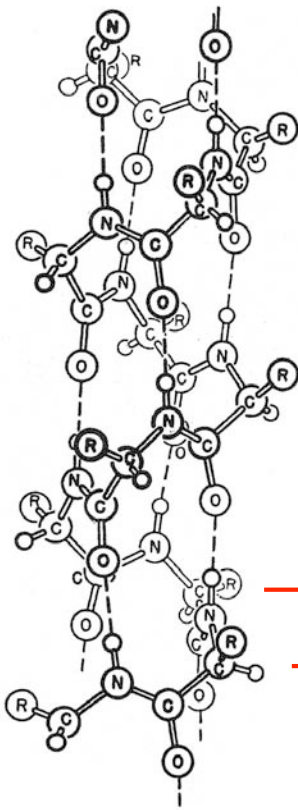
「化学の領域」 付録@1954



28

さて、前回、シクロール説は1950年代の日本の生化学の教科書にも残っていた、と話しましたが、この α ヘリックスの構造モデルの情報の「伝搬」は早いです。1954年の「化学の領域」(南江堂)という雑誌の付録に、紙で作ってみるヘリックスのモデルが付いていました。

@ Cambridge



“It was thunderstruck by Pauling and Corey’s paper.”

Perutz

一残基あたりの並進

1.5Å

29

さて、ポーリングの論文を見たペルーツは「人生最悪の経験だった」と言っています。

ら旋の一巻当たりの残基数は整数なのが当たり前と思い込み、しかもペプチド結合の平面性をちゃんと考えないでたくさんのモデルを検討して発表してしまっていたからです。

この絵は右巻きヘリックスに直して描いてあります。ポーリングのヘリックスは、ら旋のピッチが5.4Åですが、もしもこの構造が正しい場合、一残基で1.5Å進みます。なので、もしもポーリングの構造モデルが正しいなら、X線回折写真には1.5Åの周期に対応するピークが観察されるはずです。アストベリーの写真にはそんなピークは写っていませんでした。

Nature (1951) 167, 1053-1054

NO. 4261 June 30, 1951

N A T U R E

1053

NEW X-RAY EVIDENCE ON THE CONFIGURATION OF
POLYPEPTIDE CHAINS

M. F. PERUTZ

Cavendish Laboratory,
University of Cambridge.

Paulingの論文の僅か2.5ヶ月後...

X線屋だったペルーツは、ポーリングのヘリックスモデルを実験的に検証して一矢報います。

ここにも書きましたが、この論文は、さっきのポーリングの論文がPNASに印刷されて、僅か2.5ヶ月後です。

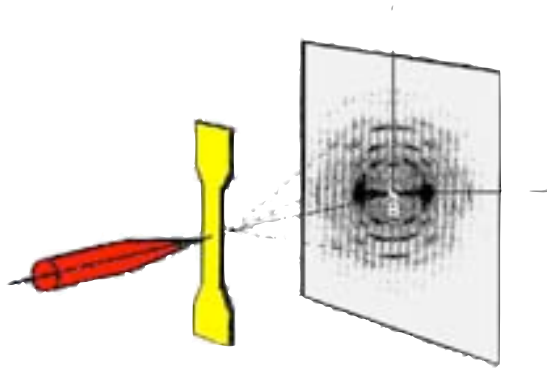
Natureに...どうですか...

stretched chain. Many different chain configurations have been proposed to account for the X-ray diffraction data¹, the latest being those of Pauling, Corey and Branson². Until now, however, the lack of any simple and decisive criterion in the X-ray diffraction pattern has made it difficult to test the validity of proposed models. This communication describes a new reflexion, not hitherto observed, which is given by the proteins mentioned above. The spacing at which this reflexion appears excludes all models except the 3·7 residue helix of Pauling, Corey and Branson, with which it is in perfect concord.

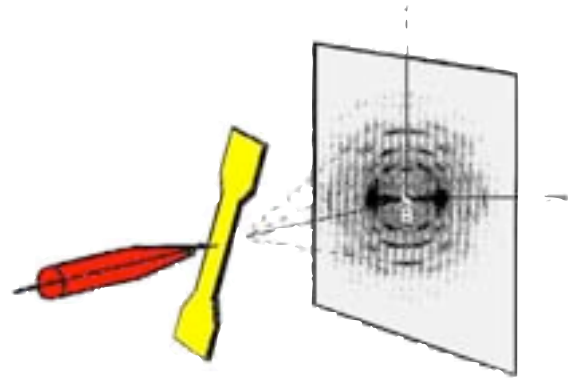
ら旋構造, つまりアストベリーの α パターンを説明する構造は色々提案されている. 最新のものがポーリングらのものだ. でも, これまでX線回折パターンでちゃんと証明した人は居ないぞ. それをこの論文でやるぞ, という訳です...

何をどうやったかというと...

Perutzの検証実験



Astburyの撮影法



Perutzの実験

32

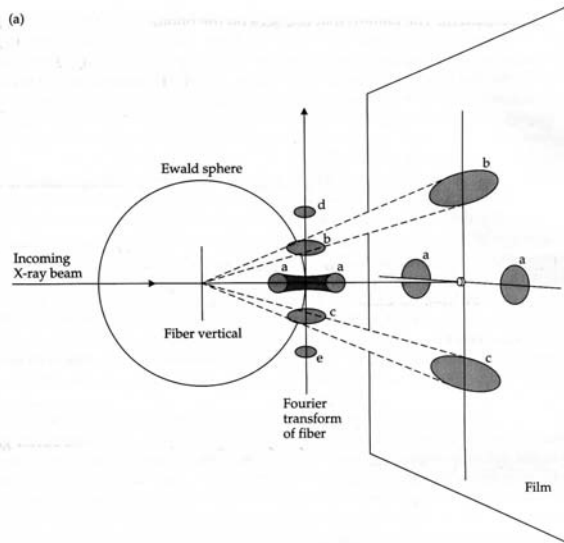
実はこの $1.5\text{\AA}$ の周期のX線回折を観察しようと思うと、繊維を傾けて写真を撮らないといけないことにペルーツは気が付きます。

左の配置が、アストベリーが繊維写真を撮影していたもので、今回ペルーツは、繊維をX線に対して傾けて撮影します。

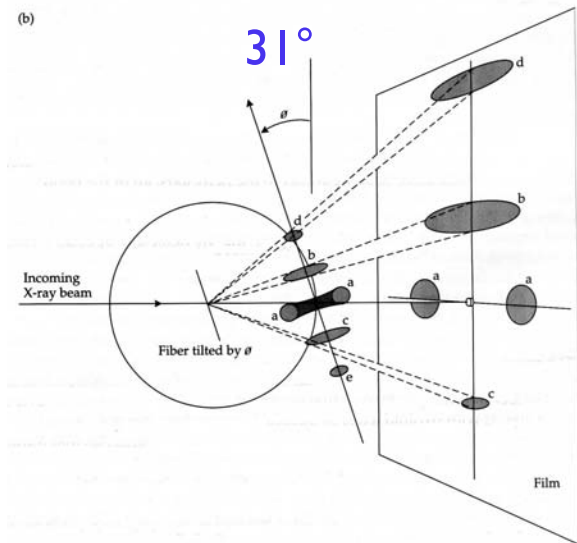
まだX線回折の原理を説明していないので、ちょっと難しいので今日はちゃんとは説明できないのですが、ちょっとだけ原理を見ると...

Perutzの検証実験

の理屈...



Astburyの撮影法



Perutzの実験

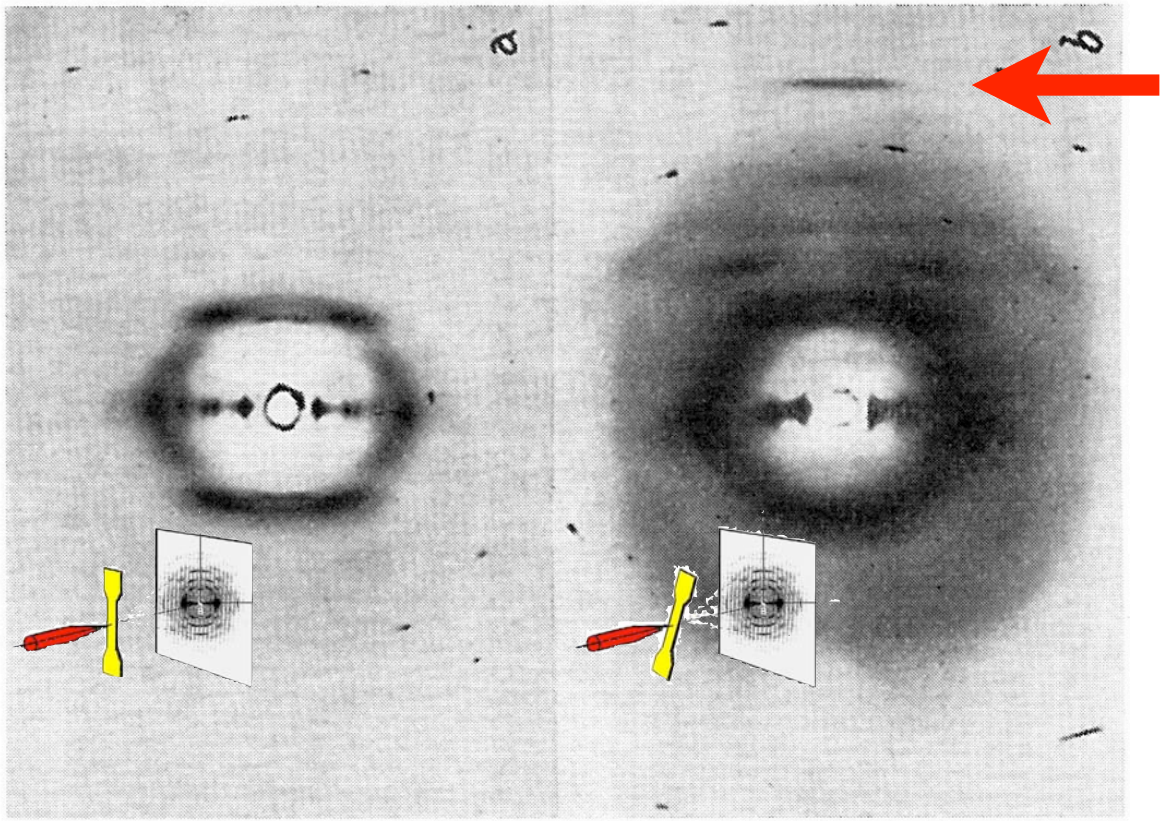
33

X線回折の様子を理解するのに「逆空間」「逆格子」という概念があります。逆格子の話は次回するので、今日は詳細は省きますが、こっちからX線が来ていて、この図の黒い領域が、この球と交わると、X線回折が起る。そういうものだと思って下さい。で、この黒い領域は、試料の周期構造を反映しています。つまり試料にくっついていてる訳です。

なので、左のように繊維に垂直にX線を照射すると、この上の方の黒いところは「球」と交わらないので、回折が起りません。ところが、右のように、例えば31度繊維を傾斜させると、この上の黒いところが「球」と交わるので、X線回折が起って、その回折X線が写真フィルムに記録されることとなります。

(このあたりは来週説明するので、今日のところは、繊維を傾けたら、真っ直ぐの時には観察できなかったことも観察でき、それをペルーツはやったんだ、と思って下さい。今日はそれでいいです...) で、どういう回折パターンになったかというところ...

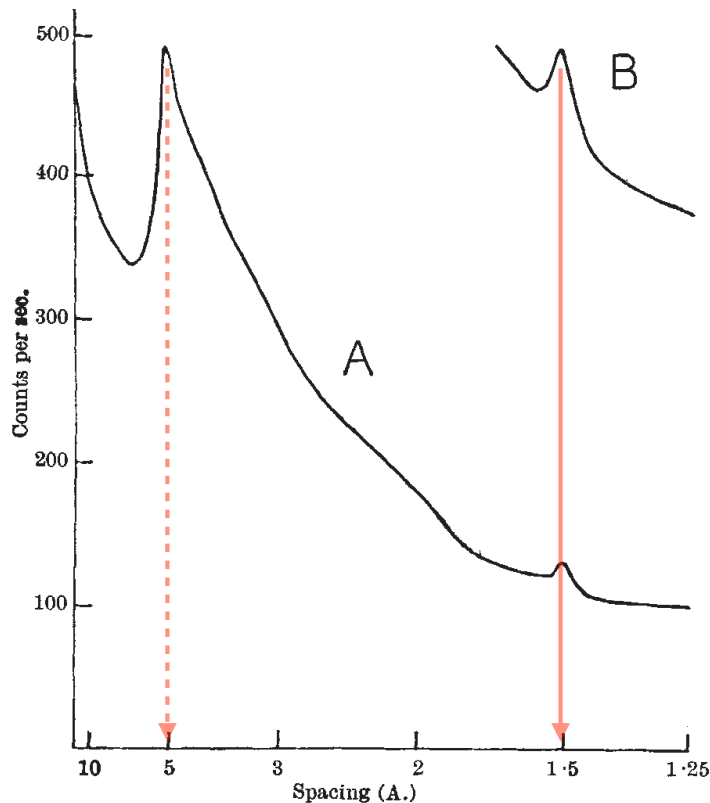
Perutzの検証実験



34

こうです. ここでは, 彼は, ケラチンではなく, 当時開発されていて人工繊維であるポリベンジルグルタミン酸 (PBLG) の繊維を X 線から 55 度から 85 度の間 (補角は 15 度から 45 度) で振動させて写真を撮影し, $1.5\text{\AA}$ の回折を確認し, 1951 年の Nature に投稿しました. これはその写真です. この赤矢印のところが $1.5\text{\AA}$ です.

Fig. 2 is a Geiger counter spectrometer record of horse hair kindly placed at my disposal by Mr. Andrew Lang, which shows the relative intensities of the 5.1-A. and the 1.5-A. reflexions. When hair is stretched to the β -form the 1.5-A. reflexion vanishes.



35

この論文では、写真フィルムだけでなく、検出器「ガイガーカウンター」が使用されています。

(今、フクシマ問題で、検出器がちょっと有名になっていますね。)

Fig 2ですが、こうした検出器で「精密」に測定した馬の毛の回折です。これで1.5Åの回折が観察されていました。

(これは馬の毛なので5.4Åでなくて、アストベリーの写真と同じく5.1Åです)。

こうして、 α ヘリックスは、構造モデルを提案したのはポーリング、実験的に検証したのはペルーツということになりました。

球状タンパク質の構造の基本単位として α ヘリックスと β シートの2つの構造が確定することで、サイクロール説は完全にすたれます。

$$5.4\text{\AA} \neq 5.1\text{\AA}$$

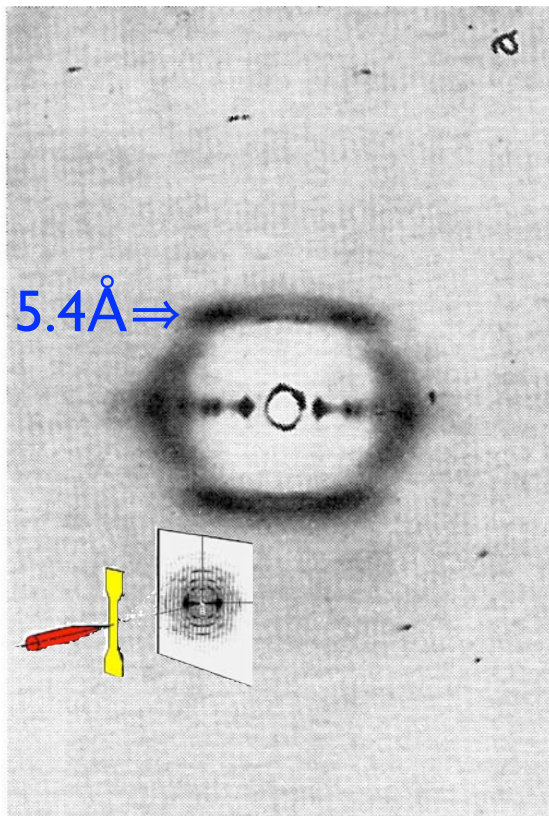


Fig. 2

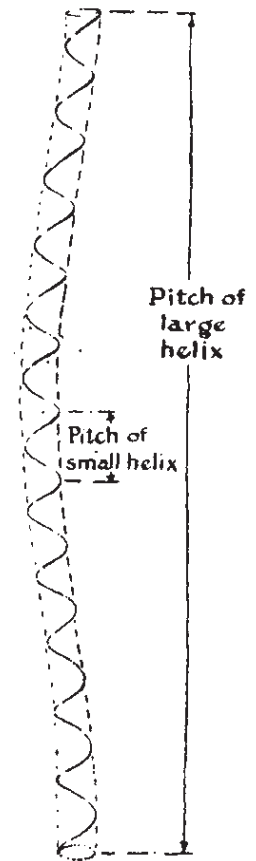
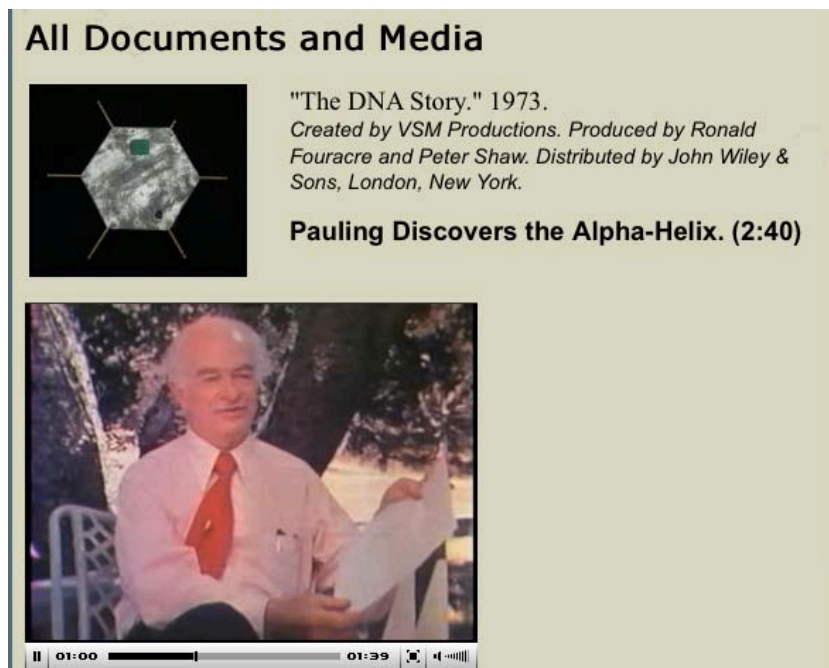


Fig. 1

この人工繊維BPLGの左の写真の、この位置は $5.4\text{\AA}$ で、ポーリングのモデルと合っています。アストベリーの写真の $5.1\text{\AA}$ と同じではありません。最終的に α -keratinの回折が $5.1\text{\AA}$ で $5.4\text{\AA}$ と違っていたことは、コイルドコイル(OKかな?)だったのが原因ですが、その説明は1952から1953年にクリックによってされています。コイルドコイルを形成するために元のヘリックスが約18度傾斜しているという訳です。ポーリングも1953年に独自にそれに気が付いています。この右の図2つは1953年のポーリングのNature論文にある図です。

Paulingの「紙」モデル



<http://osulibrary.oregonstate.edu/specialcollections/coll/pauling/dna/video/1973v.3-alpha.html>

37

さて、今日はここまで。これは、今日のおまけです。
今日紹介したポーリングの紙モデルの経緯をポーリング
が話しているビデオが、ここで見られます。
今日の話は α ヘリックスでしたが、実は同じ1951年に、
やはりポーリングとコーリーの共著で、ベータシートの
構造の論文がPNASに投稿されています。興味があったら
探してみてください。

key paper

triple helix

A PROPOSED STRUCTURE FOR THE NUCLEIC ACIDS

BY LINUS PAULING AND ROBERT B. COREY

GATES AND CRELLIN LABORATORIES OF CHEMISTRY,* CALIFORNIA INSTITUTE OF TECHNOLOGY

Communicated December 31, 1952

PNAS (1953) 39, 84-97

double helix

MOLECULAR STRUCTURE OF NUCLEIC ACIDS

A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid

J. D. WATSON

F. H. C. CRICK

Medical Research Council Unit for the
Study of the Molecular Structure of
Biological Systems,
Cavendish Laboratory, Cambridge.
April 2.

Nature (1953) 171, 737-738

(Nature (1953) 171, 737-741)

38

次回の key paper はこれです。次回は、みなさんが良くご存知の DNA の構造の話です。できるだけ分かり易く説明するつもりですが、次回からは、もっと X 線の話がたくさん出て来るようになります。

今度は、ポーリングが間違いを侵します。ワトソン&クリックの論文はあまりにも有名なので、レポートは、

上の PNAS 論文を読んで、ポーリングの誤りを指摘せよ、にします。

本当は丁寧に読んでもらいたいのですが、まあ、ちょっと長いので、ざっと目を通して、いくつか変だなと思うところを上げて下さい。それでいいことにします。