

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4回

1

さて、4回目です。

後半に入りました。今日はX線結晶構造解析の原理的な説明がたくさん出て来ます。

講義名から、こういうのを期待していたのではないかなと思うので、今日は皆さん、あんまり眠くならないで聞いていただけるのかなと思います。 どうですかね。

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

今日の話題はDNAの構造です.

DNAの二重らせん構造の解明については、沢山の本もあるし、かなり有名なので、皆さん色々と知っているのではないかと思います.

そういう関係の本を読んだことがある人?

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)

今日の key paper はこの2報ですが...

しかし，これはちょっと後回しにして，今日は，その前に結晶構造解析の概念を説明しないといけません．

Crystallography without Mathematics

- 逆空間
- Fourier 変換
- Convolution

4

説明しないといけない概念は、この3つです。
出来るだけ数式は使わないで説明をしていきます。
もしかしたら、皆さんの中には言葉や図でなくて、数式
で説明してもらった方が良く分って好きだという人も居
るのかも知れません。

Crystallography without Mathematics

- 逆空間
- Fourier 変換
- Convolution

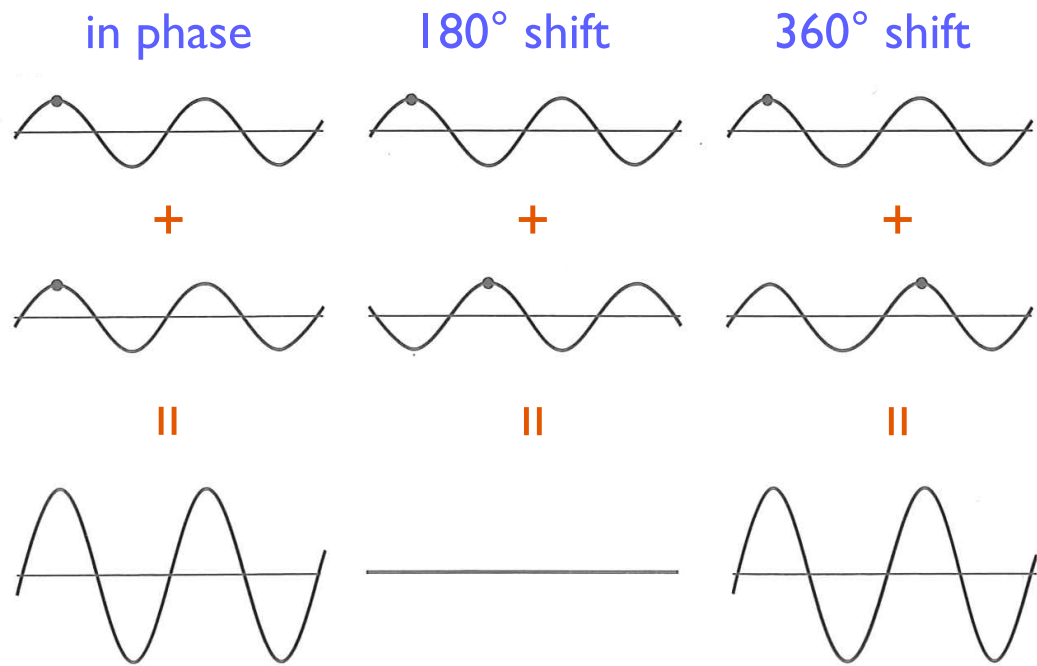
5

最初の概念は、**逆空間**です。

3講座以外(生物機能以外)の皆さんは、 こういうの(結晶学)の講義は聞いたことがあるのかな？

もしもそうだったら、 ちょっと「馬鹿にすんな」 っと思うかも知れませんが、 まあ復習ということで...

光(波)の重ね合わせと位相の関係



6

まず、波と、波の重ね合わせの話です。

上の2つの波を重ねたときにどうなるかを示しています。

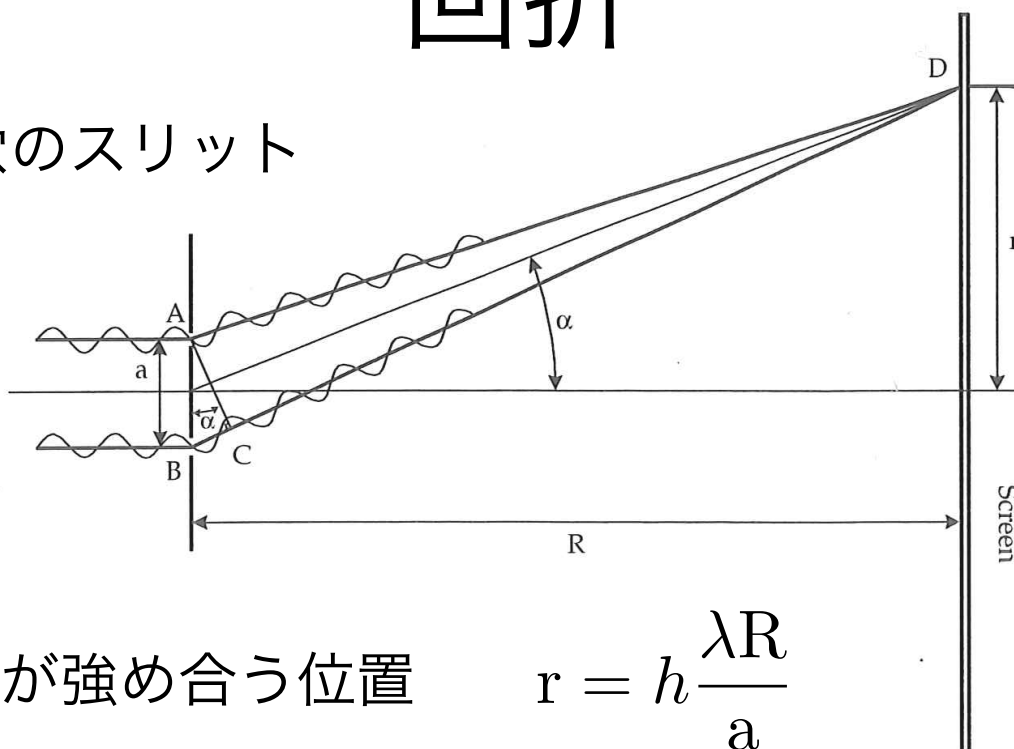
2つの波を重ね合わせることを考えると、波の位相という概念が出て来ます。

一番左は同位相(位相差0度)、真ん中が位相差180度(逆位相)で、右が360度つまり一回回って再び同位相(位相差0度)です。同位相の波を重ね合わせると、振幅が倍になっていて、180度の波を重ね合わせると振幅がゼロになっています。

この辺は、特に問題ないですね。

回折

2つ穴のスリット



光が強め合う位置 $r = h \frac{\lambda R}{a}$

a と r は反比例

7

さて、次は「回折」という概念です。これも皆さんにとっては「復習」かと思います。今度は、このように2つの開口部のあるスリットを通して来た2つの光(波です)が、 R だけ離れた位置にあるスクリーン上で観察した時にどうなるかです。

さっき見たように、2つの波があって、それらを重ね合わせた時に、同位相であれば振幅が倍になり、逆位相であれば振幅がゼロになります。

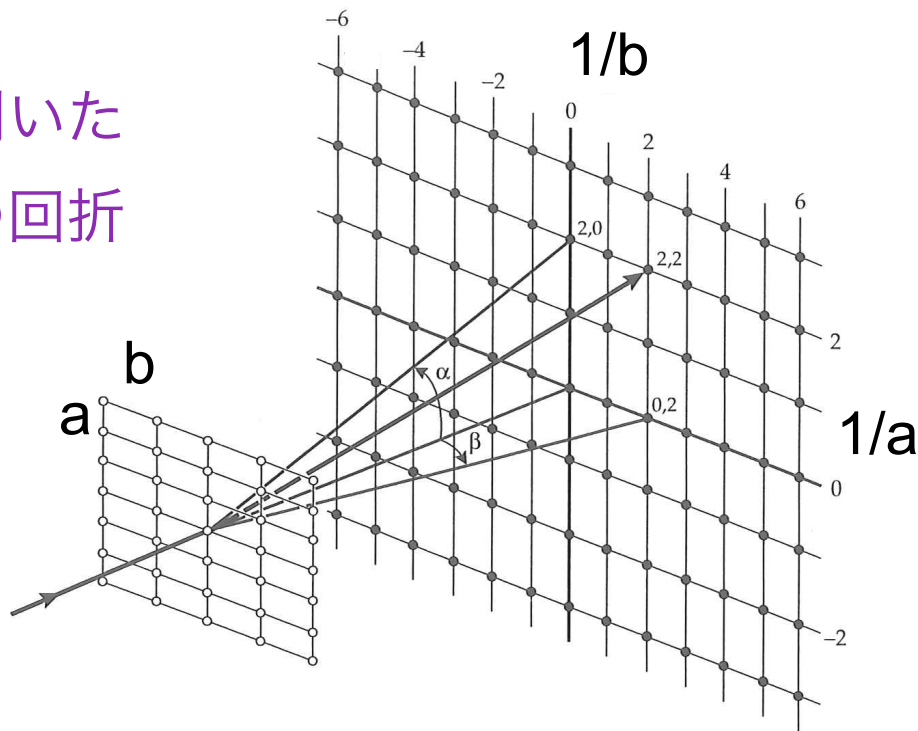
この部分の行路差 α がちょうど波の1周期に対応していれば、位相差がゼロになります。いいですよ。そうすると、スクリーン上で光が強め合う位置 r の条件は、この式ようになります。

これ自分で簡単にいえますよね？

ここで、ポイント h は整数の縞になることと、 r と a は「逆数」の関係にあることです。つまり、スリットの開口部の間隔 a が小さくなるほど、同じ整数 h の時のスリット上での縞の位置 r は大きくなる、ということです。いいですか？

2次元の場合

穴の開いた
格子の回折



8

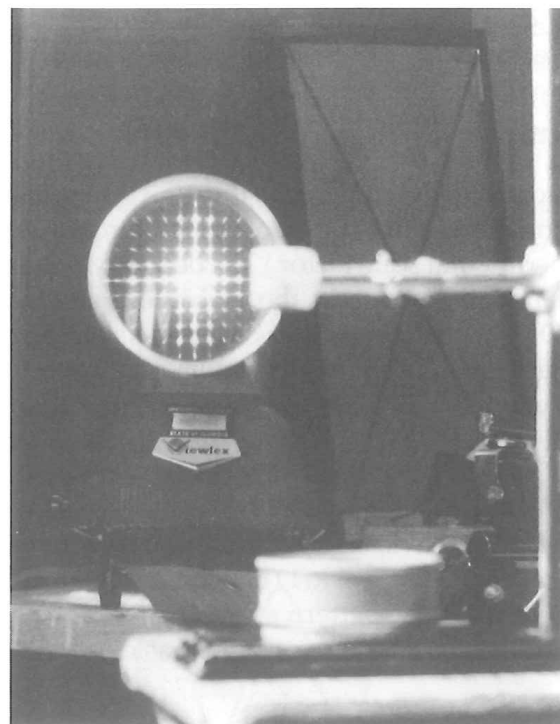
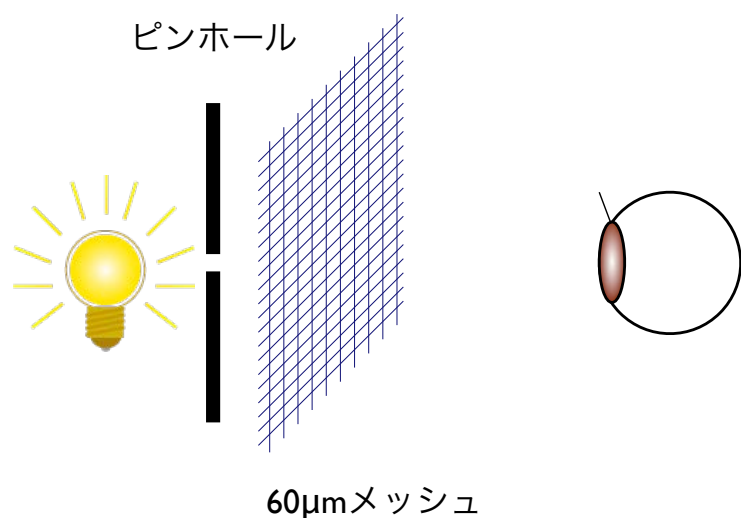
今のはスリットが1次元でしたが、スリットが2次元になっても同じです。

2次元の「ついたて」に、もしも a と b の間隔でグリッド状に穴があいていたとすると、スクリーン上で観察される回折パターンは、その間隔がそれぞれ $1/a$ と $1/b$ に比例しています。逆数の関係は、1次元でも2次元でも同じということです。

もう一つのポイントは、スリットがずっと続く格子状であると、回折パターンの方も格子状になります。

この2次元の場合は、実験してみることが容易なので、皆さんも中学や高校でやったかも知れません。

2次元の場合の「例」



9

こんな感じです.

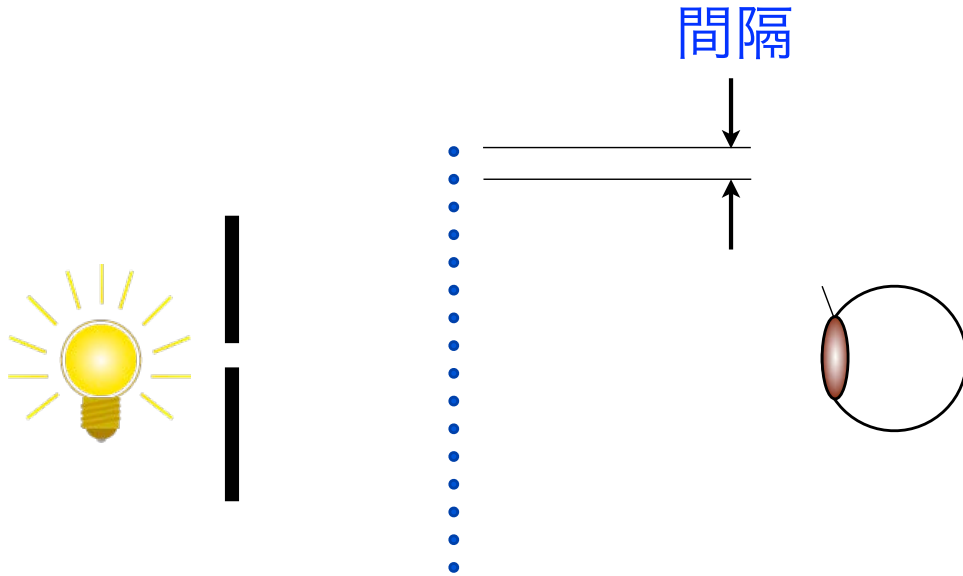
これは, 60ミクロンの金属メッシュに, ピンホールを通ったスライドプロジェクターの光を当て, 反対側から観察しています.

そうすると, この右の写真のように回折パターンが見られます. レーザーで実験したことがあるかも知れませんが, **似たような実験をやったことがありますか?**

これを使って, 逆空間の概念を説明します. メッシュが結晶で, 右の写真が結晶からの回折パターンのイメージです.

“reciprocal space”

逆空間の概念



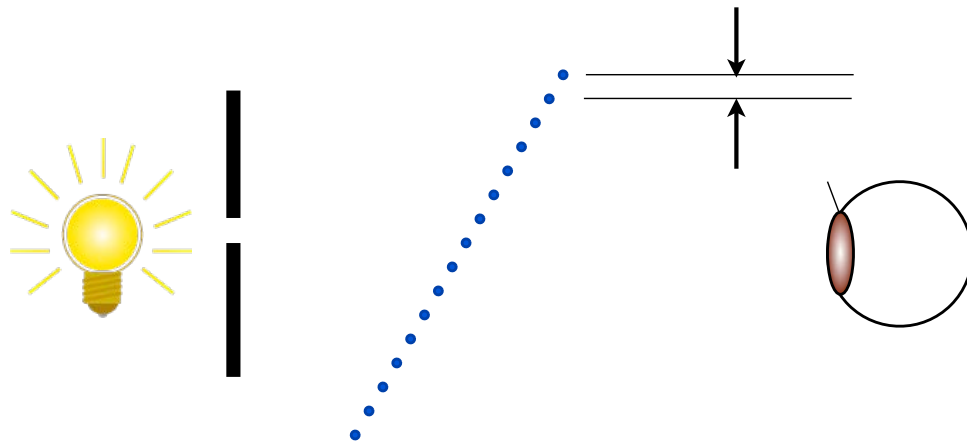
10

さて，逆空間の概念を説明しようと思いますが，簡単のためにメッシュを真横から見た絵にします．

このメッシュの間隔を簡単に狭くするにはどうしたらいいですか？

“reciprocal space”

逆空間の概念

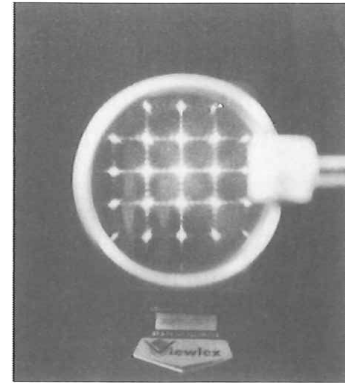
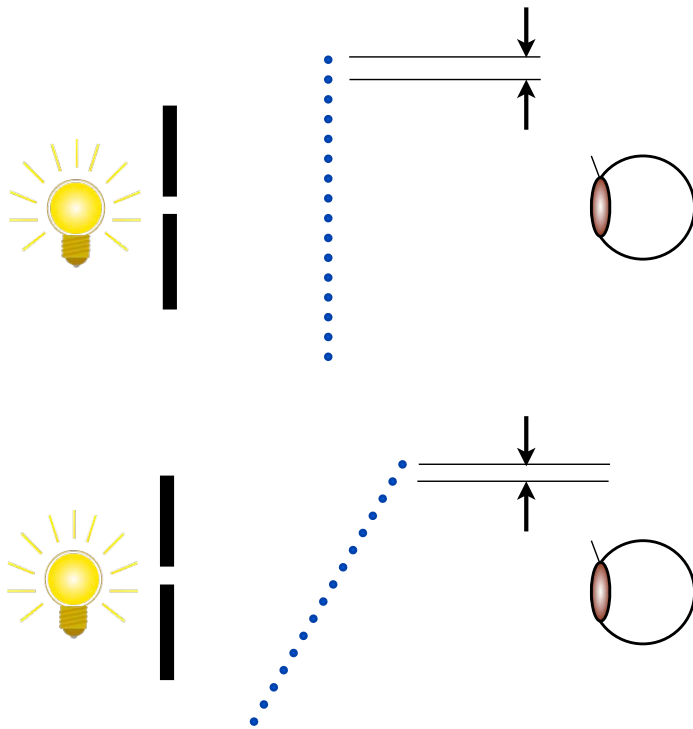


11

こうすればいいですね. メッシュを傾けると, 右から見て, 見掛け上メッシュの間隔が狭くなったことになります.

“reciprocal space”

逆空間の概念



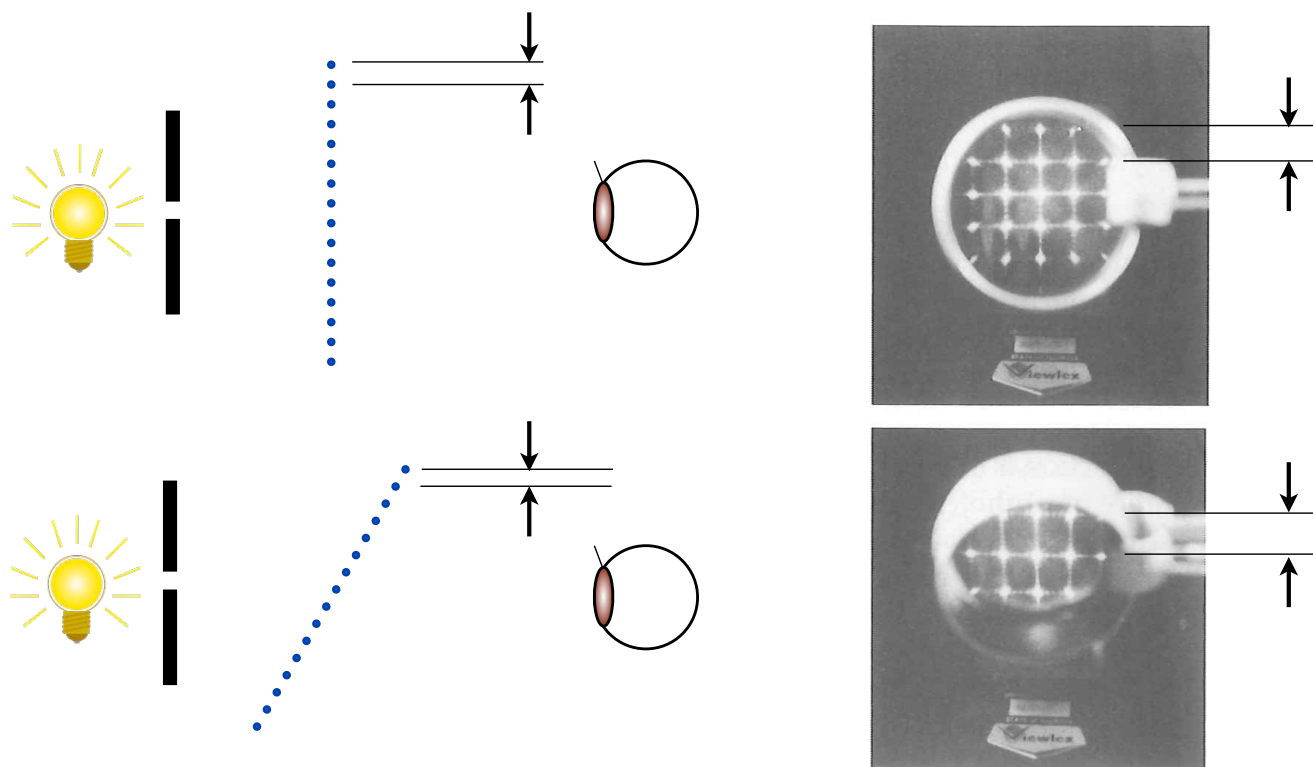
12

さて，上の状態のメッシュの回折は，こんな感じでした。

下のようにメッシュを傾けたら，**どうなりますか？**

“reciprocal space”

逆空間の概念



13

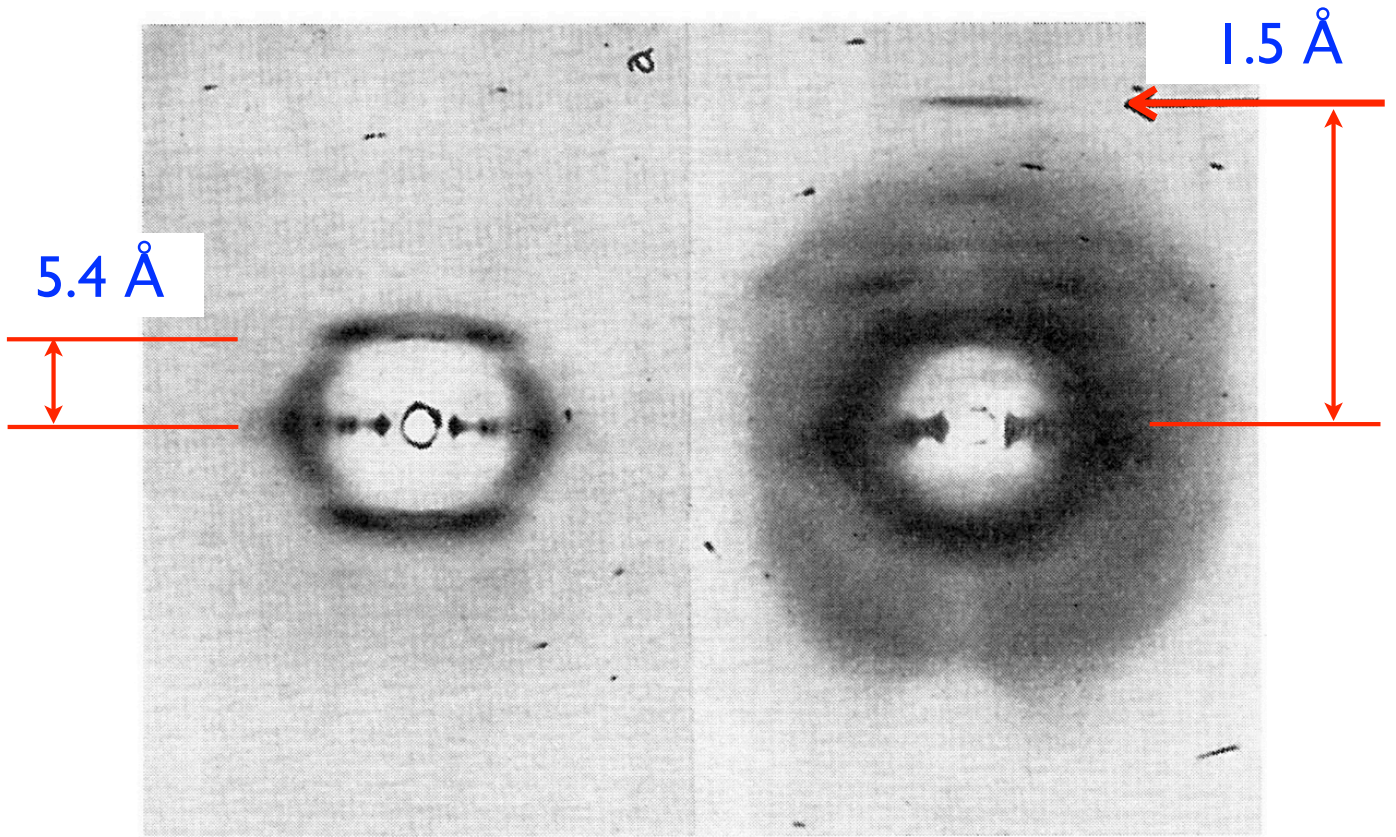
こうです.

メッシュを傾けて，見掛け上メッシュの間隔を狭くすると回折パターンの間隔は「逆」に広がります.

このように，物質つまり結晶中の繰り返し周期の間隔が狭いと，逆に回折写真上では回折パターンの間隔が広がることが分ります.

先週のPerutzが α ヘリックスの $1.5\text{\AA}$ 周期を観察した論文が最後に出て来ましたが，あの写真のことも，これで「理解」出来ますがどうですか?...

Perutzの検証実験



14

Perutzの写真はこうでした.

$5.4 \text{ \AA}$ よりも $1.5 \text{ \AA}$. つまり繰り返しの周期が短くなるほど、写真の中心からの距離が遠くなっています. 「逆」の関係です.

いいですか.

さて次ですが,

Crystallography without Mathematics

- 逆空間
- Fourier 変換
- Convolution

15

次はフーリエ変換の説明です。回折パターンの形がどうしてできるのかです。

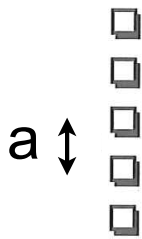
(渡邊さん：なぜDNAの2重らせんとX型の回折パターンになるの？1回目のレポートに書いてたけど...)

これからの説明で、たぶんそのことが分るはずです。

回折パターン(Fourier変換)

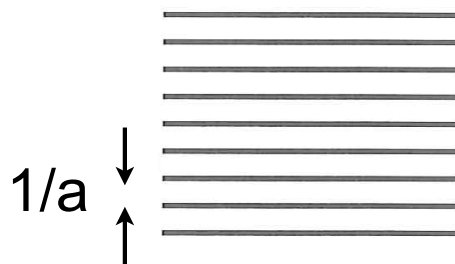
Scattering Object

A



Diffraction Pattern

$T(A)$



16

さて、回折パターンは元の図形(物体)のフーリエ変換になっています。

例えば、このように間隔 a で何らかの散乱体が規則的に並んでいると、その回折パターンは、こうなります。(一次元の点列のフーリエ変換が、こういう線の並になるという説明は省きます)

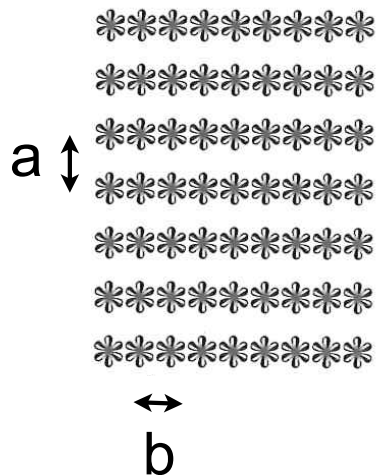
ここで、元の物体を A と表現し、回折パターン(つまりフーリエ変換したもの)を $T(A)$ と書くことにします。 A にフーリエ変換という操作 T をしたという意味です。

点列を2次元に並べると...

回折パターン(Fourier変換)

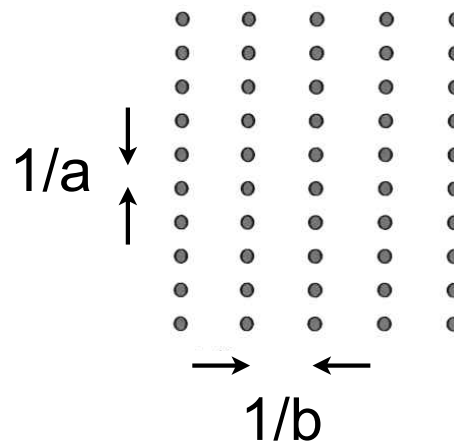
Scattering Object

A



Diffraction Pattern

$T(A)$



17

こうなります. これは, さっきメッシュで見たのと同じですね.

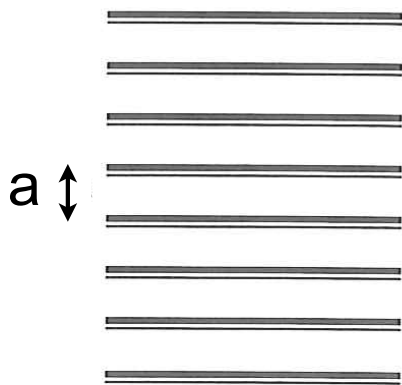
元の物体の並び方の間隔が a , b だったら, 回折パターンの方の並び方の間隔は $1/a$, $1/b$ になります.

この二次元の例を三次元に拡張すれば, 結晶からの回折のイメージが掴めるでしょう...

回折パターン(Fourier変換)

Scattering Object

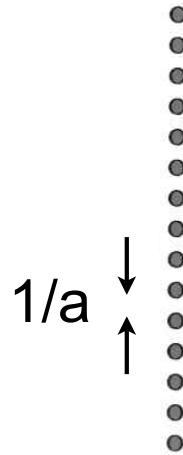
A



$$b = 0$$

Diffraction Pattern

$T(A)$



$$1/b = \infty$$

18

さて、1枚目の例と「逆」の関係は、どうでしょう。
線が間隔 a で並んでいると、**その回折パターン(フーリエ変換)**は、**どうなりますか?**

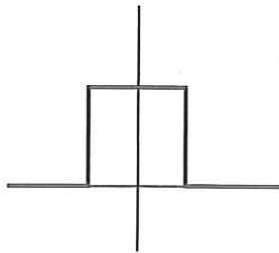
間隔 $1/a$ の点列ですね。

どう考えれば良いかというと、さっきの2次元に並んだパターンで、 $b=0$ になったものと思えばいいです。そうすると、回折パターンの方では、間隔は $1/b$ ですから、 $1/0$ で ∞ になってしまうので、 a 方向のみの点列になるという訳です。

回折パターン(Fourier変換)

Scattering Object

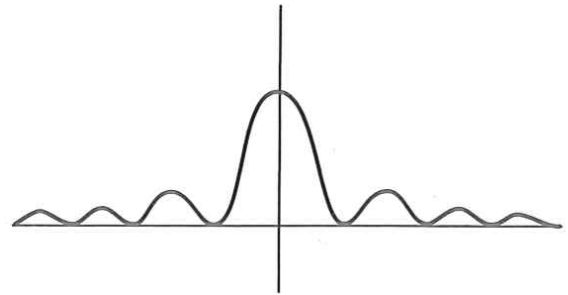
A



step function

Diffraction Pattern

$T(A)$



central peak flanked by
dying ripples

19

もうちょっとだけ拡張しておきましょう.

もしも、物体が点や線じゃなくて、大きさを持っていたらどうなるのでしょうかということです.

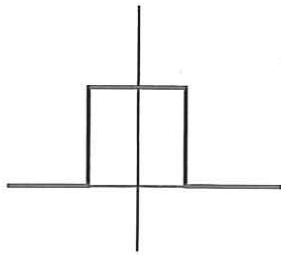
こういう矩形のフーリエ変換は、こんな形になります.

さっきのメッシュの回折の写真で「すそ」が見えていた理由はこれです.

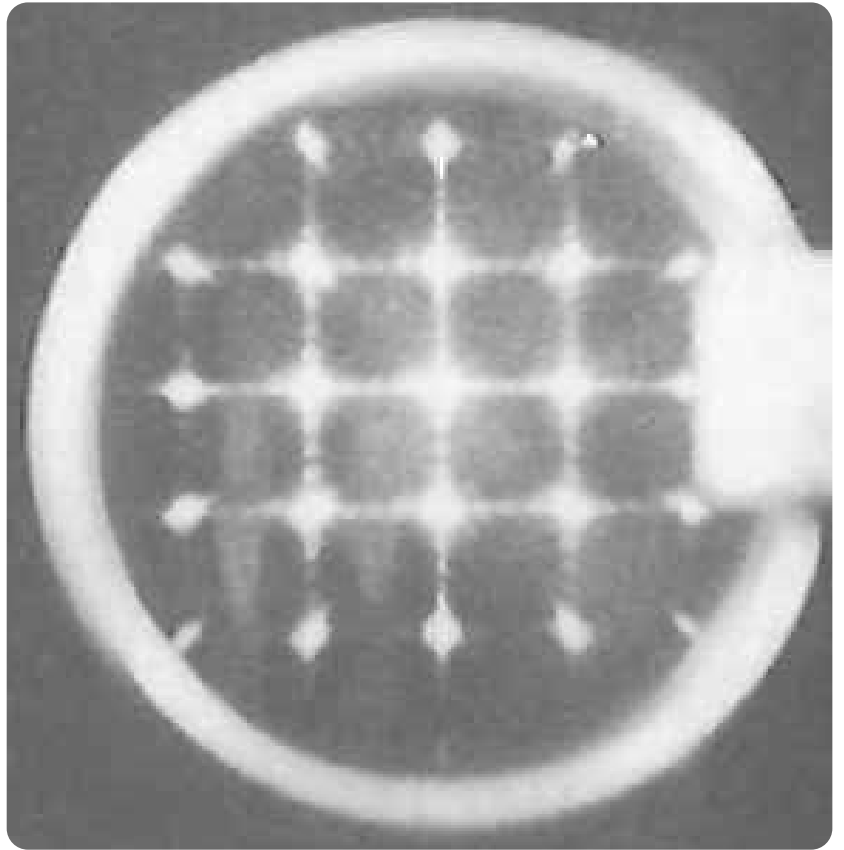
回折パターン(Fourier変換)

Scattering Object

A



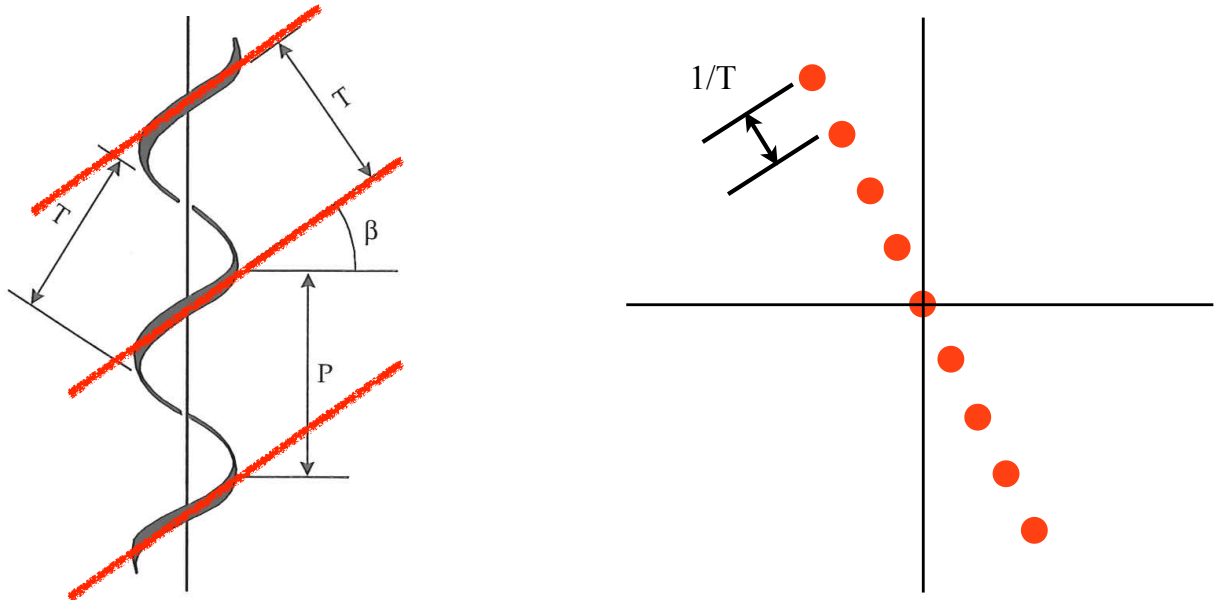
step function



20

メッシュは線じゃなく太さを持っているので、回折パターンは点々だけにならず、すそを引きます。

ら旋の回折パターン(Fourier変換)



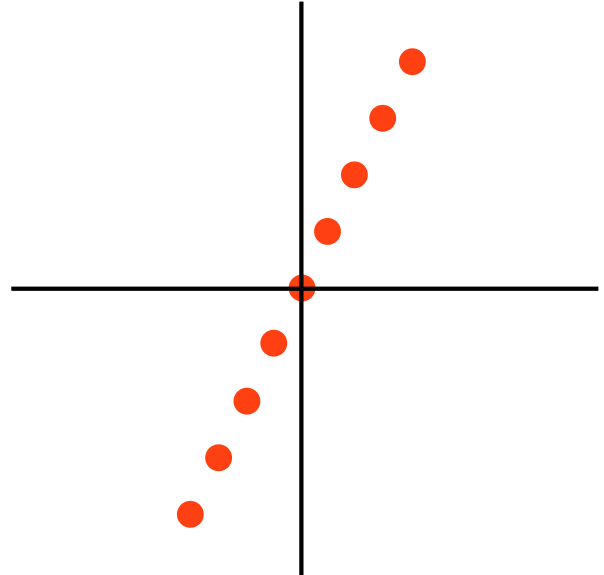
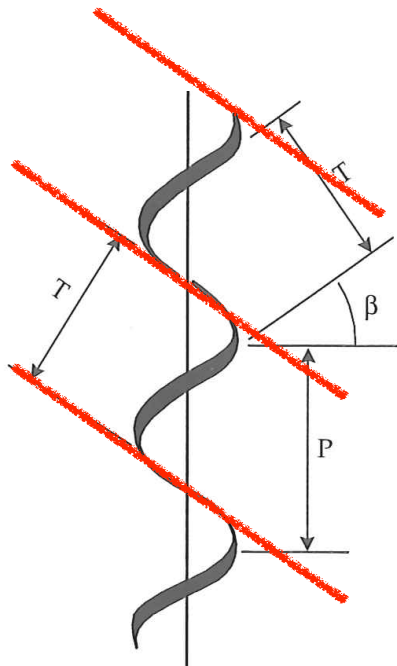
21

さて、ここまでの説明で、こういうDNAのような「ら旋構造」からの回折パターンがX型になるのが説明できます。

ら旋をみると、まずら旋そのものの周期は P ですが、その他に、こういう斜めの方向に T の間隔での繰り返しがあるのが分ります。いいですね？

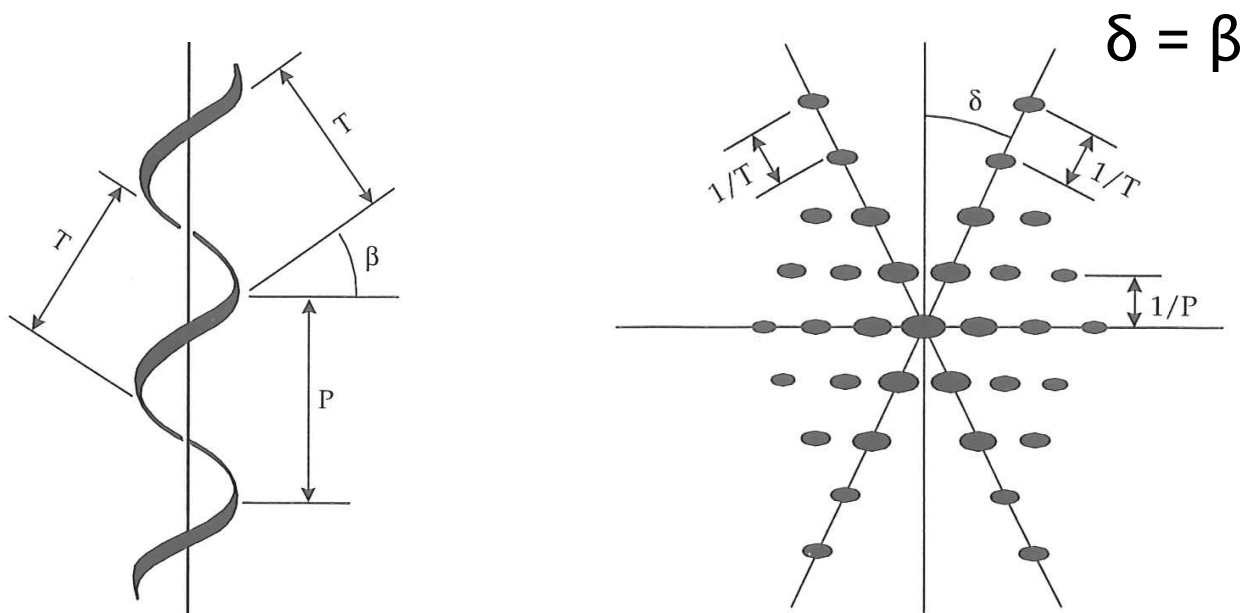
そうすると、さっきまでの説明から、例えば、こっこの部分は、こんなふうの間隔 T で並んでいる線の列だと考えると、この並んだ線列の回折パターンは、どうなります？
こういう点列ですね。

らせんの回折パターン (Fourier変換)



反対側は,
こうですね.
なので, 全体としては,

らせんの回折パターン(Fourier変換)



23

こういうふうになります.

また, ら旋の軸方向の繰り返し周期 P に, この部分が $1/P$ で対応しています.

このフーリエ変換の関係から, ら旋構造の物体(DNAですが)からの回折パターンを推測することが出来る訳です. **実際にはその逆ですね.** X型の回折パターンから, DNAはらせん構造を持っているだろうと推測した訳です.

さて, この図にあるように, 実際にDNAの回折パターンは単純なX型だけではなく, 他にも点々と回折点が写ります. その説明をしないといけません...

Crystallography without Mathematics

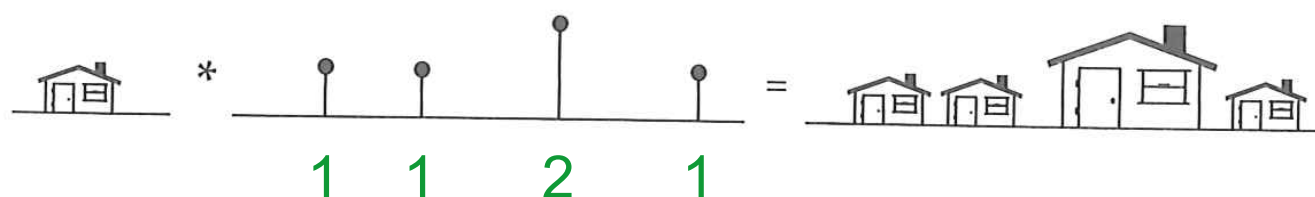
- 逆空間
- Fourier 変換
- Convolution

24

それを納得するには、コンボリューション(畳み込み)について話しをする必要があります。
そろそろ眠くなっているかな？

Convolution Product

一次元

 $A *$ B $=$ $A * B$ 

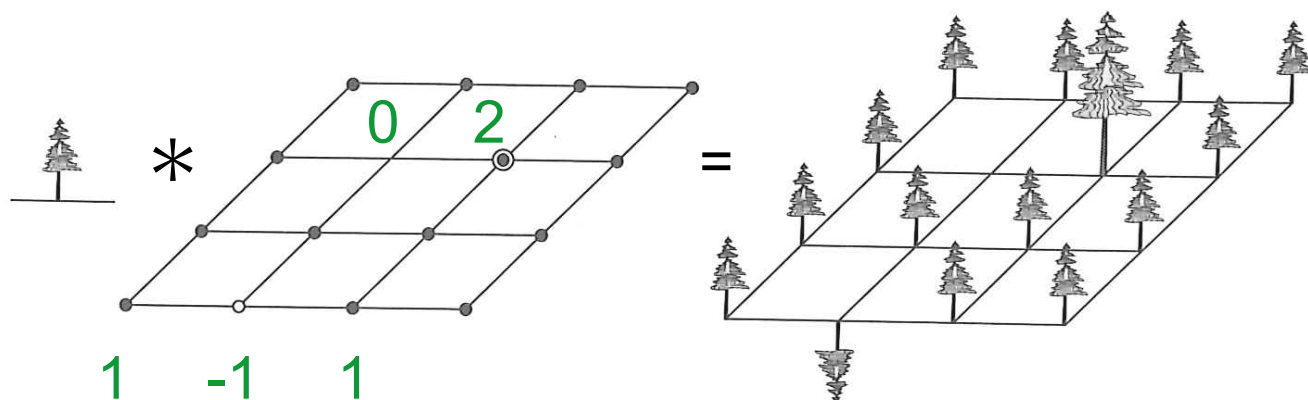
25

コンボリューション積ですが、まずは一次元から。
こういう関数A「家」と、こういう関数Bがあったとして、そのコンボリューション積はどうなるかですが、関数Bは、このように1, 1, 2, 1です。
とすると、AとBのコンボリューション積は、こうなります。

Convolution Product

二次元

$$A * B = A * B$$



26

二次元でも同じです.

こういう関数A「木」と, こういう関数Bがあったとして, そのコンボリューション積はどうなるかです. 関数Bは, このように小さい黒丸が1, 白丸が-1, 二重丸が2, 何もないところが0です.

とすると, AとBのコンボリューション積は, こうなります.

コンボリューション積のイメージがつかめて来たのではないかと思います.

Convolution Product

「結晶」

$A * B$

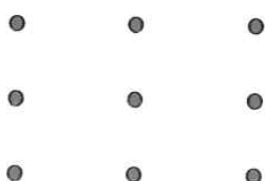
B

$=$

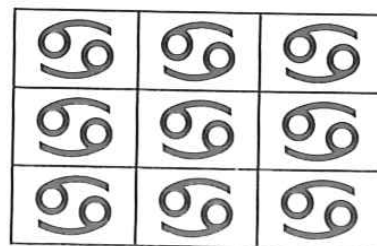
$A * B$



$*$



$=$



分子

格子

結晶

27

では次に「結晶」を考えてみましょう.

結晶は, 分子と格子のコンボリューション積で表すことができます.

分子の情報の関数と, 格子空間の関数のコンボリューション積で, 分子が格子状に規則的に並んだ「結晶」になります. こんな感じですね.

逆に言うと, **これが「単結晶の定義」**です. いいですか.

ConvolutionのFourier変換

$$T(A * B) = T(A) \times T(B)$$

$$T(A \times B) = T(A) * T(B)$$

28

さて、では次にコンボリューション積と、そのフーリエ変換の関係です。

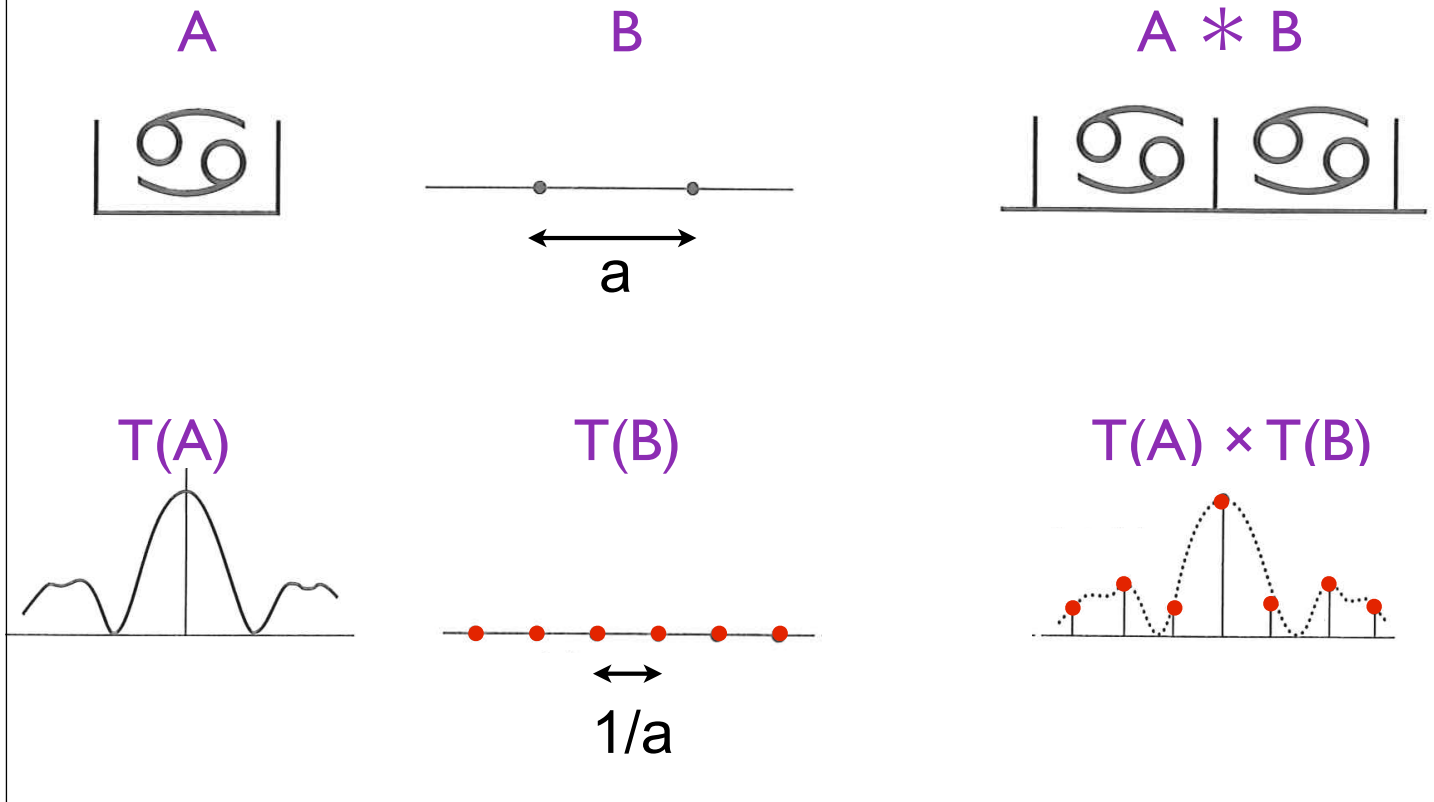
この2つの関係を見ていきます。

上は、コンボリューション積のフーリエ変換は、それぞれのフーリエ変換の積。

下は、積のフーリエ変換は、それぞれのフーリエ変換のコンボリューション積。

となるということです。

$$T(A * B) = T(A) \times T(B)$$



29

まず一つめ.

コンボリューション積のフーリエ変換は、それぞれのフーリエ変換の積です.

さっきまで見たように、分子Aと格子Bがあると、そのコンボリューション積は...こうなります.

分子Aのフーリエ変換は、例えば、こんなような関数になったとして、 a だけ離れた格子点のフーリエ変換は、さっきまで見ていたように間隔 $1/a$ の逆格子点列になります.

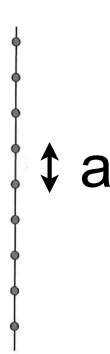
この2つの変換の積は左の $T(A)$ の関数を $T(B)$ の点々の位置でサンプリングしたもの、ということになります.

$$T(A \times B) = T(A) * T(B)$$

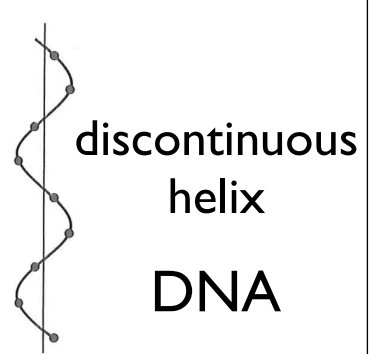
A



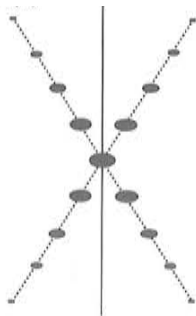
B



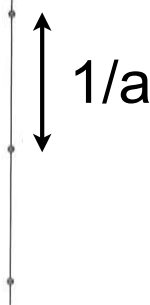
$A \times B$



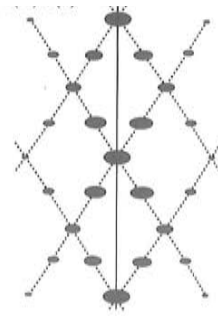
$T(A)$



$T(B)$



$T(A) * T(B)$



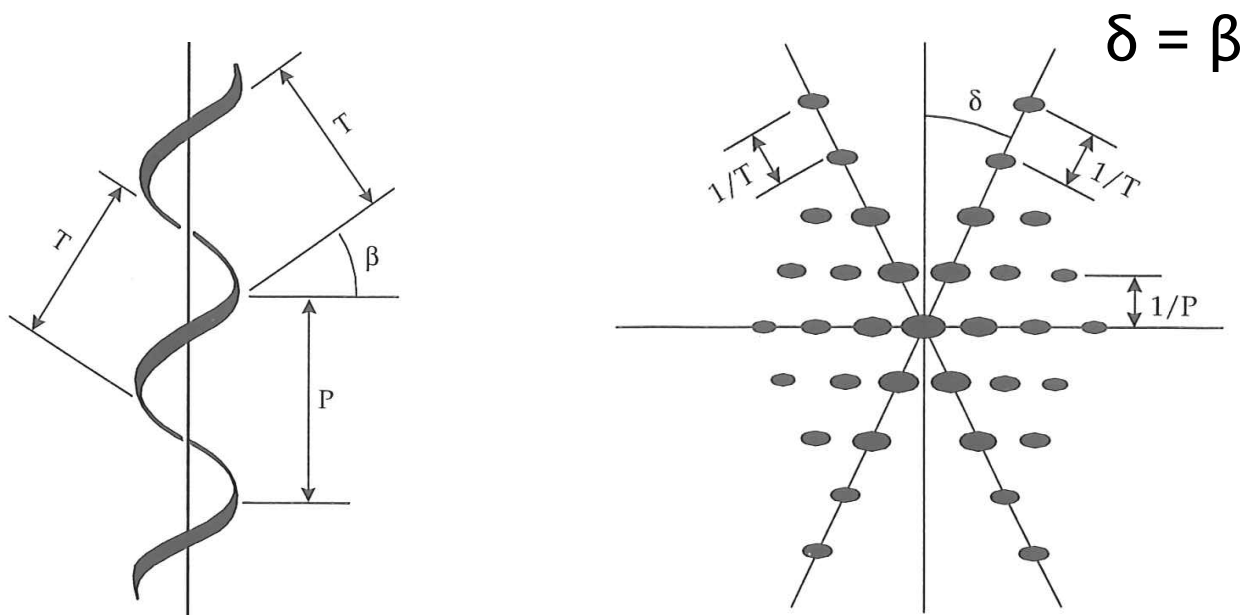
30

では、次に逆の関係。 積のフーリエ変換は、それぞれのフーリエ変換のコンボリューション積です。

こういう関数A「ら旋」と、点列の関数Bがあったとします。 その積はどうかというと、点のあるところだけで大きさを持ちますから、こういう不連続な「ら旋」になります。

ら旋のフーリエ変換は、さっきみたようにX型の関数になり、点列Bはこうなります。 で、AとBの積のフーリエ変換は、それぞれのフーリエ変換のコンボリューション積ということは、さっきまで家や木の関数でみていたように、こんな感じになる訳です。

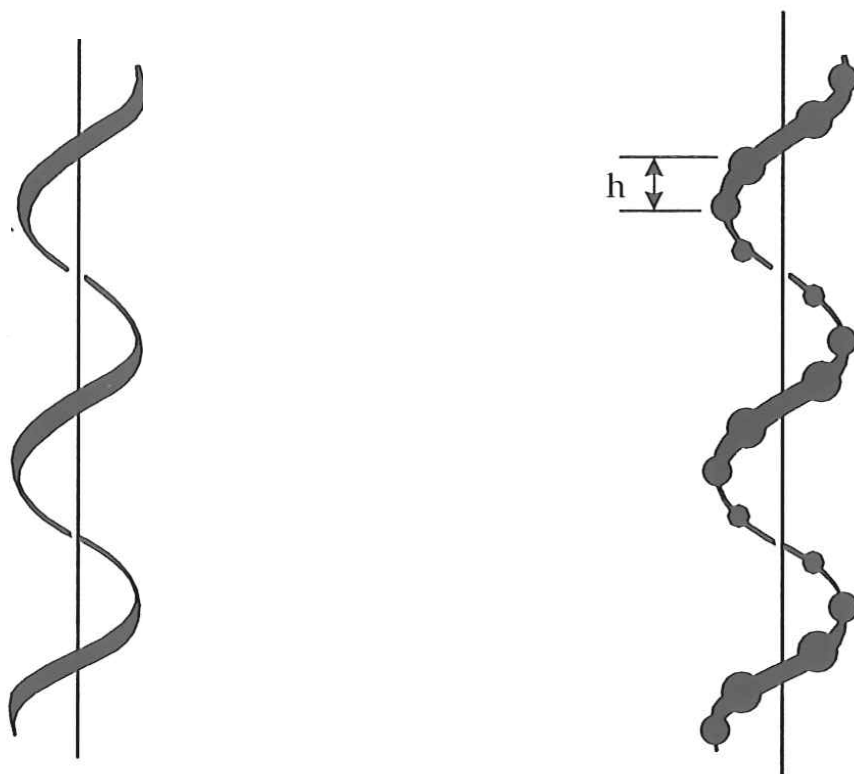
らせんの回折パターン (Fourier変換)



31

ということで、さっき見た、X型のらせんの回折パターンが、

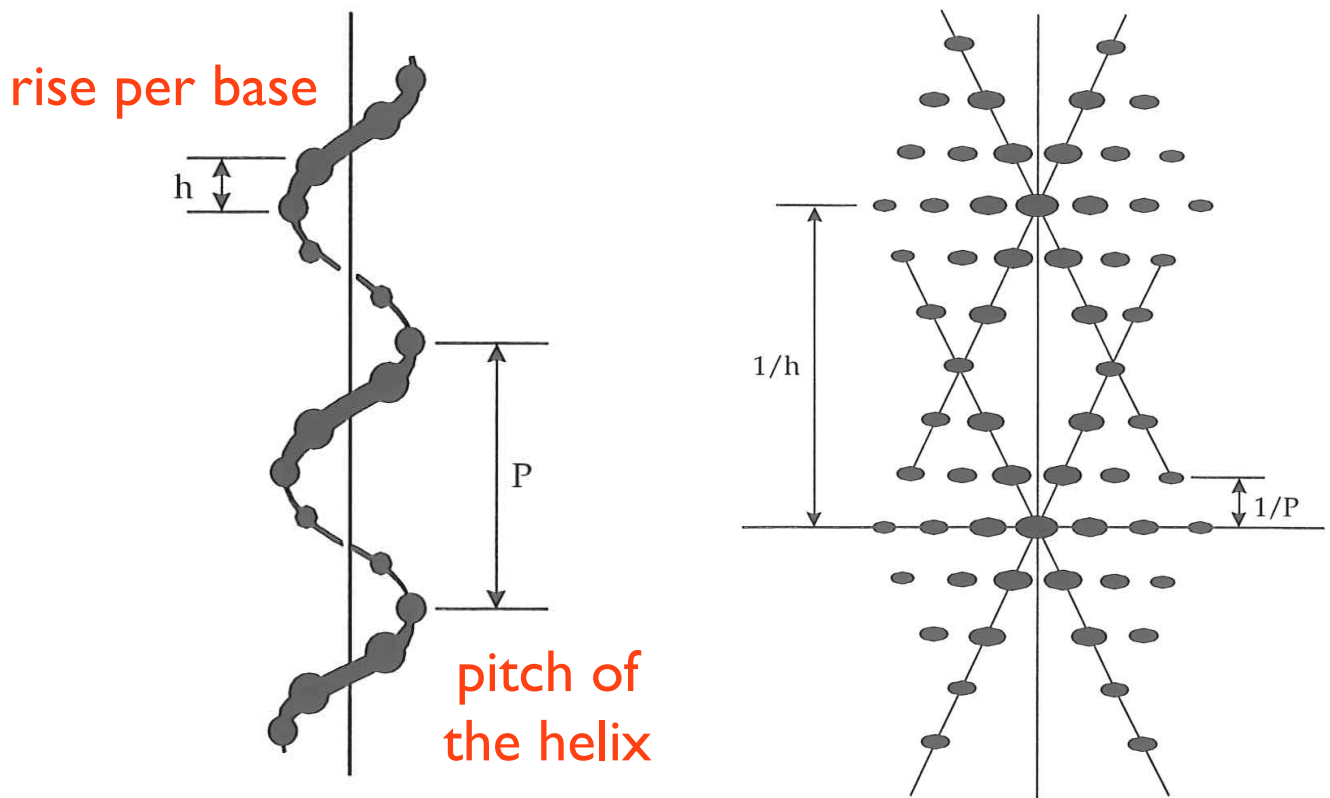
DNAらせん



32

実際のDNA分子は原子から出来ていて、こんなふうに飛び飛びのらせんになっているはずだとすると、

helixの回折パターン(Fourier変換)



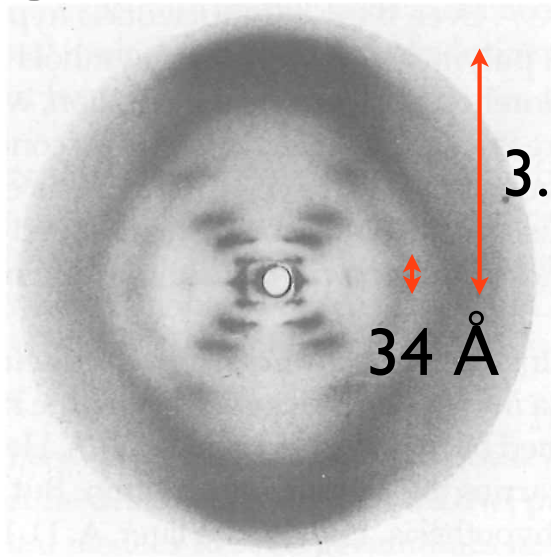
33

コンボリューションの関係で $1/h$ 間隔の格子とのコンボリューション積になるわけです.

逆に言うと、回折パターンのこの繰り返し構造から、DNAヘリックスの最小の周期構造単位である塩基の周期 h が分ります. こっちでら旋そのものの周期が分りますから、このような回折パターンが得られれば、それがどういいうら旋構造をしているのかが推測できるという訳です.

helixの回折パターン

@1953

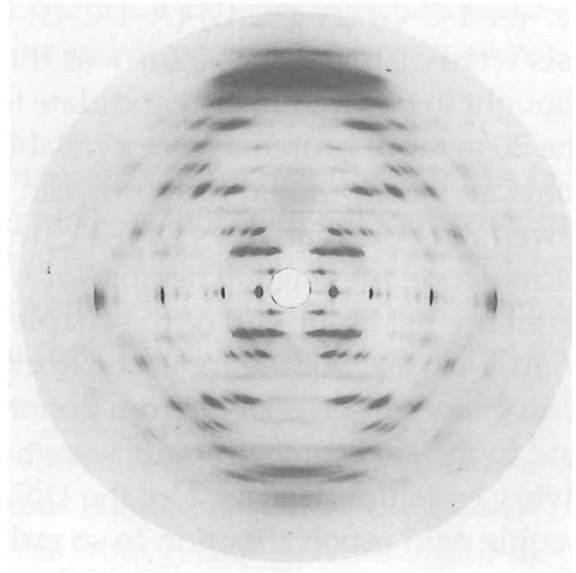


3.4 Å

34 Å

$P = 34 \text{ Å}, h = 3.4 \text{ Å}$
 $\Rightarrow 10 \text{ base pairs / turn}$

@1981



34

これが1953年にフランクリンらによって撮影されていたDNAの回折パターンです。

これを良く観ると、ヘリックスのピッチ P は 34Å 、1塩基毎のピッチ h は 3.4Å であることが分ります。ということは、DNAヘリックスは、1周期に10塩基からなるような旋構造であるということになり、そういう構造モデルを考える必要があります。

この写真はArnottによって1981年に撮影されたものです。この1981年の写真では、10 layer を容易に数えることが出来ますが、1953年のFranklinの写真では容易ではありません。しかし、中心付近のhorizontal layer linesの間隔を測定すれば、 $P=34\text{Å}$ であることは分ります。

ところが、Paulingはこのピッチを34ではなく27とし、そのため1周期は8塩基で考えてしまいました。(詳細は後述します)

The Long Road

35

さて、やっと回折パターンからDNAの構造を議論するための前置きが終わりました。

DNAの構造の解明までの長い道程の話を始めましょう。

pre-histroy

1860's	F Miesher	膿(うみ)とサケ精子から核酸を単離 リンを含むことを発見(蛋白質の一種と考えていた...)
1900's	A Kossel	リン酸, 糖, 塩基から成ることを決定
1920's		DNAとRNAの2種類ある DNA(動物), RNA(植物)との説 tetranucleotide仮説 -(ATCG)-(ATCG)-(ATCG)-
1944	O Avery	DNA injection (transform) 実験 DNAが遺伝情報を含む
1950	E Chargaff	A & T, G & C の「比が1」を発見 “Chargaff's ratio” “Pairing”については言及していない...(「理由」も...)
1952	Hershey & Chase	bactriophage infect E coli (only the DNA goes inside)

36

pre-histroyと書きましたが、X線回折パターンから構造を推測するようになる前に、こういう歴史があります。

そもそも核酸の発見は1860年代に遡ります。最初はタンパク質と区別されていませんでしたが、1900年代に成分が解明され、1920年代にはDNAとRNAの2種類が区別されます。構造は不明で、こんなふうに4つの塩基が繰り返し並んでいる構造ではないかと思われていたりします。大きな出来事としては、1944にAveryの実験によってDNAが遺伝情報を含む実体であるということが分ります。そして1950年にChargaffがA,TとG,Cの比が1であるということを発見します。ここで重要なのは、Chargaffは「比」について述べているだけで、ペアを作るだろうというようなことは言っていない。

Triple Helix

37

さて、そういう背景があって、構造の解明の努力がされます。

まずは「3重らせん」になってしまった話からです。

triple helix

- 1951: Watson & Crick
 - ─ 外向き triple helix のモデル
 - ─ Wilkins らに笑われ, Bragg が怒る...
- 1951: Fraser @ Wilkins's lab
 - ─ 内向きの triple helix モデル (not published)
 - ─ base 間の水素結合を提唱
- 1953: Pauling & Corey

38

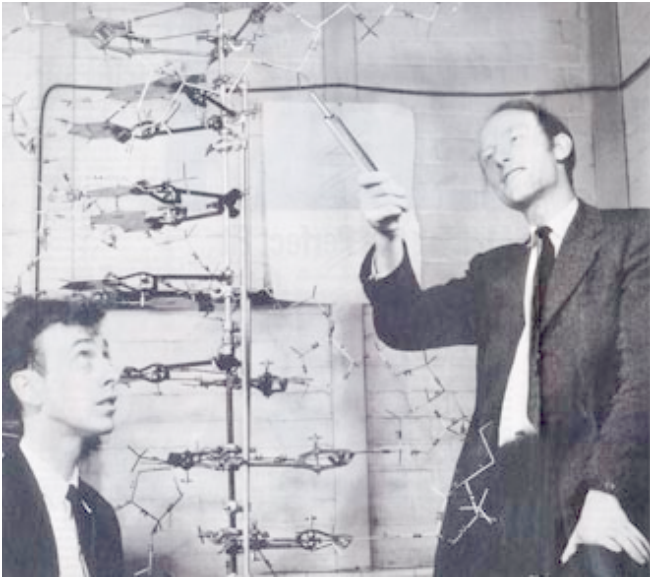
「3重らせん」にも歴史があります.

ワトソンの「二重らせん」を読んだことがある人居ますか?

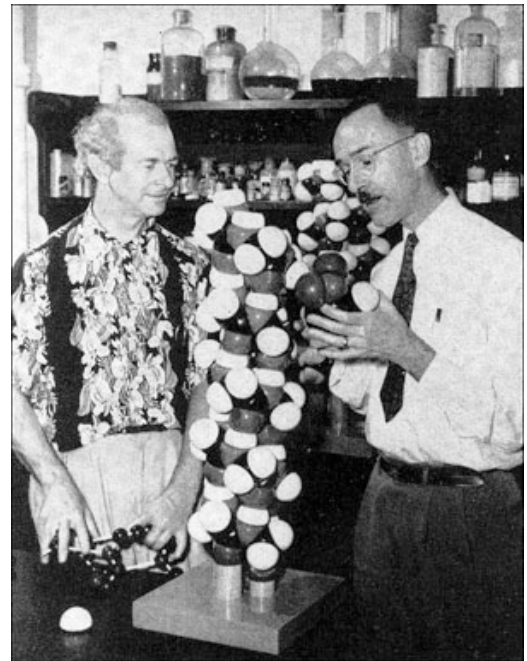
この一番上のWatson&Crickの話は, あれにも出て来ます.

二つ目のWilkinsの研究室のFraserのモデルは, 3重ヘリックスでしたが「内向き」で, しかも塩基間の水素結合も提唱されていたようです. ただ論文として報告されなかったようです.

ここでは, 1953年のPauling & Coreyの triple helix を key paper で見に行くことにします.



Watson & Crick



Pauling & Corey

39

そういう訳で、今日のキー・プレイヤーはこの人達です.

始めに見るPauling & Coreyは、先週の α ヘリックスでは正解者でしたが、今日はそうではありません.

PNAS (1953) 39, 84-97

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

X線写真や実験データは無い

では、そのPauling & Coreyの1953年の論文。
前回の α ヘリックスの議論のときに、Braggら結晶屋と
違って、Paulingは実験事実にとらえず、ポリペプチドがヘ
リックスになりたいように、紙を折り曲げて考えた話を
しました。

これも、DNAのX線回折写真や実験データを自分達で蓄
積して、それに基づいて議論を進めたというような論文で
はありません。そうなのですが、こんな始まり方をして
います...

precisely predicted...

We have now formulated a promising structure for the nucleic acids, by making use of the general principles of molecular structure and the available information about the nucleic acids themselves. The structure is not a vague one, but is precisely predicted; atomic coordinates for the principal atoms are given in table 1. This is the first precisely described structure for the nucleic acids that has been suggested by any investigator. The structure accounts for some of the features of the x-ray photographs; but detailed intensity calculations have not yet been made, and the structure cannot be considered to have been proved to be correct.

最初のページの第二パラグラフですが、こうなっています。

提案する構造は「あやふやなもの」ではない、と言っています...

そして、「X線写真を説明できる」としています。でも、そこに問題があった訳です...

どういう問題点かというと、

3つの問題点

- 外向きhelix (内向き)
- triple helix (double helix)
- 8 fold (10 fold)

42

この3つです.

precisely predicetd って書いてありましたが, 彼等の提案したモデルは, 外向きヘリックスで, 3重で, 一周期で8塩基進みます.

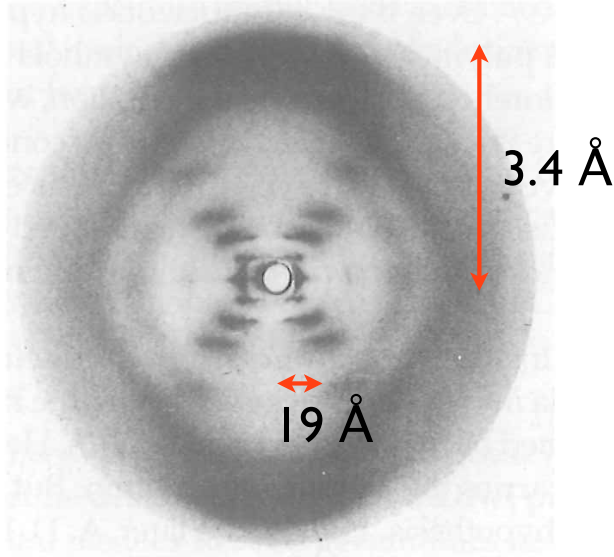
正解はこうです.

この原因は何か. どうして precisely predicetdなのにこうなってしまったのかを見ていきましょう.

triple helix ?

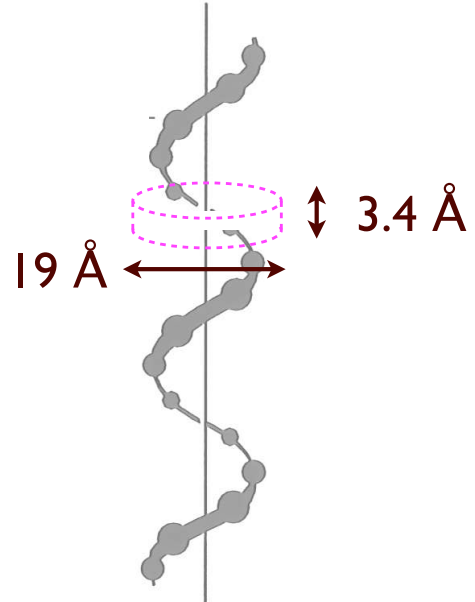
$$\text{nucleotide / disk} = 2.85 = 3$$

Franklin's photo



$$\rho(\text{density}) = 1.62 \text{ g/cm}^3$$

DNA helix



43

さて、最初に、なぜ3重ヘリックスになってしまったのかということから、

当時ポーリングらも含めて、それぞれ皆が自分達で実験してDNAの回折写真を撮影している訳ではなく、フランクリンの撮影したDNAの回折写真の情報を使っています。

この写真から、一塩基分が3.4Åで、ヘリックスのラテラル方向の周期(つまりヘリックスの太さ)が19Åだということが分ります。つまりヘリックスの一塩基分の高さの円筒は、こういう大きさだということです。こうして分った円筒の体積とDNAの密度1.62g/cm³から、この一塩基分の円筒には2.85塩基が入っている。つまり、約3つの塩基が入っているのではないかということになります。この議論が、ポーリングらだけでなく、初期のワトソンやクリックにも影響を与えてしまいます。

この計算の問題は何ですか？

この大きさがあれば「3つまで入れる」ということで、「3つ入っている」ではないということです。実際にはDNAの他に「水分子」が入っていることが後で分ります。

lack of access to DNA fiber diffraction pictures

p.85

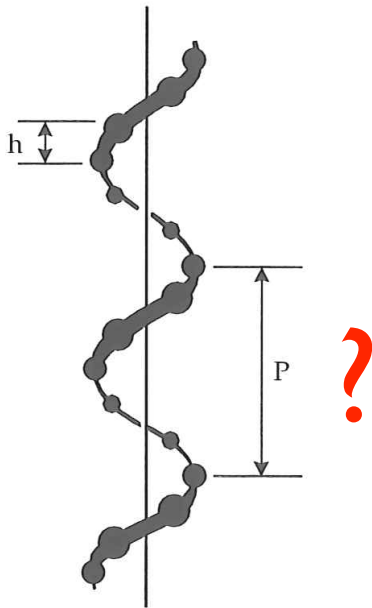
X-ray photographs have been made of sodium thymonucleate and other preparations of the nucleic acids by Astbury and Bell.^{7, 8} It has recently been reported by Wilkins, Gosling, and Seeds⁹ that highly oriented fibers of sodium thymonucleate have been prepared, which give sharper x-ray photographs than those of Astbury and Bell. Our own preparations have given photographs somewhat inferior to those of Astbury and Bell. In the present work we have made use of data from our own photographs and from reproductions of the photographs of Astbury and Bell, especially those published by Astbury.¹⁰ Astbury has pointed out that some information about the nature of the nucleic acid structure can be obtained from the x-ray photographs, but it has not been found possible to derive the structure from x-ray data alone.

44

さて、次の問題は、ヘリックス一回転が何個の塩基かということですが、ここにあるように、彼等は色々やってみたのですが、Astburyらの写真よりも良い写真が得られていません。そうした、あまりはっきりしない自分達の写真と、Astburyらの写真のコピーから情報を得ています。

さっき見たようなFranklinの鮮明な写真を自分達で見ることが出来ていなかったのです。

$$n = P / h$$



45

さっきも見たように，Franklinの最新の「鮮明な」写真であれば，写真から $P=34\text{\AA}$ であることが直接測定できました．しかし，Paulingは，その写真を見る機会が得られなかった訳です．

では，どのようにして「 $P=27\text{\AA}$ 」を得たのだろうかということです．

$$P=27.2\text{\AA} ?$$

p.93

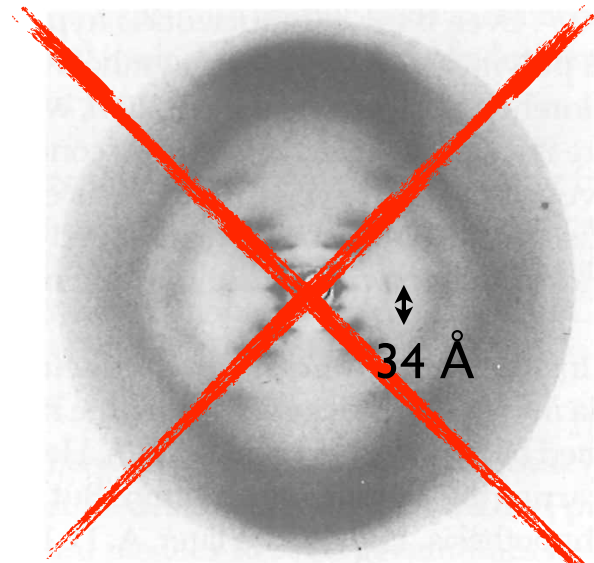
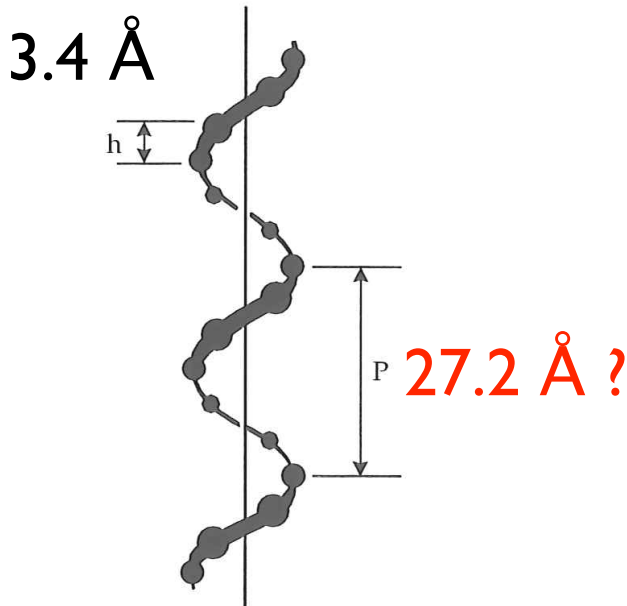
to 24 nucleotide residues in seven turns, as shown in figure 3. The three chains of the molecule interpenetrate in such a way that the pitch of the triple helix is 3.88 Å, and the identity distance or approximate identity distance is 27.2 Å, corresponding to eight layers (see also Figs. 4, 5, and 6).

46

彼等のこの論文には、27.2Åという数字が出て来ます。これは93ページの文章中ですが、85ページの表1の下の脚注にも同じように27.2Åと書いてあります。27.2Åだと。

この”27.2Å”は、どこから出て来たのでしょうか。

$$n = P / h = 8 ?$$



Franklin's B-DNA photo

A Klugの推測では、1951年にFranklinが“A型”DNAの写真について報告していて、それでは $P=27\text{\AA}$ であった。Paulingは自分達の写真は鮮明でなかったと書いていて(論文にも写真を掲載していない)ので、その値を間違って使ったのではないか、ということです...

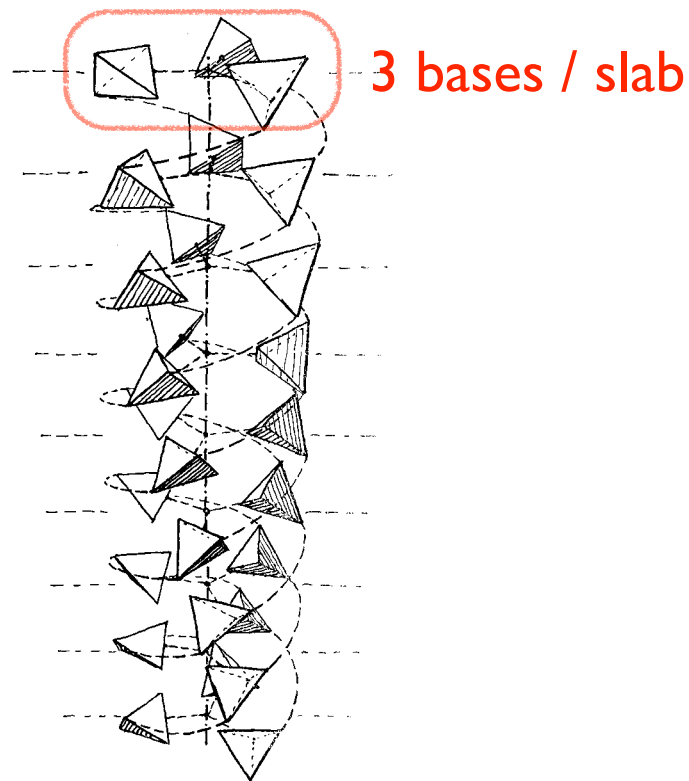


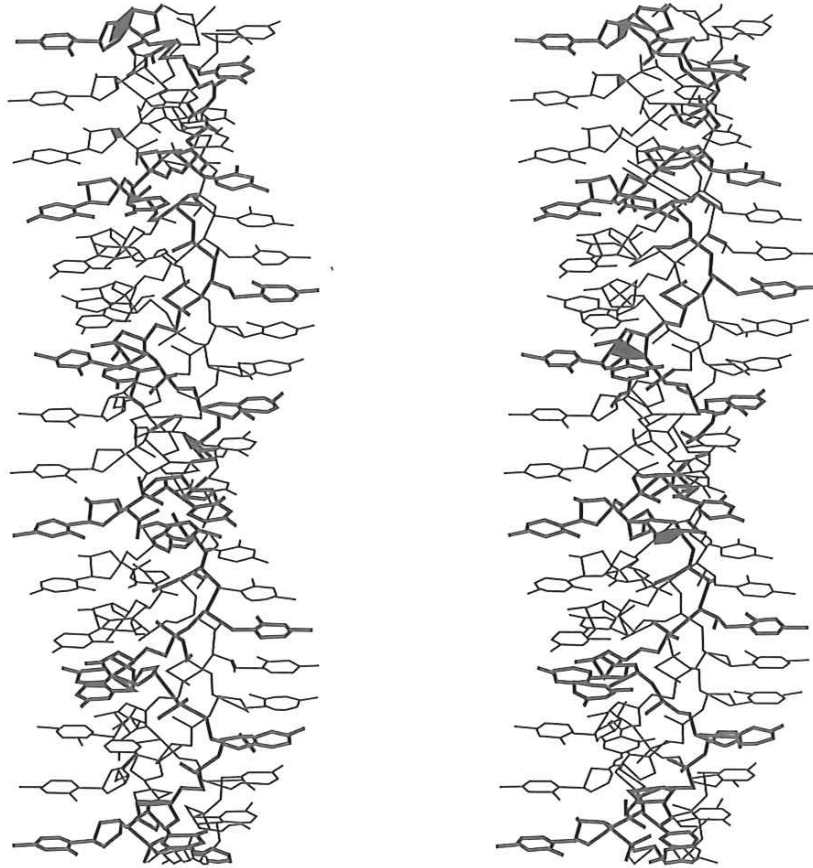
FIGURE 2

Figure 2 (*left*). A 24-residue 7-turn helix representing a single polynucleotide chain in the proposed structure for nucleic acid. The phosphate groups are represented by tetrahedra, and the ribofuranose groups by dashed arcs connecting them.

こうして、ポーリングらは、このように3重ヘリックスのモデルを考えていきます。

「Chargaffの比」が説明できるかということも考慮されていなかったことも問題でしょう。

Pauling & Corey's triple helix



交差法ステレオ図

50

座標情報があるので、Scripps Research InstituteのDavid S. Goodsellが、その座標で描いてみたポーリングらの3重ヘリックスのモデルです。
どうでしょう？

外向きhelixの「意味」

p.96

It is interesting to note that the purine and pyrimidine groups, on the periphery of the molecule, occupy positions such that their hydrogen-bond forming groups are directed radially. This would permit the nucleic acid molecule to interact vigorously with other molecules. Moreover, there is enough room in the region of each nitrogen base to permit the arbitrary choice of any one of the alternative groups; steric hindrance would not interfere with the arbitrary ordering of the residues. The proposed structure accordingly permits the maximum number of nucleic acids to be constructed, providing the possibility of high specificity. As Astbury has pointed out, the 3.4-Å x-ray reflection, indicating a similar distance along the axis of the molecule, is approximately the length per residue in a nearly extended polypeptide chain, and accordingly the nucleic acids are, with respect to this dimension, well suited to the ordering of amino-acid residues in a protein. The positions of the amino-acid residues might well be at the centers

51

ポーリングらは、この外向きのDNAヘリックスに「意味」を議論しています。まあ、そもそも間違っている訳ですが...

さっきの Goodsellが 描いたモデルで見たように、DNAの外側が塩基になりますから、何かと相互作用するには良さそうです。3.4Åのピッチで塩基が外側を向いているこの構造は、蛋白質の「伸びた」ポリペプチドと相互作用するのにちょうど良い...としています。

Double Helix

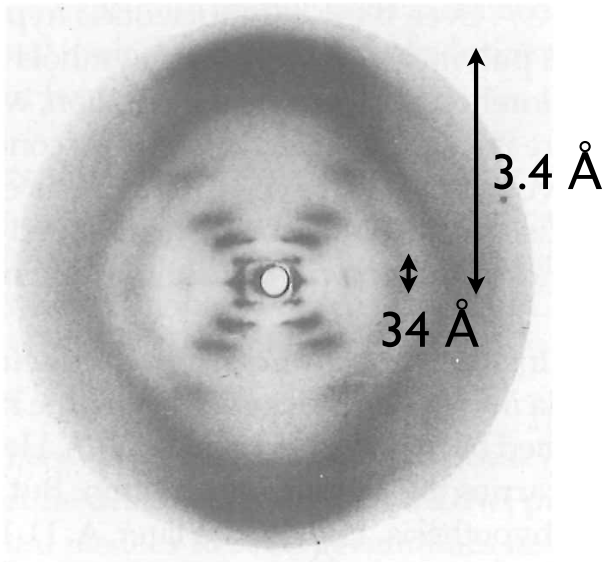
わずか10週間後...

52

さて、正解の二重らせんですが、ポーリングの論文が1953年2月15日でワトソン&クリックの論文は4月25日ですので、わずか10週間後ということになります。

R Franklin...

“B-DNA” photo



⇒ 10 base pairs / turn

and crystallography...

DNA has C2 symmetry



anti-parallel

53

ワトソン&クリックは、ポーリングらと違って、フランクリンのB-DNAの繊維写真の情報を利用することが出来ました。

それによれば、ヘリックスのピッチは34Åで、一塩基のピッチは3.4Å、つまりら旋1ターンあたり10塩基ということになります。

もう一つ非常に重要だったのは、DNAの構造がC2という対称性だということを認識していたということです。

今回の講義では対称性の話はしないのですが、C2という対称性に合致するためには、DNAは逆平行の構造を持っていないといけませんということです。クリックも結晶学の教育を受けていて、その意味が分っていました。

Nature (1953) 171, 737-738

(*Nature* (1953) 171, 737-741)

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.

54

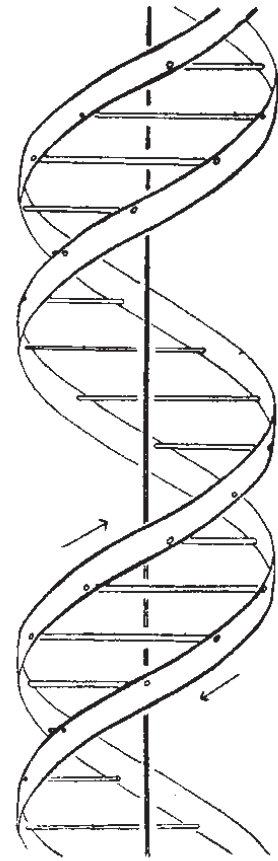
さて、2つ目のキーペーパーです。これがDNAの二重らせんの構造を初めて提唱した論文です。737ページから741ページまで続く一連の論文の最初の一つです。こっちは宿題にしなかったけど、**見てみた人居ます？**最初にも話したように、これに関してはたくさんの本もありますので、さらっとやりましょう。まあ、歴史的な論文ということで...

WE wish to suggest a structure for the salt of deoxyribose nucleic acid (D.N.A.). This structure has novel features which are of considerable biological interest.

A structure for nucleic acid has already been proposed by Pauling and Corey¹. They kindly made their manuscript available to us in advance of publication. Their model consists of three inter-twined chains, with the phosphates near the fibre axis, and the bases on the outside. In our opinion, this structure is unsatisfactory for two reasons: (1) We believe that the material which gives the X-ray diagrams is the salt, not the free acid. Without the acidic hydrogen atoms it is not clear what forces would hold the structure together, especially as the negatively charged phosphates near the axis will repel each other. (2) Some of the van der Waals distances appear to be too small.

It has not escaped our notice that the specific pairing we have postulated immediately suggests a possible copying mechanism for the genetic material.

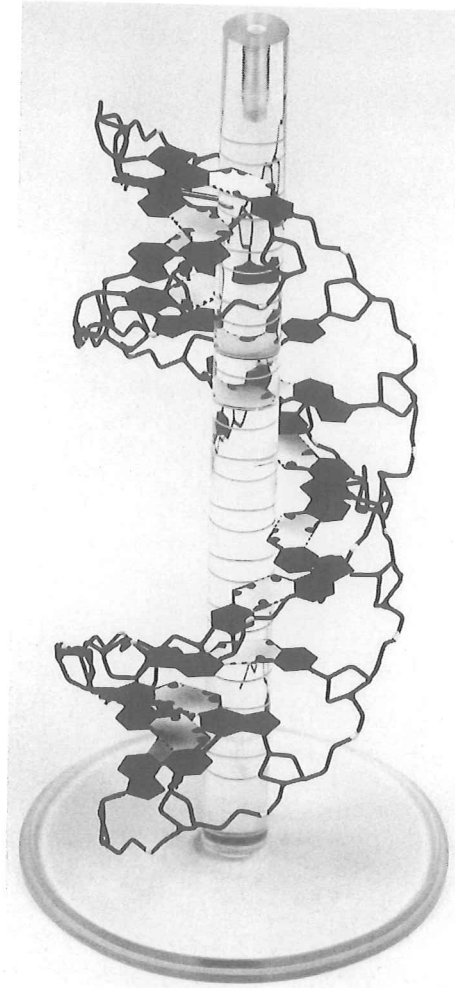
Full details of the structure, including the conditions assumed in building it, together with a set of co-ordinates for the atoms, will be published elsewhere.



さて、いつも見るように書き出しですが、「この構造は生物学的な意味がある新規である」訳ですね。

で、ポーリングらの構造は2つの理由で不備だと、まず論じて。

そして、良く知られているように、この構造がDNAの「複製」に関係している可能性も示唆している。



@1953
by T Broad

56

こうして、DNAの二重らせんの構造が提唱されました。これは1953年の6月にアメリカのCold Spring Harborであったシンポジウムでの講演の説明用に作製された最初のモデルです。4月25日のNatureで6月のシンポジウムですから、超ホットな話題ですね。

the House Un-American Activities Committee

By 1950, largely as a result of information sharing between the FBI, the Tenney Committee, the House Un-American Activities Committee (HUAC) and others, Linus Pauling's name was high on the lists of congressional investigatory bodies harboring an interest in U.S. communist subversion.

- snip -

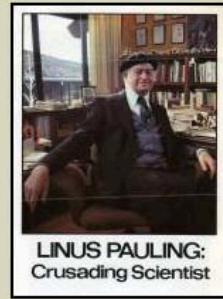
His theories were also being challenged by several leading British scientists, forcing him to spend a great deal of his time addressing criticism. Indeed, he was so busy at the height of this work that he postponed a trip to Europe and turned down a visiting professorship at Harvard.

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

さて、今日の話はここでおしまいです。「歴史のもしも」ですが...

1952年5月にLondonでthe Royal Societyの会議があり、Paulingも招待されていました。しかし、Paulingは、共産主義同調者としての容疑でHUACのため英国に渡航出来ず、Franklinの鮮明な”B型”DNAの写真を見ることが出来なかったのです。それをポーリングが見ていたら、27.2Åの間違いも無かったでしょう...

Denied Passport



"Linus Pauling, Crusading Scientist." 1977.
Produced for NOVA by Robert Richter/WGBH-Boston.

Denied Passport. (1:30)



<http://osulibrary.oregonstate.edu/specialcollections/coll/pauling/dna/video/1977v.1-passport.html>

58

先週も紹介しましたが、このあたりの経緯もポーリング自身が話しているビデオがあります。

key paper

hemoglobin sagaの
一報目

An X-ray study of horse methaemoglobin. I
BY JOY BOYES-WATSON, EDNA DAVIDSON AND M. F. PERUTZ
Cavendish Laboratory and Molteno Institute, University of Cambridge
(Communicated by Sir Lawrence Bragg, F.R.S.—Received 3 February 1947)

Proc. Roy. Soc. London (1947) A191, 83-132

myoglobin の
3次元構造速報

A THREE-DIMENSIONAL MODEL OF THE MYOGLOBIN MOLECULE OBTAINED BY X-RAY ANALYSIS

By Drs. J. C. KENDREW, G. BODO, H. M. DINTZIS, R. G. PARRISH and H. WYCKOFF
Medical Research Council Unit for Molecular Biology, Cavendish Laboratory, Cambridge
AND
D. C. PHILLIPS
Davy Faraday Laboratory, The Royal Institution, London

Nature (1958) 181, 662-666

myoglobin の
3次元構造解析

The crystal structure of myoglobin V. A low-resolution three-dimensional Fourier synthesis of sperm-whale myoglobin crystals

By G. BODO, H. M. DINTZIS, J. C. KENDREW AND H. W. WYCKOFF
*Medical Research Council Unit for Molecular Biology, Cavendish Laboratory,
University of Cambridge*

(Communicated by Sir Lawrence Bragg, F.R.S.—Received 22 April 1959)

Proc. Roy. Soc. London (1959) A253, 70-102

次回の key paper はこれです.

2つ目のKendrewのNature(1958)を読んで、ミオグロビンの解析の分解能を決める際に、何が問題で、なぜ、どのように決めて実行したのかレポートせよ.