

講義ノート (6月3日), (6月10日)

「生物系への統計物理学の2, 3の応用」

Prof. C. J. Thompson

第2章 Biological Reactions

§ 2-1. タンパク質の構造と機能

タンパク質の構造は以下のように大別できる。

(i) primary structure

アミノ酸の1次元的配列からなる連鎖

(ii) secondary structure

連鎖のあちこちに弱い水素結合をもつ2次元的構造。

(iii) tertiary structure

3次元的な globular type 構造。

(iv) quaternary structure

subunits の3次元的配置。

例えばヘモグロビン (Hb) はヘムグループとよばれる4個の subunits を持つ。

Primary structure は多くのタンパク質において決定されている。しかし完全な3次元的構造を調べるには、精密なX線解析を必要とする。例えば、ヘモグロビンは分子量64500, 含まれている原子数10000であるが、この完全な構造を決定するのに Perutz は1937年から1960年の23年間要した。

タンパク質のもつ機能は千差万別であるが1種類のタンパク質に対して1つの機能が対応するという具合に、非常に specify されている。たとえば、

(a) 酵素; 触媒としてある特有の分子 (substrate) に作用する。

(b) Transportation

タンパク質は小さな分子 (ligand) と結合するための active site をもつ。普通、1つの subunit に1つの active site がある。たとえばヘモグロビンは4個の subunit をもつが、それに対応して4個の酸素分子を結びつける部分がある。また1つの酵素には1つ

$P\{t\}$ を決定しなければならない。マクロな分子の bond site 間に相互作用があると
して, configuration $\{t\}$ における相互作用エネルギーを $E\{t\}$ であらわす。そして,
ligand を熱浴としてグランドカノニカルアンサンブルを考えよう。すると

$$P\{t\} = [Z_G(\alpha, n, \beta)]^{-1} \alpha^{N\{t\}} \exp(-\beta E\{t\}) \quad (2-2)$$

ここに, $\beta = \frac{1}{kT}$

$$Z_G(\alpha, n, \beta) = \sum_{\{t\}} \alpha^{N\{t\}} \exp(-\beta E\{t\})$$

(2-2) を (2-1) に代入して,

$$\begin{aligned} f &= \frac{1}{n} \frac{\sum_{\{t\}} N\{t\} \alpha^{N\{t\}} \exp(-\beta E\{t\})}{\sum_{\{t\}} \alpha^{N\{t\}} \exp(-\beta E\{t\})} \\ &= \frac{1}{n} \alpha \frac{\partial}{\partial \alpha} \log Z_G \end{aligned} \quad (2-3)$$

まず, Classical な酵素, 即ち $E\{t\} = 0$ の場合を考えよう。これは各 site を占める確
率が独立にそして同等に分布していることを意味する。このとき,

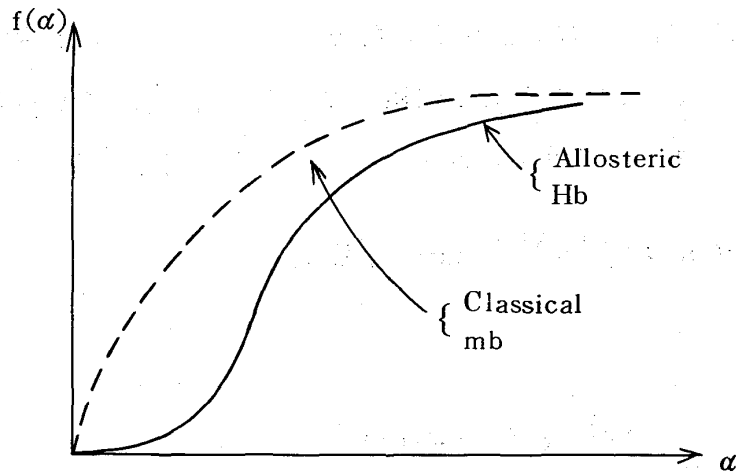
$$\begin{aligned} Z_G &= \sum_{t_1=0,1} \cdots \sum_{t_n=0,1} \prod_{i=0}^n \alpha^{t_i} \\ &= (1 + \alpha)^n \end{aligned}$$

ゆえに

$$\begin{aligned} f &= \frac{1}{n} \alpha \frac{\partial}{\partial \alpha} n \log(1 + \alpha) \\ &= \frac{\alpha}{1 + \alpha} \end{aligned} \quad (2-4)$$

(2-4) 式を Michaelis-Menten-(Henri) equation という。たくさんの酵素は (2-
4) 式にしたがう。しかし, Allosteric 酵素は (2-4) 式にしたがわず, S型の曲線にな
る。(図II-1)

また, 輸送 (transportation) に関係した物質では, ミオグロビン (mb) は (2-4) に
従い, ヘモグロビンは従わない。ヘモグロビンの binding site の平均占有率が S型にな

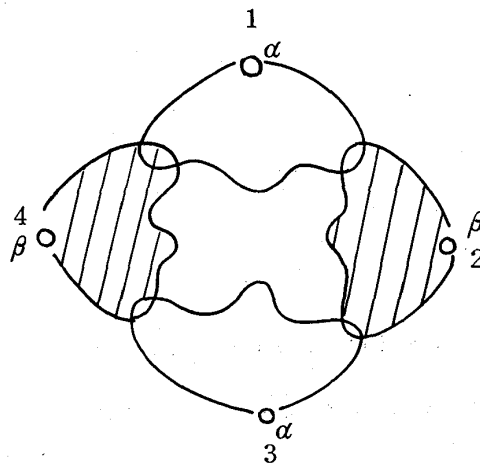


[II - 1]

るといのは生体の機能にとって重要である。実際、酸素分子の分圧が高いところ(肺)ではヘモグロビンは酸素分子と簡単に結びつき、酸素分子の少ないところ(たとえばつま先)では、はなれやすくなることを示している。これはヘモグロビンが酸素分子を輸送するという機能と対応している。一方ミオグロビンは筋肉組織の中で酸素分子をたくわえておく役割をもっており、classical curveになる。

ヘモグロビンのこのような機能は binding site 間の協力的性、あるいは構造の変化と関係がある。そこで、ヘモグロビンに対するモデルを考えよう。

4つの binding site (1~4) のまわりにアミノ酸の chain がある。(α, β) 同じ Chain (たとえば α-α) 間は接触していないが、異なる Chain (α-β) 間は強い重なりがある。



[II - 2]

最近接 site 間 (1-2, 2-3, 3-4, 4-1) にのみ相互作用があるとしよう。その強さを $-J$ とすると

$$E\{t\} = -J \sum_{i=1}^n t_i t_{i+1} \quad (t_{n+1} \equiv t_1) \quad (2-5)$$

大分配関数は

$$Z_G(\alpha, n, \beta) = \sum_{\{t\}} \alpha^{\sum_{i=1}^n t_i} e^{\beta J \sum_{i=1}^n t_i t_{i+1}} \quad (2-6)$$

となる。これは1次元 Lattice gas モデルの場合と同じであり、その結果はよく知られている。また、 $n=4$ のときは (2-6) を直接的に計算でき、

$$Z_G = 1 + 4\alpha + \alpha^2(2 + 4K) + 4\alpha^3 K^2 + \alpha^4 K^4 \quad (2-7)$$

となる。

ここに、

$$K = e^{\beta J}$$

(2-7) の導出

非占有数	0	1	2		3	4
	○	×	×	×	×	×
	○ ○	○ ○	○ ○	×	○	×
	○	○	×	○	×	×
Weight	1	α	α^2	$\alpha^2 K$	$\alpha^3 K^2$	$\alpha^4 K^4$
配置の数	1	4	2	4	4	1

(2-7) より

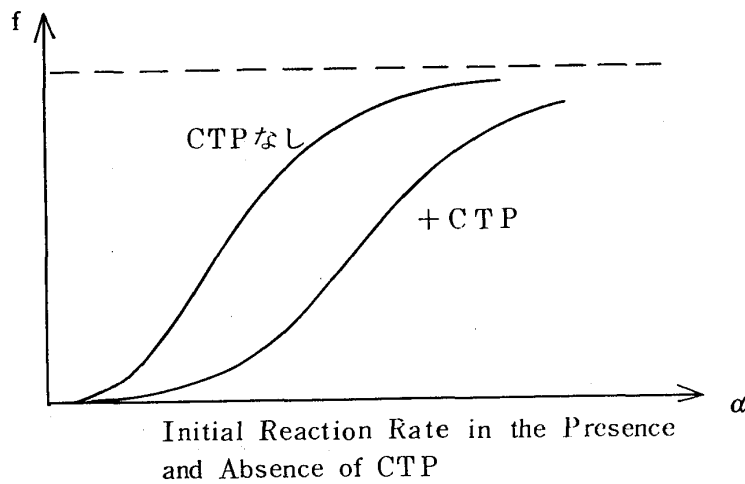
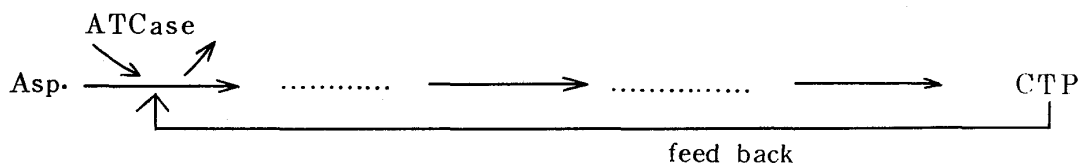
$$f = \frac{\alpha\{1 + \alpha(1 + 2K) + 3\alpha^2 K^2 + \alpha^3 K^4\}}{Z_G} \quad (2-8)$$

を得る。任意パラメーターは相互作用定数 J であるが、これを適当にとり $\beta J \approx 2.2$ と (2-8) はヘモグロビンの実験結果と非常によく合う。もちろん、われわれのモデルは単純化しすぎているし、またヘモグロビンに対する唯一のモデルでもない。提出されて

いろいろなモデルの当否は時間に依存したふるまいを実験と比較することによって決まるだろう。(時間がないのでここでは述べない。)

§ 2 - 3. Allosteric Enzyme

Allosteric enzyme も S 型の飽和曲線をもつ。細胞の中では, Allosteric enzyme は触媒としてはたらくだけではなく, "regulatory function" という機能をもつ。たとえば Aspartate から CTP が生成される反応プロセスにおいて ATCase は触媒として作用する。ところが最終生成物 CTP は最初の反応を疎外する。即ち CTP は自分自身の生成率を制御している。

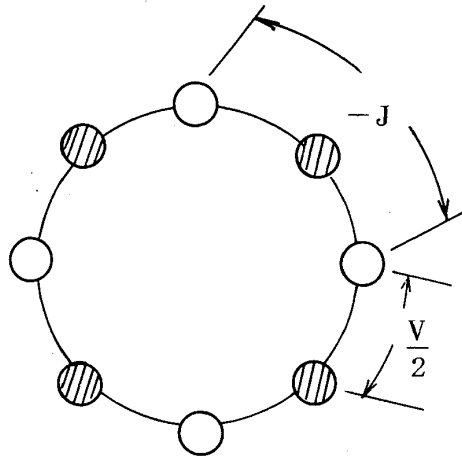


[II - 3]

このようなメカニズムのおこる理由は ATCase の binding site には substrate に対するものと modifier (inhibitor あるいは activator) に対するものとの 2 種類あることによる。

上に述べた allosteric enzyme に対するモデルをたてよう。そのためには, その構造 (quarternary structure) ねばならないが残念なことに現在のところよくわかっていない。そこでモデルとして次のようなものを考えよう。substrate に対する binding site

が n 個あり modifier に対しては m 個あるとしよう。また, binding site 間の協力性は primary structure によって決まると仮定し, 1 次元的な相互作用の path を考えよう。すると前節のヘモグロビンに対するモデルを少し変えるだけでよい。(図 II-4)



[II-4]

Allosteric 酵素に対するモデル ($n = m = 4$)

白い円は catalytic site [substrate (たとえば aspartate) が結合]

黒い円は regulatory site [modifier (たとえば CTP) が結合]

図において, 隣り合った catalytic site の間には $-J$ ($J > 0$) の相互作用が, また regulatory site と, その両隣の catalytic site 間には $\frac{V}{2}$ ($V > 0$) の相互作用が働くでしょう。実験的に, CTP のみが存在するとき classical curve になることが知られているので regulatory site 間には相互作用がないとしてよい。§ 2-2 の場合と同様に catalytic site が占有されている状態を

$$t_i = \begin{cases} 1 & i \text{ 番目が占有されているとき} \\ 0 & \text{'' 占有されていないとき} \end{cases}$$

であらわし, regulatory site については

$$s_i = \begin{cases} 1 \\ 0 \end{cases}$$

であらわそう。configuration $\{s, t\}$ における相互作用エネルギー $E\{s, t\}$ は

$$E\{s, t\} = -J \sum_{i=1}^n t_i t_{i+1} + \frac{V}{2} \sum_{i=1}^n S_i (t_i + t_{i+1}) \quad (3-1)$$

以下 $n=m$ とする。substrate の濃度を α ，modifier の濃度を r とすると大分配関数は次のようになる。

$$Z = \sum_{\{s, t\}} \alpha^{\sum_{i=1}^n t_i} r^{\sum_{i=1}^n S_i} \exp \left(\beta J \sum_{i=1}^n t_i t_{i+1} - \frac{\beta V}{2} \sum_{i=1}^n S_i (t_i + t_{i+1}) \right) \quad (3-2)$$

まず S についての和をとると、

$$Z = \sum_{\{t\}} \prod_{i=1}^n \alpha^{t_i} e^{\beta J t_i t_{i+1}} \left(1 + r e^{\frac{\beta V}{2} (t_i + t_{i+1})} \right) \quad (3-3)$$

ここで transfer matrix

$$T(t, t') = \alpha^{\frac{t}{2}} e^{\beta t t'} \left(1 + r e^{\frac{\beta V}{2} (t+t')} \right) \alpha^{\frac{t'}{2}}$$

を定義すると (3-3) は

$$\begin{aligned} Z &= \sum_{\{t\}} \prod_{i=1}^n T(t_i, t_{i+1}) \\ &= T_r(\tilde{T}^n) = \lambda_1^n + \lambda_2^n \end{aligned} \quad (3-4)$$

となる。ここに λ_1, λ_2 は行列

$$\tilde{T} = \begin{pmatrix} T(0, 0), & T(0, 1) \\ T(1, 0), & T(1, 1) \end{pmatrix}$$

の固有値である。

簡単な計算により catalytic site の平均占有数 f は

$$\begin{aligned} f &= \left\langle \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n t_i \right\rangle = \frac{1}{n} \alpha \frac{\partial}{\partial \alpha} \log Z \\ &= \frac{\tilde{\alpha} \tilde{K} \left\{ (1 + \tilde{\alpha} \tilde{K} + \tilde{\delta})^{n-1} \left(1 + \frac{2\tilde{K}^{-1} + \tilde{\alpha} \tilde{K} - 1}{\tilde{\delta}} \right) \right.}{\left. + (1 + \tilde{\alpha} \tilde{K} - \tilde{\delta})^{n-1} \left(1 - \frac{2\tilde{K}^{-1} + \tilde{\alpha} \tilde{K} - 1}{\tilde{\delta}} \right) \right\}}{\left\{ (1 + \tilde{\alpha} \tilde{K} + \tilde{\delta})^n + (1 + \tilde{\alpha} \tilde{K} - \tilde{\delta})^n \right\}} \end{aligned} \quad (3-5)$$

となる。ここに

$$\tilde{\delta} = \{(1 - \tilde{\alpha}\tilde{K})^2 + 4\tilde{\alpha}\}^{1/2} \quad (3-6a)$$

$$\tilde{\alpha}\tilde{K} = a \left[\frac{1 + b e^{-\beta V/2}}{1 + b e^{\beta V/2}} \right] = \tilde{a} \quad (3-6b)$$

$$\tilde{K} = K \left[1 + \frac{4b}{(1+b)^2} \sinh^2 \frac{\beta V}{4} \right] \quad (3-6c)$$

$$a = \alpha K = \alpha e^{\beta J} \quad (3-6d)$$

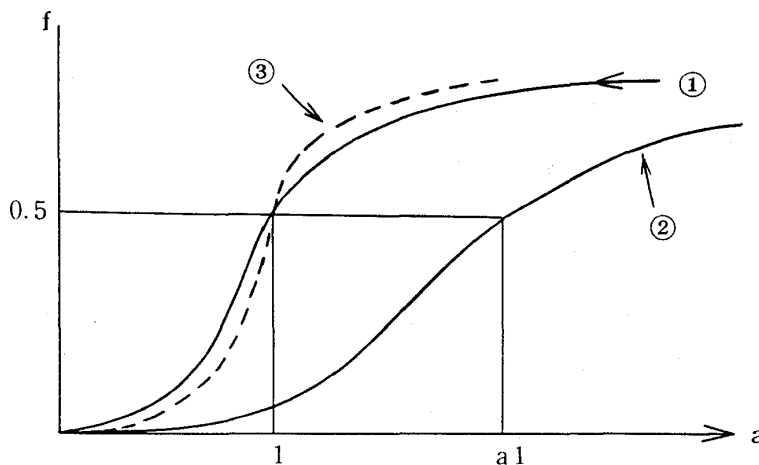
$$b = r e^{-\beta V/2} \quad (3-6e)$$

(3-5)において $n=4$ とし, $\tilde{\alpha} \rightarrow \alpha$, $\tilde{K} \rightarrow K$, $\tilde{\delta} \rightarrow \delta$ のおきかえ (つまり $r=0$) を行なうと § 2-2 で導びいた結果 (2-8) に帰着する。

さて (3-5) 式を ATCase の実験と比較して未知パラメーター βJ , βV , r を決定する方法を考えよう。(図 II-5)

まず βJ は CTP が存在しない場合の実験データ①と比較することによりただちに決めることができる。そしてその値は $\beta J \approx 2.2$ である。

CTP が存在するときのデータ②において $f = \frac{1}{2}$ に対応する $a = a_{1/2}$ に注目しよう。理論では (3-5) より $f = \frac{1}{2}$ になるのは $\tilde{a} = 1$ のときである。ゆえに (3-6b) より



[II-5]

$$a_{1/2} = \frac{1 + be^{\beta V/2}}{1 + be^{-\beta V/2}} \quad (3-7)$$

が成立する。次にデータ②をスケールしなおして $a=1$ で $f=\frac{1}{2}$ になるようにしよう。この曲線③から \tilde{K} を決めることができる。そのような \tilde{K} と $a_{1/2}$ を使って (3-6c) と (3-7) より βV と b が求まる。その結果 βV は約 2.2 と評価される。つまり、 $\beta J = \beta V \approx 2.2$ である。このことは regulatory site とその隣りあった二つの catalytic site が占有されているとき、それら 3 つの site 間の相互作用エネルギーがゼロであることを意味する。(complete inhibition) ただ実験誤差がかなり大きいので βV として 2.2 以外の値をとる可能性もないわけではない。

次のようにして effective な相互作用常数 \tilde{J} を定義することもできる。

$$\tilde{J} = \beta^{-1} \log \tilde{K} \quad (3-8)$$

(3-6c), (3-6d) より

$$\tilde{J} \geq J$$

$$\tilde{J}(b) = \begin{cases} J & b=0 \\ J & b=\infty \end{cases}$$

$$\tilde{J} = \tilde{J}_{\max} \quad (b=1)$$

であることがわかる。

b が非常に大きいとき (3-7) より $a_{1/2} \rightarrow e^{\beta V}$ となり、また $\tilde{J} = J$ ($\tilde{K} = K$)。ゆえに a を $e^{\beta V}$ で scale するとその曲線は $b=0$ の線と一致するというのをこのモデルは示している。

§ 2-4. 生化学反応の Kinetics

ここでは生化学反応のダイナミカルな面を調べよう。

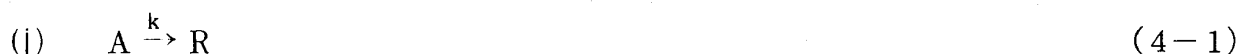
n 個の化学成分を A_1, \dots, A_n で、その濃度をそれぞれ $[A_1], \dots, [A_n]$ であらわす。次のような仮定をおく。

1. $[A_i]$ は時間にのみ依存する。つまり、よくかきまぜた系を考える。
2. $[A_i]$ は時間に関して微分可能な関数とする。
3. “Autonomous dynamical system” すなわち

$$\frac{d[A_i]}{dt} = f_i([A_1], [A_2], \dots, [A_n])$$

4. 質量作用の法則

2, 3の例を挙げよう。



この反応の運動方程式は

$$\frac{d[B]}{dt} = k[A],$$

$$\frac{d[A]}{dt} = -k[B]$$

k : 反応常数



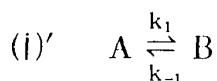
$$\frac{d[C]}{dt} = k[A][B]$$

$$\frac{d[A]}{dt} = -k[A][B]$$

$$\frac{d[B]}{dt} = -k[A][B]$$

(4-2)

逆反応も考えると,



$$\frac{d[A]}{dt} = k_{-1}[B] - k_1[A]$$

$$\frac{d[B]}{dt} = k_1[A] - k_{-1}[B]$$

(4-3)

ゆえに、保存量

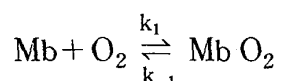
$$[A] + [B] = \text{const.}$$

が存在する。



この反応の応用例として、次のようなものがある。

(a) 酸素分子とミオグロビン (Mb) との結合。



(b) 酵素 (E) - Substrate (S) 複合体の形成



(4-4) の反応の運動方程式は

$$\frac{d[C]}{dt} = k_1[A][B] - k_{-1}[C]$$

$$\frac{d[A]}{dt} = -k_1[A][B] + k_{-1}[C]$$

$$\frac{d[B]}{dt} = -k_1[A][B] + k_{-1}[C]$$

$t = 0$ で $[A] = [A]_0$, $[B] = [B]_0$, $[C] = 0$ とすると

$$[A] + [C] \equiv [A]_0 \quad (4-6)$$

$$[B] + [C] \equiv [B]_0 \quad (4-7)$$

である。平衡解は

$$[\bar{C}] = K[\bar{A}][\bar{B}], \quad (4-8)$$

$$K = \frac{k_1}{k_{-1}}$$

例(ii)'の(b)では, (4-8)より

$$\frac{[\overline{ES}]}{[\overline{E}][\overline{S}]} = K \quad (4-9)$$

また, (4-6), (4-7)式より

$$[\overline{E}] + [\overline{ES}] = [E]_0 \quad (4-10)$$

$$[\overline{S}] + [\overline{ES}] = [S]_0 \quad (4-11)$$

普通の系では酵素の濃度は substrate の濃度比べて非常に小さい。それゆえ, (4-11)において $[\overline{ES}]$ は無視できる。(Michaelis-Menten 近似)

$$[\overline{S}] \approx [S]_0 \quad (4-12)$$

(4-10), (4-12)を(4-9)に代入すると

$$\frac{[\overline{ES}]}{[E]_0} \approx \frac{K[S]_0}{1+K[S]_0} \quad (4-13)$$

を得る。これは §(2-2)で導びいた classical 酵素に対する Michaelis-Menten equation に他ならない。

(4-5)の酵素-substrate 複合体の存在下で, ある質(p)が生成される反応



を考えよう。この系の運動方程式は

$$\frac{d[E]}{dt} = -k_1[E][S] + k_{-1}[ES] + k_2[ES] \quad (4-15)$$

$$\frac{d[S]}{dt} = -k_1[E][S] + k_{-1}[ES] \quad (4-16)$$

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_1[E][S] - k_{-1}[ES] - k_2[ES] \quad (4-17)$$

$$\frac{d[p]}{dt} = k_2[ES] \quad (4-18)$$

初期条件として時刻 $t = 0$

$$[E] = [E]_0, \quad [S] = [S]_0,$$

$$[ES]_0 = [p]_0 = 0$$

とする。(4-15) と (4-17) より

$$[E] + [ES] = [E]_0 \quad (4-19)$$

(4-16), (4-17), (4-18) より

$$[S] + [ES] + [p] = [S]_0 \quad (4-20)$$

さて、ここで生成物 P の生成速度

$$V = \frac{d[p]}{dt} \quad (4-21)$$

を定義する。これの時間的ふるまいは運動方程式 (4-15) ~ (4-18) を解けば求まるが、ここではまず V の最大値に注目しよう。 $t = t_0$ で最大値 $V = V_0$ になるとすると

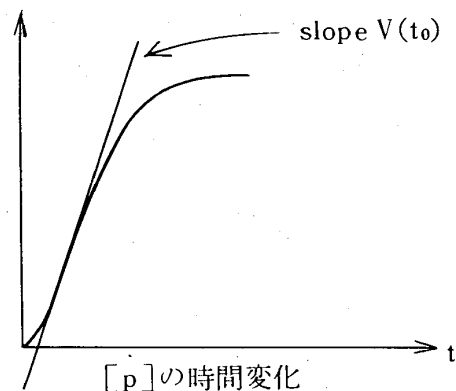
$$\left. \frac{dV}{dt} \right|_{t=t_0} = 0$$

(4-21), (4-18), (4-17), (4-19) より

$$\begin{aligned} V_0 &= k_2[ES]_{t_0} \\ &= \frac{V_m[S]_{t_0}}{K_m + [S]_{t_0}} \end{aligned} \quad (4-22)$$

$$V_m \equiv k_2[E]_0$$

$$K_m \equiv \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$$

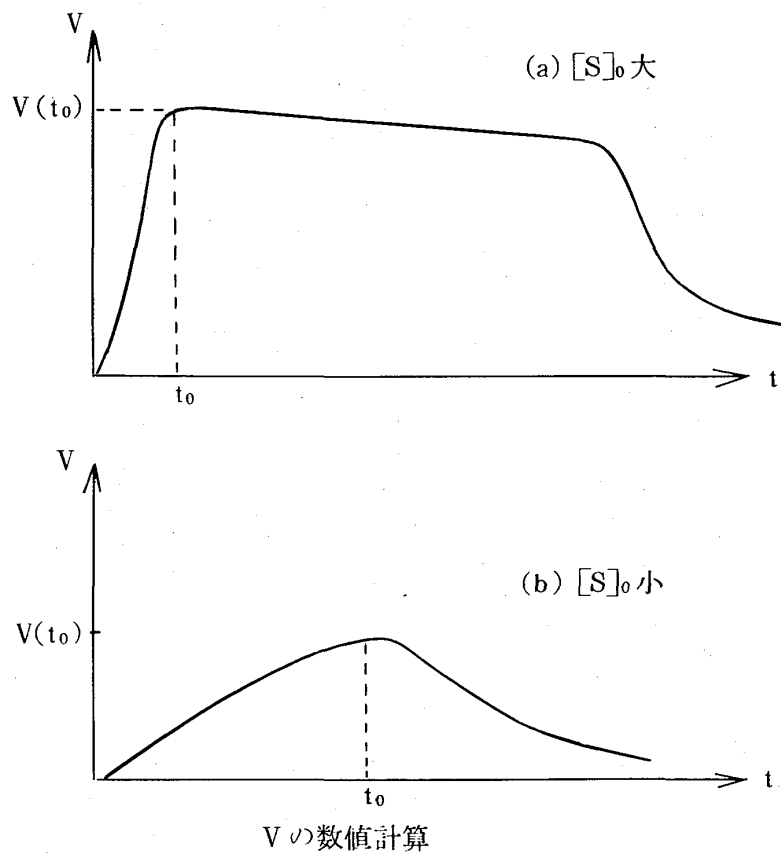


となり、再び Michaelis-Menten type の結

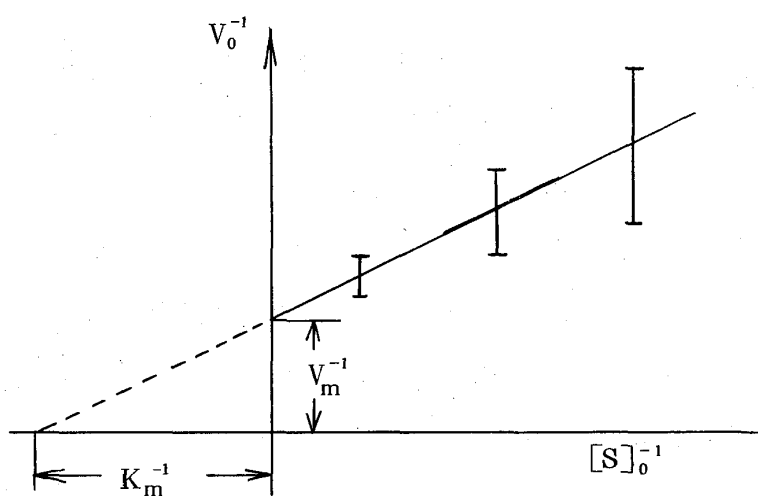
[II-6]

果を得る。

実際に運動方程式(4-15)~(4-18)を解いた結果は図[II-7]に示してある。 $[S]_0$ が大きい場合 t_0 は小さく、 V はかなりの間、減衰をはじめない。実験的には生成物Pの時間変化をしらべ、その“initial” slope 図[II-6]から V_0 を決定するのであるが $[S]_0$ が大きい場合は、かなり正確に求まる。そして、(4-22)において $[S]_{t_0}$ を $[S]_0$ とおきかえたものと実験値とを比べることにより V_m, K_m が求まる。(図[II-8])ただ、今考えている反応(4-14)には3つ(k_1, k_{-1}, k_2)の未知反応常数があり、上の方法だけではこの3つを独立に決定することはできない。



[II-7]



[II - 8] Double Reciprocal Plot
(実験誤差の程度も示してある。)