

## 溶媒中でゆらいでいるタンパクの隙間を通る小さな分子の拡散律速反応理論

関 和彦\*

COE、物質工学工業技術研究所、茨城県つくば市東1-1、305-8565

### Abstract

拡散を伴う化学反応では、化学反応の速度が拡散係数を通して溶媒の粘度に依存する。反応速度に対する溶媒粘度依存性は、反応が溶媒中での拡散のみにより律速されている場合には溶媒粘度の逆ベキとなる。ところが、ミオグロビンの様なタンパク質への配位子の再結合反応速度では溶媒粘度依存性が逆ベキより弱い分数ベキに依存することが知られている。この分数ベキを説明するために導入された、Zwanzig によるモデルとその理論的拡張について報告する。

### 1. 導入

拡散を伴う化学反応では、化学反応の速度が拡散係数を通して溶媒の粘度に依存することは、1940年のクラマースによる研究以来良く知られている<sup>1</sup>。クラマースは、粘性の増加に従い反応速度が増大しその後減少することを理論的に預言し、このことは80年代に入ってようやく実験的に検証されている<sup>2</sup>。クラマースの理論によると粘性の増加に従って、反応速度が減少する領域では、反応速度は溶媒粘度に反比例する<sup>1</sup>。ところが、多くの生体高分子中での化学反応、ミオグロビンやヘモグロビンへの酸素や一酸化炭素分子の再結合反応において1より小さい分数の逆ベキが観測されている<sup>3-7</sup>。例として比較的小さなタンパクであるミオグロビンでは、1分子に対しての1つのヘムが存在し、ヘム中の鉄分子に酸素

分子や一酸化炭素分子が可逆的に結合するが、酸素分子や一酸化炭素分子の光解離後の再結合反応速度の溶媒粘度依存性は1よりかなり小さい0.5の逆ベキで整理され事が報告されている<sup>3-5</sup>。ミオグロビンは一本のポリペプチド鎖を持ち、X線による結晶構造解析では、配位子である酸素分子や一酸化炭素分子がタンパク質内部から抜け出ることができる程の隙間を持たない事が知られている<sup>8</sup>。溶媒中では、タンパク分子の熱運動のために、210K以上ではタンパクに配位分子が通れる程度の隙間が生じ、溶媒中に溶解している配位分子も再結合に寄与するようになる<sup>3-5</sup>。0.5程度の逆ベキは、この高温での配位分子のヘム部位から溶媒への逃散速度で観測されている。210K以下の低温での配位子の再結合は、タンパクの内部で起こり、溶媒の粘性には依存しないことが知られている<sup>3-5</sup>。一般に化学反応速度は温度とともに増加するが、160Kから210Kの間での再結合反応速度は温度を上げると低くなる。この現象には、タンパクの構造緩和が関与しており、構造の変化はBand IIIと呼ばれる弱い近赤外の光吸収スペクトル( $\sim 760\text{ nm}$ ,  $\sim 13000\text{ cm}^{-1}$ )から測定されている<sup>5,9,10</sup>。Band IIIは配位子が結合していないミオグロビンにのみ現れ、光解離直後のミオグロビン( $\text{Mb}^*$ )では10 nm程配位していないミオグロビン( $\text{Mb}$ )の平衡での吸収に比較して長波長側へずれている<sup>11</sup>。Band IIIは鉄のdとヘムを形作るポルフィリンの $\pi$ 軌道間の電荷移動により起こるとされ、ヘム鉄の回りの構造変化に敏感である。160K以上では $\text{Mb}^*$ から $\text{Mb}$ へ緩和すると鉄はポルフィリンの平面からさらにずれると考えられている。 $\text{Mb}^*$ に較べ $\text{Mb}$ での再結合速度は遅く、温度が高くなるにつれて $\text{Mb}^*$ から $\text{Mb}$ への緩和が速くなり、光解離後の再結合速度が遅くなる。一对の配位子とタンパクの再結合速度とタンパクの構造緩和を同時に取り込んだ最初のモデルは、AgmonとHopfieldにより研究された<sup>12</sup>。このモデルは実験家からも支持され160Kから210Kの間でのタンパク内部での対再結合速度の温度依存性の解釈に使われている<sup>5</sup>。これに対して、210K以上の高温領域の再結合速度では、タンパクの内外への配位子の出入りが生まれタンパクの隙間の時間変化が重要になる。この温度領域での再結合速度の分数ベキの粘度依存性を説明するために、Zwanzigは興味深いモデルを提出した<sup>13</sup>。Zwanzigは配位子が通るタンパクの隙間をボトルネックと呼び、円形であると単純化し、配位子の流れはボトルネックの円の面積に比例するとした。タンパクのゆらぎは円の半径のゆらぎに反映されており、溶媒中でのタンパクの構造変化の時定数は、溶媒の粘度に比例すると考えられた。Zwanzigは円の半径のゆらぎについては、溶媒の粘度に比例す

る時定数で決まる指数緩和を仮定した。このモデルは解析解を持ち、再結合速度の溶媒粘度依存性に対して実験結果と大変近い 0.5 の逆ベキが求められた。この結果は、すぐに他の理論家を刺激し様々なモデルの拡張が行われた<sup>14-19</sup>。本論文では配位子の再結合に対する粘度依存性がクラマースの逆ベキからずれる事に焦点をあてこれらのモデルを紹介する。2節では、Zwanzig モデルについて具体的に説明しこのモデルの帰結やその拡張を紹介する。3節では Zwanzig モデルの拡張の一つとして溶媒中での配位子の拡散の効果についての私達の研究を紹介する。4節で本稿をまとめ、最近の実験結果とこのモデルとの関係を議論する<sup>20</sup>。

## 2. Zwanzig モデル

配位子のタンパクへの再結合速度の溶媒粘度依存性が 0.5 の逆ベキで整理されることは、ミオグロビンへの配位子の再結合速度により 80 年代初頭に見い出された<sup>3</sup>。この実験はポルフィリンの  $\pi \rightarrow \pi^*$  の光学遷移に固有のソーレー帯 (380 nm - 480 nm) の時間分解吸収分光によってなされ、解離したミオグロビンの濃度変化を測定していることになる。溶媒の粘度は、2種類の粘度の違う溶媒を混合させることにより大きく変えられているがこの方法は後述するように批判されることになる。溶媒としてはグリセロールと水の混合物等が使われている。タンパクのヘムはポリペプチド鎖の内部にあり溶媒とは接触していないことから、ヘムでの再結合速度の溶媒粘度依存性そのものが自明ではない。さらに、クラマースの理論から期待される溶媒粘度に対する逆ベキからずれる事からこの実験は注目を集めた。この実験の解釈を与えるモデルとして、1992年 Zwanzig は大変興味深いモデルを提案した<sup>13</sup>。Zwanzig は配位子はボトルネックの様なタンパクの隙間を通過して出入りしており、このボトルネックの首の太さがタンパクの構造の溶媒中での熱ゆらぎのためにゆらいでいると考えた。ボトルネックの首は半径  $y$  の円と近似すると、配位子の流れは円の面積に比例すると考えられるので、ある半径  $y$  が与えられたときの反応速度は  $ky^2$  に比例する。一方、ボトルネックの揺らぎは半径  $y$  について一つの時定数で決まる指数減衰であると仮定された。この時定数はタンパクの構造ゆらぎに起因し、溶媒中でのタンパクの動きは溶媒を引きずることから溶媒の粘度に比例するとした。したがって、ボトルネックの半径が  $y$  である解離したタンパクの分布関数  $\rho(y, t)$  の時間発展は、

$$\frac{\partial}{\partial t} \rho = D_f \frac{\partial}{\partial y} \left( \frac{\partial}{\partial y} + \frac{y}{k_B T} \right) \rho - k y^2 \rho, \quad (2.1)$$

となる。ここで、 $k_B T$ はボルツマン因子による温度であり、 $y > 0$  を満たすように  $y = 0$  で完全反射の境界条件が課されている。拡散係数  $D_f$  は溶媒粘度  $\eta$  の逆数に比例する。この方程式は実は Weiss により解析解を持つ長距離反応のモデルとして最初に導入されたが Zwanzig により初めて物理的な背景がもたらされた<sup>21</sup>。無次元量  $\tau = \frac{D_f}{k_B T} t$  と  $\varepsilon = \frac{k(k_B T)^2}{D_f}$  を用いて残存確率  $\Phi(\tau)$  は<sup>13</sup>

$$\Phi(\tau) = 2\sqrt{2\gamma} \exp \left[ -\tau \left( \frac{1}{\gamma} - \frac{1}{2} \right) \right] \left[ (2 + \gamma)^2 - (2 - \gamma)^2 e^{-4\tau/\gamma} \right]^{-1/2}, \quad (2.2)$$

と求まる。ここで、 $\gamma \equiv \left( \varepsilon + \frac{1}{4} \right)^{-1/2}$  である。Eq. (2.2) によると残存確率の時間減衰は初期時刻では非指数関数であり、ゆらぎを無視した  $\Phi_{st}(t) = (1 + \varepsilon t)^{-1/2}$  で決まるが、しだいに指数  $\left( \frac{1}{\gamma} - \frac{1}{2} \right)$  で決まる指数減衰を示す。この指数より長時間反応速度は、溶媒粘度  $\eta$  の  $-1/2$  乗に比例することが分かる<sup>13</sup>。

反応速度の溶媒粘度依存性は、確率過程の平均到達時間の逆数で定義される平均反応速度と長時間反応速度のどちらを用いても定義することができる。Fig. 1 でこのふたつの定義による反応速度  $K$  を  $\varepsilon$  の関数として比較した。無次元化された反応速度  $K$  を  $\varepsilon$  でプロットすることは次元を持った反応速度を粘度に対してプロットすることと同等である。ここで、粘度の影響を見易くするために  $K/\varepsilon$  のかわりに  $K/(\varepsilon - K)$  を縦軸に取った。 $\varepsilon$  が比較的小さい領域では、平均反応速度と長時間反応速度はほとんど一致しクラマースの理論で知られる  $\varepsilon$  に対する逆べき依存性を示している。 $\varepsilon$  を大きくするに従い、平均反応速度は  $\varepsilon^{-1/4}$ 、長時間反応速度は  $\varepsilon^{-1/2}$  と異なった依存性を示す。量子収率の実験で計られているのが平均反応速度、一方、時間分解測定は長時間反応速度を測定していることに対応する。これら、2つの速度定数は厳密に区別される必要がある。 $\sim 0.5$  の逆べきは時間分解スペクトルから得られているので理論的な長時間反応速度の  $1/2$  に非常に良く一致している。分数べきが出てくる理由は、次の様に考えられる。逆べきは拡散により律速されている反応について成り立つが、Zwanzig モデルでは  $\varepsilon$  を大きくすると、半径  $y$  の至るところで反応が起きてしまい、反応するために特徴的な大きさの半径まで拡散により到達する必要がない。そのため、拡散律

速に較べて弱いべき依存性を持つのである。

Zwanzig モデルは実験を良く説明し、しかも明確な物理的描像を与えたので、理論家を刺激しモデルの拡張が行われた。Klafter 達は、もともと点粒子で表されていた配位子の大きさを考慮し、粘度依存性は配位子のサイズにより変化することを示した<sup>14,15</sup>。大きな配位子では、ボトルネックはある大きさを持つ必要があり、この特徴的な大きさの半径までの拡散が律速過程になるので小さな分子に対する分数から 1 の逆べき依存性に近くなってくる。さらに、彼等は配位子はタンパクを抜け出るまでいくつかのボトルネックを通るとして2つのボトルネックがある効果を理論的に求めた<sup>16,17</sup>。Wolynes と Szabo 達は Zwanzig モデルで仮定されている、ボトルネックの半径のマルコフ的な時間発展を非マルコフ過程に拡張した<sup>18,19</sup>。実際、ソーレー帯の波数分解された時間分解吸収分光からタンパクの構造ゆらぎは時間について指数減衰ではなく時定数  $t_0$  と  $\beta \sim 0.6$  を用いて表される引き延ばされた指数減衰  $\exp(-t/t_0)^\beta$  となることが言われている<sup>22</sup>。Wolynes 達は確率過程に対する経路積分を行い、マルコフ過程であらわれる Onsager-Machlup-橋爪の汎関数を非マルコフのものに置き換えて積分を実行した<sup>23,18</sup>。その結果、長時間の反応定数  $k_{eff}$  に対して

$$K_{eff} = \frac{1}{2\pi} \int_0^\infty d\omega \ln [1 + 2k\tilde{C}(\omega)], \quad (2.3)$$

を得た<sup>18</sup>。ここで  $\tilde{C}(\omega)$  はフーリエ余弦変換された  $C(t_1-t_2) = \langle y(t_1)y(t_2) \rangle$  である。Eq. (2.3) は、Bicout と Szabo によって再導出されている<sup>19</sup>。高粘性領域での引き延ばされた指数減衰の相関に対する結果は  $k_{eff} \sim \eta^{-\alpha}$  かつ  $\alpha = \beta/(1+\beta)$  となる。したがって、 $\beta \leq 1$  に対して粘度依存性の逆べきは 0.5 以下となる。実験で観測されている  $\alpha$  の値は 0.4 – 0.8 なので小さい分数の領域はタンパクの非マルコフゆらぎの結果と矛盾しない。ここで、Zwanzig モデルとこの節で述べた拡張されたモデルは全て反応がボトルネックというタンパクの幾何学的な配置により律速されている結果であることに注意する必要がある。これは、配位子がタンパクから逃散する場合にのみ成り立つ考え方である。配位子が溶媒からタンパクの内部へ侵入して来る場合には、配位子の溶媒中での拡散の効果も考慮する必要がある、この節の結果をそのまま適用する事はできない。以下の節で配位子の溶媒中での拡散の効果について、考察することにする。

## 2. Zwanzig モデルに対する拡散の効果

Zwanzig モデルは配位子の逃散速度に対する理論で、溶媒からの再結合に対してはそのままでは成立しない<sup>24</sup>。逃散速度は一对の配位子とタンパクが関与しているが溶媒からの再結合速度は溶媒中の配位分子の濃度に依存することから、バルクの配位子分子が関与した反応である。これらの違いは、逃散速度で観測された 0.5 に近い溶媒粘度依存性の逆ベキは、溶媒からの再結合に対しては観測されない事を示唆している。実際、ヘムエリトリンというタンパクでは逃散速度の粘度依存性は -0.5 に近いベキであるのにもかかわらず、溶媒からの再結合速度のベキはクラマースの理論に近い逆ベキ依存性を示している<sup>7</sup>。この事を理論的に少し掘り下げて研究してみることにする。配位分子がタンパク質中で結合するためには、タンパクの内部へ入っていかなければならない。配位子の結合は、溶媒中での拡散とそれに引き続く反応を必要とする。溶媒中で拡散係数  $D_t$  で拡散していた配位子は結合部位にボトルネックを通過して侵入する。溶媒中での拡散係数  $D_t$  は溶媒の粘度に反比例する。ここで、タンパクは巨大分子でボトルネックは半径  $R$  の表面に等方的に存在すると仮定する。並進拡散は等方的であり、この表面に配位子が到達すると反応が起こるとする。このようにして、以下のフォッカープランク方程式を得る、

$$\frac{\partial}{\partial t} \rho = D_t \frac{1}{r^2} \frac{\partial}{\partial r} r^2 \frac{\partial}{\partial r} \rho + D_f \frac{\partial}{\partial y} \left( \frac{\partial}{\partial y} + \frac{y}{k_B T} \right) \rho - \frac{k y^2 \delta(r - R)}{4\pi R^2} \rho, \quad (2.1)$$

ここで、完全反射の境界条件が  $r = R$  で課されている；  $\partial \rho(R, y, t) / \partial r = 0$ 。無次元量および新しい変数

$$\tau = \frac{D_f}{k_B T} t, \quad D_r = \frac{D_t}{D_f} k_B T, \quad \varepsilon = \frac{k(k_B T)^2}{D_f}, \quad q = \frac{y}{\sqrt{k_B T}}, \quad (2.2)$$

$$x = r - R \quad \rho = \frac{\sigma}{r}.$$

を導入して Eq. (2.1) を書き換える、

$$\frac{\partial}{\partial \tau} \sigma = D_r \frac{\partial^2}{\partial x^2} \sigma + \frac{\partial}{\partial q} \left( \frac{\partial}{\partial q} + q \right) \sigma - \frac{\varepsilon q^2}{4\pi R^2} \delta(x) \sigma. \quad (2.3)$$

時間変化する反応速度は以下で定義される<sup>25</sup>

$$K(\tau) = \int dq \varepsilon q^2 \rho(R, q, \tau) = \int dq \varepsilon q^2 \frac{\sigma(0, q, \tau)}{R}. \quad (2.4)$$

以下、Eq. (2.3) を解いて反応速度 Eq. (2.4) を求めることにする。このために、北原達によって導入された空間についてのラプラス変換を用いる<sup>26</sup>

$$\hat{\sigma}(k, q, \tau) = \int_0^\infty dx \exp(-ikx) \sigma(x, q, \tau). \quad (2.5)$$

その結果  $\sigma(0, q, \tau)$  について閉じた式、

$$\begin{aligned} \sigma(0, q, \tau) = & \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \exp\left(-\frac{q^2}{2}\right) \left(2\sqrt{\frac{D_r \tau}{\pi}} + R\right) \\ & - \int_0^\tau d\tau' \int dq' \frac{1}{\sqrt{\pi D_r (\tau - \tau')}} G(q, q', \tau - \tau') \frac{D_r}{R} \left(1 + \frac{R}{D_r} \frac{\varepsilon q'^2}{4\pi R^2}\right) \sigma(0, q', \tau'), \end{aligned} \quad (2.6)$$

を得ることができる。ここで、初期条件は反応がない場合のフォッカープランク方程式の定常分布に取られている、

$$\sigma(x, q, 0) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \exp\left(-\frac{q^2}{2}\right) (x + R), \quad (2.7)$$

*i.e.* 配位子は溶媒中で飽和状態にあるので溶媒中で一様に分布しており、ボトルネックの揺らぎはガウス分布に従っているとする。さらに、エルミート多項式を用いて固有関数展開、

$$\tilde{\sigma}(0, q, s) = \sum_{n=0}^{\infty} d_n(s) \frac{1}{\sqrt{\sqrt{2\pi} 2^n n!}} H_n\left(\frac{q}{\sqrt{2}}\right) \exp\left(-\frac{q^2}{2}\right), \quad (2.8)$$

すると、3項間関係式を得るので連分数展開の形に反応速度のラプラス変換

$\tilde{K}(s) \equiv \int_0^\infty \exp(-st) K(\tau)$  を表すことができる<sup>24</sup>、

$$\tilde{K}(s) = \frac{1}{s \frac{1}{\varepsilon(1-\alpha)} + \frac{1}{k_D \frac{1}{1 + R\sqrt{s/D_r}}}}, \quad (2.9)$$

ここで

$$\alpha = \frac{\varepsilon}{k_D} \frac{1}{B_1 - \frac{A_2}{B_2 - \frac{A_3}{B_3 - \dots}}}, \quad (2.10)$$

ただし

$$A_n = \frac{1}{4} \frac{2n(2n-1)(s+2)}{\sqrt{(s+2n)(s+2n-2)}} \left( \frac{\varepsilon}{k_D} \right)^2, \quad (2.11)$$

$$B_n = \frac{R}{2} \sqrt{\frac{s+2}{D_r}} + \frac{1}{2} \sqrt{\frac{s+2}{s+2n}} \left( 1 + \frac{\varepsilon}{k_D} (4n+1) \right). \quad (2.12)$$

$k_D \equiv 4\pi R D_r$  は拡散律速反応の拡散による反応速度を与える。 $A_n/(B_{n-1}B_n)$  は常に  $1/4$  より小さいのでこの連分数解は  $s \rightarrow 0$  の極限で収束する。もともとの Zwanzig モデルに対しても同様の連分数解が存在する<sup>27</sup>。最低次の近似では、 $\alpha = 0$  となり、ゆらぎで平均した

$$\varepsilon = \int dq \varepsilon q^2 \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \exp\left(-\frac{q^2}{2}\right). \quad (2.13)$$

で反応速度は決まる。つまり、ボトルネックのゆらぎが速い場合に対応する。連分数の収束は速く、どのようなパラメーターでも5項もとれば十分であった。反応速度に対する溶媒中での拡散の効果のうち  $k_D$  を通した依存性はクラマースの理論による逆ベキを与える。反応速度に対する溶媒中での拡散の効果のうち分数ベキに関係するのは  $D_r/R^2$  を通しての依存性なので  $k_D$  は固定しておく。定常反応速度は  $\tilde{K}(s) * s$  の  $s \rightarrow 0$  の極限での値である。並進拡散が遅い極限では、 $D_r/R^2 \rightarrow 0$ , であり、 $B_n \sim R\sqrt{(s+2)/D_r}/2$  そして  $\alpha \sim 0$  となる。これは、反応速度の最低次の近似であり  $D_r/R^2$  とは独立である。反対に速い並進拡散の極限、 $D_r/R^2 \rightarrow \infty$  では  $B_n$  は  $D_r/R^2$  と独立となり反応速度は  $D_r/R^2 \gg 2$  の条件では  $D_r/R^2$  に依存しない。連分数を数値的に評価した結果は Fig. 2 に示す。この図は  $K_s/\varepsilon$  が  $\varepsilon$  に対してプロットされているが反応速度の溶媒粘度依存性と同じ意味を持つ。どのような拡散係数の大きさであっても反応速度の分数ベキ依存性は見られないことが見て取れる。溶媒中での並進拡散が小さいときには、速いボトルネックのゆらぎにより平均化された流れにより反応が進行する。この場合には溶媒の分数ベキがでない。他方、並進拡散が速い場合は自明ではない。しかし、初期に配位子が空間で一様に分布しているために、一様な到達時間でボトルネックに到着しその結果、やはり平均化された流れから大きくずれる事はないと考えられる。ボトルネックの附近の濃度勾配により反応に関与されている流れが作られているので、並進拡散が大きい極限でも Zwanzig モデルに帰着する必要はない。並進拡散の大きさによらず、溶媒からの再結合速度では分数ベキは見られない。



### 3. まとめ

反応速度の溶媒粘度依存性が古典的なクラマースの理論の帰結である逆ベキから大きくずれる現象を考察した。反応速度の溶媒粘度依存性にたいするクラマースの理論の破れは他にも溶媒中のスチルベンの異性化反応で知られておりこれに対しては住-マーカス理論が提案されていることをここで記しておく<sup>28</sup>。ここでは、タンパク分子への配位分子の再結合速度に話題を限定し、これに対して提案されている Zwanzig モデルやその拡張された理論について概説した。前節まででは、反応速度の溶媒粘度依存性の $-0.5$  のベキは実験により確立されている印象を与えるが、実は話しはそれほど単純ではない。拡散律速では速度定数は摩擦項に反比例するが、摩擦項を溶媒粘度に比例する項と依存しない項の和として解析するとミオグロビンの一酸化炭素の再結合反応では、分数ベキを必要としなくなる<sup>22</sup>。溶媒粘度に依存しない摩擦項は、タンパク内部の摩擦による。又、溶媒の粘度を大きく変化させるために、グリセロールと水の混合溶媒等が用いられているが、同じ粘度でも溶媒の種類を変えると異なる反応定数を与え、また、温度変化させると溶媒や活性化因子の温度変化だけでは結果が説明できないという問題が指摘されている<sup>29</sup>。溶媒の混合比を変化させると、溶媒の粘度のみならずタンパク表面での界面張力等他の因子を変化させ、粘度が反応速度を変化させる唯一の物理的因子とはなっていない可能性がある。ヘム鉄の運動に対するメスバウアー分光の結果でも、ヘム鉄の運動は溶媒に強く依存し巨視的な溶媒粘度だけがタンパクの揺らぎを支配しているのではないことを示している<sup>30</sup>。この様に、実験面からも反応定数の溶媒粘度依存性の分数ベキは検証されたとは言いがたく、従って、その理論的解釈としての Zwanzig モデルについても確立されたわけではない。Zwanzig モデルは、幾何学的なボトルネックで反応が律速されている場合には、必ずしもタンパクへの配位分子の再結合反応でなくても成り立つと考えられる。そのために、様々な応用も期待される。

## REFERENCES

- \*. E-mail: seki@nimc.go.jp.
1. H. A. Kramers, *Physica* 7 (1940) 284.
  2. G. Maneke, J. Schroeder, J. Troe and F. Voss, *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* **89** (1985) 896.
  3. D. Beece, L. Eisenstein, H. Frauenfelder, D. Good, M. C. Marden, L. Reinisch, A. H. Reynolds, L. B. Sorensen and K. T. Yue, *Biochemistry* **19**, 5147 (1980).
  4. T. Kleinert, W. Doster, H. Leyser, W. Petry, V. Schwarz and M. Settles, *Biochemistry* **37**, 717 (1998).
  5. R. J. Steinbach, A. Ansari, J. Berendzen, D. Braunstein, K. Chu, B. R. Cowen, D. Ehrenstein, H. Frauenfelder, J. B. Johnson, D. C. Lamb, S. Luck, J. R. Mourant, G. U. Nienhaus, P. Ormos, R. Philipp, A. Xie and R. D. Young, *Biochemistry* **30**, 3988 (1991).
  6. D. Beece, S. F. Bowne, J. Czégé, L. Eisenstein, H. Frauenfelder, D. Good, M. C. Marden, J. Marque, P. Ormos, L. Reinisch and K. T. Yue, *Photochemistry and Photobiology* **33**, 517 (1981).
  7. D. Lavalette and C. Tetreau, *Eur. J. Biochem.* **177**, 97 (1988).
  8. N. Alberding, R. H. Austin, S. S. Chan, L. Eisenstein, H. Frauenfelder, D. Good, I. C. Gunsalus, T. M. Nordlund, M. F. Perutz, A. H. Reynolds and L. B. Sorensen, *Biochemistry* **17**, 43 (1978a); T. Takano, *J. Mol. Biol.* **110**, 569 (1977); S. E. Phillips, *Nature* **273**, 247 (1978).
  9. H. Frauenfelder, G. Ulrich Nienhaus and J. B. Johnson *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* **95**, 272 (1991).
  10. G. U. Nienhaus, J. R. Mourant and H. Frauenfelder, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **89**,

- 2902 (1992).
11. T. Iizuka, H. Yamamoto, M. Kotani and T. Yonetani, *Biochim. Biophys. Acta* **371** 1715 (1974).
  12. N. Agmon and J. J. Hopfield, *J. Chem. Phys.* **78**, 6947 (1983).
  13. R. Zwanzig, *J. Chem. Phys.* **97**, 3587 (1992).
  14. N. Eizenberg and J. Klafter, *Chem. Phys. Lett.* **243**, 9 (1995).
  15. A. M. Berezhkovskii, Yu. A. D'yakov, J. Klafter and V. Yu. Zitserman, *Chem. Phys. Lett.* **287**, 442 (1998).
  16. N. Eizenberg and J. Klafter, *J. Chem. Phys.* **104**, 6796 (1996).
  17. N. Eizenberg and J. Klafter, *Physica A* **249**, 424 (1998).
  18. J. Wang and P. G. Wolynes, *Chem. Phys. Lett.* **212** 427 (1993); J. Wang and P. G. Wolynes, *Chem. Phys.* **180** 141 (1994).
  19. D. J. Bicout and A. Szabo, *J. Chem. Phys.* **108**, 5491 (1998).
  20. この節の詳細は以下の論文に書かれている。  
A. V. Barzykin, K. Seki and M. Tachiya, submitted for the publication in *J. Colloid Interface Sci.*
  21. G. H. Weiss, *J. Chem. Phys.* **80**, 2880 (1981).
  22. A. Ansari, C. M. Jones, E. R. Henry, J. Hofrichter and W. A. Eaton, *Science* **256**, 1796 (1992); A. Ansari, C. M. Jones, E. R. Henry, J. Hofrichter and W. A. Eaton, *Biochemistry* **33**, 5128 (1994).
  23. L. Onsager and S. Machlup, *Phys. Rev.* **91**, 1505 (1953); N. Hashitsume, *Prog. Theor. Phys.* **8**, 461 (1952); R. Graham, *Z. Phys. B* **26**, 281 (1977); R. Graham, *Z. Phys. B* **26**, 397 (1977); K. L. C. Hunt and J. Ross *J. Chem. Phys.* **75**, 976 (1981); P. Hänggi, *Z.*

- Phys. B **75**, 275, 1989; N. Hashitsume, M. Mori and T. Takahashi, J. Phys. Soc. Japan **55**, 1887 (1986).
24. K. Seki and M. Tachiya, submitted.
25. S. A. Rice, *Diffusion-Limited Reactions*, in *Comprehensive Chemical Kinetics*, edited by C. H. Bamford, C. F. H. Tipper, and R. G. Compton (Elsevier, Amsterdam, 1985), Vol. 25; and references cited therein.
26. K. Kitahara, "分子磁性", ed. K. Ito (学会出版センター, 1996) p. 281 (in Japanese). K. Kitahara, K. Mori and U. M. Titulaer, J. Mol. Liq. in press.
27. K. Seki, A. V. Barzykin and M. Tachiya, J. Chem. Phys. **110**, 7639 (1999).
28. H. Sumi and R. A. Marcus, J. Chem. Phys. **84**, 4894 (1986).
29. S. Yadgar, C. Tatreau, B. Gavish and D. Lavalette, Biophys. J. **68**, 665 (1995);
30. H. Lichtenegger, W. Doster, T. Kleinert, A. Birk, B. Sepiol and G. Vogl, Biophys. J. **76**, 414 (1999).

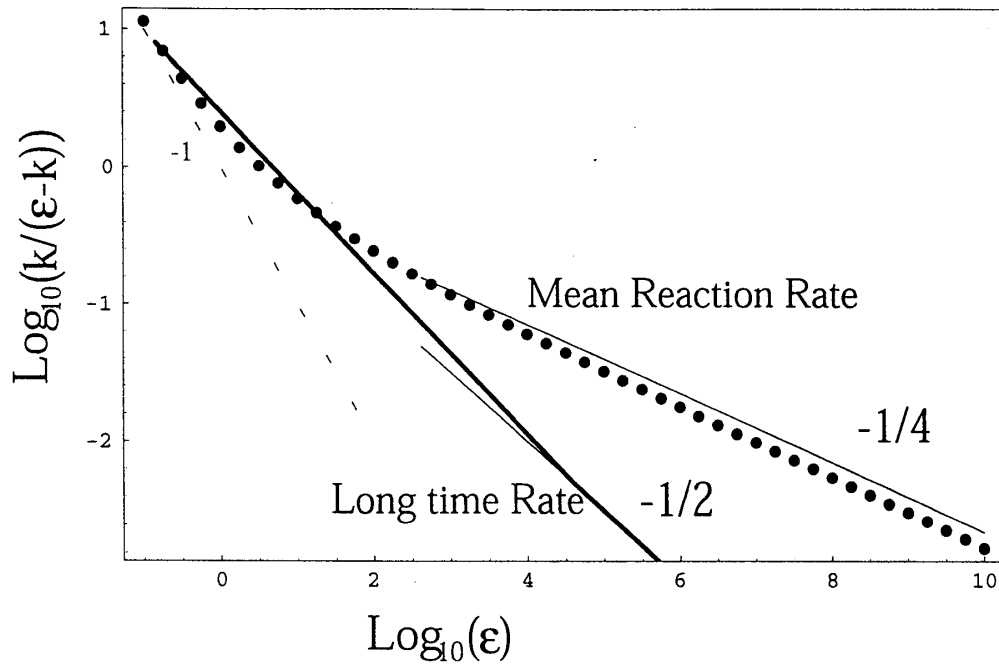


Fig. 1: Zwanzig モデルで反応速度  $K/(\epsilon - K)$  を  $\epsilon$  に対してプロットした。これは、反応速度を溶媒粘度に対してプロットしたこととほぼ同等である。反応速度としては平均反応速度と長時間反応速度を取り両者を比較している。

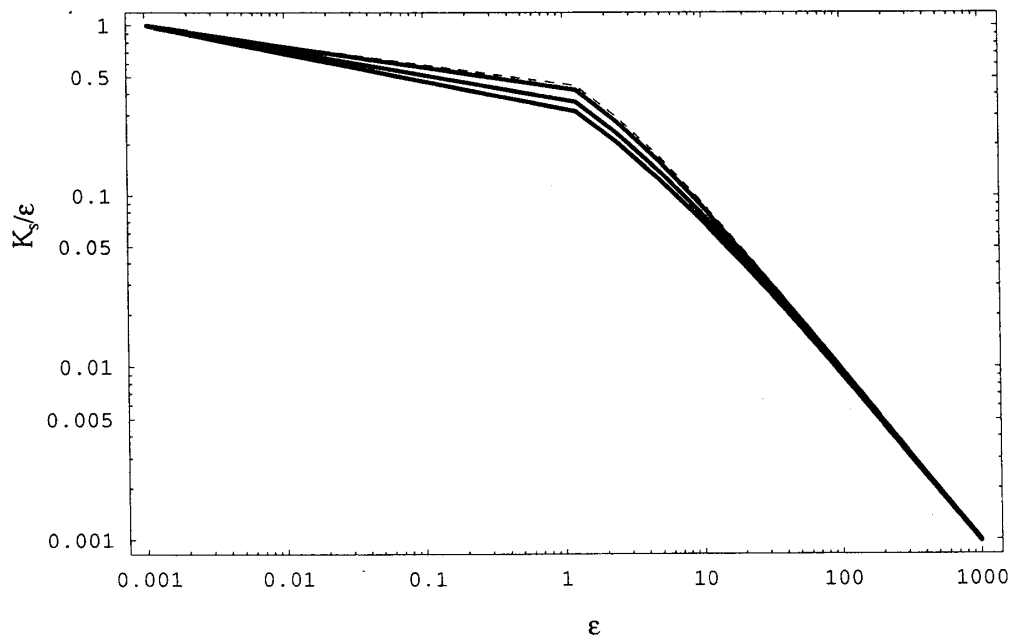


Fig. 2:  $K_s/\epsilon$  を  $\epsilon$  に対してプロットした。反応速度を溶媒の粘度に対してプロットしたことと同等である。 $k_D$  の値は固定されている、 $k_D = 1$ 。ダッシュの線は最低次の近似で  $\alpha = 0$ 。線は、上から順に  $D_r/R^2 = 0.01$ ,  $D_r/R^2 = 1$  そして  $D_r/R^2 = 100$ 。