

酵素反応論と化学反応論の現状と問題点

京大基研 垣谷俊昭

(1月11日受理)

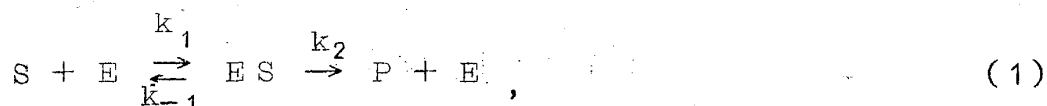
§1 はじめに

酵素は触媒作用をもつ蛋白質である。酵素が無機触媒と区別される最も大きな特徴は、反応特異性と非常に大きな触媒能である。近年、数種類の酵素の立体構造がX線により明らかにされた。昔生体の神秘の一つと目されていた酵素反応のからくりを、今我々は少しずつ読み取っている。しかし事態はあまり楽観的でない。何故なら、我々は酵素の一つの素顔を見たにすぎない。触媒作用を行っているときの動的な様子をまだとらえていない。すべての化学反応及び酵素反応の研究の一つの最終目標は、いくつかの原子団が近づいたとき、各原子が時間と共にどのように位置をかえ、結合の組みかえを行うかを統一的に記述することであろう。酵素の研究に於て、微視的アプローチがはじまったばかりで、このような最終目標を現在望むべくもないが、研究する指針としてはっきりさせておくべきであろう。この解説では、§2で酵素を特徴づける2, 3の例を説明し、§3で酵素の機能についてのいくつかのモデルを紹介する。このモデルの中では、原子又は電子の動的ふるまいに関して述べたものが物理的にみて興味あり、又酵素研究においても重要であることがわかるだろうと思う。§4では酵素に対してモデル分子を使った研究を紹介する。現在、酵素反応は高級な化学反応の一種であることが疑い得ない。そこで§5で、化学反応論の概要をのべ、研究の成果と克服されなければならない問題点をのべる。§6～§8では化学反応論に対する新しい試みをのべ、将来の展望を考えてみる。個々の酵素反応の詳細については綜説^{1)～4)}又は成書を参照されたい。

§2 酵素反応を特徴づける2, 3の例

標題の説明に入るまえに、Michaelis と Menten の速度式についてのべておく。Michaelis と Menten は、酵素はまず基質と結合して、基質一

酵素複合体を作り、それから反応が進んで生成物と酵素にわかれるのだらうと⁵⁾考えた。式で表わすと次のようになる。



ここで、S, E, ES, P はそれぞれ、基質、酵素、基質 - 酵素複合体である。基質 - 酵素複合体の濃度が定常状態にあると仮定して、生成物濃度増加の初速度を計算すると、(2) 式が得られる。

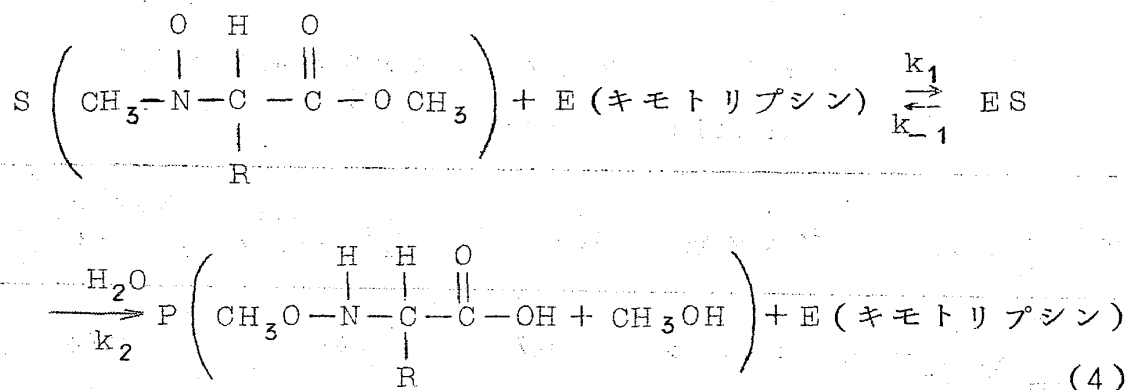
$$v_0 = \frac{k_2 [E]_0}{1 + K_M / [S]}, \quad (2)$$

$$K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}, \quad (3)$$

ここで $[E]_0$, $[S]$ はそれぞれ酵素の初期濃度、基質濃度である。 K_M は Michaelis 定数といわれ、 $k_{-1} \gg k_2$ のとき基質 - 酵素複合体の解離定数に等しくなる。酵素の種類によっては、反応中間体ができる場合があり、(1) 式及び (2) 式より複雑になるが、多くの場合、(1) 式は速度論的に酵素のよいモデルであることが認められている。Michaelis と Menten のモデルに従えば、基質が酵素と結合してから反応が進むので、基質特異性と反応特異性があるのはむしろ当然である。どの程度特異性をもっているのかを次に見て行こう。

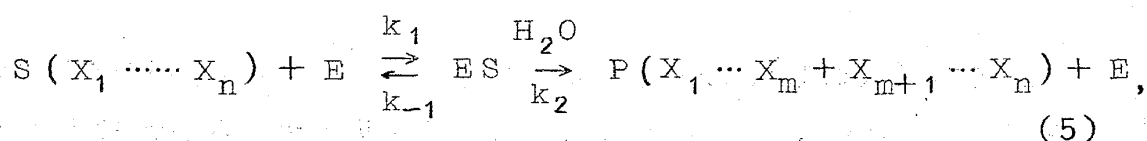
(i) 基質特異性

キモトリプシンは、側鎖に芳香環をもったアミノ酸のエステルまたはアミンの選択的加水分解を触媒する。(4) 式はキモトリプシンによる N - アセチル - L - アミノ酸エステルの加水分解反応である。



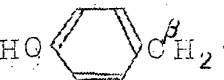
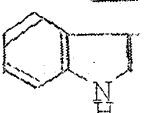
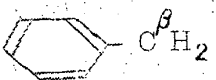
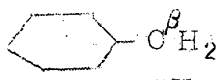
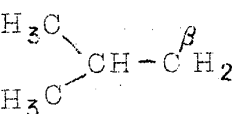
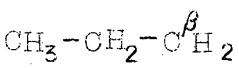
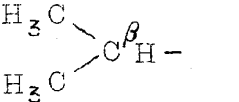
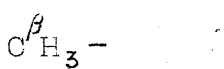
ここで R は基質アミノ酸側鎖を表わす。第 I 表にこの反応の kinetic constant K_M , k_2 , k_2/K_M の値を示す。⁶⁾ k_2/K_M は基質濃度が小さいときの二次反応速度定数になる。第 I 表において、1~3 はキモトリプシンのよい基質であるが、いずれも側鎖の β -置換体として芳香環をもっている。また 8~10 の基質のように β -炭素に結合している基が小さいものは、酵素と結合が弱いことから、 β -炭素に大きな疎水性基が結合していることが基質の結合条件として必要であることがわかる。一方 5 の $\beta\beta'$ -ジメチルチロシンエステルが加水されないということ、また 8 のバリンエステルが基質として 6 のロイシンエステル、7 のノルバリンエステルに劣っていることから、 β -炭素はメチレン ($-\text{CH}_2-$) であることが基質の反応条件として必要のように見える。以上のことから、キモトリプシンの結合部位は、 β -メチレンがちょうど当てはまる狭い頸部をもった疎水性の割れ目で、反応部位に隣接して存在していることが推察されている。

次にリゾチームによる N-アセチルグルコサミン・オリゴサッカライドの分解反応を考える。



ここで X_i は N-アセチルグルコサミンである。第 II 表に $[S]$ を 10^{-4} M にしたときのオリゴマーの分解反応速度を示す。⁷⁾ 表にみられるように、サッカライドの長さが長くなると急激に反応速度が大きくなる。これはサッカライドの長さが長い方が結合エネルギーが大きいためであろうと考えられている。詳しい解析は筆者等が現在行っている。基質と酵素の結合に関しては、リゾチ

第 I 表 N-アセチル-L-アミノ酸エステルの加水分解に
 6) における kinetic constant の値

基質アミノ酸側鎖	アミノ酸	K_M (mM)	k_2 (sec ⁻¹)	k_2/K_M (sec ⁻¹ mM ⁻¹)
1 	チロシン	0.7	193	276
2 	トリプトファン	0.1	51	510
3 	フェニルアラニン	1.2	53	44
4 	p-シクロヘキシルアラニン	0.2	14	70
5 	$\beta\beta'$ -ジメチルチロシン		水解されない	
6 	ロイシン	3.1	4.4	14
7 	ノルバリン	10.2	2.7	0.26
8 	バリン	112	0.15	0.0014
9 	アラニン	611	1.29	0.0021
10 H-	グリシン	96	0.01	0.0001

ームに於て特にくわしく調べられている。Phillips の X線解析のデータをもとに Chipman, Grisaro, Sharon はリゾチームの結合場所を6つの領域に分割し、その各々での結合エネルギーを算出している。⁸⁾ また、Chipman と Schimmel は T-jump の技術を使って、基質が酵素に結合する速度と解離する速度を測定し、基質の結合におけるダイナミクスを議論している。⁹⁾ これから非常に興味ある知見が得られているか、ここでは割愛する。

第Ⅱ表 N-Acetylglucosamine Oligosaccharide
の加水分解速度⁷⁾

Saccharide	Relative rate
Dimer	0.003
Trimer	1.0
Tetramer	8
Pentamer	4000
Hexamer	30000

(Ⅱ) 非常に大きな触媒能

基質の結合については、速度論及び酵素-基質複合体の分子モデルから、割合容易に解析ができる。しかし反応速度に関しては、反応のダイナミクスが絡んでいるので、むずかしい問題がある。この章では実験的に得られた数値を記すのに止め、理論的な話は § 3 以後で述べることにする。

第Ⅲ表に四種の酵素反応の例を示す。¹⁰⁾ V_0 , V_E はそれぞれ、水溶液中における反応速度、酵素反応速度である。 V_E/V_0 は触媒能を表わし、ほぼ 10^{10} の値をもつことがわかる。もちろんこの値は、酵素及び基質の濃度に依存することに注意する必要がある。

§ 3 酵素の大きな触媒能を説明するためのいくつかの仮説

(Ⅰ) 近接効果説

2 分子反応を考える。水溶液中の基質の濃度は一般に溶解度の制限から 1 M 以下である。従って 2 種の基質が反応できる程近くに在るものの割合は非常に小さい。それに比し、酵素反応では、酵素が 2 種の基質を結合し、それらを十分近くに位置させ、反応をおこす機会を多くさせていると考えられる。このモデルは Koshland によって提案され、¹¹⁾ 近接効果説といわれている。その模型を 1 図に示す。今 2 種の基質が近接しさえすれば、水溶液中と酵素上で同じ速度で反応すると仮定し、酵素の触媒能を計算すると (6) 式になる。

第Ⅲ表 4種類の酵素反応の触媒能¹⁰⁾

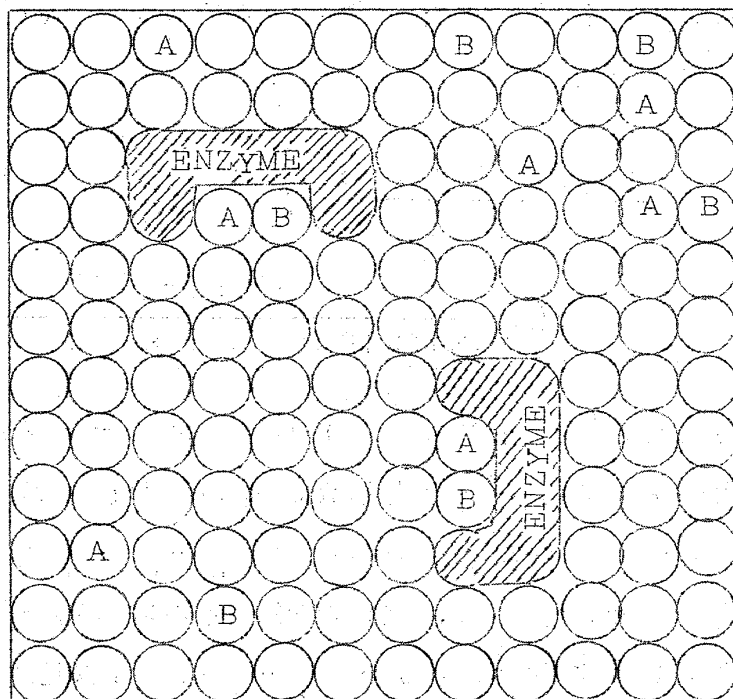
enzyme	substrate and concentration	[E] equiv/ ℓ	observed V_0 (moles/ ℓ)/min			calculated from Eq.(6) V_E/V_0
1. Hexokinase	0.0003M Glucose { 0.002M ATP	10^{-7}	$<1 \times 10^{-13}$	1.3×10^{-3}	$>1.3 \times 10^{10}$	0.08
2. Phosphorylase	0.016M Glucose { -51-phosphate 10 M Glycogen	6×10^{-8}	$<5 \times 10^{-15}$	1.6×10^{-3}	$>32 \times 10^{11}$	21
3. Aldole dehydrogenase	0.0004M DPN { 0.04M Ethanol	4×10^{-7}	$<6 \times 10^{-12}$	2.7×10^{-3}	$>4.5 \times 10^8$	0.11
4. Creatine kinase	0.024M Creatine { 0.004M ATP	3×10^{-9}	$<3 \times 10^{-9}$	4×10^{-5}	$>1.3 \times 10^4$	1.7×10^{-3}

$$\frac{V_E}{V_0} = \frac{[E] 55.5}{[A][B] 12} \quad (6)$$

この計算において、基質の濃度が高くて酵素は必ず基質と結合していると仮定した。また、2種の基質の大きさは水分子の大きさに等しくとてある。 $[E]$ 、 $[A]$ 、 $[B]$ はそれぞれ酵素、基質A、基質Bの濃度である。

55.5 は水1リットルのモル数、12 は水1分子のまわりの配位数である。

(6) 式に従って計算した触媒能を第Ⅲ表の最後



1 図 1 リットルの水分子中で、酵素表面上で反応する2つの分子の模式図。¹¹⁾

の列に示した。理論値は予想外に小さくなった。この理由は、酵素の活性場所で二種の基質が接する機会は非常に大きい、活性場所の濃度そのものか非常に小さいためである。(6) 式から、近接効果は酵素濃度が高く、基質濃度が低いときに大きな寄与をすることがわかる。しかし計算の仮定から、ほとんどの酵素が基質と結合する程に基質濃度の高いことが必要である。

(Ⅱ) オリエンテーションの効果

近接効果では、酵素はただ基質を結合する役目しかもたないと仮定したが、実際の酵素の活性場所には反応を助ける反応基がうまく位置に配している。そこで、ここでは活性基の位置及び向き¹¹⁾の効果を考える。これも Koshland により提案され、オリエンテーションの効果と言われている。酵素の活性基が3つあるとし、それらを R, S, T とする。オリエンテーションの効果を純粋にひき出すために、R, S, T の働きは水の分子が都合の良い方向をむ

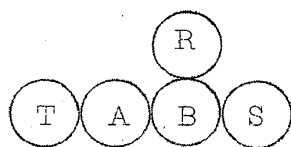
いたときに成す働きと同じであるとする。反応が進むために必要な基質と活性基の許される位置と方向を2図に示す。(i)の場合と同様にして触媒能を計算すると

$$\frac{V_E}{V_0} = \left(\frac{[E] 55.5}{[A] [B] 12} \right) \times \left(\frac{(4\pi)^4}{11 \times 11 \times 10 \times f_{AB} \times f_{BR} \times f_{BS} \times f_{AT} \times \Omega_B \times \Omega_R \times \Omega_S \times \Omega_T} \right) \quad (7)$$

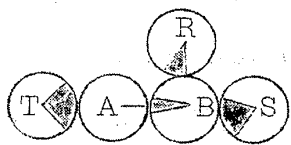
が得られる。第2の()がオリエンテーション効果である。ここで11は活性基の形がまるいとしたときのT及びSの取り得る位置の数, 10はRの取り得る位置の数である。 $f_{AB}, \dots, f_{AT}$ は活性基が3図に示されるようにまるくないときに, 立体障害のため取り得る位置の数が減少することを表わす項で1より小さい。 $\Omega_B, \dots, \Omega_T$ は反応するために許される分子の動く

2図 水中で分子が取り得るいくつもの配置と方向を示した図(すべての分子の大きさは水分子と同じとした)。

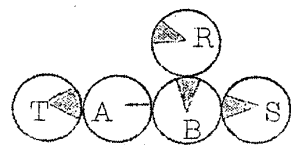
(a)



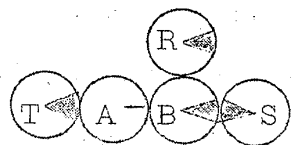
(b)



(c)

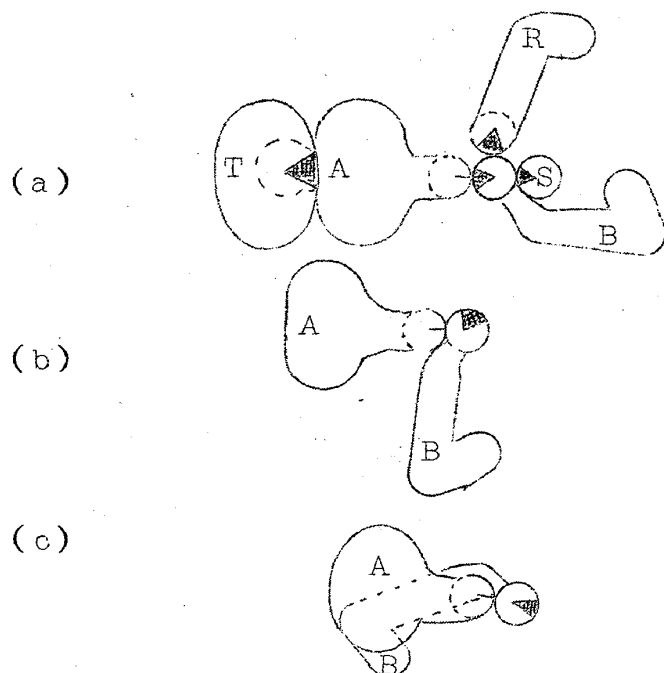


(d)



- (a) 水の格子中で, 反応するために A, B, R, S, T の取り得る配置図。分子の方向については書いていない。
- (b) A, B, R, S, T の配置図。反応をおこすための良い方向について書かれている。すなわち A と接する B の部分は黒いくさび形の部分でなければならない。また, B と接する S はそのくさび形の部分が水平に向いていなければならない。その他についても同様である。

(a) と (b): A, B, R, S, T がうまい方向を向いていないために反応しない例。



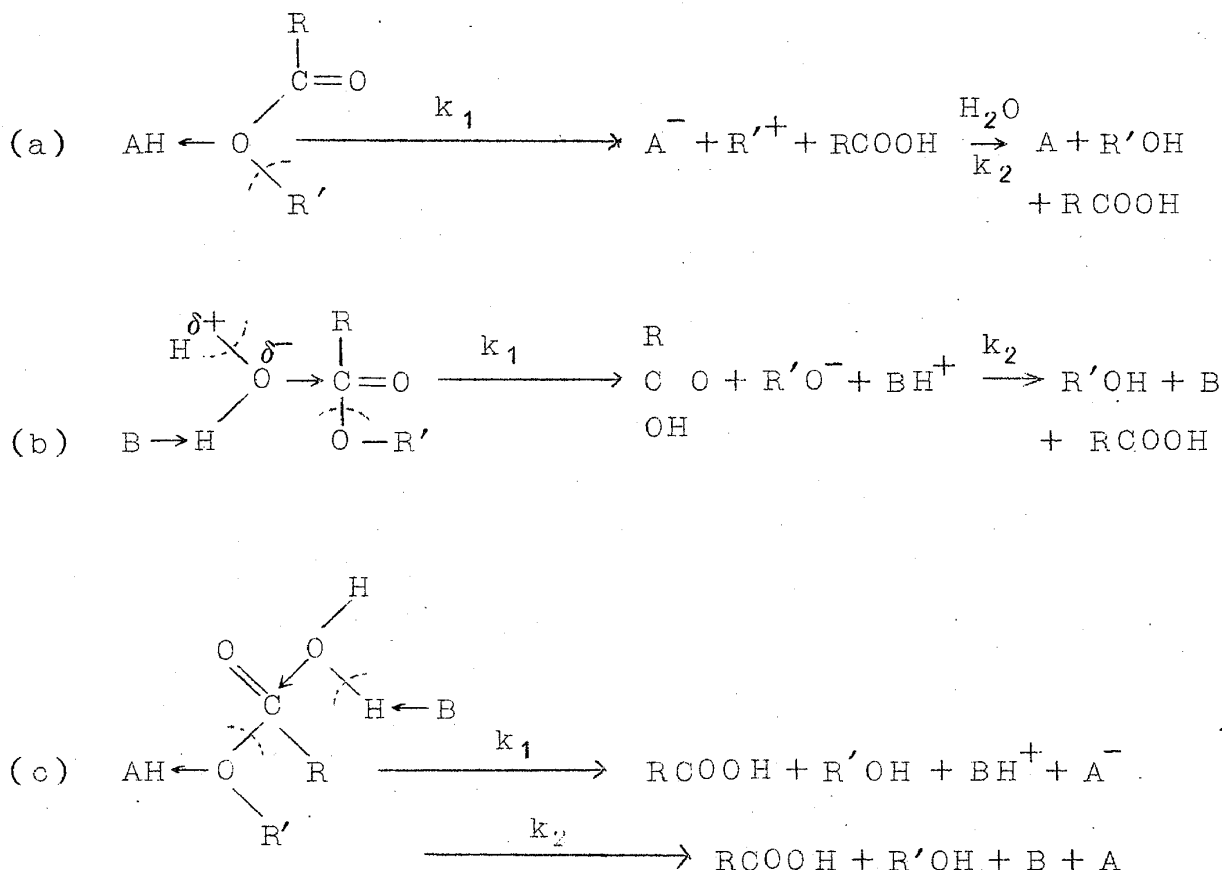
3 図 水中で分子が取り得るいくつかの配置と方向の図¹¹⁾ (分子の大きさは水分子と必ずしも同じでないとした)。

- (a) A, B, R, S, T が反応できるときの図。
- (b) B の方向が悪いために反応できない図。
- (c) 立体障害のため実際の配置が不可能な図。

(iii) 酸-塩基触媒

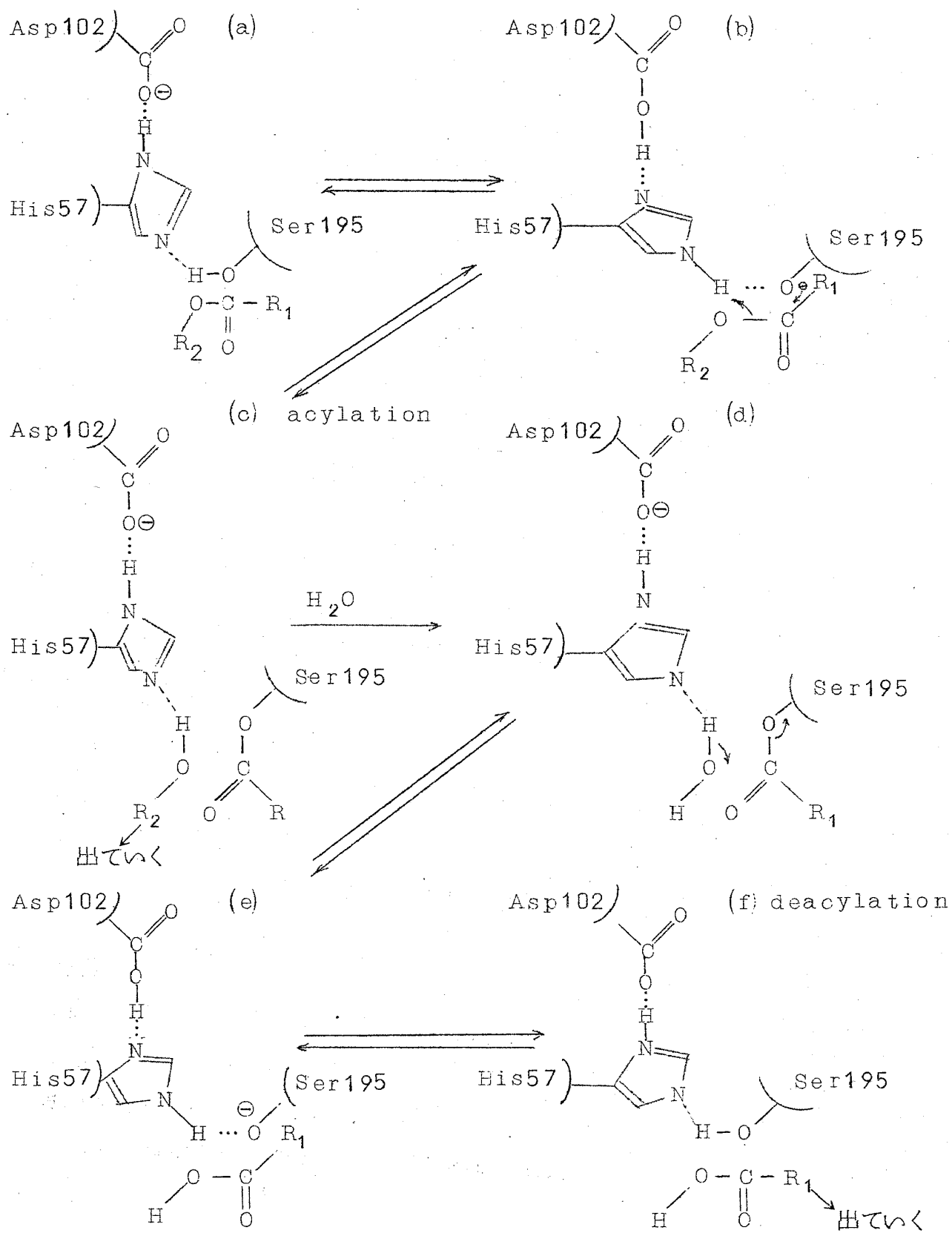
酵素を基質で飽和したときの反応の初速度 v_m を pH をかえて測定すると、 v_m の pH 依存性は、ある酵素ではシグモイドの曲線になり、また、ある酵素ではベル型の曲線になる。このことから、酸触媒、塩基触媒の機構が酵素反応で利用されている可能性がある。酸触媒の機構は 4 図 (a) に示されるように、カルボキシル基の酸素が触媒の酸 AH からプロトンを奪い、同時にアルキル基 R' を放つ。一般塩基触媒の機構は 4 図 (b) に示されるように、エステルに水が攻撃する前に、触媒の塩基が水からプロトンを奪う。水は水酸イオンに変えられると同時にエステルを攻撃する。これら酸-塩基触媒の効果は有機化学反応の一分野としてくわしく調べられている。普通この効果の触媒能に対する寄与は 20 ~ 30 ぐらいである。Swain と Brown は酸と塩基が同時に触媒するとき、各々が独立に触媒するより大きい触媒能をもつだろうという仮定を提案した。¹²⁾ これは協奏反応の仮説あるいはプッシュユ・

立体角である。 $f_{AB} = 1/12$, $f_{BS} = f_{AT} = 1/11$, $f_{BS} = 1/10$, $\Omega_B = \Omega_R = \Omega_S = \Omega_T = 4\pi/10$ とすれば、オリエンテーション効果だけで 10^4 になる。酵素が反応を有利に触媒するために、活性基をうまい位置に配して基質を反応経路にそってたくみに導いているとすれば、 Ω_i は非常に小さくなり、オリエンテーション効果は大きくなる。従って、実際の反応における Ω や f の値を求める実験が望まれる。



4 図 エステルの酸触媒反応，塩基触媒反応，酸-塩基協奏触媒反応。

プルの仮説と言われている。その反応機構は。4 図 (c) に示されているように、塩基 B から H, O, C, O を経て酸 AH に電子が伝達されている。このような電子の流れの経路が長い程電子を移すことが容易になり、反応がおこりやすくなる理由を明らかにすることが現在必要である。また、電子の流れる経路及びそのまわりにどのような原子が並んでいれば、反応が速く進むかを調べることも重要である。これは非常に興味ある問題点なのだが、理論的な研究がほとんどなされていない。一方、実際の酵素の活性場所には、酸性のアミノ酸残基と塩基性のアミノ酸残基が、基質をはさんで配置していることが多い。例えば、リゾチームではグルタミン酸及びアスパラギン酸が、キモトリプシンではセリン及びヒスチジンが、リボヌクレアーゼ A では 2 つのヒスチジンが活性場所に配置している。そして 2 つのアミノ酸残基は蛋白質の環境の中で酸性及び塩基性になっていると考えられている。このことから酵素反応は酸



13)

5 図 キモトリプシンのチャージ・リレイ・モデルによる反応機構の図。

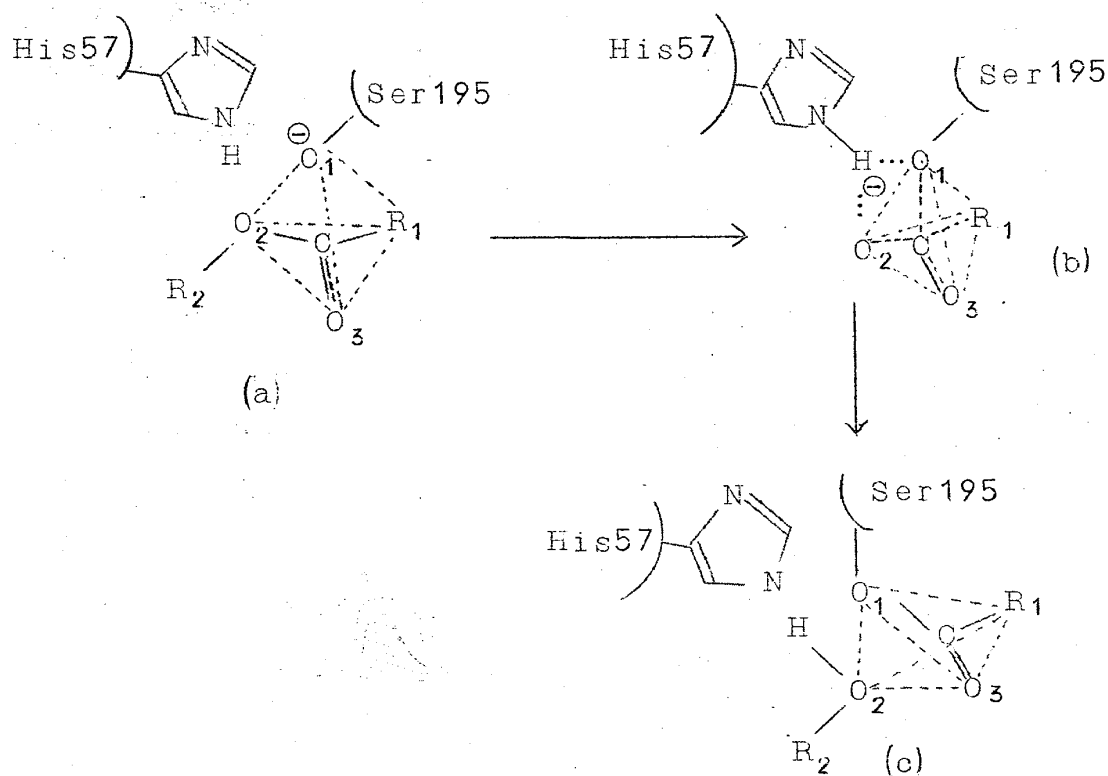
一塩基の協奏反応のようにになっている可能性がある。この効果が酵素においてどれくらいであるのかについて定量化されていない。

キモトリプシンの反応機構に関して、Blow 等は興味ある仮説を出している。¹³⁾ 5 図にキモトリプシンの活性基を 3 つ選び出して、基質 $R_1-CO-O-R_2$ と共に反応機構を図示した。 R_1 , R_2 は (4) 式における反応では、それぞれ $-CRH-NH-OCH_3$, $-CH_3$ である。従って酵素と結合するアミノ酸残基は R_1 に含まれている。5 図 (a) において、セリン 195 の O は水素と結合していると基質の C を攻撃することができないので、(a) の状態は反応に不活性である。ところが、アスパラギン 102, ヒスチジン 57, セリン 195 の間に水素結合の鎖が存在するので、容易に (b) の状態に達することができる。(b) ではセリン 195 の O が負の電荷をもつので、基質を攻撃し、(c) の状態に移る。(c) に於てアシレイションが完了し、アルコールが出て行く。次に水が侵入してきて、(d) の状態になる。今度は (b) と逆の過程が利用され、アシル・セリンの加水分解がおこなわれる。(e) または (f) においてデアシレイションが完了する。Blow のこのモデルはチャージ・リレイ・システムと言われる。チャージ・リレイ・システムは反応を容易にさせるだけでなく、生成物を酵素から離すのにも役立っているのであろう。すなわち、もしアスパラギン 102 がなければ、(c) において、負の電荷はヒスチジンのイミダゾールにたまっていて、生成物のアルコールをひきとめるだろう。また (e) に於てセリン 195 に負の電荷が残っていれば、第二の生成物の酸が出て行きにくく、(f) のように負の電荷をアスパラギン 102 に移したとき、酸は出て行きやすくなるのではないだろうか。このモデルは現象的には、長くつながった水素結合の鎖の中で、プロトンが協同運動しており、それが反応のプロセスとうまい位相でかみ合って、酵素の触媒能を高めている。このエレガントなモデルを理論化することは、一般的に興味あるばかりでなく、酵素反応機構の研究にとって非常に重要である。

(IV) コバレント触媒

酵素は反応の過程で、かなり安定な反応中間体を作ることがある。キモトリプシン, トリプシン, エステラーゼ, スブチリシン, スロンピン, エラス

ターゼは反応中間体としてアシル・セリンを作る。パパイン、フィシン、グリセルアルデヒド-3-フォスフェイト、デヒドロゲナーゼは反応中間体として、アシル・シスチンを作る。このような反応中間体を作ることによって反応が促進されるのかどうかについて、まだよくわかっていない。筆者が考えるに、酵素のアミノ酸残基が反応中間体形成に関与することによって、反応経路における運動の次数（反応に関与する原子の数にほぼ比例する）が増大し、反応中間体を作らないときの遷移状態をさけて、もっと自由エネルギーの低い遷移状態を経由することができるのであろう。例えば、キモトリプシンの加水分解反応に於て、アシル化したとき、基質の残部は、はじめ酵素に結合したときと比べ、大きい位置の变化を示す。模型化した図を6図に



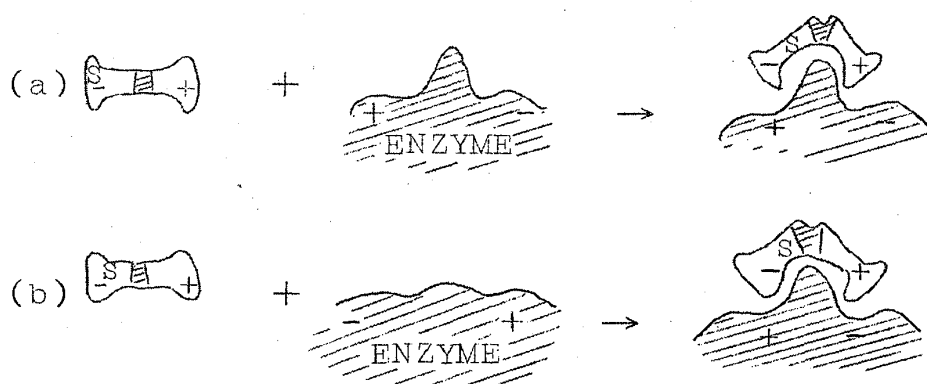
6図 キモトリプシンの触媒反応における基質の立体配置。

示す。(a)でCは平面 $R_1 O_2 O_3$ 上にのっている。そして、 $\overrightarrow{O_1 C}$ は平面 $R_1 O_2 O_3$ にほぼ垂直のはずである。(b)の遷移状態の図では、Cは四面体 $O_1 O_2 O_3 R_1$ のほぼ中央にくる。(c)の反応中間では、Cは平面 $O_1 O_3 R_1$ 上にくる。 $\overrightarrow{O_1 C}$ の方向は(a)では平面 $R_1 O_2 O_3$ 上にあり、(c)

では平面 O_1 O_3 R_1 上にある。 R_1 は酵素と結合するアミノ酸残基をもっているのであまり動かず、 $\overrightarrow{CR_1}$ の方向の取り方に制限がつく。そのため三角形 O_1 O_3 R_1 そのものが動かざるを得ない。この動きによってセリン 195 が動かされる可能性もある。これらの動きは遷移状態 (b) に於て、ある程度準備されているはずである。以上のことから、反応中間体を作る場合には、反応中間体を作らない場合に比べて、遷移状態へ移る反応経路が微妙に選択され、遷移エネルギーの低いものが実現しているのであろう。

(V) strain and rack の理論

これは Lumry と Jencks^{14), 15)} によって提案されたモデルである。7 図 (a) は基質が酵素と結合するとき、基質にひずみができ、そこが切れやすくなるというモデルである。これはリゾチームにおいて、基質のオリゴサッカライドが結合するときにあてはまる。すなわちリゾチームの結合場所の D 位置のサッカライドが半イス型に変形させられ、遷移状態に近い形になり、反応を容易にさせてもらっている。7 図 (b) は基質が結合するとき、酵素の構造を変えるような誘導現象がおこり、その影響をうけ基質にひずみが生じるというモデルである。これらは、基質も酵素も変形可能であり、ある場合には誘導効果が重要であるという考えにもとづいている。この効果の大きさ測る方法が現在見出されていないので、今は十分な評価を得ていない。



7 図 strain and rack の理論のモデル

以上5種類の効果を考えてきたが、これだけで酵素反応の非常に大きな触媒能を説明することができるだろうか？ Koshland は第Ⅳ表に示すように、

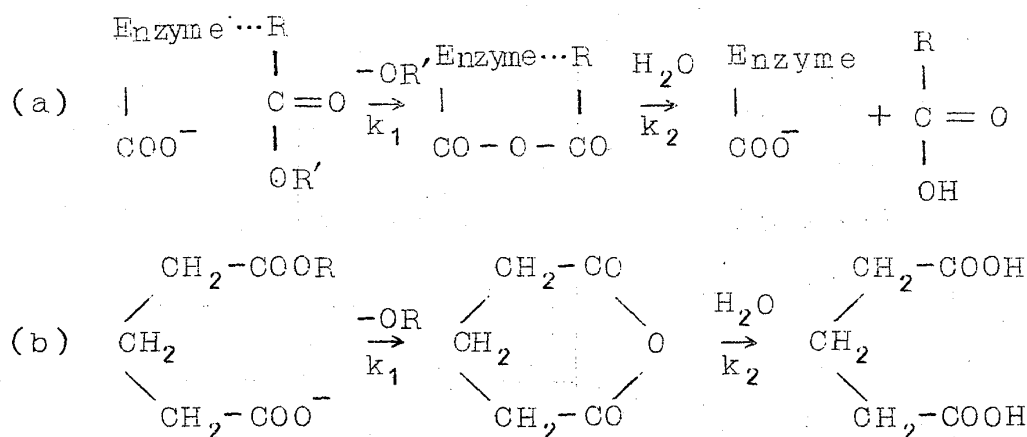
第Ⅳ表 2つのモデル反応における触媒能の理論的計算¹⁶⁾

		反 応 Ⅰ	反 応 Ⅱ
反応の性質	基質濃度 (M)	$[S_1] = 10^{-3}$	$[S_1] = 10^{-3}$
		$[S_2] = 10^{-4}$	$[S_2] = 55$
	酵素濃度 (M)	$[E] = 10^{-5}$	$[E] = 10^{-5}$
	基質のもつ電荷	な し	な し
	遷移状態での電荷	少しもつ	一価の正電荷
有機化学反応から推定した各々の効果の大きさ	触媒性残基	一つの酸と一つの塩基	一つの酸と一つの負に荷電したグループ
	コバレント中間体	あ り	な し
	基質に対する近接効果	5.5×10^3	10^{-2}
	一般塩基触媒の効果	4	—
	一般酸触媒の効果	10	20
上記効果の総和	触媒基に対する近接効果	3×10^3	3×10^3
	コバレント中間体に対する効果	10	—
	一般溶媒効果	10^{-2}	10^{-5}
	イオン対効果	10^2	10^5
	上記効果の総和	7×10^9	6×10^2
上記反応条件で予想される触媒能		7×10^{18}	6×10^{14}
オリエンテーション、ストレイン、プッシュアップなどの効果で説明されなければならない値		10^9	10^{12}

2つのモデル反応を考えて、いろいろな効果の値を推定している。¹⁶⁾ 反応Ⅰは2次反応、反応Ⅱは加水分解等の一次反応に対応する。その結果をみると、酵素反応の触媒能を説明するためには、オリエンティション効果とストレーン効果とプッシュ・プル効果を合わせて、 $10^9 \sim 10^{12}$ の値をもたなければならない。各々の効果を最も高く見積れば、これぐらいの値をだすことができそうだが、実際の酵素で、そのようにうまく工夫されているかどうかについては、まだ未知である。そこでどのように原子団を配置すれば、このような効果の高い値を得ることができるのかを知る必要がある。

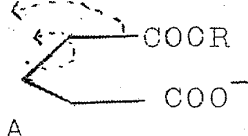
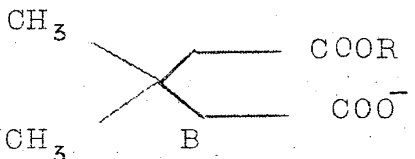
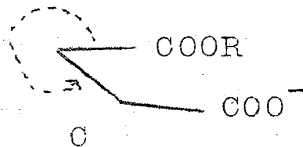
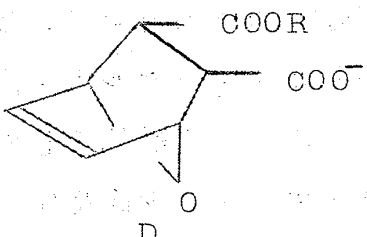
§ 4 モデル反応

前章でのべたいろいろな効果かどのような値をもつかを調べた実験が少しある。それは1つの効果をできるだけ純粋にひきだすようなモデル分子を使ったモデル反応を行うのである。例えば、フィシンという酵素はエステルの加水分解を触媒するが、その反応機構は8図(a)のように考えられており、8図(b)のエステル加水分解の分子内求核触媒に類似させられる。8図(a)の COO^- は酵素の活性基を表わし、酵素と基質との間の点線は結合の意味を表わす。このモデル反応は、BruiceとPanditによって、近接効果とオリエンティション効果の大きさを調べるためになされた。¹⁷⁾ 第V表にモデル分子を変えたときの反応定数を列記した。(1)はグルタレートで、これを基準



第8図 酵素反応とモデル反応

第 V 表 種々のモデル分子における反応速度定数の比

Ester	k_1	k_2
	k_1 glut	k_2 glut
 A	1.0	1.0
 B	20	0.07
 C	230	1.46
 D	53,000	5.2

-R は mono-p-bromophenyl -O-

-Br

または p-methoxyphenyl -O-

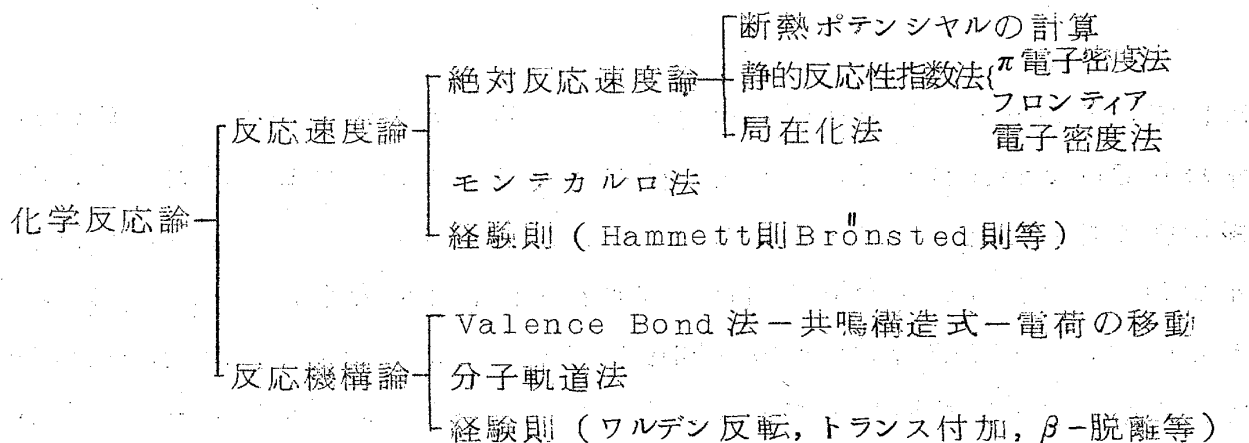
-O CH₃ である。

にして、他の分子の反応速度定数を記している。Aでは4つのC-C結合のまわりで回転が許されているので、始原状態でのエントロピーは大きく、遷移状態になったときのエントロピーの損失がかなり大きい。Bでは、やはり4つのC-C結合のまわりで回転が許されるが、まんなかにCH₃基が2つあるので、C-C結合のまわりを回転してゆくと、COORとぶつかる。従って、BはAより、始原状態でのエントロピーが小さい。CではC-C結合が1つ減っている所以、回転エントロピーが減少している。DはCOOR及びCOO⁻と結合しているC-C結合以外は固定されているので、回転の自由度

は2つしかない。遷移状態はA～Dで皆同じであると仮定すれば、 k_1 は始原状態のエントロピーが小さい程大きくなる。その傾向は第V表の数字にみごとに示されている。このように、近接効果及びオリエンテーション効果はエントロピーの概念を使って調べることができる。キモトリプシンの活性基であるイミダゾールを分子内にとりこんで、モデル化した分子内触媒の研究も数多くなされているか、¹⁾ここでは省略する。

§ 5 化学反応の理論

酵素反応が本質的に有機化学反応のレベルで取り扱えることはほぼ間違いない。それでは化学反応の理論はどのようになっているのだろうか。その現状をのべることにする。化学反応論の体系は9図に示すように、反応速度論と反応機構論に大別される。反応速度論の大きな骨組みは絶対反応速度論によって構成されている。絶対反応速度論は遷移状態論とも言われ、始原系と遷移状態の自由エネルギーの差でもって、反応速度を記述している。絶対反応速度論の理論的形式は美しいが、遷移状態を求めるために、反応にあずかる核の位置をあらゆる方向に動かして、断熱ポテンシャル面を作らなければならず、少し大きな分子に対しては非常にめんどろな計算をしなければならない。そこで第一原理から出発して、断熱ポテンシャル面を作る代りに、経験あるいは化学的直観にもとづいた方法が工夫された。それが局在化法¹⁸⁾と静的反応性指数法である。まず局在化法は、遷移状態の分子構造を仮定し、



9 図 化学反応論の体系

分子軌道法でそのエネルギー計算する。このエネルギーと始原系でのエネルギーの差でもって反応速度を計算する。この方法は非常に簡単に結果を得ることができるが遷移状態の分子構造にあいまいさがあり、定性的理論のわくを出ないと思われる。またエントロピーの効果を取り入れていないのも欠点である。静的反応性指数法は、遷移状態を反応する以前の分子固有の性質から類推しようとする理論である。これは分子間の相互作用による一次の摂動の効果¹⁹⁾を遷移状態に外そうとする考えと等価である。この方法には、 π 電子密度法²⁰⁾とフロンティア電子密度法²⁰⁾がある。前者は分子を構成する原子上の π 電子密度の大きさを計算し、後者は最低空分子軌道または最高被占分子軌道に属する電子の各原子上の密度を計算する。この電子密度を指数にして、分子中のどの原子に対してどんな試薬が攻撃しやすいかを議論する。これらは實際上多くの分子において定性的な議論には有効であることが示されている。

一方絶対反応速度論は始原系と遷移状態で、事前的に熱平衡を仮定しているので、そのことを仮定しないで、反応速度を計算しようとする試みが最近なされている。これはモンテ・カルロ法と言われ、分子間の相互作用の函数をきめておいて、何万回も2分子を衝突させ、そのうち反応した回数を数えるのである。この方法は分子の運動を古典的に取り扱うため、零点振動の効果を取り入れることができず、低温では誤差が大きい。また、対称性の悪い分子の反応にたいしては、分子間相互作用の形が複雑になるので、複雑な化学反応に対して有効でないと思われる。しかし、簡単な分子の反応に対して得られた結論には、遷移状態の存在及び安定性に関して多くの示唆が含まれている。

以上は反応速度に対する物理的色彩の強いアプローチであるが、他方、経験則²¹⁾に基づく化学者特有のアプローチがある。それは Hammett 則²¹⁾ や Bronsted 則²²⁾ と呼ばれるものである。これは分子を反応基、電荷伝達系、付加原子団に分割し、反応基に対しては反応の種類に応じた指数を、電荷伝達能としての指数を、付加原子団には、電子をひっぱったり、押し出したりする能力としての指数を割りあて、分子全体としてはそれらの指数を適当な形で加算することによって反応性を現わそうという考え方である。これによ

って上記の経験則がみごとに説明される。複雑な分子を固有な原子団の集合体とみる考えは有効である。例えば、ラジオが検波器や増巾器などを結合して、全体として複雑な機能をなすのに似ていないだろうか。筆者は、化学者のこの発想を尊重しなければいけないと思うと同時に、各原子団を結合する働きに、新しい物理的概念を導入すれば、経験則を越えた理論になるのではないかと思う。

次に反応機構論についてのべる。反応機構論のほとんどの部分は Valence Bond 法によって占められている。何故なら、まず分子の状態を記述するのに容易であること、共鳴構造式を書くことによって分子の安定性と反応性がわかること、電子陰性度の概念にもとづく電荷移動の図がかけること等多くの長所をもっているからである。しかし Valence Bond 法は反応の過程を記述するのに便利であるが、何種類も反応機構が考えられる場合、正しいものを選択することができない。これまで Valence Bond 法は確かに有効ではあったが、化学反応論が新しい発展段階を迎えるためには反応機構を予測する理論が望まれる。その意味で、分子軌道法は定量化することをねらった新しい試みであるが、計算方法の困難さのためにあまり成功していない。一方、反応機構論の経験則として、ワルデン反転、トランス付加、 β -脱離はその著名な例である。最近では、これら経験則を分子軌道法で説明しようとする試みがなされており、少しずつ成果をおさめている。

化学反応の理論の大筋は以上のごとくであるが、化学反応の研究の全領域からみれば、これらは一部にすぎない。これまでの化学反応研究の本領は、膨大な種類の物質に対する個々の実験的研究である。実験化学書を読めば、一つの理論で律しきれない機能の多様性をそこにみることができる。これは化学者にとって尽きぬ興味の源泉なのである。しかし一方で、化学は論理的な目的をもった学問なのかと心配せざるを得ない。筆者等物理屋にとって、少なくとも酵素反応を説明するために化学反応の研究はどうすればよいのかに関心が向く。その意味で化学反応の理論をふりかえてみれば、定量的に反応速度を計算する技術が不足しているし、反応機構を予測する理論が足りないのに不満をいだく。物理学者が積極的に化学反応の研究をはじめることによって、この要請は満されるのではないだろうか。

§ 6 分子の対称性と反応経路

前節に於て、反応機構を予測する理論が必要であると述べたが、そのような理論に近づく第一歩として、分子振動の観点から Bader と Salem が研究している²³⁾ので、それを紹介する。基底状態での分子エネルギーを E_0 とし、分子振動の基準座標を Q_j とすると、

$$\frac{\partial^2 E_0}{\partial Q_j^2} = \left\langle 0 \left| \frac{\partial^2 V}{\partial Q_j^2} \right| 0 \right\rangle - 2 \sum_{k \neq 0}' \frac{\langle 0 | \partial V / \partial Q_j | k \rangle^2}{E_k - E_0} \quad (8)$$

がなり立つ。ここで第 1 項は古典的力定数で、第 2 項は電子の再配列による力定数を表わす。第 2 項が零でないためには遷移電子密度 ρ_{0k} (基底状態 0 と励起状態 k の電子波動関数の積) の対称性が基準座標 Q_j の対称性と一致しなければならない。基底状態の波動関数が空間的に対称であれば、励起状態 k と基準座標 Q_j が同じ対称性をもてはよい。以後この場合を考える。第 2 項が負の絶対値を大きくするためには、励起エネルギーが低ければよい。ここで Bader は 2 つの仮定をする。(8) 式の第 1 項は今考える基準振動に対して同じ値をもつとする。また反応は力定数の最も小さい基準振動にそっておこるとする。この仮定のもとに Bader は次の 2 つの結論をひきだした。a) 最も小さな力定数をもつ基準座標は電子の最低励起状態と同じ対称性をもつ。b) 最も低い励起状態の対称性が反応経路を決定する。Bader はいくつかの例でこの結論のなり立つことを示している。この理論に対し、Salem は次のような指摘を行った。(8) 式の第 2 項が大きな負の値をもつためには遷移電子密度 ρ_{0k} が核運動をする場所に局在していなければならない。また遷移状態近くでは振動の非調和項が大きな寄与をしているので、3 次の摂動項を考える必要がある。それは

$$\begin{aligned} \frac{\partial^3 E_0}{\partial Q_j^3} = & \left\langle 0 \left| \frac{\partial^3 V}{\partial Q_j^3} \right| 0 \right\rangle \\ & + 4 \sum_{k \neq 0}' \sum_{n \neq 0}' \frac{\langle 0 | \partial V / \partial Q_j | k \rangle \langle k | \partial V / \partial Q_j | n \rangle \langle n | \partial V / \partial Q_j | 0 \rangle}{(E_k - E_0)(E_n - E_0)} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
& + 4 \sum'_{k \neq 0} \sum'_{n \neq k} \frac{\langle 0 | \partial V / \partial Q_j | k \rangle \langle k | \partial V / \partial Q_j | n \rangle \langle n | \partial V / \partial Q_j | 0 \rangle}{(E_k - E_0)(E_n - E_k)} \\
& - 6 \sum'_{k \neq 0} \frac{\langle 0 | \partial V / \partial Q_j | k \rangle \langle k | \partial^2 V / \partial Q_j^2 | 0 \rangle}{E_k - E_0} \\
& + 2 \sum'_{k \neq 0} \frac{\partial(E_k - E_0) / \partial Q_j \cdot \langle 0 | \partial V / \partial Q_j | k \rangle^2}{(E_k - E_0)^2} \quad (9)
\end{aligned}$$

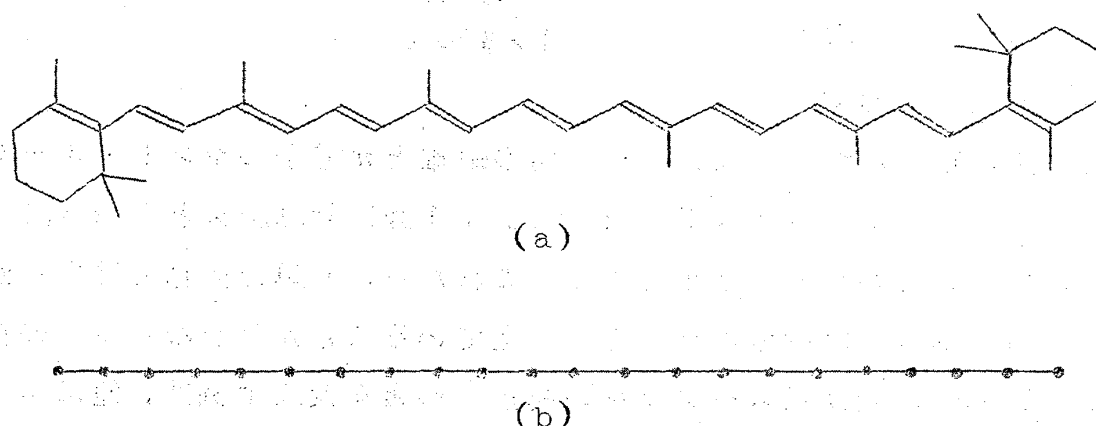
で表わされる。ここで第1項は古典的非調和項で、第2項以下が電子の再配置による非調和項である。第2～4項は振動モードが全体称か縮退しているときをのぞいて零になる。従って、第5項が最も重要である。これが負の大きな値をもつためには $\partial(E_k - E_0) / \partial Q_j$ が負の大きな値をもたなければならない。従って、反応がおこりやすくなるためには、励起エネルギーと基底エネルギーの差が反応経路にそって減少していなければならない。以上のことから Salem は反応経路について次のようにまとめている。1) 反応座標に相当する基準モードと同じ対称性をもつた励起状態がある。2) その励起エネルギーは低い程よい。3) 遷移電子密度は核運動の領域に局在している。4) 励起エネルギーは反応座標にそって進むにつれて減少する。

この論文は分子の対称性から電子状態と振動モードの対称性が規定され、それからどのように反応経路が決定されるかを調べており、単分子反応、二分子反応に対して、簡単な計算から多くの結論を得ることが可能なのではないかとと思われる。Salem は環状分子の開環反応に応用を試みている。²⁴⁾

§ 7 分子構造と光吸収スペクトル構造との関連性

分子間の相互作用の研究や、化学反応における生成物または反応中間体の研究に光吸収スペクトルがよく利用される。それは主に分子の吸収波長及び吸収強度の変化から言及されている。しかし、分子のダイナミカルな息づかいや、複雑な構造変化を追跡するためには、吸収波長及び吸収強度の変化の測定では大まかに過ぎることが多い。そこで光吸収スペクトルの構造を解析することによって、分子の構造変化に関する情報が得られないかと考えてみ

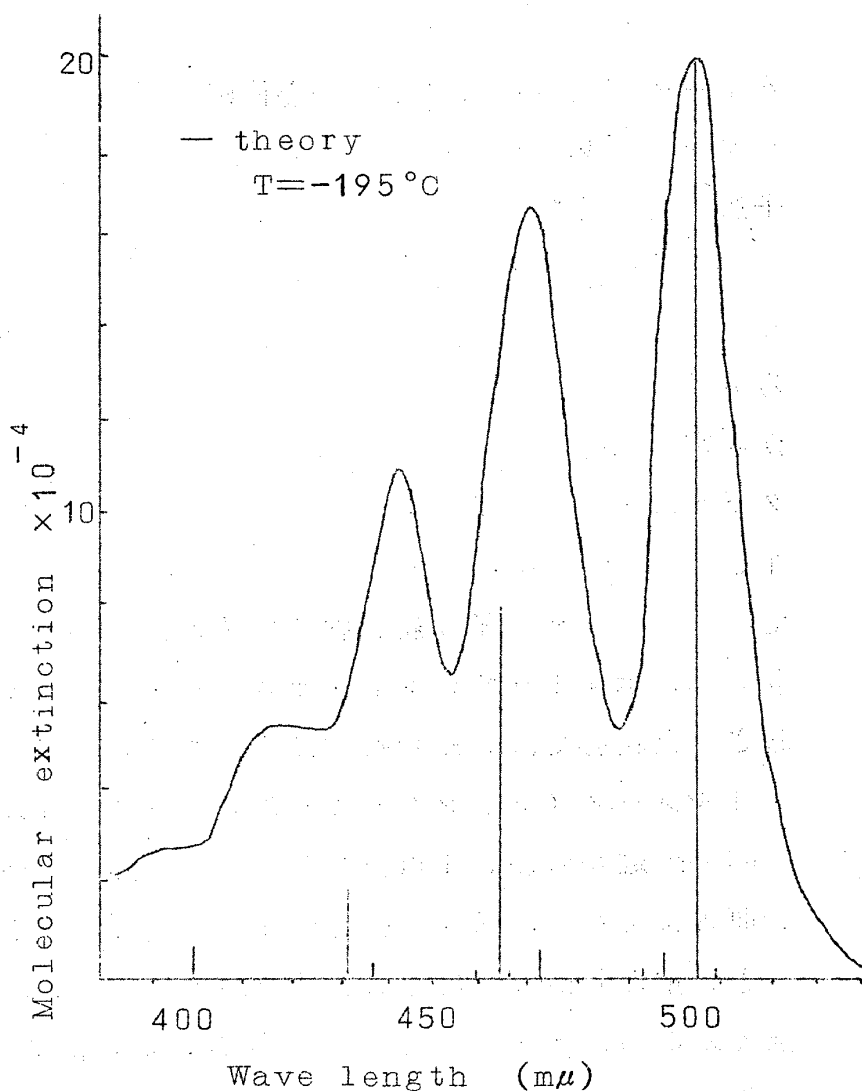
る。一般に光吸収による電子遷移には分子振動が結合して、それが光吸収スペクトルの構造に反映される。分子中の振動モードは非常に多数あるが、電子遷移と強く結合する振動モードは少ない。どの振動モードが強く結合し得るかは分子の対称性と、電子遷移のおこる2つの電子状態の対称性に依存する。このことを立証する最も顕著な例はベンゼンの $A_{1g} \rightarrow B_{2u}$ 遷移における分子振動を借りた吸収である。²⁵⁾ ここでは β -carotene ($C_{40}H_{56}$) が非常に大きな分子であるにもかかわらず、 $\pi \rightarrow \pi^*$ 遷移による光吸収スペクトルに著しい構造のあらわれる原因について考察する。 β -carotene は 10 図 (a) に示すような分子構造をもち、22 個の π 電子をもつ。基底状態では 22 個の π 電子が結合軌道に入る。この場合、ヤーン・テラー効果により、図に示すようなボンド・オルターネーションがおこる。 π 電子が1つ励起された状態では、結合軌道に入っている電子の数が減少するので、ボンド・オルターネーションが弱くなる。従って励起状態では、2重結合性の C-C 間の距離かのび、1重結合性の C-C 間の距離がちぢむ。Franck-Condon の原理によれば、基底状態での振動の波動関数と励起状態での振動の波動関数との重なり積分が最も大きくなるような振動状態に対して、光吸収が最も強くおこる。 β -carotene の場合、励起状態では基底状態に比べて、分子の形がボンド・オルターネーションを緩和する方向に変形しているのので、各原子がいっせいにボンド・オルターネーションをひきおこしたり、なくした



10 図 β -carotene の分子構造と 1 次元モデル分子。(a) の図は水素が省略してある。つき出した棒は CH_3 を意味する。

りする方向に変位するような振動モードが、光吸収スペクトルの構造に特異的に影響をもつことになる。すなわち、この振動モードの高い量子数をもつ状態に遷移する確率が高いので、この振動モードのエネルギー間隔をもつた数本の吸収ピークがあらわれる。筆者はこのことをたしかめるために、次の方法で簡単な計算を行った。まず π 電子状態を Hückel 近似で解く。 β -carotene の振動状態は 10 図 (b) に示すような、等しい質量をもった 1 次元の鎖にして、2 重性結合と、1 重性結合に相当した 2 種の力定数を仮定して解く。

電子と振動の結合については、C-C 間の距離と π 電子のボンド・オーダーに関する Coulson の関係式で代用する。11 図に計算結果と Loeb, Brown, Wald の低温の実験データと比較する。これから、簡単な計算ではあるが、光吸収曲線の本質的な特徴はうまくとらえていることがわかる。特定の振動モードが特異的に光吸収スペクトルの構造に影響を及ぼす例は、他にエチレン、アンモニア、ケトン類がある。これらに共通しているのは、基底状態と励起状態で分子の形がちがっていることである。特定のモードの振動が、2 種の分子構造間の移り変わる経路にあたっているのである。



26)
11 図 β -carotene の光吸収曲線の実験
(曲線) と理論 (棒) の比較。温度は
-195°C。

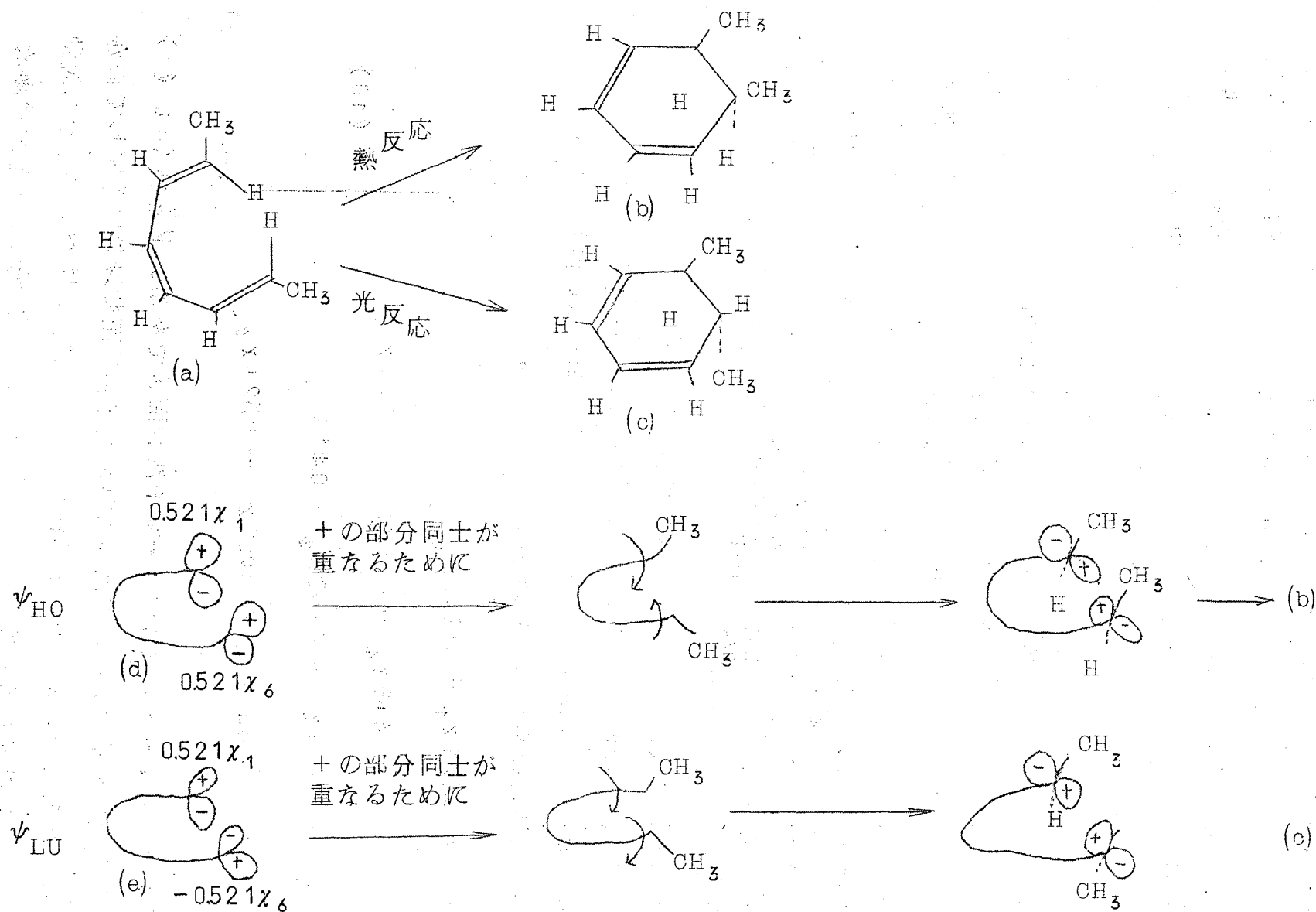
さて分子間相互作用がある場合には、分子振動の様子が、一分子の場合と比べて変わってくる。特定のモードの振動の廻り方を光吸収スペクトルでとらえ、それを解析することによって、分子間相互作用の様子が調べられるのではないかと考えている。 β -carotene は生体の多くの組織にとりこまれているので、そこでの β -carotene の結合の様子を調べることは意義深い。

§ 8 波動函数の対称性と反応経路の関係

反応経路は断熱ポテンシャルの低い核配置を選択していくことによって決定される。ところがある種の反応に於ては断熱ポテンシャルを直接計算せず、波動函数の対称性から反応経路を決めることができる。12図にジメチルシクロヘキサトリエンの閉環反応を示す。実験的に、熱反応では12図(b)のように進み、光反応では12図(c)のように進むことがわかっている。Hoffmann と Woodward は波動函数の対称性から、この立体異性の問題を²⁷⁾ 次のように見事に説明した。まずこの閉環反応は両端の π 電子が結合して σ -結合になると仮定する。次に熱反応では最高被占分子軌道が反応を決定し、光反応では、最低空分子軌道の形が反応を決定し、光反応では、最低空分子軌道の形が反応を決定すると仮定する。分子軌道法の計算によって、最高被占分子軌道と最低空分子軌道は次のように求まる。

$$\left. \begin{aligned} \psi_{\text{HO}} &= 0.521x_1 + 0.232x_2 - 0.418x_3 \\ &\quad - 0.418x_4 + 0.232x_5 + 0.521x_6, \\ \psi_{\text{LU}} &= 0.521x_1 - 0.232x_2 - 0.418x_3 \\ &\quad + 0.418x_4 + 0.232x_5 - 0.521x_6. \end{aligned} \right\} \quad (10)$$

ここで x_i ($i=1\sim6$) は6つの π 電子波動函数である。12図(d), (e) に分子軌道の形を示す。ここでは両端の π 電子波動函数以外は省略して書かれている。さて両端の π 電子が化学結合するためには、同符号の2つの波動函数が重ならなければならない。そのため ψ_{HO} では両端の π 電子波動函数



12図 ジメチルシクロヘキサトリエンの熱反応と光反応

を同じ方向に、 ψ_{LU} では反対方向に回転しなければならない。両端のメチル基もこの回転と同じ方向に移動する。この結果 12 図 (b), (c) に示すような生成物を得ることになる。この波動函数の対称性から反応経路をきめる方法は、計算が簡単であるばかりでなく、非常に見とおしのよい説明を与えてくれる。Woodward と Hoffmann は、この例の他に、多くの Diels-Alder 反応に応用し、成功している。今後は σ 電子系の反応へ応用することが重要であろう。

§ 9 結 論

この解説では筆者の興味のもち方の順序に従ってのべた。今後の酵素反応の研究は素反応をきっちりおさえる方向に進むであろう。ただ酵素の素反応は多くの原子が同時に関与して、複雑な反応経路を作っているようである。そこにおもしろさとむずかしさが共存する。我々は X 線によって与えられた酵素の一つの素顔だけでなく、反応しているときの動的な顔を知る必要がある。実験的には、T-jump, transient NMR, isotope effect 等の技術によって、少しずつダイナミカルなデータが得られている。理論的には、この解説でのべたようにまだ現象論的、もしくは経験論的段階にある。その傾向は化学反応論全般に見られる。化学反応論の骨組みが、化学的直観によってでなく、物理的論理性によって築かれなければならないのである。現在化学反応論の柱は絶対反応速度論である。そこでいう遷移状態とは何かについて再び議論が必要であろう。そして transition complex の実体論が確立されなければならない。その実体が安定に存在するかしないかの議論の他に、transition complex の構造を、すべての断熱ポテンシャルを計算しないで決めるうまい方法を探し出すことが重要であろう。また、反応経路をきめる重要な要素（例えば § 8 でのべた波動函数の対称性のようなもの）をみつけ、広汎に反用することも必要であろう。これらの仕事は物理屋が得意とする領域ではないだろうか。

最後につけたしになるが、ここでのべた酵素の素反応の研究は酵素学全体からみれば、一部の研究分野であって、もっとレベルの高い研究領域がある。例えば、ある酵素は複合体となって、その機能を複雑高度化させている。ま

た，生体内で，何種類もの酵素が機能の上で結合し，一連の代謝経路を作っていて，そこに制御という新しい機能を生み出している。この研究分野は酵素反応のしくみがわかってくるにつれて，ますます活発になるだろうと予想される。

謝 辞

この解説を書くようにおすすり，励まして下さった松田博嗣教授に感謝します。また，常に有益な議論をして下さった福留研究室の皆様に感謝します。

参 照 文 献

- 1) T.C. Bruice and S.J. Benkovic, "Bioorganic Mechanism" (Benjamin, Inc., New York 1966).
- 2) M. Dixon and E.C. Webb, "Enzyme", (Academic Press, New York 1958) ; 邦訳, 江上不二夫他, "酵素", (白水社 1970).
- 3) W.P. Jencks, "Catalysis in Chemistry and Enzymology", (McGraw-Hill, New York 1969).
- 4) 今堀和友, 成田耕造, 早石修共編, "続現代の生化学(下) 化学増刊 42", (化学同人 1970).
- 5) L. Michaelis and M.L. Menten, Biochem. Z. 49, 386(1911)
- 6) B.S. Hartley, "Structure and Activity of Enzymes", Goodwin, Harris and Hartley eds. (Academic Press, London and New York 1964) p.47.
- 7) J.A. Rupley and V. Gates, Proc. N.A.S. 57, 496(1967).
- 8) D.M. Chipman, V. Grisaro and N. Sharon, J. Biol. Chem. 242, 4388(1967).
- 9) D.M. Chipman and P.R. Schimmel, J. Biol. Chem, 243, 3771(1968).

- 10) D.E.Koshland, Jr., J. Cellular Comp. Physiol. 47,
Suppl. 1, 217 (1956).
- 11) D.E.Koshland, Jr., J. Theoret. Biol. 2, 75 (1962),
- 12) C.G.Swain and J.F.Brown, Jr., 74, 2534, 2538 (1952).
- 13) D.M.Blow, J.J.Birktoft, B.S.Hartley, Nature, 221,
337 (1969).
- 14) R.Lumry, "the Enzyme", P.D.Boyer, H.Lardy and
K.Myrback eds., (Academic Press, New York 1959),
1, p.157.
- 15) W.P.Jencks, "Current Aspects of Biochemical Energ-
etics", N.O.Kaplan and E.P.Kennedy eds.,
(Academic Press, New York 1966), p.273.
- 16) D.E.Koshland and K.E.Neet, Ann. Rev. Biochem. 37,
359 (1968).
- 17) T.C.Bruice and U.K.Pandit, Proc. N.A.S., 46,
402 (1960) ; J. Am. Chem. Soc., 82, 5858 (1960).
- 18) G.W.Wheland, J. Am. Chem. Soc., 64, 900 (1942).
- 19) たとえば H.H.Jaffe, J. Chem. Phys., 20, 279 (1952).
C.A.Coulson and H.C.Longuet-Higgins, Proc. Roy. Soc.,
A191, 39 (1947) ; ibid., A192, 16 (1948).
- 20) K.Fukui, T.Yonezawa and H.Shingu, J. Chem. Phys.,
20, 722 (1952) ; K.Fukui, T.Yonezawa, C.Nagata and
H.Shingu, ibid., 22, 1433 (1954).
- 21) L.P.Hammett, J. Am. Chem. Soc., 59, 96 (1937) ;
L.P.Hammett, "Physical Organic Chemistry",
(McGraw Hill New York 1940), p.78.
- 22) 詳しい解説として G.E.K.Branch and M.Calvin, "The
Theory of Organic Chemistry", (Prentice Hall, New
York 1941).

垣谷俊昭

- 23) R.F.W.Barder, Mol. Phys. 3, 137 (1960) ; Can, J. Chem. 40, 1164 (1962).
L.Salem, J.Chem. Phys. 38, 1227 (1963).
- 24) L.Salem and J.S.Wright, J. Am. Chem. Soc., 91, 5947 (1969).
- 25) T.Kakitani, J.Phys. Soc. Japan, 29, 1562 (1970).
- 26) J.N.Loeb, P.K.Brown and G.Wald, Nature (London), 184, 617 (1959).
- 27) R.Hoffmann and R.B.Woodward, J. Am. Chem. Soc., 87, 2046 (1965).