Bussei Kenkyu

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 structare

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 globuler type 構造。

(iv)　quarternary 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

NII-Electronic Library Service

Bussei Kenkyu

の反応と1つの substrate が対応している。

§2－2. Models for binding of small molecules (ligand) to large (macro) molecules

この節では，ligand によって占められている活性部位（active site）の平均数を，ligand の濃度の関数としてモデルに基づいて計算しよう。

f = average fraction of occupied sites.

α = ligand の濃度

とする。考えているマクロな分子には n 個の active site があり，その占有されている状態を

$$t_i = \begin{cases} 1 & \cdots\cdots \text{ i 番目の site が占有されているとき} \\ 0 & \cdots\cdots \quad 〃 \quad \text{いないとき} \end{cases}$$

であらわす。そして，configuration を

$$\{t\} = (t_1, t_2, \cdots, t_n)$$

と書く。与えられた configuration のもとで占有されている site の数は

$$N\{t\} = \sum_{i=1}^{n} t_i$$

である。

$P\{t\}$ で configuration $\{t\}$ をとる確率をあらわすと占有されている site の平均数（n で規格化している。）は

$$f = \frac{\langle N\{t\} \rangle}{n} = \frac{1}{n} \sum_{\{t\}} N\{t\} P\{t\} \qquad (2-1)$$

ここに

$$\sum_{\{t\}} = \sum_{t_1=0,1} \sum_{t_2=0,1} \cdots\cdots \sum_{t_n=0,1}$$

NII-Electronic Library Service

Bussei Kenkyu

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

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

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，

$$f=\frac{1}{n}\frac{\sum_{\{t\}}N\{t\}\alpha^{N\{t\}}\exp(-\beta E\{t\})}{\sum_{\{t\}}\alpha^{N\{t\}}\exp(-\beta E\{t\})}$$

$$=\frac{1}{n}\alpha\frac{\partial}{\partial\alpha}\log Z_G \qquad (2-3)$$

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，

$$Z_G=\sum_{t_1=0,1}\cdots\cdots\sum_{t_n=0,1}\prod_{i=0}^{n}\alpha^{t_i}$$

$$=(1+\alpha)^n$$

ゆえに

$$f=\frac{1}{n}\alpha\frac{\partial}{\partial\alpha}n\log(1+\alpha)$$

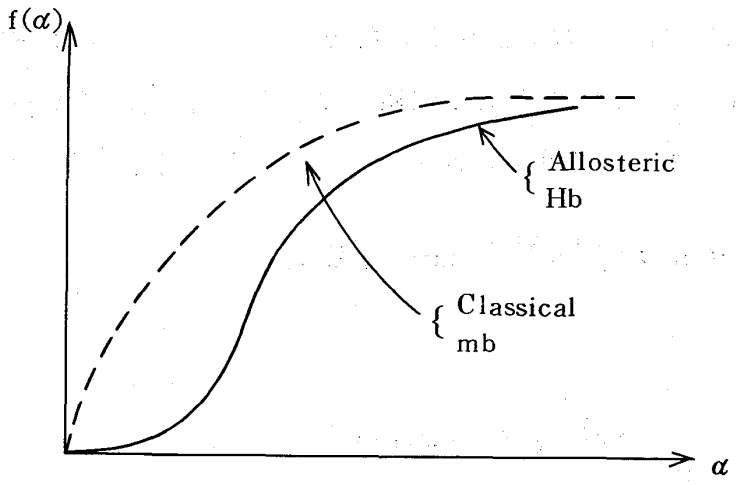
$$=\frac{\alpha}{1+\alpha} \qquad (2-4)$$

(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

NII-Electronic Library Service

Bussei Kenkyu

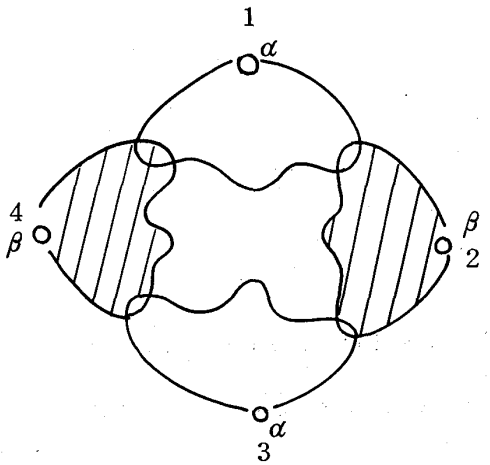


[Ⅱ-1]

るという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 $\alpha-\alpha$）間は接触していないが，異なる Chain($\alpha-\beta$)間は強い重なりがある。



[Ⅱ-2]

NII-Electronic Library Service

Bussei Kenkyu

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

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

大分配函数は

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

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，

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

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	α^2K	α^3K^2	α^4K^4
配置の数	1	4	2	4	4	1

（2－7）より

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

を得る。任意パラメーターは相互作用常数 J であるが，これを適当にとる $\beta J\approx 2.2$ 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簡単化しすぎているし，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

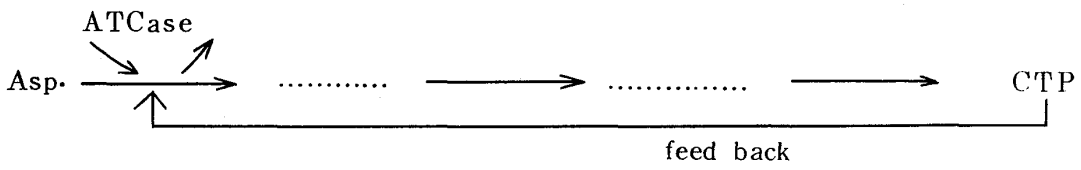
NII-Electronic Library Service

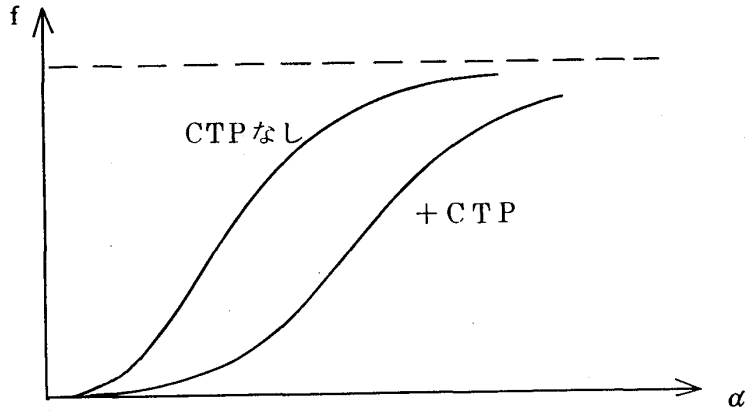
Bussei Kenkyu

いる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

Allosteic 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は解媒として作用する。ところが最終生成物CTC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。





Initial Reaction Rate in the Presence and Absence of CTP

［Ⅱ-3］

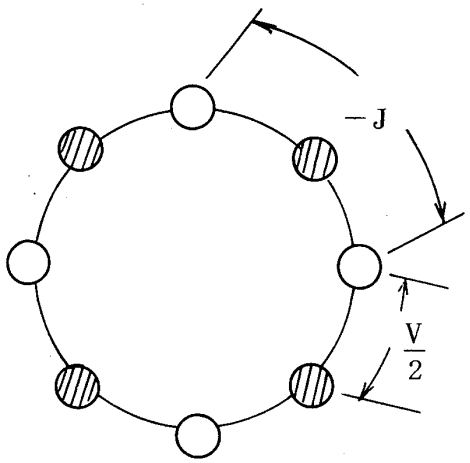
このようなメカニズムのおこる理由はATCaseのbinding siteにはsubstrateに対するものとmodifier（inhibitorあるいはactivator）に対するものとの2種類あることによる。

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

NII-Electronic Library Service

Bussei Kenkyu

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 rugulatory 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，その両隣りの catalytic site 間には $\frac{V}{2}$（V＞0）の相互作用が働くとしよう。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

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

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。configulation $\{s,t\}$ における相互作用エネルギー $E\{s,t\}$ は

NII-Electronic Library Service

Bussei Kenkyu

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

以下 n＝m とする。substrate の濃度を α，modifier の濃度を γ とすると大分配函数は次のようになる。

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

まずSについての和をとると，

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

ここで transfer matrix

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

を定義すると (3－3) は

$$Z=\sum_{\{t\}}\prod_{i=1}^{n}T(t_i,t_{i+1})$$

$$=T_r(\underset{\sim}{T}^n)=\lambda_1^n+\lambda_2^n \qquad (3-4)$$

となる。ここに λ_1,λ_2 は行列

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

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

$$f=\left\langle\frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n}t_i\right\rangle=\frac{1}{n}\,\alpha\frac{\partial}{\partial\alpha}\log Z$$

$$=\tilde{\alpha}\tilde{K}\{(1+\tilde{\alpha}\tilde{K}+\tilde{\delta})^{n-1}\left(1+\frac{2\tilde{K}^{-1}+\tilde{\alpha}\tilde{K}-1}{\tilde{\delta}}\right)$$

$$+(1+\tilde{\alpha}\tilde{K}-\tilde{\delta})^{n-1}\left(1-\frac{2\tilde{K}^{-1}+\tilde{\alpha}\tilde{K}-1}{\tilde{\delta}}\right)\}/\{(1+\tilde{\alpha}\tilde{K}+\tilde{\delta})^n+(1+\tilde{\alpha}\tilde{K}-\tilde{\delta})^n\} \qquad (3-5)$$

NII-Electronic Library Service

Bussei Kenkyu

となる。ここに

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

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

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

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

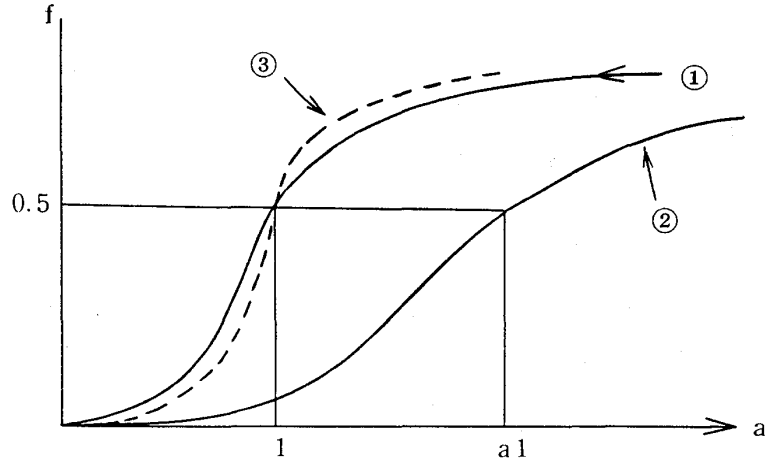
$$b=\gamma e^{-\beta V/2} \qquad (3-6e)$$

(3－5)において n＝4 とし，$\tilde{\alpha}\to\alpha$, $\tilde{K}\to K$, $\tilde{\delta}\to\delta$ のおきかえ（つまり $\gamma=0$ ）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，γ 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］

NII-Electronic Library Service

Bussei Kenkyu

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

が成立する。次にデーター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。

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

（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こと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，……，A_n で，その濃度をそれぞれ $[A_1]$，……，$[A_n]$ であらわす。次のような仮定をおく。

NII-Electronic Library Service

Bussei Kenkyu

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

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

4. 質量作用の法則

2，3の例を挙げよう。

(i) $A \xrightarrow{k} R$ (4－1)

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

(ii) $A + B \xrightarrow{k} C$

$$\left.\begin{aligned} \frac{d[C]}{dt} &= k[A][B] \\ \frac{d[A]}{dt} &= -k[A][B] \\ \frac{d[B]}{dt} &= -k[A][B] \end{aligned}\right\} \quad (4－2)$$

逆反応も考えると，

(i)′ $A \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} B$

$$\left.\begin{aligned} \frac{d[A]}{dt} &= k_{-1}[B] - k_1[A] \\ \frac{d[B]}{dt} &= k_1[A] - k_{-1}[B] \end{aligned}\right\} \quad (4－3)$$

NII-Electronic Library Service

Bussei Kenkyu

Prof. C. J. Thompson

ゆえに，保存量

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

が存在する。

(ii)′ $$A+B \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} C \qquad (4-4)$$

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。

$$Mb+O_2 \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} Mb\,O_2$$

(b) 酵素(E)-Substrate(S)複合体の形成

$$E+S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \qquad (4-5)$$

(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 $[A]=[A]_0$, $[\bar{B}]=[B]_0$, $[C]=0$ とすると

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

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

である。平衡解は

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

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

NII-Electronic Library Service

Bussei Kenkyu

例(ii)′の(b)では，(4－8)より

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

また，(4－6)，(4－7)式より

$$[\overline{E}]+[\overline{ES}]=[E]_0 \tag{4－10}$$

$$[\overline{S}]+[\overline{ES}]=[S]_0 \tag{4－11}$$

普通の系では酵素の濃度は substrate の濃度に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)

$$[\overline{S}]\approx[S]_0 \tag{4－12}$$

(4－10)，(4－12)を(4－9)に代入すると

$$\frac{[\overline{ES}]}{[E]_0}\approx\frac{K[S_0]}{1+K[S]_0} \tag{4－13}$$

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

$$E+S\underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}}ES\rightarrow P+E \tag{4－14}$$

を考えよう。この系の運動方程式は

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

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

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

NII-Electronic Library Service

Bussei Kenkyu

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

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

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

(4－16), (4－17), (4－18)より

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

さて，ここで生成物Pの生成速度

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

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

$$\frac{dV}{dt}\Big]_{t=t_0}=0$$

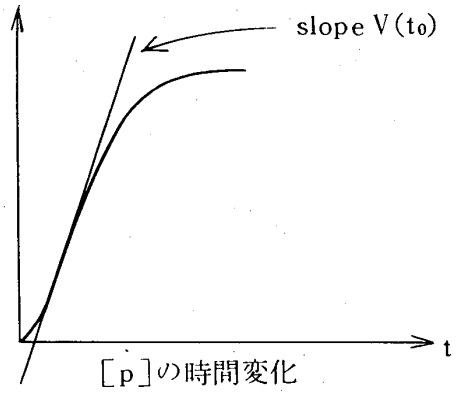
(4－21), (4－18), (4－17), (4－19)より

$$V_0=k_2[ES]_{t_0}$$

$$=\frac{V_m[S]_{t_0}}{K_m+[S]_{t_0}} \qquad (4-22)$$

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

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



[Ⅱ-6]

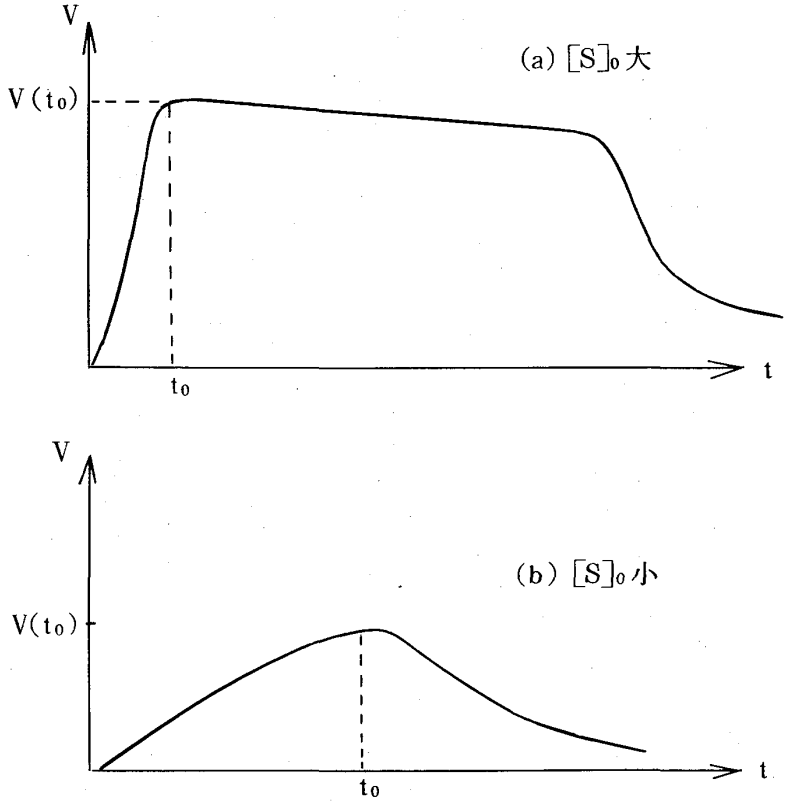
となり，再びMichaelis-Menten typeの結

NII-Electronic Library Service

Bussei Kenkyu

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“inital” 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。



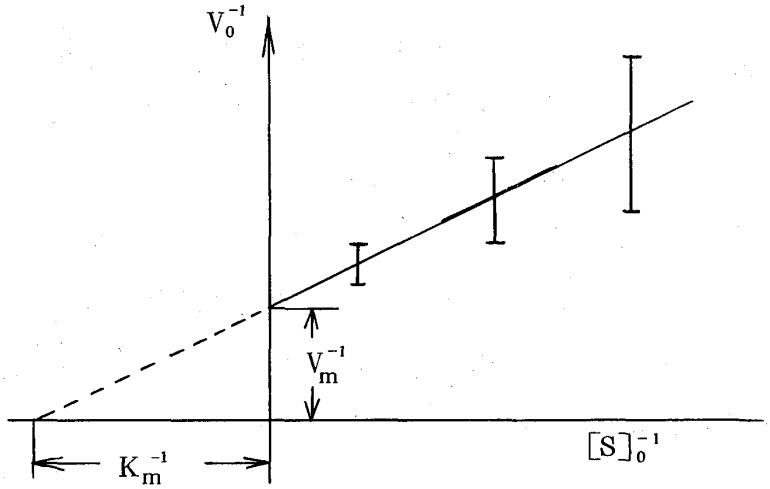
Vの数値計算

[Ⅱ-7]

NII-Electronic Library Service

Bussei Kenkyu

Prof. C. J. Thompson



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

NII-Electronic Library Service