

応用化学講座

11

蛋白質工学

油谷克英^著
中村春木

朝倉書店

著者略歴

ゆたに かつひで
油谷 克英

1938 年 大阪府に生まれる
1961 年 大阪大学理学部生物学科卒業
現 在 大阪大学蛋白質研究所助教授
理学博士
専 攻 蛋白質物理化学

なかむら はるき
中村 春木

1952 年 東京都に生まれる
1980 年 東京大学理学系大学院物理学
専攻修了
現 在 蛋白質工学研究所第二研究部長
理学博士
専 攻 生物物理, 蛋白質工学

応用化学講座 11

蛋白質工学

定価 3708 円(本体 3600 円)

1991 年 11 月 20 日 初版第 1 刷

著 者 油 谷 克 英
中 村 春 木
発行 者 朝 倉 邦 造
発行 所 株式会社 朝 倉 書 店
東京都新宿区 新小川町 6-29
郵便 番 号 162
電 話 03(3260)0141
F A X 03(3260)0180

〈検印省略〉

© 1991 〈無断複写・転載を禁ず〉

中央印刷・渡辺製本

ISBN 4-254-25541-1 C 3350

Printed in Japan

■ 講座編集者

- 伊藤嘉彦 京都大学工学部合成化学科・教授
生越久靖 京都大学工学部合成化学科・教授
北澤宏一 東京大学工学部工業化学科・教授
御園生誠 東京大学工学部合成化学科・教授
諸岡良彦 東京工業大学資源化学研究所・教授

はしがき

1. 蛋白質工学のめざすもの

蛋白質は生体を構成する重要な成分である。身近なところではデンプンを分解する唾液のアミラーゼは蛋白質であり、細菌などの異物を認識し、それを退治するのりゾチムや抗体やその他の蛋白質であり、また、太陽の光を用いて炭酸ガスと水からデンプンを合成する植物の光合成器官もおもに蛋白質からなっている。生命現象は蛋白質（酵素、抗体、ホルモンなど）が発揮する多種多様な働きによって営まれている。20種のアミノ酸からなる天然の蛋白質は特定の立体構造に依存していろいろな機能を発揮する。それらは生体内で起こる触媒作用、分子識別（たとえば基質、抗原など）、情報変換（化学情報から電気情報へ、およびその逆など）、記憶（ヘムなどの電子状態の保持、形状の記憶）、スイッチ（外部環境に依存した構造変化）、エネルギー変換（化学エネルギーから電気エネルギー）、機能の増幅制御などありとあらゆる役割を果たしている。これらは「1分子-1機能（または多機能）」をもつ分子素子として働いている。これらの優れた性質を取り出し私達の生活に役立てようとする機運が盛り上がってきている。

「蛋白質工学」は、蛋白質がもっている潜在的に優れた性質にさらに人間が望む機能を付加した蛋白質をめざして、遺伝子操作などによって蛋白質を改変し、具体的に利用できる蛋白質を創造する技術を確立する研究であると著者らは考えている。「蛋白質工学」とは生体系がもっているさまざまな機能単位をさらに改良して利用しようとするものであるから、まさに人の衣食住に変革をもたらす可能性を秘めている。「蛋白質工学」の誕生は、遺伝子操作技術によって蛋白質のアミノ酸を自由に置換できるようになり、その変異蛋白質を大腸菌や酵母など微生物で生産させる技術の発展によっている（本シリーズ、「遺伝子工学」を参照）。近年の分子生物学の発展によって、蛋白質の生合成過程の理解、とりわけ DNA からメッセンジャー RNA への転写、メッセンジャー RNA から転移 RNA をへて蛋白質に翻訳される過程は詳細に理解されてきた。また、翻訳されたポリペプチド鎖は、多くの場合、自発的に酵素とか他の付加的な要素を必要とせず、ア

ミノ酸配列（一次構造）に依存して立体構造を形成し、固有の機能をもつ蛋白質になることが知られている。しかし、立体構造形成の情報（暗号）がその一次構造のなかに含まれていることが判明していながら、その暗号の解釈がほとんど進んでいない。

もし、その暗号が解読され、一次構造—立体構造—機能をつなぐ法則性が発見されれば、望みの生物的機能および安定性などの望みの物理的機能をもつ蛋白質を容易に得ることができる。この法則性を発見することは、生命現象の根幹を担っている蛋白質の本質的理解（生命現象の本質的理解へつながる）を可能にするばかりではなく、法則に基づいて設計される人工蛋白質の創造と活用がもたらす応用面への効果は計りしれない。治療薬、予防薬（ワクチンなど）、農薬の開発、機能性食品、酵素製剤、蛋白質素材（素子）などの改良または開発などがあげられる。天然の蛋白質は安全な代謝回転を保障するために故意に安定性の低い構造になっているように見える。そのため、たとえば、バイオ素子として利用するには構造が不安定であったり、構造が複雑すぎる場合が多い。その蛋白質の機能を保持しながら、利用するのに都合のよい性質に変換する必要がある。ときには、その機能も都合のよいように変換できればよい。もしバイオ素子に適した分子が創造できれば、「蛋白質分子素子」が生まれ、電気製品のなかに組み込まれて使われる可能性がある。また、このほかに、新規な性質をもつ蛋白質の創造（プラスチックを分解する酵素など）によって、環境破壊から自然を守ることもできるであろう。

2. 蛋白質工学の研究手法

先にも述べたように、アミノ酸配列から立体構造、蛋白質機能にいたる法則性が解明されていないため、蛋白質工学は、学問としてまだ真に確立しているとはいえない。そのため、蛋白質工学の研究は独特な方法で進められている。すなわち、図に示すように、らせん的に研究を行いながら、学問としての体裁を整えていくやり方である。

まずはじめは、わかっている範囲での天然の蛋白質に関する知見を使って、アミノ酸配列を設計（改変、挿入、削除、創製）する、すなわち「新蛋白質の設計」を行う。次に、この設計図に基づいて、遺伝子工学の技術やペプチド合成の技術を用いて、この新蛋白質をつくり、単離・精製する「新蛋白質の合成」。さて、

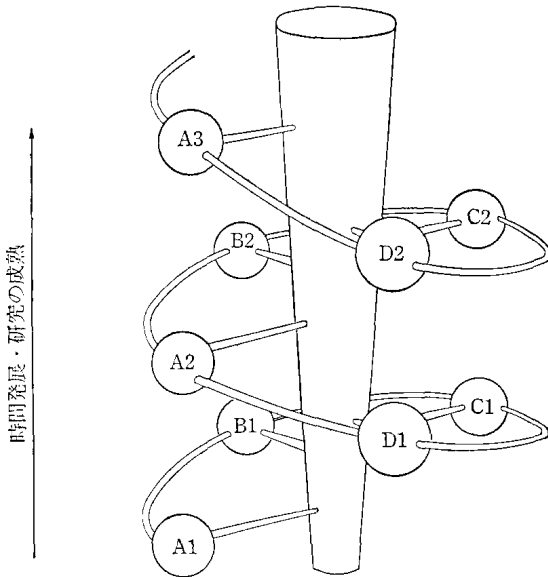


図 蛋白質工学の研究の流れ

A 1, A 2, …は新蛋白質の設計, B 1, B 2, …は新蛋白質の合成, C 1, C 2, …は新蛋白質の構造物性の解析, D 1, D 2, …は新蛋白質の機能の解析の各ステップを示す. 中央の幹は蛋白質の構造機能相関に関する知見を示す. タテ軸の時間発展, 研究の成熟とともに中央の幹は太くなる.

できあがった新蛋白質が, 設計した通りの構造・物性をもっているかどうかを, X線結晶解析や NMR スペクトル測定などの構造解析の実験および物理化学測定の実験によって確認する「新蛋白質の構造物性の解析」. さらに, この新蛋白質の機能を, 生化学実験によって確認する「新蛋白質の機能の解析」. 「流れ図」の中央の幹は蛋白質の機能相関に関する知見を示す. もとの出発点では, 一次構造から三次構造, 機能へ至る道筋の「原理」は確立していないため (中央の幹は細い), 新蛋白質が目標とした性質をただちにもつ (成功する) ことは極めてまれである. むしろ, 当初期待したのとは異なる, ときには思いもかけぬ結果になることのほうが, 現実には多い. しかし, こうしてわかってきた蛋白質についての規則性・特徴に関する知見が増えていけば (中央の幹を太らせる), 次のサイクルのときにはより合理的な設計が可能となり, 最終的にはある目的を的確に実現する設計技術が確立する, すなわち「蛋白質工学」が工学の学問として確立する日が来るものと期待される.

この「流れ図」にかかわる技術としては、生体分子である蛋白質を合成・解析するための生物学や生化学だけでなく、コンピュータやデータベースを利用する計算科学、蛋白質の立体構造を解析する構造化学などが利用されている。このように、物理、化学、生物学、薬学、農学、工学、医学などの幅広い分野の技術が使われている学際的な研究であることも、蛋白質工学の研究方法の一つの特徴である。

3. この本の目的

この本を書くにあたり、著者らは、先に図示した蛋白質工学研究の「流れ図」の通りに、この本の読者が各自で蛋白質の設計を行う際の指針を与えることを目標とした。

この目標のため、第1章、第2章で、まず現状での蛋白質の構造・機能・物性に関する知見を整理した。そして、第3章で、新蛋白質を設計する際の設計手法を示した。改変蛋白質の具体的な合成技術・構造解析法に関しては、他の成書にゆずり、本書では一切触れないことにした。ただし、あまり紹介されることのない、蛋白質の物性解析法に関しては、第2章で解説した。

蛋白質工学研究の「流れ」のさまざまな具体例を、特に蛋白質の安定化に関して第4章で紹介した。蛋白質の新機能の設計と、全く新規な人工蛋白質の設計(*de novo* 設計)に関しては、図示したような「流れ」にすら未だ研究が進んでいないため、それぞれ、第5章と第6章にいくつかの例を紹介するにとどめた。

少し専門的な話題については、文中の囲み記事で読者の理解の助けとした。また、蛋白質の立体構造の理解を深めるため、構造の図はステレオ視ができるように新たに作図を行った。

以上のような構成のため、前半の第1章、第2章、第3章は、通常の教科書と同様に、ある程度体系的な記述がなされている。しかし、後半の第4章以降は、著者らにとってもホットな話題が多いため、レビュー的な記述となってしまった。そのため、必ずしも図示した「流れ」の通りに原理がだんだんよくわかってきたというわけにはいかず、読者のなかにはとまどわれる方もあるかもしれない。しかし、この状況こそが蛋白質工学の現状であるため、お許しいただくとともに、蛋白質は一筋縄ではいかないことを実感していただきたい。将来の夢は大きいですが、その実現のためには、系統的な蛋白質の基礎研究が是非とも必要な理由

がここにあるわけである。いろいろな分野の学問を身につけた特に若い世代の研究者が、この蛋白質工学に興味をもって研究に参加され、蛋白質工学を真の学問として花開かせてくれることを希望するしだいである。

本書で解説した図には、他書からの引用もあるが、使用に関して、快く承諾していただいた原著者に感謝の意を述べておきたい。また、本書の原稿を読み適切な助言をしていただいた、阿久津秀雄博士（横浜国立大学工学部）、小笠原京子博士（大阪大学蛋白質研究所）、木寺詔紀博士（蛋白質工学研究所）、城所俊一博士（相模中央化学研究所）、杉野義信博士（関西医科大学教養部）に深く感謝する。

1991年10月

油 谷 克 英
中 村 春 木

筑波大 内高俊雄 筑波大 岡崎 誠編
教授 教授

応用化学 5 基礎物性化学
講座 座

A 5 判 200頁 定価3296円

イオン結合から始まり最近のトピックスまでを詳細に解説。〔内容〕ガイダンス／化学結合と結晶構造／格子振動と物性／電子状態の基礎理論／電気的物性／磁気的物性／光物性／アモルファス物性／表面の化学／超微粒子，粒界の化学／参考書

京大 木村 光 京大 大村田幸作編
教授 助教授

応用化学 12 遺伝子工学
講座 座

A 5 判 212頁 定価3399円

〔内容〕遺伝子工学の原理とその展開／宿主ベクター系の開発と形質転換／目的酵素タンパク質の遺伝子の取得／遺伝子の発現／各種生物機能をもった細胞の育種とその利用／安全性の評価（育種生物の自然界への放出と工業化指針）。

筑波大 小宮山真 東大 荒木孝二著
助教授 講師

現代応用化学シリーズ2

分子認識と生体機能

A 5 判 136頁 定価2884円

生体反応，特に酵素反応及び核酸による情報伝達，保存における分子認識の機構を，分子レベルまで掘り下げて解説。〔内容〕生体機能における分子認識の重要性／酵素・核酸における分子認識の基礎／酵素の分子認識と機能／核酸と分子認識

理化学研究所 大石 武編著
主任研究員

現代化学 12 天然物化学
講座 座

A 5 判 176頁 定価3502円

動・植物によって生合成される有機化合物に関する化学がすなわち天然物化学であるが，本書は医薬・農薬・香料・染料等の分子量1000以下の低分子化合物をめぐって「化学」と「生物活性」を記述し，発展，神経伝達等まで幅広く解説。

東大 軽部征夫監修 三菱化学 広瀬幸夫訳
教授 所長

バイオテクノロジーと膜の科学

A 5 判 308頁 定価5356円

近年，材料科学，化学，化学工学，生物学あるいは医学関連学科において，バイオテクノロジーおよび膜の研究の進展は目を見張るものがある。本書は，最新の内容をいねいに解説しながらそれらの全体像，問題点の整理，今後の展望を示す。

前千葉大 細谷東一郎編
教授 教授

甲状腺ホルモンと関連蛋白質
—基礎と臨床—

A 5 判 216頁 定価4944円

〔内容〕甲状腺の形態学／生体とヨウ素／チログロブリン／甲状腺ペルオキシダーゼ／甲状腺細胞の培養法・培養系／自己免疫／抗甲状腺ホルモン抗体／甲状腺ホルモン結合蛋白質／標的細胞の甲状腺ホルモンレセプター・結合蛋白質

神戸大 松中昭一 神戸大 新家 龍編
教授 教授

新農学 1 バイオテクノロジー
シリーズ

A 5 判 180頁 定価2884円

作物・園芸・畜産・農芸化学など農学の各分野にわたるバイオテクノロジーについて，それぞれ専門分野の執筆者が初歩的なことから高度なことまで要領よくまとめた入門書。農学系学生のテキストとして，教師や現場技術者の参考書として最適

日本農芸化学会編
日本農芸化学会ABCシリーズ4

酵 素 I

—バイオテクノロジーへの指針—

A 5 判 192頁 定価3605円

酵素の高次構造と機能，耐熱性酵素の構造と特性，細胞生物学における酵素研究，セリンカルボキシペプチターゼ，酢酸菌細胞膜の脱水素酵素，臨床分析用酵素の開発，酵素によるタンパク質特性の改変，微生物変換によるアミノ酸生産などを記述。

定価（消費税込）は1991年10月現在

目 次

1. 蛋白質の構造とその特性	1
1.1 蛋白質分子	1
1.1.1 蛋白質とはアミノ酸の鎖である(化学的意義)	1
1.1.2 蛋白質は生物情報の発現体である(生物学的意義)	3
1.1.3 蛋白質は特異な立体構造をもっている(物理学的意義)	3
1.1.4 蛋白質は原則として固有の立体構造に自発的に折りたたまれるが、他の因子も働いている	4
1.1.5 分泌蛋白質は細胞質蛋白質とは異なる特徴をもつ	4
1.2 20種類のアミノ酸の個性	5
1.2.1 各アミノ酸の個性は側鎖の化学的な特性に由来する	5
1.2.2 各アミノ酸の物理化学的特性	5
1.2.3 アミノ酸と蛋白質との関係は統計的にも調べられている	5
1.3 蛋白質の階層的な立体構造	7
1.3.1 蛋白質の構造には階層性がある	7
1.3.2 蛋白質の部分構造に、構造的・機能的な特定のアミノ酸配列をもつモチーフ構造が見つかっている	7
1.3.3 規則性のある二次構造が蛋白質中に多く観測される	8
1.3.4 大きな蛋白質には多くの場合ドメイン構造がある	14
1.3.5 エキソンは蛋白質中のコンパクトな部分構造(モジュール)によく対応している	15
1.3.6 蛋白質中の構造は二次構造の並び方によって分類できる	16
1.3.7 S-S結合は蛋白質中における唯一の遠距離的な共有結合である	19
1.4 蛋白質の立体構造を決定する因子	19
1.4.1 蛋白質 N(天然)状態の古典力学的描像	19
1.4.2 水溶液中での立体構造を決定するのは、N(天然)状態と D	

(変性)状態との間のギブズ自由エネルギー差である……………	25
1.5 蛋白質と溶媒分子との間の相互作用……………	26
1.5.1 蛋白質の分子表面には親水性アミノ酸が位置し、蛋白質内 部には疎水性アミノ酸が位置している……………	26
1.5.2 荷電アミノ酸は蛋白質内部にはほとんど観測されない……………	28
1.6 水素結合……………	29
1.6.1 水素結合は非共有結合原子間に働く強い引力である……………	29
1.6.2 蛋白質中には多くの水素結合ネットワークが観測される……………	30
1.7 蛋白質の静電的性質……………	31
1.7.1 荷電アミノ酸、極性部、分極の3つの要素が蛋白質の静電 的性質を定める……………	31
1.7.2 静電エネルギーの低い蛋白質の構造は安定性が高い……………	33
1.7.3 静電的性質はさまざまな分子認識機構や反応に関与している……………	35
1.8 蛋白質分子の柔らかさ……………	36
1.8.1 蛋白質は常温下でゆらいでいる……………	36
1.8.2 蛋白質の柔らかさはシミュレーション計算でも再現できる……………	40
2. 蛋白質の構造形成機構……………	45
2.1 蛋白質の変性は可逆的……………	45
2.2 D(変性)状態の構造……………	45
2.2.1 D(変性)状態のCDスペクトル……………	46
2.2.2 変性剤による変性状態と熱変性状態……………	47
2.3 変性の熱力学量……………	49
2.3.1 変性曲線による解析……………	50
2.3.2 カロリメトリーによる解析……………	54
2.3.3 変性に伴う熱容量変化($\Delta_p^{\ddagger}C_p$)の意味……………	56
2.3.4 水中の変性のギブズ自由エネルギー変化($\Delta_p^{\ddagger}G^{H_2O}$)は小さい……………	57
2.3.5 低温変性……………	58
2.4 変性の中間体(molten globule)……………	60
2.4.1 酸変性シトクロムCに塩を加えると二次構造が形成される……………	61
2.4.2 酸変性 α ラクトアルブミンは三次構造は壊れているが、二	

次構造は保持されている	62
2.4.3 Molten globule 状態は蛋白質構造形成の中間状態	63
2.5 構造形成の初期過程	64
2.5.1 ヘリックス形成の初期過程	64
2.5.2 β ターンによる構造形成	65
2.5.3 初期構造の安定性	67
2.6 構造形成中間体の確認	67
2.6.1 パルスラベルした水素を NMR で確認	67
2.6.2 速度論的研究から構造形成過程をさぐる	70
2.7 プロリン異性化による影響	75
2.7.1 構造形成の遅い反応と速い反応	75
2.7.2 プロリン \rightarrow アラニン置換によって遅い反応が取り除かれた例	76
2.8 S-S 結合の形成	77
2.8.1 ウツスイ臓トリプシンインヒビターの例	78
2.8.2 リゾチームの例	80
2.9 生体内での構造形成	81
2.10 構造形成を助ける蛋白質の存在(シャペロニン)	83
2.10.1 熱ショック蛋白質	83
2.10.2 大腸菌のシャペロニン	84
2.10.3 シャペロニンの立体構造	85
3. 天然蛋白質の改変の原理	86
3.1 新しい構造の導入	86
3.1.1 改変した新しい蛋白質構造のモデリング	86
3.1.2 変換蛋白質の仮の構造をまず考える	86
3.1.3 構造エネルギー計算によって安定な立体構造を探索する	88
3.1.4 蛋白質分子運動の計算によって低い構造エネルギーをもつ 構造探索が行える(simulated annealing method)	91
3.1.5 計算機によるモデリングの例	91
3.2 新しい物性の導入	93
3.2.1 構造安定性変換の設計には原則がある	93

3.2.2	水素結合のエネルギーは実験的に求められている	94
3.2.3	S-S 結合やクロスリンクによるペプチド鎖のエントロピー減少は定量的に見積もることができる	95
3.2.4	X→Pro あるいは Gly→X のアミノ酸置換は、D(変性)状態のエントロピーを低下させ、熱安定性を向上できる	97
3.2.5	疎水性エネルギーは各原子の溶媒露出表面積から推定できる	98
3.3	新しい機能の導入	101
3.3.1	pK 値の変換は静電ポテンシャル計算によって見積もれる	101
3.3.2	連続体近似によって溶媒の効果を取り入れた静電ポテンシャルの計算が行える	101
3.3.3	ズブチリンとその変異蛋白質の活性の pH 依存性は、連続体近似でよく説明されている	103
3.3.4	基質結合にかかわるギブズ自由エネルギー変化から結合定数が見積もれる	105
3.3.5	自由エネルギー摂動法によって、ギブズ自由エネルギー変化が定量的に計算される	106
4.	アミノ酸置換による安定性の変化	111
4.1	一残基置換で安定性は著しく変化する	111
4.2	分子内部の疎水性と安定性の相関関係	113
4.2.1	トリプトファン合成酵素 α サブユニットの Glu49 での置換	113
4.2.2	T4 フェージリゾチームの Ile3 の置換	116
4.2.3	バルナーゼの分子内部残基の置換	117
4.2.4	置換残基の疎水性能と安定性($\Delta\Delta G$)との関係	118
4.3	分子内部のパッキングの調整	118
4.3.1	蛋白質の硬い構造にある残基は安定性に寄与	118
4.3.2	疎水的コアで許容されるパッキング	119
4.4	分子内部のパッキングのひずみは安定性を低下させる	121
4.4.1	パッキングのひずみによる安定性の低下の定量	121
4.4.2	分子内部の空洞を疎水性残基で置換	122
4.4.3	分子内部での、置換残基の疎水性と安定性が相関しない場	

合がある	122
4.5 水素結合の役割	123
4.5.1 より強い水素結合の形成で、ズブチリシンの熱安定性を高める	123
4.5.2 水素結合の欠落による不安定化——T4 ファージリゾチーム 157 位変異型	124
4.6 安定性の pH 依存性の変換	126
4.7 α ヘリックス内に存在する残基の置換	128
4.7.1 ヘリックス形成能の高い残基への置換	128
4.7.2 ヘリックス双極子と荷電アミノ酸残基との相互作用を強める	131
4.8 構造エントロピーと安定性——Gly 残基の置換	132
4.8.1 Gly→Ala 置換で安定性を高める	133
4.8.2 T4 ファージリゾチームの Gly→Asp 変異型は安定性を低下させる	133
4.9 構造エントロピーと安定性——Pro 残基の役割	135
4.9.1 Ala→Pro 置換で安定性を高める	135
4.9.2 トリプトファン合成酵素 α サブユニットの保存 Pro 残基の役割	135
4.9.3 T4 ファージリゾチームの Pro 86 での一連の置換	138
4.10 構造エントロピーと安定性——S-S 結合の役割	140
4.11 金属結合部位導入による蛋白質の安定化	142
4.12 多重置換による安定化効果の加算性	144
4.13 部位によって置換による安定化効果は異なる	145
4.14 蛋白質の安定性を改良するためのルール	147
5. アミノ酸置換による機能変換	149
5.1 自然が行った蛋白質の機能変換	149
5.2 乳酸脱水素酵素からリンゴ酸脱水素酵素への変換	151
5.3 ズブチリシンの機能変換	153
5.3.1 ズブチリシンの触媒機構	153

5.3.2	変異型ズブチリシンの基質特異性	154
5.3.3	酵素の至適 pH の変換	156
5.3.4	基質の援助を得て働く酵素への変換	157
5.3.5	融合蛋白質を切断する試み	158
5.4	トリプシンの機能変換	159
5.4.1	基質特異性の変換	159
5.4.2	チオールプロテアーゼへの変換	160
6.	蛋白質の <i>de novo</i> 設計と合成	161
6.1	α バンドル型蛋白質の設計と合成	161
6.1.1	α バンドル型蛋白質が <i>de novo</i> 設計され合成もされている	161
6.1.2	機能をもつ両親媒性 α ヘリックスの合成の試み	164
6.2	all β 型蛋白質の設計と合成	166
6.2.1	β 構造をもつ <i>de novo</i> 設計蛋白質の合成は難しい	166
6.3	そのほかの <i>de novo</i> 蛋白質の設計と合成	167
6.3.1	対称性のある構造をもつ <i>de novo</i> 蛋白質が設計され、その合成が試みられている	167
6.3.2	ペプチド鎖の折りたたみの問題を、鋳型によるペプチド合成によって回避する試み	168
付 録		171
参考文献		188
索引		203

容易にステレオ視ができる立体メガネが
(株)東京化学同人から 750 円で販売されて
います。連絡先は下記の通りです。

東京都文京区千石 3 丁目 36-7
株式会社 東京化学同人
電話 03 (3946) 5311 (代)
FAX 03 (3946) 5316

1.

蛋白質の構造とその特性

1.1 蛋白質分子

1.1.1 蛋白質とはアミノ酸の鎖である(化学的意義)

蛋白質は、千~数万個の原子からなり、数千~数十万の分子量をもつ複雑な高分子である。しかし、もとをたどれば、20種類のL型アミノ酸モノマーが、1つずつペプチド結合によってつながって(縮合されて)できている、1本の分子鎖(ペプチド鎖)である。このペプチド鎖の骨格をなす部分を主鎖と呼び、おのおののアミノ酸が主鎖から側鎖を伸ばしている(図1.1)。

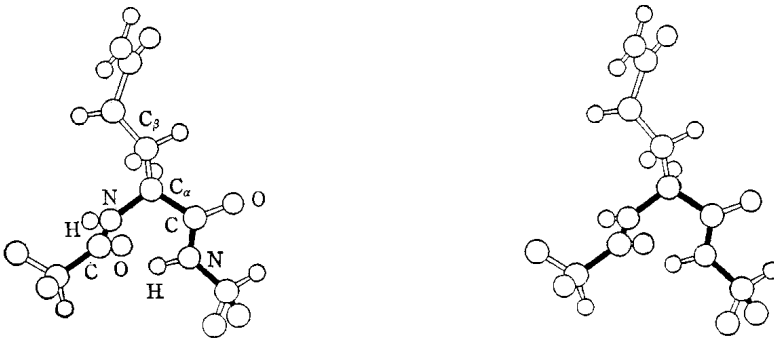


図 1.1 ペプチド鎖の主鎖と側鎖(L-グルタミン酸)

黒く塗りつぶした部分が主鎖であり、側鎖は C_{β} から上方に伸びている。水素原子は小さい球、それ以外の原子を大きめの球で表す。

ペプチド結合部位は、図1.2に示すように、 $C=O$ のカルボニルの二重結合による π 電子が $N-C$ の共有結合にしみだし、 sp^2 混成軌道との共鳴状態となっている。このため、ペプチド結合部は、 C_{α}^{n-1} 、 C^{n-1} 、 O^{n-1} 、 H^n 、 N^n 、 C_{α}^n の6つの原子が同一平面上に乗る平面構造が、エネルギーの低い安定な構造である。実際の蛋白質中で観測されている構造も、ほとんどすべて、この平面構造となってい

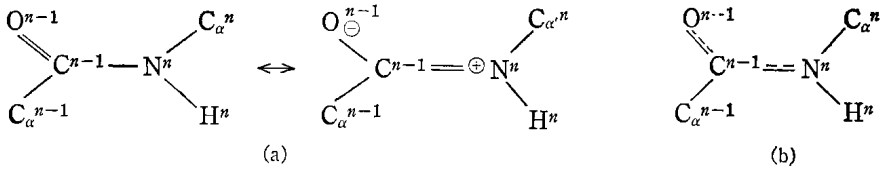


図 1.2 ペプチド結合

- (a) 2つの極限の構造. 左側では, カルボニル酸素 O^{n-1} は C^{n-1} と二重結合を形成し, 右側では, N^n の電子が O^{n-1} に移って, C^{n-1} と N^n 間に二重結合が形成される.
- (b) (a) の2つの極限構造が混ざり合っ(て共鳴し), 二重結合中の π 電子が $C^{n-1}-O^{n-1}$ と $C^{n-1}-N^n$ の両方にわたって広がった状態となっている.

る. ところで, 平面構造には C_{α}^{n-1} と C_{α}^n とがトランスの位置のものとシスの位置のものがあり得る(図 1.3). エネルギー的には, トランス構造の方がシス

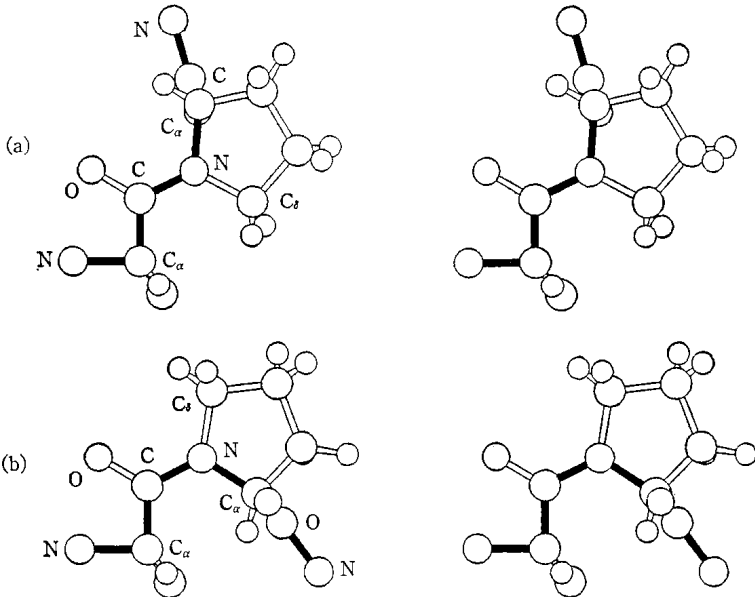


図 1.3 プロリン残基の N 末端側におけるペプチド結合
 黒く塗りつぶした部分が主鎖, 白抜き部分の部分が側鎖である.
 (a) 通常のトランス型のペプチド結合
 (b) シス型のペプチド結合

構造に比べて 2kcal/mol ほど安定であり, 天然の蛋白質中に観測される構造もほとんどがトランス構造である. ただし, n 番目のアミノ酸残基がプロリンのときだけは例外で, トランスとシスの差は, C_{α}^n と C_{β}^n 原子とが入れ替わるだけであり, エネルギー差が小さい. 天然の蛋白質中にも, 多くのシス-プロリンが見