

# 生物化学最近の進歩

第 2 集

# 生物化学最近の進歩

## 第 2 集

生物化学最近の進歩編集委員会編

### 編 集 委 員

兄 玉 桂 三 (委員長)

左 右 田 徳 郎 佐 橋 佳 一

森 高 次 郎 上 代 皓 三

### 編 集 幹 事

武 藤 聰 雄 三 浦 義 彰 菊 地 吾 郎

佐 伯 誠 道 吉 田 昭 山 下 恭 平

技 報 堂

生物化学最近の進歩 第2集

昭和 31 年 3 月 25 日 印刷

昭和 31 年 3 月 30 日 発行

編者 「生物化学最近の進歩」  
編集委員会

発行兼者 大 沼 正 吉  
印刷者 東京都港区赤坂溜池 5

印刷所 株式会社 技 報 堂  
東京都港区赤坂溜池 5

---

発行所 株式会社 技 報 堂

東京都港区赤坂溜池 5

電話赤坂(48) 3 8 3 4 番

振替口座東京 10 番

## 序

最近十余年間の生物化学の進歩発達は非常に目覚しく報文の数もすこぶる多い。この進歩の現状を正確に把握するためにはすぐれた綜説によるのがもつとも効果的であろう。

このために編者らは斯学の第一線の権威者の手による綜説を集め年刊の「生物化学最近の進歩」として刊行することを計画し、多数研究者の協力により先に第1集を刊行して多大の賞讃を得たが、さらに第1集に集録し切れなかつた重要項目を集めこゝに第2集上梓の運びとなつた。

先に我々の刊行した「生物化学ハンドブック」の姉妹書として本書は各分野におけるその後の進歩を綜述したものであり、諸賢の好伴侶となることを信じて疑わない。

本書刊行にあたり絶大な熱意を寄せられた技報堂大沼正吉社長に感謝する。

1956年3月

「生物化学最近の進歩」編集委員会

左右田徳郎

## 目 次

## 蛋 白 質

- |               |                        |     |
|---------------|------------------------|-----|
| 1. 蛋白質変性の物理化学 | 今堀 和友                  | 1   |
| 2. 蛋白質の紫外線吸収  | 荒谷 真平                  | 36  |
| 3. 血清蛋白ゲル化現象  | 宮本 璋<br>坂岸 良克<br>千葉 靖男 | 76  |
| 4. キサンツーレン酸   | 古武 彌人                  | 121 |

## 核 酸

- |         |       |     |
|---------|-------|-----|
| 5. 核酸代謝 | 三浦 義彰 | 149 |
|---------|-------|-----|

## 脂 質

- |                 |               |     |
|-----------------|---------------|-----|
| 6. Phospholipid | 緒方 富雄<br>原 一郎 | 175 |
|-----------------|---------------|-----|

## ホルモン

- |                  |       |     |
|------------------|-------|-----|
| 7. 皮質ホルモンの生合成と代謝 | 山崎 三省 | 215 |
|------------------|-------|-----|

## 生体色素

- |               |                |     |
|---------------|----------------|-----|
| 8. 血色素の生合成    | 上代 皓三<br>菊地 吾郎 | 246 |
| 9. 生体色素の遺伝生化学 | 吉川 秀男<br>荻田 善一 | 274 |

## ビタミン

- |                          |                |     |
|--------------------------|----------------|-----|
| 10. ビタミン B <sub>12</sub> | 佐橋 佳一<br>岩本 喜一 | 308 |
| 11. コエンザムAの有機化学          | 舟橋 三郎          | 335 |



# 1. 蛋白質変性の物理化学

§1. 序	1	3.2	ヘモグロビンの変性	15
1.1 変性の定義	1	3.3	ペプシンの変性	17
1.2 種々の変性剤	2	3.4	血精アルブミン	18
1.3 変性防止剤	7	3.5	卵白アルブミン	19
§2. 変性蛋白質の性質	8	§4. 変性の熱力学	21	
2.1 アミノ残基の活性化	8	4.1 平衡定数による方法	22	
2.2 分子量	9	4.2 カロリメーターによる方法	23	
2.3 分子形	10	§5. 変性とは何か	27	
2.4 分子の内部構造	10	5.1 変性の機構	27	
2.5 光学的性質	12	5.2 分子形の変化	30	
2.6 生物学的性質	12	5.3 生物学的特性と変性	32	
§3. 変性の反応速度	13	§6. 結 び	32	
3.1 変性の可逆性	14			

## §1. 序

### 1.1 変性の定義

蛋白質の変性という言葉は定義することはなかなかむずかしい。変性とは読んで字の如く蛋白質が天然蛋白質としての性質に変化を来すことをいうのであろうが、それでは肉や魚が我々の胃や腸で消化されて、今までは腸壁を通り得なかつたものが通り得るようになったなどという場合も性質に変化が起つたから変性と呼ぶべきであろうか。現在の常識からいえば変性とはいわない。変性の歴史をみると昔は変性の定義をむしろ非常に狭く用いていたようである。変性の研究に対しては古くは Hardy<sup>1)</sup>らの研究や Arrhenius<sup>2)</sup>の速度論的研究もあるが、これらの定義を最初に行つたのは中国の Wu<sup>3)</sup>であらう。すなわち彼によれば「変性とは曾つてはよく落けていた溶液に蛋白質が溶けなくなるような性質の変化をいう」と定義される。しかしその後の研究によれば変性した後もなお水溶液として安定に存在し得る場合もあることが分り Wu の定義の狭すぎることが分つてきた。現在の定義としては Neurath ら<sup>4)</sup>によつて与えられた「変性とは天然蛋白質のもつ特有の構造が分解でない変化を受け、その結果化学的、物理的または生物学的性質に一定の変化の生ずる現象である」という定義が最も妥当であるように思える。ただし蛋白質が可逆的に水素イオン、水酸イオンなどと結合したり、またアセチル化のような有機化学的な置換を受けたりするような場

合には変性とは呼ばない。

しかしこのように定義を下した所で実際には Putnam<sup>5)</sup> もいつているように変性をみつけること (detect) は定義すること (define) よりむずかしいのであり、更の一つの蛋白質について変性が起つていないということを証明することは更にむずかしいのである。

## 1.2 種々の変性剤

変性を起す原因となるものには実に多くのものが知られている。最も有名なのは熱による変性であるが、このような物理的な原因も一応これを変性剤と呼ぶことにしよう。

(a) 熱 変性剤を分類するのによくこれを物理的、化学的および生物的に分けることが多く Neurath<sup>6)</sup> もこの方法によつて分けている。しかしその後の研究によつてこの分類法は必ずしも妥当でないことが分つてきた。熱による変性は物理的変性の代表的のものと考えられているが、 Kauzmann<sup>7)</sup> は熱変性に於て実際に変性剤の役目をするのは水の分子であると考えている。すなわち水の分子が直接蛋白質の分子と水素結合を作るため、蛋白質の分子内水素結合が切れ、その結果は分子の形に変化をきたすというわけである。従つてこれはむしろ化学的変性に入れられるような性質をもっているわけで、酸変性や尿素変性などと類似しているのである。実際に多くの蛋白質について熱変性の反応速度は溶液の pH によつて大いに異なることが知られているし、Steinhardt<sup>7)</sup> らは変性速度が pH によつてどのように変るかを表す理論式を出している。これらの取扱ひについては変性の反応速度の所で詳しく述べよう。ただ熱変性の特徴としてその温度係数が非常に大きいことがある。そのため数度の温度の差によつて反応が完全に起つたり完全に起らなかつたりするように見える。この為種々の蛋白質について変性温度とか凝固温度とかいうものが報告されている程である。

### (b) 機械的な力

1. 氷結 氷結による変性については、古く Nord の論報<sup>8)</sup> があるが、その後まともな仕事はないようである。但し卵アルブミン、リボ蛋白質や酵素などが氷結によつて変性するという報告が最近なされている<sup>9)</sup>。

2. 音波 蛋白質は超音波によつて凝固するものが多い。その原因としては超音波により水中にとけていた気体の泡がつぶれることによつて蛋白質分子に部分的な力が加わる為であろうといわれる<sup>10)</sup>。音波による変性で興味ある事実は、分子の形や構造によつて音波による変性の度合が異なることである。例えば同じバクテリオファージでもオタマジクシ型の T<sub>2</sub>, T<sub>4</sub>, T<sub>6</sub> などはすぐ壊れるが、球形の T<sub>1</sub>, T<sub>3</sub> は容易にこわれない<sup>11)</sup>。また 9000 サイクル/秒位の超音波を当てるとバクテリアだけが壊れるが中の酵素は少しも傷つかないから酵素の製造に利用される。

3. 表面変性 蛋白質の溶液は非常に泡立ち易いものも多く、これらはかなりうすくても相当安定な泡を作る。卵のアルブミンは最もよい例である。これは蛋白質が

表面で変性をうけ其処に不溶性の安定な膜を作ることに原因している。蛋白質を人為的に空気-水の界面に拡げ非常に薄い膜を作ることは E. Gorter<sup>12)</sup> によつて始められて以来種々の研究が行われたが Langmuir<sup>13)</sup> は彼が脂肪酸の薄膜について得た技術を蛋白質の薄膜に応用することによりこの膜の厚さが約 10 Å であることをたしかめた。このことは表面変性をうけた蛋白質は丁度ポリペプチド鎖の厚さであること、すなわち球状蛋白質は表面変性によつて完全に伸びていることを示している。従つて Neurath ら<sup>4)</sup> は表面変性こそ完全な変性であるといつている。この議論の是非はとも角として、表面変性された蛋白質は安定な膜を作り、且つその構造もある程度分つているので、蛋白質の持つ生物学的活性が表面変性によつてどのように変化するかをしらべれば、その活性中心がどのようなものであるかを推論することができるのである。Adams ら<sup>14)</sup> はバクテリオファージが表面変性により失活することを認めて居るし、Rothen<sup>15)</sup> はある種の抗原はこれを表面変性してもなお抗体と結合する能力を失わないのみならず、抗原と抗体の間に薄い合成樹脂の膜を挿んでも抗原と抗体の結合力は依然存在することを発見すると共に、この事実から抗原抗体間に働く特異的な力是一種の遠達力であろうと推論して多くの注目を集めた。我国に於ては立花ら<sup>16)</sup> が表面変性した抗原と抗体との間の反応について重要な研究を発表しつつある。酵素の表面変性による失活の問題も Langmuir<sup>13)</sup> その他によつて研究されているがはつきりした結論は得られていないものが多い。最近ペプシンが表面変性により完全に失活するという発表<sup>17)</sup>があるが、これに対しては私はむしろ疑問をもつている。

表面変性した蛋白質を水面で直接種々の物理化学的性質の測定に用いこれから天然の蛋白質の大きさや構造を結論しようという試みもある。これについては次章で述べることにしよう。

表面変性を空気-水の界面で行わず油-水の界面で行つても安定な膜を得る。この後者によつて得られた膜は前者のものといささか構造を異にする場合が多い。殊に後者の場合は細胞液と細胞膜との境界で起るべき変性の模型となり得るためこの方面の構造的研究も数多くなされている<sup>18)19)20)</sup>。なお蛋白質の表面膜に関しては Bull<sup>21)</sup> の詳しい総合報告と最近では Davies<sup>22)</sup> の総合報告がある。

4. 加圧 5,000~10,000 気圧に加圧すると蛋白質は凝固するし、また酵素などは活性を失う。すなわちペプシンなどは 6,000 kg/cm<sup>2</sup> の圧力で不活性化される<sup>23)</sup>がタバコモザイクウイルスは 6,000 気圧まで加圧しても安定である。これに反し同じウイルスでも *Staphylococcus* のバクテリオウイルスは 2,000~5,000 気圧で活性を失う<sup>24)</sup>。Curl と Jansen<sup>25)</sup> はトリプシンおよびキモトリプシンの加圧による変性が液の pH によつて大いに左右されることを発見し、この原因として加圧下に変性したものは完全に不活性化したものと、まだ一部折りたたまれた所の残っている活性なものとの混合物であろうと推論した。

しかし加圧する圧力が十分でない時には変性を起さないのみか逆に熱変性を阻止する作用を示す。これは熱変性に於て活性錯化合物を作る時に体積の膨脹を行うから加

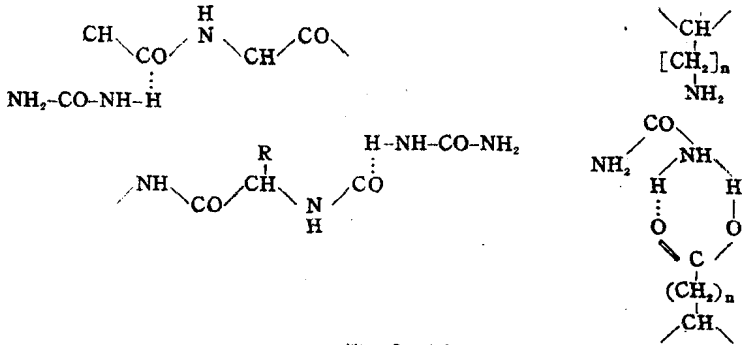
圧はこの反応を妨げるのである。Johnson<sup>26)</sup> は 65°C に於ける血清グロブリンの凝固を阻止するのに 700 気圧までの加圧は有効であると述べているし、Luciferase についても同様の効果が Eyring<sup>27)</sup> らによつて研究されている。彼らはこの研究から加圧による変性には常に水の存在を必要とすると考え、加圧変性の原因を加圧による水の構造の変化に帰した。

### (c) 種々の輻射線

1. 紫外線 紫外線で変性させる場合 3,100 Å より長い波長の光では変性させることはできない。これは蛋白質のある部分が光を吸収して切れるのであると考えられるがまだ詳しいことはよく分らない。紫外線による生物学的不活性化の反応は一分子反応であるが量子収量は非常に低い<sup>28)</sup>。紫外線変性の特徴は他の変性の場合と同様、溶解度の減少、SH 基の表われること、生物学的活性が失われることなどが挙げられる他、ウレアーゼなどについては紫外線により多分散になり均一でなくなることが知られている<sup>29)</sup>。またヘモシアニンのようなものに長く紫外線を当てると加水分解を起す<sup>30)</sup>。これに反しある物に対しては紫外線の照射は却つてその生物学的活性を盛にすることもある。細菌<sup>31)</sup>およびファージ<sup>31)</sup>について最近の報告がある。

2. 放射線  $\alpha, \beta, \gamma$  などの放射線が殺菌作用や細胞を破壊する作用のあることは可成古くから知られているが、一方これらの放射線は酵素などを不活性化するいわゆる変性作用をも行うから変性剤の一種である。放射線が何故変性を行うかについては二つの説が出されている。その一つは“hit”説または“target”説と呼ばれるもので放射線が直接蛋白分子または細胞に吸収されこれを不活性化すると考えるものであり、他の一つは“間接作用”説と呼ばれるもので放射線は水と作用して  $H_2O_2$ , H イオン, OH イオンなどを作り出すがこの二次的にできたものが蛋白質の変性に与ると考えるのである<sup>32)</sup>。一般に加える線量が少い時には後者の機構、多い時には両方の機構が並行して起ると考えられている。放射線による不活性化も可逆的に起るものと、不可逆的に起るものとの二種類があり前者の例としてはいわゆる“SH 酵素”の名を以て呼ばれている一群<sup>33)</sup>があり、これらは一度不活性化してもグルタチオンを加えることにより元に戻すことができるし、また予めグルタチオンを加えておくことにより不活性化を予防することができる<sup>34)</sup>。このことは Eyring<sup>33)</sup> のいわゆる“Reaction segment” (§5. 参照) がこの場合 -SH 基であることを示しているものとして興味深い。後者の例に属するものとしてはカルボキシペプチダーゼ、ペプシン、トリプシン、リボスクレアーゼなどがある<sup>35)</sup>がこの反応は濃度が稀い程よく不活性化されることが実験的にたしかめられた。このことは前の二つの説の中“間接作用”の説に加担する事実であることに注意すべきである。また卵アルブミンについては放射線によつて変性されたものの吸収スペクトルが、酸、アルカリ、紫外線などで変性されたものと著しく異つているという発表がある<sup>37)</sup>。最近 Pollard<sup>36)</sup> はサイクロトロンで重水素をペプシン、トリプシン、キモトリプシン、*Escherichia coli* のファージ T<sub>2</sub> などによつつけて不活性化せしめその収量から酵素の場合には分子の何処に当つても不



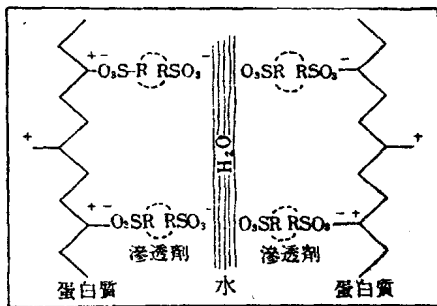


第 2 図

のような形になると考えるのである。このことは尿素の水素四つをメチル基でおきかえると変性の能力が失われることによつても分るが一方グリシンのようなアミノ酸は蛋白質の一部と水素結合を作る能力に於て決して尿素に劣るものでないにもかかわらず変性の能力が全くないというのは一寸不可解な問題である。またグワニジン塩でも硫酸塩、炭酸塩および酢酸塩では変性能力に欠けているということも上のような簡単な考え方では説明がつかない。尿素変性の機構については §5. で再び詳しく説明を試みるであらう。

2. イオン性滲透剤 陰性の滲透剤は最も強力な変性剤の一つである。これによつて表わされる SH 基の最大量やまた粘度増加の最大量は塩酸グワニジンによつてもたらされるおのおのの最大量に等しい。所が陽性の滲透剤は -SH 基を出すことができない<sup>(42)</sup>ということはむしろ不思議な現象である。

また滲透剤はその濃度が比較的うすい時には蛋白質を変性し凝固せしめる働きをもつが、この濃度が大きくなると却つて蛋白質を水中に分散せしめる力の方が強くなる<sup>(41),(45)</sup>。このように水中に分散させられた蛋白質は滲透剤と結合した複合体の形であることは明かであるが、この複合体の形や大いさは共存する塩の濃度によつて左



第 3 図

右される<sup>(4)</sup>。この複合体における蛋白質と滲透剤との結合の仕方はなぜ滲透剤が変性を起させるかの問題とも密接に関係のあることであるが、Putnam は<sup>(4)</sup>滲透剤はそれのもつ電荷と反対符号の電荷を帯びているアミノ残基の部分と結合してこれを変性させるが、更に滲透剤の濃度が増すと更にもう一層滲透剤がついてこの為却つて分子は安定化されると考えた。

(第3図)。これに反し Eyring ら<sup>30)</sup>は滲透剤の無極性部分が無極性のアミノ残基にづくのであろうと考えこの考え方の上に立つて変性機構を考えている。

3. サリチル酸ソーダ メトヘモグロビンに作用して溶解度を減少し、吸収スペクトルを変化するなどの変性作用を示す。またアルギナーゼの変性に当っては塩酸グワニジンより有効であるといわれる<sup>44)</sup>。その濃度と変性速度の関係曲線から推して尿素が蛋白につく時と同様な機構によつて蛋白質と結合すると思われるがこれには反論もある (§3. 参照)。

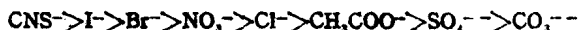
### 1.3 変性防止剤

変性をどうして防止するかという問題は実際問題としても大変重要な問題であるが学問的な立場からいってもこれはどうして変性がかかるかという問題の裏になるわけで興味あるまた大切な問題である。変性の原因が物理的なものである時にはこれを防ぐのは原理的には大変簡単である。すなわち熱、紫外線などを加えぬよう乾燥した暗い且つ温度の低い所においておけばよいことになる。これに反しある試薬を加えて変性を防止する場合もある。このような変性防止剤としては次の三種が考えられる。

(a) 中性有機物 最もよい例は糖である。すなわち糖の存在は熱変性によつて血清アルブミン中に生ずると考えられている電気泳動のC成分の生成を防止するし<sup>45)</sup>、またSH基の出現を抑える<sup>46)</sup>。しかしその原因については明かなことは知られていない。

(b) 長鎖有機イオン 既にのべたように塩酸グワニジンや陰性滲透剤は却つて蛋白質が熱によつて変性されるのを防ぐ性質をもっていることを示す<sup>47)</sup>。例えばβラクトグロブリンとドデシルアルコール硫酸エステルのナトリウム塩 (S.D.S) との複合体は未変性のものに比しはるかに熱に強い<sup>52)</sup>。滲透剤の変性防止作用はうすい所ではCの数が12位までは炭素数の多い程強く、こゝ所ではC<sub>12</sub>~C<sub>14</sub>位に最大がある。このことは滲透剤の結合は単に $\oplus\ominus$ の静電的結合だけでなく、無極性の炭素鎖も少からず関係をしているものであることを示すものである。Karush<sup>53)</sup>の導入した“構造的適応性”(Configurational Adaptivity) という概念はこのことを説明するに妙を得ているように思われる。すなわち彼は蛋白質に例えば一つの滲透剤が静電点に吸着したとするならば、この滲透剤の他の部分にもうまく適合するように蛋白質の構造(ポリペプチド鎖の形)が変化するというのである。何はともあれ結合する滲透剤の数が少なくとも変性を防止する作用のある所からすれば、蛋白質の熱変性に於てはある特定の結合が切れるかどうかの問題で一旦これが切れれば残りの水素結合は丁度ジッパーを外す時のようにわけなく切れると考えられるのである<sup>54)</sup>。滲透剤はこの特定の結合を保護する作用をするものであろう。

(c) 無機電解質 滲透剤の時と同様この場合も陰イオンにこの保護作用が存する。この場合陰イオンの防止作用の強さは離液順列に従う様だ<sup>55)</sup>。



このイオンも吸着されることによりその作用を発揮するのであろう。なぜならば等イオン点のずれ方と陰イオンの種類の間にもやはり離液順列が成立するからである。

## § 2 変性蛋白質の性質

§ 1. の 1.1 の定義の所でものべたように蛋白質の変性に当つては化学的、物理的または生物的の性質の変化を伴う。では一体どのような性質が変化するのか、本章ではこれについて若干の説明を行つてみよう。

### 2.1 アミノ残基の活性化

変性によつて活性化されるもののうち -SH 基は最も有名である。Barron<sup>(41)</sup> は -SH 基には三つの型があることを指摘している。(1) a 型と呼ばれるものでこれは天然蛋白質の表面に露出していると考えられるから変性しなくともニトロプルシッド反応を示し、またフェリシアン化イオンやポルフィリジンとも反応する。(2) b 型または“おそい -SH 基”と呼ばれ中にかくされているのでニトロプルシッド反応やフェリシアン化イオンの還元は行わないけれども *p*-chlormercuric benzonate と結合するもの。(3) は“かくされた SH 基”と呼ばれるもので変性によつて始めて上記の試薬と反応するようになるものである。

肝臓の核蛋白質の SH は全部が a 型であり、卵白アルブミンや血清アルブミン、T.M.V. および馬のグロビンなどは (3) の型だけの SH を含む。これに反しアマンジンキインシュリンは変性しても SH をださない。ウレアーゼは上記の三つの型を全部含むと考えられる。

ウレアーゼ、パパインなどはいわゆる SH 酵素の名で呼ばれる一群に属するもので、その酵素的活性と SH 基との間に一定の関係があるとされているが、最近の研究によればこの活性と関係のあるものは b の型の SH で a の型の SH は酸化しても酵素的活性は失われまいということが分つた。Ambrose ら<sup>(42)</sup> はウレアーゼ 1 分子に 3~4 個の Ag<sup>+</sup> イオンが結合すると失活することをのべているが、これからウレアーゼに含まれる b 型の SH 基の数が 3~4 であるという結論をだすのは早すぎるようである。SH 基の数を測定するには古くから Greenstein<sup>(43)</sup>, Anson<sup>(44)</sup>, Mirsky<sup>(45)</sup> などの方法があるが、最近では AgNO<sub>3</sub> を用いた Amperometric method<sup>(46)</sup> および CH<sub>3</sub>HgNO<sub>3</sub> を用いる方法<sup>(47)</sup> が大変優秀な結果をだしているということである。これに反し b 型の SH だけを測定する方法としての *p*-chlormercuribenzoic acid を用いる方法<sup>(48)</sup> は非常に重要な方法であるといえよう。

-SH 基程有名ではないがこれと同じ程に重要なものにフェノール基  $\text{—}\langle\bigcirc\rangle\text{OH}$  がある。すなわち、ペプシンその他いわゆる“-SH 酵素でない”酵素の活性度にとこの基と密接な関係があると考えられるものが多くあるからである<sup>(49)</sup>。フェノール基も

蛋白質中では内部にかくされていることは明かにされた<sup>64)</sup>。すなわちフェノール基が露出し解離してイオンになるとそのもつ吸収スペクトルが移動するから分る。またこの吸収スペクトルの結果からその解離定数を計算することができる。遊離チロジンの  $pK=10.1$  であるがインシュリン中のチロジンの  $pK=11$  である。これに反し卵白アルブミンでは  $pH=13$  までフェノール基の解離が起らない。これはフェノール基が内部につつま込まれ且つ  $-COOH$  基などと水素結合を作っている為であろうと Crammer らは考えた。これに対し Sizer ら<sup>65)</sup> はチロジンと血清アルブミンの吸収スペクトルを比較しつつ  $pH$  をかえその影響が両者にどのように表われるかをしらべた。その結果  $pH=12$  でチロジンは  $240 m\mu$  に鋭い吸収を示すが、血清アルブミンの方はこの附近にゆるやかな丘を生ずるだけである。この丘の生ずる原因としては加水分解が起つたことを考えて、チロジンは血清アルブミン中では  $-COOH$  とではなく塩基性のアミノ基と水素結合を作っているのでであろうと結論した。

この他変性で活性化されるものには  $-SH$  や  $-\text{C}_6\text{H}_4\text{OH}$  と同様酵素の活性度に關係あると考えられるインドール基や<sup>66)</sup>、またポリペプチド鎖の本数を決定すべき末端の  $-COOH$  や  $-NH_2$  基があるがここでは省略する。

## 2-2 分 子 量

蛋白質はその種類により (a) 分子量は不変だが形だけ変わるもの、(b) 大きさの小さい分子にわかれるもの、(c) 会合を起すものにわけられる。分子量の測定には天然蛋白の場合と同じく、1. 滲透圧、2. 沈降速度、3. 拡散速度、4. 光散乱などの方法が用いられる。

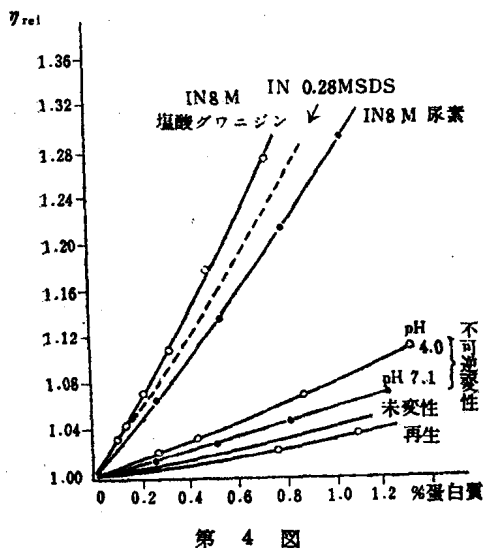
(a) の類に入るものとしては卵白アルブミン、血清アルブミン、血清グロブリンなどの尿素変性の場合である。これに反しミオゲン、馬および牛のヘモグロビンは尿素で半分に、エデステン、エクセルシン、アマンジンは尿素で  $1/6$  に分れる。また  $\beta$  ラクトグロブリンは表面変性で半分に割れる<sup>67)</sup>。T.M.V も小さい単位に分れることが知られている<sup>68)</sup>。

インシュリンも小さい単位に分れるが、この物質に対しては最近 Sanger<sup>69)</sup> が完全にアミノ酸結合順序を明かにし、その折インシュリンの分子は四本のポリペプチド鎖からなりこれはお互に  $-S-S-$  結合によつて結合されていることが判明した。そしてこの四本のポリペプチド鎖の粒子量は  $12,000$  位であることも知られている。所が変性によつて生ずる sub-unit の粒子量について Fredericq<sup>70)</sup> は  $6,000$ 、Harfenist<sup>71)</sup> は  $6,500$  を報告している。Sanger の値と Fredericq らの値のくいちがいは大変興味のある所で今後の研究によつて明かにされると思われる。

(c) のように会合するのは変性に伴つて起る二次的な反応であつて変性そのものの現象ではないと考える人も多いが一部の人は会合は変性の過程の一つであると主張している。

## 2.3 分子形

分子形が変性によつて変ることの最もよい証拠は変性により相対粘度  $\eta_{rel}$  が著しく増加することである。次の第4図にこれを示す。また分子が回転楕円体であると仮定した時の軸比  $a/b$  を拡散定数  $D$  から求めたものは表Iに示してある。



第4図

変化の原因も当然このポリペプチド鎖がほどけることに帰せられる。最近 Doty, および Katz<sup>72)</sup> は血清アルブミンの尿素変性に於ける  $\eta_{rel}$  や  $D$  の変化は血清アルブミンの分子が等方性膨潤を行う為起るのであるという説を提出した。

しかしこの膨潤の考え方では流動複屈折の結果<sup>73), 74)</sup>を説明することができない。すなわち流動複屈折の結果は尿素変性, 熱変性, 酸変性何れも粒が長く延びていることを示している。Fredericq<sup>75)</sup> はこの原因を分子の会合と分子のほどけたことの両方に, Joly<sup>76)</sup> は会合に帰しているが, Foster および Samsa<sup>77)</sup> は卵白アルブミンが尿素や熱で変性された時の不均一性を研究した結果, 等電点近くで変性される時には不均一になっている。すなわち分子は“ほどけ”と会合の両方が併行して起っているが等電点からずつとはなれた所では変性されたものは均一で, 変性では“ほどけ”だけが起っているといっている。

これらのことから考えてみても変性の原因は Doty のような膨潤だけではなさそうである。

## 2.4 分子の内部構造

変性は分子の形の変化を伴うものである以上その内部構造にも何らかの変化が起る

表I 血清アルブミンの変性と分子形

尿素モル	$D \times 10^7$ $\text{cm}^2/\text{sec}$	$D_0/D'$	$a/b$
6	6.85	1.20	4.3
0.5	6.20	1.33	6.1
1.5	6.08	1.35	6.5
3.0	5.69	1.44	8.0
4.5	4.45	1.85	16.5
6.0	4.27	1.93	18.3
6.66	4.15	1.98	19.4

この  $\eta_{rel}$  が増加することおよび  $D$  が小さくなることの原因としては古くは水和と分子の会合が考えられたが, その後変性によつてポリペプチド鎖がほどけることが分つたので,  $\eta_{rel}$  および  $D$  の

ことは期待される所である。内部構造を調べるにはまず X 線を用いるのが最も普通である。この方の仕事に始めて手をつけた Astbury<sup>(74),(75)</sup> 以来多くの仕事があるがその結果は Astbury のものと大同小異である。すなわち天然蛋白質にはポリペプチド鎖が巻き込んだ形になつたいわゆる  $\alpha$ -ケラチン型のパターンがみられるがこれを変性すると毛髪などを引きのばした時の形と同じの  $\beta$ -ケラチン型のパターンが多く表われることである<sup>(76)</sup>。すなわち変性により今まで巻き込んでいたポリペプチド鎖は変性により引き伸ばされたことを示している。

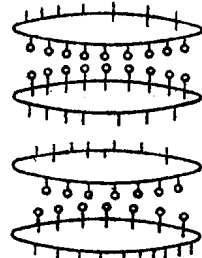
Astbury<sup>(77)</sup> は表面変性した蛋白質についても X 線でしらべた結果これがやはり  $\beta$ -ケラチン型になつていることをたしかめた。また純溶液の表面張力を  $r_0$ 、この上に蛋白質の薄膜を作つた時の表面張力を  $r$  として、 $F=r-r_0$  なる表面圧力を定義すればこの  $F$  と表面積  $A$  との間に一定の関係の曲線が描かれ、この曲線から表面変性した蛋白質の内部構造を推定することができる。Rideal および Schulman<sup>(78)</sup> はこの関係から表面変性した蛋白質のポリペプチド鎖は大部分  $\beta$ -ケラチン型であることをたしかめている。

一方表面張力という簡単な力で天然蛋白質が薄い膜状となると共に不溶性になるという事実はむしろ不思議な事実のように思われる。Dervichian<sup>(79)</sup> は天然蛋白質が層から成り立っているという層状模型を考え、且つ各層の表側には疎水基ばかりでいるし裏側には親水基ばかりでいると考えた。この層が第5図に見るように一つおきに逆になつていと親水基は親水基同志また疎水基は疎水基同志つくから安定な分子を形成している。しかし表面変性に於てはこの層がバラバラになつて水の上に浮くがその時親水基を水につけ、疎水基を空気の方に出しているから安定な膜になると考えるのである。

この考え方のように親水基が全部表側に出るにはポリペプチド鎖中における有極性残基をもつたアミノ酸と無極性残基をもつたアミノ酸が同量しかも順番に並ばなければならないことになるが、Sanger<sup>(80)</sup> によるインシュリン中のアミノ酸順序はこのようになつていない。ここに Dervichian 模型の欠陥がある

がしかし全部の親水基が表側に全部の疎水基が裏側にでなくともある程度多量の親水基が表側にでたような模型なら大した無理なくできるかもしれない。

いずれにしても天然蛋白質が層状構造をもつ<sup>(81)</sup>と考え、この層が表面変性後もある程度その形を保つとするならば、表面変性した蛋白質の分子形を測定することは逆に層状構造の妥当性を判断する為に重要なことといわれなければならない。今堀<sup>(82)</sup> は水表面に於ける拡散速度を測定する方法を考案し、血清アルブミン<sup>(83)</sup>、ヘモグロビン<sup>(84)</sup> などについて表面変性後の形を研究した。その結果は層状模型をある程度支持するもので



Dervichian のモネイ

— 疎水基      ○— 親水基

第 5 図