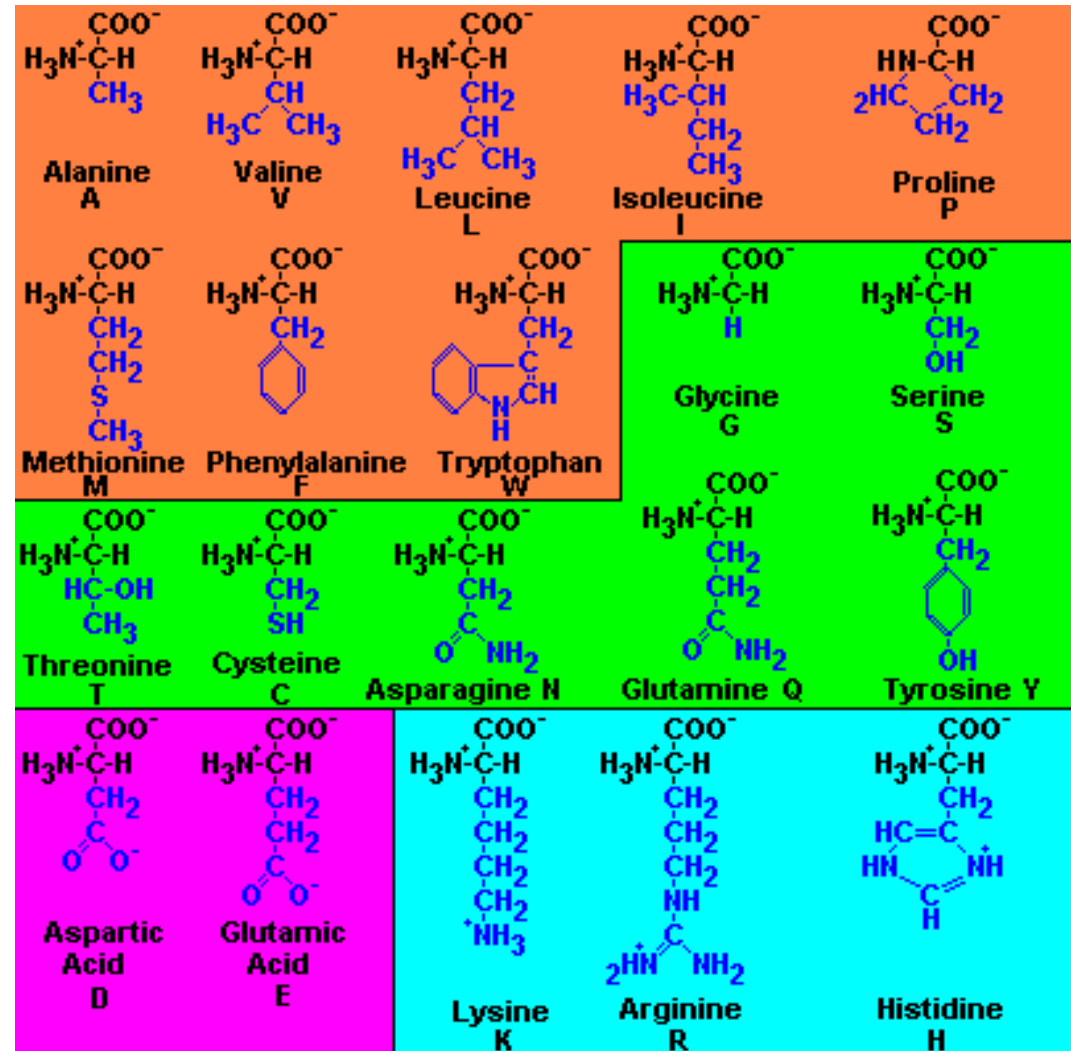
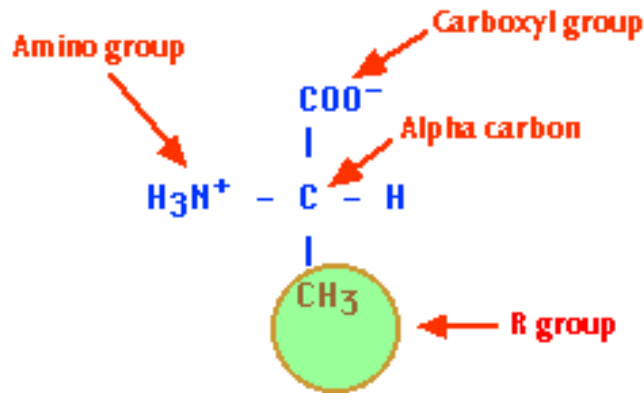
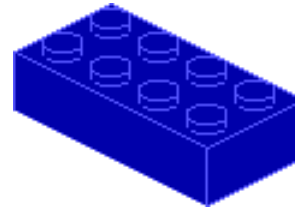
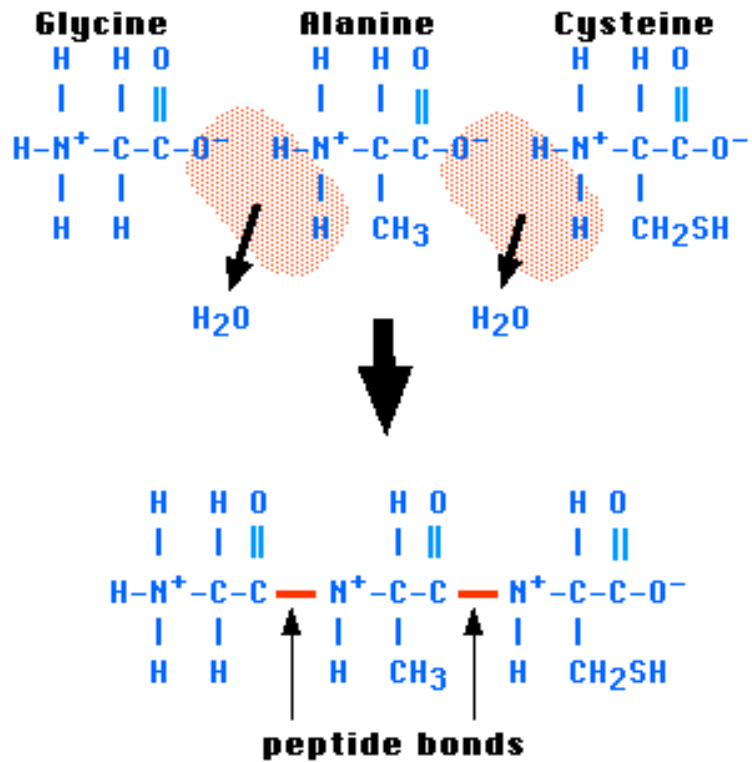


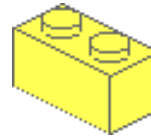
アミノ酸の共通構造と20種の各アミノ酸の分子構造



アミノ酸の脱水縮合（ペプチド・蛋白質の合成）



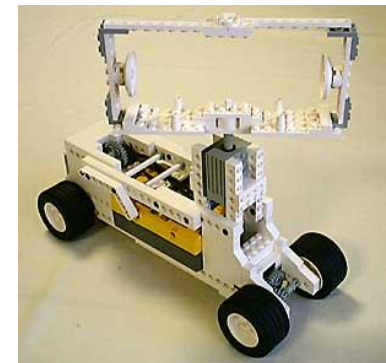
LEGOのブロック



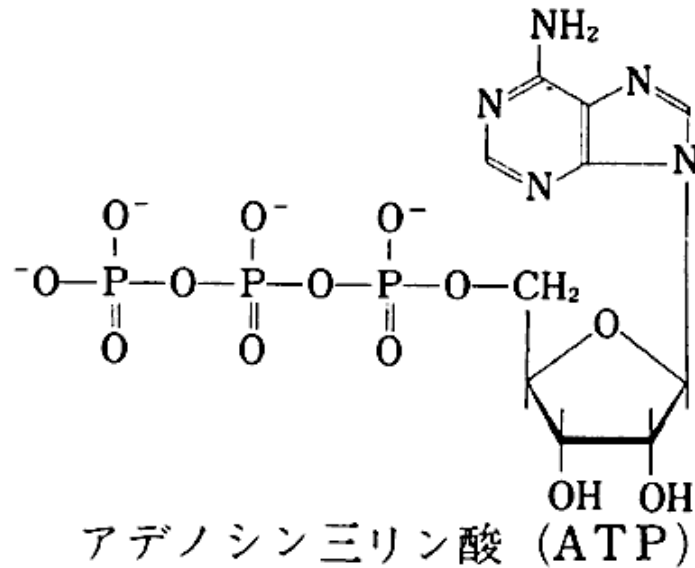
ユニットの結合で多様な構造が形成できる。



アミノ基 (NH_2) とカルボキシル基 (COOH) から水 (H_2O) が取れて結合する。



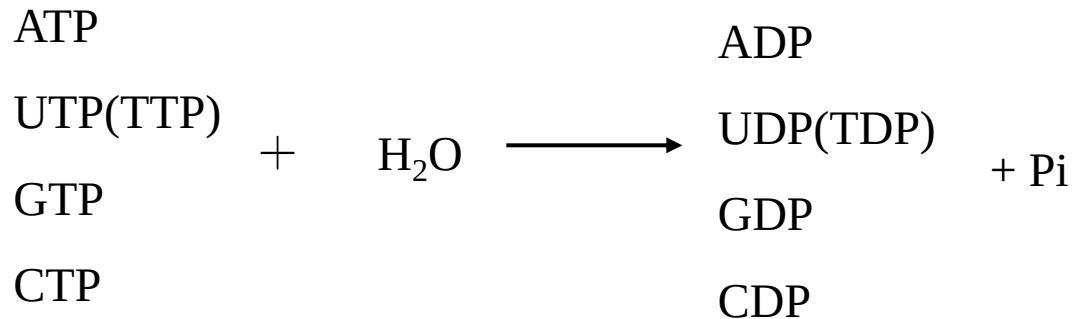
生体高エネルギー物質



各ヌクレオチドの3リン酸はいずれも高エネルギー生体物質であり、1モルの加水分解は 7.3 kcalの自由エネルギーを放出する。

生物が平衡状態から逃れるためにはエネルギーが必須であり、そのための最も重要な生体エネルギーがATPである。

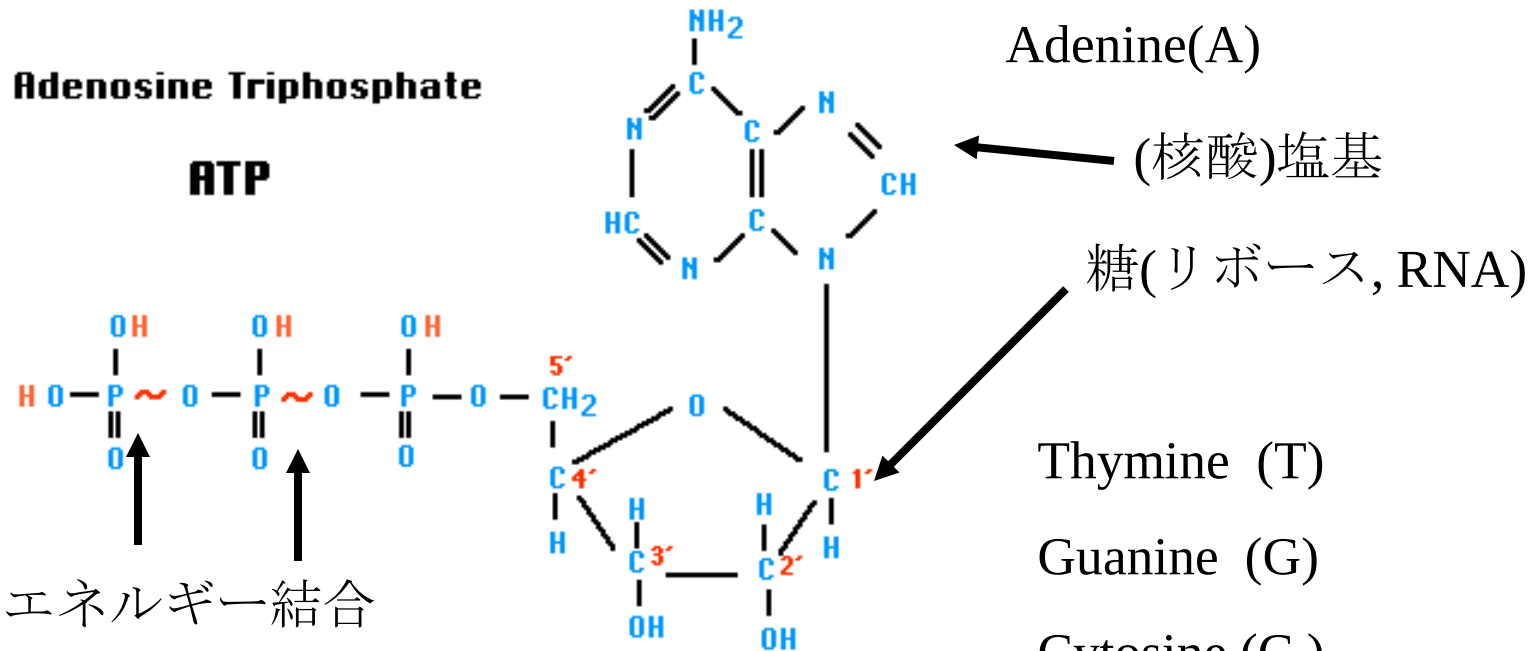
4種の核酸塩基
アデニン(A)
チミン(T)
グアニン(G)
シトシン(C)



$$\Delta G = -7.3 \text{ kcal/mol}$$

DNA (Deoxyribonucleic acid核酸)

A, T, G, Cと略号で呼ばれる 4 種類あるヌクレオチド(nucleotide)の重合体



Hは水中で解離してH⁺となり、
OHはO⁻となる。

Hのときデオキシリボース(DNA)

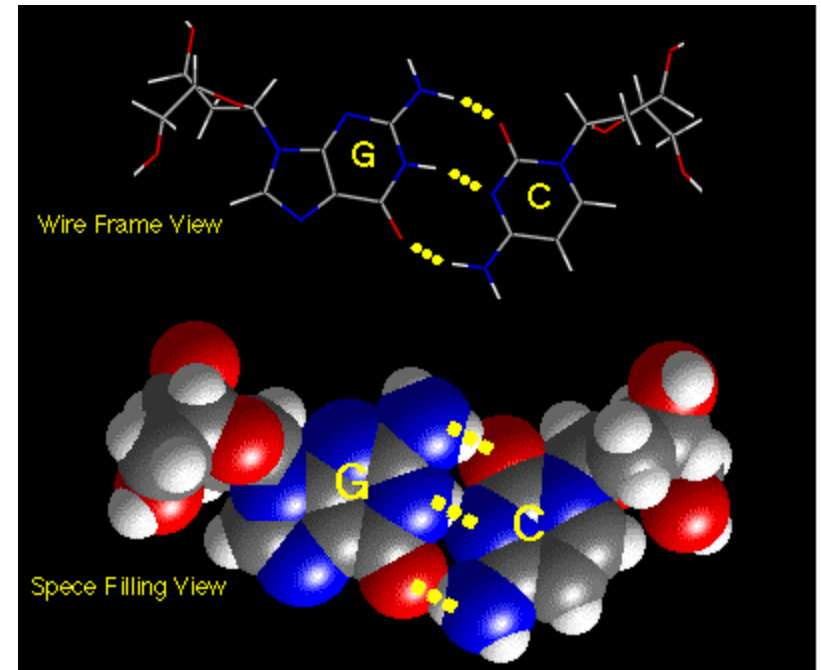
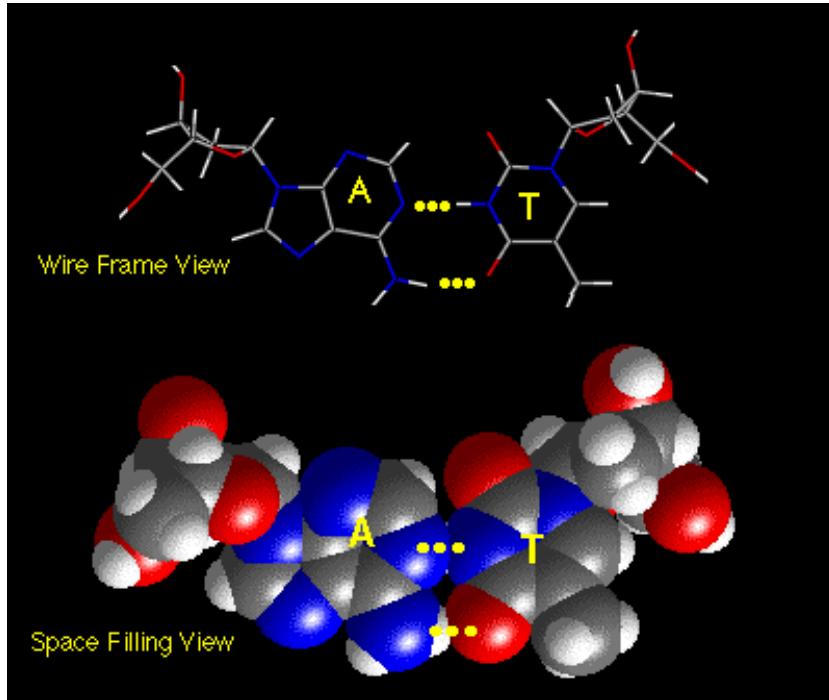
標準自由エネルギー変化 $\Delta G \approx -7.3 \text{ kcal/mol}$

ヌクレオチドの3リン酸はその自由エネルギーにより、自発的な高分子化が可能である。

4種のヌクレオチドの分子模型

ヌクレオチド (Nucleotide) : 4種類の塩基部分をもつDNAの基本単位

アデニン(**A**denine)=チン(**T**hymine) グアニン(**G**uanine)=シトシン(**C**ytosine)



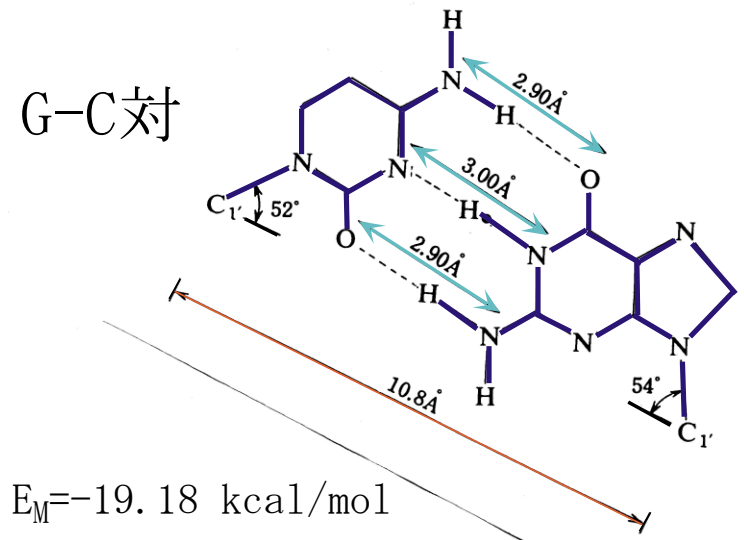
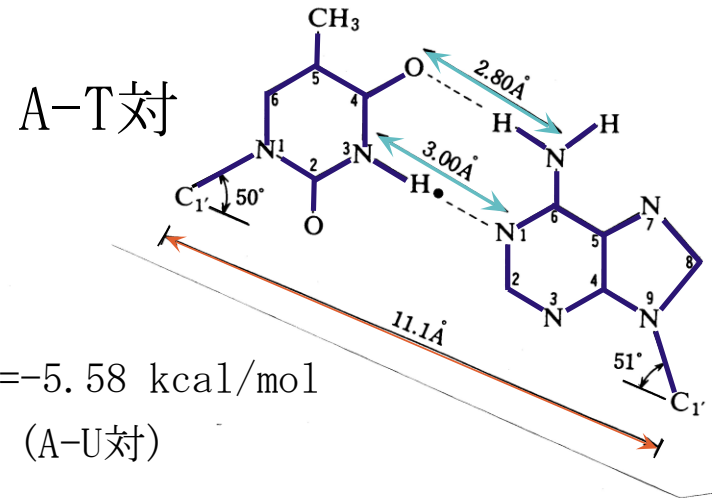
塩基対の法則

1949年から1953年の間の研究でシャルガフ (Chargaff) らは多数の動物、植物、細菌、フアージなどの生物種を調べてAとTの間とGとCの間に等量関係があることを発見した。

塩基対の法則：AはTと2本の水素結合で、GはCと3本の水素結合で選択的な対を形成する。

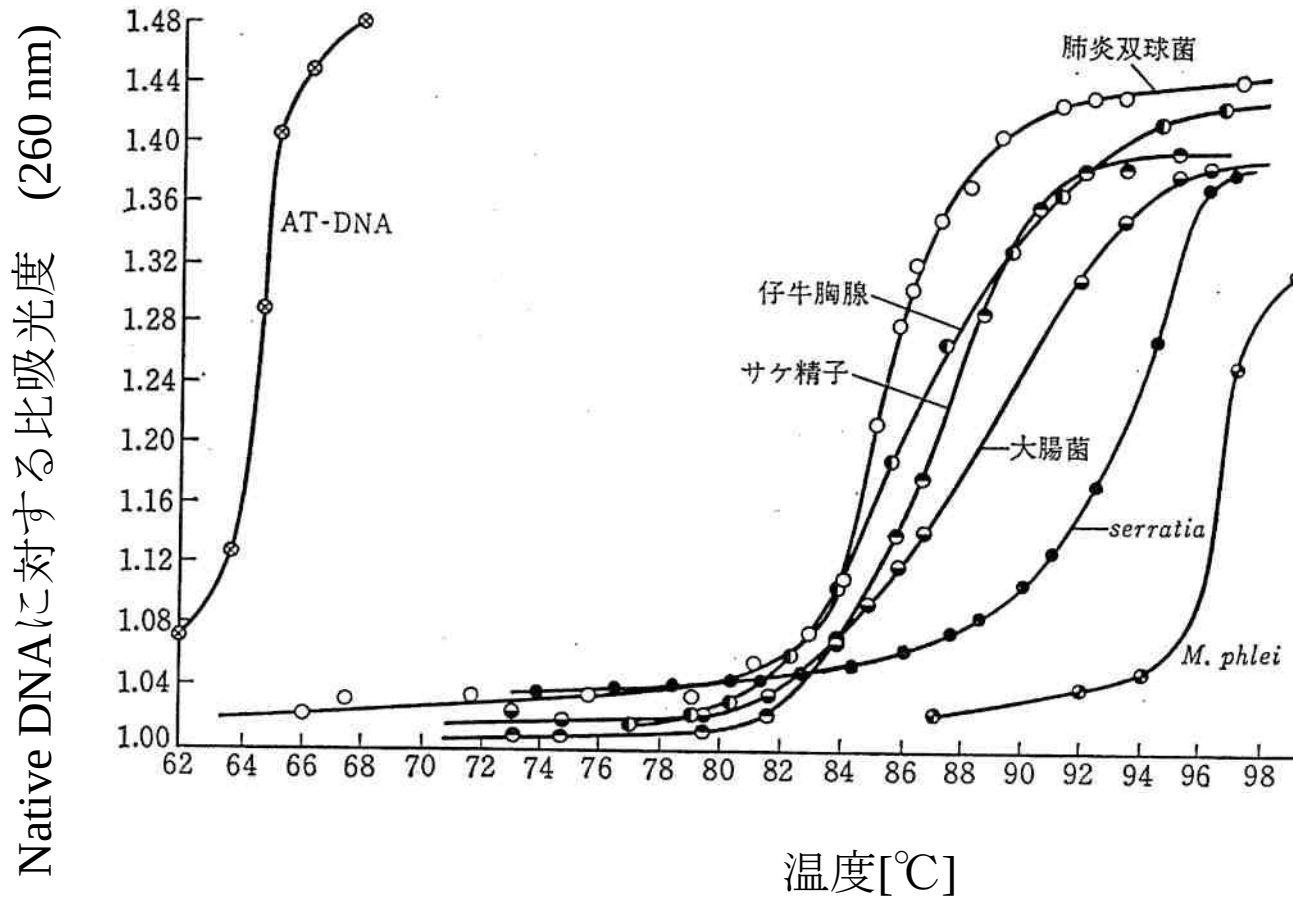
この法則は地球上のすべての生物に普遍的なものであり、これによって遺伝は**論理学**として取り扱える。

構造の相補性による認識

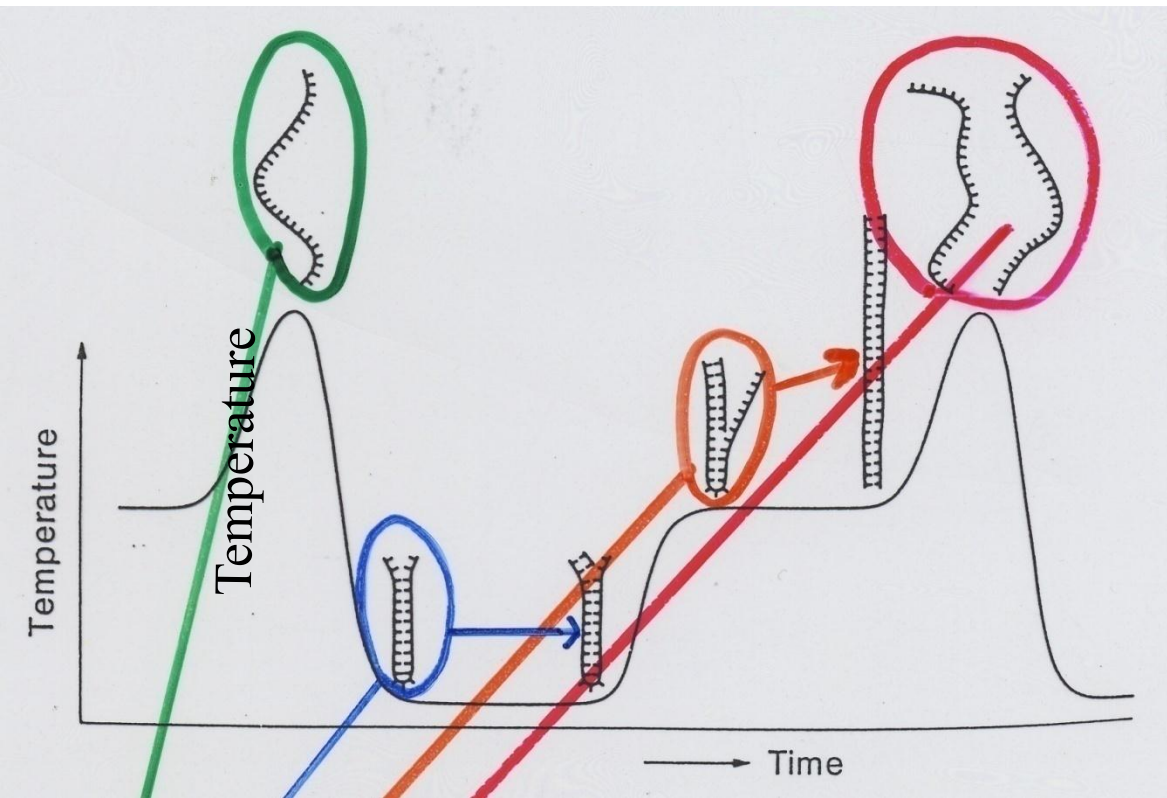


ワトソン-クリック型塩基対の配置

DNAのヘリックス-コイル転移(相転移)



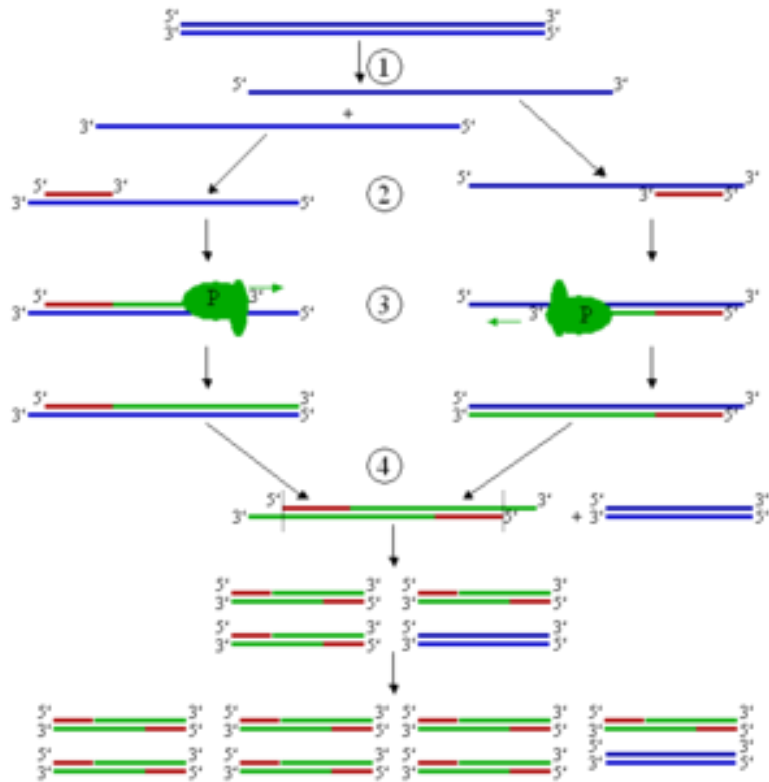
温度が周期的に変化する環境下でのDNAの複製と発展



この過程により、DNA上の塩基配列のランダムな情報が蓄積され、さらに、伝達・増殖される。

- 1) 高温で1本鎖に分離
- 2) 温度低下でヘアピン状に塩基対を形成
- 3) 中間温度でヘアピンの端から複製
- 4) 高温で複製された2本鎖が分離

PCR (Polymerase Chain Reaction) 法



PCR法の原理 (1)94℃へ加熱することにより青線で示したDNAの2本鎖を1本鎖に変性させる、(2)45℃まで冷却し、赤線で示したプライマーをアニーリング、(3)72℃に加熱すると緑色の図形で示したDNAポリメラーゼがプライマーを基点にDNA鎖を伸張、(4)PCR法の1周期が完了し、もともとの青いDNA分子に加えて緑と赤で示したDNA分子が生成し、分子の数が2倍となった。2周期目では2本鎖DNAが4つ、3周期目では8つに増える。

DNA鑑定などで少量のDNAを増量させる方法として、PCR法が広く利用され、DNAの塩基配列の決定で必須の装置となっている。

DNA塩基配列決定法

Maxam-Gilbert法[Proc.Natl.Sci.USA 74(1977),560-]

- ・ 2本鎖DNAの5'末端を ^{32}P で標識し、各鎖を分離
- ・ Dimethyl sulfateでGuanineのN7の位置、AdenineのN3の位置をメチル化
それぞれの処理で次のように切断される

A > G : dilute acid

G > A : 0.1 M alkali at 90 °C

C + T : Hydrazineによる切断

15~18 M aqueous hydrazine at 20 °C

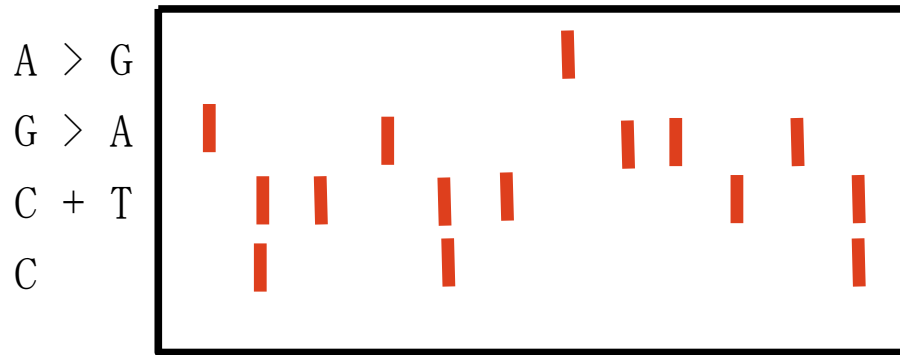
then 0.5 M piperidine

C : 2 M NaClでThymineのhydrazine分解を抑制して切断

- ・ ポリアクリルアミドゲル電気泳動でDNAの長さにより分離

電気泳動によるDNAの長さによる分離

G C T G C T A G G T G C のDNAでの電気泳動パターン



(短) ← 電気泳動の方向

(長) アガロース・ゲル内で電気泳動を行う。

アガロース(寒天)の網目を負電荷をもつDNA分子が電場勾配を移動する速度は分子ふるい効果により、その分子の長さに依存して分離される。

DNA Sequencerの原理

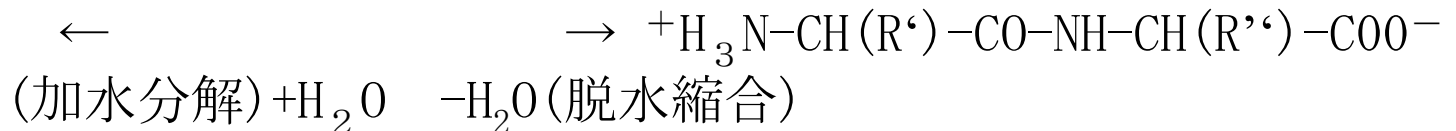
塩基配列を求めるDNA断片のKlenow酵素(DNA polymerase Iの断片)によるDNA伸展反応系に蛍光標識ddNTP(dideoxynucleoside 3 リン酸)を加えて反応させると、ddA⁺TP、ddT⁺TP、ddG⁺TP、ddC⁺TPが挿入された位置で伸展反応が停止するので、電気泳動により各塩基の挿入位置までのDNAの長さが求められる。

タンパク質 (Protein)

20種のアミノ酸を単体（ユニット）とした重合体

タンパク質は触媒活性をもつ酵素、生体防御の免疫系での抗体、細胞表面でホルモンなどの情報を受容する受容体などとして機能している。

酸アミド（ペプチド）結合



標準自由エネルギー変化が $\Delta G_0' = 8 \sim 20 \text{ kJ/mol}$ ($1.9 \sim 4.8 \text{ kcal/mol}$) 程度であり、熱力学的な平衡状態は 1 M のアミノ酸に対して、分子量 1 万 2 千のタンパク質は $10^{-9.9} \text{ M}$ 存在する。

・全海洋の体積は 1370.323 km^3 であり、 $8.43 \times 10^{5.5}$ 倍の海洋で初めて 1 分子存在することになり、平衡状態でタンパク質が存在することは実質的にあり得ない。

タンパク質の生合成にはアミノ酸を活性化する過程が必須となる。

アミノ酸の熱重合体の触媒活性

基質	重合体の中の活性アミノ酸残基	活性 [M/mg/min]
----	----------------	---------------

加水分解

p-Nitrophenyl acetate	His, Lys, Asp-imide, Glu, Asp, Ser, Tyr	1.5×10^{-3}
-----------------------	---	----------------------

脱炭酸

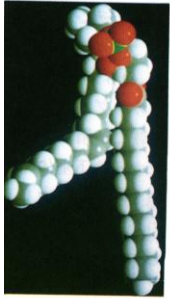
Oxaloacetic acid	Lys	0.3
------------------	-----	-----

アミノ化・脱アミノ化

α -Ketoglutaric acid	Lys, 塩基性アミノ酸	2×10^{-3}
-----------------------------	--------------	--------------------

- ・ 酵素の触媒作用は活性中心で作用する。
- ・ 蛋白質加水分解酵素のキモトリプシンの分子量は2万5千もあるが、反応に直接に関わるアミノ酸は活性中心のセリン(Ser-195)、ヒスチジン(His-57)、アスパラギン酸(Asp-102)の3つである。
- ・ アスパラギン酸の関与の下で、ヒスチジンの窒素原子(N)がセリンの水酸基(-OH)からプロトン(H+)を奪い、電子を与え易い O^- を生成させる。
- ・ 酵素は電子が移動し易い経路を形成し、活性化エネルギーを低下させることで、分子内の結合を速やかに変換させる。

細胞膜（生体膜）の構成脂質



ホスファチジルコリン（レシチン）

1-Stearyl-2-oleoylphosphatidylcholine



スフィンゴミエリン

Sphingomyelin



ガングリオシド（糖脂質）

Ganglioside



コレステロール

Cholesterol



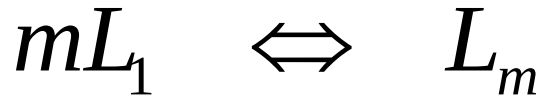
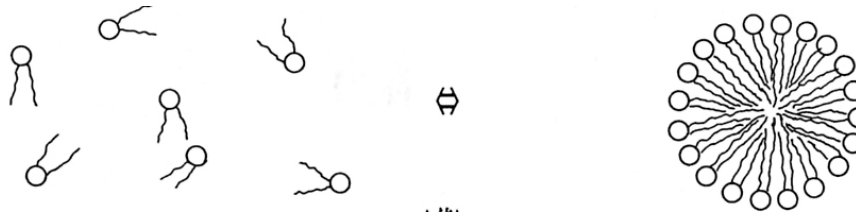
極性頭部
(親水性)

脂肪酸側鎖
(疎水性)
(親油性)

両親媒性分子

極性頭部(choline, ethanolamine, inositol, glycerolなど)の基と脂肪酸のタイプ(長さ、不飽和度など)を組み合わせて多様な分子種が存在する。

細胞膜（生体膜）の構成脂質



水に溶けた脂質分子の
化学ポテンシャル：

$$\mu_w = \mu_w^0 + RT \ln X_w + RT \ln f_w$$

μ_w^0 : 水中に単体として存在する分子の
標準化学ポテンシャル

X_w : 水中に単体として存在する両親媒
性分子のモル分率

m 個の分子からなる脂質集合体
(ミセル、micel)) 中の脂質分子
の化学ポテンシャル：

$$\mu_{micel,m}^0 = \mu_{micel,m}^0 + \frac{RT}{m} \ln \frac{X_m}{m}$$

$\mu_{micel,m}^0$: 水中でミセル(micel)として存在
する脂質集合体の標準化学ポテン
シャル

X_m : m 個の分子からなる脂質集合体
に含まれる脂質分子のモル分率

仮定：脂質分子の単体とm個の分子
からなる集合体の間で平衡が成立
する。⇒これらの化学ポテンシャル
は等しい。

すべての m に対して、水に溶けた脂質分子の濃度 X_w に対する脂質集合体の大きさの分布関数である次式が成立する。

$$\mu_{micel,m} - \mu_w^0 = RT \ln X_w + RT \ln f_w - \frac{RT}{m} \ln \frac{X_m}{m}$$

ユニタリー・ポテンシャルの差 $\mu_{micel,m} - \mu_w^0$ と活量係数 f_w が与えられれば $\ln X_w$ が与えられた X_w において最大値をもつ条件から、最適な脂質集合体の大きさが求められる。

脂質二重層の極性－非極性界面の自由エネルギーに対する寄与は疎水性相互作用と静電的な反発力が考えられる。

$$\begin{aligned}\mu_m^{0,S} &= \gamma (A - A_p) + C / A \\ &= \gamma A + C / A\end{aligned}$$

A : 界面での1分子の面積

A_p : 極性基の面積、bulk termに含めることができる

γ : 疎水自由エネルギー密度 $3.5 \times 10^{-20} \text{ J} \cdot \text{nm}^{-2}$

C : 反発力自由エネルギーの定数 $1.15 \times 10^{-20} \text{ J} \cdot \text{nm}^2$

地球での生命誕生の過程

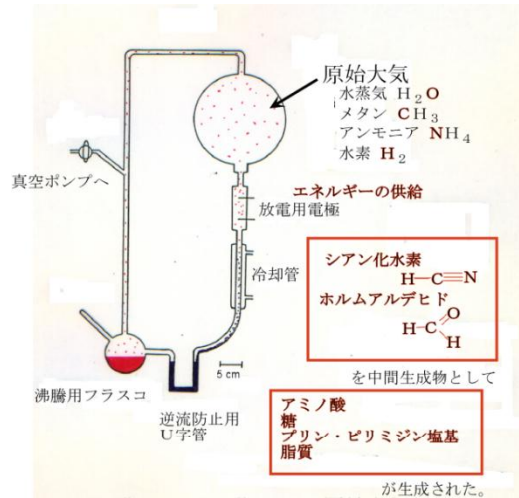
1) 地球に存在する元素(C, H, N, O, P)から孤立系の平衡状態で生体基本分子(アミノ酸、ヌクレオチド、糖、脂質など)

が生成する。

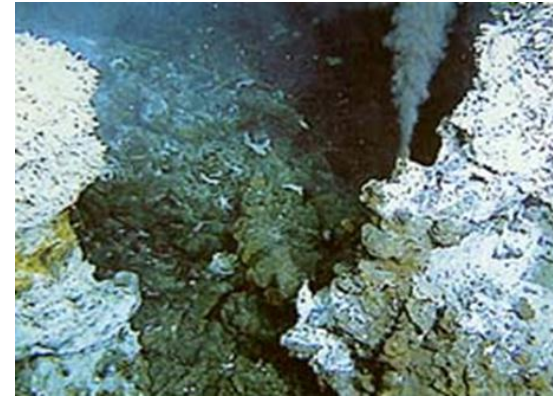
$$A \div \sum n_i \cdot E_i$$

系内の化合物の結合エネルギーが最低となる平衡分布

2) エネルギーの供給より平衡状態から離脱し、高エネルギーの生体分子が生成する。



ミラーの原始大気からの生成実験



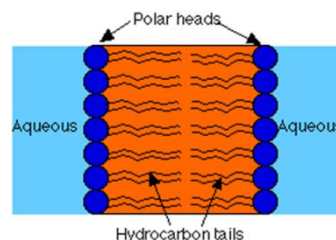
熱水鉱床周辺の生態系

3) アミノ酸熱重合体の触媒活性/ヌクレオチドの重合と情報の蓄積・増殖

4) 脂質分子の水中での自発的な集合体形成



リポソーム(脂質小胞)



脂質二重層膜

脂質二重層膜の安定性

水中での脂質集合体の幾何学的な構造は“packing parameter”が重要な役割を果たしている。脂質分子の体積 v 、脂質相と水相の界面で平衡にある脂質の面積 A_0 、側鎖の長さ(critical chain length) l_c としたとき、この値が1程度であればラメラ相、1より大きいときinverted phaseとなる傾向がある。

$$\text{packing parameter} = \frac{V}{A_0 \cdot l_c}$$

円錐台



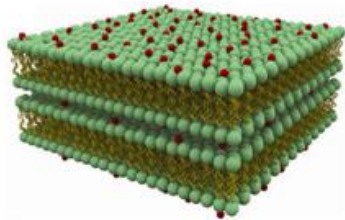
<1

ミセル

円柱



≒1



脂質二重層

逆円錐台

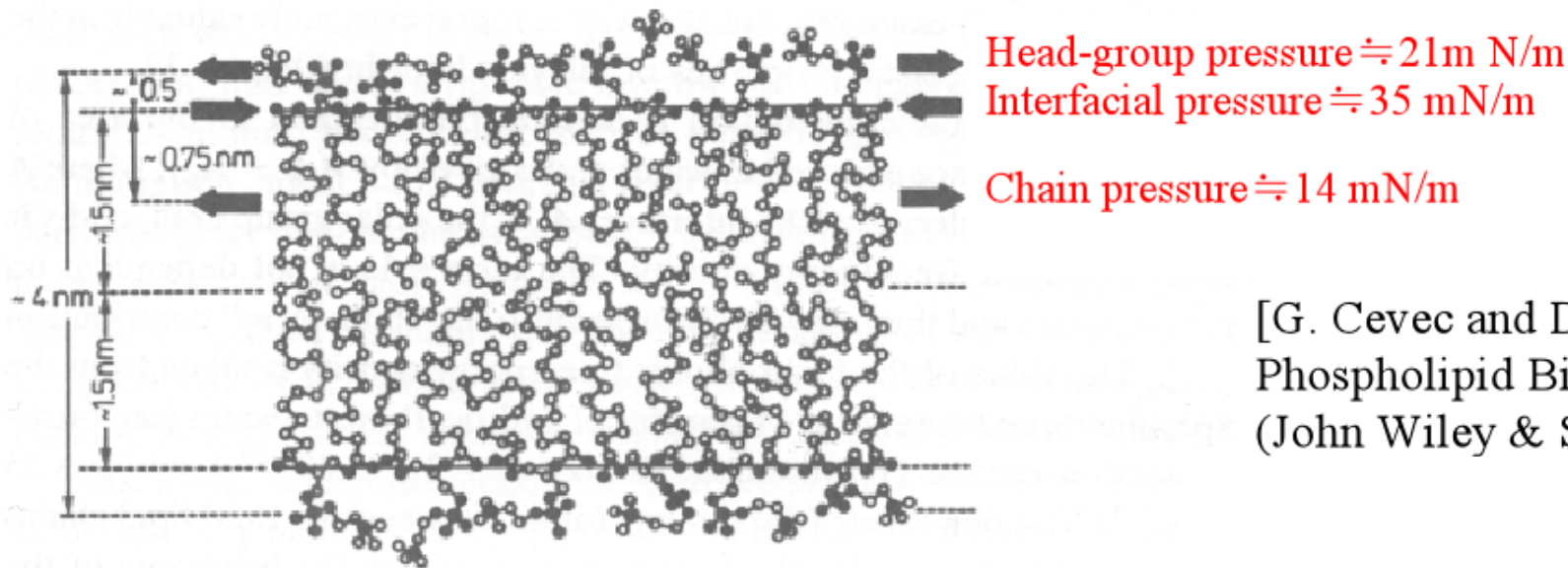


>1

逆転ミセル



ヘキサゴナルII構造



[G. Cevec and D. Marsh
 Phospholipid Bilayers
 (John Wiley & Sons 1987)]

脂質二重層の極性・非極性界面での相互作用は、

A : 界面での 1 分子の面積、

γ : 疎水自由エネルギー密度 $= 3.5 \times 10^{-20} \text{ J} \cdot \text{nm}^{-2}$ 、

C : 反発力自由エネルギーの定数 $= 1.15 \times 10^{-20} \text{ J} \cdot \text{nm}^2$

$$\mu_m^{0,s} = \gamma(A - A_p) + A/C$$

凝集体での 1 分子当たりの界面自由エネルギーは $\mu_m^{0,s} = \gamma A + C/A$ と表わされる。ここで、両者の力が同一面に作用していると仮定すると、最小の界面自由エネルギーは、

$\partial \mu_m^{0,s} / \partial A = 0$ の条件、つまり、 $\mu_m^{0,s} (\text{min}) = 2 \gamma A_0$ より与えられ、上式に代入して $A_0 = \sqrt{C / \gamma} = \sqrt{1.15 \times 10^{-20} \text{ J} \cdot \text{nm}^2 / 3.5 \times 10^{-20} \text{ J} \cdot \text{nm}^{-2}} = 0.57 \text{ nm}^2$ の値が得られる。

DPPC の X 線回折では $0.49 \text{ nm}^2 (L_\beta)$ 、 $0.64 \text{ nm}^2 (L_\alpha)$ が得られている。

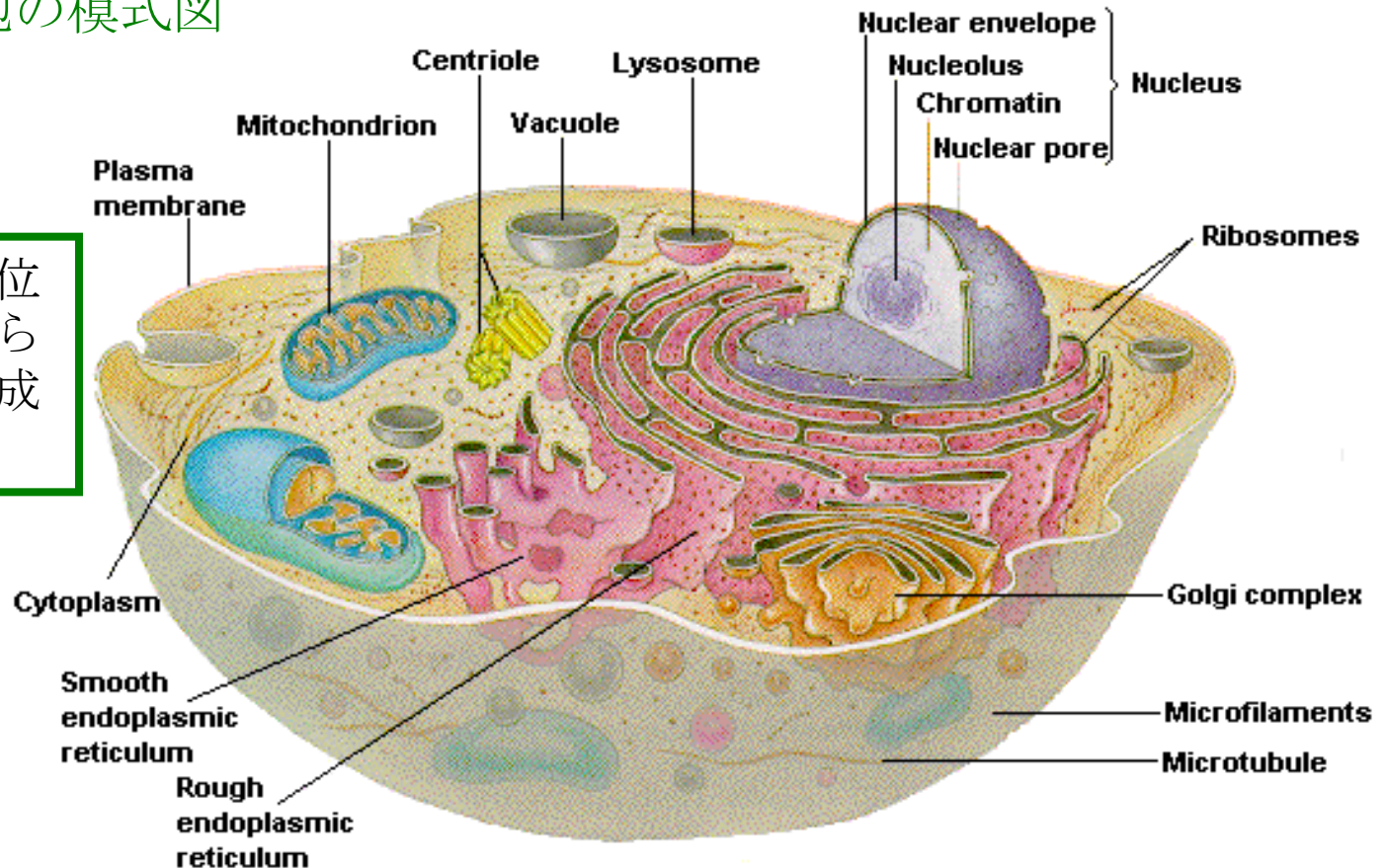
[Israelachvili et al.: Biochim. Biophys. Acta 470 (1977), 185-201]

細胞は生体膜で区画された化学反応槽

細胞の模式図

細胞は生命の基本単位であり、ヒトは60から70兆個の細胞から構成される。

この細胞数はどのように数えたのか？



- ・核、ミトコンドリア、小胞体、葉緑体、ゴルジ体などの細胞内小器官をもつ
- ・これらは生体膜で区画された構造である
- ・区画領域はそれぞれ化学反応槽となる

2009年度のノーベル化学賞

("for studies of the structure and function of the ribosome")



Venkatraman Ramakrishnan
(MRC Laboratory of Molecular
Biology
Cambridge, United Kingdom)

単結晶X線回折法を用いるリボソームの構造解析で2000年に30Sリボソーム構造および数種の抗生物質とリボソーム30Sサブユニット複合体の構造解析を達成し、2006年にはリボソーム全体の構造解析を完了した。



Thomas Steitz
(Yale University
New Haven, CT, USA; Howard
Hughes Medical Institute)

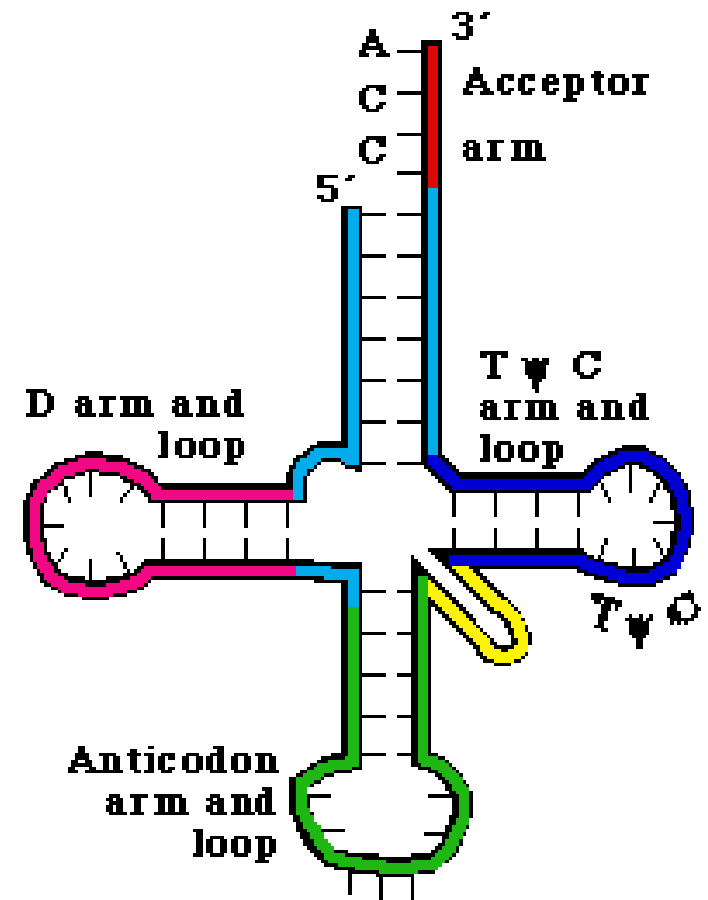
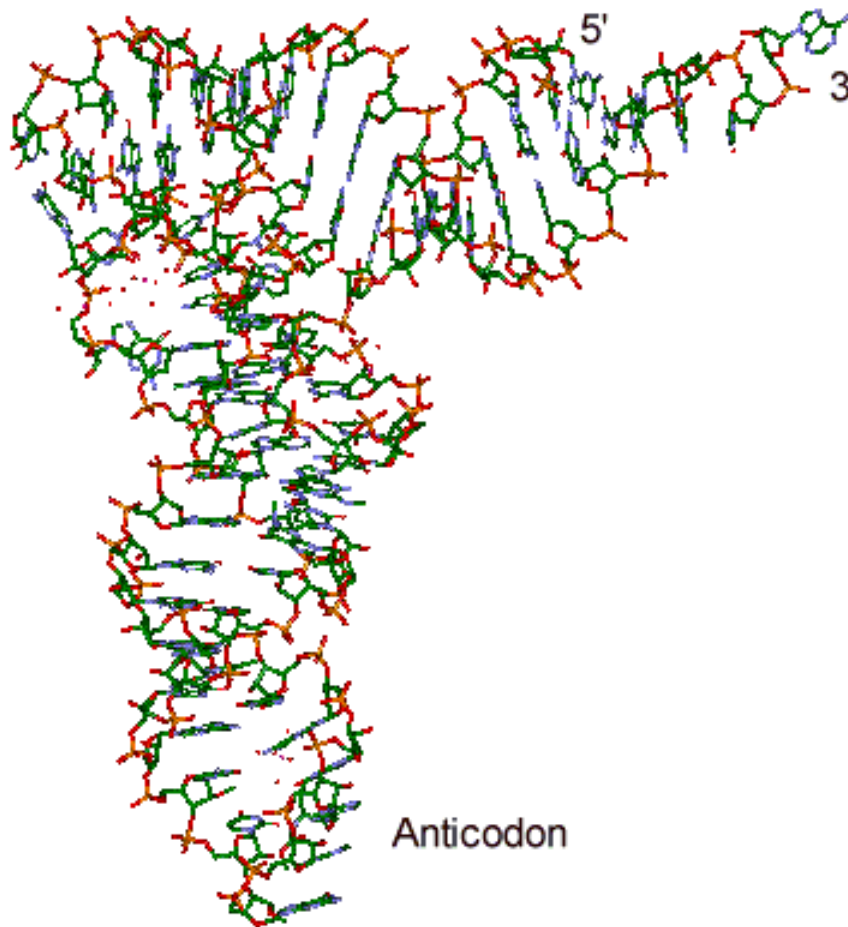
50Sサブユニットの構造
を初めて報告した。



Ada Yonath
(Weizmann Institute
of Science
Rehovot, Israel)

リボソームの結晶化に関して
大いに貢献した。

転移RNA (transfer RNA; tRNA) の構造とクローバー・モデル

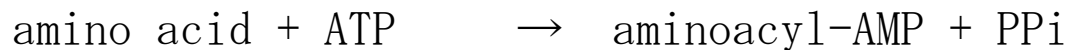
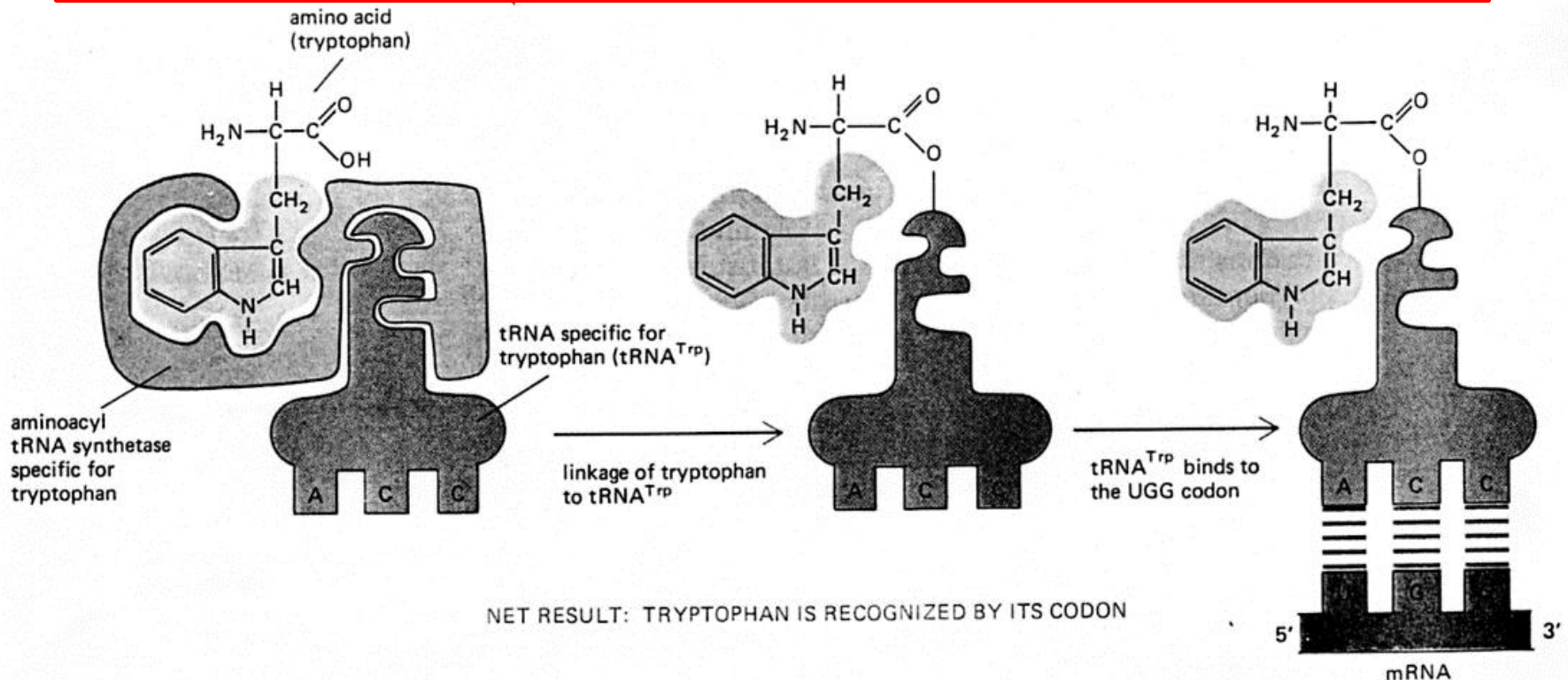


アンチコドンと呼ばれる3つの塩基(ヌクレオチド)の並びに塩基対の法則に従ってコドンが構造の相補性で結合する。CCA末端にはコドンに対応するアミノ酸が結合している。

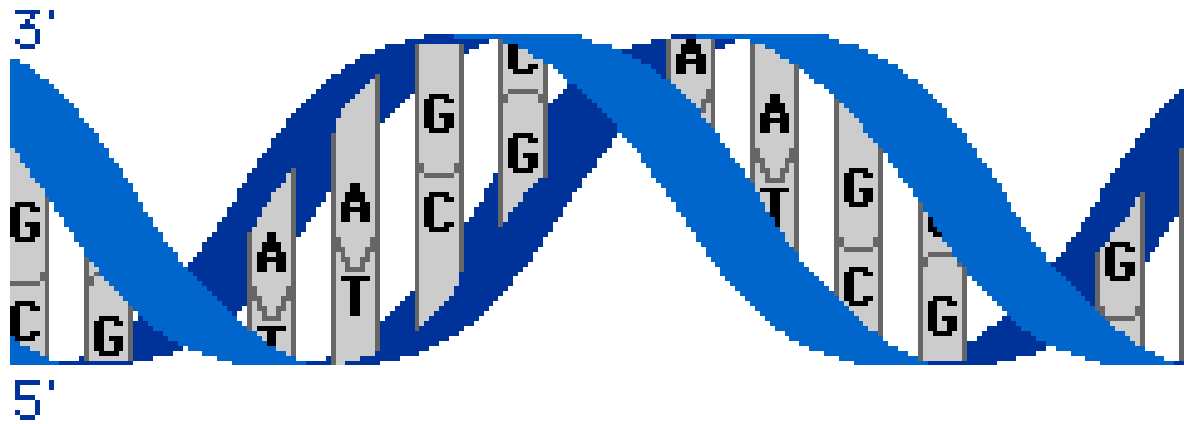
アミノアシル tRNA 合成酵素

(aminoacyl-tRNA synthetase)

遺伝情報を翻訳して蛋白質の合成につなげる中心的な機能を担うタンパク質



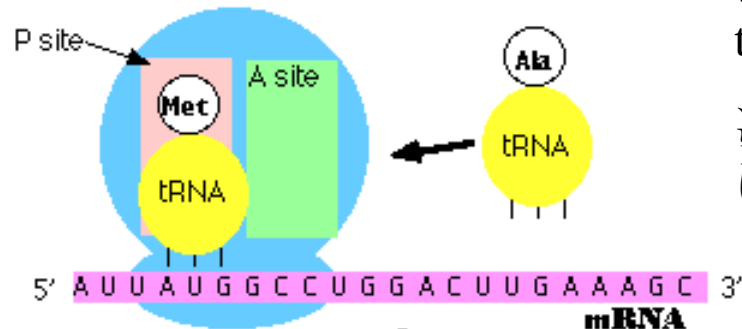
転写 (Transcription)



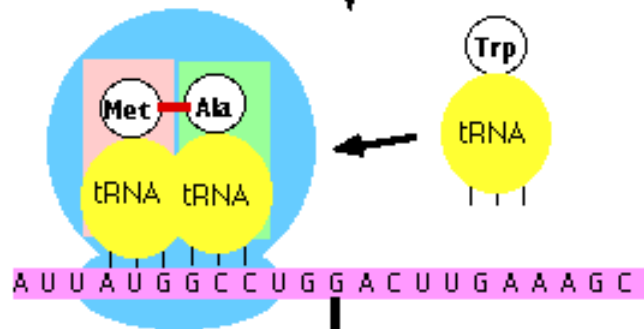
翻訳(Translation)

蛋白質の合成を開始するATG (Met) に対応するtRNAがP (peptidyl) site に結合している。

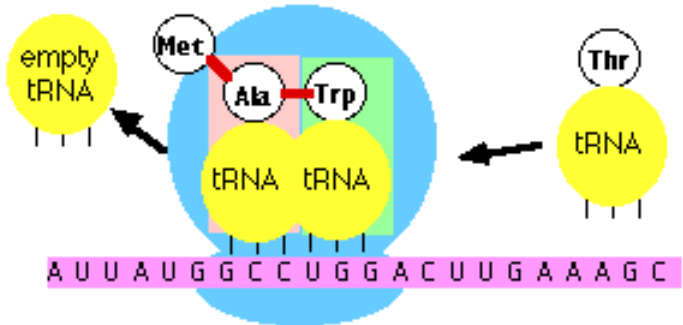
次のAla を結合した tRNAがA (aminoacyl) site に結合する。



リボソーム(ribosome)上でMetとAlaの結合反応が行われ、3番目のTrp-tRNAがリボソームに接近する。

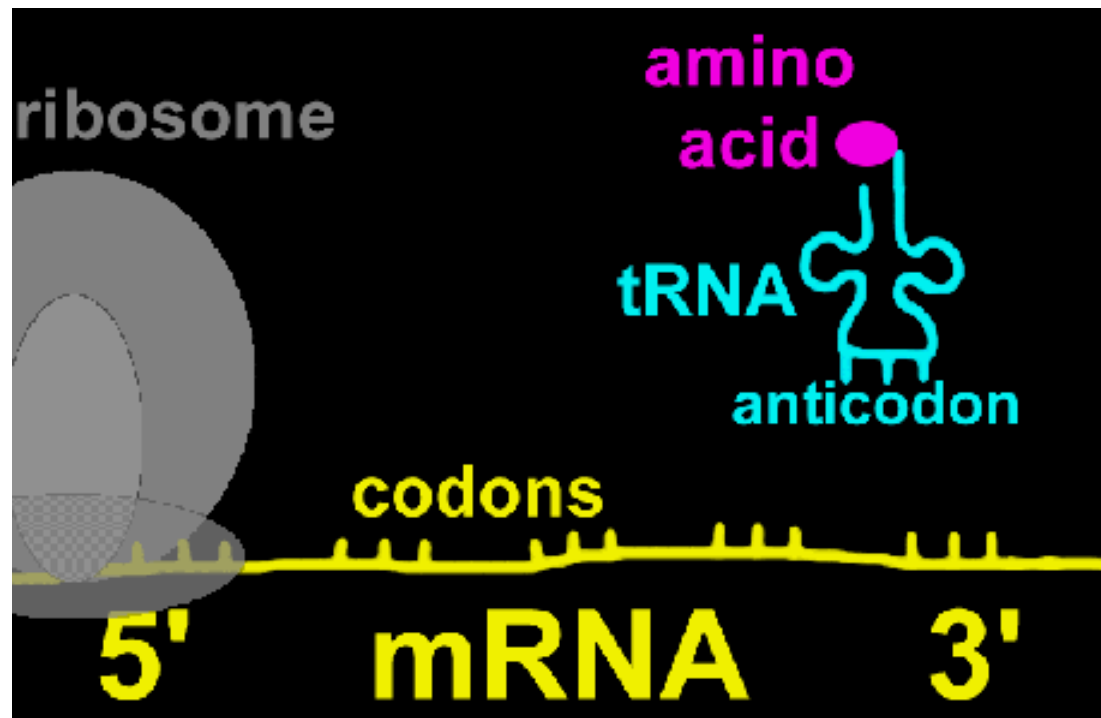


Ribosome shifts 1 codon in 3' direction

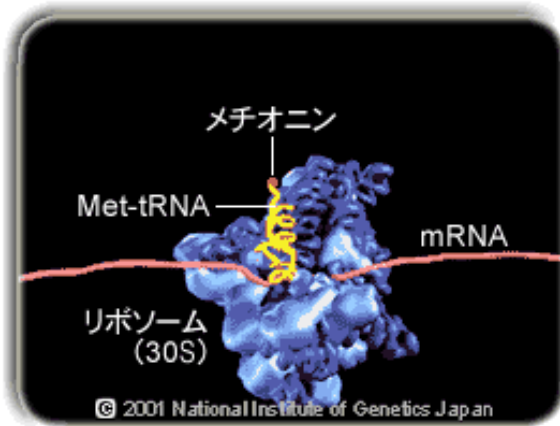


Metが解離したtRNAがP siteから離脱し、4番目のThr-tRNAがリボソームに接近する。

翻訳(Translation)

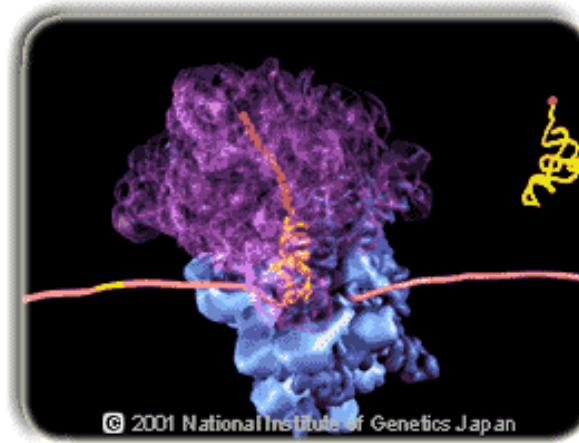


リボソーム上でのタンパク質の合成

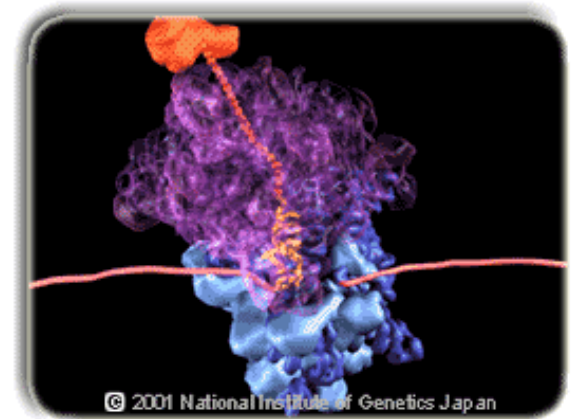


Initiation (開始)

Elongation (延長)

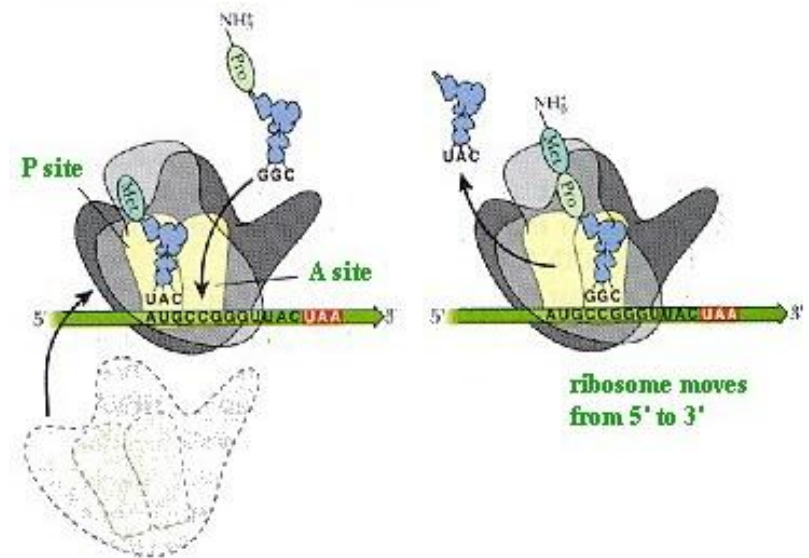
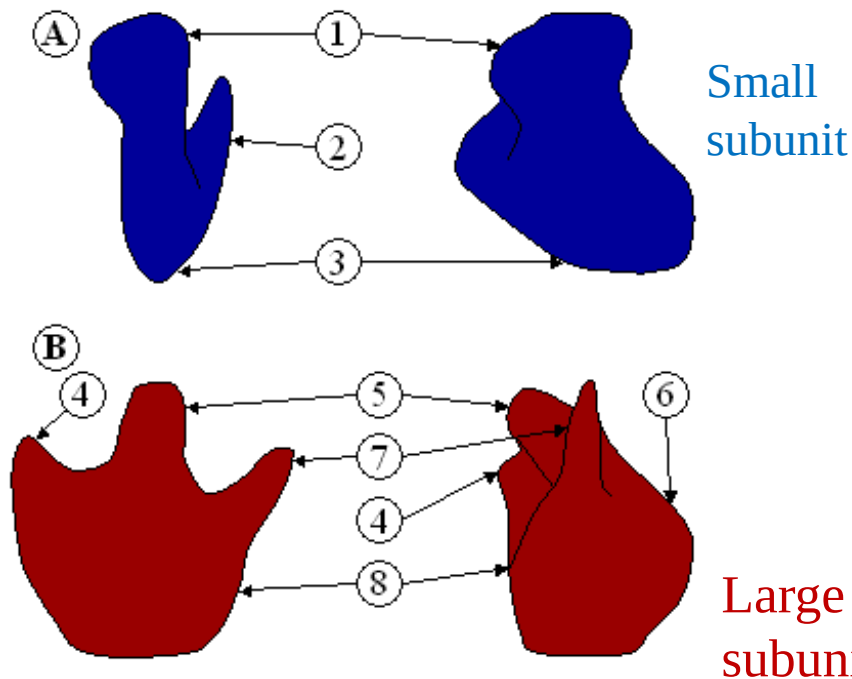


Termination
(終結)



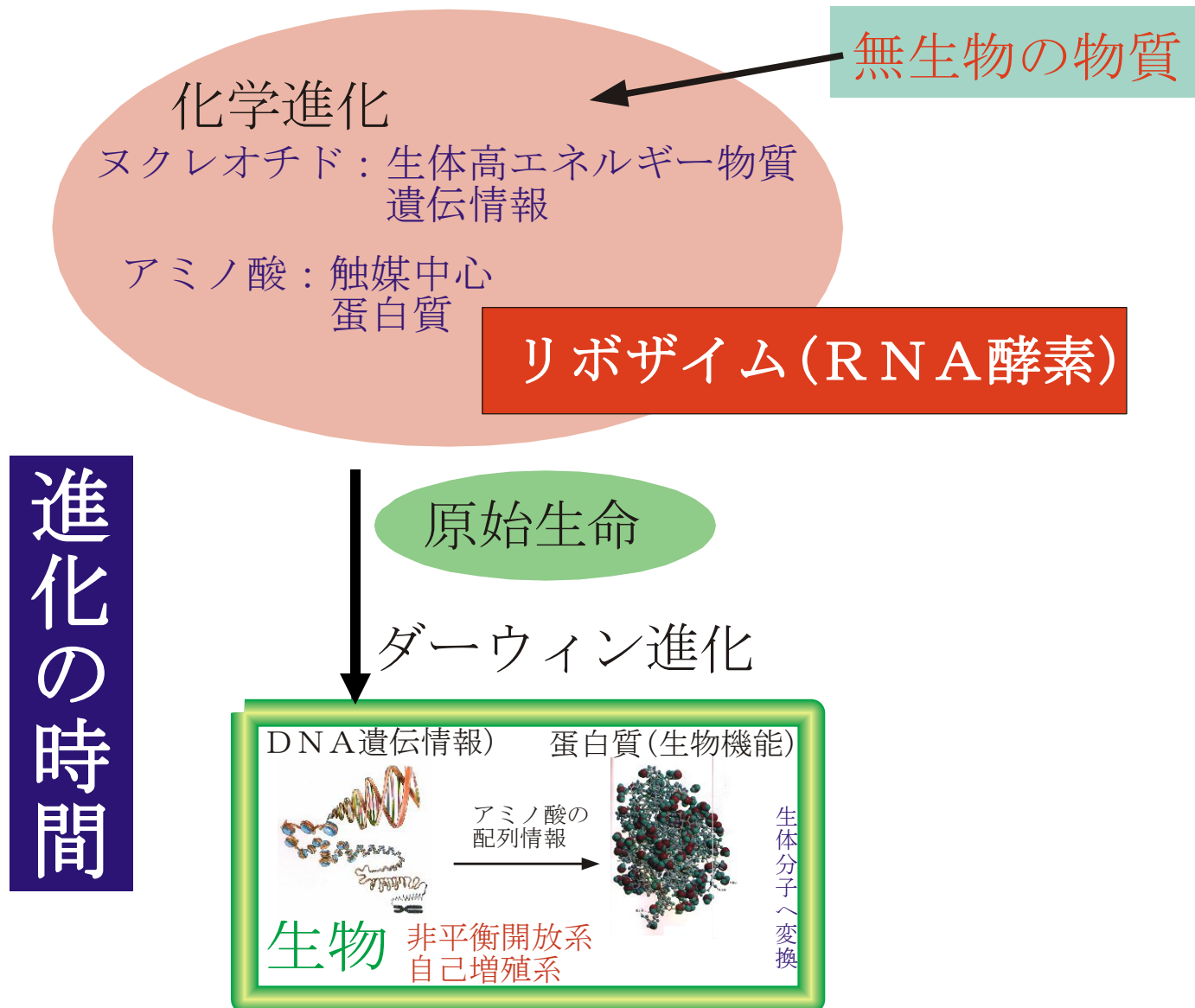
リボゾーム (Ribosome)

mRNA上に転写されたDNAの遺伝情報(アミノ酸の配列順序)に従ってアミノアシルtRNA合成酵素で用意されたtRNA-アミノ酸(1-20)を順番に結合しタンパク質を合成する。



コドンとアンチコドンの結合は正correct)誤(incorrect)の結合エネルギーの差であり、100回に1回は誤りを生じるが、実際の誤りは2000回に1回である。A-siteからP-site への移動時に誤結合は排除される。

生命の起源と進化の問題



生命の誕生の「RNAワールド仮説」

The **RNA world hypothesis** proposes that RNA was, before the emergence of the first cell, the dominant, and probably the only, form of life. The phrase "The World" was first used by Walter Gilbert in 1986.

原始地球上に存在したと仮定される、RNAからなる自己複製系のことで、これが現生の生物へと進化したという仮説を「RNAワールド仮説」と呼ぶ。自己スプライシングを起こすイントロンの発見やレトロウイルスによる逆転写酵素の発見により、**RNAが遺伝情報と酵素活性の両方を持ちうる**ことが証明されて、この説の提唱のきっかけとなった。

ポリヌクレオチドの合成にはポリペプチドが必要であり、ポリペプチドの合成にはポリヌクレオチドが必要だという**相互依存の関係**が解消された。RNAワールドからDNAワールドへの発展は、RNAからタンパク質に生化学反応の触媒が移行し、RNAはタンパク質の配列を示す遺伝暗号としての機能を持つようになり、RNAが不安定な分子なので、RNAからDNAがその機能を担うようになったとされている。

1989年度のノーベル化学賞はRNAの触媒作用の発見で、Sidney Altman と Thomas R. Chechに与えられた。