

2020年2月10日(月) 作成

2020年2月17日(月) 更新

2019年度 実践研究セミナー

フランクリン・ゴスリング「Photo 51」論文を読んでみよう (暫定版)

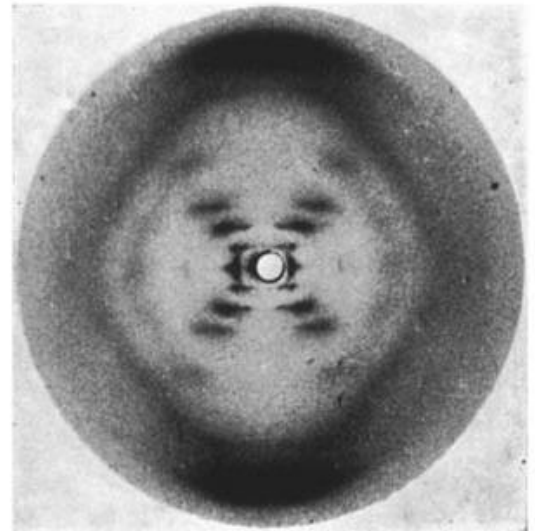
名古屋工業大学 生命・応用化学専攻
環境セラミックスプログラム 3年次学生

名古屋工業大学 先進セラミックス研究センター
井田 隆

Sodium deoxyribose nucleate from calf thymus, Structure B.
子牛の胸腺由来デオキシリボース核酸ナトリウム. 構造 B.

Gosling & Franklin の B-型 DNA 結晶 X線回折写真
通称 “Photo 51”

「世界で最も重要な回折像」



Molecular Configuration in Sodium Thymonucleate

1 Sodium thymonucleate fibres give two distinct types of X-ray diagram. The first corresponds to a crystalline form, structure A, obtained at about 75 per cent relative humidity; study of this is described in detail elsewhere¹. At higher humidities a different structure, structure B, showing a lower degree of order, appears and persists over a wide range of ambient humidity. The change from A to B is reversible. The water content of structure B fibres which undergo this reversible change may vary from 40–50 per cent to several hundred per cent of the dry weight. Moreover, some fibres never show structure A, and in those structure B can be obtained with an even lower water content.

胸腺核酸ナトリウム塩の分子配置

胸腺核酸ナトリウム繊維からは、2つの異なるタイプのX線回折像が得られる。

1つ目のタイプは、約75%の相対湿度で得られた結晶形、構造Aに該当する。この構造Aについての調査の詳細については、他の論文¹で述べている。

さらに高い湿度では、秩序の度合いの低い構造Bが現れ、この構造は広い湿度の範囲で持続する。

AからBへの変化は可逆的である。

この可逆的な変化を受ける構造B繊維の含水量は、乾燥重量の40–50パーセントから数百パーセントまでさまざまである。

さらに、一部の繊維は構造Aを示すことがなく、これらの繊維ではさらに低い含水量であっても構造Bが得られる。

2

The X-ray diagram of structure *B* (see photograph) shows in striking manner the features characteristic of helical structures, first worked out in this laboratory by Stokes (unpublished) and by Crick, Cochran and Vand². Stokes and Wilkins were the first to propose such structures for nucleic acid as a result of direct structure had been previously suggested by Furburg (thesis, London, 1949) on the basis of X-ray studies of nucleosides and nucleotide.

構造 *B* の X 線図 (写真を参照) には、驚くほど螺旋構造に典型的な特徴が示されている。この特徴は、本研究所でストークス (未発表) が初めて明らかにし、さらにクリックおよびコクラン、ヴァンドによっても明らかにされた²。

ストークスとウィルキンスが初めてそのような核酸構造を提案したのであり、それは Furburg (博士論文, London, 1949) がヌクレオシドとヌクレオチドについての X 線研究に基づいて実空間構造に関する結果として提案したことに基づくものだった。

3

While the X-ray evidence can not, at present, be taken as direct proof that the structure is helical, other considerations discussed below make the existence of a helical structure highly probable.

現時点では、X 線の証拠は、構造がらせんであることの直接的な証明とは言えないが、以下で説明する他の考慮により、螺旋構造の存在は十分ありえる。

(担当：高沢桜子)

4

Structure *B* is derived from the crystalline structure *A* when the sodium thymonucleate fibres take up quantities of water in excess of about 40 per cent of their weight. The change is accompanied by an increase of about 30 per cent in the length of the fibre, and by a substantial re-arrangement of the molecule. It therefore seems reasonable to suppose that in structure *B* the structural units of sodium thymonucleate (molecules or groups of molecules) are relatively free from the influence of neighboring molecules, each unit being shielded by a sheath of water. Each unit is then free to take up its least-energy configuration independently of its neighbours and, in view of the nature of the long-chain molecules involved, it is highly likely that the general form will be helical³.

構造 *B* は、胸腺核酸ナトリウム繊維がその重量の 40 パーセント程度を超える量の水を吸収したときに、結晶性の構造 *A* から得られる。

この変化には、約 30 パーセントの繊維の長さの伸びと、分子の再配列が付随する。

したがって、構造 *B* 中では胸腺核酸ナトリウムの構造単位 (分子集団上の分子) のそれぞれが水の覆いで遮蔽されていて、近接した分子からの影響を比較的受けにくいと考えることは、理にかなう。

それぞれの構造単位は、隣り合った構造単位から独立して自由にエネルギーが最小になるような配置をとることができ、関与する長鎖分子の性質の観点から、この時の概形は螺旋である可能性³が、かなり高いと言える。

If we adopt the hypothesis of a helical structure, it is immediately possible, from the X-ray diagram of structure *B*, to make certain deductions as to the nature and dimensions of the helix.

5

The innermost maxima on the first, second, third and fifth layer lines lie approximately on straight line radiating from the origin.

For a smooth single-strand helix the structure factor on the *n*th layer line is given by:

$$F_n = J_n(2\pi rR) \exp in \left(\psi + \frac{1}{2}\pi \right),$$

where $J_n(u)$ is the *n*th-order Bessel function of *u*, *r* is the radius of the helix, and *R* and ψ are the radial and azimuthal co-ordinates in reciprocal space²; this expression leads to an approximately linear array of intensity maxima of the type observed, corresponding to the first maxima in the functions J_1, J_2, J_3 , etc.

6

If, instead of a smooth helix, we consider a series of residues equally spaced along the helix, the transform in the general case treated by Crick, Cochran and Vand is more complicated. But if there is a whole number, *m*, of residues per turn, the form of the transform is as for a smooth helix with the addition, only, of the same pattern repeated with its origin at heights mc^* , $2mc^*$... etc. (*c* is the fibre-axis period).

7

In the present case the fibre-axis period is 34 Å. and the very strong reflexion at 3.4 Å. lies on the tenth layer line. Moreover, lines of maxima radiating from the 3.4 Å. Reflexion as from the origin are visible on the fifth and lower layer lines, having a J_5 maximum coincident with that of the origin series on the fifth layer line.

螺旋構造の仮説を採用すると、構造 *B* の X 線図から、螺旋の性質と寸法について、いくつかの推論をすぐに導くことができる。

第 1, 第 2, 第 3, 第 5 層線内の最強位置は、おおむね原点から放射状に伸びる直線の上にある。

滑らかな一本鎖螺旋の場合、第 *n* 層線の構造因子は次式で与えられる。

$$F_n = J_n(2\pi rR) \exp in \left(\psi + \frac{1}{2}\pi \right)$$

ここで $J_n(u)$ は *n* 次の *u* に関するベッセル関数で、*r* は螺旋の半径、*R* と ψ は逆格子空間における動径と方位角の座標値である。この表現から、観測されたタイプの最強位置は、関数 J_1, J_2, J_3 などの第 1 極大に対応して、ほぼ直線的に並ぶことが導かれる。

滑らかな螺旋の代わりに、螺旋に沿って等間隔に並んだ一連の残基について考えた場合、クリックとコクラン、ヴァンドによって扱われた一般的な場合の変換はもっと複雑になる。

しかし、一回転のうちに整数 *m* 個の残基があるとしたとき、滑らかな螺旋についての変換のしかたは、ただ $mc^*, 2mc^* \dots$ の高さで原点と同じ繰り返しパターンを追加するだけである

(*c* は繊維軸の周期)。

(担当: 長尾隼太)

この場合、繊維軸の周期は 34 Å であり、3.4 Å での非常に強い反射は 10 層目の線上に現れる。さらに、原点から放射する最強位置直線と同じように、3.4 Å 反射から放射する最強位置直線が、5 番目とそれ以下の層線で視認できる。

(The strong outer streaks which apparently radiate from the 3.4 Å maximum are not, however, so easily explained.)

This suggests strongly that there are exactly 10 residues per turn of the helix. If this is so, then from a measurement of R_n the position of the first maximum on the n th layer line (for $n \leq 5$), the radius of the helix, can be obtained. In the present instance, measurements of R_1, R_2, R_3 and R_5 , all lead to values of r of about 10 Å.

8 Since this linear array of maxima is one of the strongest features of the X-ray diagram, we must conclude that a crystallographically important part of the molecule lies on a helix of this diameter. This can only be the phosphate groups or phosphorus atoms.

9 If ten phosphorus atoms lie on one turn of a helix of radius 10 Å., the distance between neighbouring phosphorus atoms in a molecule is 7.1 Å. This corresponds to the P ... P distance in a fully extended molecule, and therefore provides a further indication that the phosphates lie on the outside of the structural unit.

10 Thus, our conclusions differ from those of Pauling and Corey⁴, who proposed for the nucleic acids a helical structure in which the phosphate groups form a dense core.

11 We must now consider briefly the equatorial reflexions. For a single helix the series of equatorial maxima should correspond to the maxima in $J_0(2\pi rR)$. The maxima on our photograph do not, however, fit this function for the value of r deduced above.

(ただし、その外側にある 3.4 Å 極大から放射されるように見える強いストリークは、それほど簡単には説明できない。)

このことは、ヘリックスのターンごとに正確に 10 の残基があることを強く示唆している。

もしそうである場合、 n 番目 ($n \leq 5$) の層線の最初の極大の位置 R_n を測定することにより螺旋の半径が得られる。

この例では、 R_1 および R_2, R_3, R_5 の測定値から、すべて r の値として約 10 Å という値が導かれる。

この極大位置の線形配列は X 線図の最も強い特徴であるため、分子の結晶学的に重要な部分は、この直径の螺旋上にあると結論づけなければならない。

リン酸基またはリン原子のみがこれに該当する。

(担当：山下達也)

もし 10 個のリン原子が半径 10 Å の螺旋の 1 巻き上に置かれているのであれば、分子内で隣り合うリン原子の間の距離は 7.1 Å である。

この値は分子を完全に引き伸ばしたときの P ... P 距離に対応し、そのこともリン酸基が構造単位の外側に位置していることを示している。

それゆえ、我々の結論は、核酸の構造としてリン酸基が芯を形成するような螺旋構造を提案した Pauling と Corey の結論⁴とは異なる。

さて、赤道反射について少し考えてみなければいけないだろう。

単一螺旋であれば、赤道極大の系列は $J_0(2\pi rR)$ の極大 (+極小?) 位置に対応づけられるはずである。

しかしながら、われわれの写真上の極大位置は、前述のように推定された r の値について計算される関数とは合わない。

There is a very strong reflexion at about 24 Å. and then only a faint sharp reflexion at 9.0 Å. and two diffuse bands around 5.5 Å. and 4.0 Å.

This lack of agreement is, however, to be expected, for we know that the helix so far considered can only be the most important member of a series of coaxial helices of different radii; the non-phosphate parts of the molecule will lie on inner co-axial helices, and it can be shown that, whereas these will not appreciably influence the innermost maxima and the outer maxima on other layer lines, they may have the effect of destroying or shifting both the equatorial maxima and the outer maxima on other layer lines.

約 24 Å の位置に非常に強い反射があり、9.0 Å にかすかな鋭い反射、5.5 Å と 4.0 Å の付近に 2 つの散漫なバンドだけがある。

ところが、このような不都合は想定しうることである。というのは、ここまで考えてきた螺旋は、異なる半径の同軸螺旋のシリーズの最も重要な部分でしかないかも知れないことがわかっているからである。

分子のうちリンを含まない部分は同軸螺旋の内側に存在するのであろうし、この部分は、他の層線の最も内側の極大や外側の極大にあまり影響を与えないとしても、赤道線上の極大と他の層線の外側の極大を破壊あるいはシフトさせる効果を持つことを示せるかもしれない。

(担当：野崎拓実)

12

Thus, if the structure is helical, we find that the phosphate groups or phosphorus atoms lie on a helix of diameter about 20 Å., and the sugar and base groups must accordingly be turned inwards towards the helical axis.

したがって、構造が螺旋状であれば、リン酸基またはリン原子が直径約 20 Å の螺旋上にあり、糖と塩基のグループは、必然的に螺旋軸の方向・内側に向いていなければならないことがわかる。

13

Considerations of density show, however, that a cylindrical repeat unit of height 34 Å. and diameter 20 Å. must contain many more than ten nucleotides.

ところが、密度を考慮すると、高さ 34 Å、直径 20 Å の円柱状繰り返し単位の中には、10 個を超えるヌクレオチドが含まれている必要があることがわかる。

14

Since structure B often exists in fibres with low water content, it seems that the density of the helical unit cannot differ greatly from that of dry sodium thymonucleate, 1.63 gm./cm.³ 1,3, the water in fibres of high water-content being situated outside the structural unit.

On this basis we find that a cylinder of radius 10 Å. and height 34 Å. would contain thirty-two nucleotides.

However, there might possibly some slight inter-penetration of the cylindrical units in the dry state making their effective radius rather less.

構造 B は、しばしば含水率の低い繊維に存在するため、螺旋単位の密度は、乾燥した胸腺核酸ナトリウムの密度 1.63 g/cm³ と大きく異ならず、含水率の高い繊維中の水は構造単位の外側に置かれているように思われる。

このことに基づけば、半径 10 Å、高さ 34 Å の円柱には 32 個のヌクレオチドが含まれることになる。

しかし、乾燥状態にある螺旋単位は、なにか少し互いに食い込むような状況にあり、そのせいで有効となる半径がかなり小さくなる可能性がある。

It is therefore difficult to decide, on the basis of density measurements alone, whether one repeating unit contains ten nucleotides on each of two or on each of three co-axial molecules.

(If the effective radius were 8 Å, the cylinder would contain twenty nucleotides.)

Two other arguments, however, make it highly probable that there are only two co-axial molecules.

したがって、密度測定だけでは、一つの繰り返し単位が、2つの同軸分子のそれぞれとして10個のヌクレオチドを含むのか、3つの同軸分子のそれぞれとして10個のヌクレオチドを含むのか、判断することは困難である。

(もし有効半径が8 Åということなら、円柱には20個のヌクレオチドが含まれることになる。)

ところが、他の二つの議論によって、2つの同軸分子しか存在しない可能性が高いということになる。

(担当：堀江未来乃)

15

First, a study of the Patterson function of structure *A*, using superposition methods, has indicated that there are only two chains passing through a primitive unit cell in this structure.

Since the $A \rightleftharpoons B$ transformation is readily reversible, it seems very unlikely that the molecules would be grouped in threes in structure *B*.

Secondly, from measurements on the X-ray diagram of structure *B* it can readily be shown that, whether the number of chains per unit is two or three, the chains are not equally spaced along the fibre axis.

For example, three equally spaced chains would mean that the *n*th layer line depended on J_{3n} , and would lead to a helix of diameter about 60 Å.

This is many times larger than the primitive unit cell in structure *A*, and absurdly large in relation to the dimensions nucleotides.

Three unequally spaced chains, on the other hand, would be crystallographically non-equivalent, and this, again, seems unlikely.

It therefore seems probable that there are only two co-axial molecules and that these are unequally spaced along the fibre axis.

第一に、重ね合わせ法を使用した構造 *A* の Patterson 関数の研究により、この構造には単純単位胞を通過する鎖が2本しかないことが示されていることである。

$A \rightleftharpoons B$ の変形は容易で可逆的であるため、分子が構造 *B* で3つにグループ化される可能性は非常に低いと思われる。

第二に、構造 *B* の X 線図についての測定から、構造単位中の鎖の数が2か3のいずれであるとしても、鎖は繊維軸に沿って等間隔に配置されていないことが容易にわかることがある。

例えば、かりに三つの等間隔で配置された鎖なら、第 *n* 層線は J_{3n} によることになってしまい、鎖を直径約 60 Å の螺旋の上に載せなければいけないことを意味する。

これは、構造 *A* の単純単位胞の何倍もの大きさで、ヌクレオチドの寸法からしても馬鹿げた大きさである。

一方で、不等間隔配置3本鎖は結晶学的に不等価であることになるので、これもまたありえなさそうに思われる。

したがって、同軸二分子しか存在せず、その二分子が繊維軸に沿って不等間隔に配置するということになりそうである。

16

Thus, while we do not attempt to offer a complete interpretation of the fibre-diagram of structure *B*, we may state the following conclusions.

The structure is probably helical.

The phosphate groups lie on the outside of the structural unit, on a helix of diameter about 20 Å.

The structural unit probably consists of two co-axial molecules which are not equally spaced along the fibre axis, their mutual displacement being such as to account for the variation of observed intensities of the innermost maxima on the layer lines;

if one molecule is displaced from the other by about three-eighths of the fibre-axis period, this would account for the absence of the fourth layer line maxima and the weakness of the sixth.

Thus our general ideas are not inconsistent with the model proposed by Watson and Crick in the preceding communication.

そのようなことから、われわれは構造 *B* 繊維図についての完全な解釈を提供しようとするつもりはないのだが、以下の結論を述べても良いだろう。構造はおそらく螺旋状である。

リン酸基は、構造単位の外側に、直径約 20 Å の螺旋の上にある。

構造単位は、おそらく 2 つの同軸分子であり、この 2 つの分子は繊維軸方向には等間隔に配置されていない。位置のずれは、層線内部の極大位置で観測される強度の変化を説明できるようなものになるはずである。

もし一つの分子がもう一つの分子から、繊維軸周期の約 8 分の 3 ずれた位置にあれば、第 4 層線が欠如していることと第 6 層線が弱いことを説明できる。

以上のように、われわれの考え方は、この論文の前に掲載されているワトソンとクリックの提案したモデルと全体として矛盾していない。

(担当：大川颯太)

17

The conclusion that the phosphate groups lie on the outside of the structural unit has been reached previously by quite other reasoning¹. Two principal lines of argument were invoked.

The first derives from the work of Gulland and his collaborators⁷, who showed that even in aqueous solution the $-\text{CO}$ and $-\text{NH}_2$ groups of the bases are inaccessible and cannot be titrated, whereas the phosphate groups are fully accessible.

The second is based on our own observations¹ on the way in which the structural units in structures *A* and *B* are progressively separated by an excess of water, the process being a continuous one which leads to the formation first of a gel and ultimately to a solution.

リン酸基が構造単位の外側にあるという結論には、既にかなり異なる理由から到達していた。

その理由について 2 つの要点を記す。

第一点は、ガランドとその共同研究者の研究⁷に基づき、リン酸基には完全にアクセスできる一方で、 $-\text{CO}$ 基と $-\text{NH}_2$ 基は水溶液中でさえアクセスすることができず、滴定もできないことである。

第二点は、私たち自身の観察¹に基づく。構造 *A* と構造 *B* の中の構造単位は、過剰な水によって漸次的に分離される。このプロセスは連続的に起こり、初めはゲル、最終的には溶液になる。

The hygroscopic part of the molecule may be presumed to lie in the phosphate groups ($(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_2\text{PO}_2\text{Na}$ and $(\text{C}_3\text{H}_7\text{O})_2\text{PO}_2\text{Na}$ are highly hygroscopic⁸), and the simplest explanation of the above process is that these groups lie on the outside of the structural units.

Moreover, the ready availability of the phosphate groups for interaction with proteins can most easily be explained in this way.

18

We are grateful to Prof. J. T. Randall for his interest and to Drs. F. H. C. Crick, A. R. Stokes and M. H. F. Wilkins for discussion. One of us (R. E. F.) acknowledges the award of a Turner and Newall Fellowship.

Rosalind E. Franklin*

R. G. Gosling

Wheatstone Physics Laboratory,
King's College, London.

April 2.

*Now at Birkbeck College Research
Laboratories, 21 Torrington Square,
London, W. C. I.

¹ Franklin, R. E., and Gosling, R. G. (in the press).

² Cochran, W., Crick, F. H. C., and Vand, V., *Acta Cryst.*, **5**, 501 (1952).

³ Pauling, L., Corey, R. B., and Bransom, H. R., *Proc. U.S. Nat. Acad. Sci.*, **37**, 205 (1951).

⁴ Pauling, L., and Corey, R. B., *Proc. U.S. Nat. Acad. Sci.*, **39**, 84 (1953).

⁵ Astbury, W. T., *Cold Spring Harbor Symp. on Quant. Biol.*, **12**, 56 (1947).

⁶ Franklin, R. E., and Gosling, R. G. (to be published).

⁷ Gulland, J. M., and Jordan, D. O., *Cold Spring Harbor Symp. on Quant. Biol.*, **12**, 5 (1947).

分子の親水部分は、リン酸基にあるだろうと推定される。 $(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_2\text{PO}_2\text{Na}$ と $(\text{C}_3\text{H}_7\text{O})_2\text{PO}_2\text{Na}$ は高い吸湿性を示す) そして上記の過程を最も単純に説明するのが、リン酸基が構造単位の外側にあるということである。

それに加えて、タンパク質との相互作用に関して、リン酸基がすぐに反応できることも、このように説明するのが最も容易であろう。

われわれは、関心を示してくれた J. T. Randall 教授と、議論をした F. H. C. Crick 博士, A. R. Stokes 博士, M. H. F. Wilkins 博士に感謝する。著者のうち一人 (R. E. F.) は Turner and Newall 助成に感謝する。

【補足 1】リン酸とタンパク質の相互作用
リン酸化と言い、各種の有機化合物、中でもタンパク質にリン酸基を付加させる反応である。この反応は生化学の中で大きな役割を担っている。タンパク質機能調節に役立っている。

【補足 2】Turner and Newall 助成
50 歳以下のイギリス人もしくはイギリス在住の美術家に送られる Turner 賞というものもあるが、そのこととは関係ない。

【補足 3】リン酸基の滴定
リン酸は三価の酸であり、リン酸基は二価の酸なので NaOH などで中和滴定可能。

(担当：古賀元)

⁸ Drushel, W. A., and Felty, A. R.,
Chem. Zent., **89**, 1016 (1918).

文献 1 :

Franklin, R. E. & Gosling, R. G., "The Structure of Sodium Thymonucleate Fibres. I. The Influence of Water Content," *Acta Cryst.* **6**, 673 (1953).
[<https://doi.org/10.1107/S0365110X53001939>]

文献 6 :

Franklin, R. E. & Gosling, R. G., "The Structure of Sodium Thymonucleate Fibres. II. The Cylindrically Symmetrical Patterson Function," *Acta Cryst.* **6**, 678–685 (1953).
[<https://doi.org/10.1107/S0365110X53001940>]

Gosling & Franklin の
A-型 DNA 結晶
X線回折写真 (1952年)

