

※以下、ブラケット ([]) は濃度を表わしている。(ex. [A] は分子 A の濃度)

付録 A. 生化学反応(高次反応)

A-1) 高次反応と Hill 式

まず高次反応についてもう 1 度触れておこう。

以下のように、n 個の分子が同時に別の分子に結合する n 次反応を考える。



ただし、総和保存が成り立つと考え、簡単にするためにここでは

$$[B] + [A^nB] = 1 \quad (\text{A.2})$$

とする。

このとき複合体 A^nB の生成速度 $\frac{d[A^nB]}{dt}$ は以下の微分方程式で与えられる。

$$\frac{d[A^nB]}{dt} = -k_b[A^nB] + k_f[A]^n[B] \quad (\text{A.3})$$

式(A.2) より

$$[B] = 1 - [A^nB] \quad (\text{A.4})$$

式(A.4) を(A.3) に代入して

$$\frac{d[A^nB]}{dt} = -k_b[A^nB] + k_f[A]^n(1 - [A^nB]) \quad (\text{A.5})$$

ここで、(A.1) の平衡状態を考える。平衡状態においては $\frac{d[A^nB]}{dt} = 0$ が成り立つので、式

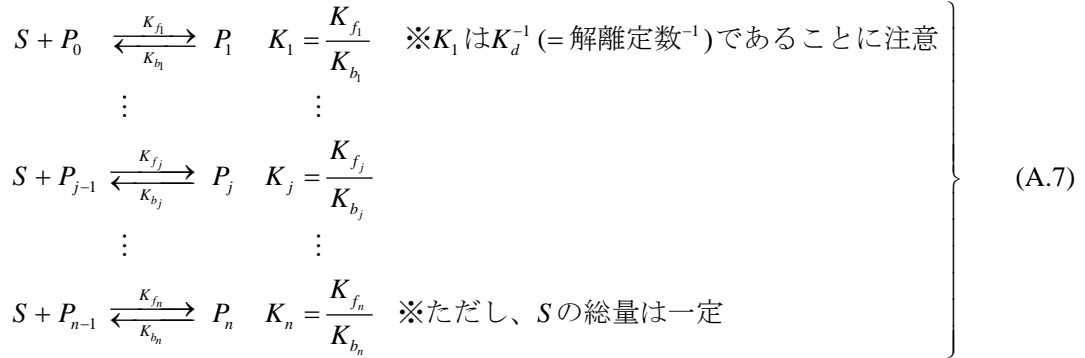
(A.5) にこれを代入し、 $Kd = \frac{k_b}{k_f}$ として $[A^nB]$ について整理すると

$$[A^nB] = \frac{[A]^n}{Kd + [A]^n} \quad (\text{A.6})$$

が得られ、これを **Hill 式** と呼ぶ。

A-2) 高次反応と Adair 式

Hill 式では、 n 個の分子が同時に結合するモデルを考えたが、Adair 式では以下のように n 次反応が段階的進むモデルを考える。



$$r = \frac{P \text{に結合した} S \text{の濃度}}{\text{全} P \text{の濃度}} = \frac{1[P_1] + 2[P_2] + \dots + n[P_n]}{[P_0] + [P_1] + \dots + [P_n]} \quad (A.8)$$

ここで、 r は P に対する S の平均結合数を示し、 $0 < r < n$ となる。

(A.7) について

$$\begin{array}{l}
 \frac{d[P_0]}{dt} = -K_{f_1}[S][P_0] + K_{b_1}[P_1] \\
 \vdots \\
 \frac{d[P_{j-1}]}{dt} = -K_{f_j}[S][P_{j-1}] + K_{b_j}[P_j] + K_{f_{j-1}}[S][P_{j-2}] - K_{b_{j-1}}[P_{j-1}] \\
 \vdots
 \end{array} \quad (A.9)$$

平衡状態では $\frac{d[P_0]}{dt}, \dots, \frac{d[P_{j-1}]}{dt}, \dots = 0$ なので、(A.9) を漸化式として解くと

$$\frac{K_{f_j}}{K_{b_j}} = \frac{[P_j]}{[S][P_{j-1}]} = K_j \quad (A.10)$$

$$[P_j] = K_j[S][P_{j-1}] \quad (A.11)$$

$j=1$ のとき

$$[P_1] = K_1[S][P_0]$$

$j=2$ のとき

$$\begin{aligned}
 [P_2] &= K_2[S][P_1] \\
 &= K_2[S]K_1[S][P_0] \\
 &= K_1K_2[S]^2[P_0]
 \end{aligned}$$

$j=3$ のとき

$$\begin{aligned}
 [P_3] &= K_3[S][P_2] \\
 &= K_3[S]K_1K_2[S]^2[P_0] \\
 &= K_1K_2K_3[S]^3[P_0]
 \end{aligned}$$

\vdots

\vdots

$j=n$ のとき

$$[P_n] = [S]^n [P_0] \prod_{i=1}^n K_i \quad (A.12)$$

(A.12) を(A.8) に代入すると

$$r = \frac{K_1[S][P_0] + 2K_1K_2[S]^2[P_0] + \dots + nK_1K_2 \dots K_n[S]^n[P_0]}{[P_0] + K_1[S][P_0] + K_1K_2[S]^2[P_0] + \dots + K_1K_2 \dots K_n[S]^n[P_0]}$$

$$= \frac{K_1[S] + 2K_1K_2[S]^2 + \dots + nK_1K_2 \dots K_n[S]^n}{1 + K_1[S] + K_1K_2[S]^2 + \dots + K_1K_2 \dots K_n[S]^n} \quad (\text{A.13})$$

と求まり、これを **Adair 式** と呼ぶ。

ここで、 $[S] \rightarrow \infty$ とすると

$$r \rightarrow \frac{nK_1K_2 \dots K_n}{K_1K_2 \dots K_n} = n \quad (\text{A.14})$$

また、リガンドの S の P に対する結合飽和度は $Y_s = \frac{r}{n}$ で得られ、 $[S] \rightarrow \infty$ のとき

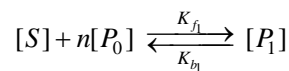
$$Y_s = 1$$

※定性的には、 r は P に存在している n 個の結合サイトのうち、 S が結合している結合サイトの平均値のことを示している。

したがって、 $[S] \rightarrow \infty$ とした式(A.14) では、 P の結合サイト全てに S が結合していることを意味する。

(i) 結合サイトが同じ affinity で独立のとき (協調性がない場合)

P_0 に n 個の結合サイトがあるとすると、見かけ上、合計で $n[P_0]$ 個の結合サイトが存在することになる。 P_1 については結合サイトが $n-1$ 個であることをふまえると



$$\frac{d[P_0]}{dt} = -K_{f_1}[S]n[P_0] + K_{b_1}[P_1]$$

$$\frac{d[P_1]}{dt} = -K_{f_2}[S](n-1)[P_1] + K_{b_2} \cdot 2 \cdot [P_2] + K_{f_1}[S]n[P_0] - K_{b_1}[P_1] \quad (\text{A.15})$$

⋮

$$\therefore \frac{d[P_{j-1}]}{dt} = -K_{f_j}[S](n-j+1)[P_{j-1}] + K_{b_j} \cdot j \cdot [P_j] + K_{f_{j-1}}[S](n-j+2)[P_{j-2}] + K_{b_{j-1}} \cdot (j-1) \cdot [P_{j-1}]$$

平衡状態では $\frac{d[P_0]}{dt}, \dots, \frac{d[P_{j-1}]}{dt}, \dots = 0$ なので

$$\frac{K_{f_j}}{K_{b_j}} = \frac{j[P_j]}{(n-j+1)[S][P_{j-1}]} = L_j \quad \dots \text{真の平衡定数}$$

一方、(A.10) より

$$K_j = \frac{[P_j]}{[S][P_{j-1}]} \quad \dots \text{見かけの平衡定数}$$

まとめると

$$\frac{K_{f_j}}{K_{b_j}} = L_j = \frac{j}{(n-j+1)} \cdot K_j$$

$$\therefore K_j = \frac{n-j+1}{j} \cdot L \quad \left(\begin{array}{l} \text{affinity が同じなので} \\ L_1 = L_2 = \dots = L_j = \dots = L \text{とする} \end{array} \right) \quad (\text{A.16})$$

したがって

$$\left. \begin{array}{l} j=1 \text{ のとき} \quad K_1 = \frac{n-1+1}{1} L = nL \\ j=2 \text{ のとき} \quad K_2 = \frac{n-2+1}{2} L = \frac{n-1}{2} L \\ \vdots \\ j=n \text{ のとき} \quad K_n = \frac{n-n+1}{n} L = \frac{1}{n} L \end{array} \right\} \quad (\text{A.17})$$

(A.17) を(A.13) に代入すると

$$r = \frac{nL[S]}{1+L[S]} \quad (\text{※詳しい導出法は補足参照})$$

リガンド結合の飽和度は $Y_s = \frac{r}{n}$ で得られるので

$$Y_s = \frac{L[S]}{1+L[S]} \quad (\text{A.18})$$

となり、これは、リガンド結合の飽和度に関して S についての 1 次反応、つまり(A.7) において反応が 1 段階しかすすまないとき($n=1$) と同じ式となる

(ii) 同じ結合サイトでも他の結合状態により affinity が変化するとき (協調性がある場合)

簡易化のため 2 次反応について考える

1 つ目が結合するとき

$$K_1 = 2L_1 \quad (1 \text{ つ目の結合サイト})$$

2 つ目が結合するとき

$$K_2 = \frac{1}{2} L_2 \quad (2 \text{ つ目の結合サイト})$$

(A.19)

(A.19) を(A.13) に代入すると

$$r = \frac{K_1[S] + 2K_1K_2[S]^2}{1 + K_1[S] + K_1K_2[S]^2} = \frac{2L_1[S] + 2 \cdot 2L_1 \cdot \frac{L_2}{2} [S]^2}{1 + 2L_1[S] + 2L_1 \cdot \frac{L_2}{2} [S]^2} = \frac{2L_1[S] + 2L_1L_2[S]^2}{1 + 2L_1[S] + L_1L_2[S]^2}$$

ここで $Y_s = \frac{r}{n}$ より

$$Y_s = \frac{L_1[S] + L_1L_2[S]^2}{1 + 2L_1[S] + L_1L_2[S]^2} \quad (\text{A.20})$$

$L_1 = L_2 = L$ (協調性なし) のとき、(i) と同様に

$$\begin{aligned} Y_s &= \frac{L[S] + L^2[S]^2}{1 + 2L[S] + L^2[S]^2} = \frac{L[S](1 + L[S])}{(1 + L[S])^2} \\ &= \frac{L[S]}{1 + L[S]} \quad \dots 1 \text{ 次反応} \end{aligned} \quad (\text{A.21})$$

次に、 $L_1 \neq L_2$ (協調性あり) のとき

$$Y_s = \frac{L_1[S] + L_1L_2[S]^2}{1 + 2L_1[S] + L_1L_2[S]^2} \quad (\text{A.22})$$

式(A.22) において、 $\hat{S} = L_1[S]$ とおくと

$$\begin{aligned} Y_s &= \frac{\hat{S} + \hat{S}L_2[S]}{1 + 2\hat{S} + \hat{S}L_2[S]} \\ &= \frac{\hat{S} + \frac{L_2}{L_1}\hat{S}^2}{1 + 2\hat{S} + \frac{L_2}{L_1}\hat{S}^2} \end{aligned} \quad (\text{A.23})$$

$L_2 \ll L_1$ のとき (1 つ目の結合が起こりやすく、2 つ目は起こりにくい)

$$\begin{aligned} Y_s &\approx \frac{\hat{S}}{1 + 2\hat{S}} \\ &= \frac{1}{2} \frac{2\hat{S}}{1 + 2\hat{S}} \quad (\text{EC}_{50} \text{ は } 0.5 \text{ になっている ※A-3 参照}) \end{aligned} \quad (\text{A.24})$$

$L_2 \gg L_1$ のとき (1 つ目の結合が起こりにくく、2 つ目は起こりやすい)

$$\begin{aligned} Y_s &= \frac{\hat{S} + \frac{L_2}{L_1}\hat{S}^2}{1 + 2\hat{S} + \frac{L_2}{L_1}\hat{S}^2} \\ &= \frac{\frac{L_1}{L_2}\hat{S} + \hat{S}^2}{\frac{L_1}{L_2} + 2\frac{L_1}{L_2}\hat{S} + \hat{S}^2} \approx \frac{\hat{S}^2}{\hat{S}^2} = 1 \end{aligned} \quad (\text{A.25})$$

※ $r = \frac{nL[S]}{1+L[S]}$ に関する補足（証明）

$$r = \frac{K_1[S] + 2K_1K_2[S]^2 + \dots + nK_1K_2 \dots K_n[S]^n}{1 + K_1[S] + K_1K_2[S]^2 + \dots + K_1K_2 \dots K_n[S]^n} \quad (\text{A.26})$$

(A.17) より、 K_1 から K_i までの積は

$$K_1K_2K_3 \dots K_i = nL \cdot \frac{n-1}{2} L \cdot \frac{n-2}{3} L \dots \frac{n-i+1}{i} L$$

(A.13) の分母について、 i 番目の項（ $K_1[S]$ を 1 番目の項とみる）は

$$K_1K_2K_3 \dots K_i \cdot [S]^i = nL \cdot \frac{n-1}{2} L \cdot \frac{n-2}{3} L \dots \frac{n-i+1}{i} L \cdot [S]^i = \frac{n!}{i!(n-i)!} L^i \cdot [S]^i$$

したがって

$$\text{(A.13)の分母} = 1 + \sum_{i=1}^n \frac{n!}{i!(n-i)!} L^i [S]^i = \sum_{i=0}^n \frac{n!}{i!(n-i)!} L^i [S]^i \quad (\text{A.27})$$

一方、二項定理より

$$(x+y)^n = \sum_{k=0}^n \frac{n!}{k!(n-k)!} \cdot x^{n-k} \cdot y^k \quad (\text{A.28})$$

(A.28) に $x=1, y=L[S], k=i$ を代入すると

$$(1+L[S])^n = \sum_{i=0}^n \frac{n!}{i!(n-i)!} L^i [S]^i$$

したがって(A.27) より

$$\text{(A.13)の分母} = (1+L[S])^n \quad (\text{A.29})$$

また(A.13) の分子について、 i 番目の項は

$$\begin{aligned} i \cdot K_1K_2K_3 \dots K_i [S]^i &= i \cdot nL \cdot \frac{n-1}{2} L \cdot \frac{n-2}{3} L \dots \frac{n-i+1}{i} L [S]^i \\ &= nL[S] \cdot \left(\frac{(n-1) \cdot (n-2) \dots (n-i+1) \cdot i}{1 \cdot 2 \cdot 3 \dots (i-1) \cdot i} \cdot L^{i-1} [S]^{i-1} \right) \\ &= nL[S] \frac{(n-1)!}{(i-1)!(n-i)!} L^{i-1} [S]^{i-1} \end{aligned}$$

したがって

$$\text{(A.13)の分子} = nL[S] \sum_{i=1}^n \frac{(n-1)!}{(i-1)!(n-i)!} L^{i-1} [S]^{i-1} \quad (\text{A.30})$$

ここで、(A.28) において $x=1, y=L[S], k=i-1, n=n-1$ を代入すると

$$(1+L[S])^{n-1} = \sum_{i=1}^{n-1} \frac{(n-1)!}{(i-1)!(n-i)!} L^{i-1} [S]^{i-1} \quad (\text{A.31})$$

したがって(A.30) より

$$\text{(A.13)の分子} = nL[S](1+L[S])^{n-1}$$

したがって(A.13) に(A.29), (A.31) をそれぞれ代入すると

$$r = \frac{nL[S](1+L[S])^{n-1}}{(1+L[S])^n} = \frac{nL[S]}{1+L[S]}$$

A-3) EC50 (effect concentration 50)

(i) 1 次反応の場合

$$P + S \rightleftharpoons PS$$
$$Y_s = \frac{[S]}{K_d + [S]} \quad (\text{A.32})$$

$$\left(\text{但し } K_d \text{ は解離定数 } \left(= \frac{[P][S]}{[PS]} \right), Y_s \text{ は } P \text{ の飽和度を表す} \right)$$

EC₅₀ とは、 $Y_s = \frac{1}{2} Y_{\max}$ を満たすときの[S] の値 (S の濃度) のことである。

いま(A.32) より $Y_{\max} = 1$ なので

$$\frac{1}{2} = \frac{x}{k_d + x} \quad (\text{A.33})$$

を満たす[S]が EC₅₀ となる。

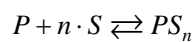
したがって(A.33)より

$$[S] = \frac{1}{2}(K_d + [S])$$
$$\therefore \text{EC}_{50} = K_d$$

つまり、解離定数 K_d は EC₅₀ を示している。

(※なお、(A.32) が描くシグモイド曲線は EC₅₀ のときに変曲点をむかえる)

(ii) n 次反応の場合



$$Y_s = \frac{[S]^n}{K_d + [S]^n}$$

$$\left(\text{但し } k_d \text{ は解離定数 } \left(= \frac{[P][S]^n}{[PS_n]} \right), Y_s \text{ は } P \text{ の飽和度を表す} \right)$$

1 次反応のときと同様に、 $Y_{\max} = 1$ なので EC₅₀ は

$$\frac{1}{2} = \frac{[S]^n}{K_d + [S]^n} \quad (\text{A.34})$$

を満たす[S]である。したがって(A.34) より

$$[S]^n = \frac{1}{2}(K_d + [S]^n)$$

$$\therefore [S]^n = K_d$$

$$\therefore \text{EC}_{50} = \sqrt[n]{K_d} \quad (\text{A.35})$$