

## 第7章

# フォールディングのキネティクスにおけるレートと緩和時間の関係は？

### <要旨>

タンパク質のフォールディング過程を1次元の自由エネルギープロファイルに沿ったキネティクス (kinetics, 反応速度論) と見なしている。

まず、簡単な2状態系のキネティクスを取り上げ、2状態系の構造変化を表す速度定数 (レート) と緩和時間との関係を求めている。

次に、多状態系をもつ系のキネティクスを記述する「マスター方程式」より、初期値に依存する二つのレート、つまり、タンパク質のフォールディング・レートと、アンフォールディング・レートを求める方法を定式化している (Muñoz & Eaton, 1999, 及び, Henry & Eaton, 2004)。

そして、転移温度近傍で直線近似した、温度の関数である、シェブロン・プロット (chevron plot) を描いている。

更に、フォールディング/アンフォールディング・レートの相違から、従来の、鎖に沿ってのアミノ酸残基間の距離のみを考慮しているコンタクト・オーダー (CO) ではなく、新たな、アミノ酸残基間の天然接触エネルギーを考慮したコンタクト・オーダーを考慮すべきであると提案している。



## タンパク質フォールディングのキネティクス

球状タンパク質は、フォールディングによって特異的立体構造を形成して、酵素として作用するなどの重要な生命活動の役割を担っている。我々は、この章で、タンパク質フォールディングのキネティクス（kinetics, 反応速度論）を考察しよう。そして、フォールディングのキネティクスにおける“レート”（rate constant  $k$ , 速度定数）と緩和時間（ $\tau$ ）との関係を明らかにしよう。

<文献> H. Abe and H. Wako, Folding/unfolding kinetics of lattice proteins studied using a simple statistical mechanical model for protein folding, 1: Dependence on native structures and amino acid sequences, *Physica A*, Vol.383, pp. 3442-3454, 2009.

<文献> 安部 晴男, 山内 経則, 輪湖 博, “タンパク質フォールディングのキネティクス, I. 定式化”, 西日本工業大学紀要, 第39巻, pp. 93-101, 2009.

まず, 簡単な2状態系のキネティクスを取り上げ, 2状態系の構造変化を表す“レート”（rate constant  $k$ , 速度定数）と緩和時間（ $\tau$ ）との関係を求めよう。

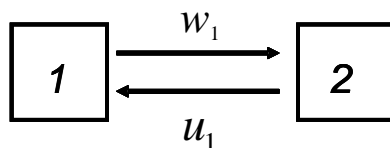
次に, 多状態系をもつ系のキネティクスを記述する「マスター方程式」を導き, タンパク質フォールディングの自由エネルギープロファイルから, タンパク質のフォールディング・レート（ $\ln k_f$ ）と, アンフォールディング・レート（ $\ln k_u$ ）を求める方法を定式化しよう。そして, これらのフォールディング・レートとアンフォールディング・レートを温度（の逆数:  $1/T$ ）の関数として描こう（“シェブロン・プロット”, chevron plot という）。



## 簡単な“可逆的2状態転移反応”における, レートと緩和時間の関係

タンパク質のフォールディング反応は, 様々の異なった機構で進行する。

最も簡単な場合は, 図に示すような, 状態1と状態2の可逆的2状態転移である。この可逆的2状態転移の構造変化を表す“レート方程式”（rate equation）を導き, これから, “レート”（rate constant  $k$ , 速度定数）と緩和時間（ $\tau$ ）との関係を求めよう。



今, 状態1にある反応物の単位時間あたりの変化量は, 反応物自身の量（濃度, 確率を表す） $p_1$  に比例し, また, 状態2にある生成物の単位時間あたりの変化量は, 生成物自身の量（濃度, 確率を表す） $p_2$  に比例するとみなす。 $p_1$ と $p_2$ は, 時刻  $t$  の関数で, 確率条件  $p_1(t) + p_2(t) = 1$  を満たしている。ここで, 前向き反応のレート（速度定数）を  $k_{1,2}(\equiv w_1)$ , 逆向きの反応のレート（速度定数）を  $k_{2,1}(\equiv u_1)$  とすると, 次のレート方程式(rate equation)が成立する:

$$\begin{aligned}\frac{dp_1}{dt} &= -w_1 p_1 + u_1 p_2 \\ \frac{dp_2}{dt} &= w_1 p_1 - u_1 p_2\end{aligned}$$

上式は, 次のように行列で表現できる:

$$\frac{d}{dt} \begin{bmatrix} p_1 \\ p_2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} -w_1 & u_1 \\ w_1 & -u_1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} p_1 \\ p_2 \end{bmatrix}$$

上式右辺の  $2 \times 2$  の行列は転移行列と呼ばれる。上式の解が、 $p_1 = \alpha e^{\lambda t}, p_2 = \beta e^{\lambda t}$  ( $\alpha, \beta, \lambda$  は定数) であると推測し、これらを上式に代入して、共通の因子  $e^{\lambda t}$  で割ってまとめると次式を得る：

$$\begin{aligned} \{(-w_1) - \lambda\} \alpha + u_1 \beta &= 0 \\ w_1 \alpha + \{(-u_1) - \lambda\} \beta &= 0 \end{aligned}$$

$\alpha, \beta, \lambda$  がすべて 0 でないためには次式が成立せねばならない：

$$\begin{vmatrix} \{(-w_1) - \lambda\} & u_1 \\ w_1 & \{(-u_1) - \lambda\} \end{vmatrix} = 0 \quad \text{故に,} \quad \begin{vmatrix} \lambda + w_1 & u_1 \\ w_1 & \lambda + u_1 \end{vmatrix} = 0$$

上式は  $\lambda$  に関する 2 次方程式 (転移行列の固有方程式) で、これを解くと、2 個の固有値、 $\lambda_1 = 0, \lambda_2 = -(w_1 + u_1)$  が得られる。

①  $\lambda_1 = 0$  とすると、 $w_1 \alpha = u_1 \beta$  となり、 $\alpha : \beta = u_1 : w_1$  である。従って、解：  $p_1 = u_1, p_2 = w_1$

②  $\lambda_2 = -(w_1 + u_1)$  とすると、 $\alpha = -\beta$  となり、 $\alpha : \beta = 1 : -1$  である。従って、

$$\text{解：} \quad p_1 = e^{-(w_1 + u_1)t}, p_2 = -e^{-(w_1 + u_1)t}$$

故に、一般解は、積分定数 ( $c_1, c_2$ ) を用いて次のように書ける：

$$\text{一般解：} \quad p_1 = c_1 u_1 + c_2 e^{-(w_1 + u_1)t}, p_2 = c_1 w_1 + \{-c_2 e^{-(w_1 + u_1)t}\}$$

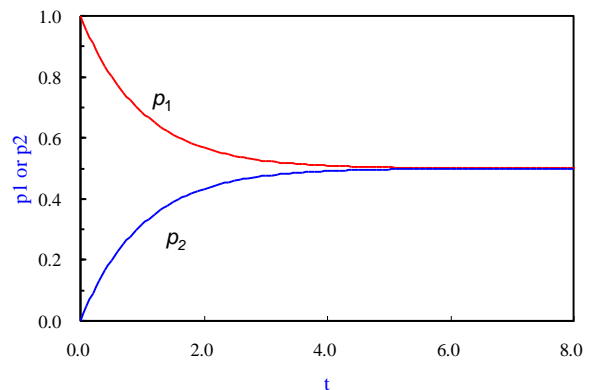
確率条件  $p_1(t) + p_2(t) = 1$  を用いて、初期条件 ( $t = 0$  のとき、 $p_1(0) = 1, p_2(0) = 0$  とする) より、 $1 = -c_1 u_1 + c_2, 0 = c_1 w_1 - c_2$  から積分定数 ( $c_1, c_2$ ) は次のように求まる：

$$c_1 = \frac{1}{w_1 + u_1}, c_2 = \frac{w_1}{w_1 + u_1}$$

結局、初期条件 ( $t = 0$  のとき、 $p_1(0) = 1, p_2(0) = 0$ ) を満たす、速度方程式 (rate equation) の解は次式で表される：

$$p_1 = \frac{u_1}{w_1 + u_1} + \frac{w_1}{w_1 + u_1} e^{-(w_1 + u_1)t}, p_2 = \frac{w_1}{w_1 + u_1} - \frac{w_1}{w_1 + u_1} e^{-(w_1 + u_1)t}$$

上式より、 $p_1(t), p_2(t)$  のグラフの略図 (例として、 $w_1 = u_1 = 0.5$  の場合) を描くと図のようになる。系は、 $p_1(t), p_2(t)$  とともに平衡状態に向かって指数関数的に緩和することがわかる。



緩和時間 ( $\tau$ , relaxation time) と反応のレート (速度定数) との関係を求めよう. 緩和時間の定義は, 時刻  $t$  での反応物自身の量 (濃度, 確率を表す) が, 時刻  $t + \tau$  で  $1/e$  だけ減少するまでの時間 ( $\tau$ ) であるから,

$$\frac{1}{e} e^{-kt} = e^{-k(t+\tau)} \quad \text{ただし, } k \equiv w_1 + u_1$$

故に, 緩和時間 ( $\tau$ ) と反応のレート (速度定数) との関係は次式で表わされる:

$$\tau = \frac{1}{k} \quad (\text{ただし, } k \equiv w_1 + u_1)$$

尚, 平衡状態のとき,  $dp_1/dt = 0, dp_2/dt = 0$  であるから, そのとき,  $p_1 \rightarrow p_{eq}(1), p_2 \rightarrow p_{eq}(2)$  と表現すると, 次の“詳細釣り合い (detailed balance)” の式が成立する:

$$w_1 p_{eq}(1) = u_1 p_{eq}(2)$$



## 可逆連続的な多状態の転移反応における, レートと緩和時間の関係

多状態をもつ系のキネティクスを記述する“マスター方程式”を導こう.

一般に, 状態  $i = 1, 2, 3, \dots, m$  とレート定数  $k_{i,j}$  に対して, “マスター方程式”は, 次のように表現できる:

$$\frac{dp_i(t)}{dt} = \sum_{j \neq i} p_j(t) k_{j,i} - \sum_{j \neq i} p_i(t) k_{i,j}$$

この微分方程式系の解は, 固有方程式  $|\lambda I - A| = 0$  ( $I$ : 単位行列,  $A$ : 微分方程式の右辺の転移行列) の根として求まる固有値  $\lambda_\nu$  ( $\nu = 1, 2, 3, \dots, m$ ) を用いて,  $e^{\lambda_\nu t}$  の線形結合

$$p_i(t) = \sum_{\nu} a_{i,\nu} e^{\lambda_\nu t} \quad (i = 1, 2, 3, \dots, m)$$

の形に求められる. 最大固有値は 0 で, その他の固有値は負である.

平衡状態への緩和時間 ( $\tau$ , relaxation time) は, 次式のように求まる:

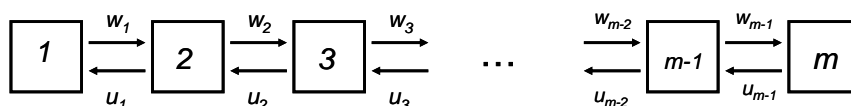
$$\tau = \frac{1}{\lambda_1} + \frac{1}{\lambda_2} + \frac{1}{\lambda_3} + \dots + \frac{1}{\lambda_m}$$

結局, フォールディング・レート ( $k_f$ ) は, 次式で求まる.

$$k_f = \frac{1}{\tau} \quad (\text{但し, } \tau = \frac{1}{\lambda_1} + \frac{1}{\lambda_2} + \frac{1}{\lambda_3} + \dots + \frac{1}{\lambda_m})$$

タンパク質のフォールディング過程を, 次のような“反応座標”で考察しよう: 『“天然状態にあるアミノ酸残基の数”』 この反応座標において, “隣同士の状態間でのみ転移する”という制限を加えることで, “マスター方程式”を具体的に書き下そう.

図に示すように, “可逆連続的な  $m$  個の状態反応”を考える:



ここで、状態  $i$  にある反応物の単位時間あたりの変化量は、反応物自身の量（濃度，確率を表す） $p_i$  に比例し，また，状態  $i+1$  にある生成物の単位時間あたりの変化量は，生成物自身の量（濃度，確率を表す） $p_{i+1}$  に比例するとみなす．さらに，前向き反応（状態  $i \rightarrow$  状態  $i+1$ ）のレート（速度定数）を  $k_{i,i+1}(\equiv w_i)$ ，逆向きの反応（状態  $i+1 \rightarrow$  状態  $i$ ）のレート（速度定数）を  $k_{i+1,i}(\equiv u_i)$  とする“マスター方程式”（反応速度方程式，rate equation）は，次式のように書ける：

$$\frac{d}{dt} \begin{pmatrix} p_1 \\ p_2 \\ p_3 \\ \dots \\ p_{m-1} \\ p_m \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} -w_1 & u_1 & 0 & \dots & & \\ w_1 & -(w_2 + u_1) & u_2 & \dots & & \\ & w_2 & -(w_3 + u_2) & \dots & & \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \\ & & & \dots & -(w_{m-1} + u_{m-2}) & u_{m-1} \\ 0 & \dots & \dots & 0 & w_{m-1} & -u_{m-1} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} p_1 \\ p_2 \\ p_3 \\ \dots \\ p_{m-1} \\ p_m \end{pmatrix}$$



### フォールディング・レート ( $k_f$ ) の計算式

タンパク質のフォールディング過程のキネティクスは，1999 年，Muñoz & Eaton によって，1 次元の自由エネルギープロファイルに沿った反応過程として提案され，2004 年には，Henry & Eaton によってさらに拡張され，定式化された．彼らは，反応座標の隣接の離散値が可逆的に転移することを記述する“マスター方程式”から導かれる“固有方程式の根”より，“緩和時間” ( $\tau$ , relaxation time, その逆数がフォールディング・レート； $k_f$ ) を求める式を導いている（Appendix H：「フォールディング・レートの計算方法」参照）．

<文献> Muñoz, V. & Eaton, W.A. (1999). A simple model for calculating the kinetics of protein folding from three-dimensional structures. Proc. Natl Acad. Sci. USA, 96, 11311–11316.

<文献> Henry, E.R. & Eaton, W.A. (2004). Combinatorial modeling of protein folding kinetics: free energy profiles and rates. Chem. Phys., 307, 163–185.

<文献> Abe, H. & Wako, H. (2009). Folding/unfolding kinetics of lattice proteins studied using a simple statistical mechanical model for protein folding, I: Dependence on native structures and amino acid sequences. Physica A, 383, 3442–3454.

我々は，彼らの式を 3 次元格子タンパク質に適用した．フォールディング過程の緩和時間 ( $\tau$ , relaxation time, その逆数がフォールディング・レート； $k_f$ ) は，次式で計算できる：

$$\frac{1}{k_f} \propto \tau \equiv \int_0^\infty \frac{\langle \eta \rangle_{eq} - \langle \eta(t) \rangle}{\langle \eta \rangle_{eq} - \langle \eta(0) \rangle} dt$$

$$= \{ \langle \eta \rangle_{eq} - \langle \eta \rangle_0 \}^{-1} \sum_{j=0}^{n-4} \left\{ \frac{1}{p_{eq}(j)k_{j,j+1}} \sum_{i=j+1}^{n-3} \{ p_{eq}(i) - p_0(i) \} \sum_{\eta=0}^j p_{eq}(\eta) (\langle \eta \rangle_{eq} - \eta) \right\}$$

この式は，3 次元格子タンパク質において，初期条件（時刻 0 のとき）として，すべてランダム状態であったものがやがて平衡分布になる，その緩和時間  $\tau$  を求める式である．反応座標として，天然

状態にあるアミノ酸残基数  $\eta$  を採用している. 3次元格子タンパク質における最小の局所構造は4個のユニットであるから,  $\eta$  の値の範囲は  $0 \leq \eta \leq n-3$  である. また,  $\langle \eta_{eq} \rangle$  は, 平衡状態での  $\eta$  の期待値  $\langle \eta \rangle_{eq} = \sum_{\eta=0}^{n-3} \eta p_{eq}(\eta)$  を表す. ここで,  $p_{eq}(\eta)$  は, 遷移状態で, 天然状態にあるアミノ酸残基が  $\eta$  であるときの存在確率を表していて, 次式のように, 自由エネルギー関数  $F(\eta/\eta_N)$  と分配関数  $Z$  より求めることができる:

$$p_{eq}(\eta) = \frac{e^{-F(\eta/\eta_N)/k_B T}}{Z}$$

(ただし,  $Z$  は分配関数,  $Z = \sum_{\eta=0}^{n-3} e^{-F(\eta/\eta_N)/k_B T}$ ,  $k_B$  は Boltzmann 定数である)

また, 初期条件 ( $t=0$  のとき) は, すべてのアミノ酸残基はランダムコイル状態と仮定すると, 次式が成立する:

$$p_0(\eta) = \delta_{\eta,0} \quad \text{つまり, } \eta=0 \text{ のとき} \quad p_0(0) = 1, \\ \eta=1,2,3,\dots,n-3 \text{ のとき} \quad p_0(\eta) = 0$$

よって,  $\langle \eta \rangle_0 = \sum_{\eta=0}^{n-3} \eta p_0(\eta) = 0$  となる.

前向き反応 (状態  $j \rightarrow$  状態  $j+1$ ) のレート (速度定数)  $k_{i,i+1} (\equiv w_i)$ , 及び, 逆向きの反応 (状態  $j+1 \rightarrow$  状態  $j$ ) のレート (速度定数)  $k_{i+1,i} (\equiv u_i)$  は, それぞれ次式で表される:

$$k_{j,j+1} = \gamma \left( \frac{p_{eq}(j+1)}{p_{eq}(j)} \right)^\kappa, \quad k_{j+1,j} = \gamma \left( \frac{p_{eq}(j+1)}{p_{eq}(j)} \right)^{\kappa-1}$$

ここで,  $\kappa$  と  $\gamma$  は, adjustable parameter である. Henry & Eaton は, 結果にあまり影響されないの  
で,  $\kappa=0.5$ ,  $\gamma=1$  を採用している.

### Coffee Break

ここまで, Eaton らによって定式化された方法を, 3次元格子タンパク質に適応した. そして, 初期条件として, 時刻  $t=0$  で, すべてがランダムコイル状態であるとし, その後, 自由エネルギー・プロファイルで与えられる平衡分布までに達する緩和時間  $\tau$  より, フォールディング・レート を求める式を示した.

ここで, 新たな疑問が生じる. つまり, 平衡への緩和過程と捉えたとき, 緩和時間の初期値依存性はないのだろうか?

アンフォールディング過程では, 時刻  $t=0$  で, すべてが天然状態であるとし, その後, 自由エネルギー・プロファイルで与えられる平衡分布までに達する緩和時間  $\tau$  より, アンフォールディング・レート を求める式を導いてみよう. そして, フォールディング・レート を求める式と一致するかどうかを検討しよう.



## アンフォールディング・レート ( $k_u$ ) の計算式

前節ではフォールディング・レート  $k_f$  を「時刻  $t=0$  で、すべてがランダムコイル状態である」とし、その後、自由エネルギー・プロファイルで与えられる平衡分布までに達する緩和時間  $\tau$  より求めている。ここで、次のような疑問が生じる：『平衡への緩和過程と捉えれば、緩和時間の値に対して、初期値依存性はないのだろうか？』

“アンフォールディング過程での初期条件” は、「時刻  $t=0$  で、すべてのアミノ酸残基は天然状態である」と仮定する。その後、平衡に達する緩和時間  $\tau$ （逆数がアンフォールディング・レート  $k_u$ ）を求める式が必要である。時刻 0 ですべて天然構造にあったものが、やがて平衡分布になるときの、“緩和時間  $\tau$ ”（その逆数がアンフォールディング・レート； $k_f$ ）は、次式で表される：

$$\frac{1}{k_u} \propto \tau \equiv \int_0^\infty \frac{\langle \eta \rangle_{eq} - \langle \eta(t) \rangle}{\langle \eta \rangle_{eq} - \langle \eta(0) \rangle} dt$$

$$= \{ \langle \eta \rangle_{eq} - \langle \eta \rangle_0 \}^{-1} \sum_{j=0}^{n-4} \left\{ \frac{1}{p_{eq}(j+1)k_{j+1,j}} \sum_{i=0}^j \{ p_{eq}(i) - p_0(i) \} \sum_{\eta=j+1}^{n-3} p_{eq}(\eta) (\langle \eta \rangle_{eq} - \eta) \right\}$$

アンフォールディング過程の初期条件（時刻  $t=0$ ）は、アミノ酸残基はすべて天然状態にあるので、 $p_0(\eta) = \delta_{\eta, n-3}$  となる（ $p_0(\eta)$  は、初期条件における  $\eta$  の確率分布である）。

つまり、 $\eta = n-3$  のとき  $p_0(n-3) = 1$  ,

$\eta = 0, 1, 2, 3, \dots, n-2$  のとき  $p_0(\eta) = 0$

よって、 $\langle \eta \rangle_0 = \sum_{\eta=0}^{n-3} \eta p_0(\eta) = n-3$  となる。

ここで求められた、フォールディング・レート  $k_f$  とアンフォールディング・レート  $k_u$  は、絶対温度  $T$  の関数である。これらの曲線を、絶対温度の逆数  $1/T$  で描いてみよう（シェブロン・プロットという）。

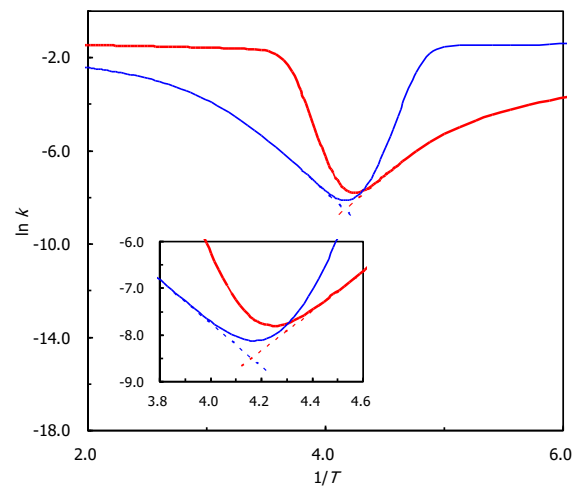


## シェブロン・プロット

図は、3次元格子タンパク質である、タンパク質 *a1* の場合を例として、フォールディング・レート  $\ln k_f$  と、アンフォールディング・レート  $\ln k_u$  を絶対温度（の逆数  $1/T$ ）の関数として描いた。挿入図は、転移温度（ $T_m$ ）付近を拡大した図である（図の転移温度近傍の点線は、直線近似を示している）。

これら二つの曲線（赤と青の曲線）は、著しく異なっている。

そこで、近似として、与えられた温度に対するレートは、両方のレートの小さい方の曲線を採用することにしよう。つまり、図の二つの曲線で、転移温度  $T_m$  より小、つまり、 $1/T_m$  より大は、 $\ln k_f$



(赤色の曲線)を採用し、転移温度  $T_m$  より大、つまり、 $1/T_m$  より小は、 $\ln k_u$  (青色の曲線)を採用し、転移温度  $T_m$  近傍では、直線近似を行う。その交点が転移温度であり、次式が成立している：

$$\ln k_f(T_m) = \ln k_u(T_m)$$

このように、 $T_m$  近傍で直線近似した新たな曲線を、シェブロン・プロット(chvron plot)として、採用することにしよう。

<コメント> シェブロンとは、紋章や階級章に使われる図形の一種で、

三角形あるいは逆三角形の底辺のない図形をいう。右図はパイロットのシェブロン。



### Coffee Break

$$\int_0^{\infty} \frac{\langle \eta \rangle_{eq} - \langle \eta(t) \rangle}{\langle \eta \rangle_{eq} - \langle \eta(0) \rangle} dt \quad \text{が、緩和時間 } \tau \text{ を表すことを示す；}$$

積分の中  $\frac{\langle \eta \rangle_{eq} - \langle \eta(t) \rangle}{\langle \eta \rangle_{eq} - \langle \eta(0) \rangle}$  は、時間とともに緩和していくことを表しているが、これが指数関数的に減衰していくと仮定する；

$$\frac{\langle \eta \rangle_{eq} - \langle \eta(t) \rangle}{\langle \eta \rangle_{eq} - \langle \eta(0) \rangle} = e^{-\frac{t}{\tau}}$$

上式の両辺を、0 から  $\infty$  まで積分すると、

$$\begin{aligned} \int_0^{\infty} \frac{\langle \eta \rangle_{eq} - \langle \eta(t) \rangle}{\langle \eta \rangle_{eq} - \langle \eta(0) \rangle} dt &= \int_0^{\infty} e^{-\frac{t}{\tau}} dt \\ &= \left[ -\tau e^{-\frac{t}{\tau}} \right]_0^{\infty} \\ &= \tau \end{aligned}$$





### 3次元格子タンパク質の自由エネルギー曲線とシェブロン・プロット

タンパク質,  $a1, a2, b1, b2$  に対して, 具体的に“シェブロン・プロット”(Chevron plot)を描いてみよう.

図の (a), (b) は, タンパク質,  $a1, a2, b1, b2$  に対して, 転移温度 ( $T_m$ ) における, 自由エネルギー曲線 ( $F(\eta/\eta_N)$ )を描いている.

<文献> H. Wako & H. Abe, (2011). Study of Folding/unfolding kinetics of lattice proteins by applying a simple statistical mechanical model for protein folding, in *Protein Folding*, E. C. Walters ed., Nova Science. Publishers, 349–3376.

ここで,

D ; 変性状態, ‡ ; 遷移状態,

N ; 天然状態

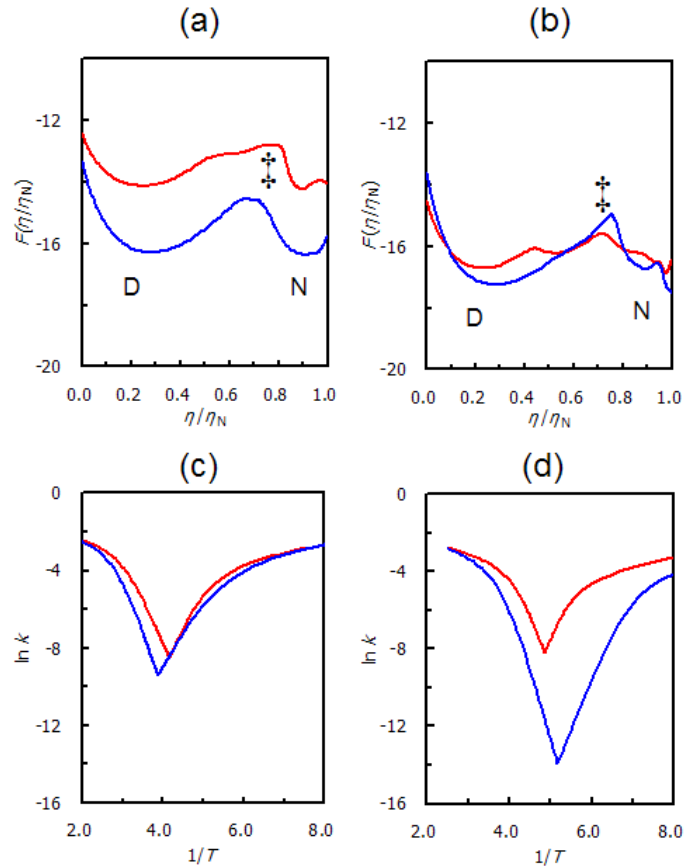
を示す.

横軸は, 規格化された反応座標 ( $\eta/\eta_N$ ) である ( $0 \leq \eta/\eta_N \leq 1$ ).

ただし,

$\eta$  : 天然状態にあるアミノ酸  
残基数,

$\eta_N$  ;  $\eta$  の最大値



(a) タンパク質  $a1, a2$  の転移温度 ( $T_m$ ) における自由エネルギー曲線

$a1$  ; 赤色,  $T_m = 0.240$  ,  
 $a2$  ; 青色,  $T_m = 0.257$  .

(b) タンパク質  $b1, b2$  の転移温度 ( $T_m$ ) における自由エネルギー曲線

$b1$  ; 赤色,  $T_m = 0.206$  ,  
 $b2$  ; 青色,  $T_m = 0.193$  .

図の (c), (d) は, フォールディング/アンフォールディング・レート ( $\ln k_f$  と  $\ln k_u$ ) から求める“シェブロン・プロット”(Chevron plot)を描いている (横軸: 温度の逆数  $1/T$  ).

(c) タンパク質  $a1, a2$  の“シェブロン・プロット”

$a1$  ; 赤色,  $a2$  ; 青色

(d) タンパク質  $b1, b2$  の“シェブロン・プロット”

$b1$  ; 赤色,  $b2$  ; 青色

これらの結果から何がわかるのだろうか?

図から一見してわかるように, 3次元格子タンパク質,  $a1, a2, b1, b2$  に対する自由エネルギー曲線 (図の (a), (b)) も“シェブロン・プロット”(図の (c), (d)) も, それぞれのタンパク質に対して異なった曲線であるように見える. これらの相違はどこからくるのだろうか?

ここで次のことを確認しよう:『タンパク質  $a1, a2$  は, 同じ天然構造をもっているが, それらのアミノ酸配列は異なっている. タンパク質  $b1, b2$  も同様に同じ天然構造をもっているが, それらのアミノ酸配列は異なっている.』

結局、同じ天然構造をもっている、それらのアミノ酸配列が異なっていれば、それらのタンパク質のフォールディング過程のキネティクスも異なっているのだろうか？

このことを考察してみよう。

図の (a), (b) の、タンパク質、 $a1, a2, b1, b2$  に対する自由エネルギー曲線 ( $F(\eta/\eta_N)$ ) から、次のような表を得る：

自由エネルギーの差	3次元格子タンパク質			
	$a1$	$a2$	$b1$	$b2$
$F(\eta_+/ \eta_N) - F(\eta_D / \eta_N)$	1.3	1.7	1.1	2.3
$F(\eta_+ / \eta_N) - F(\eta_M / \eta_N)$	1.4	1.8	1.2	2.6

ここで、

- ・  $F(\eta_+ / \eta_N)$  ; 遷移状態領域での極大値,
- ・  $F(\eta_D / \eta_N)$  ; 変性状態領域での極小値,
- ・  $F(\eta_M / \eta_N)$  ; 天然状態領域での極小値,
- ・  $F(\eta_+ / \eta_N) - F(\eta_D / \eta_N)$  ; 遷移状態と変性状態との自由エネルギーの差, つまり, タンパク質分子が, 変性状態から天然状態へフォールドするための活性化エネルギー ( activation energy, 障壁を乗り越えるためエネルギー),
- ・  $F(\eta_+ / \eta_N) - F(\eta_M / \eta_N)$  ; 遷移状態と天然状態との自由エネルギーの差, つまり, タンパク質分子が, 天然状態から変性状態へ向かうために乗り越えねばならないエネルギー.

上の表で、タンパク質  $a1, a2$  を比較すると、自由エネルギーの差、 $F(\eta_+ / \eta_N) - F(\eta_D / \eta_N)$ ,  $F(\eta_+ / \eta_N) - F(\eta_M / \eta_N)$  の値は、どちらも、タンパク質  $a2$  の方が、タンパク質  $a1$  より大きな値である。タンパク質  $b1, b2$  の場合も比較すると、自由エネルギーの差、 $F(\eta_+ / \eta_N) - F(\eta_D / \eta_N)$ ,  $F(\eta_+ / \eta_N) - F(\eta_M / \eta_N)$  の値は、どちらも、タンパク質  $b2$  の方が、タンパク質  $b1$  より、かなり大きな値である。

これらの結果から、シエブロン・プロット” ( 図の (c), (d) は、温度 (の逆数) の関数としてのフォールディング／アンフォールディング・レート、つまり反応の速度定数とみなせる) の相違が次のように説明できる：

図の (c) から、タンパク質  $a2$  のフォールディング・レート ( $\ln k_f$ , 図の  $1/T_m$  より高い領域) も、アンフォールディング・レート ( $\ln k_u$ , 図の  $1/T_m$  より低い領域) でも、どちらも、タンパク質  $a1$  の場合よりも小である理由は、自由エネルギーの差、 $F(\eta_+ / \eta_N) - F(\eta_D / \eta_N)$ ,  $F(\eta_+ / \eta_N) - F(\eta_M / \eta_N)$  の値が、タンパク質  $a2$  の方が大きいからである。

結局、タンパク質  $a2$  の方が障壁を乗り越えるためエネルギーの値が大きいため、反応速度が遅くなる (平衡に達する緩和時間が大となる)。つまり、フォールディング・レート ( $\ln k_f$ ) も、アンフォールディング・レート ( $\ln k_u$ ) も、より小さな値をもつ。

簡単に言えば、『タンパク質  $a2$  の方が、タンパク質  $a1$  より、フォールディングもアンフォールディングも手間がかかる過程』と言えるだろう。

図の (d) から、タンパク質  $b2$  のフォールディング・レート ( $\ln k_f$ , 図の  $1/T_m$  より高い領域) も、アンフォールディング・レート ( $\ln k_u$ , 図の  $1/T_m$  より低い領域) でも、どちらも、タンパク質  $b1$  の

場合よりも、かなり小である理由は、タンパク質  $a1$ ,  $a2$  と同様の理由からである。タンパク質  $b1$ ,  $b2$  の自由エネルギーの差がかなりあるので、レートがより小となっている。

簡単に言えば、『タンパク質  $b2$  の方が、タンパク質  $b1$  より、フォールディングもアンフォールディングも、より手間がかかる過程』と言えるだろう。

転移温度の値 ( $T_m$ ) はどうだろうか？

タンパク質  $a2$  の転移温度の値 ( $T_m = 0.257$ ) は、タンパク質  $a1$  の転移温度の値 ( $T_m = 0.240$ ) より、少し高い。結局、『タンパク質  $a2$  の方が、タンパク質  $a1$  より、少しばかり安定である』といえるだろう。

一方、タンパク質  $b1$  の転移温度の値 ( $T_m = 0.206$ ) は、タンパク質  $b2$  の転移温度の値 ( $T_m = 0.193$ ) より、少し高い。結局、『タンパク質  $b1$  の方が、タンパク質  $b2$  より、少しばかり安定である』といえるだろう。

更に、“シェブロン・プロット”の直線からのズレ(“chevron rollover”という)を指摘しておこう。この“chevron rollover”は、フォールディング・キネティクスにおける実験で、溶媒条件を変化したときに多く観測されている。

図の (c), (d) から、“シェブロン・プロット”は、極端な低温領域(強いフォールディング条件の領域)と極端な高温領域(強いアンフォールディング条件の領域)で、直線からズレていることがわかる。我々の3次元格子タンパク質でも観測される理由は、未だ明確ではないが、自由エネルギー・プロファイルにおいて、変性状態領域で“平ら”であることが影響していると思われる。

ところで、次のような新たな疑問が生じる。

従来、“タンパク質のフォールディング/アンフォールディング・レートは、鎖に沿ってのアミノ酸残基間の距離のみを考慮したコンタクト・オーダー (CO) と相関がある”という議論されているが、いままで確認したように、3次元格子タンパク質  $a1$ ,  $a2$  は(あるいは、 $b1$ ,  $b2$  は)、同じ天然構造をもっていてコンタクト・オーダー (CO) が同じ値であるにもかかわらず、フォールディング/アンフォールディング・レートは相違している。このことは、何を意味しているのだろうか？

つまり、フォールディング/アンフォールディング・レートと相関する量として、鎖に沿ってのアミノ酸残基間の距離のみを考慮したコンタクト・オーダー (CO) ではなく、他の、相関する量を考慮すべきではないだろうか？

我々は、次のような提案をしたいと思う：

「フォールディング/アンフォールディング・レートは、『鎖に沿ってのアミノ酸残基間の距離のみを考慮したコンタクト・オーダー (CO)』ではなく、『アミノ酸残基間の天然接触エネルギーを考慮したコンタクト・オーダー』との相関を考えるべき」ではないだろうか？

このことを考察しよう。



## アミノ酸残基間の天然接触エネルギーを考慮したコンタクト・オーダーの提案

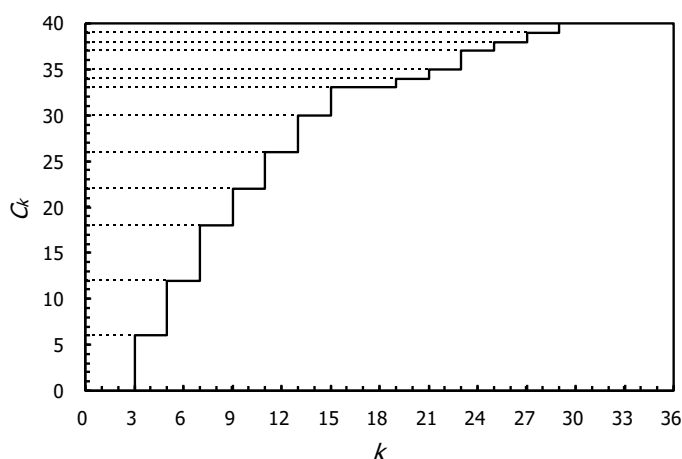
いま、 $\rho_i$ を、アミノ酸残基間の距離（残基数）が  $i$  のときの天然接触数を表すと、天然接触数の累積度数  $C_k$  は次式となる；

$$c_k = \sum_{i=1}^k \rho_i$$

ここで、具体的な例として、タンパク質 *a1* に対する天然接触数の数値を右の表に示す。

当然、タンパク質 *a2* も天然構造が同じなので、全く同じ値をもっている。

下図は、例として、タンパク質 *a1* の場合の「天然接触数の累積度数分布」曲線を描いた。



ゐる：

$k$	$\rho_k$	$C_k$	$k * \rho_k$
1	0	0	0
2	0	0	0
3	6	6	18
4	0	6	0
5	6	12	30
6	0	12	0
7	6	18	42
8	0	18	0
9	4	22	36
10	0	22	0
11	4	26	44
12	0	26	0
13	4	30	52
14	0	30	0
15	3	33	45
16	0	33	0
17	0	33	0
18	0	33	0
19	1	34	19
20	0	34	0
21	1	35	21
22	0	35	0
23	2	37	46
24	0	37	0
25	1	38	25
26	0	38	0
27	1	39	27
28	0	39	0
29	1	40	29
30	0	40	0
31	0	40	0
32	0	40	0
33	0	40	0
34	0	40	0
35	0	40	0
total	40	1006	434

さて、天然接触数の累積度数  $C_k$  から次の式が導かれる：

$$\begin{aligned}
 \sum_{k=1}^{n-1} c_k &= \sum_{m=1}^{n-1} \left( \sum_{i=1}^m \rho_i \right) \\
 &= \rho_1 + (\rho_1 + \rho_2) + (\rho_1 + \rho_2 + \rho_3) + \dots + (\rho_1 + \rho_2 + \dots + \rho_{n-1}) \\
 &= \sum_{k=1}^{n-1} (n-k) \rho_k \\
 &= n c_{n-1} - \sum_{k=1}^{n-1} k \rho_k
 \end{aligned}$$

ここで、 $c_{n-1}$  は、全天然接触数である。上式の左辺は、天然接触数の累積度数分布を表しているが、これは、上図では、右下の面積を表わしている。

また、上式の右辺の第1項は、全面積を表している。したがって、上式の右辺の第2項は、図では左上の面積を表していることになる。

この上式の右辺の第2項が、タンパク質のコンタクト・オーダーと関係があることを次に示す。  
上式の右辺の第2項は次式のように書き換えることができる：

$$\sum_k k \rho_k = \sum_k k \left( \sum_i \Gamma_{i,i+k} \right) = \sum_{i < j} \sum |j-i| \Gamma_{i,j}$$

ここで、 $i, j$  は、アミノ酸残基を表し、また、 $\Gamma_{i,j}$  は、次の量である；

○ アミノ酸残基  $i, j$  が天然構造において、互いに接触しているとき、

$$\Gamma_{i,j} = 1$$

○ アミノ酸残基  $i, j$  が天然構造において、互いに接触していないとき、

$$\Gamma_{i,j} = 0$$

タンパク質のコンタクト・オーダー (CO) の定義は次式の通りである：

$$CO = \frac{1}{A} \sum_{i < j} \sum |j-i| \Gamma_{i,j}$$

ここで、 $A$  は、次のように定義する：

絶対コンタクト・オーダー (ACO) のとき； $A = n$

相対コンタクト・オーダー (RCO) のとき； $A = n \times c_{n-1}$

故に、 $\sum_k k \rho_k$  は、コンタクト・オーダー  $CO$  と関係があることになる。

“アミノ酸残基間の天然接触エネルギーを考慮したコンタクト・オーダー” を考慮すると、同じ天然構造をもつタンパク質でも、そのアミノ酸配列が異なると、異なるフォールディング/アンフォールディング・レートをもつことを次に示そう。

<文献> H. Abe and H. Wako, Folding/unfolding kinetics of lattice proteins studied using a simple statistical mechanical model for protein folding, 1: Dependence on native structures and amino acid sequences, Physica A, Vol.383, pp. 3442-3454, 2009.

<文献> 安部 晴男, 山内 経則, 輪湖 博, “タンパク質フォールディングのキネティクス, II. フォールディング速度とコンタクト・オーダーとの関係”, 西日本工業大学紀要, 第40巻, pp. 51-57, 2010.

アミノ酸残基間の距離 (残基数) が  $k$  である時の天然接触エネルギーの和は、次式で表される：

$$\varepsilon_k = \sum_i U(\xi_i, \xi_{i+k}) \Gamma_{i,i+k}$$

また、その接触エネルギーの累積度数分布 は、次式のようになる：

$$e_k = \sum_{i=1}^k \varepsilon_i$$

図は、タンパク質  $a1, a2, b1, b2$  に対する、次の  $\varepsilon_k$  と  $e_k$ 、及び、 $c_k$  を描いている：  
 $\varepsilon_k$ ；アミノ酸残基間の距離 (残基数) が  $k$  である時の天然接触エネルギーの和  
 $e_k$ ；天然接触エネルギーの累積度数分布

$C_m$  ; 天然接触数の累積度数分布.

ただし, それぞれ, 次の量で規格化して描いている :

$\varepsilon_{total}$  ; 全接触エネルギーの値

$e_{n-1}$  ; 接触エネルギーの最小値

$c_{n-1}$  ; 天然接触数の最大値

図の(a)は, タンパク質  $a1$ ,  $a2$  に対する次の量を描いている :

$\varepsilon_k$  ;  $\blacktriangle \rightarrow$  タンパク質  $a1$ ,  $* \rightarrow$  タンパク質  $a2$

$e_k$  ;  $-$  (赤色の曲線)  $\rightarrow$  タンパク質  $a1$ ,  $-$  (青色の曲線)  $\rightarrow$  タンパク質  $a2$

$C_k$  ;  $-$  (緑色の点線)  $\rightarrow$  タンパク質  $a1$ ,  $a2$  共通

図の(b) は, タンパク質  $b1$ ,  $b2$  に対する次の量を描いている :

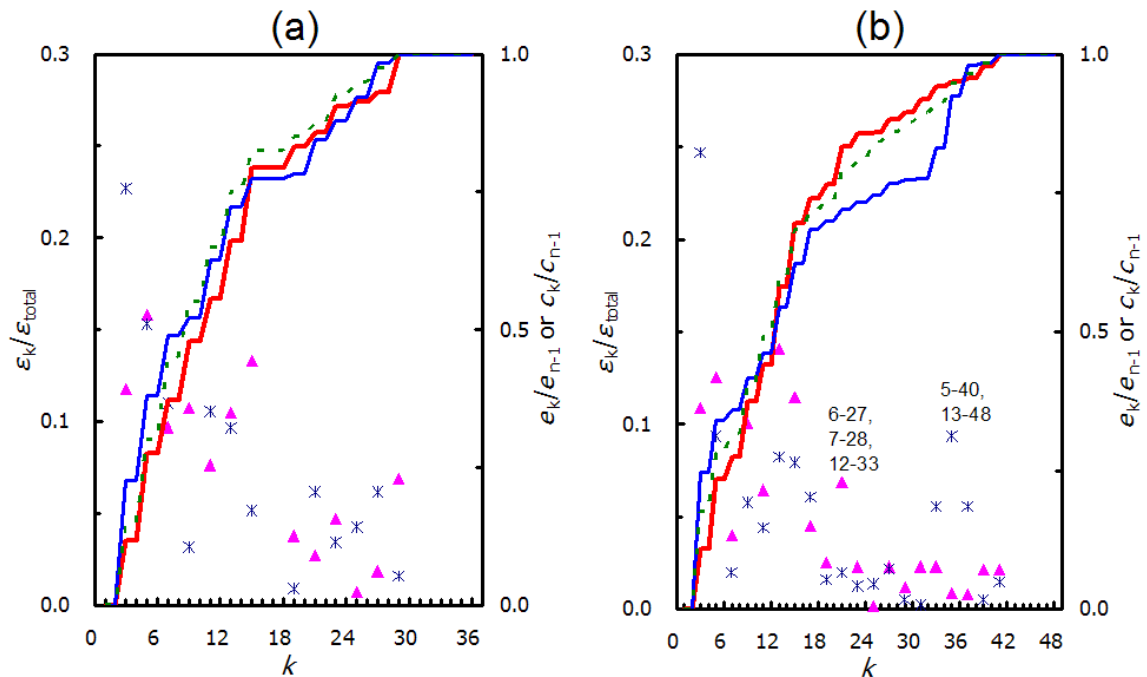
$\varepsilon_k$  ;  $\blacktriangle \rightarrow$  タンパク質  $b1$ ,  $* \rightarrow$  タンパク質  $b2$

$e_k$  ;  $-$  (赤色の曲線)  $\rightarrow$  タンパク質  $b1$ ,  $-$  (青色の曲線)  $\rightarrow$  タンパク質  $b2$

$C_k$  ;  $-$  (緑色の点線)  $\rightarrow$  タンパク質  $b1$ ,  $b2$  共通

図より, 次のことがわかる :

①図の(a)より, タンパク質  $a1$ ,  $a2$  に対して, 3 曲線 ( 2つの 赤・青色曲線  $e_k$  と緑色点線  $c_k$  ) は, ほぼ一致しているが, 詳細に見ると,  $k$  が小さいとき, つまり短距離, 及び中距離相互作用のときは, タンパク質  $a2$  の  $e_k$  曲線が, タンパク質  $a1$  の  $e_k$  曲線よりやや大である. このことは, フォールディングの初期段階で, タンパク質  $a2$  の方が, タンパク質  $a1$  より, 小さな局所構造が, より形成されやすいことを示唆している.



②図の(b)より、タンパク質 *b1* では、 $e_k$  と  $c_k$  曲線は、 $k$  が小のとき、ほぼ一致している。 $k$  が大のとき、つまり、長距離相互作用が働くときに、タンパク質 *b2* の  $e_k$  曲線のみが大きく異なっていることがわかる。 $k=21$  のときの、3 個の天然接触ペアである、6 と 27, 7 と 28, 12 と -33 の長距離相互作用の天然接触エネルギーの和（絶対値）は、タンパク質 *b1* の方が、タンパク質 *b2* より大である。

逆に、 $k=35$  のときの、3 個の天然接触ペアである、5 と 40, 13 と 48 の長距離相互作用の天然接触エネルギーの和（絶対値）は、タンパク質 *b2* の方が、タンパク質 *b1* より大である。

結局、タンパク質 *b2* は、5 と 40, 13 と 48 の長距離相互作用がフォールディングの最終段階で作用して安定な天然構造へと折れたたまれることを示唆している。

このことは、『タンパク質 *b2* のフォールディング速度がタンパク質 *b1* より小である』ことを示す理由と考えられる。

接触エネルギーの累積度数分布式  $e_k = \sum_{i=1}^k \varepsilon_i$  より、次式が導かれる：

$$\begin{aligned} \sum_{k=1}^{n-1} e_k &= \sum_{m=1}^{n-1} \left( \sum_{i=1}^m \varepsilon_i \right) \\ &= \varepsilon_1 + (\varepsilon_1 + \varepsilon_2) + (\varepsilon_1 + \varepsilon_2 + \varepsilon_3) + \dots + (\varepsilon_1 + \varepsilon_2 + \dots + \varepsilon_{n-1}) \\ &= \sum_{k=1}^{n-1} (n-k) \varepsilon_k \\ &= n e_{n-1} - \sum_{k=1}^{n-1} k \varepsilon_k \end{aligned}$$

上式の左辺は、天然接触エネルギーの累積度数分布であり、図で右下の面積に対応している（図の縦軸の値は、規格化されている）。

また、上式の右辺の第 1 項は、図の全面積に対応していて、上式の右辺の第 2 項は、図の左上の面積に対応している。この右辺の第 2 項は、天然接触エネルギーを考慮したコンタクト・オーダー (the energy-weighted contact order) とみなせる。

図の(b)より、左上の面積は、明らかに、タンパク質 *b2* の場合のほうが、タンパク質 *b1* より大である。結局、『フォールディング・レートと、天然接触エネルギーを考慮したコンタクト・オーダー (the energy-weighted contact order, EWCO) とが対応している』ことが示唆される。

従来、「フォールディング・レートは、鎖に沿ってのアミノ酸残基間の距離（残基数）のみを考慮したコンタクト・オーダー（ACO、及び RCO）との相関に関して議論されている」が、コンタクト・オーダーに関して、我々は、次のような提案をしよう：

『コンタクト・オーダーは、“鎖に沿ってのアミノ酸残基間の距離のみを考慮した量”ではなく、むしろ、“フォールディング・レート”，及び，“天然接触エネルギー”との相関を議論すべきである。』

## Appendix H

## フォールディング・レートの計算方法

多状態をもつ系の速度論的記述には、「マスター方程式」がある。ここで、 $n$  個の状態  $i=1,2,3,\dots,n$  からなる系の速度論を考察しよう。

いま、前向き反応（状態  $i \rightarrow$  状態  $j$ ）のレート（速度定数）を  $k_{i,j}$ 、及び、逆向きの反応（状態  $j \rightarrow$  状態  $i$ ）のレート（速度定数）を  $k_{j,i}$ 、状態  $i$  での状態のポピュレーションを  $p_i$ （確率を表す）、状態  $j$  での状態のポピュレーションを  $p_j$ （確率を表す）とすると、状態  $i$  から状態  $j$  への確率の流れの量は  $p_i(t)k_{i,j}$ 、状態  $j$  から状態  $i$  への確率の流れの量は  $p_j(t)k_{j,i}$  であるから、この系の「マスター方程式」は次のように表現できる：

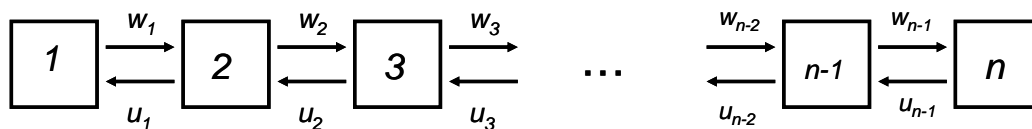
$$\frac{dp_i(t)}{dt} = \sum_{j \neq i} p_j(t)k_{j,i} - \sum_{j \neq i} p_i(t)k_{i,j}$$

この式は、状態のポピュレーションが、入ってくる確率と出ていく確率の差によって変化することを意味している。

「マスター方程式」を“生体分子系の離散化された記述に用いる”ことを考えよう。

タンパク質フォールディングのキネティクスにおいて、「天然状態にあるアミノ酸残基の数」を“反応座標”とし、次のような制限を加える：『反応座標の隣同士の状態間でのみ離散的に転移する。』

図のような可逆離散的な  $n$  個の状態反応に対する「マスター方程式」を具体的に書き下そう。状態  $i$  にある反応物の単位時間あたりの変化量は、反応物自身の量（濃度、確率を表す） $p_i$  に比例し、また、状態  $i+1$  にある生成物の単位時間あたりの変化量は、生成物自身の量（濃度、確率を表す） $p_{i+1}$  に比例するとみなす。さらに、前向き反応（状態  $i \rightarrow$  状態  $i+1$ ）のレート（速度定数）を  $k_{i,i+1}(\equiv w_i)$ 、逆向きの反応（状態  $i+1 \rightarrow$  状態  $i$ ）のレート（速度定数）を  $k_{i+1,i}(\equiv u_i)$  とする。



マスター方程式は、次式のようなレート方程式（rate equation）で記述される：



$$\frac{d}{dt} \begin{bmatrix} p_1 \\ p_2 \\ p_3 \\ \dots \\ p_{n-1} \\ p_n \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} -w_1 & u_1 & & & & \\ w_1 & -(w_2 + u_1) & u_2 & & & \\ & w_2 & -(w_3 + u_2) & \dots & & \\ & & \dots & \dots & \dots & \\ & & & \dots & -(w_{n-1} + u_{n-2}) & u_{n-1} \\ & & & & w_{n-1} & -u_{n-1} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} p_1 \\ p_2 \\ p_3 \\ \dots \\ p_{n-1} \\ p_n \end{bmatrix}$$

ここで、この微分方程式の右辺の転移行列 (transition matrix) を  $A$  で表し、 $I$  を単位行列とすると、微分方程式系の解は、固有方程式  $|\lambda I - A| = 0$  の根として求まる固有値  $\lambda_\nu$  ( $\nu = 1, 2, 3, \dots, n$ ) を用いて、次式のように、 $e^{\lambda_\nu t}$  の線形結合の形に求められる：

$$p_i(t) = \sum_{\nu} a_{i,\nu} e^{\lambda_\nu t} \quad (i = 1, 2, 3, \dots, n)$$

結局、固有値  $\lambda_\nu$  ( $\nu = 1, 2, 3, \dots, n$ ) を計算することができれば、平衡状態への緩和時間 ( $\tau$ , relaxation time) は、次式のように求まる：

$$\tau = \frac{1}{\lambda_1} + \frac{1}{\lambda_2} + \frac{1}{\lambda_3} + \dots + \frac{1}{\lambda_n}$$

転移のレート ( $k$ ) は、次式で計算できる：

$$k = \frac{1}{\tau} \quad \left( \text{但し, } \tau = \frac{1}{\lambda_1} + \frac{1}{\lambda_2} + \frac{1}{\lambda_3} + \dots + \frac{1}{\lambda_n} \right)$$

Cheng らは、固有方程式  $|\lambda I - A| = 0$  の根を求める計算方法を定式化し、Eaton 及び Henry & Eaton らは、その計算式を、タンパク質フォールディングのキネティクス (kinetics, 反応速度論) に適用した。彼らは、タンパク質フォールディングを自由エネルギープロファイルに沿った反応過程とみなし、フォールディング・レートを求める式を提案している。Cheng ら、及び、Henry らによる導入された、緩和時間 ( $\tau$ , relaxation time, その逆数がフォールディング・レート ;  $k_f$ ) を求める計算式を彼らに準じて求めよう。

<文献> X. Z. Cheng, M. B. A. Jalil, H.K. Lee & Y. Okabe. A new time quantifiable Monte Carlo method in simulating magnetization reversal process, Phys. Rev. B, 72, 094420, 2005.

<文献> Muñoz V. & Eaton W.A. A simple model for calculating the kinetics of protein folding from three-dimensional structures, Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 96: 11311–11316, 1999.

<文献> Henry, E.R. & Eaton, W.A. Combinatorial modeling of protein folding kinetics: free energy profiles and rates, Chem. Phys., 307, 163–185, 2004.



## 固有方程式の行列式は、 $n$ 次の多項式で表される

固有方程式  $|\lambda I - A| = 0$  の根である、固有値  $\lambda_\nu (\nu = 1, 2, 3, \dots, n)$  を変数  $x$  で表すと、固有方程式は  $|xI - A| = 0$  と書ける。この左辺を  $J_n(x)$  とする：

$$J_n(x) = \begin{vmatrix} x + w_1 & u_1 & & & \\ w_1 & x + w_2 + u_1 & u_2 & & \\ & w_2 & \dots & \dots & \\ & & \dots & \dots & u_{n-1} \\ & & & w_{n-1} & x + u_{n-1} \end{vmatrix}$$

ところで、平衡状態では、 $dp_i(t)/dt = 0$  ( $i = 1, 2, 3, \dots, n$ ) であるから、「マスター方程式」の右辺は 0 となる。それ故、 $p_i(t) = 0$  ( $i = 1, 2, 3, \dots, n$ ) 以外の解をもつためには、 $|A| = 0$  よって、 $x = 0$  は、固有方程式は  $|xI - A| = 0$  の解であることがわかる。

ここで、次のような新たな行列式  $K_n(x)$  を定義する：

$$K_n(x) = \begin{vmatrix} x + w_1 & u_1 & & & \\ w_1 & x + w_2 + u_1 & u_2 & & \\ & w_2 & \dots & \dots & \\ & & \dots & \dots & u_{n-1} \\ & & & w_{n-1} & x + u_{n-1} + w_n \end{vmatrix}$$

この行列式  $K_n(x)$  は、行列式  $J_m(x)$  の構成要素  $(n, n)$  の成分に  $w_n$  を加えたものである。行列式の性質から、次の式が成立する：

$$K_n(x) = J_n + w_n K_{n-1} \quad (1)$$

一方、行列式の定義から、 $J_m(x)$  と  $K_n(x)$  の間に、次のような関係式が成立する：

$$J_n(x) = (x + u_{n-1})K_{n-1} - w_{n-1}u_{n-1}K_{n-2} \quad (2)$$

(2) 式に、(1) 式を代入すると、

$$J_n(x) = (x + u_{n-1})K_{n-1} - u_{n-1}(K_{n-1} - J_{n-1})$$

故に、次式が成立する：

$$J_n(x) = xK_{n-1} + u_{n-1}J_{n-1} \quad (3)$$

式 (3) に、式 (1) を代入すると、

$$J_n(x) = x(J_{n-1} + w_{n-1}K_{n-2}) + u_{n-1}J_{n-1}$$

$$= (x + u_{n-1})J_{n-1} + w_{n-1}(xK_{n-2})$$

$$= (x + u_{n-1})J_{n-1} + w_{n-1}(J_{n-1} - u_{n-2}J_{n-2})$$

故に、次のような“差分方程式” (difference equation) が成立する：

$$J_n(x) = (x + u_{n-1} + w_{n-1})J_{n-1} - w_{n-1}u_{n-2}J_{n-2} \quad (\text{ただし, } J_0 = 0, J_1 = x \text{ とする}) \quad (4)$$

特に、 $n = 2$  のとき、 $J_2(x) = x(x + w_1 + u_1)$  より、 $J_2(x) = 0$  を満たす固有値  $x$  は、 $x = 0, -(w_1 + u_1)$  である (この第7章の「簡単な“可逆的2状態転移反応”における、レートと緩和時間の関係」の項参照のこと)。

また、 $n = 3$  のときは、

$$J_3(x) = x\{x^2 + (w_1 + w_2 + u_1 + u_2)x + (w_1w_2 + w_1u_1 + w_1u_2 + u_1u_2)\}$$

である。

次に、次のような、多項式  $f_n(x)$  を定義する：

$$f_n(x) = J_n(x)/x \quad (5)$$

結局、平衡状態への緩和時間  $\tau$  (relaxation time) は、 $f_n(x) = 0$  の解である固有値  $x_1, x_2, \dots, x_{n-1}$  の逆数の和として求めることができる：

$$\tau = \frac{1}{x_1} + \frac{1}{x_2} + \frac{1}{x_3} + \dots + \frac{1}{x_{n-1}}$$

転移のレート ( $k$ ) は、次式で計算できる：

$$k = \frac{1}{\tau} \quad (\text{但し, } \tau = \frac{1}{x_1} + \frac{1}{x_2} + \frac{1}{x_3} + \dots + \frac{1}{x_{n-1}})$$

固有値  $x_1, x_2, \dots, x_{n-1}$  の逆数の和は、Vieta's theorem (根と係数の関係) より、近似的に、次式で求めることができる：

$$\frac{1}{x_1} + \frac{1}{x_2} + \frac{1}{x_3} + \dots + \frac{1}{x_{n-1}} = -\frac{f'_n(0)}{f_n(0)}$$

結局、 $f_n(0), f'_n(0)$  を求めることができれば、平衡状態までの緩和時間  $\tau$  (relaxation time) が、次式で計算できる：

$$\tau = \left| -\frac{f'_n(0)}{f_n(0)} \right| \quad (6)$$

$f_n(0), f'_n(0)$  を求める計算式を導こう：

## ◎ 式(6)の分母である $f_n(0)$ の計算式を導こう

式(4), (5)より、次式が成立する：

$$f_n(x) = (x + u_{n-1} + w_{n-1})f_{n-1}(x) - w_{n-1}u_{n-2}f_{n-2}(x) \quad (7)$$

ただし、 $f_0(x) = 0, f_1(x) = 1$

ここで、上式に  $x = 0$  を代入すると、

$$f_n(0) = (u_{n-1} + w_{n-1})f_{n-1}(0) - w_{n-1}u_{n-2}f_{n-2}(0)$$

となる．この式より，

$$\begin{aligned} f_n(0) - u_{n-1}f_{n-1}(0) &= w_{n-1}\{f_{n-1}(0) - u_{n-2}f_{n-2}(0)\} \\ &= w_{n-1}w_{n-2}w_{n-3}\dots w_2w_1\{f_1(0) - f_0(0)\} \\ &= w_{n-1}w_{n-2}w_{n-3}\dots w_2w_1 \\ &= \prod_{i=1}^{n-1} w_i \end{aligned} \quad (8)$$

ここで，次のような2つの量  $g_n, p_i$  を定義しよう：

$$g_n = \frac{f_n(0)}{\prod_{i=1}^{n-1} u_i} \quad (9)$$

$$p_1 = 1$$

$$p_i = \prod_{j=1}^{i-1} \frac{w_j}{u_j} \quad (1 < i \leq n) \quad (10)$$

$g_n$  と  $g_{n-1}$  の差は，式 (8), (10) を用いると，次のようになる：

$$\begin{aligned} g_n - g_{n-1} &= \frac{f_n(0)}{\prod_{i=1}^{n-1} u_i} - \frac{f_{n-1}(0)}{\prod_{i=1}^{n-2} u_i} \\ &= \frac{1}{u_1 u_2 \dots u_{n-2}} \left\{ \frac{f_n(0)}{u_{n-1}} - f_{n-1}(0) \right\} \\ &= \frac{1}{u_1 u_2 \dots u_{n-2} u_{n-1}} \{f_n(0) - u_{n-1}f_{n-1}(0)\} \\ &= \frac{\prod_{i=1}^{n-1} w_i}{\prod_{i=1}^{n-1} u_i} = \prod_{i=1}^{n-1} \frac{w_i}{u_i} = p_n \end{aligned}$$

故に， $g_n$  は，次式で表される：

$$g_n = \sum_{i=1}^n p_i \quad (11)$$

(9)式より，

$$f_n(0) = \left( \prod_{i=1}^{n-1} u_i \right) g_n = \left( \prod_{i=1}^{n-1} u_i \right) \left( \sum_{j=1}^n p_j \right) \quad (12)$$

◎ 式(6)の分子である  $f_n'(0)$  の計算式を導こう

$f_n'(0)$  の計算式を導くために式(7)からスタートしよう：

$$f_n(x) = (x + u_{n-1} + w_{n-1})f_{n-1}(x) - w_{n-1}u_{n-2}f_{n-2}(x) \quad (\text{ただし, } f_0(x) = 0, f_1(x) = 1)$$

この式を微分すると,

$$f_n'(x) = f_{n-1}(x) + (x + u_{n-1} + w_{n-1})f_{n-1}'(x) - w_{n-1}u_{n-2}f_{n-2}'(x)$$

上式に,  $x=0$  を代入すると次のような式が得られる：

$$f_n'(0) = f_{n-1}(0) + (u_{n-1} + w_{n-1})f_{n-1}'(0) - w_{n-1}u_{n-2}f_{n-2}'(0) \quad (13)$$

次に, 式(9)を微分すると,

$$g_n' = \frac{f_n'(0)}{\prod_{i=1}^{n-1} u_i} \quad (14)$$

上式より  $g_n'$  と  $g_{n-1}'$  の差は次のようになる：

$$\begin{aligned} g_n' - g_{n-1}' &= \frac{f_n'(0)}{\prod_{i=1}^{n-1} u_i} - \frac{f_{n-1}'(0)}{\prod_{i=1}^{n-2} u_i} \\ &= \frac{1}{\prod_{i=1}^{n-2} u_i} \left[ \frac{f_n'(0)}{u_{n-1}} - f_{n-1}'(0) \right] \\ &= \frac{1}{\prod_{i=1}^{n-1} u_i} [f_n'(0) - u_{n-1}f_{n-1}'(0)] \\ &= \frac{1}{\prod_{i=1}^{n-1} u_i} [f_n'(0) - u_{n-1}f_{n-1}'(0)] \end{aligned}$$

ここで, 式(13)を変形して,  $f_n'(0) - u_{n-1}f_{n-1}'(0) = f_{n-1}(0) + w_{n-1}\{f_{n-1}'(0) - u_{n-2}f_{n-2}'(0)\}$

この式を代入すると.

$$= \frac{1}{\prod_{i=1}^{n-1} u_i} [f_{n-1}(0) + w_{n-1}\{f_{n-1}'(0) - u_{n-2}f_{n-2}'(0)\}]$$

$$\begin{aligned}
 &= \frac{1}{\prod_{i=1}^{n-1} u_i} \left[ g_{n-1} \left( \prod_{i=1}^{n-2} u_i \right) + w_{n-1} \{ f'_{n-1}(0) - u_{n-2} f'_{n-2}(0) \} \right] \\
 &= \frac{g_{n-1}}{u_{n-1}} + \frac{w_{n-1}}{\prod_{i=1}^{n-1} u_i} \{ f'_{n-1}(0) - u_{n-2} f'_{n-2}(0) \} \\
 &= \frac{g_{n-1}}{u_{n-1}} + \frac{w_{n-1}}{\prod_{i=1}^{n-1} u_i} \left( \prod_{i=1}^{n-2} u_i \right) (g'_{n-1} - g'_{n-2}) \\
 &= \frac{g_{n-1}}{u_{n-1}} + \frac{w_{n-1}}{u_{n-1}} (g'_{n-1} - g'_{n-2})
 \end{aligned}$$

ここで、式(10)より、 $\frac{p_n}{p_{n-1}} = \frac{w_{n-1}}{u_{n-1}}$  この式を上式に代入すると、

$$\begin{aligned}
 g'_n - g'_{n-1} &= \frac{g_{n-1}}{u_{n-1}} + \frac{p_n}{p_{n-1}} (g'_{n-1} - g'_{n-2}) \\
 &= \frac{g_{n-1}}{u_{n-1}} + \frac{p_n}{p_{n-1}} \left( \frac{g_{n-2}}{u_{n-2}} + \frac{p_{n-1}}{p_{n-2}} \{ g'_{n-2} - g'_{n-3} \} \right) \\
 &= \frac{p_n}{p_n} \frac{g_{n-1}}{u_{n-1}} + \frac{p_n}{p_{n-1}} \frac{g_{n-2}}{u_{n-2}} + \dots + \frac{p_n}{p_2} \frac{g_1}{u_1}
 \end{aligned}$$

更に、次の量  $c_n$  を定義する：

$$g'_n - g'_{n-1} = c_n$$

これより、次式が導かれる：

$$g'_n = c_n + g'_{n-1} = c_n + (c_{n-1} + g'_{n-2}) = \dots = c_n + c_{n-1} + \dots + (c_1 + g'_0) = \sum_{i=1}^n c_i$$

$$(\text{ただし, } g'_0 = 0)$$

ここで、 $g'_n - g'_{n-1} = c_n$  を用いると、 $c_n, c_{n-1}, c_{n-2}, \dots, c_2, c_1$  は具体的に次のように表される：

$$\begin{aligned}
 c_n &= \frac{p_n}{p_n} \frac{g_{n-1}}{u_{n-1}} + \frac{p_n}{p_{n-1}} \frac{g_{n-2}}{u_{n-2}} + \frac{p_n}{p_{n-2}} \frac{g_{n-3}}{u_{n-3}} \dots + \frac{p_n}{p_2} \frac{g_1}{u_1} \\
 c_{n-1} &= \frac{p_{n-1}}{p_{n-1}} \frac{g_{n-2}}{u_{n-2}} + \frac{p_{n-1}}{p_{n-2}} \frac{g_{n-3}}{u_{n-3}} \dots + \frac{p_{n-1}}{p_2} \frac{g_1}{u_1}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
c_{n-2} &= \frac{p_{n-2}}{p_{n-2}} \frac{g_{n-3}}{u_{n-3}} \dots + \frac{p_{n-2}}{p_2} \frac{g_1}{u_1} \\
&\dots \dots \dots \\
c_3 &= \frac{p_3}{p_3} \frac{g_2}{u_2} + \frac{p_3}{p_2} \frac{g_1}{u_1} \\
c_2 &= \frac{p_2}{p_2} \frac{g_1}{u_1} \\
c_1 &= 0 \quad (\because c_1 = g_1' = \frac{f_1'(0)}{u_0} = 0)
\end{aligned}$$

それ故,

$$g_n' = \sum_{i=1}^n c_i = \sum_{i=1}^{n-1} \left[ \frac{1}{p_{i+1} u_i} (g_i) \left( \sum_{k=i+1}^n p_k \right) \right] \quad (15)$$

結局,  $f_n'(0)$  は, 式(11), 式(14), 式(15)より次式となる :

$$\begin{aligned}
f_n'(0) &= \left( \prod_{i=1}^{n-1} u_i \right) g_n' \\
&= \left( \prod_{i=1}^{n-1} u_i \right) \sum_{i=1}^{n-1} \left[ \frac{1}{p_{i+1} u_i} \left( \sum_{j=1}^i p_j \right) \left( \sum_{k=i+1}^n p_k \right) \right] \quad (16)
\end{aligned}$$

◎ 式(12)の  $f_n(0)$  と, 式(16)の  $f_n'(0)$  より, 緩和時間  $\tau$  を求める式を導こう

結局, 式(12)の  $f_n(0)$  と, 式(16) の  $f_n'(0)$  より, 平衡状態までの緩和時間  $\tau$  は次式で求まる :

$$\begin{aligned}
\tau &= \left| - \frac{f_n'(0)}{f_n(0)} \right| \\
&= \left( \prod_{i=1}^{n-1} u_i \right) \sum_{i=1}^{n-1} \left[ \frac{1}{p_{i+1} u_i} \left( \sum_{j=1}^i p_j \right) \left( \sum_{k=i+1}^n p_k \right) \right] \bigg/ \left( \prod_{i=1}^{n-1} u_i \right) \left( \sum_{j=1}^n p_j \right) \\
&= \frac{1}{\sum_{j=1}^n p_j} \sum_{i=1}^{n-1} \left[ \frac{1}{p_{i+1} u_i} \left( \sum_{j=1}^i p_j \right) \left( \sum_{k=i+1}^n p_k \right) \right] \quad (17)
\end{aligned}$$

Henry & Eaton は, 上式(17)をさらに誘導して最終的に次式を提案している :

$$\begin{aligned}
\frac{1}{k_f} \propto \tau &\equiv \int_0^\infty \frac{\langle \eta \rangle_{eq} - \langle \eta(t) \rangle}{\langle \eta \rangle_{eq} - \langle \eta(0) \rangle} dt \\
&= \{ \langle \eta \rangle_{eq} - \langle \eta \rangle_0 \}^{-1} \sum_{j=0}^{n-4} \left\{ \frac{1}{p_{eq}(j) k_{j,j+1}} \sum_{i=j+1}^{n-3} \{ p_{eq}(i) - p_0(i) \} \sum_{\eta=0}^j p_{eq}(\eta) (\langle \eta \rangle_{eq} - \eta) \right\} \quad (18)
\end{aligned}$$

式(17)から, Henry & Eaton がどのようにして式(18)を導いたかを推測してみよう.

### <参考1> 式(17)を反応座標 $\eta$ を用いた式へ

上式(17)の緩和時間  $\tau$  を求める式を, 反応座標  $\eta$  (天然状態にあるアミノ酸残基数) を用いた式に誘導することを試みよう. ここで,  $\eta$  の範囲は, 4 個のユニットが最小の局所構造であることから  $0 \leq \eta \leq n-3$  である. 特に,  $\eta=0$ , 及び,  $\eta=n-3$  は次の状態を表している:

$\eta=0$  ; アミノ酸残基はすべてランダムコイル状態にある

$\eta=n-3$  ; アミノ酸残基はすべて天然状態にある.

#### (1) 予備知識

##### (a) “詳細釣り合 (detailed balance)” の式

平衡状態のとき,  $dp_\eta/dt=0, (\eta=0,1,2,\dots,n-3)$  より, 次の“詳細釣り合” (detailed balance) の式が成立する:

$$w_\eta p_{eq}(\eta) = u_\eta p_{eq}(\eta+1) \quad (\eta=0,1,2,3,\dots,n-3, p_{eq}(0)=1)$$

ここで,

$w_\eta$ : 前向き反応 (状態  $\eta \rightarrow$  状態  $\eta+1$ ) のレート (速度定数)

$u_\eta$ : 逆向き反応 (状態  $\eta+1 \rightarrow$  状態  $\eta$ ) のレート (速度定数)

$p_{eq}(\eta)$ : 平衡状態において, 天然状態にあるアミノ酸残基数が  $\eta$  である確率 ( $0 \leq \eta \leq n-3$ )

##### (b) $\langle \eta(t) \rangle$ の時間変化である反応速度方程式を用いる

$\langle \eta(t) \rangle$  の時間変化は, 参考2:「反応速度方程式」より, 次のように表される:

$$\frac{d}{dt} \langle \eta(t) \rangle = -k_+ \langle \eta \rangle + k_- (\eta - \langle \eta \rangle)$$

ここで,  $k_+, k_-$  は遷移確率速度である.

いま, 時刻  $t$  において, 状態の分子数が  $n$  である確率を  $P(n,t)$  で表すと, 上式は,  $n$  の期待値の

式,  $\langle n(t) \rangle = \sum_{n=0}^N nP(n,t)$  の時間変化を表す方程式とみなせる.

平衡状態のときは,  $\frac{d}{dt} \langle \eta(t) \rangle = 0$  である. このとき, 天然状態にあるアミノ酸残基数が  $\eta$  であ

るときの遷移確率速度をそれぞれ,  $k_+ \rightarrow w_\eta, k_- \rightarrow u_\eta$  で表すと, 次式が成立する:

$$w_\eta \langle \eta \rangle_{eq} = u_\eta (\eta - \langle \eta \rangle_{eq})$$

ここで, 平衡状態において, 天然状態にあるアミノ酸残基数が  $\eta$  である期待値  $\langle \eta_{eq} \rangle$  は, 平衡状態において, 天然状態にあるアミノ酸残基数が  $\eta$  である存在確率  $p_{eq}(\eta)$  を用いて, 次式で表される;

$$\langle \eta \rangle_{eq} = \sum_{\eta=0}^{n-3} \eta p_{eq}(\eta)$$



(c) 式(10)で定義した  $p_i$  を, 反応座標  $\eta$  を用いた式へ

$\eta$  の範囲は  $0 \leq \eta \leq n-3$  であるから, 定義式(10)を次のように変換する:

$$p_1 = 1 \quad \rightarrow \quad p_0 = 1$$

$$p_i = \prod_{j=1}^{i-1} \frac{w_j}{u_j} \quad (1 < i \leq n) \quad \rightarrow \quad p_\eta = \prod_{j=0}^{\eta-1} \frac{w_j}{u_j} \quad (0 < \eta \leq n-3)$$

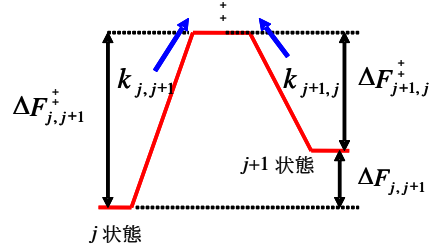
上式を平衡状態のときの式に誘導しよう.

右図の自由エネルギー曲線のイラストにおいて,

$$k_{j,j+1} = w_j, \quad k_{j+1,j} = u_j \quad \text{とおく.}$$

図より,  $\Delta F_{j,j+1}^+ - \Delta F_{j+1,j}^+ = \Delta F_{j,j+1}$  であるから,

$p_\eta$  は次のように誘導できる.



$$p_\eta = \prod_{j=0}^{\eta-1} \frac{w_j}{u_j} = \frac{w_0}{u_0} \frac{w_1}{u_1} \frac{w_2}{u_2} \dots \frac{w_j}{u_j} \dots \frac{w_{\eta-1}}{u_{\eta-1}}$$

$$= \frac{e^{-\beta \Delta F_{0,1}^+}}{e^{-\beta \Delta F_{1,0}^+}} \frac{e^{-\beta \Delta F_{1,2}^+}}{e^{-\beta \Delta F_{2,1}^+}} \dots \frac{e^{-\beta \Delta F_{j,j+1}^+}}{e^{-\beta \Delta F_{j+1,j}^+}} \dots \frac{e^{-\beta \Delta F_{\eta-1,\eta}^+}}{e^{-\beta \Delta F_{\eta,\eta-1}^+}} = e^{-\beta \Delta F_{0,1}} e^{-\beta \Delta F_{1,2}} \dots e^{-\beta \Delta F_{j,j+1}} \dots e^{-\beta \Delta F_{\eta-1,\eta}} = e^{-\beta \Delta F_{0,\eta}}$$

$$= p_{eq}(\eta) - p_0(\eta)$$

ここで,  $p_0(\eta)$  は, 時刻  $t=0$  における状態  $\eta$  の確率を表す.

(2) 緩和時間  $\tau$  を求める式(17)を, 反応座標  $\eta$  を用いた式へ

平衡状態までの緩和時間  $\tau$  を求める式(17)を, 次の4つの項に分けて, それぞれの項毎に反応座標  $\eta$  を用いた式へ誘導しよう:

$$(A) \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=1}^i p_j, \quad (B) \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{k=i+1}^n p_k, \quad (C) \sum_{i=1}^{n-1} \frac{1}{P_{i+1} u_i}, \quad (D) \text{分母の式: } \sum_{j=1}^n p_j$$

(A)  $\sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=1}^i p_j$  を誘導しよう:

反応座標  $\eta$  ( $0 \leq \eta \leq n-3$ ) を採用すると, 式の  $\sum \sum$  の添え字は次のようになる:

$$\sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=1}^i p_j \quad \rightarrow \quad \sum_{j=0}^{n-4} \sum_{\eta=0}^j p_{\eta+1}$$

ここで、(a), (b)より次式が得られる：

$$p_{eq}(\eta+1) = \frac{w_\eta}{u_\eta} p_{eq}(\eta) = \frac{p_{eq}(\eta)(\eta - \langle \eta \rangle_{eq})}{\langle \eta \rangle_{eq}}$$

項(A)は、上式を用いると次式のように誘導できる：

$$\sum_{j=0}^{n-4} \sum_{\eta=0}^j p_{\eta+1} = \sum_{j=0}^{n-4} \sum_{\eta=0}^j p_{eq}(\eta+1) = \sum_{j=0}^{n-4} \sum_{\eta=0}^j \frac{p_{eq}(\eta)(\eta - \langle \eta \rangle_{eq})}{\langle \eta \rangle_{eq}} = \frac{1}{\langle \eta \rangle_{eq}} \sum_{j=0}^{n-4} \sum_{\eta=0}^j p_{eq}(\eta)(\eta - \langle \eta \rangle_{eq})$$

(B)  $\sum_{i=1}^{n-1} \sum_{k=i+1}^n p_k$  を誘導しよう：

反応座標  $\eta$  ( $0 \leq \eta \leq n-3$ ) を採用すると、次式の  $\sum \sum$  の添え字は次のようになる。

$$\sum_{i=1}^{n-1} \sum_{k=i+1}^n p_k \rightarrow \sum_{j=0}^{n-4} \sum_{i=j+1}^{n-3} p_i$$

項(B)は、(c)より次式のように誘導できる：

$$\sum_{j=0}^{n-4} \sum_{i=j+1}^{n-3} p_i = \sum_{j=0}^{n-4} \sum_{i=j+1}^{n-3} \{p_{eq}(i) - p_0(i)\}$$

(C)  $\sum_{i=1}^{n-1} \frac{1}{P_{i+1} u_i}$  を誘導しよう：

反応座標  $\eta$  ( $0 \leq \eta \leq n-3$ ) を採用すると、分母の式の  $\sum$  の添え字は次のようになる：

$$\sum_{i=1}^{n-1} \frac{1}{P_{i+1} u_i} \rightarrow \sum_{j=0}^{n-3} \frac{1}{P_{j+1} u_j}$$

項(C)は、(c)より次式のように誘導できる（但し、 $p_0(j) = 0$  とする）：

$$\sum_{j=0}^{n-3} \frac{1}{P_{j+1} u_j} = \sum_{j=0}^{n-3} \frac{1}{\left(\prod_{j=0}^j \frac{w_j}{u_j}\right) u_j} = \sum_{j=0}^{n-3} \frac{1}{\left(\frac{w_0}{u_0} \frac{w_1}{u_1} \frac{w_2}{u_2} \dots \frac{w_j}{u_j}\right) u_j} = \sum_{j=0}^{n-3} \frac{1}{\left(\prod_{j=0}^{j-1} \frac{w_j}{u_j}\right) w_j} = \sum_{j=0}^{n-3} \frac{1}{P_j w_j} = \sum_{j=0}^{n-3} \frac{1}{p_{eq}(j) k_{j,j+1}} \quad (25)$$

(D) 分母の式： $\sum_{j=1}^n p_j$  を誘導しよう：

反応座標  $\eta$  ( $0 \leq \eta \leq n-3$ ) を採用すると、式の  $\sum$  の添え字は次のようになる：

$$\sum_{j=1}^n p_j \rightarrow \sum_{\eta=0}^{n-3} p_\eta$$

平衡状態での  $0 \leq \eta \leq n-3$  における存在確率の和は1であることを用いると、

分母の項(D)は、次式のように誘導できる（但し、 $p_0(\eta)=0$ とする）：

$$\sum_{\eta=0}^{n-3} p_{\eta} = \sum_{\eta=0}^{n-3} p_{eq}(\eta) = p_{eq}(0) + p_{eq}(1) + p_{eq}(2) + \dots + p_{eq}(n-3) = 1$$

結局、式(17)の平衡状態までの緩和時間  $\tau$ （その逆数がフォールディング・レート： $k_f$ ）を求める式は次式のようにになる：

$$\begin{aligned} \frac{1}{k_f} \propto \tau &\equiv \int_0^{\infty} \frac{\langle \eta \rangle_{eq} - \langle \eta(t) \rangle}{\langle \eta \rangle_{eq} - \langle \eta(0) \rangle} dt \\ &= \frac{1}{\langle \eta \rangle_{eq}} \sum_{j=0}^{n-4} \left\{ \frac{1}{p_{eq}(j)k_{j,j+1}} \sum_{i=j+1}^{n-3} \{p_{eq}(i) - p_0(i)\} \sum_{\eta=0}^j p_{eq}(\eta)(\eta - \langle \eta \rangle_{eq}) \right\} \end{aligned}$$

Henry & Eaton は、上式をさらに誘導して最終的に次式を提案している：

$$\begin{aligned} \frac{1}{k_f} \propto \tau &\equiv \int_0^{\infty} \frac{\langle \eta \rangle_{eq} - \langle \eta(t) \rangle}{\langle \eta \rangle_{eq} - \langle \eta(0) \rangle} dt \\ &= \{\langle \eta \rangle_{eq} - \langle \eta \rangle_0\}^{-1} \sum_{j=0}^{n-4} \left\{ \frac{1}{p_{eq}(j)k_{j,j+1}} \sum_{i=j+1}^{n-3} \{p_{eq}(i) - p_0(i)\} \sum_{\eta=0}^j p_{eq}(\eta)(\langle \eta \rangle_{eq} - \eta) \right\} \end{aligned}$$

<コメント>

○ 式(27)は絶対値である。

○  $\langle \eta \rangle_0 = 0$  である。

<理由>フォールディング過程の初期条件は、 $t=0$ のとき、すべてランダムコイル状態にあり

$\eta=0$ と仮定しているの、時刻  $t=0$  における状態の確率  $p_0(\eta)$  は次のようになる：

$p_0(\eta) = \delta_{\eta,0}$  つまり、 $\eta=0$  のとき  $p_0(0)=1$ 、 $\eta=1,2,3,\dots,n-3$  のとき  $p_0(\eta)=0$

よって、フォールディング過程では、 $\langle \eta \rangle_0 = \sum_{\eta=0}^{n-3} \eta p_0(\eta) = 0$  である。

(3) 遷移確率密度  $k_{j,j+1}, k_{j+1,j}$  を、存在確率  $p_{eq}(\eta)$  で表現しよう

ここで、遷移確率速度  $k_{j,j+1}, k_{j+1,j}$  は次式で表されることを導こう：

$$k_{j,j+1} = \left( \frac{p_{eq}(j+1)}{p_{eq}(j)} \right)^{\kappa} \quad ; \quad \text{状態 } j \text{ から状態 } j+1 \text{ の遷移確率}$$

$$k_{j+1,j} = \left( \frac{p_{eq}(j+1)}{p_{eq}(j)} \right)^{\kappa-1} \quad ; \quad \text{状態 } j+1 \text{ から状態 } j \text{ の遷移確率}$$

まず、図の自由エネルギー曲線のイラストにおいて、次のように仮定する：

$$\Delta F_{j,j+1}^+ = \kappa(\Delta F_{j,j+1})$$

(ただし、 $\kappa$  : adjustable parameter )

ここで、 $k_{j,j+1}, k_{j+1,j}$  は、右図より次式で表される：

$$k_{j,j+1} \approx e^{-\beta \Delta F_{j,j+1}^+}$$

$$k_{j+1,j} \approx e^{-\beta \Delta F_{j+1,j}^+} = e^{-\beta \{\Delta F_{j,j+1}^+ - \Delta F_{j,j+1}\}} = e^{-\beta(\kappa-1)\Delta F_{j,j+1}}$$

よって、

$$\kappa = \left( \frac{\Delta F_{j,j+1}^+}{\Delta F_{j,j+1}} \right) = \frac{\ln(k_{j,j+1})}{\{\ln(k_{j+1,j})\}/(\kappa-1)}$$

これより、 $(\kappa-1)\ln(k_{j,j+1}) = \kappa \ln(k_{j+1,j})$

$$\text{故に、} (k_{j,j+1})^{\kappa-1} = (k_{j+1,j})^{\kappa}$$

ここで、“詳細釣り合 (detailed balance)” の式  $k_{j,j+1}p_{eq}(j) = k_{j+1,j}p_{eq}(j+1)$  を用いると、上式は次式のように誘導できる。

$$(k_{j,j+1})^{\kappa-1} = \left( k_{j,j+1} \frac{p_{eq}(j)}{p_{eq}(j+1)} \right)^{\kappa}, \text{ または, } (k_{j+1,j})^{\kappa} = \left( k_{j+1,j} \frac{p_{eq}(j+1)}{p_{eq}(j)} \right)^{\kappa-1}$$

これより、次式が導かれる：

$$k_{j,j+1} = \left( \frac{p_{eq}(j+1)}{p_{eq}(j)} \right)^{\kappa}, \quad k_{j+1,j} = \left( \frac{p_{eq}(j+1)}{p_{eq}(j)} \right)^{\kappa-1}$$

Henry & Eaton らは、新たに次式を提案している：

$$k_{j,j+1} = \gamma \left( \frac{p_{eq}(j+1)}{p_{eq}(j)} \right)^{\kappa} \quad (\text{状態 } j \text{ から状態 } j+1 \text{ への遷移確率})$$

$$k_{j+1,j} = \gamma \left( \frac{p_{eq}(j+1)}{p_{eq}(j)} \right)^{\kappa-1} \quad (\text{状態 } j+1 \text{ から状態 } j \text{ への遷移確率})$$

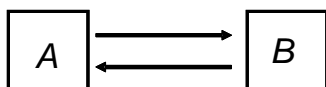
ただし、 $\kappa$  と  $\gamma$  は adjustable parameter である。Henry & Eaton は、 $\kappa$  と  $\gamma$  の値は、結果にあまり影響されないので、 $\kappa = 0.5$  ,  $\gamma = 1$  を採用している。



“Winter Morning by the Stable”

## ＜参考2＞ 「反応速度方程式」について

単分子反応を考える．図のように，分子が独立に2つの状態AとBを取り得るとする．状態Aにある分子をA分子，状態Bにある分子をB分子と呼ぶことにする．時刻  $t$  においてA状態のある分子が時間  $\Delta t$  の後にB状態に見出される確率を  $p_+(\Delta t)$ ，逆に，時刻  $t$  においてB状態のある分子が時間  $\Delta t$  の後にA状態に遷移している確率を  $p_-(\Delta t)$  とする．遷移をする分子は全体で  $N$  個あるものとして，個々の分子は独立にAとBの間を遷移しているものとする．



いま，時刻  $t$  においてA状態のある分子数が  $n$  である確率  $P(n, t)$  の時間変化を考えよう．時刻  $t + \Delta t$  にA分子が  $n$  個であるのは，次の3通りのいずれかである：

- ① 時刻  $t$  では  $n+1$  個のA分子があつて，そのうちのどれか1個が  $\Delta t$  時間に  $A \rightarrow B$  の遷移を起こす  $\rightarrow p_+(\Delta t)(n+1)P(n+1, t)$
- ② 時刻  $t$  では  $n-1$  個のA分子があつて，  $N-(n-1)$  個のB分子のどれか1個が  $\Delta t$  時間に  $B \rightarrow A$  の遷移を起こす  $\rightarrow p_-(\Delta t)(N-(n-1))P(n-1, t)$
- ③ 時刻  $t$  でもA分子の数は  $n$  個であつて，  $\Delta t$  時間にはまったく遷移が起こらない  $\rightarrow \{1 - p_+(\Delta t)n - p_-(\Delta t)(N-n)\}P(n, t)$

ただし，時間間隔  $\Delta t$  が十分短くて，その間に2個以上の分子が反応を起こす確率は無視できるものとしよう．この仮定のもとで，時刻  $t$  においてA状態のある分子数が  $n$  である確率  $P(n, t + \Delta t)$  は

①～③より次式で表される：

$$P(n, t + \Delta t)$$

$$= p_+(\Delta t)(n+1)P(n+1, t) + p_-(\Delta t)(N-(n-1))P(n-1, t) + \{1 - p_+(\Delta t)n - p_-(\Delta t)(N-n)\}P(n, t)$$

これより，

$$\frac{P(n, t + \Delta t) - P(n, t)}{\Delta t}$$

$$= \frac{p_+(\Delta t)}{\Delta t}(n+1)P(n+1, t) + \frac{p_-(\Delta t)}{\Delta t}(N-(n-1))P(n-1, t) - \frac{p_+(\Delta t)}{\Delta t}nP(n, t) - \frac{p_-(\Delta t)}{\Delta t}(N-n)P(n, t)$$

ここで，  $\Delta t \rightarrow 0$  の極限として次式が得られる：

$$\frac{dP(n, t)}{dt} = k_+(n+1)P(n+1, t) + k_-(N-(n-1))P(n-1, t) - k_+nP(n, t) - k_-(N-n)P(n, t) \quad (1)$$

ただし，  $0 \leq n \leq N$  である．  $k_+, k_-$  は遷移確率速度で，次式で定義される：

$$\lim_{\Delta t \rightarrow 0} \frac{p_+(\Delta t)}{\Delta t} = k_+ \quad , \quad \lim_{\Delta t \rightarrow 0} \frac{p_-(\Delta t)}{\Delta t} = k_- \quad (2)$$

式(1)の両辺に  $n$  を掛けて，  $n = 0, 1, 2, 3, \dots, N$  について和をとって整理すれば次式のような反応速度方程式が導かれる：

$$\frac{d}{dt} \langle n(t) \rangle = -k_+ \langle n \rangle + k_- (N - \langle n \rangle) \quad (3)$$

上式は、 $n$  の期待値  $\langle n(t) \rangle = \sum_{n=0}^N nP(n,t)$  の時間変化を表す方程式とみなせる．ここで、 $P(n,t)$  は時刻  $t$  において、ある状態の分子数が  $n$  である確率を表す．

<文献> 寺本 英：『ランダムな現象の数学』，吉岡書店，1990 年．

Henry & Eaton は、タンパク質のフォールディング過程を、天然状態にあるアミノ酸残基数  $\eta$  を反応座標とした 1 次元の自由エネルギープロファイルに沿った反応過程として考察している．

いま、フォールディング過程の途中で、天然状態にあるアミノ酸残基数が  $\eta$  であるとき、 $\eta$  の平均値  $\langle \eta(t) \rangle$  の時間変化を表す式は、式(3)の類推より次式のように表される：

$$\frac{d}{dt} \langle \eta(t) \rangle = -k_+ \langle \eta \rangle + k_- (\eta - \langle \eta \rangle) \quad (4)$$

平衡状態のとき、 $\frac{d}{dt} \langle \eta(t) \rangle = 0$  である．このとき、天然状態にあるアミノ酸残基数が  $\eta$  であるとき

の遷移確率速度をそれぞれ、 $k_+ \rightarrow w_\eta, k_- \rightarrow u_\eta$  とすると、次式が成立する：

$$w_\eta \langle \eta \rangle_{eq} = u_\eta (\eta - \langle \eta \rangle_{eq}) \quad (5)$$

ここで、3 次元格子タンパク質での  $\eta$  の範囲は  $0 \leq \eta \leq n-3$  である．また、平衡状態において、天然状態にあるアミノ酸残基数が  $\eta$  である期待値  $\langle \eta_{eq} \rangle$  は、平衡状態において、天然状態にあるアミノ酸残基数が  $\eta$  である存在確率  $p_{eq}(\eta)$  を用いて、次式で表される；

$$\langle \eta \rangle_{eq} = \sum_{\eta=0}^{n-3} \eta p_{eq}(\eta) \quad (6)$$



“Sunlight Autumn”