

## 第2章

# タンパク質分子の フォールディング問題とは？

### <要旨>

“タンパク質分子のフォールディング問題”には3つの側面があることを紹介している。そして、その中の“タンパク質のフォールディング・メカニズムの問題”を「統計力学的観点」から解明することがこの本の主たるテーマであると述べている。

郷信広が提案した「整合性原理」、つまり、「タンパク質分子は進化の所産として、天然構造を安定に保つのに寄与している様々な分子内相互作用の間に互いに矛盾が無く整合的である』と、これと等価であると言われている、Wolynesらの「極小フラストレーションの原理」について考察している。

更に、これらの原理の展開から、タンパク質のフォールディングにおける“エネルギーランドスケープ理論”から導かれる“ファネル描像”の重要性が広く認識されていると述べている。

## タンパク質分子のフォールディング問題とは？

タンパク質分子のきわだった特徴の1つは、生理的な条件下で、そのアミノ酸配列によって決まる特異的な立体構造を自発的に形成することである。タンパク質分子が、どのようなメカニズムで、そのアミノ酸配列で決まる、それぞれに固有の天然構造へフォールドするのだろうか？

このタンパク質フォールディング問題は、第1章で述べたように、次のような3つの側面がある：

① 天然構造の予測の問題；

『特定のタンパク質のアミノ酸配列が与えられたとき、その天然立体構造を予測するという問題』

② フォールディング・メカニズムの問題；

『タンパク質のフォールディング過程の性質（レート、中間状態、遷移状態など）を明らかにする、つまり、フォールディングのメカニズムを明瞭にする問題』

③ 天然構造の特徴の問題；

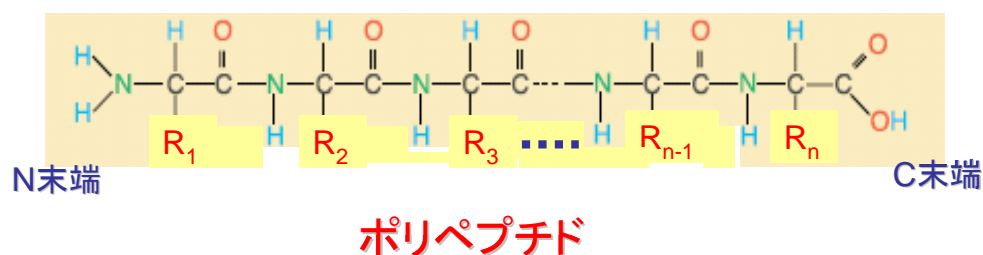
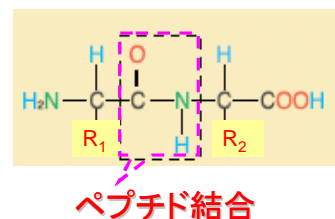
『“タンパク質の天然構造は、静的にも、動的にも、どのように特徴づけられ、それが生物学的にどのように意味をもつか？”を明らかにする問題』

これらの“フォールディング問題”に関して、いろいろと非常に興味深い提案がなされているが、依然として、明確な解答が得られていない未解決の難問として残されている。

我々の目標は、「フォールディング・メカニズムの問題」を“統計力学的観点”から解明することである。

## ポリペプチド鎖の可能な全配列のうち、タンパク質分子となるアミノ酸配列は、ごくごく少数である！

タンパク質は、20種類のアミノ酸が枝分かれすることなく重合してできた鎖状高分子である。つまり、アミノ酸2分子が脱水縮合するとアミド結合が形成されジペプチドになり、それらが、数10個から数千個、ペプチド結合でつながって構成された生体高分子である。



“アミノ酸配列の可能な場合の数”を見積もってみよう。

○アミノ酸配列が2個の場合； 20種類のアミノ酸の重複順列なので、 $20^2 (=400)$  通りのアミノ酸配列の場合の数

○アミノ酸配列が3個の場合； トリペプチドのアミノ酸配列の可能な場合の数は、 $20^3 (=8,000)$  通りのアミノ酸配列の場合の数

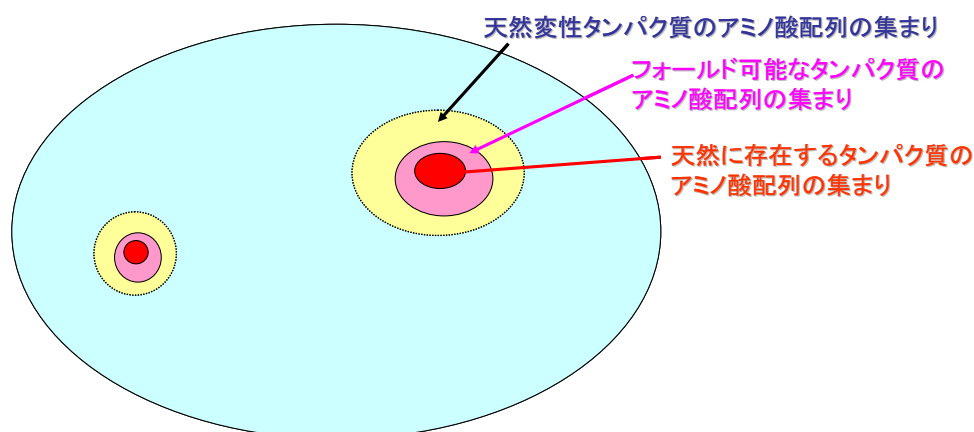
○アミノ酸配列が4個の場合； テトラペプチドのアミノ酸配列の可能な場合の数は、 $20^4 (=160,000)$  通りのアミノ酸配列の場合の数

○アミノ酸配列が100個の場合； そのアミノ酸配列の可能な場合の数は、 $20^{100} (\approx 10^{130})$  通りのアミノ酸配列の場合の数で、莫大な数のポリペプチド鎖を作成できる。

この莫大なポリペプチド鎖の内、実際に、特異的な立体構造を形成してタンパク質として機能できる

のは、ごくごく限られたポリペプチド鎖だけであり、ほとんどのポリペプチド鎖は立体構造ができずに沈殿するといわれている。

アミノ酸配列の全空間を考えよう。これは、それぞれのアミノ酸配列がその空間上の1点として表され、似たアミノ酸配列は互いにその近傍に位置するとする。



## アミノ酸配列の全空間

(100残基のとき,  $20^{100} \approx 10^{130}$ 個のアミノ酸配列が可能)

一般に、ある1つの天然構造をとることのできるアミノ酸配列は複数ある。そうしたアミノ酸配列は、配列空間で互いに近傍にあり、1つの領域を構成する。しかしながら、まったく異なるアミノ酸配列（配列空間の異なる領域）が同じ天然構造（構造空間の同じ領域）に対応することも、現実のタンパク質でもみることができる。そして、天然構造にはさまざまなタイプが存在しており、それらがアミノ酸配列空間の異なる領域を占めていると考えられる。一方、どんなアミノ酸配列でもすべてが何らかの特異的な立体構造へと折れたたまれるわけではないので、こうした配列空間の中で、フォールド可能な領域はまばらにしか存在しないであろう。

地球上には約200万種の生物が存在するだろうと言われているので、 $10^8 \sim 10^{10}$ 個位のタンパク質種が存在すると推定すると、現実には地球上にある生物によって使用されているタンパク質は、全ポリペプチド鎖  $10^{130}$  個のごくごく少数である。

残りの約  $10^{120}$  個のポリペプチド鎖は、タンパク質として使用できないのだろうか？

生命誕生から今日までに、遺伝子が、すべてのポリペプチド鎖の配列に対して、タンパク質分子として機能するかどうかをチェックしたとは到底思えない。その数を見積もってみよう。

40億年前地球上に生命が誕生して以来、遺伝子が、もし1秒間1個の割合で100個のアミノ酸配列を合成したポリペプチド鎖がタンパク質として機能するかどうかをチェックできたと仮定すると、現在までに  $10^{17}$  個のポリペプチド鎖をチェックしたことになるが、残りの約  $10^{110}$  個のポリペプチド鎖はチェックされないままであろう。残りのポリペプチド鎖の中に、いろいろな機能をもった新たなタンパク質が発見できるかもしれない。それは、タンパク質工学という学問がめざす目標の1つでもある。

タンパク質分子のアミノ酸配列に書き込まれた特異的な立体構造形成の情報を読み解く問題の解答は、次に述べるようなアンフィンゼンの実験によって、物理学によって必然的に与えられる性質のものであるにもかかわらず、今日まで、未解決の難問として残されている。



## “アンフィンゼン・ドグマ”：『タンパク質分子は自発的に、熱力学的に最も安定な特異的立体構造を形成する』

アンフィンゼン (Anfinsen)らは、1950年代から1960年代はじめの一連の実験，“RNA分解酵素リボヌクレアーゼ A (RNaseA)”を対象にした変性・再生の実験の結果から、生命科学において重要な、次のような“アンフィンゼン・ドグマ”を提唱した（1972年、アンフィンゼンは、この研究成果によりノーベル化学賞を受賞）：

『タンパク質分子は自発的に、熱力学的に安定な特異的立体構造を形成する、言い換えると、タンパク質分子の天然立体構造は、そのアミノ酸配列によって一意的に決定される。』

彼らの実験の概要は次の通りである：

彼らは、溶液中で酵素活性をするリボヌクレアーゼ A（右図は天然構造，124 残基，PDB ID: “5RSA”）に、変性剤である高濃度の尿素と還元剤であるメルカプトエタノールを加えると、天然構造が壊れ、酵素活性が失われることを観察した。これは、4 個あるジスルフィド結合（Cys26-Cys84, Cys40-Cys95, Cys58-Cys110, Cys65-Cys72）の全てが切断されて、天然立体構造が壊れ、完全な変性状態になったと考察した。その後、彼らは、この状態のリボヌクレアーゼ A を、酸素の存在下で、尿素濃度の低い溶液に戻すと、つまり、溶媒条件を元に戻す（透析する）と、再び、酵素活性が復活することを確認した。結局、もとの天然立体構造が形成されたことを確認した。

この実験により、次のことを提案した；

『タンパク質分子の天然立体構造は、タンパク質分子と水を含んだ系での熱力学的安定状態、つまり、溶液条件によって指定された自由エネルギー最小状態である。言い換えると、タンパク質分子のフォールディングは、熱平衡状態（自由エネルギー最小状態）へ向かっての緩和過程である。』

<文献> C. B. Anfinsen, Principles that Govern the Folding of Protein Chains, *Science*, **181**, 223-230, 1973.

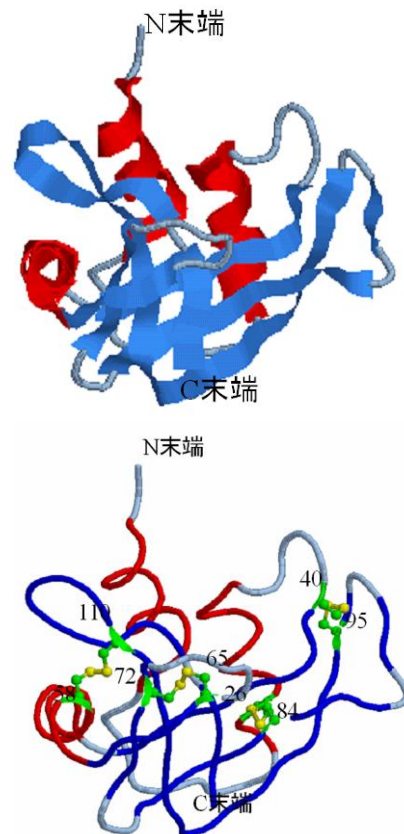
アンフィンゼン・ドグマの提唱により、タンパク質のフォールディング問題は、次のような物理・化学の問題であると考えられるようになった：

『タンパク質分子は、与えられた溶媒条件下で、自発的に特異的天然立体構造へ折れたたまれていくが、このとき、アミノ酸配列と環境条件に含まれる情報以外に、新たな情報を必要としない。すなわち、タンパク質分子の天然立体構造形成に関する情報は、そのアミノ酸配列の中にすべて書き込まれている。』最近、アンフィンゼンらが行った試験管でのプロセスと異なり、細胞中では、フォールディングを助ける様々な仕組み（分子シャペロンの関与等）が明らかになってきているが、細胞中のフォールディングも基本的にタンパク質分子が自己組織化する能力をもっていることにより初めて可能になると考えられていて、アンフィンゼン・ドグマの重要性は変わらない。

更に最近では、次のような、アンフィンゼン・ドグマがそのままでは成立しない例が知られていて、大変興味深い：

① タンパク質分子が、複数の異なる秩序構造を取る：

フォールディング病の原因となるプリオンタンパク質のアミノ酸配列は、健常なヒト体内で発現される正常型タンパク質と完全に一致するにも関わらずその立体構造には大きな違いがある。



これは、アミノ酸配列によってタンパク質構造が一意に決定されない好例といえる。この場合、天然立体構造を、周囲の環境も考慮した立体構造のいくつかの準安定構造のひとつと解釈すればアンフィンゼン・ドグマは成り立つ。

② タンパク質分子が、生理的条件下で秩序構造を取らない、つまり、天然変性状態タンパク質の存在が確認されている。

しかしながら、基本的には、アンフィンゼン・ドグマをタンパク質分子のフォールディングを理解するための出発点としよう。

## タンパク質分子は如何にして自らの天然構造を見出すのだろうか？

タンパク質のとりえる可能な全コンフォメーションをエネルギー曲面で表すことを考えよう。つまり、全コンフォメーションを表す多次元空間中で、各コンフォメーションを点として表し、その点でのタンパク質分子がもつエネルギーの値からなるエネルギー曲面を考えよう。タンパク質は、このエネルギー曲面上で、如何にして、自らの天然構造を、ミリ秒から分の単位で敏速に見出すことができるのだろうか？

ここで、ゴルフコースで色々な面をもつグリーン面をエネルギー曲面と考え、グリーン面の縁からパッティングをしてボールをカップに沈めることを、タンパク質が折れたたまって天然構造に到達することとみなして考えてみよう。典型的な例として、次の3つの場合が考えられるだろう：

### (a) グリーン面（エネルギー曲面）が、広大で平面の場合

グリーン面が平らで広大である場合、ゴルファーが目隠しされて、グリーン面の端から、ランダム方向にパッティングを試みるように命じられたら、なかなかカップに入らないであろう。偶然にカップに入るのにどれくらい時間が必要だろうか？

全てのコンフォメーションの中から、ランダムに、しかも、網羅的に天然構造を探索するのにどのくらい時間がかかるか概算してみよう：

いま、100 個のアミノ酸残基からなるタンパク質分子を考えよう。

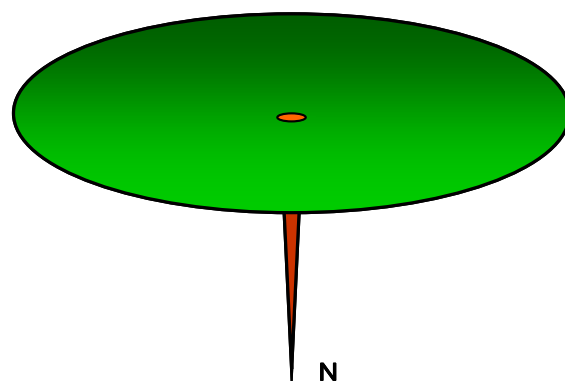
各アミノ酸残基あたりの可能なコンフォメーションの数は、少なくとも3通りはあるので、鎖全体の可能なコンフォメーションの数は、 $3^{100} \approx 5 \times 10^{47}$  通りのである。

1つの構造を探索するのに、仮に、 $10^{-15}$  秒必要であると仮定すると、すべてのコンフォメーションをランダムに探索するのに  $5 \times 10^{47}$  (通り)  $\times 10^{-15}$  (秒/通り) =  $5 \times 10^{32}$  (秒)  $\div 1.6 \times 10^{25}$  (年) という莫大な時間が必要になる。

鎖を構成するアミノ酸残基の数が増えるとともに、解決に必要な時間は、指数関数的に伸びることになる。これではタンパク質はほとんど永久に天然構造を探し当てることが出来ないだろう。

しかし、実際のタンパク質分子は、ミリ秒から分の単位で天然構造へと折れたたまる。これは、“Levinthal のパラドックス”として知られている。

このパラドックスが生じた原因は、構造の探索に何もガイドラインがなく、すべてのコンフォメーションの生起確率が等しいとし、ランダムサンプリングによって天然構造を探索する状況を想定したことにある。





**(b) グリーン面（エネルギー曲面）が、広大で平面であるが、カップに向かって溝がある場合**

これは、Levinthal のパラドックスを回避するしくみの1つである。

グリーン面が平面で広大でも、グリーン的一端からホールに向かって溝がある場合、その溝を通してパッキングを試みればボールは容易にカップに入るであろう。

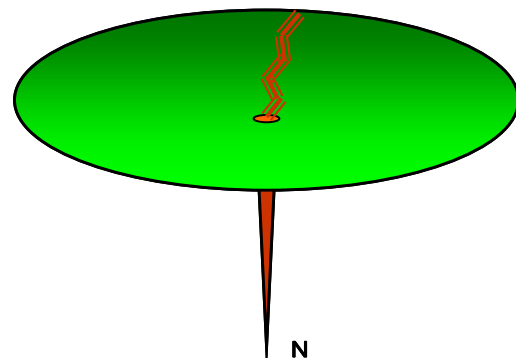
つまり、ランダムコイルから天然構造へのフォールディングには、非常に限られた道筋があり、道筋に含まれない領域のコンフォメーション・エネルギーはきわめて高く、ほとんど実現しないとみなしているので、容易に天然構造に到達するだろう。タンパク質は、選ばれた順路をたどってフォールディングするのではないかという提案である。

このアイデア、つまり、“フォールディングの道筋は精密に設計されている”というアイデアは、1980年代に主流となり、フォールディングの途中に表れる中間体の探索の研究が重要であると考えられ、多くの実験が行われた。

タンパク質分子がランダムコイル状態から天然状態へ折れたたむ過程で、実際に形成するであろう途中の構造（中間体）を検出することが目標になった。

1980年代後半から、特に球状タンパク質では、モルテン・グロビュール中間体を経由して天然構造を形成するとの提案がなされ、注目された。

1990年代に入ると、100残基以下の小さなタンパク質において、中間体を経ずに二状態的に天然構造に折れたたむ例が次々に報告され、特異的なフォールディングの道筋や中間体は必須ではないのではと考えられるようになった。



**(c) グリーン面（エネルギー曲面）が、ファネル状（漏斗状）になっている場合**

グリーン面がカップに向かってファネル状（漏斗状）になっている、つまり、ホールに向かって傾斜している様なエネルギー曲面を考えよう。

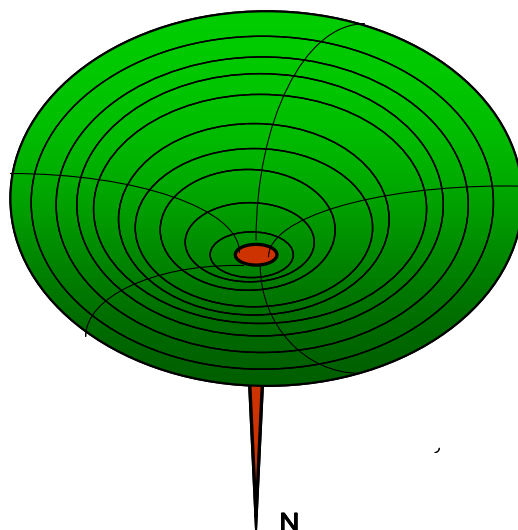
この場合、グリーンの端からパッキングを試みれば、重力がボールをホールへと送り込み、容易にカップに入るであろう。つまり、立体構造空間が作るエネルギー曲面が大域的に天然構造を底とするファネル（漏斗）状になっていけば、グリーン面がいろいろと起伏に富んでいても最終的には天然構造に折れたたむであろう。

このとき、タンパク質のフォールディングでは、特異的な経路や中間体は必須ではなく、様々なトラジェクトリを経て、最終的には天然構造へと到達するという考えである。

つまり、エネルギー曲面が全体的に天然状態にバイアスがかかったファネル状の形状をしているため、特異的な立体構造（天然構造）へと折れたたむという考え方である。

今日、このエネルギーランドスケープ理論に基づく捉え方（ファネル理論）を、new view（新しい捉え方）と呼び、従来の、「フォールディングには、アミノ酸配列によって規定された、特異的な経路が存在し、その経路上には、定まった中間体が存在する」という見方を、old view（古典的捉え方）と呼ぶ。

「タンパク質のフォールディング過程は、ファネルを上から下へ落ちていくようなものである」というファネル理論は、1990年代に Wolynes らによって提案された。



<文献> J. D. Bryngelson, J. N. Onuchic, N. D. Socci and P. G. Wolynes. Funnels, pathways, and the Energy

Landscape of Protein Folding: A Synthesis, *PROTEINS: Structure, Function, and Genetics*, **21**, 167-195, 1995.

ファネル理論のルーツは、1983年、*Annual Review*に発表されたGōによる次のような「整合性原理」にまで遡ることができる：『球状タンパク質の天然構造を安定化しているいろいろな相互作用項は、第一近似としては、互いに整合的である。すなわち、この性質を満たすポリペプチド鎖のみが、進化の過程を通して、タンパク質分子として、選択されてきた。』

<文献> N. Gō, Theoretical Studies of Protein Folding, *Annu. Rev. Biophys. Bioeng.* 12 183-210, 1983.

<文献> 郷信広, 『蛋白質の立体構造予測と折れたたみ過程』, 生物物理, Vol. 23 No.3, 11-19, 1983.

<文献> 郷 信広: 『バイオ科学へのチャレンジ』, 物理学の挑戦 (日本物理学会編), 日本評論社, 10 章, pp.180-196, 2006 年.



## タンパク質のフォールディング転移の協同性

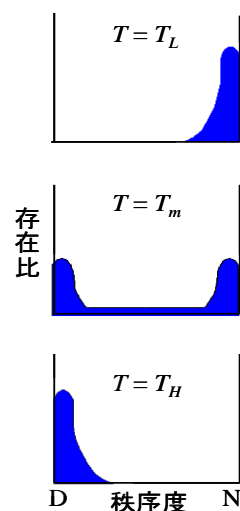
タンパク質のフォールディング転移の協同性について考察しよう。

小さな球状タンパク質分子のもっとも顕著な特性の1つは、フォールディングにおける“二状態転移”である。タンパク質のフォールディングは、ランダムコイル状態からフォールドされた状態へ一気に起こり、部分的に変性した中間体は存在しないか、せいぜい数個しか観察されない。同様に、フォールドされた状態からランダムコイル状態への構造変化も協同的に進む。

平衡状態におけるフォールディング転移の中間点においては、分子集団中の半数の分子は完全に折れたたまれた状態にあり、残りの半分は、ほどけた、ランダムコイル状態にある。

つまり、タンパク質分子は、転移温度 ( $T = T_m$ ) においては、外部条件 (温度や溶媒など) の変化にともない、ほとんど天然構造にフォールドした分子か、ほどけたランダムコイル状態にある分子かの二者択一的であるという特徴がある。一つの鎖のなかで、ランダムコイル状態にある部分と局所的に天然状態にある構造が混在したタンパク質分子はまれであることを示している (図参照, N: 天然状態, D: ランダムコイル状態)。

この小さい球状タンパク質分子のフォールディングの二状態性は、特異的な構造をとることによるエントロピー損失と、長距離相互作用によるエンタルピー (エネルギー) 獲得の拮抗が協同的な二状態転移を引き起こしている。



<コメント> 物理学の研究目的の一つは、自然現象の根本要素がどうなっているかを解明することである。しかし、自然現象を理解するためにはもうひとつ重要な側面がある。それは、協同現象とよばれるもので、簡単な要素でも、それらが多数集まり、互いに相互作用することによって巨視的に特徴ある状態 (秩序構造) を生み出す現象である。たとえば、水の分子に注目すると、分子自身は変化しないが、温度によって氷、水、水蒸気とマクロな形態が温度とともに不連続に変化する。このように、構成要素自身が変化しないのに、マクロに特異性が現れる現象を「相転移」というが、その特徴は、ある環境条件では一部の要素が秩序構造を作りエネルギー的に安定化しようとしても、それによって失うエントロピーの方が大きく、すぐに不安定化してしまうが、異なる環境条件では、一斉に秩序化することで相互作用エネルギーの総和が失うエントロピーに打ち克つようになるというものである。この一斉に秩序化する点がポイントであり、協同現象の名前の由来となる。タンパク質が温度や溶媒の変化によって引き起す変性・再生 (フォールディング・アンフォールディング) という可逆的な構造変化もこの「相転移」の一種とみなすことができる。相転移の機構は統計力学の中心課題のひとつである。



## ファネル理論のルーツは、「整合性原理」である

Gō らは、今日、“Gō ポテンシャル”という量を導入して、2次元格子モデルタンパク質のフォールディングのコンピュータ・シミュレーションを実行した。

彼らは、天然構造で互いに接触している分子間相互作用（“天然接触相互作用”）に着目し、フォールディング過程においては、その天然接触相互作用のみが働くと仮定して、シミュレーションを実行した結果、タンパク質らしい協同的振る舞いを観察した。

天然構造では接触していない相互作用（“天然非接触相互作用”）の効果は正負両方があり、大まかにはそれらは相殺するので、グローバルなファネル様地形では、これらの効果は、ほとんど無視してもよいであろうと彼らは考察した。天然接触相互作用と天然非接触相互作用の両方を考慮したコンピュータ・シミュレーションでは、フォールディングの協同性が少し崩れることも観測した。

この Gō ポテンシャルの影響下のとき、つまり、理想的に天然接触相互作用のみが働くと仮定すると、次のようなフォールディング過程の描像が考えられる：

『フォールディングの初期段階では、アミノ酸配列上で近い分子間相互作用（近距離相互作用）が働いて、いろいろな部位で部分構造を形成するが、この部分構造は比較的不安定で、壊れたり、また形成されたりする。しかし、部分構造が形成されている間に、たまに、アミノ酸上で距離の離れたアミノ酸残基間相互作用（遠距離相互作用）が働くと、最終的に、部分構造とともに全体構造が安定になって、天然構造が形成される。』

Gō は、一連のシミュレーションの結果から、タンパク質分子のフォールディングにおけるこの2状態転移が可能であるための条件は何かという観点から、1983年、次のような“整合性原理”を提案した；『タンパク質分子は進化の所産として、天然構造を安定に保つのに寄与している近距離相互作用や遠距離相互作用などの様々な分子内相互作用の間に、互いに矛盾が無く、整合的である』。

その後、Wolynes らは、低温のスピンガラスにおいてスピンの向きが凍り付いて動かなくなるガラス転移との類推から、タンパク質分子がガラス転移を避けてフォールディングを可能にする条件は何かという観点から、次のような“極小フラストレーションの原理”を提案した；『タンパク質の天然構造においては、どのエネルギー項をとっても他のエネルギー項の犠牲になってフラストレーションを感じることなく、フラストレートした相互作用が十分小さくなるように、進化を通じて、精巧に、そのアミノ酸配列をデザインしてきた。』

現在では、“Gō ポテンシャル”の成立はタンパク質の基本的な性質であると捉えられている。

Wolynes らにより提案された“エネルギーランドスケープ理論”も、本質的な部分は Gō の「整合性原理」と等価だとされる。つまり、同じ物理的内容を表している。ところで、一体どのようなアミノ酸配列をデザインすれば、これらの原理が満たされるのだろうか？

**<コメント>** 高田彰二は、これらの二つの原理に関して 2010年の生物物理学会誌で次のように述べている：『・・・郷氏の整合性原理と Wolynes のフラストレーション最小原理とは明らかに似ており、“同じだ”という人も多くいますが、私の解釈は少し違います。対比的にいうと、郷氏のものは、天然構造の理想的な整合性を主張したものであり、Wolynes のものは、理想的な整合性と不可避免的な不整合性（フラストレーション）の比を最大化する、という主張です。比喩的には、郷氏のものは理想極限の1項を議論し、Wolynes のものは1項と2項の大きさの比を議論しています。2つの項を比べることにより、Wolynes らは、天然構造の折れたたみ能を明示的な数式にしました。・・・』（高田彰二、『郷モデルの35年ー郷信広先生に因えてー』、生物物理50(4)、158-159、2010）





## Gō モデルは現実のタンパク質のフォールディングでも成立しているのだろうか？

当初、Gō ポテンシャルは、次のように酷評された：『天然構造が実現して安定になるように無理やりにバイアスをかけた、物理的ではない(Gō's potential are not physical), 乱暴な(rough), しかも、人為的(artificial)なポテンシャルである。』

1970 年代以降に行われたフォールディングの実験結果は、「小さな球状タンパク質のフォールディングが二状態的に起きる」ということであった。つまり、『小さな球状タンパク質では、変性状態から天然状態への折れたたたみの途中で寿命の短い中間体が観測されない』という実験事実は、フォールディングの途中の構造変化を追跡することが原理的に大変難しいと思われた。

Fersht らは、1990 年代のはじめに、“Φ 値解析法”という手法を新たに提案し、フォールディング遷移状態での構造的特徴を推定することを可能にした。

<文献> A. Fersht, Structure and Mechanism in Protein Science: A Guide to Enzyme Catalysis and Protein Folding.

Freeman, New York, 1999. [桑島邦博・有坂文雄・熊谷泉 (訳), タンパク質の構造と機能, 医学出版(2006)]

Gō ポテンシャルは、構造の選択性が非常に高い特性をもっている。すなわち、Gō ポテンシャルは、タンパク質分子が、余計な構造探索を行わずに、間違った構造を回避して短時間内に天然構造を作る。Levinthal のパラドックスは、実際のタンパク質で Gō ポテンシャルが成立していれば、解決することは自明であるともいえる。

1990 年代後半に、『タンパク質は、整合性原理が成り立っており、グローバルなファネル様エネルギー地形が実現していて、フォールディング過程では、天然接触相互作用のみが主に働く。』という Gō ポテンシャルが、現実のタンパク質にも近似として使えるのではと考えられ、実験との検証が行われた。驚くことに、実験的な Φ 値解析の結果と、Gō ポテンシャルを採用したモデル計算との結果が定性的に一致することが確認された。( <文献> N. Koga and S.Takada, Roles of Native Topology and Chain-length Scaling in Protein Folding: A Simulation Study with a Go-like Model, J. Mol. Biol., 313, 171-180, 2001.)

2000 年頃には、タンパク質フォールディングを記述する基礎理論として、Gō の「整合性原理」やウォリス ( Wolynes ) らの「極小フラストレーションの原理」を基にした、“エネルギーランドスケープ理論”，および、“ファネル描像”の重要性が広く認識された。

Gō の整合性理論が実験的に検証されたことは、科学史に残る大いなる成果であろう。郷は、2019 年、“Snake cube puzzle” (SC 模型) を用いて、自らが提案した「整合性原理」の具体例を示す論文を発表した (Coffee Break: :『パズルによる“整合性原理”の具体例』参照)。

しかし、タンパク質のフォールディング問題がこれで解決したわけではない。なぜ、現実のタンパク質分子のアミノ酸配列では整合性原理が成立し、フォールドしないポリペプチド鎖のアミノ酸配列では沈殿してしまって、整合性原理が成立しないのだろうか？ 更に、この整合性原理を用いて、任意のポリペプチド鎖のアミノ酸配列が特異的立体構造を形成するかどうかの判断を行うことが可能だろうか？



## タンパク質フォールディングにおけるエネルギー曲面を描くにはどうすれば良いだろうか？

今日、非常に小さな球状タンパク質の場合か、天然構造の周辺に限定して、エネルギー曲面を描くことが行われている。タンパク質のフォールディング過程を理解するためには、すべての構成原子を考慮して、その様々なコンフォメーションについてコンフォメーション・エネルギーを計算し、エネルギー曲面を具体的に描くことがもっとも直接的な方法である。

だが、現時点では、実際のタンパク質分子で、すべての構成原子を考慮して網羅的な計算を実行し、詳細なエネルギー曲面を描くことは難しい。そこで、我々は、次善の策として、3 次元格子タンパク質という単純化した模型を用いてエネルギー曲面を描くことを試みよう。

## Coffee Break

### パズルによる“整合性原理”の具体例

郷は、2019 年、“Snake cube puzzle” (SC 模型) を用いて、自らが提案した「整合性原理」(1983 年に提唱) の具体例を示すとして以下のような論文を発表した。その要点を紹介しよう。

パズルは、27 個の小立方体を蛇のように一列につないだ鎖を、 $3 \times 3 \times 3$  の立方体に折りたたむことを目指す。各小立方体は隣の小立方体に対して 90 度刻みで回転することができ、それによってさまざまな立体構造をとることができる。このパズルはタンパク質におけるアミノ酸配列と立体構造の関係と類似性があると考え、次のような 3 つの理論モデルを考察する；

#### 1 sb 配列モデル (van der Waals 力によるフォールディングとみなす)

図のように伸びた形状で、連続する 3 つの小立方体の形を見ると、折れ曲がったものと直線状のものがある。そこで、その中央の小立方体に対して、前者を *b* (bend), 後者を *s* (straight) と呼ぶことにする (ただし、末端の 2 つは *e* (end) とする) と、このパズルの



配列は、図のような“sb 配列”となる。このモデルの可能な全ての sb 配列の数は、両端を除く 25 個の小立方体に、*s* あるいは *b* を指定する場合の数であるから、2 の 25 乗 (約 3 千万) 通りある。

#### ② 親水数配列モデル (疎水相互作用によるフォールディングとみなす)

図のように、折れたたたまれた立体構造において小立方体の 6 つの面の内、表面に露出している面の数は、0,1,2,3 のいずれかであり (親水数と呼ぶことにする), それぞれ 1,6,12,8 個ある。そこで、構成する各小立方体に固有の親水数を割り当て、最終的に、立方体の表面は全て親水的な面、内側の埋もれた面は全て疎水的な面となるように折りたたむことを目指す (HP 模型に相当)。



#### ③ 混合配列モデル (van der Waals 力と疎水性相互作用の両方によるフォールディングとみなす)

構成小立方体は“sb+親水数”の両方の属性をもつとする配列モデルである。

これらの 3 つの理論モデルの解を求めたところ表のような結果を得た。

	sb 配列モデル	親水数配列モデル	混合配列モデル
コンパクト構造にフォールドし得る配列数 (A)	22,896	6,291	43,824
一意的な構造にフォールドし得る配列数 (B)	7,268	120	18,950
折りたたみ構造が一意的である割合 ( $B/A \cdots$ Uniqueness ratio, UR)	0.32	0.019	0.43

この表から次のことがわかる：

○ 「sb 配列モデル」、及び、「親水数配列モデル」では、UR (折りたたみが一意的である割合) は、それぞれ、0.32, 0.019 ( $< 1$ ) であり、van der Waals 力、あるいは疎水相互作用単独だけでは折りたたまれる構造を一意的に決めるほど強力ではない。

○ 混合 (sb+親水数) 配列モデルでは、UR が 0.43 となり、1 に近づき改善されている。

このことより、『HP 模型に取り込まれた疎水相互作用項を SC 模型に追加すると、構造一意力は極めて有効に働く、つまり、異なるエネルギー項が整合的に働くことが、構造を一意的に決めるのにどのように寄与するかを、定量的に示している。』と郷は述べている。

(＜文献＞Go, N.: Snake cube puzzle and protein folding, Biophys. Physicobiol. 16, 256-263, 2019. 郷信広: 『Snake Cube Puzzle とタンパク質フォールディング』, 生物物理 61, 005-011, 2021.)