

蛋白質のやわらかなデザイン

笹井理生 名古屋大学人間情報学研究科

蛋白質は20種類のアミノ酸が、数10個から数100個程度、結合してできた高分子である。こうした高分子としては、膨大な種類が可能である。たとえば、100個のアミノ酸が結合した配列には、およそ 10^{130} 種類が可能である。複雑な生物の蛋白質、たとえば人間が体内で合成する蛋白質は、せいぜい 10^5 種類程度であるから、生物の利用している配列は広大な配列空間のごく一部にすぎないと考えることができる。

一方、近年の蛋白質フォールディングの研究は、ランダムな配列は決まった構造にフォールドする能力を持たないこと、フォールドする能力を持つ配列は、鎖に関する相互作用がお互いに矛盾しないようにデザインされた、コンシステンシー原理[1]を満たす特別な配列であることを明らかにしてきた[2]。そこで、図1のような想像が可能であろう[3]。

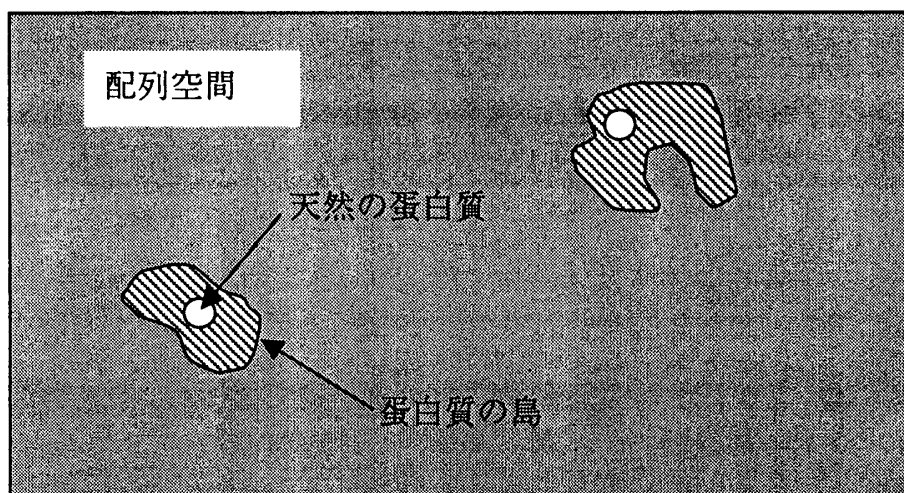


図1 広大な配列空間のうち蛋白質らしい配列はごく一部であり、実際に生物に利用されてきた配列は、そのまた一部であると想像することが可能である。

それでは、蛋白質らしさを有する特別な配列は、どのようにして広大な配列空間の中から選択されてきたのだろうか？ここでは、蛋白質とそれ以外の配列は隔絶したものではなく、ランダムな配列から確率的な試行錯誤を繰り返しながら、徐々に蛋白質に移行することが可能であった、というシナリオを支持するシミュレーションの結果を紹介する[4][5]。

最初の生命が地球上に現れたころ、蛋白質は現在のように洗練されたものではなく、安定した構造を取る能力も低かったが、こうした配列がダーウィンのような変異と選択によって現在の蛋白質に進化したと仮定してみる。淘汰圧は個体を通してのみ影響を与えるのであるから、配列の選択とは、触媒能力など生理的機能を基準とした選択であったと考えられる。そこで、配列をその機能によって選択すると、安定性、フォールディング能力など、蛋白質らしい能力を獲得するようになるか？という問題を設定してみよう。

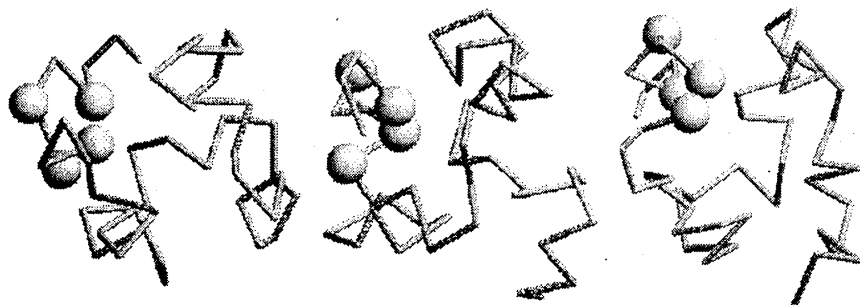
酵素などの蛋白質は、普通、活性部位と呼ばれる数個所のアミノ酸残基によって基質を認識し、作用を及ぼす。つまり、活性部位が適切な立体配置をとることは、その蛋白質が機能を発揮するための必要条件である。そこで、この必要条件を満たす配列を選択することで、蛋白質らしさが現れるかどうかを考える。シミュレーションでは、活性部位の立体配置があらかじめ決めておいた目標の立体配置に近ければ高い機能を示すと考え、活性部位の立体配置のことを「機能」と呼ぶことにする。

シミュレーションは次の手順で行われた。まず、ランダムな配列を初期配列とし、その配列の任意の位置のアミノ酸残基を任意の種類のアミノ酸残基に置換した変異配列を用意する。初期配列と変異配列のそれぞれについてフォールディングの計算機実験[6]を行う。得られた立体構造のうち、活性部位の立体配置のみに着目し、機能を評価する。変位によって機能が向上すれば変位配列を、低下すればもとの配列を、次世代に伝える。図2は、こうした機能の評価と選択を繰り返して選ばれた構造を表している[5]。

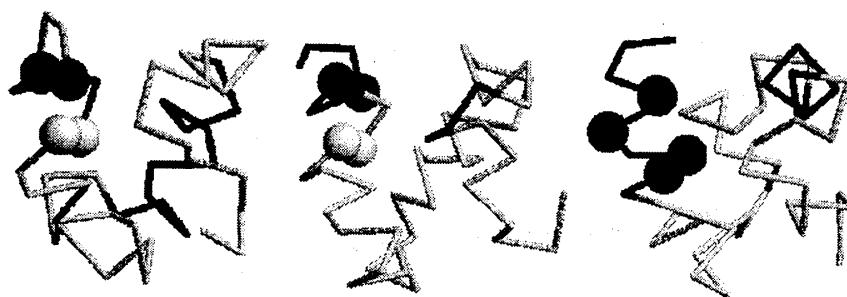
図2の結果は、ランダム配列から200世代という比較的短いステップで、蛋白質らしい特徴を持つ配列が現れたことを示している。活性部位に関する局所的な選択しか行わなかったが、活性部位とほかの部位が相互作用のネットワークをつくっているために、ほかの部位にまで選択の効果が及び、全体としてコンパクトでユニークな構造にフォールドする能力が獲得されたのである。コ

ンシステンシー原理を満たす特別な配列は、ランダムな配列から連続的に移行できること、機能に関するバイアスを加えることで、その移行は比較的スムーズに進み得ること、が示された。

generation=10



generation=100



generation=200

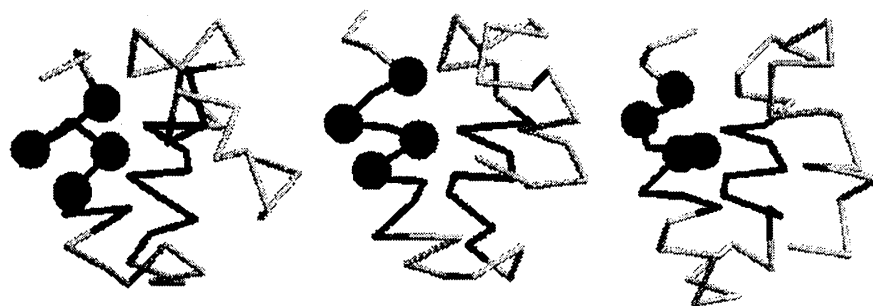


図2 機能に関する選択により、ランダム配列は蛋白質らしい配列に進化することが可能である。各世代の配列について10回のフォールディングシミュレーションを行い、得られた10個の構造から機能を推定した。上から10世代目、100世代目、200世代目の配列について10個の構造のうち3個が図示されている。ヘリックスを形成している場所は黒、活性部位は丸い球で図示されている。ランダム配列はランダムな構造しかとらないが、200世代目の配列は秩序を持ったユニークな構造にフォールドする能力を持つ。

蛋白質の際立った特徴のひとつとして、少々、配列を変化させても、たいいていの場合、構造の安定性、フォールディング能力、機能はたいして変化しないことが知られている。この性質を変異に対する耐性原理 (**principle of mutational robustness**) として認識しようという提案がされた[7]。コンシステンシー原理は配列を制限する原理であり、変異に対する耐性原理は配列を許容する原理である。この一見、矛盾する原理の両立については2つの異なる見方がある。ひとつの見方は、この矛盾する要請を満たすことは生物にとって有利な条件なので、2つの原理を同時に満たす特別なカテゴリーの配列のみが進化を通じて選択された、とする考え方である。もうひとつの見方は、変異に対する耐性原理はコンシステンシー原理の必然的な結果である、という見方である。

コンシステンシー原理が満たされているとき、鎖の構造がフォールドした生理的構造に近くなるほど、エネルギーは低い値をとる傾向を持つ。すなわち、広い構造変化の領域にわたって、生理的構造に向かってエネルギーが下がるような大域的バイアスが存在している。このようなバイアスのあるエネルギー面

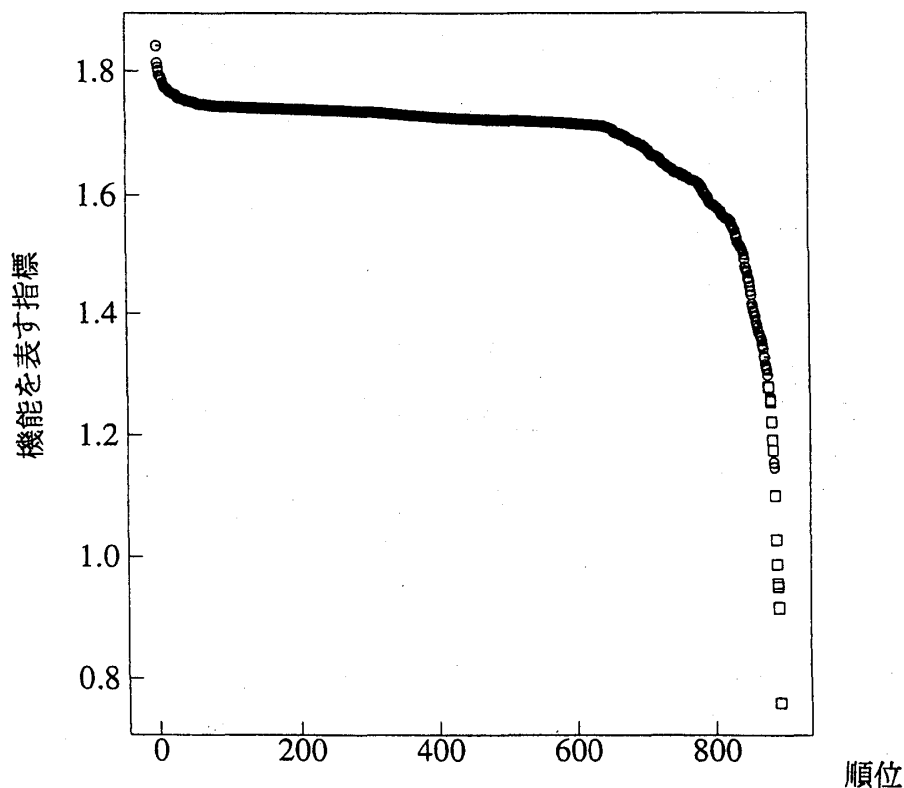


図3 図2の200世代目の配列からひとつのアミノ酸残基を置換して得られるすべての変異配列を、その機能の高さの順番にならべる。ほとんどの変異配列で機能の変化はわずかである。

はファネルと呼ばれる[2]が、ファネルがよく発達したエネルギー面では、生理的構造からわずかの構造変化があってもエネルギーは急に上がるということはない。ところで、配列の変異も相互作用の変化という観点では構造の変化と類似していると考えれば、コンシステンシー原理を満たした配列からのわずかの変異では、エネルギーは急に上昇しないことが考えられる。同様にフォールドの仕方や安定性も急に変化しないことが予想される。

図3は、図2の選択過程の200世代目で得られた配列に、可能な1残基置換をほどこしたすべての変異配列（総数893個）を、その機能の高さの順に並べてプロットした図である[8]。順位が600番目以降の変異配列は活性部位や活性部位と強く相互作用している部位が置換された配列である。順位が30番目以前の変異配列では機能が向上しており、配列にまだ改善の余地があったことを示している。天然の配列も人為的な変異で比較的簡単に活性や安定性を向上させる余地があることに対応していると考えられる。30番目から600番目の変異配列は、機能に変化がさほどない、中立な変異に対応している。すなわち、大部分の1残基置換では機能は変化せず、対象とした200世代目の配列は変異にたいする耐性を示している。このように、機能による選択をただけで、変異に対する耐性が自然に現れたことは、コンシステンシー原理と変異に対する耐性原理が必然的に一致する原理である、という考え方を支持しているように思われる。

こうした研究を通じて、「蛋白質は稀な偶然によって生じた精緻に設計された創造物である」という考え方に「蛋白質は比較的単純な要請にしたがって必然的に発生してきた存在である」という考え方が対置され始めたように思われる。2つの考え方のどちらが正しいかは、配列空間と構造空間の構造とダイナミクスを統一的に扱う研究の成長をまたなければならない。

文献

- [1] N. Go, Ann. Rev. Biophys. Bioeng. 12, 183-210 (1983).
- [2] J. N. Onuchic, Z. Luthey-Schulten, P. G. Wolynes, Ann. Rev. Phys. Chem. 48, 545-600 (1997).
- [3] 西川建、本研究会の報告
- [4] S. Saito, M. Sasai, T. Yomo, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 94, 11324-11328 (1997).

- [5] T. Yomo, S. Saito, M. Sasai, *Nature Struct. Biol.* 6, 743-746 (1999).
- [6] M. Sasai, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92, 8438-8442 (1995).
- [7] N. Go, pp.97-105, *Old and New Views of Protein Folding*, ed. by K. Kuwajima and M. Arai (Elsevier, Amsterdam, 1999).
- [8] 斎藤静司、学位論文 (名古屋大学人間情報学研究科, 1998).