

蛋白質のやわらかさ、ノイズ、機能

名古屋大学人間情報学研究科 笹井理生

はじめに

酵素反応やプロトン輸送など、生理的機能を果たすために蛋白質の原子は精妙に配置されており、私たちはその美しさに眼を奪われる。こうして、蛋白質の構造を解析する構造生物学の成功に伴い、精密な構造を理解することが機能を理解する最も確実な方法であると考えられるようになった。蛋白質は情報を伝達・増幅し、エネルギーを変換する分子でもあるが、このような機能も精密に設計された構造部品が協調して動くことによって発現すると考えられている[1]。人間が通常扱う機械のアナロジーが用いられると言ってもよい。しかし科学の世界では、常識を疑うことに意味があるかもしれない。細胞内の分子機械は常に熱ゆらぎにさらされ、人間サイズの機械のように確実な動作をするとは限らない。たとえば、蛋白質を取り囲む水分子1個の持つエネルギーは 10^{-10} 秒程度の間に $20kT$ ほどの幅を上下している。このような揺らぎの大きい環境で蛋白質はなぜ、どのように特異的な働きをすることができるのであろうか？また、1細胞あたりに含まれる蛋白質1種類の分子数は、ときには数10~数100個程度しかなく、少数個の蛋白質が細胞内を拡散して他の分子と確率的に結合する反応には大きな揺らぎが伴うと考えられる。細胞はこのような揺らぎに対して頑健にできているのだろうか？それとも、揺らぎを積極的に利用するのだろうか？揺らぎ、ノイズと機能に関する疑問を通して、「構造」=「機能」から「ダイナミクス」=「機能」へと視点の転換の必要性を考える。

蛋白質フォールディングの統計物理

蛋白質はほどけて伸びた鎖の状態から、生理的な活性のあるコンパクトに折れたたまった状態へ自発的に変化することができる。このフォールディングの機構の研究は、最近10年あまりの間に実験、理論の両面で大きな進展を得た。その進歩を支える原動力となった考え方は、「蛋白質は1分子でも大きな自由度を持つ系であり、統計力学的に捉えないといけない」という考え方である。

蛋白質は20種類のアミノ酸が遺伝情報に指定された順番でつながった高分子であり、様々な相互作用が共存している系である。今、 N 個のアミノ酸がつながってできた鎖を考えてみよう。この鎖は $\exp(S_0)$ 個程度のまったく異なったコンパクトな構造をとりうる。ただし、 S_0 は N のオーダーの数である。一つの構造の全ポテンシャルエネルギー、 E は多種多様な相互作用の重ねあわせである。アミノ酸1残基あたり平均 c 個の他の残基と相互作用しており、1相互作用あたりのエネルギーは分散 b^2 程度の分布に従って揺らいでいるとすると、 N 残基からなるポリマーの E は中心極限定理より、分散 $\Delta E^2 = Ncb^2$ のガウス分布をしていると考えられるだろう。この分布関数を $P(E)$ と書くと、ある温度で実現されやすい構造のエネルギーは $P(E)\exp(-E/kT)$ を極大にする E である。この E は温度が下がると小さくなり、温度 $T_g = (\Delta E^2/2S_0)^{1/2}$ で、鎖の取りうる最低エネルギー近くに達する。この最低エネルギー構造はガウス分布の下端にあるので、この構造より N^a のオーダー($a < 1$)のエネルギー幅のところに N の多項式の数の(非指数的な数の)互いに似ていないコンパクト構造が存在しているであろう。構造間を隔てるエネルギー

バリアがとくに小さく設計されているような特別な状況にない限り[2]、フォールディング過程はこれらの非指数的な数の構造のどれかに捕まって身動きができなくなる、つまり、生理活性を発揮できるユニークな構造に到達できなくなるであろう。

こうした状況を避けるには、フォールディングの目標となるユニークな構造が、その他の似ていない構造より N のオーダーのエネルギーだけ低い特別な構造であればよい (図 1b)。このとき、目標構造から少し違う構造はややエネルギーが高く、目標構造から大きく違う、似ていない構造は N のオーダーだけエネルギーが高い。言い換えると、構造変化のエネルギー面は、構造が目標に近づけば近づくほどエネルギーが下がる、という大域的なバイアスを持つであろう。こうしたエネルギー面のことをファネル的な (漏斗状の) エネルギー面と呼ぶことがある。ファネル的なエネルギー面上を進むトラジェクトリは一意に決まっているのではなく、様々な初期構造から多様な経路を経て、つまり多様な順番で秩序化が起こり、目標構造に到達する。この描像は多くのフォールディングモデルのシミュレーション、実験データと矛盾がなく、フォールディングを考える際の出発点である、とみなされるようになった。

80年代に支配的であった考え方は、フォールディングは特定の構造を持った中間体を決まった順序で経巡る、という考え方であった。人間が機械を組み立てるように分子も組み立てられる、という考え方と言ってよいかもしれない。それに置き換わった考え方は、分子は柔軟で多様な経路で組み立てられ、確率的、統計的に構造を形成する、という考え方であった。

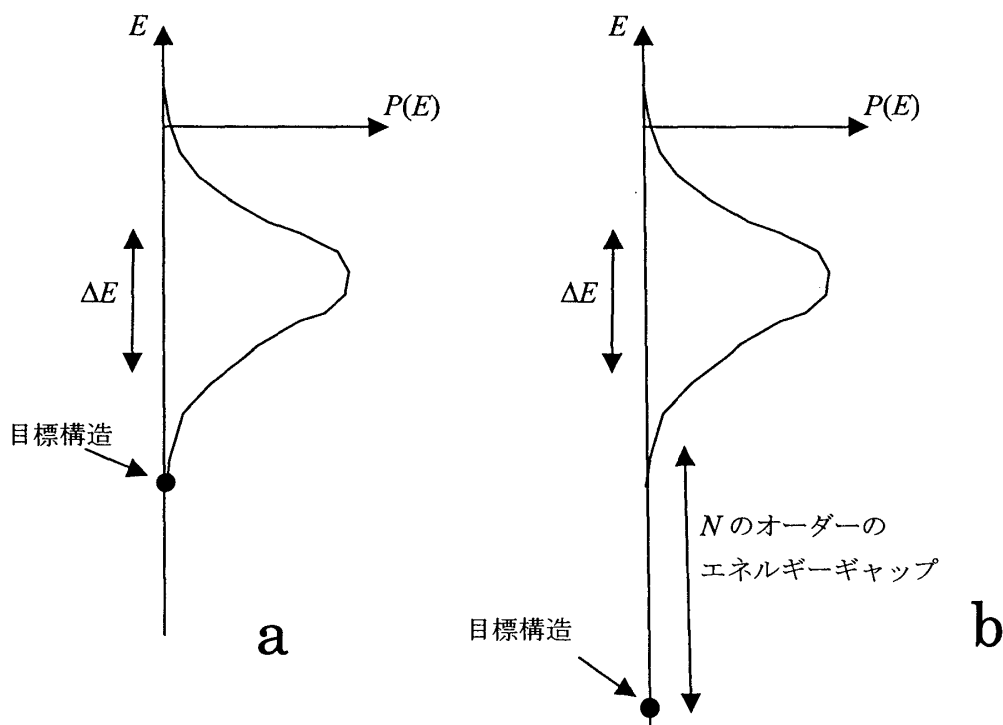


図1 アミノ酸配列に特別な設計がないときのエネルギースペクトル(a)とフォールディングの目標構造に向かって大域的なバイアスがエネルギー面に存在するときのエネルギースペクトル(b)。目標構造のエネルギーと、目標構造に似ていないコンパクト構造がエネルギー E をとる確率分布 $P(E)$ が図示されている。

蛋白質のやわらかさと機能

同様な考え方の転換が蛋白質の機能についても必要かもしれない。フォールディングに伴う自由エネルギー変化はエネルギーとエントロピーの大きな相殺のために $10\sim 20kT$ に留まる。この状況を指して「蛋白質は marginally stable である」と表現されることがあるが、 $10\sim 20kT$ の自由エネルギー変化とは、基質が結合したり、ATP が加水分解するときの自由エネルギー変化と同程度である。また、フォールディングの時間スケールは $10^{-3}\sim 10^2$ 秒程度であるが、多くの蛋白質の機能発現は 10^{-3} 秒以上の時間スケールで生じる。すなわち、機能発現のエネルギースケール、時間スケールは蛋白質の部分的なフォールディング・アンフォールディングを起こすのに十分なスケールである。また、生理活性のある状態でも、蛋白質はただひとつの構造を保つのではなく、10 数残基程度の単位であちこちがアンフォールディングした様々な構造のアンサンブルとなっていることが実験的に示されている [3]。

こうした考察から、蛋白質が機能を発現するときは、部分的に構造が壊れてランダムになる可能性が考えられる。たとえ構造が壊れても、蛋白質は自発的に構造を再生する（フォールドする）能力を持つため、そうした柔軟で多様なダイナミクスを通じて機能が現れると考えると無理はない。例えば、蛋白質が機能発現に伴い、構造 A から構造 B に遷移することを考える。構造 AB 間の遷移に水素結合やそのほか結合の組み替えが必要なとき、遷移のエネルギー障壁は数 $10kT$ 以上に昇り、温度エネルギーによって自発的に進むとは思われない。このとき、構造が弾力的な変化をするのではなく、塑性的にいったん壊れて、再び秩序化すればエントロピーの獲得のため、自由エネルギー障壁はうんと低くなる。別の表現をすれば、一旦、壊れて多様な構造を許すことにより、構造間を遷移する経路が多数可能になり、遷移の確率を上昇させることが考えられる。この機構での構造遷移が生じているなら、広い構造空間をサーチして遷移が進むために、遷移の時間スケールは 10^{-3} 秒以上の遅いものになるであろう。この遷移速度を測定することができれば、フォールディング速度の測定から遷移状態の秩序化の程度を実験的に測定したのと同様な手段を用いて（ ϕ 値の測定）、2 構造間の遷移状態の秩序度を測定し、理論と比較することが可能であろうと思われる。

分子モーターのやわらかい動き

蛋白質の柔軟で多様なダイナミクスが問題となる典型例は分子モーターである。普通の教科書では、硬貨を自動販売機に入れるとジュースが出てくるように、ATP を分子モーター蛋白質に結合させると蛋白質の各部品が機械的に動いて力学エネルギーが引き出される、という説明がされている。日本の 1 分子測定グループは、ミオシン分子 1 個が ATP の加水分解エネルギーを利用してアクチンフィラメント上をすべって動く様子を直接測定し、1 ステップがアクチンモノマーの幅に相当する多ステップ運動であること、つまり、ATP 加水分解のエネルギーは何ステップにも小出しに使われること、ステップ数は確率的に分布しており、たまには逆向きに進む揺らぎも存在すること、などを示して、上述の自動販売機描像とは全く違う、柔軟で多様なダイナミクスが分子モーターの機能発現に本質的であることを示唆した [4]。この考え方は、常識に対する挑戦なので、受け入れない研究者もおり、論争が続けられている。

理論的にこのやわらかい動きを説明する試みは、いわゆるラチェット（非対称な歯車）模型によって行われてきた。ラチェット模型は歯車のノコギリ山がアクチンモノマーに対応し、ノコギリの山の列

がアクチンフィラメントに対応している (図 2a)。このノコギリポテンシャルの上を粒子が運動することでミオシンのアクチンフィラメント上のすべり運動を説明しようとするモデルである。Feynman が教科書の中で指摘したように、等温の平衡熱浴にこの粒子+ノコギリの系がさらされているとき、いかにノコギリ山が非対称でも、詳細つりあいに従い、粒子は右方向と左方向に等確率で進む。つまり、一方向の運動は実現せず、力学エネルギーを引き出すことはできない。この制限を破って、力学エネルギーを引き出すには、この系の温度が不均一であればよい。もちろん、非平衡系での温度の定義にはあいまいさが残るが、 10^{-11} 秒程度以下の周期を持つ分子振動の運動エネルギーを温度と解釈すれば、ノコギリ一山の 10^{-9} メートルスケールの空間では、この温度は 10^{-6} 秒以下の時間で平衡値に緩和すると考えられる。 10^{-3} 秒以上のミオシンの運動の原因となる長時間に至るまで運動エネルギーが不均一で保たれる、とする理由は考えにくく、温度の不均一さが一方向すべり運動の原因であるというモデルでは実験を説明できない。

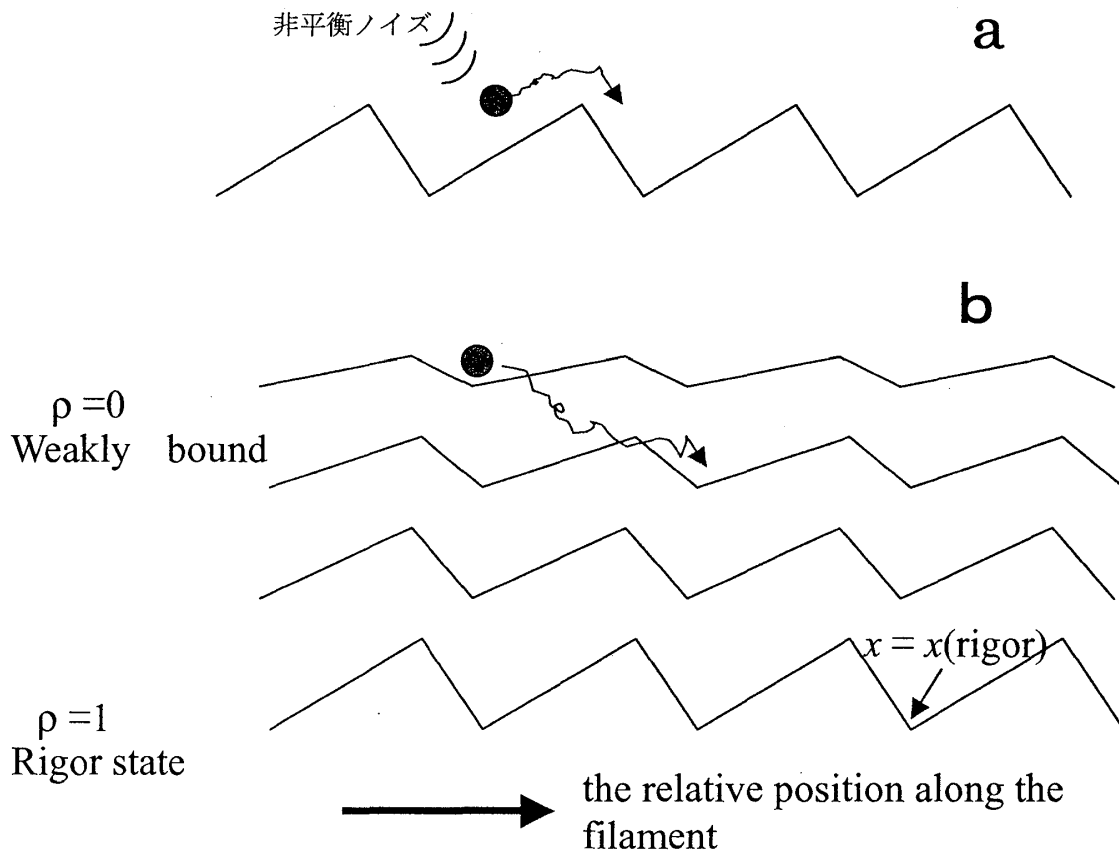


図2 ミオシンすべり運動のラチェット模型 (a) およびエネルギーランドスケープ模型 (b)。ラチェット模型では、ミリ秒以上の間、ミオシンに非平衡ノイズが注入されている。エネルギーランドスケープ模型では、デザインされたエネルギー面上で、ATP 加水分解によって部分的に構造の壊れたアクチン

ン・ミオシン系の再フォールディングとミオシンのすべりが共役しておこる。

もう一つの可能性は、粒子は揺動散逸関係を破る非平衡のノイズに常にさらされている、という考え方である。これは、 10^{-3} 秒以上にわたって粒子は非平衡におかれ、ノイズの形でエネルギーの注入を受けている、という考え方である。このノイズのエネルギー源は何か？構造生物学者が理解できる形で説明されたことがないため、構造生物学者の自動販売機説とラチェット派の間には互いの理解がない状況である。蛋白質の 10^{-3} 秒程度にわたる構造緩和によって徐々に放出されるエネルギーがこのノイズの源である、と考えることができるかもしれない。しかし、蛋白質が構造変化を起こす1ステップ（鎖のどこかがねじれる、など）は 10^{-11} 秒程度の時間で生じることを考えると、 10^8 回にわたって、温度 kT に対して無視できない有効なエネルギーが供給されなければならない。簡単なスピングラス模型で蛋白質緩和を表現すると、原資となる最初のエネルギーが $1000kT$ ほどなければ、 10^8 回にわたって、温度 kT に対して有効なエネルギーを供給することができないことが示された[5]。つまり、非平衡ノイズの機構に従う限り、蛋白質が徐々に $20kT$ ほどの ATP 加水分解エネルギーを放出していたのでは、ラチェット上の粒子を一方方向に多ステップ進ませるに十分なエネルギーを供給することができないと思われる。

我々は、実験で示されているような高効率のすべり運動が実現するためには、ミオシンとアクチンのもっとデザインされた相互作用が必要であろうと考え、図 2b のような機構を提案した[6]。仮定したのは、まず ATP 加水分解に伴い、アクチン・ミオシン系の一部がアンフォールドする、ということである。実際、加水分解直後にはアクチン・ミオシン系の構造には無秩序さがあること、すべり運動と同じ 10^{-3} 秒のスケールで無秩序な状態から構造が一意に決まった秩序状態へ変化してゆくこと、が実験的に示されている。この秩序状態への変化をフォールディングだと考えることができるであろう。そのとき、フォールディングとすべり運動がカップルするようにデザインされている、つまり、構造を秩序化するには、一方方向にすべりながら秩序化するほうが自由エネルギー障壁が少ないようにデザインされていれば、ミオシンは $20kT$ ほどのインプットエネルギーで、 10^{-3} 秒ほどの時間をかけて確率的に多ステップで動く、という実験データを無理なく説明することができる。

蛋白質の個数揺らぎとノイズ: 遺伝子ネットワークの例

細胞の中で用いられている様々な制御機構のうち、重要なものは DNA から RNA への転写の制御を通じて遺伝発現を制御する機構である。遺伝子の発現のためには RNA 合成酵素が DNA のプロモータ領域にとりつき、その下流にある蛋白質をコードした領域にすべって、遺伝情報を RNA に写し取らなければならない。プロモータ領域の近傍、あるいはオーバーラップする領域にオペレータ領域があり、そこに転写因子と呼ばれるタイプの蛋白質が結合して RNA 合成酵素の DNA への結合を阻害、または促進する。阻害するタイプの転写因子はリプレッサー、促進するタイプのものはアクチベータと呼ばれるが、これらのリプレッサー、アクチベータも遺伝子の産物である。リプレッサー、アクチベータの合成は別の、あるいは自身の遺伝子によって作られるリプレッサー、アクチベータによって制御されており、遺伝子発現のスイッチはネットワークを作っている。近年、遺伝子発現パターンについて網羅的なデータが得られるようになり、発現する遺伝子の相関関係についてクラスター分析がされているが、実験を理解する際に重要な問題は、この遺伝子ネットワークのダイナミクスは揺らぎの大きいダイナミクスであ

る、ということである。その揺らぎの程度を直接実験で見ることにも可能になってきた[7]。

揺らぎの原因の一つとして考えられるのは、リプレッサー、アクチベータの1細胞あたりの個数が少ない、ということである。典型的には1種類あたり数10～数100個程度しか存在しない。また、DNAは1分子である。そのため、リプレッサー、アクチベータとDNAの結合反応を連続量の微分方程式で表現するより、離散量の確率過程を表すマスター方程式を用いたほうが適切であると考えられる。大規模なネットワークのマスター方程式の振る舞いを理解するにはどうしたらよいか？一つの新しい方法は、マスター方程式を量子過程のアナロジーを使って扱う方法である[8]。リプレッサー、アクチベータの個数変動をボソンの生成消滅演算子で表現し、遺伝子発現の On, Off をスピんで表現すれば、これはスピンドボソンが結合した系であり、量子多体論の手法を持ち込んで扱うことが可能になる。この方法によってボソン部分を先に平均化すれば、スピンド間の相互作用の表現が導かれ、ニューラルネットワークとの比較が比喩ではなく定量的に可能になる。アトラクターの種類と数、その間の遷移ダイナミクスを個数ゆらぎにさらされたダイナミクスとして理論的に扱う可能性が開かれた。

おわりに

細胞はマクロなスケールの大きさを持つが、その営みはミクロな分子のダイナミクスに依っている。すなわち、ミクロとマクロの階層の接続が細胞というシステム的设计原理になっているということかもしれない。こう考えると、ゲノム情報や構造ゲノム情報のデータベースができて、それは細胞の原理を理解する最初の一步にすぎず、統計物理学的な考え方が細胞の原理を理解するために必須になるように思われる。蛋白質がミリ秒以上の時間でフォールドする過程が理解できるようになってきたことは、ミリ秒以上におよぶ蛋白質の機能発現、蛋白質間の相互作用の理解に新しい視点で考えることを可能にしてきた。蛋白質と他の生体分子を含むシステムのダイナミクスを理解できるようになってきたことと併せて、細胞の揺らぎ、ノイズ、設計原理の解明に向けて新しい研究が育ってゆくのではないだろうか。

文献

- [1] 例えば、細胞の分子生物学第3版第5章 B. Alberts ら著、中村桂子ら訳（教育者、1995）
- [2] S. S. Plotkin and P. G. Wolynes, <http://arxiv.org/abs/cond-mat/0301306>
- [3] Y. Bai, T.R. Sosnick, L. Mayne, and S.W. Englander, *Science*, 269, 192-197 (1995)
- [4] K. Kitamura, M. Tokunaga, A. H. Iwane, and T. Yanagida, *Nature* 397, 129-134 (1999).
- [5] 永井美緒、名古屋大学人間情報学研究科修士論文(1999年度)
- [6] T. P. Terada, M. Sasai, and T. Yomo, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 99, 9202-9206 (2002).
- [7] M. B. Elowitz, A. J. Levine, and E. D. Siggia, *Science*, 297, 1183-1186 (2002).
- [8] M. Sasai and P. G. Wolynes, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 100, 2374-2379 (2003).