タンパク質の構造形成

郷 信 広*

1. はじめに

生体高分子、特にタンパク質が最近一般の高分子研究者の関心を、陰に陽に引いているように感じられる。その一つの理由は、タンパク質が高分子科学の今後進むべき一つの道の目標と見なされているからだろう。しかし、合成高分子とタンパク質分子とは、やはり異質な面を持っている。それを正しく把握することは、それぞれを対象とする研究分野の間の有効な橋かけのためにも必要なことである。

表記の題目が、編集委員会から私に与えられた。この題目で表わされる研究分野は、タンパク質のX線解析による最近のデータの蓄積に伴い、極めて活発になりつつある。発表される文献の数も多いし、研究のタイプも多彩だ。編集委員会からの注文は、「タンパク質の変性・再生過程における核形成、あるいは自己組織化などのトピックスを中心にして、専門外の人に理解できるように」書くことだ。そこで、自己組織化についての基本的問題をまず解説し、次に核形成にかかわる運動学的側面の最近の研究を、私どもの考えを中心にして記述する。それも、上記の異質な側面に焦点を絞りながらしたい。タンパク質分子の持つ基本的な性格について、感じをお伝えできれば幸いだ。紙数も限られているし、私の筆力もおぼつかないので多くは望めないが。

2. 情報高分子としてのタンパク質

生物のもっとも基本的な性格は、親が子を生むことにある。その子は親に似ている。それは、子が親から遺伝情報を受け継いでいるためである。この遺伝情報の分子レベルにおける表現が、タンパク質のアミノ酸配列である。タンパク質は、そのアミノ酸配列が情報を持っているために、情報高分子といわれる。

タンパク質分子は、そのアミノ酸配列に対応した、

特有の役割（機能）を生体内で持つ。この意味で、タンパク質は機能高分子ともいわれる。

情報理論的立場からは、アミノ酸配列は、それが、単純な繰り返し構造を持たないとき（非周期的であるとき）情報を持ちうる。通常の合成高分子は、その構造単位の配列から、ホモ・ポリマー、シーケンシャル・コポリマー、ランダム・コポリマーなどに分類される。前二者は、その配列が、単純な繰り返し構造を持つもので、情報高分子ではない。最後のランダム・コポリマーは、その配列が単純な繰り返し構造を持たない点で、タンパク質と似ている。しかし、ランダム・コポリマーとタンパク質には重要な違いがある。タンパク質の場合は、同じタンパク質分子はすべて全く同一の（非周期的な）特定のアミノ酸配列を持っている。そのアミノ酸配列を、特異的なアミノ酸配列という。それに対して、ランダム・コポリマーのサンプルは、通常、一定の統計的法則によって生成されるさまざまな構造単位の配列を持つ分子の混合物である。ランダム・コポリマーの物性というとき、それはそのようなさまざまな配列を持つ高分子の平均的な性格を指す。

タンパク質分子の持つもっとも顕著な性格は、それが生体内で持つ機能であろう。機能は、いろいろなアミノ酸配列を持つ分子の平均的な性格ではない。特定の機能は、特定のアミノ酸配列を持つタンパク質分子のみが持つ。これがランダム・コポリマーの物性と、タンパク質の機能との大きな違いだ。

タンパク質分子の持つさまざまな機能は、タンパク質分子のとり特異的な立体構造に基づいて理解される。これが、タンパク質研究者の最近の一般的認識だ。特異的な立体構造とは、特定のアミノ酸配列を持つポリペプチド鎖（すなわち、タンパク質分子）が、生理的条件下でとる特定の立体構造を意味する。タンパク質のアミノ酸配列が、単純な繰り返し構造を持たないことを反映して、特異的な立体構造は（特に、球状タンパク質のそれは）、一見はなはだ不規則で複雑だ。

タンパク質分子中のアミノ酸残基は、ポリペプチド

* Nobuhiro Gō 九州大学 理学部物理学科 (812 福岡市東区箱崎 6-10-1) 助教授・理博
Morphogenesis in Proteins

鎖にそって、ただ一次的に配列されているだけではなく、見方によっては特異的立体構造内で三次元的に複雑に結合されていると、とらえることもできる。タンパク質分子のもつ高級な機能の基礎となっているのは、アミノ酸残基のこの三次元的な複雑な結合様式、すなわち、特異的立体構造であると考えられる。

3. Anfinsen の実験とタンパク質の条件

ところで、直観的には三次元的な特異的立体構造は、一次的なアミノ酸配列よりも、より複雑であるように感じられる。言い換えれば、特異的立体構造の方が、アミノ酸配列よりも、より多くの情報を持っているような気がする。ポリペプチド鎖を、一定の複雑な立体構造に、折りたたんでいく際に必要な情報（あるいは上に述べた言い方に従えば、タンパク質分子中のアミノ酸残基を、三次元的に結合する仕方に関する情報）は、どこから供給されたのか、この点が当然問題となる。

この問題に関する決定的実験が、Anfinsen によったされた¹⁾。かれは、リボ核酸を分解する酵素タンパク質であるリボヌクレアーゼを精製し、それを試験管内で変性した。次に、試験管内の環境条件を生理的条件にもどすことによって、もとの特異的立体構造を再生することに成功した。かれの実験は、要するに、これだけだ。しかし、この一見単純に見える実験結果は重大な意味を持っている。

生きた細胞内には存在するかもしれない、もろもろのものを除いた試験管内で、特異立体構造の再生が見られた。すなわち、タンパク質分子は与えられた生理的環境条件下で、自発的に特異的立体構造へ折れたたまれていく。この際、アミノ酸配列と環境条件に含まれている情報以外に、新たな情報は必要とされない。言い換えれば、タンパク質分子の特異的立体構造に関する情報は、すでに、そのアミノ酸配列の中に書き込まれていた。タンパク質は自己組織系である。

タンパク質の自己組織化の研究は、つまり、タンパク質の特異的立体構造への折れたたま過程、および特異的立体構造を安定に保っている仕組みを、物理化学的に理解しようとするのが内容だ。その観点からすると、Anfinsen の実験はタンパク質分子が次の二つの物理的条件を満たしていることをも示している。

A) [平衡論的条件] 与えられたアミノ酸配列をもつポリペプチド鎖は、生理的環境条件下では、ある特定の立体構造（すなわち、特異的立体構造）のとき、他に比べて、際立って低い自由エネルギーを持つ

B) [運動論的条件] ランダムな構造から、特異的

立体構造への再生転移の緩和時間が、タンパク質の生合成に必要な時間（ 10^{-8} 秒のオーダー）に比べて、あまり長くない

タンパク質分子は、この二つの条件を満たしているために、特異的立体構造への折れたたまに際して、アミノ酸配列以外の情報を必要としない。

4. 分子のロゼッタ石

タンパク質分子は、生物進化の所産である。そのアミノ酸配列には生物進化の歴史が刻み込まれている。地球上の生物種の数も多く、その各々の生物の持つタンパク質分子の種類の数も多い。しかし、その数も、すべての可能なアミノ酸配列の数（タンパク質を構成しているアミノ酸は 20 種であるから、アミノ酸 100 個からなるポリペプチド鎖について、その数は 20^{100} ）に比べれば、ほとんど無視できるほど小さい。

前節で、タンパク質分子が二つの条件を満たすことを述べた。それでは、任意のアミノ酸配列を持ったポリペプチド鎖は、二つの条件 A, B を満たすであろうか。この点に関して実験的検証はまだ存在しないけれども、次のように予想される。すなわち、二つの条件 A, B は、きわめて厳しい条件で、ごく限られたアミノ酸配列を持つポリペプチド鎖のみがそれらを満たし、したがって、そのアミノ酸配列中に立体構造に関する情報を持ちうる。そして、そのようなポリペプチド鎖のみが、現にタンパク質分子として存在しているのだと考えられる。

タンパク質分子は、そのアミノ酸配列の中に特異的立体構造に関する情報を持っている。その意味で、タンパク質は分子のロゼッタ石だ。アミノ酸配列というロゼッタ石に書き込まれている特異的立体構造に関する情報を読み取ることは、自然が人類に知的挑戦を促している問題の中でも、特に魅力的なものの一つであろうと思われる。

ロゼッタ石解読の問題の第一は、先に述べた二つの条件 A, B を満たすアミノ酸配列の範囲を知ることであろう。そして第二は、これらの 2 条件を満たすアミノ酸配列が与えられたとき、実際にそのポリペプチド鎖の取る折れたたま構造を知ること、あるいは予言することである。

ロゼッタ石解読の問題は純粹に知的探求の対象であるが、それが解決されたときには、偉大な真理の発見の常として大きな応用的価値をも持つにちがいない。進化の条件からも解放された任意の有用なタンパク質を設計し、合成する、といったタンパク質工学ともいうべき分野が開けるかもしれない。

ところで、タンパク質分子の特異的立体構造への折

第1図 タンパク質分子の変性・再生過程の模型

れたたみは、あくまでも一群の高分子の無秩序なランダム・コイル状の状態から、一見はなほだ不規則だが、一定の秩序を持つ状態への立体構造転移の現象にすぎない。この意味でロゼッタ石解説の問題は、あくまでも物理学の問題とみなすことができる。次に、この折れたたみ過程についての運動論的側面に重点のある一つの模型、あるいは描象について記述する。

5. 折れたたみ過程における胚と核

この模型は、折れたたみ過程についての二つの重要な側面を一つの描象にまとめたものだ。二つの側面とは、第一に折れたたみ過程における“胚”と“核”の存在であり、第二に折れたたみ過程における短距離力の役割である。まず、この二つの側面について説明する。

“胚”と“核”の概念は、タンパク質の球状構造の安定性の考察により得られたものだ。この概念をできるだけ明確に理解するために、タンパク質を模型化して考える。すなわち、タンパク質分子を第1図に示すように、ひもで結ばれた小さな立方体の鎖の折れたたまれたものと見なす。タンパク質分子の生理的条件下における、すなわち、生(なま)状態における立体構造が特異的であることを反映する意味で、立方体の鎖からなるわれわれの“タンパク質分子”の折れたたまれ方も、特異的だと仮定する。その特異的立体構造を安定化しているのは、小さな立方体間の接触面に働く引力で、そのエネルギーは接触面積に比例するものとする。第1図には、われわれの“タンパク質”の生状態、理想化された変性状態、および変性・再生途中の状態が示してある。生状態の自由エネルギー F は、次式で与えられる。

$$F = (-\epsilon)[6lmn - (lm + mn + nl)] + Tolmn \quad (1)$$

ここで、 $(-\epsilon)$ は、単位接触面積あたりのエネルギーで、 $[]$ の中は、立方体間の接触の数だ。 $[]$ 内の第1項の lmn は実はタンパク質の体積に、第2項の $(lm + mn + nl)$ はタンパク質の表面積に比例した量だ。(1)式中の温度 T に比例する項は、変性状態のエ

ントロピーに由来する。変性状態のエントロピーは、小さい立方体をつなぐひもの長さに比例するものとする。ひもの長さは立方体の個数に比例すると考えられるので、結局、変性状態のエントロピーはタンパク質の生状態のときの体積 lmn に比例した量になる。変性状態の自由エネルギーがゼロになるようにエネルギーの基準をとると、生状態の自由エネルギーにこのエントロピー項が現われ、(1)式ようになる。(1)式で σ は、変性状態において、タンパク質分子鎖が立方体一つあたりにつき持つエントロピーだ。

(1)式は、全体としてやはりタンパク質の体積 lmn に比例する項と、表面積 $(lm + mn + nl)$ に比例する項よりなっている。このこと、すなわち、球状タンパク質の生状態の自由エネルギーを、変性状態の自由エネルギーを基準に測った値が、生状態における体積に比例する項、および面積に比例する項よりなることは、ここで取り上げた模型についてだけではなく、もっとより一般に成立する²⁾。例えば、タンパク質の分子構造と分子内に働いている力を、より現実的に則して取り扱って自由エネルギーを計算しても、全自由エネルギーはやはりタンパク質の体積に比例する項と、表面積に比例する項の和の形に表わされる。以下の議論では、全自由エネルギーが上述の2項の和で表わされるという事実が基礎となっている。この事実が成立する論理的仕組みを、上で用いたタンパク質の立方体鎖模型はかなり直截に示している。第1図に示した変性・再生過程途中の状態についても、同じ考えで自由エネルギーを計算してみる。すると当然のことながら、やはりその時の球状部分の体積に比例する項と、表面積に比例する部分からなっていることがわかる。体積に比例する項は全自由エネルギーに負の寄与をし、そのため球状部分を安定化する方向に働く。表面積に比例する項はその逆で、球状部分を不安定化する方向に働く。

ここで大切なことは、変性の過程で球状部分が小さくなると、表面積よりも体積の方が早く小さくなることである。そのため、変性・再生途中の状態の自由エネルギーをその時の球状部分の体積に対して描くと、第

第2図 タンパク質分子の変性・再生過程途中の状態の自由エネルギー

2図のような傾向になる。タンパク質分子がN(生状態)からD(変性状態)に横軸に沿って進むに従って、球状部分からポリペプチド鎖が溶け出し、球状部分の体積が小さくなる。このグラフにおいて、自由エネルギーが最大となる点は最も不安定な構造に対応している。この点より右では、球状部分はより小さくならうとする統計的力を受ける。この点より左では、球状部分はより大きく成長するような統計的力を受ける。この点是一种の臨界点で、タンパク質の折れたたみ過程において、球状部分の体積がこの大きさを越えれば、ほとんど確実に生状態にまで生長する。このような臨界の大きさを持つ球状部分を核(nucleus)と呼ぶ。核よりも小さい球状部分は、統計的にはほとんどこわれる運命にある。統計的ゆらぎによってのみ例外的に核にまで生長することがある。そのような不安定な球状部分を胚(embryo)と呼ぶ。

以上をまとめると、タンパク質の折れたたみ過程に関して次のような描象が得られる。折れたたみ過程では、まず第一に不安定な小さな球状部分、すなわち胚ができる。この胚は、統計的にはほとんどこわれる運命にある。しかし、統計的ゆらぎにより、たまたまある臨界の大きさを獲得すると、その構造は統計的に安定化され、以後ほとんど確実に生状態の特異的立体構造にまで生長する。

6. 胚の実体

これまでのところでは、胚の実体は小さな球状部分という以上に具体的ではない。胚の実体のより具体的

な描象が、折れたたみ過程における短距離力の役割の考察から得られる。ここで短距離力とは高分子物理学において普通用いられるように、高分子鎖に沿って測って近距離に位置する部分の間に働く力を意味する。分子鎖内の二つの構成要素が空間的に近距離にあり、その間に力が働いている場合でも、この2要素が高分子鎖に沿って測ったとき遠く離れているときには、この力は長距離力と呼ばれる。

現在までに、X線解析法により立体構造が決定され発表された約50の球状のタンパク質をみると、その中に繊維状タンパク質で見いだされた α -ヘリックス構造、 β -シート構造などが存在することがわかった。そこで、アミノ酸配列中のどのような部分が α -ヘリックス構造や β -シート構造になっているかを、多くの研究者がいろいろな方法で解析した。その結果、アミノ酸種にはそれぞれ α -ヘリックス構造、 β -シート構造を作る傾向を持つものがあり、それらが比較的高い密度で存在するポリペプチド鎖の部分が、それぞれ α -ヘリックス構造、 β -シート構造をとっているようにみえることがわかってきた。アミノ酸配列と、これらの部分構造の間の相関の様式をきちんと定式化すれば、それを用いて任意のアミノ酸配列が与えられたとき、それが球状構造に折れたたまれたとき、どの部分が α -ヘリックス構造や β -シート構造になるかを(確率的にせよ)予言するのに用いることができる。多くの研究者がいろいろの予言方式を提案しているが、それらを新しく構造解析されたタンパク質に応用してみると、おしなべてかなりよい成績をあげることがわかってきた。これらの予言の方式で用いられているのは、主として個々のアミノ酸残基の性向であり、またせいぜい数残基離れた残基の組のもつ性向であるので、これらの予言がよい成績をあげることは、上述した短距離力の重要性を意味していることになる。

タンパク質の特異的立体構造を決定し安定化する上では、短距離力とともに、長距離力も重要であることが多くのことからわかっている。それにもかかわらず、球状構造内に見いだされる α -ヘリックス構造や β -シート構造が、短距離力のみで決まっているようにみえるのはなぜだろうか。それは、今日、一般に次のように考えられている。すなわち、タンパク質の折れたたみの過程では、まず第一に短距離力が働き、 α -ヘリックス構造や β -構造が形成される。これらの構造が、全折れたたみ構造が形成される上でのタネになっていると考える。特異的立体構造内にこれらの構造が見いだされるのは、タネが残っているのだと考える。

最近では、 α -ヘリックス構造や β -構造形成の次

第3図 折れたたみ単位の例。左から、二つの α -ヘリックスが集まった構造、二つの β -構造が集まった構造、二つの β と一つの α が集まった構造を表わしている⁹⁾

の段階として、折れたたみ単位 (folding unit) の形成を考える研究者もいる。折れたたみ単位とは、高分子鎖上で隣接する二つまたは三つの二次構造 (α -ヘリックス構造や β -構造) が寄り集まってできる構造物で、第3図はその例を示している。この図は最近の Levitt と Chothia の論文⁹⁾ からの引用だが、二つの α -ヘリックスが集まった構造、二つの β -構造が集まった構造、二つの β と一つの α が集まった構造を表わしている。彼らはいろいろなタンパク質の特異的立体構造に、これらの折れたたみ単位が頻繁にみられる事実に基づき、これらの折れたたみ単位の形成が、折れたたみ過程における一つの段階となっていると推論している。

ここで重要な点は、タンパク質分子鎖中の一部分の作る α -ヘリックス構造や β -構造などの二次構造物、あるいはさらにそれらが集まって作る折れたたみ単位も、それ自身は安定な構造ではないことだ。これらの構造は、さきほどの定義によると胚 (embryo) であり統計的にはほとんどこわれる運命にある。胚は、きわめて多数回、生成・消滅を繰り返す、その間たまたま核にまで成長すると、その後特異的立体構造を持つ生状態にまで折れたたみが進行する。このようにタンパク質の折れたたみの過程は決まった道筋に沿って力学的に進行するのではなく、むしろ、確率的なものに支配された統計的な過程だと考えられる。

胚の核への成長の過程はおそらく複数個の折れたたみ単位的なものの衝突により、より大きな構造が形成されることによって進行するものと考えられる。そのとき、衝突により、より大きな構造が形成されるためには、衝突する二つの面の凹凸がうまく合っているというような条件が満たされる必要があるだろう。折れたたみ過程の初期の段階で誤まった構造が形成されたとしても、これらの構造はより大きな構造を作る上で条件を満たしていないため、核にまで成長する可能

性はなく、構造の不安定性のためにすみやかにこわれるものと考えられる。このようにみえてくると、折れたたみ過程における胚の不安定性は、初期の段階で形成された誤まった構造を匡正する機構として積極的に働いているものと考えられる。

7. ま と め

タンパク質分子のアミノ酸配列は、遺伝情報によって決定される。その意味で、タンパク質は情報高分子といわれる。タンパク質分子は生理的環境条件下で、そのアミノ酸配列によって決定される特有の立体構造——特異的立体構造——をとる。この特異的立体構造に基づき、タンパク質分子はそれぞれの分子に特有の機能を発揮する。この意味で、タンパク質分子は機能高分子といわれる。この小論ではこのようなタンパク質分子のもつ合成高分子とは異質な面にふれた。

次に、タンパク質分子の特異的立体構造に関する情報が、そのアミノ酸配列中にいかに書き込まれているかを読み取る問題——ロゼッタ石の解読——の意義と問題点を論じた。物理学的には、これはあくまでも一群の高分子の無秩序なランダム・コイル状の状態から、一見はなはだ不規則だが、一定の秩序を持つ状態への折れたたみ、あるいは立体構造転移の過程を解明することにほかならない。

タンパク質の折れたたみの過程に関する一つの描象を提出した。まず第一に、小さな構造物「胚」が形成される。これは不安定で、ほとんどこわれる運命にある。多数回の生成・消滅を繰り返す間に、統計的なゆらぎによりある一定の大きさを獲得すると、その構造は安定化され、以後確実に特異的立体構造にまで成長する。そのような臨界の大きさを持つ構造物を「核」と呼ぶ。折れたたみ過程の第1段階で形成される「胚」が不安定であることは、初期段階で形成されるかもしれない誤った構造を匡正する機構として働いているものと考えられる。小論ではこの「胚」の実体にもふれた。

文 献

- 1) Anfinsen の実験を含めて、タンパク質の特異的立体構造形成の問題を扱った最近のレビュー
C. B. Anfinsen, H. A. Scheraga: *Adv. Protein Chem.*, C. B. Anfinsen, J. T. Edsall, F. M. Richards, ed., Academic Press, New York (1975) Vol. 29, p 205
- 2) N. Gō: *Adv. Biophys.*, M. Kotani, ed., Tokyo University Press, Tokyo (1976) Vol. 9, p 65
- 3) M. Levitt, C. Chothia: *Nature*, **261**, 552 (1976)