

多次元自由エネルギー面で捉える生体分子の力学応答

鈴木 洋一 (産業技術総合研究所)

近年の単分子計測技術の向上により、1分子レベルでの生体分子の機能、特性が明らかになってきた。骨格筋・心筋中のタイチン、細胞外マトリックス中のフィブロネクチン、赤血球中のスペクトリンなどのタンパク質は力学的ストレスに抵抗する機能を有している。また、高次構造をもつ核酸・タンパク質複合体が、タンパク質を生成する過程にも機械的な力が関連している。

原子間力顕微鏡 (AFM)、レーザーピンセット、磁気ピンセット等を用いることで、生体分子を直接引っ張る、ねじる、あるいは変形させ、分子内部の性質を探る研究が盛んになされている。分子を一定の速さで引っ張る、分子に一定の力を加える、あるいは分子の長さを一定に保つ時、分子にかかる力や、分子の2点間距離 (伸び) の変化を通じ、分子の構造変化が観測される。タンパク質や核酸、あるいはそれらの結合を機械的に引っ張った場合、折り畳まれたタンパク質のほどける現象 (アンフォールディング) やリガンド・レセプターと呼ばれる分子結合の解離は、ピコニュートンほどの力で起こる。このような分子構造変化がナノスケールで起こることを考慮すると、室温 (体温) 下において熱揺らぎの影響 ($\sim 10^{-21}$ [J]) を受ける。すなわち、このような生体分子の破断現象は確率的であり、自由エネルギー面 (曲線) 上の安定/準安定状態間の遷移プロセスであるとみなすことができる。

近年、自由エネルギー曲線の立場から生体分子をモデル化し、実験結果から速度論的パラメータや、自由エネルギー曲線構造に関わるパラメータを抽出する方法が提案

された。この方法は、従来の方法では抽出することのできない、タンパク質のアンフォールディングや、リガンド・レセプター結合の解離に必要な自由エネルギーを見積もることができる。また、抽出された遷移状態の位置から、実際の生体分子の安定構造を特徴付ける分子内結合部位 (楔石にあたる部分) を特定することができる。さらにこの方法は、多くの実験結果を再現性よく説明できる。

本稿の目的は、自由エネルギー面 (曲線) 描像に基づく方法の理論的背景に目を向けることである。分子を引き延ばす実験を解釈するにあたり、多くの場合、生体分子の伸びを“よい反応座標”と見なし自由エネルギー曲線が描かれる。反応座標は、反応 (分子破断) の進行度を表す座標である。直感的には、折り畳まれている生体分子はコンパクトな構造をとり、アンフォールドしている場合は空間的に広がっているであろうから、分子の伸びは分子の破断を特徴付けると言えるのかもしれない。しかし、分子の伸びはいつでもよい反応座標なのだろうか？ そもそも、よい反応座標とはどういうことであろうか？ また、分子の伸びがよい反応座標でない場合、力を伸びの方向に負荷すると何が起こるのであるだろうか？ 本稿では、分子の伸びが、よい反応座標ではない帰結として起こりうる1つのシナリオについて焦点を当てる。また、このシナリオを示唆する実験結果をいくつか紹介する。このような実験結果に対する従来の解釈と、我々の解釈にどのような違いがあるかについても述べる。

—Keywords—

自由エネルギー面：

物質には与えられた条件下で見いだされやすい状態がある。秩序変数を x とした場合、平衡状態において x が実現される確率は分布をもつ。この確率分布 $p(x)$ と、自由エネルギー曲線 $G(x)$ の間には $p(x) \propto \exp[-\beta G(x)]$ の関係がある (但し β は逆温度)。従って、自由エネルギー曲線上の最小地点が最も見いだされやすい状態に対応する。例えば、タンパク質の場合、与えられた温度や圧力によって取りやすい構造がある。天然状態のタンパク質は、一本のポリペプチドが折り畳まれた (フォールド) 状態にあり、熱力学的に安定な状態である。折り畳み状態にあるタンパク質は、非折り畳み状態よりも空間的にコンパクトな構造を取る。このコンパクトさを表す1つの指標として、特定の分子間距離 (伸び) を考える。分子間距離を変数として自由エネルギー曲線を評価した場合、伸びが小さい構造の方が安定であり、最も見いだされやすい状態と言える。なお、本稿では秩序変数が1つの場合、自由エネルギー曲線、複数の場合、自由エネルギー面、任意である場合、自由エネルギー面 (曲線) と呼ぶことにする。

力学応答：

力学応答とは、物体に力を負荷した場合の、形状や、力の (手応えの) 時間変化である。このような力学応答は、対象とする物体の内部構造変化と関連する。近年の単分子計測技術の発展によって、直接1分子に力を加えたり、変形させたりすることが可能であり、その際の力をピコニュートンの精度で計測することができる。分子は、負荷された力によって変形したり、破断したりするが、変形の度合いや、破断するまでの時間や力が、負荷された力に応じて変化する。こうした力に対する生体分子の応答から、分子内部の情報を引き出す試みが盛んになされている。