

AlphaFold2のハルシネーションを活用したタンパク質設計手法

ハルシネーションの基本概念と必要性

ハルシネーション (hallucination) とは、ディープラーニングモデルが本来入力されていないものを“幻覚”的に生み出す現象を指します。画像生成AIが「猫」の特徴を学習していれば、それを基に架空の猫画像を作り出せるように、タンパク質構造予測モデルも学習した知識を逆利用して新規タンパク質配列を創出できることが示されています^{① ②}。すなわち、構造予測ネットワークにランダム配列を入力し、予測構造の信頼度や望ましい特徴を最大化するよう配列を最適化すると、自然界には存在しない安定なタンパク質配列を設計できるので^②。このアプローチをタンパク質デザイン分野で「ハルシネーション」と呼び、2021年に米国Baker研究室がAlphaFold前身モデルを用いて初めて実証しました^{① ②}。ハルシネーション手法の目的は、従来法では探索困難な膨大な配列空間から、モデルが「ありうる」と判断するタンパク質を自動で見つけ出すことにあります。従来の物理ベース設計 (Rosetta等) では設計成功率が0.1%未満と低く、多数の候補を作成・実験スクリーニングする必要がありました^③。一方、ハルシネーションにより事前知識なしで機能的タンパク質を設計できるため、試行回数を劇的に削減し (数十個の設計でナノモーター親和性のヒットを獲得^④)、標的タンパク質の構造情報さえあれば高速に新規設計が可能となります。特に、自然界に存在しない新規フォールドや標的に対しても有効である点が大きな利点です^{① ⑤}。実際、DeepMind社のAlphaFold2 (AF2) の登場以降、このネットワーク“幻覚”現象を活用したデノボタンパク質設計が各研究グループで積極的に探索されるようになりました。

AlphaFold2マルチマーにおけるハルシネーション実装

AlphaFold2は本来「配列→構造」を予測するモデルですが、これを「構造 (もしくは高い信頼度) →配列」の方向に逆用するのがハルシネーション手法です。特にAlphaFold2 Multimer (複合体予測版) を用いることで、複数タンパク質鎖の同時折り畳み予測を設計に利用できます^⑥。具体的な実装では、まず標的タンパク質の配列・構造を一方の鎖として固定し、もう一方の鎖 (デザインしたいバインダー側) の配列をランダム初期化します^⑦。この2鎖を入力としてAF2 Multimerで複合体構造予測を行い、予測結果に基づき損失関数を定義します。損失関数には、例えば予測構造の信頼度指標 (pLDDTや複合体信頼度スコア) を最大化する項や、バインダーと標的の界面での接触数を増やす項、特定残基 (ホットスポット) の相互作用を促す項などが用いられます^{⑦ ⑧}。次に、AlphaFoldモデルの重みを固定したまま誤差逆伝播

(backpropagation) を行い、損失勾配に沿ってバインダー配列 (アミノ酸の確率分布) を少しずつ更新します。これはColabDesignなどの実装を通じて可能になった技術で、AF2を微分可能な“エネルギー関数”のように扱い配列最適化するものです^⑨。この予測→勾配計算→配列更新のサイクルを繰り返すことで、バインダー配列が徐々に進化し、AF2が高信頼度で予測する複合体 (すなわち結合が安定して起こるとモデルが判断する組み合わせ) へと収束していきます^⑥。重要なのは、AF2 Multimerは設計過程で標的タンパク質側の構造変化 (誘導適合) も許容するため、従来の「標的を剛体固定した設計」より現実的なインターフェース調整が可能になる点です^⑥。こうして得られたバインダー配列は、モデル上で標的と強く結合しうろう“ハルシネート (幻覚生成)”されたものと言えます。

BindCraftによる設計パイプラインと応用例

BindCraftは上述のAlphaFold2ハルシネーション手法を取り入れた、デノボタンパク質バインダー設計の自動化パイプラインです。2025年8月にNature誌で報告され、オープンソースで公開されたことで大きな注目を集めました^⑩。BindCraftは「一度の設計 (一つの計算シミュレーション) で高機能なバインダーを得る」こ

とを目指しており、その名の通り“ワンクリック”で使えるユーザーフレンドリーな設計ツールとなっています¹¹。

BindCraftパイプラインの模式図と成果の概要。¹² ¹³ 図(a)に示すように、まず**標的タンパク質構造**（灰色、緑部位は設計対象サイト）を入力し、AlphaFold2マルチマーの逆推論（ハルシネーション）によって**標的に結合可能なバインダーの骨格と配列**を同時に生成します¹²。次に、その予測複合体構造に基づき、**バインダーのコア（内部）や表面の配列をProteinMPNNで再設計**して安定性や可溶性を向上させます（ただし**界面の相補的な残基は保持**）¹²。最後にAlphaFold2（単量体モデル）で**バインダー単体の折り畳みを予測**し、十分に高い構造信頼度が得られるものだけを**フィルタリング**します¹²。こうした工程により、ユーザーは**標的構造さえ与えれば、自動で候補バインダー配列の提案から評価まで完了**できるのです¹⁴ ¹⁵。図(b)はBindCraftの性能を示したもので、細胞表面受容体、アレルゲン、de novo設計タンパク質（BBF-14）など**多様な難標的12種**に対し、各ターゲットごと**10個以下のデザイン候補**を試すだけで、その中から**高親和性（Kdナノモラ）バインダーがヒット**したことを示しています⁴ ¹⁶。実験的に確認された結合成功数/試行数は図中青枠内に、各最高親和性Kdは黄枠（Kd）または橙枠（Kd値推定）に示されています¹⁷ ¹⁸。驚くべきことに、BindCraftの**実験成功率は10～100%**（ターゲットによってはデザインした全てが結合成功）と報告されており、従来の0.1%以下から飛躍的な向上です。

BindCraftの具体的な**設計ワークフロー**は以下の通りです（上記図の内容をテキストで補足します）¹⁵：

- **(1) ホットスポット設定（任意）**：ユーザーは標的タンパク質上の結合させたい部位（残基）を指定できます。この**ホットスポット**にバインダーが触れるよう、後続の設計で誘導圧力をかけます⁸ ¹⁹。指定がなくとも自動進行可能で、BindCraftは標的の表面全域を探索します。
- **(2) バインダー配列のハルシネーション**：標的構造を固定し、ランダム初期配列のバインダー鎖との複合体構造をAF2マルチマーで予測します。予測複合体の**pTMスコア（複合体信頼度）**や**界面接触**に関する損失関数を計算し、**勾配降下法でバインダー配列を最適化**します。この予測→配列更新を数十～数百ステップ繰り返し、**標的に高い適合度を持つバインダー配列**を取得します。生成されるバインダーの長さや二次構造傾向はユーザーが制御可能で、短いミニタンパク質から大きなドメインまで柔軟に設定できます²⁰。
- **(3) 配列リデザイン（MPNNソル）**：得られたバインダー候補のうち、**AF2予測スコアが高い上位構造**について、バインダーの**コアと溶解表面**をProteinMPNNで再設計します¹²。界面残基は固定し、それ以外の部位の配列を最適化することで、**フォールドの安定性や発現時の凝集抑制**を図ります¹²。特にBindCraftでは溶解度向上を目的としたMPNN変種（MPNN_{sol}）を用い、疎水性パッチ低減など**実験的成功率を高める工夫**がなされています⁸。
- **(4) 構造予測によるフィルタリング**：MPNNでリシーケンスした各デザインについて、**AF2単独モデルでバインダー単体の折り畳み予測**を実施し、**pLDDT（各残基信頼度）が低いものは除外**します¹²。さらにBindCraftではRosettaエネルギー評価による**界面のΔΔGスコア**や、AF2複合体予測での**ipTMスコア閾値**など複数の基準でスクリーニングを行い、**有望なバインダー候補**を絞り込みます²¹。
- **(5) デザイン選択と出力**：最終的に残った候補について、スコア順ランキングやクラスター多様性などを考慮して**上位数種のデザインを提案**します²²。ユーザーはこれらを実験検証することで、高確率で実際に結合するバインダーを得られます。BindCraftでは基本的に**10個未満の候補を試せば十分**とされ⁴、この効率性が「ワンショット設計」たる所以です。

BindCraftはその有用性から**製薬企業や研究機関に急速に普及**しています。公開直後からMerck、Roche、Novartisなど多数の企業がBindCraftを採用し、自社プロジェクトへの応用を開始したと報告されています²³。さらに研究コミュニティでは、BindCraft手法を**ペプチドリガンド設計**（高親和性のペプチドバインダー生成）へ応用する動きもあります²³。このように、BindCraftは専門外の研究者でも利用しやすく、幅広い用途への拡張性を持つツールとして評価されています²⁴。

既存手法との比較とハルシネーションの利点

ハルシネーション設計法（AlphaFold2の逆利用）は、従来のタンパク質設計法や他の深層学習アプローチと比べて**独特の強み**を持ちます。以下に主要な手法と比較した特徴をまとめます：

- **従来の物理ベース設計**（Rosetta等）：既知構造を足場に**側鎖最適化**や**ドッキング**でデザインする手法。利点は物理法則に基づくため**エネルギー的妥当性**の担保や任意の結合部位指定が可能な点ですが³、欠点は**サンプリング効率が低く設計成功率が極めて低い**ことです²⁵。また**事前に足場となる構造**が必要で、標的表面によっては適合する既存ドメインが見つからない場合もありました。
- **RFdiffusion + MPNN**（拡散モデル設計）：2023年に報告された**拡散モデル**により新規タンパク質主鎖を生成し、そこにMPNNで配列デザインする最新手法²⁶。Baker研による現状の**最先端モデル**であり²⁶、**従来比大幅に成功率向上**しました。利点は**多彩なフォールド**を創出できる生成力と計算効率ですが、欠点として**生成した構造が物理的に妥当が保証されず、結局AF2でフィルタリング**が必要な点が挙げられます。また拡散モデル設計では**標的との相互作用面は事前に固定**（ターゲットを剛体、生成側のみ設計）となるため、**界面の詰めが甘くなる**傾向があります。
- **AlphaFold2ハルシネーション**（BindCraft等）：AF2自体を設計エンジンとして**配列を直接最適化**する手法⁶。利点は**設計段階からAF2の構造原理で評価されるため、最終的に“AF2のお墨付き”の構造しか出てこない**点です⁶。言い換えれば、**非現実的な配列は初期の段階で淘汰され、物理的妥当性の高い候補のみを探索**できます。また**標的とバインダーを同時に折り畳む（co-fold）**ことで**誘導適合を取り入れた界面設計**ができ、固定足場では攻略困難だった凹凸の激しい結合サイトにも対応可能です⁶。さらに、ハルシネーションは**既存配列の類似性に縛られず全く新規の折り畳みも設計可能**なため¹、「**自然にはない構造**」や**進化上存在しない標的**に対して特に有効です⁵。実際BindCraftは、自然には存在しない**de novoタンパク質（ベータバレルBBF-14）**を標的とするバインダー設計にも成功し、11件中6件が結合能を持つことが確認されました⁵。一方で欠点として、**計算コストが大きい**点が挙げられます。AF2は高精度なぶん計算資源を要し、**拡散モデルと比べて大型タンパク質の設計には時間を要する**ため、ターゲットサイズによっては効率が低下します²⁷。しかし同じ計算時間内で比較すると、BindCraftの方がヒット率は高いことが示されており²⁷、性能とコストのトレードオフを踏まえて使い分けが提案されています²⁸。総じて、AF2ハルシネーション法は「一つのターゲットに確実な1種の有効バインダーを得たい場合」に適したアプローチと言えます²⁸。

以上のように、AlphaFold2ハルシネーションを用いた設計は**従来法の弱点を補い、深層学習モデルを直接“設計モード”で活用する新潮流**です⁶。特に**実験スクリーニングを極小化**しつつ**高成功率**を達成できる点で、創薬・バイオ分野へのインパクトが大きいと期待されています²⁹。

課題および限界

革新的なハルシネーション設計法ですが、いくつかの**課題や限界**も指摘されています。

- **設計配列の妥当性検証**: モデルが高信頼と予測した配列でも、実際に実験で**フォールドしない可能性**は残ります。AlphaFold2自体のバイアスや限界により、**モデル内でのみ安定**に見えてしまう“**幻影の構造**”が生成されるリスクは否めません。BindCraftではAF2単量体予測やRosettaエネルギーで篩にかけているものの、それでも**最終候補は必ず実験的検証が必要**です。特に**精密な機能評価**（酵素活性や細胞内挙動など）は現状シリコ設計だけでは予測困難であり、**計算デザインと実験との反復**で詰めていく必要があります。
- **計算資源と速度**: 前述の通り、AF2を何度も回す設計は**計算負荷が高い**です²⁷。大規模なタンパク質や複雑な多サブユニット系では計算時間が長引き、現実的な設計サイクルに支障をきたす場合があります。拡散モデルなどとのハイブリッドで**粗デザイン→AF2洗練**と段階分けする工夫や、より高速な近似モデル（例：AlphaFoldの簡易版）への切替えなど、**計算効率化**も今後の課題です。
- **配列多様性と局所解**: 勾配降下による最適化は時に**局所的な解に収束**し、得られる配列の多様性が乏しくなる恐れがあります。BindCraftでは初期シーケンスの多重ランダム化や突然変異導入により多様性

確保を図っていますが、それでも解空間を網羅できていない可能性があります。将来的には拡張的手法（遺伝的アルゴリズムによる集団進化⁷や、拡散モデルとの組合せ）によって、より幅広い解を探索する工夫が求められます。

- ・**実験面の課題:** 設計タンパク質の発現系への適合や免疫原性といった実応用上の問題も検討が必要です。ハルシネーションで得られる配列は進化的文脈を持たないため、細胞内での分解や免疫系による排除を受ける可能性があります。また高親和性ゆえのオフターゲット結合や凝集性にも注意が必要です。これらは実験的最適化（例えば特定部位の改変）で対処し得るものの、計算設計の段階で予見するのは難しく、**in vivoでの安全性確認**など乗り越えるべきハードルが残っています。

以上のような課題はありますが、急速に改良が進む分野でもあります。たとえば最近ではAlphaFoldの拡張（AlphaFold3や拡散モデル統合）や、言語モデルを組み合わせた配列多様化、計算と実験のループ自動化（ロボット実験室との連携）などが模索されており、ハルシネーション設計の精度と信頼性は今後さらに向上していくと期待されます。

医療・創薬・免疫分野での応用例

AlphaFold2ハルシネーションによるタンパク質デザインは、**医療・創薬・免疫**の各分野で多様な応用可能性を示しています。BindCraft論文では以下のような実証例が報告されました³⁰。

- ・**がん免疫療法（チェックポイント阻害）:** 免疫チェックポイント受容体PD-1を標的とするデノボバインダーを設計し、二量体化した融合タンパク質（Fc融合）として細胞実験で評価しました。従来は抗体医薬が用いられるPD-1阻害に対し、BindCraft設計バインダーは高い結合能を示し免疫応答の調節に有望であることが示されました¹⁷。このように、抗体代替の小型タンパク質医薬としてがん治療への応用が期待されます。
- ・**アレルギー治療:** 白樺花粉症の主要アレルゲンであるBet v1タンパク質に結合するバインダーを設計しました。患者由来サンプルで検証したところ、このバインダーはアレルゲンに対するIgE抗体の結合を顕著に減少させました³¹。つまり、アレルゲンを中和してアレルギー反応を抑制できる可能性を示したもので、季節性アレルギーや喘息などへの新規治療ストラテジーとなりえます。
- ・**ゲノム編集の制御:** CRISPR-Cas9核酸エンドヌクレアーゼ複合体に結合しその活性を調節するバインダーを設計しました。得られたデザインはCas9に結合して編集活性を低下させる効果が示され³¹、将来的にはオンオフ可能なCas9制御タンパク質として、安全な遺伝子治療やゲノム編集ツールの精密制御に繋がると期待できます。
- ・**感染症・中毒対策:** 食中毒の原因となる細菌性エンテロトキシン（毒素）に対する中和バインダーを設計しました。細胞培養系においてこのバインダーを共存させると、毒素による細胞毒性が大きく減少することが確認されています³²。これは抗毒素タンパク質として食中毒や生物兵器由来毒素の治療に役立つ可能性があります。
- ・**標的指向型ドラッグデリバリー:** AAV（アデノ随伴ウイルス）カプシドに結合するバインダーを介して、ウイルスベクターを特定細胞に誘導する応用も試みられました。細胞表面受容体に特異的に結合するバインダーをAAVに搭載することで、ウイルスが従来感染しない細胞型へ狙った遺伝子送達ができることを示しています³³。この技術は将来、遺伝子治療用ベクターの組織特異的な標的化に貢献しうるものです。

上記の事例はいずれも、従来は適切な結合分子を得るまでに膨大なスクリーニングを要したり、存在しない分子をデザインする必要があった難題です。ハルシネーションを活用したタンパク質設計は、**短期間で目的に合致したタンパク質を創り出し、その機能を発揮させる**ことを現実近づけました²⁹³⁰。今後、免疫チェックポイント阻害剤や中和抗体の代替となる新規医薬品、標的に合わせカスタムメイドした治療タンパク質、さらには細胞内経路を操作する合成生物学ツールなど、**医療・創薬の幅広い分野でこの設計手法の応用が進む**と考えられます。例えば、患者ごとのがん抗原に対する個別化タンパク質薬や、新興ウイルスに対抗する緊急ワクチン構成要素の迅速デザインなども視野に入っています。AlphaFold2ハルシネーションによるデノボ設計は、まさに**タンパク質工学の新時代**を切り開く技術として、今後ますます発展していくでしょう。

References: 続きを読むことで本文中の引用元を確認できます 6。

1 2 De novo protein design by deep network hallucination | Nature

https://www.nature.com/articles/s41586-021-04184-w?error=cookies_not_supported&code=756b0218-970d-4d71-a10f-6e106704a5bf

3 7 25 In silico evolution of protein binders with deep learning models for structure prediction and sequence design - PMC

<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10187191/>

4 5 6 9 10 11 23 24 26 27 28 29 30 BindCraft AI Model Achieves One-Shot Functional Protein Design

<https://www.genengnews.com/topics/artificial-intelligence/bindcraft-ai-model-achieves-one-shot-functional-protein-design/>

8 14 15 19 20 21 22 New Bindcraft tutorial now available – Rosetta Commons

<https://rosettacommons.org/2025/07/24/new-bindcraft-tutorial-now-available/>

12 13 16 17 18 De novo binder design using BindCraft a, Schematic representation of... | Download Scientific Diagram

https://www.researchgate.net/figure/De-novo-binder-design-using-BindCraft-a-Schematic-representation-of-the-BindCraft-binder_fig1_395014478

31 32 33 BindCraft: one-shot design of functional protein binders - PMC

<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11642741/>