

Theoretical Study on Two-dimensional Crystallization of Bacteriorhodopsins Driven by Lateral Depletion Effects

須田, 慶樹

<https://hdl.handle.net/2324/6787408>

出版情報 : Kyushu University, 2022, 博士 (理学), 課程博士
バージョン :
権利関係 :

氏 名 : 須田慶樹

論 文 名 : Theoretical Study on Two-dimensional Crystallization of Bacteriorhodopsins Driven by Lateral Depletion Effects

(枯渇効果によるバクテリオロドプシン 2 次元結晶形成の理論研究による検討)

区 分 : 甲

論 文 内 容 の 要 旨

1. 序論

膜貫通型タンパク質は脂質二重層の中に埋まっている。このタンパク質は他の膜貫通型タンパク質と相互作用して、多量体を形成することがある。多量体形成はタンパク質の機能発現に重要であるが、多量体形成の駆動力は明らかにされていない。仮説として、直接の相互作用に由来する水素結合やイオン結合の形成による説明も考えられる。しかし、これらの結合が見つからないタンパク質の多量体も存在する。バクテリオロドプシン(**bR**)がその例である。野生型 **bR** はバクテリアの膜貫通型タンパク質で、3 量体を形成する。さらに 3 量体が膜の中で集合して 2 次元結晶を形成する。しかし **bR** 単量体間、3 量体間に水素結合やイオン結合は見られない。本研究では **bR** の結晶形成に着目して、膜貫通型タンパク質の多量体形成駆動力を研究した。

本研究では、脂質分子の枯渇効果が **bR** 結晶形成の駆動力ではないかと考えた。理由は次の通りである。生体膜系は脂質分子が混み合った系であり、疎水的な領域が膜の大部分を占め、水素結合や静電相互作用の寄与が小さいので、*van der Waals* 描像が成り立つと考えたからである。この描像によると液体構造は分子間の直接的な引力ではなく、分子間の斥力が決定する。従って **bR** の凝集挙動も直接的な引力ではなく、エントロピーに由来する実効引力、つまり枯渇効果が支配的であると考えたのである。

2. モデル

理論研究に用いたモデルについて説明する。生体膜を 2 次元平面、脂質分子と **bR** を剛体円盤としてモデル化し、枯渇効果の理論から相図を求めて **bR** 結晶形成駆動力の議論をしようと考えた。この膜面内の配置に注目する側方枯渇効果に注目したモデルを用いた研究は本研究の特筆すべき点の 1 つである。このシンプルなモデルは次のような観点から決められた。**bR** の大部分は疎水的なアミノ酸によって構成されており、膜の疎水部に埋まった状態にある。それゆえ、**bR** の膜に対して垂直の運動は、**bR** の疎水部を水中に露出することになりエネルギー的に不利であると考えられる。従って **bR** の運動は膜に対して側方的な 2 次元運動に限定されると考えられる。このことから **bR** の結晶形成を 2 次元円盤系での相転移として捉えることができると考えたのである。

3. 二つの理論的アプローチによる CCR の計算

理論計算の結果を検討するにあたり、3 量体を形成しない変異型 **bR** 単量体は、野生型 **bR** 3 量体よりも 10.2 倍も高い濃度でないと結晶形成を開始しないという実験結果に注目した。そこで、

本研究では **bR** 単量体と 3 量体の相図をそれぞれ計算し、結晶形成開始濃度 (critical concentration: CC) とその比 (critical concentration ratio: CCR) を求め、実験結果と比較した。

本研究の最も重要なポイントの 1 つは、このシンプルな描像を 2 つの異なる理論手法を用いて検討したことにある。まず 2 次元 free volume theory (2D-FVT) を用いて **bR** 単量体と 3 量体の相図を計算した。脂質分子の化学ポテンシャルを一定にするために脂質分子の粒子浴が生体膜に接していると想定した。脂質粒子浴中の脂質分子を理想気体として相図を計算し、**bR** 単量体と 3 量体の CC をそれぞれ求めた。その結果、**bR** 単量体の CC の方が 3 量体の CC よりも高いことが示された。この結果は上述の実験結果と定性的に一致する。しかし、CCR を計算したところ、生体膜として想定される脂質充填率の範囲では実験結果と一致しなかった。一方、脂質浴中の脂質分子を理想気体モデルから剛体円盤に切り替えて CC を求めた。CCR を計算したところ、脂質充填率が 0.477 のときに計算結果と実験結果と一致することが分かった。細胞膜の脂質充填率が 0.5 程度であるので、半定量的に実験結果と一致することが分かった。このことから、枯渇効果が **bR** 結晶形成の主要な駆動力であること、枯渇効果の計算には脂質分子間斥力が重要であることが示唆された。しかし、2D-FVT による相図の計算には問題があることも分かった。脂質分子の直径と **bR** の直径の比 q (脂質直径 / **bR** 直径) が小さい場合、相図が q に依存しなくなるのである。これは実験事実と反する。そこで他の理論である熱力学摂動理論を用いて CCR を求めて、**bR** 結晶形成の駆動力としての枯渇効果の妥当性を検討することを考えた。

上述の議論を踏まえて **bR** 間実効相互作用を頭に扱う熱力学摂動理論と **bR** 間実効ポテンシャルを用いて相図を求めた。なお **bR** 間実効相互作用として、AO ポテンシャル、修正 AO ポテンシャルを考えた。AO ポテンシャルは脂質分子を理想気体として扱っているが、修正 AO ポテンシャルは剛体円盤として扱っており、上述の 2D-FVT の結果と比較して議論できる。2D-FVT の結果と同様に脂質分子間の斥力を考慮することが実験結果と半定量的な一致を見るために重要であることが分かった。実際、CCR は脂質充填率が 0.414 の場合に実験の CCR と一致することが予想され、半定量的に一致する。このことから、脂質分子間斥力を取り入れた枯渇効果が **bR** 結晶形成の主要な駆動力であることが示唆された。

4. まとめ

二つの異なる理論的なアプローチから枯渇効果が **bR** 結晶形成において重要なことが示唆された。さらに脂質分子間斥力を考慮する事の重要性も示唆された。これらの結果は、側方枯渇効果は膜貫通型タンパク質間の親和性、会合形成の理解のために重要であることも示唆していると考えられる。今後、これらの理論計算の結果の妥当性を確かにするためにシミュレーションによる相図の計算を考えている。