

# 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)			
論文調査委員	主 査	九州大学	准教授	秋山 良
	副 査	九州大学	教授	中野 晴之
	副 査	九州大学	教授	瀧上 隆智
	副 査	九州大学	助教	木下 祥尚

## 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

膜貫通型タンパク質は脂質二重層の中に埋まっている。この膜貫通型タンパク質間実効相互作用の駆動力について検討することが須田氏の研究のテーマである。

それら膜貫通型タンパク質は機能発現のために多量体形成をしばしば利用している。ところが、多量体形成の駆動力は必ずしも明らかにされていない。その 1 例が、バクテリオロドプシン(**bR**)の 2 次元結晶形成である。そこで、本研究において **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ている。特に、脂質分子による膜面内に働く枯渇効果、すなわち側方枯渇相互作用が **bR** 結晶形成の駆動力であると仮定し、2 種類の理論を構築し計算を行っている。親水基と疎水基の配置から、構成分子は膜面内から飛び出す時の自由エネルギーのペナルティは非常に大きく、構成分子は膜面内にほぼ囚われることになる。すなわち、生体膜系は 2 次元的な面内に脂質分子と膜貫通型タンパク質が閉じ込められ、面内にはほぼ平行の移動をしている 2 次元凝縮系と見なす事ができる。その為、2 次元の **van der Waals** 描像がほぼ成り立ち、分子間斥力がこの系を理解する上で重要なはずであると予想し、この計算は始まっている。こうした描像に基づく膜貫通型タンパク質間実効相互作用と結晶化についての研究はユニークなもので、本研究から始まった特筆すべき点の 1 つである。

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できないという実験結果に注目した点もセンスが良い。**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**)を求めることで既に出版されている実験結果との比較を可能にしている。

本研究の今ひとつのポイントは、このシンプルな描像を 2 つの異なる理論を用いて検討したことにもある。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ている。**2D-FVT** のアプローチでは、実験結果との比較から **bR** の排除体積利得の効果だけでなく、脂質分子同士の斥力コアが存在する重要性も明らかにしている。そうすることで、半定量的に実験結果と一致することがその根拠であった。

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

に反する。そこで、 $bR$  間実効相互作用を別の方法で求めて、熱力学摂動理論を用いた計算も行っている。基本的には、 $q$  依存性が消失する問題点はなくなり、同時に概ね、現実的な脂質充填率で実験の CCR が得られることが、再びわかった。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る。

さらに 1 成分 2 次元剛体円盤系との関係や 2 次元結晶の不安定性についても議論されている。

二つの異なる理論的アプローチから脂質分子間斥力を考慮した枯渇効果の重要性が示唆された。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。定量的な観点からシミュレーションによる相図の計算がすすめられているとの事である。また、その結果を通じて 2 次元の円盤流体の相転移についても新たな知見が得られるものと予想している。

以上の結果、生物物理の分野、特に膜タンパク質相互作用の駆動力研究において枯渇相互作用という見方が必要であることを 2 つの統計力学理論に基づいて示した顕著な業績であると判断できる。よって、須田氏は博士（理学）の学位を受ける資格があるものと認める。