

令和 3 年 5 月 26 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K05607

研究課題名(和文) タンパク質による生体膜の形態制御

研究課題名(英文) Biomembrane shape regulation by proteins

研究代表者

野口 博司 (Noguchi, Hiroshi)

東京大学・物性研究所・准教授

研究者番号：00514564

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では粗視化シミュレーションを用いて、曲率誘導タンパク質などによる生体膜の構造変化を研究した。(1)キラルティがチューブ形成に重要であること、(2)膜変形とのカップリングによって膜上の反応拡散波の安定性やチューリングパターンが変化すること、(3)アクチン繊維成長との相互作用が熱平衡とは異なる膜ゆらぎを誘起することなどを明らかにするとともに、(4)膜の力学物性の計算手法の開発や(5)ナビエ・ストークス方程式の離散化時の角運動量保存の喪失の原因の解明を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

細胞内の生命活動における静的や動的な膜構造はタンパク質によって制御されている。これらのタンパク質の欠損は細胞小器官の構造異常や細胞機能不全につながり、その機能を理解することは非常に重要である。しかし、その機構はまだよく理解されていない。本研究では分子レベルから、マイクロメートルのスケールの様々の状況で、タンパク質がどのように生体膜と相互作用し、構造を制御しているかについて重要な知見を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Shape transformations of biomembranes were studied by using coarse-grained simulations. We clarified (1) the importance of chirality in membrane tubulation, (2) traveling waves and Turing patterns with coupling with membrane deformation, and (3) non-equilibrium fluctuations of moving membrane by filament growth. We also developed (4) virtual bending method to calculate membrane mechanical properties and (5) how to maintain the angular-momentum conservation at the discretization of Navier-Storks equations.

研究分野：ソフトマター物理

キーワード：生物物理 ソフトマター 生体膜 シミュレーション

### 1. 研究開始当初の背景

生体内には多様な形態の細胞と細胞小器官がある。細胞および、多くの細胞小器官は、脂質と膜タンパク質で構成される膜構造で覆われている。また、タンパク質など多くの物質は小さなベシクルに乗って、細胞内を輸送される。このような細胞内の生命活動における静的や動的な膜構造はタンパク質によって制御されている。これらのタンパク質の欠損は細胞小器官の構造異常や細胞機能不全につながり、その機能を理解することは非常に重要である。最近、BAR ドメインと呼ばれるバナナ状の膜への吸着サイトを持ったタンパク質が多く見つかっており、注目を集めている。これらのタンパク質の曲率の高い膜部位への集積や、ジャイアントベシクルからの膜チューブの形成が実験的に示されており、その機能の理解は深まってきている。しかし、個々のタンパク質分子が生体膜上でどのように相互作用し集合して、膜形状を変化させているかといった分子スケールにおける構造の形成機構は不明な点が多い。

### 2. 研究の目的

本研究では、粗視化分子シミュレーションを用いて、多数のタンパク質がどのように協同的に膜を変形し、形状を制御しているかを調べる。特に BAR タンパク質の異方性な自発曲率が膜構造にどのような特徴を与えるかに注目する。

また、生体内では多数の異なるタンパク質が協同的に働き、膜構造の制御をおこなっていることが知られている。BAR タンパク質と等方的な曲率誘導タンパク質が同時に相互作用する膜や、アクチン繊維と膜との相互作用をシミュレーションすることで、細胞小器官に見られるような複雑な膜構造がどのように形成されるかを明らかにすることを旨とする。

### 3. 研究の方法

生体膜の膜厚より大きなスケールを取り扱うため、生体膜は滑らかな曲面を見なすことができる。膜曲面のシミュレーション手法には膜を格子で離散化する格子膜模型と格子を用いないメッシュレス膜模型の2つがあるが、目的に応じてこの2つを使い分ける。

1) BAR タンパク質など曲率誘導タンパク質の自己集合による膜変形の研究にはメッシュレス膜模型を用いる。粒子間にポテンシャル相互作用を加えることで、粒子が自発的に膜を形成する。BAR タンパク質は膜に常に吸着しているとみなし、複数の膜粒子を一行につなげることで表現する。自己集合自体は格子模型を用いても計算可能であるが、膜上の拡散はメッシュレス模型の方が速く、また格子の影響を避けることができるために、メッシュレス模型を用いる。

2) 生体膜の閉じた小胞であるベシクルの計算には動的三角格子模型を用いる。三角格子をモンテカルロ法で組み替えることで、膜の流動性を取り扱える。格子を用いるとベシクルの面積、体積、曲率の計算が比較的容易であり、様々な条件下でベシクルの形態を調べるのに適している。

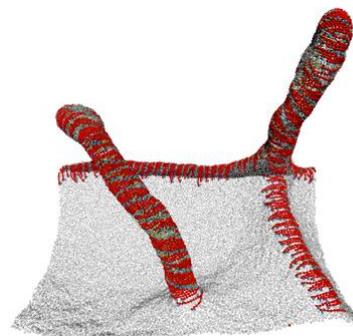


図1. キラルな円弧状曲率誘導タンパク質による膜チューブ形成。キラリティーがない時より速く形成が進む。②

### 4. 研究成果

#### (1) BAR タンパク質による生体膜の構造変化 ①, ②

数値計算を用いて BAR ドメインを含むタンパク質による膜変形過程を研究した。BAR タンパク質に加えて、同じ符号の等方的な自発曲率を持つ添加物(膜貫入ペプチドや円錐状脂質など)がある場合、チューブ形成が促進され、逆向きの曲率の時はネットワークが安定化されることにより、チューブ形成が抑制されることを明らかにした。

また、BAR タンパク質はキラリティーを持ち、らせん状の集合体を形成することが知られていたが、チューブ形成に対する影響は不明であった。2つの突起のあるタンパク質模型を用いることで、キラリティーのある方向とない場合を計算し、螺旋状に集合することで一定の半径の円筒状の膜を形成することと、チューブ形成が促進されることを明らかにした(図1)。らせん構造はチューブ構造形成に適した構造であることを示唆している。

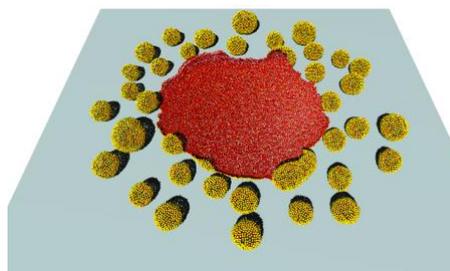


図2. 曲率誘導タンパク質の様な吸着による基板からの脂質膜の解離。乖離した膜片がベシクルを形成する。④

#### (2) タンパク質吸着による脂質膜の剥離 ③, ④

最近、基板上に接着した脂質膜がタンパク質の吸着により剥離し、様々な構造を形成することが実験で報告されている。そこで、吸着により膜の自発曲率が等方的になると仮定し、剥離のダイナミクスを研究した。まず、基板のない場合の自発曲率を持つ膜のベシ

クル形成を理論、計算を用いて定量的に理解した。その後、基板からの剥離過程を計算し、筒状の膜が unduloid への不安定化により多数のベシクルが形成されることを明らかにした。図2に円盤状の膜の剥離によりベシクルが形成中のスナップショットを示す。また、基板上的汚れなどでピンングがある場合、凹状の多角形ができることを示した。これは実験で見られる構造とよく一致する。

### (3) 膜変形と反応拡散のカップリング ⑤

曲面上や液滴内を伝播する反応拡散波やチューリングパターンはよく研究されており、理解が進んでいる。しかし、それと膜変形が相互作用した系はほとんど研究されていない。平面からの微小変形や曲げ弾性を含まない界面の変形などはシミュレーションが報告されているが、曲げ弾性を持つ脂質膜の大変形を伴った系は行われていなかった。そこで、大変形を扱える動的三角格子膜模型に曲率誘導タンパク質および、その制御因子の膜への吸着、膜上の反応拡散を表す反応拡散方程式を組み合わせたシミュレーションを行った。反応拡散の基本的な模型のひとつであるブラセレーターに膜変形の影響を加え、変形と化学反応の相互フィードバックの効果を調べた。膜変形を伴うことで、図3に示すようなチューリングパターンや反応拡散波が起こることが明らかとなった。また、線形安斎解析を行うことで、膜変形とのカップリングが安定条件にどのように変えるかと理論的に調べ、シミュレーションと良い結果を得た。

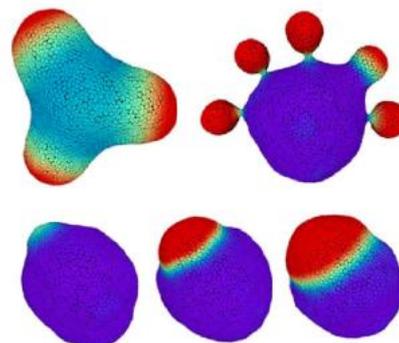


図3. 膜上での反応拡散により引き起こされるベシクル変形。  
上図：チューリングパターン。  
下図：反応拡散波。左から右の時間発展。⑤

### (4) アクチン繊維の成長による押し出される膜の非平衡ゆらぎ ⑥

生体内では、アクチン繊維が微小管などがタンパク質ネットワークを形成して、生体膜と相互作用しており、生体膜の構造制御に大きな役割をしている。細胞が仮足を伸ばし移動する時には、タンパク質繊維により膜が押されている。このような負荷が掛かっている膜では通常と異なる振る舞いが期待できる。そこで、図4に示すように Monge 表示を用いた平面膜に、タンパク質繊維のモデルとして、離散的な結晶成長模型を用いたシミュレーションを行った。膜ゆらぎが熱平衡で見られる  $\langle h(q)^2 \rangle = 1/(\kappa q^4 + \gamma q^2)$  から、大きく変わることが明らかとなった。条件によって、兵周波数ゆらぎが抑制されたり、特定の周波数が強調されたりする。

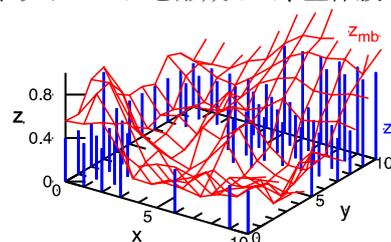


図4. 成長するアクチン繊維（青色）と平面膜（赤色）。繊維上端と平面膜は同じ平均速度で上方に移動する。⑥

### (5) タンパク質吸着、脱離によるマイクロドメイン形成 ⑦

(1) ではタンパク質濃度を連続変数として扱い、化学反応は濃度の時間発展方程式として扱ったが、ここではその素過程である曲率誘導タンパク質の吸着、脱離に焦点を当てた。図5上図に示すように吸着状態と未吸着状態の2状態をとるとする。吸着状態では膜は自発曲率を持ち、また、高い曲げ弾性率を持つ。熱平衡下では、吸着の化学ポテンシャルを上げていくと、吸着サイトと未吸着サイトが相分離し、図5下図に示すようなマイクロドメインを形成する。未吸着が支配的な状態から、相分離状態へは二次相転移であるが、相分離状態から、吸着が支配的な状態へは一次相転移であり、共存状態を経る。非平衡過程として一定速度での脱離を加えると、マイクロドメインを形成するパラメータ領域は狭くなっていく。これらのシミュレーション結果は、Goutalandらによる平均場理論による解析と良い一致を示す。

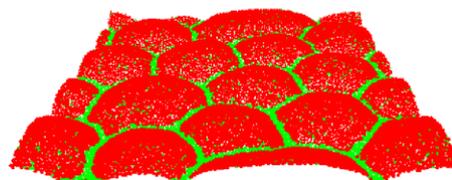


図5. 平面膜への曲率誘導タンパク質の吸着、脱離。下図に示す凸凹のあるマイクロドメイン構造と一様に吸着した状態は転移点付近で共存する。赤色、緑色はタンパク質の吸着、未吸着のサイトを表す。⑦

### (6) 極長鎖脂肪酸の二重膜内でのふるまい ⑧

生体内における主な脂質は炭素鎖の長さが22以下であるが、極微量、32以上の非常に長い極長鎖脂肪酸と呼ばれる脂質が存在する。合成酵素異常による疾患が知られているが、極長鎖脂肪酸が具体的に何をしているかはわかっていない。そこで、長さ32の極長鎖脂肪酸1分子を二重膜の上側に挿入した全原子シミュレーションを行った。そ

の結果、極長鎖は3状態（伸長し、下側の単分子膜に入り込んだ状態、折り返し、上側の単分子膜に留まった状態、L字状になり2つの単分子膜間に挟まった状態）を行き来することが明らかとなった。また、極長鎖は2つの単分子膜の密度差を感知し、その差を減少されるように、3状態の分布が変わることがわかった。このように、極長鎖は反対側の単分子膜の情報を感知することで何らかの重要な機能を担っている可能性がある。

#### (7) 膜の力学物性の計算手法の開発 ⑨

曲げ弾性率はゆらぎのスペクトル測定による方法などいくつかの測定法を知られているが、ガウス弾性率はトポロジー変化が必要なため、大規模な計算が必要となり、全原子シミュレーションなどでは実質、計算不可能であった。ガウス弾性率を少ない計算量で求める方法としてストレス分布から求める計算手法が提案されていたが、正しい結果が得られないことや多体力の分解法によって結果が大きく変わることがわかっていた。そこで、仮想変形に対する仕事を計算することで、曲げ弾性率、ガウス弾性率、自発曲率を求める方法を提案した。多体力の分解は必要とせず、小さいサイズの平面膜で求めることができる。

#### (8) ナビエ・ストークス方程式の離散化時の角運動量保存の喪失 ⑩

ナビエ・ストークス方程式(NS)は角運動量保存則のもとで導かれているが、流体力学シミュレーション手法には、角運動量保存を満たさないものがある。その原因を明らかにした。角運動量保存則を満たすためニュートン流体のストレスは対称テンソルとなる。しかし、NSを導出するとき、剪断の粘性項の半分と、体積変化の粘性項は縮退する。このため、剪断の粘性項の後半を除いても、係数を調整することで同じ方程式を得ることができる。ストレスが非対称となり、角運動量保存を満たさなくなるにも関わらず、速度の時間発展は変わらないということになる。そのため、ナビエ・ストークス方程式の離散化時にこの縮退項をそのストレス起源に基づき、分けて処理しなければ、角運動量保存が失われることを明らかにした。有限体積法を例として、角運動量非保存時に二相流にどのような人工的な流れが生じるかについて示した。

#### <引用文献>

- ① H. Noguchi, *Soft Matter* 13, 7771 (2017).
- ② H. Noguchi, *Sci. Rep.* 9, 11721 (2019).
- ③ H. Noguchi, *J. Chem. Phys.* 51, 094903 (2019).
- ④ H. Noguchi, *Soft Matter*, 15, 8741 (2019).
- ⑤ N. Tamemoto and H. Noguchi, *Sci. Rep.* 10, 19582 (2020).
- ⑥ H. Noguchi and O. Pierre-Louis, *Sci. Rep.* 11, 7985 (2021).
- ⑦ Q. Goutaland, F. van Wijland, J.-B. Fournier, and H. Noguchi, *Soft Matter* (2021) DOI: 10.1039/d1sm00027f.
- ⑧ K. Kawaguchi, K. M. Nakagawa, S. Nakagawa, H. Shindou, H. Nagao, and H. Noguchi, *J. Chem. Phys.* 153, 165101 (2020).
- ⑨ H. Noguchi, *Phys. Rev. E* 102, 053315 (2020).
- ⑩ H. Noguchi, *Phys. Rev. E* 99, 023307 (2019).

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件 / うち国際共著 5件 / うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Hiroshi Noguchi	4. 巻 9
2. 論文標題 Shape transition from elliptical to cylindrical membrane tubes induced by chiral crescent-shaped protein rods	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 11721
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-48102-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Hiroshi Noguchi	4. 巻 151
2. 論文標題 Cup-to-vesicle transition of a fluid membrane with spontaneous curvature	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Chemical Physics	6. 最初と最後の頁 094903 ~ 094903
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1063/1.5113646	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Hiroshi Noguchi	4. 巻 15
2. 論文標題 Detachment of a fluid membrane from a substrate and vesiculation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Soft Matter	6. 最初と最後の頁 8741 ~ 8748
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/c9sm01622h	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Hiroshi Noguchi	4. 巻 99
2. 論文標題 Angular-momentum conservation in discretization of the Navier-Stokes equation for viscous fluids	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Physical Review E	6. 最初と最後の頁 023307/1-10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1103/PhysRevE.99.023307	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hiroshi Noguchi	4. 巻 13
2. 論文標題 Acceleration and suppression of banana-shaped protein-induced tubulation by addition of small membrane inclusions of isotropic spontaneous curvatures	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Soft Matter	6. 最初と最後の頁 7771-7779
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/c7sm01375b	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kazutomo Kawaguchi, Koh M. Nakagawa, Satoshi Nakagawa, Hideo Shindou, Hidemi Nagao, and Hiroshi Noguchi	4. 巻 153
2. 論文標題 Conformation of ultra-long-chain fatty acid in lipid bilayer: Molecular dynamics study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Chemical Physics	6. 最初と最後の頁 165101/1-7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1063/5.0026030	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hiroshi Noguchi	4. 巻 102
2. 論文標題 Virtual bending method to calculate bending rigidity, saddle-splay modulus, and spontaneous curvature of thin fluid membranes	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Physical Review E	6. 最初と最後の頁 053315/1-10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1103/PhysRevE.102.053315	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hiroshi Noguchi and Olivier Pierre-Louis	4. 巻 11
2. 論文標題 Undulation of a moving fluid membrane pushed by filament growth	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 7985/1-9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-87073-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Naoki Tamemoto and Hiroshi Noguchi	4. 巻 10
2. 論文標題 Pattern Formation in Reaction-Diffusion System on Membrane with Mechanochemical Feedback	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 19582/1-10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-76695-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Quentin Goutaland, Frederic van Wijland, Jean-Baptiste Fournier, and Hiroshi Noguchi	4. 巻 未定
2. 論文標題 Binding of thermalized and active membrane curvature-inducing proteins	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Soft Matter	6. 最初と最後の頁 未定
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d1sm00027f	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計13件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 野口博司
2. 発表標題 ナビエ・ストークス方程式の離散化時の角運動量保存の喪失について
3. 学会等名 日本物理学会2019年秋季大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hiroshi Noguchi
2. 発表標題 Membrane detachment from substrate induced by protein adhesion
3. 学会等名 日本生物物理学会第57回年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 野口博司
2. 発表標題 脂質膜へのタンパク質吸着によるマイクロドメイン形成
3. 学会等名 日本物理学会第75回年次大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 野口博司
2. 発表標題 基板からの脂質膜の剥離
3. 学会等名 つくばソフトマター研究会2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hiroshi Noguchi
2. 発表標題 Membrane tubulation induced by assembly of chiral banana-shaped protein rods
3. 学会等名 第56 回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 野口博司
2. 発表標題 BARドメインの集合による膜チューブ形成機構
3. 学会等名 第91回日本生化学大会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 野口博司
2. 発表標題 タンパク質による生体膜の形状制御
3. 学会等名 「ベシクルの変形の物理と数理」勉強会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hiroshi Noguchi
2. 発表標題 Angular-momentum conservation in the discretization of Navier-Stokes equation of viscous fluids
3. 学会等名 Workshop on Simulations for the Dynamics of Soft-Matters (2018)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hiroshi Noguchi
2. 発表標題 Membrane tubulation induced by banana-shaped protein rods
3. 学会等名 Juelich Soft Matter Days 2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hiroshi Noguchi
2. 発表標題 Membrane tubulation induced by assembly of banana-shaped protein rods
3. 学会等名 第55回日本生物物理学会年会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 野口博司
2. 発表標題 バナナ状タンパク質による生体膜の構造形成
3. 学会等名 日本物理学会2017年秋季大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Hiroshi Noguchi
2. 発表標題 Modeling of Membrane under Chemical Reaction
3. 学会等名 2nd Joint SIAM/CAIMS Annual Meeting (AN20) and SIAM Conference on Imaging Science (IS20) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 野口博司
2. 発表標題 仮想変形法による薄膜の曲げ弾性率、ガウス弾性率、自発曲率の計算
3. 学会等名 日本物理学会第76回年次大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

野口研究室HP  
<https://noguchi.issp.u-tokyo.ac.jp/>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
フランス	パリ大学	リヨン第一大学	