

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 7 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25400425

研究課題名(和文) 架橋による生体膜の構造制御

研究課題名(英文) Regulation of biomembrane structure by protein binding

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) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：数値計算を主に用いて、タンパク質などによる生体膜の形状制御の仕組みを研究した。まず、膜間のゆらぎのエントロピーによって生体膜間を架橋する結合サイトが凝集する条件を明らかにした。次に、高分子修飾によって大きな膜ドメインが不安定化し、多数のマイクロドメインが形成されることがあることを示した。そして、バナナ状タンパク質の吸着により、多角形膜チューブや多面体ベシクルが形成することを明らかにした。タンパク質の曲率上昇に伴うタンパク質の凝集は2段階、もしくは3段階に分けて起こる。また、高いトポロジー種数を持つベシクルではストマトサイトから円盤状へ一次相転移することがあることも示した。

研究成果の概要(英文)：We have studied shape transitions of biomembranes using coarse-grained simulations. (i) We have revealed the condition where membrane-fluctuation-induced attraction between ligand-receptor sites binding neighboring membranes induces assembly of the binding sites. (ii) We have clarified that the polymer anchoring reduces the line tension of membrane edges, as well as the interfacial line tension between membrane domains. We have found that instead of the mixing of two phases as observed in typical binary fluids, densely anchored polymers stabilize small domains. (iii) We have revealed that banana-shaped protein rods assemble via two continuous directional phase separations unlike a conventional two-dimensional phase separation. For high protein density, polygonal tube and polyhedral vesicles are formed. (iv) We found that high-genus vesicles can exhibit a discrete transition from a polyhedral stomatocyte to a discocyte.

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 細胞 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。このうち、例えば、赤血球の円盤状の形状は脂質のみを用いて再構築することができる。しかし、脂質のみでは構築できていない形態も多数ある。

近年、生体膜の形状の制御に関わる様々なタンパク質が報告されている。これらのタンパク質が具体的にどのように生体膜の形状を調整しているかはまだよく理解されていない面が多い。

2. 研究の目的

本研究ではシミュレーションを主に用いてこれらの生体膜の織りなす形態がどのように制御されているかを研究する。特に、タンパク質による影響に注目する。例えば、リガンド-レセプタータンパクの結合による生体膜間の架橋、吸着による局所的な曲率の制御が、どのように膜全体の形状に影響を与え、それにより、タンパク質間にどのような相互作用が引き起こされるかについて調べる。また、高分子修飾やトポロジー種数の影響についても調べる。

3. 研究の方法

生体膜をメッシュレス膜模型と動的三角格子模型を用いて、シミュレーションした。メッシュレス膜模型では粒子が自発的に集合して1層の曲面を形成する。動的三角格子模型では生体膜を曲面として三角格子で離散化して表す。モンテカルロ法で三角格子を組み替えることで膜に2次元の流動性を与える。また、いくつかの現象については、シミュレーションに基づき、現象論的な理論模型を構築した。

4. 研究成果

(1) 膜ゆらぎ抑制による膜結合サイト凝集

生体膜間の結合は細胞組織形成や免疫系における異物除去などにおいて行われているが、リガンド-レセプタータンパク間の結合が重要な役割を担っている。リガンド、レセプターが膜上を拡散することによって、吸着領域に集積し膜間の結合が強まることが知られている。最近、このような膜間結合サイト間の膜上の相互作用に対する膜の曲げゆらぎのエントロピーの効果が注目を浴びている。2つの膜が近接した場合、膜ゆらぎの自由度が抑えられるので、膜間には反発力が働く。結合サイトが凝集すると、膜間で反発力を受ける領域が重なりあい小さくなるので、結合サイト間には引力が働く。これはコロイド間相互作用として知られている枯渇効果と同様の原理で働く引力である。しかし、この引力は非常に弱く、それのみでは凝集体を形成できないことがこれまでの研究で知られている。

我々は、メッシュレス膜模型を用いた粒子シミュレーションと有効ポテンシャルを用い

た2次元の格子模型を使って、この相互作用を研究し、集合体を形成するほど引力が強くなる2種類の条件を明らかにした①。ひとつは2枚ではなく、3枚以上の膜を結びつける結合サイトを用いた場合(図1)、もうひとつは結合サイトの膜に刺さっているアンカーが周りの脂質膜の曲げ弾性を大きくする場合である。粒子シミュレーション結果と格子模型の結果はよい一致を示した。これにより、この凝集はサイト間の2体相互作用では記述できないが、多体の有効相互作用を用いると表すことができることがわかった。

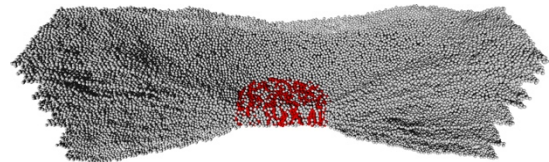


図1: 8枚の膜を結びつける結合サイト(赤)の凝集。凝集により結合サイトのない他の領域は膜間がゆらぐことができるようになる。詳細は論文①参照。

(2) 高分子修飾によるマイクロドメイン形成

生体膜において、ラフトと呼ばれる10-100ナノメートルの膜タンパク質が集積した小さな膜ドメインがあり、そこで機能発現の舞台となっていることが考えられている。このため、相分離した膜ドメインのサイズの制御が盛んに研究されている。我々はラフトには糖鎖の生えた糖脂質が集積していることに着目し、高分子のグラフトがドメイン構造に与える影響を調べた②。その結果、高分子をグラフトすることにより、ドメイン境界の線張力は下がることわかった。ドメイン内では高分子はお互いの排除体積によって取れる配置が制限されるが、ドメイン境界ではドメインの外側にも高分子は伸びることができ、このエントロピー増加が線張力を下げる。高分子鎖長程度の小さなドメインではその影響は小さくなり、結果、鎖長程度のドメインが安定化される(図2)。

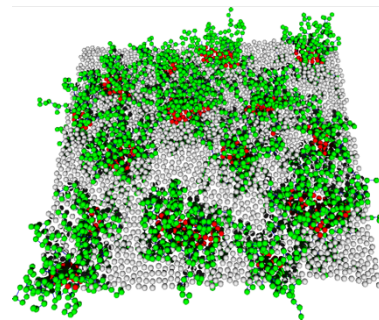


図2: 高分子修飾によるマイクロドメイン形成。1つの円形のドメイン(赤)に、高分子(緑)を生やすと小さなドメインに分裂する。詳細は論文②参照。

(3) バナナ状タンパク質吸着による生体膜の変形

バナナ状の形状をした BAR ドメインをもつタンパク質が多く見つかっている。生体膜に吸着し膜の曲率を局所的に制御していることが知られている。しかし、このような局所的な膜曲率の変化によってマイクロメートルスケールのより大きな形状がどのように制御されているか、まだよくわかっていない。我々は数値計算を用いてこのようなタンパク質の凝集と脂質膜の変形がどのように協調して全体の膜形状が決定されるかについて研究した。BAR ドメインを膜表面に吸着した曲がった棒として粗視化し、タンパク質間に直接の引力を与えず、膜変形による相互作用を対象を絞った。円筒膜とベシクルを用いてタンパク質の吸着と膜形状の関係を調べ、以下の現象が起こることを明らかにした。

円筒膜においてタンパク質の曲率を上げていくと、まず、円筒が楕円柱状に変形し、タンパク質は楕円の両端に集積する。この時点では円筒の軸方向にはほぼ一様である。さらに曲率を上げていくと、軸方向に相分離し、タンパク質は凝集し細い円筒を形成する。このように凝集が通常の相分離と異なり、2段階で起こる③。タンパク質密度を上げていくと、まず軸方向に相分離は起こらなくなり、さらに上げると、円筒膜は三角柱状に変形し、3つの辺上にタンパク質は集積する。この変化は単純化した幾何学モデルでの曲げ弾性エネルギーの最小化で理解できる④。

ベシクルでも同様にタンパク質の曲率を上げていくと、球の赤道状にタンパク質は集まり、その後、赤道の一カ所に集積する。さらに曲率を上げていくと球状の膜から伸びた円筒状の突起を形成する③ (図3)。このように3段階を経て BAR タンパク質を添加した脂質膜で見られるように円筒状突起が形成されることが明らかとなった。脂質膜に自発曲率を加えていくと円筒状突起に必要なタンパク質の

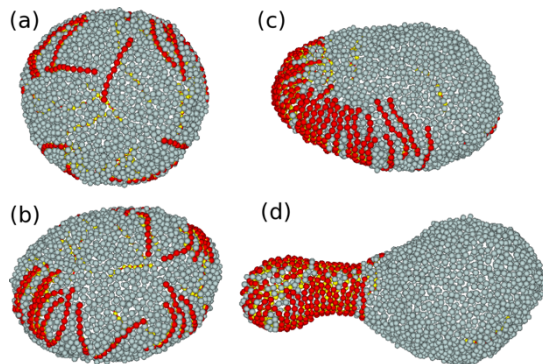


図3 : バナナ状タンパク質 (赤) の集合に伴うベシクルの変形。(a)タンパク質の曲率が低い場合はベシクル上をランダムに分布する。タンパク質の曲率を増加すると、まず、(b)タンパク質は赤道に集まり、ベシクルは扁平に変形する。さらに増加すると、(c)赤道上一箇所にあつまる。(d)チューブを形成する。詳細は論文③参照。

曲率は低下し、やがて、中間状態が一つ減り、赤道上にほぼ一様に集まった状態から円筒状突起が形成されるようになる。また、高タンパク質密度では、多面体状のベシクルが形成される④。

(4) 高いトポロジー種数を持つベシクルの形態転移

核膜は多くの核孔を持つストマトサイトに小胞体のチューブ状膜がつながった形状をとるが、高いトポロジー種数 (genus) を持つベシクルはその基礎模型として、その形状を理解することは重要である。しかし、 $g=0$ の脂質ベシクルの形状はこれまでに実験、理論両面から詳しく調べられているのに対して、 $g \geq 1$ のベシクルについての研究はそれほど多くはない。しかも、そのほとんどが $g=1, 2$ に関するものである。

我々は動的三角格子模型を用いて、 $1 \leq g \leq 8$ のベシクルの形状をシミュレーションした。 $g \geq 3$ においては、孔の配置の変化によって形態変化が連続的な変化から不連続な転移に変わることを明らかにした⑤。体積の比較的大きい図4の左端のストマトサイトから孔が一行に並んだ円盤状へ変化は連続的だが、体積の小さい図4の真ん中の2つの五角錐、立方体からは不連続な転移となる。このように孔の配置が形態の安定性に大きな影響を持つ。

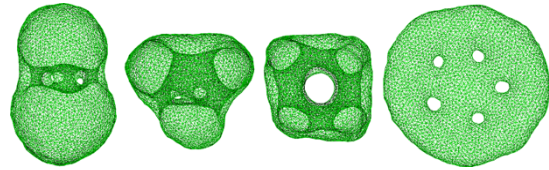


図4 : トポロジー種数5のベシクルの形態。立方体状や円板状など多様な形態をとる。詳細は論文⑤参照。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 8 件)

- ① H. Noguchi, “Entropy-driven aggregation in multilamellar membranes”, EPL **102**, 68001/1-6 (2013) 査読有. doi: 10.1209/0295-5075/102/68001
- ② H. Wu, H. Shiba, and H. Noguchi, “Mechanical properties and microdomain separation of fluid membranes with anchored polymers”, Soft Matter **9**, 9907-9917 (2013) 査読有. doi: 10.1039/c3sm51680f
- ③ H. Noguchi, “Two- or three-step assembly of banana-shaped proteins coupled with shape transformation of lipid membranes”, EPL **108**, 48001/1-6 (2014) 査読有.

- doi: 10.1209/0295-5075/108/48001
- ④ H. Noguchi, “Formation of polyhedral vesicles and polygonal membrane tubes induced by banana-shaped proteins”, *Journal of Chemical Physics* **143**, 243109/1-7 (2015) 査読有.
doi: 10.1063/1.4931896
- ⑤ H. Noguchi, “Shape transitions of high-genus fluid vesicles”, *EPL* **112**, 58004/1-6 (2015) 査読有.
doi: 10.1209/0295-5075/112/58004
- ⑥ 野口博司, “粒子描像の流体力学計算手法 II”, *分子シミュレーション研究会会誌 “アンサンブル”* **16(2)**, 118-121 (2014) 査読無.
doi: 10.11436/mssj.16.118
- ⑦ 野口博司, “粒子描像の流体力学計算手法 III”, *分子シミュレーション研究会会誌 “アンサンブル”* **16(3)**, 211-214 (2014) 査読無.
doi: 10.11436/mssj.16.211
- ⑧ 野口博司, “粒子描像の流体力学計算手法 IV”, *分子シミュレーション研究会会誌 “アンサンブル”* **16(4)**, 252-254 (2014) 査読無.
doi: 10.11436/mssj.16.252

[学会発表] (計 12 件)

- ① H. Noguchi, H. Shiba, and G. Gompper, “Flow-induced morphological changes of bilayer membranes”, *Workshop on Cross Correlation & Transport Phenomena in Soft Matter Waseda Univ. (Shinjuku-ku, Tokyo)* 2014 年 1 月 27 日-28 日 (招待講演)
- ② H. Noguchi, “Entropy-driven aggregation in multilamellar membranes”, *International Soft Matter Conference 2013 (Rome, Italy)* 2013 年 9 月 15 日-19 日.
- ③ 野口博司, “生体膜の構造形成：空間拘束と高分子修飾”, *物性研短期研究会「エネルギーと新材料の物性・物質科学」*(東京大学、千葉県柏市) 2013 年 11 月 11 日-13 日 (招待講演)
- ④ 野口博司, “生体膜の形成する形態の多様性”, *HPCI 戦略プログラム分野 1 × 分野 2 シンポジウム「生体分子複合システムを計算する～相互作用は何をもたらすのか」*(名古屋大学、愛知県名古屋市) 2013 年 12 月 17 日 (招待講演)
- ⑤ 野口博司, “界面活性剤集合体の構造形成のシミュレーション”, *Workshop: CROSSroads of Users and J-JARC 第 10 回「生体膜・コロイド研究の最前線」*(いばらき量子ビーム研究センター、茨城県東海村) 2013 年 12 月 18 日-19 日 (招待講演)
- ⑥ 野口博司, “エントロピー駆動による膜間結合サイトの凝集体形成”, *国際高*

等研研究プロジェクト「分子基盤に基づく生体機能ネットワークとダイナミクスの解明」第 2 回研究会 (国際高等研究所、京都府木津川市)

2013 年 8 月 8 日-9 日

- ⑦ 野口博司, “生体膜の変形による BAR ドメインの凝集機構”, *日本生化学大会 (京都国際会館, 京都府京都市)* 2014 年 10 月 15 日-18 日 (招待講演)
- ⑧ H. Noguchi, “Self-assembly of banana-shaped proteins”, *Physics of Structural and Dynamical Hierarchy in Soft Matter (Univ. Tokyo, Tokyo)* 2015 年 3 月 16 日-18 日
- ⑨ H. Noguchi, “Membrane tubulation induced by banana-shaped proteins”, *第 53 回日本生物物理学会年会, (金沢大学, 石川県金沢市)* 2015 年 9 月 13 日-15 日
- ⑩ 野口博司, “高いトポロジー種数を持つ脂質ベシクルの形態転移”, *第 71 回日本物理学会年次大会 (東北学院大学, 宮城県仙台市)* 2016 年 3 月 19 日-22 日
- ⑪ H. Noguchi, “Shape transition of biomembrane induced by banana-shaped proteins”, *The 3rd International Workshops on Advances in Computational Mechanics KFC Hall (Sumida-ku, Tokyo)* 2015 年 10 月 12 日-14 日 (招待講演)
- ⑫ 野口博司, “タンパク質吸着による生体膜の形態変化”, *第 5 回ソフトマター研究会 (東北大学, 宮城県仙台市)* 2015 年 12 月 17 日-19 日 (招待講演)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

<http://noguchi.issp.u-tokyo.ac.jp/>

6. 研究組織

(1) 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

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：