

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 13 日現在

機関番号：12701

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2013

課題番号：25630076

研究課題名(和文) タンパク質の固有振動特性とマイクロセンサへの適用可能性

研究課題名(英文) Natural Vibration Analysis of membrane protein and applicability to micro-sensor

研究代表者

森下 信 (Morishita, Shin)

横浜国立大学・環境情報研究院・教授

研究者番号：80166404

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円、(間接経費) 930,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では動物細胞の膜上に存在するタンパク質を有限要素法によりモデル化し、固有振動解析を行うことでセンサとなるタンパク質の固有振動数と固有モードを求めることを試みた。タンパク質を失点系に置き換えて有限要素法により解析するために、質量の位置および大きさ、質点同士をつなぐ合成をデータとして与える必要がある。各原子の位置座標はタンパク質のデータバンクで講評されているのでそれを用いた。原子同士をつなぐ剛性については、分光分析による吸収スペクトルを参考に決定した。その結果、タンパク質の固有振動数と対応する固有モードを求めることができた。

研究成果の概要(英文)：Natural vibration analysis was conducted for a protein distributed on the surface of a cell as a sensor to get information around itself. The proteins sense mechanical stress, translate to the biochemical signal and response to the surrounding environment. The purpose of this research is to analyze dynamic characteristics of integrin by using FEM. Integrin is a kind of protein on the cell membrane, and has function as cell adhesion. The three-dimensional structure was modeled by a concentrated mass-spring system, and coordinates of each atoms were determined by protein database open to the public. The natural frequency and normal mode of integrin was calculated by the eigenvalue analysis in NASTRAN. The result showed that integrin had a wide range of natural frequency from several kHz to THz, and the corresponding natural modes, which revealed that one protein might sense wide range of frequency of vibration.

研究分野：工学

科研費の分科・細目：機械工学・機械力学・制御

キーワード：動的設計 タンパク質 固有振動解析 マイクロセンサ

### 1. 研究開始当初の背景

我々の身体を構成する細胞は約 60 兆個あるといわれ、身体の各部で細胞としての役割を果たすことで身体全体としての機能を保証している。ひとつの受精卵が分割を繰り返して身体の部位によって異なる役割が与えられるシステムは、生物学のみならず機械工学分野からみても参考になる点が多い。研究代表者は振動下での細胞培養研究を進めているが、実験的にある動物細胞に対して、ある周波数範囲を有する振動を加えることで、細胞数が振動を加えないグループと比較して 2 倍程度に細胞数が増加し、しかも重層化するという結果を得ている。この事実はすなわち、細胞が振動を検知するセンサを有することを意味する。細胞が周囲の環境を感知するセンサは細胞膜上のタンパク質であり、その動的特性を明らかにすることでセンサとしての感知範囲を明らかにし、さらに微小機械のセンサとしてのタンパク質応用を考えるに至った。

### 2. 研究の目的

本研究では動物細胞の膜上に存在するタンパク質を有限要素法によりモデル化を行い、固有値解析を行うことでセンサタンパク質の固有振動数と固有モードを求めることを目的としている。動物細胞は単体でも周囲の状況を把握し、そのセンサとしては膜上に存在するタンパク質であろうという知見が分子細胞生物学で得られている。タンパク質が把握した情報は細胞内部にカルシウムイオンの濃度として伝えられている。研究代表者はこれまでに振動下で細胞培養を行うことで、ある特定の振動数を中心に細胞数が有意に増加し、また細胞外基質の産生量も増えることを実験的に発見しており、その原因を固有値解析を用いて特定する。

### 3. 研究の方法

本研究では、動物細胞の膜上に分布して周囲の状況を把握していると考えられているインテグリンとよばれるタンパク質を汎用有限要素法プログラム NASTRAN によりモデル化して固有値解析を行い、固有振動数と固有モードを求める。タンパク質の構造は国際的なデータベースにより公表されているので、そのデータを利用して、各原子の位置座標を決定する。また各原子・分子の周囲にあるポテンシャルエネルギーの分布はこれまでの研究によりある程度わかっているので、その知見をもとに原子・分子間方向の剛性を算定する。さらに、これまで主として化学分野で分子構造を同定する際に用いている分光分析結果を用いて、その剛性の妥当性を検討する。分光分析は基本的に分子構造を同定するために固有値解析を行っており、自由度の少ない、つまり分子量の小さい分子ならば、原子量と位置関係がわかれば剛性を推定することが可能である。

### 4. 研究成果

#### (1) 膜タンパク質の概要

細胞はおよそ 50 ~ 100  $\mu\text{m}$  ほどの大きさを持っており、細胞膜によって細胞の内外を分けている。細胞膜は図 1 に示すような一方が親水性、他方が疎水性の分子がお互いに反対を向き合わせて並ぶ「脂質二重層」によって構成されており、厚さは 5nm ほどである。膜タンパク質はこの脂質二重層の中に浮いているような形で存在するタンパク質である。細胞膜によって、細胞内外の物質の出入りは制限されている一方で、膜タンパク質が細胞内外の物質透過や刺激伝達を行っていると考えられている。

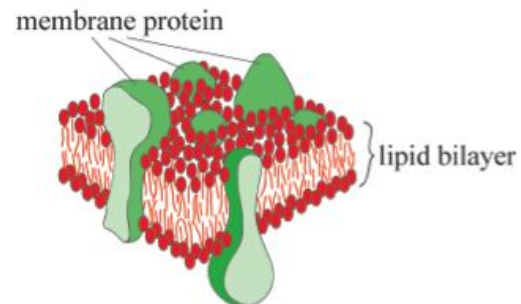


図 1 細胞膜の概念図

細胞は浮遊細胞と付着細胞に大別され、多くの細胞は細胞同士、あるいは細胞以外の組織に接着する付着細胞である。細胞と細胞の接着にはカドヘリンというタンパク質、細胞と細胞外基質と呼ばれる組織との接着にはインテグリンというタンパク質がそれぞれ大きな役割を果たしていることが知られている。図 2 にインテグリンによる細胞と細胞外基質との接着の様子を示している。

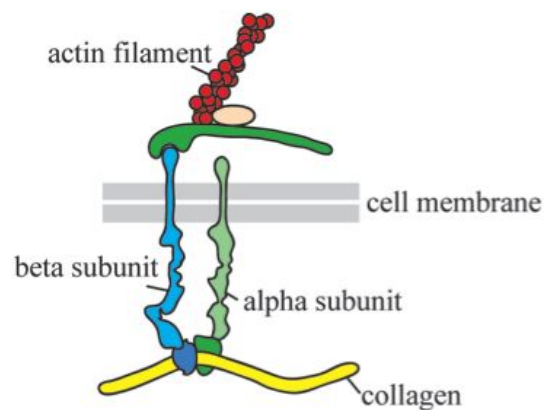


図 2 膜タンパク質の概念図

タンパク質はアミノ酸の配列(これを一次構造とよぶ)、アミノ酸の側鎖同士の結合によって形成される立体構造(二次構造)、二次構造が局所的に集合したサブユニットと呼ばれる 1 分子のタンパク質からなる三次構造、サブユニットが集合することで形成される

タンパク質もあり、これは四次構造とよばれている。インテグリンという膜タンパク質は、二つのサブユニットからなる巨大な分子である。インテグリンは、細胞の外側では細胞外基質中の線維状タンパク質のコラーゲンと結合し、細胞中では細胞骨格と呼ばれる細胞を力学的に支える骨格の役割を担っているアクチンフィラメントという繊維状タンパク質を係留している。基本的には細胞の外部からの力学的な刺激を細胞の外側に出ている膜タンパク質が受け取る。その際にタンパク質が変形して細胞内部に刺激を伝達する。その後、力学的な刺激はカルシウムイオンなどの生化学的な物質へと変換され、細胞内へ伝わっていくと考えられている。細胞膜上にあるタンパク質の種類は限られており、しかも細胞は力学的環境の中で様々な刺激を感知することが求められる。

### (2) 分子のモデル

一般に、分子は各種の原子から構成され、主に共有結合によって結合している。このような分子のモデル化については計算化学という分野が確立されており、構造を決定するに際して、分子のポテンシャルエネルギーを計算するために、分子軌道や電子密度等を計算する必要がある。これらを計算するためのモデルがいくつか既に提案されている。これらはいわゆる分子動力学的手法として理解することができる。しかし、分子動力学的手法によればポテンシャルが最小となる構造は同定できるが、外部から励起した電磁波による分子構造の応答などは計算量が極めて膨大になるために、実現するには困難が伴うと予想される。そこで、巨大なタンパク質分子を集中質量系に置き換えて、構造動力学に用いる解析法を適用するという考えに至った。構造解析に用いる固有値解析法を適用すれば、固有振動数と固有モードを求めることができる。

### (3) 有限要素法による数値計算結果

本研究では有限要素法を用いて分子のモデル化を行った。モデル化の対象としたのは、膜タンパク質として細胞外基質への接着を

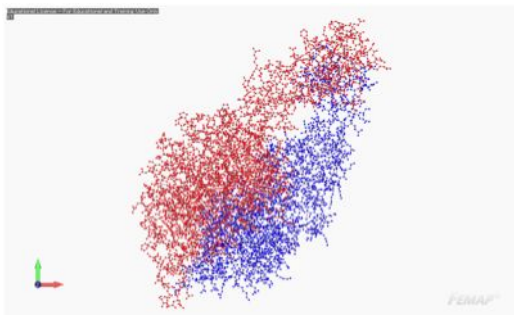


図3 インテグリンの分子モデル

役割とするインテグリンとよばれるタンパ

ク質である。集中質量系による分子モデルにおいては、分子を構成する原子を原子量に基づく質点で代表し、原子間の結合を弾性棒で置き換えた。結合の剛性は赤外線分光法による吸収スペクトルの結果<sup>(2)</sup>を参考にして縦弾性係数を決定した。図3に構築したインテグリンの分子モデルの概要を示す

このインテグリンの分子量は約 120,000 で、弾性棒で剛性を代表させたモデルの総自由度は 47,529 となっている。

固有振動数および固有モードの計算には、有限要素法のソルバおよび汎用プリポストプロセッサである Femap with NX Nastran を用いた。計算できる自由度の限度はコンピュータのメモリに依存し、本研究で扱うモデルの計算は十分に余裕がある。また固有値解析にはランチョス法を用いている。

本研究で対象としているインテグリンは、原子数がおよそ 8,000、分子量がおよそ 120,000 という巨大なタンパク質の分子である。計算結果からは、赤外線分光分析で明らかになっている 10~100THz の固有振動数が得られた。インテグリンのような巨大な分子でも、原子間の結合に関する固有振動数が、赤外線分光法によって明らかになっている値と比較してほぼ一致していることが確認できた。図4に、固有振動数と固有モードの一例を示す。

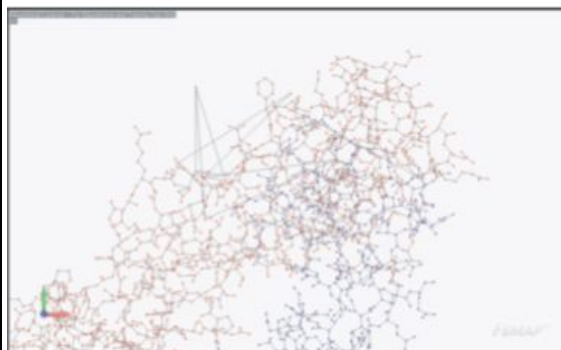


図4 振動モードの一例

固有振動数に対する固有モードを調べると、タンパク質の一部が振動している場合には THz のオーダーの固有振動数であり、タンパク質全体が揺れるような振動モードの対しては比較的低い固有振動数が得られている。今回の計算では、単にモードと振動数の関係が得られただけであるが、今後は細胞内部で行われているシグナル伝達と振動モードの関係についてさらに検討を重ねる必要がある。

### 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 0件)

〔学会発表〕(計 2件)

(1)永田稔,森下信:細胞の力学センサとしての膜タンパク質の固有振動解析,日本機械学会第26回バイオエンジニアリング講演会論文集, No.13-6, (2014) 1E23

(2)永田稔,松井和己,森下信:スマートセンサとしてのタンパク質の固有振動解析,日本機械学会機械力学計測制御部門講演会講演論文集(2013)#531

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

取得状況(計 0件)

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

森下 信 (MORISHITA SHIN)

横浜国立大学・大学院環境情報研究院  
・教授

研究者番号: 80166404

### (2)研究分担者: なし

### (3)連携研究者: なし