

膜貫通蛋白質の生体膜内での二次元拡散についての理論的研究  
 (豊技大院・工) 奥田将太郎, 墨智成, 関野秀男, 田中善喜

【研究背景・目的】

生体膜内で観測される膜貫通タンパク質の二次元拡散運動の遅延は、運動がしばらくの間コンパートメント中に囲い込まれるためであることが、実験により明らかになっている。また、アクチン線維の脱重合/安定化により、膜貫通タンパク質の運動が影響を受けることから、膜骨格による障害効果が膜貫通タンパク質の運動のコンパートメント化に深く関与していることが示唆される。これらの結果より、楠見らは膜骨格フェンスモデル(Fig.1 左)を提唱している [1]。また、楠見らは、細胞膜分子の拡散についても膜貫通タンパク質の場合と同じ方法で実験を行った。それにより、膜骨格に繋がっている膜タンパク質の存在によって、膜分子の運動がコンパートメント化されていることを見だし、アンカード膜タンパク質ピケットモデル(Fig.1 右)を提唱した [2]。以上の結果から、膜骨格によるフェンス効果のみならず、膜骨格に結合している膜タンパク質による障害効果も膜貫通タンパク質の拡散運動の遅延に寄与する可能性が示唆される。そこで、本研究では、膜貫通タンパク質の拡散過程をシミュレーションにより再現するため、膜骨格フェンスモデル及びアンカード膜タンパク質ピケットモデルを考慮した二次元格子モデルを構築し、得られた結果と実験結果との比較から、膜貫通タンパク質の拡散のメカニズムを明らかにする。

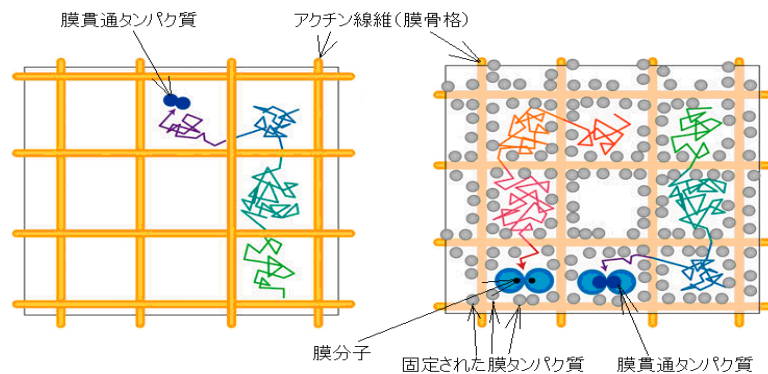


Fig.1 膜骨格フェンスモデル (左) とアンカード膜タンパク質ピケットモデル (右)

【理論・方法】

脂質二重膜内での膜貫通タンパク質の拡散を、二次元格子上的での粒子のランダムウォークとして表現した。膜骨格フェンスモデルにおける膜骨格をFig.2において、長さ $L$ の正方形のコンパートメントを形成する障害物としてモデル化した。また、アンカード膜タンパク質ピケットモデルのピケットをコンパートメントに沿って、不規則に配置された障害物(ピケット1つ分にあたる障害物の個数は9とし、その配置は時間変動しない)として表現した。さらに、脂質二重膜の揺らぎが誘起する膜貫通タンパク質の隣接コンパートメントへの遷移過程を、時間発展にともなう障害物の除去と再生の繰り返しとして、表現した。障害物の除去から再生までの時間を $t_L$ 、除去する障害物の個数の割合を $x$ 、配置が変わらない障害物の個数の割合を $y$ とした。 $t_L$ は膜の揺らぎの周期に対応している。 $x$ は膜の局所的な歪みによって生じる膜貫通タンパク質の通り道の箇所の割合と関係し、 $y$ はピケットが膜骨格を覆う割合に対応している。これら4つのパラメータ $L$ ,  $t_L$ ,  $x$ ,  $y$ を用いて、揺らぎが誘起するコンパートメント間の膜貫通タンパク質の遷移過程を表現する。

本研究では、時間とともに変動する障害物の下でのランダムウォーク過程を解析するために次に示す離散時間マスター方程式を用いる。

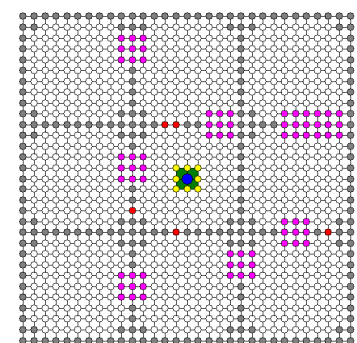


Fig.2 二次元格子モデル  
2枚目に続く

$$\begin{aligned} \frac{P_{n+1}(i, j) - P_n(i, j)}{\tau_0} &= \frac{1}{9\tau_0} \sum_{k=1}^3 \sum_{l=1}^3 P_n(i-2+k, j-2+l) e(i, j) \\ &+ \frac{1}{9\tau_0} \sum_{k=1}^3 \sum_{l=1}^3 P_n(i, j) [1 - e(i-2+k, j-2+l)] \\ &- \frac{1}{\tau_0} P_n(i, j) \quad (1) \quad e(i, j) \begin{cases} 1 & (i, j) \neq \Omega \\ 0 & (i, j) = \Omega \end{cases} \end{aligned}$$

$P_n(i, j)$ は格子に存在する粒子の確率分布を示す。また、障害物の有無を判別する関数として $e(i, j)$ を導入し、障害物が存在する場合はその値が0、存在しない場合は1とする。

実験により、コンパートメントの平均的な大きさが、正方形の1辺の長さ $L$ として見積もられているので、コンパートメント間を十分な回数、遷移した後に到達する拡散過程における拡散係数 $D$ を用いて、膜貫通タンパク質がコンパートメント内に滞在し、隣のコンパートメントへ遷移するまでの平均時間(平均居住時間) $\tau=L^2/4D$ を得ることが出来る[3]。時間軸(横軸)を $\tau$ で無次元化し、縦軸には平均自乗変位 $\langle r^2 \rangle$ を $4Dt$ で無次元化したグラフを結果として示す。完全な拡散過程に達すると縦軸の値は1となる。

### 【結果】

今回のシミュレーションでは、NRK細胞中のGmyc- $\mu$ OR分子を用いた実験結果[3]より、二次元格子のコンパートメントサイズ $L=21$ 、時間発展しない障害物の個数の割合 $y=0.3$ と定めた。膜骨格による障害効果を考慮した場合には、障害物の除去から再生までの時間 $t_L=10$ を設定し、時間発展にともなって配置が変動する障害物の個数の割合 $x$ の値をそれぞれ0.01, 0.02についてのシミュレーションを行った。さらに、同様の $L$ と $y$ において、膜骨格による障害効果を考慮しない場合のシミュレーションを行い、これらの結果をFig. 3に示す。結果の検証は、実験の $D_0/D$ の値(=12.57)[3]を参考にして行う。ここで、 $D_0$ はコンパートメント内を拡散している時の自由拡散係数を指す。

図より、いずれの場合も値が1に収束していることから、通常拡散に達していることがわかる。次に $D_0/D$ の値に着目してみると、 $x$ の値の増大にともない、すなわち、局所的に膜が歪む箇所の割合が大きい程、 $D_0/D$ の値が減少していることがわかる。さらに、実験の $D_0/D$ と比較してみると、膜骨格による障害効果を考慮しない、ピケット障害効果のみの場合の $D_0/D$ の値は、実験のものよりはるかに小さいことがわかる。したがって、ピケットによる障害効果だけでは、実験で観測された膜貫通タンパク質の拡散の遅延は説明出来ないと言える。一方で、膜骨格による障害効果を考慮した場合では、実験の値の $D_0/D$ の値に近い値となっている。これにより、膜貫通タンパク質の拡散の遅延は膜骨格とピケットによる障害効果で生じていると考えられる。

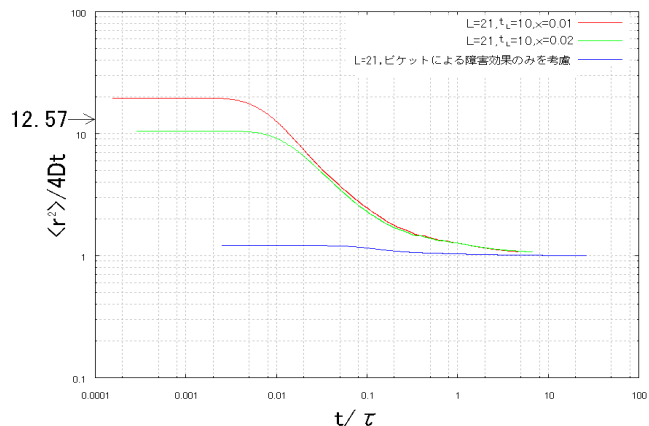


Fig. 3 膜骨格による障害効果の有無による比較

### 【まとめ】

- 異なる $x$ の値の比較より、脂質二重膜が局所的に歪みにくいほど、膜貫通タンパク質が受ける膜骨格による障害効果の影響は増大し、拡散係数 $D$ の値は小さくなる。
- $D_0/D$ の値の比較から、膜貫通タンパク質の拡散の遅延は、ピケットによる障害効果だけではなく、膜骨格による障害効果によって生じる。

### 【参考文献】

- [1] A.Kusumi, Y.Shirai, I.Koyama, K.Suzuki, T.Fujiwara FEBS Letters 584, 1814-1823 (2010)
- [2] [http://www.nanobio.frontier.kyoto-u.ac.jp/lab/abst/j/04\\_maku\\_tfujiwara.html](http://www.nanobio.frontier.kyoto-u.ac.jp/lab/abst/j/04_maku_tfujiwara.html)
- [3] K.Suzuki, K.Ritchie, T.Fujiwara, and A.Kusumi, Biophysical. J. 88, 3666-3673 (2005).