

## 巨大分子混みあいによる高分子のコンパクト化

高城史子<sup>A</sup>, 高田彰二<sup>A,B</sup> (科技団さがけ 21, 神戸大理)

タンパク質の折りたたみ、凝集等の性質を調べる際、*in vitro* の実験では、多くの場合、着目しているタンパク質のみを取り出して、比較的低濃度で実験が行われている。しかし、実際の細胞内は、様々な種類のタンパク質や、核酸、多糖類等の巨大分子が存在しており、これらは一種類ごとの濃度は低いものの、全体としては細胞の体積の 30 ~ 40% を占めている。近年、これら“巨大分子”が、着目している反応に直接は関与しなくてもその排除体積効果によって反応の平衡状態を変化させてしまうという可能性が指摘されており [1, 2], “巨大分子混みあい (macromolecular crowding)” として注目されつつある。実際、タンパク質の異常凝集体 “アミロイド”<sup>1</sup> 形成について、細胞内では *in vitro* の実験の低濃度でアミロイド化が起こることが知られており [3], 巨大分子混みあいによる影響を明らかにすることは、生体内でのタンパク質の性質を知る上で重要であると考えられる。

本研究では、まずは巨大分子の排除体積効果に焦点を絞り、相互作用が排除体積による斥力のみであるような polymer-colloid 溶液系の分子動力学シミュレーションを行い、polymer の平衡状態、ダイナミクスに与える crowding agent としての colloid の影響、また colloid 半径や体積占有率による変化を調べた。

polymer は bead-spring モデルで記述、半径  $R_a$  の monomer が自然長  $b$  のバネでつながれている 32-mer を考える (以下、 $R_a = 1$  とする)。colloid は、半径  $R_c$  の球で表わし、polymer-polymer, colloid-colloid, polymer-colloid 間の相互作用は排除体積による斥力のみとする。水中での polymer, colloid の運動においては慣性力は摩擦力に比べて無視できると考えられるので、系のダイナミクスは、過減衰 Langevin 方程式に従うものとして分子動力学シミュレーションを行った。

図 1 は、polymer の慣性半径の平均値  $\langle R_g \rangle$  を、colloid の体積占有率  $O_c$  の関数としてプロットしたものである。colloid 半径は、 $R_c = R_a, 2R_a, 4R_a, 8R_a, 16R_a$  の場合について計算を行った。図 1 より、 $O_c$  が大きいほど  $\langle R_g \rangle$  が小さく、つまり polymer がコンパクトになっていることがわかる。

巨大分子混みあい効果は、crowding agent の存在で着目しているタンパク質の到達可能体積が減りエントロピーが変化することによるとされている。しかし、実際に (エネルギー的な効果ではなくて) エントロピーによる効果であることを確認している例はないので、以下で、この系における colloid の系のエネルギー、エントロピーへの影響を見ることにする。

$R_g$  の関数としての系の自由エネルギーは、 $F(R_g) = -k_B T \ln P(R_g)$  で表される。但し、 $P(R_g)$  は  $R_g$  の分布関数である。 $F(R_g)$  と、シミュレーションより得られるエネルギー  $E(R_g)$  とから、エントロピーの  $R_g$  依存性  $S(R_g) = E(R_g) - TF(R_g)$  を得る。エントロピー、エネルギーについて、それぞれ colloid-polymer 系と polymer

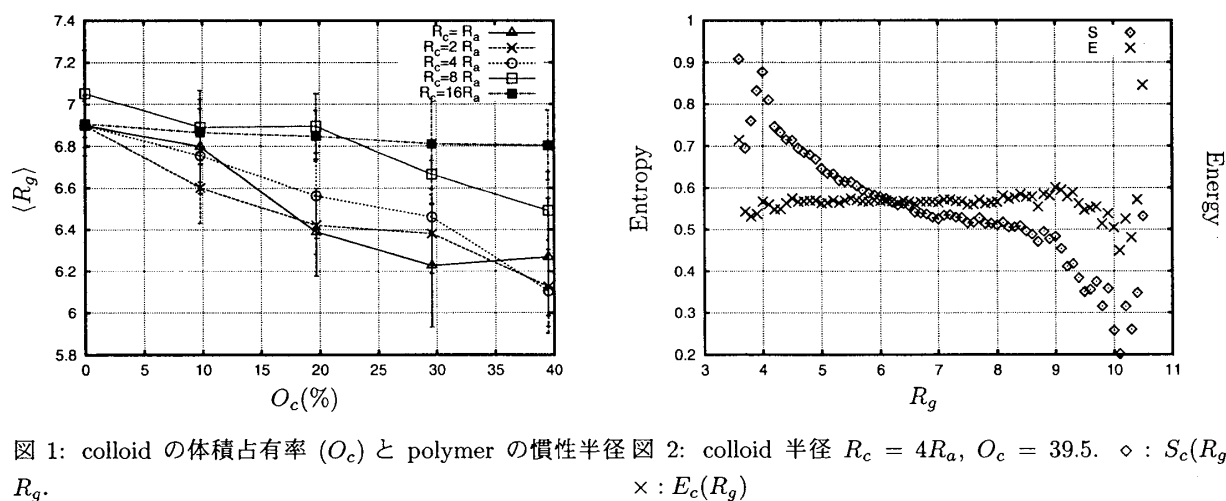


図 1: colloid の体積占有率 ( $O_c$ ) と polymer の慣性半径  $R_g$ . 図 2: colloid 半径  $R_c = 4R_a$ ,  $O_c = 39.5\%$ .  $\diamond$ :  $S_c(R_g)$ ,  $\times$ :  $E_c(R_g)$

<sup>1</sup>アルツハイマー、パーキンソン病等の疾病において形成される、タンパク質が繊維状に異常凝集したもの。近年、疾患とは関係のない、生体内では凝集しないタンパク質についても、環境 (pH, 温度等) を変化させることによりアミロイドが形成されるという報告が増えており、アミロイド化は疾病に関連した特定のタンパク質のみの特別な性質ではなく、タンパク質 (ポリペプチド) に一般的に見られる性質である可能性が高まっている。

のみの系の差をとることによって, polymer 分子内の構造エントロピー, 分子内のポテンシャルエネルギーを差し引き, colloid による効果を見た ( $S_c(R_g) \equiv S(R_g, O_c) - S(R_g, O_c = 0)$ ,  $E_c(R_g) \equiv E(R_g, O_c) - E(R_g, O_c = 0)$ ). 図 2 は,  $R_c = 4R_a$ ,  $O_c = 39.5$  の場合の結果である.  $E_c$  は  $R_g$  に依らず, ほぼ一定であるのに対して,  $S_c$  は  $R_g$  が小さいほど大きくなっていることがわかる. polymer がコンパクトになることによって, colloid や polymer 自身が到達可能な体積が増え, エントロピーが増加するものと思われる. これにより, colloid による混みあい効果, つまり polymer のコンパクト化は, colloid の polymer への衝突等によるエネルギー的な効果ではなく, エントロピー的な効果であることが示せた.

図 1 を見ると, colloid 半径が大きい時 ( $R_c = 16R_a$ ) には, コンパクト化の効果が小さくなっているのがわかる. colloid 半径が polymer に比べて非常に大きい極限 ( $R_c \gg R_g$ ) を考えると, colloid, polymer どちらにとっても到達可能体積は polymer の慣性半径に依らなくなり, colloid による混みあい効果はなくなるはずであるから, この  $R_c = 16R_a$  における結果は妥当であると考えられよう. では反対に  $R_c \ll R_g$  の極限ではどうなるだろうか? この場合, colloid が polymer 内部 (慣性半径内) に入りこめてしまうので, polymer がコンパクトになることによる colloid の到達可能体積の増加はなく, したがって混みあい効果によるコンパクト化は見られなくなるだろう. 図 1 で, colloid が小さい,  $R_c = R_a$  の場合を見てみると,  $O_c$  の大きいところで, polymer のコンパクト化が頭打ちになっているように見える. しかし, エラーが大きいので, これだけでははっきりとしたことは言えない. そこで, 同じ colloid 体積占有率  $O_c = 39.5$  で,  $R_c = R_a, 2R_a, 4R_a$  の場合の  $E_c$  を比べてみたところ (図 3),  $R_c = 2R_a, 4R_a$  の場合は上で述べたように  $E_c$  は  $R_g$  に依らないのに対して,  $R_c = R_a$  の場合には  $R_g$  が小さいところで  $E_c$  が大きくなっているのがわかった. すなわち, colloid 半径が小さい場合には, colloid の数が増えると polymer の慣性半径内に colloid が侵入していくため, polymer がコンパクトになるのをエネルギー的に阻害しているのがわかった. 実験により,  $R_c$  が polymer の慣性半径  $R_g$  と同程度のときに混みあい効果が大きくなることが示唆されており, 今回の結果はこれと矛盾しない.

以上, colloid による混みあい状態が polymer の平衡状態に与える効果について, 分子動力学によるシミュレーションの結果を用いて考察した. その結果, 混みあい効果によって polymer がコンパクト化されること, このコンパクト化はエントロピー的な力によるものであることが確認された.

ここまでは, polymer 内, 及び polymer 間の相互作用は斥力のみの場合を考えたが, 今後はよりタンパク質らしい, つまりコンパクトな構造がエネルギー的に安定であるような polymer を使い, colloid による混みあいが polymer の平衡状態に与える影響, また polymer 間の引力相互作用がある場合の凝集への影響を考えていく予定である.

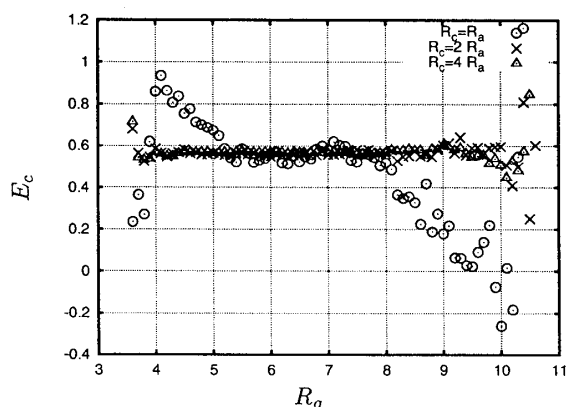


図 3: colloid 半径  $R_c = R_a(\circ), 2R_a(\times), 4R_a(\triangle)$  の場合の  $E_c(R_g)$ . 傾きを比較するために  $E_c$  は原点をずらしてある.

## 参考文献

- [1] A. P. Minton, J. Bio. Chem. 276, pp. 10577, 2001.
- [2] R. J. Ellis, TiBS 26, pp. 597, 2001.
- [3] J. D. Harper, P. T. Lansbury, Jr, Annu. Rev. Biochem. 66, pp. 385, 1997.