

# ナノメートル単位で任意にものを並べることができるか



徳永 史生\*

## Can anything be arranged on the basis of nanometer order

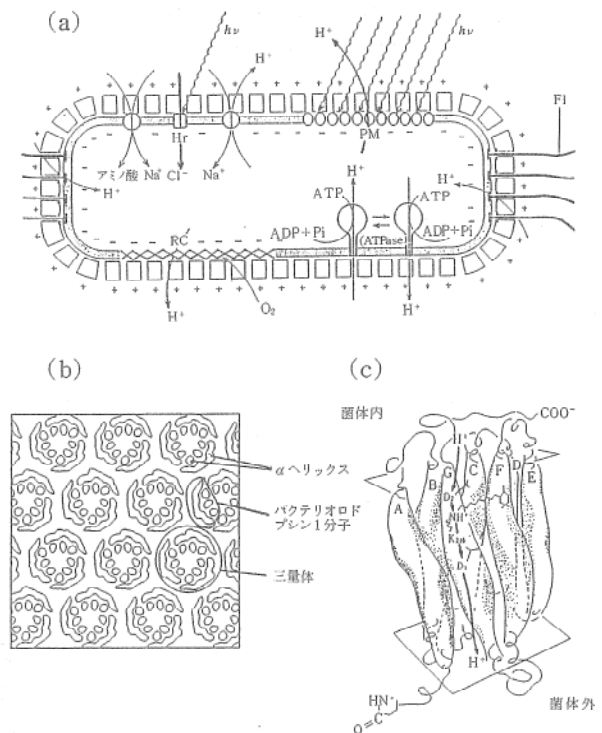
**Key Words** : Purple Membrane, Bacteriorhodopsin, Nanometer

### 1. はじめに

生物の演じる生命現象は多岐多様にわたっている。それを基本的な分子レベルの生理現象の組合せよりなると捉える。そしてさらにその生命現象を芝居に例えてみよう。そうすると、水と脂質(生体膜)からなる舞台の上で、核酸(遺伝子DNA)の台本に従って、役者であるタンパク質が演じる芝居というように見なせるだろう。生物の場合、核にある遺伝子DNAの情報に従って、粗面小胞体でタンパク質は合成されるが、合成されたタンパク質は働く特定の場所まで、移動し働いている。一般的にタンパク質の大きさや生体膜の厚さはナノメートル(nm,  $10^{-9}$ m)単位で、従って生体ではnmのスケールでうまく機能するように、特定の配列で並んでいるといえよう。人工的にはピエゾ素子の威力でÅ以下の距離が容易に制御できるようになり、原子を並べることができ、nm単位で任意にものを並べられる可能性が示されている。しかし、この技術で、機能性のあるものを並べ、機能させるには、温度などの物理的制約からどれだけまぬがれることができるか問題であろう。そこで生体材料を使って常温常圧で、nm単位で、ものを意図的に並べることができる可能性を示す1つの例について紹介したい。

### 2. 紫膜とバクテリオロドプシン<sup>1)</sup>

塩湖などの塩濃度が飽和するほど高いところに生息する高度好塩菌(Halobacterium halobium)は、細胞膜中にパッチ状に紫色の部分を持つ。その部分は紫膜と呼ばれている。



**図1** 紫膜及びバクテリオロドプシンの構造(徳永, 改変)  
 a. 高度好塩菌(Halobacterium halobium)の模式図。b. 紫膜中のバクテリオロドプシンの二次元結晶配列・c. バクテリオロドプシン分子中のαヘリックス(ABCDEFG)の配列模型。D1, D2はアスパラギン酸残基を、K216は発色団レチナールの結合しているリジン残基を、矢印は予想されるプロトンの通路を示す。



\*Fumio TOKUNAGA  
 1944年8月25日生  
 大阪大学卒業  
 現在、大阪大学理学部生物科放射生物学、教授、理学博士、生物物理学

紫膜は脂質と唯一種類のタンパク質バクテリオロドプシンからできている。BRは視物質に似ており、タンパク1分子当り1分子のレチナール(ビタミンAアルデヒド)を含んでいる。248のアミノ酸残基からなるポリペプチド鎖は膜を貫く7本の棒状の $\alpha$ ヘリックスに折れ畳まれており、レチナールを真中に包み込むようになっている。その $\alpha$ ヘリックスは、厚さ約4nmの脂質二重膜をほぼ垂直に貫いている。またバクテリオロドプシンは紫膜平面内で三量体を作り、その三量体がモチーフとなって六方格子の二次元の結晶をなしていることが明らかにされている(図1)。生体でバクテリオロドプシンは可視光を吸収し、そのエネルギーを使って水素イオンを、細胞内から外へ汲み出す。その結果細胞の内外に水素イオンの濃度勾配が出来る。すなわち、電気化学ポテンシャルが形成される。従ってバクテリオロドプシンは光電変換素子である。形成された水素イオン濃度勾配を使って、ATPaseはADPと無機リン酸から、生体の共通のエネルギー源であるATPを合成する。バクテリオロドプシンとATPaseの2種類のタンパク質で光エネルギーを化学的エネルギーに変換する。植物の光合成と比較すると、非常に単純な光合成系と見なせる。

### 3. アルコールによる紫膜の変性過程<sup>2,3)</sup>

ペプチド鎖が折れ畳まれて棒状の $\alpha$ ヘリックスを形成し、それが折れ畳まれてバクテリオロドプシンができる。バクテリオロドプシンは三量体なし、それが集まって二次元結晶の紫膜を作っている。階層構造を成している。一般にタンパク質は水素結合、静電的相互作用、疎水結合などによりその構造が保たれているが、紫膜の階層構造を安定に保っている力を知るために、アルコールによる紫膜の変性過程を調べた。

メタノールを紫膜懸濁液に加えると、紫色から赤みを増す。吸収スペクトルで見る(図2)と、510nm付近に等吸収点をもって、570nm付近の山の高さが下がり、短波長に移動する。さらに加えると、425nmに等吸収点をもって可視部の吸収が下がり、近紫外部に吸収が現れ、増大する。さらに加えると410nm付近に等吸

収点をもってスペクトルが変化する。紫膜にメタノールを加えて行くと2つの中間状態を経て

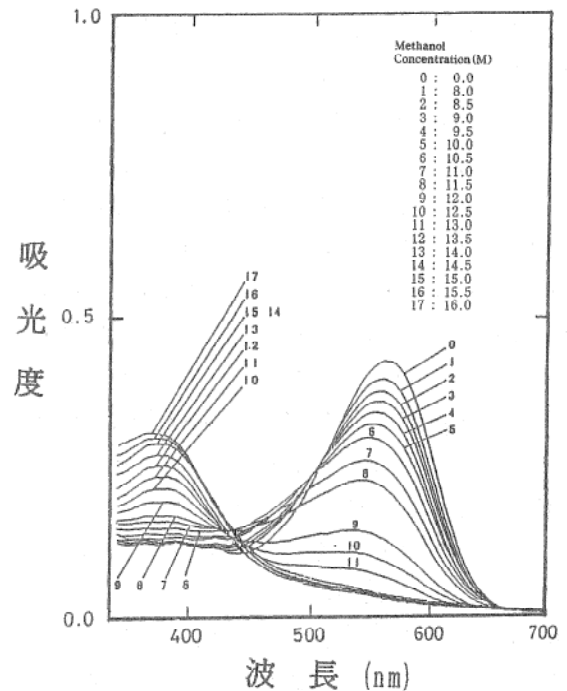


図2 メタノールによる紫膜変性に伴う吸収スペクトル変化。

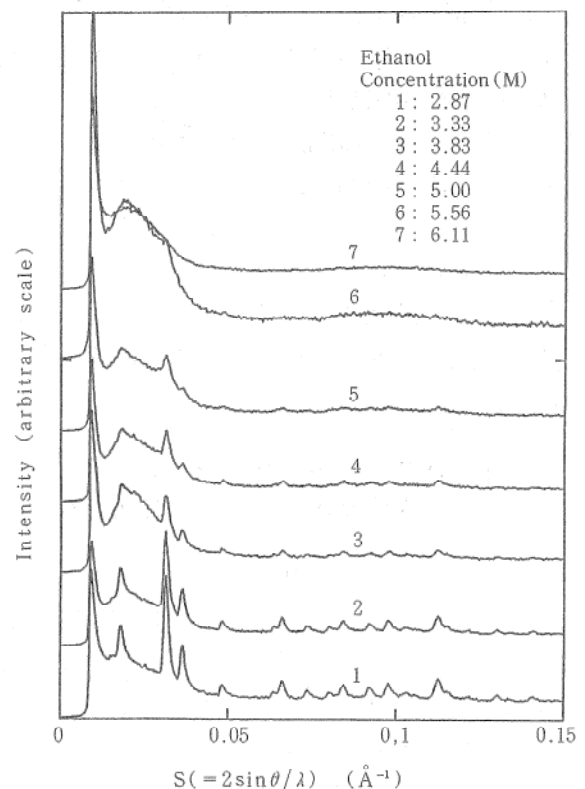


図3 エタノール・水混合液に懸濁した紫膜のX線回析パターン。

変性することが分かる。エタノール、プロパノール、ブタノールで実験をすると、同様な変化を起こすが、変化の起こる濃度に差があり、高級アルコールになる程、低濃度で起こり、膜への溶け込み易さと関係していることが分かる。これらの中間状態や最終状態の構造を知るために、X線回折実験を行った。

図3にエタノールの結果を示す。低濃度ではBraggピーク幅が広がり、結晶格子に乱れが生じることが分かる。さらに濃度を高くすると、Braggピークの消失が見られ、散漫な散乱になる。しかし三量体の形状因子と思われるピークが残る。さらに高濃度では、 $0.0955 \text{ \AA}^{-1}$ 付近に低いピークが残る、これは $\alpha$ -ヘリックス間の干渉に由来すると考えられる。エタノール、プロパノールについても、濃度の違いはあるものの同様な変化が見られた。

吸収スペクトル変化と上の結果、及びX線散乱パターンより求めた動径自己相関関数から変性過程の構造変化は次のように考えられる。低濃度領域では結晶構造の乱れと発色団レチナール近傍の小さな構造変化が起こる。中間濃度領域では結晶構造の消失、三量体の膨潤が起こる。しかし、三量体構造は残っている。高濃度領域では三量体の規則構造は消失するが、 $\alpha$ -ヘリックスは壊れず、その間隔の拡大が起こる。本実験で調べた濃度範囲では完全にペプチドがランダムコイルとなっていると思われるような状態を示す知見は得られなかった。

アルコール濃度を上げることによって、階層構造が段階的に壊れていくことを示唆する結果が得られた。

#### 4. 部分ペプチド断片からの バクテリオロドプシンの再構成

アルコールで変性させたバクテリオロドプシンを、レチナールを加えて適当条件で脂質小胞に組み込むと、バクテリオロドプシンの紫色は回復し、光反応性やプロトンポンプ活性も回復する<sup>6)</sup>。これは7本の $\alpha$ -ヘリックス(N末端側からヘリックスABCDEFGFと名付ける)の側面に特異な構造があり、隣合うヘリックスを選んでいられるものと考えられる。実際、ヘリックス

A, Bを化学的に合成し、それらと、バクテリオロドプシンから分離調整したヘリックスC-Gを用いて、適当な条件で膜を形成させると、紫色は戻り光反応性を回復する<sup>6)</sup>。プロトンポンプ活性はまだ測定していないが、これまでの他の条件での測定結果から判断して、活性も戻っていると推定される。X線回折を行うとBragg反射が確認され、二次結晶結晶も形成されていることを示している<sup>6)</sup>。

これらのことはバクテリオロドプシンの $\alpha$ -ヘリックスは側面が非常に特異的であり、隣合うヘリックスを選び、特異的相互作用をして安定化すると考えられる。

#### 5. おわりに

バクテリオロドプシンの場合、 $\alpha$ -ヘリックスが安定で、またその側鎖に非常に特異的な配列の組合せがあって、ヘリックスペプチド断片からバクテリオロドプシンが容易に再構成され、二次元結晶が形成されるが、その機構については現在研究中である。

バクテリオロドプシン全体やペプチドの一部を大腸菌に作らせることも出来る<sup>7)</sup>。部位特異的変異で、特定のアミノ酸残基を他のものと置き換えることができるので、特定の反応性を持つ残基(例えばSH基、イミダゾール基など)をヘリックスの端に付けることが出来る。そのようなものを用いて再構成した後に、それらに特異的に反応する基をもった任意のものを配列させることが出来る。将来更にこのヘリックス間の配列決定・維持の機構、三量体及び二次元結晶の形成機構が分かれば、それらを遺伝子工学的に改変すると、常温常圧でnm単位でものを任意に並べることが出来ることになる。

また紫膜は低電圧で容易に電気泳動し、表裏を揃えて積層する出来る。技術的には大変であろうが、原理的には、二次元に並べたものを積層すれば、nm単位で三次元に並べたものが出る。集積度は現在より $10^6$ 以上高めることになる。

色々技術的に問題は多いが、21世紀にはこのような集積度をもつデバイスが出現するであろう。

## 参考文献

- 1) 徳永, 久富 : PETROTECH 13, 247(1990)
- 2) F. Tokunaga, M. Nakasako, M. Kataoka, Y. Amemiya : PF Act. Rep.7, 125(1989)
- 3) F. Tokunaga, M. Kataoka, M. Nakasako, Y. Amemiya : PF Act. Rep.8, 297(1990)
- 4) K. S. Huang, H. Bayley, M. J. Liano, E. Kondon & H. G. Khorana : J. Biol. Chem. 256, 3802(1981)
- 5) M. Kataoka, T. W. Kahn, Y. Tsujiuchi, D. M. Engelman & F. Tokunaga : Photochem. Photobiol. in press.
- 6) T. W. Kahn & D. M. Engelman : Biochemistry 81, 6144 (1992)
- 7) S. S. Karnik, M. Nassal, T. Doi, E. Jay, V. Sgaramella & H. G. Khorana : J. Biol. Chem. 262, 9246 (1987)

