

1B05

グラミシジン A を添加した脂質二重層膜の分子動力学シミュレーション

(金沢大院・自然)

○ 齋藤大明, アチェププルコン, 川口一朋, 長尾秀実

【序】 膜タンパク質は生体膜における物質の選択的透過, シグナル伝達, エネルギー変換等の生体機能に直接関わる重要な生体分子であり, これらの機能は膜タンパク質を介したイオン・分子透過と密接な関係がある. 例えば, 抗菌性ペプチドとして知られるグラミシジン A は, 膜内において二量体を形成することによりカチオンを選択的に透過させるイオンチャンネルを形成する事が知られている[1]. これら膜タンパク質のイオン・分子透過機構の解明は, 生体内における膜タンパク質の機能理解のみならず, 創薬や新規ナノデバイスの研究・開発における重要課題である. 生体膜は脂質分子の種類やその混合割合によって, 膜内流動性やパッキング特性が大きく変わり, これにより膜タンパク質の構造特性や膜内安定性, イオン透過性も大きく変化することが知られている[1]. すなわち, 膜タンパク質は最適な膜溶媒環境下においてその特性を最大化させる「膜溶媒選択性」を有している. このことから, 生体内における膜タンパク質の機能解明には, 膜タンパク質だけではなく, タンパク質を取り囲む脂質二重層膜も含めた原子レベルでの動的構造や分子間相互作用特性の理解が重要である[1]. しかしながら, タンパク質-脂質二重層膜のような混合複雑系における実験観測の難しさのために, これら構造特性は未だ明らかではなく, 分子シミュレーションによる詳細な解析が望まれている. そこで本研究では, 様々な脂質膜環境におけるグラミシジン A および脂質二重層膜の動的構造の解析, グラミシジンの膜内安定性の評価を分子動力学シミュレーション計算により評価する. 膜環境の変化に対するこれらの特性の系統的変化を定量的に評価し, 生体内における膜タンパク質の脂質膜選択性やイオン・分子透過機構を明らかにする.

【方法】 本研究では, グラミシジン A の脂質二重層膜への添加効果の評価のために, 膜タンパク質-脂質二重層膜系の分子動力学シミュレーションを実行する. 具体的には, 膜溶媒である脂質分子のアシル鎖の長さを変え, グラミシジン A と脂質分子との疎水性相互作用マッチングを系統的に変化させた場合の分子動力学シミュレーションを実行させる. 本研究では4種類の長さの違う脂質分子 (DLPC; diC12:0-PC, DMPC; diC14:0-PC, DPPC; diC16:0-PC, DSPC; diC18:0-PC) を用い, これら脂質分子で構成される脂質二重層膜へグラミシジン A を添加させ, MD シミュレーションを実行する. MD 計算は等温・等圧条件下で行い, 分子力場は脂質/ペプチド系には CHARMM36 を, 水モデルには TIP3P を用いた. いずれの系の計算も 25ns までに構造が十分に平衡化している様子が示され, 15ns 以降のデータを構造や相互作用解析に用いた. 解析には脂質二重層膜の膜面積(A_{lipid})や膜厚(d_{p-p})および疎水鎖領域の厚さ(d_{co-co}), 脂質分子のオーダーパラメータ($-S_{CD}$)やアシル鎖のゴーシュ構造比(F_{gauche})を行った. また, グラミシジンのトリプトファン残基は周辺の脂質分子と水素結合することから, これら水素結合特性を動径分布関数の解析により評価する.

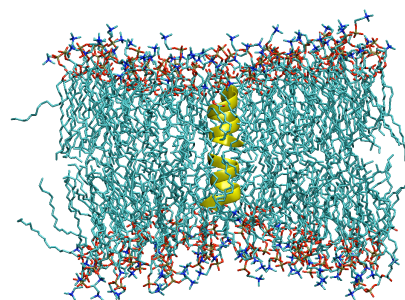
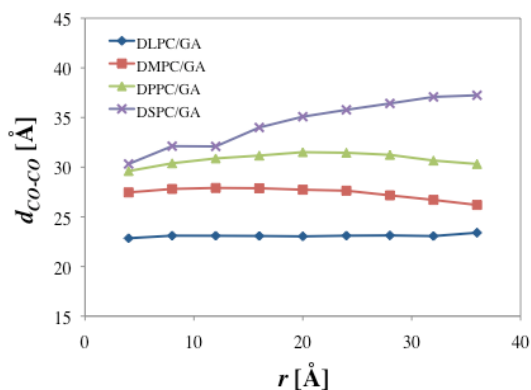


図 1. グラミシジンからの距離に対する疎水鎖厚の変化 図 2. DSPC/GA 膜のスナップショット

【結果と考察】 表 1 に各々の系における脂質膜の構造パラメータ(膜面積, 膜厚, 疎水鎖領域の厚さ, オーダーパラメータ, ゴーシュ構造比)を示す. グラミシジン添加効果の比較の為に, 表の括弧内にグラミシジン無しの系の値も示した. 解析の結果, 全ての系においてグラミシジン添加により膜面積は減少し, 膜厚と疎水鎖領域の厚さは増加する結果が示された. これは脂質分子のオーダーパラメータ増加やゴーシュ構造の減少による, アシル鎖の膜厚方向性の増加が原因と考えられ, 実験結果との良い一致が示されている[2]. グラミシジンとの距離に対する脂質の疎水鎖領域の膜厚の変化の様子を図 1 に示す. 図から明らかな様に, グラミシジンに近いほど膜厚の変化が大きい結果が示された. これはグラミシジンと周辺の疎水鎖領域の厚さの大きさのミスマッチングにより生じるものであり, 実際, DSPC/GA 膜の平衡状態におけるスナップショット構造(図 2)では DSPC 膜の膜厚はグラミシジン A の疎水鎖領域の厚さよりも十分大きいため, グラミシジン A 周辺の膜厚に大きなゆがみが生じていることが示された. 逆に DMPC 膜ではグラミシジンの疎水性コア領域とのマッチングが良く, グラミシジン添加による膜厚のゆがみはほとんど生じない結果が示された. これらの事から, グラミシジンは DMPC 膜において十分な安定が得られていると考えられる. 詳細は当日報告する.

【参考文献】

[1] Kelkar, D. A.; Chattopadhyay, A. BBA-Biomembranes 2007, 1768, 2011-2025.

[2] de Planque, M. R. R.; Greathouse, D. V.; Koeppe, R. E.; Schafer, H.; Marsh, D.; Killian, J. A. Biochemistry 1998, 37, 9333-9345.

| | DLPC | DMPC | DPPC | DSPC |
|-------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| A_{lipid} [Å ²] | 59.9 (62.6) | 58.9 (62.9) | 60.8 (62.7) | 61.5 (63.8) |
| d_{p-p} [Å] | 32.1 (31.3) | 36.3 (35.1) | 39.5 (39.2) | 42.9 (42.6) |
| d_{CO-CO} [Å] | 23.1 (22.6) | 27.8 (26.4) | 31.0 (30.5) | 34.6 (34.0) |
| $-S_{CD}$ | 0.18 (0.17) | 0.18 (0.17) | 0.18 (0.17) | 0.18 (0.17) |
| F_{gauche} [%] | 28.4 (29.2) | 29.5 (29.9) | 30.2 (30.7) | 30.9 (31.3) |

表 1. 膜構造パラメータ. 括弧内はグラミシジン無しの系の値