

2B03

## 脂質二重層膜におけるグラミシジン A の構造と圧力特性

(金沢大院・自然) 齋藤大明, 川口一朋, 長尾秀実

Structure and lateral pressure profile of lipid bilayer containing gramicidin A

(Institute of Science and Engineering, Kanazawa University) Hiroaki Saito, Kazutomo

Kawaguchi, Hidemi Nagao

【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。本研究では様々な脂質膜環境におけるグラミシジン A 分子動力学シミュレーションを行い, 脂質膜内におけるグラミシジンのチャンネル構造と圧力特性について解析した結果について報告する。

【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 2 種類の長さの違う脂質分子 (DMPC; diC14:0-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, 25ns 以降のデータを構造や圧力特性評価に用いた。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。分子動力学シミュレーションおよび圧力特性計算には NAMD2.7 を用いた。グラミシジンのチャンネル構造 (細孔半径) 解析には HOLE を使用した。

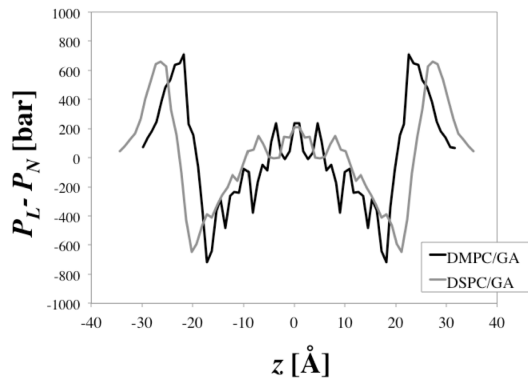


図 1. 膜厚方向に対する Lateral pressure profile.

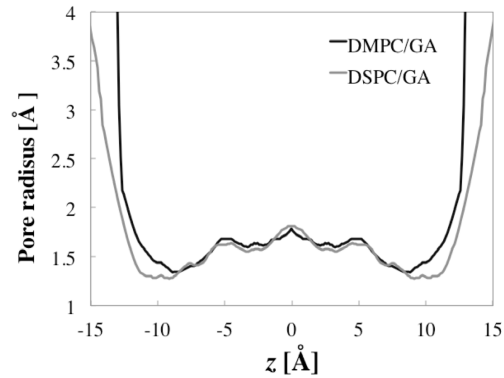


図 2. 膜厚方向に対する Pore radius profile.

【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, 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, 実験値との良い一致も示された[2].

図 1 に DMPC/GA, DSPC/GA 膜の膜圧方向  $z$  に対する Lateral pressure profile の様子を示す. 原点は膜中心、 $|z| < 15 \text{ \AA}$  は膜の炭化水素鎖領域に対応する。 $z = |20| \text{ \AA}$  (極性基領域付近)に観測される負の圧力は膜を側面方向に収縮する圧力に対応し、膜の疎水差領域付近や水和領域に見られる正の圧力は膜を拡張する方向に働く。グラミシジンに対しては正の圧力はグラミシジンの側面へのプレッシャーとして働く。2つの系の圧力特性比較の結果、膜の中心付近( $|z| < 8 \text{ \AA}$ )では2つの系の圧力に大きな違いが見られないのに対し、それ以外の膜内領域では DSPC/GA 膜の方が大きな圧力特性を示した。すなわち、DSPC 膜の方がグラミシジンへの側面圧力が高いことが示された。図 2 にグラミシジンの  $z$  方向に対する細孔半径の様子を示す。細孔半径は膜の中心付近では大きな違いが見られなかったが、チャンネルゲート付近( $|z| > 10 \text{ \AA}$ )では DSPC 膜内のグラミシジンの細孔半径の方が小さい値を示した。この違いは図 1 に示した DSPC、DMPC 膜における膜内圧力特性の違いから生じており、チャンネルゲート付近の細孔の縮小はイオン原子のゲートへのアクセシビリティの減少を示唆している。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.

	DMPC	DMPC/GA	DSPC	DSPC/GA
$A_{\text{lipid}} [\text{\AA}^2]$	62.9±1.1 (60.6)	58.9±1.1 (58.9)	63.8±1.3 (64.8)	61.5±1.6 (63.9)
$d_{P-P} [\text{\AA}]$	35.1±0.5 (35.3)	36.3±0.5	42.6±0.7 (41.5)	42.9±0.8
$d_{\text{CO-CO}} [\text{\AA}]$	26.4±0.4 (25.4)	27.8±0.5	34.0±0.6	34.6±0.7
$-S_{\text{CD}}$	0.17±0.01	0.18±0.01	0.17±0.02	0.18±0.01
$F_{\text{ gauche}} [\%]$	29.9±0.3	29.5±0.3	31.3±0.5	30.9±0.5
$A_{P-N} [\text{deg.}]$	60.8	60.9	62.3	61.6

表 1. 膜構造パラメータ. 括弧内は実験値