

3D10

脂質二重層膜におけるグラミシジン A の静電ポテンシャル特性と電場応答

(金沢大院・自然) 齋藤大明, 川口一朋, 長尾秀実

Electrostatic potential profile of lipid bilayer containing gramicidin A and its response to the change of electrostatic field

(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, 極性基付近の静電ポテンシャル特性が大きく変わり, これによりイオン透過性も大きく変化することが知られている[1]. 一方で, 生体内における膜タンパク質を介したイオン伝導は, 膜の上下のイオン濃度差による膜ポテンシャルにより起こる. 実験では電極による電位差の膜ポテンシャルを人工的に発生させることによりイオン伝導が観測される. 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, これらイオン透過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. そこで本研究では膜ポテンシャルを模した一様電場環境 (膜厚方向) におけるグラミシジン A の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チャネルの静電ポテンシャル特性とその電場応答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. 脂質分子は DMPC (diC14:0-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. 膜への電場効果は, 原子の部分電荷 q_i に膜厚方向への一様電場 E による力 ($F = q_i E$) を作用させることにより行った. いずれの系の計算も 50ns までに構造が十分に平衡化している様子が示され, 50ns 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}), 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. 静電ポテンシャルの計算は系の電荷分布に対するポアソン方程式を解くことにより評価した. 分子動力学シミュレーションには NAMD2.7 を用いた.

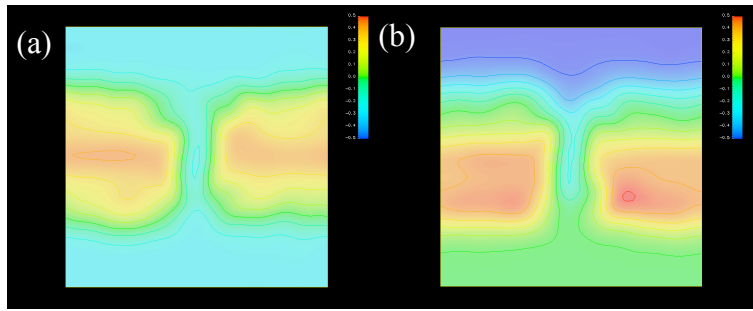


図 1. 膜厚方向に対する静電ポテンシャルマップ
(a) 膜ポテンシャル無し, (b) 膜ポテンシャル有り (500mV)

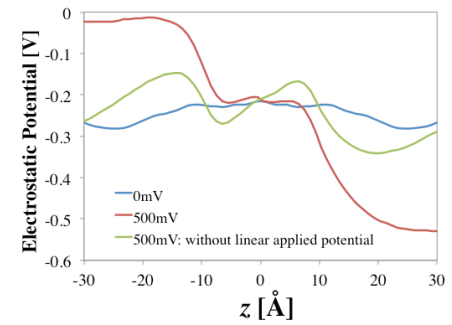


図 2. 膜厚方向に対する静電ポテンシャル特性

【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 にグラミシジンのイオンチャネルを通過する系の静電ポテンシャルマップ(YZ 面)を示す. 図 1 において, 正の静電ポテンシャルを示す赤-黄-緑色領域は膜の疎水鎖領域に対応しており, 緑-青色領域は膜の極性基や水和領域に対応している. グラミシジンの重心は図の中心に対応しており, 膜を通過する青色領域はイオンチャネル領域に対応している. これらの結果が示すように, カチオンはイオンチャネル内では静電的に安定であり, これらの静電特性がイオン透過の選択制に寄与していることが示された. 膜ポテンシャル(500 mV)を加えた系では膜の上下の水和領域において電位差が生じ, チャネル内部を通じたイオン透過経路の様子が示された. 図 2 にイオンチャネル中心を通過する膜厚方向に対する静電ポテンシャルプロファイルの様子を示す. 膜ポテンシャルが無い系(青線)では静電ポテンシャルに大きな変化がないのに対し, 膜ポテンシャルがある場合の静電ポテンシャル(赤線)では膜の水和領域やイオンチャネル内部の領域において平坦なポテンシャル値となる結果が示された. これは膜厚方向に対する電場に応答した, 水分子や脂質の極性基の再配向が原因であると考えられる. 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.

	DMPC	DMPC/GA	DMPC/GA/KCL
A_{lipid} [\AA^2]	61.4 \pm 1.0 (60.6)	59.8 \pm 1.4 (58.9)	59.3 \pm 1.2 (58.9)
d_{pp} [\AA]	35.8 \pm 0.5 (35.3)	36.1 \pm 0.6	36.2 \pm 0.6
$-S_{CD}$	0.18	0.19	0.19
F_{gauche} [%]	29.7	29.3	29.6
$A_{p,N}$ [deg.]	60.5	60.4	59.7

表 1. 膜構造パラメータ. 括弧内は実験値