

2P151

## 脂質膜における細孔形成過程の定量的解析法の探究

(名大院・工) ○宮崎 裕介、篠田 渉、岡崎 進

Exploring a quantitative analysis method of membrane pore formation

(Nagoya Univ.) ○Yusuke Miyazaki, Wataru Shinoda, Susumu Okazaki

### 【序】

脂質膜における細孔形成は、膜の物質透過性を向上させる役割を担っており、膜融合やドラッグデリバリーなどの物質輸送を伴う生物学、医学的に重要なプロセスと関係する。そのため、細孔形成過程の分子機構の定量的評価法を確立することは、それらのプロセスを解明する上で必要な課題となる。しかし、その分子機構の実験的評価は困難とされており、これは脂質膜に形成される細孔のサイズがナノメートル程度であることや細孔形成が発現する時間スケールがナノ秒～ミリ秒単位であること、細孔が準安定状態であることによる[1]。このナノスケールの現象を解析にする方法として、分子シミュレーションは有効であるが、生体膜系は多数の脂質分子とタンパク質で構成される複雑な系であるため、細孔形成過程に関する定量的評価法は確立されていない。そのため、膜の構造、構成と細孔形成に必要なエネルギーの関係は未だ不明のままである。

そこで本研究では、分子動力学シミュレーションを用いた自由エネルギー解析により脂質膜における細孔形成過程の定量的評価法を探索、確立することで、その分子機構の解明を目指す。

### 【方法】

細孔形成過程の自由エネルギー解析方法の確立にあたって、いくつかの反応座標を試行し、最小自由エネルギー経路をとる反応座標を見つける必要がある。そこで、最初の試みとして以下に示す反応座標を採用した[2]。

$$\xi = \frac{\Sigma - \Sigma_0}{N - \Sigma_0} \quad (1)$$

$$\Sigma = \sum_{i=1}^N \tanh(r_i) \quad (2)$$

$$r_i = \sqrt{x_i^2 + y_i^2} \quad (3)$$

式(1)の  $\xi$  は反応座標、 $N$  は脂質分子の疎水性粒子の数、 $\Sigma_0$  は式(2)で定義される  $\Sigma$  の平均値であり、式(3)の  $x_i$  と  $y_i$  は、それぞれ  $i$  番目の疎水性粒子の  $x$  座標と  $y$  座標である。この反応座標は、細孔形成の方法を規定しないという利点を持つ。

分子モデルには SDK 粗視化分子モデル[3]を採用し、解析する系として、ジミリストイル

ホスファチジルコリン(DMPC)分子 1152 個と粗視化水粒子で構成される脂質膜のみの系と、DMPC 分子 512 個と Melittin 分子 6 個と粗視化水粒子、塩化物イオン粒子で構成されるペプチドを含む系を用意した。Melittin 分子とは、ハチ毒由来の両親媒性ペプチドであり、PC 脂質分子膜に細孔を形成することが報告されている [4]。

分子動力学計算ソフトには LAMMPS を用いた。系の温度は 310 K、圧力は 1 atm に制御し、時間刻み幅は 10 fs とした。自由エネルギー計算は、アンブレラサンプリングと Weighted Histogram Analysis Method (WHAM)を用いて行った。

### 【結果・考察】

分子動力学計算の結果として得られた自由エネルギープロファイルを図 1 に示す。図 1 より、Melittin 分子を含む系の細孔形成自由エネルギーは、脂質膜のみの系のものより、約 22 kcal/mol 低くなることがわかった。つまり、Melittin 分子を系に導入することで細孔形成が生じ易くなった。しかし、得られた自由エネルギーは、 $\xi$  が大きくなると共に上昇している。これは、脂質膜に形成された細孔が維持されないことを示唆している。実験では、Melittin 分子により脂質膜に生じる細孔は準安定状態として観測されているため、得られた結果と一致しない。この不一致の原因の一つとして、現在の自由エネルギー計算では、脂質膜に関する反応座標のみで細孔形成エネルギーを記述しており、細孔形成分子である Melittin 分子の情報が含まれていないことが考えられる。そこで、今後は細孔形成分子の情報を取り入れた高次元の自由エネルギー解析も考慮して、細孔形成過程を記述するために適当な評価法を確立し、その分子機構を解明していく。

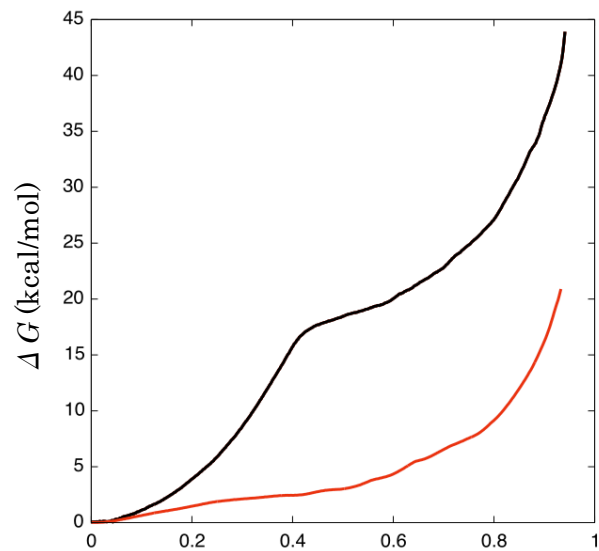


図 1 .細孔形成自由エネルギープロファイル

黒線：脂質膜のみの系

赤線：ペプチドを含む系

[1] S.A.Kirsch, R.A.Böckmann, *Biochem. Biophys. Acta*, in press (2016)

[2] T.V.Tolpekina, W. K. den Otter, W. J. Briels, *J. Chem. Phys.* **121**, 12060 (2004)

[3] Shinoda *et al.*, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **22**, 175 (2012)

[4] L.Yang, T.A.Harroun, T.M.Weiss, L.Ding, H.W.Huang, *Biophysical Journal*, **81**, 1475 (2001)