

3F10

肝臓細胞膜を模した脂質二重層膜の全原子分子動力学計算

(名大院工計算科学連携教育研究センター¹, 名大院工²) ○安藤嘉倫¹, 青木則之², 岡崎進^{1,2}

Molecular dynamics study of lipid bilayers modeling the plasma membranes of mouse hepatocytes and hepatomas

(CCS, Nagoya Univ.¹, Nagoya Univ.²) ○Yoshimichi Andoh, Noriyuki Aoki, and Susumu Okazaki

【序】細胞膜は両親媒性のリン脂質分子が水相中で自発的に形成する脂質二重層膜を基としている。本研究では細胞膜の物性を分子レベルから理解することを目的に、実際のマウス正常肝臓細胞および癌化細胞についてその細胞膜脂質組成を忠実に再現した混成脂質二重層膜を構築し、静水圧 P 温度 T 一定条件下で 300 ns の MD 計算を行った^[1]。以前に行ったマウス胸腺細胞およびその癌化細胞の細胞膜を模したモデル二重層膜についての MD 計算結果^[2]との比較についても行い、癌化による膜物性変化およびその細胞種依存性について考察した。

【計算方法】モデル二重層膜はコレステロール(CH)とリン脂質(PL)とのモル比の実験値^[3]を満たし、ホスファチジルコリン(PC), ホスファチジルエタノールアミン(PE), ホスファチジルセリン(PS), ホスファチジルイノシトール(PI), スフィンゴミエリン (SM), リゾ PC およびリゾ PS の組成比を実験値と同じとした。ここで PS および PI は一価のアニオン脂質である。その上でさらにアシル鎖脂肪酸の不飽和度および割合についても実験値を再現できるものとした(表 1 参照)。脂質組成を単層膜間で対称として、正常および癌化のモデル膜について二重層膜内での各脂質種の位置をランダムにとることで 3 通りの初期配置を用意した。原子数 N , $P = 1 \text{ atm}$, $T = 310.15 \text{ K}$ の条件下で 300 ns の MD 計算を行った。分子間相互作用を記述するポテンシャルモデルとして脂質分子には CHARMM36 を水分子には TIP3P を選んだ。Lennard-Jones 相互作用を 12 \AA でカットオフ ($8\text{-}12\text{ \AA}$ に switching 関数を適用) する一方、長距離 Coulomb 相互作用は PME 法により計算した。数値積分に RESPA 法、水素原子を含む化学結合長に拘束条件を取り入れることで時間刻み Δt を 2 fs とした

表 1：正常および癌化肝臓細胞膜を模擬した二重層膜の脂質組成。脂質分子数は単層あたり 64 個。計算系は水分子 6400 個、およびカウンターイオン Na^+ を含む (系の総電荷は 0)。丸括弧内は実験値^[3]。

System	CH/PL molar ratio	Mol% of fatty acid chain of PL		
		Saturated	Mono unsaturated	Poly unsaturated
Hepatocyte (正常)	0.78 (0.80)	57.6 (62.1)	11.9 (11.3)	30.5 (26.6)
Hepatoma (癌化)	1.0 (1.0)	52.7 (58.7)	12.7 (11.8)	34.6 (29.5)

表 2 : 250 ns 間の膜面積 S , 膜厚 h_l , 膜体積 V_l の平均値. χ_T^S は等温面積圧縮率.

System	$S / 10^3 \text{ \AA}^2$	$h_l / \text{ \AA}$	$V_l / 10^5 \text{ \AA}^3$	$\chi_T^S / \text{ m}^2\text{J}^{-1}$
Hepatocyte (正常)	2.73±0.01	41.6±0.1	1.14±0.01	1.7±0.3
Hepatoma (癌化)	2.68±0.01	40.6±0.1	1.09±0.01	1.2±0.1

【結果と考察】NPTアンサンブルでの50 nsの計算ののち膜面積および膜厚が平衡値に収束したことを確認し、つづく250 nsのトラジェクトリーを解析対象とした. 表2にあるように膜面積 S の平均値は癌化膜において2%減少し, S の揺らぎから計算される等温面積圧縮率 χ_T^S についても30%低下した. すなわち肝臓癌細胞膜モデルは側方向に収縮したより固い膜であるといえる. これら結果は先行研究^[2]での胸腺細胞癌化モデル膜の側方向への膨張および軟化と対照的であった. 図1に示す膜垂直方向(z 軸)に沿ったアシル鎖尾部C-Hボンドのオーダーパラメータプロファイル $S_{CH}(z)$ から, 単層膜の中央 ($5\text{ \AA} \leq z \leq 15\text{ \AA}$) において最も秩序が高く, 原子密度の低下する二重層膜の中央 ($z = 0\text{ \AA}$) で秩序が低い様子がわかる. 図中点線の癌化モデル膜

では水相側界面で若干の秩序低下が見られた. コレステロール濃度の増加は液晶相にある脂質膜の脂質尾部秩序度を増加させる傾向にあるが, 正常肝細胞モデル膜の時点でコレステロール濃度が十分高い(43.8mol%)ことでこの効果が飽和したためと考えられる. 図2は脂質種の区別無く計算した脂質分子重心間の側方動径分布関数 $g(r)$ である. 癌化モデル膜において $g(r)$ のピークはより高く側方向により秩序だった配置をしているとわかる. 同膜での S および χ_T^S の低下はこの側方向配置の秩序化が原因の一つである. 一方, モデル二重層膜の膜流動性を側方自己拡散係数 D_L と回転およびwobbleによる配向緩和の緩和時間 τ_{rot} , τ_{wob} から評価した. D_L は正常, 癌化モデル膜それぞれについて $2.8, 2.3 \times 10^{-12} \text{ m}^2/\text{s}$ であり, 後者はより側方向に流動性の低い膜とわかる. 剛直なステロイド骨格を持つコレステロール分子を対象に測定した τ_{rot} は 3.5 ns (正常) および 3.7 ns (癌化) であった. τ_{rot} については脂質種によって傾向は若干異なるものの, 膜の主成分たるリン脂質について8.1 ns (正常), 8.2 ns (癌化) であり, 配向緩和の観点からも肝臓細胞の癌化モデル膜はより膜流動性が低いことを明らかにした.

参考文献 [1] Y. Andoh, N. Aoki, and S. Okazaki, *J. Chem. Phys.*, **144**, 085104 (2016). [2] Y. Andoh, S. Okazaki, and R. Ueoka, *Biochim. Biophys. Acta-Biomembr.*, **1828**, 1259 (2013). [3] R.P. van Hoeven, P. Emmelot, *J. Membrane Biol.*, **9**, 105 (1972); *Biochim. Biophys. Acta*, **380**, 1 (1975).

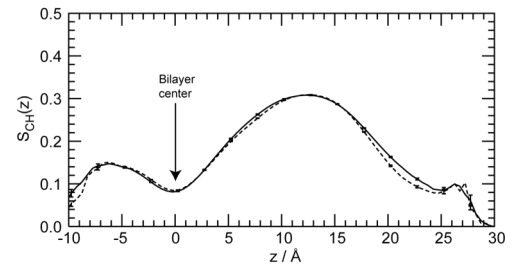


図 1 リン脂質尾部 C-H ベクトルのオーダーパラメータプロファイル. 同じ単層膜に属する脂質分子の平均. 実線: 正常, 破線: 癌化モデル膜 (図 2 に同じ).

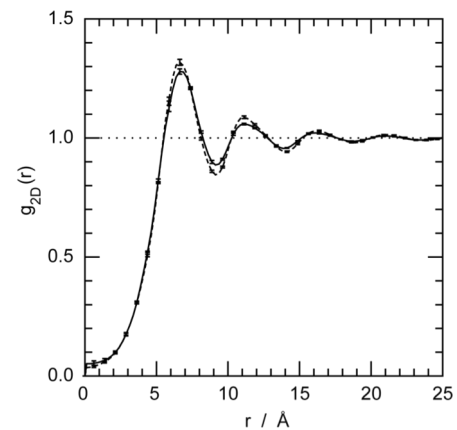


図 2 脂質重心間の側方動径分布関数.