

分子動力学法を用いたメリチンペプチドによる 膜細孔形成の自由エネルギー計算

名大院工

○宮崎裕介, 篠田渉, 岡崎進

Free energy calculations of melittin pore formation in lipid membranes with molecular dynamics

○Yusuke Miyazaki, Wataru Shinoda, Susumu Okazaki
Department of Chemistry, Nagoya University, Japan

【Abstract】 Membrane pore formation is included in many pivotal biological processes, membrane fusion, gene therapy and drug delivery. Understanding of the molecular mechanism is of interest in a wide range of biophysical problems. Melittin, an antimicrobial peptide, can form a transmembrane pore by self-assembly on membranes. Its pore formation process has been extensively studied by experiments and simulations. However, the relation between membrane structure and free energy of pore formation remains unclear. In this study, we focus on the pore formation process by multiple melittin peptides adsorbing to a lipid membrane. To quantitatively evaluate the process, we estimate the pore formation free energy in the presence of 4, 5 and 6 melittin peptides by using molecular dynamics simulations. From the results of our analysis, we reveal the stability of the pore formed by melittin peptides and the pore formation mechanism.

【序】 脂質膜における細孔形成は、膜の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。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による[1]。このナノスケールの現象を解析に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の理解は未だに乏しい。そこで本研究では、分子動力学シミュレーション(MD)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と分子機構の解明を行う。

【方法】 細孔形成過程の自由エネルギー解析では、以下に示す反応座標を採用した[2]。

$$x = \frac{S - S_0}{N - S_0} \quad (1) \quad S = \sum_{i=1}^N \mathring{A} \tanh(r_i) \quad (2)$$

式(1)の x は反応座標、 N は脂質分子の疎水性粒子の数、 S_0 は式(2)で定義される Σ の

平均値であり、 r_i は、それぞれ*i*番目の疎水性粒子と細孔中心間の膜平行方向距離である。

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(POPC)256分子からで構成される脂質膜の表面にメリチン 4/5/6 分子が吸着状態の系を用意した。メリチンとは、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[3]。力場には CHARMM36 を採用し、自由エネルギー計算は Umbrella sampling と Weighted histogram analysis method を用いて行った。

【結果・考察】自由エネルギー計算の結果を Fig. 1 に示す。Fig. 1 より、メリチン 5、6 分子系では $\xi \approx 0.85$ に極小が存在することが分かる。 $\xi \approx 0.85$ では、Fig. 2 のように完全に細孔が形成され、その細孔の縁にメリチンが吸着した状態となっている。メリチン 5、6 分子により細孔が形成された状態を初期配置として brute force MD を行うことで、それぞれの細孔が 1 μ s 以上安定に存在することが確認できた。これより、メリチン 5、6 分子により一旦細孔が形成されると非常に安定に存在することが示された。Fig. 1 の $\xi \approx 4.3$ は、細孔形成の遷移状態に相当するが、その自由エネルギーバリアは、メリチン 6 分子系で最も低く 3 kT 程度であることが分かった。メリチン 4、5 分子系の自由エネルギーバリアは、6 分子系のものよりも高い値を示している。つまり、細孔形成はメリチン 6 分子系で最も起こりやすいが、その系においても自由エネルギーバリアが存在する。これら自由エネルギー計算の結果より、メリチンによる細孔形成は少なくとも 6 分子のメリチンが必要とされ、それらが協同的に脂質膜に作用することで生じることがわかった。解析の詳細については、当日報告する予定である。

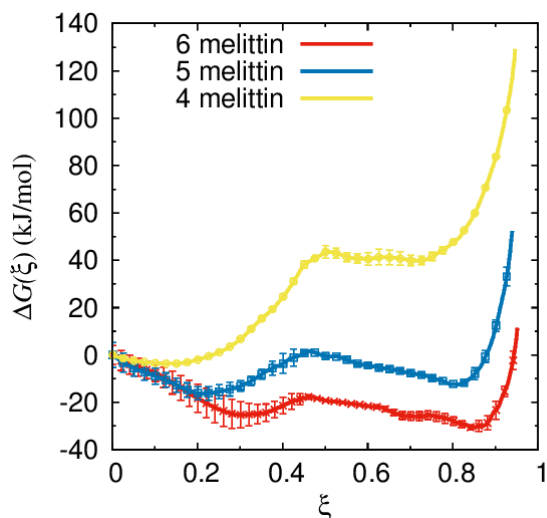


Fig. 1. Membrane pore formation free energy in the presence of multiple melittin peptides. Different colors show the number of melittin peptides contained in the calculation system.

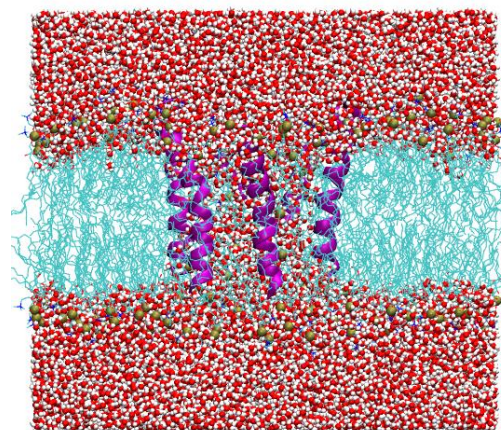


Fig. 2. Snapshot of a simulation. Melittin peptides adsorbing to the pore rim are perpendicular to the membrane. The radius of the pore is calculated to be 2.2 nm.

【参考文献】

- [1] S. A. Kirsch *et al.*, *Biochem. Biophys. Acta.* 1858, 2266 (2016)
- [2] T. V. Tolpekina *et al.*, *J. Chem. Phys.* 121, 12060 (2004)
- [3] L. Yang *et al.*, *Biophysical Journal*, 81, 1475 (2001)