

2D10

混合脂質膜における脂質分子の膜透過自由エネルギー曲線

¹理研・QBiC, ²産総研, ³北陸先端大, ⁴金沢大・理工
○齋藤大明¹, 森下徹也², 水上卓³, 川口一朋⁴, 長尾秀実³

Free energy profiles of lipid translocation across mixed lipid bilayers: a molecular dynamics study

○Hiroaki Saito¹, Tetsuya Morishita², Taku Mizukami³,
Kazutomo Kawaguchi⁴, Hidemi Nagao⁴

¹RIKEN, *Quantitative Biology Center (QBiC)*

²*National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST)*

³*Japan Advanced Institute of Science and Technology (JAIST)*

⁴*Faculty of Mathematics and Physics Kanazawa University*

【Abstract】 Addition of different lipids to membrane largely changes structural and dynamical properties of the membrane, and such changes affect the functions of membrane such as signaling and molecular translocation across the membrane. Especially cholesterol makes membrane dense and changes the state to the liquid-ordered phase above around 20 mol% of cholesterol. Such membrane condensing effect also occurs by adding other lipids; ceramide, diacylglycerol and sphingomyelin. However the differences of condensing effects by these lipids and the effects on molecular translocation like lipid flip-flop are not well known yet. In this study, we thus carry out molecular dynamics simulations of mixed binary POPC bilayers with cholesterol, ceramide, diacylglycerol and sphingomyelin and investigate the effects of these lipids on structure and dynamics of the POPC bilayer. From the structural analysis of these systems, we observed structural changes, which are related to the membrane condensing effect. We found that the strength of the condensing effect can be ranked as PSM < DAG < CER < CHOL. We also evaluate the potential mean force (PMF) of POPC translocation across the mixed bilayer by free energy calculations and discuss the differences of condensing effects on the lipid flip-flop in the membrane. The free energy barriers for lipid flip-flop were ranked as POPC \approx DAG \approx PSM < CER < CHOL, and the PMF barrier for lipid desorption were ranked as CHOL < CER \approx POPC \approx DAG < PSM.

【序】 生体膜への分子添加は膜内の構造や運動性を大きく変化させ、分子透過等の膜機能に大きな影響を及ぼす。特に、膜へのコレステロール添加は液晶相から凝集相 (liquid-ordered phase) への転移を引き起こし、分子透過特性が大きく減少することが知られている[1]。そのような膜の凝集効果はコレステロール以外の分子 (例えば、セラミド、ジアセलगリセロール、スフィンゴミエリン) を添加した場合にも生じることが知られているが、その凝集効果や分子機構は明らかではない。そこで本研究ではコレステロール、セラミド、ジアセलगリセロール、スフィンゴミエリンを含んだ POPC 混合脂質膜の分子動力学シミュレーションを実行し、これら混合脂質膜の構造・ダイナミクスの詳細を解析する。さらに、これら混合脂質膜における POPC の膜厚方向に対する自由エネルギー曲線を評価し、脂質の flip-flop や膜からの離脱 (desorption) 過程における分子添加の効果について検証する。

【方法】 始めに POPC を 128 個、水分子を 8192 個用いた POPC 脂質二重層膜を作成し、これを参照系とした。混合脂質膜は POPC 分子の代わりにコレステロール(CHOL),

セラミド(CER), ジアセルグリセロール(DAG), スフィンゴミエリン(PSM)を添加して作成した。分子濃度は全て 20 mol%とした。MD シミュレーションは全て定温・定圧条件下($T=303\text{K}$, $P=1\text{atm}$)で実行した。脂質の力場には CHARm36 を用い[2], 水のモデルは TIP3 を用いた。PMF 計算はアンブレラサンプリング法により評価した[3]。反応座標は z 軸 (膜厚方向) とし, POPC 脂質の P 原子を膜内中心方向に移動させた場合の PMF を膜透過(Flip-flop)の自由エネルギー曲線, 膜外方向に移動させた場合の PMF を POPC の膜からの離脱(desorption)エネルギー曲線と定義して計算を行った。MD・PMF 計算には GROACS5.2.1 を用いた。

【結果・考察】

表 1 に MD 計算から得られた各系における膜構造パラメータ (膜面積, 膜厚, オーダーパラメータ, 極性基の配向) の結果を示す。全ての系において分子添加により膜面積が減少し, 膜厚が増加する結果を得た。またそれに伴い POPC のアシル鎖の配向性も増加する結果が示された。これらの結果から分子添加による膜の凝集効果としては $\text{PSM} < \text{DAG} < \text{CER} < \text{CHOL}$ であることが示された。これらの凝集効果の違いは添加分子の構造や相互作用の違い (分子の剛性, 極性基の大小, 水素結合数の違い) によると考えられる。

図 1 に PMF 計算により得られた各系における POPC の膜厚方向に対する自由エネルギー曲線の結果を示す。自由エネルギー曲線の極小点は POPC の P 原子の膜内における平衡位置 (およそ $z=2\text{nm}$ 付近) に対応する。 $z=0$ では膜内中心の位置に対応する PMF 値 (Flip-flop 自由エネルギー障壁) となり, $z=4\text{nm}$ 以降は水バルク領域となり, PMF 値は POPC の膜系からの脱離 (desorption)エネルギー値に対応する。Flip-flop 自由エネルギー値の比較の結果, $\text{POPC} \approx \text{DAG} \approx \text{PSM} < \text{CER} < \text{CHOL}$ となった。これは CHOL や CER は膜の凝集効果により, 膜内パッキングが十分に増加したことが原因と考えられる。一方, DAG や PSM の PMF 値は $z=0$ 付近では POPC との大きな差は見られないが, $z < 2\text{nm}$ では POPC の PMF より増加する結果が示されている。一方, 膜からの脱離エネルギーを比較した場合, $\text{CHOL} < \text{CER} \approx \text{POPC} \approx \text{DAG} < \text{PSM}$ となる結果が示された。これは POPC の膜から離脱においては CHOL や CER はエネルギー障壁を減少させる効果があることを示している。これは POPC の脱離過程における水和による構造変化が関係していると考えられる。詳細は当日報告する。

	Area per molecule [\AA^2]	d_{NP} [\AA]	$-S_{CD}$	PN angle [deg.]
Pure POPC	63.5 (1.3)	39.1 (0.7)	0.15	69.5
POPC/CHOL20	51.8 (1.1)	43.3 (0.7)	0.21	54.8
POPC/CER20	57.4 (1.2)	41.9 (0.7)	0.18	53.5
POPC/DAG20	60.4 (1.3)	41.2 (0.7)	0.17	53.5
POPC/PSM20	61.8 (1.1)	39.1 (0.6)	0.16	77.8

Table1. Membrane structural parameters for mixed POPC bilayers

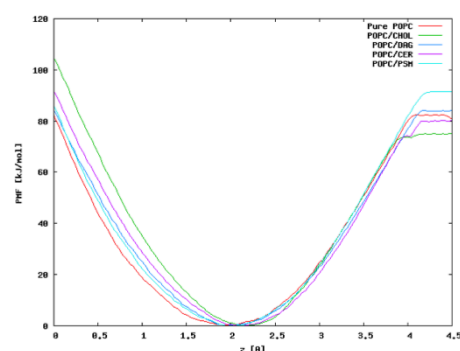


Fig 1. Free energy profile for mixed POPC bilayers

【参考文献】

- [1] Ohve-Rekilä, H.; Ramstedt, B.; Leppimäki, P.; Slotte, J. P. Prog. Lipid Res. 2002, 41, 66.
 [2] Jeffery B. Klauda, et al., J. Phys. Chem. B 2010, 114, 7830–7843.
 [3] Jochen S. Hub, Bert L. de Groot, and David van der Spoe, J. Chem. Theory Comput., 2010, 6 (12), pp 3713–3720.