

## 細胞膜の外単層膜と内単層膜間での膜物性の違いに関する研究

<sup>1</sup>名大院工, <sup>2</sup>名大院工 計算科学連携教育研究センター

○早川 志保<sup>1</sup>, 安藤 嘉倫<sup>2</sup>, 岡崎 進<sup>1, 2</sup>

### Molecular Dynamics Study on Differences in Membrane Properties Between Outer and Inner Leaflets of Cell Plasma Membranes

○Shiho Hayakawa<sup>1</sup>, Yoshimichi Andoh<sup>2</sup>, Susumu Okazaki<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup> Department of Materials Chemistry, Nagoya University, Japan

<sup>2</sup> Center for Computational Science, Graduate school of Engineering, Nagoya University, Japan

**【Abstract】** Cell plasma membranes (PMs) have different lipid composition between outer and inner leaflets. It is expected that physical properties of each leaflet could be different due to the difference in lipid compositions. However, the difference is not well understood because of the difficulty in measuring physical properties for each leaflet separately. In this study, we constructed two lipid bilayer systems modeling outer and inner leaflets of hepatocyte PMs which lipid compositions match their experimental values. By performing all atomistic molecular dynamics calculations under a biological temperature and pressure condition, differences in physical properties between outer and inner leaflet models were investigated. Compared to outer leaflet model, inner leaflet model has a bulky and soft structure and higher fluidity in the lateral direction. Furthermore, lipids have not only a strong structural correlation with lipids in the same leaflet but also with lipids in the opposite leaflet.

**【序】** 一般に細胞膜を構成する脂質二重層膜は細胞の外側と内側の単層膜でその脂質組成が異なる[1]。脂質組成の違いからそれぞれの単層膜の膜物性が大きく異なることが予想されるものの、単層膜ごとの物性測定の難しさからその実態はよくわかっていない。本研究では肝臓細胞の細胞膜を例に、外単層膜および内単層膜それぞれの脂質組成を模した混合脂質二重層膜モデルを構築し、生体温度・圧力条件下での全原子分子動力学計算を行うことにより、内外単層膜間での膜物性の違いを明らかにした。

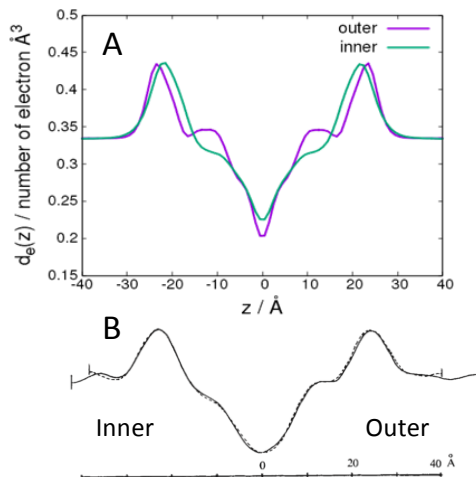
**【計算方法】** 外単層膜および内単層膜の脂質組成を模して構築したモデル二重層膜は、コレステロール(CH)とリン脂質(PL)とのモル比の実験値[2]を満たし、リン脂質として外単層膜にはホスファチジルコリン(PC)、スフィンゴミエリン(SM)、およびリゾ PC、内単層膜にはホスファチジルエタノールアミン(PE)、ホスファチジルセリン(PS)、ホスファチジルイノシトール(PI)、およびリゾ PS を考慮した[3]。その上でさらにアシル鎖脂肪酸の不飽和度および割合についても実験値[2]を再現できるものとした。それぞれのモデル膜について二重層膜内での各脂質種の位置をランダムにとることで3通りの初期配置を用意した。原子数  $N$ 、 $P = 1 \text{ atm}$ 、 $T = 310.15 \text{ K}$  の条件下で  $400 \text{ ns}$  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  $12 \text{ \AA}$  でカットオフ ( $8\text{-}12 \text{ \AA}$  に force 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。水素原子の関与する化学結合長に距離拘束条件を導入した上で RESPA 法により多段時間刻みでの運動方程式数値積分を行なった。MD 計算は高並列汎用分子動力学シミュレーションソフト MODYLAS[4]を用いて行った。

**Table 1.** Calculated structural membrane properties averaged over the last 350 ns. The error corresponds to the difference between maximum and minimum values calculated in the three independent MD calculations.

$S$ : membrane area,  $h_l$ : membrane thickness,  $V_l$ : membrane volume,  $\chi_T^S$ : isothermal area compressibility.

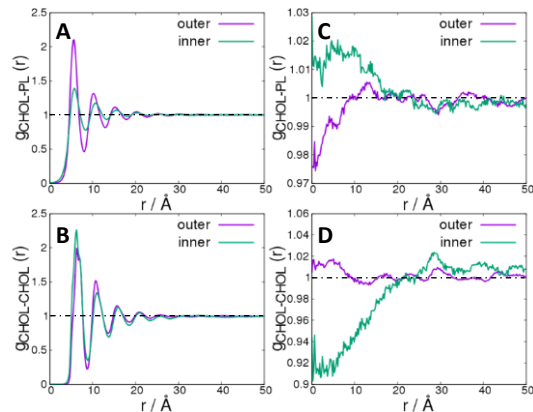
System	$S / 10^4 \text{ \AA}^2$	$h_l / \text{ \AA}$	$V_l / 10^5 \text{ \AA}^3$	$\chi_T^S / \text{ m}^2\text{J}^{-1}$
Outer leaflet model	1.04±0.04	46.6±0.2	5.09±0.03	0.85±0.08
Inner leaflet model	1.30±0.02	44.1±0.1	6.14±0.03	2.9±0.3

**【結果・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 350 ns のトラジェクトリーを解析対象とした。表 1 にあるように膜面積  $S$  の平均値は内単層モデル膜において外単層モデル膜の 1.25 倍、 $S$  の揺らぎから計算される等温面積圧縮率  $\chi_T^S$  については 3.4 倍となった。すなわち内単層モデル膜は外単層モデル膜にくらべより側方向に柔らかい性質を持つ。また図 1A に示すように膜垂直方向( $z$  軸)に沿って計算した電子密度プロファイルは外単層モデル膜において単層膜中央部に平坦域が現れる一方、内単層モデル膜では二重層膜中央に向けなだらかに減少し、実際の細胞膜(ミエリン膜)での X 線回折実験結果[5]と定性的に一致した。次に膜の側方向構造秩序をコレステロールと脂質尾部間側方動径分布関数  $g_{\text{CHOL-PL}}(r)$  およびコレステロール間側方動径分布関数  $g_{\text{CHOL-CHOL}}(r)$  から調べた。図 2A にあるようにおなじ単層膜内での  $g_{\text{CHOL-PL}}(r)$  のピークは外単層モデル膜において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。図 2B において  $g_{\text{CHOL-CHOL}}(r)$  のピークが内単層モデル膜においてより高いのは同単層膜内でコレステロールが局所的に集まっていることによる。一方、異なる単層膜間での脂質配置の相関を図 2C および図 2D において  $g_{\text{CHOL-PL}}(r)$  および  $g_{\text{CHOL-CHOL}}(r)$  から評価した。その絶対値は小さいものの  $r < 20 \text{ \AA}$  において正および負の相関が観測された。以上により、おなじ単層膜内でコレステロールと脂質尾部およびコレステロールどうしの側方配置は強い相関を持つだけでなく、反対側の単層膜とも相関があることを明らかにした。特に内単層モデル膜では異なる単層膜間でコレステロール側方配置に負の相関があり、片方の単層膜でコレステロールが存在する位置に反対の単層膜内のコレステロールは存在しにくく側方凝集が単層膜間で協同的に生じていることを示した。



**Fig. 1.** Calculated electron density profile (panel A), and electron density profile of rabbit optic (dotted) and sciatic myelin (solid) membranes by the X-ray diffraction[5] (panel B).

**【参考文献】** [1] 村松ら 訳「ヴォート 生化学(上)第3版」東京化学同人(2005). [2] R.P. van Hoven, P. Emmelot, *J. Membrane Biol.*, **9**, 105 (1972). [3] Y. Andoh, *et al.*, *Biochim. Biophys. Acta.-Biomembr.*, **1828**, 1259 (2013). [4] Y. Andoh, *et al.*, *J. Chem. Theory Comput.*, **9**, 3201 (2013). [5] D. L. D. Caspar *et al.*, *Nature New biology*, **231**, 46 (1971).



**Fig. 2.** Calculated lateral radial diffusion function between mass centers of cholesterol steroid ring and phospholipid acyl tails (Panel A and C), and between mass centers of cholesterol steroid rings (Panel B and D). Correlations in the same monolayer (panel A and B), and between two monolayers (panel C and D) were analyzed.