

脂質膜融合過程の自由エネルギー解析

¹名大院工

○篠田 渉¹, Sangjae Seo¹, 川本 周平¹

Free Energy Analysis of Membrane Fusion

○Wataru Shinoda¹, Sangjae Seo¹, Shuhei Kawamoto¹

¹Department of Materials Chemistry, Nagoya University, Japan

【Abstract】 Free energy barrier in the fusion process between two apposed lipid membranes has been investigated using coarse-grained molecular dynamics simulation. We particularly investigate the effect of membrane curvature and lipid components on the free energy barriers of the formation of stalk intermediate and of the fusion pore formation. We found that both of them do largely affect the free energy height. The free energy method we developed is also useful for the fusion of lipid droplet on the flat membranes. Our primitive analysis demonstrated that no change was seen in the stalk formation free energy barrier though a meaningful change was detected in the droplet expansion on the membrane.

【序】 膜融合は非常に重要な生体プロセスの一つであり、その全容を分子論的な解明することは大変挑戦的な課題である。生体膜で起こる膜融合現象には、融合タンパク質が必須であり、通常の脂質膜間の融合には大きなエネルギー障壁が存在する。しかし、単純な脂質膜といってもその構成分子は様々であり、脂質種やその構成比、さらに膜の曲率も融合自由エネルギーに大きく影響を及ぼすことが実験的に示唆されている。本研究は脂質間膜融合過程における自由エネルギー障壁を、分子動力学シミュレーションによって定量することを試みたものである。

膜融合を分子シミュレーションに扱うには2つの大きな障壁がある。一つは系の大きさの問題であり、特に曲率を持った脂質膜(リポソーム)を扱うには、少なくとも数百万原子系を扱う必要があり、その自由エネルギー解析は古典分子動力学法によっても満足な結果(収束値)を得ることが大変難しい。そこで、本研究では、構造や熱力学量に対して定量性を持つ粗視化モデル(SDK 力場)[1]を用いて計算を行うことでスケールの問題を解決している。もう一つの問題は、自由エネルギー解析における反応座標の取り方の問題である。この問題にユニークな解はおそらく存在しないが、我々は外場ポテンシャルを利用して、局所的な脂質界面位置を制御することによって、自由エネルギー解析を可能とした[2]。

本研究では、上記の手法を用いて、膜の幾何形状(曲率)や脂質の分子種の違いによる融合自由エネルギー障壁の差を明らかにする。また、その自由エネルギー差がどのような分子の挙動によって生じているのかを明らかにすることを目的とする。また、同様の自由エネルギー解析をリポソームではなく、脂質滴(lipid droplet)にも適用し、脂質滴の内包脂質の種類によって、融合自由エネルギー障壁の変化に及ぼす影響についても解析した。

【方法 (実験・理論)】

SDK 粗視化力場は、3つの重原子を一つの粒子としたレベルの粗視化モデルであり、流体の密度、表面張力などの熱力学量に加え、全原子モデルで得られた構造(分布関数)を再現するようにフィッティングされたものである。膜弾性係数もよく実験を再現することから、メソスケールでの膜の振る舞いを正しく記述できるモデルと考えられる。

自由エネルギー計算の方法は、簡単に述べると、図1のように2枚膜から外膜のみが繋がったストーク構造を経て、融合ポア形成へと膜の変形を起こすための外場を与え、その外場への応答として平均力を計算し、熱力学的積分法を用いて、自由エネルギーを求めた。

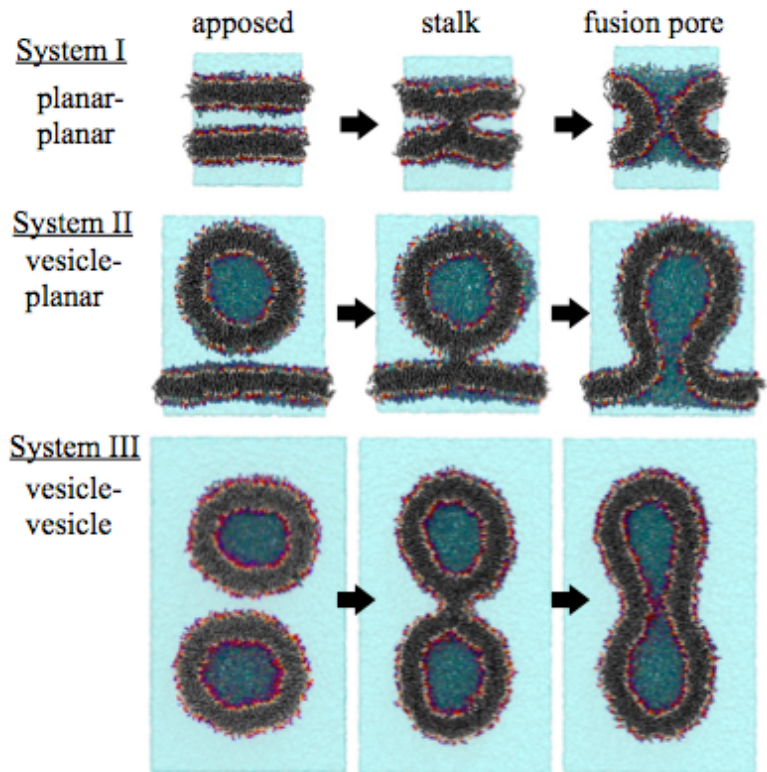


Fig. 1: Membrane fusion process along the stalk model for three different membrane systems.

【結果・考察】

図2には、3つの異なる形状の膜について、融合自由エネルギーの変化をプロットした。 λ は形状をコントロールするパラメータであり、図の3つのエネルギー極小位置に対応する構造が、それぞれ図1の3つの構造の状態である。すなわち、2つの膜から外膜のみが繋がったストーク状態へ転移するのにエネルギー障壁を一度越え、さらに融合ポア形成時にももう一度エネルギー障壁を乗り越える必要があることがわかる。また、自由エネルギー障壁は、膜の曲率(形状)によって大きく変わることがよくわかる。

同様に脂質種の変化によっても非常に大きな変化が得られている。特に膜の曲率と脂質構造は強くカップリングすることから融合自由エネルギーを左右する因子を議論する。脂質滴の平面膜への融合についても興味深い結果を得たため、当日の発表で議論する予定である。

【参考文献】

[1] Shinoda et al. *J. Phys. Chem. B.* **114**, 6836 (2010).

[2] S. Kawamoto & W. Shinoda, *Soft Matter*, **10**, 3048 (2014); *J. Chem. Phys.* **143**, 243112 (2015).

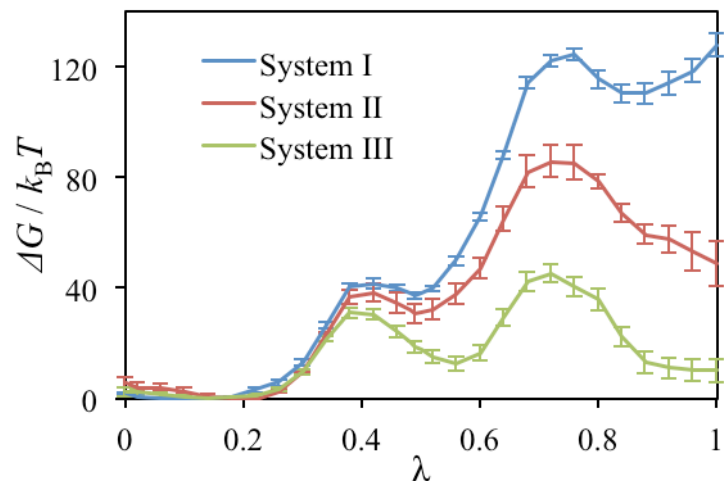


Fig. 2: Free energy profile along the stalk mechanism of membrane fusion.