

## リン脂質二重層のモレキュラーダイナミクス

大正製薬・総研 米田茂隆, 北村一泰  
東大・教養 楠見明弘

## 1. はじめに

Singer と Nicolson による生体膜のモザイクモデル<sup>1)</sup> はリン脂質の流動性を説明するために提唱されたもので膜研究に与えた影響は計り知れない。しかし、この流動性の問題は、機能との関連において、今日なお膜研究の重要な課題であり続けている。流動性はその主要成分であるリン脂質分子の集団的運動に起因すると考えられ、各分子は次の運動(変化)、即ち(i)分子内2面角の回転(ピコ秒)、(ii)分子長軸まわりの回転(ナノ秒)、(iii)面内の跳躍(ナノ秒~マイクロ秒)、(iv)膜面に対する傾き、(v)膜面間の反転(時~日)等、を行うことが、種々の分光学的研究によって確かめられている<sup>2)</sup>。しかしながら、流動性の構造的仕組みについての理解を深めるには、リン脂質分子の運動を力学的(分子間相互作用)に把握する必要がある。その手段の1つとして、1980年頃からリン脂質二重層膜の分子動力学(MD; Molecular Dynamics)シミュレーションが試みられ始めた。例えば、Ploeg と Berendsen<sup>3)</sup>は、デカノン酸の二重層膜(2×16=32分子)について80psecのMDシミュレーションを行いアルキル鎖の集団的傾き運動を再現した。また、Pasterら<sup>4)</sup>はDPPC(Dipalmitoyl Phosphatidylcholine)のBrownian MDを行い、オーダーパラメータ(アルキル鎖の乱れの程度を表す測度)についてH<sup>2</sup>-NMRから得られた実験値<sup>5)</sup>とよい一致をみている。しかし、これらのシミュレーションは、真空中での計算であり、またヘッドグループ(リン脂質分子の親水基部分)には動かないように束縛をかけてシミュレーションの系をかなりモデル化している。

そこで、我々は、DMPC(Dimilistoyl Phosphatidylcholine)二重層・水系について、可能な限り現実性をもつMDシミュレーションを計画し現在その途中である。ここでは、210<sub>psec</sub>のシミュレーションで得られたリン脂質分子の運動について描写してみたい。

## 2. DMPC二重層膜・水構造のモデリング

(初期構造の作成)

現在、2種類のリン脂質について二重層の結晶構造が報告されている(アルキル鎖のコンホメーションはすべてトランス型である)。DMPCの場合、結晶構造<sup>6)</sup>は非対象単位内に2つの分子を含み、空間群はP2<sub>1</sub>であるが、原子座標は公開されていない。そこで、初期構造作成に当って、ヘッドグループのコンホメーションとしてDLPE<sup>7)</sup>(Dilauroyl Phosphatidylethanolamine)のそれを採用し、アルキル鎖のコンホメーションにはトランス型を仮定してDMPC分子を作成した。次に、その分子にP2<sub>1</sub>の対象操作を施して、2×4×7=56個のDMPC分子からなる二重層膜の構造を作成し、さらに膜面に対して各分子を30°傾けた。これはゲル相中のphosphatidylcholine分子は膜面に対し大きな傾き角(~35°)を持つからである<sup>8)</sup>。最後に、膜の両面に10Åの水の層を付加した(DMPC分子と接触する水は排除した)。水分子は膜外に1117個、膜内(疎水領域)に80個ある。

## 3. MDシミュレーションの条件

上述した初期構造に対して3次元の周期的境界条件を設定し、定圧(P=1.0 atom)、定温(T=363K)のMDシミュレーションを実施した。その際、プログラムはAMBER<sup>9)</sup>を使用し、エネルギーパラメータはOPLS<sup>10)</sup>を採用した。363Kという高温条件を設定した理由はリン脂質分子の運動を過激にしてシミュレーション時間の節約を図ったためである。なお、モデル系の構造的歪を解消するために363Kの定温シミュレーションに先立って40psec(330K)の平衡化計算が行われている。

## 4. DMPC二重層膜・水系のエネルギー変化

上述した条件下でシミュレートされたモデル系は現在210psecの状態にある。ここでは、シミュレーションの過程で得られたモデル系の状態変化についてのべる。

図1は、系のポテンシャルエネルギーの変化を示したものである。まず、ポテンシャルは0-50psecの間で、加熱(330→363K)により増加する。これは、系が統計力学的にキャノニカル集団であるため吸熱過程を反映しているからである。その後、ポテンシャルは減少

## Molecular Dynamics of Phospholipid Bilayer

Shigetaka YONEDA, Kunihiro KITAMURA

Research Center, Taisho Pharmaceutical Co. Ltd.

Akihiro KUSUMI

Department of pure and Applied Sciences, College of Arts and Sciences, University of Tokyo

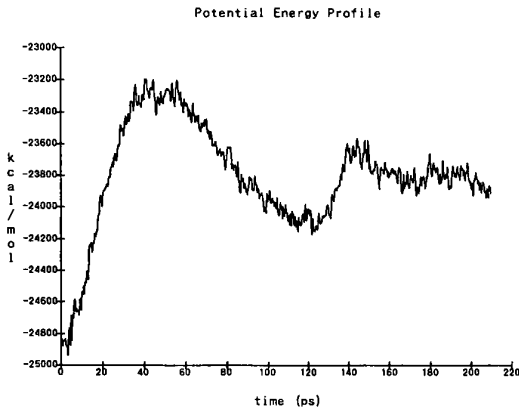


図1. DMPC二重層膜・水系の低温・定圧MDシミュレーションによるポテンシャルエネルギーの変化。

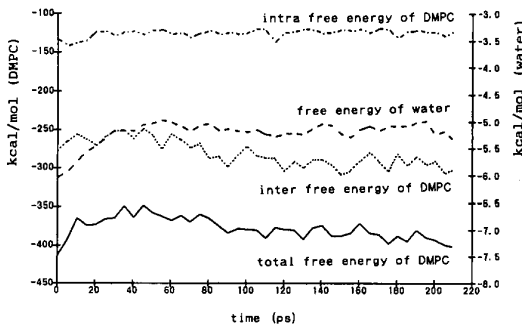


図2. DMPCと水分子の自由エネルギー変化。

(60-120psec), 即ち発熱過程を経て, 150psec 付近からある熱平衡状態に入っている (図2の水とDMPC分子の全自由エネルギーを参照). ところで, 60-120psecの発熱過程であるが, これは, 図2に示したようにDMPC分子の外部自由エネルギーが60psec 付近から減少すること (内部自由エネルギーはほぼ一定), また水分子が60psec 付近で疎水領域→親水領域への移動を開始すること (図3参照) などから, 両分子の空間的配置変化を反映した結果である.

### 5. DMPC二重層膜・水系の構造変化

リン脂質二重層膜の構造変化を視覚化することは, 膜の研究に対して何らかの情報を提供するものと思われる.

図3に, 0, 60, 120, 210psec における二重層膜構造

のスナップショットを示した. 時間の経過と共に構造が不規則になっていく様子がうかがえる. ヘッドグループは, 興味あることに, 膜面の垂直方向へかなりの程度 (約10Å) 動くことが可能であり, また, 疎水領域を形成するアルキル鎖を見ると, 所々でキンクしている様子が観察される. 210psecの構造ではアルキル鎖1本当たりのキンクの割合は15%である. この値はDPPCの実験値<sup>11)</sup> (20~30%) に比べて若干少ないがDMPCはDPPCより炭素鎖が短いこと, 及びシミュレーション時間が少し短いためと考えられる. 図4には, ヘッドグループとアルキル鎖の易動性を知るために, リン原子とアルキル鎖の末端炭素原子の動径分布を示した. 定性的ではあるが, これらのパターンは液体の場合と類似しており, DMPC分子は動きやすい状態にあることを示している.

図3の右端には, 疎水領域の水分子の位置を示すためのスナップショットが示されている (DMPC分子は省略). 興味ある点は, 膜面に向かって列をなしている水の集団が観察され, 時間の経過と共に, 水分子が順次親水領域へ移動する様子がみられることである. この現象はイオンや低分子の膜内外への移動の構造の様子を示唆するものと筆者らは考えている.

図5は, DMPC分子の面内回転の様子を調べるために, グリセロール部分のC2原子-O21原子間ベクトルを膜面に射影したものである. 各ベクトルは回転方向を示すために「」で表現されている. 半数の分子が回転しており, 90°近い回転角を示す分子の存在も観察される. ところで, 蛍光の偏光度の測定からDPPC分子は結晶状態で約20°, 結晶状態で約70°の回転角を持つことが知られている<sup>12)</sup>. 両値と比較した場合, 210psecの構造の回転角は, 結晶状態よりは大きく液晶状態よりは小さい. これは回転運動がナノ秒のスケールで起こるためシミュレーション時間がまだ足りないためと思われる. 従ってモデル系はまだ両相の間にあるかもしれない. 図5はまた, DMPC分子の膜面上での配置を示している. 明らかに各分子は格子点からズレ始めており, 特に丸で囲んだ分子は大きく移動している. これらの分子は面内跳躍運動の途中にあるかもしれない, 今後のシミュレーションで確かめてみる必要がある.

### 6. おわりに

以上, DMPC二重層膜・水系について, 210psecのMDシミュレーションで観察された特徴について記述した. 時間をかければ, リン脂質分子の面内跳躍運動まではシミュレート可能であると思われる. 今後もシ

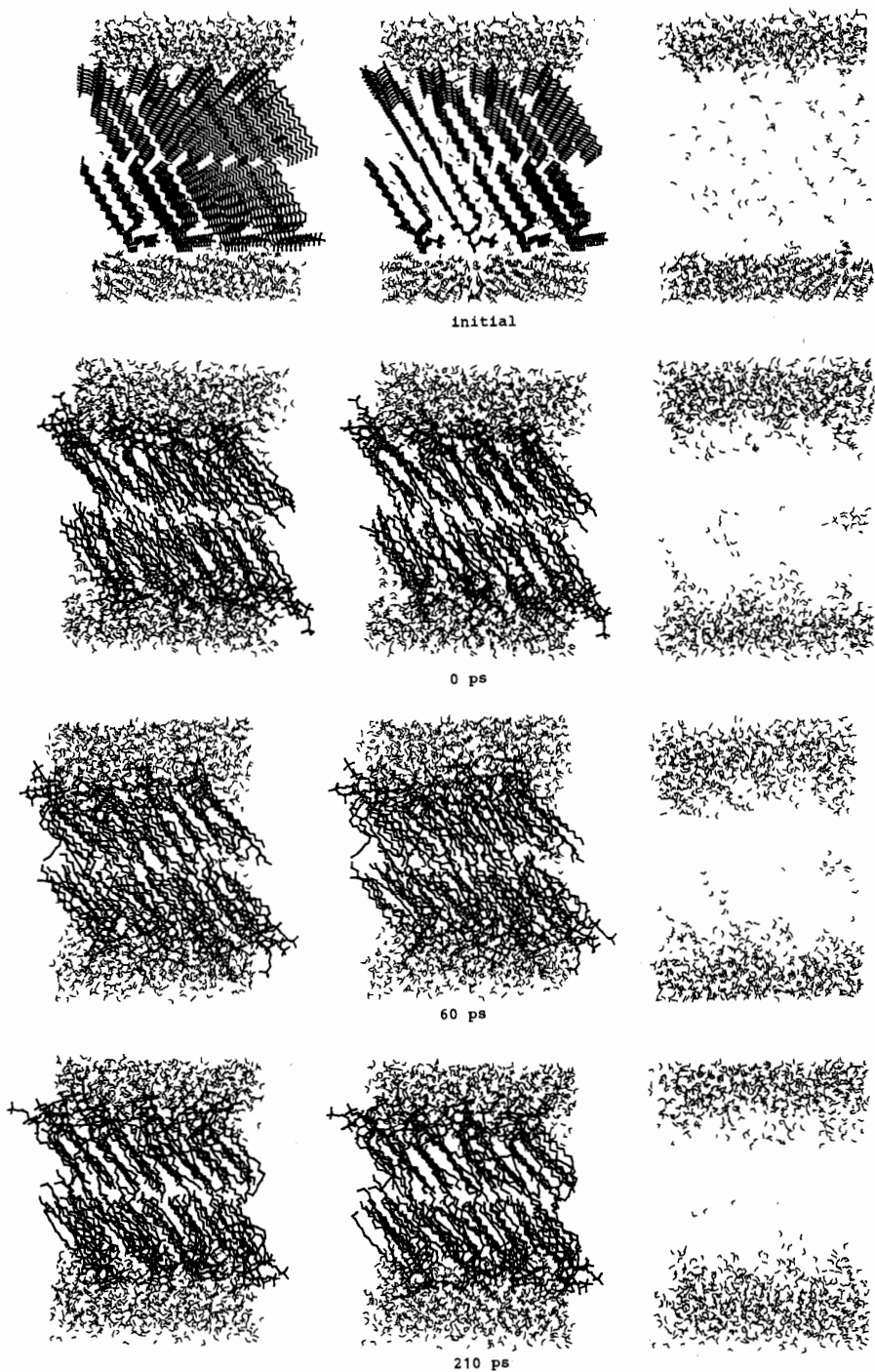


図3. DMPC二重層膜・水構造のスナップショット(立体図)。水分子はVで示されている。右端の図では、水分子の疎水領域内の位置を示すためにDMPC分子は省略されている。

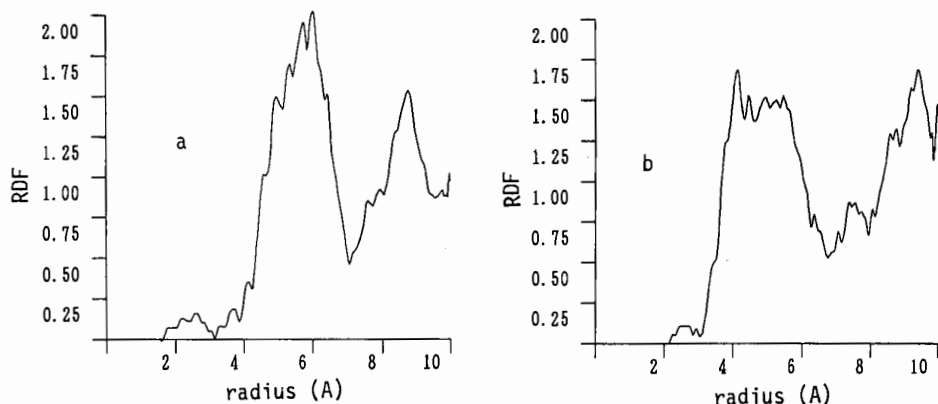


図4. ヘッドグループのリン原子(a)とアルキル鎖末端炭素原子(b)の動径分布関数.

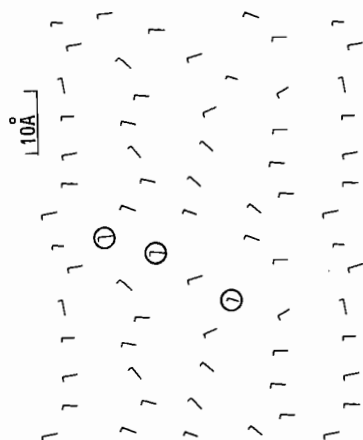


図5. DMPC分子の面内回転と跳躍運動の傾向。グリセロール部分のC2原子とO21原子間ベクトルが膜面に写影されている。回転方向を示すために「(初期方向)型でベクトルを表している。O印の分子は跳躍運動の途上にあるかもしれない。

ミュレーションの続行を予定しているが、同時に取り組むべき2つの問題がある。その1つはシミュレートされた各運動の定量化と実験値との比較であり、他は周期的境界条件の改良である。後者についていえば、今回のシミュレーションはアルキル鎖の膜面に対する傾き運動を全く捉えていない。原因はシミュレーション時間の不足にあるかもしれないが、筆者らは周期的境界条件の“固さ”にあると考えている。最後に、今回のシミュレーションに費やしたCPUは約100時間で、

スーパーコンピュータSX2(NEC)を使用した。ここで、多大なコンピューター資源の提供に対してNECの方々に、また報告の機会を与えていただいた生物物理学会に感謝の意を表したい。

#### 文 献

- 1) Singer, S.J., Nicolson, G. L. (1972) *Science*, **175**, 720-731.
- 2) Gennis, R.B. (1989) *Biomembrans*, 166-198, Springer-Verlag, New York.
- 3) van der Ploeg, P., Berendsen, H. J. C. (1982) *J.Chem. Phys.*, **76**, 3271-3276.
- 4) Pastor, R. W., Venable, R. M., Karplus, M. (1988) *J. Chem. Phys.*, **89**, 1112-1127.
- 5) Seeling, A., Seeling, J. (1974) *Biochemistry*, **13**, 4839-4845.
- 6) Pearson, R.H., Pascher, I. (1979) *Nature*, **281**, 499-501.
- 7) Hitchcock, P.B., Mason, R., Thomas, K. M., Shipley, G.G. (1974) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **71**, 3036-3040.
- 8) Jamak, M., Small, D. M., Shipley, G.G. (1976) *Biochemistry*, **15**, 4575-4580.
- 9) Singh, U.C., Weiner, P. K., Caldwell, J. W., Kollman, P. A. (1986) AMBER (UCSF) version3.0, Department of Pharmaceutical Chemistry, University of California, San Francisco.
- 10) Jorgensen, W. L., Tirado-Rives, J. (1988) *J. Am. Chem. Soc.*, **110**, 1657-1666.
- 11) Ceve, G., Marsh, D. (1987) *Phospholipid Bilayers*, 24-28, Jhon Wiley & Sons, Inc., New York.
- 12) 大西俊一 (1982) 生体膜の動的構造, 139-141, 東京大学出版会, 東京.