

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 12 日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23750008

研究課題名(和文) 分子シミュレーションによる膜タンパク質の分子透過性に関する理論的研究

研究課題名(英文) Molecular dynamics study on the molecular permeability of membrane protein

研究代表者

齋藤 大明 (Saito, Hiroaki)

金沢大学・数物科学系・助教

研究者番号：40506820

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,600,000円、(間接経費) 480,000円

研究成果の概要(和文)：様々な脂質膜環境におけるペプチドおよび膜タンパク質の動的構造の解析，膜内安定性，イオン・分子透過性の評価を分子動力学シミュレーションと自由エネルギー計算により評価した．計算対象には代表的な抗菌性ペプチドであるグラミシジンAを用い，数種類の脂質膜における分子シミュレーションと自由エネルギー評価(膜内安定性)から，膜選択性機構に言及した．ペプチド-脂質膜間の相互作用特性の内訳(水和・静電・疎水性相互作用)を査察・解析・比較することにより，ペプチドの膜選択性に寄与する相互作用の詳細を解析した．

研究成果の概要(英文)：We have carried out molecular dynamics simulations to analysis the structure and dynamics of peptide and membrane protein in several lipid bilayer environments and have investigated the ion and molecular permeability through the channel of membrane protein. The thermal stability of membrane protein in the lipid bilayers has also been investigated by free energy calculation.

研究分野：物理化学

科研費の分科・細目：物理化学

キーワード：分子動力学法 脂質二重層膜 膜タンパク質 自由エネルギー

1. 研究開始当初の背景

膜タンパク質は生体膜における物質の選択的透過、シグナル伝達、エネルギー変換等の生体機能に直接関わる重要な生体分子であり、膜タンパク質を介したイオン透過と密接な関係がある。これら膜タンパク質のイオン透過機構の解明は、生体内における膜タンパク質の機能理解のみならず、創薬や新規ナノデバイスの研究・開発における重要課題である。

これら特性変化の理解には、タンパク質及び脂質膜の動的構造の解析が必須であるが、タンパク質-脂質二重層膜のような混合複雑系における実験観測の難しさのために、これら構造特性は未だ明らかではなく、分子シミュレーション等による詳細な解析が望まれている。

2. 研究の目的

膜タンパク質はイオン透過に最適な脂質膜環境に集積することで、効率的にその機能を発現している。このような膜タンパク質の特性解明には、様々な脂質膜環境における系の動的構造やタンパク-脂質間相互作用、イオン透過特性等の詳細な解析が必須である。

本研究では、幾つかの種類脂質膜環境におけるタンパク質の **1. 動的構造の解析**, **2. 膜内安定性評価**, **3. イオン透過性評価** を分子動力学シミュレーションと自由エネルギー計算により評価する。各々の膜環境における膜タンパク質の安定性やイオン透過性の違いから、**生体内における膜タンパク質の膜溶媒選択性やイオン透過のメカニズムを明らかにする**。

3. 研究の方法

本研究は生体内における膜タンパク質の膜溶媒選択性やイオン透過機構の解明を目的に、数種類の脂質膜環境における () 膜タンパク質の分子動力学シミュレーションを実行し、膜タンパク質と脂質二重層膜の動的構造の解析を行う。次に、() 各脂質膜環境における膜タンパク質の安定性を溶媒和自由エネルギー計算により評価し、最後に () イオンの膜透過自由エネルギープロフィールを評価する。

4. 研究成果

本研究では、様々な脂質膜環境におけるペプチドおよび膜タンパク質の動的構造の解析、膜内安定性、イオン・分子透過性の評価を分子動力学シミュレーションと自由エネルギー計算により評価した。計算対象には代表的な抗菌性ペプチドであるグラミシジン A を用い、数種類の脂質膜における分子シミュレーションと自由エネルギー評価 (膜内安定性) から、膜選択性機構に言及した。ペプチド-脂質膜間の相互作用特性の内訳 (水和・静電・疎水性相互作用) を査察・解析・比較することにより、ペプチドの膜選択性に寄与する相互作用の詳細を解析した。具体的には、膜溶媒である脂質分子のアシル鎖の長さや鎖の不飽和性を変え、グラミシジン A と脂質

分子との疎水性相互作用マッチングを系統的に変化させた場合の分子動力学シミュレーションを実行した。これら膜溶媒環境の違いによる膜タンパク質および脂質分子の動的構造変化の詳細を明らかにした。膜タンパク質の脂質膜内での安定性は溶媒和自由エネルギー計算により評価し、脂質溶媒の種類の違いに対する膜タンパク質の安定性の違いを系統的に評価した。

膜タンパク質の溶媒和自由エネルギーの解析の結果、全体の溶媒和自由エネルギーのうち、3分の1程度のエネルギーは水からの寄与であることが示され、グラミシジンの膜内安定性には水からの寄与も重要であることが示された。また評価された溶媒和自由エネルギーのうち、脂質と水からのエネルギー値には負の相関があることが示された。4種類の膜に対するグラミシジンの溶媒和自由エネルギー計算の結果は DMPC 膜への溶媒和自由エネルギーが最もエネルギー値が低く、グラミシジンは DMPC 膜内で最も安定である結果を示された。DMPC 膜はグラミシジンとの hydrophobic matching が最も良い膜であり、相性が良い会合構造からグラミシジンと周りの膜や水分子との相互作用のマッチングも良くなっていることが示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 34 件)

1. Takeshi Miyakawa, Ryota Morikawa, Masako Takasu, Kimikazu Sugimori, Kazutomo Kawaguchi, Hiroaki Saito, Hidemi Nagao,

“Analysis of water molecules around GTP in Hras-GTP complex and GDP in Hras-GDP complex by molecular dynamics simulations”, Mol. Phys. 112, (2014) 526-532. (査読あり)

2. Takeshi Miyakawa, Ryota Morikawa, Masako Takasu, Kimikazu Sugimori, Tomokazu Kawaguchi, Hiroaki Saito, Hidemi Nagao,

“Network of water molecules around guanine nucleotide in the Hras-GTP and -GDP complexes by MD simulations”, JPS Conf. Proc., 016006 (2014) (査読あり)

3. Hiroaki SAITO, Masashi IWAYAMA, Kazutomo KAWAGUCHI, Taku MIZUKAMI, Takeshi MIYAKAWA, Masako TAKASU, and Hidemi NAGAO,

“Molecular Dynamics Study of Gramicidin A in Lipid Bilayer: Electrostatic Map and Ion Conduction”, JPS Conf. Proc., 012053 (2014). (査読あり)

り)

4. Kazutomo KAWAGUCHI, Hiroaki SAITO, Hidemi NAGAO,
“Molecular Dynamics Study of Hsp90 and ADP: Hydrogen Bond Analysis for ADP Dissociation”,
JPS Conf. Proc. , 012056 (2014). (査読あり)

5. Micke Rusmerryani, Masako Takasu, Kazutomo Kawaguchi, Hiroaki Saito, and Hidemi Nagao,
“Protein-protein interactions of Azurin complex in liquid system”,
JPS Conf. Proc. , 012054 (2014). (査読あり)

6. Muhamad KOYIMATU, Hideto SHIMAHARA, Kimikazu SUGIMORI, Kazutomo KAWAGUCHI, Hiroaki SAITO, and Hidemi NAGAO,
“ π -stacking Interaction between Heterocyclic Rings in a Reaction Field of Biological System”,
JPS Conf. Proc. , 012055 (2014). (査読あり)

7. Kazutomo Kawaguchi, Hiroaki Saito, Susumu Okazaki, Hidemi Nagao,
“Molecular dynamics study on the free energy profile for dissociation of ADP from N-terminal domain of Hsp90”, Chem. Phys. Lett. 588, (2013) 226–230. (査読あり)

8. Takeshi Miyakawa, Ryota Morikawa, Masako Takasu, Kimikazu Sugimori, Kazutomo Kawaguchi, Hiroaki Saito, Hidemi Nagao,
“Molecular Dynamics Simulations of the Hras-GTP complex and the Hras-GDP complex”, Int. J. Quantum Chem., 113, (2013) 2333–2337. (査読あり)

9. Hiroaki Saito, Masashi Iwayama, Taku Mizukami, Jiyoung Kang, Masaru Tateno, Hidemi Nagao,
“Molecular Dynamics Study on Binding Free Energy of Azurin–Cytochrome c551 Complex”,
Chem. Phys. Lett., 556, (2013) 297–302. (査読あり)

10. Isman Kurniawan, Hiroaki Saito, Kazuto Kawaguchi, Hidemi Nagao,
“Computational Study of Oxidation Potential of Ketone Molecule”,
Recent Development in Computational Science, 4 (2013) 45-52. (査読あり)

11. Masashi Iwayama, Kazutomo Kawaguchi, Hiroaki Saito and Hidemi Nagao
“Structure and Hydration Free Energy of Ketone Compound in Neutral and Cationic State by Molecular Dynamics Simulation”,
Recent Development in Computational Science, 4 (2013) 59-70. (査読あり)

12. Meidy Triana Pakpahan, Hiroaki Saito, Kazutomo Kawaguchi, Hidemi Nagao
“Binding Free Energy of Protein-Ligand by Combining Docking and MD Simulation: A Comparison of Calculation Methods”,
Recent Development in Computational Science, 4 (2013) 71-78. (査読あり)

13. Micke Rusmerryani, Masako Takasu, Kazutomo Kawaguchi, Hiroaki Saito, Hidemi Nagao
“Coarse-grained Simulation of Azurin Crystal Complex System: Protein-protein Interactions”,
Recent Development in Computational Science, 4 (2013) 79-86. (査読あり)

14. Muhamad Koyimatu, Hideto Shimahara, Kazutomo Kawaguchi, Hiroaki Saito, Kimikazu Sugimori, Hidemi Nagao
“Theoretical study of a π -stacking interaction in carbonic anhydrase”,
Recent Development in Computational Science, 4 (2013) 87-94. (査読あり)

15. T. Miyakawa, R. Morikawa, M. Takasu, K. Sugimori, K. Kawaguchi, H. Saito and Hidemi Nagao,
“Analysis of water molecules in the Hras-GTP and GDP complexes with molecular dynamics simulations”,
Progress in Theoretical Chemistry and Physics, 27, (2013), 351-360. (査読あり)

16. Hiroaki Saito, Megumi Nishimura, Hiroyuki Takagi, Takeshi Miyakawa, Kazutomo Kawaguchi, Hidemi Nagao,
“Molecular Dynamics Study of Electrostatic Potential along Lipid Bilayer with Gramicidin A”,
AIP Conf. Proc. 1518, pp. 633-636. (査読あり)

17. Meidy T. Pakpahan, Micke Rusmerryani, Kazutomo Kawaguchi, Hiroaki Saito, Hidemi Nagao
“Evaluation of scoring functions for protein-ligand docking”,

- AIP Conf. Proc. 1518, pp. 645-648. (査読あり)
18. Micke Rusmerryani, Meidy T. Pakpahan, Megumi Nishimura, Masako Takasu, Kazutomo Kawaguchi, Hiroaki Saito, Hidemi Nagao
 “Transition State Analysis of Azurin via Go-like Model”,
 AIP Conf. Proc. 1518, pp. 641-644. (査読あり)
19. Hidemi Nagao, Michke Rusmerryani, Acep Purqon, Kazutomo Kawaguchi, Hiroaki Saito
 “Molecular Dynamics Study on Entrainment Phenomenon in Model Molecular Systems”,
 AIP Conf. Proc. 1518, pp. 729-732. (査読あり)
20. Megumi Nishimura, Hiroaki Saito, Kazutomo Kawaguchi, Hidemi Nagao
 “Conformational Stability of Met20 Loop of DHFR:A molecular Dynamics Study”,
 AIP Conf. Proc. 1518, pp. 654-657. (査読あり)
21. Kazutomo Kawaguchi, Hiroyuki Takagi, Masako Takasu, Hiroaki Saito, Hidemi Nagao
 “Molecular dynamics studies of Hsp90 with ADP: protein-ligand binding dynamics”,
 AIP Conf. Proc. 1518, pp. 637-640. (査読あり)
22. Muhamad Koyimatu, Hideto Shimahara, Masashi Iwayama, Kimikazu Sugimori, Kazutomo Kawaguchi, Hiroaki Saito, Hidemi Nagao
 “Theoretical Model for Assessing Properties of Local Structures in Metalloprotein”,
 AIP Conf. Proc. 1518, pp. 626-629. (査読あり)
23. T. Miyakawa, R. Morikawa, M. Takasu, K. Sugimori, K. Kawaguchi, H. Saito, H. Nagao,
 “A molecular dynamics study of Hras-GTP and GDP complexes: the properties of water molecules around guanine nucleotide”,
 AIP Conf. Proc. 1518, pp. 594-597. (査読あり)
24. Kazutomo Kawaguchi, Hiroyuki Takagi, Masashi Iwayama, Takeshi Miyakawa, Hiroaki Saito, Masako Takasu, Hidemi Nagao,
 “Molecular dynamics analyses of the dissociation process of ADP from Hsp90”,
Int. J. Quantum Chem., 112, (2012) 3791–3795. (査読あり)
25. Hiroaki Saito, Masashi Iwayama, Hiroyuki Takagi, Megumi Nishimura, Takeshi Miyakawa, Kazutomo Kawaguchi, Masako Takasu, Taku Mizukami, H. Nagao,
 “Molecular dynamics study of gramicidin a in lipid bilayer: Structure and lateral pressure profile”
Int. J. Quantum Chem., 112, (2012) 3834–3839. (査読あり)
26. Hiroaki Saito, Taku Mizukami, Shuhei Kawamoto, Takeshi Miyakawa, Masashi Iwayama, Masako Takasu, Hidemi Nagao
 “Molecular dynamics studies of lipid bilayer with gramicidin A: effects of gramicidin A on membrane structure and hydrophobic match”,
Int. J. Quantum Chem. **112**, (2012) 161–170. (査読あり)
27. Taku Mizukami, Hiroaki Saito, Shuhei Kawamoto, Takeshi Miyakawa, Masako Takasu, Hidemi Nagao
 “Solvation effect on the structural change of globular protein: a molecular dynamics study”,
Int. J. Quantum Chem. **112**, (2012) 344-350. (査読あり)
28. Shuhei Kawamoto, Takeshi Miyakawa, Masako Takasu, Ryota Morikawa, Tatsuki Oda, Hiroaki Saito, Shiroh Futaki, Hidemi Nagao
 “Cell penetrating peptide induces various deformations of lipid bilayer membrane: inverted micelle, double bilayer and trans-membrane”,
Int. J. Quantum Chem. **112**, (2012) 178–183. (査読あり)
29. T. Miyakawa, R. Morikawa, M. Takasu, K. Sugimori, K. Kawaguchi, H. Saito and Hidemi Nagao,
 “The potentials of the atoms around Mg²⁺ in the H-ras GTP complex and in the H-ras GDP complex”,
Progress in Theoretical Chemistry and Physics, 26, (2012) 525-543. (査読あり)
30. S. Kawamoto, M. Takasu, T. Miyakawa, T. Oda, H. Saito, S. Futaki, H. Nagao, W. Shinoda,
 “Free energy of cell-penetrating peptide

through lipid bilayer membrane: coarse-grained model simulation”, Progress in Theoretical Chemistry and Physics, 26, (2012) 503-511. (査読あり)

31. Y. Omae, H. Saito, H. Takagi, M. Nishimura, M. Iwayama, K. Kawaguchi, H. Nagao, “Molecular Dynamics Study of Glutathione S-transferase: Structure and Binding Character of Glutathione”, Progress in Theoretical Chemistry and Physics. 26, (2012) 545-553. (査読あり)

32. Gia Septiana Wulandari, Mieke Rusmerryani, Shuhei Kawamoto, Hiroaki Saito, Kiyoshi Nishikawa, Hidemi Nagao, “Temperature Effects on Dynamics of Spherical Micelles: A Molecular Dynamics Study” *Recent Development in Computational Science*, **2** (2012) 59-68. (査読あり)

33. Mieke Rusmerryani, Gia Septiana Wulandari, Shuhei Kawamoto, Hiroaki Saito, Kiyoshi Nishikawa, Hidemi Nagao, “Molecular Dynamics Studies on Structure and Dynamics of Spherical Micelles” *Recent Development in Computational Science*, **2** (2012) 69-77. (査読あり)

34. Hiroaki Saito, Wataru Shinoda "Cholesterol Effect on Water Permeability through DPPC and PSM Lipid Bilayers: A Molecular Dynamics Study", *J. Phys. Chem. B* **115**, (2011) 15241-15250. (査読あり)

〔学会発表〕(計 82 件)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：

番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織
(1)研究代表者
齋藤 大明 (SAITO Hiroaki)
金沢大学・数物科学系・助教
研究者番号：40506820

(2)研究分担者 ()

研究者番号：

(3)連携研究者 ()

研究者番号：