

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 31 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23550027

研究課題名(和文)モンテカルロ計算とNMR計測による脂質ベシクル表面の分子の制限拡散

研究課題名(英文)Restricted diffusion of lipid molecules on the vesicle surface studied by NMR measurement and Monte Carlo calculation

研究代表者

吉井 範行 (Yoshii, Noriyuki)

名古屋大学・工学(系)研究科(研究院)・特任准教授

研究者番号：70371599

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円、(間接経費) 1,020,000円

研究成果の概要(和文)：ベシクル上に拘束された分子の制限拡散運動をパルス磁場勾配(PFG) NMR測定を用いて観測することにより、ベシクル表面上での脂質分子の側方拡散係数を求めた。測定された拡散係数は脂質分子のベシクル上での側方拡散係数に加えて、ベシクル自体の並進、回転拡散係数が混入している。それらを分離するための理論を構築した。またベシクルに対する薬物の結合・解離運動とベシクル表面上における薬物の側方拡散運動についての知見を得るために、PFG NMRおよび1D NMRを用いてin situ測定を行った。さらにベシクル上の脂質分子やベシクルとの結合解離を繰り返す薬物の運動を再現する新規モンテカルロ計算手法を開発した。

研究成果の概要(英文)：The restricted diffusional motion of the lipid molecule on the vesicle surface was studied by NMR measurement and Monte Carlo calculation. The diffusion coefficient of the lipid molecule was observed by pulse field gradient(PFG) NMR measurement. The observed diffusion coefficient for the lipid molecule is sum of the translational and rotational diffusion coefficients of the vesicle as a whole and the lateral diffusion coefficient of the lipid molecule. We constructed a new analytical method to separate them into their contributions. In order to investigate the binding/dissociation motion of the drug molecules with the vesicle as well as the lateral diffusion motion on the vesicle surface in situ experiments using PFG and 1D NMR have been carried out. To reproduce the motion of the drug molecule moving in the vesicle and bulk water a new Monte Carlo calculation was extended to the drug molecule.

研究分野：化学

科研費の分科・細目：基礎化学・物理化学

キーワード：溶液 コロイド 脂質ベシクル

1. 研究開始当初の背景

制限拡散の研究例は、従来、細孔や平板間での分子拡散に限られ(たとえば, R. W. Mair, et al., Magn. Res. Chem. 40, 29 (2002))、球を担体とした分子拡散の研究は皆無であった。われわれは、これまで細胞膜モデルとして用いられる球状の脂質ベシクルについて、ベシクルへの薬物の分配と拡散、結合・解離の速度過程を、パルス磁場勾配(PFG) NMRと分子動力学計算を用いて解析してきた(岡村, 吉井, J. Chem. Phys. 129, 215102 (2008), 吉井, 岡村, Chem. Phys. Lett. 474, 357 (2009))。一方、球状のベシクルの表面における脂質分子の拡散係数は、ベシクル自体の並進拡散係数や回転拡散係数を含んでおり、従来の測定からは脂質分子の純粋な真の側方拡散係数が得られていない。膜タンパクやペプチドの機能発現には脂質膜の動的な構造の揺らぎが本質的な役割を果たしており、脂質分子の真の側方拡散係数に関する情報が必要不可欠である。

2. 研究の目的

本研究では、球状ベシクルを担体としたときの溶質分子の制限拡散に関する新規のモンテカルロ(MC)計算手法を開発する。これにより、注目する溶質分子についてのパルス磁場勾配 NMR のシグナルを予測する手法を確立する。細胞膜のモデルである脂質ベシクルを対象に、膜透過によりベシクルと結合・解離を繰り返す分子の運動を解析する。さらに、ベシクル表面に拘束されつつ運動する脂質分子についての真の側方拡散を明らかにする。

3. 研究の方法

新規の MC 計算の手法を開発し、球状ベシクルに対する薬物分子の結合・解離運動とベシクル表面上における脂質分子の側方拡散運動に焦点を絞った解析を行う。

(1) はじめに、膜透過によりベシクルと結合・解離を繰り返す薬物の運動の解析として、(1A)ベシクルと結合・解離を繰り返す抗がん剤 5 - フルオロウラシル(5 FU)の物理モデルを構築する。次に(1B)結合・解離過程の MC 計算アルゴリズムの開発を行う。(1C)実際に MC 計算を行い、得られた軌跡を用いて NMR シグナルの予測を行う。

(2) さらに、ベシクル表面上を側方拡散する脂質分子の運動の解析として、(2A)ベシクル表面上で側方拡散する脂質分子の物理モデルを構築する。(2B)ベシクル表面上の脂質分子の拡散過程を再現する MC 計算アルゴリズムを構築する。(2C)実際に MC 計算を実行することにより分子の軌跡を得る。この分子の軌跡を用いて NMR シグナルの予測を行う。

(3) NMR 測定をおこない、得られたシグナルを脂質分子のベシクル上での側方拡散係数とベシクル自体の並進・回転拡散係数とに分離し、球面上の脂質分子の真の側方拡散係数を明らかにする。

4. 研究成果

(1) 5FU がバルクやベシクル中を拡散しつつ、ベシクルと結合・解離を繰り返す様子を再現するために、新規 MC 計算手法を構築した。この計算では 5FU およびベシクルをそれぞれ質点および球として取り扱い、それらは与えられた拡散係数に従って水中をランダムウォークするものとした。シミュレーション中に 5FU とベシクル表面が交差した場合、5FU が膜透過するかどうかの判定を行うが、ここでは 5FU とベシクルの結合・解離の速度定数を用いる判定法を導入した。シミュレーションでの膜透過の速度が PFG NMR 測定で実測した結合・解離速度と一致させることができるように、結合・解離する分子数を毎 MC ステップ制御できるようにした。

(2) ベシクル表面上で側方拡散する脂質分子の物理モデルの構築を行った。ベシクルはバルク中を自由に並進拡散および回転拡散する球とし、脂質分子は球の表面上を拡散する質点とするモデル化を行った。球の半径 R は任意に設定できるパラメータとし、球自体の並進拡散係数 D_t および回転拡散係数 D_r は、 R を用いて流体力学的に取り扱った。ベシクル上での脂質分子の側方拡散係数 D_l は、球の表面上での質点の拡散係数に対応する。

次に、脂質分子に相当する質点を球の表面上に拘束しつつ運動させるために、新たに次のような MC 計算のアルゴリズムを構築した。質点の位置における球の接平面に沿って、質点を任意の方向に D_l の大きさに応じて変位させる。球の表面上への拘束を満たすように、動径方向に質点を変位させる。これにより、球の表面上に拘束され、かつ D_l を満足する質点の変位を得る。

得られたシミュレーションのトラジェクトリを用いて NMR シグナルの予測を行った。PFG NMR 測定のパラメータを設定した上で、シグナルをシミュレートした。

(3) 最後に、NMR 測定により得られる実測の拡散係数を 3 つの拡散係数へと分離を行った。短い拡散時間ではベシクルの拡散距離が小さくなり、脂質分子の側方拡散による変位が支配的となる。長い拡散時間ではベシクルの並進拡散が支配的になる。拡散時間の変化によって、実測される見かけの拡散係数が変化する。この現象を利用し、実測可能なベシクル半径 R と D_l を側方拡散係数 D_l の範囲をシミュレーションによって抽出した。得られた R と D_l の関係を利用し、実際に PFG NMR 測定を行い、真の D_l を求めた。これを用いて脂質分子のベシクルを対象に、拡散係数を測定した。これにより、脂質分子の見かけの拡散係数から純粋な D_l を分離できることを明らかにした。

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 7 件)

Y. Andoh, N. Yoshii, et al., MODYLAS: A highly parallelized general-purpose molecular dynamics simulation program for large-scale systems with long-range forces calculated by fast multipole method (FMM) and highly scalable fine-grained new parallel processing algorithms, *J. Chem. Theory Comput.*, 査読有, 9, 2013, 3201-3209

N. Yoshii, T. Emoto, E. Okamura, Lateral diffusion of lipids separated from rotational and translational diffusion of a fluid Large unilamellar vesicle, *Colloid Surf. B-Biointerfaces*, 査読有, 106, 2013, 22-27

K. Fujimoto, N. Yoshii, S. Okazaki, Enthalpy and entropy of transfer of alkanes from water phase to the micelle core, *Molecular Simulation*, 査読有, 38, 2012, 342-345

K. Fujimoto, N. Yoshii, S. Okazaki, Free energy profiles for penetration of methane and water molecules into spherical sodium dodecyl sulfate micelles obtained using the thermodynamic integration method combined with molecular dynamics calculations, *J. Chem. Phys.*, 査読有, 136, 2012, 014511-1~9

K. Fujimoto, N. Yoshii, S. Okazaki, Molecular dynamics study of free energy of transfer of alcohol and amine from water phase to the micelle by thermodynamic integration method, *J. Chem. Phys.*, 査読有, 137, 2012, 094902-1~6

N. Yoshii, T. Emoto, E. Okamura, Kinetics of binding and diffusivity of leucine-enkephaline in large unilamellar vesicle by pulsed-field-gradient 1H NMR in situ, *Biophysics*, 査読有, 7, 2011, 105-111
N. Yoshii, E. Okamura, Binding of hydrophobic fluorinated bisphenol A to large unilamellar vesicles of egg phosphatidylcholine, *J. Phys. Chem.*, 査読有, B115, 2011, 11074-11080

〔学会発表〕(計 27 件)

球状ベシクル上の脂質分子の側方拡散係数についての NMR 解析, 吉井範行, 岡村恵美子, 日本膜学会第 33 年会 2011 年 5 月 13 日(東京)

脂質膜のダイナミクスと薬物分配に関する NMR 解析, 吉井範行, 岡村恵美子, 日本薬剤学会第 26 年会 2011 年 5 月 29 日(東京) 招待講演

分子シミュレーションにおける静電相互作用の高速・並列化手法, 吉井範行,

第 2 回 CMSI 若手技術交流会 2011 年 9 月 14 日(千葉) 招待講演

分子動力学法を用いたメタンの SDS ミセルへの可溶化自由エネルギープロファイル計算, 藤本和土, 吉井範行, 岡崎進, 第 5 回分子科学討論会 2011 年 9 月 22 日(北海道)

分子動力学法による溶質の水相から SDS ミセル相中への移行に伴う自由エネルギープロファイル, 藤本和土, 吉井範行, 岡崎進, 第 34 回溶液化学シンポジウム 2011 年 11 月 15 日(名古屋)

分子動力学法によるメタン・水分子の水相から SDS ミセル相中への移行の自由エネルギープロファイル, 藤本和土, 吉井範行, 岡崎進, 第 25 回分子シミュレーション討論会 2011 年 12 月 5 日(東京)

高速分子動力学ソフト modylas を用いた極性分子の SDS ミセルへの移行に伴う自由エネルギー計算, 藤本和土, 吉井範行, 岡崎進, 次世代ナノ統合シミュレーションソフトウェアの研究開発(ナノ)

次世代ナノ統合シミュレーションソフトウェアの研究開発(ライフ)公開シンポジウム 2012 年 3 月 6 日(神戸)

分子動力学シミュレーションによる生体膜中の薬物の結合構造, 吉井範行, 岡村恵美子, 日本膜学会第 34 年会, 2012 年 5 月 8 日(東京)

分子動力学計算による球状ミセルの構造とダイナミクスについての球面調和関数解析, 瀬高悠太, 吉井範行, 藤本和土, 岡崎進, 第 15 回理論化学討論会 2012 年 5 月 25 日(仙台)

Poly(N-isopropylacrylamide)オリゴマーの立体規則性と水溶液中での熱力学的安定性に関する理論的研究, 吉井範行, 宮田竜彦, 勝本之昌, 第 35 回溶液化学シンポジウム 2012 年 11 月 13 日(東京)

球状ミセル表面で界面活性剤分子の親水基がなす構造と動力学に関する分子動力学による研究, 瀬高悠太, 吉井範行, 二村祐樹, 藤本和土, 岡崎進, 第 26 回分子シミュレーション討論会 2012 年 11 月 26 日(福岡)

Large scale molecular dynamics calculations of assembly of amphiphilic molecules, N. Yoshii, 日本化学会第 93 春季年会 2013 年 3 月 24 日(滋賀) 招待講演

超巨大計算機時代の化学 - 分子科学のサイエンスロードマップ事例(分子動力学計算), 吉井範行, 日本化学会第 93 春季年会 2013 年 3 月 25 日(滋賀) 招待講演

分子動力学計算に基づいたイオン性および非イオン性球状ミセル表面の構造とダイナミクスに関する球面調和関数解析, 二村祐樹, 王琳, 吉井範行, 藤本

- 和土, 岡崎進, 第 16 回理論化学討論会 2013 年 5 月 15 日 (福岡)
- SDS の会合体間相互作用および会合機構に関する分子動力学計算による研究, 河田真治, 藤本和土, 吉井範行, 岡崎進, 第 17 回理論化学討論会 2014 年 5 月 22 日 (名古屋)
- 次世代スパコンを用いた大規模分子動力学計算による蛋白質科学, 吉井範行, 第 13 回日本蛋白質科学会年会 2013 年 6 月 12 日 (鳥取) 招待講演
- Free energy of solubilization of solute molecules in SDS micelle solution studied by molecular dynamics calculations, Kazushi Fujimoto, Noriyuki Yoshii, Susumu Okazaki, 33rd International Conference on Solution Chemistry 2013 年 7 月 7-12 日 (京都)
- Motions and fluctuations of phospholipid molecules in large and cell sized vesicles by NMR, E. Okamura, Y. Takechi, H. Saito, N. Yoshii, 33rd International Conference on Solution Chemistry 2013 年 7 月 7-12 日 (京都)
- Spherical harmonics analysis of the surface structure of spherical ionic and nonionic micelles and its relevant dynamics-A molecular dynamics study, Y. Nimura, L. Wang, K. Fujimoto, N. Yoshii, S. Okazaki, 33rd International Conference on Solution Chemistry 2013 年 7 月 7-12 日 (京都)
- 分子動力学シミュレーションを用いた SDS ミセルの会合過程における会合体 - 会合体間自由エネルギープロファイル計算, 河田真治, 藤本和土, 吉井範行, 岡崎進, 第 36 回溶液化学シンポジウム 2013 年 10 月 11 日 (北海道)
- 21 Large-scale and All-atom Molecular Dynamics Simulation of Viruses using the K-computer 2. Development of a Highly Parallelized General-Purpose Molecular Dynamics Simulation Program, MODYLAS, Yoshimichi Andoh, Noriyuki Yoshii, Kazushi Fujimoto, Keisuke Mizutani, Hidekazu Kojima, Atsushi Yamada, Susumu Okazaki, Kazutomo Kawaguchi, Hidemi Nagao, Kensuke Iwahashi, Fumiyasu Mizutani, Kazuo Minami, ICMS2013 2013 年 11 月 18-20 日 (神戸)
- 22 Large-scale and all-atom molecular dynamics simulation of viruses using the K-computer. 3. Equilibration of the system and the stable structure of poliovirus capsid in solution, Hidekazu Kojima, Noriyuki Yoshii, Atsushi Yamada, Yoshimichi Andoh, Kazushi Fujimoto, Keisuke Mizutani, Atsushi Nakagawa, Akio Nomoto, Susumu Okazaki, ICMS2013 2013 年 11 月 18-20 日 (神戸)
- 23 Large-scale and all-atom molecular dynamics simulation of viruses using the K-computer: 4. Negative pressure inside the poliovirus empty capsid, Kazushi Fujimoto, Yoshimichi Andoh, Noriyuki Yoshii, Atsushi Yamada, Hidekazu Kojima, Keisuke Mizutani, Atsushi Nakagawa, Akio Nomoto, Susumu Okazaki, ICMS2013 2013 年 11 月 18-20 日 (神戸)
- 24 Large-Scale and All-Atom Molecular Dynamics Simulation of Viruses using the K-computer: 5. Molecular Designs for a Stable Viral Capsid, Noriyuki Yoshii, Yoshimichi Andoh, Atsushi Yamada, Kazushi Fujimoto, Hidekazu Kojima, Keisuke Mizutani, Atsushi Nakagawa, Akio Nomoto, Susumu Okazaki, ICMS2013 2013 年 11 月 18-20 日 (神戸)
- 25 Large-scale and all-atom molecular dynamics simulation of viruses using the K-computer : 6. Exchange of water molecules across the poliovirus capsid, Atsushi Yamada, Noriyuki Yoshii, Yoshimichi Andoh, Kazushi Fujimoto, Hidekazu Kojima, Keisuke Mizutani, Atsushi Nakagawa, Akio Nomoto, Susumu Okazaki, ICMS2013 2013 年 11 月 18-20 日 (神戸)
- 26 Large-Scale and All-Atom Molecular Dynamics Simulation of Viruses Using the K-computer: 7. Interaction with Poliovirus Receptor CD155, Keisuke Mizutani, Noriyuki Yoshii, Atsushi Yamada, Yoshimichi Andoh, Kazushi Fujimoto, Hidekazu Kojima, Atsushi Nakagawa, Akio Nomoto, Susumu Okazaki, ICMS2013 2013 年 11 月 18-20 日 (神戸)
- 27 A Molecular Dynamics Study of Free Energy Profile of a Pair of Aggregates in the Formation Process of SDS Micelle Shinji Kawada, Kazushi Fujimoto, Noriyuki Yoshii, Susumu Okazaki, ICMS2013 2013 年 11 月 18-20 日 (神戸)
- 〔図書〕(計 2 件)
吉井範行 他 (齊藤博幸、田中秀治編) 廣川書店、製剤への物理化学、2012
岡崎進、吉井範行、化学同人、コンピュータシミュレーションの基礎 (第二版)、2011
- 〔産業財産権〕
出願状況 (計 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

http://profs.provost.nagoya-u.ac.jp/view/html/100005863_ja.html

6. 研究組織

(1) 研究代表者

吉井 範行 (YOSHII Noriyuki)
名古屋大学・大学院工学研究科・特任准教授
研究者番号：70371599

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

岡村恵美子 (OKAMURA Emiko)
姫路獨協大学・薬学部・教授
研究者番号：00160705