

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 12 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26410012

研究課題名(和文) ミセルの脂質膜への結合・融合過程の分子論的機構

研究課題名(英文) Molecular mechanism of micelle binding and fusion process to lipid membranes

研究代表者

吉井 範行 (Yoshii, Noriyuki)

名古屋大学・工学研究科・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) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、球状ミセル同士、あるいは球状ミセルの脂質膜表面への結合過程、さらにエネルギー障壁を乗り越えての融合過程について、分子動力学シミュレーションに基づく自由エネルギー解析を行った。対象系として、代表的な球状ミセルであるSDSミセルを、また実在細胞膜のモデルとしてPOPCからなる脂質二分子膜の平面膜のパッチを用いた。ミセルがミセル表面や膜表面へと結合し、熱揺らぎにより融合に至るまでの分子レベルのメカニズムを解明し、さらにミセルの結合や融合に要する時定数をキネティクス解析から評価した。

研究成果の概要(英文)：In this study, free energy analysis based on molecular dynamics simulation was carried out for the binding/fusion process of two spherical micelles and the binding/fusion process of the spherical micelle to the lipid membrane surface. As a target system, SDS micelle, which is a representative spherical micelle, and a planar membrane patch of a lipid bilayer membrane composed of POPC as a model of a real cell membrane were used. Molecular level mechanism of fusion process due to thermal fluctuation was elucidated, and time constants required for micelle binding and fusion were evaluated.

研究分野：物理化学

キーワード：分子動力学計算 ミセル 脂質膜

1. 研究開始当初の背景

ミセルや脂質膜といった界面活性剤・脂質分子からなる集合体同士の研究例は、脂質膜同士の膜融合に限られ (R. Lipowsky, et al., *Mol. Simul.* **35**, 554(2009))、ミセル同士やミセルと膜との融合についての研究は桁違いに数少ない。これまで我々は細胞膜のモデルである脂質膜について、膜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 MD 計算を用いて解析してきた (*J. Chem. Phys.* **129**, 215102 (2008)、*Chem. Phys. Lett.* **474**, 357 (2009)、*J. Phys. Chem.* **B115**, 11074 (2011)、*Biophysics*, **7**, 105-111 (2011))。ミセルに関して、アルカンやアルコール、アミンといったモデル分子の可溶化状態の安定性について、MD 計算を用いた自由エネルギー解析によって検討を進めてきた (*J. Chem. Phys.* **136**, 014511 (2012)、*J. Chem. Phys.* **133**, 074511 (2010)、*J. Phys. Chem.* **B 113**, 15181 (2009))。ドラッグデリバリーシステム(DDS)においては、搬送媒体としての球状ミセルと、搬送のターゲットある細胞との結合や融合が本質的な役割を果たしており、球状ミセルによる薬物輸送を考えるうえで、ミセル間、あるいはミセルと膜との相互作用は極めて重要である。しかしながら、ミセル・ミセル間やミセル・膜間の結合や融合過程の分子論について、これまでほとんど明らかにされてこなかった。

2. 研究の目的

本研究では、球状ミセル同士、あるいは球状ミセルの脂質膜表面への結合過程、さらにエネルギー障壁を乗り越えての融合過程について、分子動力学(MD)シミュレーションに基づく自由エネルギー解析を行う。ミセルがミセル表面や膜表面へと結合し、熱揺らぎにより融合に至るまでの分子レベルのメカニズムを解明し、さらにミセルの結合や融合に要する時定数をキネティクスの解析から評価する。

3. 研究の方法

ミセル同士、およびミセルと膜との結合・融合に関して、全原子 MD 計算に基づく自由エネルギー計算を用いて評価した。対象系として、代表的な球状ミセルである SDS ミセルを、また実在細胞膜のモデルとして POPC からなる脂質二分子膜の平面膜のパッチを用いた。

4. 研究成果

球状ミセル同士の結合・融合について、(a)一方のミセルがバルクからもう一方のミセル表面に至るまで、および融合して1つのミセルになる過程における平均力ポテンシャル、および(b)ミセル同士の融合に要する時定数について検討を行った。ここでは安定な SDS ミセルの会合数 60 の半分の会合数のミセル(クラスター)同士の会合過程を対象とした。

(a)では、1つのミセルが他方のミセルに近づくときの自由エネルギー変化を、ミセル中

心間の距離 r の関数として、熱力学的積分法を用いて評価した。まず2体間の平均力 $F(r)$ を求め、これを動径距離について積分することにより平均力ポテンシャル $\Delta G(r)$ を算出した。得られた $\Delta G(r)$ はミセル同士の接近に伴い自由エネルギーが上昇し、 $r=3.5\text{nm}$ において 23kJ/mol 程度不安定化した。これは熱揺らぎのエネルギーの9倍以上の大きな自由エネルギー障壁である。この $\Delta G(r)$ はコロイド間相互作用についての古典論である DLVO 理論、特にその静電相互作用からの寄与と良い一致を示した。 $\Delta G(r)$ へ寄与する部位を詳細に調べた結果、ミセル親水基同士の斥力と、対イオンである Na^+ による引力の相殺の結果生じていることが明らかとなった。さらに r が減少すると自由エネルギー障壁を乗り越え、融合に伴い大きな自由エネルギーの減少が起こる。この減少による安定化は 200kJ/mol におよぶ。この安定化は、溶媒である水からの寄与が大きい。すなわち、融合に伴い楕円体形をしていたミセルは大きな表面を有し、その界面張力のために大きく不安定化している。これが r の減少とともに球形に近づき安定化するのである。この 200kJ/mol という値は、我々の以前行った界面活性剤単量体からのミセル生成自由エネルギーの計算結果と良い一致を示しており、本計算の妥当性を示しているものと言える。

次に、(b)ミセル同士の融合の時定数を評価した。ここでは、距離 r に依存する拡散係数 $D(r)$ に関して、コロイド粒子近傍の粘性を考慮したモデルを利用した。これと $\Delta G(r)$ をもとに、ミセルの融合のキネティクスを解析し、その時定数を評価した。その結果、会合数 30 のミセル同士が結合して 60 量体の安定なミセルが生成する会合反応の速度定数は $k=5.2 \times 10^{-21}\text{m}^3/\text{s}$ であった。これより求めたミセル同士の会合速度は、会合数 30 のミセルの濃度を 0.012M とすると、 $28\mu\text{s}$ となる。

溶液中に界面活性剤分子をランダムにおいた系において界面活性剤分子が自発的に会合しミセルが生成する過程についてシミュレーションを行っても、百ナノ秒オーダーの計算ではイオン性界面活性剤分子のミセルが完了しないことが知られている。本計算結果から、このような会合の阻害は、自由エネルギープロフィールに見られるような斥力的な相互作用によるためであることが明らかとなった。また安定なミセルの会合には数十 μs を要することが初めて明らかとなった。

MD 計算より得られた結合・融合過程を詳細に解析することにより、ミセル同士の融合の分子論的メカニズムを明らかにした。ミセル同士がエネルギー障壁に相当する距離にある状態から MD 計算を開始し、会合に至る過程を解析した。水相を挟んで相対するミセルにおいて、まず親水基及び対イオンが2つのミセルの間の領域から移動した。続いて、疎水基同士が水相を挟んで直面し、最後にミ

セル間の水が取り除かれ融合した。いったん融合して楕円体形の構造になると、速やかに球形へと変化していった。

以上のように、ミセル同士の融合に伴う安定性の変化、融合の時定数、およびそのメカニズムについて新たな知見が得られた。ミセル・膜間の融合に関しても、SDS ミセルおよびPOPC二分子膜を用いて同様の検討を行った。ミセル重心と膜中心間の距離 z を反応座標として、平均力ポテンシャル $\Delta G(z)$ を同様に評価し、融合の時定数についての検討を進めてきた。

以上で示したミセル同士、およびミセルと膜との結合・融合に関しては、今後ランジュバン動力学シミュレーションの構築を進め、粗視化されたミセル・膜系のダイナミクスを再現するシミュレーション手法の確立を目指して研究を進めていきたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 9 件)

K. Fujimoto, Y. Kubo, S. Kawada, N. Yoshii, S. Okazaki, Molecular dynamics study of the aggregation rate for zwitterionic dodecyltrimethylamine oxide and cationic odecyltrimethylammonium chloride micelles, Mol. Simul., 査読有, in press

Y Andoh, A. Yamada, N. Yoshii, S Okazaki, Evaluation of atomic pressure in the multiple time-step integration algorithm, J. Comput. Chem., 査読有, 38, 2017, 704-713

M. Kitabata, K. Fujimoto, N. Yoshii, S. Okazaki, A molecular dynamics study of local pressures and interfacial tensions of SDS micelles and dodecane droplets in water micelles and dodecane droplets in water, J. Chem. Phys., 査読有, 144, 2016, 224701

N. Yoshii, K. Fujimoto, S. Okazaki, Molecular dynamics study of the structure of anionic SDS, cationic DTAC, zwitterionic DDAO, and nonionic $C_{12}E_8$ spherical micelles in solution, J. Mol. Liq., 査読有, 217, 2016, 99-102

S. Kawada, M. Komori, K. Fujimoto, N. Yoshii, S. Okazaki, Molecular dynamics

study of the formation mechanisms of ionic SDS and nonionic $C_{12}E_8$ micelles and n-dodecane droplets, Chem. Phys. Lett, 査読有, 646, 2016, 34-40

L. Wang, K. Fujimoto, N. Yoshii, S. Okazaki, A molecular dynamics study of the breathing and deforming modes of the spherical ionic SDS and nonionic $C_{12}E_8$ micelles, J. Chem. Phys., 査読有, 144, 2016, 034903 (7 pages)

吉井範行, 並列コンピュータを用いたミセルやウイルスカプシド系の大規模分子動力学計算, コロナイド及び界面科学部会ニュースレター 41, 2016, 7-9

N. Yoshii, Y. Andoh, K. Fujimoto, H. Kojima, A. Yamada, S. Okazaki, MODYLAS: A Highly Parallelized General-Purpose Molecular Dynamics Simulation Program, International J. Quantum Chem., 査読有, 115, 2015, 342-348

Y. Andoh, N. Yoshii, A. Yamada, K. Fujimoto, H. Kojima, K. Mizutani, A. Nakagawa, A. Nomoto and S. Okazaki, All-atom molecular dynamics calculation study of entire poliovirus empty capsids in solution, J. Chem. Phys., 査読有, 141, 2014, 165101 (11pages)

〔学会発表〕(計 29 件)

吉井範行, 高速多重極展開法の拡張, 文部科学省ポスト「京」重点課題5 エネルギーの高効率な創出, 変換, 貯蔵, 利用の新規基盤技術の開発」第3回公開シンポジウム, 2016年12月15日(東京)

藤本和士, 小嶋秀和, 水谷圭佑, 遠藤裕太, 山田篤志, 安藤嘉倫, 吉井範行, 篠田渉, 中川敦史, 岡崎進, 分子動力学計算を用いたポリオウィルスのCD155レセプター結合の研究, 第39回溶液化学シンポジウム, 2016年11月10日(筑波)

ポリオウィルス-レセプター間相互作用の分子論的研究性剤分子の拡散および集団運動, 藤本和士, 水谷圭介, 小嶋秀和, 山田篤志, 安藤嘉倫, 吉井範行, 篠田渉, 中川敦史, 岡崎進, 第 30 回分子シミュレーション討論会, 2016 年 12 月 2 日(大阪)

ミセル、ヘキサゴナル、膜構造における界面活性剤分子の拡散および集団運動, 吉井範行, 岡崎進, 第 30 回分子シミュレーション討論会, 2016 年 12 月 2 日(大阪)

K, Fujimoto, K. Mizutani, Y. Endoh, H. Kojima, A. Yamada, Y. Andoh, N. Yoshii, W. Shinoda, A. Nakagawa, S. Okazaki, All-atomistic molecular dynamics study of the interaction between poliovirus capsid and its receptor, The 4th International Conference on Molecular Simulation, 2016 年 10 月 24 日(上海)

Y. Andoh, N. Yoshii, A. Yamada, S. Okazaki, An attempt to estimate correct atomic pressure in the multiple time-step integration algorithm, The 4th International Conference on Molecular Simulation, 2016 年 10 月 24 日(上海)

異方性のある系に対する高速多重極展開法, 吉井範行, 安藤嘉倫, 岡崎進, 第 10 回分子科学討論会, 2016 年 9 月 15 日(神戸)

藤本和士, 久保洋介, 吉井範行, 岡崎進, A mechanism of the formation of zwitter ionic DDAO spherical micelles studied by molecular dynamics calculations, Joint EMLG/JMLG Annual Meeting 2016, 2016 年 9 月 11 ~ 16 日, (ギリシャ)

分子動力学計算における高速多重極展開法の拡張, 吉井範行, 安藤嘉倫, 岡崎進, 第 19 回理論化学討論会, 2016 年 5 月 24 日(大阪)

吉井範行, ソフト分子集合系の物質分配機能と集合様態のマルチスケール解析, 計算分子科学研究拠点 第 6 回研究会,

2016 年 3 月 14 日(愛知)

武田康助, 藤本和士, 吉井範行, 岡崎進, 分子動力学計算による陰イオン/非イオン界面活性剤混合ミセルの可溶化機構の研究, 第 29 回分子シミュレーション討論会, 2015 年 12 月 1 日(新潟)

安藤嘉倫, 吉井範行, 岡崎進, 汎用 MD ソフトウェア MODYLAS の異方的な MPI プロセス分割および基本セル分割への拡張, 第 29 回分子シミュレーション討論会, 2015 年 11 月 30 日(新潟)

吉井範行, 安藤嘉倫, 岡崎進, 高速多重極展開法における圧力テンソル, 第 29 回分子シミュレーション討論会, 2015 年 11 月 30 日(新潟)

遠藤裕太, 水谷圭佑, 小嶋秀和, 藤本和士, 山田篤志, 安藤嘉倫, 吉井範行, 篠田渉, 中川敦史, 岡崎進, ポリオウィルス-CD155 レセプター結合初期過程の分子動力学法による研究, 第 29 回分子シミュレーション討論会, 2015 年 11 月 30 日(新潟)

松林伸幸, 吉井範行, ソフト分子集合系の物質分配機能と集合様態のマルチスケール解析, HPCI 成果報告会, 2015 年 10 月 26 日(東京)

(その他 14 件計 29 件)

【図書】(計 1 件)

吉井範行 他著, 下司雅章 編, 計算科学のための HPC 技術 1, 大阪大学出版会, 2017 年 3 月

【産業財産権】

○出願状況(計 0 件)

○取得状況(計 0 件)

【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・特任准教授

研究者番号: 70371599