

令和 6 年 6 月 19 日現在

機関番号：33304

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2023

課題番号：19K05378

研究課題名（和文）リン脂質フリップを誘起する膜貫通ペプチドの計算分子設計

研究課題名（英文）In silico molecular design of transmembrane peptide induces lipid flipping

研究代表者

齋藤 大明 (Saito, Hiroaki)

北陸大学・薬学部・准教授

研究者番号：40506820

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、ペプチド二量体の中央にGlu残基を複数導入した膜貫通ペプチドの分子動力学（MD）シミュレーションを実行し、ペプチドの膜内における特徴的な構造の振る舞いを詳細に解析し、スクランブラーゼ活性に与える影響について考察した。MDシミュレーションの間、二量体構造を保持し続け、ペプチドの配向角度やペプチド間の角度も制限されていた。また、ペプチド間のGluやTrp残基間で得意的な相互作用が生じていることが示された。観測された特性は他の活性が強いモデルペプチドでも観測されたことから、ペプチドの二量体形成の保持がスクランブラーゼ活性における重要因子であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

膜貫通（TM）ペプチドの導入によって、脂質フリップが促進されることが発見され以来、実験・理論共に大きな注目が集まっている。しかしながら、TMペプチドによる脂質フリップの研究は実験観測の難しさから十分な研究がされていない現状にあり、脂質フリップ誘起の分子メカニズム解明の学術的意義は大きい。また、ドラッグデリバリー材料として期待される脂質ベシクルは、脂質膜を構成する分子組成や形状が機能決定のための重要因子となる。TMペプチドはこれら要素を調整、決定するための構成分子として期待されており、脂質フリップを促進するTMペプチドの分子設計技術の確立は薬学・医療分野においても重要課題である。

研究成果の概要（英文）：In this study, we performed molecular dynamics (MD) simulations on transmembrane peptides with multiple Glu residues introduced at the center of a peptide dimer. We thoroughly analyzed the characteristic structural behavior of these peptides within the membrane and discussed their impact on scramblase activity. During the MD simulations, the dimer structure remained intact, and both the orientation angles of the peptides and the angles between the peptides were restricted. Additionally, specific interactions were observed between the Glu and Trp residues of the peptides. These observed characteristics were also noted in other highly active model peptides, suggesting that maintaining the dimer formation of peptides is a crucial factor in scramblase activity.

研究分野：計算化学

キーワード：分子シミュレーション 分子動力学法 脂質フリップ 膜貫通ペプチド 脂質二重層膜

## 様式 C-19、F-19-1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

脂質二重層中のリン脂質分子の二層間の移動（フリップフロップ）は、親水性の頭部基が疎水性の炭化水素領域を通過しなければならないため、脂質のみの人工膜ではほとんど起こらない現象である。脂質スクランブリングは様々な細胞機能の発現・維持に関与しているものの、その構造的特徴は未だ明らかにされていない。

我々は時分割中性子小角散乱法を用いて、Leu と Ala の繰り返し配列からなるモデル膜貫通ペプチドが、POPC のフリップフロップを促進しないものの、配列中央の Leu 残基を Glu 残基に置換するとフリップフロップを促進することを示してきた。この配列中央の Glu 残基への置換は、置換する残基の数や位置によってスクランブリング活性は変化することが知られている。また、ペプチドをジスルフィド結合で二量体化することで、よりスクランブリング活性が上昇することが知られているが、活性上昇に関与する膜内構造は明らかとされていない。

### 2. 研究の目的

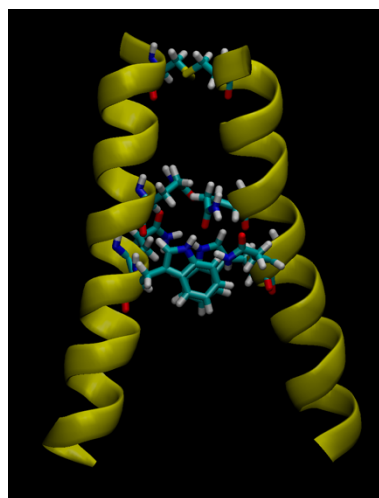
本研究では、ペプチド二量体の中央に Glu 残基を複数導入した膜貫通ペプチドの分子動力学（MD）シミュレーションを実行し、ペプチドの膜内における特徴的な構造の振る舞い（分子配向や Glu 残基の膜内位置、膜内構造の安定性）を詳細に解析し、スクランブラーゼ活性に与える影響について考察する。本報告ではジスルフィド結合の位置を変えた Glu を 2 残基持つペプチドを 4 種類、Glu を 3 残基持つペプチドを 1 種類モデリングし、これら膜貫通ペプチドを POPC 脂質膜に導入した結果について報告する。

### 3. 研究の方法

MD シミュレーションは全て定温・定圧条件下（ $T=303\text{ K}$ ,  $P=1\text{ atm}$ ）で実行した。脂質の力場には CHARMM36 を用い、水のモデルは TIP3 を用いた。解析は、膜厚方向に対する原子分布や、ペプチド間の結合特性も評価した。また、各モデル膜貫通ペプチドの POPC 膜の膜厚方向に対する配向や、ペプチド二量体間の角度の特性評価した。MD・計算には GROACS2018 を用いた。

### 4. 研究成果

右図に実験でスクランブラーゼ活性が強く現れたモデルペプチドを POPC 膜に挿入した系におけるスナップショット構造を示す。ペプチドは MD シミュレーションの間、2 量体構造を保持し続け、ペプチドの配向角度やペプチド間の角度も制限されていた。また、図に示されているように、ペプチド間の Glu や Trp 残基間で得意的な相互作用が生じていることが示された。このような特性は他の活性が強いモデルペプチドでも観測されたことから、ペプチドの二量体形成の保持がスクランブラーゼ活性における重要因子であることが示唆された。



関連発表論文（査読あり）

1) Takashi Kamei, Jun Miyazaki, Ryoga Hori, Hiroaki Saito, Tatsuo Takahashi, Ken-ichi Shinohara,

- Masakazu Miura, Hirokazu Suzuki,, "Spectral and HPLC Analyses of Synthesized Butin and Butein", Chem. Pharm. Bull., in press.
- 2) Honami Echizen, Kenjiro Hanaoka, Kazuhito Shimamoto, Ryota Hibi, Sachiko Toma-Fukai, Hisashi Ohno, Eita Sasaki, Toru Komatsu, Tasuku Ueno, Yukihiro Tsuchiya, Yasuo Watanabe, Takao Otsuka, Hiroaki Saito, Satoru Nagatoishi, Kouhei Tsumoto, Hirotatsu Kojima, Takayoshi Okabe, Toshiyuki Shimizu, & Yasuteru Urano, "Discovery of a cystathionine 4-lyase (CSE) selective inhibitor targeting active-site pyridoxal 5'-phosphate (PLP) via Schiff base formation" Scientific Reports 13, 16456 (2023)
  - 3) Honami Echizen, Kenjiro Hanaoka, Kazuhito Shimamoto, Ryota Hibi, Sachiko Toma-Fukai, Hisashi Ohno, Eita Sasaki, Toru Komatsu, Tasuku Ueno, Yukihiro Tsuchiya, Yasuo Watanabe, Takao Otsuka, Hiroaki Saito, Satoru Nagatoishi, Kouhei Tsumoto, Hirotatsu Kojima, Takayoshi Okabe, Toshiyuki Shimizu, & Yasuteru Urano, "Discovery of a cystathionine  $\gamma$ -lyase (CSE) selective inhibitor targeting active-site pyridoxal 5'-phosphate (PLP) via Schiff base formation" Scientific Reports 13, 16456 (2023)
  - 4) Kengo Hayashi, Nobuki Kato, Khurram Bashir, Haruna Nomoto, Misuzu Nakayama, Andrea Chini, Satoshi Takahashi, Hiroaki Saito, Raku Watanabe, Yousuke Takaoka, Maho Tanaka, Atsushi J. Nagano, Motoaki Seki, Roberto Solano, Minoru Ueda, "Subtype-selective agonists of plant hormone co-receptor COI1-JAZs identified from the stereoisomers of coronatine", COMMUNICATIONS BIOLOGY (2023)6:320
  - 5) Kazutomo Kawaguchi, Seiichiro Ito, Hiroaki Saito, Hidemi Nagao, "Molecular dynamics study of lipid bilayer asymmetry induced by ion concentration gradient and electronic polarizability", *Molecular Simulation* (2022) 48:6, 477-483.
  - 6) Naoki Kanoh, Ryusei Terashima, Hiromichi Nishiyama, Yuta Terajima, Shota Nagasawa, Yusuke Sasano, Yoshiharu Iwabuchi, Hiroaki Saito, Syusuke Egoshi, Kosuke Dodo, Mikiko Sodeoka, Chengqian Pan, Yoshinobu Ikeuchi, Shinichi Nishimura, and Hideaki Kakeya, "Design, Synthesis, and Antifungal Activity of 16,17-Dihydroheronamide C and ent-Heronamide C", *The Journal of Organic Chemistry* (2021) 86 (23), 16249-16258.
  - 7) Rina Saito, Kengo Hayashi, Haruna Nomoto, Misuzu Nakayama, Yousuke Takaoka, Hiroaki Saito, Souhei Yamagami, Toshiya Muto & Minoru Ueda, "Extended JAZ degran sequence for plant hormone binding in jasmonate co-receptor of tomato SICOI1-SIJAZ", Scientific Reports volume 11, Article number: 13612 (2021).

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 1.Kengo Hayashi, Nobuki Kato, Khurram Bashir, Haruna Nomoto, Misuzu Nakayama, Andrea Chini, Satoshi Takahashi, Hiroaki Saito, Raku Watanabe, Yousuke Takaoka, Maho Tanaka, Atsushi J. Nagano, Motoaki Seki, Roberto Solano, Minoru Ueda	4. 巻 6:320
2. 論文標題 Subtype-selective agonists of plant hormone co-receptor COI1-JAZs identified from the stereoisomers of coronatine	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 COMMUNICATIONS BIOLOGY	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-023-04709-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Kawaguchi Kazutomo, Ito Seiichiro, Saito Hiroaki, Nagao Hidemi	4. 巻 48
2. 論文標題 Molecular dynamics study of lipid bilayer asymmetry induced by ion concentration gradient and electronic polarizability	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Molecular Simulation	6. 最初と最後の頁 477 ~ 483
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/08927022.2022.2025798	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kano Naoki, Terashima Ryusei, Nishiyama Hiromichi, Terajima Yuta, Nagasawa Shota, Sasano Yusuke, Iwabuchi Yoshiharu, Saito Hiroaki, Egoshi Syusuke, Dodo Kosuke, Sodeoka Mikiko, Pan Chengqian, Ikeuchi Yoshinobu, Nishimura Shinichi, Kakeya Hideaki	4. 巻 86
2. 論文標題 Design, Synthesis, and Antifungal Activity of 16,17-Dihydroheronamide C and <i>ent</i> -Heronamide C	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Organic Chemistry	6. 最初と最後の頁 16249 ~ 16258
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.joc.1c01761	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Saito Rina, Hayashi Kengo, Nomoto Haruna, Nakayama Misuzu, Takaoka Yousuke, Saito Hiroaki, Yamagami Souhei, Muto Toshiya, Ueda Minoru	4. 巻 11
2. 論文標題 Extended JAZ degron sequence for plant hormone binding in jasmonate co-receptor of tomato SIC011-SIJAZ	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-93067-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakao Hiroyuki, Sugimoto Yuta, Ikeda Keisuke, Saito Hiroaki, Nakano Minoru	4. 巻 11
2. 論文標題 Structural Feature of Lipid Scrambling Model Transmembrane Peptides: Same-Side Positioning of Hydrophilic Residues and Their Deeper Position	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Physical Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 1662 ~ 1667
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jpcllett.0c00175	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計15件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 黄 一帆、横江 弘雅、相馬(海保) 愛、高橋 万紀、平澤 祐介、森田 博史、齋藤 大明、大竹 史明、叶 直樹
2. 発表標題 Brd4分解誘導剤MZ1を基盤とした三価PROTACテンプレートの設計と合成、活性評価
3. 学会等名 日本ケミカルバイオロジー学会第16回年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 齋藤大明, 叶直樹
2. 発表標題 分子動力学シミュレーションを用いたヘロナミド類の膜内構造と凝集性
3. 学会等名 化学コミュニケーションのフロンティア 取りまとめシンポジウム (第10回公開シンポジウム) (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 齋藤 大明
2. 発表標題 分子シミュレーションを用いた機能性分子の膜内構造と機能解明
3. 学会等名 日本薬学会北陸支部第134回例会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 林 謙吾、加藤信樹、Khurram Bashir、野本春菜、中山美涼、Andrea Chini、高橋聡史、齋藤大明、渡部 楽、高岡洋輔、田中真帆、永野惇、関 原明、Roberto Solano、上田 実
2. 発表標題 ジャスモン酸受容体COI1-JAZ9選択的に作用するコロナチン立体異性体を用いたジャスモン酸シグナル伝達の化学遺伝学的解析
3. 学会等名 第64回日本植物生理学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Hiroaki Saito, Naoki Kanoh
2. 発表標題 Dynamical structure and thermal stability of polyene macrolactam heronamides in lipid bilayer: A molecular dynamics study
3. 学会等名 The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2021 [PACIFICHEM2021], Chemical Communications through Natural and Synthetic Bioactive Compounds (#79) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 林 謙吾、加藤信樹、野本春菜、中山美涼、Khurram Bashir、Andrea Chini、高橋聡史、齋藤大明、渡部楽、高岡洋輔、田中真帆、永野惇、関原明、Roberto Solano、上田実
2. 発表標題 コロナチン立体異性体フォーカスライブラリーを用いたジャスモン酸受容体サブタイプ選択的リガンドの開発
3. 学会等名 日本農芸学会2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 齋藤大明、叶直樹
2. 発表標題 分子動力学シミュレーションを用いたヘロナミド類の膜内構造と結合特性
3. 学会等名 第35回分子シミュレーション討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中山美涼, 齋藤里菜, 林謙吾, 野本春菜, 高岡洋輔, 齋藤大明, 山神壮平, 武藤俊哉, 上田実
2. 発表標題 植物ホルモン-受容体相互作用に寄与する拡張デグロン配列の同定
3. 学会等名 第15回バイオ関連化学シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 齋藤大明, 叶直樹
2. 発表標題 分子動力学シミュレーションを用いたヘロナミド類の膜内構造と凝集性
3. 学会等名 化学コミュニケーションのフロンティア第8回公開シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 齋藤大明
2. 発表標題 生体膜に会合する化学コミュニケーション分子の機能解明と計算分子設計技術の開発
3. 学会等名 化学コミュニケーションのフロンティア・第7回公開シンポジウム(誌上シンポジウム)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 齋藤大明, 叶直樹
2. 発表標題 分子動力学シミュレーションを用いたヘロナミド類の膜内構造と安定性
3. 学会等名 化学コミュニケーションのフロンティア・第2回領域リトリート
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 齋藤大明、森下徹也
2. 発表標題 LogMFDによる脂質分子の膜透過自由エネルギー曲線
3. 学会等名 分子科学討論会2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hiroaki Saito, Takao Otsuka, Noriaki Okimoto, Makoto Taiji
2. 発表標題 Development of a pharmacokinetics prediction system using multiscale integrated modeling:16. Prediction of sites of metabolism of drug by CYP2C9 by molecular simulation
3. 学会等名 CBI学会2019年大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hiroaki Saito, Naoki, Kanoh
2. 発表標題 Dynamical structure and thermal stability of polyene macrolactam heronamide in lipid bilayer: a molecular dynamics study
3. 学会等名 International Conference on Molecular Simulation (ICMS 2019)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 齋藤大明、叶直樹
2. 発表標題 分子動力学シミュレーションを用いたヘロナミド類の膜内構造と濃度依存性
3. 学会等名 化学コミュニケーションのフロンティア第6回公開シンポジウム
4. 発表年 2019年



〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	中尾 裕之  (Nakao Hiroyuki)  (00805020)	富山大学・学術研究部薬学・和漢系・助教   (13201)	
研究 分担者	森下 徹也  (Morishita Tetsuya)  (10392672)	国立研究開発法人産業技術総合研究所・材料・化学領域・主任研究員   (82626)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------