

TSUBAME 共同利用 令和 3 年度 学術利用 成果報告書

利用課題名 ヘロナミド類の抗真菌作用メカニズムの解明のための計算分子設計技術の開発  
 英文: In silico molecular design for understanding antifungal mechanism of heronamides

齋藤大明 / Hiroaki Saito

北陸大学 / Hokuriku University

ヘロナミド類の抗真菌作用メカニズムの解明のために、ヘロナミドを脂質膜に挿入した分子動力学シミュレーションを行い、ヘロナミドの膜内での動的構造や相互作用特性の詳細な解析を行う。さらに、化合物の膜への会合・透過・離脱の起こりやすさを定量的に評価するための自由エネルギー計算技術を確立する。

In this study, we have carried out molecular dynamics (MD) simulations of heronamides in the lipid bilayer to understand the structure and dynamics of compounds in the membrane.

*Keywords: heronamide, lipid bilayer, molecular dynamics simulation, free energy profile*

### 背景と目的

近年、化合物やペプチドを含む生体分子の膜会合の分子メカニズムの理解には、化合物やペプチドだけではなく、それを取り囲む脂質膜も含めた動的構造や相互作用特性の理解が重要であるとの研究が多数報告され、多くの注目を集めている。抗真菌活性を有するヘロナミド類は飽和型の脂質膜にはタイトに結合する一方で、不飽和型脂質膜には弱く結合することが報告されている。このようなヘロナミドの脂質膜への結合特性の違いは、ヘロナミドと脂質膜内における結合構造や相互作用特性の違いによるものと考えられる。このような分子会合の膜特異性の理解には会合分子と脂質膜の動的構造や相互作用特性の評価が課題となるが、添加分子を含んだ混合脂質膜は実験観測の難しさのために、これら特性は未だ明らかではなく、分子シミュレーションによる解析が望まれている。

本研究は、化合物やペプチドの膜への特異的会合の機構解明を目的として 1. 脂質の疎水鎖の長さや不飽和度を変更した脂質膜に標的化合物を挿入した MD 計算を行い、膜内での添加分子の動的構造や相互作用特性の詳細な解析を行う。2. 高速・高精度の自由エネルギー計算法を開発し、化合物の膜への会合・透過・離脱の起こりやすさを定量的に評価する計算技術を確立する。

### 概要

本申請研究では分子シミュレーション技術(分子動力

学シミュレーション・自由エネルギー計算)を用いてヘロナミド類の抗真菌作用メカニズムを解明を目的に、以下の3つの研究課題を行う。1. 「化合物(ヘロナミド類)を含んだ脂質膜の構造・相互作用解析」2. 「化合物(ヘロナミド類)の膜会合の自由エネルギー計算手法の開発」3. 「脂質・化合物の分子構成変化に対する分子会合特性変化の検証」。これにより実在系の化合物・ペプチドの脂質膜への膜会合過程(吸着・透過・離脱)における「動的構造」や「自由エネルギー変化」の詳細が明らかになる。

### 結果および考察

図1に本研究で取り扱うヘロナミドの分子構造を示す。これらヘロナミドを DMPC を 128 個、水分子を 8192 で構成する脂質二重層膜に1分子だけ存在する系と、20 %濃度で存在する系を作成し、各々の系での膜内構造と、膜への結合特性評価を MD シミュレーションによって評価した。

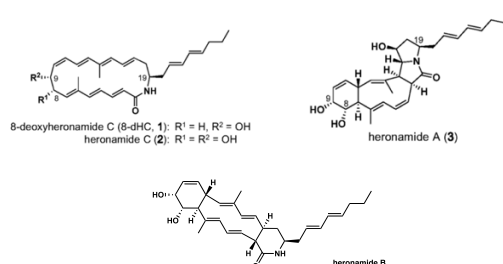


図 1. 8-deoxyheronamide C, heronamide C, heronamide A, heronamide B の分子構造

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。脂質のカ場には CHARMM36 を用い、水モデルは TIP3 を用いた。ヘロナミドの DMPC 膜への結合特性の評価には、アンブレラサンプリングによる膜厚方向に対する PMF 計算によって評価した。反応座標は  $z$  軸(膜厚方向)とし、ヘロナミド分子の水酸基を膜内中心方向に移動させた場合と、膜外方向に移動させた場合の PFM を DMPC の膜からの離脱エネルギー曲線と定義して計算を行った。

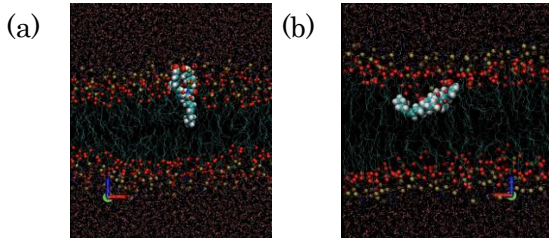


図 2. (a) heronamide C と(b) heronamide A の膜内分子配向

図 2 に DMPC 膜に (a) heronamide C と (b) heronamide A を 1 分子挿入した系における構造のスナップショットを示す。heronamide C は 2 つの水酸基を膜の極性基領域に向けて配向する結果が示されたが、heronamide A の場合は、膜圧方向に対して大きくチルトして配向する様子が示され、膜内における配向特性の違いが示された。図 3 に各々のヘロナミド分子の膜圧方向に対する PMF 計算の結果を示す。自由エネルギー値の比較の結果、膜からの離脱のエネルギー障壁では heronamide A < heronamide C となり、heronamide A の弱い膜結合特性が PMF 計算より示された。これらは生物活性の評価実験と対応する結果であり、シミュレーションや PMF 計算の正当性を示す結果である。さらに本研究では、ヘロナミド C の構造異性体、コレステロールやエゴステロールを 20% 濃度における MD 計算も実施した。各々の系における膜内の構造や安定性に関する解析をし、それぞれヘロナミドの分子構造の違いに起因する、膜内構造や安定性の違いが解析計算により明らかとなっている。

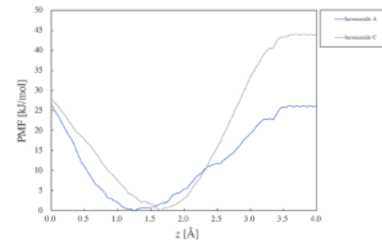


図 3. heronamide A と C の膜厚方向に対する PMF 曲線

まとめ、今後の課題

今後はヘロナミド 20%濃度における膜内凝集のメカニズムと抗真菌機能の解明に関するシミュレーションの実施と解析を行う。