

## 第 46 回 日本生物物理学会年会 シンポジウム

12 月 3 日(水)

### 1S4 「水を主役とした化学力学エネルギー変換論 - ATP から運動へ - 」

Water as a key player in chemomechanical energy transduction: From ATP to Motility

9:00 ~ 11:30 D会場 / Room D

オーガナイザー: 鈴木 誠(東北大), 児玉孝雄(九州工大)

Organizers: Makoto Suzuki (Tohoku University) & Takao Kodama (KIT)

ATP の加水分解エネルギーとは何か? これまでの研究をレビューすると、ATP の加水分解反応の自由エネルギー変化は、真空中か水中かでまったく異なり、反応前後における物質と水の相互作用の違いを正確に見積もることがきわめて重要であることに気付かされる。これは溶液科学をぬきにしては語れない。それでは最新の溶液科学の手法を応用すれば解決できるのだろうか? 実験的には 1 分子計測技術や熱の精密測定技術、誘電分散による水和状態解析法の進展があり、理論的には分子動力学計算に加えて、積分方程式法や並進エントロピーが生体分子間相互作用の評価に応用され始めた。このシンポジウムを契機にモータータンパクに象徴される化学力学共役の生物物理学が溶液科学と融合することで新たな展開が生まれることが期待される。このシンポジウムでは、総合討論を最重要視する。

シンポジウムプログラム		担当	分
9:00	このシンポジウムの目的と進め方	鈴木、児玉	5
9:05	水中におけるATPの加水分解エネルギーとは何か? 水和自由エネルギーの重要性	児玉 孝雄	13
	ATPの加水分解エネルギー -量子化学計算の現状-	櫻井 実	12
9:30	1分子計測から観たATP加水分解反応	田中 裕人	13
	モータータンパクの相互作用において水和状態は変化するか? -吸熱過程と水和状態の変化、ATP, ADP, Pi 周りのハイパーモバイル水-	鈴木 誠	13
	分子動力学と量子化学計算で水和現象は予測できるか? -イオン周りの水のダイナミクス-	高橋 卓也	13
10:10	水がエネルギー論にどのようにどれだけの大きさで関与するか? -タンパク質分子間相互作用における水の並進運動効果と熱力学量-	秋山 良	13
	水和自由エネルギー計算はどこまでできたか? -現状とブレークスルー-	松林 伸幸	13
	アクチオシンのような大規模系に対応可能な計算法はあるか? -分子性流体用積分方程式論と形態熱力学的アプローチの統合型方法論-	木下 正弘	13
10:50	タンパク質のダイナミックな構造と機能に果たす水の役割	笹井 理生	12
	総合討論	鈴木、児玉	30
11:30	新学術領域研究 採択課題H20~H24 「水を主役としたATPエネルギー変換」紹介	鈴木 誠	15

## 水中における ATP の加水分解エネルギーとは何か？

### ATP 加水分解自由エネルギーの理解の変遷 (水和自由エネルギーの重要性)

児玉孝雄 九工大・情報工

【背景】ATP は生命系エネルギー需給ダイナミクスの媒体分子であり、アセチルリン酸、クレアチンリン酸などとともに、“高エネルギーリン酸(～P)化合物”といわれる(表1)。～P 化合物の $\Delta_{\text{hyd}}G^\circ$  に関して<sup>1)</sup>、その起源を分子内部構造の不安定性に求める“静電反発”説や“拮抗共鳴”説(図1)が古くから提唱され、1950 年代以降には量子化学に基づく理論計算も行われた。しかし、このような～P 化合物の構造特性だけに視点をおく限り、最先端の量子化学計算をもってしても、観測された $\Delta_{\text{hyd}}G^\circ$  の大きさを全く説明することができない(たとえば、Hansia et al. *Biophys Chem* 119: 127, 2006)。すなわち、「なぜ～P 化合物の $\Delta_{\text{hyd}}G^\circ$  が、表1のような範囲にあるのか？」という問題は未解決である。これを含め、ATP の $\Delta_{\text{hyd}}G^\circ$  の物理的起源(ATP のエネルギー)を明らかにすることは、ATP 駆動タンパク質による ATP 加水分解自由エネルギーの仕事(運動、輸送など)への変換メカニズムの真の分子論的理解に至るための不可避のステップである。

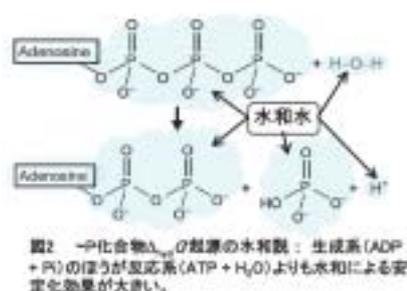
【水和の重要性】いうまでもなく地球上の生命系は水あつての存在である。すなわち、すべての生体分子は水中に存在し、水と相互作用しつつ(溶質/溶媒相互作用)他の分子との相互作用(溶質/溶質相互作用)によって機能する。～P 化合物もこの例外ではない。しかし、上述の理論計算では水は誘電率( $\epsilon$ )の高い反応場として扱われているにすぎない。

われわれの知る限り、～P 化合物の加水分解エネルギー論における水の主体的役割を最初に指摘したのは George らである[BBA 223: 1, 1970]。彼らは～P 化合物の加水分解反応系は多数のイオン種で構成されていること、イオンの水和自由エネルギーが著しく大きいこと<sup>2)</sup>に着眼した。そして、ピロリン酸をはじめとするポリリン酸をモデル化合物とし、熱測定などの実験結果と文献データを統合的に考察して、各種イオンの水和エネルギーを計算するとともに、“反応系と生成系の水和エネルギーの差”が $\Delta_{\text{hyd}}G^\circ$  を決め

表1 リン酸エステル加水分解  
ギブスエネルギー変化

Phosphate esters	$-\Delta_{\text{hyd}}G^{\circ}$ kJ mol <sup>-1</sup>
Phosphoenolpyruvate	61.9
1,3-bisphosphoglycerate (1-3-phosphoglycerate + Pi)	49.3
Phosphocreatine	43.9
Acetylphosphate	42.3
ATP	30.5
Pyrophosphate (PPi)	27.6
Glucose-1-phosphate	20.9
Glucose-6-phosphate	13.8
Glycerol-1-phosphate	9.2

\*for conditions at pH 7, 298 K



1. ここでの議論は、圧力、温度、pH、イオン強度、Mg<sup>2+</sup>などの金属イオン濃度を一定の条件下における反応に固有の標準ギブスエネルギー変化であることに注意。
2. 水和と共有結合のエネルギー絶対値の大小比較: 1価イオン ≈ 単結合; 2価イオン ≈ 三重結合

る主要因である可能性を示唆した(図2)。その後、この考えの影響を受けた計算や実験結果が散発的に報告された。しかし、今日の学界で水和説が公知されているとは言い難い状況である。

図3は、仮想反応 A → B のエネルギー論における水和エネルギーの重要性を示す概念図である。過程 1 で反応物質 A を溶液から真空中に移して(脱溶媒和 desol)、反応させて B を生成し(過程 2、rxn)、過程 3 で B を溶液に戻す(溶媒和 sol)。実測可能な溶液中の反応  $\Delta_{\text{rxn}}G(\text{溶液})$  は真空中での反応  $\Delta_{\text{rxn}}G(\text{真空})$  と“生成系と反応系の水和自由エネルギーの差  $\Delta\Delta_{\text{sol}}G$ ”との和でなくてはならない(エネルギー保存則)。分子内構造説による計算では、この  $\Delta\Delta_{\text{sol}}G$ 、すなわち、A、B の溶媒和に対する配慮が十分ではなかったと考えられる。<sup>3)</sup>

【課題と展望】したがって、「ATP のエネルギー」を明らかにするには、これまでの量子化学計算に加えて、溶液化学理論にもとづく反応物、生成物の水和熱力学量の計算を行い、図3最下行の式の計算を実施して、観測値との整合性の検討を行うことが

不可欠である。加えて、反応系と生成系の水和状態の物理化学的詳細を実験的に明らかにすることも計算へのモデル提供、結果の妥当性のチェックのために重要となる。

このような研究によって ATP、ADP、Pi の水和熱力学量の評価ができれば、ATP 駆動タンパク質のエネルギー状態の理解は格段に深まることは明らかである。たとえば、筋肉のモータータンパク質ミオシンへの ATP 分解中間過程のうち、ATP 結合、Pi および ADP 遊離については、ATP、Pi、ADP の溶液-タンパク質結合ポケット間の移動(脱水和あるいは水和+付随する溶媒の状態変化)にともなう熱力学量が評価されることになる。したがって、これらの各過程の熱力学パラメータの観測値(表2、*Physiol. Rev.* 65: 467, 1985)からの差し引き計算をすることによって、タンパク質側のエネルギー状態変化(結合ポケットの脱水和・水和、同ポケットにおける ATP/ADP+Pi とアミノ酸側鎖との相互作用とそのタンパク質分子内他領域への波及効果-コンフォメーション変化+分子全体の水和変化にともなう熱力学量変化)の定量的な評価が可能になる。こうして「ATP のエネルギー」が加水分解サイクルのどの過程で、どのように量的、質的に変化するかをより詳細に検討する途が開かれることになる。

3. 水と同じ  $\epsilon=80$  の“場”における反応  $\Delta_{\text{rxn}}G(\epsilon=80)$  は、反応  $\Delta_{\text{rxn}}G(\text{溶液})$  とは必ずしも一致しない。なぜなら、前者には、溶質分子と溶媒(水)分子との分子間相互作用、溶質の存在による溶媒状態の変化、水分子が小粒子であることによるエントロピー効果が含まれていないからである。Fig. 3における  $\Delta_{\text{sol}}G(A)$  および  $\Delta_{\text{sol}}G(B)$  には、これらがすべて含まれる。

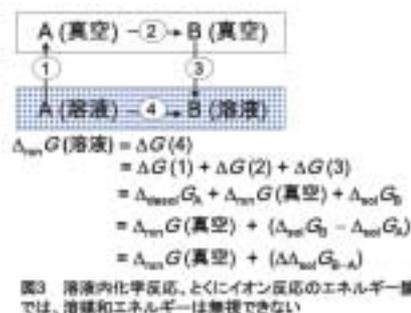


表2 ミオシン ATP 分解の熱力学パラメータ

Reaction steps	$\Delta G^\circ$ kJmol <sup>-1</sup>	$\Delta H^\circ$ kJmol <sup>-1</sup>	$\Delta S^\circ$ kJK <sup>-1</sup> mol <sup>-1</sup>	$\Delta C_p^\circ$
M + ATP ⇌ M·ATP	-64	-89	-0.08	-0.4
M·ATP + H <sub>2</sub> O ⇌ M·ADP·P <sub>i</sub>	-5	+51	+0.19	-2.8
M·ADP·P <sub>i</sub> ⇌ M·ADP + P <sub>i</sub>	+5	-52	-0.19	+2.6
M·ADP ⇌ M + ADP	+34	+70	+0.12	+0.4
ATP + H <sub>2</sub> O ⇌ ADP + P <sub>i</sub>	-30	-20	+0.04	-0.2

## ATPの加水分解エネルギー - 量子化学計算の現状 -

櫻井 実 (東工大・バイオセンター)

多くの教科書において、ATP の高エネルギーリン酸結合の原因は拮抗共鳴説や電荷反発説によって説明されてきたが、これらは厳密に理論的に検証されたものではない。しかも、これらの説の最大の問題点は、反応物と生成物の内部エネルギー変化のみに着目し、溶媒である水の役割に関する視点を欠いている、ところにある。一方、近年、量子化学計算の分野でも溶媒効果計算の重要性が認識され、PCM(polarizable continuum model)をはじめとする比較的精度の高い連続体近似理論が発展してきた。以下では、われわれが開発した境界要素法に基づく連続体近似理論(Hoshi et al., J. Chem. Phys., **87**, 1107 (1987)) を ATP 類似体の加水分解反応に適用した例を紹介する。

加水分解反応の自由エネルギー $\Delta G_{\text{total}}$  は、次のエネルギー項からなる。すなわち、1) 内部エネルギー項(気相中の反応エネルギー)  $\Delta E_{\text{gas}}$ 、2) 並進・回転・振動エネルギー項  $\Delta E_{\text{thermo}}$ 、3) 静電的水和エネルギー項  $\Delta E_{\text{elec}}$ 、及び 4) 非静電的水和エネルギー項  $\Delta E_{\text{non-elec}}$  である。 $\Delta E_{\text{thermo}}$  は統計力学の公式から、 $\Delta E_{\text{elec}}$  は前述した連続体近似理論から計算された水中(誘電率 80)の反応エネルギーと気相中の反応エネルギー $\Delta E_{\text{gas}}$ の差である。また、 $\Delta G_{\text{non-elec}}$  は、連続体中に溶質を収容するためのキャビティーを空けるためのエネルギーと溶質 - 溶媒間の分散力相互作用によるエネルギーの和である。ATP 類似体に対する結果を下表(エネルギーの単位はすべて kcal/mol)に示す。なお、これらの計算では、分子軌道法として MNDO 法を用いている。

いずれの反応の場合も、水和エネルギーの静電項 $\Delta E_{\text{elec}}$  が気相中の反応エネルギー $\Delta E_{\text{gas}}$ をほぼ打ち消すように働くため、自由エネルギー $\Delta G_{\text{total}}$ としては-5~-8 kcal/molの範囲に収まっている。特に、ATP のリン酸部位の類似体であるピロリン酸(反応3や4)の $\Delta E_{\text{gas}}$ 値は大きな負の値(大きな発熱)であるが、水和効果を考慮することによってはじめて実測値に近づくことは注目すべきである。

### Pyrophosphate Hydrolysis

J. Am. Chem. Soc., Vol. 117, No. 15, 1995 4361

Table 6. Gas-Phase Proton Affinities (kcal/mol)

reaction	MP2/6-311++G**	AMI	PM3	estimated gas-phase PA <sup>1</sup>
$\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7 \rightarrow \text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7^- + \text{H}^+$	307.3	328.0	338.2	311
$\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7^- \rightarrow \text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7^{2-} + \text{H}^+$	398.7	421.0	432.5	488
$\text{H}_2\text{PO}_4 \rightarrow \text{H}_2\text{PO}_4^- + \text{H}^+$	325.8	338.8	346.3	311
$\text{H}_2\text{PO}_4^- \rightarrow \text{HPO}_4^{2-} + \text{H}^+$	455.6	477.7	485.8	488

Table 8. Pyrophosphate Hydrolysis Energies in the Aqueous Phase (kcal/mol)

reaction	$\Delta G(\text{Aq})$		
	MP2/6-311++G**	AMI-SM2	PM3-SM3
$\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{H}_2\text{PO}_4$	-9.3	9.6	-3.4
$\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7^- + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_2\text{PO}_4 + \text{H}_2\text{PO}_4^-$	0.1	4.1	-11.0
$\text{H}_2\text{P}_2\text{O}_7^{2-} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{H}_2\text{PO}_4^-$	2.7	0.7	-12.9
$\text{HP}_2\text{O}_7^{2-} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_2\text{PO}_4^- + \text{H}_2\text{PO}_4^{2-}$	6.6	4.0	-21.3
$\text{P}_2\text{O}_7^{4-} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{HPO}_4^{2-}$	-0.8	8.2	-24.6

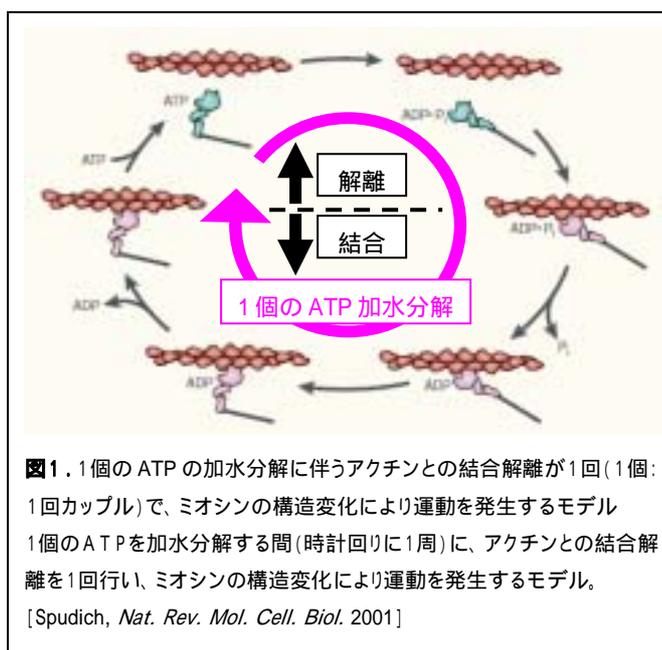
## 1 分子計測から見た ATP 加水分解反応

化学力学エネルギー変換の理解に向けて、1 分子計測はどう貢献できるか？

田中裕人（科技振・さきがけ、東北大・多元研）

【背景】近年、1 分子計測法がモータータンパク質に応用され、1 分子の挙動を直接観察できるようになり、キネシン、 $F_1F_0$ 、ダイニン、ミオシンと言ったモータータンパク質についての様々な知見が得られて来た。ナノ計測を行うことで、モータータンパク質の 1 歩の大きさが計測され、1 分子蛍光観察を行うことで、ATP とタンパク質やタンパク質同士の結合などが、直接観察されてきた。

こうした 1 分子測定の見聞から、化学・力学エネルギー変換メカニズムについて、どのような議論がなされているのだろうか？モータータンパク質ミオシンを例にとると、**1 個の ATP の加水分解に伴うアクチンとの結合解離が 1 回 (1:1 仮説)**で、ミオシンの構造変化により運動を発生するというモデルが提唱 & 議論されてきた (図 1)。しかし、これまでの実験で、この 1:1 仮説が実は証明されていない。実験結果が『1:1 仮説



に矛盾無く説明できる』と議論されているのである。これは、これまでの実験が、「ミオシンに状態変化が起こった際の、状態間における前後の変化量 (ATP 結合、位置など) の測定」に注目して行われてきたためである。図 1 を使って説明すると、アクチン-ミオシン相互作用サイクルの“結合・解離の前後”での状態の変化量 (変位) を測定し、その観察結果を、『1:1 仮説』をベースとして説明されてきたのである。その一方で、図 1 の“結合・解離の形成過程”で何が起きているのかを詳細に調べたのが、Kitamura らによって開発された分子操作顕微鏡法であった。ミオシン type2 が変位を発生する過程を詳細に調べてみると、**1 個の ATP の加水分解に伴うアクチンとの結合解離が複数個のアクチンモノマーにわたる (1:複数回結合解離)**ことを明らかにした (Kitamura, Tokunaga et al., *Nature* 1999)。後に Okada らにより、ミオシン type5 についても、『1:複数回結合解離』が証明された。

【実験結果の解釈】『1:複数回結合解離』と、他の実験結果を併せて解釈すると、どうなるのか？ ミオシン type5 (以下、ミオシン 5) の実験を例に紹介しておく。ミオシ

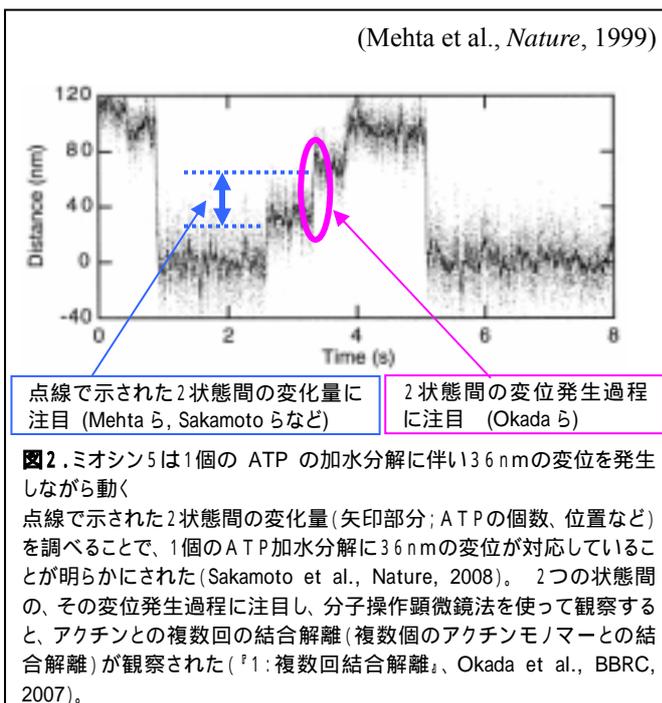
ン5は、図2に示したように36nmの階段状の変位を発生しながら動く。図2の縦矢印で示されるようにミオシンの状態変化が起こったとき、状態の前後の変化量(ATPの結合数、位置など; 図2では位置)を調べることで、1回の変位が36nmであることや(Mehta et al., Nature, 1999)、1回の変位が1個のATP加水分解と対応していることが明らかにされた

(Sakamoto et al., Nature, 2008)。

一方、2つの状態間の変位発生過程(楕円)部分に注目して詳細に調べた結果、1個のATP加水分解

に伴う1回の変位が、アクチンとの複数回の結合解離(複数個のアクチンモノマーとの結合解離)で発生することが明らかにされた(Okada et al., BBRC, 2007)。これらの実験結果は、本質的に矛盾するものでは無く、注目しているポイントと観察のレンジが異なっているため、解釈と議論に注意を要するのである。

【課題と展望】ミオシンの化学・力学エネルギー変換メカニズムを理解する1つのアプローチとして、変位発生過程の理解が挙げられる。1個のATP加水分解に伴うアクチンとの結合解離が複数個のアクチンモノマーにわたることを数理的に説明する方法として、アクトミオシン相互作用を粗視化したポテンシャル場で表現し、そのポテンシャル場中の運動としてミオシンの変位発生過程を再現するラチェットモデルが有効な手段となる。観察された変位発生過程とポテンシャル場の形とを対応付けて、議論が展開できるためである。しかし、前提として「ATP加水分解に伴うミオシンの化学状態変化により、アクチン周囲に形成されているポテンシャル場が変動する」と仮定する。これが問題となる。そのポテンシャル場の実体が不明なのである。「**ポテンシャル場の実体を、タンパク質周りの水和状態変化と関連づけることで、ラチェットモデルにおけるポテンシャル場の物理化学的実体を明らかにできないか?**」ということが1つの展望であると考えられる。ポテンシャル場が、何に起因するのか?本シンポジウムで紹介される、ミオシンやアクチンの周りの水和状態変化や、ハイパーモバイル水が関係するのか?1分子測定の実験結果から期待されるポテンシャル場の存在が、“水”の状態を考慮することで理論的に説明できるのか?溶液化学からの理論的サポートを得ることで、モータータンパク質の化学・力学エネルギー変換メカニズムの真髄に迫れるのではないかと期待している。



## モータータンパク質の相互作用において水和状態の変化は起こるのか？

### 吸熱過程と水和状態の変化、ATP, ADP, Pi 周りのハイパーモバイル水 -

鈴木 誠 東北大院工

水中では、タンパク質分子は周囲の水分子と相互作用し、タンパク質分子自身が構造化するだけでなく、周囲の水の集合状態を変化させる。言い換えれば溶媒である水の動的な水素結合ネットワークは溶質によって容易に影響を受ける。著者は、誘電緩和分光法(図1)によって筋肉モータータンパク質の水和解析を進め、その過程で次のような知見をえた。

ミオシン ATP 分解サイクルに共役したタンパク質疎水性水和状態の変化 (表1) Biophys. J. 72:18, 1997

F-アクチン分子周りでのバルク水より回転緩和の速い水、hyper-mobile water(HMW)の存在、Biophys. J. 85: 3154, 2003 (図2)

ミオシンのF-アクチンへの結合にともなう HMW の増加、BBRC.322:340, 2004(図2)

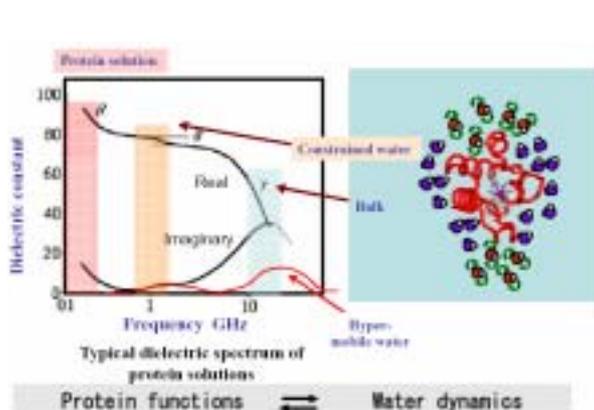


図1 タンパク質水溶液の誘電スペクトル

Hydration states of Myosin S1

		exp.	Calc.
Strongly bound	N1	2130	2330
	Ns	720	776
Weakly restrained	Nw	1410	1554
From MLADP/PI to M·ADP + Pi			
		$\Delta N1$	-120
		$\Delta Ns$	+2
From MLADP/PI to M·ADP + Pi			
		$\Delta S$	-230 J/K.mol
		$\Delta Cp$	+2600 J/K.mol
From $-CH_2-$ (oil) to $-CH_2-$ (water)			
		$\Delta S$	+6 J/K.mol
		$\Delta Cp$	+70 J/K.mol

表1 ミオシン S1 の ATPase cycle における水和量とエントロピーの変化

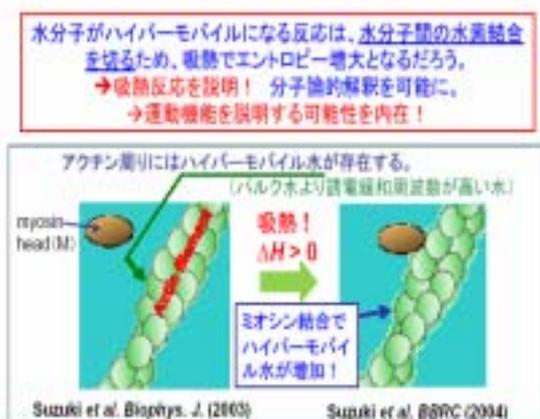


図2 F-アクチン周りの hyper-mobile water ミオシンの結合により増大

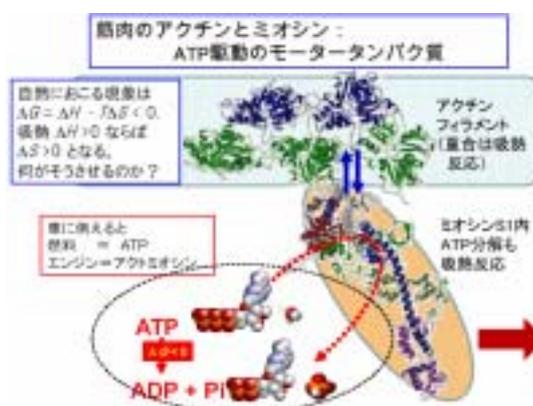
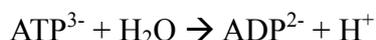


図3 アクトミオシンにおける吸熱過程

これらはいずれも、アクトミオシン系エネルギー論の実験的知見[アクチンフィラメントの重合過程が吸熱反応であることや、ミオシンヘッド S1 内部における ATP の加水分解ステップが吸熱であること(図 3)](Physiol. Rev. 65: 467, 1985)と整合性の高い結果である。すなわち、 $\Delta S$  は反応中間過程における大きなエントロピー変化 ( $\Delta S$ ) に、 $\Delta S$  はアクチン重合の  $\Delta S > 0$ 、 $\Delta S$  はアクチン/ミオシン相互作用の  $\Delta S > 0$  に対応する。これらの  $\Delta S$  絶対値はいずれも極めて大きく、タンパク質の水和現象のみならず、溶媒の状態変化を考慮しない限り、説明困難である。

#### ATP, ADP, Pi の水和状態

Alberty(Biochemistry 31:10610, 1992)によれば、ATP の加水分解の標準自由エネルギー変化  $\Delta_{hyd}G^{\circ}$  は  $-42 \text{ kJ/mol}$  (25 °C, pH8.0, I=0)、エンタルピー変化  $\Delta_{hyd}H^{\circ}$  は  $-21 \text{ kJ/mol}$  である。したがって、加水分解により  $21 \text{ kJ/mol}$  に相当するエントロピー増大が起こっていることになる。pH=8 における主要成分の変化は次のようになる。



この ATP 分解反応が 1mol 分進行すると、組成モル数の変化による混合エントロピー変化の効果として約  $10 \text{ kJ/mol}$  の増分は説明できるが、それでは不十分である。反応後のイオン数の増加を考えれば、総水和水数は増加すると予想され、それでは反応の進行とともにエントロピーは減少してしまうだろうから、説明が困難である。

著者らは、このシンポジウムに向けて誘電緩和スペクトル測定により、ATP, ADP, Pi の水和状態を測定した。その結果(詳細はポスター3P-118(最上ら)で発表)、ATP, ADP, Pi のどれも多量の hyper-mobile water (HMW) をもっていることがわかり、ATP と ADP+Pi の HMW 量の比較から、加水分解によって総 HMW 量が大きく増大することが示唆された。HMW の回転緩和時間が短いことは、水分子間の水素結合が平均として弱く、水分子間の配置がよりランダムになり、エントロピーが高い状態と考えられる。つまり、HMW は反応後のエントロピーを高める上で重要な役割を果たしている可能性がある。

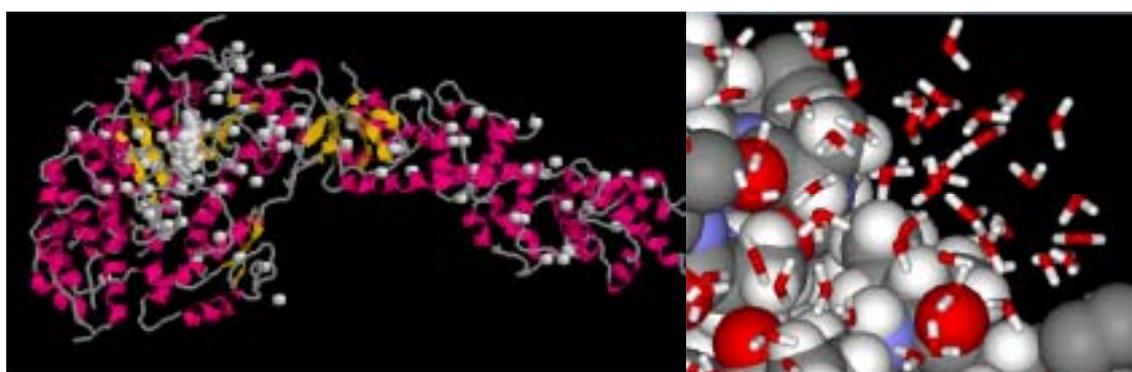
**【課題と展望】**このように、hyper-mobile water は、これまでの強く拘束された水和水の概念だけでは解決できない問題を解く鍵としての可能性を秘めている。現時点で熱力学量との関連を定量的に示すことはできないが、木下(本シンポジウムの話題提供者、ポスター3P-115)は、分子性流体用積分方程式法により、荷電した大粒子周りの水には、バルクよりもエントロピー密度の高い領域が発生することを示している。これは Hyper-mobile water の存在を理論的に示した最初のものである。化学 - 力学エネルギー変換メカニズムの解明には、変換過程におけるエネルギー移動を明らかにすることが重要である。その際、タンパク質の構造変化のみでなく、溶液系に存在する溶質(ATP、ADP + Pi、タンパク質)の水和状態変化と溶質と相互作用する溶媒(水)の状態変化の詳細な解析が必要になる。

## 分子動力学と量子化学計算による水和現象の予測 溶質分子の周りの水のダイナミクス -

高橋卓也 立命館大・生命

【背景と課題】タンパク質分子の構造形成、複数のタンパク質分子間の特異的な複合体形成、チャネルタンパク質分子におけるイオンの選択的透過など、多くの生命現象においては周囲の水分子が重要な役割を果たすことが知られている。ところが古くからコロイド化学等で知られる Hofmeister 系列のような広汎の現象にかかわる水の特性の変化は、計算機実験ではほとんど再現できていない。そこで古典的な分子動力学シミュレーションに加えて、量子計算を組み合わせた計算によって水和水のダイナミクスを再現しようとする試みがなされつつあるが、定量的には勿論、定性的にも未だに問題が残っている。

また、低分子、アルカリ、ハロゲンイオン、多くの荷電高分子、さらに各種タンパク質周囲の水分子のダイナミクスに関して、鈴木らにより誘電緩和測定やプロトン拡散係数測定等が行われており (S. R. Kabir, K. Yokoyama, K. Mihashi, T. Kodama, and M. Suzuki, (2003) )、通常の運動性が純水(バルク)中よりも遅い水和水に加えて、多くの系で運動性が速い水(ハイパーモバイル水)の存在が示唆されている。さらに尿素水溶液の系で古典的な MD 計算が単純な点電荷・点原子モデル (SPC/E 水) を用いて行われ、ハイパーモバイル水の存在が部分的には再現されているようだが、同じ点電荷・点原子モデルで KI のようなアルカリ・ハライド溶液では再現できない。計算条件の依存性によるアーティファクトの可能性も否定できず、その理論計算による解明も未だ不十分である。よい水分子モデルや溶質分子モデルの開発が必要不可欠と思われる。



タンパク質(ミオシン PDB : 1b7t)表面の水

拡大

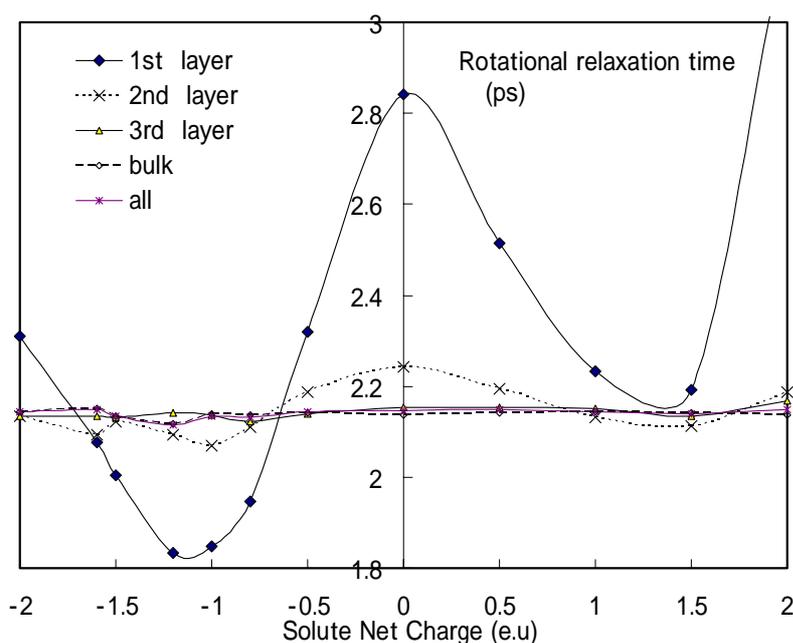
またイオンの水和自由エネルギーを再現するパラメタが溶質のダイナミクスを再現し易いという傾向が見つかっているが、全ての定量的な性質を再現できていない。

既に発表者は特定領域研究「水と生体分子」の公募研究「誘電および蛍光分光法による荷電高分子・アクチン周りのハイパーモバイル水動態解析 (H18-19 代表: 鈴木誠)」において、量子化学計算により、水和水の電子状態が溶質の影響を受け、それが水和水の運動

性的変化と相関していることを確認している (T. Takahashi, M. Yamashita and M. Suzuki, (2008))。また定電場中での水分子のダイナミクスやイオン等の溶質周囲の水和水ダイナミクスの計算等を行ってきたが、運動性の遅い水和水の再現はできたが、ハイパーモバイル水まで含めて十分解明できたとは言えない (Takahashi, Y. Miya, Yu. Takagi, and Kenri. Konno, (2006).)。

## 【展望】

今後は低分子イオンの実験的に得られた様々な水と特性を再現できる水分子および溶質モデルの開発も含まれており、近似レベルの異なる複数のモデルの影響を検証することができる。これにより、それまで未解明の多くの水溶液系の問題を解決できるものと期待される。例えば、古典



的な MD により、右図にあるように溶質の電荷・形状によっては周囲の水分子のダイナミクスを加速することも明らかになりつつある。

現在、水溶液系の分子動力学 (MD) 計算は、計算機能力の向上にともない大きなタンパク分子運動を長時間追跡することが可能になりつつあるので、そのような大きな溶質における周囲の水分子の並進運動や回転運動を解析し、機能に関わる協動的な動きや部分的な運動性を抽出することも可能になる。

さらにタンパク質の機能や反応を考えていく上で、水和水のダイナミクスという視点が役に立つかもしれない。具体的には ATP 加水分解反応の解明において、加水分解の各ステップにおいて水中で単体で存在するときと反応の場となるタンパク質が存在するときの周囲の水分子も含めたダイナミクス変化をそれぞれ計算し比較していくことで、平衡論的な自由エネルギーという視点だけでなく力学的な視点からの解明も目指したい。

本発表では、このような水和水現象にまつわる問題や最近の研究の進展を紹介し、今後の研究の方向に関して考えてみたい。

水がエネルギー論にどのようにどれだけの大きさで関与するのか？

## タンパク質分子間相互作用における水の並進運動効果と熱力学量

秋山良 九大・理

### 【背景】

ATP 結合タンパク質を含めて、ほとんどの生体分子は凝縮相で機能する。従って対象とする系に対して分子論的な描像を得る事を目指すならば、画像情報では捉えられない溶媒分子などを含めた極めて大きな自由度の考慮が必要である。しかし、すべての自由度情報の羅列は人間には理解不能である。この様な場合、基礎的な化学反応の議論等でもそうであった様に、堅実な議論の出発点として各状態における熱力学量を評価軸とする事が適切であろう。その際、自由エネルギー変化という固定点の存在が重要である事にも注意したい。

### 【溶媒分子の並進運動効果】

図1にミオシン上でのATPの加水分解の過程を示す。この過程にもいくつかの会合・解離過程がある。これらの過程は、例えば、常温常圧での自由エネルギー変化  $G$  で捉えなければならない。

そうした液相中の実効相互作用を考える上で、木下らによる水分子を剛体球でモデル化した流体中タンパク質の構造安定性に関する計算の成功は非常に重要である[1]。直接の引力が含まれていないのに良い結果が得られるのか？この疑問に対して『凝縮相中

の実効相互作用を考える上で、分子のパッキングが重要である』というファン・デル・ワールス描像を軸に考察できる[2]。パッキングの重要性は、直接の分子間相互作用の斥力部分の重要性を意味している。この点で剛体球モデルの重要性に結びつく。剛体モデルでは、実現する配座間で位置エネルギーに差は無いので、定積条件下では溶媒分子の配置エントロピーの差が系を駆動しているとも言える。タンパク質が関わる分子会合、構造安定性に対する基本描像を描く上で、この溶媒分子の並進運動効果は重要である。この点に着目して、更に溶媒分子の密度分布を一様分布近似する単純化を行うと説明がし易い。溶媒分子を朝倉・大澤理論で扱う事に相当するからである。

ここでは朝倉・大澤理論を定積条件下の過程として解説する。図2(A)の様な希薄な小球の漂う媒質の中の二つの大球間の相互作用を考えよう。ただし、それぞれは剛体球である。小球の中心は大球にめり込む事ができないので、図の白い体積にしか配置で

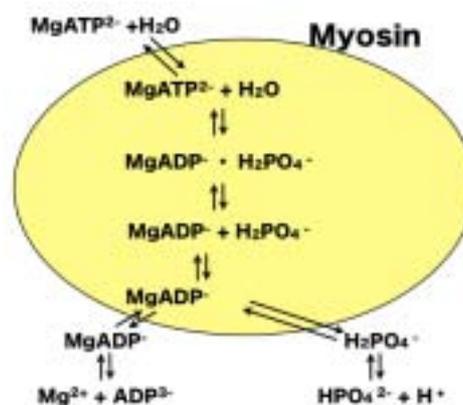


図1: Hydrolysis on Myosin

きない。図 2 (B)の様に大球が接すると大球周りの灰色の領域が重なりを持つため、白い体積は増加する。そのため、大球が接する事は小球の配置エントロピーの増加を引き起こす。このエントロピー増加が、会合の駆動力となる[3]。

ここで、2つの大球をタンパク質とリガンドの形状の剛体に変形し、小球を溶媒分子のサイズに直し、溶媒の数密度まで濃くすれば、上記の溶媒分子分布に対する一様分布近似になる。当日は、この簡単な近似によるミオグロビンへのキシロンの吸着の計算例を示す。

これら成功は、現実系の数密度を用いて定積条件下で求めれば、溶媒分子の並進運動効果に着目する事で、疎水性分子のタンパク質への吸着サイトや安定性の評価を行える場合が多い事を暗に示

している。すなわち、タンパク質に空間的に近い水分子だけを考慮するだけでは系の理解が不可能である事を示している。しかし、この分子間の斥力を主軸とした描像も、基本描像に過ぎない。ATP のエネルギー論を行うには不十分である。分子の電荷状態の変化が大きい場合など、水分子の回転配向によって水和エネルギーが大きく変化する場合には、その考慮が必要になる。さらに、実験との対応上もう一つ問題がある。エントロピー項とエンタルピー項への分割の問題である。剛体モデルを用いた並進運動効果に着目したアプローチでは、自由エネルギー変化を求める事に主眼がおかれているが、その分割は必ずしも重視していないのである。

### 【自由エネルギー変化の分割】

剛体モデルを離れて現実系の自由エネルギー変化の分割を考えるならば、定圧過程か、定積過程かを区別する必要がある。では、例えば理論計算上有利な定積条件下で、リアリスティックな分子間相互作用を考慮した計算が実行できた場合、会合の自由エネルギー差  $F$  の分割は、直接実験と比較できるのであろうか？定圧過程と定積過程で自由エネルギー変化は、次のとおりである。

$$G = H - T S_P = (E_P + P V_P) - T S_P \quad (\text{定圧過程}),$$

$$F = E_V - T S_V \quad (\text{定積過程})$$

ここで、対応する状態の熱力学的極限では  $G = F$  である。多くの教科書では、液相では、高圧の場合を除いて  $H = E_V$  と看做せるとされている。

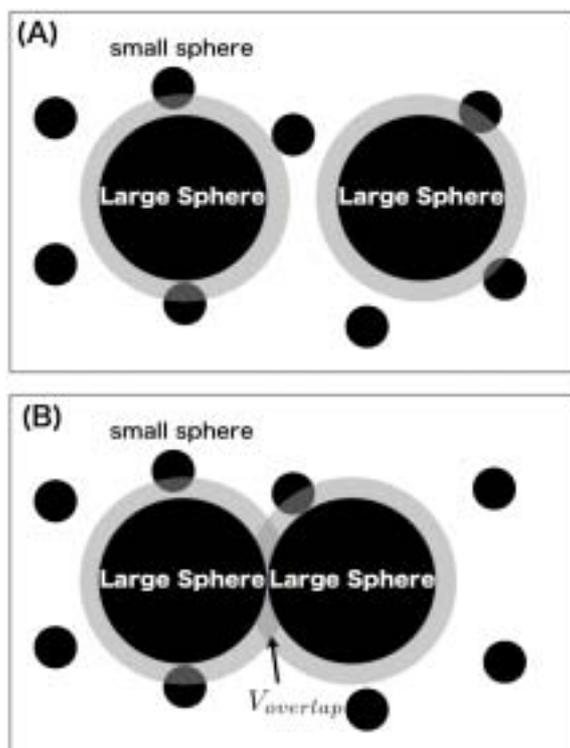


図2: Excluded Volume

しかし、定圧での会合のエネルギー差  $E_p$  と、定積での会合のエネルギー差  $E_v$  は、次の様な熱力学関係式で書かれる事に注意したい。

$$E_p/(k_B T) = E_v/(k_B T) + (\alpha^*/T) V_p/d_s^3$$

この右辺第2項の大きさによっては、たとえ  $PV$  項が小さくとも  $H = E_v$  とは看做せなくなり、同時に、 $S_p = S_v$  も崩れ得る[4]。ここで、重要なパラメータは等温圧縮率

$\alpha = \alpha^* d_s^3/(k_B T)$ 、膨張係数  $\alpha^* = \alpha^*/T$  そして、部分モル体積変化  $V_p$  である。水の場合、 $(\alpha^*/T)$  は、298K で 0.84 程度であり、 $V_p$  の大きさによっては、自由エネルギーの分割は定圧下と定積下では全く異なる事がありうる。児玉によって求められたミオシン上での ATP の加水分解過程の熱測定結果[5]を例に議論する。ADP がミオシンから離れた後の終状態から、ATP が結合する前の始状態の定圧での実験結果は、

$$\text{定圧過程：約 } G = -30, \quad H = -20, \quad -T \Delta S_p = -10 \quad [\text{kJ/mol}]$$

である。ここで、上記の水のパラメータに加えて、水分子に対して  $d_s^3 = 15 \text{ cm}^3/\text{mol}$  を仮定し、もし体積変化が  $V_p = -142 \text{ cm}^3/\text{mol}$  であったならば、

$$\text{定積過程：約 } F = -30, \quad E_v = 0, \quad -T \Delta S_v = -30 \quad [\text{kJ/mol}]$$

となる。実はこの体積変化は決して大きいとは言えない[6]。すなわち、定積条件下では、 $F$  は、すべてエントロピー項の寄与となる。従って、リアリスティックな分子間相互作用を考慮した場合にも定積と定圧の間の翻訳を適切に行う必要がある。もし、定積での理論計算に自由エネルギー差の分割まで適切に表現する事を要求するならば、反応による部分モル体積変化、 $\alpha^*$ 、 $\alpha$  といった熱力学パラメータの測定も必要となる。また、定圧の計算の場合にもそれらのパラメータの再現に注意を払うべきであろう。すなわち自由エネルギー差の分割には、定積か定圧かを指定する必要があり、水は水溶液そのものの基本物性と部分モル体積変化を通じて大きく関与する可能性がある。

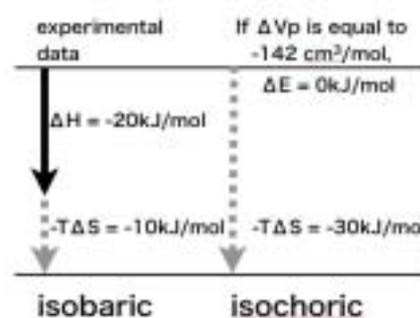


図3:  $\Delta H$ ,  $-T\Delta S_p$ ,  $\Delta E$  and  $-T\Delta S_v$

[1] 木下正弘、原野雄一, 生物物理 46(4) 214(2006). 日本語による解説。その Ref. も参照。

[2] D. Chandler et al., *Science* 220 787(1983) ここでの議論上、関連の深い WCA 理論のレビュー。

[3] これは、高校物理でもおなじみの定圧条件下での  $-PdV$  の仕事を定積条件で説明しただけである。S. Asakura and F. Oosawa, *J. Chem. Phys.* 22 1255(1954) では、ハミルトニアンから導かれる。

[4] M. Kinoshita et al., *J. Chem. Phys.* 125 244504(2006). 球状分子の場合について議論されている。

[5] T. Kodama, *Physiological Reviews*, 65 467(1985)

[6] M. Yamanaka et al., *Coll. and Surf. B* 22 23(2001)

## 水和自由エネルギー計算はどこまで来たか？

- 精度と規模、現状とブレイクスルー -  
松林 伸幸 (京都大学化学研究所)

水は生体系に必須の溶媒であり、その効果は、溶媒和 (水和) 自由エネルギーによって端的に示される。自由エネルギー解析は、溶液系・バイオ系の理解に重要である。しかし、理論の観点からは、溶媒和自由エネルギーは、非常に計算コストの高い量として悪名高い。「MD が可能である」とされる場合でも、その意味は、水和構造がよい精度で計算可能ということであり、溶媒和自由エネルギーの計算は無理であることが多い。計算の困難な溶媒和自由エネルギーに対する戦略として、MD と溶液理論を組み合わせることを提案する。溶液理論の構築は、MD で簡単に計算可能な分布関数でもって、自由エネルギーを、よい近似で汎関数的に表現することを目指す。近似がよければ、「MD が可能である」系に対して、通常の MD を行うのと同程度の労力で、溶媒和自由エネルギーの算出が可能になる。また、溶媒和自由エネルギーを、それを表現する分布関数によって、分子レベルで解析することができる。

バイオ系や脂質膜系の自由エネルギー解析を行うには、flexible な分子系や不均一系の取扱いは必須である。この目的に適う溶液理論として、エネルギー表示の方法をこれまでに提案した。溶質 - 溶媒相互作用対エネルギーの分布関数から溶媒和自由エネルギーを構成する方法である。気体から液体までの広い熱力学条件に対してテストされ、様々な種類の溶質の水和自由エネルギーが精度よく ( $\sim 1$  kcal/mol 程度の誤差で) 計算できることが分かっている。

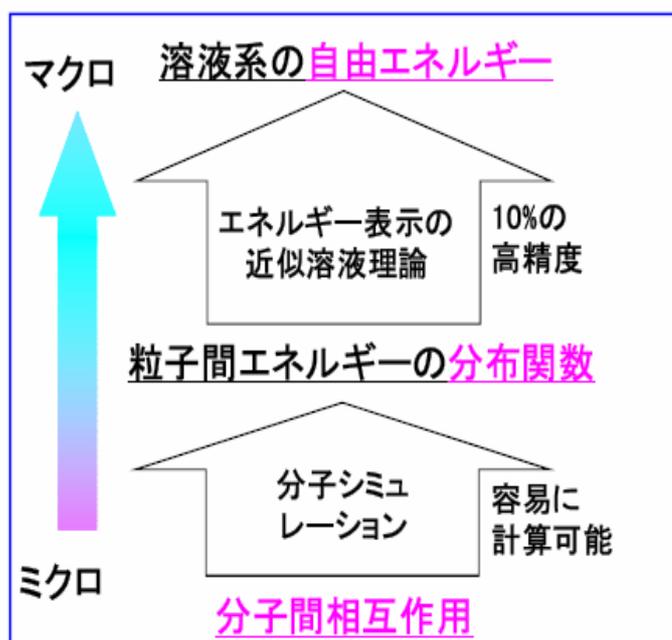


図 1 エネルギー表示法による自由エネルギー計算のフロー

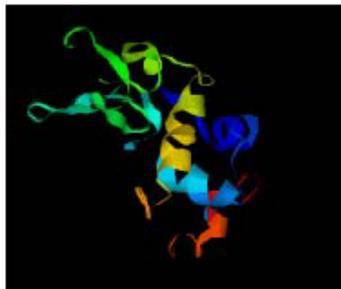
全原子型の並列化MDシミュレーションとエネルギー表示溶液理論の結合による  
ナノスケール不均一系の高速自由エネルギー計算と解析

エネルギー軸上の新しい溶液理論  $\hat{\rho}(\varepsilon) = \sum_i \delta(\varepsilon - v(\psi, \mathbf{x}_i))$

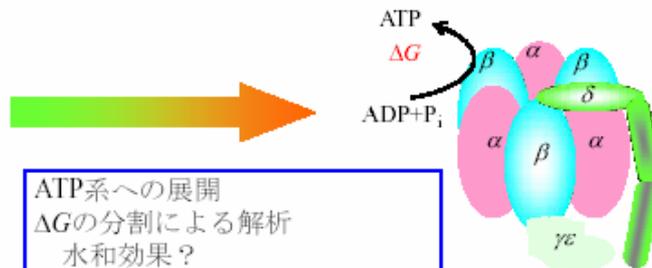
松林(京都大)

巨大系・不均一系に適用可能

例: タンパク質の全原子水和自由エネルギー解析を数kJ/molの精度で計算  
(従来の計算精度を飛躍的に高めた方法を使用)



水和効果と分子構造の関係



引力効果と斥力効果の分割による、キーとなる分子間相互作用の明確化  
タンパク構造変化因子と水和因子の分割による、化学力学エネルギー変換の  
理解

講演では、方法論の紹介と、これまでの代表的な適用例を述べる。まず、全原子型 MD から計算したタンパク質の水和自由エネルギーである。構造変化の経路に沿った、種々の相互作用の競合について議論する。さらに、脂質膜やミセルへの分子結合である。膜・ミセル系を「不均一混合溶媒」とみなし、溶質の挿入を膜・ミセル内部に制限するという条件下での溶媒和自由エネルギーを計算することで、分子結合を調べた。DMPC 膜や SDS ミセルへの疎水性溶質の結合への応用について述べる。

次いで、応用範囲を拡張し、凝縮相中での酸化還元過程や ATP 加水分解、イオンチャンネルへの展開を展望する。最初の場合は、溶媒効果を定量的に考察したい。後者 2 つでは、タンパク質をも含めて「不均一混合溶媒」とみなし、上記の膜・ミセル系の場合を含めた統一的視点の確立を目指している。新理論の構築によって、水をも取り入れた全原子モデルで、溶液・バイオ系・界面を、統一的に、かつ、実験と比較可能な精度で解析することが射程に入っている。

参考文献

- 1) Theory of solutions in the energetic representation. I. Formulation, N. Matubayasi and M. Nakahara, *J. Chem. Phys.* **113**, 6070 (2000).
- 2) Theory of solutions in the energy representation. II. Functional for the chemical potential, N. Matubayasi and M. Nakahara, *J. Chem. Phys.* **117**, 3605 (2002); **118**, 2446 (2003).
- 3) Free-energy analysis of the molecular binding into lipid membrane with the method of energy representation, N. Matubayasi, W. Shinoda, and M. Nakahara, *J. Chem. Phys.* **128**, 195107 (2008).

アクトミオシンのような大規模系に適用可能な計算法はあるか？  
分子性流体用積分方程式論と形態熱力学的アプローチの統合型方法論

木下 正弘（京都大学 エネルギー理工学研究所）

演者らは、蛋白質の折り畳み、酵素 - 基質間に見られるような分子認識、蛋白質の会合による高次構造形成などにおいて、水の並進移動に起因するエントロピー効果が重要な役割を果たすことを示してきた<sup>1-3)</sup>。水分子と生体分子に剛体モデル（系の取り得るあらゆる微視的状态は等しいエネルギーを持ち、エントロピックな効果しかない）を適用した場合でさえ、蛋白質がコンパクトな構造に折り畳むこと、鍵と鍵穴間に「強いサイズ選択性」や「形が相補的であることの重要性」が発現すること、蛋白質の規則的な会合体形成が促進されることなどが再現できる。しかし、さらに進んだ解析を実行する場合には、「水分子 = 剛体球」では成功せず、より現実的な分子モデルを採用する必要が生じる。その場合、分子性流体用積分方程式論<sup>4)</sup>が最も強力であるが、分子間の相互作用と相関を重心間距離と各分子の方向の多変数関数として扱うために数学的に複雑化し、蛋白質の水和特性の解析に直接適用することは難しい。しかし、分子性流体用積分方程式論は疎水性水合を的確に表現できる貴重な理論<sup>4)</sup>であり、諦めることはできない。そこで登場するのが形態熱力学的アプローチである。

形態熱力学的アプローチ<sup>5)</sup>では、溶質の溶媒和の熱力学量  $Z$  を溶質の 4 つの幾何学的指標 ( $V, A, X, Y$ ) により次式で与える。

$$Z = C_1 V + C_2 A + C_3 X + C_4 Y.$$

ここで、 $V$  = 排除容積、 $A$  = 露出表面積、 $X$  および  $Y$  は露出表面の曲率に関係した量である。4 つの係数 ( $C_1, C_2, C_3, C_4$ ) は、溶質の形状に依存しないとして扱い、数多くの異なる直径を有する球状溶質の ( $Z, V, A, X, Y$ ) の組から最小自乗法によって決定する。球状溶質なら、分子性流体用積分方程式論が困難なく適用できる。蛋白質の  $Z$  は、4 つの幾何学的指標（構造によって異なる）を計算するだけで得られる。単純流体の溶媒に対しては、3次元積分方程式論<sup>1,5)</sup>を用いた場合に比べると、計算値のずれは±2%以下であり、計算時間は約 1 万分の 1 になる。メモリーも非常に小さくて済む。

演者らは、水のエントロピーに主眼を置き、蛋白質折り畳みの熱力学<sup>6)</sup>、圧力変性<sup>7)</sup>や低温変性のメカニズムの解明、熱安定性の解析、立体構造予測法の開発<sup>8)</sup>などにおいて、分子性流体用積分方程式論

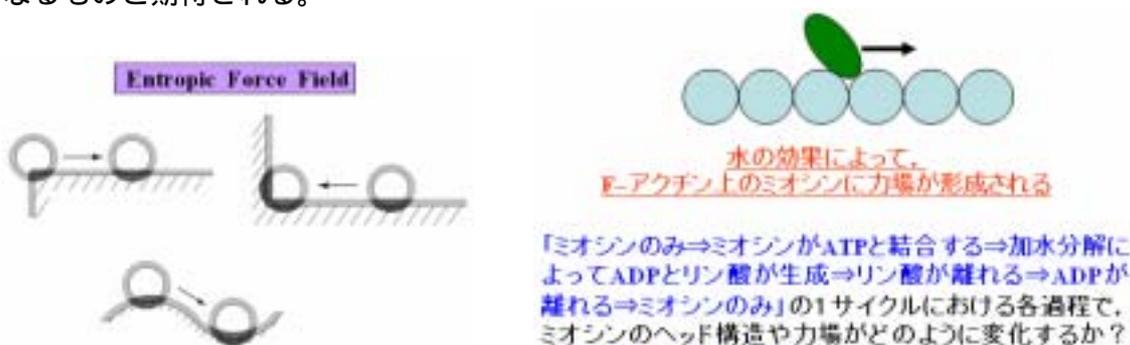
（水分子には多極子モデルを採用）と形態熱力学的アプローチの統合型方法論を用いて多大の成功を収めてきた（右図）。その場合、蛋白質近傍における水分子のみならず、系内の全水分子に注目する必要があると共に、蛋白質 - 水分子 - 水分子の 3 体およびそ

**統合型方法論の実績**

<p>蛋白質立体構造予測用の新しい自由エネルギー関数を構築</p> <p>↓↓↓</p> <p>"Four-State_Reduced", "Flux", "Baker_CASP5", "Rosetta"中の50種類以上の蛋白質に対し、数百 - 数千通りの構造の中から天然構造を射当てることに成功</p> 	<p>Apo-lactocytinの折り畳みに伴う系の熱力学量変化の試験的（奇喩的）な理論計算で定量的に再現することに成功</p>  <p>折り畳み 「エンタルピー損失 + 疎水エントロピー損失」を水のエントロピー増大が決定</p> <p>蛋白質の圧力変性・熱変性・熱安定性の分子機構を解明</p>
--	--

れ以上の多体相関を考慮に入れることが不可欠である：分子性流体用積分方程式論のような精密な統計力学理論が必要になる由縁である<sup>9)</sup>。蛋白質が折り畳むと、「系内の水の到達可能な微視的状态の数が大幅に増加する(水分子同士の混み合いが大きく緩和される)」という概念が重要である。水和エントロピーを並進成分(水分子の並進の自由度が影響を受けることに起因するエントロピー変化)と回転成分(水分子の回転の自由度が影響を受けることに起因するエントロピー変化)に分けることもできる。今後、水の回転エントロピーの役割についても調べる必要がある。統合型方法論は、非常に大きな蛋白質や会合体に対しても、水和エントロピーを超高速で計算できる。

下図(左)に示すように、水分子の並進移動に起因して、表面上の大きな溶質に、表面の幾何学的形状を反映した力場が形成される<sup>1)</sup>。水に対する排除容積が減少(黒塗りで示した排除容積の重なるの容積が増加)する方向に溶質が動かされる傾向が生じる。物理的に同じ効果が、下図(右)に示すアクチンにも見られるはずである。ミオシンがいったん最安定な位置に接触すると移行は難しくなるが、「ミオシンのみ ミオシンが ATP と結合する 加水分解によって ADP とリン酸が生成 リン酸が離れる ADP が離れる ミオシンのみ」のサイクルによって、力場を巧妙に変化させつつ、一方向に移動するのではないだろうか。この概念に関する解析に、統合型方法論が有力になるものと期待される。



#### 参考文献

- 1) M. Kinoshita, J. Chem. Phys. **116**, 3493-3501 (2002).
- 2) 木下正弘, 物性研究 **89**, 317-371 (2007).
- 3) M. Kinoshita, "Roles of translational motion of water molecules in sustaining life", Encyclopedia of Bioscience, Frontiers in Bioscience, Special issue entitled "Theoretical studies on roles of water in biological systems", edited by M. Kinoshita.
- 4) M. Kinoshita, J. Chem. Phys. **128**, 024507 (1-14) (2008).
- 5) R. Roth, Y. Harano, and M. Kinoshita, Phys. Rev. Lett. **97**, 078101(1-4) (2006).
- 6) T. Yoshidome, M. Kinoshita, S. Hirota, N. Baden, and M. Terazima, J. Chem. Phys. **128**, 225104(1-9) (2008).
- 7) Y. Harano, T. Yoshidome, and M. Kinoshita, J. Chem. Phys., **129**, 145103(1-9) (2008).
- 8) Y. Harano, R. Roth, Y. Sugita, M. Ikeguchi, and M. Kinoshita, Chem. Phys. Lett. **437**, 112-116 (2007).
- 9) 木下正弘, アンサンブル **10**, 18-26 (2008).

## タンパク質のダイナミックな構造と機能に果たす水の役割

笹井理生 名大・計算理工

【タンパク質の動的揺らぎと水】多くの蛋白質の動的揺らぎは 200K 以下では急激に小さくなり、蛋白質は機能を失う。これはガラス転移、あるいは動的転移と呼ばれる現象であるが、揺らぎが機能にとって不可欠であることを示す現象である。図 1 は溶媒の温度と蛋白質の温度が異なるという条件下での MD 計算の結果であるが、溶媒が転移温度以下の 180K の場合は、蛋白質が 300K であってもその揺らぎは小さいが、溶媒が 300K の時は蛋白質が 180K であっても揺らぎは大きい。すなわち、蛋白質の周囲の水分子の運動の変化が動的転移の主因であり、水分子の運動が蛋白質の機能にとって必須であることを示している。

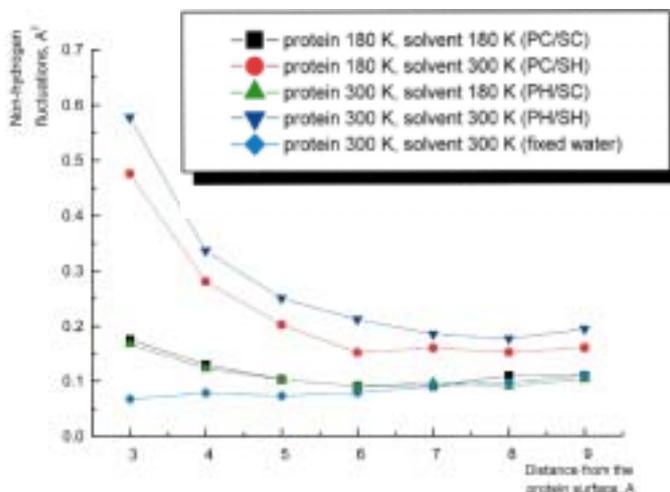


図 1 溶媒と蛋白質の温度が異なるときに生じる蛋白質の揺らぎの振幅。横軸は蛋白質表面から内部へ向かっての距離。ミオグロビンの MD 計算 [Vitkup *et al. Nat. Str. Biol.* **7**: 34, 2000]。

【タンパク質内部に入る水】蛋白質の内部に侵入した水分子が、化学反応や光吸収に際して果たす役割が興味をもたれている [Shibata & Kandori, *Biochem.* **44**: 7406, 2005]。蛋白質の内部に侵入した水は、水素結合に関与したり、残基の余分な電荷を遮蔽したり、プロトンの供与体となるなど、蛋白質の機能発現にとって重要であると想像されているが、ここではそのような静的な役割だけではなく、表面の水と同様に「**蛋白質内部の水は蛋白質の揺らぎを増幅する動的役割を果たす**」という仮説を考えてみたい。ここでは、図 2 a に示す Photoactive Yellow Protein (PYP) に例をとる。PYP には、クマル酸 (pCA) と

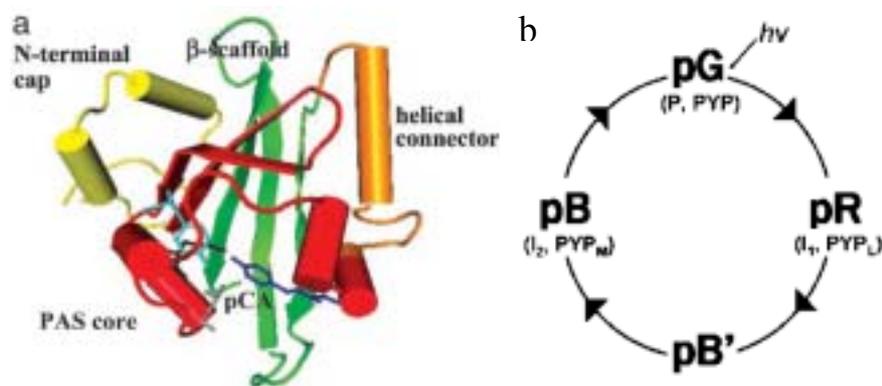


図 2 PYP の構造と光サイクル

と呼ばれる色素が結合している。基底状態 (pG 状態) に光をあてると、pCA は光を吸収して異性化し、PYP は図 2 b の pR と書かれた状態になる。さらに Glu46 のプロトンが pCA に移動すると

pB' と呼ばれる状態になり、その後、さらにミリ秒以上の寿命を持つ pB 状態になる。

図 3 は pB' 状態での MD 計算による pCA 付近の分子配置である。pCA 付近のポケットに、pG 状態では存在しなかった数個の水分子が侵入することを示している。これらの水分子は、Glu46 の余分な電荷を安定化して、Glu46 から pCA へのプロトン化を容易にすると推定された。もし、水分子がこうした静的な役割だけでなく、水素結合のつなぎかえを伴った動的な構造ゆらぎを内部から局所的に誘起すると考えると、つまり局所的な動的転移が起こると考えると、どのような効果をもたらすであろうか？

#### 【タンパク質の動的揺らぎと機能】

我々は、ピコ秒以下の速い振動とミリ秒程度の遅い構造変形をセルフコンシステントに扱う粗視化モデルを用いて、1) pCA のまわりで局所的な動的転移が起きると、2) pCA を含んで蛋白質全体にわたる長波長の振動モードの振幅が増大し、3) N末端ドメインと残りの領域の境界面の接触がルーズになり、4) N末端ドメインのアンフォールドが促進される、という結果を示した。図 4 は、このモデルによる計算結果と NMR による実験データの比較である。このように、pCA のまわりの局所的な変化が、水分子を媒介して動的転移を蛋白質内部で引き起こし、それが遠く離れた部位のアンフォールディングを誘起して機能的に重要な pB 状態をエントロピー的に安定化するという機構を考えることができる。

【課題と展望】ここで紹介された、蛋白質内部の水による動的転移と機能との関係に関する仮説は、PYP に限らず分子モーターを含む広い対象について検証すべき価値を持つのではないだろうか。ATP 加水分解に伴って蛋白質内部に侵入する水はあるか？そして、それとともに局所的なアンフォールディング/リフォールディングを含む大規模な構造変化が誘起されるか？その機能発現における役割は？などが検討すべき課題である。

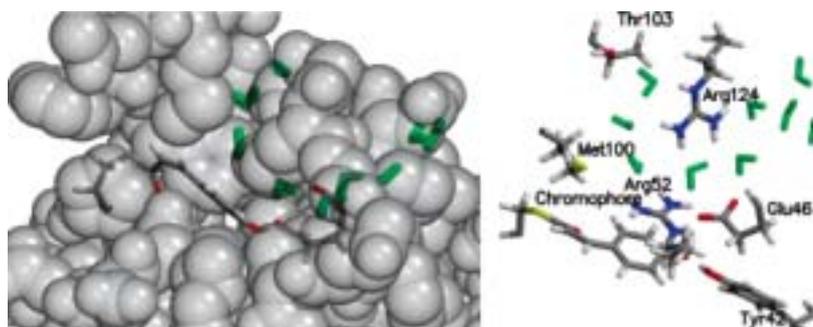


図 3 MD 計算による pCA(Chromophore)付近の構造。侵入した水分子は緑色の線で描かれている [Kamiya *et al. J. Phys. Chem. B* **111**: 2948, 2007]。

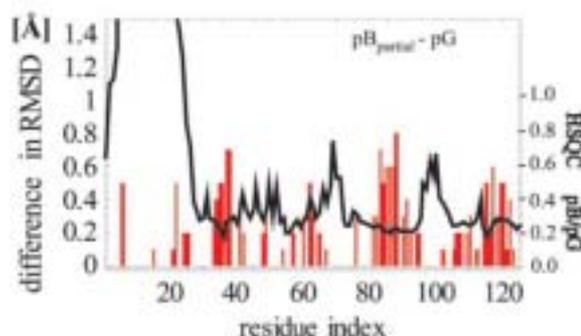


図 4 セルフコンシステントなモデルを用いて計算された pB 状態における揺らぎの程度を、pG 状態を基準としてプロット (実線) [Itoh & Sasai, *PNAS* **101**: 14736, 2004]。赤い棒線は観測された HSQC シグナル。このシグナルが小さい残基では揺らぎが大きいことを意味しており、理論と実験の傾向は一致する。