

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 31 日現在

機関番号：11301

研究種目：新学術領域研究

研究期間：2008～2012

課題番号：20118008

研究課題名（和文）ATP 加水分解および ATP 駆動タンパク質のエネルギー・水和状態相関解析

研究課題名（英文）Hydration and Energetic Study on ATP Hydrolysis and ATP-driven Proteins

 研究代表者 鈴木 誠 (SUZUKI MAKOTO)  
 東北大学・大学院工学研究科・教授  
 研究者番号：60282109

研究成果の概要（和文）：高分解マイクロ波誘電緩和分光法(DRS)により、ATP 分子の水和層にはアデノシン部に拘束水(CW)、リン酸基部位に CW とハイパーモバイル水(HMW)を検出した。HMW の理論的裏付けとして、水分子の回転エントロピーが荷電粒子周りで高く（木下と共同）、MD 計算から荷電イオン周りの水がバルク水より速い緩和をすること（秋山 G・松林と共同）を確認した。アクチンの水和層には CW と HMW があり、高温でフィラメント化すると HMW の顕著な増加を観測した。この吸熱過程と HMW 形成の間に強い相関を見出した。

研究成果の概要（英文）：Hypermobile water (HMW) at phosphoryl moiety and also constrained water (CW) at adenosine portion were detected in the hydration layer of ATP by using high-resolution dielectric relaxation spectroscopy (DRS). HMW has been theoretically corroborated as higher rotational entropy density of water than that of bulk around charged particle (collaboration with Kinoshita) and faster relaxation time region of water around charged ions by MD.(collaboration with Akiyama group and Matubayasi) There has been observed CW and HMW in the hydration layer of actin. When actin monomers polymerize to become a filament at the high temperature, remarkable increase in HMW was observed, which indicated the strong relationship between this endothermic reaction and HMW formation.

交付決定額

(金額単位：円)

|         | 直接経費       | 間接経費       | 合計         |
|---------|------------|------------|------------|
| 2008 年度 | 5,300,000  | 1,590,000  | 6,890,000  |
| 2009 年度 | 27,500,000 | 8,250,000  | 35,750,000 |
| 2010 年度 | 15,000,000 | 4,500,000  | 19,500,000 |
| 2011 年度 | 18,400,000 | 5,520,000  | 23,920,000 |
| 2012 年度 | 10,500,000 | 3,150,000  | 13,650,000 |
| 総計      | 76,700,000 | 23,010,000 | 99,710,000 |

研究分野：数物系科学

科研費の分科・細目：物理学 / 生物物理・化学物理

キーワード：①ATP エネルギー、②タンパク質の水和、③ATP 加水分解反応、④誘電緩和分光、⑤水和、⑥溶解和、⑦リン酸の水和、⑧ハイパーモバイル水

1. 研究開始当初の背景  
 ATP の加水分解エネルギーの物理的実体はいったい何なのか？この究極的問題を解明するため、ATP 分解にともなう水の動的状態の

変化を調べる。誘電緩和法による ATP およびその加水分解産物 ADP などの水和特性を測定し、HMW を含め水和各成分の量的比率を求める。アクチンおよびミオシンの水和状態の特

性を誘電緩和法による回転緩和情報とパルス磁場勾配スピネコー (PGF-SE) NMR による並進拡散係数から明らかにし、アクチンによる ATP 加水分解過程の水和の動的特性変化を評価する。また、同じ条件における ATP 加水分解過程の反応熱を再測定する。これらの結果をもとに、溶液化学・統計熱力学の理論家と共同して自由エネルギー変化の内部構成 (内部エネルギー項、エントロピー項) の仕分けを行い、ATP 加水分解エネルギーの物理的描像を構築が求められる。

## 2. 研究の目的

ATP の加水分解エネルギーの物理的実態を解明するため、ATP 分解にともなう水の動的状態の変化を調べる。本研究では、ハイパーモバイル水 (HMW) を軸にした水和の分子論を展開する。具体的には、誘電緩和法による ATP およびその加水分解産物 ADP などの水和特性を測定し、HMW を含め水和各成分の量的比率を求める。アクチン及びミオシンの水和状態の特性を誘電緩和法による回転緩和情報から明らかにし、アクチン及びミオシンによる ATP 加水分解過程の水和特性変化を評価する。また、ATP 加水分解過程の反応熱を実験的に再検討する。

## 3. 研究の方法

- (1) DRS によりアデノシンリン酸 Na 塩の水和状態に及ぼすリン酸基の数の効果を調べる。
- (2) ここでリン酸基含有溶質分子の水和層に検出された CW と HMW の成因について、統計力学の理論家 (木下、松林、秋山) と共同でモデル解析を行う。あわせて単純塩であるアルカリハライドの DRS 水和解析を行い、(1) の結果を再検討する。
- (2) アクチン及びミオシンの水和状態解析
- (3) 滴定熱量測定による重合状態にあるアクチンを希釈することに寄り脱重合する際のエンタルピー変化の検出。

## 4. 研究成果

(1) DRS によりアデノシンリン酸 Na 塩の水和状態に及ぼすリン酸基の数の効果を調べた。その結果アデノシン部位の水和層には拘束水 CW のみ、リン酸基部位水和層には図 1 のように CW と HMW を検出した。

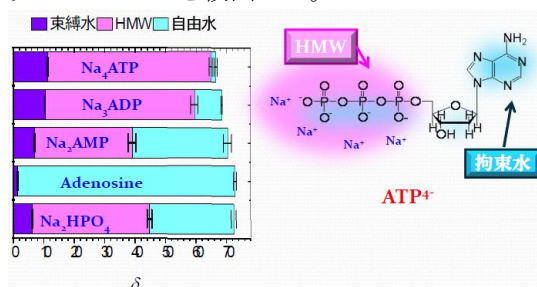


図 1 ATP 分子系の水和特性

(2) ここでリン酸基含有溶質分子の水和層に検出された拘束水 CW と HMW の成因について、統計力学の理論家と共同でモデル解析を行った。木下の多極子水分子モデルを用いた分子性流体用積分方程式論により大きな荷電粒子接触部には水の回転エントロピー密度  $s_R$  の低い領域 (拘束水に対応) ができ、少し離れた領域に  $s_R$  がバルク水より高い領域 (HMW に対応) が周期的に数層現れることを示した。これは 2 体相関レベルでは生じず多体相関もすべて含めた結果である。この研究は、HMW の溶液熱力学として最初の理論となった。

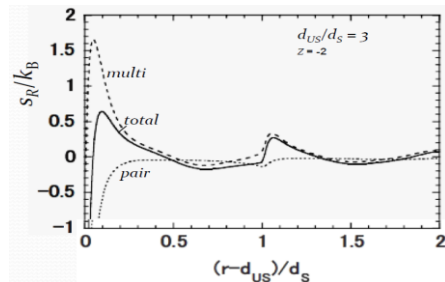


図 2 荷電粒子周りの  $s_R$

また誘電緩和分光で観測する HMW 信号を MD 計算により水分子分極間の自己・相互すべての相関を計算に取り込んだ結果、アルカリハライド塩水溶液におけるバルク水より誘電緩和時間が  $10 \sim 40\%$  短い応答領域が発生することが明らかになった。

アルカリハライド塩水溶液におけるハロゲンイオンの水への影響は DRS によってこれまで明瞭に検出できていなかったが本研究によって CW と HMW を区別して定量的に明らかにできたことは電解質イオンの水和に対する新たな物理描像 (図 3) を提示した。

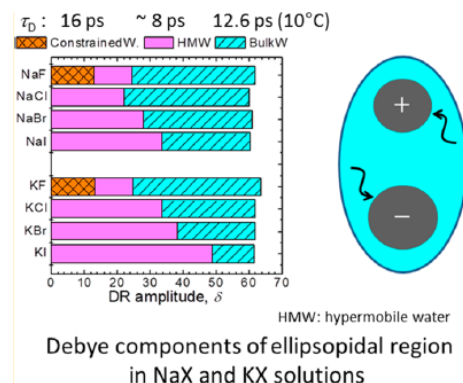


図 3 1-1 電解質イオンの水和

(2) アクチン及びミオシンの水和状態解析 高分解 DRS により F-アクチンおよびミオシン S1 の水和状態を解析し図 4 の結果を得た。F-アクチンは水和相中に CW と HMW の双方を持ち、さらにミオシン S1 と結合すると HMW が顕著な増加が観測された。アクチンは低イオン強度条件ではモノマーで存在するが濃度および温度を上げることで自然重合し F-アクチンとなる。(図 5) この過程は温度上昇に伴う反応であることから吸熱過程とさ

れる。重合にとともなう水和状態の変化を示す。

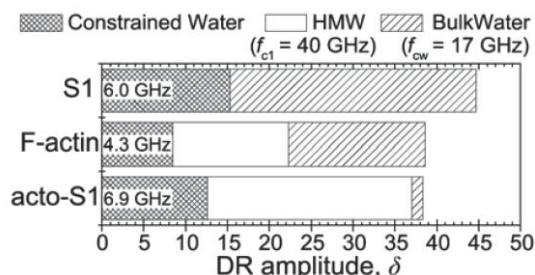


図4 F-アクチンとミオシン S1 の水和

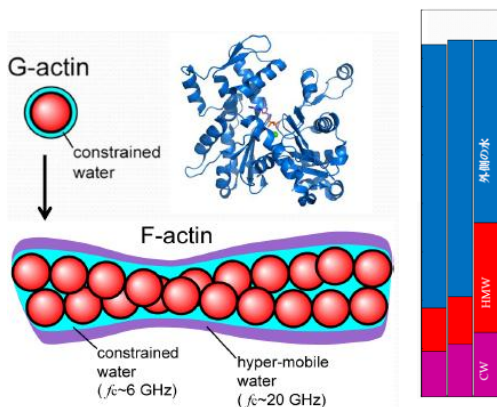


図5 アクチン重合による水和特性の変化

右の3本のバークラフは左から順にモノマー状態からF-アクチン(右)に重合にとともなう水和特性の違いを示す。

(3) 滴定熱量測定により、G-buffer 中で重合状態にあるアクチンを希釈することで脱重合の際のエンタルピー変化の検出を試みたが明瞭な熱の出入りは観測されていない。一般には、温度上昇にとともなう重合の促進から吸熱過程という認識につながっているが、実際は誘電率の温度依存性なども影響している可能性がある。さらなる熱力学的調査が必要である。

#### 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9件)

- George Mogami, Takashi Miyazaki, Tetsuichi Wazawa, Nobuyuki Matubayasi, and Makoto Suzuki, Anion-Dependence of Fast Relaxation Component in Na-, K-Halide Solutions at Low Concentrations Measured by High-Resolution Microwave Dielectric Spectroscopy, *J. Phys. Chem. A*, 2013, doi.org/10.1021/jp4012119, 査読有
- Yusuke Miyashita, Tetsuichi Wazawa, George Mogami, Satoshi Takahashi, Yoshihiro Sambongi, and Makoto Suzuki, Hydration state change of horse heart cytochrome c corresponding to

trifluoroacetic-acid-induced unfolding, *Biophys. J.*, **104**, 2013, 163-172, 査読有

- Yoji Kubota, Akira Yoshimori, Nobuyuki Matubayasi, Makoto Suzuki, and Ryo Akiyama, Molecular Dynamics Study of Fast Dielectric Relaxation of Water around a Molecular-Sized Ion, *J. Chem. Phys.*, **137**, 2012, 224502 (1-4), 査読有
- Makoto Suzuki, Tetsuichi Wazawa, George Mogami, and Takao Kodama, Role of Water in Actin-Myosin Binding and Actin Polymerization: Rotational and Translational Mobility of Water Molecules, *J. Phys. Soc. Jpn., Supplement*, **81**, 2012, SA003(1-14), 査読有
- N. Morimoto, S. Hirano, H. Takahashi, S. Loethen, D. H. Thompson, K. Akiyoshi, Self-assembled pH-sensitive cholesteryl pullulan nanogel as a protein delivery vehicle, *Biomacromolecules*, **14**, 2013, 56-63, 10.1021/bm301286h, 査読有
- Tetsuichi Wazawa, Takashi Miyazaki, Yoshihiro Sambongi, Makoto Suzuki, Hydration analysis of *Pseudomonas aeruginosa* cytochrome c551 upon acid unfolding by dielectric relaxation spectroscopy, *Biophys. Chem.*, **155**, 2010, 160-169, 査読有
- K. Amano, T. Yoshidome, M. Iwaki, M. Suzuki, M. Kinoshita, Entropic Potential Field Formed for a Linear-Motor Protein near a Filament: Statistical-Mechanical Analyses Using Simple Models, *J. Chem. Phys.*, **133**, 2010, 045103(1-11), 査読有
- M. Kinoshita and M. Suzuki, A Statistical-Mechanical Analysis on the Hyper-Mobile Water around a Large Solute with High Surface Charge Density, *J. Chem. Phys.*, **130**, 2009, 014707(1-11), 査読有
- Takashi Miyazaki, Tetsuichi Wazawa, George Mogami, Takao Kodama and Makoto Suzuki, Measurement of the dielectric relaxation property of water-ion loose complex in aqueous solutions of salt at low concentrations, *J. Phys. Chem. A*, **112**, 2008, 10801-10806, 査読有

[学会発表] (計42件)

- Makoto Suzuki, Hydration and ATP energetic on Actomyosin, Alpbach Workshop on Molecular Motors 2013, 2013/3/16-22, Alpbach, Austria

2. 最上讓二、宮崎崇、和沢鉄一、松林伸幸、鈴木誠、高分解誘電緩和分光法による低濃度Na<sup>-</sup>、K-ハライド水溶液における速い緩和成分のアニオン依存性、新学術領域研究「水を主役としたATPエネルギー変換」国際シンポジウム、2013/3/6-8、仙台。
3. 石田誠宜、和沢鉄一、最上讓二、森本展行、鈴木誠、Fアクチンの水和特性に及ぼすハライドイオンの効果、新学術領域研究「水を主役としたATPエネルギー変換」国際シンポジウム、2013/3/6-8、仙台。
4. 中川卓哉、和沢鉄一、最上讓二、森本展行、鈴木誠、ミオシンS1の水和特性に及ぼすスクレオチドと共溶媒の効果、新学術領域研究「水を主役としたATPエネルギー変換」国際シンポジウム、2013/3/6-8、仙台。
5. 王楊天、丹野則彦、石杜和希、今尾麻人、石田誠宜、和沢鉄一、最上讓二、森本展行、鈴木誠、スルホン酸塩、リン酸塩溶液におけるハイパーモバイル水(HMW)とタンパク質間相互作用におけるHMW量の変化、新学術領域研究「水を主役としたATPエネルギー変換」国際シンポジウム、2013/3/6-8、仙台
6. 鈴木誠 マイクロ波誘電緩和分光法による有機・無機イオンおよびタンパク質の水和特性、日本分光学会テラヘルツ分光部会シンポジウム「テラヘルツ分光法の最先端VI～ここまできたテラヘルツ時間領域分光～」2012/10/26(招待講演)
7. 鈴木 誠、アクチン周りの水の運動性、ATPエネルギーとのかかわり、2011年生体運動研究合同班会議、2011/1/7-9、大阪市立大学・杉本キャンパス
8. 最上 讓二、和沢 鉄一、森本展行、児玉 孝雄、鈴木 誠、マイクロ波誘電緩和分光により明らかになったATP周りのHyper-mobile water、2011年生体運動研究合同班会議、2011/1/7-9、大阪市立大学・杉本キャンパス
9. Batnasan Altansukh, George Mogami, Tetsuichi Wazawa, and Makoto Suzuki, Hydration Behaviour of Aqueous Solutions of urea and some of Its derivatives (poster), Academic society: Annual meeting of Global COE Program Materials Integration, 2011/3/1, 東北大学
10. 鈴木 誠、誘電緩和分光法によるイオン・高分子電解質・タンパク質の水和ダイナミックス、理研シンポジウム 動的水和構造と分子過程IV、2010/12/1(招待講演) 独立行政法人理化学研究所 鈴木梅太郎記念ホール
11. 鈴木 誠、ATP加水分解エネルギーについての最近の理解、第36回生体エネルギー研究会・特定領域研究「革新的ナノバイオ」合同シンポジウム、2010/11/18-20、大阪府吹田市山田丘 2-2 大阪大学銀杏会館
12. Makoto Suzuki, Actin Polymerization Induces Hyper-mobility of Surrounding Water Molecules, "Actin, the Cytoskeleton, and the Nucleus", 2010/11/8-12, Singapore National University, Singapore
13. George Mogami, Takao Kodama, Makoto Suzuki, Hydration properties of ATP and phosphate -Correlation with the thermodynamic parameters, 第48回日本生物物理学会年会、2010/9/20-22、東北大学
14. Makoto Suzuki, Dynamic properties of water hydrating ATP, 第48回日本生物物理学会年会シンポジウム「ATPエネルギーの分子論」(招待) 2010/9/20-22、東北大学
15. Tatsuya Osada, Shin-ichiro Yasui, Tetsuichi Wazawa, George Mogami, Nobuyuki Morimoto, Makoto Suzuki, Acto-S1により加水分解を受けるATP水溶液の誘電緩和分光法による連続測定、第48回日本生物物理学会年会、2010/9/20-22、東北大学
16. Shin-ichiro Yasui, Tatsuya Osada, Tetsuichi Wazawa, Makoto Suzuki, ミオシンS1およびアクトS1によるATP加水分解反応に及ぼすハライドイオンの影響、第48回日本生物物理学会年会、2010/9/20-22、東北大学
17. Batnasan Altansukh, Tetsuichi Wazawa, George Mogami, Nobuyuki Morimoto, Makoto Suzuki, Dielectric relaxation properties of aqueous solutions of urea and its derivatives, 第48回日本生物物理学会年会、2010/9/20-22、東北大学
18. Akira Tsuchiko, Yoshiyuki Tanaka, Tetsuichi Wazawa, Nobuyuki Morimoto, Makoto Suzuki, 誘電緩和分光法によるDNA/RNAオリゴマーの水和状態解析、第48回日本生物物理学会年会、2010/9/20-22、東北大学
19. Norihiko Tanno, Yang Tian Wang, Tetsuichi Wazawa, Makoto Suzuki, Hydration study of aqueous solutions of alkyl-sulfonates and carboxylates by microwave dielectric relaxation spectroscopy, 第48回日本生物物理学会年会、2010/9/20-22、東北大学
20. Tetsuichi Wazawa, Takashi Sagawa, Tsubasa Ogawa, Nobuyuki Morimoto, Makoto Suzuki, アクチン周囲の水の運動性はアクチンの重合によって増大する、第48回日本生物物理学会年会、2010/9/20-22、東北大学

21. 鈴木 誠、ATP等熱測定および水和測定、国際会議ICCT2010、2010/8/3-4、つくば国際会議場
22. Makoto Suzuki, Hydration measurement of salt ions, polyelectrolytes, and proteins in dilute solutions by high resolution dielectric relaxation spectroscopy, TRILATERAL SCIENTIFIC SEMINER ON "Solvation in Complex Liquids: Bridging Length Scales by Theory and Experiment" 招待講演, 2010/6/24, Max Planck Institute, Leipzig, Germany
23. 森本展行、小川翼、最上譲二、鈴木誠、ポリ(アミドアミン)デンドリマの水和状態解析、第60回高分子学会年次大会、2010/5/25-27、大阪
24. 最上譲二、児玉孝雄、鈴木 誠、ATP加水分解の誘電水和解析、日本物理学会第65回年次大会、2010/3/22、岡山大学津島キャンパス
25. 最上譲二、和沢鉄一、森本展行、松林伸幸、鈴木 誠、誘電緩和分光法によるリン酸バッファの水和解析、日本物理学会第65回年次大会、2010/3/22、岡山大学津島キャンパス
26. Makoto Suzuki, Hydration study on nucleotides and actomyosin, International Symposium on Hydration and ATP Energy, 2010/3/10, 仙台
27. Makoto Suzuki, Outline of the research project: ATP-energy conversion based upon the molecular understanding of hydration, International Symposium on Hydration and ATP Energy, 2010/3/8, 仙台
28. Makoto Suzuki, Hydration study on nucleotides and actomyosin, International Symposium on Hydration and ATP Energy, 2010/3/8, 仙台
29. Makoto Suzuki, Hydration analysis of polyelectrolytes and proteins under enzyme reaction by dielectric relaxation spectroscopy (招待講演), 中性子構造生物学研究会、2010/1/27、いばらき量子ビームセンター
30. Makoto Suzuki, High rotational mobility of water around polyelectrolytes and actin filaments interacting with myosin and its thermodynamic meanings(Invited Talk), Workshop on Solvation of Bioactive Compounds: Bridging theory, Computation and Experiment, 2010/1/7-9, Leipzig, Germany
31. 鈴木 誠、最上譲二、児玉孝雄、ATPの加水分解反応における反応物・生成物の水和状態とその反応自由エネルギーへの寄与について(招待講演)、日本生体エネルギー研究会大35回討論会ミニシンポジウム「多彩なエネルギー変換系研究の最前線」、2009/12/18、旭川医科大学
32. Takuya Takahashi, Makoto Suzuki, et al, ATP加水分解における周囲の水のダイナミクスと分極電荷の計算、第47回日本生物物理学会、2009/10/31、アステイ徳島
33. Akira Tsuchiko, Yoshiyuki Tanaka, Makoto Suzuki, et al, 誘電緩和分光法によるDNAオリゴマーの水和状態解析、第47回日本生物物理学会、2009/10/30、アステイ徳島
34. Norihiko Tanno, Makoto Suzuki, et al, ポリビニルスルホン酸およびそのアルカリ金属塩水溶液の水和特性、第47回日本生物物理学会、2009/10/30、アステイ徳島
35. Tsubasa Ogawa, Makoto Suzuki, et al, ハイパーモバイル水を形成する高分子水溶液におけるプロトン拡散係数、第47回日本生物物理学会、2009/10/30、アステイ徳島
36. George Mogami, Makoto Suzuki, et al, リン酸中和反応のエントロピー変化に対する誘電水和解析およびATP加水分解系への応用、第47回日本生物物理学会、2009/10/30、アステイ徳島
37. Takashi Sagawa, Makoto Suzuki, Tetsuichi Wazawa et al, PFGSE-NMRによって明らかにしたアクチン水溶液中のプロトン拡散係数の増大: 重合の寄与、第47回日本生物物理学会、2009/11/1、アステイ徳島
38. Tatsuya Osada, Makoto Suzuki et al, 誘電緩和分光法によるアクトミオシンの水和解析: ADP型とAMPPNP型の比較、第47回日本生物物理学会、2009/11/1、アステイ徳島
39. 土子 哲、田中好幸、森本展行、鈴木 誠 et al、誘電緩和分光法によるDNAオリゴマーの水和状態解析、第58回高分子討論会、2009/9/17、熊本大学黒髪キャンパス
40. 小川 翼、宮崎崇、森本展行、鈴木 誠 et al、ハイパーモバイル水を形成する高分子(PAMPS)水溶液におけるプロトン拡散係数、第58回高分子討論会、2009/9/17、熊本大学黒髪キャンパス
41. 土肥亜由美、宮崎崇、森本展行、鈴木 誠、ポリ(ジメチルアクリルアミド)ゲルの膨潤とハイパーモバイル水の相関関係、第58回高分子討論会、2009/9/17、熊本大学黒髪キャンパス
42. 丹野則彦、宮崎崇、和沢鉄一、鈴木 誠、ポリビニルスルホン酸およびそのアルカリ金属塩水溶液の水和特性、第58回

高分子討論会、2009/9/17、熊本大学黒髪キャンパス

〔その他〕

ホームページ

水を主役とした ATP エネルギー変換

<http://www.material.tohoku.ac.jp/atpwater/index.htm>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

鈴木 誠 (SUZUKI MAKOTO)

東北大学・大学院工学研究科・教授

研究者番号：60282109

### (2) 研究分担者

森本 展行 (MORIMOTO NOBUYUKI)

東北大学・大学院工学研究科・准教授

研究者番号：00313263