

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 30 日現在

機関番号：34315

研究種目：新学術領域研究（研究領域提案型）

研究期間：2008～2012

課題番号：20118003

研究課題名（和文） 溶媒和ダイナミクスの計算手法開発と ATP 加水分解過程への応用

研究課題名（英文） Development of computational method of solvation dynamics and the application to ATP hydrolysis

研究代表者

高橋 卓也（TAKAHASHI TAKUYA）

立命館大学・生命科学部・教授

研究者番号：70262102

研究成果の概要（和文）：

ATP 加水分解の各ステップに対応するポリリン酸分子において系のダイナミクス変化を記述する各種関数（自己拡散係数や回転緩和時間）を計算し、一部ではバルクより速い水の運動が見つかった。次に単原子分子イオン周囲で、これまで様々な既存の水モデルとイオンパラメタの組み合わせを検証し、バルクより速い水の運動が見いだせないことが確認した。そこで TIP5P モデルを修正した新たな水モデルを開発し、単原子分子イオン周囲でも速い水の運動を再現できるようになった。力場改善のためポリリン酸分子を中心に、電子状態の検討を含めた網羅的な計算を行った。タンパク質など巨大分子での溶媒効果計算を高速に行うための計算手法を発展させ、分子間相互作用の定量的な評価を行えるようになった。

研究成果の概要（英文）：

Various functions that describe the dynamics change of the system in each step of the ATP hydrolysis (rotational relaxation time and self-diffusion coefficient) were calculated and in some case faster movement of water than bulk water was found. Around monoatomic ions, we confirmed that the combination of conventional ion and water model parameters could not reproduce faster movement of water than bulk. Therefore, we developed a new water model based on the TIP5P water model, and reproduced the faster movement of water around monoatomic ions. We also performed exhaustive calculations for polyphosphate molecules including the study of electronic states for the force field improvements. We developed computational techniques for high-speed calculation of solvent effects on macromolecules such as proteins, and quantitative evaluation of the molecular interactions was achieved.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	4,800,000	1,440,000	6,240,000
2009 年度	5,900,000	1,770,000	7,670,000
2010 年度	9,300,000	2,790,000	12,090,000
2011 年度	5,900,000	1,770,000	7,670,000
2012 年度	5,900,000	1,770,000	7,670,000
総計	31,800,000	9,540,000	41,340,000

研究分野：計算構造生物学

科研費の分科・細目：生物科学・生物物理学

キーワード：(1) 水和 (2) MD (3) QM (4) ハイパーモバイル水
(5) ダイナミクス (6) 水モデル (7) ATP 加水分解 (8) イオン

1. 研究開始当初の背景

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。そこで本研究では水和水のダイナミクスという視点から生体高分子の機能や反応を考えた。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。

2. 研究の目的

本領域の基本テーマである ATP と水和に関して ATP 駆動タンパク質による ATP 加水分解過程にともなう水和水の動的な性質変化とタンパク質自体のダイナミクスや機能の間で、どのように相互に影響を及ぼしているか解明をめざす。具体的には ATP が水中において単体で存在するときとタンパク質が存在するとき、加水分解の各ステップにおいて周囲の水分子も含めたダイナミクス変化を自己拡散係数、回転緩和時間、それに溶質溶媒距離の関数としての相関関数などを計算し、タンパク質の存在の有無で比較する。これによって、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溶質と溶媒の相互作用を明らかにする。このような研究を進めるには、より単純な水和現象を解析できる計算手法の開発が不可欠である。そこで、本研究では Hofmeister 系列を含む広汎な水和現象にかかわる水の特性的変化を再現できる水分子および溶質分子モデルを開発する。それによって疎水性低分子、イオン（アルカリ・ハライド溶液）、荷電高分子、各種タンパク質など様々な溶質周囲の水分子のダイナミクスに関して、誘電緩和測定やプロトン拡散係数測定等で得られた実験結果の再現、特に運動性が通常の純水中よりも速い水（ハイパーモバイル水）の立証と物理的メカニズム解明を目指す。またシミュレーションの結果を統計力学理論によって得られた水和エントロピーや溶質-溶媒ゆらぎなどと比較することで基礎的溶液理論の発展にも寄与できると考えられる。

3. 研究の方法

(1) (リアルな多極効果、分極を取り入れた分子モデルの開発)：量子化学計算に基づいて水や溶質を構成する原子に対して、単純な点電荷近似ではない分極を考慮した多重極モデルを開発し、MD シミュレーション等を行えるようにする。まず低分子イオン等の水和のダイナミクスを再現できることを目指す。またタンパク質のような巨大分子の表面における水和ダイナミクスの計算を開始し、分子表面物性の違いによって実験的に推測されている水の運動性の上昇など水和水の謎の解明を行う。

(2) 溶媒和ダイナミクスの定量的再現、ATP 加水分解反応での溶媒和シミュレーション)：様々な溶質の水溶液系での誘電緩和スペクトルやプロトン拡散係数等の実験結果を再現するような溶媒和ダイナミクス計算を継続して進めて行く。水中で ATP 単体が存在している場合と、周囲に ATP 結合性タンパク質等が存在している場合で、ATP の加水分解反応の各段階での溶媒和ダイナミクスを計算し、タンパク質など周囲の分子環境が、どのように反応に影響を及ぼしているのかを、ダイナミクスも含めた解明を目指す。複数の ATP 結合性タンパク質で計算し、比較することで周囲のタンパク質アミノ酸残基環境の違いが反応に及ぼす影響、そして逆に ATP 加水分解反応によって、周囲のタンパク質などが受ける影響の解明を行う。

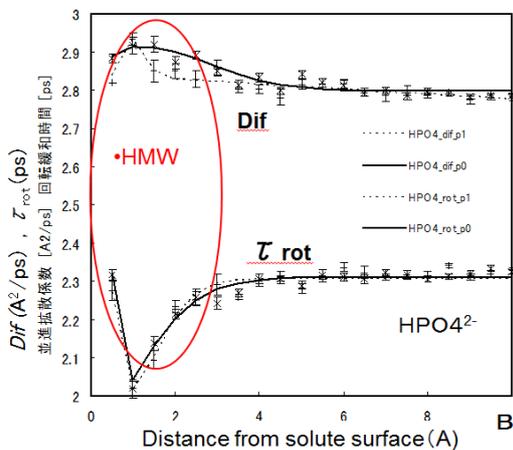
4. 研究成果

(1) ATP 加水分解反応のマイクロ過程の解明につながるリアルな多極効果、分極を取り入れた分子モデルを開発するため、生体分子の構成要素となる様々な官能基をもつ低分子、アミノ酸などに対して量子化学計算を行った。具体的には、既に NMR 等でダイナミクスに関する実験がある程度なされているアルカリ金属イオン (Li^+ , Na^+ , K^+) とハロゲンイオン (F^- , Cl^- , Br^- , I^-) に対し、水和した状態で Gaussian で複数の規定関数 (6-311G, CEP2-311) とモデル化学を用いて計算し、Mulliken 電荷解析と Natural Bond Orbital (NBO) 解析を行って周囲の水分子の分極状態を調べた。その結果、純水に比べ、Li と F 以外では分極が低下していることがわかり、水分子の運動性の上

昇を示唆する結果となった。これは K⁺や I⁻イオンに関しては妥当に見えるが、それ以外の Na⁺や Cl⁻などに関しては実験と整合的ではなかった。

(2) 既存の点電荷モデルを水 (SPC/E) と溶質に対して用いて、ATP 加水分解反応のモデル分子である 3 リン酸、2 リン酸、モノリン酸の水溶液系での MD シミュレーションを開始した。その結果、マイナス 2 程度に荷電したモノリン酸の周囲では、水分子の運動性の上昇することが示された。加えてタンパク質の構成要素であるアミノ酸周囲における水和ダイナミクスの計算を 20 種類のアミノ酸に対して開始したが、こちらはいずれの場合でも通常の運動性が低下した水と水が疎水および親水性の官能基の周囲に観測されただけであった。

(3) これまで様々な既存の水モデル (TIP 系、SPC 系、POL3) とイオンパラメタの組み合わせを検証し、POL3 のような分極モデルでも有意な HMW が再現できないことが確認できた。そこで TIP5P モデルを修正した新たな水モデルを開発し、これまで再現できなかった単原子分子イオン周囲でも水の速い運動を再現できるようになった。このときの低分子周囲での水分子の速い動きの原因となる相互作用を解明した。

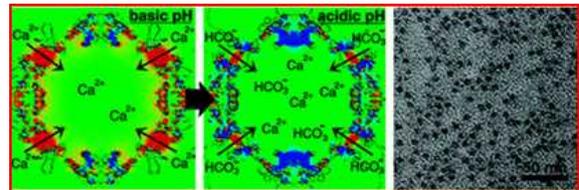


(4) ATP 加水分解で存在する 3 リン酸、2 リン酸、1 リン酸の多様なイオン化状態で周囲の水分子のダイナミクスを計算しバルク水よりも運動性が高い水の存在を確認した。力場の効果は単原子イオンに比べ、逆に働くようであった。

上の図は溶質である 1 リン酸イオンからの距離に対して、そこでの水分子の回転緩和時間と自己拡散係数をプロットしたものであり、溶質近傍で速い運動をして

いる水分子 (HMW) の存在が確認されている。この場合も単原子イオン同様、水素結合パターンが乱れることが示されている。

(5) タンパク質の構成要素である 20 種類のアミノ酸周囲の MD 計算を行い、分子量と疎水性指標によって、そのダイナミクスが説明できることがわかった。さらにタンパク質など巨大分子での計算を高速に行うための計算手法を発展させ、分子間相互作用の定量的な評価を行えるようになった。その手法を結晶や分子複合体の機能解明に応用し、結晶の安定性やイオン取り込み能などの実験と整合的であることがわかった。特にタンパク質複合体の場合、全水分子を全て Explicit に扱うのは計算コストが大きくなりすぎるため、溶媒近似モデルを開発。13nm 程度のサイズをもつフェリチン分子に適用し、実験的にイオン取り込み能を再現するのに効果的であることを確認している。



5. 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 3 件)

- ① 著者名: Ikuo Kurisaki, Takuya Takahashi、論文表題: Assessment of dynamic properties of water around a monovalent ion: A classical molecular dynamics simulation study、雑誌名: Computational and Theoretical Chemistry、査読: 有、巻: 966、発行年: 2011、ページ: 26-30
- ② 著者名: Hiroko Fukano, Takuya Takahashi, Mamoru Aizawa, and Hideyuki Yoshimura、論文表題: Synthesis of Uniform and Dispersive Calcium Carbonate Nanoparticles in a Protein Cage through Control of Electrostatic Potential、雑誌名: Inorganic Chemistry、査読: 有、巻: 50、発行年: 2011、ページ: 6526-6532
- ③ 著者名: Masanori Ootaki, Shigeru Endo, Yoko Sugawara and Takuya Takahashi、論文表題: Crystal Habits of Cubic Insulin and Evaluation of Intermolecular Interactions by Macromolecular

nd EET Analyses、雑誌名: Journal of Crystal Growth、査読: 有、巻: 311、発行年: 2009、ページ: 4226-4234

[学会発表] (計 20 件)

- ① 発表者名: S. Yamamura, M. Ootaki, S. Endo, T. Takahashi and Y. Sugawara、発表標題: Surface polarity and energy analyses of protein-protein interactions in crystals、学会名等: 4th International Symposium on Diffraction Structural Biology、発表年月日: 2013 年 5 月 27 日、発表場所: 名古屋市中心企業振興会館 (愛知県)
- ② 発表者名: Takuya Takahashi、発表標題: Calculation of dynamics and charges of water around small solute molecules: MD and QM calculations、学会名等: 第 50 回日本生物物理学会年会、発表年月日: 2012 年 9 月 22 日、発表場所: 名古屋大学 (愛知県)
- ③ 発表者名: Yoshito Kondo, Takuya Takahashi、発表標題: Investigation of force field parameter effect on solvation dynamics、学会名等: 第 50 回日本生物物理学会年会、発表年月日: 2012 年 9 月 22 日、発表場所: 名古屋大学 (愛知県)
- ④ 発表者名: 高橋卓也、栗崎以久男、発表標題: Assessment of dynamic properties of water around ions and biomolecules: MD and QM calculations、学会名等: 日本生物物理学会第 49 回年会、発表年月日: 2011 年 9 月 17 日、発表場所: 兵庫県立大学姫路・書写キャンパス (兵庫県)
- ⑤ 発表者名: Takuya Takahashi、発表標題: MD simulations and QM calculations to elucidate solvation dynamics around several solute molecules、学会名等: The 2nd international symposium on "Multi-scale Simulations of Biological and Soft Materials"、発表年月日: 2011 年 9 月 10 日、発表場所: Shiran Kaikan, Kyoto University, Kyoto
- ⑥ 発表者名: 高橋卓也、猿渡 茂、田草川 英昇、村松 憲吾、菅原 洋子、発表標題: リボスクレーゼ A の結晶形の安定性に及ぼす溶媒効果の連続誘電体モデルによる計算、学会名等: 第 11 回日本蛋白質科学会年会、発表年月日: 2011 年 6 月 9 日、発表場所: ホテル阪急エキスポパーク (大阪府)
- ⑦ 発表者名: 高橋卓也、栗崎以久男、発表標題: MD and QM calculations to reproduce water dynamics around several solute molecules、学会名等: 物性研・CMSI・次世代ナノ情報合同研究会、発表年月日: 2011 年 1 月 5 日、発表場所: 東京大学・柏キャンパス (千葉県)
- ⑧ 発表者名: Takuya TAKAHASHI, Ikuo KURISAKI、発表標題: MD simulations and QM calculations of water around small solute、学会名等: 4th symposium on "Fluctuations and Functions"、発表年月日: 2010 年 11 月 30 日、発表場所: ピアザ淡海 (滋賀県)
- ⑨ 発表者名: Ikuo KURISAKI、Takuya TAKAHASHI、発表標題: Challenge to reproduction of hyper-mobile water around monovalent ions: classical molecular dynamics study、学会名等: 4th symposium on "Fluctuations and Functions"、発表年月日: 2010 年 11 月 30 日、発表場所: ピアザ淡海 (滋賀県)
- ⑩ 発表者名: 高橋卓也、栗崎以久男、発表標題: Calculations of dynamics of water around biomolecules and ions、学会名等: 日本生物物理学会第 48 回年会、発表年月日: 2010 年 9 月 21 日、発表場所: 東北大学 (宮城県)
- ⑪ 発表者名: 栗崎以久男、高橋卓也、発表標題: Reproduction of dynamics of water around an ion by refining water model、学会名等: 日本生物物理学会第 48 回年会、発表年月日: 2010 年 9 月 21 日、発表場所: 東北大学 (宮城県)
- ⑫ 発表者名: 高橋卓也、発表標題: 生体分子と、その周囲の水のダイナミクスと分極電荷の計算、学会名等: 第 10 回日本蛋白質科学会年会、発表年月日: 2010 年 6 月 17 日、発表場所: 札幌コンベンションセンター (北海道)
- ⑬ 発表者名: 塩見友樹、石尾広武、高橋卓也、発表標題: 溶質周囲の水のダイナミクスと分極電荷の計算、学会名等: 第 23 回分子シミュレーション討論会、発表年月日: 2009 年 12 月 3 日、発表場所: 名古屋市吹上ホール (愛知県)
- ⑭ 発表者名: 高橋卓也、石尾広武、塩見友樹、鈴木誠、発表標題: Calculations of dynamics and polarized charges of water molecules in ATP hydrolysis、学会名等: 日本生物物理学会第 47 回年会、発表年月日: 2009 年 10 月 31 日、発表場所: 徳島文理大学 (徳島県)
- ⑮ 塩見友樹、石尾広武、高橋卓也、発表標題: 溶質周囲の水のダイナミクスと分極電荷計算、学会名等: 第 3 回分子科学討論会、発表年月日: 2009 年 9 月 24 日、発表場所: 名古屋大学 (愛知県)
- ⑯ 発表者名: 高橋卓也、猿渡 茂、田草川 英昇、村松 憲吾、菅原 洋子、発表標題: 生体分子およびイオン周囲の水の MD シ

- ミュレーションと量子化学計算、学会名等：第9回日本蛋白質科学会年会、発表年月日：2009年5月22日、発表場所：熊本全日空ホテルニュースカイ(熊本県)
- ⑬ 高橋卓也、発表標題：溶質分子周囲の水のダイナミクス計算：分子の電荷と形の効果、学会名等：バイオスーパーコンピューティングシンポジウム(BSCS)2008、発表年月日：2008年12月26日、発表場所：MY PLAZAホール(東京都)
- ⑭ 発表者名：高橋卓也、発表標題：Investigation of hydrating water dynamics through MD and QM、学会名等：日本生物物理学会第46回年会、発表年月日：2008年12月4日、発表場所：福岡国際会議場(福岡県)
- ⑮ 発表者名：塩見友樹、高橋卓也、発表標題：分子動力学と量子化学計算による水和現象の予測、学会名等：日本生物物理学会第46回年会、発表年月日：2008年12月3日、発表場所：福岡国際会議場(福岡県)
- ⑯ 発表者名：Masanori Ootaki, Shigeru Endo, Yoko Sugawara, Takuya Takahashi, and Masayosi Nakasako、発表標題：Three-dimensional imaging of interface atoms using crystal-truncation rod scattering、学会名等：XXI Congress and General Assembly of the International Union of Crystallography、発表年月日：2008年8月26日～27日、発表場所：大阪国際会議場(大阪府)

[図書] (計 1 件)

- ① 著者名：Tsurui Hiromichi, Takuya Takahashi、出版社名：InTech - Open Access Company、書名：Molecular Dynamics - Studies of Synthetic and Biological Macromolecules, Practical Estimation of TCR-pMHC Binding Free-Energy Based on the Dielectric Model and the Coarse-Grained Model、発行年：2012、総ページ数：432

[その他]

ホームページ等

<http://www.ritsumei.ac.jp/~tkhs/kaken.pdf>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高橋 卓也 (TAKAHASHI TAKUYA)
立命館大学・生命科学部・教授