

自己評価報告書

平成23年 4月 5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） ATP hydrolysis and the energy of ATP driven proteins and correlation analysis of the hydration state

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

研究分野：数物科学

科研費の分科・細目：物理学・生物物理・化学物理

キーワード：ATPエネルギー、水和、水のエントロピー、加水分解自由エネルギー

1. 研究計画の概要

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。本研究では、「構造」、「ダイナミクス」、「エネルギー論」を統合するエネルギー変換理論の確立を目指して、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(PFG-SE) NMRによる並進拡散係数から明らかにし、アクトミオシンによる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。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)を解析し、ATP加水分解エネルギーの物理的描像を構築する。

2. 研究の進捗状況

(1)ATP等ヌクレオチドの水和解析：ATP加水分解への水和効果の理解を深めるため、高分解誘電緩和分光測定により、ATP等の水和状態を系統的・定量的に測定し、水和を微視的に特徴付け、リン酸基の周囲の水に与える効果が支配的であることを明らかにした。

(2)アクチンフィラメントに対する誘電緩和分光(DRS)法(世界最高の分解能を誇る)による水和測定と、pulsed field gradient spin echo法によるNMR測定を行った。アクチンのモノマー状態とポリマー状態では、後者において明らかな水の拡散係数の増大が検出された。DRSによるハイパーモバイル水観測

結果と併せて考えると、アクチンフィラメント周りにおける水分子の運動性が回転と並進の両運動性が上昇していると結論できる。(3)木下(A02計画)と共同で、アクチンフィラメント近傍でのハイパーモバイル水の形成に関する理論解析を木下が開発した水和回転エントロピーを分子性流体用積分方程式論に基づいて解析し、異常に高い回転の自由度を持つ水分子は、アクチンフィラメントのように高い表面電荷密度を持つ大きな溶質の場合に顕著に現れることを明らかにした。(J.C.P. 2009) 溶質に接触した水分子は、双極子モーメントベクトルを溶質側に向けることによって回転の自由度が凍結され、そのために、近傍における水分子間の水素結合が乱れて、高い回転の自由度を持つ水(ハイパーモバイル水)が現れると考えられる。(4)木下、岩城(A03計画)と共同で、水分子の並進移動に起因して、物体(F-actinなどのフィラメント)近傍の大きな溶質(ミオシン)に、水の並進エントロピーにもとづくポテンシャル場が形成される。その結果、ミオシンはF-actinとの間にほぼアクチンのサイズの周期で強結合サイトが現れる。ミオシンが結合したATPの加水分解の過程でF-actinとのaffinityが変わりポテンシャル場の切り替えが起こる。それによって一方向への移動を実現することを示した。アクチンフィラメントの立体構造変化によってミオシンの移動が誘発される。今後ミオシン近傍におけるハイパーモバイル水の非対称分布により、水の粘度とミオシンの拡散係数の異方性が生じる可能性について検討を進める。(J.C.P. 2010 注目論文に選定された)

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

(理由)

(1)ATP をはじめとしたヌクレオチドおよびリン酸を取り上げ、マイクロ波誘電緩和分光により前期で水和水の回転緩和特性と各水和水量の変化を明らかにし、ATP加水分解反応を構成するリン酸基プロトン解離の熱測定を進めた。

(2)アクチンとミオシンの相互作用時の水の状態の変化の自由エネルギー変化への寄与度を検討し、前期でミオシン S1 における ATP 分解について、タンパク質で影響を受けた水の領域の大きさの変化と水の回転運動性の変化を明らかにし、PFG-SE H-NMR でアクチン水溶液中の水の拡散係数(並進運動性)の変化をもとめた。以上、目的とする実験的データはほぼ集積できた。

(3)理論系木下との共同でハイパーモバイル水の形成要因の一つを明らかにできたことと、アクトミオシンの運動のもととなる力の要因としての水のエントロピーポテンシャルの重要性を示すことができたことは予想以上の進展である。

4. 今後の研究の推進方策

後期ではアクチンを含む水和水状態の解析をさらに進め、各ヌクレオチド存在下でのアクチン・ミオシン分子間の結合熱 ΔH 等を求める。これらの結果について、松林の自由エネルギー計算や木下の形態熱力学的方法等により理論的検証が前期で見通しを得たので後期で確立をめざす。

また、反応前後の物質の水和水状態と反応熱 ΔH を測定熱量測定から評価する。これらの結果を水和水自由エネルギーの変化を計算する松林に提供し理論的に調べ ATP 加水分解反応における自由エネルギー変化の内部構成(物理的実体)を明らかにする。

領域内の有機的結合: 実験的には、実験系計画メンバーである三本木・岩城・宗行と協力して水和水データ・反応熱データ・1分子データを提供しあい、理論系の木下・櫻井・秋山(A02班)、松林・高橋(A01班)が自由エネルギー計算・ダイナミクス計算や水の回転運動性の理論的解析を進め総合してこの問題の解決に当たる。公募研究メンバーとも有効な連携をさぐりつつ進める。

5. 代表的な研究成果

(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6件)

1. T. Wazawa, T. Sagawa, T. Ogawa, N. Morimoto, M. Suzuki, Hyper-mobility of water around actin filaments revealed using pulse-field gradient spin-echo 1H-NMR and fluorescence spectroscopy, *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 404 (2011) 985-990. 査読有

2. G. Mogami, T. Wazawa, N. Morimoto, T. Kodama, M. Suzuki, Hydration properties of

adenosine phosphate series as studied by microwave dielectric spectroscopy, *Biophys. Chem.* 154, 1-7 (2010). 査読有

3. K. Amano, T. Yoshidome, M. Iwaki, M. Suzuki, and M. Kinoshita, "Entropic Potential Field Formed for a Linear-Motor Protein near a Filament: Statistical-Mechanical Analyses Using Simple Models", *J. Chem. Phys.* 133, 045103 (2010). 査読有

4. T. Wazawa, T. Miyazaki, Y. Sambongi, and M. Suzuki, Hydration analysis of *Pseudomonas aeruginosa* cytochrome c551 upon acid unfolding, *Biophys. Chem.* 151, 160-169 (2010). 査読有

5. 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, 014707(1-11) (2009) 査読有

6. T. Miyazaki, T. Wazawa, G. Mogami, T. Kodama and M. 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, 10801-10806 (2008). 査読有

[学会発表] (計25件)

1. Makoto Suzuki, Hydration measurement of salt ions, polyelectrolytes, and proteins in dilute solutions by high resolution dielectric relaxation spectroscopy, TRILATERAL SCIENTIFIC SEMINAR ON "Solvation in Complex Liquids: Bridging Length Scales by Theory and Experiment, Max Planck Institute, Leipzig, Germany, June 23-25, 2010. 招待講演

2. Makoto Suzuki, Dielectric relaxation spectroscopy analysis of hydration of polyelectrolytes and proteins, WORKSHOP "SOLVATION OF BIOACTIVE COMPOUNDS", Max Planck Institute, Leipzig, Germany, January 7-9, 2010. 招待講演ほか3件

[その他] (計4件)

1. 鈴木 誠「生命機能と水」, 市民講演会, 仙台市東北大学片平, 2010. 9. 19 (日本生物物理学会他共催)

2. 鈴木 誠「筋肉はなぜ動く?」サイエンスカフェ(東北大学主催), 仙台市メディアテイク, 2010. 1. 28.

3. 鈴木 誠 新学術領域第1回公開シンポジウム開催 東京, 1月22日, 2009.

4. 鈴木 誠 「水を主役としたATPエネルギー変換」第46回日本生物物理学会年会シンポジウム開催 福岡, 12月3日, 2008.