

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 4 日現在

機関番号：82110

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011～2012

課題番号：23740321

研究課題名（和文） 分子動力学計算による蛋白質水和水の水素結合組換えメカニズムの解明

研究課題名（英文） Molecular Dynamics Study of the Hydrogen-Bond Kinetics of Protein Hydration Water

研究代表者

米谷 佳晃（YONETANI YOSHITERU）

独立行政法人日本原子力研究開発機構・量子ビーム応用研究部門・研究副主幹

研究者番号：80399419

研究成果の概要（和文）：

分子動力学計算により生体分子水和水の水素結合の組換えメカニズムを原子レベルで捉えた。水分子の2つの水素原子がそれぞれ生体分子の異なるアクセプタ原子と水素結合している際、まれに別の水分子が近づいてくる。この水分子が同時に同じ場所に水素結合を作ると、水素結合の組換えが進む。組換え速度は、水和水サイトの構造揺らぎによって決まる。さらに統一的な記述を得るには、生体分子表面の形状と電気的性質も含めた解析が必要となる。

研究成果の概要（英文）：

The lifetime during which a water molecule resides at the surface of a biomolecule varies according to the hydration site. What determines this variety of lifetimes? Despite many previous studies, there is still no uniform picture quantitatively explaining this phenomenon. Here we calculate the lifetime for a particular hydration pattern, the water bridge, to show that the water-bridge lifetime varies from 1 to ~300 ps. We find that it follows  $1/k(V_{step})P_m$ , where  $P_m$  and  $V_{step}$  are two crucial factors, namely the probability of forming a specific hydrogen bond in which more than one donor atom participates, and the structural fluctuation of the hydration site, respectively. This relationship provides a picture of the hydrogen bond kinetics with atomistic detail and shows that hydrogen bond switching occurs when a particular hydrogen-bonding pattern appears. The rate constant of hydrogen bond switching  $k$  can be described as a function of the structural fluctuations of the hydration site.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,500,000	1,050,000	4,550,000

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：水、水素結合、生体分子、蛋白質、核酸、分子動力学

## 1. 研究開始当初の背景

人の体の約70パーセントは水である。細胞は水で満たされており、生体分子はその中で働く。DNAの2重らせん構造や蛋白質の折りたたみ構造も、水がなければ安定に存在できない。水は、このような静的側面だけでなく動的にも重要である。水は、水素結合相

手を時々刻々と組み換え、それに伴って、生体分子の会合や構造変化は進んでいく。

水和水の水素結合の組換えは、溶液中の化学反応など化学現象だけでなく、生命現象も含めた多くの動的分子過程における基本過程である。水和水の水素結合組換えは、生体分子の構造変化に必須であり、分子会合や蛋

白質のフォールディングの律促段階に関係していることが知られている。また、膜チャネル中のイオンや水の透過制御、プロトン移動、酵素における酸化還元反応など様々な機能とも関係し、生命現象において重要な役割を担っている。従って、水和水の水素結合組換えを分子レベルで捉えることができるようになれば、様々な生命現象の分子論的理解につながる。これまで、時間分解蛍光分光、NMR、中性子非弾性散乱、テラヘルツ分光などにより生体分子の動的水和特性が解明され、バルク水と異なるタイムスケールで運動していることなどが示されてきた。しかし、これらの実験手法では、水和水全体の振舞いを捉えることはできても、個々の水分子の動きまで知ることはできない。水素結合の組換えを原子分解能で捉えるには分子動力学計算が最も有効な手段であると考えられる。

生体分子の特徴は、分子表面のヘテロ性、複雑性にあり、そこから生じる水の多様性を見ずして、水分子の働きは理解できない。例えば、生体分子表面の水分子は、数 ps から数 10 ps 程度で水素結合を組換えることが多いが、場所によっては 100 ps 以上保ち続けることが、MDシミュレーションにより明らかにされてきた。しかし、このような水素結合のライフタイムの違いはどのようにして生じるのかは明らかになっていない。Makarov らの MDシミュレーションでは、10 ps 程度の短いライフタイムを示す水分子は、蛋白質表面の様々な場所で見られるのに対し、80 ps 以上の比較的長いライフタイムを示すものは、蛋白質の窪みや内部にだけ見られる (図 1)。これは、分子表面の形状が重要であることを示している。一方、表面の電気的性質も水分子のライフタイムに関係することが指摘されている。Schröder らは、蛋白質を構成するアミノ酸の種類ごとに水分子のライフタイムを分けて、 $\tau_{\text{negatively charged}} (\sim 30 \text{ ps}) > \tau_{\text{positively charged}} (\sim 10 \text{ ps}) \approx \tau_{\text{polar}}$  (ライフタイム  $\tau$  の添え字は、アミノ酸の電気的性質を表す) の傾向があることを見出した。しかし、このライフタイムの大小関係は入れ替わることもあり、はっきりした結論は得られていない。分子表面の形状と電気的性質の 2 つが関係していることは間違いなさそうであるが、これらの要素を整理して捉えることは困難であり、まだ分かっていないことも多い。

## 2. 研究の目的

本申請課題の目的は、分子動力学計算により、生体高分子水和水の水素結合組換えメカニズムを明らかにすることである。水和サイトを水素結合様式に基づいて特徴づけ、水素結合の数に注目して水素結合の時間変化を追跡し、組換えのパスウェイ (空間的特徴) とライフタイム (時間的特徴) を求める。導

かれた結果を水和サイト間で比較し、共通点と相違点を明らかにする。さらに、その違いがどのように生じるのかを検討し、生体分子水和水の多様な動的特徴を整理する。

## 3. 研究の方法

AMBER ソフトウェアを利用して、周期境界条件のもとで生体高分子と水分子を含む系の分子動力学シミュレーションを行った。力場パラメータは AMBERff99、TIP3P を用いた。温度、圧力は、300 K、1 atm に設定し、10 ns のトラジェクトリーを生成した。

水素結合のライフタイムは、2 つのアクセプターを水素結合により橋渡しする水 (ブリッジ水) を対象に計算した。ブリッジ形成に関わる 2 つの水素結合に注目し、水素結合が形成されているときは  $h(t)=1$ 、解離したときは  $h(t)=0$  とした。そして、 $h(t)$  の時間相関関数を計算し、その時間積分からライフタイムを求めた。

## 4. 研究成果

時間相関関数とライフタイムから水素結合の緩和の様子は、水和サイトにより随分違うことがわかった。1~100 ps のものが多かったが、200 ps を超えるものもあり、最大のものでは 300 ps 程度であった。これはこれまで Makarov らにより得られている計算結果とも整合性があることを確認できた。

さらに、水素結合ライフタイムに違いが生じる物理的な仕組みを明らかにした。水素結合ライフタイムには、 $P_m$  で表される多重水素結合の出現率が関係していることがわかった (図 1)。最初、水分子は状態 S のように滞在し、塩基間にブリッジを形成しているが、まれに別の水分子がやってきて、状態 M のように、すでに水素結合しているサイトに新たな水素結合 (多重水素結合) を作る。 $P_m$  は、M と S の 2 つの状態間における状態 M の相対出現率である。これより、 $P_m$  が大きいほど、ライフタイム  $\tau$  は短くなり、

$$\tau = 1 / k P_m \quad (1)$$

の形にうまくフィットすることが分かった。

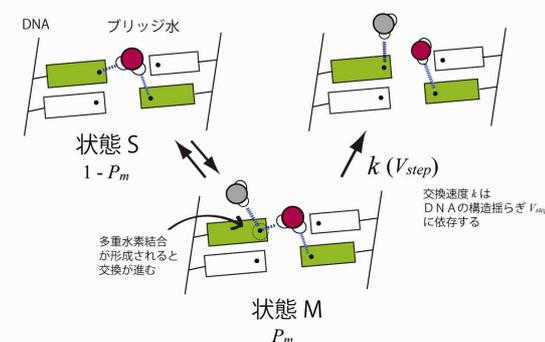


図 1 導かれた水素結合組換えメカニズム

さらに、式(1)の関係をもとに、水素結合の組み換えが図1のメカニズムに従って進むことを明らかにした。つまり、最初、状態Sのように水素結合が形成されているが、ここで別の水分子がやってきて多重水素結合を作ると、水素結合の組み換えが進む。 $k$ は水素結合組み換えの速度定数である。式(1)は、多重水素結合ができていなければ、水分子の交換は進まないことを意味している。

多重水素結合が形成されたときに、水分子の交換が進むという結果は、エネルギーの観点からは以下のように理解できる。もし仮に、多重水素結合がない状態(つまり状態S)から水分子の交換が起こったとする。そうすると、アクセプター原子は、水素結合相手がなくなってしまう。しかし、これは大きなエネルギーの損失を伴うため、起こりにくい。多重水素結合が事前に形成されていれば、水素結合がひとつなくなってもアクセプターが完全に裸になることはない。

$\tau = 1/kP_m$ の関係からさらに踏み込んで、水素結合組み換えの速度定数 $k$ が、水和サイトの構造揺らぎ $V_{step}$ と関係していることを示した。ここで、 $V_{step}$ は、隣接する2つの塩基対の相対配置の揺らぎを定量化したものであり、分子動力学トラジェクトリーの主成分解析から求められる。これらを総合的に見ると、水和サイトの構造揺らぎが大きいものほど、水素結合組み換え速度 $k$ が大きい、つまり水素結合の組み換えが起こりやすいことがわかった。したがって、水素結合ライフタイムは

$$\tau = 1/kP_m(V_{step}) \quad (2)$$

の形で表され、 $P_m$ と $V_{step}$ がライフタイムの決定因子である。

今回の研究から生体分子表面で水素結合のライフタイムに多様性が現れる物理的な仕組みを明らかにできた。つまり、生体分子の表面では、状態Mのような中間状態の出現確率が場所ごとに異なり、その違いがライフタイムの違いをもたらしていることが新たにわかった。また、中間状態から水素結合の組み換えが進む頻度は、表面の構造揺らぎに依存する。今後、水素結合と揺らぎに注目した解析により、生体分子表面の水素結合のダイナミクスの新たな一面が明らかになるだろう。

水素結合の組み換えは、物理的には遷移過程のエネルギープロファイルによって決まる事象であり、対象によらず根底にある原理は同じである。しかし、蛋白質やDNAなど生体分子の表面は複雑であり、水素結合の組み換えを統一的に記述するのは難しい。今回導いたメカニズムは、まだすべての場合に適用できる段階ではないが、複雑な水素結合ダイナミクスを整理していく上で突破口になると期待している。

これまでは、表面の形状と電気的性質が水

素結合ライフタイムに関係していると言われてきた。一方、今回の研究から、水素結合と構造揺らぎがライフタイムを決める因子であることが分かった。今後、より統一的に分子表面における水素結合の組み換えメカニズムを記述していくには、これら4つの要素を考慮していかなければならない。著者らが対象にした水和サイトは、すべて窒素か酸素であり、電荷はほとんどかわらない。そのため、この計算から電荷の影響はわからない。逆に、電荷がそろっていたため、その他の影響をうまく抽出できたのではないかと思う。また、水素結合様式と表面形状は、互いに関係していると考えられる。例えば、起伏の激しい場所では、窪みに到達できる水分子の数は限られ、多重水素結合のような状態は出現しにくくなると予想される。このように、水素結合様式と表面形状は独立ではなく、同じ現象を別の観点から見ているといえるかもしれない。しかし、水素結合様式に注目して解析することにより、水分子のダイナミクスを式で記述し、より明快にできるようになるなど、様々な展開が期待できる。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計2件)

(1) Y. Yonetani, H. Kono, What determines water-bridge lifetimes at the surface of DNA? Insight from systematic molecular dynamics analysis of water kinetics for various DNA sequences, *Biophysical Chemistry*, 査読有, vol. 160, 2012, pp. 54-61

(2) 米谷 佳晃, 河野 秀俊, 生体分子表面の水分子のライフタイムはどのようにして決まるのか、アンサンブル、査読無、vol. 14, 2012, pp. 182-186

[学会発表] (計4件)

① 米谷 佳晃, 中川 洋, 河野 秀俊 計算機シミュレーションで探るDNAと水の水の塩基配列依存ダイナミクス、中性子散乱連携研究会(招待講演)、2013年03月14日、京都大学東京オフィス(東京都港区)

② Y. Yonetani, H. Kono, What determines water-bridge lifetimes at the surface of biomolecules? Berkeley Mini Statistical Mechanics Meeting, 2012年1月13日、カリフォルニア大学バークレー(米国)

③ 米谷 佳晃, 河野 秀俊, 生体分子表面における水分子のライフタイムを決める要素について、第25回分子シミュレーション討論会、2011年12月7日、東京工業大学(東

京)

④米谷 佳晃、河野 秀俊、 生体高分子表面  
における水分子のライフタイムを決める要  
素について、日本生物物理学会第 48 回年会、  
2011 年 9 月 17 日、 兵庫県立大学 (姫路)

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

米谷 佳晃 (YONETANI YOSHITERU)

独立行政法人日本原子力研究開発機構・量  
子ビーム応用研究部門・研究副主幹

研究者番号：80399419