

## 水の間としての集団運動と生体分子の構造転移ダイナミクス

神戸大学大学院自然科学研究科<sup>1</sup>, JST/CREST<sup>2</sup>, 分子研理論<sup>3</sup>

○ 納多 哲史<sup>1,1</sup>, 馬場昭典<sup>1,2</sup>, 小松崎民樹<sup>1,2,3</sup>

タンパク質と水分子は運動の時間スケールが乖離しているとされていたが、水を場として粗視化するとタンパク質と共通の時間スケールの運動が内在することが分かっている。我々はタンパク質にとっての水の集団運動の動的な効果の具体的な描象を得るために独自の評価関数を定め、分子動力学計算によって得られたトラジェクトリについて解析を行った。その結果、タンパク質の構造変化の際にターンの変位速度の方向とターン近傍の水の場の方向が揃うことが示唆された。

### 1 はじめに

これまでタンパク質と水分子の構造変化の時間スケールは大きく異なるとされてきた。時間スケールが分離していればタンパク質の構造変化に水分子の構造変化は関係せず、タンパク質に対する水の動的な効果は摩擦力およびランダム力として近似できる。

ところが近年、粗視化された水（後述）の運動の時間スケールは個々の水分子の運動の時間スケールより大きいことが分かってきた。このため、タンパク質と粗視化された水に共通する運動の時間スケールが存在し、その時間スケールにおいて両者の間に動的な相互作用があることが予想されている。すなわち、「タンパク質は系、水は環境」と、部分と全体を予め規定する従来の考え方では不十分であり、タンパク質と周囲の水が一体となって自律的にその境界を決めながら運動している可能性が高い。

しかしながら、これらの水の遅い運動がタンパク質の運動にどのように影響を与えているのか、具体的にはよく分かっていない。そこで我々はタンパク質と水の間での動的な相互作用の評価を行うことにした。今回はテストケースとしてタンパク質の代わりに分子量の小さいポリアラニンを用いた。

### 2 双極子場による水の粗視化

ここでは双極子場 (site-dipole) [1] という量を用いて MD トラジェクトリの解析を行う。まず1辺  $L_{box}$  の空間を1辺  $L_{cube}$  の立方格子に切り分け  $i$  番目の格子の重心位置を  $r_i$  とおく。次に各水分子を双極子ベクトルとみなし、 $k$  番目の水分子の酸素原子の中心座標を始点とし2つの水素原子の中点を向く単位ベクトルを  $\mathbf{m}_k(t)$  とする。ある時刻  $t$  に

<sup>1</sup>E-mail:snoda@kobe-u.ac.jp

において立方格子に水分子が1個しかない場合、双極子場  $\mathbf{d}(r_i, t)$  は以下のように定義する (格子内に水分子がない場合の値は0とする)。

$$\mathbf{d}(r_i, t) = \mathbf{m}(t) \quad (1)$$

我々は水分子が複数個入りうる大きさの格子を用いたのでこれを拡張して以下のように定義した。

$$\mathbf{d}(r_i, t) = \sum_{k \in \text{cube}} \mathbf{m}_k(t) \quad (2)$$

次に各格子の時間  $\Delta t$  ごとの平均を取り時間平均された双極子場  $\mathbf{d}(r_i, t)_{\Delta t}$  を得る。

$$\mathbf{d}(r_i, t)_{\Delta t} = \frac{1}{\Delta t} \sum_{t-\Delta t/2}^{t+\Delta t/2} \mathbf{d}(r_i, t) \quad (3)$$

最後に各格子の中心より半径  $R$  以内に中心が含まれる立方格子の値を平均し、時間平均、空間平均された双極子場  $\mathbf{D}(r_i, t)_{\Delta t, R}$  を得る。

$$\mathbf{D}(r_i, t)_{\Delta t, R} = \frac{1}{N_{\text{cube}}} \sum_{j \in R} \mathbf{d}(r_j, t)_{\Delta t} \quad (4)$$

ここで  $N_{\text{cube}}$  は半径  $R$  の球に中心が含まれる格子のうち値が0でないものの個数である。

これらは様々な時間、空間スケールにおける双極子場の振る舞いを解析できる。温度 300K を対象にしたこれまでの研究によると、バルクの水の双極子場は 300 ピコ秒にわたっての時間平均を行っても双極子場の構造が残り [2]、タンパク質近傍の双極子場はサブナノ秒オーダーの回転の自己相関を持つことが分かっている [1]。これは個々の水分子の回転の自己相関が数ピコ秒であるのに比べて非常に長い。

### 3 用いた系

今回はテストケースとして 15 残基のポリアラニン (原子数 162, 分子量 1139) を採用した。このポリアラニンは  $\alpha$  ヘリックス、ランダムコイルの2状態が見られ、タンパク質のフォールディングのプロトタイプと考えることができる [3]。このポリアラニンと水分子 6274 個に1辺  $L_{\text{box}} = 55 \text{ \AA}$  の立方体の周期境界条件を適用した。ポリアラニンの力場は AMBER parm03, 水の力場は TIP3P を用いた。温度は 300K, シミュレーション時間は 3ns である。これを行う前に 100ps かけて 0K から 300K へ温度を上昇させ、100ps の平衡化を行った。

### 4 解析結果

#### 4.1 ポリアラニン近傍の個々の水分子の滞在時間

最初に、ポリアラニン近傍の個々の水がどれくらいの時間滞在しているかを水和圏別に見た。横軸は滞在時間、縦軸は平均滞在個数の対数プロットである。

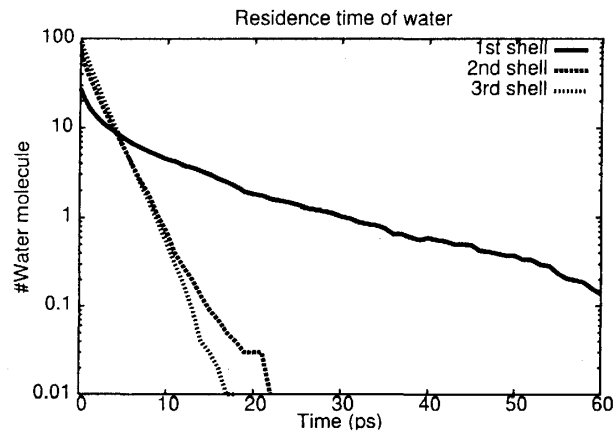


図 1: 水和圏別の水分子の平均滞在時間 (縦軸は対数プロット)

第 1 水和圏の滞在時間は第 2、第 3 水和圏より長く、100ps 以上にわたって滞在する水分子も観測された。滞在時間分布については第 2、第 3 水和圏の分布は指数型であるのに対し、第 1 水和圏では非指数型の分布を示している。これは第 1 水和圏において、特徴とする運動の時間スケールが複数あることを意味する。

#### 4.2 ポリアラニン近傍の個々の水分子の回転緩和時間

次に、ポリアラニン近傍の個々の水の回転の緩和について調べた。

Yokomizo ら [1] により双極子場の回転の自己相関関数が提案されている。これを個々の水分子に適応し、個々の水の双極子の回転の自己相関関数を定義した。

$$C(r_{pw}, \tau) = \frac{1}{N_{r_{pw}}} \sum_{\min(|\mathbf{r}_k - \mathbf{r}_{p_j}|) = r_{pw}} \langle \mathbf{m}_k(t) \cdot \mathbf{m}_k(t + \tau) \rangle \quad (5)$$

$r_{pw}$  は水分子より最も近いポリアラニンの原子との距離の時間平均、 $\tau$  は遅延時間、 $N_{r_{pw}}$  はポリアラニンからの距離が  $r_{pw}$  であった水分子のサブトラジェクトリ数、 $\mathbf{r}_k$  は  $k$  番目の水分子の酸素原子の位置、 $\mathbf{r}_{p_j}$  はポリアラニンの  $j$  番目の原子の位置、 $\mathbf{m}_k(t)$  は時間  $t$  における  $k$  番目の水分子の双極子モーメントを単位ベクトルで表したものである。

ここではポリアラニンからの距離との関係に注目する。空間固定である双極子場に対し、水分子は時間とともに移動するため、同一の水分子で長時間のトラジェクトリの平均を取るとポリアラニンからの距離の効果が薄められてしまう。このため対象とする長さ  $\tau$  の短いサブトラジェクトリ毎にポリアラニンからの平均距離を計算し、ポリアラニンからの距離別に集計する方法を行った。遅延時間  $\tau$  は 1ps, 4ps, 16ps の 3 種類で計算した。

結果によると、ポリアラニンから 5Å 以上離れた場所ではほぼ一定の相関関数であり、バルクの水と同様の振る舞いをしているものと思われる。また、ポリアラニン近傍の水分子の回転の自己相関関数は高く、 $\tau = 1ps, 4ps, 16ps$  の 3 つともバルクの水分子のそれより高い、バルクの水分子の回転が緩和してしまっている  $\tau = 16ps$  でも高い自己相関が見られる。このことからポリアラニン近傍の水分子の回転緩和 ( $> 16ps$ ) はバルクの水の緩和 ( $\sim 10ps$ ) に比べて遅いことが分かる。

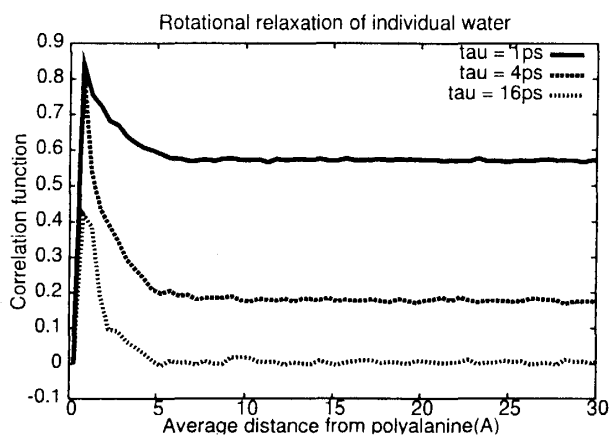


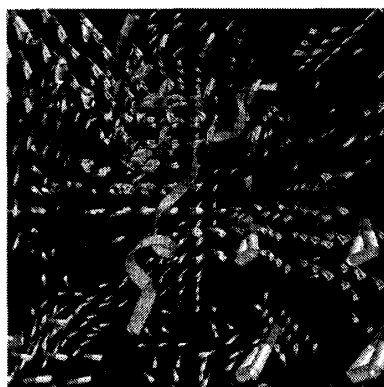
図 2: ポリアラニンからの距離別の水分子の回転緩和

#### 4.3 ターン形成の変位方向と（ターン領域近傍の）双極子場ベクトルの間の相関の評価

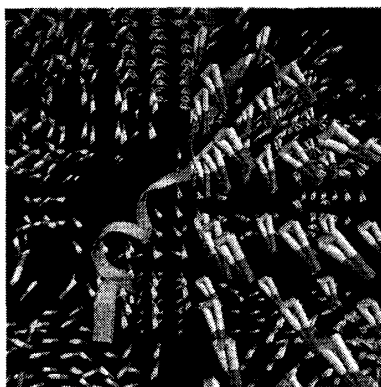
今回、以下の条件による双極子場の解析を行った。

- 立方格子の大きさ  $L_{cube}$  :  $3.6\text{\AA}$  ( $= L_{box}/16$ )
- 時間平均幅  $\Delta t$  :  $3ps$
- 空間平均の半径  $R$  :  $7\text{\AA}$
- 空間平均の球に含まれる立方格子の数  $N_{cube}$  : 27

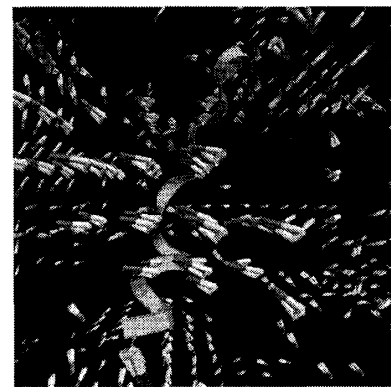
上記のパラメータによるポリアラニンと水的双極子場のトラジェクトリの一部を以下に示す。中央はポリアラニン、周囲の矢印は水的双極子場ベクトルを表している。双極子場ベクトルは強いものから 50% のみを表示している。



t=459ps



t=495ps



t=537ps

双極子場の強い区域と弱い区域が時間とともに入れ替わっていることが分かる。

双極子場ベクトルの運動とポリアラニンの運動にどのような相関があるのかを評価するため、我々はターン形成の変位方向と、ターン領域近傍の双極子場ベクトルの間の相関について、以下のような評価関数を定義した。

$$\Gamma(\dot{\mathbf{R}}_{j,j+3}, \mathbf{r}_j, t) \equiv \left[ \frac{\dot{\mathbf{R}}_{j,j+3} \cdot \mathbf{D}_{R,\Delta t}(\mathbf{r}_i, t)}{|\dot{\mathbf{R}}_{j,j+3}| |\mathbf{D}_{R,\Delta t}(\mathbf{r}_i, t)|} \right] \exp(-\alpha r_{PW}), \quad (6)$$

$$\mathbf{R}_{j,j+3} = \mathbf{R}_j - \mathbf{R}_{j+3}, \dot{\mathbf{R}}_{j,j+3} = \frac{d\mathbf{R}_{j,j+3}}{dt} \quad (7)$$

ここで  $\mathbf{R}_i$  は  $i$  番目の  $C_\alpha$  の位置ベクトル、 $\mathbf{D}_{R,\Delta t}(\mathbf{r}_i, t)$  は双極子場ベクトル、 $\alpha$  はポリアラニン近傍の双極子場のみに注目するための dumping 因子 ( $20^{-1} \text{\AA}^{-1}$ )、 $r_{PW}$  は双極子場と  $j \sim j+3$  番目までの  $C_\alpha$  の重心からの距離である。

今回、ポリアラニンの2種類のターン形成が見られた。1番目の残基と4番目の残基によるものをターン1-4、12番目の残基と15番目の残基によるものをターン12-15と呼ぶ。以下は両ターンにおける残基間距離である。

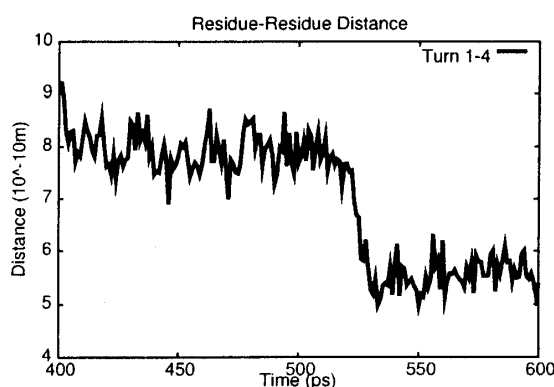


図 3: ターン 1 - 4 の残基間距離

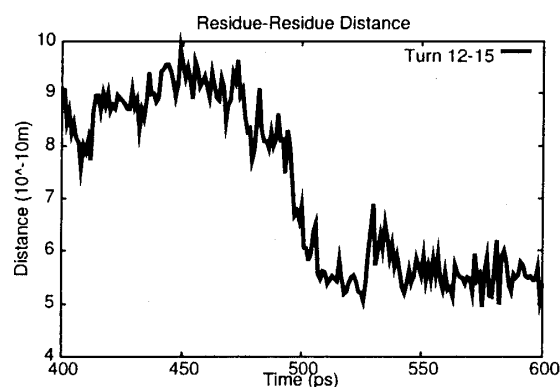


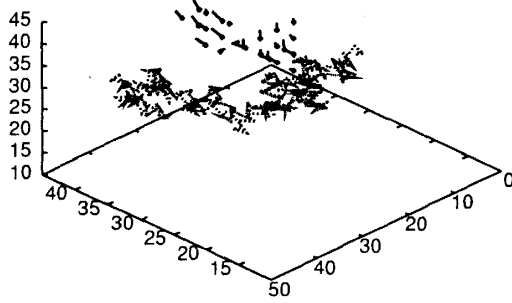
図 4: ターン 12 - 15 の残基間距離

ターン1-4では比較的速い遷移、ターン12-15では比較的遅い遷移が見られる。

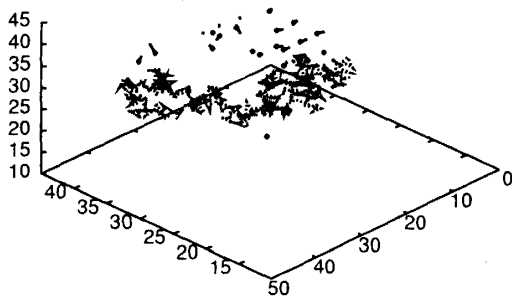
先ほど定義した評価関数を用いて両者の双極子場との相関を解析する。ここでは  $\Gamma > 0.275$  であった全ての双極子場ベクトルをターン形成前、遷移領域、形成後の時間領域に分割して描画する。

時間領域の始点と終点でのポリアラニン注目する残基は図のほぼ中央に表示している。ポリアラニン周辺の線分は対象とするターン形成と相関が高かった双極子場を示している。+ 点は双極子場の  $\delta$ - 末端を表している。

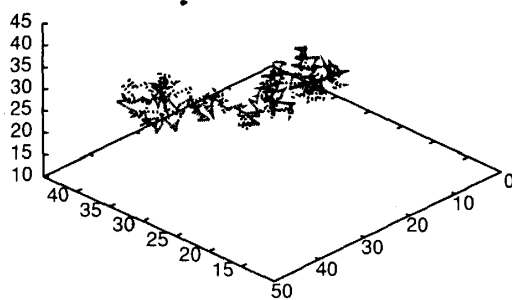
ターン 1 - 4 (速い遷移)



遷移前 (t=509-521ps)

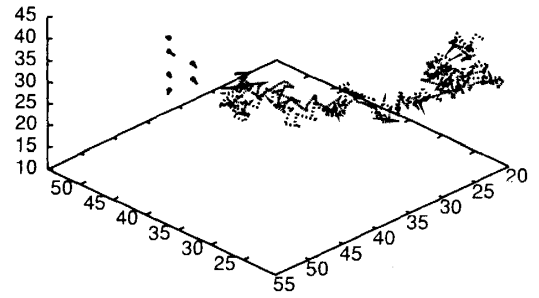


遷移中 (t=521-533ps)

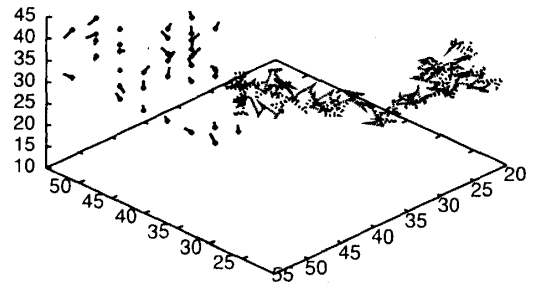


遷移後 (t=533-545ps)

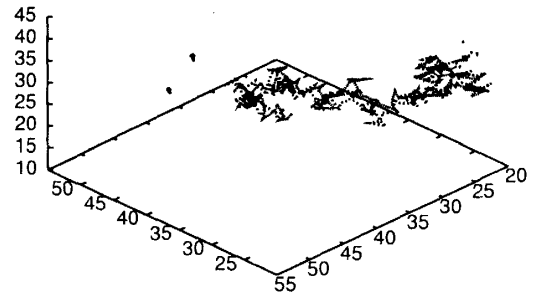
ターン 12 - 15 (遅い遷移)



遷移前 (t=485-497ps)



遷移中 (t=497-509ps)



遷移後 (t=509-521ps)

より詳細な解析を必要とするが、ターンの遷移領域において双極子場とターンの変位方向が強い協同的相関を示し、遅いターン形成ではそれがより顕著に現れる可能性が高いことが示唆される。

## 5 おわりに

ポリアラニン近傍の水の分子の回転緩和 ( $> 16\text{ps}$ ) はバルクの水の回転緩和 ( $\sim 10\text{ps}$ ) に比べて遅いこと、また、第一水和圏における滞在時間分布は非指数型分布で複数の滞在寿命の時間スケールが存在することが判明した。

さらに、ポリアラニンのターンの遷移領域において双極子場とターンの変位方向が強い協同性を示し、遅いターン形成ではより顕著であること、ならびにこの結果は水中における Leu-Enkephain のターン形成ダイナミックスの複雑さの時系列解析の解析結果 [4] と一致することが分かった。今後、水の場合とターン形成の強い協同性における原理・因果関係および蛋白質の構造変化や機能における水の役割の解明を予定している。

## 参考文献

- [1] T. Yokomizo, S. Yagihara & J. Higo, *Chem. Phys. Lett.* 374 (2003) 453-458
- [2] J. Higo, M. Sasai, H. Shirai, H. Nakamura & T. Kugimiya, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98 (2001) 5961-5964
- [3] M. Takano, T. Takahashi & K. Nagayama, *Phys. Rev. Lett.* 80 (1998) 5691-5694
- [4] D. Nerukh, G. Karvounis & R.C. Glen, *Complexity* 10, 40 (2004)