

## 水を主役とした ATP エネルギー変換

### ATP-energy conversion and hydration

京都大学 化学研究所 分子環境解析化学領域

松林 伸幸

#### 1. はじめに

F<sub>1</sub> モータータンパク質は、ATP（アデノシン 3 リン酸）の合成と加水分解を司る重要な生体物質である。近年、その構造解析が精力的に行われているが、機能の理解と制御のためには、タンパク質そのものだけでなく、周りにある水も含めた（自由）エネルギー解析が不可欠である。本研究の目的は、F<sub>1</sub> タンパク質と溶媒水を、全原子レベルで取り扱い、ATP 反応・タンパク質構造変化・水和効果の 3 者の協同性を、自由エネルギー値に基づいて明らかにすることである。F<sub>1</sub> モータータンパク質は、その最小単位である  $\beta$  サブユニットでさえ数百残基からなる巨大系である。これまでに、大規模高並列分子動力学シミュレーションによって、構造ゆらぎの相関解析などが行われてきたが、水をも含めた自由エネルギー論の定量的展開は困難な状況にある。本研究では、水和効果の定量的解析を行うために、分子動力学シミュレーションを独自に開発した溶液理論（エネルギー表示の理論）と組み合わせ、F<sub>1</sub> タンパク質における ATP 加水分解反応と構造変化のカップリングに及ぼす水和の効果を、自由エネルギーのレベルで解析する。様々なエネルギー因子の補償関係を調べ、単独では起こり得ない各因子の変化が、協同的な変化によって可能になることを示す。解析のポイントは、自由エネルギー計算値の要素分割である。ATP 反応・タンパク質構造変化・水和効果の 3 つの寄与の要素分解を行い、どの寄与が駆動因子／阻害因子になっているかを明らかにする。

#### 2. MD 計算と自由エネルギー解析

F<sub>1</sub> モータータンパク質は、いくつかのサブユニットから形成される。まず、ATP（アデノシン 3 リン酸）加水分解の触媒活性を担う  $\beta$  サブユニットのみの自由エネルギーの解析を行う。 $\beta$  サブユニットは、ATP や ADP（アデノシン 2 リン酸）の結合していない構造、加水分解前の ATP 結合構造、加水分解後の ADP 結合構造の 3 種がある。分子動力学シミュレーションでは、3 つの状態のそれぞれについて、水中での代表的ゆらぎ構造をサンプルし、構造ゆらぎの幅を確定する。その後、各構造に対する水和自由エネルギーの計算を、溶液理論を用いて行う。

エネルギー表示法では、水和自由エネルギー ( $\Delta\mu$ ) は溶質と溶媒のペア相互作用エネルギーの分布関数 ( $\rho(\epsilon)$ ) から、密度汎関数理論に基づいて計算される。エネルギーが引数なので、タンパク質の複雑な構造や分子間相互作用を MD で採用するレベルから粗視化せずに扱える。力場として charmm22、水のモデルとして TIP3P、MD は NAMD2 を用いて、周期境界下の MD から  $\rho(\epsilon)$  を求めた。 $\beta$  サブユニットの単離構造を対象とし、アンサンブルは *NVT*、水の分子数は、密度が常温常圧での 1.0 g/cm<sup>3</sup> となり、系のエネルギー論に artifact の入らないように、179820 分子とした。 $\Delta\mu$  は溶液系及び参照系の  $\rho(\epsilon)$  から計算される。参照系の  $\rho(\epsilon)$  はタンパク質をテスト粒子として純水中へ挿入して得た。溶液・参照系の  $\rho(\epsilon)$  の違いを考慮すると、 $\Delta\mu$  を引力・斥力・排除体積の寄与へと分割できる。

### 3. 結果と考察

平衡ゆらぎ中の MD で得られた  $F_1$  構造から 30 ns の構造を用い、上に述べた 3 つの単離状態で自由エネルギー ( $G$ ) を求めた。 $G$  は構造エネルギー (分子内エネルギー、 $E_{\text{intra}}$ ) と  $\Delta\mu$  の和として求めた。構造エントロピーは、別途議論することとする。図 1 に ATP 結合構造における  $\Delta\mu$  の収束性を示す。1 ns 程度の短時間の MD で、物理的議論が可能な精度が得られることが分る。数百残基からなる巨大分子の全原子計算であることに注意されたい。3 つの単離構造の  $G$  を比較すると、主として引力相互作用の補償関係が成り立っていた。その結果、構造安定性の順序は、斥力相互作用の主要因子である排除体積効果の順序と一致した。マクロな物体については、排除体積効果が支配的になるが、この程度の大きさのタンパク質系でも同様の結果が得られたことになる。さらに、ATP が結合した構造と外れた構造で  $G$  を求め、差から ATP 結合に関する  $G$  を求めた。その結果、結合構造が安定で、かつ ATP 結合構造の中の ATP は、ADP 結合構造中よりも安定であった。構造の安定化は  $E_{\text{intra}}$  に起因し、安定性の差には  $\Delta\mu$  が主に影響していた。

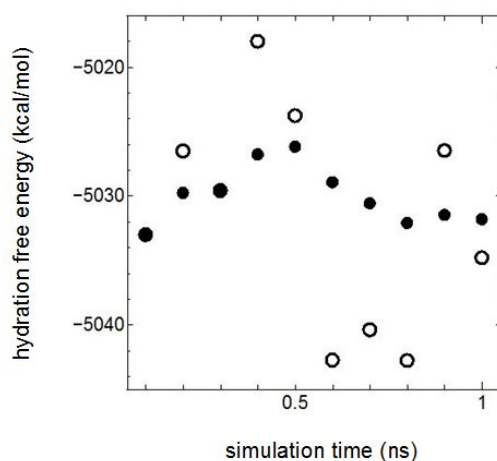


図 1. 水和自由エネルギー ( $\Delta\mu$ ) のシミュレーション時間依存性

### 参考論文

- 1) N. Matubayasi and H. Takahashi, “Free-energy analysis of the electron-density fluctuation in the quantum-mechanical/molecular-mechanical simulation combined with the theory of energy representation”, *J. Chem. Phys.* **136**, 044505 (10 pages) (2012).
- 2) Y. Yasaka, M. L. Klein, M. Nakahara, and N. Matubayasi, “Rotational dynamics of benzene and water in an ionic liquid explored via molecular dynamics simulations and NMR  $T_1$  measurements”, *J. Chem. Phys.*, **136**, 074508 (12 pages) (2012).
- 3) P.-L. Chau, K. M. Tu, K. K. Liang, I. T. Todorov, S. J. Roser, R. Barker, and N. Matubayasi, “The effect of pressure on halothane binding to hydrated DMPC bilayers”, *Mol. Phys.*, **110**, 1461–1467 (2012).
- 4) M. Takeuchi, N. Matubayasi, Y. Kameda, B. Minofar, S. Ishiguro, and Y. Umebayashi, “Free-Energy and Structural Analysis of Ion Solvation and Contact Ion-Pair Formation of  $\text{Li}^+$  with  $\text{BF}_4^-$  and  $\text{PF}_6^-$  in Water and Carbonate Solvents”, *J. Phys. Chem. B* **116**, 6476–6487 (2012).
- 5) H. Takahashi, A. Omi, A. Morita, and N. Matubayasi, “Simple and exact approach to the electronic polarization effect on the solvation free energy: Formulation for

- quantum-mechanical/molecular-mechanical system and its applications to aqueous solutions”, *J. Chem. Phys.*, **136**, 214503 (12 pages) (2012).
- 6) K. M. Tu, N. Matubayasi, K. K. Liang, I. T. Todorov, S. L. Chan, and P.-L. Chau, “A possible molecular mechanism for the pressure reversal of general anaesthetics: aggregation of halothane in POPC bilayers at high pressure”, *Chem. Phys. Lett.*, **543**, 148–154 (2012).
  - 7) M. Shintani, Y. Matsuo, S. Sakuraba, and N. Matubayasi, “Interaction of naphthalene derivatives with lipid in membrane studied by <sup>1</sup>H-nuclear Overhauser effect and molecular dynamics simulation”, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **14**, 14049–14060 (2012).
  - 8) T. Yoshidome, Y. Ito, N. Matubayasi, M. Ikeguchi, and M. Kinoshita, “Structural characteristics of yeast F<sub>1</sub>-ATPase before and after 16-degree rotation of the  $\gamma$  subunit: Theoretical analysis focused on the water-entropy effect”, *J. Chem. Phys.*, **137**, 035102 (8 pages) (2012).
  - 9) H. Kimura, M. Nakahara, and N. Matubayasi, “Noncatalytic Hydrothermal Elimination of the Terminal D-Glucose Unit from Malto- and Cello-Oligosaccharides through Transformation to D-Fructose”, *J. Phys. Chem. A* **116**, 10039–10049 (2012).
  - 10) H. Kimura, Y. Yasaka, M. Nakahara, and N. Matubayasi, “Nuclear magnetic resonance study on rotational dynamics of water and benzene in a series of ionic liquids: Anion and cation effects”, *J. Chem. Phys.*, **137**, 194503 (10 pages) (2012).
  - 11) K. Yoshida, N. Matubayasi, Y. Uosaki, and M. Nakahara, “Density effect on infrared spectrum for supercritical water in the low- and medium-density region studied by molecular dynamics simulation”, *J. Chem. Phys.*, **137**, 194506 (10 pages) (2012).
  - 12) K. Takemura, H. Guo, S. Sakuraba, N. Matubayasi, and A. Kitao, “Evaluation of protein-protein docking model structures using all-atom molecular dynamics simulations combined with the solution theory in the energy representation”, *J. Chem. Phys.*, **137**, 215105 (10 pages) (2012).
  - 13) Y. Kubota, A. Yoshimori, N. Matubayasi, M. Suzuki, and R. Akiyama, “Molecular dynamics study of fast dielectric relaxation of water around a molecular-sized ion”, *J. Chem. Phys.*, **137**, 224502 (4 pages) (2012).
  - 14) T. Kawakami, I. Shigemoto, and N. Matubayasi, “Free-energy analysis of water affinity in polymer studied by atomistic molecular simulation combined with the theory of solutions in the energy representation”, *J. Chem. Phys.*, **137**, 234903 (9 pages) (2012).
  - 15) Y. Kameda, H. Deguchi, Y. Kubota, H. Furukawa, Y. Yagi, Y. Imai, M. Tatsumi, N. Yamazaki, N. Watari, T. Hirata, N. Matubayasi”, High-Energy X-ray Diffraction Study on the Intramolecular Structure of 2-Aminoethanol in the Liquid State”, *Bull. Chem. Soc. Japan* **86**, 99–103 (2013).
  - 16) K. Takemura, R. R. Burri, T. Ishikawa, T. Ishikura, S. Sakuraba, N. Matubayasi, K. Kuwata, and A. Kitao, “Free-energy analysis of lysozyme-triNAG binding modes with all-atom molecular dynamics simulation combined with the solution theory in the energy representation”, *Chem. Phys. Lett.*, in press (2013).
  - 17) T. Ishikawa, R. R. Burri, Y. Kamatari, S. Sakuraba, N. Matubayasi, A. Kitao, and K. Kuwata, “Theoretical Study of the Two Binding Modes Between Lysozyme and Tri-NAG by the Fragment Molecular Orbital Method”, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, in press (2013).
  - 18) Y. Karino and N. Matubayasi, “Interaction-component analysis of urea effect on amino-acid analogs”, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, in press (2013).