

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

F₁ 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。その機能を発揮する最小単位である β サブユニットでさえ数百残基からなる巨大系であり、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。先行研究では、モデル計算や、部分的に原子レベルで取り扱ったエネルギー論の議論がされているが、溶媒中におけるタンパク質の揺らぎまで全原子で取り扱った例はない。本共同研究では、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エネルギー表示溶液理論と組み合わせ、F₁ タンパク質における ATP 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。

2. MD 計算と自由エネルギー解析

F₁ タンパク質 (F₁) は、いくつかのサブユニットから形成される。ATP 加水分解の触媒活性を担う β サブユニット (466 残基、7121 原子) のみに注目し、自由エネルギー解析を行った。ATP 加水分解過程において、 β サブユニットは、3 つの化学プロセス (ATP 結合、加水分解、生成物解離) に伴う構造変化を起こす事が知られており、本研究では、ATP 結合過程に注目した。

ATP 結合前 (β E) と ATP が 1 分子結合した (β TP-ATP) 構造は、F₁ の結晶構造 (PDB code: 2JDI) を用いた平衡ゆらぎ中の分子動力学シミュレーションから用意した。それぞれの β サブユニットを純水中へ、水の密度が 1 g/cm³ となるように入れた。 β サブユニットの ATP 結合過程には、 β サブユニットの構造変化 (open から closed) と、 β TP への ATP 結合の 2 つの過程が含まれる。その 2 つの過程を分離し、それぞれについて、水和効果を解析する為に、ATP 単体及び、 β TP 単体の系を用意した。本研究で扱う ATP にはマグネシウムイオンが 1 原子結合している。 β E + ATP と β TP + ATP 系から β サブユニットの構造変化、 β TP + ATP と β TP-ATP 系から ATP 結合に伴うエネルギー収支を解析した。

β E, β TP-ATP, 及び ATP 系を純水中でゆらがせ、平衡ゆらぎ中における代表的な構造をサンプリングした。本計算で行ったすべての分子動力学シミュレーションでは、ユニットセルのサイズは 240×150×150 Å³, 水の個数は 179820 である。全系のサイズは、約 60 万原子系となる。分子力場は、CHARMM22/CMAP (β サブユニットおよび水)、CHARMM27 (ATP) を用いた。アンサンブルは NVT、温度は 300 K、Lennard-Jones 相互作用は switching range が 10–12 Å の switching function で計算し、静電相互作用は particle mech Ewald 法で計算した。5 ns の平衡化後、50 ns のシミュレーションから 1 ns ごとにスナップショットを抜き出し、それぞれの系において 50 個の構造を用意した。50 ns シミュレーションにおける、結晶構造からの平均二乗偏差は、2-3 Å であった。 β TP 単体の構造は、50 個の β TP-ATP 構造から ATP 部分のみを取り除いて用意した。ATP を取り除いた後、 β TP 構造を固定した状態で、水のみを平衡化を 1 ns 行った。溶媒和自由エネルギーの計算には、エネルギー表示法を用いた。

3. 結果と考察

$\beta E + ATP$ と $\beta TP + ATP$ 系のエネルギー収支から β サブユニットの構造変化に伴う水和の役割を明らかにした。溶媒和自由エネルギーの変化が負となることから、水は β サブユニットの open 構造から closed 構造への変化を促進する駆動因子の役割があることがわかった。一方で、構造エネルギーは不安定になる事がわかった。構造エネルギーと溶媒和自由エネルギーの和値の変化は正であり、ATP が結合していない状態で、 βE から βTP への変化は自発的に起こらないことを示す。 β サブユニット単体の MD シミュレーションにおける構造ゆらぎの解析では、 βE 構造が βTP 構造より安定になると示唆されており、本結果と矛盾しない。すなわち、ATP の誘起無しでも、ATP を「迎え入れる」構造を取ることは無いということを明らかにした。

次に、 $\beta TP + ATP$ と $\beta TP-ATP$ 系のエネルギー収支から ATP 結合に伴う水和の役割を解析した。溶媒和自由エネルギーの変化は約 220 kcal/mol となり、水は ATP 結合の阻害因子として働く事がわかった。構造エネルギーの変化は、約 230 kcal/mol の安定化を示し、その安定化の大部分は β サブユニットと ATP の間の結合エネルギーが占めていた。その、結合エネルギーから生じる大きな安定化は、水和の不安定化でゆるやかなものとなり、 $\beta TP + ATP$ から $\beta TP-ATP$ 系への変化に伴う、構造エネルギーと溶媒和自由エネルギーの和値の変化は 20 kcal/mol 程度の安定化となる。

参考論文

- 1) 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.*, **559**, 94–98 (2013).
- 2) 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.*, **15**, 3646–3654 (2013).
- 3) Y. Karino and N. Matubayasi, “Interaction-component analysis of urea effect on amino-acid analogs”, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **15**, 4377–4391 (2013).
- 4) H. Kimura, M. Nakahara, and N. Matubayasi, “Solvent Effect on Pathways and Mechanisms for D-Fructose Conversion to 5-Hydroxymethyl-2-furaldehyde: In Situ ^{13}C NMR Study”, *J. Phys. Chem. A* **117**, 2102–2113 (2013).
- 5) Y. Ito, T. Yoshidome, N. Matubayasi, M. Kinoshita, and M. Ikeguchi, “Molecular Dynamics Simulations of Yeast F_1 -ATPase before and after 16° Rotation of the γ Subunit”, *J. Phys. Chem. B* **117**, 3298–3307 (2013).
- 6) K. Yoshida, N. Matubayasi, Y. Uosaki, and M. Nakahara, “Effect of heavy hydrogen isotopes on the vibrational line shape for supercritical water through rotational couplings”, *J. Chem. Phys.*, **138**, 134508 (12 pages) (2013).
- 7) G. Mogami, T. Miyazaki, T. Wazawa, N. Matubayasi, and M. Suzuki, “Anion-Dependence of Fast Relaxation Component in Na $^+$, K $^+$ -Halide Solutions at Low Concentrations Measured by High-Resolution Microwave Dielectric Spectroscopy”, *J. Phys. Chem. A* **117**, 4851–4862 (2013).
- 8) Y. Kameda, H. Deguchi, H. Furukawa, Y. Kubota, Y. Yagi, Y. Imai, N. Yamazaki, N. Watari, T. Hirata, and N. Matubayasi, “Hydration Structure of CO $_2$ -Absorbed 2-Aminoethanol Studied by Neutron Diffraction with the $^{14}N/^{15}N$ Isotopic Substitution Method”, *J. Phys. Chem. B* **118**, 1403–1410 (2014).