

業績紹介：非線形分光と分子動力学シミュレーションによる界面の水和構造

山口祥一 (理研・A02 計画研究分担者)
森田明弘 (東北大理・A02 公募研究代表者)
田原太平 (理研・A02 計画研究代表者)

論文題目: "Half hydration' at the air/water interface revealed by heterodyne-detected electronic sum frequency generation spectroscopy, polarization second harmonic generation, and molecular dynamics simulation"

著者: Hidekazu Watanabe, Shoichi Yamaguchi, Sobhan Sen, Akihiro Morita, and Tahei Tahara

雑誌巻号: *J. Chem. Phys.* **132**, 144701 (2010)

空気/水界面の溶質分子の水和構造を実験と理論の両面から研究した。これまでの二次非線形分光による実験から、空気/水界面にある溶質分子はバルクの水と空気の中間的な溶媒極性 (solvent polarity) を感じていることが分かっている[1]。このことは、バルクと異なる界面特有の水和構造の存在を示唆しているが、実験のみから水和構造のような微視的構造の詳細な描像を与えることは依然として非常に困難である。一方、分子動力学 (MD) シミュレーションを界面に適用して、実験では得られない構造とダイナミクスの情報を得ようとする理論的研究が数多くなされてきた。しかし、空気/水界面の水分子、特に水素結合の構造については、実験と理論の徹底的な比較・検証がなされている最中であるものの[2]、界面の溶質分子の水和構造については、実験と理論の比較は全く不十分であった。これは、理論的検証に耐える実験データを与える研究がほとんど無く、また実験的に検証可能な理論計算の結果もあまり無かったためである。

我々は、ヘテロダイン検出電子和周波発生[3]と偏光第二高調波発生[1]という2つの界面選択的二次非線形分光を用いて、空気/水界面の溶質分子クマリン 110 (C110) の二次非線形感受率テンソル ($\chi^{(2)}$) の絶対符号と成分比を実験的に決定した。また、時間依存密度汎関数法による C110 の超分極率テンソルの計算と、MD シミュレーションによる C110 の配向分布の計算を合わせて、 $\chi^{(2)}$ の絶対符号と成分比を理論的に計算して実験と比べた。実験と理論の結果は定量的に良く一致し、MD シミュレーションの信頼性を担保するものとなった。そこで、この MD シミュレーションのデータを用いて、C110 が界面でどのように水和されている

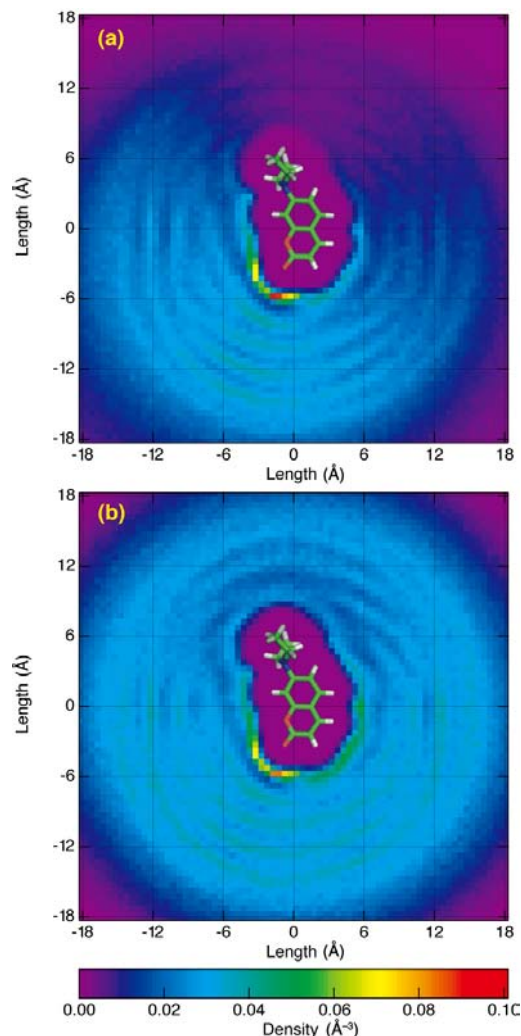


図 1. MD シミュレーションから計算された C110 の分子面上の水分子 (の酸素原子) の密度分布。(a) 空気/水界面、(b) バルク水中。

かを計算した (図 1(a))。親水的なカルボニル基の周辺は水の密度が高く、疎水的なジエチルアミノ基周辺は密度が低い。バルクでの全方位の水和 (図 1(b)) と比較すると、界面では疎水基側の水和水が欠けた、いわば“半分の”水和構造になっていることが分かる。

引用文献

- [1] Sen, Yamaguchi, Tahara, *Angew. Chem. Int. Ed.* **48** 6439 (2009).
[2] Morita, Ishiyama, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **10** 5801 (2008).
[3] Yamaguchi, Tahara, *J. Chem. Phys.* **129** 101102 (2008).

業績紹介：親水性-疎水性物質が接近するとき水分子はどう振る舞うか？

山方 啓 (北大触媒・A02 公募班)

論文題目："Destruction of the Water Layer on a Hydrophobic Surface Induced by the Forced Approach of Hydrophilic and Hydrophobic Cations"

著者：Akira Yamakata and Masatoshi Osawa

雑誌巻号：The Journal of Physical Chemistry Letters 1, 1487-1491 (2010)

水分子と物質のあいだに働く親水性・疎水性相互作用は周りの水分子のスタティックな構造とダイナミクスに影響を与え、分子の反応性や機能性の発現を支配している。固液界面で溶質が表面に吸着するような単純な過程でさえ、水分子の構造変化が吸着に影響を与える。それは、すべての物質は水和することで水の中で安定に分散するからである。固体表面も同様に構造を持った水分子で覆われている。そこで、本研究では、水の中で水和した物質が互いに接近するとき、その水和構造がどのように変化するか？ということに注目した。そして、それを調べるためのモデルとして、親水性、疎水性イオンが疎水的な電極表面に接近するときの水の構造変化を調べた。電極系では、負電位をかけることでカチオンを表面にゆっくりと押しつけることができる。ここでは、疎水性分子で修飾した電極表面に、様々なカチオンが接近するとき、間にある水分子がどのように構造変化するかを赤外分光法を用いて調べた。

この実験のポイントは、疎水表面に接する水分子は、 3670 cm^{-1} 付近に水素結合を持たない“free OH”に帰属されるバンドを与えることである。このバンドは、空気、有機薄膜、四塩化炭素などの疎水表面でほぼ例外なく観測されることが Y. R. Shen らにより報告されている[1]。したがって、このバンドに着目すれば、疎水表面の水の構造変化を調べることができる。本研究では、Pt 電極に CO を吸着させて疎水表面を調製した。そして、この表面では、 3670 cm^{-1} に“free OH”のバンドが現れることを確認した[2]。

次に、負電位をかけて、水和カチオンを表面に押しつけた。まず、親水性である金属イオン (Na^+ , Mg^{2+} , Zn^{2+}) とテトラメチルアンモニウムイオン (Me_4N^+) を用いると、いずれの場合でも 0 V から -1000 mV まで“free OH”のバンドが単調に減少した (Fig. 1)。この

結果は、親水性イオンは容易に CO の上に有る水分子を押しつけることを意味している。

しかし、疎水性イオン (テトラプロピルアンモニウムイオン: Pr_4N^+) の場合には、“free OH”は -400 mV までほとんど変化せず、その後急速に減少することがよく分かる (Fig. 1)。この結果は、疎水性イオンが表面の水分子を押しつけるためにはエネルギー障壁を越える必要があることを示唆している。テトラエチルアンモニウムイオン (Et_4N^+) の場合には、0~400 mV まで緩やかに減少し、その後急速に減少する。 Et_4N^+ は親水性と疎水性の中間的な性質を持っていることが知られている。

我々は、親水性イオンは疎水性イオンよりも容易に疎水表面の水分子の構造破壊をもたらすことを見いだした。この原因は、第一水和圏にある水分子の方向の違いにあると考えている。親水性イオンの場合、水素結合は第二、第三水和圏へと外側に発展している。しかし、疎水性水和殻の場合、水素結合は第一水和圏内部で完結し、第二水和圏との相互作用は小さい。したがって、親水性イオンの方が疎水性イオンより、周りの水分子の構造に大きな影響を与えようと考えられる。

[1] Q. Du, R. Superfine, E. Freysz, Y.R. Shen, *Phys. Rev. Lett.* 70 (1993) 2313.

[2] A. Yamakata and M. Osawa *J. Am. Chem. Soc.* 131 (2009) 6892.

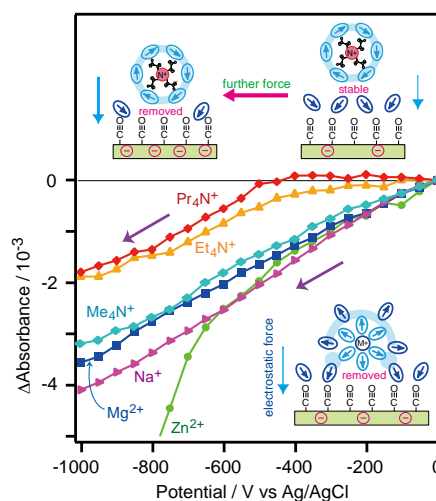


Fig. 1 Potential dependence of the peak intensity of the “free OH” at $\sim 3670\text{ cm}^{-1}$ on CO-covered Pt electrode during the negative potential sweep.

業績紹介：高速原子間力顕微鏡を用いた光励起バクテリオロドプシンの動態観察

神取秀樹（名工大院工・総括班研究協力者）

論文題目："High-speed atomic force microscopy shows dynamic molecular processes in photoactivated bacteriorhodopsin"

著者：Mikihiro Shibata, Hayato Yamashita, Takayuki Uchihashi, Hideki Kandori and Toshio Ando

雑誌巻号：Nature Nanotechnol. 5, 208-212 (2010)

http://www.s.kanazawa-u.ac.jp/phys/biophys/bR_movies.htm

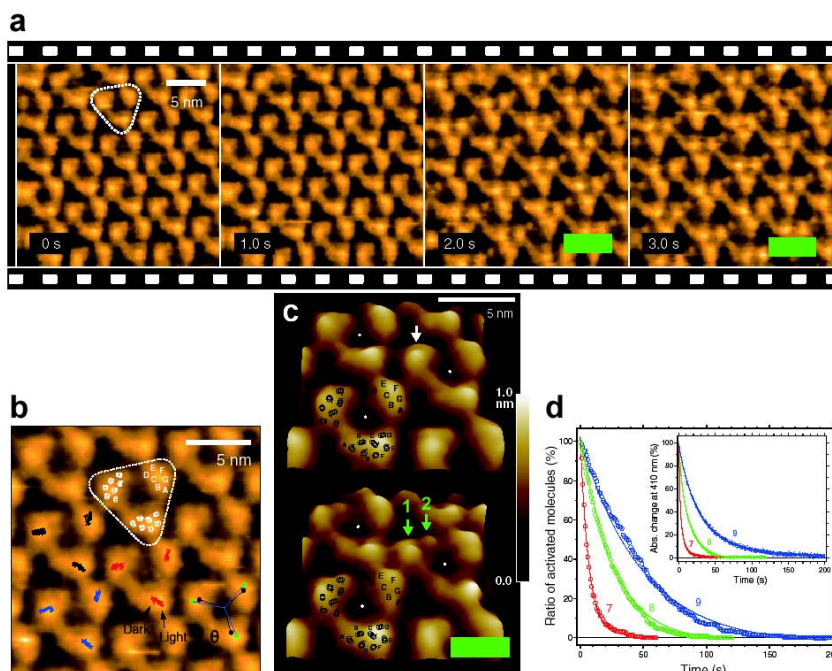
蛋白質の機能発現における構造変化をリアルタイムで捉えることは生命科学の「夢」である。しかし、通常のイメージングに用いられる「光」では、たとえ近接場を使ったとしても数ナノメートルの蛋白質は点にしかならない。では、どのようにしたら蛋白質の動きがイメージングできるだろうか？ 溶液中で高い空間分解能を実現できる原子間力顕微鏡 (AFM) は大きな可能性をもった手法の1つである。ただし、静置した試料の上をゆっくり掃印するという従来の AFM 観察では今度は時間分解能の問題が生じ、蛋白質のダイナミクスを捉えられない。このような問題点を克服するため、金沢大・安藤敏夫教授のグループでは高速 AFM を開発し、新しい研究分野を開拓してきた。

今回、我々は最も研究の進んだ膜蛋白質の1つである光駆動プロトンポンプ・バクテリオロドプシン (bR) に着目し、この蛋白質が溶液中という生理条件下では

たらいっているときのダイナミックな動きを高速 AFM により観察することに成功した。図 a は bR D96N 変異体の細胞質側を 1 フレーム/秒で観察したものであるが、レーザー照射 (緑バー) により再現性のあるイメージの変化が得られた。詳細な解析 (図 b, c) によると、E-F ループが 0.7 nm 程度 3 量体 (図中三角形) の中心から外側に移動する結果であることがわかった。D96N 変異体はアルカリ性で光反応が遅くなる (図 d 挿入) ことが知られているが、変化したイメージの緩和過程も同様の pH 依存性を示した (図 d)。同じような構造変化は野生型の bR でも (反応が遅くなる) アルカリ性において観察することができた。こうして得られた構造変化は、プロトン取込が起こる細胞質側だけに見られ、プロトン放出が起こる細胞外側では見られなかった。細胞外側領域には水素結合ネットワークが存在する一方、疎水的なアミノ酸で構成される細胞質側領域にはプロトン経路が存在しておらず、本研究はこれまでに多くの手法により報告されてきた細胞質側の helix opening による表面構造の変化を、実時間・実空間で可視化したものと位置付けることができる。

最も興味深かったのは 1 分子計測ならではの協同的な構造変化も捉えられたことである。すなわち光強度が弱い場合には、構造変化の緩和は時間に対して単一指数関数で分布したのに対し、光強度が強くと複数の分子が構造変化した場合には、変化した順番に従い異なる緩和の分布 (先に構造変化した分子の緩和は遅く、後から構造変化した分子の緩和は速くなる) が見出されたのである。ただし、この協同効果は 3 量体内の統計をとっても現れず、E-F ループが動いた結果、近づく隣の分子との間にのみ観察された。紫膜という天然の 2 次元結晶構造のもつ機能的な意味が、新たに発見された協同効果の中に隠されているのかもしれない。

bR の専門家である私自身にとっても驚きのムービーであり、領域の皆さんも左上に示した安藤研 HP を訪れてぜひご覧になることをお勧めします。



分子研研究会「拡がるロドプシンの仲間から

“何がわかるか” “何をもたらすか” 報告

須藤雄気 (名大院理・A03 班)
古谷祐詞 (分子研・A01 班)

分子研研究会「拡がるロドプシンの仲間から“何がわかるか” “何をもたらすか”」が平成 22 年 3 月 23 日(火)～24 日(水)の 2 日間に渡り、岡崎コンファレンスセンター(愛知県岡崎市明大寺町)で開催された。本研究会は、須藤と古谷が提案者として、また、講演者として、水谷泰久氏(計画研究代表者)、神取秀樹氏(班友)が含まれていることからニュースレターにて、その内容を報告したい。

ロドプシンは、レチナールを発色団とする 7 回膜貫通型 α ヘリックス構造を持つタンパク質の総称で、古くから、生体系機能性高分子のモデルとして、また光受容タンパク質のモデルとして、さらには解析の難しい膜タンパク質のモデルとして、積極的に解析が行われてきているタンパク質群である。本研究会では、ゲノム解析以降、様々な生物種から新たに単離・同定され、数千へとその数を爆発的に増大させた“～ロドプシン”を扱う研究者を集め、手法・方法論や物質・材料などの様々な角度から、これらロドプシン研究の現状と未来について“何がわかるか” “何をもたらすか”について徹底的に議論する事を目的とした。

はじめに、須藤が趣旨説明を行い。第一セッションで、神取氏(名工大)、神山勉氏(名大)、佐々木純氏(テキサス大)、角田聡氏(フンボルト大)から、分光法、回折法や生理学的解析による微生物型ロドプシンの現状について発表があった。その後、第二セッションで、七田芳則氏(京大)、村上緑氏(名大)、橋木修志(阪大)から、高等生物型ロドプシンや、その情報伝達機構の現状について講演された。第三セッションでは、小泉周氏(生理研)、太田淳氏(奈良先端大)、宇理須恒雄氏(分子研)、八尾寛氏(東北大)から、ロドプシン分子を使った神経科学への応用について、また、太田先生からは人工視覚デバイスの現状と課題についての発表があった。応用研究へ向けた現状と未来を考えさせられるセッションであった。その後、ポスターセッション(29 題)の後、懇親会において、日

本でのロドプシン研究の創始者である吉澤透先生(京大・名誉教授)からのご挨拶と、加茂直樹先生(北海道大学・名誉教授)から第 14 回レチナールタンパク質国際会議(ICRP)についてのアナウンスとご挨拶を頂戴した。

2 日目は、第四セッションで、須藤、藤本和宏氏(京大)、出村誠氏(北大)から、それぞれの研究対象のタンパク質や研究手法からわかってきた最近の研究の進展についての発表があった。第五セッションでは、分子科学の一つの方向性として、寺北明久氏(大阪市大)、小島大輔氏(東大)、今井啓雄氏(京大)から、多様なロドプシンや新しいロドプシンの仲間の機能についての解析結果を講演された。第六・第七セッションでは、NMR、AFM、FTIR、Transient Grating、中性子線構造解析、ラマン分光法など、方法論に立脚し、ロドプシン分子の構造と機能を明らかにする方向性が示された。セッションでは、児嶋長次郎氏(阪大/奈良先端大)、内藤晶氏(横浜国大)、柴田幹大氏(金沢大)、古谷、寺嶋正秀氏(京大)、上久保裕生氏(奈良先端大)、水谷氏が発表された。

どの発表でも時間を大きく超える質問やコメントにより議論が白熱し、本特定領域の評価委員でもある北川禎三先生(豊田理化学研究所)より、「思っていたよりずっと良い研究会であった」とお褒めのお言葉を頂いたように、成功裏に研究会を執り行うことが出来た。最後に、シンポジウムの開催、進行をお手伝い頂いたみなさんに深く感謝したい。

