

生物分子结合水的结构与动力学研究进展

叶树集 李传召 张佳慧 谈军军 罗毅

Research progress of molecular structure and dynamics of biological water

Ye Shu-Ji Li Chuan-Zhao Zhang Jia-Hui Tan Jun-Jun Luo Yi

引用信息 Citation: *Acta Physica Sinica*, 68, 013101 (2019) DOI: 10.7498/aps.68.20181273

在线阅读 View online: <http://dx.doi.org/10.7498/aps.68.20181273>

当期内容 View table of contents: <http://wulixb.iphy.ac.cn/CN/Y2019/V68/I1>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

[多色双光子激发荧光显微技术实验研究](#)

Experimental study on multicolor two-photon excited fluorescence microscopy

物理学报.2015, 64(4): 048701 <http://dx.doi.org/10.7498/aps.64.048701>

[高精度实时主动轴向防漂移系统研究](#)

A real-time axial active anti-drift device with high-precision

物理学报.2015, 64(2): 028701 <http://dx.doi.org/10.7498/aps.64.028701>

专题: 水科学重大关切问题研究

生物分子结合水的结构与动力学研究进展*

叶树集[†] 李传召 张佳慧 谈军军 罗毅

(中国科学技术大学, 合肥微尺度物质科学国家研究中心, 合肥 230026)

(2018年7月2日收到; 2018年8月27日收到修改稿)

生物结合水在维护生物大分子的结构、稳定性以及调控动力学性质和生理功能等方面起着决定性的作用。从分子水平上理解生物结合水分子的结构与性质及其影响生物结构和功能的本质与规律, 是揭示生物大分子生理功能机理的关键。目前生物结合水的结构与动力学相关研究尚处于初步阶段。本文从三个方面介绍当前生物结合水的相关研究及其进展: 首先介绍结合水对蛋白质折叠、质子给予与迁移、配体结合与药物设计以及变构效应等生物结构和功能的影响; 然后介绍生物分子周围的水分子结构研究情况; 最后从时间尺度、动力学属性、生物分子与水分子之间的动力学耦合作用、蛋白质表面结合水次扩散运动等角度介绍生物分子水合动力学的研究进展, 并归纳出一些目前尚待进一步解决的科学问题。

关键词: 生物分子结构与功能, 结合水, 超快动力学

PACS: 31.70.Hq, 82.39.-k, 87.64.-t, 87.15.H-

DOI: 10.7498/aps.68.20181273

1 引言

生物分子结合水作为水的一种重要的存在状态, 是指受限于蛋白质、酶、DNA, RNA 或细胞膜等生物分子紧邻的溶剂化层内的水分子(见图 1)^[1-4]。自从 20 世纪 50 年代证实生物分子结合水存在以来^[5], 越来越多的证据表明生物结合水已经成为生命活动中不可或缺的有机组成部分, 其在维护生物大分子的结构、稳定性以及调控动力学性质和生理功能等方面起着决定性的作用^[4,6-9]。以蛋白质为例, 蛋白质作为生命体执行特定生理功能的分子机器, 其与水分子的相互作用直接控制着许多与蛋白质功能相关的过程。比如, 与蛋白质结合的水分子(简称结合水)的行为不仅直接影响到蛋白质折叠构象转变的途径与速率, 还调控着蛋白质玻璃化温度转变、离子通道开关、质子和能量转移、蛋白-蛋白识别、配体和药物结合、酶催化等关键过程^[7,10,11]。对于许多蛋白质而言, 水合作用必须达到一定程度, 其功能才能正常实现。此外,

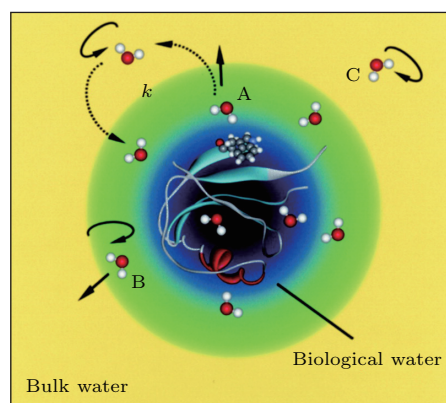


图 1 几种不同水合模式相关水分子示意图 A 对应着与表面结合的分子, 动力学交换用虚线箭头表示, 字母 k 表示的是交换速率, B 为水合层内的准自由水分子, C 则为体相水中的自由水分子^[3]

Fig. 1. Schematic depicting the existence of different types of water molecules associated with different hydration modes. Water type (A) corresponds to molecules bound to the surface. Their dynamical exchange is represented with dashed arrows, and k denotes the exchange rates. Water types (B and C) are quasi-free and free molecules, respectively^[3].

* 国家重点研发计划(批准号: 2017YFA0303500, 2018YFA0208700)、国家自然科学基金(批准号: 21873090, 21473177, 21633007, 21790350)、中央高校基本科研业务费专项资金(批准号: WK2340000064)、中国科学院(批准号: 2016HSC-IU003)和安徽量子信息技术先导项目(批准号: AHY090000)资助的课题。

[†] 通信作者。E-mail: shujiye@ustc.edu.cn

细胞膜上的水分子为许多生化反应、离子传输、信息交换、基因调节、免疫应答、细胞组装等过程提供独特的环境,并影响着这些生物过程^[12,13].

虽然生物结合水很重要,但我们对其了解甚少,远远不及对液体水的了解.原因主要有两方面.一方面,水具有非常复杂的氢键网络结构,该网络结构每时每刻都在发生超快的断裂与再构过程,并与周围水分子产生协同作用,从而不仅影响形成氢键水分子的OH伸缩振动频率,而且影响近邻水分子以及远层分子的氢键形态^[14].纯水中氢键的协同形成和断裂过程发生在数十飞秒到几皮秒的时间尺度内^[15,16].氢键的这种超快可再构行为为实现蛋白质折叠、溶剂化作用等生物过程提供了可能.另一方面,生物分子与水分子之间的相互作用非常微妙,水合层内水分子必须与生物分子有足够强的相互作用来保证生物分子的稳定,但又不能太强,以至于阻碍表面位点或抑制生物分子结构变化,导致与特定功能相关联的自由活化能的增加^[17].与此同时,生物分子表面很复杂,与水作用的界面涉及许多组分,使得生物分子周围的水分子处于不同的环境中,而水氢键的结合能(约为1—50 kJ/mol)又取决于局部的几何构型以及氢键供给体之间相互作用的类型和强度^[18].理论上,极性基团倾向于直接与水分子作用,而非极性基团则会增强水分子之间的相互作用^[19].生物分子表面的这种非均质

化学特性,大大增加了生物分子与水分子之间相互作用的复杂性,使得生物结合水具有与体相水明显不同的动力学特性^[8,9,20,21]:相对于纯水,生物分子表面水分子的局域密度增加了25%^[22];蛋白质等生物分子与水分子之间的氢键结构取代了体相水中的水-水氢键结构,从而阻止了生物结合水的结冰^[23];在体相水中,氢键连接的水分子之间的极化增加了偶极矩和介电常数,而生物体系中观察不到水分子氢键极化^[21];介电弛豫研究表明蛋白质水合层处的水分子动力学明显存在三个区域,而水相中只存在一种区域^[2,24];水分子在水合层中的迁移率比体相水更低且移动方式有所区别.与纯水比较,水合层内的转动和平动均表现出反常的时间依赖性^[25,26],生物水动力学变慢很多,主要表现在水合层水分子之间氢键断裂的平均速率比体相水中的断裂速率要慢,例如,球蛋白或含亲水基团的胶束表面上的水分子动力学慢4—7倍,含较大亲水尾巴的胶束周围的水分子甚至变慢1—2个数量级^[27].

正是因为生物结合水的复杂性及其与液体水的差异,引起了人们对生物水研究的极大兴趣.目前,人们主要从三方面开展生物结合水的研究:一是研究结合水对生物结构和功能的影响;二是研究生物分子周围的水分子结构;三是研究生物分子水合动力学.目前已经有不少综述总结了生物结合水

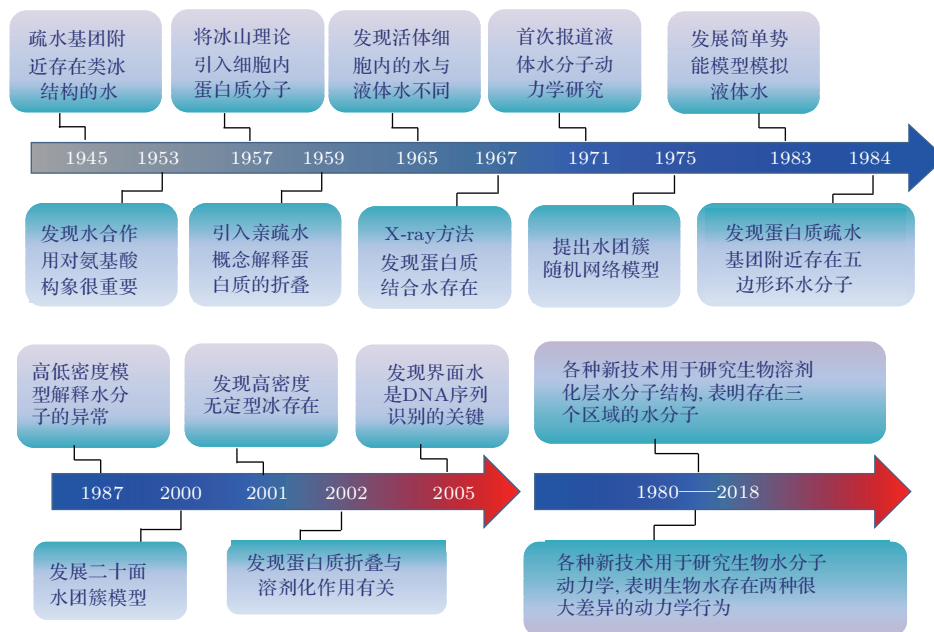


图2 生物结合水科学的研究简史

Fig. 2. A brief history of biological water science.

的相关研究进展^[10,28-30]. 例如, Chaplin^[10]列出了2006年前的生物水科学的简单历史(见图2)以及生物水在细胞生物学中的重要性; 2016年, Biedermandova和Schneider^[29]综述了蛋白质和核酸水合作用的实验和理论研究工作; 2016年, Garcia等^[11]综述了水对蛋白质结构和动力学的影响; 方海平等^[31]总结了生物分子表面水的生物功能研究进展; 2017年, Hynes等^[32,33]系统地总结了生物分子水合层内水分子结构与超快动力学的进展、存在的分歧和争议以及未来的展望.

为了更好地梳理生物结合水相关研究的关键科学问题, 让国内更多的学者了解生物结合水的研究, 本文从三方面介绍该领域的发展动态; 结合水对生物结构和功能的影响; 生物分子周围的水分子结构研究情况; 生物分子水合动力学的研究进展.

2 生物结合水对生物结构和功能的影响

水作为生命之源, 人们很早就从宏观上认识到水对于生命的重要性, 例如《列子·汤问》中“缘水而居, 不耕不稼”这句话十分形象地概括了人类对水的依赖关系. 然而, 人们在微观上了解水对生物结构和功能的影响, 则是近百年来发生的事情. 基于核磁共振(NMR)、介电弛豫(DR)、中子散射、X射线和超快光谱等技术, 人们了解到生物结合水不仅仅作为溶剂在发挥作用, 而且还是生物结构与功能的积极参与者, 在诸多生物和细胞过程中扮演核心角色, 包括促进蛋白质折叠、影响错误折叠进程, 作为结构的重要组成元素维持蛋白质结构的完整性, 为生理和细胞过程提供独特环境, 在生物信号传导中发挥离子通道的门控作用, 发挥质子和电子传递媒介作用, 调控分子识别和加速酶催化等. 正因为这样的重要性, Ball等^[30,34,35]甚至认为生物结合水是本身能够承载一定生物功能的特殊生物分子.

2.1 对蛋白质折叠和错误折叠的影响

蛋白质是以氨基酸为基本单元构成的生物高分子, 其一级结构指的是其氨基酸序列. 通过残基间的相互作用, 氨基酸序列能够迅速地形成立体的三级结构, 这个过程称为蛋白质折叠^[36-39]. 大多数蛋白质都能自然折叠为一个特定的三维结构, 这一特定结构被称为天然状态. 其折叠动力学主要是

分子内氢键形成和疏水相互作用两种因素的平衡结果, 并受蛋白质接触强度和分布的影响. 折叠的时间尺度从微秒到秒变化. 理论上蛋白质存在大量的可能构象, 以100个氨基酸残基组成的蛋白质为例, 每个氨基酸存在两种构象, 则该蛋白质的总构象数目多达 2^{100} . 倘若蛋白质寻找最低能态的构象一次耗时1 fs, 所有构象寻索一遍则需耗时4千万年, 显然与蛋白质折叠时间尺度严重不符. 这个悖论早在1968年就被Levinthal首次提出, 后人称之为Levinthal悖论^[40]. 该悖论表明蛋白质折叠遵循特异性途径, 也就是说折叠过程中只尝试有限数目的构象. 而蛋白质折叠要能遵循特异性途径, 其自由能面必须是一个只包含小能垒的多维漏斗式结构, 这样依赖热扰动就能很容易地克服这些小能垒的障碍, 见图3^[10]. 这需要一个同时具有灵活性、可交换和可拓展性的联动机理来实现蛋白质折叠过程. 而水分子调控的氢键结构则能满足这方面的需求. 正如图3所示, 低水合度条件下, 蛋白质势能面存在许多坑坑洼洼, 即存在很多局域的低能态, 这些低能态有可能将蛋白质陷在不活跃的三维分子亚稳态构型中, 从而使折叠无法顺利进行. 相比之下, 在足够高的水合度条件下, 势能面变得很光滑了, 这样就有利于蛋白质直接而快速地沿着某个特异性途径到达活跃的最低能态构象^[36-38,41]. 由此可见结合水对蛋白质折叠过程的重要性.

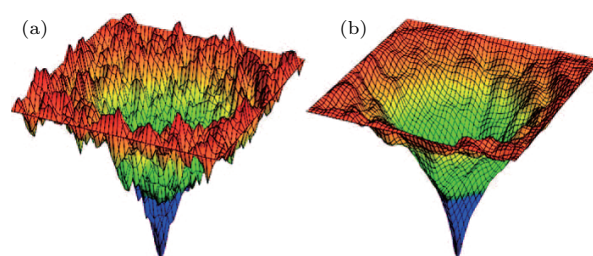


图3 蛋白质折叠自由能面示意图^[10] 未折叠的蛋白质处于较高能态(见红桔边缘), 折叠过程降低能量, 蛋白质沿着具有最低能态的结构转变(见深蓝的底端漏斗) 这些漏洞代表三维的能量形貌, 但实际的能量形貌是多维的; (a) 低水合程度情形; (b) 足够高的水合度

Fig. 3. Schematic potential-energy funnels for the folding of proteins^[10]. The rim (red-orange) represents the high energy of the unfolded protein, with folding lowering the energy towards a minimum-energy structure that is at the bottom of the funnel (dark blue). It should be noted that these funnels represent three-dimensional landscapes, whereas the actual energy landscapes are multidimensional. (a) The folding-energy landscape in the presence of low hydration; (b) a protein is sufficiently hydrated.

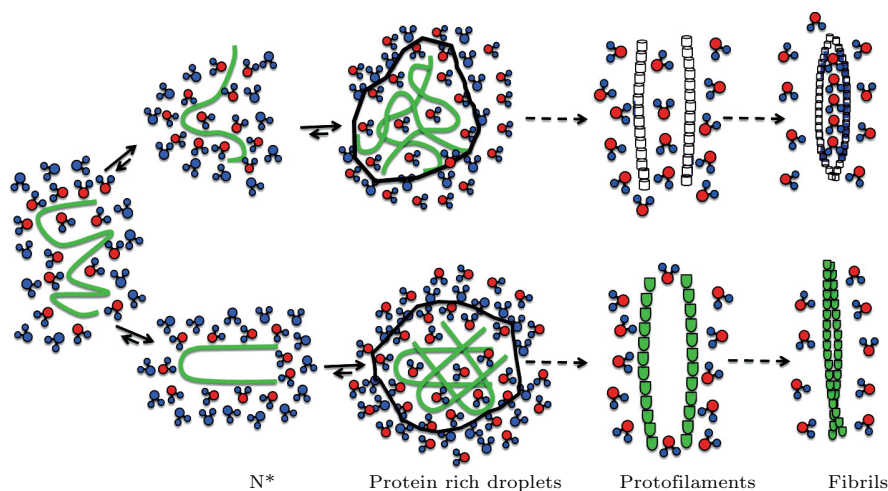


图4 蛋白质聚集形成多形态纤维机理示意图^[43] 左侧为溶剂化状态下的多肽; 水合层内水分子标记为红色, 体相水分子标记为蓝色; N* 为有聚合倾向的单体; Protein rich droplets, 富含蛋白的液滴; Protofilaments, 纤维原丝; Fibrils, 成熟纤维

Fig. 4. Schematic of protein aggregation mechanisms leading to polymorphic fibrils^[43]. On the left are solvated peptides. Water in the hydration layer is in red and the bulk water is in blue.

此外, 结合水也在蛋白质的错误折叠过程中起到很关键的作用^[42,43]. 水分子除了通过水合作用来保护无规则的多肽链和帮助其折叠外, 还能促进蛋白质的错误折叠, 从而产生各种疾病. 如图4所示, 在蛋白质聚集形成多形态纤维的过程中, 由于多肽内疏水残基之间的相互作用, 即使是孤立的单体样品也呈现出倾向于形成表面附着具有不同数目水分子的聚合构象 N*, 从而产生富含无规则蛋白质的液滴. 聚集过程的驱动力主要来自水分子从水合层向体相的释放. 这一释放过程对促进纤维的形成是熵有利的. 富含蛋白质的液滴进一步聚集成核, 形成原丝, 进而自组装形成各种成熟的、且禁锢有水分子的淀粉样纤维. 从这个角度来说, 水分子直接参与了蛋白质的错误折叠过程.

2.2 在质子给予和迁移中的作用

质子传输通道是生物结合水最常见的一种用途, 执行非常重要的生物功能. 例如, A 型流感病毒跨膜 M2 蛋白的作用主要是引导质子进入病毒内部, 酸化病毒内部环境, 从而使病毒释放遗传物质至宿主细胞, 指导宿主细胞中病毒的复制^[44,45]. 质子传输主要有两种机理: Grotthuss 跳跃机理和搬运机理^[46-48]. 跳跃机理能够在纯水中产生异常快速的质子传输速度^[46], 因而最常见. 传输过程中, 水分子的氢键链由支持质子迁入和穿过蛋白质的水线组成^[49]. 这种传输方式既能被动发生, 也能通过蛋白质运动来控制进行. 不过, 需要指出的是,

实际上质子的传递过程往往比 Grotthuss 机理复杂得多^[50]. 最近 Kaila 研究组在研究参与线粒体和细菌呼吸过程的生物能量转化酶复合体 I 的质子传输时发现^[51], 质子泵运依赖于烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(还原型辅酶 NADH)和醌类之间电子传递耦合的氧化还原反应来驱动, 在三个类反向转运蛋白亚基的水合作用协同下, 形成复合物膜结构域中的瞬态质子传输水通道. 由此可见, 水门控转变可能为生物能量转化酶中质子泵送提供一个通用的机理. Goyal 小组的研究则展示了水合作用如何调控和协助质子传递行为^[52]. 他们发现谷氨酸残基承担了临时质子供体的角色(图5), 其质子亲和力的强弱受到内部疏水腔中水合程度的调控. 相应地, 该水合作用又受到 10 Å 以外的血红素基团上取代基质子化程度的控制, 其质子化后可触发一段环结构的运动, 由此守卫着通道的入口. 最近, Bondar 等^[53]发现光系统 II (PSII) 亚基 P_{sbO} 蛋白表面附近有参与质子传递过程的低迁移率水分子, 并构成延伸水羧酸盐网络结构的一部分(图6). 其中一些水分子或许还会协助 P_{sbO} 锚定到 PSII 络合物中. 这种络合物本身就拥有一层能够容纳不少于 1300 个水分子的水合层^[54]. 这些水分子有可能为质子传递提供多条氢键通道以及作光解之用. 总的来说, 蛋白质精心编排水合层水分子, 并用以控制质子化反应, 是生物体中相当普遍的一种现象.

水分子除了提供质子和协助质子转移外, 水合氢离子还能促进酸离子通道多肽分子跨越细胞

膜^[55], 还能调控病毒蛋白质的通道结构^[56]. 最近我们研究生物膜上 A 型流感病毒跨膜 M2 蛋白 pH 响应时发现, 取决于不同的膜环境, M2 蛋白可以通过解螺旋结构或旋转自身的螺旋轴来实现质子通道的开放^[56].

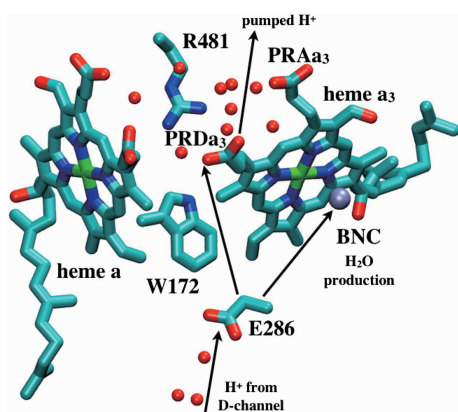


图 5 细胞色素 c 氧化酶疏水腔附近的关键残基和从谷氨酸残基出发和到达的质子通道示意图^[52] 其中, 谷氨酸残基 E286 被认为在质子运输过程中扮演着关键性的角色; BNC (binuclear center) 为双核金属活性中心, 由高自旋的亚铁血红素 a₃ 与铜金属催化中心 (CuB) 组成; PRDa₃ (propionate D of heme a₃) 为高自旋的亚铁血红素 a₃ 丙酸 PRAa₃; heme a 为低自旋的亚铁血红素 a; heme a₃ 为高自旋的亚铁血红素 a₃; R481 和 W172 分别为第 481 位的精氨酸和 172 位的色氨酸

Fig. 5. Illustration of key residues near the hydrophobic cavity in cytochrome c oxidase and general proton path ways to and from Glu286^[52]. BNC is the abbreviation of binuclear center which comprises heme a₃ and CuB.

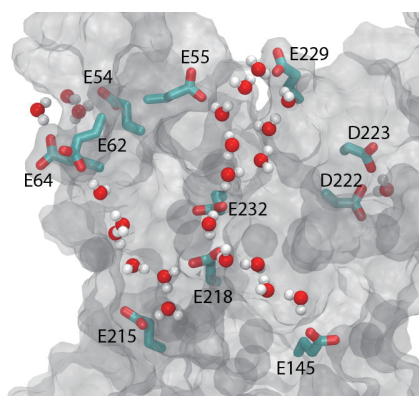


图 6 光系统 II 亚基 PsbO 蛋白表面上特定羧酸盐/水连接桥示意图^[53] E 和 D 分别代表谷氨酸和天冬氨酸

Fig. 6. Illustration of selected carboxylate/water bridges on the surface of PsbO^[53].

2.3 在配体结合和药物设计中的作用

结合水在生物分子识别中的结构参与, 使得其在药物设计中展现出非常大的潜在价值. 一般

情况下, 水分子网络会因配体结合而发生重排/取代作用. 配体与生物分子结合的效率受到水合作用动力学的影响, 遵循受体和配体结合的焓熵补偿机理 (enthalpy/entropy compensation)^[30]. 例如, Krimmer 等^[57] 研究蛋白质-配体复合物的水合特性时发现, 优化覆盖嗜热菌蛋白酶疏水抑制剂的水层, 可以提升焓对自由结合能的贡献. 太赫兹光谱研究结果也表明^[58], 膜型基质金属蛋白酶 (membrane type 1-matrix metalloproteinase, MT1-MMP) 在底物靠近活性位点时可建立一个动力学梯度, 形成“补水漏斗”, 从而通过降低结合过程所需的熵来引导分子进行识别. 这里, 太赫兹光谱测量的是溶剂运动涉及的水分子集体振动模式, 其测量的动力学可以延展到距离蛋白表面至少 10 Å 处的蛋白水合外层. 需要指出的是, 配体与生物分子结合过程比较复杂, 目前尚难完全从热力学角度进行精确分析. 但在实际应用上, 利用水介导的相互作用来进行合理的配体与药物设计已经成为可能. 例如, 前面提到的 A 型流感病毒跨膜 M2 蛋白构成的离子通道中, 一些亲水的氨基酸残基面向通道内部, 使得通道内部的亲水性增大, 稳定通道中的结合水. 这些水分子网络把控着质子传导的大门^[49,59,60]. 一旦药物与 M2 蛋白质通道特定定位点结合, 将阻碍质子的流动, 从而无法形成病毒复制所必需的酸性环境. 最近, Giant 等^[61] 研究了抑制性药物如何与质子通道进行靶向作用. 他们的研究表明已知的抑制剂可以与通道结合, 从而破坏用于质子传输的水分子簇. 通过计算 M2 处于不同位点的孔阻滞剂的热力学参数, 他们发现有效的配体支架可模仿水分子簇的轮廓, 并具有水簇与蛋白质之间的相互作用效果. 通过分析 2000 多种水合与非水合的配体受体复合物的晶体结构 (包括许多药物), García-Sosa^[62] 发现, 水分子的桥接是实现紧密结合的有效靶点. Neidle 等^[63] 也发现 DNA 双序列 d(CGCGAATTCGCG)₂ 小沟附近存在一个由 11 个水分子组成的水团簇, 该团簇帮助三种不同的小分子配体与 DNA 小沟结合.

2.4 在变构效应中的作用

水分子不仅有助于蛋白-蛋白、蛋白-配体作用的识别与锚定, 也在蛋白质变构效应中发挥关键作用. 变构效应是寡聚蛋白与配基结合改变蛋白质构象, 导致蛋白质生物活性改变的现象, 其在调节生

命活动中起很重要的作用^[64]. 例如, 不等壳毛蚶这种软体动物的血红蛋白亚基界面含有17个排列规整的水分子, 氧合作用时会失去6个规整排列的界面水分子. 这些水分子作为一种传输单元, 在协同氧气结合、促进亚基间变构通讯过程中扮演着重要角色. 水分子簇能够帮助蛋白稳定在低亲和力的状态, 而缺少两个来自该水簇的氢键的突变体则倾向于采取具有高亲和力的构象. 因此, 由于氧气与其中一个野生型亚基结合而导致界面水分子减少, 有助于其过渡到另一个亚基的高亲和力构象^[65]. 又例如, 在六聚体多畴结构的谷氨酸脱氢酶中, 疏水口袋的开关伴随着袋子的干湿变化, 而在亲水的缝

隙中, 水分子的结合与解离则伴随着其长度的变化^[66]. 这两种水合作用的变化耦合在一起, 为大规模的构象变化制造了一种“液压”机构. Buchli等^[67]探测到变构模型物质PDZ蛋白质水合作用过程中变构效应的时间依赖性. 通过在蛋白质的结合沟中引入偶氮苯光开关, 蛋白质能够通过光诱导异构化来控制构象变化, 如同配体结合方式一样打开该结合沟. 快速红外光谱显示, 偶氮苯异构转变后, 光开关附近的水密度会立即发生变化, 并且通过水网络缓慢传播100 ns左右, 直到到达蛋白质的另一侧(图7). 在这传播过程中可能会引起蛋白质构象的远距离变构传输.

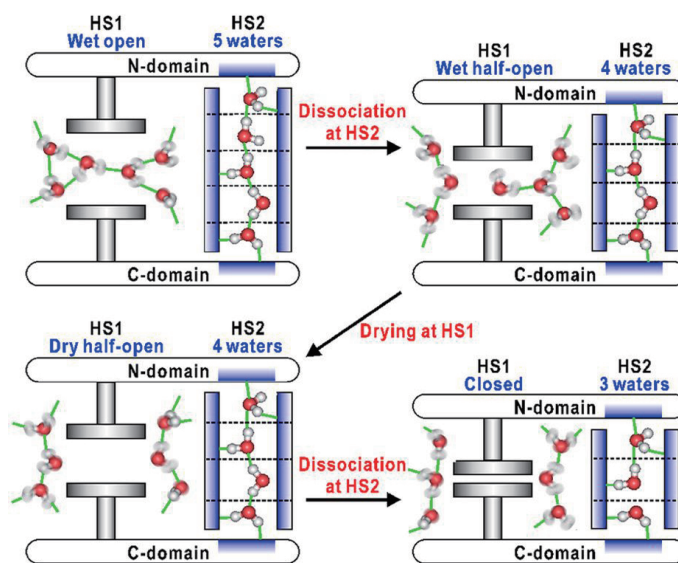


图7 水合作用调控谷氨酸脱氢酶(GDH)中结构域运动机理示意图. 疏水和亲水表面分别用灰色和蓝色标出^[66], 每一个GDH的亚基都包含有一个核苷酸结合域(N域)与一个核心区域(C域), 以便六聚结构的形成, 两个结构域间有一个大裂缝, 它可以当作与底物结合的活性位点.

Fig. 7. A schematic illustration explaining the mechanism of the hydration-regulated domain motion in glutamate dehydrogenase (GDH). The hydrophobic and hydrophilic surfaces are colored in grey and blue, respectively^[66]. Each subunit of GDH is composed of a nucleotide-binding domain (N-domain) and a core domain (C-domain) for hexamer formation. A large cleft between the two domains can work as an active site to which substrate binds.

2.5 其他影响

生物结合水可以通过多种方式来调节蛋白质的结构与功能. 除了上面提到的几种作用外, 结合水对生物结构与功能还有许多影响. 例如, 作为抗冻蛋白质结构的组成元素^[68]、参与生物酶催化^[69]、介导电子和离子转移过程^[70,71]、改变蛋白质环境和动力学过程等. 最近, 第一性原理模拟结果表明生物结合水可以在催化不同磷酸盐和硫酸盐基质水解中让碱性磷酸酶混杂. 水分子不同的

位置可导致碱性磷酸酶能够在同一活性位点支撑不同类型的过渡态^[72]. 另外, 嗜盐菌抽氯跨膜视网膜蛋白水合作用变化过程中, 随着氯离子的迁移, 发色团附近的水和离子发生细微的重排, 从而诱导发色团键长的变化, 并影响其吸收光谱^[73]. 此外, 生物分子水合程度也可对蛋白质分子局域能量传递速率产生影响. 我们利用飞秒抽运-探测技术研究了水合作用对血红蛋白分子的能量传递的过程, 发现能量传递速度在水合程度12.4%—16.5%和21.7%—23.5%处出现两个变化转折点^[74]. 第一

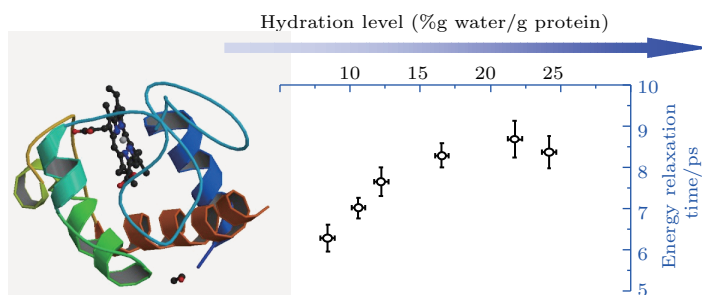


图8 水合程度对蛋白质分子能量传递速率的影响(400 nm 激发, 800 nm 探测)^[74]

Fig. 8. Hydration dependence of relaxation time probed at 800 nm after pumping solet band at 400 nm^[74].

个变化对应于蛋白质弹性增加的开始, 第二个变化对应于水合作用到达饱和水平. 在水合程度 $\leq 16.5\%$ 时, 随着水合程度的增加, 局域能量弛豫时间增加, 但当水合作用到达饱和水平时, 弛豫时间几乎保持不变, 并与溶液中的弛豫时间非常接近(图8).

3 生物结合水分子结构的研究

核磁共振、介电弛豫、中子散射、X射线和超快光谱等技术以及量子化学理论的迅速发展, 大大增强了人们研究水微观结构与性质的能力. 研究水分子结构的两种主要技术是X-射线衍射和中子散射实验. X-射线衍射是一种有效测定分子晶体结构的方法. 在早期的水科学研究中, 经常被用来获取水分子束缚结构的静态图像, 主要集中在研究水分子角度分布, 进而解释相邻水分子之间的关系. 例如, 1931年, Stewart等^[75]用X-射线衍射研究了水在2—98 °C的角强度的分布情况, 并提出解释模型. 随后, Katzoff等^[76]开始使用X-射线衍射方法定量分析和解释水分子, 提出水的四面体模型, 该模型认为液态水中的每个水分子以氢键的形式平均绑定4个其他水分子, 排列成正四面体结构, 并按此排列方式延展到整个液体中, 形成网络状结构^[77]. 但在2004年, Stanford大学的Nilsson研究组在《Science》上发表了一篇挑战“正四面体”水结构概念的文章^[78]. 他们用X射线吸收光谱技术研究液态水的氢键作用模式, 提出了氢键绑定的新模型: 在室温条件下, 液态水分子的两个OH基团形成不同的氢键结构, 80%水分子中一个OH基团形成强氢键, 另一个不形成氢键或仅形成弱氢键, 而剩余的20%的水分子则按四面体结构的方式形成

4个强氢键. 不过, 人们对“Nilsson”水结构概念质疑不断. 同年, UC Berkeley大学的Saykally研究组^[79]利用相同的实验方法研究液体水结构, 认为传统的四面体的排列方式仍是合理的. 此外, 基于第一性原理的理论计算结果也不支持Nilsson的水结构^[80]. 与Nilsson等把氢键分为强、弱两类处理方法不同, Tu和Fang^[81]将氢键按照从弱到强连续分布的粗粒化处理方式研究了液态水的结构. 他们的研究表明, 液态水中可能存在两种局域结构, 强弱氢键间的转换导致水局域结构之间的相互竞争, 从而引起水的异常行为. 目前, 除对水分子的平均氢键数目存在争论外, 有关水的整体结构也是热点争论. 例如, Huang等^[82]通过小角X射线散射实验认为水是由不同大小的团簇组成; 而Smith等^[83]通过自发拉曼光谱实验和理论计算认为水实际上是一个连续介质.

近年来, X-射线衍射和中子散射也被用于研究生物分子周围水分子的空间分布^[29,84]. X-射线衍射可以提供蛋白质或核酸相关原子在晶体中的平均位置信息, 从而可以实现生物分子结构分子模型的构建. 基于该技术获得的静态结构表明, 一个完整的溶剂化层包括非常有序的位点和弥散的、部分无序的溶剂化壳层^[85]. 在蛋白质中, 极化和带电荷的基团表面以及空腔内部观测到排列有序的水分子^[86]. 这些内部的水合位点经常保存于同一家族的蛋白质中^[87]. 在所有的表面水合位点中, 最稳定的是蛋白质和临近水分子的氢键结合体^[88]. 相比之下, 疏水和大分子无序结构区域往往观测到容易扩散的部分无序的溶剂结构存在. 与蛋白质相似, DNA水合位点可以形成依赖于DNA结构和碱基序列的网络结构^[89,90].

中子散射实验主要提供蛋白质中氢键的具体

性质, 包括氢键对酶功能的影响等信息^[91]. 早期的工作集中于水结构的研究, 如Bosio等^[92]使用中子散射实验研究了高密度无定型水的结构. 近年来, 由于中子散射技术的发展及其特殊的优点(对于较轻的元素有更精确的响应, 如氢、氮、氧等, 更适合研究生物水), 中子散射实验也被用来研究生物水的动力学性质. 如Smith等^[93]使用中子散射实验和分子动力学模拟方法研究了球蛋白动力学的三种运动方式, 即甲基基团的转动、附近区域扩散和无甲基的跳跃. 中子散射动力学实验显示水质子的均方位移时间发生在皮秒时间尺度^[94].

此外, 红外、拉曼光谱等分子光谱技术作为现代分析技术的重要手段, 其在标定物质结构中发挥着其他手段无法代替的作用, 可以提供分子环境和运动行为的直接信息. 人们采用红外光谱、拉曼光谱等技术来研究无定形固体水结构, 从多层次角度理解了无定形固体水结构, 获得了其不同相间的相图, 并在高密度无定形固态水与低密度无定形固态水转换过程中观测到液态水的存在^[95]. 最近, 非线性和频光谱也被用于研究界面水分子的静态结构^[96,97]. 早在20多年前, 沈元壤教授首先用他自己开创的和频振动光谱技术研究了表界面水分子结构^[98], 目前和频光谱技术已经发展成一种研究表面/界面水结构与动力学的强有力手段. 沈元壤教授在此基础上发展了相位敏感的和频光谱技术,

该技术可以给出水分子在界面上的取向信息, 随后沈元壤研究组、Allen研究组和Tahara研究组利用该技术成功测出表面水以及磷脂分子附近的水分子结构^[99-101]. 研究表明, 水分子的取向由表面磷脂分子头部基团的电荷决定. 带正电荷和负电荷的磷脂分子界面上水分子分别采取氢朝下(H-down)和氢朝上(H-up)结构(图9). 但两性离子的磷脂分子表面则存在三种水分子结构: 与带负电荷的磷酸基团结合的水分子氢键较强, 采取氢朝上结构; 与带正电荷的胆碱基团结合的水分子氢键弱一些, 采取氢朝下结构; 与磷脂疏水区域有弱作用的水分子基本上采取氢朝上结构(图10).

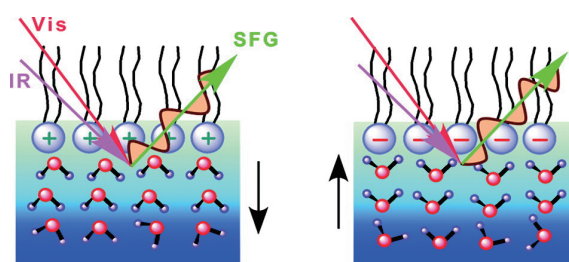


图9 带正电荷和负电荷的磷脂分子界面上水分子分别采取氢朝下(H-down)和氢朝上(H-up)结构^[100]

Fig. 9. At charged lipid/water interfaces, the orientation of interfacial water is governed by the net charge on the lipid headgroup; at an anionic lipid/water interface, water is in the hydrogen-up orientation, and at the cationic lipid/water interface, water is in the hydrogen-down orientation^[100].

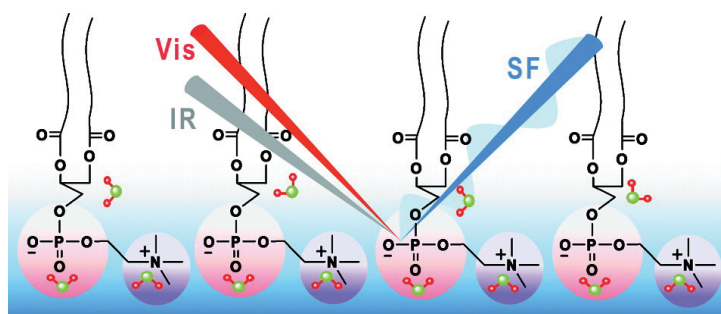


图10 两性离子的磷脂分子表面存在三种水分子结构^[101]

Fig. 10. Schematic representation of the three distinct waters at the zwitterionic lipid/water interface^[101].

4 生物结合水动力学研究

X-射线衍射和中子散射实验可以提供丰富的水结构信息, 但静态信息不足以描述生物与水分子行为. 许多生物过程涉及生物分子的电子和能

量传输和构象转变等复杂过程, 而这些过程通常在不同时间尺度内发生(图11)^[102]. 因此, 理解生物水本质的关键在于理解生物水的动力学状态及其对生物大分子活性的影响. 近年来, 人们利用各种方法研究了生物分子的水合动力学, 这些研究涉及的实验和理论方法多种多样, 包括中子

散射、介电弛豫、核磁共振、磁共振弥散、溶剂化动力学以及分子模拟^[28,30,103-106]等。每个方法均提供了不同的信息(图12)和重要的新见解。借助于这些技术,人们在不同时间和长度尺度上

对结合水的结构与动力学有了许多新的认识。比如,与纯水比较,结合水具有较高的局域密度^[22]、较低的结冰温度与极性^[21,23],以及较慢的动力学特性^[27]。

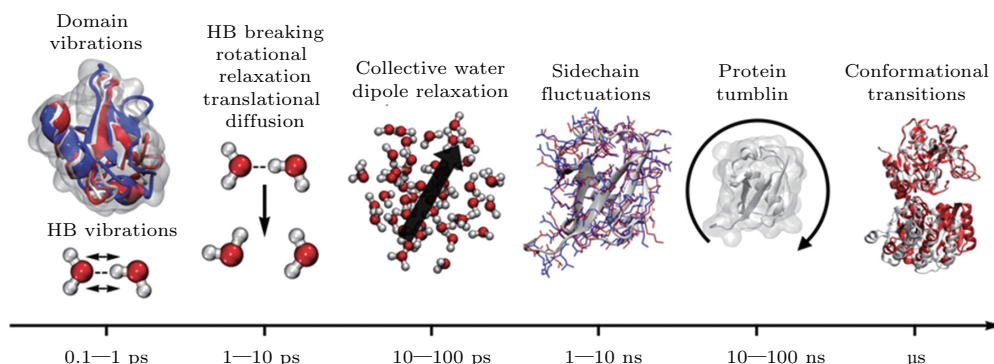


图11 蛋白质行为不同时间尺度层次示意图^[102] Domain vibrations, 域振动; HB vibrations, 氢键振动; HB breaking rotational relaxation translation diffusion, 氢键断裂-转动弛豫-平移扩散; collective water dipole relaxation, 集体水偶极弛豫; sidechain fluctuation, 侧链波动; protein tumbling, 蛋白质翻滚; conformational transitions, 构象转变
Fig. 11. The hierarchy of timescales for motion of proteins and their hydration environment^[102]. HB, hydrogen bond.

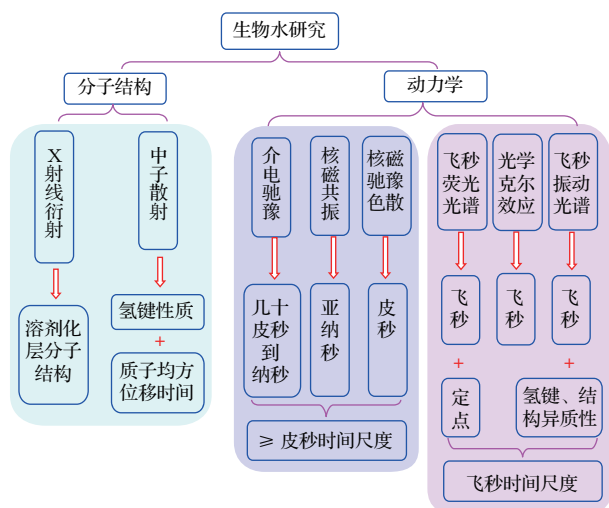


图12 生物水的主要研究技术
Fig. 12. The major techniques used for the study of biological water.

4.1 基于介电弛豫与核磁共振技术的动力学研究

Oncley等^[107,108]最早利用介电弛豫来测量蛋白质水系统的介电性能,并测出羧基血红蛋白分子旋转弛豫时间常数是84 ns。后来, Buchanan和 Haggis等^[109,110]在更高频率段进行测量,结果发现三分之一的水合球与水分子紧密结合,且

对介电色散没有贡献。Grant等^[111,112]则全面地表征了蛋白质结合水,指出与蛋白质结合的水展现出一系列弛豫时间常数,这些时间常数与蛋白质和大体积水的转动过程相关。随后, Schwan^[113], Takashima^[114]以及 Harvet和 Hoekstra等^[115]的研究成果也揭示了生物水明显的弛豫时间,并证实了Grant等的结论。Pethig等^[116]的研究进一步表明主要的水合层结合较紧密,微波介电质行为主要受热激活的第二层生物水影响。总体而言,介电弛豫研究观测到几十皮秒到纳秒时间尺度范围内的动力学行为^[117]。

核磁共振也是一种研究水分子动力学的有效方法,可以揭示停留时间在亚纳秒范围的水分子行为^[28]。例如,基于奥弗豪塞尔核效应(NOE)的NMR技术测出的蛋白质表面水的停留时间为亚纳秒(300—500 ps)^[118];利用水²H和¹⁷O核磁弛豫色散(NMRD)技术测出的表面水的弛豫时间,在1996年报道为10—50 ps^[119],而在2003年则变为3—7 ps^[120],利用NMRD¹H自旋点阵弛豫法测出的蛋白质表面水的平动时间为30—40 ps^[121]。表1给出了介电弛豫(DR)和NMR观测到生物水不同的弛豫时间。

表1 介电弛豫和核磁共振观测到生物水不同的弛豫时间 [24]

Table 1. Different relaxation time of biological water observed by dielectric relaxation (DR) and NMR.

生物分子	肌红蛋白溶液	溶菌酶粉末	脱铁转铁蛋白溶液	正铁肌红蛋白粉末	DNA 溶液	溶菌酶粉末	花菜蛋白粉末
方法	DR	DR	NMR	DR	DR	NMR	NMR
弛豫时间	~ 10 ns, ~ 40 ps	~ 1 μs, ~ 40 ps	~ 15 ns	~ 10 ns	~ 1 μs, ~ 10 ps	~ 1 μs, ~ 100 ps	~ 320 ps

4.2 基于荧光光谱技术的动力学属性研究

综上所述,介电弛豫和核磁共振等方法的研究结果存在明显的分歧和争议 [17,122],特别是关于水分子溶剂化层内的动力学以及动力学属性的细节方面.这些分歧和争议的根源在于所使用研究方法的时间分辨率的限制,例如核磁共振研究揭示的是停留时间在亚纳秒范围的水分子的行为 [28],介电弛豫研究则给出几十到几百皮秒的时间尺度 [117].因为时间分辨率的限制,这些方法无法获得飞秒和更长时间内的超快弛豫时间,以及真实的动力学时间响应.此外,这些技术报道的弛豫时间代表的是生物分子表面的平均行为,而不是特定位点的行为,因而不能反映出生物分子表面的非均质化学特性 [28].因此,要阐明生物水的本质,关键在于对生物分子表面水分子的动力学行为进行空间(分子)与时间分辨率级别(特别是从飞秒到皮秒尺度内的水分子动力学)上的认知.这需要发展能在分子水平和飞秒时间分辨尺度上的新技术.

飞秒光谱的发展,为生物水的研究打开了一个全新的窗口.加州理工大学 Zewail 教授和俄亥俄州立大学仲冬平教授研究组应用飞秒荧光光谱技术 [2,8,9,20,25,28,123-125],在该方面开展了大量的工作,并取得了突破性进展.例如, Zewail 等 [25] 利用定点诱导色氨酸的飞秒时间分辨荧光技术研究了枯草杆菌嘉士柏酶蛋白水合动力学,观察到了两个独立的动力学溶剂化时间 0.8 ps 和 38 ps,在体相水中,则观察到 180 fs 和 1.1 ps.他们还研究了距离约 7 Å 的共价键探针处的溶剂化过程,该过程在 1.5 ps 内完成,38 ps 成分几乎消失.随后,仲冬平研究组利用类似技术研究了蛋白质在原生和熔融球形状态下的周围水合动力学 [123-125],发现蛋白质水合层上存在几皮秒(1-8 ps)和几十到几百皮秒(20-200 ps)两种很大差异的水动力学,分别代表最初的局部弛豫和随后的集体网络重构(图 13).他们的研究还表明,这两个时间尺度与蛋白质的结

构和化学性质密切相关.这些结果均表明蛋白质结合水动力学过程存在两种轨迹.

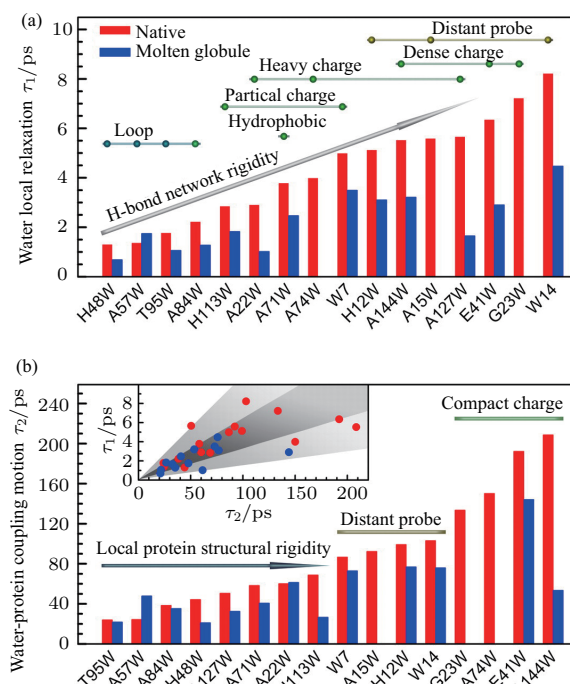


图 13 以各突变体原生状态下的时间尺度为顺序绘制出的水合动力学曲线 τ_1 (a) 及 τ_2 (b) (a) 在柱形条之上的小圆圈代表的是原生状态下的突变体,根据它们的探针位置(黄色),局部电荷分布(绿色)以及局部二级结构(蓝色)进行了分类;(b) 原生状态下的突变体被致密电荷面和远距离探针简单地分为两栏,箭头所指的方向代表着结构刚度的增加,其着色与图(a)中的小圆圈一致,(b)图中的插图也同样展现出这两个水合动力学之间的关联性 [124];弛豫时间 τ_1 超快动力学过程源于局部水分子的基本运动(主要包括平动及受阻转动),而 τ_2 水合动力学过程则是经历了最初快弛豫过程后随之而来的水分子网络重构过程 Fig. 13. The hydration dynamics, τ_1 (a) and τ_2 (b), of all mutants plotted according to the order of their time scales in the native state. (a) The beads above the bars represent the native-state mutants and are classified according to their probe positions (yellow), local charge distributions (green), and local secondary structures (blue). (b) The native-state mutants are simply grouped by two bars, dense charge surfaces and distant probe, and an arrow with the increased structural rigidity, colored with the same code for the beads in (a). (b) Inset also shows the correlation of two hydration dynamics [124].

4.3 生物分子与水分子之间动力学耦合作用研究

生物分子要维护其功能的正常运转, 必须处于水溶液环境之中. 生物分子构象的变化通常与其功能息息相关, 其过程会受到溶剂化层周围水分子的影响. 然而这种影响是双向的. 水分子绕着生物分子复杂表面“航行”时, 其运动亦受到限制. 事实

上, 分子动力学模拟在理论上已经预言了蛋白质和DNA等生物分子与其结合水之间耦合作用的存在和重要性, 并提出了该作用的理论模型. 例如, Frauenfelder等^[126]基于肌红蛋白配体相互作用的超低温研究, 提出了水驱动蛋白质涨落的从属模型. 然而, 目前如何理顺并区分生物分子与结合水两者的动力学, 并在实验上直接观测这种耦合作用还非常困难^[127,128]. 结合水动力学对蛋白质等生物

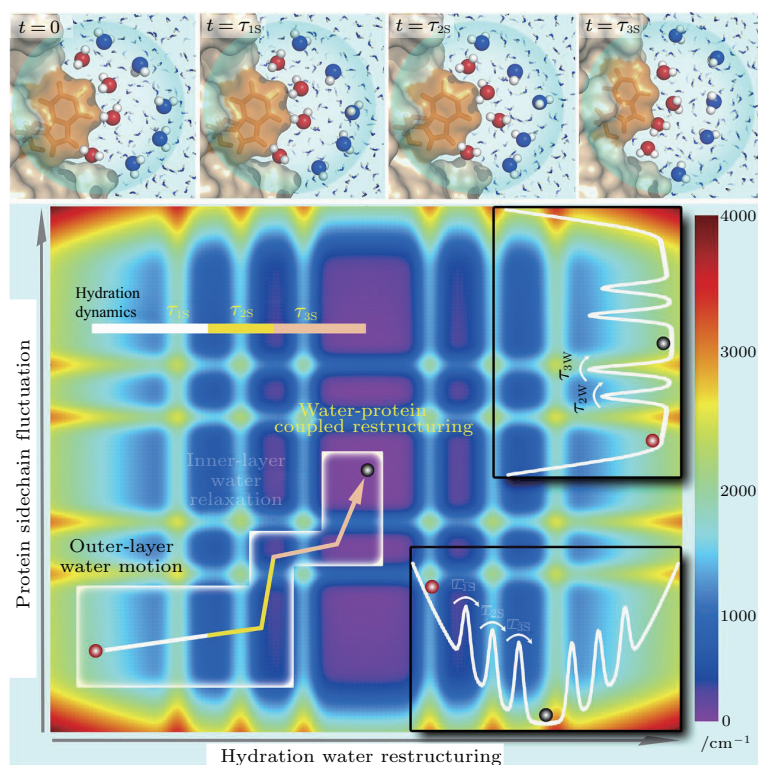


图 14 耦合的水-侧链在势能阱中的弛豫 上面 4 张图展示的是通过分子动力学模拟获得的几种典型的内层(红色)与外层(蓝色)水分子的快照, 其弛豫运动与观察到的溶剂化动力学相对应; 在 τ_{1S} (20 fs) 时, 仅有外层水分子发生局部弛豫; 在 τ_{2S} (130 fs) 时, 所有水分子都在进行明显的旋转运动, 但所有水分子都停留在各自的局部区域内, 蛋白质并没有发生显著的位移; 在 τ_{3S} (50 ps) 时, 所有水分子都参与显著的重排, 并与体相水进行交换; 与此同时, 蛋白质的表面拓扑也发生改变; 需要注意的是, τ_{1S} 与 τ_{2S} 的模拟值要比实验值小得多; 下图展示的是具有构象底物的处于势能阱中的水合水与耦合色氨酸侧链的三个弛豫过程, 白框里的箭头所指的束缚弛豫路径在开始没有与蛋白运动发生耦合, 展现出超快的外层弛豫 (τ_{1S}), 接着经历了两个受水驱动的水-侧链弛豫 (τ_{2S} 和 τ_{3S}), 后两个弛豫过程只通过能阱的一小部分区域; 插图表示用于构建能量图景轮廓的两条水合水与蛋白质侧链的势能曲线^[127]

Fig. 14. Coupled water/side-chain relaxations in a potential energy basin. (Upper) Four panels show the snapshots of MD simulations following several typical inner-layer (red) and outer-layer (blue) water molecules with the relaxation motion corresponding to the observed solvation dynamics. At time τ_{1S} (20 fs), only the outer-layer water molecules locally relax. At time τ_{2S} (130 fs), all water molecules proceed to significant rotational motion. However, all water molecules remain in the local positions, and the protein does not move significantly. At time τ_{3S} (50 ps), all water molecules have made significant rearrangements and also exchanged with bulk water. Meanwhile, the protein surface topology was also altered. Note that the simulated τ_{1S} and τ_{2S} times are significantly shorter than those observed in our experiments. (Lower) Shown are three relaxation processes of hydration water and coupled tryptophan side chain in a potential energy basin with conformational substrates. The arrow in the white box indicates the constrained relaxation pathway with the initial outer-layer ultrafast relaxation (τ_{1S}), which is not coupled to the protein motion, and two water-driven water/side-chain relaxations (τ_{2S} and τ_{3S}), which access only a limited region in the energy basin. (Insets) Two potential energy curves of hydration water and protein side chains used in construction of the contour energy landscape^[127].

分子结构涨落的最终影响基本上没有被挖掘出来。这主要是由于生理温度下结合水和生物分子运动的超快特性,特别是界面上结合水与蛋白质相互作用的超快集体弛豫均发生在皮秒时间尺度^[129]。特别值得一提的是,仲冬平研究组利用色氨酸扫描飞秒荧光光谱技术在该科学问题上做了许多卓越的工作。他们在系统研究蛋白质和DNA等生物分子结合水动力学基础上^[28,123-125],2016年以来开始研究结合水动力学与蛋白质侧链运动的耦合关系^[127-130]。通过测量葡萄球菌核酸酶等蛋白质结合水动力学和蛋白质侧链运动的温度依赖性,他们确定出三种结合水弛豫和两种蛋白质侧链运动。其中有两种水动力学与蛋白质侧链运动存在强耦合作用,分别是几个皮秒的集合水与蛋白质侧链再取向作用,和几十个皮秒的合作水与侧链再构作用。这两种作用的时间尺度与蛋白质结构和化学性质密切相关。他们还发现蛋白质侧链弛豫总是比结合水动力学慢,并有相同的能垒,表明两种弛豫的来源相同,水合层表面的涨落驱动蛋白质侧链在皮秒时间尺度内的运动(图14)^[127],从而在水与蛋白质耦合运动这个多年难题上取得了突破性进展。

4.4 基于飞秒非线性振动光谱的结构与动力学研究

红外、拉曼等分子振动光谱是一种直接探测分子基团振动的非介入性分析技术,可提供分子环境和运动行为的直接信息^[16,131]。因为水及其周围分子的振动光谱峰位置、宽度、强度、谱形及偏振特性等随分子间相互作用的不同而改变,因而其能洞悉分子局部相互作用和微观动力学,以及俘获氢键的局部激发状态。分子振动光谱技术已经发展成为研究氢键的重要工具。近年来,在红外、拉曼等线性光谱基础上发展的多维振动超快非线性光谱技术,因其不仅能对非均相环境中的分子提供选择性的光谱探测,而且还能提供飞秒时间尺度上的复杂凝聚相分子结构与动力学方面的详细信息^[132],成为研究水氢键网络结构及其超快动力学强有力的新手段^[133],备受重视。例如,Tokmakoff研究组^[134]利用二维红外光谱技术,通过研究水分子超快动力学过程的频率依赖特性,获得了与局域分子运动和分子重排相关的时间尺度分布信息。他们还采用三脉冲振动回波和偏振选择的抽运-探测技术,考察了体相水(HOD/D₂O)超快分子间动力学对O—H振

动的影 响,获取了与振动弛豫、振动消相干、分子再取向等动力学过程相关的特征时间:在短时间尺度上,振动弛豫表现为约180 fs的欠阻尼氢键振荡,而观测到的长时间尺度行为则表明,氢键网络的集合结构重排时间约为1.4 ps;各向异性随时间的衰变测量给出了50 fs和3 ps两个时间参数,他们将其分别归于低频摆动和转动弥散^[134]。利用相似的方法,Pshenichnikov研究组研究了四甲基尿素分子疏水基周围水分子O—H伸缩振动的氢键强弱的变化,获得了疏水溶质如何影响氢键网络结构与动力学的详细信息^[135]。Bagchi研究组采用二维红外研究了不同水溶液体系中的异质性。他们发现异质性是通过水动力学的显著改变体现出来的。在反胶束溶液中,研究发现增加体系的尺寸,不同层水分子的动力学行为改变很大。超临界水热力学诱导的异质性也能在二维红外频谱扩散响应中得以体现^[136]。Kubarych研究组利用二维红外光谱成功研究了蛋白质水合层与溶剂之间的耦合情况,发现水合层水分子与蛋白质耦合很强,但与溶剂耦合很弱^[137]。

值得一提的是,最近发展起来的振动态选择激发-和频光谱探测的飞秒时间分辨测量技术能有效提供界面水分子的超快动力学以及界面水非均相化学特性等重要信息^[138,139],为全面理解界面水的本质提供了新的条件。近两三年来,这些超快非线性振动光谱技术已经开始应用到生物膜表面等生物水动力学的研究中^[140-143],并取得了一些很好的进展。例如,Bonn研究组采用表面特异性二维和频光谱研究界面水结构,他们观察到水在水/空气界面与水/磷脂界面处的结构差异很大^[144];此外,他们采用和频光谱手段结合从头算分子动力学模拟研究了水与中性的PC磷脂分子界面、水与胺氮-氧化物表面活性剂单层水的结构和取向,结果发现因为水分子可以从体相到羰基基团形成连续的氢键网络^[145]。他们最近还研究了抗冻蛋白的水分子结构,发现水/细菌接触界面的氢键增强了邻近水网络结构的取向,丁香甲单孢菌的结冰活性位点通过独特的亲-疏水模式来增强冰成核^[143]。根据稳态和时间分辨的二维和频光谱研究结果,Bonn研究组提出了十二烷基硫酸钠表面活性剂和水之间、以及界面水分子之间的微观模型,即接近表面活性剂头部的水有独立的O—H键(局域化的O—H伸缩振动),而除此之外的都是非局域化的O—H伸缩

振动(共同的氢键). 且这两种情况是耦合的, 在它们之间存在亚皮秒级的能量转移, 这与空气/水界面的O—H键很不同. 他们的结果还表明, 与表面活性剂头部作用的水分子的氢键性质和那些与其他水分子作用的氢键性质不同^[146]. 最近我们成功利用具有特定能量的飞秒红外脉冲选择激发生物膜上蛋白质的N—H基团, 然后用飞秒和频光谱监控N—H基团和酰胺键C=O瞬态结构变化, 发现氢键强弱直接影响到N—H到C=O的振动能量传递的途径与速率^[147,148]. 因为该技术可直接探测水层界面的生物分子和结合水的振动, 提供界面生物分子和水分子的超快动力学等重要信息, 但不改变水合层分子结构, 因而有望发展成为阐明生物分子与其结合水之间耦合终极关系的强有力非介入性新技术.

4.5 蛋白质表面结合水次扩散运动研究

水分子在生物分子表面的扩散运动不仅有助于功能所需基本成分的运输, 而且为生物大分子提供实现其生理功能很关键的内在灵活性. 最近上海交通大学洪亮研究组结合中子散射和分子动力学(MD)模拟技术, 研究不同蛋白质表面结合水分数阶的次扩散运动^[149], 勾勒出表面水分子跳跃情形的清晰图像^[150], 为阐明蛋白质周围表面水分子的反常动力学行为提供了有力证据. 与体相水比较, 实验和理论研究结果均表明DNA和蛋白质表面的水合层上的水分子的扩散运动要滞后, 表现出异常的次扩散行为^[151,152]. 这种次扩散运动可以用原子均方位移时间的分数幂来描述((1)式). 目前对于结合水的次扩散机理存在两个貌似合理的物理图像^[153–155]: 一个是空间无序模型, 即生物大分子粗糙表面形成的分形渗透网状结构阻碍了水分子的扩散; 另一个是时间无序模型, 即水分子在生物大分子表面陷阱之间跳跃, 分子在下次跳跃之前需要在陷阱里停留, 停留时间服从较宽的幂律分布. 通过中子散射实验, 他们测量出水分子沿着细胞色素P450与绿色荧光蛋白两种不同蛋白质表面走过特定距离所花费的时间^[149]. 结果表明, 在约10—100 ps时间窗口内的结合水表现出次扩散行为, 他们测出的反常扩散指数 β 的值约为0.8. 此外, 他们通过分子动力学模拟发现在更宽的时间尺度范围内(10—10³ ps)还观察到这种次扩散行为. 不过, 进行长时间模拟时水的运动变得越来越扩

散, 约10⁵ ps时扩散指数 β 值接近于1, 也即由次扩散行为转变到扩散行为. 为解释实验与模拟中观察到的异常动力学行为, 他们提出了一个水分子在蛋白质表面小笼子(或是俘获位点)间跳跃的模型. 在该模型中, 他们假设一次一个陷阱只能容纳一个分子. 随着时间的流逝, 深的陷阱被填满了, 从而迫使水分子主要在浅陷阱间进行跳跃. 也就是说, 在较长时间尺度内, 处于蛋白质环境中的水可以分为两类: 一类是滞留在深陷阱内的无法动弹的分子, 另一类是在浅陷阱间跳跃着的移动分子. 通过分析蛋白质表面每个水分子的分子动力学轨迹, 他们确认了俘获事件的存在, 并表明连续跳跃前后两步之间没有关联; 换言之, 一个水分子上一次跳跃的距离与方向并不会对下一步跳跃造成任何影响. 这一结论与空间无序模型不符. 同时他们还发现分子在下次跳跃之前需要在陷阱里停留的时间具有较宽的幂律分布, 其中大多陷阱等待时间短, 非常少量的陷阱等待时间长. 这种“无标度”的等待时间分布与连续时间随机游走模型相符合. 他们的结果还表明, 多体体积的排斥效应使水分子在浅的囚禁位点上优先跳跃, 从而有效加速扩散. 水分子更大的流动性最终可以传递到周围蛋白质分子, 以获得蛋白质功能所需的灵活性, 从而解释了为什么酶需要一定的水合作用(约20%的重量)才能表现出明显的非谐性动力学和生物活性.

$$\langle X^2(\Delta t) \rangle \sim t^\beta, \quad \beta < 1. \quad (1)$$

5 结论与展望

生物结合水在维护生物大分子的结构、稳定性以及调控动力学性质和生理功能等方面起着决定性的作用. 本文介绍了当前生物结合水相关的三个方面的研究进展: 1) 结合水对生物结构和功能的影响; 2) 生物分子周围的水分子结构; 3) 生物分子水合动力学. 整体而言, 要阐明生物水的本质, 关键在于对生物分子表面水分子动力学行为进行空间(分子)与时间分辨率级别(特别是从飞秒到皮秒尺度内的水分子动力学)上的认知. 不过, 目前在飞秒时间尺度内的生物水研究尚处于起步阶段, 尚有许多问题有待进一步解决. 例如: 蛋白质与其环境受碰撞的影响有多大? 与蛋白质表面相关的水有几层? 当某个水分子被踢出表面层时它的替换过程是怎样的? 界面、界面几何形状、界面电荷、离子、生物

分子如何影响生物水的结构与动力学行为? 水分子的异质性和排列规整度如何影响生物分子功能? 生物分子表面是否存在“刚性”结构的水? 氢键在水中重排的机理是什么? 水分子在蛋白质、细胞和组织等大分子周围的效应与在小分子周围的效应有何不同, 是否为小分子周围效应的简单加和? 生物分子与其结合水是如何发生耦合作用的?

参考文献

- [1] Kropman M F, Bakker H J 2001 *Science* **291** 2118
- [2] Pal S K, Zewail A H 2004 *Chem. Rev.* **104** 2099
- [3] Peon J, Pal S K, Zewail A H 2002 *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **99** 10964
- [4] Bagchi B 2005 *Chem. Rev.* **105** 3197
- [5] Watson J D, Crick F H C 1953 *Nature* **171** 737
- [6] Ferrand M, Dianoux A J, Petry W, Zaccai G 1993 *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **90** 9668
- [7] Rupley J A, Careri G 1991 *Adv. Protein Chem.* **41** 37
- [8] Kamal J K A, Zhao L, Zewail A H 2004 *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **101** 13411
- [9] Pal S K, Peon J, Zewail A H 2002 *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **99** 15297
- [10] Chaplin M 2006 *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **7** 861
- [11] Bellissent-Funel M C, Hassanali A, Havenith M, Henchman R, Pohl P, Sterpone F, van der Spoel D, Xu Y, Garcia A E 2016 *Chem. Rev.* **116** 7673
- [12] Nihonyanagi S, Yamaguchi S, Tahara T 2010 *J. Am. Chem. Soc.* **132** 6867
- [13] Zhao W, Moilanen D E, Fenn E E, Fayer M D 2008 *J. Am. Chem. Soc.* **130** 13927
- [14] Auer B, Kumar R, Schmidt J R, Skinner J L 2007 *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **104** 14215
- [15] Laage D, Hynes J T 2006 *Science* **311** 832
- [16] Fecko C J, Eaves J D, Loparo J J, Tokmakoff A, Geissler P L 2003 *Science* **301** 1698
- [17] Mazur K, Heisler I A, Meech S R 2010 *J. Phys. Chem. B* **114** 10684
- [18] Nibbering E T J, Elsaesser T 2004 *Chem. Rev.* **104** 1887
- [19] Raschke T M 2006 *Curr. Opin. Struct. Biol.* **16** 152
- [20] Bhattacharyya S M, Wang Z G, Zewail A H 2003 *J. Phys. Chem. B* **107** 13218
- [21] Bhattacharyya K 2008 *Chem. Commun.* **0** 2848
- [22] Levitt M, Sharon R 1988 *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **85** 7557
- [23] Uda Y, Zepeda S, Kaneko F, Matsuura Y, Furukawa Y 2007 *J. Phys. Chem. B* **111** 14355
- [24] Nandi N, Bagchi B 1997 *J. Phys. Chem. B* **101** 10954
- [25] Pal S K, Peon J, Zewail A H 2002 *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **99** 1763
- [26] Fenimore P W, Frauenfelder H, McMahon B H, Young R D 2004 *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **101** 14408
- [27] Jana B, Pal S, Bagchi B 2012 *J. Chem. Sci.* **124** 317
- [28] Zhong D P, Pal S K, Zewail A H 2011 *Chem. Phys. Lett.* **503** 1
- [29] Biedermannová L, Schneider B 2016 *Biochim. Biophys. Acta* **1860** 1821
- [30] Ball P 2008 *Chem. Rev.* **108** 74
- [31] Guo P, Tu Y S, Fang H P 2016 *Sci. Sin.: Phys. Mech. Astron.* **46** 057009 (in Chinese) [郭盼, 涂育松, 方海平 2016 中国科学: 物理学 力学 天文学 46 057009]
- [32] Laage D, Elsaesser T, Hynes J T 2017 *Chem. Rev.* **117** 10694
- [33] Laage D, Elsaesser T, Hynes J T 2017 *Struct. Dyn.* **4** 044018
- [34] Ball P 2017 *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **114** 13327
- [35] Ball P 2008 *ChemPhysChem* **9** 2677
- [36] Davis C M, Gruebele M, Sukenik S 2018 *Curr. Opin. Struct. Biol.* **48** 23
- [37] Cheung M S, García A E, Onuchic J N 2002 *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **99** 685
- [38] Vajda T, Perczel A 2014 *J. Pept. Sci.* **20** 747
- [39] Dill K A, MacCallum J L 2012 *Science* **338** 1042
- [40] Zwanzig R, Szabó A, Bagchi B 1992 *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **89** 20
- [41] Levy Y, Onuchic J N 2006 *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* **35** 389
- [42] Chong S H, Ham S 2015 *Acc. Chem. Res.* **48** 956
- [43] Thirumalai D, Reddy G, Straub J E 2012 *Acc. Chem. Res.* **45** 83
- [44] Hu F H, Luo W B, Hong M 2010 *Science* **330** 505
- [45] Hu F H, Schmidt-Rohr K, Hong M 2012 *J. Am. Chem. Soc.* **134** 3703
- [46] Agmon N 1995 *Chem. Phys. Lett.* **244** 456
- [47] Pinto L H, Dieckmann G R, Gandhi C S, Papworth C G, Braman J, Shaughnessy M A, Lear J D, Lamb R A, DeGrado W F 1997 *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **94** 11301
- [48] Mould J A, Li H C, Dudlak C S, Lear J D, Pecosk A, Lamb R A, Pinto L H 2000 *J. Biol. Chem.* **275** 8592
- [49] Swanson J M J, Maupin C M, Chen H, Petersen M K, Xu J C, Wu Y J, Voth G A 2007 *J. Phys. Chem. B* **111** 4300
- [50] Hassanali A, Giberti F, Cuny J, Kühne T D, Parrinello M 2013 *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **110** 13723
- [51] Kaila V R I, Wikström M, Hummer G 2014 *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **111** 6988
- [52] Goyal P, Lu J X, Yang S, Gunner M R, Cui Q 2013 *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **110** 18886
- [53] Lorch S, Capponi S, Pieront F, Bondar A N 2015 *J. Phys. Chem. B* **119** 12172
- [54] Umena Y, Kawakami K, Shen J R, Kamiya N 2011 *Nature* **473** 55
- [55] Hu X, Tan J J, Ye S J 2017 *J. Phys. Chem. C* **121** 15181
- [56] Liu Y, Tan J J, Zhang J H, Li C Z, Luo Y, Ye S J 2018 *Chem. Commun.* **54** 5903
- [57] Krimmer S G, Cramer J, Betz M, Fridh V, Karlsson R, Heine A, Klebe G 2016 *J. Med. Chem.* **59** 10530
- [58] Grossman M, Born B, Heyden M, Tworowski D, Fields G B, Sagi I, Havenith M 2011 *Nat. Struct. Mol. Biol.* **18** 1102

- [59] Ma C L, Polishchuk A L, Ohigashi Y, Stouffer A L, Schön A, Magavern E, Jing X H, Lear J D, Freire E, Lamb R A, DeGrado W F, Pinto L H 2009 *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **106** 12283
- [60] Wu Y J, Voth G A 2005 *Biophys. J.* **89** 2402
- [61] Gianti E, Carnevale V, DeGrado W F, Klein M L, Fiorin G 2015 *J. Phys. Chem. B* **119** 1173
- [62] García-Sosa A T 2013 *J. Chem. Inf. Model* **53** 1388
- [63] Wei D G, Wilson W D, Neidle S 2013 *J. Am. Chem. Soc.* **135** 1369
- [64] Sadovsky E, Yifrach O 2007 *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **104** 19813
- [65] Gnanasekaran R, Xu Y, Leitner D M 2010 *J. Phys. Chem. B* **114** 16989
- [66] Oroguchi T, Nakasako M 2016 *Sci. Rep.* **6** 26302
- [67] Buchli B, Waldauer S A, Walser R, Donten M L, Pfister R, Blöchliger N, Steiner S, Cafilisch A, Zerbe O, Hamm P 2013 *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **110** 11725
- [68] Sun T J, Lin F H, Campbell R L, Allingham J S, Davies P L 2014 *Science* **343** 795
- [69] Lai W Z, Chen H, Matsui T, Omori K, Unno M, Ikeda-Saito M, Shaik S 2010 *J. Am. Chem. Soc.* **132** 12960
- [70] Wang Y, Hirao H, Chen H, Onaka H, Nagano S, Shaik S 2008 *J. Am. Chem. Soc.* **130** 7170
- [71] Weingarh M, van der Crujisen E A W, Ostmeyer J, Lievestro S, Roux B, Baldus M 2014 *J. Am. Chem. Soc.* **136** 2000
- [72] Hou G H, Cui Q 2013 *J. Am. Chem. Soc.* **135** 10457
- [73] Pal R, Sekharan S, Batista V S 2013 *J. Am. Chem. Soc.* **135** 9624
- [74] Ye S J, Markelz A 2010 *J. Phys. Chem. B* **114** 15151
- [75] Stewart G W 1931 *Phys. Rev.* **37** 9
- [76] Katzoff S 1934 *J. Chem. Phys.* **2** 841
- [77] Eisenberg D, Kauzmann W 2005 *The Structure and Properties of Water* (New York: Oxford University Press) pp254–265
- [78] Wernet P, Nordlund D, Bergmann U, Cavalleri M, Odelius M, Ogasawara H, Naslund L Å, Hirsch T K, Ojamäe L, Glatzel P, Pettersson L G M, Nilsson A 2004 *Science* **304** 995
- [79] Smith J D, Cappa C D, Wilson K R, Messer B M, Cohen R C, Saykally R J 2004 *Science* **306** 851
- [80] Bukowski R, Szalewicz K, Groenenboom G C, van der Avoird A 2007 *Science* **315** 1249
- [81] Tu Y S, Fang H P 2009 *Phys. Rev. E* **79** 016707
- [82] Huang C, Wikfeldt K T, Tokushima T, Nordlund D, Harada Y, Bergmann U, Niebuhr M, Weiss T M, Horikawa Y, Leetmaa M, Ljungberg M P, Takahashi O, Lenz A, Ojamäe L, Lyubartsev A P, Shin S, Pettersson L G M, Nilsson A 2009 *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **106** 15214
- [83] Smith J D, Cappa C D, Wilson K R, Cohen R C, Geissler P L, Saykally R J 2005 *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **102** 14171
- [84] Nakasako M 2004 *Philos. Trans. R. Soc. Lond. Ser. B: Biol. Sci.* **359** 1191
- [85] Burling F T, Weis W I, Flaherty K M, Brünger A T 1996 *Science* **271** 72
- [86] Teeter M M 1984 *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **81** 6014
- [87] Sanschagrin P C, Kuhn L A 1998 *Protein Sci.* **7** 2054
- [88] Kysilka J, Vondrášek J 2013 *J. Mol. Recognit.* **26** 479
- [89] Schneider B, Berman H M 1995 *Biophys. J.* **69** 2661
- [90] Schneider B, Patel K, Berman H M 1998 *Biophys. J.* **75** 2422
- [91] Niimura N, Podjarny A 2011 *Neutron Protein Crystallography: Hydrogen, Protons, and Hydration in Bio-Macromolecules* (Vol. 25) (Oxford: Oxford University Press) pp124–189
- [92] Bellissent-Funel M C, Teixeira J, Bosio L 1987 *J. Chem. Phys.* **87** 2231
- [93] Hong L, Smolin N, Lindner B, Sokolov A P, Smith J C 2011 *Phys. Rev. Lett.* **107** 148102
- [94] Settles M, Doster W 1996 *Faraday Discuss.* **103** 269
- [95] Angell C A 2004 *Annu. Rev. Phys. Chem.* **55** 559
- [96] Du Q, Freysz E, Shen Y R 1994 *Phys. Rev. Lett.* **72** 238
- [97] Shen Y R, Ostroverkhov V 2006 *Chem. Rev.* **106** 1140
- [98] Du Q, Superfine R, Freysz E, Shen Y R 1993 *Phys. Rev. Lett.* **70** 2313
- [99] Chen X K, Hua W, Huang Z S, Allen H C 2010 *J. Am. Chem. Soc.* **132** 11336
- [100] Mondal J A, Nihonyanagi S, Yamaguchi S, Tahara T 2010 *J. Am. Chem. Soc.* **132** 10656
- [101] Mondal J A, Nihonyanagi S, Yamaguchi S, Tahara T 2012 *J. Am. Chem. Soc.* **134** 7842
- [102] Xu Y, Havenith M 2015 *J. Chem. Phys.* **143** 170901
- [103] Papoian G A, Ulander J, Eastwood M P, Luthey-Schulten Z, Wolynes P G 2004 *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **101** 3352
- [104] Heugen U, Schwaab G, Bründermann E, Heyden M, Yu X, Leitner D M, Havenith M 2006 *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **103** 12301
- [105] Qvist J, Halle B 2008 *J. Am. Chem. Soc.* **130** 10345
- [106] Born B, Weingärtner H, Bründermann E, Havenith M 2009 *J. Am. Chem. Soc.* **131** 3752
- [107] Oncley J L 1938 *J. Am. Chem. Soc.* **60** 1115
- [108] Oncley J L 1943 in: Cohn E J, Edsall J T ed. *Proteins, Amino Acids and Peptides as Ions and Dipolar Ions* (Chapter 22) (New York: Reinhold) p557
- [109] Buchanan T J, Haggis G H, Hasted J B, Robinson B G 1952 *Proc. R. Soc. London A* **213** 379
- [110] Haggis G H, Buchanan T J, Hasted J B 1951 *Nature* **167** 607
- [111] Grant E H 1965 *Ann. NY Acad. Sci.* **125** 418
- [112] Grant E H, Sheppard R J, South G P 1978 *Dielectric Behavior of Biological Molecules in Solutions* (Oxford: Clarendon) pp144–160
- [113] Schwan H P 1965 *Ann. NY Acad. Sci.* **125** 344
- [114] Takashima S 1967 *Adv. Chem. Ser.* **63** 232
- [115] Harvey S C, Hoekstra P 1972 *J. Phys. Chem.* **76** 2987
- [116] Pethig R 1995 in: Gregory R B ed. *Protein Solvent Interactions* (Chapter 4) (New York: Marcel Dekker Inc.) pp265–285

- [117] Murarka R K, Head-Gordon T 2008 *J. Phys. Chem. B* **112** 179
- [118] Otting G, Liepinsh E, Wuthrich K 1991 *Science* **254** 974
- [119] Denisov V P, Halle B 1996 *Faraday Discuss.* **103** 227
- [120] Modig K, Liepinsh E, Otting G, Halle B 2004 *J. Am. Chem. Soc.* **126** 102
- [121] Grebenkov D S, Goddard Y A, Diakova G, Korb J P, Bryant R G 2009 *J. Phys. Chem. B* **113** 13347
- [122] Bagchi B 2016 *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **113** 8355
- [123] Qiu W H, Kao Y T, Zhang L Y, Yang Y, Wang L J, Stites W E, Zhong D P, Zewail A H 2006 *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **103** 13979
- [124] Zhang L Y, Wang L J, Kao Y T, Qiu W H, Yang Y, Okobiah O, Zhong D P 2007 *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **104** 18461
- [125] Zhang L Y, Yang Y, Kao Y T, Wang L J, Zhong D P 2009 *J. Am. Chem. Soc.* **131** 10677
- [126] Frauenfelder H, Chen G, Berendzen J, Fenimore P W, Jansson H, McMahon B H, Stroe I R, Swenson J, Young R D 2009 *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **106** 5129
- [127] Qin Y Z, Wang L J, Zhong D P 2016 *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **113** 8424
- [128] Qin Y Z, Yang Y, Wang L J, Zhong D P 2017 *Chem. Phys. Lett.* **683** 658
- [129] Qin Y Z, Jia M H, Yang J, Wang D H, Wang L J, Xu J H, Zhong D P 2016 *J. Phys. Chem. Lett.* **7** 4171
- [130] Yang J, Wang Y F, Wang L J, Zhong D P 2017 *J. Am. Chem. Soc.* **139** 4399
- [131] Bakker H J, Skinner J L 2010 *Chem. Rev.* **110** 1498
- [132] Wright J C 2011 *Annu. Rev. Phys. Chem.* **62** 209
- [133] Yagasaki T, Saito S 2009 *Acc. Chem. Res.* **42** 1250
- [134] Roberts S T, Ramasesha K, Tokmakoff A 2009 *Acc. Chem. Res.* **42** 1239
- [135] Bakulin A A, Liang C W, Jansen T L C, Wiersma D A, Bakker H J, Pshenichnikov M S 2009 *Acc. Chem. Res.* **42** 1229
- [136] Ghosh R, Samanta T, Banaerjee S, Biswas R, Bagchi B 2015 *Faraday Discuss.* **177** 313
- [137] King J T, Kubarych K J 2012 *J. Am. Chem. Soc.* **134** 18705
- [138] McGuire J A, Shen Y R 2006 *Science* **313** 1945
- [139] Zhang Z, Piatkowski L, Bakker H J, Bonn M 2011 *Nature Chem.* **3** 888
- [140] Kel O, Tamimi A, Thielges M C, Fayer M D 2013 *J. Am. Chem. Soc.* **135** 11063
- [141] Kundu A, Błasiak B, Lim J H, Kwak K, Cho M 2016 *J. Phys. Chem. Lett.* **7** 741
- [142] Donovan M A, Yimer Y Y, Pfaendtner J, Backus E H G, Bonn M, Weidner T 2016 *J. Am. Chem. Soc.* **138** 5226
- [143] Pandey R, Usui K, Livingstone R A, Fischer S A, Pfaendtner J, Backus E H G, Nagata Y, Fröhlich-Nowoisky J, Schmäser L, Mauri S, Scheel J F, Knopf D A, Pöschl U, Bonn M, Weidner T 2016 *Sci. Adv.* **2** e1501630
- [144] Zhang Z, Piatkowski L, Bakker H J, Bonn M 2011 *J. Chem. Phys.* **135** 021101
- [145] Ohto T, Backus E H G, Hsieh C S, Sulpizi M, Bonn M, Nagata Y 2015 *J. Phys. Chem. Lett.* **6** 4499
- [146] Livingstone R A, Nagata Y, Bonn M, Backus E H G 2015 *J. Am. Chem. Soc.* **137** 14912
- [147] Tan J J, Zhang B X, Luo Y, Ye S J 2017 *Angew. Chem. Int. Ed.* **56** 12977
- [148] Tan J J, Luo Y, Ye S J 2017 *Chin. J. Chem. Phys.* **30** 671
- [149] Tan P, Liang Y H, Xu Q, Mamontov E, Li J L, Xing X J, Hong L 2018 *Phys. Rev. Lett.* **120** 248101
- [150] Metzler R 2018 *Physics* **11** 59
- [151] Perticaroli S, Ehlers G, Stanley C B, Mamontov E, O'Neill H, Zhang Q, Cheng X L, Myles D A A, Katsaras J, Nickels J D 2017 *J. Am. Chem. Soc.* **139** 1098
- [152] von Hansen Y, Gekle S, Netz R R 2013 *Phys. Rev. Lett.* **111** 118103
- [153] Bizzarri A R, Cannistraro S 2002 *J. Phys. Chem. B* **106** 6617
- [154] Bizzarri A R, Rocchi C, Cannistraro S 1996 *Chem. Phys. Lett.* **263** 559
- [155] Pizzitutti F, Marchi M, Sterpone F, Rossky P J 2007 *J. Phys. Chem. B* **111** 7584

SPECIAL TOPIC — Critical topics in water research

Research progress of molecular structure and dynamics of biological water*

Ye Shu-Ji[†] Li Chuan-Zhao Zhang Jia-Hui Tan Jun-Jun Luo Yi

(Hefei National Laboratory for Physical Sciences at the Microscale, University of Science and Technology of China, Hefei 230026, China)

(Received 2 July 2018; revised manuscript received 27 August 2018)

Abstract

The specific water molecules that are confined within the solvation shell adjacent to the surface of biological macromolecules (including protein, enzyme, DNA, RNA, cell membrane, etc.) are called biological water molecules. Such water around the biomolecule surface plays a very important role in the structure, stability, dynamics, and function of biological macromolecules. A molecular-level understanding of the structure and dynamics of biological water, as well as the nature of its influence on biological structure and function is the key to revealing the mechanism of the biological functions. However, the researches in this field are still in the initial stage. Here in this paper, we review the relevant researches and recent progress of hydration water from three aspects. The first aspect is about the influence of hydration water on biological structure and function. It is evident that water actively participates in many biological processes such as protein folding, proton donation and migration, ligand binding and drug design, and allosteric effects. For example, water mediates the collapse of the chain and the search for the native topology through a funneled energy landscape. The second aspect is about the structure of water molecules around the biomolecules investigated by nuclear magnetic resonance (NMR), dielectric relaxation, neutron scattering, X-ray diffraction and ultrafast optical spectroscopy. The third aspect is about the dynamic behaviors of biological water, including the relaxation time scale, dynamic property, dynamic coupling between biomolecules and water molecules, and sub-diffusive motion of the water molecules along the protein surfaces. Different techniques measure different timescales for the motion of proteins and their hydration environment. While NMR and dielectric relaxation methods reveal the motion of biological water on a time scale from several tens of picoseconds to nanoseconds, ultrafast optical spectroscopy such as fluorescence and vibrational spectroscopy probes the hydrogen-bonding fluctuations of water on a time scale from the femtosecond to picosecond. It is therefore highly necessary to acquire a real and complete picture of the structure and dynamics of biological water by combining several different techniques. Finally, some unsolved scientific problems are also summarized in this review.

Keywords: biomolecule structure and function, hydration water, ultrafast dynamics

PACS: 31.70.Hq, 82.39.-k, 87.64.-t, 87.15.H-

DOI: 10.7498/aps.68.20181273

* Project supported by the National Key Research and Development Program of China (Grant Nos. 2017YFA0303500, 2018YFA0208700), the National Natural Science Foundation of China (Grant Nos. 21873090, 21473177, 21633007, 21790350), Fundamental Research Funds for the Central Universities of China (Grant No. WK2340000064), Chinese Academy of Science (Grant No. 2016HSC-IU003), and Anhui Initiative in Quantum Information Technologies, China (Grant No. AHY090000).

[†] Corresponding author. E-mail: shujiye@ustc.edu.cn