HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	溶質周囲の水分子の協調運動と溶質に及ぼす影響
Author(s)	緒方, 浩二
Citation	低温科学, 84, 85-91
Issue Date	2026-03-10
DOI	https://doi.org/10.14943/lowtemsci.84.85
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/99020
Type	departmental bulletin paper
File Information	09_p085-091_LT84.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

低温科学 84 （2026） 85–91
doi: 10.14943/lowtemsci. 84. 85

溶質周囲の水分子の協調運動と溶質に及ぼす影響

緒方　浩二

2025 年 8 月 31 日受付，2025 年 10 月 29 日受理

生体高分子（例えば蛋白質）の周囲には多数の水分子が存在しており，それらの挙動を明らかにすることは，物理化学的プロセスや生命現象の理解に極めて重要である．蛋白質周囲の水分子は，相互作用によって運動が制限される領域（Hydration Shell）が存在するが，その内部の水分子構造については十分に理解されていない．我々は，MDシミュレーションを用いて蛋白質周囲の水分子を解析した．その結果，Hydration Shell 領域において水分子集団が協調的に運動していることが明らかとなった．さらに，Na^+ および Cl^- を含む単純化した水和系のシミュレーションにより，Hydration Shell 内の水分子は酸素原子と水素原子がそれぞれ多く含まれる層状構造を形成していることが確認された．

Cooperative dynamics of hydration water and their influence on the solute

Koji Ogata

A large number of water molecules surround biomacromolecules, such as proteins, and elucidating their behavior is crucial for understanding physicochemical processes and biological phenomena. Around proteins, a region known as the hydration shell exists, in which water molecule motions are restricted through interactions; however, the structural characteristics of water molecules within this region remain poorly understood. In this study, we employed molecular dynamics (MD) simulations to analyze water molecules surrounding proteins. The results revealed that, within the hydration shell region, water molecule ensembles exhibit cooperative motion. Furthermore, simulations of simplified hydrated systems containing Na^+ and Cl^- ions demonstrated that water molecules in the hydration shell adopt a layered structure, in which oxygen and hydrogen atoms are enriched in distinct layers.

キーワード：水分子; 水和殻; 協調運動；分子動力学シミュレーション
Water molecules; Hydration Shell; Cooperative dynamics; MD simulation

1．はじめに

蛋白質の周りには沢山の水分子が存在し，蛋白質の構造の維持や機能を促進する役割を果たしている（Levy and Onuchic, 2004, 2006; Bellissent-Funel et al., 2016）．これらの水は，大きく分けてHydration Shellと呼ばれる蛋白質と相互作用を行っている数層からなる水の層とBulk Solventと呼ばれるそれ以外の水分子に分類される（Frauenfelder et al., 2006; Chen et al., 2008; Laage et al., 2017）．Hydration Shell のサイズは，テラヘルツ分光法などを用いて実験的に測定されている．常温における水分子は，熱揺らぎに起因するブラウン運動様の運動を示すが，これらの実験解析から，Hydration Shell 領域に存在する水分子においても同様の運動が観察されることが明らかとなっている．

連絡先
緒方　浩二
山陽小野田市立山口東京理科大学　薬学部
〒 756-0884 山口県山陽小野田市大学通 1 丁目 1-1
Tel: 0836-88-3500（内線 109）
Email: ogatak@rs.socu.ac.jp

1）山陽小野田市立山口東京理科大学薬学部
Faculty of Pharmaceutical Sciences, Sanyo-Onoda City University, Sanyo-Onoda, Japan

その結果，水分子は蛋白質への結合と解離を繰り返していることが示されている（Chen et al., 2008; Shi et al., 2023）．これらの水分子の運動が蛋白質－化合物，又は，蛋白質－蛋白質複合体形成のメカニズムに強く関わっていることは物理化学的，或いは，生化学的な実験や分子動力学（MD）シミュレーションなどにより明らかにされている（Shi et al., 2023; Bagchi, 2005; Ebbinghaus et al., 2007）．従って，分子周囲の水分子の運動は，蛋白質と化合物，さらには蛋白質間の結合および解離に大きな影響を及ぼすことが示唆される．これらの詳細な解析は，蛋白質−化合物間および蛋白質−蛋白質間の認識機構の解明に寄与すると考えられる．さらに，得られた知見は創薬分野における分子標的薬の開発を加速させ，同分野への大きな貢献につながることが期待される．

本稿では，シミュレーション結果に基づき，解析したHydration Shell 内の水分子の振る舞いとその構造について考察する．前半では，グリッドベースの主成分分析法（Grid-based Principal Component Analysis, GBPCA）（Ogata, 2021）による解析結果を説明し，集団の水分子の協調性と主成分（PC）モードの構造に関する考察を述べる．後半ではイオン周囲の水分子の振舞いについて説明し，イオン周囲の相互作用により制限を受けている水分子の範囲の特定を行う．最後に蛋白質とイオン周囲の水分子の振舞いからHydration Shellの範囲の同定を行う．

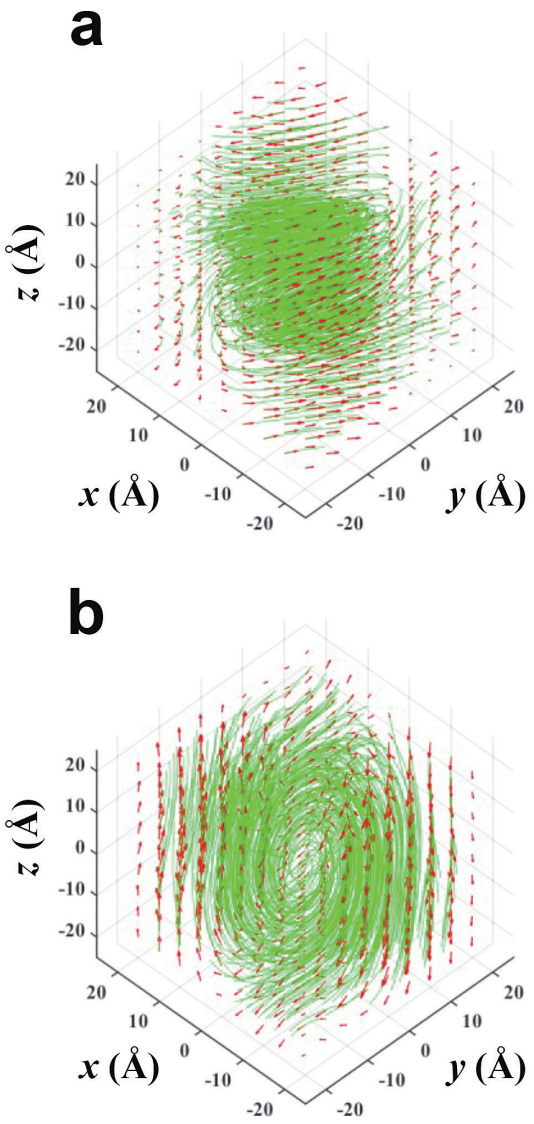

図1：水分子からなる系のGBPCAの結果 (a) PC4, (b) PC5．赤の矢印と緑の線はそれぞれ，各格子点の固有ベクトルを連結して可視化したものを表す．
（Ogata, 2021, *J. Phys. Chem. B*, **125**, 1072-1084を改変）

2. GBPCA法による解析

2.1 GBPCA法

蛋白質とその周囲の水分子の動きを観察するために，Grid-based Principal Component Analysis（GBPCA）法を用いて解析を行った．GBPCA法はシミュレーションの系を一定の大きさの立方体（5 Å×5 Å×5 Å）に分割して，立方体内に存在する分子の集団の運動モードを主成分分析により解析するものである．具体的な方法を以下に示す．

今，MDシミュレーションにより得られたトラジェクトリの，時刻 t に対するi番目の原子の座標を$\mathbf{x}_i(t)$とする．この時，時刻 t - 1 から t までの原子の変位を

$$\Delta\mathbf{x}_i(t) = m_i\left(\mathbf{x}_i(t) - \mathbf{x}_i(t-1)\right) \qquad (1)$$

とする．ここで，m_iはi番目の原子の質量を表す．k番目の格子にN個の原子が存在するとし，これらの原子の変位を

$$\Delta\mathbf{X}_k(t) = \frac{1}{M}\sum_{i=1}^{N}\Delta\mathbf{x}_i(t) \qquad (2)$$

とする．但し，Mはk番目の格子内に存在する原子の質量の総和である（$M=\sum_{i=1}^{N} m_i$）．ここで，$\Delta\mathbf{X}_k(t)$ の各成分を$\Delta\mathbf{X}_k(t)=(\Delta X_{3k-2}(t), \Delta X_{3k-1}(t), \Delta X_{3k}(t))$ と表すと，各成分から得られる分散共分散行列 A=$\{a_{ij}\}$ は

$$a_{ij} = \left\langle\left(\Delta X_i(t) - \langle\Delta X_i(t)\rangle\right)\left(\Delta X_j(t) - \langle\Delta X_j(t)\rangle\right)\right\rangle \qquad (3)$$

と表すことが出来る．この行列を対角化することにより得られる固有値と固有ベクトルを$\Lambda=\{\lambda_1,\lambda_2,...,\lambda_{3L};\lambda_1\geq\lambda_2\geq...\geq\lambda_{3L}\}$と$\mathbf{v}=\{\mathbf{v}^1,\mathbf{v}^2,...,\mathbf{v}^{3L}\}$とすると，得られた$\mathbf{v}$は格子点の変動の方向を示している．ここで，$n$ 番目の主成分（PC_n）から得られた固有ベクトルを $\mathbf{v}^n$ とし，k 番目の格子に対応する成分を $\mathbf{v}_k^n=\left(v_{3k-2}^n, v_{3k-1}^n, v_{3k}^n\right)$とすると，$\mathbf{v}_k^n$ はk番目の格子の変動の向きを示し，更に，その格子内に存在する原子集団の変

動の向きを示していることになる．このPC$_n$の解析を行うことにより，蛋白質とその周囲の集団の水分子の運動モードを解析することが出来る．

2.2 水分子の解析

水分子のみからなる系の MDシミュレーション結果に基づき，GBPCA 法を用いて水分子集団の PCモードを解析した．PCモード全体を観察すると，各格子点上のベクトルは周囲のベクトルと同方向を向いていることが確認された（図1）．これは，各格子点における水分子集団の変位が周囲の集団の変位と相関していることを示している．したがって，水分子集団は周囲と協調した振る舞いを示すと考えられる．

得られたPCモードのベクトルを連結して可視化したところ，PCモード全体は渦状あるいは対称的な構造を形成し，一部にはトーラス様の構造に類似した形態も確認された（図1の緑の線）．これらの構造が形成される理由は現時点では明らかではないが，水に限らず，メタンなどの実分子モデルや相互作用を変化させて人工的に生成した分子においても同様の構造が観察された．また，系の大きさを変えた場合においても，同様の構造が得られることが確認されている（Ogata, 2021）．一方，相互作用を持たない分子では特定の構造形成につながる協調的な PCモードは認められなかった．以上の結果から，分子間に相互作用を有する分子が隣接して存在する場合，それらの分子集団は協調した変位を示し，PCモードが渦状あるいはトーラス状の構造を形成することが示唆される．今後，このような構造が形成される要因のさらなる解明が必要である．

系の中心からおよそ 15 Å までのPCモードでは，周囲との協調性が高く明瞭な構造が観察された．この範囲の水分子集団は中心の水分子集団と協調した変位を示していると考えられる．一方，15 Å を超える領域では水分子はバルクと同様の振る舞いを示し，中心との協調性が低下するため，PCモードの構造は不明瞭になる傾向が見られた．以上のことから，中心の水分子集団はおよそ 15 Å の範囲に存在する水分子集団の変位に影響を及ぼしており，すなわち中心の水分子集団に対して約 15 Å 程度の Hydration Shell が形成されていると考えられる．今回の解析では一辺 5 Åの立方体を考えているので，立方体の表面から 12.5 Å 前後の範囲までがHydration Shellであると考えられる．

2.3 水和した蛋白質の解析

水分子の系と同様に，GBPCAによる解析を水和した蛋白質にも適用した．その結果，水分子の系で観察されたのと同様に，協調的な PCモードが確認された（図2）．さらに，得られた PCモードは渦状あるいはトーラス状の構造を示し，水分子の系の結果と一致していた．蛋白質と水分子の間には相互作用が存在することから，先に述べたように，相互作用を有する分子が隣接して存在する場合に分子集団が協調的な変位を示し，その結果として PCモードが渦状あるいはトーラス状の構造を形成したものと考えられる．

蛋白質の PCモードを観察すると，表面からおよそ 10 Å

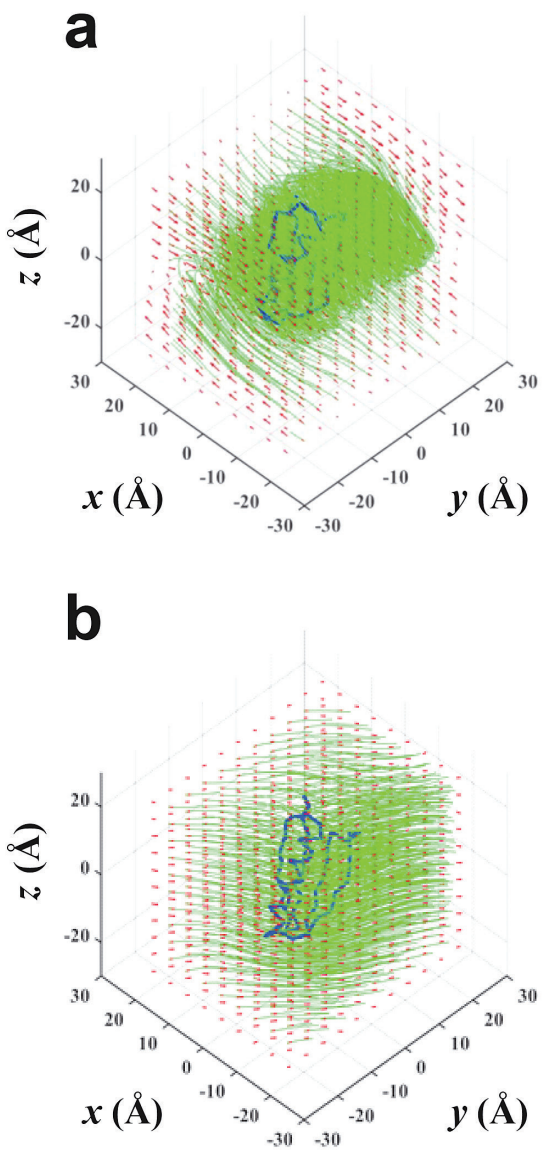

図2：水和されたProtein GとProtein Lのシミュレーションから得られたGBPCAの結果 (a) Protein G のPC4, (b) Protein L のPC5. 赤の矢印と緑の線はそれぞれ，各格子点の固有ベクトルを連結して可視化したものを表す．青の線は蛋白質のCAトレースモデルを表す．
（Ogata, 2021, *J. Phys. Chem. B*, **125**, 1072-1084を改変）

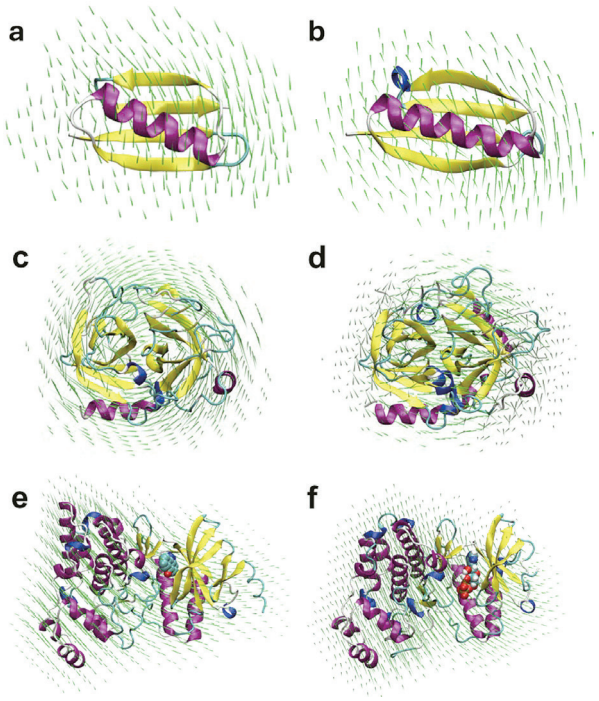

図3：同じフォールドを持つ水和された蛋白質周辺のPCモードの比較．(a) Protein G (PC5), (b) Protein L (PC4), (c) Trypsin (PC4), (c) Thrombin (PC4), (e) JNK1 (PC1), and (f) ERK2 (PC2)（Ogata, 2021, *J. Phys. Chem. B*, **125**, 1072-1084を改変）

の範囲までは明確な構造が確認された．これは，水分子系で観察された中心の水分子集団に対する Hydration Shell の範囲（約 15 Å）と類似している．以上の結果から，蛋白質の Hydration Shell の範囲はおよそ 10 Å であることが示唆される．

蛋白質に隣接する水分子に対応する各格子点の PCモードを解析したところ，これらの水分子は協調的な PCモードを示すことが確認された．これは，蛋白質周囲の水分子が蛋白質との相互作用の影響を強く受け，柔軟に動ける水分子が蛋白質の変位に協調した変位を取るためであると考えられる．シミュレーションにおいて，蛋白質を含む系のエネルギー分布および蛋白質の構造分布が一定であったことから，系は安定した平衡状態にあると考えられる．従って，この協調的な水分子の変位が系の安定化に寄与していると推察される．すなわち，Hydration Shell 内に位置する水分子は蛋白質の安定性に寄与していると考えられる．

同じフォールドを持つタンパク質の PCモードを比較した結果，これらのタンパク質は類似した PCモードを有することが示された（図3）．例えば，Protein G と Protein L では PC5 および PC4 の矢印の方向が類似していた．これは，類似したフォールドを持つタンパク質の表面アミノ酸残

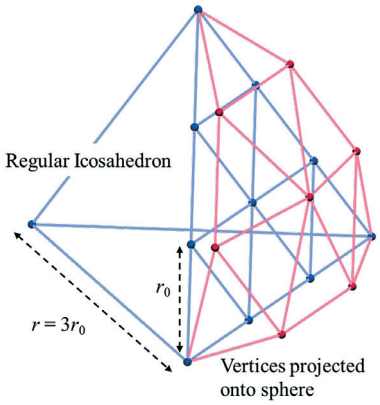

図4：球面にマッピングされた点　rは半径を示し，r_0 は分割した正三角形の一辺の長さを示す．

基の組成が共通しており，その結果として周囲の水分子集団も類似した PCモードを示すためと考えられる．さらに，複数ドメインから構成されるタンパク質では，各ドメイン内で独立した PCモード構造が観察された．例えば，JNK1 と ERK2 では，図に対して右側に β ストランドを多く含むドメインがあり，左側には α ヘリックスを多く含むドメインが存在する．周囲の水分子集団の変位も各ドメインごとに協調性を示すことが確認された．各ドメインがタンパク質の機能に寄与することから（Bennett et al., 1984; Schulz, 1991），間接的に Hydration Shell もタンパク質の機能に寄与していると考えられる．　これらの結果から蛋白質と周囲の水分子からなる集合体の協調的な変位が，蛋白質の構造と機能に大きく寄与していると考えられる．これらの結果は，液体状態における分子のダイナミクス理解に寄与することが期待される．

3. イオン周囲の水分子の振舞い

3.1　解析方法

ここではイオンを系の中心に配置したものを考え，イオンからの距離に対する双極子モーメント，力，変位（流入と流出）のベクトルの角度を求める．GBPCAで系を立方体に分割した部分空間を考えたが，ここではイオンからの距離に対する水分子の振舞いの解析を行うことから，下記に示す球面にマッピングされた点の集合を考える．

今，正の整数mに対して，中心から頂点までの距離D_m (= m Å) の正二十面体を考える（図4）．ここで正三角形の各辺をm個に分割し，分割された点を結ぶことにより得られる三角形の頂点を半径D_mの球体の表面に射影した点を$\{P^m\}$

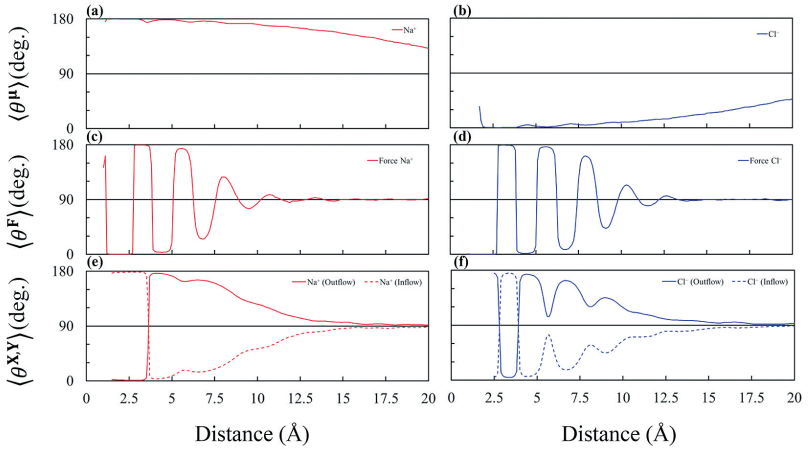

図5：距離に対する双極子モーメントと力のベクトルの勾配の分布　双極子モーメントの勾配 (a) Na+, (b) Cl-，力 のベクトルの勾配 (c) Na+, (d) Cl-，変位のベクトルの勾配 (e) Na+, (f) Cl-

とする（図 4）．この時，半径D_m上の球体の点の総数N_mは $12 + 30(m - 1) + 20(m - 1)(m - 2)/2$となる．この点$\{P^n\}$を溶質を中心とする座標系にマッピングする．

次に，MDシミュレーションから得られたT個のスナップショットに関して，t番目のスナップショットのi番目の原子を考える．この原子の座標と力をそれぞれ$\mathbf{x}_j(t)$，$\mathbf{f}_j(t)$とする．また，水分子の双極子モーメントを$\boldsymbol{\mu}_j(t)$とする．この時，時刻 $1 \le t \le T$ における点 の双極子モーメント，力の総和を

$$\boldsymbol{\mu}_k^n = \frac{1}{W_k}\sum_{t=1}^{T}\sum_{j=1}^{M_k(t)} w_j(t)\mu_j(t) \tag{4}$$

$$\mathbf{F}_k^n = \frac{1}{W_k}\sum_{t=1}^{T}\sum_{j=1}^{M_k(t)} w_j(t)\mathbf{f}_j(t) \tag{5}$$

とする．但し，$M_k(t)$は点P_k^nから半径r以内に存在する原子の個数（双極子モーメントの場合は水分子の個数）で，本研究では水分子のプローブである1.4 Å と定めた．また，w_jは距離に対する重みであり，

$$w_j(t) = \exp\left\{-\alpha\cdot\left\|\mathbf{x}_j(t) - \mathbf{p}_k^n\right\|^2\right\} \tag{6}$$

とする．但し，$\mathbf{p}_k^n$は原点から点P_k^nへのベクトルをとする．また，αはパラメータであり，本研究ではα = 5.0と定めた．更に，W_kは重みw_jの総和，

$$W_k = \sum_{j=1}^{M_k(t)} w_j(t) \tag{7}$$

と定める．

変位に関しては，点P_k^nに対する原子の流入と流出を考える．時刻tにおける原子iの座標を$\mathbf{x}_i(t)$とすると，流入（$\mathbf{X}_k^n$）と流出（$\mathbf{Y}_k^n$）に対応する変位は

$$\mathbf{X}_k^n = \frac{1}{W_k}\sum_{t=1}^{T}\sum_{j=1}^{M_k(t)} w_j(t)\left(\mathbf{x}_j(t) - \mathbf{x}_j(t-1)\right) \tag{8}$$

$$\mathbf{Y}_k^n = \frac{1}{W_k}\sum_{t=1}^{T}\sum_{j=1}^{M_k(t)} w_j(t)\left(\mathbf{x}_j(t+1) - \mathbf{x}_j(t)\right) \tag{9}$$

となる．

ここで，点P_k^nから溶質の中心に向かうベクトルを$\mathbf{w}_k^n$とし，$\mathbf{w}_k^n$と$\boldsymbol{\mu}_k^n$，$\mathbf{F}_k^n$，$\mathbf{X}_k^n$，及び，$\mathbf{Y}_k^n$のなす角をそれぞれ$\theta_{n,k}^{\boldsymbol{\mu}}$，$\theta_{n,k}^{\mathbf{F}}$，$\theta_{n,k}^{\mathbf{V}}$，$\theta_{n,k}^{\mathbf{X}}$とする．更に，球体の表面の部分空間上での水分子の同じ半径D_n上の点に対して，$\theta_{n,k}^{A}$(A={**μ**, **F**, **X**, **Y**})の平均を$\langle\theta^{\mathrm{A}}\rangle_n$とする．この$\langle\theta^{\mathrm{A}}\rangle_n$の解析を行うことにより，溶質周辺の空間における水分子の振舞いを解析することができる．シミュレーションは50 Å×50 Å×50 Åの水分子のボックスにNa^+とCl^-をひとつずつ入れた系を用いた．

3.2　Na^+とCl^- の周囲の水分子の振舞い

Na^+およびCl^-の周囲における水分子の双極子モーメント勾配は，Na^+では 90°以上，Cl^-では 90°以下と，それぞれの電荷に応じた特異的な角度を示した（図5a, 5b）．Na^+の場合，第一水和層では酸素原子が Na^+と相互作用するため，水素原子は酸素より外側に配置される．その結果，双極子モーメントは 90°を超える値をとる．さらに，この外側に位置する水素と第二層の酸素が水素結合を形成することで，同様の配置が繰り返され，双極子モーメントの勾配は層ごとに 90°以上を保つことが確認された．

一方，Cl^-の場合は電荷が負であるため，第一水和層では水素原子がCl^-と相互作用し，酸素原子が外側に配置される．その後はNa^+の場合と同様に層が重なり，結果として双極子モーメントの勾配は 90°未満となることが示され

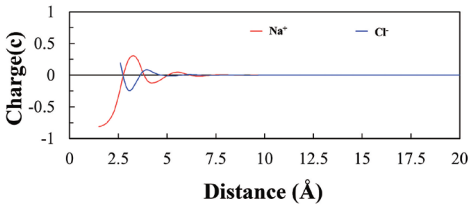

図6：距離に対する電荷の総和の分布

た．これらの結果は分光学的にも同様なものが得られている（Chen et al., 2016; Shelton, 2017）．

次に，Na^+およびCl^-の周囲における水分子の力のベクトル勾配を解析した結果，その分布は 0° と 180° を繰り返しつつ，減衰しながら最終的に 90° に収束する傾向が示された（図 5c, 5d）．

Na^+の場合，第一水和層では酸素原子がNa^+と相互作用するため引力が働き，勾配は 0° 付近を示す．一方，外側に位置する水素原子には斥力が働き，180° 付近の勾配をとる．さらに，この水素原子と水素結合を形成する第二水和層の酸素原子には再び引力が働き，勾配は 0° 付近を示す．同様に，外側に位置する水素原子には斥力が働き，180° に近い値を示す．このような相互作用の繰り返しにより，層ごとに 0° と 180° が交互に現れるが，より外側に位置する水分子はバルク水と同様の挙動を示すため，最終的に力のベクトルの配向は 90° 付近へと収束する．

Cl^-の場合もNa^+と同様に，水素原子には引力が，酸素原子には斥力が働くため，勾配は 0° と 180° を繰り返す分布を示す．

水分子の変位ベクトル勾配の分布を解析した結果，流入と流出は 90° を挟んで対称であることが確認された（図 5e, 5f）．シミュレーションにおいて水分子の密度変化がほぼ一定であるため，流入と流出は類似した値をとり，その結果，90° を中心に対称性が現れたと考えられる．これは流体力学における定常流の条件からも説明できる．

変位ベクトルのグラフと力のベクトルのグラフを比較すると，角度振幅に明確な相関が認められる．特にCl^-の流入分布では，力のベクトルの勾配分布との対応が顕著であった．Cl^-近傍の領域では，変位ベクトルと力ベクトルが類似した方向を示しており，酸素原子および水素原子が多く含まれる範囲において，水分子が力ベクトルと同じ方向に変位していることが確認された．

これらの結果から，イオン周囲の水分子はイオンの電荷に応じて配向し，その影響により酸素原子が多い層と水素原子が多い層が交互に形成されることが示唆された．実際，イオンからの距離に対する電荷分布を解析した結果，Na^+とCl^-のいずれにおいても正負の値が交互に現れており（図6），特に第一水和層およびその外側の第二水和層では酸素原子層と水素原子層が顕著に認められた．分光学の実験からイオンの周囲の水分子の層は2層から3層であることが示されている（Chen et al., 2008; Ditucci et al., 2015）．我々の解析もイオンの周囲の2層まで明らかな層が観察される．従って，我々の解析は実験と一致していることがわかる．以上より，イオンとの相互作用により水分子の酸素原子と水素原子が交互に配列する層構造が形成されることが明らかとなった．

変位ベクトルの勾配分布から，勾配が90°に近い領域，すなわちイオンとの相互作用が小さくバルクの水分子と同様の運動を示す領域は，イオンから約15 Å以降であることがわかった．したがって，15 Å未満の領域はイオンとの相互作用によって水分子の運動が制限される領域，すなわち Hydration Shell と考えられる．さらに，この範囲の水分子はイオンの電荷に応じて配向し，酸素原子と水素原子を多く含む層が交互に形成される構造を示した．以上の結果から，イオン周囲には酸素原子層と水素原子層が交互に繰り返す，厚さ約15 Å程度の Hydration Shell が存在すると結論づけられる．

4. Hydration Shellの範囲とその構造

GBPCA解析およびイオン周囲の水分子構造解析の結果を総合すると，Hydration Shell の広がりは中心となる原子または原子集団からおよそ 15 Å 程度に及ぶと推定される．これは，GBPCAにより得られた各格子点のPCモードにおいて，周囲との協調性が高い領域が約 15 Å に及んでいたこと，さらにイオンから 15 Å 離れた位置では水分子の変位がバルク水と類似した挙動を示したことに基づいている．異なる二つの解析手法が同程度の値を与えたことからも，Hydration Shell の範囲は 15 Å 前後であると考えられる．

さらに，イオン周囲の水分子の挙動から，この範囲内に存在する水分子は中心原子の電荷に応じて配向し，酸素原子あるいは水素原子を多く含む層が交互に形成される構造をとると推察される．

5. おわりに

本稿では，MDシミュレーションの結果に基づき，蛋白質およびイオン周囲に形成される Hydration Shell の範囲とその内部構造を分子レベルで解析した．その結果，蛋

白質およびイオンの周囲にはおよそ 15 Å 程度の Hydration Shell が存在することが明らかとなった．さらに，その内部構造は，水分子の酸素原子または水素原子が優先的に含まれる層が交互に形成されるという特徴的な配置を示すことが確認された．

これらの結果はシミュレーションから得られた結果であり，実験で証明する必要はある．また，Hydration Shell の機能に関しては未解明の点が多い．例えば，Hydration Shell 内に存在する化合物がどのような挙動を示すのかについては十分に解明されていない．我々の初歩的な解析からは，バルク水領域から Hydration Shell に進入した化合物が内部で配向を変化させ，中心のイオンに近づくにつれてその存在を認識するような挙動を示す可能性が示唆された．

また，本研究では単純化した単一イオンモデルを用いて Hydration Shell の範囲を推定したが，実際の蛋白質など生体高分子表面ははるかに複雑である．例えば，近接する正電荷と負電荷が共存する環境下で水分子がどのように配向し，その挙動がどの程度一般化できるのかといった点は未解決の課題である．これらの問題を解決することは，分子認識機構の理解を深め，創薬研究の発展に寄与すると期待される．

参考文献

Levy, Y. & Onuchic, J. N. (2004). Water and proteins: a love-hate relationship. *Proc Natl Acad Sci USA*. **101**, 3325-3326.

Levy, Y. & Onuchic, J. N. (2006). Water mediation in protein folding and molecular recognition. *Annu Rev Biophys Biomol Struct*. **35**, 389-415.

Bellissent-Funel, M.-C., Hassanali, A., Havenith, M., Henchman, R., Pohl, P., Sterpone, F., van der Spoel, D., Xu, Y. & Garcia, A. E. (2016). Water Determines the Structure and Dynamics of Proteins. *Chem Rev*. **116**, 7673-7697.

Frauenfelder, H., Fenimore, P. W., Chen, G. & McMahon, B. H. (2006). Protein folding is slaved to solvent motions. *Proc Natl Acad Sci USA*. **103**, 15469-15472.

Chen, X., Weber, I. & Harrison, R. W. (2008). Hydration water and bulk water in proteins have distinct properties in radial distributions calculated from 105 atomic resolution crystal structures. *J Phys Chem B*. **112**, 12073-12080.

Laage, D., Elsaesser, T. & Hynes, J. T. (2017). Water Dynamics in the Hydration Shells of Biomolecules. *Chem Rev*. **117**, 10694-10725.

Shi, J., Cho, J.-H. & Hwang, W. (2023). Heterogeneous and Allosteric Role of Surface Hydration for Protein–Ligand Binding. *J Chem Theory Comput*. **19**, 1875-1887.

Bagchi, B. (2005). Water Dynamics in the Hydration Layer around Proteins and Micelles. *Chem Rev*. **105**, 3197-3219.

Ebbinghaus, S., Kim, S. J., Heyden, M., Yu, X., Heugen, U., Gruebele, M., Leitner, D. M. & Havenith, M. (2007). An extended dynamical hydration shell around proteins. *Proc Natl Acad Sci USA*. **104**, 20749-20752.

Ogata, K. (2021). Investigation of Cooperative Modes for Collective Molecules Using Grid-Based Principal Component Analysis. *J Phys Chem B*. **125**, 1072-1084.

Bennett, W. S., Huber, R. & Engel, J. (1984). Structural and Functional Aspects of Domain Motions in Proteins. *Crit Rev Biochem*. **15**, 291-384.

Schulz, G. E. (1991). Domain motions in proteins. *Curr Opin Struct Biol*. **1**, 883-888.

Chen, Y., Okur, H. I., Gomopoulos, N., Macias-Romero, C., Cremer, P. S., Petersen, P. B., Tocci, G., Wilkins, D. M., Liang, C., Ceriotti, M. & Roke, S. (2016). Electrolytes induce long-range orientational order and free energy changes in the H-bond network of bulk water. *Sci Adv*. **2**, e1501891.

Shelton, D. P. (2017). Structural correlation in water probed by hyper-Rayleigh scattering. *J Chem Phys*. **147**, 154501.

DiTucci, M. J., Heiles, S. & Williams, E. R. (2015). Role of Water in Stabilizing Ferricyanide Trianion and Ion-Induced Effects to the Hydrogen-Bonding Water Network at Long Distance. *J Am Chem Soc*. **137**, 1650-1657.