誘電分光法最近の動向

- 第1回国際誘電分光会議に見る -

東海大学理学部物理 八木原 晋

1. はじめに

2001年3月12日から15日までの4日間、イスラエルのエルサレムで第1回国際誘電分光会議 (DS2001 : 1ST International Conference on Dielectric Spectroscopy in Physical, Chemical, and Biological Applications) がヘブライ大学のYuri Feldman教授をチェアマンとして開かれた¹⁾。事前登録では30カ国から250名であった参加者は、最近の政治情勢を反映して22カ国、117名に減少したが、プログラムは当初の1, 2割の縮小に留まった。したがってこの会議の本来の規模としては、前回の数字がより現実的なものであろう。早めに到着した参加者に配慮して急遽エルサレム市内の短いツアーを組んだ事務局の臨機応変ぶりはFeldman氏ならではのものだった。イスラエルでは2000年から2001年にかけてをミレニアムを祝う国家的な節目として、学術的な国際会議の開催を奨励し補助する政策がとられており、多くの研究者にこの国の研究活動の様子を知らせるよい機会となっている。来たるべき平和な時代に予想される観光客の激増に備えて各地で進められている整備を見聞すると、かの聖地の歴史的遺産が今後どのように公開・保存されていくのか興味が尽きない。

DS2001では、第1日目午前：広帯域誘電分光、午後：時間領域反射法 (TDR : time domain reflectometry) このセクションはTDRの開発に貢献された故真下悟元東海大学教授(1996年3月逝去)に捧げられた。夕食後：ポスターセッション、第2日目午前：理論とデータ解析、同午後：高分子とガラス形成液体、第3日目午前前半：分散系、後半：多孔質と粉体、同午後：誘電分光の応用、夕食後：ポスターセッション、第4日目午前午後

とも：生物、医学、薬学への応用、そしてその夕方に各セクションの座長達によるまとめのパネルディスカッションが行われて幕を閉じた。

本稿では、この会議における生物物理の分野の研究発表を中心に、誘電分光を用いた最近の研究状況について解説する。

2. 誘電分光とは何か

誘電分光は物質構造を調べるための手法として、P. J. W. Debye、水島三一郎両博士らによって20世紀半ばには確立されていた手法である。一般には線形応答理論を用い、物質に刺激として与える角周波数 ω で振動する電場を複素数で $E^*(\omega)$ 、応答として生じる電気変位を $D^*(\omega)$ とすれば、この刺激・応答の関係を表す周波数応答関数として複素誘電率 $\epsilon^*(\omega)$ が次のように定義される。

$$D^*(\omega) = \epsilon_0 \epsilon^*(\omega) E^*(\omega) \quad (1)$$

ここで ϵ_0 は真空の誘電率である。通常複素誘電率は

$$\epsilon^*(\omega) = \epsilon'(\omega) - j\epsilon''(\omega) \quad (2)$$

と記述される。ここで j は虚数単位である。実数部 ϵ' は誘電体の分極によって貯め込まれるエネルギー、虚数部 ϵ'' は物質中で失われるエネルギーを意味し、誘電損失とよばれる。

永久電気双極子をもつ構成分子が交流電場によって再配向する際に周囲と摩擦を起こし、この散逸過程で熱エネルギーに変換されて失われる電気エネルギーが誘電損失で表される。もし分子運動の特性時間を表す緩和時間 τ に対応する周波数 $f_m (= 1/2\pi\tau)$ よりも電場の周波数が高ければ分子が配向しきらないので誘電損失は小さく、逆に低くても損失は少ない。したがって緩和測定によって得られるピーク周波数 f_m は分子の運動性に関係するわけである。ここでは例として、いくつかの温度における純水の誘電緩和を図1に示す。25℃では約8 psの緩和時間を示す。

誘電測定からは他に、緩和を引き起こす双極子モーメントの数や大きさ、向きの相関などを反映する緩和強度 $\Delta\epsilon$ や、密度揺らぎや双極子間相互作用を反映する緩和パラメータを求めることができる。もちろんこれらの多体問題の理論的取り扱いには困難が伴い、パラ

Recent Developments on Dielectric Spectroscopy - 1ST International Conference on Dielectric Spectroscopy in Physical, Chemical, and Biological Applications -

Shin YAGIHARA

Department of Physics, School of Science, Tokai University

図1 いくつかの温度における純水の誘電分散・吸収曲線
実線はDebyeの式によって求めた。

メータから正確な物理的意味が自動的に得られるわけではない。

誘電分光が現在でも使われるのは、複雑系物質の構造や物性・機能の分子機構を解釈する際のポイントになるダイナミクスを観測する時間・周波数の窓が、技術開発によって1 μ Hz ~ 30 GHzの領域まで大きく拡張されてきたからである²⁾。DS2001では液体から溶液、分散系、液晶、ガラス、高分子、生体までが研究対象とされたように、複雑系物質群が示す幅広い分子ダイナミクスを観測する誘電分光は、この広い窓によってきわめてまねな特徴を有する解析手法として認識されている。

3. 生物物理における従来の誘電分光の問題点

生物物理の分野で印象に残る誘電的研究の1つに、50年代末のWadaによるポリペプチド溶液の測定がある。分子全体の回転運動に起因する緩和から求めた双極子モーメントが分子量に比例し、それが α ヘリックス構造をとるポリペプチドの合成モーメントであることが鮮やかに示された。

その後、水を含む生物系における誘電分光の適用は深刻な困難に見舞われた。誘電緩和測定では、水のダイナミクスを観測するには高周波測定が必要なうえ(図1)生体系に含まれるイオンによる電気伝導が、誘電損失に対して

$$\varepsilon''(\omega) = \sigma / \varepsilon_0 \omega \quad (3)$$

という形で寄与し、生体分子の情報が隠されてしまうからである。ここで σ は導電率である。これまでイオン

の寄与を差し引くさまざまな工夫がなされてきたが、これを正確に行うことは現在でもなかなか難しい。

80年代に入ると、物質に入射したステップ・パルスの反射波を観測して誘電率を求めるTDR法の解析手法として、標準試料を用いて解析するdifference法がMashimoやColeらによって開発され、MHz-GHz領域での誘電分光が可能になった。これはトンネル・ダイオードによる立ち上がり時間の短いステップ・パルスの実現とコンピュータの導入による数値解析が奏効したものである。しかも式(3)が示すように直流伝導の誘電損失への寄与はGHz領域では小さく、困難も軽減されたため、さらに高周波側の水の損失ピークを見積もることが可能になり、他の液体やこれらの拘束された遅い挙動、高分子や生体関連分子の局所運動などの新たな知見が得られた。

一方MHz領域ではやはり直流伝導の影響は大きく、さらに解離基や不均質構造の界面、電極周囲のイオン性の緩和機構が加わって複雑さを増す。逆にこれらの緩和から、不均質構造に関する情報を得るための研究も盛んに行われてきた。

4. 生物物理の分野における誘電分光の最近の進歩

90年代以降、パルス発振の安定化とコンピュータの進歩により、水の損失ピーク周波数(20 GHz)までも含む広い周波数領域での緩和測定が可能となり、測定時間も短縮されたため、水系の経時変化などのシステムティックで巧みな実験が計画できるようになった。

京都大学のAsamiらのグループはこれまで1 Hz ~ 10 MHzの広い周波数範囲でさまざまな分散系が示す誘電緩和を測定し、構成成分の形状や誘電的性質を解析する手法を開発してきた。DS2001ではこの手法を適用した細胞の巨視的構造の解析、生理的条件下での細胞の挙動の誘電的モニタリング、走査型誘電顕微鏡による単一細胞誘電測定についての報告がなされた。

ローマ大学のBordiはこのような細胞分散系の誘電測定によるバイオテクノロジーのプロセス・モニタリングについて報告したほか、金属電極表面に構築した脂質膜/電解質水溶液界面に生じるイオン層の誘電的挙動を調べてバイオセンシングの分野での応用研究の可能性を示唆した。

ヘブライ大学のFeldmanらのグループはリンパ球分散液の測定結果を二重殻モデルのHanai-Asami-Koizumiの式で解析し、悪性リンパ腫の場合の誘電率や導電率が正常な細胞膜のものよりも低いことを報告した。

筆者らのグループは、高分子水溶液中の水分子が拘束されて緩和時間が増大する様子は自由体積モデルで説明され、さらに体積相転移を起こす高分子ゲル中の溶媒分子のダイナミクスは、溶媒分子とゲル網目のサイズを用いたスケーリングで表現できること³⁾を報告した。これらの水の緩和時間分布を1種類の水で解釈するか、あるいはTeramotoら(多糖類シゾフィランの水和)やレゲンスブルグ大学のBuchnerら(2成分液体中の微視的なミセル構造)のように、fast waterとslow waterという2種類の水構造で解釈するのは議論が分かれるところである。しかし、緩和の高周波側の裾(THz領域)まで観測できない現状では実験からだけでは決定できず、自己無撞着なモデルを他の知見でどこまで補強できるかによっている。重要なことは、この事情が生体系では不可避なことである。

筆者らのグループが提案してきた水構造の1つである結合水とは、二重らせんDNAの溝やタンパク質表面に水素結合した水分子同士が2次元的なネットワーク構造を形成し、緩和時間が100倍程度増大した水構造のことをさす。ただし25℃で100 MHz付近にはこの緩和過程のほか、分子鎖の局所運動から大規模なドメインの運動にいたる運動、さらにはイオン性の緩和過程がオーバーラップするために同定が難しく、これまで学術誌上でもその存在の真偽が幾度か議論されて今日に至っている。

図2は球状タンパク質全体の回転に起因する緩和過程の緩和時間を分子量 M に対して両対数プロットしたものである。粘性係数 η の媒質中で回転する半径 a の球状の剛体を扱ったStokesの法則に基づくDebyeの式

$$\tau = 4\pi a^3 \eta / kT \propto M \quad (4)$$

によれば、このプロットの傾きは1になるべきで、実験結果(0.97)はこれをよく示している。天然の球状タンパク質とは形状の異なる多糖類や尿素変性タンパク質は大きく異なる挙動を示している。また実験から得られた分子半径は実線で示す計算値よりも10%程度大きい。同様な差はX線構造解析からも得られており⁴⁾、水和水の存在を示す間接的な証拠かと思われる。

タンパク質の骨格鎖全体の構造を反映する合成双極子モーメントを与える緩和強度は明確な分子量依存性を示していない。ペンシルバニア大学のTakashimaはX線解析やNMRで得られたタンパク質の立体構造から双極子モーメントを計算し、DS2001で報告した。異性体や変性も含め、これらと誘電測定との比較はタンパク質の立体構造を考える上できわめて興味深い。

図3は結合水や分子内運動などを反映する緩和強度の

図2 さまざまな分子量の球状タンパク質における低周波側の緩和過程の緩和時間

各プロットはa: トレハロース(342), b: マルトース(360), c: マルトトリオース(504), d: マルトテトラオース(667), e: マルトペンタオース(829), f: マルトヘキサオース(991), g: マルトヘプタオース(1153), A: AMP(347), B: ADP(427), C: ATP(507), 1: シトクロムc(12,384), 2: リボヌクレアーゼA(13,700), 3: リゾチーム(14,300), 4: ミオグロビン(17,800), 5: トリプシンインヒビター(20,100), 6: トリプシン(24,000), 7: ペプシン(34,700), 8: オボアルブミン(45,000), 9: ヘモグロビン(65,750), 10: アルブミン(66,000), 11: γ-グロブリン(150,000), 12: α-キモトリプシン(25,000) 8M尿素水溶液, 13: オボアルブミン8M尿素水溶液, 14: オボアルブミン1 wt%メルカプトエタノール-8M尿素水溶液, 15: アルブミン8M尿素水溶液, 16: アルブミン1 wt%メルカプトエタノール-8M尿素水溶液である。()内の数値は試料の分子量を示している。

図3 さまざまな分子量の球状タンパク質における中間周波数域での緩和過程の緩和強度
各プロットは図2と同様である。

分子量依存性を表す。試料溶液はタンパク質の重量濃度を一定にして調製しているので、緩和強度が表面積に比例する場合には - 1/3 の傾きをもつ。ヒンジまわりのドメイン運動、球形と異なる大きな表面積、変性して運動しやすい分子鎖などをもつタンパク質はこの実線から大きくはずれ、逆にこれからさまざまな緩和機構が詳細に検討されている⁵⁾⁶⁾。

結合水の存在を支持するこれらの実験的証拠は、イオン性の緩和機構にも当てはまる場合があり、誘電分光の結果だけでこれを同定するには困難がある。Nakasako は 100 K における低温 X 線解析によって球状タンパク質の水和水を観測し、Suzuki がエマルション混合理論の Wagner 式を適用して求めた水和殻の水分子数に対応していると報告している⁴⁾。また Higo らは DNA - タンパク質複合体周囲の水分子の分子動力学シミュレーションから、500 ps の時間内で水分子の平均双極子モーメントが打ち消されないで維持される様子を描いた⁷⁾。これらの新しい解析手法による知見が結合水モデルを支持するのだろうか、今後の展開に興味をもたれるところである。

5. おわりに

最近の誘電分光法の特徴である広帯域性は、水や生体分子の多様な動的構造やそれらに対応するイオンの挙動を観測するためには最も重要な要素であり、誘電分光が有効な実験的アプローチであることを説明してきた。

DS2001 では会期中に国際誘電分光学会の設立を決

定した。今後も生物物理をはじめ広い分野で、複雑系物質群の観測ツールとして誘電分光が用いられていくことを期待したい。第2回国際誘電分光会議は2002年9月にドイツのライプツィヒにて行われる予定である。

謝 辞

本稿はDS2001の事務局、および文章中に所属入りでご紹介した参加者のご報告によっています。また関連して言及させていただいた東京大学・分子細胞生物研究所の中迫雅由先生、東京薬科大学・生命科学部の肥後順一先生、東北大学・工学部の鈴木誠先生の各先生方とのディスカッション、ならびに共同研究者達のご協力に感謝いたします。

文 献

- 1) 第1回国際誘電分光会議, <http://sites.huji.ac.il/applsci/ap/DS2001/index.html>
- 2) 八木原晋, 新屋敷直木 (2000) 高分子 **49**, 724-730.
- 3) Yamada, G., Hashimoto, T., Morita, T., Shinyashiki, N., Yagihara, S. and Tokita, M. (2001) *MRS-J* **26**, 701-704.
- 4) Nakasako, M. (1999) *J. Mol. Biol.* **289**, 537-564.
- 5) Hayashi, Y., Miura, N., Shinyashiki, N., Yagihara, S. and Mashimo, S. (2000) *Biopolymers* **54**, 388-397.
- 6) Hayashi, Y., Miura, N., Junya, I., Shinyashiki, N. and Yagihara, S. (2000) *Biophys. J.* **79**, 1023-1029.
- 7) Higo, J., Kono, H., Nakamura, H. and Sarai, A. (2000) *Proteins* **40**, 193-206.