解離性ポリ- α -アミノ酸の二次構造と対イオン吸着

須 貝 新太郎*

牧 野 志 雄*

序

高分子電解質は蛋白質や核酸など生体高分子のもっとも単純なモデルとして、Kern¹⁾らの初期の研究以来多くの研究がなされてきた。高分子電解質の水溶液中での挙動は、高分子の形態、イオン吸着、溶媒和および高分子間相互作用などの効果が相関しあい、興味深い溶液性状を呈する。それらの中でも高分子の多電荷性による高分子へのイオン吸着の問題が多くの研究者により取り上げられてきた。高分子イオンと対イオン、特にポリカルボン酸とアルカリ金属イオンとの静電的相互作用は pH 滴定を中心に定量的に解明されつつある。^{1,2)}

蛋白質にさらに近づいたモデル物質たる解離性ポリ- α -アミノ酸においては、二次構造変化に伴う対イオン吸着の変化を考える必要があり、また単なる静電的相互作用では説明しえない特異的イオン吸着は、ポリ- α -アミノ酸の二次構造の形成と密接に関係すると考えられる。¹⁾

ここでは解離性ポリ- α -アミノ酸の二次構造と対イオン吸着現象との関係を、筆者らの仕事を中心に述べていた。

I 静電的相互作用

ポリアクリル酸ソーダ (Na-PAA) のごとく、水溶液中で完全解離すると考えられる高分子電解質においても、一見一部の対イオンが自由でないごとく見える現象が、浸透圧、対イオン活量および電気伝導度などの測定において見出されている。^{3,4)} これはその対イオンが高分子イオンに吸着しているためである。

Secondary structure of electrolytic poly- α -amino acid and counter-ion binding:

* Shintaro SUGAI and Shio MAKINO 北海道大学理学部 高分子学科 (Department of Polymer Science, Faculty of Science, Hokkaido University)

無塩系高分子溶液における対イオン活量を a^p 、単塩塩水溶液 (高分子が入っていない) 中のそれを a^s とすると、添塩系高分子溶液における対イオン活量 a は

$$a = a^p + a^s \quad (1)$$

なる加算則で静電的相互作用の系では表現され、イオン吸着量は添加塩の量には依存しない。

(1) の加算性は浸透圧においても、⁵⁾ また電気伝導度においても成立が確かめられている。

厳密な理論計算と静電的イオン吸着の関係する現象が比較された良い例はポリメタアクリル酸 (PMA) およびポリグルタミン酸 (PGA) などの pH 滴定である。高分子酸の pH 滴定曲線は

$$\text{pH} = \text{p}K_0 - \log \frac{1-\alpha}{\alpha} + 0.434 \frac{e\psi_0}{kT} \quad (2)$$

で与えられる。ここに $\text{p}K_0$ は解離基の固有解離定数、 α は解離度、 ψ_0 は分子表面の電位である。永沢⁶⁾らは PMA を棒状であると近似し、Poisson-Boltzmann 方程式の数値解法から求めた理論的 ψ_0 と実験的 ψ_0 を比較した。そして棒状モデルが成立つと考えられる $\alpha > 0.5$ の域での実験と理論との一致をみた。その一致がポリイオンについてのパラメーターの数値を用いないで得られたことはみごとであり、ポリイオンと低分子対イオンの静電的吸着の問題に関する妥当性を支持しているものといえよう。

対イオン吸着量は、対イオン活量、浸透圧、粘度および電気伝導度測定などからも求めうるが、熱力学的方法で求めた対イオン吸着量と、流体力学的方法により得られたものとは多少の差がある。ここでは電気伝導度から求めたイオン吸着量と、その理論値との比較を試みる。⁷⁾

1950年 Wall⁷⁾らは溶液の電気伝導度と高分子イオンの輸率から対イオン吸着量を求めうることを示し、これはまた対イオンの自己拡散測定から計算した吸着量⁸⁾に一致することも示した。

無塩系高分子電解質溶液の比電気伝導度 κ は、高分子イオン、対イオン (Na^+ を考える), H^+ , OH^- の各々の比電気伝導度 κ_p , κ_{Na} , κ_{H} , κ_{OH} の和として表わすことができる。

$$\kappa = \kappa_p + \kappa_{\text{Na}} + \kappa_{\text{H}} + \kappa_{\text{OH}} \quad (3)$$

ここで C_H , C_OH を H^+ および OH^- の濃度 (equiv/lit), C をモノマーモルで表わした高分子濃度, ν は高分子の荷電, z は重合度, r は中和に要した NaOH の濃度 (単位は C_H などと同じ), f は高分子に吸着していない自由な対イオンの割合, A' は当量伝導度 A を用いて $A' = 10^{-3}A$ とすると

$$\left. \begin{aligned} \kappa_p &= C A_p' \nu / z, & \kappa_{\text{Na}} &= r f A' N_e \\ \kappa_{\text{H}} &= \text{C}_\text{H} A'_{\text{H}} & \kappa_{\text{OH}} &= \text{C}_\text{OH} A'_{\text{OH}} \end{aligned} \right\} \quad (4)$$

で与えられる。 κ_p は電気伝導度への高分子イオンからの寄与であるが、対称は構成単量体に注目していることは注意せねばならない。

また高分子イオンによって運ばれる電気量 t_p は、彼等の sintered glass でへだてられた容器中の液の電気分解に際して移動する量から求められた。

$$t_p = q_2 \nu / Z N_e = \kappa_p / \kappa \quad (5)$$

q_2 は電気分解による陽極側における高分子イオンの当量数の増加, N_e は電気分解のため流した全電気量である。一般の高分子電解質では q_2 は陽極側での Na^+ の当量数の増加をトレーサー法 (^{22}Na , ^{24}Na を使って) によって測っておかねば求められないが、ポリ- α -アミノ酸や蛋白質では窒素分析などにより直接 q_2 を求めることも可能である。(3), (4) 両式と溶液の中性条件 ($\text{C}_\text{H}/Z = \text{C}_\text{H} + r f - \text{C}_\text{OH}$) とから f は (6) 式で与えられる。

$$f = \frac{\kappa - \text{C}_\text{H} \left(A'_{\text{H}} + \frac{\kappa q_2}{\text{C}_\text{H} N_e} \right) - \text{C}_\text{OH} \left(A'_{\text{OH}} - \frac{\kappa q_2}{\text{C}_\text{H} N_e} \right)}{r \left(A'_{\text{Na}} + \frac{\kappa q_2}{\text{C}_\text{H} N_e} \right)} \quad (6)$$

先にふれたように (6) 式を用いて求めた f の値は、熱力学的測定法によるものと一致しないことがあるばかりでなく、電気分解する電場の強さおよび流した全電気量 N_e に依存するので、 $N_e \rightarrow 0$ の極限での f 値を求めることが望まれている。⁹⁾ しかし N_e があまり大きくない限りでは、その差は省略できる。

(6) 式から得られた f は分子が棒状ならば Manning¹⁰⁾ の理論値 f と比較することができる。

電荷密度 β を持つ無限に長い棒を高分子イオンのモデルとし、パラメーター ξ を (7) 式で定義する。

$$\xi = e |\beta| / \epsilon k T \quad (7)$$

e は単位電荷, ϵ は溶媒の誘電率である。対イオンを 1 価であるとしよう。 $\xi > 1$ のとき、対イオンの高分子イオンへの凝縮により $(1 - \xi^{-1})$ だけ高分子イオンの荷電は中和され、凝縮されていない対イオンは Debye-Hückel 近似で扱われる静電的相互作用をうける。凝縮した対イオンは、対イオンの自己拡散係数に何の寄与もしないが、凝縮していないイオンは高分子イオンにより作られた電場中をブラウン運動によって拡散する。外部電場 E がかけられたとき局所的に不均一な高分子イオンにより作られた電場が高分子イオンの電気泳動速度 U_p と同一速度で外部電場方向に平行に移動すると仮定すると、対イオンの正味の流れ j_0 (イオン/cm²·sec) は次式で与えられる。

$$j_0 = e E (\zeta_0^0)^{-1} n_0 f + U_p E n_0 (1 - f) \quad (8)$$

ζ_0^0 は純溶媒中での対イオンの摩擦係数, n_0 は対イオンの濃度を示す。また f は計算の結果次式で与えられる。

$$\left. \begin{aligned} f &= 0.87 \xi^{-1} & \dots \dots \dots \xi > 1 \\ f &= 1 - \frac{0.55 \xi^2}{\pi + \xi} & \dots \dots \dots \xi < 1 \end{aligned} \right\} \quad (9)$$

Manning の理論においては、対イオンを自由なイオンと吸着したイオンとに分離していないことに注意せねばならないが、対イオンを自由なものと吸着したものに現象論的に分けて考えるなら、 f を自由な対イオンの割合とする式 (8) と同一式が得られるので、実験値と理論値 (9) を比較することができる。

代表的な高分子電解質に対しての理論的 f の値と実測値の一致の例を表 1 に示す。ビニール系高分子の荷電間距離は $2.5 \text{ \AA}$ ととられている。両者の一致はきわめて良い。PAA の場合 α の値の小さい領域で理論値との差が大きくなるが、これは低い解離域で高分子は棒状モデルの適用不可能なコイル状態をとるためと考えられる。

解離性ポリ- α -アミノ酸に関して f を実測した例はあまり多くない。代表的な PGA と Na^+ との相互作用も当然静電的なものと考えられる。¹¹⁾ PGA は水溶液中で α -ヘリックス $\rightleftharpoons$ コイル転移を解離度の変化によってする。ヘリックスにおいては非可撓性棒状分子とみなせるし、またコイルにおいても荷電間反撥によ

表 1. 対イオン吸着量の理論との比較

高 分 子	溶 媒	ξ	f 理論	f 実験
ポ リ リ ン 酸 塩	水	2.85	0.30	0.30 (対イオン Na^+) ¹²⁾
ポリビニールピリジニウム塩	"	"	"	0.30 (対イオン Br^-) ¹³⁾
ポリビニールベンジル トリメチルアンモニウム塩	"	"	"	0.28 (対イオン Cl^-) ¹³⁾
ポリビニールピリジニウム塩	エタノール	9.20	0.09	0.07 (対イオン Br^-) ¹³⁾
ポリスチレンスルホン酸塩 (アタクチック)	水	3.14	0.28	0.32 (対イオン Na^+) ¹⁴⁾
"	"	"	"	0.30 (対イオン H^+) ¹⁴⁾

ってのびた構造をもつのでこの領域でも棒状モデルが適用できる。そのために PGA は計算値 f と比較する好都合の試料である。

筆者らの実測値と Manning の理論との比較を図 1 に示す。この実測値は $C = (1.32 \sim 1.25) \times 10^{-2}$ mono-mole/lit, 流した電流は 2.00~2.40 mA, $N_e = (0.5 \sim 2.0) \times 10^{-4}$ 当量であり, 酸性域での C_H の計算には H^+ -イオンの活量係数の補正は行っていない。また理論曲線はヘリックスおよびコイル状 PGA の荷電間距離は各々 $1.5/\alpha$ (Å) および $3.6/\alpha$ (Å) として計算した。

PGA の対イオン吸着度 ($1-f$) の解離度 α への依存性は PAA の実測値に類似した傾向を示し, pH 滴定曲線にみられるような転移現象は $(1-f) \sim \alpha$ 曲線においては明らかに観測されない。Manning は筆者らの最初のデータを用いて理論と比較するとヘリックスとコイル転移が明瞭になり, ヘリックス領域およびコイル領域での実験値 f は理論値と合うと述べている。しかし最近同一実験を精密化した結果はコイル状態では計算値より小さい f 値を与える。伊勢らの Na-PGA ($\alpha=1.0$ の PGA) の f 値も同様に理論値より小さい。少なくとも高分子鎖の可撓性または Krimm らのいう無塩系の PGA やポリリジン (PLL) が完全解離した状態を取るポリプロリン-II 型に類似したヘ

リックスを考えたコイル状での実測値が計算値より少くなるとは考えにくい。

図 2 には ξ に対して吸着度 $1-f$ を描いている。線状荷電密度のみを考えるなら, 高分子の種類によらず同一の ξ に対して $1-f$ は同じくなるべきである。側鎖の非常に長いポリ- ϵ , N -サキシニルリジン (PSLL) に対しても実測値 (中和度=1.0, 対イオン Na^+) は Na-PGA とほとんど同様で, Manning の理論値より小さい。DL 型の PGA (PDLG) では図 1 の PGA (L-型) より幾分 f が大きい, これは実験誤差というよりもむしろ, PGA と PDLG の立体化学の問題に起因するものではないかとも考えられる。

用いた PDLG はベンゼン中で重合したものであるためかなりの量の DL 配列をもつので, f 値にも差が見出されたとの考えも可能である。pH 滴定においても PDLG は PGA よりもコイル領域でかなり高い表面電位をもつ。²¹⁾ (ジオキサン中で重合した PDLG は D-型高分子と L-型高分子のブロック構造になることが知られているので, ²⁰⁾ その場合には f に差は生じないであろう。) ともかくイオン吸着現象は一特に PGA, PSLL のごとく側鎖の長い高分子に対しては一線状荷電密度のみによって考察した理論値とは一致せず, f の別な決定因子があるのであろうか?

なお最近筆者らの研究室で, ポリリジン塩酸塩, ポ

図 1. PGA の対イオン Na^+ の吸着度 図 2. 吸着度 $1-f$ の ξ への依存性

リオルニチン塩酸塩、ポリ- α , γ -ジアミノ酪酸塩酸塩(側鎖が $-(CH_2)_n-NH_3^+Cl^-$ で n がそれぞれ 4, 3 および 2) について、対イオン Cl^- の活量を求めたところ、 f が n に多少依存することを見出した。²²⁾ ただしいづれも分子形態はコイル状である。

一方伊勢らは²³⁾イオン吸着現象を次のごとく考えている。

種々の高分子電解質(Na-DNA, Na-PGA, Na-PAA など)において f は高分子濃度依存性を示さず、また高分子イオンの種類に顕著に依存することより、高分子イオン間相互作用よりも高分子イオン内部の静電的な力や水和の度合によって f が決められることを示している。彼らは電縮により水和された水分子の体積を含んだ高分子イオンの大きさと関連させて f の説明を試み、 f を $V_{int} + nV_{H_2O}$ の 3 乗根に対して描くと明らかに直線関係があることを見出した。(図 3) ここに V_{int} は高分子イオン種の極限的体積、 n は水和分子数、 V_{H_2O} は電縮された水分子 1 個の体積である。この直線関係から体積の大きな高分子イオン程イオン吸着量は減少し、水和しやすい高分子イオン程イオン吸着量は少なくなる。また PAA に対する f の中和度依存性は、低い中和度の域では解離と共にイオン吸着と水分子の電縮が比例して増加するため f が増加し、高い中和度では水分子の電縮がイオン吸着より優先し、 f は飽和する傾向のあることを示した。

図 3. $f \sim (V_{int} + nV_{H_2O})^{1/3}$

PSSt: ポリスチレン

PEI: ポリエチレンジアミン

以上静電的な力による対イオン吸着現象は上記の二つの立場からの説明がなされているが、今後の研究によってより明らかにされるものと期待される。

静電的イオン吸着は高分子イオンと対イオンが直接結合しているものであろうか。興味あることは図 3 に示された直線関係は吸着された対イオンが水和殻の外側に存在していることを暗示していることである。池上²⁴⁾は中和度一定の $PAA-N^+(Bu)_4$ 溶液 ($N^+(Bu)_4$ は

テトラブチルアンモニウムイオン) に NaCl を添加した際の示差屈折率の変化から、 Na^+ の PAA への吸着に際しての体積変化 ΔV を調べた。($N^+(Bu)_4$ は高分子イオンには吸着しないことが知られている。) 添加した NaCl の一部 (ϵ) だけが高分子イオンに吸着するとして

の反応に基づく ΔV が観測される。

各種イオンの吸着に伴う ΔV はイオン種によって異なるが、 $\Delta V = b - a\epsilon$ の形で与えられ、 H^+ の場合は $\epsilon = 1 - \alpha$ である。(α は中和度) a は対イオンの種類によらず一定であり、 $a\epsilon$ は高分子イオンの荷電に依存して変化する脱水和の部分、 b は高分子イオン荷電に無関係な脱水和部分を示す。池上はこの ΔV を次のように解釈した。高分子イオンの周りの水和層は二つあって、一つは内側の層に存在する個々の解離基の水和に基づくものである。それゆえこの水和層は高分子イオン全体の実効荷電や周辺の電位の影響はうけない。これが b 項に対応する。他の一つは前者の外側に存在し、内層の多くの $-COO^-$ に配向する水和水の協同作用から生じたもので、高分子イオン周辺に独特の水構造部分を形成する。これは $a\epsilon$ 項に相当する。

Na^+ の PAA への吸着は $b=0$ であって、したがって Na^+ は外側の水和層に侵入してこれを破壊することに対応する。

一方 H^+ や 2 価カチオンの PAA への吸着は両層に侵入する。 Na^+ と H^+ の高分子イオンへの吸着の際にみられる ΔV の差は、静電的相互作用と共有結合の差異を直接示すものといえよう。

先に PGA の場合、pH 滴定曲線すなわち表面電位は転移域において明らかに異常な変化があるのに、対イオンの吸着に異常性のないことを示した。この領域では PGA はいわゆる“interpted-helix”として存在し、分子全体の形態はコイル状を呈するので、もちろん棒状モデルは適用できない。現在転移域における f を論議できる段階ではない。PGA の例でみられるように、高分子表面の電位と f は直接には関係した量ではないと考えられるが、表面電位の高いほど対イオンをより多く吸着することは十分考えられる。表面電位が α (中和度または解離度) の変化で大きく変る場合には、対イオン吸着の急変も考えうるがその良い例はポリ-S-カルボキシメチルステイン (PCMC) の

$\beta \leftrightarrow$ コイル転移の場合である。²⁵⁾ 図4に示した滴定曲線において明らかに β , 転移域, コイル状態がみられる。これらの各領域は β 型の形成と密接に関連した旋光分散定数 a_0 および赤外吸収変化と非常によく一致する。

図4. PCMC の pH 滴定曲線
(0.2M NaCl, 数値は試料番号)

β 型を単純なモデル, すなわち平板におきかえ, 電荷は一樣な面密度 σ で分布していると考えると, その平板上の表面電位は Poisson-Boltzmann 式より

$$\frac{e\psi_0}{kT} = 2 \sin^{-1} \left(-\frac{\kappa\sigma}{4\pi e} \right) - \frac{4\pi\sigma e}{DkT} (a-b) \quad (11)$$

で与えられる。ここで κ は Debye-Hückel パラメーター, n は 1-1 型の添加塩濃度, $2b$ は平板の厚さ, $a-b$ は対イオン半径である。 $a-b=0$, $pK_0=3.35$ を用いて計算した $pK_0 + \frac{e\psi_0}{kT}$ の値が図4に実線で示されている。実測値と計算値との一致は必ずしも満足いくものではないが, β -型の pH 挙動は近似的に式(11)で説明しうる。

PCMC の Wall の方法による電気伝導度より求めた対イオン吸着量を α の函数として図5に示す。特徴的なことは, PGA とは異なり構造変化に対応した域で pH 滴定曲線と類似した対イオン吸着曲線が得られることである。

図4に見られるように PCMC の β -型の表面電位はコイル状のそれよりも, またヘリックス状 PGA のそれよりも異常に高いので, β 型をとるような域で対イオン吸着量が増加し, PGA ではみられなかった $\alpha \approx 0.3$ に山をもつ $(1-f) \sim \alpha$ 曲線が得られたのではなからうか?

またコイル域における吸着度 $(1-f)$ が PGA のそれより10%程度小さいが, これは用いた PCMC の分子量が小さいため(重合度 ≈ 30)とも考えられ, 高重合物試料を多量に用いた今後の実験にまたねばならない。

図5. PCMC への対イオン Na^+ の吸着量
 $C = (0.93 \sim 1.32) \times 10^{-2}$ monomole/lit
 $I = 2.00\text{mA}$ $\text{Ne} = (0.45 \sim 1.50) \times 10^{-4}$ equiv.

以上述べたごとく, PGA および PCMC の例にみるように Wall の方法から求めたイオン吸着量は構造変化にはむしろ不敏感であるといえる。しかし対イオン活量の直接測定は PGA のヘリックス域, PCMC の β 域では容易でない。

グルタミン酸を含む共重合体でヘリックス $\rightarrow$ コイル転移と活量転移の相関が示されているだけである。²⁶⁾ 今後の理論的發展と実験技術の向上により, 転移域での f の挙動も明らかにされるであろう。

なおここで使用した PGA, PCMC への対イオン吸着度のデーターにより, ²⁷⁾ 伊勢と類似の方法でモノマーの泳動速度 U_p を求めてみたが, どちらも転移域で異常がみとめられたことを注意しておこう。

II 特異的相互作用

ポリカルボン酸と2価カチオンの相互作用に関しては数多くの研究がある。2価カチオンの吸着により PGA ではヘリックスが非常に安定化されることも知られ興味深い。ここでは解離性ポリ- α -アミノ酸と1価イオンとの特異的な相互作用について述べたい。

ポリメチオニン-S-メチルズルフォニウム塩においては, 高分子上の解離基は $\text{CH}_3\text{-S}^+$ であるが, 活量や伝導度から Cl^- , Br^- とは単なる静電相互作用よりしないのに反し, I^- , SCN^- , ClO_4^- とは特異的相互作用^{1, 28, 29)}をする可能性があることを筆者らが見出した。このとき無塩系水溶液中でコイル状にあるこのポリペプチド(PMM)は NaCl , NaBr の添加では単にコイルが縮まるだけであるが, NaI , NaSCN , NaClO_4 の添加で特別な二次構造を形成することも興味深い問題である。³⁰⁾ von Hippel らによると, I^- , SCN^- は高分子イオンとの間に特別な相互作用のない限り, 一般には蛋白質の高次構造の安定性を減少させるといわれている。

PMM は側鎖に3級ズルフォニウム基を持ち, 4

級アンモニウム基をもつ高分子電解質と側鎖の構造が類似している。4級アンモニウム基をもつ高分子イオンとハロゲンイオン間の相互作用の特異性は多く³¹⁾の研究者によって注意されている。PMM も I^- , SCN^- とは静電相互作用以外の結合をする可能性は十分で、その特異的力が二次構造を誘起する因子になっているのであろう。

また I^- および SCN^- 塩では β 型が ClO_4^- 塩では α -ヘリックスが作られることは、対イオンの強い吸着により側鎖の大きさまたは立体的特徴が両者で異なってしまうからではなかろうか？

以上の PPM による筆者らの仕事にも見られるように、塩基性ポリ- α -アミノ酸には I^- , SCN^- , ClO_4^- などが特異的に作用する場合が多い。

³²⁾Ciferri らは高濃度の $KSCN$, KCl および KF の下でポリリジン (PLL) の pH 滴定をなし、旋光分散の結果と併せて PLL と対イオン相互作用の研究を行なった。この場合塩濃度とともに (1) ヘリックスは低い解離度で安定化し、(2) 固有解離定数 pK_0 が増加し、(3) $pK_{app} \sim \alpha$ 曲線の勾配が減少することが見出された。この塩効果は単に塩による荷電の遮蔽に基づく一般的な静電相互作用からも期待されないものではないが、 KF や KCl に比べて $KSCN$ で著しく現われ、特に興味あることは I^- および SCN^- がヘリックスを非常に安定化することである。PLL がコイル形態をとる $pH=3\sim 4$ の域でも 0.4 MKSCN は PLL を完全にヘリックス化する。

SCN^- は先にも述べたように等電状態にある一般の蛋白質を変性させる作用があるといわれている。PLL-KSCN 系に対してはこれとは逆で、彼等はこの二つの型を

PLL-KSCN 系

蛋白-KSCN 系

が支配的であると推定している。

また少なくとも Cl^- は PLL と正常の静電相互作用を考えても良いことも示している。

一方転移の自由エネルギー ΔG_{hel}^0 は非荷電コイルへ非荷電ヘリックスからの転移に関係した量で、イオン間相互作用は寄与しないと考えられる。

PLL の ΔG_{hel}^0 は表 2 に示されているが、 $0.1\sim 0.7$

M の域で KF , KCl 濃度にはあまり依存せず、 0.1 M KSCN 中でも同様な値になってしまう。この結果もまた等電状態にある蛋白質に対して $F^- < Cl^- < SCN^-$ の順でヘリックスを不安定化する結果とは矛盾する。それで少なくとも 0.1 M KSCN までは PLL-KSCN 系では式 (13) のような SCN^- のペプチド結合への吸着は少ないと考えるべきではなかろうか。

またポリペプチドの形態にはほとんど依存しないと思われる次の反応

があるかもしれないが、対イオンと副イオンとのイオン雰囲気によって、この反応によるヘリックスの不安定化への寄与は無視できるものと考えられる。

最近筆者らの研究室で PLL-KCl, PLL-KSCN, PLL-NaCl, PLL-NaSCN 系において、PLL がコイル状態であつた Cl^- , SCN^- が 0.1 M 以下の対イオン Cl^- , SCN^- の活量とその加算性をたしかめた。対イオン吸着度は Cl^- が数%少ないけれど、式 (1) は完全に成立し、Ciferri らと同様に 0.1 M 以下の塩濃度では PLL と Cl^- , SCN^- は静電相互作用すると思われる。吸着度のわずかな差はイオンの水和度によるのであろうか。

またポリオルニチン (PLO), ポリ- α , γ -ジアミノ酪酸 (PDABA) でも対イオン濃度 0.1 M 以下では全く同様であった。

しかし SCN^- 濃度が 0.1 M 以上になると PLL, PLO などと SCN^- の特異的相互作用が出てくると考えられる。

表 2. PLL の ΔG_{hel}^0 (cal/monomole)

T °C	C, M	KCl	KSCN	KF
25	0.1	-84	-88	-94
	0.4	-85		
	0.7	-103		

最近筆者らが誘電分散法により、PLL と対イオンとの特異的相互作用を調べた結果を述べる。溶液中のポリアミノ酸の誘電分散にはヘリックス状分子上の永久双極子の運動が関与していることは良く知られて³³⁾いる。無塩系のヘリックス状 PLL においても、分子上双極子能率 μ は略々重合度に比例し、また高分子濃度 $C \rightarrow 0$ においてその緩和周波数 f_m は重合度の略々二乗に逆比例した。ここに f_m は誘電損失が最大とな

る周波数である。用いた重合度は300~1500であるが、この場合の f_m は100 KHz~10 KHz の間にある。

しかし PLL-HCl の水溶液では図6に示すように7KHz, 290KHz に二つの分散が認められた。 $C \rightarrow 0$ の極限で低周波 (l) の緩和周波数 f_{lm} の重合度依存性をみると

$$f_{lm} \propto (DP)^{-1.2 \pm 0.2} \quad (15)$$

となり, Mandel らが PMA の K 塩で得た $f_m \propto (DP)^{-1}$ に一致し, PLL のヘリックス状の f_m の重合度依存

図 6. PLL-HCl の誘電分散

性は全く異なってしまう。彼らは PMA の K 塩などの分散を高分子イオンに固定された対イオンの分布から生ずる分極を考えた。

$$\left. \begin{aligned} f_m &= \frac{1}{2\pi\tau} \\ \tau &= \frac{l^2}{12D} \end{aligned} \right\} \quad (16)$$

ここに D は高分子イオンに固定されている対イオンの長軸方向の平均拡散常数である。

また l を長く伸びた高分子イオンの軸長, N_0 をアボガドロ数, z は荷電数, α は中和度, 吸着対イオンの割合を $(1-f)$ とすると

$$\epsilon_0 - \epsilon_\infty = (4\pi e^2 N_0 z / 9 \times 10^3 k T) C \alpha (1-f) l^2 \quad (17)$$

Mandel らのごとく $D = 10^{-5} \text{ cm}^2/\text{sec}$ を PLL-HCl にもつまい, またアミノ酸残基の長さを $3.6 \text{ \AA}$ とすると $f_{lm} = 7 \text{ KHz}$ となり図6の低周波分散に一致する。さらに $[(\epsilon_0 - \epsilon_\infty)/C]_{C \rightarrow 0}$ の f_m 依存性も Mandel ら

表 3. PLL-HX 塩の水溶液中の誘電分散

対イオン	C g/lit	$(\epsilon_0 - \epsilon_\infty)/C$ lit/g	f_{lm} KHz	f_{hm} KHz
Cl ⁻	0.702×10^{-2}	1200 ± 60	7.2 ± 0.4	290 ± 20
ClO ₄ ⁻	0.740×10^{-2}	840 ± 54	$3 \sim 3.6$	180 ± 20
	1.48 "	880 ± 27	4.2 ± 0.2	200 ± 10
	2.22 "	760 ± 18	4.8 ± 0.2	250 ± 20
	3.78 "	620 ± 11	5.4 ± 0.2	

の理論と良く合う。

これから PLL-HCl 塩の低周波分散は対イオンの動きの緩和によると考えられる。

対イオンを変えて Br⁻, ClO₄⁻, SCN⁻, NO₃⁻ にすると, 水溶液の低周波分散がかわる。しかし ϵ_{10} を推定できたのは ClO₄⁻ の場合だけであったので, この場合を Cl⁻ の場合と比較して, 表3に示す。

特記すべきは f_{lm} が ClO₄⁻ は Cl⁻ のときの略々 $\frac{1}{2}$ である。

このことは ClO₄⁻ が Cl⁻ の場合より D の減少があると考えられ, 静電相互作用以外の特異的相互作用で PLL に ClO₄⁻ が吸着されていることを意味するのではなかろうか?

100KHz 以上の高周波 (以下 h とする) にあらわれる分散は, 高分子イオン相と溶媒相との対イオンの伝導の差に基因する ^{Maxwell-Wagner-Sillars} 効果であるとする,

$$2(\sigma_s/\epsilon_s) > (f_{hm})_{MWS} > 2\sigma_s/\epsilon \quad (18)$$

ここに σ_s , ϵ_s , ϵ はそれぞれ溶液の伝導度, 溶媒の誘電常数および溶液の誘電常数である。

PLL-HCl など σ_s , ϵ_s , ϵ の値を入れてみると $(f_{hm})_{MWS} > 100 \text{ KHz}$ となり表3の結果に一致するが, ただ対イオンによるその変化などは今後の研究課題で, しかしイオンの吸着に関係して興味ある問題である。

以上 PMM ならびに PLL で調べてきたように, SCN⁻ や I⁻ がポリ- α -アミノ酸と特異的に作用する根本的機構にもう一度目をむけてみる。

ハロゲンイオンの性質として, F⁻ は水を引きつけて構造を作り, Cl⁻ < Br⁻ < I⁻ < SCN⁻ の順で水の会合を解く。この効果に基因して, 水が疎水性物質に対して貧溶媒 (salting-out をおこす) あるいは良溶媒 (salting-in をおこす) となるのがいくつかの4級アンモニウム塩の比容, 活量の測定から示唆されている。また上と同じ順列で水-炭化水素界面にイオンが接近

一方 LiCl 水溶液中で、PGA の $\Delta G_{hel}^{32)}$ は塩濃度と共に減少する。Fasman³⁹⁾ らおよび Barone⁴⁰⁾ らは Li⁺ による PGA ヘリックスの不安定化を指適しており、これは式 (13) で示されるペプチド結合部への Li⁺ の結合によると考えられている。また 0.1M 以上の塩濃度での $pK \sim \alpha$ 曲線の勾配はコイル域ならびにヘリックス域で共に KCl より LiCl の方が小さく、これは赤外吸収および NMR から Li⁺ は PGA の γ -カルボキシル基と結合するという結果と矛盾せず、LiCl が KCl

結語 解離性ポリ- α -アミノ酸と1価イオンとの相互作用に関する最近の研究状況を、特にその二次構造に注目して述べた。生体高分子の電解質的特性の最も基礎的な問題として、今後の発展が期待される。

- 5) 今井宜久: “生体高分子” (大沢, 今堀編) 130, 朝倉書店, 東京 (1965)
- 6) L. Kotin, M. Nagasawa: *J. Chem. Phys.*, **36**, 873 (1962)
- 7) J. R. Huizenger, P. F. Grieger, F. T. Wall: *J. Am. Chem. Soc.*, **72**, 2636 (1950)
- 8) J. R. Huizenger, P. F. Grieger, F. T. Wall: *J. Am. Chem. Soc.*, **72**, 4228 (1950)
- 9) F. T. Wall, H. Terayama, S. Techakumpuch: *J. Poly. Sci.*, **20**, 477 (1956)
- 10) G. S. Manning: *Biopolymers* 印刷中
- 11) M. Nagasawa, A. Holtzer: *J. Am. Chem. Soc.*, **86**, 563 (1964)
- 12) F. T. Wall, R. H. Doremus: *J. Am. Chem. Soc.*, **76**, 868 (1954)
- 13) R. L. Darkus, D. O. Jordan, T. Kurucsev: *Trans. Farad. Soc.*, **62**, 2876 (1966)
- 14) D. O. Jordan, T. Kurucsev, M. L. Martin: *Trans. Farad. Soc.*, **65**, 606 (1969)
- 15) 7), 8) 参照
- 16) F. T. Wall, W. B. Hill: *J. Am. Chem. Soc.*, **82**, 5599 (1960)
- 17) S. Sugai, K. Nitta: *Biopolymers*, **7**, 49 (1969)
- 18) N. Ise, T. Okubo: *Macromolecules*, **2**, 401 (1969)
- 19) S. Krimm, J. E. Mark: *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **60**, 1122 (1968)
- 20) G. Spach: *Comp. Rend.*, **249**, 543 (1959)
- 21) D. S. Olander, A. Holtzer: *J. Am. Chem. Soc.*, **90**, 4549 (1968)
- 22) 相沢, 牧野, 須貝: 未発表
- 23) 伊勢: 「高分子化学」 **27**, 193 (1970)
- 24) A. Ikegami: *J. Poly. Sci.*, A-2, 907 (1964)
- 25) S. Makino, S. Sugai: *Biopolymers*, **9**, 1049 (1970)
- 26) H. Block, J. A. Kay: *Trans. Farad. Soc.*, **64**, 2433 (1968)
- 27) T. Okubo, N. Ise: *Macromolecules*, **2**, 407 (1969)
- 28) S. Makino, S. Sugai: *J. Poly. Sci.*, A-2, **5**, 1013 (1967)
- 29) S. Makino, S. Sugai: *Biopolymers*, **6**, 551 (1968)
- 30) P. H. von Hippel, K. Y. Wong: *Science*, **145**, 577 (1964)
- 31) I. Noda, I. Kagawa: 「工業化学雑誌」 **68**, 987 (1965)
- 32) A. Ciferri, D. Puett, L. Rajagh, J. Hermans, Jr.: *Biopolymers*, **6**, 1019 (1968)
- 33) A. Wada: *J. Chem. Phys.*, **29**, 674 (1958)
- 34) M. Mandel, A. Jenard: *Trans. Farad. Soc.*, **59**, 2158 (1963)
- 35) M. Mandel: *Mol. Phys.*, **4**, 496 (1961)
- 36) W. Y. Wen, S. Saito, C. M. Lee: *J. Phys. Chem.*, **70**, 1244 (1966)
- 37) J. E. B. Rands: *Disc. Farad. Soc.*, **24**, 194 (1957)
- 38) S. Saito: *J. Poly. Sci.*, A-1, **7**, 1789 (1969)
- 39) G. D. Fasman, C. Lindblow, E. Bodenheimer: *Biochemistry*, **3**, 155 (1964)
- 40) G. Barone, V. Crescenzi, F. Quadrioglio: *Biopolymers*, **4**, 592 (1966)
- 41) P. H. von Hippel, T. Schleich: “Structure and Stability of Biological Macromolecules” (ed S. N. Timasheff, G. D. Fasman) **2**, 417, Marcel Dekker, Inc., New York (1969)

現代科学

A. W. Rogers / 加藤幹太訳

オートラジオグラフィーの技術

ここ10年余の間、急速に進展を遂げたオートラジオグラフィーの技術は現在生物学の分野では生化学・生理学・細胞生物学などの研究に不可欠の技術となっている。広範囲にわたる様々な研究を総合して指針を与えることは至難なことであるが、著者はこの役割を果たし、特に本書によって始めてなしとげられた数多の技術はまさにユニークの一言につきる。生物学研究者には必読の書であろうし、また化学者全般に好個の参考書となることを確信する。

【¥2,400】

K. S. Cole / 岸本卯一郎・向畑恭男訳

膜, イオン, インパルス

— 古典的生物物理学の一章 —

過去50年にわたり、この分野の研究一筋に歩みつづけている著者が、自ら開発してきた多くの業績を中心に、現在に至る研究の進歩を解説。そこには、実験・解析・理論の密接な共同作用が克明に浮きぼりされている。特に厳正な条件の規制が各頁にあまるところなくうかがえ、膜の生物物理を志す研究者には必読の成書であり、細胞生理学、物理学、工学、化学の専門家にも極めて有用な参考書である。

【上巻 ¥1,700・下巻 ¥2,200】

発売元 丸善 東京 日本橋

発 京都市左京区田中門前町 吉岡書店
行 振替 京 都 4 6 2 4