高分子の存在下における水の構造

前田 寧／北野 博巳

Yasushi Maeda／Hiromi Kitano, 富山大学工学部

1. はじめに

水は生命の存立に不可欠な溶媒としての重要性から、また 4℃ 付近で最も密度が高くなる、他の液体に比べて著しく大きな比熱を持つといった特異な物理的性質のために、古くから非常によく研究されてきており、最もよく調べられた液体であると言える。水の特異な性質は、水分子同士が互いに水素結合することにより形づくる“構造”に由来するが、その構造に関しては未解決の問題が多く残され、現在でも盛んに研究が行われている。また、タンパク質や核酸をはじめとする水溶性高分子が、水との相互作用によって、その性質や構造、機能に大きな影響を受けることや、逆に高分子の水和水や高分子ゲル中の水が、運動性、凍結-融解挙動等の性質においてバルク水と異なることが知られ、高分子と水の相互作用の重要性に関しては論を待たない。ここでは、高分子存在下における水の構造と性質に関する研究の最近の進展を概説する。

2. 液体水の構造

はじめに、液体水において“構造”とは何を意味するかを考えてみたい。水の構造は水の構造と違ってよ

く理解されており、最も安定な構造は六方晶水（氷 I_h ）で、各酸素原子は約 2.76 Å 隔たったところにある 4 個の隣接酸素原子によって四面体状に囲まれて水素結合で結ばれている（図 1）。水分子の回転（ τ_R ）および並進の緩和時間（ τ_D ）が氷中ではおよそ 10^{-6} s であるのに対して、液体水中では 10^{-12} s 程度であり、水分子は水中では氷中に比べて非常に速く位置、配向を変えている。したがって液体水の構造は、水素結合をたえず生成・消滅させながら拡散により刻々と変化している動的な構造であるといえる。このため観測法の時間分解能により異なった像が得られる。具体的には、 τ_D や τ_R より高い時間分解能を持つ振動分光法、中性子非弾性散乱法では、水分子の配向、移動に関して平均化されることのない構造（V-構造）に関する情報が得られるのに対して、他の観測法では拡散によって平均化された構造（D-構造）に関する情報が得られる。種々の測定法で得られる水の構造に関する知見に基づいて、1930 年代以降数々の構造モデルが提案されてきたが、クラスターモデル¹⁾と乱れた網目モデル（random network model）²⁾の二つの流れに集約されてきている。前者は、二～十数個の水分子が水素結合して作るクラスターと単量体との混合系からなるとするモデルで、後者では各水分子は隣接分子と水素結合をしているが、その結合はかなり歪んでおり、全体として無秩序な網目構造をとると考える（図 1）。近年、モンテカルロ（MC）法・分子動力学（MD）法をはじめとしたコンピュータシミュレーションの発達により、水の構造を直接計算してモデル化する方法が急速に進歩した³⁾。シミュレーションでは、実験では得られない分子の瞬間的な配置を表す I-構造や、水素結合の長さや歪みに関する情報、速度相関関数のような動的な性質に関する知見が得られ、実験と理論の間にあつて重要な役割をはたしている。

液体水の構造と性質を決める上で、水素結合は非常

Structure of Water in the Presence of Macromolecules

前田 寧 富山大学工学部化学生物工学科(930 富山市五福 3190)、助手
1987 年京大大学院修士課程高分子化学専攻修了。同年住友化学入社、
1992 年より富山大工学部助手。専門は生体高分子、現在の研究はラマン
分光法による生体関連分子間の相互作用の解析。

<趣味>音楽鑑賞、山登り

北野博巳 同上・教授、工博(写真左)

1978 年京大大学院博士課程高分子化学専攻修了。京大工学部助手、講師を経て、1991 年富山大工学部助教授、1992 年教授。専門は高分子界面科学。現在の研究は高分子と水との相互作用、界面における分子認識の動力学。

図 1 氷・液体水の構造

に重要であるが、最近、超臨界状態の水の水素結合について興味深い報告がなされている。350°C、250 atm 以上の高温高压下では水は超臨界状態になり、例えばベンゼンや炭化水素のような非極性化合物と相溶するようになる等、通常の液体水の性質とは大きく異なる性質を示すことが知られている。この超臨界水の中性子回折が測定され、25°C で 1.9 Å にみられる水素結合した水分子間の O-H 間距離に対応する動径分布曲線のピークが、400°C では消失し水素結合が完全に切れていることが示された⁴⁾。また MC 法によるシミュレーションでは、液体水でみられる添加したベンゼンのまわりの疎水性水和にともなう氷状クラスターの形成が、超臨界水では認められないことが示された⁵⁾。水も水素結合がなければ、あたかも非極性溶媒のように振る舞うのである。

3. 振動分光法による水の構造解析

X 線・中性子回折、NMR、超音波吸収、誘電緩和等、水の構造と物性を解析する様々な測定法の中で、振動分光法は分子振動という非常に速い運動（例えば O-H 伸縮振動の周期 $\tau=10^{-14}$ s）をプローブとして用いているので、きわめて短い時間における分子の相対的な位置についての知見が得られ、水の構造（V-構造）を解析するための有力な手段として用いられてきた。ここではまずラマン分光法による水の解析について述べる。水の主なラマンバンドは、2,800~3,800 cm^{-1} に現れる O-H 伸縮振動帯と 1,645 cm^{-1} 付近に現れる O-H 変角振動帯からなる。このうち水の構造の解析に用いられるのは主に O-H 伸縮振動帯で、概

図 2 純水およびポリエチレングリコール (分子量 50,000) 溶液の O-H 伸縮ラマンバンド (25°C)⁸⁾

ね約 3,250 cm^{-1} と約 3,400 cm^{-1} に極大がある二つの成分からなる (図 2)。液体水の O-H 伸縮バンドが非常に幅広いのは、(1) O-H 振動子間の水素結合強度のゆらぎにより O-H 振動子のばね定数が広い分布を持つ、(2) 振動数が近い O-H 振動子が水素結合しているとき、O-H 振動子間の強いカップリングにより振動の共鳴が起こり振動数がシフトする という二つの理由による。少量の HOD を含む D_2O 溶液中のように O-H 振動子が O-D 振動子に囲まれてカップリングしていないとき低波数側バンドは消失する (図 2)。このデカップルされた O-H 伸縮振動のバンド幅は第一の機構で説明でき、O-H 振動子のエネルギー分布が非常に広い、すなわち、O-H 振動子が置かれている微視的静電場が非常に多様であることを示している。また低波数側バンドは強く偏光しており、入射レーザー光の偏光面に対して垂直な偏光面を持つ成分

表 1 種々の高分子の N 値

Polymer	N
$-(\text{CH}_2-\text{CH})_n-$ COONa	8.7
$-(\text{CH}_2-\text{CH})_n-$ CH ₂ NH ₃ Cl	7.6
$-(\text{CH}_2-\text{CH})_n-$ COOH	3.4
$-(\text{CH}_2-\text{CH})_n-$ CONH ₂	3.2
2.3
$-(\text{CH}_2-\text{CH})_n-$ CONH-iPr	2.1
$-(\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-)_n-$	1.0
$-(\text{CH}_2-\text{CH})_n-$	1.0

(垂直成分)では完全に消失する。Belch らは先に述べた random network model に基づく振動解析により、低波数側バンドが水素結合によりカップリングした O-H 振動子の集合的な伸縮振動によるラマンバンド (collective band) であることを示した⁸⁾。したがって、この collective band の相対的な強度 (C) を調べることによって、水中でどの程度 O-H 振動子がカップリングしているかが評価できる⁷⁾。純水および水溶液中において O-H 振動子間のカップリングに欠損が生じる機構には二つあり、一つは隣接の O-H 振動

子の振動数が大きく異なる場合 (bond defect) で、二つめは配位数の減少 (水素結合の切断) により共鳴できる振動子が少なくなることによるもの (network defect) である。純水では、温度の上昇にともなう、水分子の配向および O-H 振動子の振動数のゆらぎが増大することによりカップリングの欠損が起こり C が低下する^{7a)}。

高分子水溶液中では、ポリマー濃度の増加にともない C が低下する (図 2)。一方、高分子水溶液中の O-H 振動子でデカップルされた O-H 振動子のスペクトルは、純水 (HOD/D₂O) のものとほとんど変わらない。このことは、高分子の溶解によって O-H 振動子のエネルギー分布自体は変化しない、すなわち bond defect の寄与は小さいことを示している。したがってポリマー添加による C の低下は、高分子鎖の水和により水分子の位置や配向が変化し、水分子間の水素結合が切れるために生じる network defect に起因するといえる。ポリマー溶液中の C を、純水中での値と比較することにより、高分子鎖の存在によって生じるポリマーのモノマーユニットあたりのカップリングの欠損数すなわち水分子間の水素結合の欠損数 (N) を評価することができる⁸⁾。N 値はポリビニルピロリドン<ポリエチレングリコール<ポリ-N-イソプロピルアクリルアミド<デキストラン<ポリアクリルアミド<ポリアクリル酸<ポリアリルアミン塩酸塩<ポリアクリル酸ナトリウムの順で大きくなった (表 1)。N は比較的水性が高いものでは小さい値を、親水部の割合が高いもの、解離基を持つものでは大きな値をとる。このことから、疎水部のまわりでは水分子間の水素結合が促進され、逆に親水部および対イオンのまわりでは水素結合が破壊されているものと推定される。

さらに同濃度の高分子溶液では分子量の増加にともない、またポリアクリルアミドゲル中では架橋度の増

図 3 Collective Band の相対強度と分子量、架橋度の関係 (25°C)^{8),9)}

PEG: ポリエチレングリコール
PAAm: ポリアクリルアミド
PAA: ポリアクリル酸

架橋度: メチレンビスアクリルアミド濃度 (mol%)

加にともなう、C が顕著に減少する (図 3)^{8),9)}。ゲルや高分子量のポリマー溶液中には、架橋あるいは絡み合いによる高分子鎖の網目に囲まれた小空間中の水 (interstitial water) が存在する。そのサイズがある臨界値以下になると水分子の配向が制限され、長距離の分子間カップリングが抑制されるために C が減少すると考えられる。小空間中の水のラマンバンドの変化は多重層脂質膜ラメラ間の水においても見いだされている¹⁰⁾。

O-H 伸縮振動帯を用いた同様な水の構造解析は赤外分光法によっても行われている。草薙はポリマー収着水の対称伸縮振動数と逆対称振動数の関係から高分子の親・疎水性を評価できることを示している¹¹⁾。また、アミノ酸の親・疎水性を表し、タンパク質の一次構造から高次構造を推定するための重要なパラメータである hydropathy index を、アミノ酸の水和殻中の水分子同士の水素結合の程度によりシフトする O-H 伸縮赤外バンドのピーク位置から求める方法が提案されている¹²⁾。

4. タンパク質溶液中の水の構造

高分子と水との相互作用の中で、最も精力的に研究が行われているのは、タンパク質の水和に関してである。タンパク質表面にはアミノ酸残基の性質により親水的な領域と疎水的な領域が混在する。さらにタンパク質は水溶液中で特定の構造をとるため、コンホメーションに依存したより特異的な水と高分子の相互作用が存在する。このため、他の水溶性高分子の水和と比べて、タンパク質の水和はかなり複雑である。結晶水の場合を除いて、従来の方法ではこれらの様々な環境下にある水の構造および性質に関して平均値としての情報しか得られなかった。近年急速に発展しつつある多次元 NMR、および MD 法により、それぞれのアミノ酸残基に水和した水分子の構造と運動性に関する知見が得られるようになった。

MD 法による解析では、タンパク質表面の親水部と疎水部に水和した水の間の構造と性質の違いが明らかにされつつある。例えば、Kitao らは、ハチ毒中に含まれる 26 アミノ酸残基からなるペプチドであるメリチンの水和を解析し、解離基、親水基、疎水基の第一水和殻中の水をそれぞれ C1, P1, N1, バルク水を B とすると、水分子間の平均水素結合数は $P1 (2.4) < C1 (2.9) < N1 (3.3) < B (3.7)$ の順に増加すること、また水素結合の寿命は $P1 < C1 = N1 = B$ の順に長くなることを示した¹³⁾。また Knapp らはウシスイ臓トリプシンインヒビター (BPTI) の水和水の拡散速度を解析し、親水基に水和した水分子

の拡散速度がバルク水の 1/4 であるのに対して、疎水基に水和した水分子の拡散速度は 15 倍速いことを示した¹⁴⁾。さらに、Kitchen らは BPTI の水和の圧力依存性を解析し、加圧により水の構造の秩序が増すが、非極性部に水和した水はその程度が大きいことを示した¹⁵⁾。これらの結果は親水性あるいは疎水性の低分子化合物について実験的に求められた水和水の構造や性質と一致している。

また、多次元 NMR 法は、Wüthrich らによるテンダミスタット (α -アミラーゼインヒビター) の構造決定以来、多くのタンパク質の構造解析に適用され、X 線結晶解析と並んでタンパク質の立体構造解析の標準的方法となりつつある¹⁶⁾。NMR による方法は、タンパク質が実際に機能する水溶液中で、pH、温度、イオン強度等の溶液の条件を広く変えて構造を決定できるという点で X 線解析より優れているが、さらにタンパク質の核と水分子のプロトンとの核オーバーハウザー効果 (NOE) を観測することにより、部位特異的な水和構造の解析にもその適用範囲を広げている。Kriwacki らは ¹⁵N 標識した大腸菌のシャペロンタンパク質 (DnaJ) を pulsed field gradient 法で解析することにより、それぞれのアミド基と水とのプロトン交換速度や水和水の寿命が測定できることを示した¹⁷⁾。また、タンパク質-DNA 複合体中で、タンパク質と DNA の界面にあって両方に水素結合し、塩基配列特異的な認識会合に重要な役割をはたしている水分子の寿命が、複合体の寿命より短く、コンホメーションのゆらぎにともないたえず置きかわっていることが示された¹⁸⁾。

5. おわりに

水の構造と水和に関しては、もう半世紀以上も議論されている古い問題ではあるが、解析法の発達と相まって、新しい局面を迎えている。ここで紹介した高分子水溶液中での水の構造も含めた全ての現象を統一的に説明できる理論の構築が望まれる。

文 献

- 1) B.R. Lent., A.T. Hagler, H.A. Scheraga: *J. Phys. Chem.*, **78**, 1531 (1974)
- 2) a) F.H. Stillinger: *Science*, **209**, 451 (1980)
b) S.A. Rice, M.G. Sceats: *J. Phys. Chem.*, **85**, 1108 (1981)
- 3) a) S.C. Farantos, S. Kapetanakis, A. Vegiri: *J. Phys. Chem.*, **97**, 12158 (1993)
b) C.J. Tsai, K.D. Jordan: *J. Phys. Chem.*, **97**, 11227 (1993)
- 4) P. Postorino, R.H. Tromp, M-A. Ricci, A.K. Soper, G.W. Neilson: *Nature*, **366**, 668 (1993)

- 5) J. Gao : *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 6893 (1993)
- 6) A.C. Belch, S.A. Rice : *J. Chem. Phys.* **78**, 4817 (1983)
- 7) a) J.L. Green, A.R. Racey, M.G. Sceats : *J. Phys. Chem.*, **90**, 3958 (1986)
b) J.L. Green, A.R. Racey, M.G. Sceats : *J. Chem. Phys.*, **86**, 1841 (1987)
c) D.E. Hare, C.M. Sorensen : *J. Chem. Phys.*, **96**, 13 (1992)
- 8) Y. Meada, N. Tsukida, H. Kitano, T. Terada, J. Yamanaka : *J. Phys. Chem.*, **97**, 13903 (1993)
- 9) T. Terada, Y. Meada, H. Kitano : *J. Phys. Chem.*, **97**, 3619 (1993)
- 10) M. Lafleur, M. Pigeon, M. Pézolet, J.P. Caillé : *J. Phys. Chem.*, **93**, 1522 (1989)
- 11) 草薙 浩 : 高分子, **42**, 314 (1993)
- 12) D. Hecht, L. Tadesse, L. Walters : *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 3336 (1993)
- 13) A. Kitao, F. Hirata, N. Go : *J. Phys. Chem.*, **97**, 10223 (1993)
- 14) E.W. Knapp, I. Muegge : *J. Phys. Chem.*, **97**, 11339 (1993)
- 15) D.B. Kitchen, L.H. Reed, R.M. Levy : *Biochemistry*, **31**, 10083 (1992)
- 16) K. Wüthrich : *NMR of Proteins and Nucleic Acids*, Wiley, New York (1986)
- 17) R.W. Kriwacki, R.B. Hill, J.M. Flanagan, J.P. Caradonna, J.H. Prestegard : *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 8907 (1993)
- 18) Y.Q. Qian, G. Otting, K. Wüthrich : *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 1189 (1993)

《求人》・《求職》

■ 求人・求職欄利用のご案内

求人・求職欄申込書に所定事項記入のうえ、掲載手数料を添えてお申し込み下さい。

〔掲載〕 掲載申込締切は毎月15日で、翌々月の1日に発行される本誌に掲載します。求人にはP、求職にはJで始まる一連の整理番号を付して掲載します。ただし、求職者の掲載回数は3回までで、引き続き掲載する場合は改めてお申し込み下さい。

〔掲載手数料〕

1) 求人枠組広告掲載手数料(1回当たり)B5判1/5ページ(天地3.5×左右15cm、活字の大きさは12級、最高字数360字)料金23,690円、匿名手数料は基本料3,605円、

照会1件につき1,751円。

維持会員の料金は20%引き

賛助会員の料金は10%引き

2) 求人欄掲載手数料(1回当たり)

8行まで 6,489円(12,978円)

12行まで 8,858円(17,716円)

1行15字、()内は会員外料金、

匿名手数料は基本料3,605円、照会

1件につき1,751円、ただし、維持

会員は年3回(1回12行まで)無料、

賛助会員は年1回(12行まで)無料、

3) 求職欄掲載手数料(1回当たり)

4行まで 無料 (5,871円)

6行まで 1,236円(7,107円)

1行15字、()内は会員外料金

〔原稿の書き方〕1) 所定の用紙

(求人・求職欄掲載申込書)を使用

して下さい。2) 求人の原稿は、

求人側の必要事項として、会社概要や希望職種などを明記して下さい。他に制限はありません。

3) 求職の原稿は、求職の希望、専攻、経験年数、学位、年齢などを明記して下さい。

〔応募・照会〕1) 求人に対する応募は、求人Pナンバーを記して直接求人側に連絡して下さい。匿名の場合は本会に照会して下さい。

2) 求職に対する照会は、求職Jナンバーを記して本会に、書面でご連絡下さい。

〔その他〕1) 求人(匿名の場合)・求職の機密は厳重に保持します。

2) 本会は求人・求職欄を利用した結果に対する一切の責任を負いません。

▶「高分子」に掲載する広告は、**共栄通信社**が取り扱っております。掲載料は表Aのとおりです。

▶表紙はカラー印刷をしておりますので表4の料金はカラー料金です。表2, 3はモノクロ料金を表示してあります。カラーの場合は次のようになります。

表紙2=210,000円

表紙3=170,000円

▶本文中に掲載する広告(表B)。

表A (共栄通信社)

名称	サイズ (B5判)	横×縦 (cm)	広告料 (円)
表紙2	1	15×22	140,000
表紙3	1	15×22	110,000
表紙4	1	15×22	250,000
目次1	1/2	15×11	75,000
目次4	1	15×22	120,000
前付	1	15×22	100,000
綴込 90kg>1枚	B5判		170,000
90kg<1枚	B5判		270,000

☎ 03-3572-3381/06-362-6515

表B (高分子学会)

記号	サイズ (B5判)	横×縦 (c)	広告料 (円)
A	1	15×21	90,000
B	1	15×21	120,000
(巻頭言対向頁)			
C	1/2	15×10	50,000
D	1/3	15×7	40,000
E	1/4	15×5	30,000
TR	1	15×21	120,000
	1/2	15×10	60,000

(TR=テクニカルレポート)

☎ 03-3543-3772