

水溶液中における生体分子の安定性に対する
統計熱力学的研究

今井隆志

博士 (理学)

総合研究大学院大学
数物科学研究科
機能分子科学専攻

平成11年度
(1999)

目次

第1章 背景	1
1.1 タンパク質	1
1.1.1 タンパク質の構造	1
1.1.2 タンパク質の安定化因子	4
1.1.3 タンパク質の変性	6
1.2 イオンの水和	7
1.2.1 水和イオンの性質	7
1.2.2 イオンの水和構造	9
1.3 本研究の目的	12
第2章 理論	16
2.1 RISM理論	16
2.1.1 分子性液体の相互作用点モデル	16
2.1.2 多原子分子の相関関数	17
2.1.3 RISM方程式	18
2.1.4 二成分系のRISM方程式	20
2.2 拡張RISM理論	20
2.3 DRISM理論	22
第3章 ペプチドの安定性に対する塩効果	25
3.1 序	25
3.2 計算方法とモデル	26
3.2.1 溶媒和自由エネルギーの計算	26
3.2.2 モデル	27

3.3	結果と考察	31
3.3.1	ペプチドの溶媒和自由エネルギー	31
3.3.2	ペプチドの溶媒和構造	35
3.3.3	溶解度と構造安定性に対する塩効果の関係	44
3.4	まとめ	46
第4章	アミノ酸、ペプチドの部分モル体積	50
4.1	序	50
4.2	理論	53
4.2.1	RISM-Kirkwood-Buff理論	53
4.2.2	理論の無矛盾性	56
4.2.3	モデル	57
4.3	結果と考察	57
4.3.1	アミノ酸の部分モル体積	57
4.3.2	ペプチドの部分モル体積の構造依存性	66
4.4	まとめ	68
第5章	結論	72
付録A	計算手順	75
付録B	イオンのポテンシャルパラメータの決定	77
	謝辞	82

第1章 背景

1.1 タンパク質

タンパク質は様々な生命現象の担い手として注目されてきた。タンパク質のもつ様々な機能は、その立体構造と密接に関連している。そのため、タンパク質の立体構造の構築原理を解明することが、大きな課題となっている。この節では、タンパク質の構造やその安定性に関してこれまでに得られている知見を紹介する¹。

1.1.1 タンパク質の構造

タンパク質の構造は、その巨大さから非常に複雑なものになっている。しかし、ある階層から見ると、各々のタンパク質の間でいくつかの共通点もみられ、ある規則を持っているように見える。ここでは、その階層的見方、つまりタンパク質の n 次構造について紹介する。

タンパク質の一次構造

タンパク質はアミノ酸がペプチド結合によってつながったポリペプチドの鎖であり、その鎖の中でのアミノ酸の並びの順序をタンパク質の一次構造という。タンパク質の立体構造や機能は、タンパク質の一次構造、つまり、アミノ酸残基の側鎖の性質に依存する。表 1.1 にタンパク質を構成する 20 種の天然アミノ酸を示す。

この表では、アミノ酸をその側鎖の性質により、脂肪族、非極性、芳香族、極性、荷電アミノ酸に分類してある²。このような分類はタンパク質の諸性質を理解するのに役立つ。脂肪族、非極性、芳香族（これらは疎水性）側鎖は、水溶液中では疎水相互作用によって、タンパク質の立体構造の安定性に対して重要な働きをする。極性、荷電（これらは親水性）側鎖は、分子内あるいは溶媒である水分子との静電的相互作用という重要な働きがある。特

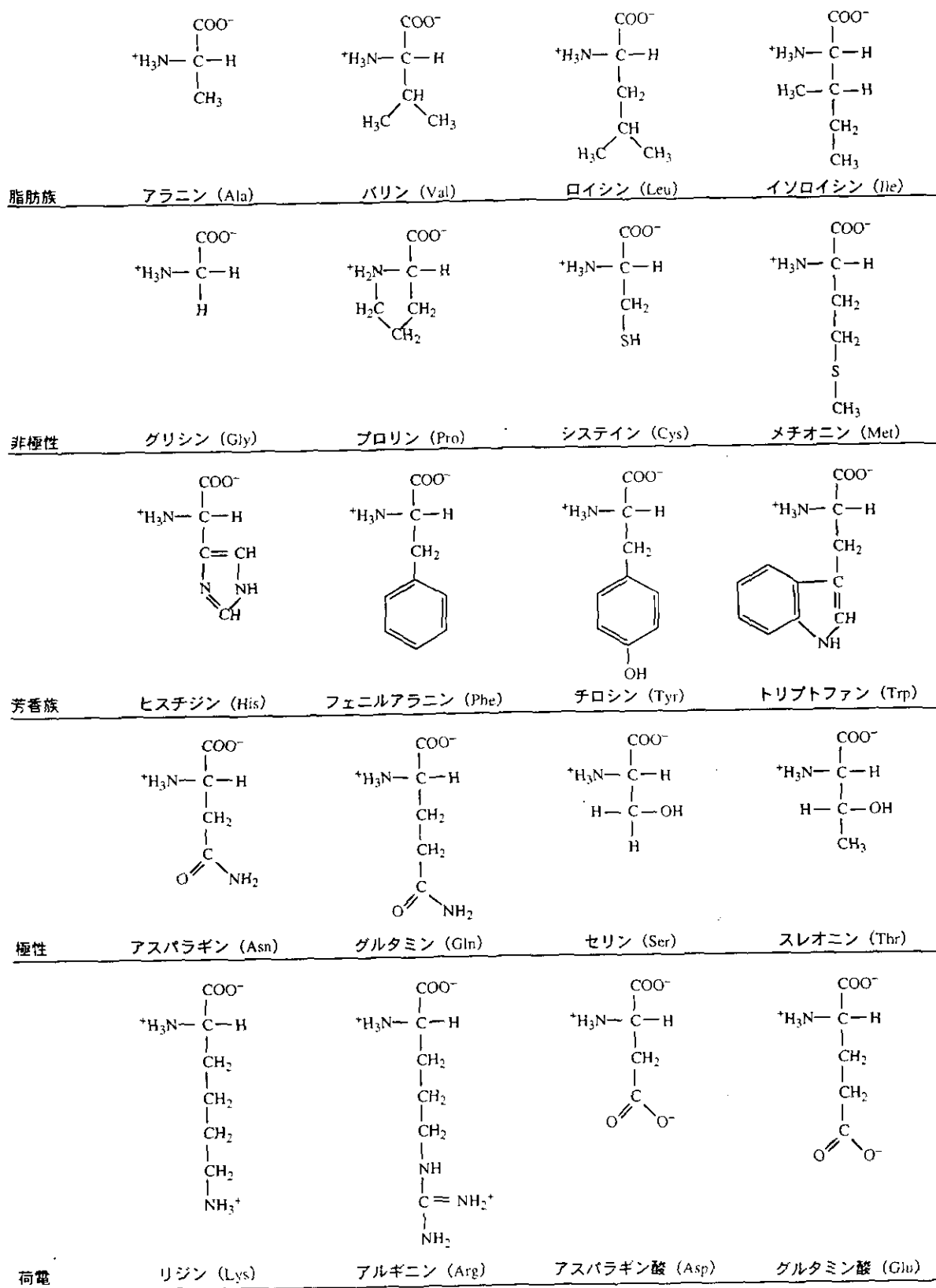


図 1.1: 20 種の天然アミノ酸の構造

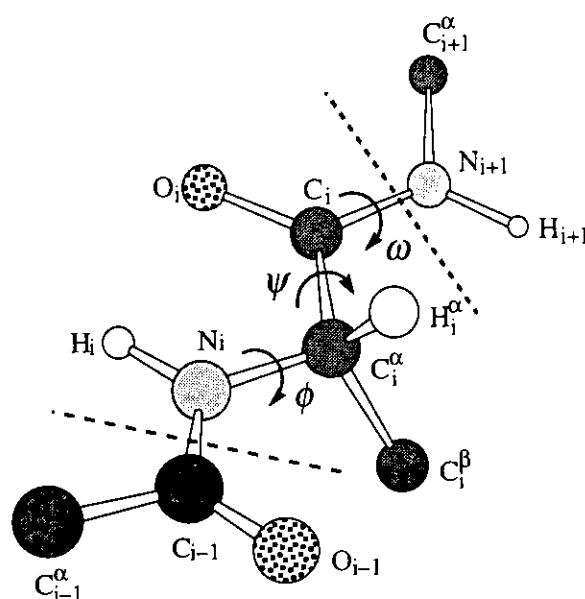


図 1.2: ポリペプチド主鎖の回転角の定義

に、荷電（解離性）側鎖は pH によってその相互作用が大きく変わることも重要である。

タンパク質の二次構造

図 1.2 にタンパク質の主鎖を構成する結合のまわりの回転角（2 面角）を示す³。その回転を考えると多くのコンフォメーションをとることができそうであるが、実際には、いくつかの制限がある。まず、ペプチド結合の二重結合性のため、C-N 結合の回転は制限され、ほとんどの場合、 ω は 180° に固定される。N-C $^\alpha$ のまわりの回転 (ϕ) と C $^\alpha$ -C のまわりの回転 (ψ) は、そのような制限は受けないが、それらの回転による原子間の立体障害やそれらの回転によって生じる分子内水素結合による安定化のために、ある範囲の値しかとらない。その中でも、高い頻度でタンパク質中に存在する規則構造として、 α ヘリックス、 β シート、ターン構造などが知られており、それらをタンパク質の二次構造という。

α ヘリックスとは、 i 番目の残基のカルボニル基 (C=O) が $i+4$ 番目の残基のアミド基 (N-H) と水素結合をすることによって作られる構造である。そのときの二面角 (ϕ, ψ) は $(-57^\circ, -47^\circ)$ であり、ヘリックスの N 末端側から C 末端側を見たとき、右巻きらせん構造になっている。左巻き α ヘリックス ($(\phi, \psi) = (+57^\circ, +47^\circ)$) も理論的には考えられるが、立体障害により右巻き α ヘリックスよりも不安定なため、天然タンパク質では存在しない。

また、 α ヘリックス以外のヘリックス構造、 3_{10} ヘリックス ($(\phi, \psi) = (-49^\circ, -26^\circ)$) や π ヘリックス ($(\phi, \psi) = (-57^\circ, -70^\circ)$) もまれにはあるが存在する。

β シートとは、 β 鎖とよばれるほとんど伸びたポリペプチド鎖が隣接する β 鎖との間で水素結合をすることによって作られる構造である。(各々の鎖の構造を β ストランドということもある。) 隣接する鎖の方向性により平行および逆平行の β シート構造があり、二面角 (ϕ, ψ) は平行 β シートの場合は $(-119^\circ, +113^\circ)$ 、逆平行 β シートの場合は $(-139^\circ, +135^\circ)$ 近傍の値をとる。

ターン構造とは、 i 番目の残基のカルボニル基 ($C=O$) が $i+3$ 番目の残基のアミド基 ($N-H$) と水素結合をすることによって作られる構造である。ターン構造にはいくつかの種類が存在するが、いずれの構造も、主鎖の伸びる方向を逆転させるという重要な役割を持っている。

タンパク質の三次構造

タンパク質は上で述べた α ヘリックス、 β シート、ターン構造などの規則的な二次構造をもつが、それらがさらに折り畳まれて立体的な構造をとる。その立体的な構造をタンパク質の三次構造という。水溶液中のタンパク質の立体構造をみると、タンパク質分子の表面は主として親水性のアミノ酸残基から成り、その内部は主として疎水性のアミノ酸残基から成っていることがわかる。また、Anfinsen の実験⁴により、タンパク質の三次構造はその一次構造が与えられると決定する、言い換えると、タンパク質の三次構造 (立体構造) はその溶液系において熱力学的に最安定の状態であると一般的に信じられている。

1.1.2 タンパク質の安定化因子

1.1.1 節で述べたように、タンパク質はとりうる (考えうる) コンフォメーションの数が非常に多いにもかかわらず、天然ではある固有の立体構造をとっている。その固有の立体構造を安定化する要因として、水素結合、疎水相互作用、静電相互作用が重要であると考えられている。ここでは、それらについて述べる。しかし、それらの相互作用が、タンパク質の立体構造の安定化にどのように寄与しているか、はっきりわかっていない部分も多く、それは解明すべき課題となっている。また、タンパク質の天然構造はその他の準安

定な構造より、わずかの自由エネルギー差で安定化されているにすぎないと考えられている。そういったことも、タンパク質の立体構造の安定化機構の解明に対する難しさになっていると思われる。

水素結合

ヘリックスや β シートなどの二次構造に代表されるように、タンパク質は主鎖のカルボニル基 (C=O) とアミド基 (N-H) の間に水素結合がつくられる。そのほか、主鎖と側鎖 (極性残基の側鎖) や側鎖同士にも水素結合がつくられる。これまでの構造解析の結果から、タンパク質内部では水素結合をつくりうる基はほとんどが水素結合をつくっていることがわかっている。一見、これらの水素結合はタンパク質の構造を大きく安定化しているように思えるが、溶媒である水分子の存在を考えたときにはそれほど単純ではない。なぜなら、もし、タンパク質内部の水素結合が切れて溶媒に露出したとすると、そのときは、それらの基は水分子と水素結合をつくるからである。したがって、水素結合そのものがタンパク質の立体構造の安定化に対してどの程度寄与しているかは明らかではない。

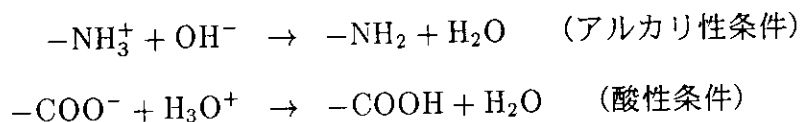
疎水相互作用

疎水性分子 (非極性分子) は水に溶けにくい (溶解の自由エネルギーが正の値をとる) ため、水溶液中において疎水性分子は水分子との接触を避けて互いに集まろうとする。このような相互作用を疎水相互作用という。疎水性分子の溶解の熱力学的解析により、疎水性分子を水に溶かすときの反応は発熱反応 (エンタルピー (ΔH) が負) であるが、一方、溶解のエントロピー (ΔS) が大きな負の値をとるため、結局、溶解の自由エネルギー ($\Delta G = \Delta H - T\Delta S$) が正の値をとることが明らかになった。水分子と強く相互作用しそえない疎水性分子が、溶解に際して発熱することは一見不思議に思われるが、次のような解釈がなされている。疎水性分子が水分子のつくる水素結合ネットワーク中に挿入されたとき、水分子は疎水性分子によって切断されたネットワークをまわりの水との相互作用を強くすることにより回復しようとする。そのため、水分子同士の水素結合がかえって強くなり、発熱すると考えられている。また、それに伴い疎水性分子のまわりの水分子の配列性が高められるため、エントロピーが減少すると考えられている。

Kauzmann は、疎水相互作用をもとにして、タンパク質の最も安定な構造は疎水性残基が水との接触を避けタンパク質の内部で互いに接触した構造であろうと考えた⁵。その考えは多くの研究者に支持されており、タンパク質の立体構造の安定化因子として疎水相互作用は最も重要なものの一つと考えられている。

静電相互作用

先に述べたように、タンパク質を構成するアミノ酸残基には荷電（解離性）側鎖を持ったものがあり、それらの間の静電的相互作用がタンパク質の安定性に寄与していることは十分に考えられる。さらに、その相互作用は、溶液の pH の変化に特に敏感であると考えられる。塩基性側鎖をもつリジンやアルギニンはアルカリ性条件下で、酸性側鎖をもつアスパラギン酸やグルタミン酸は酸性条件下で次のような反応がおこり、その電荷を失う。



そのため、中性条件下で、静電的に相互作用（引力や斥力）していたものが、pH の条件を変えることによりその相互作用が弱まり、タンパク質の安定性を変化させると考えられる。

1.1.3 タンパク質の変性

1.1.1 節で述べたタンパク質の立体構造は 1.1.2 節で述べた因子によって生理的条件（常温、常圧、中性）下の水溶液中で安定に存在する。しかし、その熱力学条件を変化させると、その構造は壊れてしまう。例えば、高温／低温／高圧条件下、酸性／アルカリ性水溶液中、変性剤や塩の添加、あるいは溶媒を変えることによって、その構造は壊れる。このような現象を変性という。（変性という言葉はもともとタンパク質の機能が失われるという意味であるが、その原因が構造の変化によるものと考えられるため、それを変性ということも多い。特に、構造の破壊を強調するときには unfolding ということもある。）このような変性条件におけるタンパク質の挙動を調べることは、天然状態の（生理的条件下の）タンパク質の立体構造の安定化の機構を明らかにする上で重要である。

また、タンパク質の変性はタンパク質自身の性質のみならず、溶媒である水の効果も重要である。高温変性に関してはタンパク質自身のエントロピーの効果が増すためよりラン

ダムな構造が有利になると考えれば納得がいくが、低温変性はその考えでは説明できず、水の効果を含めて考える必要がある。圧力変性も、タンパク質自身だけ考えると、圧力を加えればよりコンパクトな天然構造がより安定になるように思えるが、実際はそうではない。pH 条件や溶媒を変えたり、変性剤や塩を添加することによっておこる変性は、そもそも溶媒の性質が変わったことによるものなので、当然溶媒が重要になる。

1.2 イオンの水和

イオンの水和は、水溶液の中で最も基本的な問題であり古くから研究されてきており、現在でもなお多くの話題を提供し続けている。また、イオンの水和は、アルカリハライドのような単純なイオンのみならず、高分子電解質や生体分子の溶液中の性質とも密接に関係している。この節では、これまでに得られたイオンの水和に関する知見のうち特に本論文に関係のあるものについてまとめた⁶。

1.2.1 水和イオンの性質

水溶液中のイオンは結晶中のイオンとは異なり、水分子となんらかの相互作用をするため、結晶中のイオンとは異なる性質を示す。以下にその代表的な例を示す。

イオンの部分モル体積

電解質を水に溶かすと、溶液の体積はいくらか変化する。加えたイオン 1 mol あたりの体積の変化分をそのイオンの部分モル体積という。正確には溶液中の成分 i の部分モル体積 (\bar{V}_i) は次式で定義される。

$$\bar{V}_i = \left(\frac{\partial V}{\partial n_i} \right)_{T,P} \quad (1.1)$$

ここで、 n_i は注目する溶質 (イオン) のモル数である。多くの場合、無限希釈 ($n_i \rightarrow 0$) の部分モル体積 (\bar{V}_i^0) が注目される。直感的に考えると、その体積は溶かしたイオンの (幾何学的な) 体積だけ増加しそうだが (そのとき、イオンの幾何学的体積と部分モル体積が一致する)、実際にはそうはならない。表 2.1 に様々なアルカリおよびハライドイオンの部分モル体積⁷ とそれに対応する結晶イオン半径 (イオン半径は研究者によって若干値が異なるがここでは Pauling の値⁸ を示した)、その半径から計算された幾何学的体積を示す。

表 1.1: イオンの体積: 結晶イオン半径 (r_c (Å)), その半径から計算された幾何学的体積 (V_c (cm³/mol)), 水溶液中の部分モル体積 (\bar{V} (cm³/mol))

	r_c^a	V_c	\bar{V}^b		r_c^a	V_c	\bar{V}^b
Li ⁺	0.60	0.5	-11.2	F ⁻	1.36	6.3	3.3
Na ⁺	0.95	2.2	-7.4	Cl ⁻	1.81	14.6	23.7
K ⁺	1.33	5.9	3.4	Br ⁻	1.95	18.7	30.2
Rb ⁺	1.48	8.2	9.0	I ⁻	2.16	25.4	41.4
Cs ⁺	1.69	12.2	15.5				

^a 文献 8 ^b 文献 7

概して言うと、イオン半径が大きい場合は部分モル体積は幾何学的体積より大きい、イオン半径が小さい場合は部分モル体積は幾何学的体積より小さく負になることさえある。このことは、小さいイオンは静電相互作用によりまわりの水を強く引きつけ、そのため水の体積を収縮させた（いわゆる、電縮）と考えることによって理解できる。このように、これらの現象は、イオンと水分子の間の相互作用に大きく関連していると考えられる。

イオンの移動度

水溶液中におけるイオンの移動度も、結晶イオン半径からだけでは説明できない現象の一つである。イオンの動きを流体中の球の運動に対応させると、古典流体力学の Stokes の法則が適用できると考えられる。Stokes の法則によれば、粘性率 η の流体中を半径 r_s の剛体球が一定の外場 (f) のもとで等速運動を行うとき、その移動速度 (v_f) は次式で与えられる。

$$v_f = \frac{f}{6\pi\eta r_s} \quad (1.2)$$

この法則に基づけば、イオン半径が大きくなるほど移動速度が小さくなるはずであるが実際はその逆の傾向を示す。すなわち、イオン半径が大きいほど動きやすくなる。あるいは、逆に、移動速度から水溶液中のイオンの有効半径を求めることができ、それを Stokes 半径と呼ぶことがある。表 1.2 に様々なアルカリおよびハライドイオンの Stokes 半径を示す。半径の小さいイオンは Stokes 半径が結晶半径より大きくなっており、このことは、イオンが水和したことにより、水分子が結合した水和イオンとして存在していると考えれば理解できる。一方、半径の大きなイオンでは Stokes 半径が結晶半径より小さくなっているが、

表 1.2: イオンの結晶半径 (r_c (Å)) と水溶液中の Stokes 半径 (r_s (Å))

	r_c^a	r_s		r_c^a	r_s
Li ⁺	0.60	2.40	F ⁻	1.36	1.66
Na ⁺	0.95	1.80	Cl ⁻	1.81	1.20
K ⁺	1.33	1.30	Br ⁻	1.95	1.20
Rb ⁺	1.48	1.20	I ⁻	2.16	1.20
Cs ⁺	1.69	1.20			

^a 文献 8

このことは、半径だけでなく粘性率も考えなければ説明がつかない。ともかく、イオンの移動度の問題もイオンの部分モル体積と同様、イオンと水分子の間の相互作用に大きく関連していると考えられる。次の小節でそれらを説明するためのモデルを紹介する。

1.2.2 イオンの水和構造

1957年に上で述べた水和イオンの性質を説明するための2つの概念 (Frank-Wen の水和モデル⁹と Samoilov の負水和¹⁰) が提案された。これらの概念は現在でも妥当なものとして受け入れられている。また、最近、イオンの水和構造をイオンによる水分子間の動径分布関数の変化という視点からとらえた研究がなされた。ここでは、それらを紹介する。

Frank-Wen の水和モデル

Frank と Wen は、比較的イオン半径の小さいイオン (Li⁺, Na⁺, F⁻ など) の近傍の水分子は、イオンと強く相互作用し、イオンのまわりに比較的整然とした構造をとると考えた。そして、そのような構造をとっている水分子が存在する領域を A 領域あるいは構造形成領域と呼んだ。さらに、A 領域のすぐ外側は、ただちにバルクの水と同様の構造をとるのではなく、A 領域の水の構造とバルクの水の構造との中間領域があると考えた。この領域では、イオンの静電場によって水分子はある程度構造を変化させられるが、A 領域のようにイオンと強く相互作用して整然とした構造をとるまでにはいたらず、そのためバルクの水の構造より乱れた構造をとっていると考えた。そして、そのような構造をとっている水分子が存在する領域を B 領域あるいは構造破壊領域と呼んだ。上記のような3層の水和構造

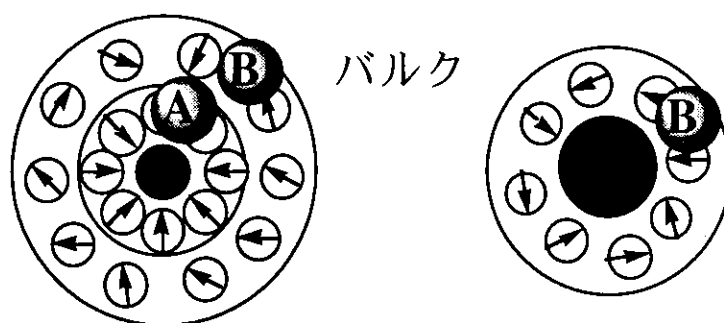


図 1.3: Frank-Wen の水和モデル. 構造形成イオン (左) と構造破壊イオン (右)

をとるイオン (Li^+ , Na^+ , F^- など) を構造形成のイオンと呼ぶことがある。一方、比較的イオン半径の大きいイオン (K^+ , Rb^+ , Cs^+ , Cl^- , Br^- , I^- など) では、イオンと水の相互作用が弱いために A 領域がほとんど形成されず B 領域しか生成しないと考えられる。そのようなイオンを構造破壊のイオンと呼ぶことがある。

構造形成のイオンでは、イオンのまわりに強く水和している水分子があるため、イオンが移動する際にはそれらの水和水と共に移動すると考えられる。このことが、これらのイオンの移動度から見積もった Stokes 半径が結晶半径より大きくなっている原因であると考えられる。また、水分子はイオンに強く引きつけられるので、イオン周辺の水の密度は高くなり、水の体積収縮がおこっていると考えられる。このことが、これらのイオンの部分モル体積が結晶イオン半径から計算された幾何学的体積より非常に小さくなっている (部分モル体積が負になる) 原因であると考えられる。

構造破壊のイオンでは、水が乱れた構造をとる B 領域しか持たないので、イオン周辺の微視的な水の粘性率 (仮に、 η' とする) はバルクの水の粘性率 (η) より小さくなっていると推測される。そのため、これらのイオンの移動速度は仮想的な粘性率 η' の水中を移動する速度であると考えられ、それは粘性率 η の水中を移動する速度より早いはずである。そのため、水の粘性率を η として見積もった Stokes 半径が結晶イオン半径より小さくなると考えられる。

Samoilov の負水和

Samoilov は溶液中に比較的イオン半径の大きいイオンが存在すると、水の自己拡散係数が純粋のものに比べ大きくなることを見いだした。この場合、水分子がある位置から隣の位置に移動する際の活性化エネルギー (E) が、純粋の場合のもの (E^0) に比べ小さくなる。つまり、 $\Delta E = E - E^0$ が負になる。そのことにちなんで、そのような場合の水和を負水和と呼んだ。その原因は、負の水和をするイオンでは、水分子がイオンと弱く相互作用するため、イオンの周囲の水の構造が乱されるために、水分子が動きやすくなるためであると考へた。一方、水の自己拡散係数が純粋のものに比べ小さくなるもの ($\Delta E = E - E^0$ が正になるもの) を負水和に対応する言葉として正水和と呼ぶことがある。Samoilov の考へは、本質的に Frank と Wen の考へと等価であり、Frank-Wen の水和モデルを水の自己拡散係数の立場からとらえたものであると考へられる。すなわち、正水和イオンは構造形成イオンに対応し、負水和イオンは構造破壊イオンに対応する。

動径分布関数による解釈

イオンの水和構造を説明するためには、水そのものの液体構造の特徴を知っておく必要がある。液体中の水分子間の動径分布関数には水分子同士の水素結合ネットワークによるいくつかの特徴がみられる。酸素-水素間の動径分布関数は酸素-水素間水素結合による鋭いピーク (第一ピーク) がみられる。酸素-酸素間の動径分布関数には 1.63σ (σ は水分子の半径) 付近に単純液体にはみられない第二ピークがみられる。それは、液体中でも氷様の四面体構造がかなり残っていることを示している。以下ではイオン (溶質) が水分子間の動径分布関数をどのように変化させるかをまとめる^{11, 12}。

正水和イオンは水分子間の動径分布関数を以下のように変化させる。(1) 酸素-酸素の動径分布関数の第一ピークを外側にシフトさせる、(2) 酸素-酸素の動径分布関数の第二ピークを減少させる、(3) 酸素-水素の動径分布関数の第一ピークを減少させる。(2) と (3) はイオンの静電場の効果より水分子間の水素結合が弱くなったためであると考えられる。(1) は、イオンのまわりの水分子の双極子モーメントがイオンの静電場に平行に並ぶ傾向があるため水分子同士は互いに反発することに帰因すると考へられる。

負水和イオンは水分子間の動径分布関数を以下のように変化させる。(1) 酸素-酸素の動

表 1.3: イオンによる水分子間の動径分布関数の変化

	正水和	負水和	疎水水和
O-O 第一ピーク	外側へシフト	内側へシフト	増加
O-O 第二ピーク	減少	減少	減少
O-H 第一ピーク	減少	減少	増加

径分布関数の第一ピークを内側にシフトさせる、(2) 酸素-酸素の動径分布関数の第二ピークを減少させる、(3) 酸素-水素の動径分布関数の第一ピークを減少させる。(2) と (3) は正水和イオンの場合と同様である。(1) はイオンがまわりの水の氷様構造を破壊しその密度をより密にしていることを示しており、温度による水和構造変化 (4°C において密度が最大になる) に似ている。

また、イオンだけでなく疎水性溶質についても調べられている。疎水性溶質は水分子間の動径分布関数を以下のように変化させる。(1) 酸素-酸素の動径分布関数の第一ピークを増加させる、(2) 酸素-酸素の動径分布関数の第二ピークを減少させる、(3) 酸素-水素の動径分布関数の第一ピークを増加させる。(1) と (3) より、疎水性溶質はまわりの水分子同士の水素結合を強くしていることがわかる。しかし、(2) より、氷様の四面体構造は破壊する方向にあることがわかる。

これらの情報を表 1.3 にまとめる。この表により、正水和、負水和あるいは疎水水和が水分子間の動径分布関数の変化によって定義される。

1.3 本研究の目的

タンパク質の立体構造に関する研究は数多くやられているが、その構築原理についてはまだわからないことが多い。それは、タンパク質自身の構造の複雑さのみならず、溶媒としての水分子の存在があるからだと考えられる。それゆえ、その溶媒の効果を明らかにすることは非常に重要な課題である。そこで、本研究では、タンパク質の安定性において、特に、溶媒の効果を考えることなしには理解できない問題のうち次の2つに注目した。一つは、塩効果であり、もう一つは、圧力効果である。この2つの問題に関しては、実験による研究は数多くなされているが、それらの分子論的描像を明らかにしようと思えばそれ

だけでは不十分であろう。それを補うには、分子シミュレーションや理論による研究が必要であるが、それらは非常に少ない。これらの問題に関して分子シミュレーションを適用する場合、特に配置空間の十分なサンプリングが必要であり、現段階では難しいと思われる。そこで、分子液体の統計力学である RISM 理論を用いてこれらの問題に挑んだ。

次の章では RISM 理論について、その基礎方程式から水を扱う際に必要な改良版までを紹介する。3章では塩効果についての研究を述べる。4章では圧力効果に非常に関係の深い部分モル体積についての研究を述べる。5章で、それらから得られた結論や今後の課題を述べる。

参考文献

- (1) タンパク質の構造や物性に関しては以下の教科書が参考になる。
 - (a) 濱口浩三, “改訂 タンパク質機能の分子論” (学会出版センター, 1990).
 - (b) 江口至洋, “タンパク質工学の物理・化学的基礎” (共立出版, 1991).
 - (c) T. E. Creighton, “Proteins: structures and molecular properties - 2nd ed.” (W. H. Freeman & Company, New York, 1993).
- (2) アミノ酸の分類の仕方はいろいろあるが、ここでは次の教科書に従った。

C. R. Cantor and P. R. Schimmel, “Biophysical Chemistry Part I: the conformation of biological macromolecules” (W. H. Freeman & Company, New York, 1980).
- (3) IUPAC-IUB, *Biochemistry*, **9**, 3471 (1970).
- (4) C. B. Anfinsen, *Science*, **181**, 223 (1973).
- (5) W. Kauzmann, *Adv. Protein Chem.*, **14**, 1 (1959).
- (6) イオンの水和に関しては以下の教科書が参考になる。
 - (a) 大瀧仁志, “イオンの水和” (共立出版, 1990).
 - (b) O. Ya. Samoilov (上平恒 訳), “イオンの水和－電解質溶液の構造－” (地人書館, 1976).
- (7) R. F. Zana and E. Yeager, *J. Phys. Chem.*, **71**, 521 (1967).
- (8) L. Pauling (小泉正夫 訳), “化学結合論” (共立出版, 1962).
- (9) H. S. Frank and W.-Y. Wen, *Discuss. Faraday Soc.*, **24**, 133 (1957).
- (10) O. Ya. Samoilov, *Discuss. Faraday Soc.*, **24**, 141 (1957).

(11) S.-H. Chong and F. Hirata, *J. Phys. Chem.*, **101**, 3209 (1997).

(12) F. Hirata, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **71**, 1483 (1998).

第2章 理論

2.1 RISM理論

液体状態を記述する方法の一つとして動径分布関数などの相関関数を使う方法がある。それを求めるための理論として、OZ方程式に代表される積分方程式理論が提案されてきた¹。もともと、それらは液体を構成する分子として剛体球などの球状分子を前提としたものであった。しかし、実際に興味のある大部分の液体は多原子分子で構成される分子性液体である。ChandlerとAndersenは分子性液体を記述するための積分方程式理論の一つとして、OZ方程式を分子性液体に拡張したRISM方程式を提案した^{2,3}。この節では、そのRISM理論を紹介する。

2.1.1 分子性液体の相互作用点モデル

分子性液体の特徴は分子間相互作用が分子間の距離だけでなく分子の配向にも依存することである。これを表現するための代表的モデルの一つは次式で表される。

$$u(1,2) = u(R, \Omega_1, \Omega_2) \quad (2.1)$$

ここで、 R は分子中心間の距離、 Ω_1 と Ω_2 は、それぞれ、分子1と2の配向を表す。この配向の寄与は分子間相互作用を原子間相互作用の和とみなすことによっても同様に表現することができる。

$$u(1,2) = \sum_{\alpha,\gamma} u_{\alpha\gamma}(r) \quad (2.2)$$

ここで、 α と γ 、それぞれ、分子1の α 番目の原子と分子2の γ 番目の原子を表し、和は分子内すべての原子についてとる。このモデルは相互作用点モデル (ISM) と呼ばれ、 $u(1,2)$ が分子間の距離と分子配向の両方に依存する。これら2つのモデルは、厳密な分子間相互作用を適当なパラメータを用いて同程度に再現できるという点で等価とみなすことができ

る。分子シミュレーションでは後者を用いる場合が多い。積分方程式理論では前者を用いた RHNC 理論⁴ などもあるが、分子が複雑になると取り扱いが非常に難しくなる。以下では、専ら、相互作用点モデルを用いた積分方程式理論 (RISM 理論)^{2,3} について述べる。

2.1.2 多原子分子の相関関数

体積 V の容器中に N 個の分子が存在する系を考える。この容器内の一点 \mathbf{r} における α 種の原子 (相互作用点) の局所密度はデルタ関数を用いて次式で表現できる。

$$\nu_\alpha(\mathbf{r}) = \sum_{i=1}^N \delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_i^\alpha) \quad (2.3)$$

$\nu_\alpha(\mathbf{r})$ の統計熱平均

$$\rho_\alpha(\mathbf{r}) = \langle \nu_\alpha(\mathbf{r}) \rangle \quad (2.4)$$

は位置 \mathbf{r} に α 種の原子を見いだす確率に比例し、一体分布関数と呼ばれる。系が一様な流体の場合、 $\rho_\alpha(\mathbf{r})$ は α 種の原子の平均密度 ρ_α に一致する。これらの量を用いて密度-密度相関関数を次式で定義する。

$$\chi_{\alpha\gamma}(\mathbf{r}, \mathbf{r}') = \langle (\nu_\alpha(\mathbf{r}) - \rho_\alpha(\mathbf{r}))(\nu_\gamma(\mathbf{r}') - \rho_\gamma(\mathbf{r}')) \rangle \quad (2.5)$$

式 (2.5) に式 (2.3), (2.4) を代入し、和を分子内 ($i = j$) と分子間 ($i \neq j$) の項に分けると、式 (2.5) は次のように書き換えられる。

$$\chi_{\alpha\gamma}(\mathbf{r}, \mathbf{r}') = \chi_{\alpha\gamma}^{(0)}(\mathbf{r}, \mathbf{r}') + \rho_\alpha(\mathbf{r})\rho_\gamma(\mathbf{r}')h_{\alpha\gamma}(\mathbf{r}, \mathbf{r}') \quad (2.6)$$

ここで、 $\chi_{\alpha\gamma}^{(0)}(\mathbf{r}, \mathbf{r}')$ と $h_{\alpha\gamma}(\mathbf{r}, \mathbf{r}')$ は、それぞれ、分子内密度相関関数と分子間二体相関関数であり次式で与えられる。

$$\chi_{\alpha\gamma}^{(0)}(\mathbf{r}, \mathbf{r}') = \rho_\alpha(\mathbf{r})\delta(|\mathbf{r} - \mathbf{r}'|)\delta_{\alpha\gamma} + \rho_\alpha(\mathbf{r})s_{\alpha\gamma}(\mathbf{r}, \mathbf{r}') \quad (2.7)$$

$$\rho_\alpha(\mathbf{r})\rho_\gamma(\mathbf{r}')h_{\alpha\gamma}(\mathbf{r}, \mathbf{r}') = \left\langle \sum_{i \neq j} \delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_i^\alpha)\delta(\mathbf{r}' - \mathbf{r}_j^\gamma) \right\rangle - \rho_\alpha(\mathbf{r})\rho_\gamma(\mathbf{r}') \quad (2.8)$$

ここで、 $s_{\alpha\gamma}(\mathbf{r}, \mathbf{r}')$ は

$$\rho_\alpha(\mathbf{r})s_{\alpha\gamma}(\mathbf{r}, \mathbf{r}') = \left\langle \sum_i \delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}_i^\alpha)\delta(\mathbf{r}' - \mathbf{r}_i^\gamma) \right\rangle \quad (2.9)$$

で定義される分子内相関関数であり、剛体分子の場合、サイト α, γ 間の距離 $L_{\alpha\gamma}$ を用いて次式で表される。

$$s_{\alpha\gamma}(\mathbf{r}, \mathbf{r}') = \frac{1}{4\pi L_{\alpha\gamma}^2} \delta(|\mathbf{r} - \mathbf{r}'| - L_{\alpha\gamma}) \quad (2.10)$$

2.1.3 RISM 方程式

ポテンシャルエネルギー (U) をサイト (相互作用点) 間の相互作用ポテンシャル (U') と外場との相互作用 (Φ_{ext}) の和で表す。

$$U = U' + \Phi_{\text{ext}} \quad (2.11)$$

体系に外場 $\phi_\alpha(\mathbf{r})$ がかかっているとき、 Φ_{ext} は次式で定義される。

$$\Phi_{\text{ext}} = \sum_\alpha \int d\mathbf{r} \rho_\alpha(\mathbf{r}) \phi_\alpha(\mathbf{r}) \quad (2.12)$$

大分配関数 (Ξ) を $\phi_\alpha(\mathbf{r})$ で汎関数微分することにより次の関係が得られる。

$$\frac{\delta \Xi}{\delta[-\beta \phi_\alpha(\mathbf{r})]} = \rho_\alpha(\mathbf{r}) \quad (2.13)$$

$$\frac{\delta^2 \Xi}{\delta[-\beta \phi_\alpha(\mathbf{r})] \delta[-\beta \phi_\gamma(\mathbf{r}')] } = \langle \nu_\alpha(\mathbf{r}) \nu_\gamma(\mathbf{r}') \rangle - \rho_\alpha(\mathbf{r}) \rho_\gamma(\mathbf{r}') \quad (2.14)$$

ここで、 $\beta = 1/k_B T$ である。式(2.5), (2.13), (2.14) より、

$$\frac{\delta \rho_\alpha(\mathbf{r})}{\delta[-\beta \phi_\gamma(\mathbf{r}')] } = \chi_{\alpha\gamma}(\mathbf{r}, \mathbf{r}') \quad (2.15)$$

式(2.15)の逆関係により系の直接相関関数 ($\bar{c}_{\alpha\gamma}(\mathbf{r}, \mathbf{r}')$) を次式で定義する。

$$\begin{aligned} \frac{\delta[-\beta \phi_\alpha(\mathbf{r})]}{\delta \rho_\gamma(\mathbf{r}')} &= \chi_{\alpha\gamma}(\mathbf{r}, \mathbf{r}')^{-1} \\ &= \frac{\delta_{\alpha\gamma} \delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}')}{\rho_\alpha(\mathbf{r})} - \bar{c}_{\alpha\gamma}(\mathbf{r}, \mathbf{r}') \end{aligned} \quad (2.16)$$

同様に、分子内の直接相関関数 ($c_{\alpha\gamma}^{(0)}(\mathbf{r}, \mathbf{r}')$) を次式で定義する。

$$\chi_{\alpha\gamma}^{(0)}(\mathbf{r}, \mathbf{r}')^{-1} = \frac{\delta_{\alpha\gamma} \delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}')}{\rho_\alpha(\mathbf{r})} - c_{\alpha\gamma}^{(0)}(\mathbf{r}, \mathbf{r}') \quad (2.17)$$

式(2.16), (2.17) より、

$$\frac{\delta[-\beta \phi_\alpha(\mathbf{r})]}{\delta \rho_\gamma(\mathbf{r}')} = \chi_{\alpha\gamma}^{(0)}(\mathbf{r}, \mathbf{r}')^{-1} - (\bar{c}_{\alpha\gamma}(\mathbf{r}, \mathbf{r}') - c_{\alpha\gamma}^{(0)}(\mathbf{r}, \mathbf{r}')) \quad (2.18)$$

式(2.15)と式(2.18)を汎関数微分の鎖則

$$\sum_{\eta} \int \frac{\delta \rho_{\alpha}(\mathbf{r})}{\delta[-\beta \phi_{\eta}(\mathbf{r}'')]} \frac{\delta[-\beta \phi_{\eta}(\mathbf{r}'')]}{\delta \rho_{\gamma}(\mathbf{r}')} d\mathbf{r}'' = \delta_{\alpha\gamma} \delta(\mathbf{r} - \mathbf{r}') \quad (2.19)$$

に代入し、式(2.6)~(2.8)を考慮すると、一様な流体 ($\phi_{\alpha}(\mathbf{r}) = 0$) の場合、 $h_{\alpha\gamma}$ および $c_{\alpha\gamma}$ に関する次の積分方程式を得る。

$$\rho h \rho = \omega * c * \omega + \omega * c * \rho h \rho \quad (2.20)$$

ここで、* は畳み込み積分を表す。 ρ は平均密度の対角行列である。 h, c, ω は原子対を添字とする行列であり、それらの要素はそれぞれ式(2.8)および以下の式によって定義される。

$$c_{\alpha\gamma}(r) = \bar{c}_{\alpha\gamma}(r) - c_{\alpha\gamma}^{(0)}(r) \quad (2.21)$$

$$\omega_{\alpha\gamma}(r) = \chi_{\alpha\gamma}^{(0)}(r) \quad (2.22)$$

ここで、 r はサイト α と γ の間の距離を表す。式(2.20)が RISM 方程式と呼ばれる積分方程式である。 $h_{\alpha\gamma}$ および $c_{\alpha\gamma}$ は、それぞれ、全相関関数および直接相関関数と呼ばれ、全相関関数は動径分布関数 ($g(r)$) と $h(r) = g(r) - 1$ の関係にある。

RISM 方程式には2つの未知関数 h と c が含まれているので、これを解くためには h と c に関するもう一つの関係式が必要である。その関係式は closure relation と呼ばれ、代表的なものとしては、Hypernetted-chain (HNC) 近似と Percus-Yevick (PY) 近似がある。

$$c_{\alpha\gamma}(r) = \exp[-\beta u_{\alpha\gamma}(r) + (h_{\alpha\gamma}(r) - c_{\alpha\gamma}(r))] - 1 - (h_{\alpha\gamma}(r) - c_{\alpha\gamma}(r)) \quad (\text{HNC}) \quad (2.23)$$

$$c_{\alpha\gamma}(r) = \exp[-\beta u_{\alpha\gamma}(r)](1 + (h_{\alpha\gamma}(r) - c_{\alpha\gamma}(r))) - 1 - (h_{\alpha\gamma}(r) - c_{\alpha\gamma}(r)) \quad (\text{PY}) \quad (2.24)$$

これらの関係式は、二体相関関数を Mayer の f -関数 ($f = \exp[-\beta u] - 1$) の汎関数としてグラフ的に展開し、そのグラフの中でトポロジー的にある特徴を持つグラフだけを省略することにより得られる¹。PY 近似に比べ HNC 近似の方が多くのグラフを考慮しているが、HNC 近似のほうが優れているとは一概には言えない。剛体粒子や無極性粒子に対しては PY 近似のほうが良い結果を与え、電荷をもつ粒子の場合は HNC 近似のほうが良い結果を与えることが知られている。

2.1.4 二成分系の RISM 方程式

RISM 方程式 (2.20) は、多成分系を含む一般的な表式であるが、多くの場合、溶質と溶媒の二成分系に興味があるので、その表現を露に含む表式を導いておくのが便利である。系が溶質 (u) と溶媒 (v) で構成されている場合、相関関数は次のようなブロック行列で表現される。(例として h の場合を示す。)

$$h = \begin{pmatrix} h_{uu} & h_{uv} \\ h_{vu} & h_{vv} \end{pmatrix} \quad (2.25)$$

ω の非対角部分は零行列になる。(これは、溶質と溶媒が結合していないことの帰結である。)

$$\omega = \begin{pmatrix} \omega_u & 0 \\ 0 & \omega_v \end{pmatrix} \quad (2.26)$$

これらの表現を使うと RISM 方程式 (2.20) は成分ごとに次のように書ける。

$$\rho_v h_{vv} \rho_v = \omega_v * c_{vv} * \omega_v + \omega_v * c_{vv} * \rho_v h_{vv} \rho_v + \omega_v * c_{vu} * \rho_v h_{uv} \rho_v \quad (2.27)$$

$$\rho_u h_{uv} \rho_v = \omega_u * c_{uv} * \omega_v + \omega_u * c_{uv} * \rho_v h_{vv} \rho_v + \omega_u * c_{uu} * \rho_u h_{uv} \rho_v \quad (2.28)$$

$$\rho_u h_{uu} \rho_u = \omega_u * c_{uu} * \omega_u + \omega_u * c_{uv} * \rho_v h_{vu} \rho_u + \omega_u * c_{uu} * \rho_u h_{uu} \rho_u \quad (2.29)$$

ここで、溶質が無限希釈の場合 ($\rho_u \rightarrow 0$) を考えると、次のようになる。

$$h_{vv} = w_v * c_{vv} * w_v + w_v * c_{vv} * \rho_v h_{vv} \quad (2.30)$$

$$h_{uv} = w_u * c_{uv} * w_v + w_u * c_{uv} * \rho_v h_{vv} \quad (2.31)$$

$$h_{uu} = w_u * c_{uu} * w_u + w_u * c_{uv} * \rho_v h_{vu} \quad (2.32)$$

ここで、 $w = \rho^{-1} \omega$ である。

2.2 拡張 RISM 理論

RISM 方程式を分子が部分電荷を持つ系に適用する際には特別の注意が必要である。なぜなら、部分電荷間のクーロン相互作用の全空間におよぶ積分が発散するからである。Mayer はイオン体系のクラスター展開のグラフの中でクーロン相互作用のみから成る線形のグラフの和が $\exp[-\kappa r]/r$ のように全空間におよぶ積分に対して収束する関数となることを見い

だし、これでクーロン関数を置き換えることによりクラスター展開を再構築した⁵。この方法をより系統的に RISM 方程式に適用したものが拡張 RISM 理論である^{6,7,8}。

RISM 方程式は直接相関関数の直鎖グラフの無限級数和で表現できる。

$$\rho h \rho = \omega * c * \omega + \omega * c * \omega * c * \omega + \dots \quad (2.33)$$

これは、Rosky-Dale の表現⁹ を使って次のように表される。

$$h = C[c|\omega] \quad (2.34)$$

ここで、 $t = h - c$ なる関数を導入しておく。その関数に対して次のような表現を定義する。

$$t = C[c|\omega] - c \equiv C'[c|\omega] \quad (2.35)$$

直接相関関数の $r \rightarrow \infty$ での極限形は、次のようになることが知られている。

$$c_{\alpha\gamma}(r) \rightarrow -\beta \frac{z_\alpha z_\gamma}{r} \quad (2.36)$$

この寄与が発散を起こす原因となる。この点に着目して、 $c(r)$ を $\phi(r) \equiv -\beta z_\alpha z_\gamma / r$ と残りの部分

$$c_s(r) = c(r) - \phi(r) \quad (2.37)$$

の和で表すことにする。すると、式(2.35)は次のように表される。

$$\begin{aligned} t &= C'[c_s + \phi|\omega] \\ &= C'[\phi|\omega] + C'[c_s|\omega + \rho C[\phi|\omega]\rho] \end{aligned} \quad (2.38)$$

ここで、Rosky-Dale の恒等式⁹ を用いた。ここで、

$$Q = C[\phi|\omega] \quad (2.39)$$

$$V = \omega + \rho Q \rho \quad (2.40)$$

とおくと、式(2.38)は次のように書ける。

$$h = C[c_s|V] + Q \quad (2.41)$$

Q は上記の $\exp[-\kappa r]/r$ に対応する関数であり、全空間におよぶ積分において発散しない。

なお、この再規格化された RISM 方程式を解く際には、closure relation も同様に再規格化しておく必要がある。それは次のようになる。

$$c_s = \exp[-\beta u + Q + \tau] - 1 - \tau - Q \quad (\text{HNC}) \quad (2.42)$$

$$c_s = \exp[-\beta u + Q](1 + \tau) - 1 - \tau - Q \quad (\text{PY}) \quad (2.43)$$

ここで、 τ は次式で定義される。

$$\tau = t - Q + \phi \quad (2.44)$$

2.3 DRISM 理論

RISM 理論は極性溶媒に対して間違った誘電率を与えることが知られている¹⁰。最近、Perkyns と Pettitt によって誘電率が正しくなるように改良された RISM 理論 (DRISM 理論) が提案された^{11, 12}。この節ではその DRISM 理論を簡単に紹介する。

その改良は HNC 方程式 (2.23) に付加項 $b_{\alpha\gamma}(r)$ を加えることによって行われる。すなわち、直接相関関数は次式で表される。

$$c_{\alpha\gamma}(r) = \exp[-\beta u_{\alpha\gamma}(r) + (h_{\alpha\gamma}(r) - c_{\alpha\gamma}(r))] - 1 - (h_{\alpha\gamma}(r) - c_{\alpha\gamma}(r)) + b_{\alpha\gamma}(r) \quad (2.45)$$

$$= c_{H;\alpha\gamma}(r) + b_{\alpha\gamma}(r) \quad (2.46)$$

ここで、 $c_{H;\alpha\gamma}(r)$ は通常の HNC 方程式に対する解として定義される。式 (2.46) を RISM 方程式 (2.20) に代入すると次式のようになる。

$$\rho h \rho = \omega * (c_H + b) * \omega + \omega * (c_H + b) * \rho h \rho \quad (2.47)$$

これを Rosky-Dale の表現で書き、さらに Rosky-Dale の恒等式を用いると、

$$\begin{aligned} \rho h \rho &= C'[c_H + b|\omega] \\ &= C'[b|\omega] + C'[c_H|\omega + C'[b|\omega]] \end{aligned} \quad (2.48)$$

ここで、

$$\mathbf{B} = C'[b|\omega] \quad (2.49)$$

とおくと、式 (2.48) は次のように書き直せる。

$$(\rho h \rho - \mathbf{B}) = (\omega + \mathbf{B}) * c_H * (\omega + \mathbf{B}) + (\omega + \mathbf{B}) * c_H * (\rho h \rho - \mathbf{B}) \quad (2.50)$$

\mathbf{B} は誘電率が正しく再現されるように以下のように決められる^{11, 12}。

$$\tilde{\mathbf{B}} = \rho \mathbf{D}_{0x} \mathbf{D}_{0y} \mathbf{D}_{1z} \tilde{h}_c \mathbf{D}_{1z} \mathbf{D}_{0y} \mathbf{D}_{0x} \rho \quad (2.51)$$

ここで、 \tilde{X} は関数 X のフーリエ変換を表す。 \mathbf{D} は次のような対角要素をもつ行列である。

$$D_{i,mw} = j_m(kd_{iw}) \quad (2.52)$$

ここで、 $j_m(x)$ は m 次の球面 Bessel 関数で、 d_{iw} は分子の電荷中心からみたサイト i の位置ベクトルの w (x または y または z) 成分で z 軸は分子双極子の方向にとる。非対角要素はすべて 0 である。また、 \tilde{h}_c は次式で与えられる。

$$\tilde{h}_c(k) = \left(\frac{\epsilon - 1}{y} - 3 \right) / \rho_v \exp[-ak^2] \quad (2.53)$$

ここで、 ϵ は溶液の誘電率、 y は双極子密度 ($y = 4\pi\beta\rho_v\mu^2/9$) である。

二成分系の場合、式(2.50)は2.1.4節と同様に成分ごとに分離でき、溶質が無限希釈の場合は次のようになる。

$$h_{vv} = (w_v + \mathbf{B}'_{vv}\rho_v) * c_{vv} * (w_v + \rho_v h_{vv}) + \mathbf{B}'_{vv} \quad (2.54)$$

$$h_{uv} = w_u * c_{uv} * (w_v + \rho_v h_{vv}) \quad (2.55)$$

$$h_{uu} = w_u * c_{uu} * w_u + w_u * c_{uv} * \rho_v h_{vu} \quad (2.56)$$

ここで、 $\mathbf{B}' = \rho^{-1}\mathbf{B}\rho^{-1}$ である。

参考文献

- (1) 積分方程式理論に関しては以下の教科書が参考になる。
 - (a) J. P. Hansen and I. R. McDonald, "Theory of Simple Liquids - 2nd ed.", (Academic Press, New York, 1986).
 - (b) R. A. McQuarrie, "Statistical Mechanics", (Harper Collins, New York, 1973).
- (2) D. Chandler and H. C. Andersen, *J. Chem. Phys.*, **57**, 1930 (1972).
- (3) D. Chandler, *J. Chem. Phys.*, **59**, 2742 (1973).
- (4) P. H. Fries and G. N. Patey, *J. Chem. Phys.*, **82**, 429 (1985).
- (5) J. Mayer, *J. Chem. Phys.*, **18**, 1426 (1950).
- (6) F. Hirata and P. J. Rossky, *Chem. Phys. Lett.*, **83**, 329 (1981).
- (7) F. Hirata, B. M. Pettitt, and P. J. Rossky, *J. Chem. Phys.*, **77**, 509 (1982).
- (8) F. Hirata, P. J. Rossky, and B. M. Pettitt, *J. Chem. Phys.*, **78**, 509 (1983).
- (9) P. J. Rossky and W. D. T. Dale, *J. Chem. Phys.*, **73**, 2457 (1980).
- (10) J. S. Høye and G. Stell, *J. Chem. Phys.*, **65**, 18 (1976).
- (11) J. Perkyns and B. M. Pettitt, *Chem. Phys. Lett.*, **190**, 626 (1992).
- (12) J. Perkyns and B. M. Pettitt, *J. Chem. Phys.*, **97**, 7656 (1992).

第3章 ペプチドの安定性に対する塩効果

関係論文：

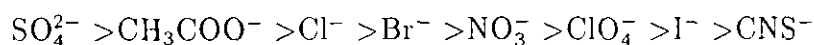
T.Imai, M. Kinoshita, and F. Hirata,

“Salt Effect on Stability and Solvation Structure of peptide: An Integral Equation Study,”

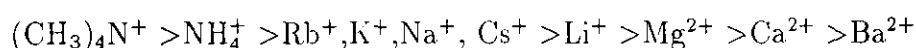
Bulletin of Chemical Society of Japan (in press)

3.1 序

水溶液中におけるタンパク質の安定性に対する塩効果に関して、Hofmeister 順列と呼ばれる塩効果の順序がよく知られている^{1,2,3}。その順列は、アニオンに関しては、



であり、カチオンに関しては、



である。この順列において、左（右）のものほどタンパク質の溶解度を減少（増加）させ、また、タンパク質の天然構造を安定化（不安定化）させる。ただし、Hofmeister 順列は中性タンパク質に対しては一般的に成り立つものの、酸性タンパク質や塩基性タンパク質に対しては成り立たない^{4,5}。その一方で、Hofmeister 順列は、2価カチオンを除いては、ベンゼン⁶のような他の中性分子の溶解度に対しても成り立つ。つまり、様々な中性分子の溶解度に対する1価イオンの効果の順序はHofmeister 順列に従っていると言える。一見、タンパク質とベンゼンが同じ塩効果の順序を示すのは不思議に思われる。なぜなら、ベンゼンは完全に無極性であるためイオンとは強い相互作用はしないと考えられるが、タンパク質は中性といっても部分電荷は持っておりイオンとは静電的な相互作用をしているからである。それにもかかわらず、中性分子に対して幅広く Hofmeister 順列が成り立つのはな

ぜであろうか。また、一般的に、Hofmeister 順列は、イオンが加わったことによる水和構造変化に伴う自由エネルギー変化と関係があると考えられている²。もしそうだとすれば、それらはどのように関係しているのでしょうか。また、どういった水の構造変化がそのような塩効果の順列の原因になっているのでしょうか。そもそも、Hofmeister 順列はタンパク質の溶解度に対して発見された⁷のであるが、先に述べたように構造安定性とも関係がある。一見異なるその2つの性質に対する塩効果の間にどのような関係があるのだろうか。この研究の最終目標はこれらの疑問に答えることである。

このような疑問に対して、実験による解析だけでは完全に答えることはできず、分子シミュレーションや理論による解析が必要とされている。しかし、現段階の分子シミュレーションでは、つねに配置空間のサンプリングの不十分さが問題となり、塩効果に対してイオンの種類による微妙な違いを再現するのは難しい。一方、分子液体の統計力学の理論である RISM 理論は上で述べたような問題、つまり、イオンを加えたことによる水和構造の変化やそれに伴う溶媒和自由エネルギー変化を議論するのに適している。それにもかかわらず、これまで、RISM 理論はこの種の問題に応用されなかった。それは、電解質溶液や多原子分子の溶質を含む系で RISM 方程式を解こうとしても、数値的な不安定性により解を求めることが難しかったからである。近年、木下と平田により、RISM 方程式を解くための非常に有力なアルゴリズムが開発され⁸、それは、電解質溶液中の希ガス⁹や純水中の多原子分子（ペプチド）^{10, 11}に応用された。さらに、その延長として、NaCl 溶液中のジペプチドも調べられた¹²。本研究では、上記の疑問に答えるべく、様々なアルカリハライド溶液中におけるペプチドの溶媒和自由エネルギーやペプチドの水和構造に対する塩効果を調べた。ペプチドはタンパク質の構成要素であるので、塩効果の物理化学的本質はタンパク質と共通であると考えられる。

3.2 計算方法とモデル

3.2.1 溶媒和自由エネルギーの計算

m 原子（サイト）分子、水（V）、カチオン（C）、アニオン（A）を含む系に対して、溶媒和自由エネルギー（ $\Delta\mu_s$ ）は次式により計算される^{15, 16}。

$$\Delta\mu_s = I_V + I_A + I_C \quad (3.1)$$

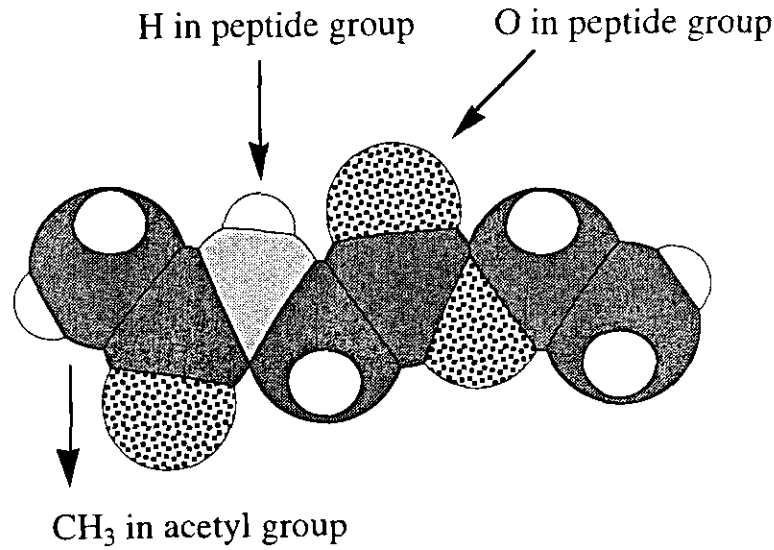


図 3.1: アセチルグリシンエチルエステル (AGE) の構造

$$I_X = 4\pi k_B T \sum_{a=1}^m \rho_X \int_0^\infty \left[\frac{1}{2} h_{aX}(r)^2 - c_{aX}(r) - \frac{1}{2} h_{aX}(r) c_{aX}(r) \right] r^2 dr \quad (3.2)$$

ここで、“X”は“V”、“C”、“A”のいずれかを表し、また、 I_V は水のHとOの寄与の和である。溶質-溶媒間相関関数 ($h_{aX}(r)$, $c_{aX}(r)$) は2章で述べた DRISM 理論により求めた。

(付録 A 参照)

塩析係数 (k_s) はイオンを加えたことにより溶解度がどの程度減少したかを示す指標であり、次式で定義される。

$$k_s = \log(S_0/S)/C \quad (3.3)$$

ここで、 S_0 と S は、それぞれ、純水中とモル濃度 C の塩溶液中の溶質の溶解度である。 S_0/S は近似的に次式で与えられる^{9, 17}。

$$S_0/S = \frac{(\rho_V + \rho_C + \rho_A) \exp[\Delta\mu_s/k_B T]}{\rho_V^0 \exp[\Delta\mu_s^0/k_B T]} \quad (3.4)$$

ここで、 ρ_V^0 は純水の数密度で、 $\Delta\mu_s^0$ は純水中での溶質の水和自由エネルギーを表す。

3.2.2 モデル

ここでは実験¹⁸により塩析係数が求められているアセチルグリシンエチルエステル (AGE) を研究対象として選んだ。計算の際、コンフォメーションは *all-trans* に固定した。その構

表 3.1: 1 M 電解質溶液における水の数密度 (文献19) と誘電率 (文献9,20)

	$\rho_V(\text{\AA}^{-3})$	ϵ
LiCl	0.03269	64
NaCl	0.03269	65
NaBr	0.03247	66
NaI	0.03211	67
KCl	0.03234	67
KBr	0.03212	68
KI	0.03176	69

造を図 3.1 に示す。カチオンの効果を調べるために LiCl、NaCl、KCl、アニオンの効果を調べるために NaCl、NaBr、NaI の電解質溶液中での AGE の溶媒和自由エネルギーを計算した。温度は 25 °C、塩濃度は 1M とした。それぞれの電解質溶液の水の数密度¹⁹ と誘電率^{9, 20} を表 3.1 に示す。

サイト間の二体ポテンシャル (u_{ab}) として、Lennard-Jones ポテンシャル項と静電相互作用項からなる標準的なものを用いた。

$$u_{ab}(r) = 4\epsilon_{ab} \left[\left(\frac{\sigma_{ab}}{r} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ab}}{r} \right)^6 \right] + \frac{q_a q_b}{r}. \quad (3.5)$$

Lennard-Jones ポテンシャルパラメータに関して標準的な Lorentz-Berthelot の結合則 $\epsilon_{ab} = (\epsilon_a \epsilon_b)^{1/2}$ および $\sigma_{ab} = (\sigma_a + \sigma_b)/2$ を用いた。水に対しては SPC/E モデル²¹、ペプチドに対しては AMBER 型のポテンシャルパラメーター (表 3.2) を用いた。イオンに対する L-J の σ は、希ガスの塩析定数と塩溶液の平均活量係数に関して理論値が定性的に実験値を再現するように決定した。(付録 A 参照) L-J の ϵ は Mavroyannis-Stephan 理論^{22, 23} から求めた。(付録 A 参照) それらの値を表 3.3 に示す。

表 3.2: AGE の Lennard-Jones ポテンシャルパラメーターと部分電荷

	$\sigma/2(\text{\AA})$	$\epsilon(\text{kcal/mol})$	部分電荷
(CH ₃ C=O)			
C	1.60	0.06	-0.142
H	1.37	0.01	0.010
H	1.37	0.01	0.010
H	1.37	0.01	0.010
C	1.65	0.12	0.616
O	1.43	0.20	-0.504
(Gly)			
N	1.56	0.16	-0.463
H	0.89	0.02	0.252
C	1.60	0.06	0.035
H	1.37	0.01	0.032
H	1.37	0.01	0.032
C	1.65	0.12	0.616
O	1.43	0.20	-0.504
(OCH ₂ CH ₃)			
O	1.47	0.15	-0.577
C	1.60	0.06	0.361
H	1.37	0.01	0.100
H	1.37	0.01	0.100
C	1.60	0.06	-0.098
H	1.37	0.01	0.038
H	1.37	0.01	0.038
H	1.37	0.01	0.038

表 3.3: 水とイオンの Lennard-Jones ポテンシャルパラメーター: 括弧内はイオン-イオンに対するもの

	$\sigma(\text{\AA})$	$\epsilon(\text{kcal/mol})$
H	0.40	0.046
O	3.16	0.156
Li ⁺	1.48 (1.63)	0.125 (0.070)
Na ⁺	1.90 (1.86)	0.293 (0.333)
K ⁺	2.84 (2.67)	0.297 (0.431)
Cl ⁻	3.62 (3.71)	0.448 (0.387)
Br ⁻	3.92 (4.04)	0.638 (0.532)
I ⁻	4.40 (4.54)	0.722 (0.598)

表 3.4: 様々な電解質溶液中における AGE の溶媒和自由エネルギーと塩析係数

	I_V	χ	I_C	I_A	$\Delta\mu_s$	$\Delta\Delta\mu_s$	k_s	$k_s[\text{実験値}]^a$
LiCl	32.92	0.73	-2.34	1.81	32.39	0.20	0.16	0.10
NaCl	32.92	0.73	-1.96	1.81	32.77	0.58	0.43	0.16
KCl	32.06	-0.13	-1.27	1.77	32.56	0.37	0.28	0.15
NaCl	32.92	0.73	-1.96	1.81	32.77	0.58	0.43	0.16
NaBr	32.69	0.50	-1.98	1.79	32.49	0.30	0.23	0.11
NaI	32.34	0.15	-1.99	1.89	32.24	0.05	0.03	0.04

^a 文献 18

3.3 結果と考察

3.3.1 ペプチドの溶媒和自由エネルギー

アセチルグリシンエチルエステル (AGE) の溶媒和自由エネルギーとその成分 (I_V 、 I_C 、 I_A) および塩析係数を表 3.4 に示す。表中の χ は次式で定義される。

$$\chi = I_V - \Delta\mu_s^0 \quad (3.6)$$

ここで、 $\Delta\mu_s^0$ は純水中の AGE の水和自由エネルギーである。 χ はイオンを加えたことによる水の再配向からの寄与を意味する。一方、 I_C と I_A はそれぞれカチオン-AGE、アニオン-AGE の「直接的」な相互作用の寄与である。(ここで、イオン-AGE の「直接的」な相互作用という意味は、式 (3.5) で与えられるイオン-AGE の二体ポテンシャル u ではなく、式 (3.2) で与えられる溶媒和自由エネルギーのうちのイオンの寄与であることに注意しなければならない。イオンを中心に考えると、水からの寄与は間接的であり、イオンからの寄与は直接的であるといえる。) また、 $\Delta\Delta\mu_s$ は

$$\begin{aligned} \Delta\Delta\mu_s &= \Delta\mu_s - \Delta\mu_s^0 \\ &= \chi + I_C + I_A \end{aligned} \quad (3.7)$$

で定義され、純水中と電解質溶液中の溶媒和自由エネルギーの差、つまり、全塩効果である。表 3.4 には対応する塩析係数の実験値¹⁸ も示してある。表 3.4 から明らかなように、塩析係数の計算結果の順序は実験値の順序と一致しており ($\text{Na}^+ > \text{K}^+ > \text{Li}^+$ 、 $\text{Cl}^- > \text{Br}^- > \text{I}^-$)、それは Hofmeister 順列 (K^+ 、 $\text{Na}^+ > \text{Li}^+$ 、 $\text{Cl}^- > \text{Br}^- > \text{I}^-$) に従っている。

3.1 節で述べたように Hofmeister 順列は溶質の部分電荷には影響されない。その原因を調べるため、これらの効果を疎水的寄与と静電的寄与に分けた。そのために、AGE のもつ部分電荷をすべて取り除いた (0 にした) 仮想的なペプチドを考え、その溶媒和自由エネルギーを計算した。その結果を表 3.5 に示す。それらは、疎水的寄与とすることができる (上付の“(0)”は疎水的な効果を意味する)。一方、静電的寄与は実際の (部分電荷を持つ) ペプチドと仮想的な (部分電荷を持たない) ペプチドの溶媒和自由エネルギーの差 ($X^{(g)} = X - X^{(0)}$) として定義できる。それらを表 3.6 に示す。つまり、ここで、全塩効果 (表 3.4: $\Delta\Delta\mu_s$) を疎水的寄与 (表 3.5: $\Delta\Delta\mu_s^{(0)}$) と静電的寄与 (表 3.6: $\Delta\Delta\mu_s^{(g)}$) に分け、

表 3.5: すべての部分電荷を取り除いた仮想ペプチドの溶媒和自由エネルギー

	$I_V^{(0)}$	$\chi^{(0)}$	$I_C^{(0)}$	$I_A^{(0)}$	$\Delta\mu_s^{(0)}$	$\Delta\Delta\mu_s^{(0)}$
LiCl	50.74	-0.60	-0.55	1.33	51.53	0.19
NaCl	50.97	-0.37	-0.41	1.33	51.88	0.55
KCl	50.36	-0.97	-0.08	1.31	51.60	0.26
NaCl	50.97	-0.37	-0.41	1.33	51.88	0.55
NaBr	50.66	-0.67	-0.42	1.37	51.62	0.28
NaI	50.23	-1.11	-0.41	1.55	51.36	0.03

表 3.6: AGE の溶媒和自由エネルギーに対する電荷の効果

	$\chi^{(q)}$	$I_C^{(q)}$	$I_A^{(q)}$	$\Delta\Delta\mu_s^{(q)}$
LiCl	1.33	-1.79	0.48	0.01
NaCl	1.10	-1.55	0.48	0.03
KCl	0.84	-1.19	0.46	0.11
NaCl	1.10	-1.55	0.48	0.03
NaBr	1.17	-1.56	0.42	0.02
NaI	1.26	-1.58	0.34	0.02

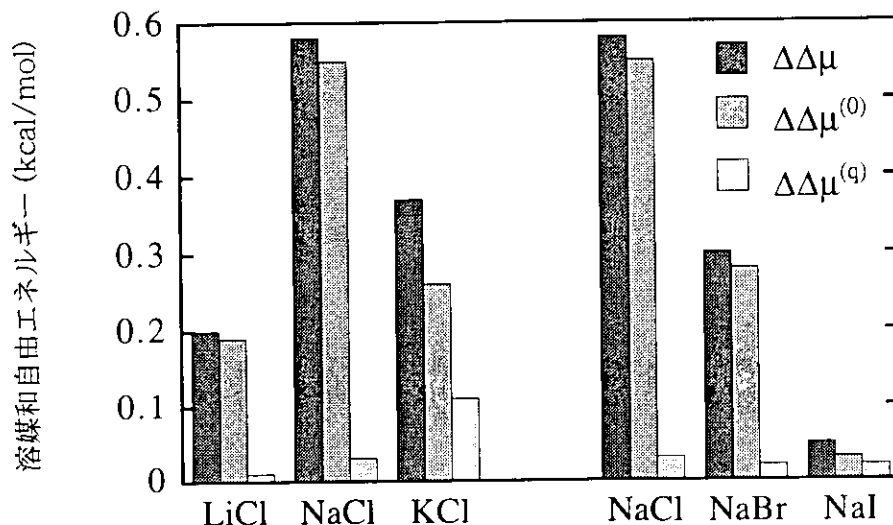


図 3.2: 全塩効果 ($\Delta\Delta\mu_s$) および、それに対する疎水的寄与 ($\Delta\Delta\mu_s^{(0)}$) と静電的寄与 ($\Delta\Delta\mu_s^{(q)}$)

さらに、それらをイオンによる水の再配向からの寄与 (表 3.5 : $\chi^{(0)}$ 、表 3.6 : $\chi^{(q)}$) とイオンからの「直接的」な寄与 (表 3.5 : $I_C^{(0)}$ と $I_A^{(0)}$ 、表 3.6 : $I_C^{(q)}$ と $I_A^{(q)}$) に分けた。

図 3.2 に全塩効果 (表 3.4 : $\Delta\Delta\mu_s$) および、それに対する疎水的寄与 (表 3.5 : $\Delta\Delta\mu_s^{(0)}$) と静電的寄与 (表 3.6 : $\Delta\Delta\mu_s^{(q)}$) を示す。この図から、静電的寄与は疎水的寄与に比べ非常に小さく全塩効果にほとんど効いていないことがわかる。表 3.6 から、静電的な効果が非常に小さいのは、イオンによる水の再配向からの寄与 ($\chi^{(q)}$) とイオンからの「直接的」な寄与 ($I_C^{(q)}$ と $I_A^{(q)}$) が互いに打ち消し合っているためであることがわかる。すなわち、イオンは溶質の疎水的溶媒和と静電相互作用の両方に影響を及ぼすが、静電相互作用に対する効果は各寄与が打ち消すことにより塩効果としてほとんど現れてこず、溶質の疎水的溶媒和に対する効果が塩効果として前面に現れてくる。それは、塩効果が溶質の持つ静電的な個性 (部分電荷を持つか否か、部分電荷がどのような分布をしているか、など) に依存しないということであり、Hofmeister 順列が様々な分子に対して成り立っている理由であると考えられる。

疎水的な効果が Hofmeister 順列に対して重要であることはわかったが、それではその効

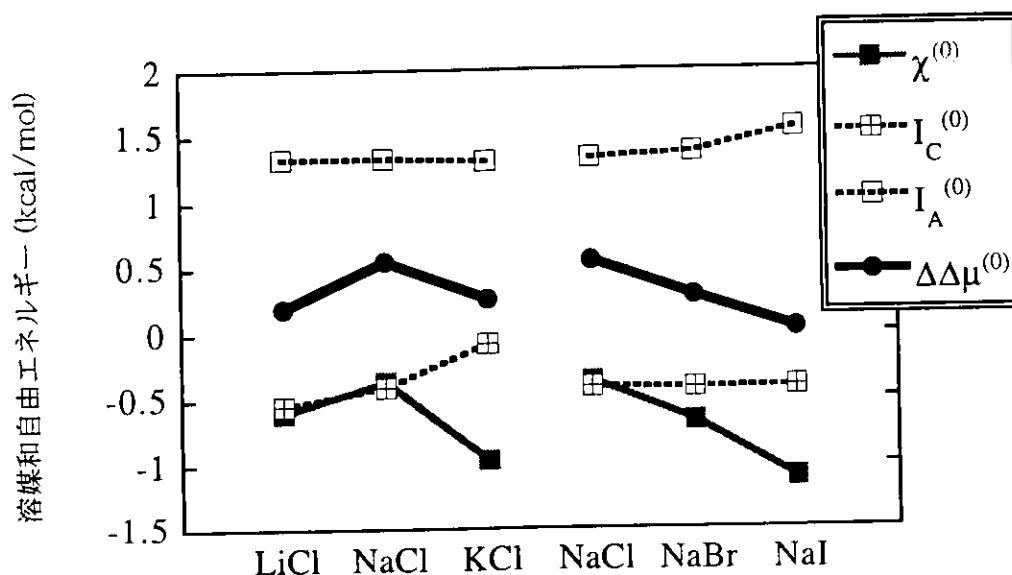


図 3.3: 疎水的寄与 ($\Delta\Delta\mu_s^{(0)}$) および、それに対するイオンによる水の再配向からの寄与 ($\chi^{(0)}$) カチオンからの「直接的」な寄与 ($I_C^{(0)}$)、アニオンからの「直接的」な寄与 ($I_A^{(0)}$)、

果の順序はどのような寄与によって決まっているのだろうか。ここで、イオンによる水の再配向からの寄与 ($\chi^{(0)}$) の順序、イオンからの「直接的」な寄与 ($I_C^{(0)}$ と $I_A^{(0)}$) の順序、それらの和としての疎水的寄与 ($\Delta\Delta\mu_s^{(0)}$) の順序を比較した (図 3.3)。アニオンに関しては次のとおりである。 $\chi^{(0)}$ はアニオンサイズが大きくなるにつれ小さくなる。一方、 $I_A^{(0)}$ はその逆の傾向を示すが、その差は $\chi^{(0)}$ の場合に比べ小さい。そのため、それらの和である $\Delta\Delta\mu_s^{(0)}$ の順序は $\chi^{(0)}$ の順序を反映することになる。また、カチオンに関しては、 $\chi^{(0)}$ は $\text{Na}^+ > \text{Li}^+ > \text{K}^+$ の順序であり、 $I_C^{(0)}$ はカチオンサイズが大きくなるにつれ大きくなる。その和 $\Delta\Delta\mu_s^{(0)}$ の順序は $\text{Na}^+ > \text{K}^+ > \text{Li}^+$ である。 $\Delta\Delta\mu_s^{(0)}$ の $\text{Na}^+ > \text{Li}^+$ と $\text{Na}^+ > \text{K}^+$ という順序は $\chi^{(0)}$ を反映しているが、 Li^+ と K^+ の順序は $I_C^{(0)}$ の効果によって逆転する。これらをまとめると次のようなことが言える。Hofmeister 順列はイオンによる水の再配向からの寄与とイオンからの「直接的」な寄与の順序のバランスにより決まっている。アニオンの場合は、イオンによる水の再配向からの寄与の方が支配的であるため、Hofmeister 順列はイオンによる水の再配向からの寄与の順序により決まっている。カチオンの場合は両者が同程度の寄与をする。

3.3.2 ペプチドの溶媒和構造

ペプチドのまわりの溶媒の分布

ここでは、ペプチド原子のまわりの溶媒（水、カチオン、アニオン）の分布について述べる。その際、正の部分電荷を持ったペプチド基の水素、負の部分電荷を持ったペプチド基の酸素、本質的に中性であるメチル基の炭素（それらを図3.1に示す）に注目した。また、以下の議論において、1.2節で述べた知識が大いに役立つ。

ペプチド基の水素 ペプチド基の水素のまわりの溶媒分子（水、カチオン、アニオン）の動径分布関数を図3.4に示す。ペプチド基の水素はまわりのペプチド原子により立体的に溶媒が近づきにくくなっているため、水やイオンの分布は比較的小さくなっている。しかし、ペプチド基の水素と溶媒分子との静電的な相互作用のため、動径分布関数にはその特徴が現れている。水の分布に関しては（図3.4(A)）、ペプチド水素は正の部分電荷を持っているため、H(ペプチド) - O(水)の動径分布関数にはっきりとしたピークがみられ、水の水素は外側を向いている。カチオン (Li^+ 、 Na^+ 、 K^+) に関しては（図3.4(B)）、静電的に反発されている様子がうかがわれる。アニオン (Cl^- 、 Br^- 、 I^-) に関しては（図3.4(C)）、静電的な引力によりペプチド基の水素に引きつけられていることがわかる。これらのイオンは安定な水和殻を持たないので、ペプチド水素に接触している。第一ピークの位置の順序はペプチド基の水素とそれらアニオンの最近接距離の順序に一致している。

ペプチド基の酸素 ペプチド基の酸素のまわりの溶媒分子の動径分布関数を図3.5に示す。水の分布をみると（図3.5(A)）、ペプチド基の酸素と水の水素が強く水素結合していることがわかる。カチオン (Li^+ 、 Na^+ 、 K^+) に関しても（図3.5(B)）、静電相互作用によりペプチド基の酸素と強く結合していることがわかる。カチオンサイズが小さくなるほど第一ピークは高くなっているが、その理由は次のように考えられる。 Li^+ や Na^+ のような正水和イオンは比較的安定な水和殻を持つため、(O(ペプチド) - 水 - カチオン) という構造が安定な構造のひとつである（それは第二ピークに現れている）。その構造は最も安定な構造である (O(ペプチド) - カチオン - 水) と競争すると考えられる。結果的に、カチオンサイズが小さくなるにつれ後者が有利になり、(O(ペプチド) - カチオン - 水) の構造が支配的になる。アニオン (Cl^- 、 Br^- 、 I^-) に関しては（図3.5(C)）、直感的には静電的に反発さ

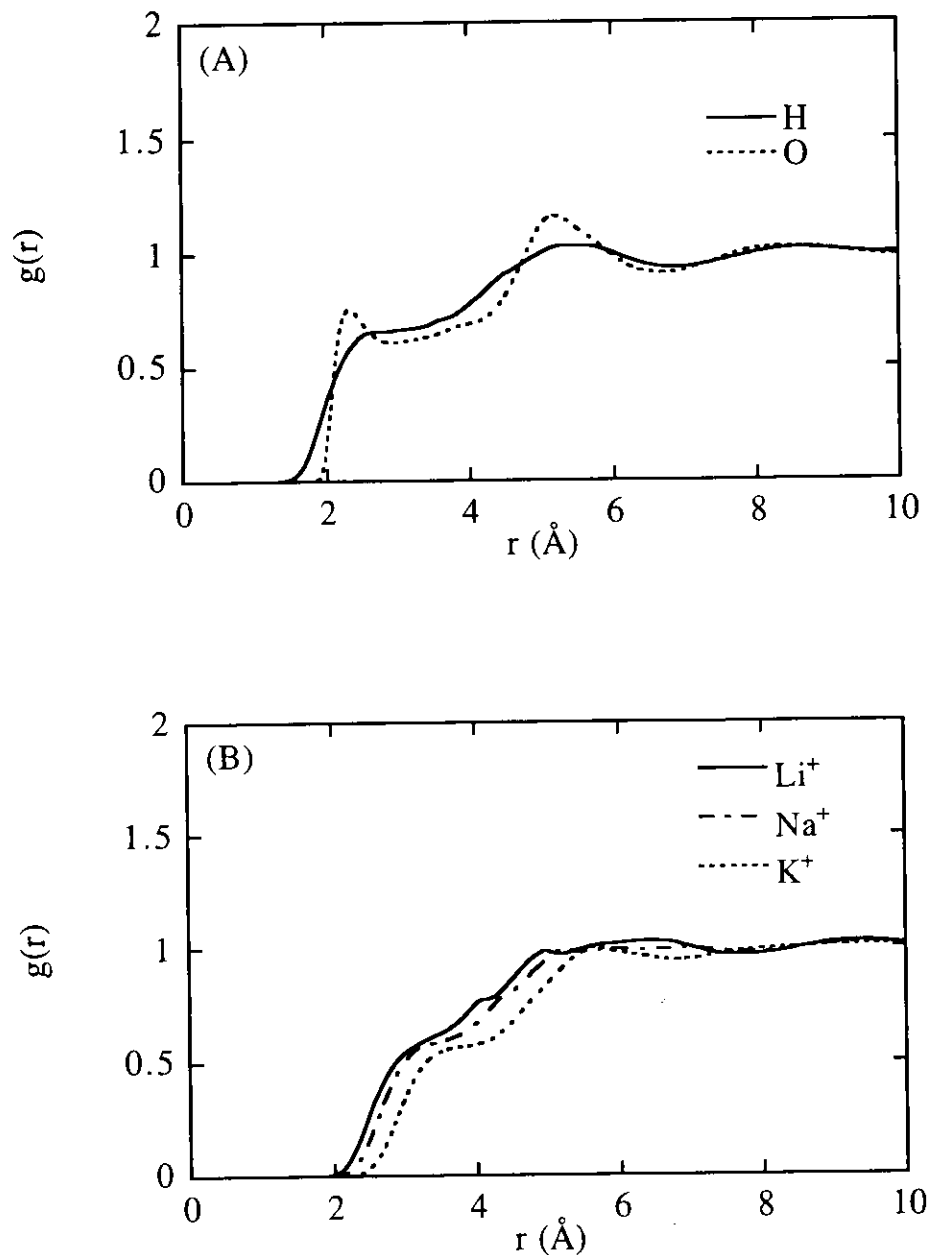
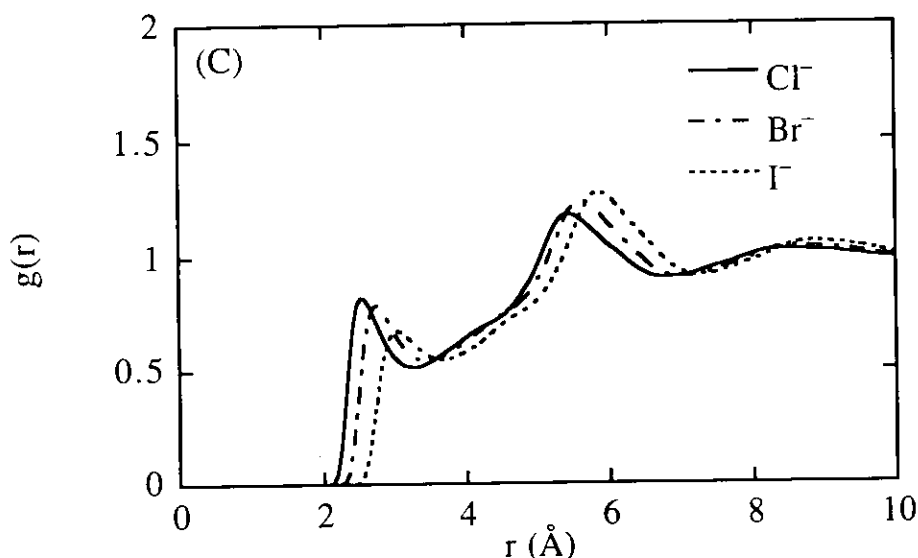


図 3.4: ペプチド基の水素のまわりの溶媒和構造. (A) 実線, 純水中の H(ペプチド) - H(水); 点線, 純水中の H(ペプチド) - O(水). (B) 実線, LiCl 溶液中の H(ペプチド) - Li^+ ; 破線, NaCl 溶液中の H(ペプチド) - Na^+ ; 点線, KCl 溶液中の H(ペプチド) - K^+ . (C) 実線, NaCl 溶液中の H(ペプチド) - Cl^- ; 破線, NaBr 溶液中の H(ペプチド) - Br^- ; 点線, NaI 溶液中の H(ペプチド) - I^-



れると考えられるが、O(ペプチド)−アニオンの接触構造は安定化されているように見える。これと同じ様な現象が溶液中の Cl^- - Cl^- の動径分布関数にもみられることが知られている。Pettitt と Rossky は RISM 理論に基づいた研究において、水溶液中で Cl^- - Cl^- の接触構造が安定化されることを見いだした²⁴。その後、その安定化が真に物理的な要因であるか否かが議論になり、分子シミュレーションによっても検証されたが^{25, 26, 27, 28, 29, 30, 31}、その問題はいまだに解けていない。

メチル基 メチル基の炭素のまわりの溶媒分子の動径分布関数を図 3.6 に示す。水の分布は (図 3.6(A))、希ガスのまわりのものとよく似ている。カチオン (Li^+ , Na^+ , K^+) に関しては (図 3.6(B))、その分布に顕著な特徴はみられない。アニオン (Cl^- , Br^- , I^-) に関しても (図 3.6(C))、希ガスのまわりのものとよく似ており、アニオンサイズが大きくなるほど第一ピークが高くなっている。それは次のように考えられる。それらのアニオンは $\text{Cl}^- > \text{Br}^- > \text{I}^-$ の順でより安定な水和殻をもっている。そのため、 $\text{Cl}^- < \text{Br}^- < \text{I}^-$ の順で溶質と接触しやすくなる。

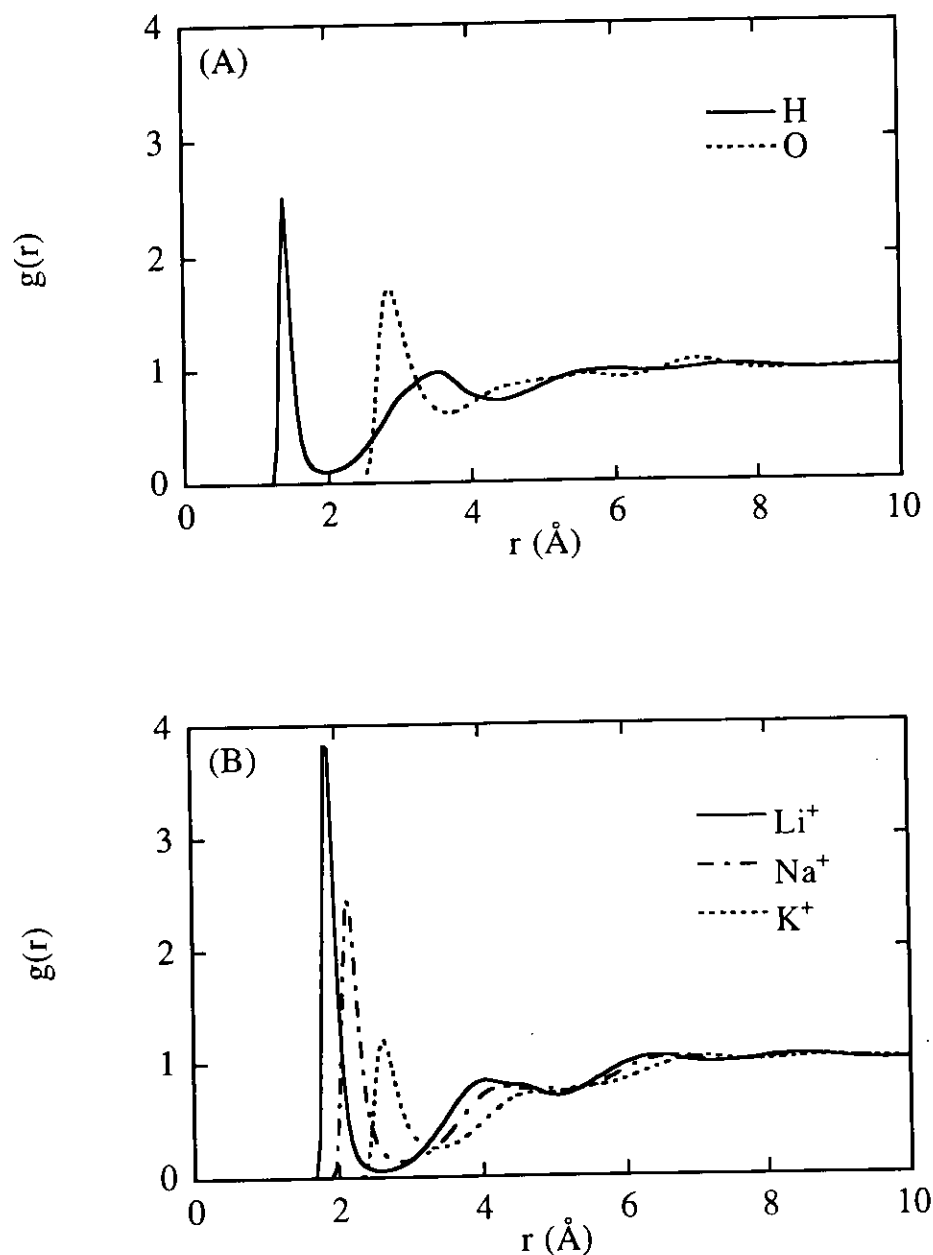
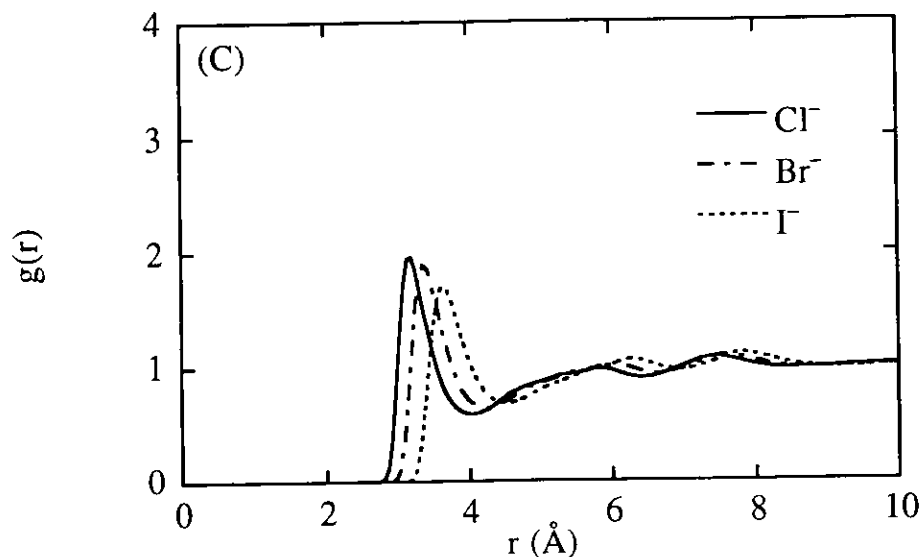


図 3.5: ペプチド基の酸素のまわりの溶媒和構造. (A) 実線, 純水中の O(ペプチド) - H(水); 点線, 純水中の O(ペプチド) - O(水). (B) 実線, LiCl 溶液中の O(ペプチド) - Li^+ ; 破線, NaCl 溶液中の O(ペプチド) - Na^+ ; 点線, KCl 溶液中の O(ペプチド) - K^+ . (C) 実線, NaCl 溶液中の O(ペプチド) - Cl^- ; 破線, NaBr 溶液中の O(ペプチド) - Br^- ; 点線, NaI 溶液中の O(ペプチド) - I^-



ペプチドのまわりの水の分布に対する塩効果

塩効果によるペプチドのまわりの水の分布変化を次式で定義する。

$$\Delta g(r) = g(r) [\text{塩溶液中}] - g(r) [\text{純水中}] \quad (3.8)$$

つまり、 $\Delta g(r)$ が正ならばまわりの水分子の分布が増加したことになり、負なら減少したことになる。ペプチド-水の動径分布関数に対する塩効果を以下の三つの種類に分類すると考えやすい。一つは、正水和イオンに関するものである。正水和イオンは、注目するペプチド原子の部分電荷の符号によって、 $\Delta g(r)$ を正にも負にもする。正水和イオンとペプチド原子の電荷が異符号のとき、正水和イオンは水と強く結合しているため、その水和水はイオンと共にペプチド原子に引きつけられるので、 $\Delta g(r)$ は正になる。イオンとペプチド原子の電荷が同符号のとき、水和水はイオンと共に反発されるので、 $\Delta g(r)$ は負になる。この効果を「正水和効果」と呼ぶ。二つ目は、負水和イオンに関するものである。負水和イオンはまわりの水分子の氷様構造を破壊して、その密度をより密にする。そのため、 $\Delta g(r)$ は正になる。この効果を「負水和効果」と呼ぶ。三つ目の効果は、イオンと水分子の交換によるものである。これは、イオンとペプチド原子の電荷が異符号で、イオン-ペプチドの接触構造が水-ペプチドの接触構造よりも安定なときに起こり、 $\Delta g(r)$ は負になる。こ

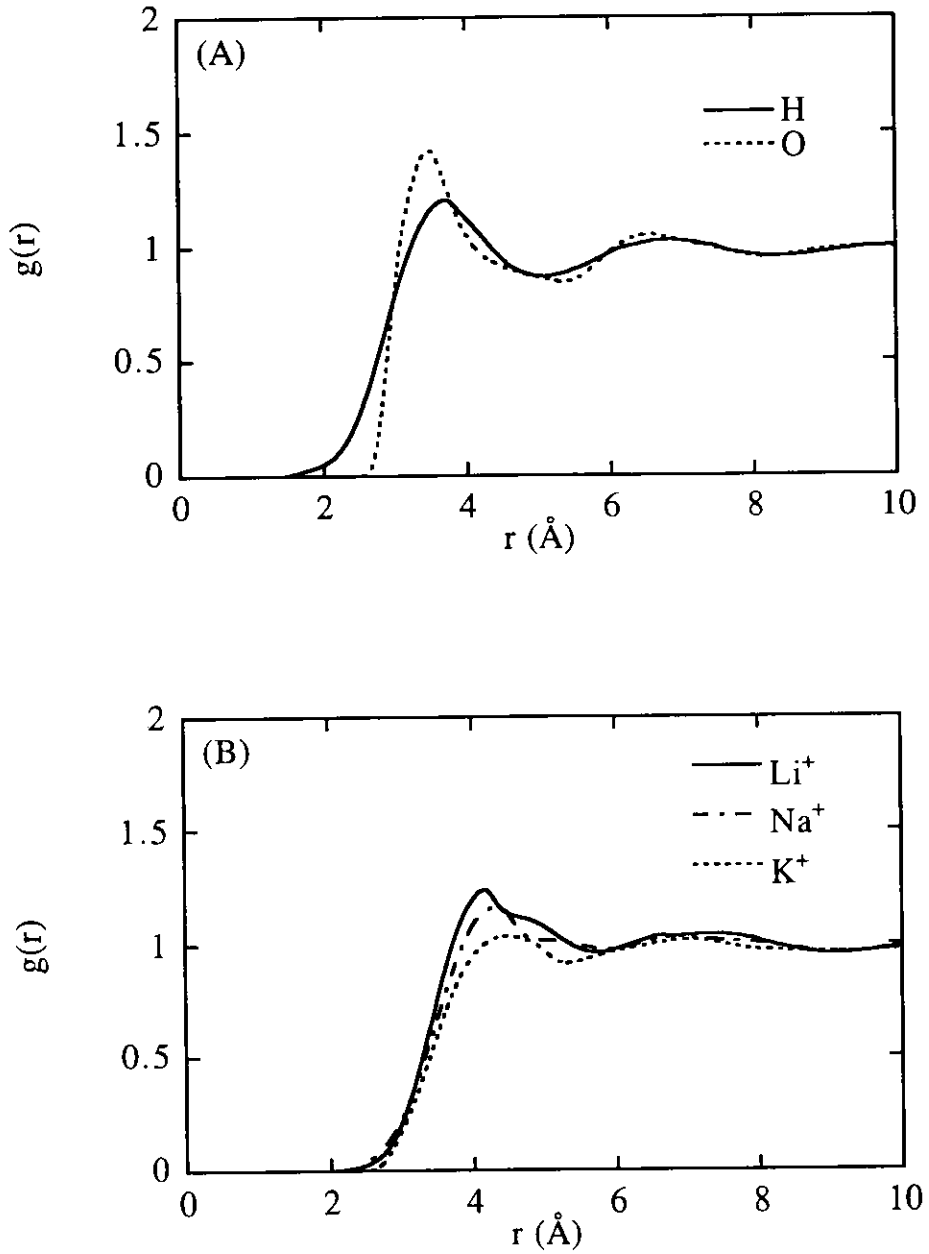
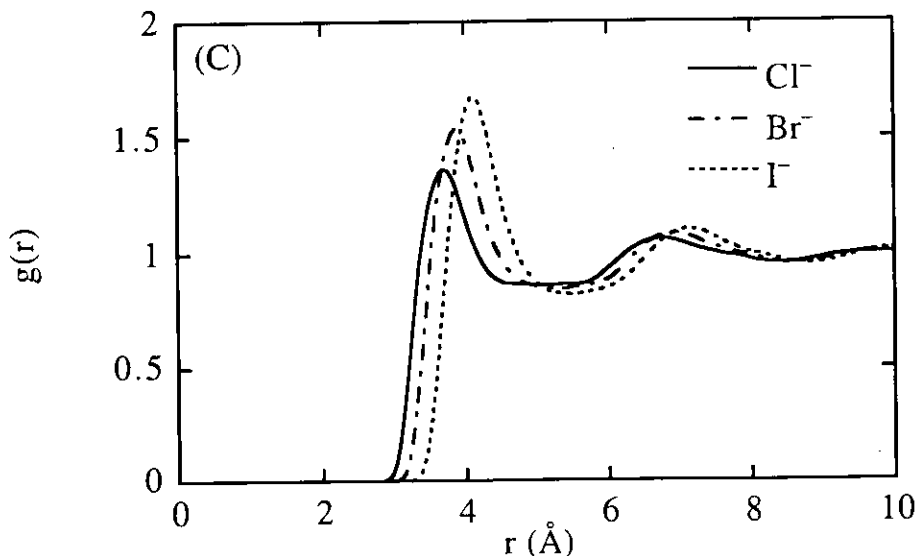


図 3.6: メチル基のまわりの溶媒和構造. (A) 実線, 純水中の C(メチル) - H(水); 点線, 純水中の C(メチル) - O(水). (B) 実線, LiCl 溶液中の C(メチル) - Li^+ ; 破線, NaCl 溶液中の C(メチル) - Na^+ ; 点線, KCl 溶液中の C(メチル) - K^+ . (C) 実線, NaCl 溶液中の C(メチル) - Cl^- ; 破線, NaBr 溶液中の C(メチル) - Br^- ; 点線, NaI 溶液中のメチル - I^-



の効果を「イオン交換効果」と呼ぶ。(図 3.7)

ペプチド基の水素 H(ペプチド) - O(水) に対する $\Delta g(r)$ を図 3.8 に示す。図 3.8(A) は基本的にカチオンの効果の違いに注目したものであるが、共通のバックグラウンドとしての Cl^- の効果も考慮しなければならない。 Cl^- は負水和イオンであるので、 Cl^- による「負水和効果」が期待される。「負水和効果」は $\Delta g(r)$ に対して正の寄与をするので、バックグラウンドとして $\Delta g(r)$ はいくらか正であると考えられる。 Li^+ と Na^+ は正水和イオンであり、それらは静電的にペプチド水素に反発されている。そのため、「正水和効果」により、 $\Delta g(r)$ は負になると期待される。また、その効果はイオンと水の相互作用の強さから $\text{Li}^+ > \text{Na}^+$ であると考えられる。その効果はバックグラウンドにある Cl^- の効果と競争する。図 3.8(A) が示すように、 LiCl の場合は Li^+ の「正水和効果」が支配的であり、 $\Delta g(r)$ は正になる。一方、 NaCl の場合はバックグラウンドにある Cl^- の効果の方が支配的であり、 $\Delta g(r)$ は負になる。 K^+ は負水和イオンに分類され、 Cl^- と同じ「負水和効果」が期待される。そのため、 $\Delta g(r)$ は大きく正になる。図 3.8(B) はアニオンの効果の違いを示している。 Cl^- 、 Br^- 、 I^- はいずれも負水和イオンに分類されるので、「負水和効果」が期待される。つまり、 $\Delta g(r)$ は正になる。また、バックグラウンドとして Na^+ の「正水和効果」

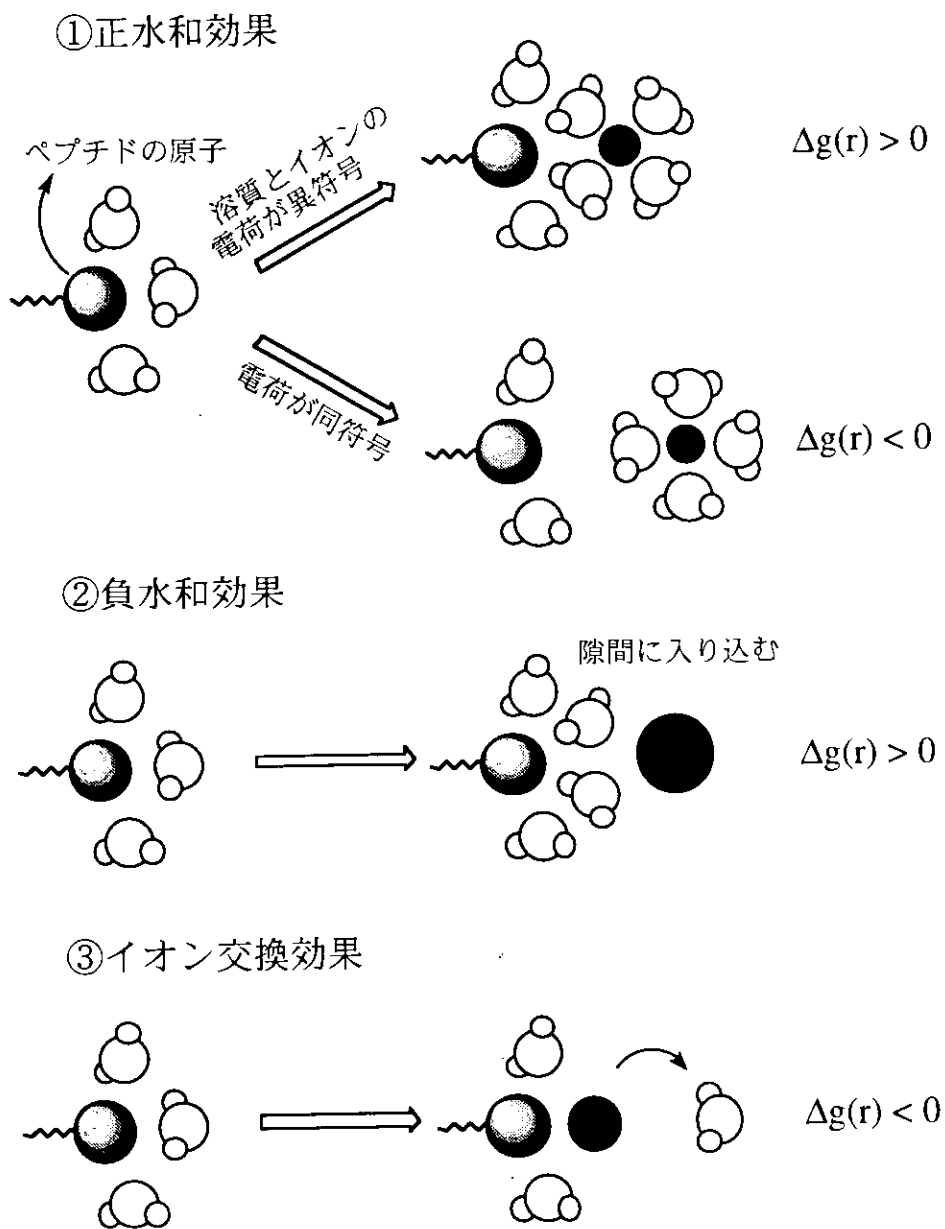


図 3.7: ペプチドのまわりの水の分布に対する塩効果に関する三つの概念

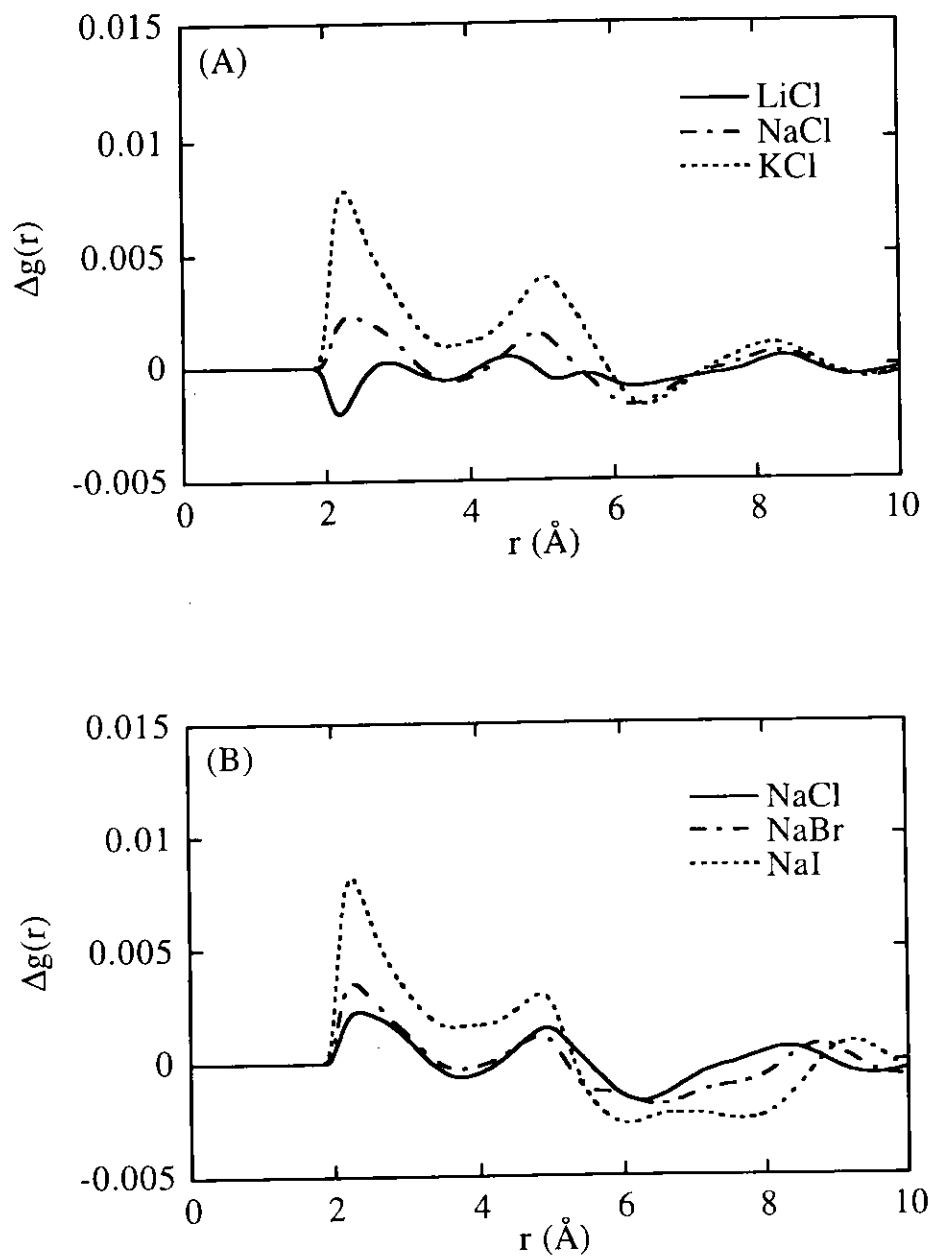


図 3.8: 塩効果によるペプチド基の水素のまわりの水和構造変化. (A) 実線, LiCl 溶液中の H(ペプチド) - O(水); 破線, NaCl 溶液中の H(ペプチド) - O(水); 点線, KCl 溶液中の H(ペプチド) - O(水). (B) 実線, NaCl 溶液中の H(ペプチド) - O(水); 破線, NaBr 溶液中の H(ペプチド) - O(水); 点線, NaI 溶液中の H(ペプチド) - O(水)

があるが、上で述べたように「負水和効果」の方が支配的になっている。その効果はイオン半径が大きいほど増加するので、 $\Delta g(r)$ は $\text{Cl}^- < \text{Br}^- < \text{I}^-$ の順に大きくなる。

ペプチド基の酸素 O(ペプチド) - H(水)に対する $\Delta g(r)$ を図3.9に示す。図3.9(A)に関して、バックグラウンドとしての Cl^- の「負水和効果」により $\Delta g(r)$ は正である。 Li^+ 、 Na^+ 、 K^+ は図3.3(B)にみられるようにペプチド酸素に接触する構造が安定である。そのため、「イオン交換効果」によって $\Delta g(r)$ は負になり、その効果の大きさは図3.5(B)から $\text{Li}^+ > \text{Na}^+ > \text{K}^+$ であると期待される。図3.9(A)が示すように、KClの場合は Cl^- の「負水和効果」が支配的であるが、NaCl、LiClとなるにつれカチオンの「イオン交換効果」が支配的になってくる。図3.9(B)に関しては、 Cl^- 、 Br^- 、 I^- はいずれも「負水和効果」が期待され、 $\Delta g(r)$ は正になる。その効果は上で述べたように $\text{Cl}^- < \text{Br}^- < \text{I}^-$ である。バックグラウンドとして Na^+ の「イオン交換効果」による負の寄与があり、NaClでは Na^+ の「イオン交換効果」が支配的であるため負になっており、NaBrでは両者が打ち消し合う傾向にあり、NaIでは I^- の「負水和効果」が支配的になるため正になっている。

3.3.3 溶解度と構造安定性に対する塩効果の関係

3.1節で述べたように、タンパク質に関しては、溶解度に対するイオン順列と天然状態の安定性に対するイオン順列が共にHofmeister順列に従っている。一見無関係に思えるこの2つの性質の関係はどのようになっているのであろうか。そこで、その関係を説明するためのモデルを考えた。まず、一つの仮定として、溶解度に対するHofmeister順列が天然タンパク質でも変性タンパク質でも成り立っているとする。Hofmeister順列が様々な分子について成り立っていることを考えれば、構造の変化でそれが変わるとは考えにくく、その仮定は妥当なものであると思われる。さらに、変性タンパク質の溶解度が天然タンパク質の溶解度より塩効果に対して敏感であると仮定する。そうすると、図3.10のようなグラフが描ける。縦軸はタンパク質の構造エネルギー (E) と溶媒和自由エネルギー ($\Delta\mu_s$) の和で、溶液中の安定性を表す。横軸はHofmeister順列に対応する。変性タンパク質の傾きが天然タンパク質の傾きより大きいことが、変性タンパク質の溶解度が天然タンパク質の溶解度より塩効果に対して敏感であるということに対応している。このグラフによると、

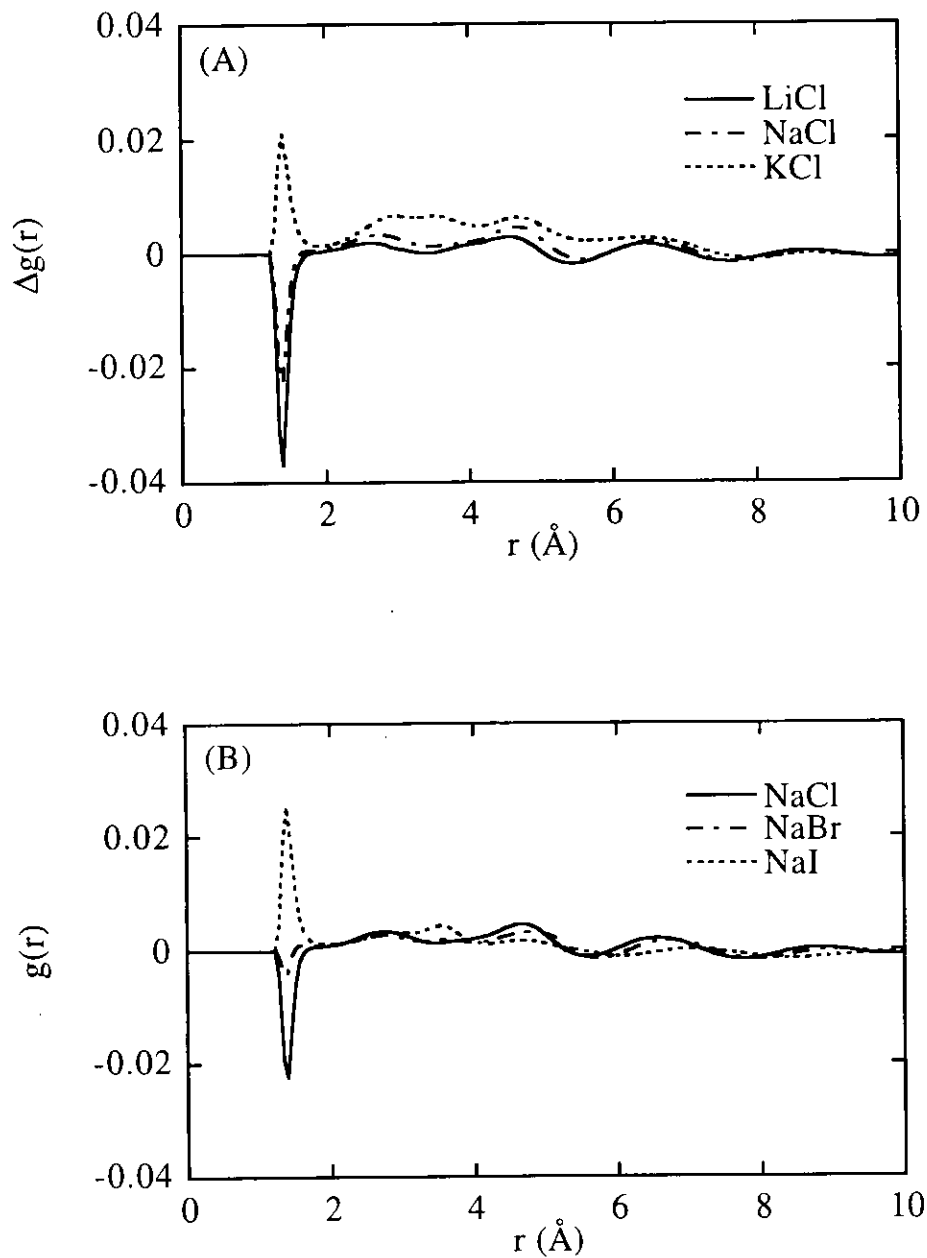


図 3.9: 塩効果によるペプチド基の酸素のまわりの水和構造変化. (A) 実線, LiCl 溶液中の O(ペプチド) - H(水); 破線, NaCl 溶液中の O(ペプチド) - H(水); 点線, KCl 溶液中の O(ペプチド) - H(水) 素. (B) 実線, NaCl 溶液中の O(ペプチド) - H(水); 破線, NaBr 溶液中の O(ペプチド) - H(水); 点線, NaI 溶液中の O(ペプチド) - H(水)

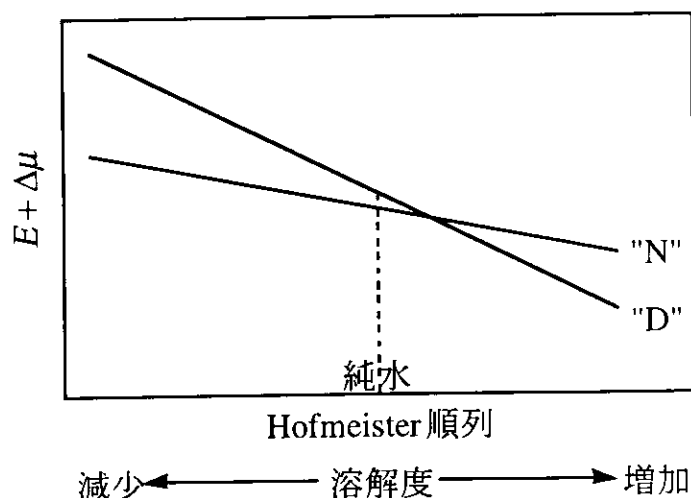


図 3.10: 電解質溶液中のタンパク質の天然状態 (N) と変性状態 (D) の安定性

純水中では当然 (定義により) 天然状態が安定であるが、それよりも左にいくとますます天然状態が安定なり、それよりも右に行くと変性状態の方が安定になってくる。その傾向は、まさに、天然状態の安定性に対する Hofmeister 順列に対応している。したがって、変性タンパク質の溶解度が天然タンパク質の溶解度より塩効果に対して敏感であることを明らかにすれば、この問題を解決したことになる。タンパク質の変性状態は天然状態よりも広がった構造をしていると考えられている、つまり、溶媒と接触する表面積が大きいと考えられている。それゆえ、接触表面積の大きい変性状態の方が塩効果に対して敏感であるというのは妥当であると思われる。しかし、その考えはあまりにも直感的であるので、今後、それを具体的に調べていく必要があるだろう。

3.4 まとめ

この章では、RISM 理論を用いて、様々なアルカリハライド水溶液中におけるアセチルグリシンエチルエステル (AGE) の溶媒和自由エネルギーと溶媒和構造に対する塩効果を調べた。

ペプチドの溶媒和自由エネルギーに対する塩効果 (塩析係数) の順序は実験結果 (それは Hofmeister 順列に従う) と一致することを示した。また、塩効果を疎水的寄与と静電的寄与、さらにそれらをイオンからの「直接的」な寄与とイオンによる水の再配向からの寄与

与にわけることにより次のようなことがわかった。静電的寄与は疎水的寄与に比べ非常に小さく全塩効果にほとんど効いていない。すなわち、イオンは溶質の疎水的溶媒和と静電相互作用の両方に影響を及ぼすが、静電相互作用に対する効果は各寄与が打ち消すことにより塩効果としてほとんど現れてこず、溶質の疎水的溶媒和に対する効果が塩効果として前面に現れてくる。それは、塩効果が溶質の持つ静電的な個性に依存しないということであり、Hofmeister 順列が様々な分子に対して成り立っている理由であると考えられる。また、Hofmeister 順列はイオンによる水の再配向からの寄与の順序とイオンからの「直接的」な寄与の順序のバランスにより決まっていると言える。アニオンの場合は、イオンによる水の再配向からの寄与の方が支配的であるため、Hofmeister 順列はイオンによる水の再配向からの寄与の順序により決まっている。カチオンの場合は両者が同程度の寄与をする。

ペプチドのまわりの水和構造に対する塩効果をイオンが加わったことによるペプチド-水間の動径分布関数の変化から解析した。ペプチド-水間の動径分布関数の変化を説明するために、以下の三つの概念を用いることを提案した。正水和イオンがペプチド原子に静電的に引きつけられたり反発されたりするとき、その水和水も共に引きつけられたり反発されたりする（「正水和効果」）。負水和イオンはまわりの水分子の氷様構造を破壊し、まわりの水分子の密度を増加させる（「負水和効果」）。ペプチド原子に静電的に強く引きつけられたイオンがペプチド原子近傍の水分子と交換する（「イオン交換効果」）。この三つの概念により、ペプチド-水間の動径分布関数に対する塩効果を整合的に説明することができた。

溶解度と構造安定性に対する塩効果の関係を説明するためのモデルを考えた。そのモデルでは、変性タンパク質の溶解度が天然タンパク質の溶解度より塩効果に対して敏感であるという仮定が入っているが、その仮定が正しければ溶解度と構造安定性に対する塩効果の関係を説明することができる。それゆえ、変性タンパク質の溶解度が天然タンパク質の溶解度より塩効果に対して敏感であることを証明（説明）することが今後の重要な課題である。

参考文献

- (1) P. H. von Hippel and T. Schleich, "Structure and Stability of Biological Macromolecules," ed by S. N. Timasheff and G. D. Fasman (Marcel Dekker, New York, 1969), p. 417.
- (2) K. I. Collins and M. W. Washabaugh, *Q. Rev. Biophys.*, **18**, 323 (1985).
- (3) R. L. Baldwin, *Biophys. J.*, **71**, 2056 (1996).
- (4) M. Ries-Kautt and A. Ducruix, *Methods Enzymol.*, **276**, 23 (1997).
- (5) Y. Goto, N. Takahashi, and A. L. Fink, *Biochemistry*, **29**, 3480 (1990).
- (6) W. F. McDevit and F. A. Long, *J. Am. Chem. Soc.*, **74**, 1773 (1952).
- (7) F. Hofmeister, *Arch. Exp. Pathol. Pharmacol.*, **24**, 247 (1888).
- (8) M. Kinoshita and F. Hirata, *J. Chem. Phys.*, **104**, 8807 (1996).
- (9) M. Kinoshita and F. Hirata, *J. Chem. Phys.*, **106**, 5202 (1997).
- (10) M. Kinoshita, Y. Okamoto, and F. Hirata, *J. Comp. Chem.*, **18**, 1320 (1997).
- (11) M. Kinoshita, Y. Okamoto, and F. Hirata, *J. Chem. Phys.*, **107**, 1586 (1997).
- (12) M. Kinoshita, Y. Okamoto, and F. Hirata, *J. Comp. Chem.*, **19**, 1724 (1998).
- (13) J. Perkyns and B. M. Pettitt, *Chem. Phys. Lett.*, **190**, 626 (1992).
- (14) J. Perkyns and B. M. Pettitt, *J. Chem. Phys.*, **97**, 7656 (1992).
- (15) S. J. Singer and D. Chandler, *Molcc. Phys.*, **55**, 621 (1985).

- (16) D. A. Zichi and P. J. Rossky, *J. Chem. Phys.*, **84**, 5020 (1986).
- (17) W. L. Masterton and T. P. Lee, *J. Phys. Chem.*, **74**, 2809 (1970).
- (18) P. K. Nandi and D. R. Robinson, *J. Am. Chem. Soc.*, **94**, 1308 (1972).
- (19) J. D'Ans, H. Surawski, and C. Synowietz, "Densities of Binary Aqueous Systems and Heat Capacities of Liquid Systems, Landolt-Börnstein, IV/1b," ed by Kl. Schäfer (Springer, Berlin, 1977).
- (20) H. Behret, F. Schmithals, and J. Barthel, *Z. Phys. Chem.*, **96**, 73 (1975).
- (21) H. J. C. Berendsen, J. R. Grigera, and T. P. Straatsma, *J. Phys. Chem.*, **91**, 6269 (1987).
- (22) C. Mavroyannis and M. J. Stephen, *Molec. Phys.*, **5**, 629 (1962).
- (23) W. L. Masterton, D. Bolocofsky, and T. P. Lee, *J. Phys. Chem.*, **75**, 2809 (1971).
- (24) B. M. Pettitt and P. J. Rossky, *J. Chem. Phys.*, **84**, 5836 (1986).
- (25) L. X. Dang and B. M. Pettitt, *J. Am. Chem. Soc.*, **109**, 5531 (1987).
- (26) L. X. Dang and B. M. Pettitt, *J. Chem. Phys.*, **84**, 6560 (1987).
- (27) L. X. Dang, B. M. Pettitt, and P. J. Rossky, *J. Chem. Phys.*, **96**, 4046 (1992).
- (28) E. Guardia, R. Rey, and J. A. Padro, *Chem. Phys.*, **155**, 187 (1991).
- (29) E. Guardia, R. Rey, and J. A. Padro, *J. Chem. Phys.*, **95**, 2823 (1991).
- (30) G. Hummer and D. M. Soumpasis, *Mol. Phys.*, **75**, 633 (1992).
- (31) G. Hummer, D. M. Soumpasis, and M. Neumann, *Mol. Phys.*, **81**, 1155 (1993).

第4章 アミノ酸、ペプチドの部分モル体積

関係論文：

F. Hirata, T. Imai, and M. Iriya,

“Molecular Theories of Partial Molar Volume,”

高圧力の科学と技術 (*The Review of High Pressure Science and Technology*), **8**, 96 (1998)

T. Imai, M. Kinoshita, and F. Hirata,

“Theoretical Study for Partial Molar Volume of Amino Acids in Aqueous Solution: Implication of Ideal Fluctuation Volume,”

Journal of Chemical Physics (in press)

4.1 序

部分モル体積は溶液中における溶質-溶媒、溶質-溶質間相互作用の重要な情報を含む熱力学量である。特に、部分モル体積は溶液中の化学反応や化学平衡に対する圧力効果の解析において中心的役割を演じる。なぜなら、部分モル体積は、ルシャトリエの法則、正確には次式により平衡定数 (K) や速度定数 (k) の圧力に対する応答と密接に関係しているからである¹。

$$\left(\frac{\partial \ln K}{\partial P}\right)_T = -\frac{\Delta \bar{V}}{RT} \quad (4.1)$$

$$\left(\frac{\partial \ln k}{\partial P}\right)_T = -\frac{\Delta \bar{V}^\ddagger}{RT} \quad (4.2)$$

ここで、 $\Delta \bar{V}$ は反応物と生成物の部分モル体積差、 $\Delta \bar{V}^\ddagger$ は反応物と遷移状態の部分モル体積差である。生物物理の分野では、Bridman が7000 気圧の圧力下で卵白がゲル化するのを観測した²のを皮切りに、タンパク質の圧力変性の研究が始まり、それに関係する物理量として部分モル体積が注目を浴びてきた。

これまで、数多くの分子の部分モル体積の測定がなされ、また、それは溶液中における分子間相互作用の情報を与えてきた^{3,4}。しかし、実験データの解析やその説明は、多くの場合、非常に単純化されたモデルや物理的根拠のない仮定に基づいている。そのような解析法では、タンパク質のような生体分子を考える上では、溶媒との相互作用の上に分子自身の複雑な構造の効果も含まれるため非常に難しくなる。また、実験データの解析において、体積をいくつかの寄与に分け、全体の体積をそれらの寄与の重ね合わせによって表現するという方法がよく用いられる。例えば、アミノ酸の部分モル体積に関しては、その体積を構成する原子あるいは官能基からの寄与に分けるということがよくやられている^{4,5,6}。このような経験的な方法には明らかな困難がある。すなわち、分子を構成する原子あるいは官能基の体積への寄与はそれらがいる環境に依存すると考えられるし、また、構造の揺らぎを考慮に入れることはそれ以上に難しい。

部分モル体積の研究に関して、理論的な研究^{7,8,9,10,11,12,13}は実験によるものにくらべて非常に数が限られている。分子シミュレーションによる研究¹⁴は数年前から始まっているが、まだ、信頼できる解析結果を出すまでには至っていない。これまで、少数ではあるが液体の統計力学に基づく研究がなされている。それはおおまかに以下の2つの方法に分類される。一つは scaled particle theory であり、もう一つは Kirkwood-Buff 溶液論である。scaled particle theory は水溶液中における球状イオンの部分モル体積に対して応用されており、“intrinsic volume”⁷ とよばれる微視的描像を表現できる点において成功したと言える。“intrinsic volume”は電荷を持たない仮想的なイオンの体積として、そもそも実験家によって定義されたものであるが³、scaled particle theory によって液体中の空孔生成自由エネルギーと関連づけられた。scaled particle theory はもともとは剛体球粒子にしか適用できなかったが、最近、任意の形状の溶質に対して適用できるように拡張された^{15,16}。

Kirkwood-Buff 溶液論¹⁷は部分モル体積などの熱力学量を分子間の相関関数から求める一般的な方法である。しかし、Kirkwood-Buff の式を使うには分子は1サイトでなければならない。そのため、RISM 理論で求めた原子（相互作用点）間の相関関数をそのまま Kirkwood-Buff の式に使うことができない。また、それとは別に、多原子分子を扱う際には以下の問題に直面する。それは部分モル体積に対する理想項の寄与に関するものである。理想気体は定圧下である溶媒に溶解したとき、エントロピーを得るために、体積を $\chi_{TK_B T}$

増加させる。(ここで、 χ_T は溶媒の等温圧縮率、 k_B は Boltzmann 係数、 T は温度である。) Kirkwood-Buff 理論ではこの寄与 ($\chi_T k_B T$) が部分モル体積の理想項として自然に導かれる。溶質が単原子分子の場合はそれが正しいことに疑問の余地はないが、多原子分子の場合は必ずしも自明ではない。もし、溶質を構成する各原子 (N_u 個) が溶媒中を自由に動けるとすれば、その理想項は $N_u \chi_T k_B T$ になるはずである。分子中の各原子は結合などの拘束のため自由に動くことはできないが、それらは分子中で揺らいでおり、その揺らぎは分子中の原子の数が大きくなるほど大きくなる。その揺らぎが理想体積に対していくらかの余分な寄与をすることは十分考えられ、その寄与は原子数に比例して大きくなると期待される。ここではその分子の内部自由度による理想項の寄与を「構造揺らぎによる理想体積」と呼ぶことにする。もともとの Kirkwood-Buff 理論では、内部自由度を持たない分子を想定しているため、その問題は明確にされていない。それゆえ、構造揺らぎによる理想体積の素性を明らかにするためにも、多原子分子液体に対する Kirkwood-Buff の式を導き直す必要がある。そこで、本研究において、RISM 理論に基づいて Kirkwood-Buff 理論を多原子分子を含む混合系に拡張し、その定式化を行う (RISM-KB 理論)。

そして、それを用いて、アミノ酸の部分モル体積を計算する。対象としてアミノ酸を選んだのは、アミノ酸はタンパク質の構造単位として生化学的に非常に興味深い分子であり、また、部分モル体積に関して実験的に最もよく調べられている分子種の一つであるからである^{4, 5, 6}。ここでは、アミノ酸の部分モル体積に関する以下の疑問に答えることが目的である。分子全体の体積をその構成要素 (原子、官能基) の寄与の重ね合わせで見積もるという経験的な方法には物理的な根拠があるのだろうか。アミノ酸の極性基は溶媒の体積に対してどのような影響を与えるのだろうか (溶媒の体積を収縮させるか膨張させるか)。アミノ酸の末端基や解離基の解離はどのような影響を与えるのだろうか。また、この理論を使って化学平衡の圧力依存性をどのように議論すればよいかを、ペプチドの部分モル体積の構造依存性を例に説明する。

4.2 理論

4.2.1 RISM-Kirkwood-Buff理論

もともとのKirkwood-Buff理論では、部分モル体積や等温圧縮率は分子間の二体相関関数を用いて表される¹⁷⁾。ここでは、分子内自由度は露に考慮されていない。ここでは、RISM理論に基づいて、Kirkwood-Buff理論を多原子分子を含む液体の混合系に拡張する。

混合系における各分子の化学ポテンシャルをそれを構成する各原子の寄与の和として定義する。

$$\mu_M = \sum_{\alpha=1}^{n_M} \mu_{\alpha M} \quad (4.3)$$

ここで、 M と α は、それぞれ、分子のラベルとそれを構成する原子のラベルであり、 n_M は分子 M 中の原子の数である。式(4.3)の微分をとることにより、分子 M の部分モル体積はそれを構成する原子の部分モル体積の和として表すことができる。

$$\bar{V}_M = \sum_{\alpha=1}^{n_M} \bar{v}_{\alpha M} \quad (4.4)$$

密度相関関数と原子数の揺らぎの間のよく知られた次の関係から導出を始める。

$$\begin{aligned} & \int \int [\rho_{\alpha M \gamma M'}^{(2)}(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2) - \rho_{\alpha M}^{(1)}(\mathbf{r}_1) \rho_{\gamma M'}^{(1)}(\mathbf{r}_2)] d\mathbf{r}_1 d\mathbf{r}_2 \\ & = [\langle N_{\alpha M} N_{\gamma M'} \rangle - \langle N_{\alpha M} \rangle \langle N_{\gamma M'} \rangle] - \delta_{\alpha M \gamma M'} \langle N_{\alpha M} \rangle \end{aligned} \quad (4.5)$$

ここで、 $\rho_{\alpha M}^{(1)}(\mathbf{r}_1)$ と $\rho_{\alpha M \gamma M'}^{(2)}(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2)$ は、それぞれ、一体と二体の密度相関関数で、 $N_{\alpha M}$ は分子 M に属する原子 α の数である。 $\langle \rangle$ はアンサンブル平均を表す。

均一な流体では、一体の密度相関関数はバルクの密度($\rho_{\alpha M}$)と一致し、二体相関関数は動径分布関数($g_{\alpha M \gamma M'}(r)$)を用いて表される。つまり、

$$\rho_{\alpha M}^{(1)}(\mathbf{r}_1) = \rho_{\alpha M}, \quad (4.6)$$

$$\rho_{\alpha M \gamma M'}^{(2)}(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2) = \rho_{\alpha M} \rho_{\gamma M'} g_{\alpha M \gamma M'}(r) + \rho_{\alpha M} s_{\alpha \gamma}(r) (1 - \delta_{\alpha \gamma}) \delta_{MM'} \quad (4.7)$$

ここで、 $r = |\mathbf{r}_1 - \mathbf{r}_2|$ である。 $s_{\alpha \gamma}(r)$ は次式で定義される分子内相関関数である。

$$s_{\alpha \gamma}(r) = \frac{1}{4\pi L_{\alpha \gamma}^2} \delta(r - L_{\alpha \gamma}) \quad (4.8)$$

ここで、 $L_{\alpha\gamma}$ は原子 α と γ の間の距離である。式(4.6)と式(4.7)を用いると、(4.5)は次のようになる。

$$\begin{aligned} & \int [\rho_{\alpha M} \rho_{\gamma M'} (g_{\alpha M \gamma M'}(r) - 1) + \rho_{\alpha M} s_{\alpha\gamma}(r) (1 - \delta_{\alpha\gamma}) \delta_{MM'} + \rho_{\alpha M} \delta_{\alpha M \gamma M'}] dv \\ & = V(\langle N_{\alpha M} N_{\gamma M'} \rangle - \langle N_{\alpha M} \rangle \langle N_{\gamma M'} \rangle) \end{aligned} \quad (4.9)$$

$f(r)$ のフーリエ変換を $\tilde{f}(k) = \int f(r) e^{-i\mathbf{k}\cdot\mathbf{r}} d\mathbf{r}$ で定義すると、式(4.9)の左辺は次のように書ける。

$$\begin{aligned} & \int [\rho_{\alpha M} \rho_{\gamma M'} (g_{\alpha M \gamma M'}(r) - 1) + \rho_{\alpha M} s_{\alpha\gamma}(r) (1 - \delta_{\alpha\gamma}) \delta_{MM'} + \rho_{\alpha M} \delta_{\alpha M \gamma M'}] d\mathbf{r} \quad (4.10) \\ & = \rho_{\alpha M} \tilde{w}_{\alpha M \gamma M'}(0) + \rho_{\alpha M} \rho_{\gamma M'} \tilde{h}_{\alpha M \gamma M'}(0) \\ & = \tilde{\chi}_{\alpha M \gamma M'}(0) \end{aligned}$$

ここで、 $h_{\alpha M \gamma M'}(r) = g_{\alpha M \gamma M'}(r) - 1$ であり、 $w_{\alpha M \gamma M'} = \rho_{\alpha M} s_{\alpha\gamma}(r) (1 - \delta_{\alpha\gamma}) \delta_{MM'} + \rho_{\alpha M} \delta_{\alpha M \gamma M'}$ である。式(4.9)、式(4.10)および大正準集合から導かれるよく知られた関係

$$\begin{aligned} \langle N_{\alpha M} N_{\gamma M'} \rangle - \langle N_{\alpha M} \rangle \langle N_{\gamma M'} \rangle & = (\mathbf{U}^{-1})_{\alpha M \gamma M'} \quad (4.11) \\ U_{\alpha M \gamma M'} & = \frac{1}{kT} \left(\frac{\partial \mu_{\alpha M}}{\partial N_{\gamma M'}} \right)_{V,T,N'} \end{aligned}$$

を用いると、次式を得る。

$$\frac{1}{kT} \left(\frac{\partial \mu_{\alpha M}}{\partial N_{\gamma M'}} \right)_{V,T,N'} = \frac{1}{V} (\tilde{\chi}(0)^{-1})_{\alpha M \gamma M'} \quad (4.12)$$

VTアンサンブルからPTアンサンブルへの変換を行うために、Gibbs-Duhem式

$$\sum_{M=1}^x \sum_{\alpha=1}^{n_M} N_{\alpha M} \left(\frac{\partial \mu_{\alpha M}}{\partial N_{\gamma M'}} \right)_{P,T,N'} = 0 \quad (4.13)$$

と熱力学的関係

$$\left(\frac{\partial \mu_{\alpha M}}{\partial N_{\gamma M'}} \right)_{V,T,N'} = \left(\frac{\partial \mu_{\alpha M}}{\partial N_{\gamma M'}} \right)_{P,T,N'} + \frac{\bar{v}_{\alpha M} \bar{v}_{\gamma M'}}{V \chi_T} \quad (4.14)$$

を用いる。

式(4.12)~(4.14)より、多原子分子の混合液体の部分モル体積と等温圧縮率に対して原子間の二体密度相関関数 ($\chi(r)$) を用いた表式を得る。

$$\bar{v}_{\alpha M} = kT \chi_T \sum_{M'=1}^x \sum_{\gamma=1}^{n_{M'}} (\tilde{\chi}(0)^{-1} \boldsymbol{\rho})_{\alpha M \gamma M'} \quad (4.15)$$

$$kT \chi_T = \frac{1}{\sum_{M=1}^x \sum_{M'=1}^x \sum_{\alpha=1}^{n_M} \sum_{\gamma=1}^{n_{M'}} (\boldsymbol{\rho} \tilde{\chi}(0)^{-1} \boldsymbol{\rho})_{\alpha M \gamma M'}} \quad (4.16)$$

ここで、行列 \mathbf{V} を次のように定義する。(以下では、行列表現において、 $k=0$ を表す“(0)”を省略する。)

$$\mathbf{V} = \tilde{\chi}^{-1} \boldsymbol{\rho} \quad (4.17)$$

式(4.10)から RISM 方程式(2.20)を用いて次式を得る。

$$\tilde{\chi}^{-1} = (\boldsymbol{\rho} \tilde{\mathbf{w}})^{-1} - \tilde{\mathbf{c}} \quad (4.18)$$

式(4.18)を式(4.17)に代入すると、次のようになる。

$$\mathbf{V} = \tilde{\mathbf{w}}^{-1} - \tilde{\mathbf{c}} \boldsymbol{\rho}. \quad (4.19)$$

行列 $\tilde{\mathbf{w}}$ のすべての要素は1であるので、その逆行列は発散する。その特異性を回避するために次のような手段をとった。式(4.19)の両辺に左右から $\tilde{\mathbf{w}}$ をかけると、次式を得る。

$$\tilde{\mathbf{w}} \mathbf{V} \tilde{\mathbf{w}} = \tilde{\mathbf{w}} - \tilde{\mathbf{w}} \tilde{\mathbf{c}} \boldsymbol{\rho} \tilde{\mathbf{w}} \quad (4.20)$$

これ以降、簡単のため2成分系 (n 原子分子の溶質と m 原子分子の溶媒を含む系) を考えることにする。その場合、式(4.20)はブロック行列を用いて次のように表される。

$$\begin{pmatrix} \tilde{\mathbf{w}}_{uu} \mathbf{V}_{uu} \tilde{\mathbf{w}}_{uu} & \tilde{\mathbf{w}}_{uu} \mathbf{V}_{uv} \tilde{\mathbf{w}}_{vv} \\ \tilde{\mathbf{w}}_{vv} \mathbf{V}_{vu} \tilde{\mathbf{w}}_{uu} & \tilde{\mathbf{w}}_{vv} \mathbf{V}_{vv} \tilde{\mathbf{w}}_{vv} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \tilde{\mathbf{w}}_{uu} - \tilde{\mathbf{w}}_{uu} \tilde{\mathbf{c}}_{uu} \boldsymbol{\rho}_u \tilde{\mathbf{w}}_{uu} & -\tilde{\mathbf{w}}_{uu} \tilde{\mathbf{c}}_{uv} \boldsymbol{\rho}_v \tilde{\mathbf{w}}_{vv} \\ -\tilde{\mathbf{w}}_{vv} \tilde{\mathbf{c}}_{vu} \boldsymbol{\rho}_u \tilde{\mathbf{w}}_{uu} & \tilde{\mathbf{w}}_{vv} - \tilde{\mathbf{w}}_{vv} \tilde{\mathbf{c}}_{vv} \boldsymbol{\rho}_v \tilde{\mathbf{w}}_{vv} \end{pmatrix} \quad (4.21)$$

行列 $\tilde{\mathbf{w}}_{MM}$ のすべての要素は1であるので、 $\tilde{\mathbf{w}}_{MM} \mathbf{A} \tilde{\mathbf{w}}_{M'M'}$ の各々の要素は行列 \mathbf{A} のすべての要素の総和になる。(ここで、 M と M' は u または v を表し、 \mathbf{A} は任意の行列である。)

つまり、式(4.21)は例えば以下の式と等価である。

$$\sum_{\alpha=1}^n \sum_{\alpha'=1}^n V_{\alpha_u \alpha'_u} = 1 - \rho_u \sum_{\alpha=1}^n \sum_{\alpha'=1}^n \tilde{c}_{\alpha_u \alpha'_u}(0) \quad (4.22)$$

$$\sum_{\alpha=1}^n \sum_{\gamma=1}^m V_{\alpha_u \gamma_v} = -\rho_v \sum_{\alpha=1}^n \sum_{\gamma=1}^m \tilde{c}_{\alpha_u \gamma_v}(0) \quad (4.23)$$

式(4.4)と式(4.15)より、次式が得られる。

$$\bar{V}_u = kT \chi_T \sum_{\alpha=1}^n \left(\sum_{\alpha'=1}^n V_{\alpha_u \alpha'_u} + \sum_{\gamma=1}^m V_{\alpha_u \gamma_v} \right). \quad (4.24)$$

式(4.22)、(4.23)を用いると、2成分系での部分モル体積の最終的な表式が得られる。

$$\bar{V}_u = kT \chi_T \left(1 - \rho_u \sum_{\alpha=1}^n \sum_{\alpha'=1}^n \tilde{c}_{\alpha_u \alpha'_u}(0) - \rho_v \sum_{\alpha=1}^n \sum_{\gamma=1}^m \tilde{c}_{\alpha_u \gamma_v}(0) \right). \quad (4.25)$$

$\rho_u \rightarrow 0$ とすると、無限希釈における溶質の部分モル体積の表式が得られる。

$$\bar{V}_u^0 = kT\chi_T^0 \left(1 - \rho_v \sum_{\alpha=1}^n \sum_{\gamma=1}^m \tilde{c}_{\alpha_u \gamma_v}(0) \right) \quad (4.26)$$

同様に、2成分系の等温圧縮率は次のように表される。

$$kT\chi_T = \frac{1}{\rho_u + \rho_v - \rho_u^2 \sum_{\alpha=1}^n \sum_{\alpha'=1}^n \tilde{c}_{\alpha_u \alpha'_u}(0) - \rho_v^2 \sum_{\gamma=1}^m \sum_{\gamma'=1}^m \tilde{c}_{\gamma_v \gamma'_v}(0) - 2\rho_u \rho_v \sum_{\alpha=1}^n \sum_{\gamma=1}^m \tilde{c}_{\alpha_u \gamma_v}(0)} \quad (4.27)$$

無限希釈においては、次のようになる。

$$kT\chi_T^0 = \frac{1}{\rho_v \left(1 - \rho_v \sum_{\gamma=1}^m \sum_{\gamma'=1}^m \tilde{c}_{\gamma_v \gamma'_v}(0) \right)} \quad (4.28)$$

3成分以上の多成分系に対する一般的な表式も容易に得られ、それは次のとおりである。

$$\bar{V}_M = kT\chi_T \left(1 - \sum_{M'=1}^x \rho_{M'} \sum_{\alpha=1}^{n_M} \sum_{\gamma=1}^{n_{M'}} \tilde{c}_{\alpha_M \gamma_{M'}}(0) \right) \quad (4.29)$$

$$kT\chi_T = \frac{1}{\sum_{M=1}^x \rho_M - \sum_{M=1}^x \sum_{M'=1}^x \rho_M \rho_{M'} \sum_{\alpha=1}^{n_M} \sum_{\gamma=1}^{n_{M'}} \tilde{c}_{\alpha_M \gamma_{M'}}(0)} \quad (4.30)$$

これらの表式は、もともとの Kirkwood-Buff の式に RISM 理論の仮定である

$$\tilde{c}(0) = \sum_{\alpha, \gamma} \tilde{c}_{\alpha, \gamma}(0) \quad (4.31)$$

を単に代入したものと一致したが、そうなることは自明ではない。また、溶質分子が多原子から構成されているにもかかわらず、部分モル体積に対する理想項の寄与は溶質の質量中心からくる寄与である $\chi_T^0 k_T T$ だけである。この結果は明らかにすべての原子間距離に課された拘束によるものである。

4.2.2 理論の無矛盾性

水中に溶質として水を溶かしたと考え、その（溶質としての）水の部分モル体積は純水のモル体積（ $1/\rho_w$ ）と一致するはずである。理論の範囲内でそれが確かめられれば、理論の無矛盾性を証明したことになる。以下では、溶質の水を“u”、溶媒の水“v”と書き、

各々の水分子は三つのサイトから成る。式(4.26)と式(4.28)より、溶質の水の部分モル体積は次式で表される。

$$\bar{V}_w^0 = \frac{1 - \rho_v \sum_{\alpha=1}^3 \sum_{\gamma=1}^3 \tilde{c}_{\alpha\gamma v}(0)}{\rho_v \left(1 - \rho_v \sum_{\gamma=1}^3 \sum_{\gamma'=1}^3 \tilde{c}_{\gamma\gamma' v}(0) \right)} \quad (4.32)$$

この場合、溶質-溶媒の二体相関関数は溶媒-溶媒の二体相関関数と一致するはずなので(つまり、 $\tilde{c}_{uv} = \tilde{c}_{vv}$)、式(4.32)は次のようになる。

$$\bar{V}_w^0 = 1/\rho_v \quad (4.33)$$

すなわち、溶質の水の部分モル体積が純水のモル体積に等しいことが示された。

4.2.3 モデル

サイト間の二体ポテンシャル (u_{ab}) として、Lennard-Jones ポテンシャル項と静電相互作用項からなる標準的なものを用いた。

$$u_{ab}(r) = 4\varepsilon_{ab} \left[\left(\frac{\sigma_{ab}}{r} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ab}}{r} \right)^6 \right] + \frac{q_a q_b}{r}. \quad (4.34)$$

Lennard-Jones ポテンシャルパラメータに関して標準的な Lorentz-Berthelot の結合則 $\varepsilon_{ab} = (\varepsilon_a \varepsilon_b)^{1/2}$ および $\sigma_{ab} = (\sigma_a + \sigma_b)/2$ を用いた。水に対しては SPC/E モデル¹⁸、アミノ酸やペプチドに対しては AMBER 型のポテンシャルパラメーターを用いた。温度は 25 °C、水は数密度 0.03333\AA^{-3} 、誘電率 78 とした。

4.3 結果と考察

4.3.1 アミノ酸の部分モル体積

表 4.1 に、RISM-KB 理論を用いて計算した 20 種の両性イオン型アミノ酸の部分モル体積 (4 列目) とそれに対応する実験値 (5 列目) を示す。また、非電離型アミノ酸の理論値 (3 列目) とそのアミノ酸からすべての部分電荷を取り除いたモデル分子 (2 列目) の理論値も示す。丸括弧内の値は前後の値の差を表す。20 種のアミノ酸は側鎖の特徴によって、脂肪族、非極性、芳香族、極性、荷電の 5 つのグループに分類した。

表 4.1: 水溶液中における 20 種のアミノ酸の部分モル体積 (cm^3/mol). 丸括弧内の値は前後の値の差を表す. 角括弧内の値は側鎖が解離していない場合の値

	理論値				実験値	
	無電荷		非解離型	両性イオン型		
脂肪族						
Ala	58.2	(0.3)	58.5	(-8.2)	50.3	60.5 ^b
Val	68.8	(0.7)	69.5	(-5.7)	63.8	90.8 ^b
Leu	78.5	(0.2)	78.7	(-5.0)	73.7	107.8 ^b
Ile	76.8	(0.4)	77.2	(-5.2)	72.0	105.7 ^b
非極性						
Gly	49.1	(-0.3)	48.8	(-8.3)	40.4	43.2 ^b
Pro	71.7	(-0.5)	71.2	(-9.7)	61.5	82.5 ^b
Cys	66.1	(0.6)	66.7	(-7.5)	59.2	73.4 ^c
Met	87.8	(0.3)	88.1	(-5.4)	82.7	104.8 ^b
芳香族						
His	77.8	(-0.4)	77.4	(-6.2)	71.1	98.9 ^d
Phe	88.5	(0.8)	89.3	(-5.2)	84.0	121.5 ^b
Tyr	88.9	(0.7)	89.6	(-4.9)	84.7	124.3 ^b
Trp	91.8	(1.9)	93.7	(-3.2)	90.5	143.4 ^b
極性						
Asn	65.6	(0.1)	65.7	(-7.5)	58.2	77.3 ^d
Gln	75.1	(-0.3)	74.8	(-5.6)	69.2	93.6 ^d
Ser	59.5	(1.3)	60.8	(-8.2)	52.6	60.6 ^e
Thr	67.1	(0.9)	68.0	(-8.4)	59.7	76.9 ^e
荷電						
Lys	88.2	(-5.6)	82.6	(-5.2)	77.4 [83.4]	108.5 ^c
Arg	91.1	(-3.8)	87.3	(-5.5)	81.8 [84.8]	127.3 ^c
Asp	65.5	(-2.7)	62.8	(-7.2)	55.6 [58.9]	73.8 ^c
Glu	74.8	(-4.1)	70.7	(-6.6)	64.1 [68.1]	85.9 ^c

^b 文献 19 ^c 文献 4 ^d 文献 21 ^e 文献 20

部分モル体積に対する電荷の効果

表4.1の無電荷(2列目)と非解離型(3列目)の値を比べることにより、部分モル体積に対する部分電荷の効果はそれほど大きくないことがわかる。そして、いくつかの例外を除いて、それは正に寄与する。このことは、タンパク質の構造変化に伴い極性残基が溶媒である水に露出した場合、それは電縮を起こすのではなく、むしろ、水の体積をわずかに増加させることを示唆している。荷電側鎖を持つアミノ酸では、その状況は全く異なる。これらのアミノ酸では、 $-2.7 \text{ cm}^3/\text{mol}$ から $-5.6 \text{ cm}^3/\text{mol}$ の負の寄与をする。この体積の減少はその側鎖の解離によって引き起こされる。解離していない両性イオン型アミノ酸の部分モル体積を角括弧内に示す。その解離による体積減少はリジン、アルギニン、アスパラギン酸、グルタミン酸に対して、それぞれ、 -6.0 、 -3.0 、 -3.3 、 $-4.0 \text{ cm}^3/\text{mol}$ である。それゆえ、タンパク質中のこれらの残基の水中への露出は体積収縮を引き起こす。また、非解離型(3列目)と両性イオン型(4列目)の値を比べることにより、末端基のイオン化も、 $-3.2 \text{ cm}^3/\text{mol}$ から $-9.7 \text{ cm}^3/\text{mol}$ の範囲で、体積に対して負の寄与をすることがわかる。

これらの事実は、タンパク質の圧力変性を考える上で重要な役割を果たす。式(4.1)によれば圧力をかけることにより部分モル体積が小さくなる方向に平衡が移動する(構造が変化する)。これに基づけば、圧力をかけることにより、例えば、解離性の残基が水中に露出するような構造変化を起こすと考えられる。また、解離性の残基は、高圧条件下で、解離した状態をよりとりやすくなるので、そのことによる静電的相互作用の変化が構造変化をもたらすとも考えられる。圧力による構造変化の一般的な議論は後ほど行う(4.3.2節)。

解離基の解離による体積減少は溶質と溶媒の間の静電的な相互作用に帰因する電縮によって引き起こされる。もし、電縮がおこれば、荷電基と溶媒の間の平均的な距離が短くなるはずである。溶質-溶媒間の動径分布関数の第一ピークの位置はその平均距離の目安になる。例として、グリシンのC末端のカルボキシル酸素-水分子(酸素原子と水素原子)間の動径分布関数を、カルボキシル基が解離している場合と解離していない場合について、図4.1(A)に示す。水の水素原子は酸素原子の殻に埋まっているため体積に関してはあまり効かないと考えられ、また、水素のピーク位置は体積に関係ない水分子の回転によっても変化するので、ここでは、水の水素原子に対する動径分布関数の第一ピークの位置に注目する。図から明らかなように、カルボキシル基が解離すると、第一ピークの位置からカル

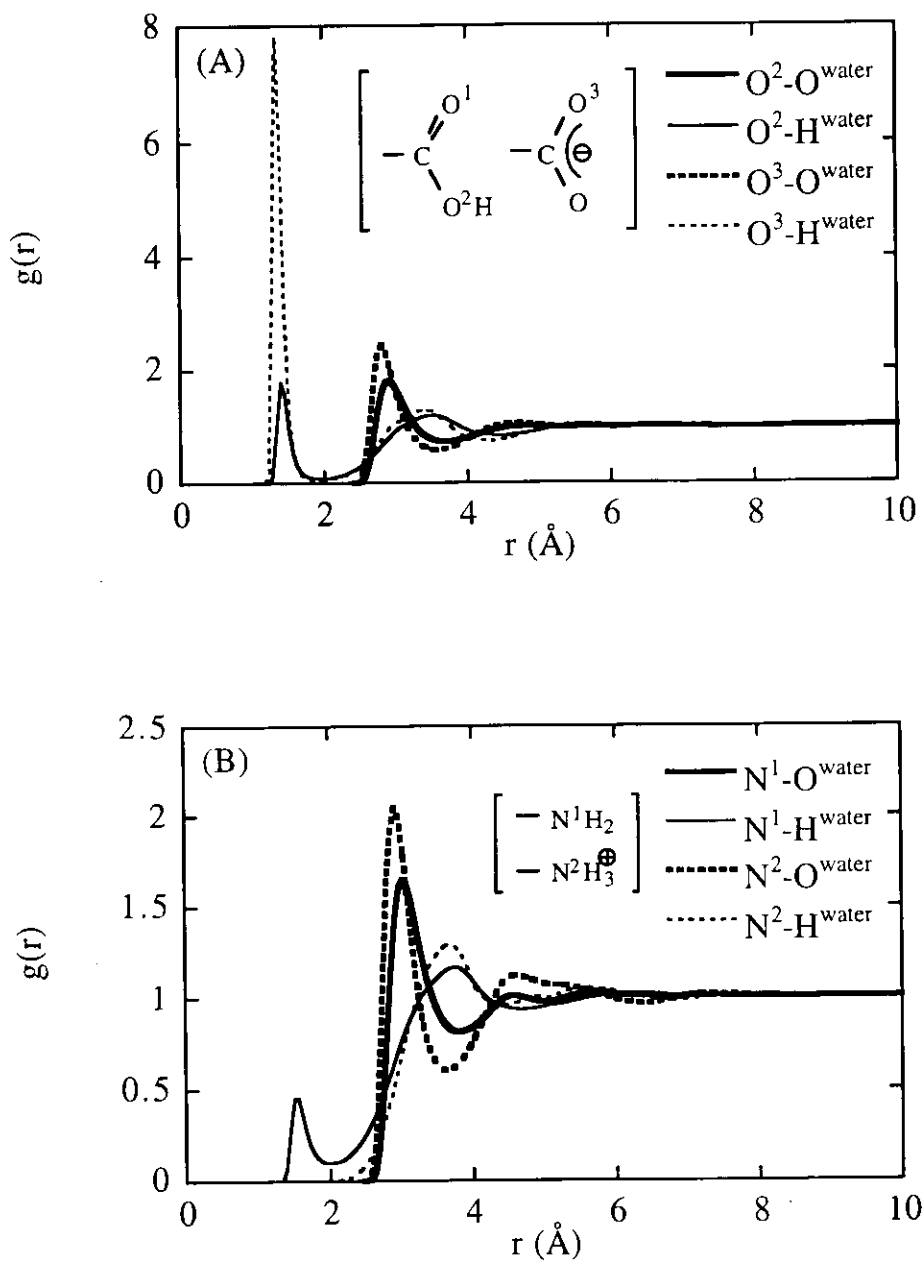


図 4.1: アミノ酸末端基と水分子間の動径分布関数. (A) 太実線, O^2-O (水); 実線, O^2-H (水); 太点線, O^3-O (水); 点線, O^3-H (水). (B) 太実線, N^1-O (水); 実線, N^1-H (水); 太点線, N^2-O (水); 点線, N^2-H (水)

ボキシル酸素-水の距離が減少する。同様の現象が、N末端の窒素原子-水の動径分布関数(図4.1(B))にみられる。

部分モル体積に対する原子や官能基の体積の寄与

アミノ酸の部分モル体積を経験的に見積もられた原子や官能基の体積の重ね合わせで計算するという方法がよく用いられる^{4,5,6}。ここで示した方法では部分モル体積を原子レベルで記述できるので、この重ね合わせの近似に基づいた経験的な方法の妥当性を確かめることができる。例として、表4.2にアルギニンの部分モル体積の各原子からの寄与を示す。同時に、それぞれの原子のL-J σ (\sim 原子半径)と部分電荷も示す。これを見ると、原子体積の重ね合わせで部分モル体積を見積もることは意味がないことが明らかである。CH₂基のような官能基についても同様で、それはその環境に大きく依存する。同じ官能基の寄与の統計と経験的な値⁶を表4.3に示す。そもそも、経験的な値にくい違いが見られる。標準偏差は一般的に言ってかなり大きく、官能基の部分モル体積への寄与はそれが位置する環境に対して非常に敏感であることを示している。このことはCH₂基で特に顕著である。図4.2に、20種のアミノ酸に含まれるCH₂基の寄与のヒストグラムを示す。この図は、CH₂基がどのアミノ酸のものであるか、あるいはアミノ酸のどの部分にあるかによって、その寄与が大きく変わることを示している。これらの結果は、置換基の体積の重ね合わせで分子の部分モル体積を見積もるという経験的な方法は間違った結論に導く可能性があることを示唆している。

構造揺らぎによる理想体積

図4.3は20種のアミノ酸の部分モル体積の実験値と理論値を比較したものである。この図をみると、実験値と理論値の相関は非常によく、理論がそれらの分子の特徴をよく再現していると言える。ところが、その傾きが1になっておらず、それは実験値と理論値の間に系統的な差があることを示している。(理論値は実験値に比べて系統的に小さい。)その差($\Delta\bar{V} = \bar{V}_{\text{exp}} - \bar{V}$)の原因を調べるために、図4.4に、アミノ酸の原子数に対して $\Delta\bar{V}$ をプロットした。 $\Delta\bar{V}$ はアミノ酸の原子数にほぼ比例することがわかる。図4.5に、温度に対するトリプトファン(例として最も大きいアミノ酸を選んだ)の $\Delta\bar{V}$ をプロットした。

表 4.2: アルギニン内の各々の原子の部分モル体積 (cm^3/mol)

	$\sigma/2$	部分電荷	部分モル体積	
(主鎖)				
N	1.65	-0.151	16.5	} 19.1
H	0.89	0.279	1.4	
H	0.89	0.279	0.6	
H	0.89	0.279	0.6	
C	1.60	0.035	-21.6	} 14.8
H	1.37	0.048	13.2	
C	1.65	0.695	12.3	
O	1.43	-0.740	3.4	
O	1.43	-0.740	-0.9	
(側鎖)				
C	1.60	-0.080	-18.9	} 7.9
H	1.37	0.056	13.1	
H	1.37	0.056	13.8	} 15.0
C	1.60	-0.103	-7.6	
H	1.37	0.074	13.3	
H	1.37	0.074	9.3	} -3.0
C	1.60	-0.228	-37.2	
H	1.37	0.133	17.3	
H	1.37	0.133	16.9	} 12.5
N	1.56	-0.324	15.0	
H	0.89	0.269	0.4	
C	1.65	0.760	-6.9	
N	1.56	-0.624	9.4	} 13.9
H	0.89	0.361	0.3	
H	0.89	0.361	2.9	
N	1.56	-0.624	8.8	} 13.9
H	0.89	0.361	2.2	
H	0.89	0.361	2.9	

表 4.3: 20 種のアミノ酸に含まれる置換基の部分モル体積 (cm^3/mol)

	総数	平均値	標準偏差	経験的な値 ^a
COO^-	20	13.4	1.5	26.3, 17.8
NH_3^+	19	17.0	1.7	14.0
CH_2	26	7.1	4.2	16.1, 15.9, 14.8, 14.1, 13.8
CH_3	9	20.7	2.4	18.1
OH	3	11.3	1.6	12.0, 11.0

^a 文献 6

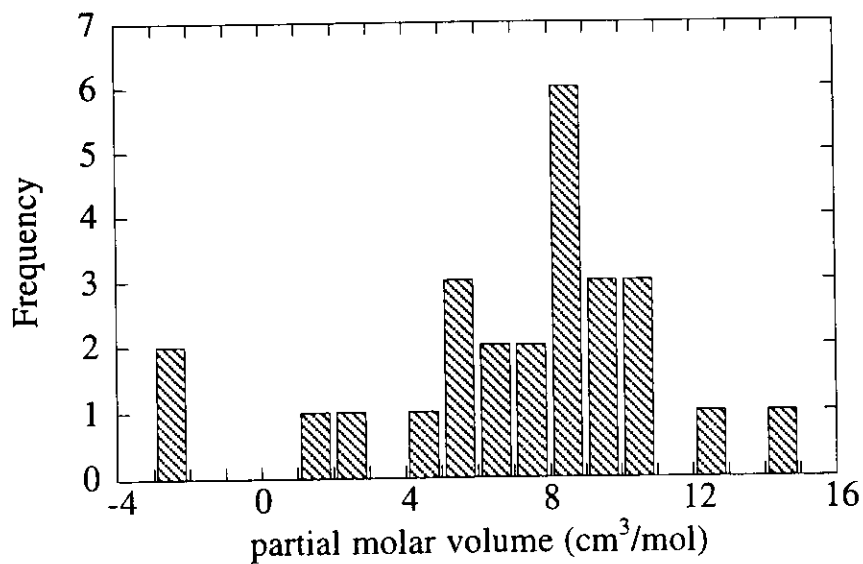


図 4.2: 20 種のアミノ酸中にある CH_2 基の体積寄与の分布

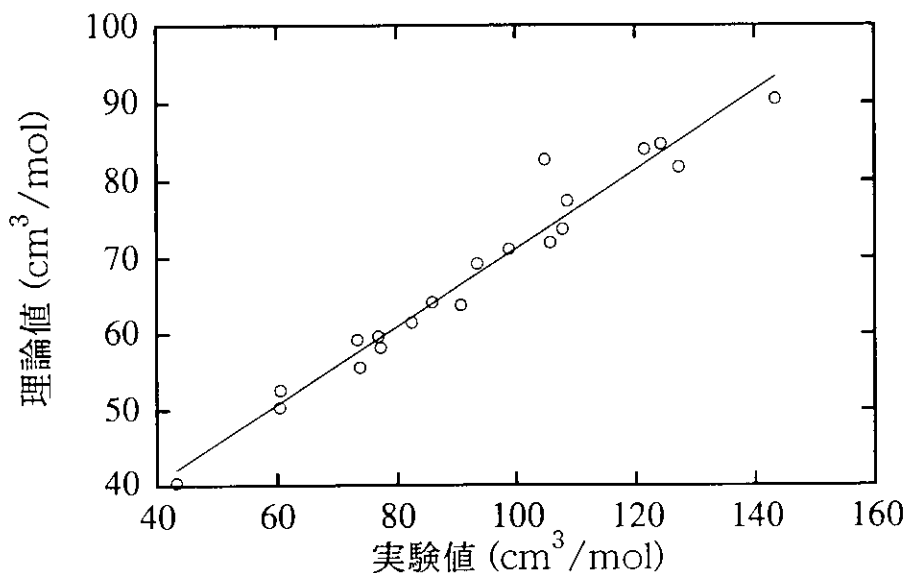


図 4.3: 20 種のアミノ酸の部分モル体積の実験値と理論値の比較

$\Delta\bar{V}$ は温度に対してもほぼ比例する。これらの結果から、 $\Delta\bar{V} = (\text{定数})N_u k_B T$ という関係が導かれる。もし定数が χ_T ならば、 N_u 原子が独立に動けるときの部分モル体積に対する理想項と一致する。(正確には、 $\chi_T k_B T$ の寄与は既に理論値に含まれているので、その差を $(N_u - 1)\chi_T k_B T$ と考えるべきである。) その理想項 $((N_u - 1)\chi_T k_B T)$ は図 4.4 中の直線のようになり、 $\Delta\bar{V}$ とほぼ一致する。

RISM-KB 式は、分子の構造揺らぎは完全にはないものとして導出された。その結果、部分モル体積に対する理想項の寄与は $\chi_T k_B T$ になった。もし、すべての原子間の拘束を完全に取り除き、各々の原子が自由に動けるとすれば、先に述べたように部分モル体積に対する理想項の寄与は $N_u \chi_T k_B T$ となる。それゆえ、溶質の構造揺らぎによる理想体積は 0 から $(N_u - 1)\chi_T k_B T$ であると推測される。

上で述べた議論に基づき、無限希釈における多原子分子の部分モル体積に対して次のような表式を提案する。

$$\bar{V} = \bar{V}^{\text{id}} + \bar{V}^{\text{ex}} \quad (4.35)$$

$$\bar{V}^{\text{id}} = \chi_T k_B T + \bar{V}_{\text{fluc}} \quad (4.36)$$

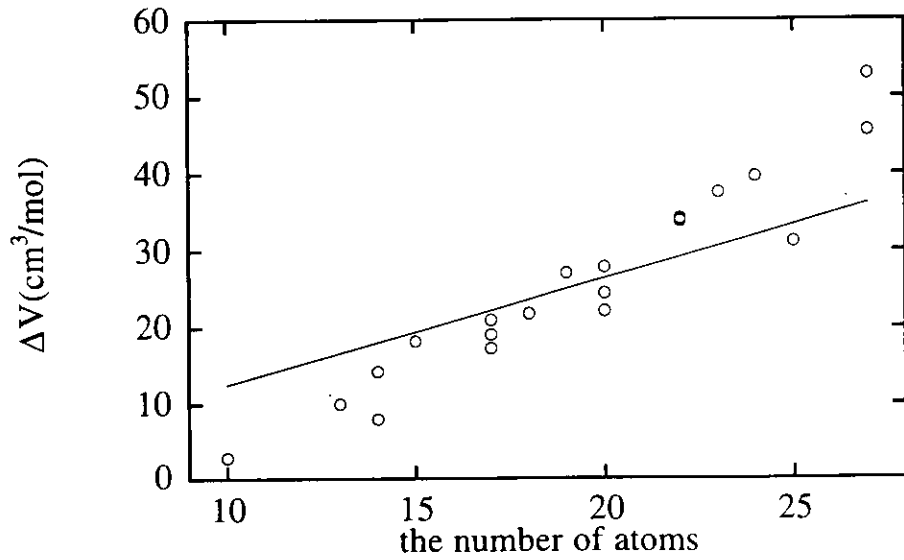


図 4.4: アミノ酸の原子数と ΔV の関係

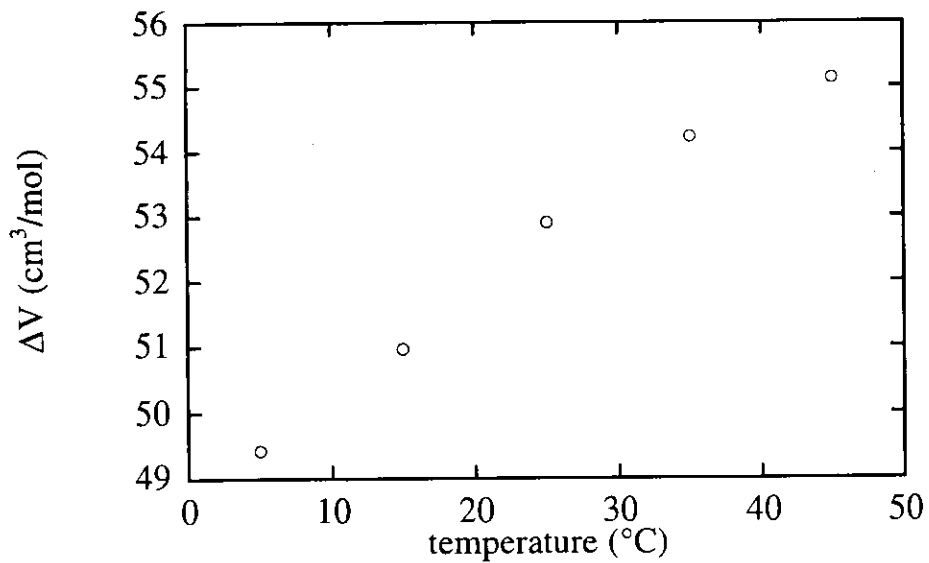


図 4.5: 温度と ΔV の関係

ここで、 \bar{V}_{auc} は溶質の構造揺らぎからくる部分モル体積への理想項の寄与、つまり、「構造揺らぎによる理想体積」である。ここで注意すべきことは、その体積は溶質のコンフォメーションの違いからくる寄与ではないということである。つまり、溶質-溶媒相互作用がコンフォメーションによって違うということからくる寄与ではない。構造揺らぎによる理想体積は溶質が多く異なるコンフォメーションをとり得るということによる純粋にエントロピー的な原因によるものである。構造揺らぎによる理想体積は特に変性状態のタンパク質の部分モル体積に大きく寄与すると予想できる。

上の議論では、構造揺らぎによる理想体積は単純に $(N_u - 1)k_B T$ で近似したが、それはその寄与の上限値である。より大きなアミノ酸の部分モル体積に対しては、その補正を加えてもなお理論は実験に比べて小さく見積もる。この誤差は RISM 理論の近似そのものからくるものと考えられる。

4.3.2 ペプチドの部分モル体積の構造依存性

水溶液中におけるアラニントリペプチドの部分モル体積の二面角 ϕ と ψ に対する依存性を図 4.5(A) に示す。また、対応する自由エネルギーマップを図 4.5(B) に示す。ここで示した自由エネルギーは、AMBER 型のポテンシャル関数から求めたペプチドの構造エネルギーと RISM 理論から求めた水和自由エネルギーの和で与えられるものである。自由エネルギーマップによると、最も安定なのは、 $(\phi = -160, \psi = +160)$ 付近のコンフォメーション（ほぼ β ストランドに対応する）である。その他、 $(\phi = -160, \psi = -70)$ 、 $(\phi = -70, \psi = -80)$ 、 $(\phi = -80, \psi = -120)$ 、 $(\phi = -160, \psi = -120)$ に比較的安定な極小状態が存在する。このうち $(\phi = -70, \psi = -80)$ のコンフォメーションは右巻き α ヘリックスにはほぼ対応している。最安定状態とそれらの極小状態のエネルギー差は 4 kcal/mol 程度である。大まかに言うと、体積マップは自由エネルギーマップと反対の傾向を示している。つまり、自由エネルギーが小さいところでは部分モル体積が大きくなっている。体積が最も小さい $(\phi = 0, \psi = 0)$ 付近のコンフォメーションは、自由エネルギーが最も大きく、エネルギー的には取り得ない領域である。 $(\phi = -160, \psi = +160)$ 付近の最安定のコンフォメーションは最も大きな体積を持っている。 α ヘリックスに対応する $(\phi = -70, \psi = -80)$ のコンフォメーションの部分モル体積は、 β ストランドに対応する $(\phi = -160, \psi = +160)$ のコンフォ

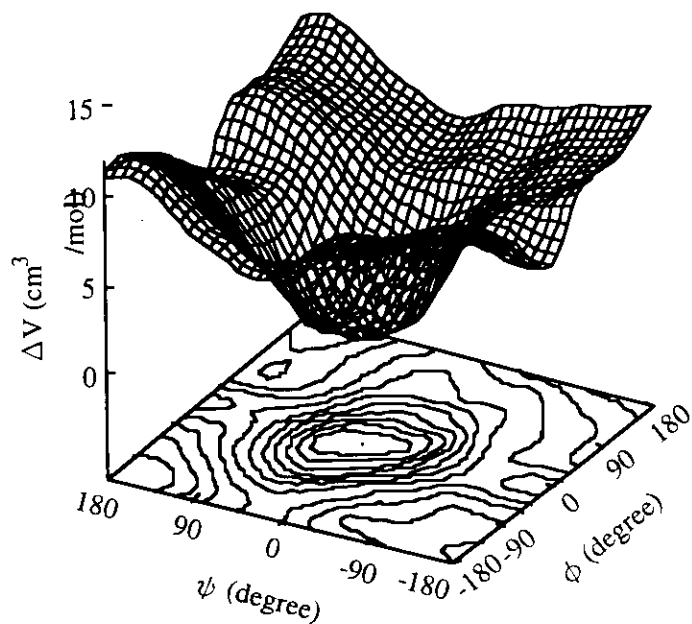


図 4.6: 水溶液中におけるアラントリペプチドの部分モル体積マップ

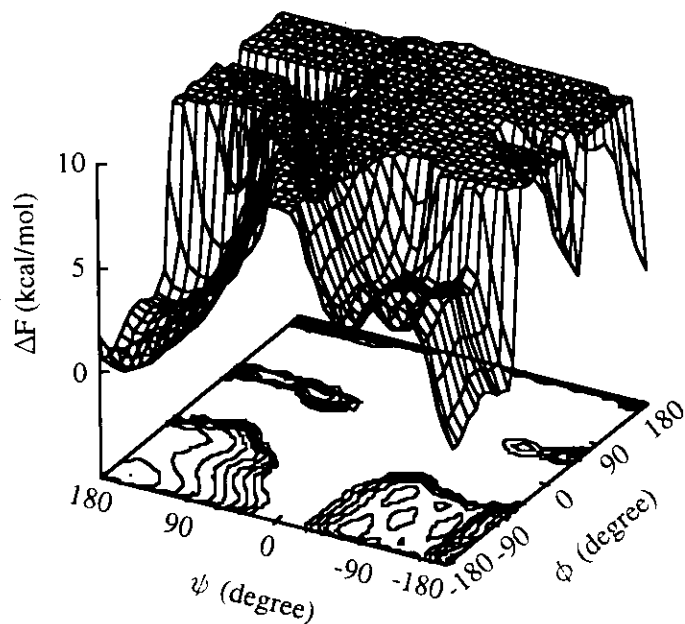


図 4.7: 水溶液中におけるアラントリペプチドの自由エネルギーマップ

メーションの部分モル体積に比べて2~3 cm³/molほど小さい。それゆえ、圧力をかけることにより、($\phi = -160, \psi = +160$)から($\phi = -70, \psi = -80$)へのコンフォメーションの転移がocこりうる。(これは、一般にタンパク質で圧力により β ストランドから α ヘリックスへの構造転移がocこると言っているのではない。タンパク質の部分モル体積は一組の二面角だけによって決まるのではなく、すべての角度がお互い密接に相関しながら決まる。)

上の議論は、圧力によって誘起される生体分子のコンフォメーション空間における極小エネルギー状態間の異性化反応の方向や速度を予測する一般的な方法を示している。ある反応に対する圧力効果を予測するためには、まず、適切な反応座標に沿った自由エネルギー曲面を見つける必要がある。次に、始状態のコンフォメーションから終状態のコンフォメーションの反応経路、および遷移状態を決定する。そして、反応体積 ($\Delta \bar{V} = \bar{V}_p - \bar{V}_r$) および活性体積 ($\Delta \bar{V}^\ddagger = \bar{V}_i - \bar{V}_r$) を計算する。ここで、 \bar{V}_r は始状態 (反応物)、 \bar{V}_p は終状態 (生成物)、 \bar{V}_i は遷移状態の部分モル体積である。これらがわかれば、式(4.1)や式(4.2)から反応の平衡定数や速度定数の圧力依存性がわかる。

4.4 まとめ

この章では、Kirkwood-Buff 溶液論と分子液体のRISM理論を組み合わせることにより得たRISM-KB理論に基づいた溶液中の多原子分子の部分モル体積の理論的研究について述べた。その部分モル体積に対する式を導出することにより、部分モル体積への理想項の寄与は単原子分子のものと同じになることが明らかになった。その結果は、すべての原子間距離を拘束することに起因する。

無限希釈の水溶液中における20種のアミノ酸の部分モル体積を上記の式を用いて計算した。そして、その結果を実験値と比較した。理論値と実験値には系統的な差があることがわかった。その差は温度とアミノ酸の原子数にほぼ比例して増加する。その温度と原子数に対する依存性は、その差が溶質の自由度からくる理想項に関係していることを示唆している。その差を見積もるために、溶質の分子内の揺らぎからくる理想項の寄与、すなわち、「構造揺らぎによる理想体積」という概念を提案した。構造揺らぎによる理想体積は溶質が大きくなり構造の揺らぎが大きくなるほど重要になってくる。そのため、タンパク質、特にその変性状態の部分モル体積の解析には無視できないものになると思われる。

20種のアミノ酸の部分モル体積を計算した結果、末端基の解離には $-3.2 \text{ cm}^3/\text{mol}$ から $-9.7 \text{ cm}^3/\text{mol}$ の範囲で体積の減少を伴うことが明らかになった。同様に、側鎖の解離基の解離にも $-3.0 \text{ cm}^3/\text{mol}$ から $-6.0 \text{ cm}^3/\text{mol}$ の範囲で体積の減少を伴う。一方、部分モル体積に対する部分電荷の寄与は必ずしも負にならず、いくつかの例外を除いてわずかに正になることがわかった。また、部分モル体積に対する原子や官能基の寄与はそれがどのアミノ酸のものであるか、あるいはアミノ酸のどの部分にあるかに大きく依存することが明らかになった。その結果は、部分モル体積を原子や官能基の重ね合わせで見積もるというこれまでの経験的な方法は信頼性が低いということを示唆している。

アラニントリペプチドを例に、圧力によって誘起される生体分子のコンフォメーション空間における極小エネルギー状態間の遷移を予測する一般的な方法を示した。この方法では、反応座標に沿った自由エネルギー曲面をみつけることが必要であるが、それさえわかれば、反応の始状態、終状態、あるいは遷移状態の部分モル体積を RISM-KB 理論から計算することによって、反応の平衡定数や速度定数の圧力依存性がわかる。

参考文献

- (1) T. Asano, "Organic Synthesis at High Pressure," ed by K. Matsumoto and R. M. Acheson (John Wiley & Sons, New York, 1991), p. 7.
- (2) P. W. Bridgman, *J. Biol. Chem.*, **19**, 511 (1914).
- (3) F. J. Millero, *Chem. Rev.*, **71**, 147 (1971).
- (4) A. A. Zamyatnin, *Ann. Rev. Biophys. Bioeng.*, **13**, 145 (1984).
- (5) J. T. Edsall, "Proteins, Amino Acids and Peptides," ed by E. J. Cohn, J. T. Edsall (Reinhold, New York, 1943), p. 155.
- (6) F. J. Millero, A. L. Surdo, and C. Shin, *J. Phys. Chem.*, **82**, 784 (1978).
- (7) F. Hirata and K. Arakawa, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **46**, 3367 (1973).
- (8) Y. Yoshimura and M. Nakahara, *J. Chem. Phys.*, **81**, 4080 (1984).
- (9) P. G. Kusalik and G. N. Patey, *J. Chem. Phys.*, **86**, 5115 (1987).
- (10) P. G. Kusalik and G. N. Patey, *J. Chem. Phys.*, **88**, 7715 (1988).
- (11) P. G. Kusalik and G. N. Patey, *J. Chem. Phys.*, **89**, 5843 (1988).
- (12) M. Ohba, F. Kawaizumi, and H. Nomura, *J. Phys. Chem.*, **96**, 5129 (1992).
- (13) S. Chong and F. Hirata, *J. Phys. Chem.*, **101**, 3209 (1997).
- (14) N. Matubayasi and R. M. Levy, *J. Phys. Chem.*, **100**, 2681 (1995).
- (15) M. Irisa, K. Nagayama, and F. Hirata, *Chem. Phys. Lett.*, **207**, 430 (1993).

- (16) M. Irida, K. Takahashi, K. Nagayama, and F. Hirata, *Mol. Phys.*, **85**, 1227 (1995).
- (17) J. G. Kirkwood and F. P. Buff, *J. Chem. Phys.*, **19**, 774 (1951).
- (18) H. J. C. Berendsen, J. R. Grigera, and T. P. Straatsma, *J. Phys. Chem.*, **91**, 6269 (1987)
- (19) M. Kikuchi, M. Sakurai, and K. Nitta, *J. Chem. Eng. Data*, **40**, 935 (1995).
- (20) M. Mizuguchi, M. Sakurai, and K. Nitta, *J. Solution Chem.*, **26**, 579 (1997).
- (21) Y. Yasuda, N. Tochio, M. Sakurai, and K. Nitta, *J. Chem. Eng. Data*, **43**, 205 (1998).

第5章 結論

本論文では、水溶液中のアミノ酸やペプチドの熱力学的安定性に対する2つの効果について統計力学に基づいた解析を行った。その2つの効果とは、塩効果と圧力効果である。以下に、それらの研究から得られた結論と今後の課題について述べる。

まず、塩効果に関しての研究について述べる。その研究では、RISM理論を用いて、様々なアルカリハライド水溶液中におけるアセチルグリシンエチルエステル (AGE) の溶媒和自由エネルギーと溶媒和構造に対する塩効果を解析した。

ペプチドの溶媒和自由エネルギーに対する塩効果を疎水的寄与と静電的寄与、さらにそれらをイオンからの「直接的」な寄与とイオンによる水の再配向からの寄与にわけることにより以下の結論を導き出した。静電的寄与は疎水的寄与に比べ非常に小さく全塩効果にほとんど効いていない。すなわち、イオンは溶質の疎水的溶媒和と静電相互作用の両方に影響を及ぼすが、静電相互作用に対する効果は各寄与が打ち消すことにより塩効果としてほとんど現れてこず、溶質の疎水的溶媒和に対する効果が塩効果として前面に現れてくる。それは、塩効果が溶質の持つ静電的な個性に依存しないということであり、Hofmeister 順列が様々な分子に対して成り立っている理由であると考えられる。また、Hofmeister 順列はイオンによる水の再配向からの寄与の順序とイオンからの「直接的」な寄与の順序のバランスにより決まっていると言える。アニオンの場合は、イオンによる水の再配向からの寄与の方が支配的であるため、Hofmeister 順列はイオンによる水の再配向からの寄与の順序により決まっている。カチオンの場合は両者が同程度の寄与をする。

ペプチドのまわりの水和構造に対する塩効果の解析を行い、イオンが加わったことによるペプチド-水間の動径分布関数の変化を説明するために、以下の3つの概念を用いることを提案した。正水和イオンがペプチド原子に静電的に引きつけられたり反発されたりするとき、その水和水も共に引きつけられたり反発されたりする（「正水和効果」）。負水和イオンはまわりの水分子の氷様構造を破壊し、まわりの水分子の密度を増加させる（「負

水和効果」)。ペプチド原子に静電的に強く引きつけられたイオンがペプチド原子近傍の水分子と交換する（「イオン交換効果」）。この三つの概念により、ペプチド-水間の動径分布関数に対する塩効果を整合的に説明することができた。

ここでは、ペプチドの溶媒和自由エネルギーに対する塩効果とペプチドのまわりの溶媒和構造（あるいは水和構造に対する塩効果）の関係については議論しなかった。その関係を明らかにするには、溶媒和自由エネルギーをエンタルピー項とエントロピー項に分割するといったより詳細な解析が必要であると思われる。それは、今後の課題である。

また、溶解度と構造安定性に対する塩効果の関係を説明するためのモデルを考えた。そのモデルでは、変性タンパク質の溶解度が天然タンパク質の溶解度より塩効果に対して敏感であるという仮定が入っているが、その仮定が正しいければ溶解度と構造安定性に対する塩効果の関係を説明することができる。それゆえ、変性タンパク質の溶解度が天然タンパク質の溶解度より塩効果に対して敏感であることを証明（説明）することが今後の重要な課題である。

上記の2つの課題を解決すれば溶媒和構造と構造安定性に対する塩効果がつながることになる。すなわち、塩が加わったことによる溶媒和構造のどのような変化が、溶解度に対してどのように影響し、さらに構造安定性がどう変わるのかが理解できたことになる。そのような塩効果の分子論的描像はこれまで不明であったが、それが明らかになると期待している。

次に、圧力効果に関しての研究について述べる。圧力効果を解析するとき部分モル体積は中心的役割を演じる。それゆえ、Kirkwood-Buff 溶液論と分子液体の RISM 理論を組み合わせることにより得た RISM-KB 理論に基づいた溶液中の多原子分子の部分モル体積の理論的研究を行った。その部分モル体積に対する式を導出することにより、部分モル体積への理想項の寄与は単原子分子のものと同じになることが明らかになった。その結果は、すべての原子間距離を拘束することに帰因する。

無限希釈の水溶液中における20種のアミノ酸の部分モル体積を上記の式を用いて計算した。そして、その結果を実験値と比較したところ、理論値と実験値には系統的な差があることがわかった。その差は温度とアミノ酸の原子数にほぼ比例して増加する。その温度と原子数に対する依存性は、その差が溶質の自由度からくる理想項に関係していることを示

唆している。その差を見積もるために、溶質の分子内の揺らぎからくる理想項の寄与、すなわち、「構造揺らぎによる理想体積」という概念を提案した。しかし、そこにはRISM理論からくる誤差も含まれているため、その寄与がどの程度のものかは明らかではない。それを明らかにするために、分子シミュレーションによる解析も行う必要があるのではないかと考えている。

20種のアミノ酸の部分モル体積を計算した結果、末端基の解離には $-3.2 \text{ cm}^3/\text{mol}$ から $-9.7 \text{ cm}^3/\text{mol}$ の範囲で体積の減少を伴うことが明らかになった。同様に、側鎖の解離基の解離にも $-3.0 \text{ cm}^3/\text{mol}$ から $-6.0 \text{ cm}^3/\text{mol}$ の範囲で体積の減少を伴う。一方、部分モル体積に対する部分電荷の寄与は必ずしも負にならず、いくつかの例外を除いてわずかに正になることがわかった。これらの情報は、タンパク質の圧力変性を考える際、有効になると思われる。すなわち、タンパク質の天然状態と変性状態の部分モル体積の差がどのような寄与からくるのかを説明するために必要である。

また、部分モル体積に対する原子や官能基の寄与はそれがどのアミノ酸のものであるか、あるいはアミノ酸のどの部分にあるかに大きく依存することが明らかになった。その結果は、部分モル体積を原子や官能基の重ね合わせで見積もるというこれまでの経験的な方法は信頼性が低いということを示唆している。

最後に、圧力によって誘起される生体分子のコンフォメーション空間における極小エネルギー状態間の遷移を予測する一般的な方法を示した。この方法では、反応座標に沿った自由エネルギー曲面を見つけることが必要であるが、それさえわかれば、反応の始状態、終状態、あるいは遷移状態の部分モル体積をRISM-KB理論から計算することによって、反応の平衡定数や速度定数の圧力依存性がわかる。

この方法は、まだ問題点を含んでいるもののタンパク質の圧力変性（部分モル体積）の解析に対して有力なものであると思われる。特に、溶媒和構造との関係も明らかにすることができることが大きな利点である。

今回行った2つの研究は、単にそれぞれの話にとどまるのではなく、今後、タンパク質の立体構造の構築原理の解明という大きな課題にもつながっていくと期待している。なぜなら、そこにはタンパク質の安定性に対する溶媒の役割という共通のテーマが含まれているからである。

付録A 計算手順

無限希釈における溶質-溶媒間の相関関数は2章で述べたDRISM理論により以下の手順(図A.1)で求めることができる。まず、溶媒-溶媒の相関関数を式(2.23)と(2.54)を繰り返し解くことにより得る。この際、溶媒の分子内相関関数(w_v)、溶媒-溶媒間相互作用ポテンシャル($u(r)$)、溶媒の誘電率がインプットとなる。次に、その結果を用いて(前ステップで得た $w_v + \rho_v h_{vv}$ がインプットとなる)、溶質-溶媒の相関関数を式(2.23)と(2.55)を繰り返し解くことにより得る。この際、溶質の分子内相関関数(w_s)、溶質-溶媒間相互作用ポテンシャル($u(r)$)がインプットとなる。これらの計算は温度 T 、溶媒の密度 ρ_v の熱力学条件下で計算される。また、本研究では、これらの繰り返し計算を木下と平田によって開発されたアルゴリズム¹を用いて行った。得られた溶質-溶媒の相関関数から溶質のまわりの溶媒和構造(動系分布関数 $g(r) = h(r) + 1$)や種々の熱力学量(本研究では、溶媒和自由エネルギー(式(3.1), (3.2))および部分モル体積(式(4.26)))を求めることができる。

¹ M. Kinoshita and F. Hirata, *J. Chem. Phys.*, **104**, 8807 (1996).

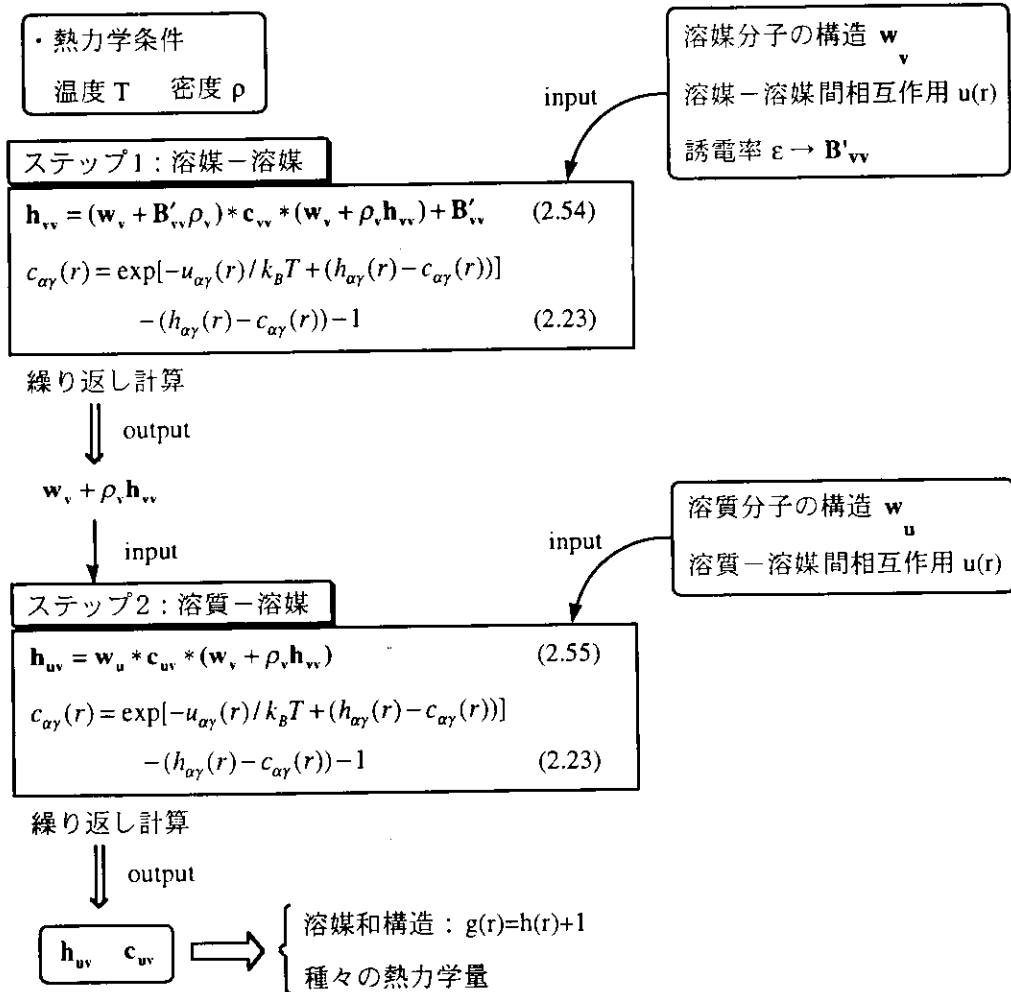


図 A.1: 溶質-溶媒間の相関関数の計算の手順

付録B イオンのポテンシャルパラメータの決定

現在に至るまで、イオンのポテンシャルパラメータに関して様々なものが提案されてきたが、いまだ決定的なものは存在しない。それぞれの研究者が、その研究に適していると思われるパラメータセットを選んで使っているというのが現状である。この付録の目的は、RISM理論の範囲内で、溶媒和自由エネルギーのイオンによる違いを定性的に再現できるイオンのポテンシャルパラメータセットを作ることである。

最近、木下と平田によって希ガスの溶媒和自由エネルギーのイオンによる違いがRISM理論を用いて調べられた¹。その研究では、イオンのポテンシャルパラメータは過去に提案されたものの組み合わせによって決定された。そのパラメータセットでは、実験によるイオンの塩析係数の順序に対して、カチオンに関しては再現したが、アニオンに関しては再現しなかった（実験の順序と逆の順序になった）。それゆえ、そのパラメータセットを使って、3章で議論したようなペプチドの溶媒和自由エネルギーに対する塩効果を調べることは適当ではなく、適当なパラメータセットを作ることが必要になる。

この種の問題に取り組む際には、分子シミュレーションによって新しいパラメータセットを決定し、そのパラメータセットを用いた理論の結果と比較し、理論がうまくいっているかどうか確かめるというのが通常の手順である。しかし、溶媒分子を露に扱った電解質溶液の分子シミュレーションは非常に難しく、特に、そこから得た自由エネルギーに対する信頼性は非常に低い。その様な状況を考慮して、生体分子の溶媒和自由エネルギーに対する塩効果を調べるにあたり、別のアプローチをした。まず、RISM理論の範囲内で、電解質溶液の活量係数と希ガス（アルゴン）の塩析係数の実験値を最もよく再現するようにイオンのポテンシャルパラメータを決定する。そして、そのパラメータセットを用いて、生体分子の溶媒和自由エネルギーや溶媒和構造を解析する。以下にパラメータ決定の詳細に

¹ M. Kinoshita and F. Hirata, *J. Chem. Phys.*, **106**, 5202 (1997).

ついて述べる。

ここでパラメータを決定したイオンは、カチオンでは Li^+ , Na^+ , K^+ 、アニオンでは Cl^- , Br^- , I^- である。水に関しては SPC/E モデルのパラメータ² を用い、アルゴンに関しては Masterton-Lee のパラメータ³ を用いた。イオン-イオン、イオン-水、イオン-溶質のすべての原子対に対して、ポテンシャル関数として、Lennard-Jones ポテンシャル項と静電相互作用項からなる標準的なものを適用した。

$$u_{ab}(r) = 4\epsilon_{ab} \left[\left(\frac{\sigma_{ab}}{r} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ab}}{r} \right)^6 \right] + \frac{q_a q_b}{r} \quad (\text{B.1})$$

Lennard-Jones ポテンシャルパラメータに関して標準的な Lorentz-Berthelot の組み合わせ法則 $\epsilon_{ab} = (\epsilon_a \epsilon_b)^{1/2}$ および $\sigma_{ab} = (\sigma_a + \sigma_b)/2$ を用いた。また、L-J の ϵ は、次の Mavroyannis-Stephan の式^{4, 5} から求めた。

$$\epsilon = 2.28 \times 10^{-8} k_B \frac{\alpha^{3/2} Z^{1/2}}{\sigma^6} \quad (\text{B.2})$$

ここで、 α はイオンの分極率、 Z はイオンの電子数である。よって、ここで決めるべきパラメータはイオン半径に対応する σ のみとなる。まず、イオンの σ をイオン-イオン、イオン-水、イオン-溶質に関してすべて同じであると仮定して、それぞれの電解質溶液の活量係数とアルゴンの塩析係数の実験値にフィットするように試みたが、適当なパラメータセットを作ることは不可能であった。そこで、イオン-イオンに関しては特別に扱った。つまり、イオン-イオンの相互作用を求める際のイオンの σ とイオン-水、イオン-溶質の相互作用を求める際のイオンの σ に対して別の値を用いた。このようにイオン-イオン間相互作用に対して別の取り扱いをすることは特殊なことではなく、むしろ一般的であるといえる。イオン-イオン間相互作用に対する関数型として、6-12 型 Lennard-Jones 関数ではなく、6-8 型 Lennard-Jones 関数や Huggins-Mayer 関数 (6 乗の引力項+exp 型の斥力項) を用いることもあるが^{1, 6}、ここでは、6-12 型 Lennard-Jones 関数をそのまま使い σ の値だけを変えた。その結果、電解質溶液の活量係数とアルゴンの塩析係数の実験値を定性的に再現する (それぞれのイオンに関する値の相対的な順序を再現する) パラメータセットを作ることができた。そのパラメータセットは表 3.3 に示してある。

² H. J. C. Berendsen, J. R. Grigera, and T. P. Straatsma, *J. Phys. Chem.*, **91**, 6269 (1987).

³ W. L. Masterton and T. P. Lee, *J. Phys. Chem.*, **74**, 2809 (1970).

⁴ C. Mavroyannis and M. J. Stephen, *Molec. Phys.*, **5**, 629 (1962).

⁵ W. L. Masterton, D. Bolocofsky, and T. P. Lee, *J. Phys. Chem.*, **75**, 2809 (1971).

⁶ B. M. Pettitt and P. J. Rossky, *J. Chem. Phys.*, **84**, 5836 (1986).

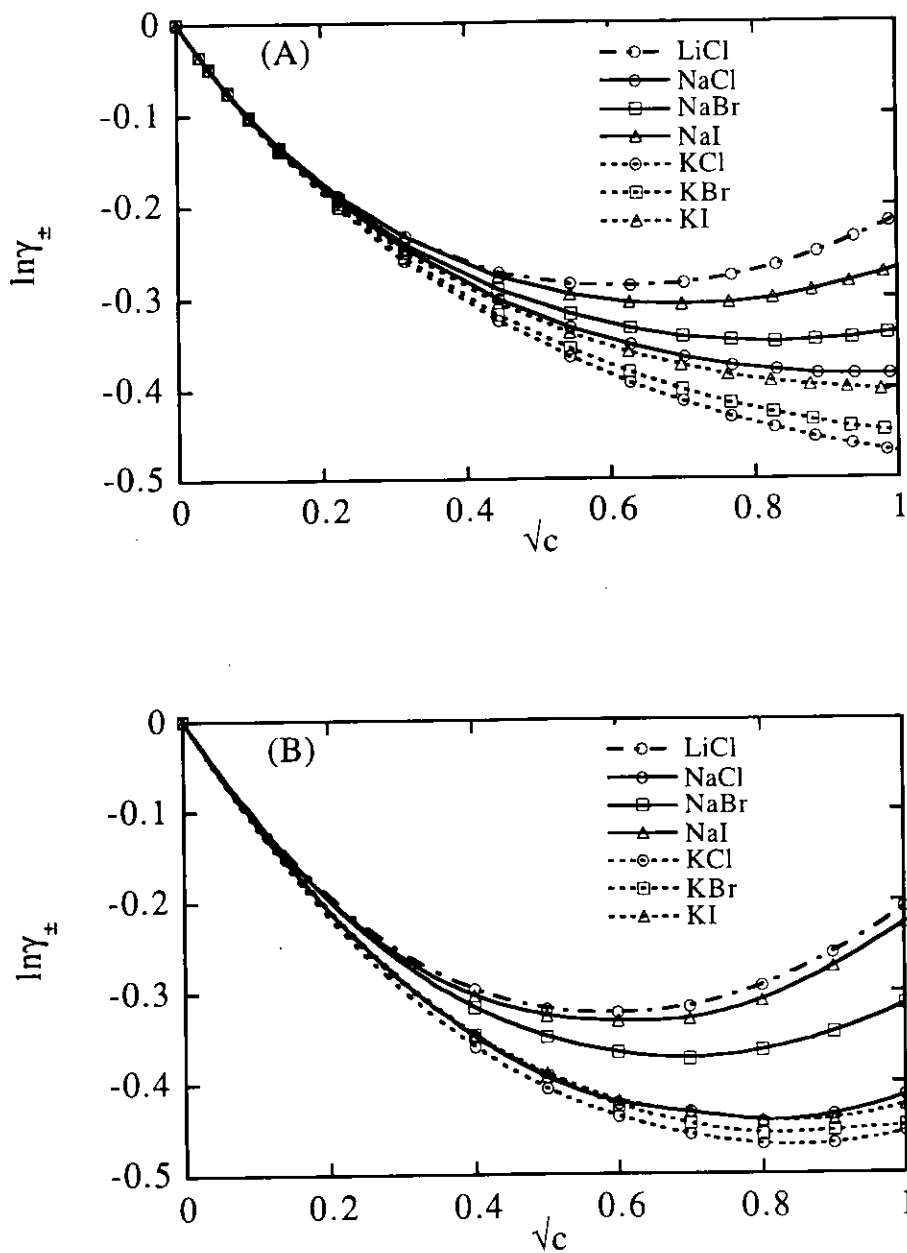


図 B.1: 様々なアルカリハライド水溶液の活量係数の濃度依存性. 実験値 (A) と理論値 (B)

表 B.1: アルゴンの溶媒和自由エネルギーと塩析係数

	I_V	χ	I_C	I_A	$\Delta\mu$	$\Delta\Delta\mu$	k_s	k_s [実験値] ⁵
LiCl	6.88	-0.05	-0.08	0.19	6.99	0.06	0.053	0.103 0.114
NaCl	6.93	0.00	-0.05	0.19	7.06	0.14	0.107	0.149 0.140
KCl	6.86	-0.07	0.01	0.18	7.05	0.12	0.093	0.134 0.133
NaCl	6.93	0.00	-0.05	0.19	7.06	0.14	0.107	0.149 0.140
NaBr	6.90	-0.03	-0.05	0.21	7.05	0.12	0.093	0.137
NaI	6.85	-0.07	-0.05	0.26	7.06	0.13	0.096	
KCl	6.86	-0.07	0.01	0.18	7.05	0.12	0.093	0.134 0.133
KBr	6.83	-0.10	0.01	0.20	7.04	0.11	0.088	0.130
KI	6.78	-0.14	0.01	0.25	7.05	0.12	0.083	0.127

図 B.1 に様々なアルカリハライド水溶液の活量係数の濃度依存性の実験値⁷ (A) と新しいパラメータセットを用いて計算された値 (B) を示す。実験値と理論値の傾向を比べると、それぞれの電解質溶液の相対的な順序は一致しているが、各々の濃度依存性に関して次のような違いがみられる。活量係数は濃度の増加に対して、初めは減少しある濃度を境に増加するという曲線を描くという点では、実験値と理論値の傾向は一致しているが、理論値は実験値に比べその曲率がやや大きい。その傾向は、 σ の値を変えても変化しないことから、イオン-イオンのポテンシャルの関数型に依存していると考えられる。しかし、イオン-イオン相互作用は活量係数には影響を及ぼすが、溶質の塩析係数（溶媒和自由エネルギー）や溶質の溶媒和構造にはほとんど影響しない。ここでの目的は、溶質の溶媒和自由エネルギーのイオンによる違いを定性的に再現できるイオンのポテンシャルパラメータセットを作ることにあるので、活量係数（言い換えると、イオン-イオン相互作用）に関しては、ここに示した程度に再現できていれば十分であると思われる。

表 B.1 に新しいパラメータセットを用いて計算されたアルゴンの溶媒和自由エネルギーと塩析係数 (k_s) およびその実験値⁷ を示す。各々の記号の意味は3章で説明してある。塩析係数の理論値は実験値の順序 ($\text{Li}^+ < \text{K}^+ < \text{Na}^+, \text{Cl}^- \geq \text{Br}^- \geq \text{I}^-$) を再現するようになった。ここで、全溶媒和自由エネルギー ($\Delta\mu$) の順序はパラメータ依存性があるが、各項の順序にはパラメータ依存性がないということを強調しておく。(ただし、 Li^+ と K^+ の

⁷ W. J. Hamer and Y.-C. Wu, *J. Phys. Chem. Ref. Data*, **1**, 1047 (1972).

$I_V(\chi)$ の順序は微妙である。しかし、 $\text{Li}^+ < \text{Na}^+$, $\text{K}^+ < \text{Na}^+$ という順序は変わらない。)つまり、パラメータを調節することによって、各項の順序を調節したのではなく、各項の間のバランスを調節したことになる。また、溶媒和構造(溶質-溶媒間の動径分布関数)に関しても、その傾向(ペプチドに関して本文中で述べたような傾向)はパラメータによって変わらない。

謝辞

本研究をおこなうにあたり、直接ご指導いただいた平田文男教授をはじめ、木下正弘助教授（京大・エネルギー理工）、岡本祐幸助教授（分子研）に心より感謝します。平田教授には、研究に対する助言だけでなく、研究のしやすい環境を与えていただきました。木下助教授には、共同研究者として多くの助言をいただきました。岡本助教授には、特にセミナーでお世話になりました。

佐藤啓文博士、秋山良博士をはじめ平田グループの皆さまにも、多くの助言を頂きました。また、佐藤博士には計算機の管理の面でたいへんお世話になりました。秋山博士には頻繁に議論をしていただき、大変勉強になりました。