


 解説

## 高分解マイクロ波誘電スペクトルで観るイオン、 荷電高分子鎖、タンパク質周りのハイパーモバイル水

鈴木 誠, 宮崎 崇

(受取日: 2007年10月1日, 受理日: 2007年10月17日)

### Hyper-Mobile Water around Ions, Charged Polymers, and Proteins Observed with High Resolution Microwave Dielectric Spectroscopy

Makoto Suzuki and Takashi Miyazaki

(Received October 1, 2007; Accepted October 17, 2007)

A precision microwave dielectric spectroscopic technique has been developed. This technique enables us to analyze hydration properties of ions, polymers, and proteins.  $\phi$ -scan method gives an image of the information of spatial distribution of dielectric property of water surrounding protein molecules. Fixed  $\phi$  analysis gives a direct comparison of hydration properties of different solutes. With this technique we analyzed the hydration states of alkali-halides aqueous solutions, charged polymers and proteins such as F-actin solutions. Most of solutes called water structure breakers form hyper-mobile water (HMW) layer around the solutes having higher dielectric relaxation frequency than bulk water. Thus, we may obtain further information of collective properties of water surrounding ions, polymers and biomolecules.

Keywords: Microwave dielectric spectroscopy; protein hydration; actin; hyper-mobile water;  $\phi$ -scan method; dielectric property of water

#### 1. はじめに

水は生命の活動の場としてなくてはならない媒質であり、その物理的・化学的な性質について膨大な研究がなされてきた。1950年代にSamoilov<sup>1)</sup>やFrankとWen<sup>2)</sup>は、液体の水がもつ水素結合のネットワーク構造が溶質によって影響を受ける現象に注目した。周りの水分子間の水素結合を弱める溶質をwater structure breakersあるいはカオトロース(chaatropes)と呼び、その異常な水和状態を、水分子を引きつけて安定化する通常の水和状態に比してnegative hydrationと呼んでいる。それ以来Hofmeister効果に代表さ

れる多くの水溶液現象の解釈に用いられている。<sup>3)</sup> ヨウ化カリウム等のカオトロースの溶媒和のエントロピー変化が正であったり、粘性の活性化エネルギーが低下するような現象が広く知られている<sup>4)</sup>が、一方で負の水和状態にある水の物性や化学的性質はよくわかっていない。

著者らは、マイクロ波誘電緩和スペクトル測定により、天然に豊富に存在する球状のタンパク質分子の水和状態を調べている過程で、筋肉タンパク質であるアクチンのフィラメント水溶液がきわめて特異な誘電緩和特性をもつことを見出した。<sup>5)</sup> それは、アクチンフィラメントが通常の水和層を伴っているだけでなく、驚くべきことにバルクの水の誘電

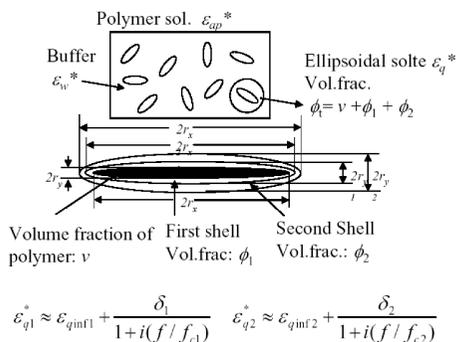
緩和周波数（20℃では17 GHz）に比べて、ずっと高い緩和周波数の成分を有していたことである。この成分は、バルクの水の吸収ピークの低下に伴って増大することから、著者らはこれをハイパーモバイル水（hyper-mobile water, HMW）と呼び、それ以来、water structure breakerとして知られるアルカリハライド塩の水溶液や、電解質高分子水溶液も対象を含めて、HMWを形成する溶質の共通的特徴の検討とHMWの誘電特性の解明と形成メカニズムの研究に取り組んでいる。

## 2. 溶質の周りの水和層の誘電スペクトルを抽出する方法

溶質（たとえば球状タンパク質分子）を水に溶かしその水溶液の誘電スペクトルを0.1～20 GHzで測定すると、いくつかの緩和成分が認められる。<sup>6)</sup> 一つ目は溶媒である水の配向緩和であり、 $\gamma$ 分散と呼ばれ、20℃では17 GHzに緩和吸収のピークが見られる。これは水分子の回転運動性を反映したもので、様々な水素結合形態をした水分子の集合としての緩和現象である。二つ目は個々の溶質分子がもつダイポールの配向が交流電場の変化に追従できなくなることによる $\beta$ 分散であり、タンパク質分子の場合、緩和時間が $10^{-7}$  s、緩和周波数が $10^6$  Hz程度に観測される。アミノ酸等の小さな有機分子の配向緩和は0.1～数GHzで起こる。高分子鎖の場合は、側鎖や主鎖のもつダイポールの配向緩和がこの周波数範囲に観測される。三つ目は我々が注目する水和層の水の配向運動等を反映する $\delta$ 分散<sup>7)</sup>である。これは球状タンパク質分子の場合4～8 GHzに観測される。 $\delta$ 分散はタンパク質濃度が $20 \text{ mg ml}^{-1}$ 程度であれば変化量としては小さいが、溶媒スペクトルとの差として再現性よく確認できる。

水溶液の誘電スペクトルと溶媒の誘電スペクトルを測定することにより、水和層を伴った溶質粒子の誘電スペクトルを誘電体粒子混合の理論<sup>6,9)</sup>により計算することができる。球形以外に、任意の軸比の回転楕円体形の溶質についてはAsamiの式<sup>8)</sup>で解析でき、棒状の溶質や直鎖状の高分子鎖に適用できる。（Fig.1）分子表面の細かな凹凸を考えると電場分布は表面近傍では複雑に違いないが、少し外側ではその変動はならされて滑らかになる。

ここでは溶質分子を取り囲む滑らかな球や楕円体の境界を仮定してその中の平均的な誘電スペクトルを見ることになる。ちなみに同じ誘電特性をもつ溶質の一定のモル濃度の水溶液を考えると、上記の均一混合理論<sup>9)</sup>によると、軸比3の楕円体形の方が球形より1～2%小さい体積で球形溶質のスペクトルにほぼ一致する。つまり見積られる水量におよぼす形状（軸比）の効果は意外に小さく、見積られる緩和周波数への軸比の影響もほとんどない。したがって以下の異物質の誘電スペクトルの比較では、溶質の水和層



$$\epsilon_{q1}^* \approx \epsilon_{qint1}^* + \frac{\delta_1}{1 + i(f/f_{c1})} \quad \epsilon_{q2}^* \approx \epsilon_{qint2}^* + \frac{\delta_2}{1 + i(f/f_{c2})}$$

Asami eq.

$$\epsilon_{aps}^* = \frac{18 \left[ \frac{\epsilon_{qx}^* - \epsilon_w^*}{\phi_1 \epsilon_w^* + (\epsilon_{qx}^* - \epsilon_w^*) a_{0x}} + \frac{2(\epsilon_{qy}^* - \epsilon_w^*)}{\epsilon_w^* + (\epsilon_{qy}^* - \epsilon_w^*) a_{0y}} \right] + 1}{1 - \frac{9 \left[ \frac{\epsilon_{qx}^* - \epsilon_w^*}{\phi_1 \epsilon_w^* + (\epsilon_{qx}^* - \epsilon_w^*) a_{0x}} + \frac{2(\epsilon_{qy}^* - \epsilon_w^*)}{\epsilon_w^* + (\epsilon_{qy}^* - \epsilon_w^*) a_{0y}} \right]}$$

Fig.1 Complex dielectric constant of a mixture of ellipsoids and solvent.<sup>8)</sup>

（Fig.1中のfirst shellに相当）とバルク相の境界より大きめに体積分率 $\phi$ を固定して境界内にバルク水の成分（Fig.1中のsecond shellに相当）を残し、同一重量濃度でスペクトルを比較する固定 $\phi$ 法を用いる。

## 3. 球状タンパク質分子の水和状態

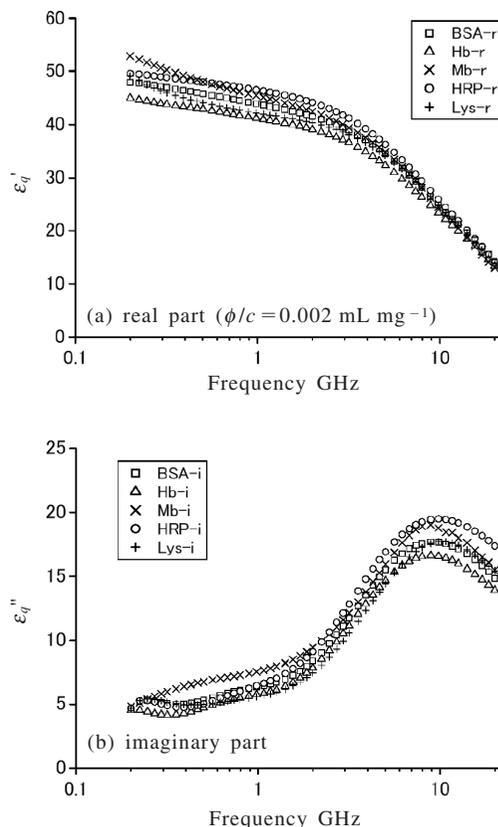
この方法を用いて、水中で水和したタンパク質分子（bovine serum albumin (BSA), horse radish peroxidase (HRP), myoglobin (Mb), lysozyme (Lys), hemoglobin (Hb))の誘電スペクトルを測定すると、Fig.2のように、誘電率の虚部 $\epsilon_q''$ に6～7 GHz付近に明瞭なピークが認められる。<sup>10)</sup> ただし $\epsilon_q''$ のプロットにおいては、6 GHz付近のピークの存在を明示し解析するために、ここでは1 GHz以下は解析の対象としていないので、イオン伝導成分や低周波数域緩和吸収成分の影響を関数 $alf$ （ $a$ は任意定数、 $f$ は周波数）として、1 GHz以下の $\epsilon_q''$ が負にならない程度に差し引いている。この操作で5 GHz以上への影響はほとんどないが、1 GHz近傍以下の値は参考程度に見るべきである。球状タンパク質の解析では、タンパク質部分を比誘電率2.5の球として、水和層が周波数依存性をもつ均質誘電体として、デバイ型緩和関数の三つのパラメータ $f_{c1}$ 、 $\delta_1$ 、 $\phi_1$ を最小2乗フィットにより決定する。水分子1～2層程度を対象に対して連続体近似をするため、個々の水分子の特徴は消えてしまうが、水和層の水の平均的性質をバルク水との比較で定量的に評価できる。各タンパク質分子の水和数 $N_b$ の値は、 $N_b = 55.6 \phi_1 / c_M$ により計算できる。ここで $c_M$ はタンパク質分子のモル濃度、 $\phi_1$ は水和層の体積分率である。3D原子座標が既知

の場合、タンパク質分子の露出表面積（タンパク質分子の表面に水分子（ファンデルワールス半径 0.14 nm）を接触させて表面をくまなく転がしたとき水分子の中心が描く面の面積ASA）から計算される第1層中の水分子数 $N_{b3D-cal}$ と $N_b$ は概ね一致する。その値は当然ながらタンパク質分子の種類によって変化する。たとえばLysは計算値より大きく、HRPは計算値より少ない。また、疎水性側鎖をもつ $\alpha$ アミノ酸水溶液の解析から、疎水基はほぼ1層分の水を拘束し、その静的誘電率はバルク水のそれより高く100~110と見積もられ、誘電緩和周波数として5~6 GHzが得られている。<sup>11,12</sup> このことから6~7 GHzの吸収は疎水性水和水を含む第1水層の水の配向緩和の吸収と考えられる。

**Fig.2**は各種タンパク質の部分誘電スペクトルを固定 $\phi$ 法により比較したものである。この例では静的誘電率が40~50の範囲にある。仮にタンパク質分子の部分比容を0.74 mL g<sup>-1</sup>、誘電率を2.5、周りの水のそれを80（20℃）として、同じ $\phi/c=0.002$  mL mg<sup>-1</sup>で平均誘電率を求めると44となる。44より大きい場合は水層の静的誘電率はバルク水より高く疎水的水和水が優勢で、反対に44より小さければバルク水より低いので極性水和水が優勢と考えられる。HRPがその基準値より高い誘電率（**Fig.2(a)**）、高い誘電吸収ピーク（**Fig.2(b)**）であることから疎水性水和水が優勢といえる。10 GHz付近の比較的高い緩和周波数を示しているのは、固定境界の中でバルク水の比率が高いこと、つまり水層が薄いことを意味する。疎水性水層は水1層分であるから水層が薄いことと矛盾しない。逆にLysやHbでは、誘電率と誘電吸収ピークが低いことから、境界内のバルク水の割合が少ない、したがって水層が厚く、極性水和水が優勢であるといえる。10 GHz付近の緩和周波数が他と比較して低いことから水分子の拘束が強いタンパク質であることがわかる。この中ではBSAは平均的である。

#### 4. $\phi$ スキャン法による解析

水層が均質でバルク水との境界が明瞭であれば、水層の誘電特性（ $f_c$ ,  $\delta$ ,  $N_b$ 等）は最小2乗法で唯一決定できる。水層数は境界内の水の密度を一定と仮定すれば、境界内の体積分率 $\phi$ から求められるが、タンパク質ごとの水層量を論じたい場合、比較される水層の質（誘電緩和周波数 $f_c$ と緩和強度 $\delta$ ）を指定した上で比較するのが合理的である。つまり緩和周波数や緩和強度がいくらの水層がどれだけあるというように表示したい。一般には、タンパク質ごとに水層の質（たとえば $f_c$ により水層中の水分子の運動しやすさの性質を、 $\delta$ により水分子間の水素結合のネットワーク構造を反映した分極効果の大きさを把握できる）は異なるため比較は単純にはいかない。さらに、水層とバルク水との境界が明瞭とは限らないので、溶質の外側のどこに境界



**Fig.2** Partial dielectric spectra of hydrated globular protein in solution.

( $\phi$ ) を設けるかにより境界内部の平均誘電特性（ $f_c$ や $\delta$ ）が変化する。つまり、各 $\phi$ に対応するパラメータセット（ $f_c$ ,  $\delta$ ）の集合が水和状態を表すといえる。したがって特定の境界でパラメータセットを見るのではなく、もっと全体的に水和特性を把握できる方法が求められる。そこで、できるだけ不確定さを排除して、より一般的な形でタンパク質の水和特性の違いを把握できるように、一定濃度のタンパク質溶液に対して、溶質の水層の外側に一定体積分率の仮想的な境界を設けて解析表示する方法について述べる。

まず最小2乗法により水層の暫定的な境界 $\phi = \phi_b$ 値を求め、 $\phi_b$ より十分大きな $\phi$ 値から、小刻みに $\phi$ を減少させ、それぞれ対応する回転楕円体の誘電スペクトル（部分誘電スペクトル）のシリーズを計算して重ね書きで表示する。この方法を著者らは $\phi$ スキャン法と呼んでいる。こうすることで、境界を縮小するにつれて吸収ピーク周波数がどのように変化するのを見て水和特性を知ることができる。 $\phi$ が大きい場合はバルク水を多く含むためバルク水の吸収ピーク周波数（20℃で17 GHz）に近い。 $\phi$ が徐々に小さくなったときピーク

ク周波数が低周波数側にシフトすれば、その溶質はバルクより動きにくい水和層をもっていることがわかる。逆に、高周波数側にシフトすれば、バルクより回転運動しやすい水（HMW）が周囲にあることがわかる。つぎにこの $\phi$ スキャン法をイオンの水和状態の解析に応用した例を紹介する。

### 5. アルカリハライド塩の水溶液における誘電緩和スペクトル

アルカリハライド塩の水溶液について、1970年にGieseら<sup>13)</sup>により3.8~37.8 GHzの周波数範囲における誘電緩和測定がなされた。すべてのアルカリハライド塩水溶液で誘電緩和強度が自由水の値より小さく、またCsFを除いてすべての場合でバルクの誘電緩和時間 $\tau_f$ より短い誘電緩和時間を測定している。KCl, KBr, KI, RbCl, CsCl等 water structure breakersの水溶液で誘電緩和時間 $\tau_f$  ( $=1/2\pi f_c$ ,  $f_c$ : 誘電緩和周波数) がバルクの水より短いことは理解しやすいが、F<sup>-</sup>イオンやLi<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>イオン等を含む塩では緩和時間がバルク水より短い理由がはっきりしない。また、これまでの誘電緩和スペクトル解析では、水溶液に対する誘電緩和時間が測定されたのみで、水和層の誘電緩和時間を抽出して詳しく調べた例はまだない。そこで著者らはアルカリハライド水溶液についてさらに精密な誘電緩和スペクトル測定（1~26 GHzで203周波数点の複素誘電率を誤差0.02以内）を行うことにした。ここではNaFとNaIの水溶液（0.1 M, 10℃）について解析した例を紹介する。（Fig.3,4）両水溶液のスペクトル実部では2 GHz以下に誘電緩和が見られるが、これは正負各イオンの周りのカウンターイオンのつくる電荷雲の分極の緩和と考えられる。なお、スペクトル虚部 $\epsilon''_q$ では低周波数側にイオン伝導成分として $\sigma/2\pi f$  ( $\sigma$ : 電気伝導率) の大きなシグナルがあって、1 GHz以上の信号を覆い隠してしまうため、解析前に $1/f$ 関数値を差し引いている。 $a$ の値には若干の任意性が残るが、ここでは1 GHz以上のスペクトルをデバイ関数の級数で近似しきれない分を実質の $a$ 値とした。

NaF水溶液では、実部と虚部の曲線をデバイ関数の級数で表現できる最小の $\phi$ 値を境界として求めた。たとえば、実部 $\epsilon'_q$ は周波数上昇とともに減少するはずのところ、 $\phi$ が小さくしすぎると周波数増大とともに上昇する部分が発生する。これはデバイ関数の級数で近似できない状態に相当する。この場合、0.1 Mの水溶液でバルク水と異なる誘電特性の部分の体積分率は $\phi=0.075$ となり、Na<sup>+</sup>とF<sup>-</sup>の1ペアあたり40個の水分子が影響を受けたことになる。 $\phi=0.075$ で抽出した誘電スペクトルを二つ以上のデバイ関数 ( $\delta_i/[1+i(f/f_{ci})]$ ) の和で近似すると、40個の水は、イオンによって拘束されて動きにくい水（8.5 GHzのデバイ成分）と、バルクの水より動きやすい成分（14.5 GHz (>12.6 GHz =

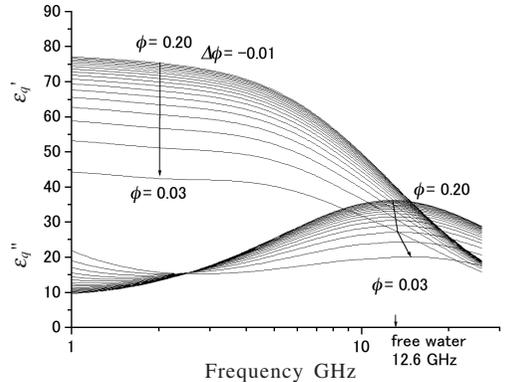


Fig.3  $\phi$ -scan spectra of 0.1 M NaF aqueous solution at 10°C.

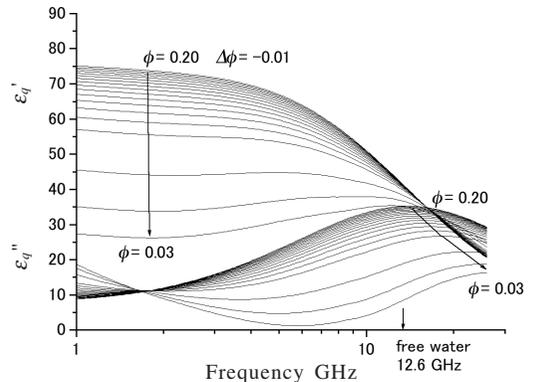
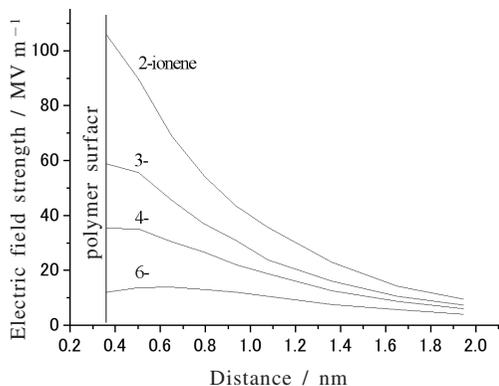


Fig.4  $\phi$ -scan spectra of 0.1 M NaI aqueous solution at 10°C.

バルクの $f_c$ )のHMW成分)に分けられる。ここでは前者より後者の緩和強度が5倍大きい。それぞれの水の誘電緩和強度が決定できれば水の数で表すことも可能となる。

一方、NaI 0.1 Mの水溶液では、バルク水と異なる誘電特性の体積分率は $\phi=0.125$ となる。この場合Na<sup>+</sup>とI<sup>-</sup>の1ペアあたり67個の水分子が影響を受け、16 GHzのデバイ成分で近似できる。つまりHMWである。このときNa<sup>+</sup>がもつはずの正の水和作用による緩和吸収は今回の測定周波数範囲（1~26 GHz）では見えていない。おそらくより低い周波数に存在すると思われる。

このように、NaF水溶液においてさえバルクより誘電緩和周波数の高いHMWが存在し、Gieseらがほとんどのアルカリハライド水溶液でバルク水より短い誘電緩和時間を検出したことを再確認できる。NaI水溶液では、HMW成分が顕著であり、HMWの誘電緩和周波数はバルク水に比べ1.3倍高く、HMWの誘電緩和強度は63程度と見積もられる。



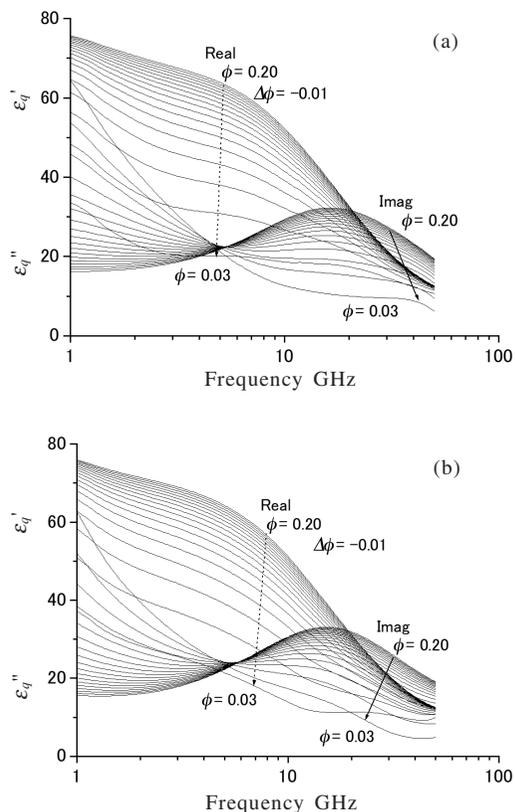
**Fig. 5** Rough estimation of electric field strength around polyionenes.

### 6. 荷電高分子の水溶液における誘電緩和スペクトル

ここに紹介する荷電高分子はポリアイオン- $[-(\text{CH}_2-)_x-\text{N}+(\text{Br})(\text{CH}_3)_2]_n-$ の水溶液である。この高分子は主鎖に強塩基性の正の荷電基をもち、メチレン基 $(-\text{CH}_2-)$ の長さ $x$ を変えて荷電密度を自由に調整できる。I<sup>-</sup>イオンの周りの電場をカウンターイオンによる静電遮蔽を考慮すると、HMWが存在すると考えられる領域では $40 \sim 100 \text{ MV m}^{-1}$ と推定される。もし、この大きさの電場が高分子鎖の周りにできればHMWが形成されるものと思われる。 $x=2, 3, 4, 6$ における電場強度を $0.1 \text{ M}$ 塩強度で推算するとFig. 5のようになる。予測としては $x=2, 3$ の場合にHMWが形成され、 $x=6$ では形成されないはずである。そこで著者らは $x$ の値を $2 \sim 6$ と変えて、それぞれ $20 \text{ mg ml}^{-1}$ 濃度の水溶液の誘電スペクトルを測定した。 $\phi$ スキンの結果はFig. 6に示すように、 $x=2$ の場合はバルク水より高い緩和吸収ピークの存在を示す明瞭な肩をもち、 $x=6$ の場合はそのような高い周波数成分は見られない。その代わり、疎水性水和に相当する吸収の増大が起こっている。

### 7. アクチンフィラメント水溶液におけるHMW

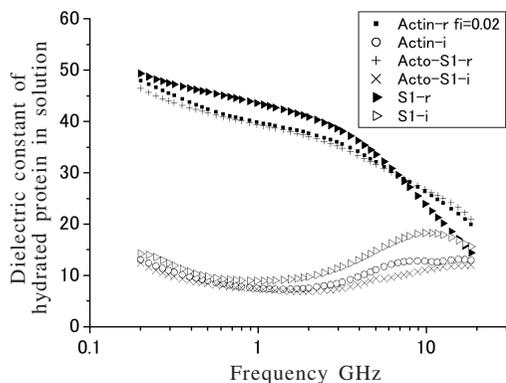
アクチンはミオシンとともに筋肉収縮をなすモータータンパク質である。1950年代にHuxley<sup>14)</sup>がミオシンフィラメントとアクチンフィラメントの間の滑り運動を説明するクロスブリッジ(ミオシンS1部)説を提唱し、1971年にはHuxleyとSimmons<sup>15)</sup>がミオシン頭部の首振り説によって筋収縮の多くの現象を説明してきた。近年では1990年にアクチンの3次元原子座標<sup>16)</sup>が、1993年にミオシンS1の3次元原子座標<sup>17)</sup>がX線解析により相次いで解かれた。並行して遺伝子工学的に、構成する個々のアミノ酸の役割が調べられ、<sup>18)</sup>またタンパク質分子の動きを直接とらえようとする



**Fig. 6**  $\phi$ -scan spectra of polyionene aqueous solution at  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ . (a)  $x=2$ , (b)  $x=6$ ,  $c=20 \text{ mg mL}^{-1}$ .

1分子計測による精密な実験<sup>19)</sup>がなされて、構造的、生化学的および力学的な性質がミクロなレベルで理解されるようになった。それでも、アクチン分子のATP分解反応に伴う力の物理的原理すらいまだにわかっていない。Kodama<sup>20)</sup>は熱測定により、ミオシンS1分子内でのATP加水分解の各ステップにおけるタンパク質溶液のエントロピー変化、エンタルピー変化、熱容量変化を調べ、ミオシン分子はその各反応ステップでミオシン分子表面の疎水性が大きく変化して水和水がタンパク質分子の構造変化と協同して変化している可能性を指摘した。GopalとBurke<sup>21)</sup>はカラムクロマトグラフィーによりミオシンS1のカラム通過時間の測定からATP存在時にS1表面の疎水性が下がることを確認している。KatoとMorita<sup>22)</sup>はアクチンフィラメントへのS1結合の際のエントロピー変化とエンタルピー変化におよぼすイオン強度および温度の影響を調べ、ATP加水分解反応の過程では分子間力の中で疎水性相互作用が大きな比率を占めていることを示した。これらの実験はアクチン分子の相互作用における水の重要性を示している。

Fig. 7は、タンパク質分子を水和層を含めて取り囲むよ



**Fig.7** Partial dielectric spectra of F-actin, myosin S1 and Acto-S1.

うに大きめ ( $\phi/c=0.002 \text{ mL mg}^{-1}$ ,  $\phi$ : 抽出する体積の溶液内分率,  $c$ : タンパク質の濃度 ( $\text{mg mL}^{-1}$ ) に一定体積の楕円体形の境界を定めて抽出したスペクトルである。骨格筋のアクチンフィラメントの水溶液 ( $10 \sim 20 \text{ mg mL}^{-1}$ ,  $2 \text{ mM HEPES (pH 7.2)}$ ,  $0.2 \text{ mM ATP}$ ,  $0.1 \text{ mM CaCl}_2$ ,  $50 \text{ mM KCl}$ ,  $2 \text{ mM MgCl}_2$ ) においては, 誘電率の実部 (Fig.7 +印) は  $6 \text{ GHz}$  以下では, 通常の水和したタンパク質の値 (たとえばミオシンS1  $\triangle$ 印) より低いが,  $6 \text{ GHz}$  以上で逆転し,  $20 \text{ GHz}$  でも高い値である。虚部では,  $7 \text{ GHz}$  の吸収がミオシンS1のそれより低い。これはアクチン周りに通常の水和層のほか,  $20 \text{ GHz}$  以上で緩和する自由水より運動性の高い成分があることを示している。通常  $7 \text{ GHz}$  付近の水和層の吸収が低下して, 自由水より運動性の高い緩和周波数成分が見られることから, HMW と考えられる。このスペクトルを回転楕円体モデル (Fig.1) を用いて二つのデバイ型緩和関数で最小2乗フィッティング解析をすると, アクチンフィラメントには1個のアクチンモノマーあたり  $7 \text{ GHz}$  で緩和する  $1200$  個 ( $\delta_1=45$  を仮定) の水合した水分子と,  $40 \text{ GHz}$  付近で緩和するHMWの数  $1400$  個の数値を得た。<sup>5)</sup> ここで  $\delta_2=75$  を仮定した。この  $\delta_2$  値はヨウ化カリウム水溶液の測定では  $60$  程度を得ている。 $\delta_2=60$  を使用すると, F-actinのHMW数はさらに  $30\%$  ほど多い値  $\sim 1800$  となる。最新の結果としては, 著者らはF-actin水溶液を  $10^\circ\text{C}$  で測定した結果,  $26 \text{ GHz}$  付近にHMWの吸収ピークを観測している。Thomassonら<sup>23)</sup>はポアソンボルツマン方程式を解いてアクチンフィラメント周りの電位分布を計算している。その結果から, やはりアクチンフィラメント周りには  $40 \sim 100 \text{ MV m}^{-1}$  の電場が形成されていると考えられる。

さらに, アクチンフィラメントにミオシンS1が結合すると驚くべき変化が起こる。Fig.7において, ミオシンS1は  $10 \text{ GHz}$  に吸収ピークを示している。 $\phi$  を大きめにとった

( $\phi/c=0.002 \text{ mL mg}^{-1}$ ) ため, S1の第1水層の吸収ピーク ( $\sim 7 \text{ GHz}$ ) と周りの自由水の吸収ピーク ( $17 \text{ GHz}$ ) が重なって  $10 \text{ GHz}$  にピークが見えている。S1のスペクトルの実部は,  $4 \sim 20 \text{ GHz}$  の範囲で一気に減少していることから, 通常バルク水より動きにくい水層をもつだけでHMWをもたないことがわかる。F-actinにミオシンのモータードメインS1が結合すると誘電スペクトルはFig.7のように変化する。実部では  $6 \text{ GHz}$  以上でF-actinよりすこし高い誘電率になっている。虚部では,  $7 \text{ GHz}$  の吸収が減少したあと, 周波数とともに増大して吸収ピークは  $20 \text{ GHz}$  より高周波数側に移動した。ミオシンS1, F-アクチン, アクチンS1それぞれの部分比容はほとんど同じく  $0.73 \sim 0.74 (\text{mL mg}^{-1})$  であるから, 同一体積の境界内に含まれる水の量はどの場合もほぼ同じである。したがって, 第一層の拘束水が減少し, 自由水とHMWに変化したものと解釈できる。第一層の減少量は, S1が接触したときのASA変化分 ( $1100 \text{ \AA}^2$ ) <sup>24)</sup>相当の水の排除量 ( $\sim 100$  個程度) で説明できる。<sup>25)</sup>

## 8. おわりに

HMWは誘電スペクトル上で自由水より誘電緩和周波数の高い水として観測される。このことは水分子間の水素結合ネットワークが通常の水より疎であることを示している。この水は, 1950年代にSamoilovがヨウ化カリウム水溶液等で観測した正負イオンの粘性流の活性化エネルギーが低い (負の水和) 水や, またFrankとWenが提唱した大きなハロゲンイオンやアルカリ金属イオンの周りの構造破壊された水と本質的に同じものである。溶質周りの電場強度が  $40 \sim 100 \text{ MV m}^{-1}$  の範囲にあるとき, 水分子間の水素結合のネットワークを不安定化し, 誘電緩和周波数を  $17 \text{ GHz}$  以上に高めるようである。I<sup>-</sup>, Br<sup>-</sup>等の比較的大きいイオンは水中の自己拡散係数も大きいことから, アクチンフィラメント周りで見られるHMWの中でも溶質の拡散係数は高いと考えられる。事実, 最近著者らはNMRによりプロトン拡散係数がアクチンフィラメント存在時に高まることも確認している。アクチン周りの水の性質の変化が, 結合したミオシンS1によるATP加水分解反応に連動したアクチンの構造変化によって誘起されるとすれば, アクチンフィラメントに沿って水の粘性, あるいは粒子の拡散係数の異なる領域がS1の前後に発生する可能性がでてくる。そのときS1がいったんアクチンフィラメントから離れれば, フィラメントに沿ったミオシンS1のブラウン運動はより粘性の低い, つまり拡散係数の大きい方向に起こることが期待される。<sup>5,23)</sup> このように, HMWの存在はモータータンパク質の分子機構に新たな解釈を提示できる。さらに高分子溶媒間相互作用の基本的相互作用力に新しい効果を加える可能性もあり, タンパク質分子間相互作用, 生体内酵素反応の分子機構にか

かわる新たな展開が期待される。

### 謝 辞

本研究の実施にあたって、文部科学省科学研究費(16041203, 17040004, 18031004)、CREST/JSTの支援をいただいたことをここに感謝します。

### 文 献

- 1) O. Ya. サモイロフ, "イオンの水和", 上平 恒訳, 地人書館 (1967).
- 2) H. S. Frank and W-Y. Wen, *Discuss. Faraday, Soc.* **44**, 133 (1957).
- 3) K. D. Collins, *Biophys. J.* **72**, 65 (1997).
- 4) 鈴木啓三, 水および水溶液, 共立, p.171 and p.181 (1980).
- 5) S. R. Kabir, K. Yokoyama, K. Mihashi, T. Kodama, and M. Suzuki, *Biophys. J.* **85**, 3154 (2003).
- 6) E. H. Grant, R. J. Sheppard, and G. P. South, Dielectric behaviour of biological molecules in solution, 1-6, Clarendon Press, Oxford (1978).
- 7) E. H. Grant, S. E. Keefe, and S. Takashima, *J. Phys. Chem.* **72**, 4373 (1968).
- 8) K. Asami, T. Hanai, and N. Koizumi, *Biophys. J.* **31**, 215 (1980).
- 9) T. Hanai, Theory of the dielectric dispersion due to the interfacial polarization and its application to emulsions, *Kolloid-Z.* **171**, 23 (1960).
- 10) K. Yokoyama, T. Kamei, H. Minami, and M. Suzuki, *J. Phys. Chem. B.* **105**, 12622 (2001).
- 11) M. Suzuki, J. Shigematsu, Y. Fukunishi, and T. Kodama, *J. Phys. Chem. B* **101**, 3839 (1997).
- 12) 鈴木 誠, 水溶液中の蛋白質における疎水性水和, *生物物理* **38**, 9 (1998).
- 13) K. Giese, U. Kaatz, and R. Pottel, *J. Phys. Chem.* **74**, 3718 (1970).
- 14) H. E. Huxley and J. Hanson, *Nature* **173**, 973 (1954).
- 15) A. F. Huxley and R. M. Simmons, *Nature* **233**, 533 (1971).
- 16) W. Kabsch, H. C. Mannherz, D. Suck, E. Pai, and K. C. Holmes, *Nature* **347**, 37 (1990).
- 17) I. Rayment, W. R. Rypniewski, K. Schmidt-Base, R. Smith, D. R. Tomchik, M. M. Benning, D. A. Winkelmann, G. Wesenberg, and H. M. Holden, *Science* **261**, 50 (1993).
- 18) C. T. Murphy and J. A. Spudich, *J. Muscle Res Cell Motil.* **21**, 139 (2000).
- 19) 柳田敏雄, 石渡信一編, ナノ・ビコスペースのイメージング, 吉岡書店 (1997).

- 20) T. Kodama, *Physiological Review*, **65**, 467 (1985).
- 21) D. Gopal and M. Burke, *Biochemistry* **35**, 506 (1996).
- 22) T. Katoh and F. Morita, *J. Biochemistry* **120**, 189 (1996).
- 23) I. V. Ouporov, H. R. Knull, A. Huber, and K. A. Thomasson, *Biophys. J.* **80**, 2527 (2001).
- 24) R. Mendelson and E. P. Morris, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **94**, 8533 (1997).
- 25) M. Suzuki, S. R. Kabir, M. S. P. Siddique, U. S. Nazia, T. Miyazaki, and T. Kodama, *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **322**, 340 (2004).

### 要 旨

高分解マイクロ波誘電スペクトルを応用した水中の溶質の水和状態を解析する方法を開発した。 $\phi$ スキャン法は溶質周りの水の誘電特性の空間分布に関する情報を提供する。溶質として、アルカリハライド塩、荷電高分子、タンパク質分子等の水和状態を明らかにすることができる。水の構造を破壊する塩として知られるヨウ化アルカリ等はバルクの水より高い誘電緩和周波数の水(ハイパーモバイル水)を周りにもっている。荷電密度の高い高分子やアクチンフィラメントもハイパーモバイル水をもっている。この水は、アクトミオシンの運動機構に関わるなど、生理的な意味でも重要な役割を担っているかもしれない。



鈴木 誠 Makoto Suzuki  
 東北大学大学院工学研究科材料システム工学専攻教授, Graduate School of Engineering, Tohoku Univ., TEL. 022-795-7303, FAX. 022-795-7303, e-mail: msuzuki@material.tohoku.ac.jp  
 研究テーマ: 水と筋肉収縮機構の関わり  
 趣味: 日本古代の文化探訪



宮崎 崇 Takashi Miyazaki  
 東北大学大学院工学研究科材料システム工学専攻助手, Graduate School of Engineering, Tohoku Univ., TEL. 022-795-7313, FAX. 022-795-7313, e-mail: miya@material.tohoku.ac.jp  
 研究テーマ: 高分子の水和解析  
 趣味: 史跡探訪