

## 4B05 [イソプロパノール/水] と [1, 1, 1, 3, 3, 3-ヘキサフルオロ イソプロパノール/水] 系の水の水素結合

(福井大院工) ○水野 和子, 牧野 嘉一郎, 山中 絢太

【はじめに】 1,1,1,3,3,3-ヘキサフルオロプロパノール(HFIP) は, 1mol/l, 5%(v/v) の濃度の水溶液において, たんぱく質の  $\alpha$ -ヘリックス含有量を急激に増大させることが知られている.<sup>1~3</sup> 対応するアルキルアルコールであるイソプロパノール (IP) では, 3mol/l, 20%(v/v) 水溶液で同様に急激な増大が始まるのに比べると, HFIP がヘリックス含有量増加に及ぼす効果は非常に大きい. このために, この大きな効果の原因について, 多くの実験と理論的な研究がなされてきた. さまざまな実験から, HFIP がクラスターを形成することがヘリックスの形成と関係があるという説明,<sup>4</sup> さらには, HFIP と水分子との混合のミクロな不均一性との関係が提出されてきた<sup>5</sup> が, これらは IP とのヘリックスの形成能の違いを明確に説明するものではない.

ハロゲンで置換したエタノールやプロパノールが, 対応するアルキルアルコールに比較して効果的なヘリックス形成剤として作用することが古くから知られてきた. ハロゲンアルコールのヘリックス形成能の原因をしらべるための実験の基本にあるのは, アルコールとたんぱく質の疎水性相互作用で, バルクに比べて選択的な吸着が生じる実験も報告されてきた. 私たちもこの原因を明らかにするためにたんぱく質のモデル化合物としてジペプチドを用いてアルコール水溶液中のジペプチドの会合について調べてきた. その結果, ペプチド濃度を一定にしてアルコールの種類と濃度を変化させると, これに応じて水の性質が変化することを見出した. 特にハロゲン化アルコールの水溶液では, 1) 水の水素結合ドナーとしての性質がアルキルアルコールに比べて低くなること, 2) エタノールを増加させると水の変角バンドが高波数側にシフトするのに対して, X-CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH(X=Cl, Br, I)では, 逆に低波数側にシフトすることを見出した.<sup>6</sup> これらは, アルコールを加えて観測されるヘリックス形成が, アルコールと水の相互作用によって生じる水の性質の変化とも関係する可能性を示唆している. 本研究では [HFIP/水] と [IP/水] の濃度を変化させて, FTIR 法によって, 水の O-H 伸縮振動バンドと H-O-H 変角振動バンドを測定した.

【実験】 アルコール水溶液の濃度を変化させて, 水の  $\nu(\text{O-H})$  伸縮振動バンドと  $\nu(\text{H-O-H})$  変角振動バンドの IR スペクトルを測定した. 二次微分曲線の変化から, 水の性質の変化を調べた. 水のこれらのバンドは吸収が強すぎるために定量的な測定ができないので,  $\nu(\text{O-H})$  については, 3vol%の D<sub>2</sub>O を加えて生成される HOD を水のプローブ分子として,  $\nu(\text{O-D})$  を測定した. reference 用セルに試料溶液と同濃度で HOD をふくまないアルコール水溶液を用いることで  $\nu(\text{O-D})$  バンドのスペクトルを単離した.  $\nu(\text{H-O-H})$  変角振動バンドの測定のためには, 65vol% の重水を加えて生成される [H<sub>2</sub>O, HOD, D<sub>2</sub>O] の変角振動バンドのうちで, 溶質の吸収と重ならない  $\nu(\text{H-O-H})$  バンドを測定した. このように重水を混合することによって, 水のみで観測される振動のカップリングによるスペクトルの複雑化を避けることもできる.

IR スペクトルの測定: 2500cm<sup>-1</sup> 付近にピークを持つ  $\nu(\text{O-D})$  バンドは空気中の二酸化炭素の強い吸収バンドと重なる. 一方,  $\nu(\text{H-O-H})$  バンドは試料室内の水蒸気の回転をふくむ変角振動バンドと重なる. シングルビーム方式の測定では, 二酸化炭素と水蒸気の吸収を除くことがむづかしい. そこで, 1) 試料室に乾燥空気をおくる, 2) JASCO FT-IR 620 にサンプルシャトルを搭載して, シングルビームを擬似的なダブルビームスペクトロメーターとして測定する, ことでそれぞれ二酸化炭素, 水蒸気のバンドを含まないスペクトルを得た. 1組の, ウォータージャケット付き CaF<sub>2</sub> 窓板液体セル(光路長 0.03mm)を用いて, 25 °Cで測定した.

【結果と考察】 Fig.1 に[HFIP/水]系についての $\nu(\text{O-D})$ を, Fig.2 に  $\nu(\text{H-O-H})$ のバンドの二次微分曲線を示してある. HFIP の濃度を増加させるにつれて,  $\nu(\text{O-D})$ バンドは高波数側に新たに

ピークが現れてくる。これより、水のO-H基の水素結合ドナー性が減少することを示している。Fig.2 に示している $\nu(\text{H-O-H})$ バンドの二次微分曲線は HFIP の濃度が高くなるのにつれて低波数側にシフトする。これは、水分子の並進・回転の運動性が増加することを示す。

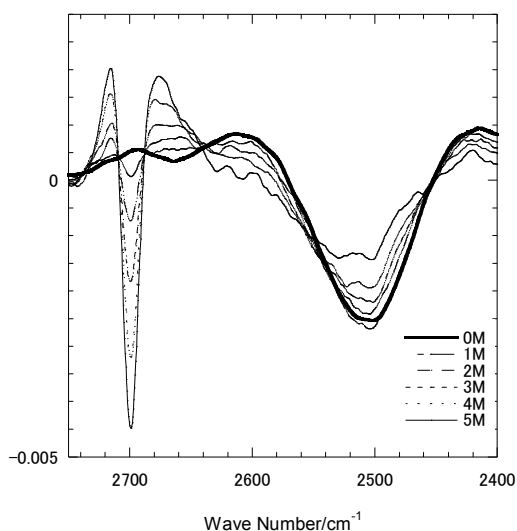


Fig.1 Quadratic derivative curves of the  $\nu(\text{O-D})$  bands of HOD.

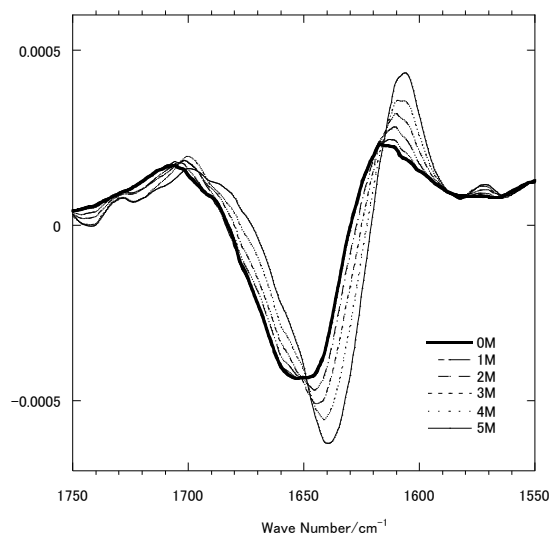


Fig.2 Quadratic derivative curves of the  $\nu(\text{H-O-H})$  bands.

Fig.1 と Fig.2 から、[HFIP/水] 混合物中の水分子間水素結合が HFIP の濃度増加につれて弱くなり、水の溶媒としての極性がしだいに減少していくことがわかった。このような変化は、ヘリックス形成が急激に始まる 1mol/l の濃度からすでに生じている。この時の HFIP の溶液全体に占める体積は 5%(V/V) で、水が占める体積の方がはるかに大きい。したがって、水のこのような脱分極化は、疎水性溶媒としての HFIP の増加とあわせて、溶媒全体の極性を急速に低くさせると予想できる。タンパク質がアルコール中でヘリックス構造を取りやすい理由は、主として溶媒としての疎水性に起因していることが示されてきた。実際ヘリックスの形成は分子内水素結合の形成であり、溶媒の極性が低くなるほど起きやすいと考えることができる。HFIP がバルクに比べてタンパク質周りにより高い濃度で存在する選択的吸着が生じることが報告されていることから、上でのべたことが、バルクに比べてタンパク質の周囲でより起きやすいことも予想できる。

ここでは示していないが、IP 濃度の増加は、HFIP の増加とはかなり異なった効果をもたらすことがわかった。すなわち、水のO-H基の水素結合ドナー性が HFIP にくらべてわずかに減少するだけではなく、 $\nu(\text{H-O-H})$ バンドは HFIP の場合とは逆に、濃度が高くなるのにつれて高波数側にシフトする。これら  $\nu(\text{O-D})$  と  $\nu(\text{H-O-H})$  の変化を水だけの構造の変化として説明することはできないので、水分子と IP との何らかの相互作用を考慮する必要がある。このことは別にしても、[IP/水] 混合物中の水は、同じ濃度の[HFIP/水] 混合物中の水と比較して、その占める体積がより大でしかも極性が高い。したがって、[HFIP/水] 混合物とくらべて、[IP/水] 混合物の溶媒としての極性はより高いことが、より低いヘリックス形成能の原因であると考えられる。

## References

1. Hirota, N.; Mizuno, K.; Goto, Y. *Protein Sci.* **1997**, *6*, 416-421.
2. Hirota, N.; Mizuno, K.; Goto, Y. *J. Mol. Biol.* **1998**, *275*, 365-378.
3. Hirota-Nakaoka, N.; Goto, Y. *Bioorg. Med. Chem.* **1999**, *7*, 67-73.
4. Dong-Pyo Hong, et. al. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 8427-8433
5. T. Takamuku, et. al. *J. Phys. Chem. A* **2005**, *109*, 7667-7676