

解 説

溶媒分子の並進運動由来の巨大分子間引力相互作用と熱測定

秋山 良, 狩野康人, 木下正弘

(受取日: 2006年4月17日, 受理日: 2006年5月15日)

Calorimetry and Macromolecular Interaction Arising from Translational Motion of Solvent Molecules

Ryo Akiyama, Yasuhito Karino, and Masahiro Kinoshita

(Received April 17, 2006; Accepted May 15, 2006)

We give comments on the interaction between macromolecules such as proteins immersed in aqueous solution. The translational motion of solvent molecules makes a large contribution to the dimerization free energy of macromolecules. The conventional theory of osmotic pressure for discussing the cosolute effect is applicable only to limited phenomena. We suggest phenomenological equations which incorporate the contribution from the translational motion of solvent molecules. At the same time, the problems of those equations are pointed out on the basis of the results from an elaborate statistical-mechanical theory. A calorimetric approach for molecular recognition and structure formation of nano-materials is also discussed.

1. はじめに

蛋白質等の巨大分子と溶媒分子が混在する系における巨大分子間相互作用が本解説のターゲットである。ただし、ここでいう相互作用は、例えば巨大分子間の直接の相互作用ではなく、平均力ポテンシャルである。すなわち系の自由エネルギーの巨大分子間距離依存性の事である。現実には働く力はこの平均力ポテンシャルを距離で微分し、負号をつけたものである。¹⁾

例として、細胞質を考える。その中では、蛋白質、脂質分子、アミノ酸、ペプチド等が混み合って存在している。²⁾ その中で、蛋白質と蛋白質の間の相互作用は、他の分子の濃度と独立ではない。相互作用の濃度変化を理解する事は、細胞の状態制御上重要である。³⁾ もし、ゾルであるべき細胞質が巨大分子間相互作用の変化によってゲルになれば、生命の危機に係る。ありがたい機能を持っているはずの蛋白質や薬物が一転して毒物となり得る。

こうした問題は実用上も重要である。例えばチーズ製造時のゲルの形成（カード形成）がある。まず牛乳に添加された凝乳酵素の働きで牛乳内の巨大粒子であるカゼインミセルから親水性のκ-カゼインが外れる。その結果、疎水性のバラカゼインミセルが分散した溶液となる。巨大分子間相互作用の急変によりミセル同士が繋がり合って非酵素的凝固反応が進みゲルが形成される。^{4,5)}

実験的には水（溶媒）と蛋白質等の巨大分子に対して、第3成分の添加実験が行われている。例えば、デキストランなどの糖の分子を添加する事で、Human Apolipoprotein C-IIの会合が促進され、アミロイドを形成し易くなる。⁶⁾ また、リゾチームの変性温度は、デキストランの添加で上昇する。⁷⁾ すなわち蛋白質間の引力相互作用や天然構造の安定性は、デキストランの添加によって強化される事が知られている。後者では単量体間の引力相互作用が強められている。

従来、こうした実験の解釈において、溶媒分子等の様な

相対的に小さな粒子は、しばしば連続体と見なされて来た。つまり、各小分子の持つ斥力コア（他の分子を排除する体積）が無視されて来たのである。そうしたモデルに対する最もシンプルな理論として朝倉・大沢理論⁸⁾があり、特に希薄電解質中における荷電コロイド粒子間の相互作用の説明で成功している。^{9,10)} このモデル化は、細胞質で蛋白質の会合・分散の安定性を考える混み合い問題にも応用されてきた。^{3,6,11,12)} 現在では、ソフトマターフィジクスの分野でしばしば用いられる重要な見方となっている。¹³⁾

だが、粒子間の平均力ポテンシャル $W_{ij}(r)$ と動径分布関数 $g_{ij}(r)$ の間には、

$$W_{ij}(r) = -k_B T \ln g_{ij}(r) \quad (1)$$

の関係があり、一対一に対応している。¹⁾ 一方で、液体程度の体積充填率をもつ流体の動径分布関数の形状の決定においては、構成分子の斥力部分の存在が重要である。この事は液体論の分野では非常に良く知られている。^{14,15)} 従って、 $W_{ij}(r)$ の評価を行う時に、溶媒分子が相対的に小さいという理由で連続体に見なすのは、いささか乱暴に思える。

この解説では、液体論の側からみた巨大分子間相互作用について考え、多くの溶液内分子間相互作用において溶媒分子の並進運動由来の相互作用が重要な役割を果たす事について述べる。さらに、今後どのような熱力学量の測定、解析が重要であるかを簡単に議論する。ただし、液体の積分方程式理論¹⁵⁾の詳細には踏み込まない。大学初年度の熱力学で登場する仕事の概念が掴めてさえいれば核心部が理解でき、実験を整理する上で便利な簡便な理論式の取り扱いを可能にする解説を試みる。

2. 溶媒の並進運動がなぜ巨大分子間の引力を引き起こすのか？

この節の流れをまとめておく。枯渇相互作用に関する朝倉・大沢理論⁸⁾の解説から取りかかる。ただし統計力学的な導出は原著論文に譲って、熱力学の仕事の概念を用いて説明する。次に、浸透圧に対する枯渇相互作用の考え方を圧力の問題として捉え直す。これでこの解説の核心部分は掴める。最後に液体の積分方程式理論を用いた計算結果を用いて議論の不十分な点を補強する。

2.1 仕事の概念と簡単な模型を用いた朝倉・大沢理論の解説

枯渇相互作用に関する朝倉・大沢理論を、一定浸透圧過程で考える。ここで考える仕事とは、ある一定浸透圧条件下において、二つの巨大分子を準静的に引き離す仕事である。巨大分子間の平均力ポテンシャルは、ここでは仕事の巨大分子間距離依存性に相当する。ただし、巨大分子が十

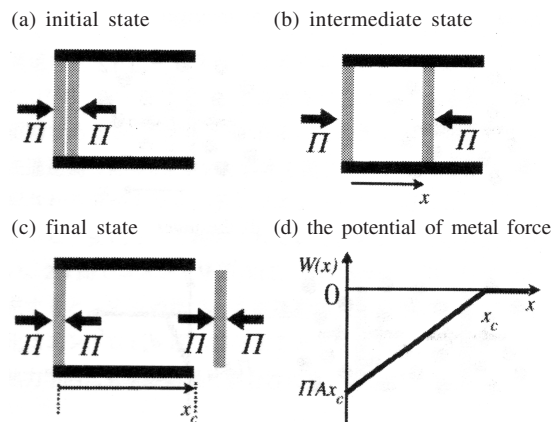


Fig.1 The reversible process (a) to (c). (a),(b),(c): A cylinder and a wall immersed in a dilute solution. The gray boards whose area is A are permeable walls. The osmotic pressure is Π . (d): The potential of mean force $W(x)$ between the cylinder and the wall.

分離した所で、平均力ポテンシャルの値がゼロになる様に自由エネルギーの基準を定める。

まず、ピストンとシリンダーを巨大分子に見立てて説明する。**Fig.1**に示す様に、左側の閉じた半透壁で出来たシリンダーとその形状がぴったり合った半透壁の板（面積は A とする。）を考える。これらの板の厚さは無視する。シリンダーの底板とピストン板の間隔を x とする。この板をシリンダーの底にぴったり付けた**Fig.1(a)**の様な位置（ $x=0$ ）で、半透壁を通過可能な溶媒と通過できない溶質分子（cosolute 分子）からなる希薄溶液につける。これを初期状態とする。浸透圧は Π であるとする。この状況で、右の板を x だけ右側に引き離す（**Fig.1(b)**）為には、板にかかる力 ΠA と移動距離 x の積である $\Pi A x$ の仕事をする必要が有る。板がシリンダーから外れる x_c の地点までは、板の平均力ポテンシャル $W(x)$ は、初期状態の平均力ポテンシャルの値を W_i として、 $W_i + \Pi A x$ と書ける。板が x_c より右側に行くと板に働く力は等方的になり実効的な力は無くなる（**Fig.1(c)**）。従って、板の移動に伴う仕事が必要なのは x_c までであり、その先での $W(x)$ は、 $W_i + \Pi A x_c$ のままである。板が十分離れた所で、ポテンシャルの値をゼロとする（ $W_i + \Pi A x_c = 0$ ）ので、 $W(x)$ は、 $W(x) = \Pi A x - \Pi A x_c$ になる。この式を**Fig.1(d)**にプロットした。

次に、シリンダーの左側の底とピストン以外は消して2枚の半透壁が希薄溶液に浸されている状況を考える。この2枚が十分離れた距離に有る場合（**Fig.2(c)**）、板は周囲にある溶質からの衝突を常に受けているが、等方的に力を受けている為、それぞれの板にかかる力の総和は0である。

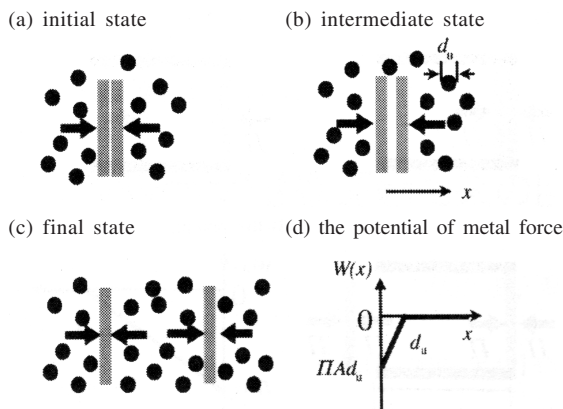


Fig.2 The reversible process (a) to (c). (a),(b),(c): Two walls immersed in a dilute solution. The gray boards whose area is A are permeable walls and the osmotic pressure is Π . The dark-gray spheres are cosolute molecules (diameter d_u). (d): The potential of mean force $W(x)$ between the walls.

従って、板の間隔を変化させても仕事量は0である。

しかし、2枚の板が近接している場合は状況が異なる。2枚の半透壁がぴったり合わせられている配置 (Fig.2(a)) から、 x がcosolute分子の直径 d_u より小さい距離の範囲で板の間に隙間を作る。cosolute分子が板間に侵入しない限りは、右の板は右側からのみ力 ΠA を受けることになる。(註1) (Fig.2(b)) つまり、 $0 < x < d_u$ である限りは、Fig.1(a),(b)の状況と変わり無い。シリンダーの長さが d_u とも見なせる。よって、 $W(x) = \Pi A x - \Pi A d_u$ となる。

以上の操作は、cosolute分子にとってその中心を配置出来ない“真空”地帯、すなわち排除体積 V_{ex} を巨大分子の位置変化により増加させるには、その V_{ex} の変化量 ΔV_{ex} に比例した仕事を行う必要があると見直せる。例えば、 V_{ex} は、Fig.2(a)では $A d_u$ 、Fig.2(c)では $2 A d_u$ であり、 ΔV_{ex} は $A d_u$ である。(註1) 従って、Fig.2(a)から(c)まで移動する時に板が希薄溶液に対して行う仕事 ΔW は、 $\Delta W = \Pi A d_u = \Pi \Delta V_{ex}$ となっている。

ここでは、希薄溶液を扱っているのでファント・ホッフの法則 $\Pi V = N k_B T$ が成り立つとしても良いだろう。ここで、 V は系の体積、 N はcosoluteの粒子数、 k_B はボルツマン定数、 T は温度である。この式をcosoluteの数密度 ρ_u で書き換えると $\Pi = N k_B T / V = \rho_u k_B T$ となるので、 $\Delta W(x)$ は、

$$\Delta W(x) = \rho_u k_B T \Delta V_{ex} \quad (2)$$

となる。これは朝倉・大沢理論の式に等しい。以上の議論から、板、及びcosolute分子が剛体でも、二枚の板の間に

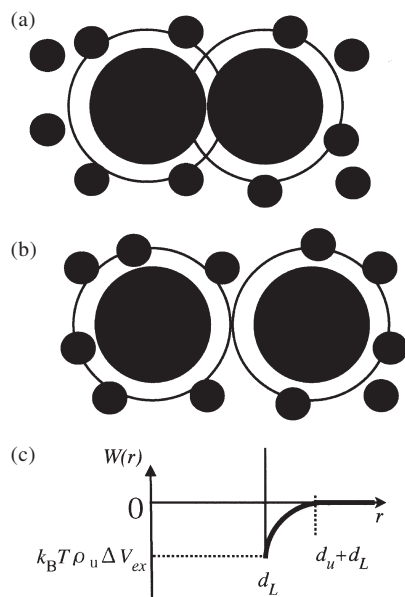


Fig.3 The reversible process (a) to (b). (a),(b): Two large permeable spheres (diameter d_L) immersed in a dilute solution and the osmotic pressure is Π . $\Pi = \rho_u k_B T$. The small black spheres are cosolute molecule (diameter d_u). The deep gray area is the intrinsic volume of a large sphere, and the excluded volume of V_{ex} is inside of the thick black circle. (c): The potential of mean force $W(r)$ between the large spheres.

はcosolute分子の並進運動由来の引力が働くことになる。また、定積過程であれば、自由エネルギーの変化の原因は、板の位置の変化に伴う溶質分子の配置可能な体積の変化によって、溶質分子の配置の数が増加した事による。すなわち溶質分子が近づくに並進エントロピーは増加する。熱力学第2法則を踏まえて、これが引力の由来であると見なせる。

ここで、式(2)は、 ΔV_{ex} の大きさに比例している事に注目する。希薄溶液である事からcosolute分子の分布が V_{ex} 以外で一样と近似されるならば、 ΔV_{ex} の形状に、仕事の量は依存しない。この事は、朝倉・大沢の原著論文⁸⁾の様に分配関数から導出するとより分かり易いであろう。従ってFig.3の様に、板を球状の巨大分子に置き換えても引力が働く。それぞれの実線の内側が溶質にとって排除体積空間 V_{ex} になっている。Fig.3(b)の様に直径 d_L の巨大分子が離れていれば、二つの球状の V_{ex} が存在することになる。しかし、Fig.3(a)の様に巨大球が接していれば、ダンベル型になり V_{ex} は減少する。すなわち、二つの接する巨大球を引きはがすと V_{ex} は増加するので、その変化には仕事を必要とする。この V_{ex} の変化量は回転体の積分を行えば簡単に求める事

が出来る。二枚の板の議論から分かる様に巨大分子間距離 r が $d_u + d_L$ より大きくなると実効引力は消える。従ってこの場合の平均力ポテンシャル $W(r)$ は、以下の式で書ける。(Fig.3(c)参照)

$$\begin{aligned}
 W(r) = & -\frac{\pi}{12} k_B T \rho_u \{ r^3 - 3(d_L + d_u)^2 r + 2(d_L + d_u)^3 \} \\
 & (d_L < r \leq d_L + d_u) \\
 = & 0 \quad (d_L + d_u < r) \quad (3)
 \end{aligned}$$

2.2 浸透圧から圧力へ

ここまでは浸透圧の話をしてきたが、板は溶媒分子を全く通さないものとして、溶媒分子のみからなる気体中で考える。そうすると、これまでの浸透圧に対する議論を、圧力に読み替えて同じ議論が出来る。その時、 ρ_u は気体分子の数密度 ρ 、ファン・ホッフの法則は理想気体の状態方程式 $PV = Nk_B T$ に読み替える。その結果、巨大分子が気体分子に対して行う仕事として

$$\Delta W = \rho k_B T \Delta V_{ex} \quad (4)$$

なる式が得られる。従って数密度 ρ に ΔW は比例する。引力の由来は気体分子の板への衝突に有るので当然である。

今度は数密度を液体の密度まで上げてみる。例えば、水と1気圧の水蒸気では数密度は、 10^6 倍ほども違う。もし、密度の不均一性を無視して水の密度まで理想気体の状態方程式が使えるとする。同じ二枚の板を引きはがす仕事を考えると、液相中では気相中の 10^6 倍もの仕事が必要となる。例えば、ベンゼンほどの面積の厚さの無い平板を考える。この二枚の“ベンゼン板”を引きはがすのに必要な仕事を標準的なパラメータを使って板の端の効果を無視して荒っぽく見積もってみると、水中では $2.7 k_B T$ 程度になる。これは、 $T = 300 \text{ K}$ で約 6.7 kJ mol^{-1} ($\sim 1.6 \text{ kcal mol}^{-1}$) である。従って、2枚の板はびったり引付くであろう。板の端の効果を考慮すれば、おそらくより強く引き合うと考えられる。

理想気体の状態方程式で密度を見積もる事は、板の作る排除体積空間以外では、溶媒分子に対する一様分布近似にあたる。しかし、一般に大きな平面近傍では液体分子の局所密度は上がる。なぜなら溶媒分子の一つを“巨大分子”と見なせば壁に張り付く事で排除体積空間を減らせる為、溶媒分子は表面に張り付こうとするからである。その意味では 10^6 倍でも過小評価しているのかもしれない。

分子間の平均力ポテンシャルを考える場合、溶媒分子に対する一様分布近似の理論は液相中であっても存外強力な近似理論である。リガンドと蛋白質をここでのピストンとシリンダーに置き換えて考える事で、蛋白質への小分子の吸着サイトやその吸着安定性が半定量的に予測できる事を

示しつつ有る。¹⁶⁾ 他方で、実験的には分子認識の熱測定が滴定カロリーメトリ等により多く発表される様になって来た。^{17,18)} その結果、分子認識過程がしばしばエントロピー駆動である事が示されつつ有る。この事実は、溶媒分子の並進運動の寄与が、PV仕事等を通じてエンタルピー項へ分配される量が少なく、多くがエントロピー項へ流れ、エントロピー変化として観測されていると考ええると整合性が良い。2.4節でコメントする様に、溶媒密度の不均一性まで考慮すると、定圧過程でも並進運動由来の自由エネルギー変化はエントロピー項へ寄与すると考えて良く、構造的にも熱力学的にも実験結果と整合性の良い議論ができる。

2.3 枯渇相互作用との関係

2.1節で説明した浸透圧由来の引力相互作用は枯渇相互作用とも呼ばれ、ソフトマターフィジクスの分野では良く議論に上がる。しかし、巨大分子が半透性では無い場合も多い。例えば球状蛋白質は通常そうであろう。浸透圧の描像が適切になる為には『溶媒分子の配置の数が巨大分子の距離にあまり依存しない』という条件が満たされる必要がある。例えば、低い電解質濃度中の巨大荷電コロイド粒子間の場合、電気二重層斥力の働く距離が十分長距離であれば、浸透圧の描像が適切であると考えられる。溶媒分子の配置の数が変化するほど巨大分子の距離が縮まらないからである。

一方で細胞質内の蛋白質等の様に、巨大分子が半透性でなく、電解質濃度が高く巨大分子間のクーロン斥力が十分遮蔽される場合には、2.2節で議論した描像に近くなる。そうすると、浸透圧で議論した場合と異なり排除体積相互作用は $k_B T$ を遥かに超える強い引力相互作用となる場合もある。この違いは、数密度の違いを具体的に考えれば分かり易い。例えば、1 lの水が約 55.6 mol 有る事を考えれば、cosoluteの密度が 0.5 mol l^{-1} としても数密度比が100倍ほども違う。

溶媒分子に対する ΔV_{ex} が溶質分子に対する ΔV_{ex} に比べて小さいため数密度比の違いをキャンセルすると考える読者も居るかもしれない。しかしそうはならない。体積充填率が一定ならば、粒子数密度は溶媒分子の直径の3乗に反比例する一方で、 ΔV_{ex} の大きさは溶媒分子の直径の3乗に比例する訳ではなく、それより小さくなるからである。この事を式で議論する。二つの巨大分子が接する場合の平均力ポテンシャルの値を二量体生成自由エネルギー ε と名付ける。 ε は式(3)で $r = d_L$ として、溶媒の体積充填率 $\phi_s = \pi d_s^3 \rho_s / 6$ を用いることで、

$$\varepsilon = -\frac{k_B T d_L}{2 d_s} \left(3 + 2 \frac{d_s}{d_L} \right) \phi_s \quad (5)$$

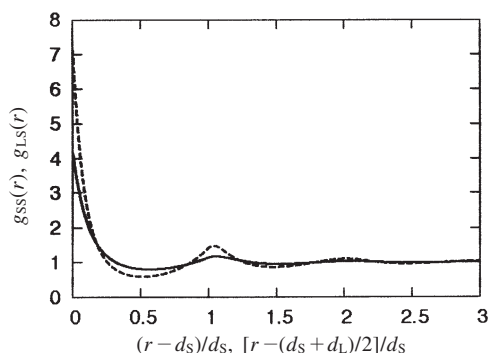


Fig.4 The radial distribution function $g_{ij}(r)$ for a hard-sphere fluid calculated by the OZ-HNC theory. The size ratio is $d_S:d_L=1:10$, and the packing fraction of small spheres ϕ_S is 0.38. The large sphere L is immersed in the fluid of small spheres at infinite dilution. Solid line: $g_{SS}(r)$. Long-dash line: $g_{LS}(r)$. d_i is the diameter of hard sphere and ϕ_i is the packing fraction. The subscripts S and L denote small and large spheres, respectively. Note: The variable r is shifted in each curve.

と書き直す事が出来る。巨大分子が大きくなっても液体中なのだから ϕ_S は一定と考えるべきであろう。 ϕ_S が一定ならば、巨大分子の直径 d_L を無限大にすれば、 ε の値も無限大に向う。一方で、溶媒分子を無限小にとっても同じく ε は無限大になる。極限の議論は極端だが、溶媒分子のサイズが巨大分子に比べて小さくなるに従い、分子間相互作用における重要性はむしろ大きくなるのである。(註2)

2.4 密度の不均一性の影響

ここまでは基本的には、巨大分子の排除体積空間以外では、溶媒分子の数密度に対して一様分布近似を適用して議論して来た。しかし、現実には巨大な壁が存在するとその周囲では密度の不均一性が生じる。直径 $1 d_S$ の剛体球で表される小粒子（溶媒分子）S が水と同程度の体積充填率で存在している流体を考えよう。その中に直径 $d_L = 10 d_S$ の大粒子Lを沈める。液体の積分方程式理論（1D-OZ-HNC 理論）^{15,19)}を用いて密度の不均一性まで考慮した計算を行った。S-S 及びL-S間の動径分布関数 $g_{SS}(r)$, $g_{LS}(r)$ をFig.4に示す。この図でも分かる通り、平均密度は1なので、巨大な分子の周囲ほど小粒子の局所密度は高くなる傾向が有る。(註3) 従って、二枚の大きな板の様な場合、一様分布近似より強い引力相互作用になり易い。²⁰⁾

Fig.4 からわかる様に $10 d_S$ の大粒子Lの近傍では、数密度は平均数密度の7.5 倍程度になる。しかし、Fig.5 に示す

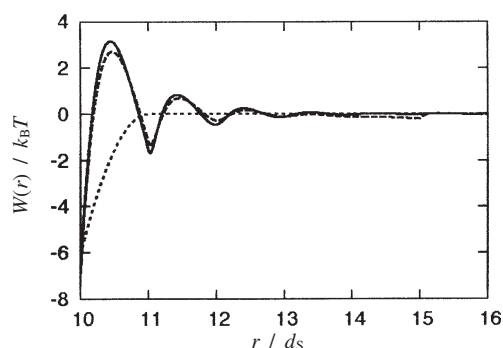


Fig.5 Potential of mean force between large spheres calculated by the OZ-HNC theory for the size ratio $d_S:d_M:d_L=1:5:10$. Solid line: $(\phi_M, \phi_S)=(0.00, 0.38)$. Long-dash line: $(\phi_M, \phi_S)=(0.04, 0.34)$. Short-dash line is the potential of mean force calculated by Eq.(4) for $(\phi_M, \phi_S)=(0.00, 0.38)$. The subscripts S, M, and L denote small, medium, and large spheres, respectively.

様に、二つの大粒子Lの間の $W(r)$ は、巨大分子同士が接して二量体を形成する距離で小粒子密度一様の仮定（式(4)）の場合と同程度になる。これは、二つの $10 d_S$ の剛体球と同時に接する位置の小粒子Sの密度は高くなり、大粒子Lに斥力的な寄与を与える事が原因である。その結果、式(4)との差が小さくなったと考えられる。実際、板状の分子の場合は密度の不均一性の効果が直接的に現れ、一様密度近似よりも二量体は大きく安定化される。

この節の議論から、二つの事が分かる。まず、一様分布近似で計算した場合には、二つの平板の様な例では数倍の差が出る場合も有るものの、密度の不均一性を考慮した場合とはほぼ同程度の（少なくとも同じオーダーの） ε を求める事ができる。その簡便さを考慮すれば、半定量的に式(4)は利用価値があると言えよう。2点目としては、Fig.5 から分かる様に、一様分布近似は平均力ポテンシャルの形状までは教えてくれない。密度の不均一性を考慮した場合には $W(r)$ には、小粒子のサイズに応じた振動構造が現れる。この事から、会合体形成の速度論的評価には、一様分布の仮定は全く使えないといえる。

前に触れた様に、体積充填率が液体程度の流体を考える場合、一様分布近似にはもう一つ深刻な問題点がある。剛体相互作用で考えている為、会合過程の前後でエネルギー変化は無い。そのため、定積過程の場合の自由エネルギー変化はすべてエントロピー項の寄与になる。一方で2節から分かる様に、定圧過程の場合の自由エネルギー変化はすべてPV仕事を通じてエンタルピー項の寄与になる。しかし、後者は一様分布近似を採用した事による artifact だと考えた

方が良い。密度の不均一性まで考慮した場合、巨大分子の会合過程で、平均密度より高い領域が排除体積空間の重なりとなる為に一様分布で考えるよりも多くの溶媒分子が大粒子近傍から解放され、全系の体積は ΔV_{ex} ほどの変化はしない。この問題は巨大分子の部分モル体積を積分方程式理論で解く事により確認されつつある。結論としては、剛体球系の場合には定積過程に近くなる。(註4)²¹⁾ 従って、実験結果を解釈する場合には、まずは、実験は定圧であっても液相は、ほぼ定積と考えて(5)式の自由エネルギー変化はエントロピー項の寄与であると解釈し直すとの良い。

既に液体に挿入してある大粒子の会合過程とは異なり、定圧下で大粒子を液相に挿入する操作の場合は、 PV 仕事を通じてエンタルピー項への寄与が大きくなる。²²⁾ 実際に巨大分子が挿入される実体積分は、周囲の局所密度増加では解消しきれないからである。^{21,23)} この二つの過程はしばしば同様なものと見なされるが注意が必要である。

3. 添加効果は従来の浸透圧の議論だけで良いのか?²⁴⁾

『はじめに』で述べた様に細胞質は、水分子や電解質だけでなく、蛋白質やそのフラグメントであるペプチドなど多くの混み合い分子を含む。筆者らの興味はこうした環境下での生体分子の安定性にある。この混み合い問題を、溶媒分子(小粒子)、小型の巨大分子あるいは混み合い分子(中粒子)の二成分流体中に浸された大型の巨大分子(大粒子)の間の相互作用が二成分流体の成分比にどのように依存するかを計算し議論したい。どの粒子間相互作用も剛体で考える。特に2節で定義した大粒子二量体生成自由エネルギー $\varepsilon(\phi_M)$ の中粒子の体積充填率 ϕ_M に対する依存性に注目する。

3.1 浸透圧の理論として捉えた場合

この場合、小粒子の斥力コアは無視されることになる。巨大分子を引き離す仕事は中粒子のみで決まる。従って、(5)式の S を M に置き換えた

$$\varepsilon(\phi_M) = - \frac{k_B T d_L}{2 d_M} \left(3 + 2 \frac{d_M}{d_L} \right) \phi_M \quad (6)$$

を用いれば良い。**Fig.6**の細い破線に $\varepsilon(\phi_M)$ を示す。中粒子を $5 d_s$ 、大粒子を $10 d_s$ とした場合の結果である。中粒子の体積充填率(ϕ_M)依存性に対して単調減少となる。つまり、中粒子が加われば加わるほど、大粒子二量体は安定になる。すなわち、中粒子は大粒子二量体の安定化剤として振る舞う。小粒子を無視したこのモデルの下では、積分方程式理論(OZ-HNC理論)を用いても式(6)の結果にほとんど完全に重なる。中粒子濃度が希薄なため、中粒子分布が大粒子の排除体積空間以外ではほぼ一様になっているからである。

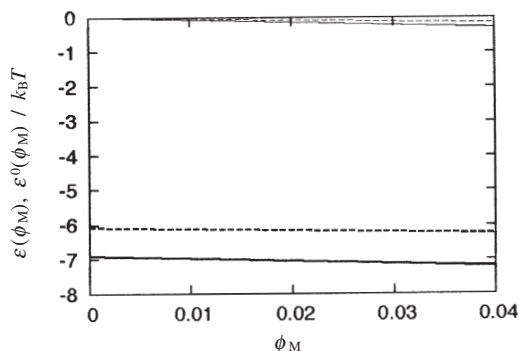


Fig.6 Dimerization free energy $\varepsilon(\phi_M)$ and relative value of dimerization free energy $\varepsilon^0(\phi_M)$ calculated for $\phi_s = 0.38$ and $d_s:d_M:d_L = 1:5:10$. Thick solid line: $\varepsilon(\phi_M)$ obtained using the OZ-HNC theory. Thick long-dash line: $\varepsilon(\phi_M)$ from Eq.(7). Thin solid line: $\varepsilon^0(\phi_M)$ using the OZ-HNC theory. Thin short-dash line: $\varepsilon^0(\phi_M)$ from Eq.(7) and $\varepsilon(\phi_M)$ from Eq.(6) for $\phi_s = 0$.

従来、混み合い問題はこのモデルと理論で考えられる事が多かった。無論、大粒子が半透性の場合や、希薄電解質溶液中の同符号荷電コロイドの様に浸透圧の描像が成り立つ場合には、この式で現象を捉える事は適切である。しかし、2節で述べた様に電解質濃度が高く、異符号の電荷を含めた親水部と疎水部の両方を含む蛋白質の様な巨大分子を扱う場合(例えば細胞質等)には、浸透圧の描像はしばしば適切ではない。そこで、モデルを切り替える必要性が出てくる。以下の節では、二つの状況において、小粒子をあらわに扱った結果について議論する。

3.2 中粒子が添加されても小粒子の密度が一定の場合

中粒子が加わっても小粒子の密度はそれほど変動しない状況を考える。いささか乱暴であるが、例えば、親水性の高い水酸基を多数持つ糖類が添加された状況は、糖溶液の密度は糖の添加に伴い非常に高くなるのでそうした系のモデルと見なせるであろう。

3.1節のモデルに直径 $1 d_s$ の小粒子を加える。 $1 d_s$ を $2.8 \text{ \AA}$ として数密度が 0.033 の場合には、体積充填率 ϕ_s は、 0.38 である。この場合、ほぼバルクの水をモデル化した事になる。これを、小粒子と中粒子の両方に一様分布近似の式の和をとった、

$$\varepsilon(\phi_M) = - \frac{k_B T d_L}{2 d_M} \left(3 + 2 \frac{d_M}{d_L} \right) \phi_M - \frac{k_B T d_L}{2 d_s} \left(3 + 2 \frac{d_s}{d_L} \right) \phi_s \quad (7)$$

を適用した場合の $\varepsilon(\phi_M)$ と、密度の不均一性まで考慮した1D-HNC-OZ理論で求めた $\varepsilon(\phi_M)$ を合わせてFig.6に示す。小粒子をあらわに扱う事で、大粒子二量体の安定性が桁違いに大きくなり、 $k_B T$ 以下から $k_B T$ の数倍まで変わる。すなわち会合の安定性は激変する。

ここに示した充填率の範囲内では、絶対値は違うものの、中粒子は大粒子二量体の安定化剤として振る舞うという点で、小粒子を無視した3.1節の結果と共通している。さらに、添加物効果を検討する場合には、添加物を加える前の純溶媒の場合の値を差し引いて評価する事が多い。そうした引き算は、例えば活量係数を評価する場合にも行われる。Fig.6には、そうした純溶媒中での値 $\varepsilon(0)$ の値を差し引いた $\varepsilon^0(\phi_M) = \varepsilon(\phi_M) - \varepsilon(0)$ の値もプロットした。式(7)を使っている場合これは式(6)のプロットに重なる。また、Fig.6から分かる様に密度の不均一性を考慮した1D-HNC-OZ理論の $\varepsilon^0(\phi_M)$ も3.1節の式(6)の $\varepsilon^0(\phi_M)$ プロットに非常に近い。そのため、 $\varepsilon^0(\phi_M)$ だけに注目して議論したとき、小粒子を無視した浸透圧描像が正しいと誤解する可能性がある。例えば ε の絶対値は全く異なっており、分子認識の問題や蛋白質のフォールディングなどの問題の定性的理解を誤り易い原因になる。

常温常圧の水程度の体積充填率の場合は、式(7)は有効であるが、高压で実現する様な高密度系では、この式の添加物効果の描像が正しい保証は無い。全体積充填率が極端に高い流体にさらに中粒子を添加してゆく事は、これまでに議論した1成分系の圧力効果の場合と同様に、積分方程式理論等に基づいた検討が必要であろう。²⁵⁾

3.3 全体積充填率が一定の場合

バルクである二成分流体の全体積充填率が一定の場合、小粒子の体積充填率は、中粒子の増加に伴い減少する。こうなると、 $\varepsilon(\phi_M)$ は、3.1, 3.2節の状況の場合とは定性的に異なる挙動をとる。これまでと同じく一様分布の仮定で考えるならば、3.2節で用いた式(7)を用いれば良い。しかし、 ϕ_M の変化に伴う定性的挙動を見る為に

$$\varepsilon(\phi_M) = -\frac{3k_B T d_L}{2d_M} \left\{ \left(\frac{2d_M}{3d_L} + q \right) \phi_i + (1-q)\phi_M \right\} \quad (8)$$

と書き換えておこう。ここで $q = d_M/d_S$ 、 $\phi_i = \phi_M + \phi_S$ である。 q が1以上なので、必ず右肩上がりの直線になる。すなわち、これまでとは逆に中粒子の添加は大粒子二量体を不安定化させる。これは、Fig.7の様にプロットされる。粒径比は3.2節と同様なものを用いたが、いくつかの全体積充填率についてプロットするため、1D-HNC-OZ理論の結果は別のFig.8にプロットした。 ϕ_M が小さい場合を除くと、定性的には一致し、絶対値の比も1.2倍程度で非常に近い。

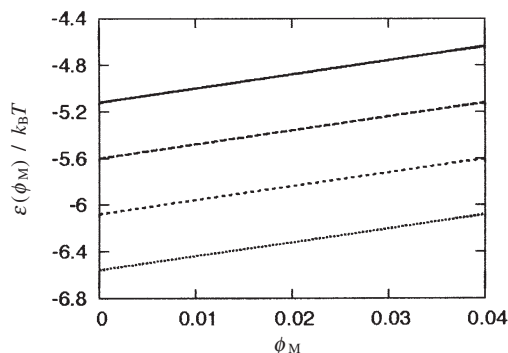


Fig.7 Dimerization free energy $\varepsilon(\phi_M)$ calculated by Eq.(8) for $d_S:d_M:d_L = 1:5:10$. Solid line: $\phi_S = 0.32$. Long-dash line: $\phi_S = 0.35$. Short-dash line: $\phi_S = 0.38$. Dotted line: $\phi_S = 0.41$.

右上がりになる機構は、粒子交換効果として説明できる。中粒子の半径が小粒子の5倍もあるという事は、 ϕ_i を一定に保つならば中粒子が1個添加されるたびに小粒子が125個取り除かれることになる。大粒子間の引力相互作用がほぼ粒子数密度に依存している事を考えれば、この粒子交換効果が中粒子間引力を弱めると理解できる。この右肩上がりの線の傾きは式(7)と1D-HNC-OZ理論の結果で概ね等しい。この事からも密度の不均一性があっても、粒子交換効果が働いていると考えて良いであろう。

ϕ_M が小さい場合には、式(7)と1D-HNC-OZ理論の結果が定性的に違っている。多体効果に基づく橋架け効果と呼ぶ効果により、大粒子間に丁度一つ中粒子を挟んだ構造で中粒子間に引力が誘起される事が原因である。詳細は文献²⁴⁾に譲るが、その引力の効果はFig.5の $r = 15 d_S$ 近辺に見る事が出来る。さらに3次元積分方程式理論を用いた液体構造に基づく理解が進み、論文を準備中である。²⁶⁾

3.4 圧力が一定の場合

圧力が一定の場合、通常3.2, 3.3で扱った二つの場合の中間になるであろう。例えば、大きさの異なる粒子が少数混入する事で、通常、体積充填率は増加するので、完全に全体積充填率一定という事は通常は無い。各成分の数密度を確定するには、現状では実験が必要であろう。詳細は文献²⁴⁾に譲るが、剛体球模型の場合に圧力一定の計算を行った場合は、全体積充填率一定の $\varepsilon(\phi_M)$ に比較的近い挙動を示す。しかし、体積充填率が上昇するので、 $\varepsilon(\phi_M)$ の極小の出現する ϕ_M は、大きくなる。(Fig.8参照。ただし、ほとんどの曲線で極小の左側のみのプロットになっている。)

実在系では、蛋白質 β_2 -microglobulinの会合によって形成されたアミロイド線維水溶液に対するHFIP等のフルオ

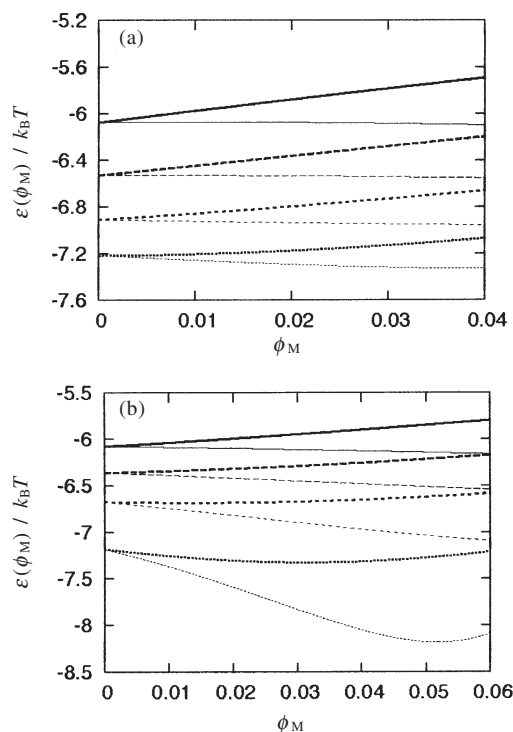


Fig.8 Dimerization free energy $\varepsilon(\phi_M)$. The value of ϕ_i is kept constant in each thick curve and the pressure is kept constant in each thin curve. (a) $d_S:d_M:d_L = 1:5:10$. Solid line: $\phi_i = 0.32$. Long-dash line: $\phi_i = 0.35$. Short-dash line: $\phi_i = 0.38$. Dotted line: $\phi_i = 0.41$. (b) $d_S:d_M:d_L = 1:4:8$. Solid line: $\phi_i = 0.41$. Long-dash line: $\phi_i = 0.44$. Short-dash line: $\phi_i = 0.47$. Dotted line: $\phi_i = 0.50$.

ロアルコール類の添加効果²⁷⁾は、ここでの議論と対応が良い。このアミロイド繊維形成は、滴定カロリーメトリーによりエントロピー駆動であると考えられているが、²⁸⁾ フルオロアルコールを少量添加する事で、より会合を強める。しかし、多量に添加した場合、濃度が増えるに従い溶解する。この会合挙動は全体積充填率一定、または全体積充填率が大きく上昇しない場合の $\varepsilon(\phi_M)$ と比較的整合性が良い。

巨大分子の会合問題の多くは、常温常圧の定圧条件下で行われる事を考えると、それらの会合のメカニズムを評価する上で、積分方程式理論や上で議論した式(7)が使えたと考えられる。しかし、溶液を構成するそれぞれの成分の数密度を実験的に知っておく事が重要であろう。例えば、会合の熱測定の濃度変化の実験を行うと共に、部分モル体積等の測定を行い、数密度変化を決める必要がある。もちろん現実系の安定性は、多くの相互作用のバランスの上にある。従って、すべての系の挙動がエントロピー項のみで

決まる訳ではない。(註5)しかし、そうであるからこそ、ここで扱った考え方に従ってエントロピー項に関する定性的な理解をしておく事は、会合による自由エネルギー変化を突き詰める第一段階として重要であると考えられる。

4. まとめ

多成分溶液中の巨大分子間相互作用に関して、特に多成分溶液を構成する分子の並進運動に着目して、仕事の概念を中心に熱力学的に説明した。ここで示した単純な理論の主な近似は、巨大分子の作り出す排除体積空間以外では密度分布が一様、というものである。その結果と密度の不均一性を考慮した積分方程式理論の結果は、極端に粒径比が大きい場合や高密度の場合を除くと定性的に一致する。ただし、実験を再現する為には、流体の各成分の分子数密度変化を適切に捉えている必要がある事がわかった。

従って、半透性でない巨大分子の溶液内での会合問題を扱う場合には、二つの点に留意すべきであろう。第一に、溶媒分子の並進運動の寄与が極めて大きくなる可能性が高い。第二に、混み合い分子やcosoluteなどが添加されている場合には、混合溶液内の各成分の数密度を見積もる必要があるという事である。そうしたデータは、会合に関する熱測定のデータの解釈上で重要な鍵になると考えられる。

こうした着眼点は巨大分子同士の会合問題にとどまらないと思われる。最近蛋白質の滴定カロリーメトリー等の結果が多く発表される様になって来た。その結果、分子認識はしばしばエントロピー駆動である事が示されつつある。^{17,18)} そのエントロピー変化は当初水分子の回転のエントロピー変化と解釈されたようだが、並進運動の方が非常に重要である事が示されつつある。²³⁾ それらの問題に、cosolute分子や混み合い分子の添加効果を組み合わせる事は、細胞質の理解や製薬の実際的な問題としても重要になろう。“分子論的な体積の化学”と熱測定の組み合わせが、今後の生物化学の発展の要の一つとなる事を期待している。

なお、筆者らの研究は住友財団基礎科学研究助成、NAREGI ナノサイエンス・プロジェクトおよび文部科学省科学研究費特定領域研究「水と生体分子が織り成す生命現象の化学」によりサポートされている。ここに謝辞を述べたい。

註1：板の縁の部分の効果は、ここでは無視する。本質に影響は無い。

註2：ここで扱っている巨大分子間相互作用の問題でも、『小さい溶媒分子近似』が連続体近似と等価に思われがちである。確かに、数密度一定で d_S が小さい極限を考えるとそうなる。しかし、体積充填率も小さくなってゆく為、数密度一定は適切な描像とは思われ

ない。

註3：平面が高い疎溶媒性の場合（溶媒分子間のみ引力相互作用を入れたような場合）、すべてを剛体でモデル化した場合ほど局所密度は上がらない。しかし、平面が高い親溶媒性の場合（さらに平面-溶媒分子間にも強い引力相互作用を入れた場合）には、すべてを剛体でモデル化した場合よりも局所密度はさらに上がる。平面が疎溶媒性部位と親溶媒性部位の両方からなるヘテロな場合（例えば蛋白質分子）には、すべてを剛体でモデル化した場合に近くなる。

註4：解析の結論は「巨大分子が疎溶媒性部位と親溶媒性部位の両方からなるヘテロな場合（蛋白質分子）には、会合過程はほぼ定圧・定容である」である。巨大分子が高い疎溶媒性の場合、会合過程でシステムの体積は ΔV_{ex} 以上の減少を被り、エントロピーはむしろ減少する（このエントロピー損失は、さらに大きなエンタルピー利得を加えると、自由エネルギーとしては利得になる）。巨大分子が高い親溶媒性の場合、会合過程でシステムの体積は逆に増加し、ものすごいエントロピー増加につながる（このエントロピー利得は、さらに大きなエンタルピー損失を加えると、自由エネルギーとしては損失となる。その為、会合は起こり難い）。註3で、「ヘテロな場合」と言っても、会合によって自由エネルギー利得につながる場合である。従って、多くの研究者が、しばしば蛋白質を疎水性部位ばかりでできた高分子として扱うが、それには問題がある。

註5：先の註4から分かる様に、溶液分子の並進運動により駆動されていても、エンタルピー項に寄与する吸着、認識現象も起こりうる。その場合には、巨大分子間エネルギー変化が駆動していると誤って解釈されかねない。例えば、溶媒が剛体球系の場合、エンタルピー項への寄与はPV仕事を通してのみである。（剛体球系では圧力が高いのでそれに対応して寄与も大きくなる。）それに対して、水溶媒では1気圧のもとではPV仕事自体は大きくはならないが、溶媒の非常に大きなエネルギー変化を通した寄与が考えられる。水の占める体積が全体として減少する場合には負の寄与、増加する場合には正の寄与が加わる。その為、蛋白質の折り畳み過程などで、 ΔH が負であっても、上記の体積減少が原因である可能性もある。こうした点に関する定性的理解を統計力学的に進める事は、分子認識や自発的構造形成の研究における熱測定的重要性を考えると、今後の重要課題であろう。

文 献

- 1) D. Chandler, *Introduction to Modern Statistical Mechanics*, Oxford University Press, New York (1987).
- 2) A. B. Fulton, *Cell* **30**, 345 (1982).
- 3) A. P. Minton, *Curr. Opin. Biotech.* **8**, 65 (1997).
- 4) 仁木良哉, 鴫田昌之, "新説チーズ科学", 中澤勇二, 細野明義編, 株式会社食品資材研究会, p.177 (1989).
- 5) D. G. Dalgleish, "Developments in Dairy Chemistry-1", ed. P. F. Fox, Applied Science Publishers, p.157 (1982).
- 6) D. M. Hatters, A. P. Minton, and G. J. Howlett, *J. Bio. Chem.* **277**, 7824 (2002).
- 7) K. Sasahara, P. McPhie, and A. P. Minton, *J. Mol. Biol.* **326**, 1227 (2003).
- 8) S. Asakura and F. Oosawa, *J. Chem. Phys.* **22**, 1255 (1954).
- 9) A. D. Dinsmore, A. G. Yodh, and D. J. Pine, *Nature* **383**, 239 (1996).
- 10) A. D. Dinsmore, D. T. Wong, P. Nelson, and A. G. Yodh, *Phys. Rev. Lett.* **80**, 409 (1998).
- 11) D. Hall and A. P. Minton, *Biochem. Biophys. Acta.* **1649**, 127 (2003).
- 12) A. R. Kinjo and S. Takada, *Phys. Rev. E* **66**, 031911, 051902 (2002).
- 13) V. J. Anderson and H. N. W. Lekkerkerker, *Nature* **416**, 811 (2002).
- 14) D. Chandler, J. D. Weeks, and H. C. Andersen, *Science* **220**, 787 (1983).
- 15) J.-P. Hansen and I. R. McDonald, *Theory of Simple Liquids*, Academic Press, London, 2nd. ed. (1986).
- 16) R. Akiyama, H. Obama, and A. Yoshifuku, in preparation.
- 17) H. Ohtaka, A. Schön, and E. Freire, *Biochemistry* **42**, 13659 (2003).
- 18) 津本浩平, 生化学 **78**, 93 (2006). エンタルピー駆動の場合も含めて、多くの例が紹介されている。
- 19) M. Kinoshita, *Chem. Phys. Lett.* **353**, 259 (2002).
- 20) M. Kinoshita, *J. Chem. Phys.* **116**, 3493 (2002).
- 21) M. Kinoshita *et al.*, in preparation.
- 22) N. M. Cann and G. N. Patey, *J. Chem. Phys.* **106**, 8165 (1997).
- 23) M. Kinoshita, N. Matubayasi, Y. Harano, and M. Nakahara, *J. Chem. Phys.* **124**, 024512 (1996).
- 24) R. Akiyama, Y. Karino, Y. Hagiwara, and M. Kinoshita, *J. Phys. Soc. Jpn.* **75**, 064804 (2006).
- 25) 高密度系での添加物効果の研究はこれからであるが、密度の不均一性が重要になる高密度流体内での生体分

子の挙動の議論には次の文献が参考になる. Y. Harano and M. Kinoshita, *J. Phys.: Condens. Matter* **18**, L107 (2006).

- 26) Y. Karino, R. Akiyama, and M. Kinoshita, in preparation.
- 27) N. Hirota-Nakaoka, K. Hasegawa, H. Naiki, and Y. Goto, *J. Biochem.* **134**, 159 (2003).
- 28) J. Kardos, K. Yamamoto, K. Hasegawa, H. Naiki, and Y. Goto, *J. Biol. Chem.* **279**, 55308 (2004).

要 旨

溶液中において蛋白質等の巨大分子間に働く実効的な相互作用について解説する。特に、巨大分子が、十分離れた状態から互いに接した2量体を形成するときの自由エネルギー変化において、溶媒分子の並進運動の寄与が非常に大きい事を示す。この事を踏まえると、溶質分子 (cosolute molecule) の添加効果に対して、従来の浸透圧理論が使える現象は限定される。溶媒分子の並進運動の寄与を含めたより一般的な現象論的方程式を提示する。流体の密度の不均一性まで考慮した場合との違いに基づいて議論する事でその式の適用範囲についても考察する。さらに分子認識やナノ材料の構造形成に対する熱測定の解析方法に関して述べる。

秋山 良

九州大学大学院理学研究院化学部門, Graduate School of Science, Kyushu Univ., TEL.&FAX. 092-726-4749, e-mail: rakiyama@chem.rc.kyushu-u.ac.jp

研究テーマ: 化学物理, 生物物理, 最近は特に凝縮系での“体積”の問題

趣味: エネルギーの無駄遣い (山登り, 走る等), 音楽, 科学

狩野康人

九州大学大学院理学府分子科学専攻, Graduate School of Science, Kyushu Univ., TEL.&FAX. 092-726-4749, e-mail: ykarino@mole.rc.kyushu-u.ac.jp

研究テーマ: 生体分子間に働くエントロピー駆動力と三元溶媒と構造の關係の解析

趣味: 映画・ビデオ鑑賞, 合気道

木下正弘

京都大学国際融合創造センター・創造部門, International Innovation Center, Kyoto Univ., e-mail: kinoshit@iae.kyoto-u.ac.jp

研究テーマ: 物質複合系 (水溶液中の蛋白質, コロイド分散系, 金属-電解質水溶液界面など) の平衡挙動に関する統計力学理論

趣味: ハイキング, ベートーベンの音楽鑑賞