

機関番号：11501

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20550055

研究課題名（和文）中性子回折およびX線回折による生体関連分子 - 水分子間構造の直接決定

研究課題名（英文）Intermolecular structure between bio-molecules and water determined by neutron and X-ray diffraction measurements

研究代表者

亀田 恭男（KAMEDA YASUO）

山形大学・理学部・教授

研究者番号：60202024

研究成果の概要（和文）：生命現象に深く関わる核酸やタンパク質分子の機能発現にとり重要な部品にあたるアミノ基やピリジン環と隣接する水分子間の構造を解明する目的で、尿素分子、ピリジン分子を含む水溶液に対して、中性子およびX線回折実験を用いた研究を実施した。安定同位体濃縮試料を用いた中性子回折実験より、濃厚な水溶液中およびアルカリ金属塩共存下の水溶液中における尿素分子の水和構造、濃厚水溶液中のピリジン分子の水和構造の詳細を明らかにした。

研究成果の概要（英文）：Detailed structural information on intermolecular interaction between bio-molecule and neighboring water molecules, neutron and X-ray diffraction measurements were carried out for concentrated aqueous solutions involving urea and pyridine molecules. Hydration structure around N and H atoms of urea and pyridine molecules were determined by neutron diffraction with isotopic substitution method.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2009年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：基礎化学・無機化学

キーワード：溶液化学

## 1. 研究開始当初の背景

水溶液中における生体分子の挙動を明らかにするには、生体分子そのものの水和構造を明らかにする必要がある。生体分子は複数の官能基を有するので、各官能基周囲の最近接水分子の構造を原子レベルで解明する事は重要である。分子やイオンの水和構造に関する知見を実験から直接得る手段として線および中性子回折が使用され、溶液構造に関する重要な知見が得られてきた。しかし、観測される散乱データには、溶液を構成する全ての原子対の分布に関する情報が含まれ

る。このため、線および中性子回折による従来の研究対象は比較的単純な溶質分子あるいは溶質イオンを含む溶液系に限定されてきた。

申請者の研究グループでは、溶液構造に関して実験から原子レベルの情報が直接得られる線および中性子回折法を生体関連分子等より複雑な溶質分子を含む溶液系に適用する事により、溶質分子の官能基毎に特徴的な水和構造の詳細を明らかにしてきた。これ等の研究成果は、特徴ある独創的な研究として国内および国外の学会で高い評価を得

ている。これまでに得られた成果をもとに、さらに多様な生体分子を含む溶液系に対する構造解析を進展させる事は溶液化学分野にとって重要な課題であると考えられる。

## 2. 研究の目的

本研究の期間内に、以下の研究課題に対して実験およびデータ解析を実施し、生体関連分子 - 水分子間構造の詳細を決定する。

- (1) 非常に濃厚な尿素水溶液中における分子間構造、特に近接する尿素分子同士の配向構造に関する実験的知見を得る。
- (2) 生体分子の官能基として広範囲に見られるN原子を含む複素環化合物のN原子周囲の水和構造を実験から直接求めた研究は未だに報告されていない。本研究では、モデル化合物として、ピリジンを選び、 $^{14}\text{N}/^{15}\text{N}$ 同位体置換法中性子回折実験を実施する。
- (3) 生体内では、生体分子は単独で存在する事は無く、アルカリ金属イオンやハロゲン化物イオン分子が必ず共存している。これ等のイオンが高濃度で共存する条件化で、尿素分子の水和構造がどのような影響を受けるかという問題について、中性子回折実験による実験的検証を行う。

## 3. 研究の方法

水溶液中における溶質分子 - 水分子間構造の詳細を実験から求めるために、本研究では、同位体により中性子の散乱能率が異なる事を利用した同位体置換法中性子回折を用いる。着目する原子の同位体分率のみが異なり、濃度その他の条件は全く同一とした複数の試料について中性子散乱強度を測定し、得られた干渉項を組み合わせる事により、部分構造因子および部分分布関数の導出を行う。また、短波長の強力な入射X線を利用可能な高エネルギーX線回折装置を用いて、広範囲の波数ベクトル空間における散乱データを取得し、中性子回折の結果を合わせて溶液構造の詳細を求める。

中性子回折実験は東京大学物性研究所の共同利用実験として行う。高エネルギーX線回折実験は放射光実験施設SPring-8に設置されているBL-04B2回折計の共同利用実験として実施する。

## 4. 研究成果

- (1) 非常に濃厚な尿素水溶液中における分子間構造  
非常に濃厚な尿素水溶液中における、尿素 - 水分子、尿素 - 尿素および水

分子間水素結合構造に関する直接的な知見を得る目的で、 $^{14}\text{N}/^{15}\text{N}$ およびH/D同位体分率のみが異なり、他の条件は全く同一とした合計8種類の25 mol% 尿素水溶液に対して中性子回折実験を実施した。

同位体の違いによる散乱強度の差に注目した解析より、N-H、N-O(N-C)、N-N、H-H、X-HおよびX-X(X: O, N, C)分子間部分構造因子を求め、これ等のフーリエ変換より対応する分子間部分分布関数を求める事ができた。観測された分子間部分構造因子に対する最小二乗法解析より、最近接分子間距離、平均振幅および配位数を求めた。

最近接N-OおよびN-H距離は各々3.14(1) および3.42(1) であり、アミノ基周囲には2.2(1)個の水分子が水素結合している事が明らかになった。さらに、最近接N-N距離が4.71(5) である事から、25mol%尿素水溶液中では尿素分子同士が集合した構造が生じている事が明らかになった。

### (2) ピリジン環 水分子間構造

水溶液中におけるピリジン環周囲の水和構造を解明する目的で、ピリジン分子の $^{14}\text{N}/^{15}\text{N}$ およびH/D同位体分率を変化させた4種類の10 mol%ピリジン水溶液について中性子回折実験を実施した。実験は日本原子力研究開発機構JRR-3M研究炉に設置されている東京大学物性研究所4G(GPTAS)分光器を用いて行った。各試料溶液について観測された散乱断面の差に注目して解析を行う事により、ピリジン環のN原子およびH原子周囲の水和殻の構造について以下の知見が得られた。

ピリジン分子のN原子周囲の水和構造： 最近接水分子は、1つの水素原子をピリジンのN原子に向ける形で水素結合を形成している。最近接N(ピリジン)...D1(水分子)距離  $r_{\text{ND}} = 1.95(1)$  、平均振幅  $I_{\text{ND}} = 0.16(1)$  、配位数  $n_{\text{ND}} = 2.5(2)$  という結果が得られた。水溶液中ではピリジン環のN原子は平均2.5個の水分子と水素結合を形成している事が明らかになった。

ピリジン分子のH原子周囲の水和構造： 最近接水分子のピリジン環に対する配向は明確ではない。最近接H(ピリジン)...D<sub>2</sub>O距

離  $r_{N...D2O} = 2.82(1)$ 、平均振幅  $I_{N...D2O} = 0.27(1)$ 、配位数  $n_{N...D2O} = 1.2(1)$  という結果が得られた。ピリジン分子の水素原子...最近接水分子間の相互作用は弱い、完全にランダムなのではなく、特定の水和構造をとっている事が初めて明らかになった。

(3) アルカリ金属塩が共存する濃厚尿素水溶液中の分子間構造

濃厚な水溶液中における尿素分子 - 金属イオンおよび尿素分子 - ハロゲン化物イオン間構造に関する部分構造関数レベルの情報を得る目的で、塩化リチウムおよび塩化ナトリウムを含む10mol%尿素水溶液に対して、中性子回折、X線回折実験およびRaman、赤外吸収測定を実施した。

$^6\text{Li}/^7\text{Li}$ ,  $^{35}\text{Cl}/^{37}\text{Cl}$  および  $^{14}\text{N}/^{15}\text{N}$  同位体分率を変化させた試料を用いた中性子回折実験より、10mol%尿素重水溶液中における  $\text{Li}^+$  の水和構造について、最近接  $\text{Li}^+ \dots \text{O}$  距離  $1.95(1)$ 、水和数  $5.2(1)$  を求めた。さらに、10mol%尿素重水溶液中における  $\text{Cl}^-$  の水和構造について、最近接  $\text{Cl}^- \dots \text{D}$  距離  $2.27(1)$ 、水和数  $5.8(1)$  を得た。尿素分子が共存する濃厚水溶液中においても  $\text{Li}^+$  および  $\text{Cl}^-$  の水和構造は、尿素分子を含まない水溶液中における水和構造を良く保持している事が明らかになった。一方、尿素分子のアミノ基周囲の水和構造は、 $\text{LiCl}$  水溶液中と  $\text{NaCl}$  水溶液中では異なり、尿素分子のN原子...最近接水分子のO原子間距離が  $\text{LiCl}$  水溶液中では  $\text{NaCl}$  水溶液中に比較して約0.1 長い事が明らかになった。大型放射光実験施設SPring-8のBL04B2ビームラインに設置されている回折計による高エネルギー X線回折の結果によれば、 $\text{LiCl}$  および  $\text{NaCl}$  を含む10mol%尿素重水溶液中における水分子間水素結合構造は共に良く保たれている事が明らかになった。尿素分子は、濃厚な水溶液中で周囲の水分子と強い水素結合を形成するが、共存するイオンの水和構造には大きな影響を与えない事が示された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 6 件)

1. Y. Kameda, T. Miyazaki, S. Onodera, Y. Amo, T. Usuki, Intermolecular Structure between Urea

Molecule and Metal Ions in Concentrated Aqueous Solutions, *Activity Report on Neutron Scattering Research* (ISSP, Univ. Tokyo), 査読無, **17** (2010), CD-ROM.

2. Y. Kameda, A. Maki, Y. Amo, T. Usuki, Hydration Structure around the Nitrogen Atom of the Pyridine Molecule, *Activity Report on Neutron Scattering Research* (ISSP, Univ. Tokyo), 査読無, **16** (2009), CD-ROM.

3. Y. Kameda, A. Maki, Y. Amo, T. Usuki, Partial Pair Correlation Functions of Highly Concentrated Aqueous Urea Solutions Determined by Neutron Diffraction with  $^{14}\text{N}/^{15}\text{N}$  and H/D Isotopic Substitution Methods, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 査読有, **83**, 131-144 (2010).

4. Y. Kameda, Y. Amo, T. Usuki, Local Structure around Amino Group of Glycine Carbamate in Concentrated Aqueous Solutions, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 査読有, **82**, 1485-1490 (2009).

5. Y. Kameda, M. Ishikawa, Y. Amo, T. Usuki, Low-frequency Isotropic Raman Spectra of Concentrated Aqueous KX (X: Cl, Br,  $\text{NO}_3$ , and SCN) Solutions, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 査読有, **82**, 1491-1496 (2009).

6. Y. Kameda, A. Maki, H. Takahashi, Y. Amo, T. Usuki, Neutron Diffraction Study on the Intermolecular Structure in Highly Concentrated Aqueous Urea Solutions, *Activity Report on Neutron Scattering Research* (ISSP, Univ. Tokyo), 査読無, **15**, (2008) CD-ROM.

[学会発表] (計 18 件)

1. 亀田恭男, 天羽優子, 白杵毅, H/D同位体置換法中性子回折によるピリジン分子の水和構造解析, 日本中性子科学会第10回年会 2010.12.19, 東北大学(仙台市)

2. 宮崎琢也, 亀田恭男, 天羽優子, 白杵毅, アルカリ金属塩を含む濃厚尿素水溶液の構造解析, 日本中性子科学会第10回年会 2010.12.19, 東北大学(仙台市)

3. 亀田恭男, 天羽優子, 白杵毅, H/D同位体置換法中性子回折によるピリジン水溶液の構造解析, 第33回溶液化学シンポジウム 2010.11.16, 京都大学(京都市)

4. 宮崎琢也, 亀田恭男, 天羽優子, 白杵毅, アル

カリ金属塩を含む濃厚尿素水溶液の構造解析, 第33回溶液化学シンポジウム 2010.11.16, 京都大学(京都市)

5. 亀田恭男, 天羽優子, 白杵毅, H/D同位体置換法中性子回折によるピリジン分子の水和構造解析, 平成22年度化学系学協会東北大会 2010.9.25, 岩手大学(盛岡市)

6. 茂泉広太, 亀田恭男, 天羽優子, 白杵毅, 液体グルコースのラマンスペクトル, 平成22年度化学系学協会東北大会 2010.9.25, 岩手大学(盛岡市)

7. 中野悠乃, 亀田恭男, 天羽優子, 白杵毅, ATR-IR二重差分法によるリチウムイオンの水和構造解析, 平成22年度化学系学協会東北大会 2010.9.25, 岩手大学(盛岡市)

8. 佐藤将, 亀田恭男, 天羽優子, 白杵毅, 水和マグネシウムイオンのisotropic Ramanスペクトル, 平成22年度化学系学協会東北大会 2010.9.25, 岩手大学(盛岡市)

9. 宮崎琢也, 亀田恭男, 天羽優子, 白杵毅, アルカリ金属塩を含む濃厚尿素水溶液の構造解析, 平成22年度化学系学協会東北大会 2010.9.25, 岩手大学(盛岡市)

10. 亀田恭男, 天羽優子, 白杵毅, 同位体置換法中性子回折によるピリジン分子のN原子周囲の水和構造, 第77回電気化学会大会 2010.3.29, 富山大学(富山市)

11. 亀田恭男, 天羽優子, 白杵毅, 同位体置換法中性子回折によるピリジン分子の水和構造解析, 日本中性子科学会第9回年会 2009.12.9, いばらき量子ビーム研究センター(東海村)

12. 亀田恭男, 天羽優子, 白杵毅,  $^{14}\text{N}/^{15}\text{N}$ 同位体置換法中性子回折によるピリジン分子の水和構造解析, 第32回溶液化学シンポジウム 2009.11.18, 朱鷺メッセ(新潟市)

13. 小野寺聡, 亀田恭男, 天羽優子, 白杵毅, CsX (X:Cl, Br, I) 水溶液のRamanスペクトル, 第32回溶液化学シンポジウム 2009.11.18, 朱鷺メッセ(新潟市)

14. 宮崎琢也, 亀田恭男, 天羽優子, 白杵毅, アルカリ金属イオンの共存する濃厚尿素水溶液の振動スペクトル, 第32回溶液化学シンポジウム 2009.11.18, 朱鷺メッセ(新潟市)

15. 亀田恭男, 天羽優子, 白杵毅, 中性子回折による濃厚尿素水溶液中の尿素 - 尿素部分構造, 平成21年度化学系学協会東北大会, 2009.9.19, 日本大学工学部 (郡山市)

16. Y. Kameda, A. Maki, Y. Amo, T. Usuki, Partial Structure Functions of Highly Concentrated Aqueous Urea Solutions Determined by Neutron Diffraction with  $^{14}\text{N}/^{15}\text{N}$  and H/D Isotopic Substitution Methods, EMLG-JMLG Meeting 2009 -Intermolecular Interactions and Liquid Structure,- 2009.9.7, Salzburg University, Salzburg, Austria

17. 亀田恭男, 同位体置換法中性子回折によるアミノ酸分子の水和構造解析, 第58回高分子討論会, 2009.9.17, 熊本大学 (熊本市)

18. 亀田恭男, 榎亜紗美, 天羽優子, 白杵毅, 同位体置換法中性子回折による濃厚尿素水溶液中の尿素分子間構造の解析, 第31回溶液化学シンポジウム, 2008.11.13, 近畿大学 (東大阪市)

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

亀田 恭男 (KAMEDA YASUO)  
山形大学・理学部・教授  
研究者番号: 60202024

### (2)研究分担者

天羽 優子 (AMO YUKO)  
山形大学・理学部・准教授  
研究者番号: 20363038

### (3)連携研究者

( )

研究者番号: