

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 6月18日現在

機関番号：13401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2012

課題番号：22740253

研究課題名（和文） 水添加によるイオン液体の機能強化

研究課題名（英文） A study of the water addition for ionic liquids for improvement their function

研究代表者

古石 貴裕 (KOISHI TAKAHIRO )

福井大学・大学院工学研究科・准教授

研究者番号：20373300

研究成果の概要（和文）：通常タンパク質はイオン液体中では変性するが、水を加えた水和イオン液体の場合は、条件によりタンパク質の構造が維持されることがわかっている。このようなタンパク質の変性効果を調べるため、疎水性及び親水性の板のある系で典型的な変性剤である尿素、グアニジウムイオン(Gdm)、メタノール(meoh)水溶液の分子動力学シミュレーションを行い、変性剤がタンパク質の親水部、疎水部にどのように作用するかを調べた。

研究成果の概要（英文）：While proteins are denatured in a ionic liquid, the structure of proteins is not deformed at the water added ionic liquid in the certain condition. To study the protein denaturation, we performed molecular dynamics simulations of urea, guanidium and methanol solutions, which are typical denaturants, in the system having a hydrophilic part and a hydrophobic part, and investigated the effect of the denaturants for the hydrophilic and hydrophobic parts.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2011年度	600,000	180,000	780,000
2012年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：数物系科学

科研費の分科・細目：物理学、数理物理・物性基礎

キーワード：計算物理学

## 1. 研究開始当初の背景

イオン液体は常温で液体状態となるイオン性の物質である。このため、空气中で蒸発せず安定的に存在し、しかも難燃性であり、電解質溶液や熱伝導媒体としても利用可能である。このような優れた性質を持つイオン液体はグリーンサステイナブルケミストリーを担う物質として工業界からも注目されており、関連する研究は1992年に常温で液体の有機塩が報告されて以来急速に発展して

いる。

通常タンパク質はイオン液体中では変性するが、水を加えた水和イオン液体の場合は、条件によりタンパク質の構造が維持されることがこれまでにわかっている。また、水中よりも30℃程度タンパク質の熱耐性が向上し、常温常圧で1年以上保存した後でもその構造が保たれていることもわかっている。

## 2. 研究の目的

タンパク質の変性効果を分子レベルで調べるため、疎水性及び親水性の板のある系で典型的な変性剤である尿素、グアニジウムイオン(Gdm)、メタノール(meoh)水溶液の分子動力学シミュレーションを行った。また、シミュレーションの結果から変性剤がタンパク質の親水部、疎水部にどのように作用するかを調べた。

### 3. 研究の方法

シミュレーションでは、変性剤を含む水溶液の上部に親水性の板、下部に疎水性の板を配置し、その外側を真空状態とした系(図1)で計算を行った。ここで使用した親水板は重心を固定し回転運動のみを行う水分子で構成され、疎水板には位置を固定した炭素原子からなる1層のグラファイトを使用した。

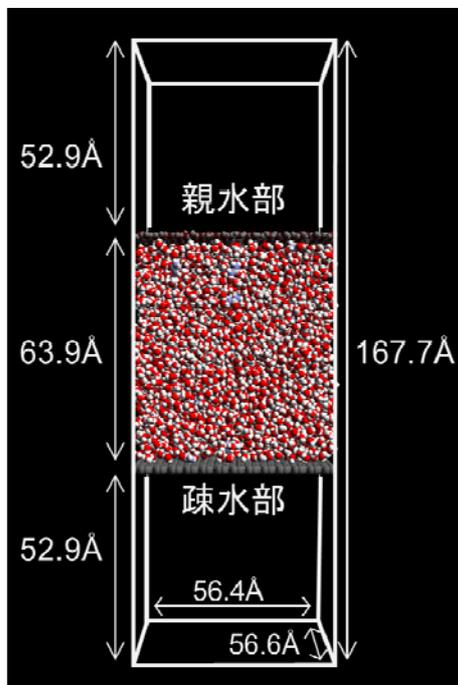


図1: シミュレーションシステム

### 4. 研究成果

それぞれの変性剤と親水板、疎水板との親和性を調べるために変性剤の各位置での存在分布を求めた(図2, 3, 4)。その結果、meoh、尿素は親水板、疎水板の両方の近傍で平均密度よりも20~30%多く存在していることが分かった。一方、Gdmは疎水板近傍で平均密度よりも5%程度多く存在していることが分かった。また、親水板と疎水板近傍での親和性を比べると、全ての変性剤は親水板に比べ疎水板への親和性が高いことが分かった。

存在分布の結果を系統的に比較するため、

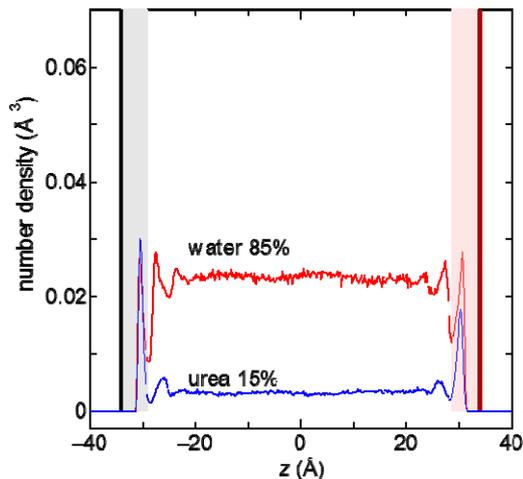


図2: 尿素水溶液における密度分布

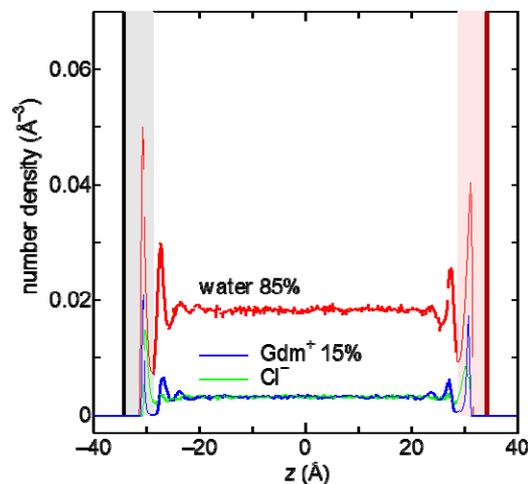


図3: GdmCl水溶液における密度分

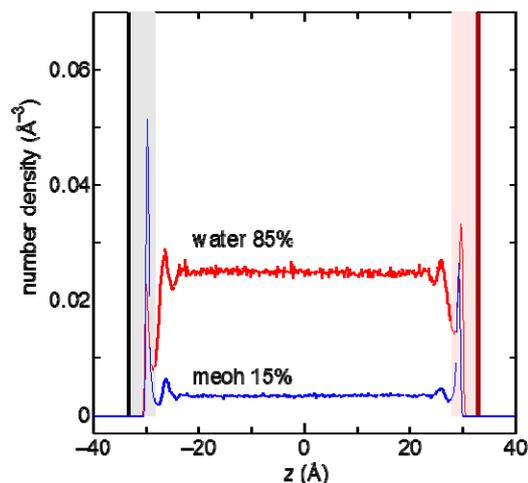


図4: meoh水溶液における密度分布

親水板、疎水板近傍領域(図2, 3, 4で灰色、薄赤で着色した部分)における、局所密度を求め、さらに、その局所密度の変性剤濃度  $c$  に対する依存性  $x_{wat}(c)$  を求めた。その結果

に以下の式を適用し、

$$P_\alpha = \left| \frac{dw_{wat}(c)}{dc} \right|$$

直線でフィッティングすることで、変性剤の親水板、疎水板に対する親和性を示すオーダーパラメータ  $P_\alpha$  を定義した。それぞれのオーダーパラメータを比較したものを図5に示す。

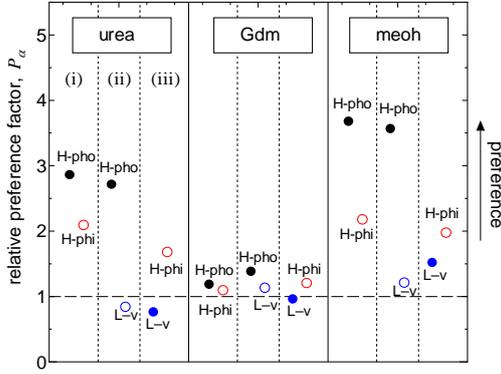


図5: 親和性オーダーパラメータの比較

この結果から、尿素では疎水板との親和性が最も高く3程度であり、親水板との親和性は2程度で、気液界面での親和性はほぼゼロであった。Gdm では疎水板との親和性が最も高いが、その値は最大でも1.5程度であり、親水性板、気液界面での親和性はほぼゼロであった。meoh では、疎水板との親和性が4程度の値となっており、これは尿素、Gdm と比較して最も高い値となっている。meoh の親水板との親和性は尿素と同じ程度で約2である。気液界面との親和性はほぼゼロであるが、尿素、Gdm と比較すると高い値を取っていることが分かる。これらの結果から、疎水板との親和性は meoh が最も高く、次に尿素となっており、Gdm は疎水板との親和性が低いことが分かった。親水板との親和性を比較すると、尿素、meoh はほぼ等しく、Gdm は親水板とも親和性を持たないことが分かった。また、気液界面では尿素、Gdm は親和性を持たないが、meoh は親和性を持ち、meoh 気液界面付近に水よりも優先的に配置することが分かった。この結果はこれまでに行われている meoh 水溶液の分子動力学シミュレーションの結果と一致している。

次に界面過剰から各変性剤の親水板、疎水板への親和性を調べた。界面過剰  $\Gamma$  は

$$\Gamma = \int_{z_0}^{z_{\text{GDS}}} \rho(z) dz + \int_{z_{\text{GDS}}}^{z_1} \{\rho(z) - \rho_0\} dz$$

で表される。ここで  $\rho(z)$  は  $z$  における数密度、 $\rho_0$  は平均数密度、 $z_0$  は板の位置、 $z_{\text{GDS}}$  はギブス分割面の位置である。変性剤の界面過剰  $\Gamma_{\text{denat}}$  をそれぞれのモル分率  $X_{\text{denat}}$  で割った値

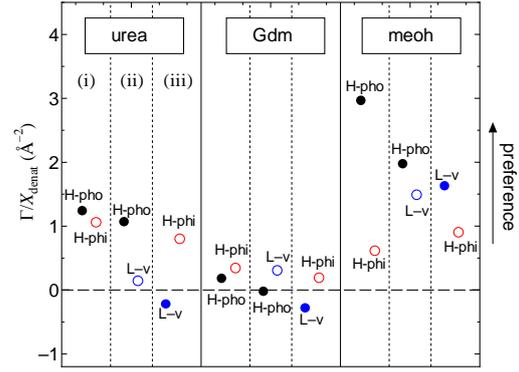


図6: 界面過剰から求めた親和性

を比較したものが図6である。結果の傾向は図5とほぼ等しく、meoh の親水性板、疎水性板への親和性が最も高く、その次が尿素となり、Gdm の親水性板、疎水板への親和性はほぼゼロである。また図6の結果から、meoh は気液界面付近にも多く存在することが確かめられる。

これらの親和性の結果から変性剤は、タンパク質の親水部、疎水部双方の近傍に多く存在できることが示唆され、これにより強い変性効果を持つと考えられる。

しかし、実際には meoh よりも Gdm の変性効果の方が強いとされているので、存在分布のみで変性効果の強弱を説明することはできない。そこで、親水板、疎水板近傍における変性剤の滞在時間を調べた。滞在時間の計算には、ある時間  $t$  に親水、疎水板近傍に変性剤が存在しているとき1となり、存在していないとき0となる関数  $s(t)$  を定義し、以下の相関関数

$$C(t) = \frac{\sum s(t_0)s(t)}{\sum s(t_0)s(t_0)}$$

表1: 尿素,Gdm,meoh の緩和時間

	relaxation time $\tau$ (ns)		
condition	urea	Gdm	meoh
H-pho	1.70	26.6	0.39
H-phi	0.57	4.54	0.13
H-pho	1.60	43.0	0.34
L-v	0.39	0.91	0.15
L-v	0.35	1.03	0.12
H-phi	1.00	7.34	0.13

を指数関数でのフィッティング係数を用いた。得られた結果を表1に示す。この結果から Gdm が疎水板近傍に滞在する時間は尿素、meoh と比べて10倍以上長いことが分かった。また、親水板近傍においても、Gdm の滞在時間が尿素や meoh に比べ数倍長くなっていることが分かった。

以上の結果をまとめると、今回シミュレーションを行った変性剤：尿素、Gdm、meoh で、親水及び疎水板近傍に存在する確率の大きさは、meoh、尿素、Gdm の順であり、親水及び疎水板近傍における滞在時間の長さは、Gdm、尿素、meoh の順となった。これらの結果から、尿素、Gdm、meoh はそれぞれ異なる特徴を持っており、その特性に応じた異なる変性作用を持っていると結論づけることができた。(上記で使用した図は発表論文 J. Chem. Theory Comput., 6, 2540-2551 (2013) から転載したものである。)

#### 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1件)

Takahiro Koishi, Kenji Yasuoka, Soohaeng Yoo Willow, Shigenori Fujikawa, and Xiao Cheng Zeng, Molecular insight into different denaturing efficiency of urea, guanidinium and methanol: A comparative simulation study, J. Chem. Theory Comput., 査読有り, vol. 6, pp. 2540-2551 (2013)

[学会発表] (計7件)

1. 古石貴裕, 泰岡顕治, X. C. Zeng, 藤川茂紀, 親水・疎水部のある系におけるンパク質変性剤の分子動力学シミュレーション, 日本物理学会 第 68 回年次大会、広島大学, 2013 年 3 月 27 日
2. 古石貴裕, 泰岡顕治, X. C. Zeng, 藤川茂紀, 凹凸面に衝突したときの水滴の内部圧力の導出, 第 26 回分子シミュレーション討論会、九州大学, 2012 年 11 月 27 日
3. 古石貴裕, 泰岡顕治, X.C.Zeng, 藤川茂紀, 親水・疎水部のある系での尿素水溶液の分子動力学シミュレーション, 日本物理学会 2012 年秋季大会、横浜国立大学, 2012 年 9 月 20 日
4. 古石貴裕, 泰岡顕治, X.C.Zeng, 藤川茂紀, 分子動力学シミュレーションを用いた衝突液滴の内部圧力分布の導出, 日本物理学会 第 67 回年次大会、関西学園大学, 2012 年 3 月 26 日
5. 古石貴裕, 泰岡顕治, X. C. Zeng, 藤川茂紀, 第 25 回分子シミュレーション討論会, 東京工業大学, 2011 年 12 月 7 日
6. 古石貴裕, 泰岡顕治, X.C.Zeng, 藤川茂紀,

分子動力学シミュレーションを用いた凹凸面における水滴の接触角ヒステリシスの導出, 日本物理学会 2011 年秋季大会, 富山大学, 2011 年 9 月 21 日

7. 古石貴裕, 泰岡顕治, X.C.Zeng, 藤川茂紀, 構造のある表面上での尿素を含む水滴の分子動力学シミュレーション, 日本物理学会 2010 年秋季大会, 大阪府立大学, 2010 年 9 月 23 日

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

[その他]

特になし。

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

古石 貴裕 (KOISHI TAKAHIRO)

福井大学・大学院工学研究科・准教授

研究者番号：20373300