

# 論文内容要旨 (和文)

平成 23 年度入学 大学院博士後期課程

地球共生圏科学専攻 物質生命化学分野

氏 名 宮崎琢也



論文題目 中性子回折およびX線回折による水溶液中における生体分子の構造解析

生体反応を理解するためには、反応に関わる分子周りの水分子を含めた水溶液の構造についての情報を得ることが重要である。水溶液中の構造を直接実験的に求める方法として、中性子回折やX線回折などの回折実験があげられる。回折実験からは、ある原子周りの原子の分布を表す動径分布関数が得られる。この分布関数のピーク位置や面積などから、原子間距離、配位数などの水溶液中の構造パラメータを得ることができる。本研究では、生体分子が溶解した2つの水溶液系について回折実験から、水溶液の構造を解析することを目的とした。

ひとつはアルカリ金属塩を含む尿素水溶液である。尿素は生体内において最も単純な構造をもつ分子であり、水溶液中における尿素分子の水和構造について、現在までにX線回折実験や中性子回折実験により、尿素分子のアミノ基、カルボキシル基の水和構造の研究が行われている。生体内には $\text{Na}^+$ や $\text{K}^+$ などのアルカリ金属イオンが存在しているが、これまでにアルカリ金属イオンが共存する尿素水溶液に関する回折実験による研究は報告されていなかった。本研究では、アルカリ金属塩として $\text{NaCl}$ および $\text{LiCl}$ を用い、水溶液中の $^{14}\text{N}/^{15}\text{N}$ 、 $^6\text{Li}/^7\text{Li}$ および $^{35}\text{Cl}/^{37}\text{Cl}$ 同位体比の異なる試料の中性子回折実験から、アミノ基、 $\text{Li}^+$ および $\text{Cl}^-$ 周りの水和構造を明らかにした。

もうひとつは、ATPおよびADP水溶液である。ATPは生体内においてエネルギー源としての役割を持っている。比較的大きな分子であり、構造の自由度も比較的高い。X線回折実験から水溶液中のATP分子内コンフォメーションを求めるには多くの構造パラメータを決定しなければならず難しい。ATP分子内のアデニン、糖の部分は水溶液中においてもその構造変化は比較的小さく、干渉項に与える影響が少ない。本研究では、ATP分子のアデニンおよび糖の構造を固定し、アデニン-糖-三リン酸の間の結合の二面体角を設定し、求める構造パラメータを少なくすることで、ATP分子内のおおまかな構造情報を得ることができた。

アルカリ金属塩を含む尿素水溶液の中性子回折実験から得られた散乱断面積について、同位体比の異なる2つの散乱断面積の差からそれぞれ一次差分関数を得た。この一次差分関数をフーリエ変換してそれぞれ同位体置換した原子(N, Cl, Li)周りの分布関数を得た。得られた一次差分関数に対して最小二乗法解析を行い、同位体置換した各原子周りの水和構造パラメータ(原子間距離、水和数等)を得た。解析で得られた尿素のアミノ基に配位している水分子とN原子との距離は、アルカリ金属塩が共存することで長くなることが分かった。水和数についてもアルカリ金属塩を含まない系のものよりも大きな値をとることが分かった。一方 $\text{Li}^+$ および $\text{Cl}^-$ の水和構造は、尿素分子の影響をあまり受けていないことが分

かった。最小二乗法解析で得られたN、Li<sup>+</sup>およびCl<sup>-</sup>の水和数から、今回測定した水溶液では、水分子は最低2つのイオン間、あるいはイオンと尿素分子により共有されている構造をとっていることが分かった。

ATPおよびADP水溶液のX線回折実験の解析では、実験で得られた干渉項に対して、ATP分子に設定した3つの二面体角( $t_1 \sim t_3$ )を用いて最小二乗法解析を行った。最少二乗フィッティングは3つの二面体角それぞれについて0~360°まで30°毎に実施し、得られた計算結果と実験値との残差二乗和からR因子 $R_{t_1, t_2, t_3}$ を計算した。 $R_{t_1, t_2, t_3}$ が小さい値の時、実験データをうまく再現していると言える。ATP水溶液で得られた $R_{t_1, t_2, t_3}$ の角度分布には、 $R_{t_1, t_2, t_3}$ が小さな値を持つ領域が2つ存在することが分かった。このことから水溶液中において、ATP分子は2つの安定したコンフォメーションを持つと考えられる。このときのATP分子の構造は、三リン酸基がアデニンから離れたような構造で、L字型のような形をしている。これは三リン酸基がアデニンの方向に畳まれているような結晶中の構造とは異なる。ADP水溶液の $R_{t_1, t_2, t_3}$ の角度分布からも2つの小さい $R_{t_1, t_2, t_3}$ の領域が得られた。しかしATPで得られた領域とは二面体角の範囲が異なり、ひとつのADPの構造はATPとおなじくアデニンと二リン酸が離れた構造を持つが、もうひとつの構造はアデニンと二リン酸が近づいたU字型のコンフォメーションを持つことが分かった。ATP分子とADP分子で水溶液中でのコンフォメーションが大きく異なるのは、分子間の水素結合の様子がATP分子とADP分子とで違うことが原因だと考えられる。

学位論文の審査及び最終試験の結果の要旨

平成26年2月4日

理工学研究科長 殿

課程博士論文審査委員会

主査 亀田恭男  
副査 白杵 毅  
副査 天羽優子  
副査 郡司修一  
副査  
副査



学位論文の審査及び最終試験の結果を下記のとおり報告します。

記

1. 論文申請者

専攻名 地球共生圏科学専攻  
氏名 宮崎琢也

2. 論文題目 (外国語の場合は、その和訳を併記する。)

中性子回折およびX線回折による水溶液中における生体分子の構造解析

3. 審査年月日

論文審査 平成26年1月29日～平成26年2月4日  
論文公聴会 平成26年2月4日  
場所 理学部 S401 講義室  
最終試験 平成26年2月4日

4. 学位論文の審査及び最終試験の結果 (「合格」・「不合格」で記入する。)

(1) 学位論文審査 合格  
(2) 最終試験 合格

5. 学位論文の審査結果の要旨 (1,200字程度)

別紙のとおり

6. 最終試験の結果の要旨

別紙のとおり



専攻名	地球共生圏科学専攻	氏名	宮崎琢也
学位論文の審査結果の要旨			
<p>生体分子は水溶液中で機能を発揮する。しかし、構造の複雑さのため従来水溶液中における生体分子の構造を回折実験から直接決定する研究は行われてこなかった。本論文では、水溶液中における生体分子の構造について中性子回折およびX線回折実験による直接決定に挑戦し、新しい成果を上げた事が記述されている。</p> <p>本論文は5章から成る。第1章では従来行われている生体分子の構造解析の概要、問題点およびその解決のための戦略について述べられている。第2章では、本研究に用いた中性子回折およびX線回折実験およびデータ解析の詳細について記述されている。第3章では、同位体置換試料を用いた中性子回折によるアルカリ金属塩を含む尿素水溶液の構造解析の結果について記述されている。第4章では、高エネルギーX線回折によるATPおよびADP水溶液中におけるATPおよびADP分子のコンフォーメーション解析について述べられている。第5章では、本論文の結論および今後の研究の展開について記述されている。</p> <p>同位体分率が異なる試料溶液を用いた中性子回折実験から、アルカリ金属塩を含む水溶液中では、尿素分子のアミノ基の窒素原子と隣接する水分子の酸素原子間距離が、アルカリ金属塩を含まない尿素水溶液中の値に比較して0.1~0.2Å程長い事を見出した。アルカリ金属塩を含む水溶液中では、尿素分子のアミノ基と隣接する水分子間の水素結合構造に大きな変化が生じている事が明らかになった。一方、リチウムイオンおよび塩化物イオンの水和構造は、尿素分子が共存しても殆ど影響を受けない事を見出した。</p> <p>水溶液中におけるATPおよびADP分子のコンフォーメーションを求めるために、X線回折から求めた干渉項に対する最小二乗法を利用した新しいデータ解析方法を開発した。ATPおよびADP分子のコンフォーメーションが変化しても構造が変わらないと考えられるアデニン、リボースおよび三および二リン酸部分各々の間の二面体角を仮定した上で最小二乗法解析を実施し、残差二乗和が最小となるような二面体角を求めるというデータ解析法を新たに開発し、水溶液中におけるATPおよびADP分子のコンフォーメーションを直接決定する事に成功した。</p> <p>本論文の研究成果は、既に2報の査読制度付き国際学術雑誌に掲載済みおよび掲載決定となっており、高い評価を受けている。</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・ <a href="#">T. Miyazaki</a>, Y. Kameda, Y. Amo, T. Usuki, <i>Bull. Chem. Soc. Jpn.</i>, <b>86</b>, 104-111 (2013).</li> <li>・ <a href="#">T. Miyazaki</a>, Y. Kameda, Y. Umebayashi, H. Doi, Y. Amo, T. Usuki, <i>J. Solution Chem.</i> (2014) 掲載決定。</li> </ul> <p>また、本論文の内容の一部は、学位申請者本人により国際会議および国内学会で報告されており高い評価を得ている。</p> <p>本論文の内容は、溶液化学分野の研究に対して重要な新しい貢献を成すものであり、学位論文として十分な価値あるものと認められる。</p> <p>以上より、本論文に対する論文審査を合格と判定した。</p>			
最終試験の結果の要旨			
<p>最終試験は、理学部先端科学実験棟 S401 大講義室において口頭試験により実施した。</p> <p>学位申請者による30分の学位論文内容に関するプレゼンテーションおよび40分の質疑応答の内容により審査を行った。</p> <p>学位論文内容のプレゼンテーションは目的、実験データの解析方法、結果と考察等が明瞭に示されており、良好であると認められた。質疑に対する応答の内容も適切なものであった。</p> <p>以上より、申請者は学位取得に必要な十分な能力を有するものと認め、最終試験を合格と判定した。</p>			