

宮 崎 大 学 大 学 院

博 士 学 位 論 文

分子鎖シート立体構造の安定性評価に基づいた  
セルロース結晶多形の構造特性解析

2014年9月

宮崎大学大学院農学工学総合研究科

生物機能応用科学専攻

宇都 卓也

# 目次

<b>第 1 章 序論</b> .....	<b>1</b>
第 1 節 本学位研究の背景、目的 .....	1
第 2 節 セルロースの高次構造 .....	4
1.2.1 セルロースの一次構造について .....	4
1.2.2 セルロース結晶多形と結晶構造解析の変遷 .....	7
第 3 節 計算化学手段と使用プログラム .....	17
1.3.1 計算化学手段の概略 .....	17
1.3.2 計算に用いたプログラム .....	20
第 4 節 研究方法 .....	24
1.4.1 結晶モデル構築と計算システムの設定 .....	24
1.4.3 分子鎖間相互作用エネルギーの算出法と基底関数重なり誤差の補正 .....	29
参考・引用文献 .....	31
<b>第 2 章 セルロース III<sub>I</sub> 型結晶モデルで観察される結晶構造転換挙動</b> .....	<b>34</b>
第 1 節 諸言 .....	34
第 2 節 方法 .....	35
2.2.1 セルロース III <sub>I</sub> 型結晶モデルの分子動力学計算 .....	35
2.2.2 セルロース III <sub>I</sub> 型、I $\beta$ 型結晶を構成する独立分子鎖シートモデルの量子化学計算 .....	39
第 3 節 結果と考察 .....	40
2.3.1 セルロース III <sub>I</sub> 型結晶モデルの結晶構造転換挙動の追跡 .....	40
2.3.2 分子鎖シートモデルの量子化学計算による III <sub>I</sub> 型 $\Rightarrow$ I $\beta$ 型結晶転移プロセス裏付け .....	50

第4節 結論 .....	53
参考・引用文献.....	54
<b>第3章 セルロース結晶構造を構成する分子鎖シートの計算化学研究.....</b>	<b>56</b>
第1節 諸言 .....	56
第2節 方法 .....	58
3.2.1 セルロース結晶の独立分子鎖シートモデルの量子化学計算.....	58
3.3.2 セルロース結晶モデルの溶媒和 MD 計算との比較による分子鎖シートの構造特性 .....	60
第3節 結果と考察 .....	65
3.3.1 セルロース結晶を構成する独立分子鎖シートモデルの DFT 構造最適化計算.....	65
3.3.2 セルロース結晶モデルの溶媒和 MD 計算との比較による分子鎖シートの構造特性 .....	74
第4節 結論 .....	79
参考・引用文献.....	83
<b>第4章 予測されたセルロースナノチューブの構造特性と立体構造安定性...</b>	<b>87</b>
第1節 諸言 .....	87
第2節 方法 .....	89
4.2.1 セルロース III <sub>I</sub> 型結晶(100)面由来独立分子鎖シートモデルの DFT 構造最適化計算 .....	89
4.2.2 計算化学手段によるセルロースナノチューブ形成の検証 .....	89
第3節 結果と考察 .....	91
4.3.1 DFT 最適化計算において自己組織化したセルロースナノチューブの構造特性解 ....	

.....	91
4.3.2 様々な CeINT モデルの構造安定性評価とダイナミクス挙動.....	97
第4節 結論.....	107
参考・引用文献.....	109
<b>第5章 総括.....</b>	<b>112</b>
参考論文.....	113
謝辞.....	114
付録.....	116

# 第1章 序論

## 第1節 研究の背景と目的

セルロースは細胞表面の原形質膜上のターミナルコンプレックス (TC) と呼ばれる合成酵素複合体で形成される<sup>1</sup>。2010年に、Huらは、セルロースの凝集・結晶化に関するタンパク質の結晶構造を提案<sup>2</sup>し、そのことを契機に、ここ数年で様々な研究グループにより、TCを構成する他のサブユニットの立体構造や機能性等に関する詳細な知見<sup>3-5</sup>が報告された。そのようにして、生体内でセルロース繊維の形成は重合と配向・結晶化が空間的・時間的にほぼ同時に進行することが明らかとなった。一方、合成高分子における紡糸過程では、熔融あるいは溶液状態で重合反応が進行し、繊維に応力をかけ、巻き取ることによって、配向・結晶化がなされ、一軸配向した微結晶と非晶が混在した繊維が得られる。合成高分子を、繊維の形状になるまで単結晶を成長させることは不可能である。セルロース材料は、天然でほぼ単結晶に相当する高結晶性繊維として生産され、生体組織において、それらが集合したマイクロフィブリルとして存在する。生体の構造材料であり、軽量で高強度、低線膨張率等の性質を持つセルロース繊維は、材料として、非常に高いポテンシャルを有する。そうした観点から、セルロースは新規ナノファイバーやナノコンポジットといった高分子材料としての注目がなされており、集合状態や高次構造形成について、多様な研究が行われている。

セルロースナノファイバー創製については、化学的・物理的なプロセスでセルロース繊維を微細化させる手段が提案されており、硫酸処理によるナノウィスカー調製<sup>6</sup>、TEMPO触媒酸化によるナノファイバー調製<sup>7</sup>、酵素加水分解によるエレメント創製<sup>8</sup>、水中対向衝突法<sup>9</sup>によるナノ微細化、メカノケミカル処理によるセルロース繊維の微粒子化<sup>10</sup>などがある。しかし、セルロース系材料の利用には、未だ多くの問題が残されて

いる。現在は、先に挙げたようなセルロース繊維を微細化する段階での検討が主であり、トップダウン的な手法が取られる。そのため、セルロースの構造に由来する両親媒性といった特徴を制御出来ず、その一例として、セルロース系ナノファイバーは樹脂との相溶性を悪くし、更なる複合化材料への展開を難しくしている。言い換えれば、ボトムアップ的な手法を用いることでセルロースの持つ階層構造を制御さえ出来れば、繊維に新規機能を発現<sup>11</sup>させられるようになり、セルロース系材料の分子設計手段を確立する突破口になり得る。

そうした背景から、セルロース材料の高次構造制御を見据えたセルロース結晶と高次構造形成に関する分子論的理解は、セルロース科学の分野で重要でかつ中核を担うテーマの1つとなる。近年では、Attala や Sugiyama らによって天然型セルロース結晶多形である I $\alpha$ と I $\beta$ 型が提案<sup>12,13</sup>された際、計算化学手段を用いてこれらの結晶構造解析や結晶構造の精密化が試みられた。その後、Langan や Nishiyama、Wada らにより、放射光 X 線・中性子線回折により、各種セルロース結晶多形の高分解能結晶構造を報告<sup>14-17</sup>され、それらの結晶構造情報をもとに様々な研究が展開されている。セルロース結晶構造を俯瞰すると、セルロースは結晶構造中で、分子鎖は互いに水素結合によって連結され、分子鎖シートを形成する。天然 I 型結晶<sup>15,16</sup>において分子鎖シート全体の形状は平面に近く、分子鎖シート間では疎水性相互作用が支配的となる。一方、天然 I 型から派生する各種 (II 型<sup>14</sup>、III<sub>1</sub>型<sup>17</sup>)のセルロース結晶型においては、分子鎖間水素結合の形成方向が二つになり、分子鎖シート形状は波型となる。

本論文において、セルロース結晶の階層構造における特徴は分子鎖シートに固有の構造特性を反映しているのではないかという仮説を出発点にし、計算化学的なアプローチで以て、分子鎖シートの変形挙動や構造安定性を評価するに至った。本学位論文では、セルロース結晶の多形間の結晶転移及び構造特性に関する分子論的理解を深め、それらの知見を基盤とした新規セルロース関連材料の提案並びに創製に向けた条件探索を目

的として実施した。近年報告された高分解能結晶構造解析データをもとに構築した結晶モデルに対して、溶媒和分子動力学 (MD : Molecular Dynamics) 計算を実施することで、溶媒中における結晶モデルの動的構造を検討し、更に結晶モデルから抽出した孤立分子鎖シートモデルの密度汎関数理論 (DFT : Density Functional Theory) 計算を併せることで、分子鎖シート立体構造安定性の評価が可能となる。

セルロース III<sub>I</sub> 型結晶は熱水処理環境下でセルロース I $\beta$  型へ変化することが知られており、そこで、本研究では、III<sub>I</sub> 型結晶モデルの熱水処理に相当する溶媒和 MD 計算を実施することで、ヒドロキシメチル基やヒドロキシル基の配向変換に伴って生じる水素結合交換を追跡し、結晶モデルの変形挙動や分子鎖シートの構造変換に基づく結晶転移スキームを検討する。更に、III<sub>I</sub> 型 $\rightarrow$ I $\beta$  型結晶転移過程における、分子鎖シートの構造変換の裏付けを目的として、セルロース III<sub>I</sub> 型結晶モデルとセルロース I $\beta$  型結晶モデルを構成している孤立分子鎖シートモデルに対する DFT 計算を実施する。

次に、結晶構造を構成している孤立分子鎖の DFT 計算と結晶モデルの溶媒和 MD 計算を様々なセルロース結晶多形 (I $\alpha$ , I $\beta$ , II, III<sub>I</sub>) に適用し、孤立系での分子鎖シートの立体構造安定性をそれぞれ評価し、結晶モデルの溶媒和中で動的構造と比較することでセルロース結晶構造の構造特性解析へと展開する。実験系において、特定の結晶面を切出し、孤立系の分子鎖シートを評価することは技術的に不可能であり、これらの計算化学研究はセルロース結晶構造特性の新たな知識基盤を提供することが期待出来る。

更に、こうした研究過程で、セルロース III<sub>I</sub> 型結晶(100)面由来の孤立分子鎖シートモデルについて、シート構造が自発的に巻き始め、最終的にチューブ形態になる現象を見出している。このナノチューブ構造は新たなセルロース分子鎖シートの新たな一形態と位置づけられる。そこで、この構造をセルロースナノチューブ : CeINT と命名し、予測されたチューブ構築原理からサイズの大きな CeINT モデルを構築し、溶媒和 MD 計算によって CeINT モデルの立体構造安定性について検討する。

## 第2節 セルロース結晶の高次構造

### 1.2.1 セルロースの一次構造について

セルロースはグルコース残基が (1→4)-βグリコシド結合によって連結した鎖状高分子である。本節ではセルロースの一次構造について、要点を述べる。詳細な内容や研究経緯などは成書<sup>18</sup>等を参照されたい。

グルコース残基は、六員環構造 (グルコピラノース環)をとっており、炭素原子は同一平面状にない。グルコース残基は、2位、3位及び6位の炭素にヒドロキシル基を有し、2、3位のヒドロキシル基は第二級、6位のヒドロキシル基は第一級となっている。グルコピラノース環の取り得る立体配座はイス形および船形やねじれ配座などが考えられ、このうち、立体エネルギーはイス形が最安定である。このイス形の場合、2種類の配座が可能であり、C1配座と1C配座をとる。置換基の結合が軸と平行のものをアキシアル結合と呼び、放射状に外側に向かっているものをエクアトリアル結合と呼ぶ。エクアトリアル結合をとる置換基の数が多い方が安定なため、C1立体配座をとる。

グルコース残基はβ-D-グルコースであるため、1位のヒドロキシル基はエクアトリアル結合となる。そのため、セルロース中のグルコース残基のヒドロキシル基は全てエクアトリアル結合をしており、一方で炭素原子と水素原子はアキシアル結合しているため、結果としてセルロース分子鎖は、疎水性および親水性のサイトをもち、また分子内水素結合のみならず、ヒドロキシル基間に分子間水素結合を形成する。このことは、高次構造形成と密接に関係する。

前述したようにイス形のC1配座となるグルコース残基が(1→4)-βグリコシド結合で鎖状に伸びるためには、グルコース残基1つ毎にC1-C4を軸として180°回転(2回らせん)した形で連なることになる。すなわちセロビオースを1単位とした鎖状高分子となる。Fig. 1-1に、セルロースを構成するセロビオース残基の原子ラベルと主要な回転パラメータを示す。セルロース分子の両末端のグルコース残基は、中間の残基と異なり、

片方の末端の C1 位のヒドロキシル基は還元性を示すので還元性末端基 (R : Reducing end)と称し、一方のグルコース末端基で C4 位のヒドロキシル基は還元性を示さないの  
で、非還元性末端基 (NR : Non-Reducing end)と称する。

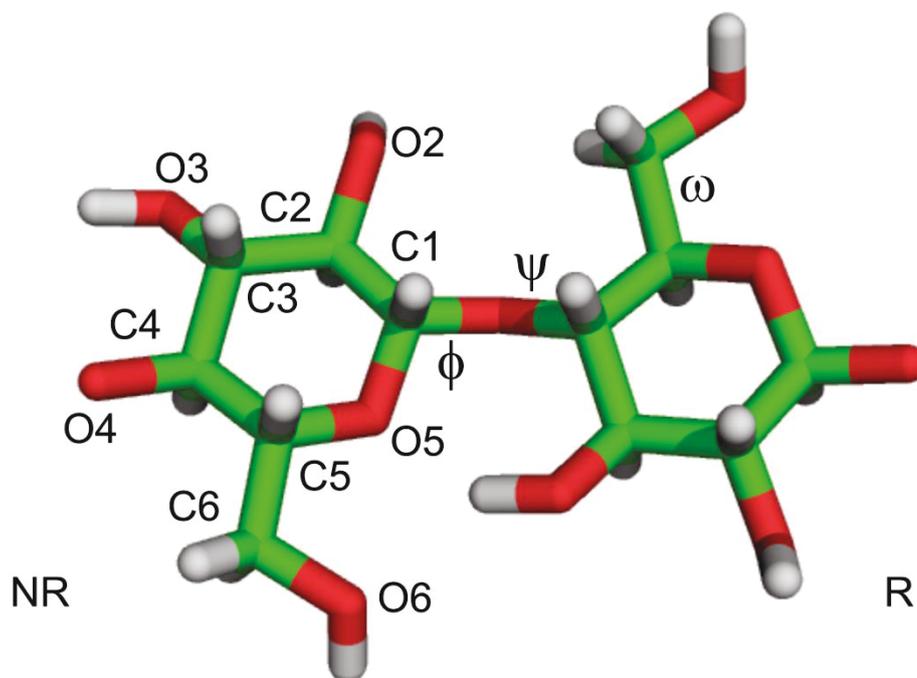


Fig.1-1 The torsion-angle parameters and atom labels of primary interest to describe the structural features of a cellulose chain. The torsion angles are defined by  $\phi = \text{O5-C1-O4-C4}$ ,  $\psi = \text{C1-O4-C4-C5}$ , and  $\omega = \text{O5-C5-C6-O6}$

## 1.2.2 セルロース結晶多形と結晶構造解析の変遷

セルロースの分子鎖が二次結合などにより集合した状態を結晶と定義する。セルロースには I~IV の結晶多形が存在し、Fig. 1-2 にセルロース結晶多形の相関関係図を示した。セルロース結晶多形は天然型である I 型を起点として様々な結晶型へと派生する。天然セルロースをマーセル化あるいは溶解してから再生することによってセルロース II 型に転移する。セルロース I 型はセルロース II 型に不可逆に転移するため、II 型は I 型に比べて熱力学的に安定であると考えられている。

セルロース分子は非対称なので 2 本鎖単位格子の構造では平行、逆平行の 2 つの可能性が生じる。この問題は生合成機構およびマーセル化の機構と関わって長年議論されてきた。その後の構造解析の進展によってセルロース I 型が平行鎖構造、セルロース II 型が逆平行鎖構造<sup>19</sup>であることが確定された。

天然セルロースは、1970 年代に報告された Blackwell らや Sarko らによる、バロニアセルロースの解析結果以降、平行鎖構造が主流となった。近似モデルとして、前者研究グループは単斜晶に分子鎖を 2 本含むモデル<sup>20</sup>、これに対して後者研究グループは同様なモデルに加えて三斜晶に分子鎖を 2 本含むモデル<sup>19</sup>を提案した。

1980 年代には、固体高分解能 NMR が得られるようになり、Atalla と VanderHart<sup>12</sup>によって、天然セルロースが I $\alpha$ 型と I $\beta$ 型の混合物であることが示された。この考えは Sugiyama ら<sup>13</sup>のグループが電子線回折により各々の単位格子を解明し、一般に受け入れられた。Fig. 1-3 に示すように、セルロース I $\alpha$ 、I $\beta$ 型結晶型の単位胞が提案された。セルロース I $\alpha$ および I $\beta$ 型の構造を考える際に上述の単斜晶と三斜晶はきわめて近いモデルである。I $\alpha$ 型は三斜晶で、格子内に 1 本の分子鎖を含み、I $\beta$ 型は単斜晶に相当し、格子内に 2 本の分子鎖を含む。分子鎖シート間では、分子鎖方向に  $c$  軸長の 1/4 のずれがある。ただし、I $\alpha$ 型では一方向にずれていくのに対し、I $\beta$ 型では  $c/4$  の上下を繰り返す点が構造上の大きな違いである。

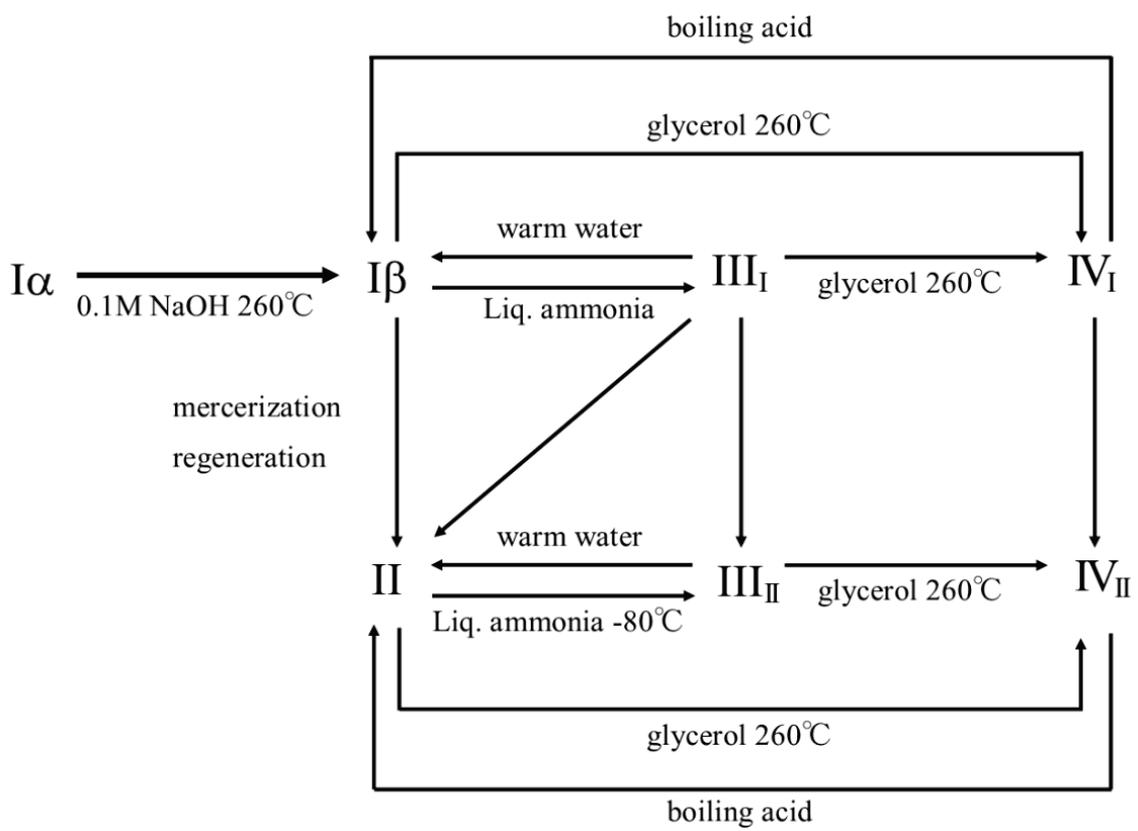


Fig. 1-2 The conversion scheme among cellulose polymorphs.

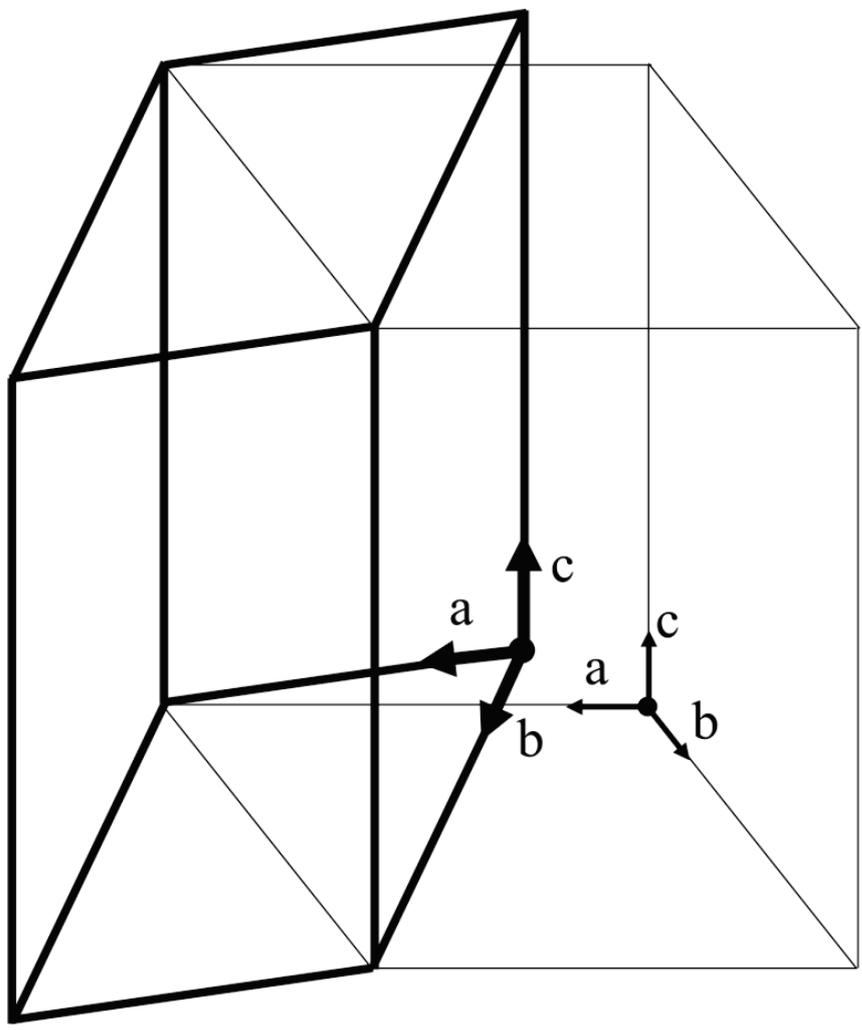


Fig. 1-3 The conversion between the unit cells of native cellulose I $\alpha$  and I $\beta$  allomorphs.

分子鎖のパッキング様式について、1997年に Sugiyama らの研究グループが、セルロース分子鎖の還元末端を標識化した電子顕微鏡観察に成功している。非水系において、シアノ水素化ホウ素ナトリウム存在下で1級アミンとアルデヒドを反応させ、アルデヒドにアミンを結合させる。この反応により、ビオチンはアミド結合を介してセルロースやキチンなどの多糖分子鎖の還元末端に結合することが出来、このビオチンは金コロイドと結合しているストレプトアビジンで標識され電子顕微鏡下で観察出来る。得られた電子回折パターンより、セルロースや $\beta$ -キチンは、結晶内における充填様式がパラレルアップ構造 (還元末端が  $c$  軸方向と一致する) であり、重合反応が非還元末端で進行することが示され、セルロース結晶構造の解釈にも大きな影響を与えた。

近年、Nishiyama らはシンクロトロン放射光による X 線・中性子回折結晶構造解析により、セルロース  $I\alpha$ <sup>15</sup>、 $I\beta$ <sup>16</sup> 型の水素原子の位置を含む詳細な結晶構造モデルを提案し、前者が三斜晶で、空間群  $P1$ 、密度  $1.61 \text{ g/cm}^3$  で格子内に 1 本セルロース分子鎖を含み、後者が単斜晶に相当し、空間群  $P2_1$ 、密度  $1.63 \text{ g/cm}^3$  となり、単位格子内に 2 本の分子鎖を含んでいた。らせん構造をとるアミロースと異なり、Fig. 1-4 で示すように、結晶構造中のセルロース分子鎖は 2 回らせんと呼ばれるジグザグの分子形態をとる。天然 I 型セルロースは、ヒドロキシメチル基は  $tg$  であり、繊維周期あたり 2 本の  $O3-H\cdots O5$ 、 $O2-H\cdots O6$  分子鎖内水素結合と 1 本の  $O6-H\cdots O3$  分子鎖間水素結合が形成され、平行に配向した分子鎖は一方向の水素結合ネットワークによって連結され、平面上の分子鎖シートを構成する。また、Fig. 1-5 の  $ab$  断面図からも分かるとおり、I 型結晶構造は、分子鎖シートが積層された構造とみなすことが出来る。セルロース I 型分子鎖シートは平面状で、疎水的な相互作用やファンデルワールス力が働いている。タンパク質の二次構造と同様に、分子鎖シート間では疎水性相互作用が支配的であると推定される。一方、結晶表面はヒドロキシル基が露出した極性結晶面で構成される。

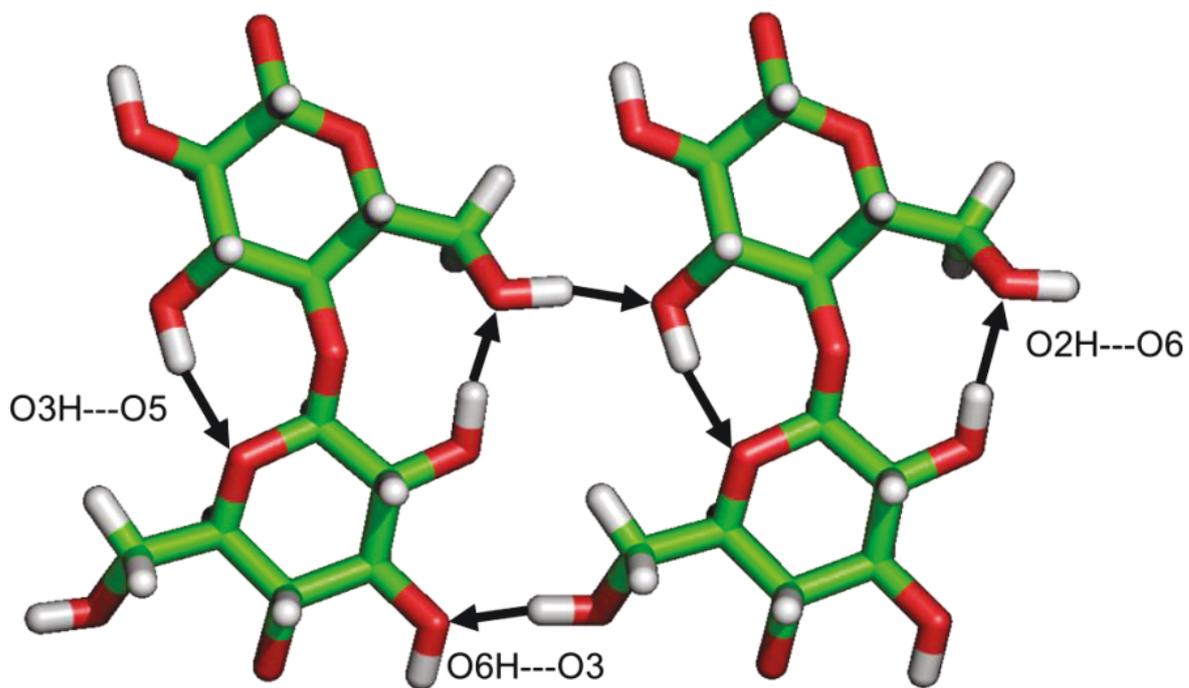


Fig. 1-4 Packing arrangement of native cellulose projected along the a-axis. The typical hydrogen-bonds are shown as a solid arrow.

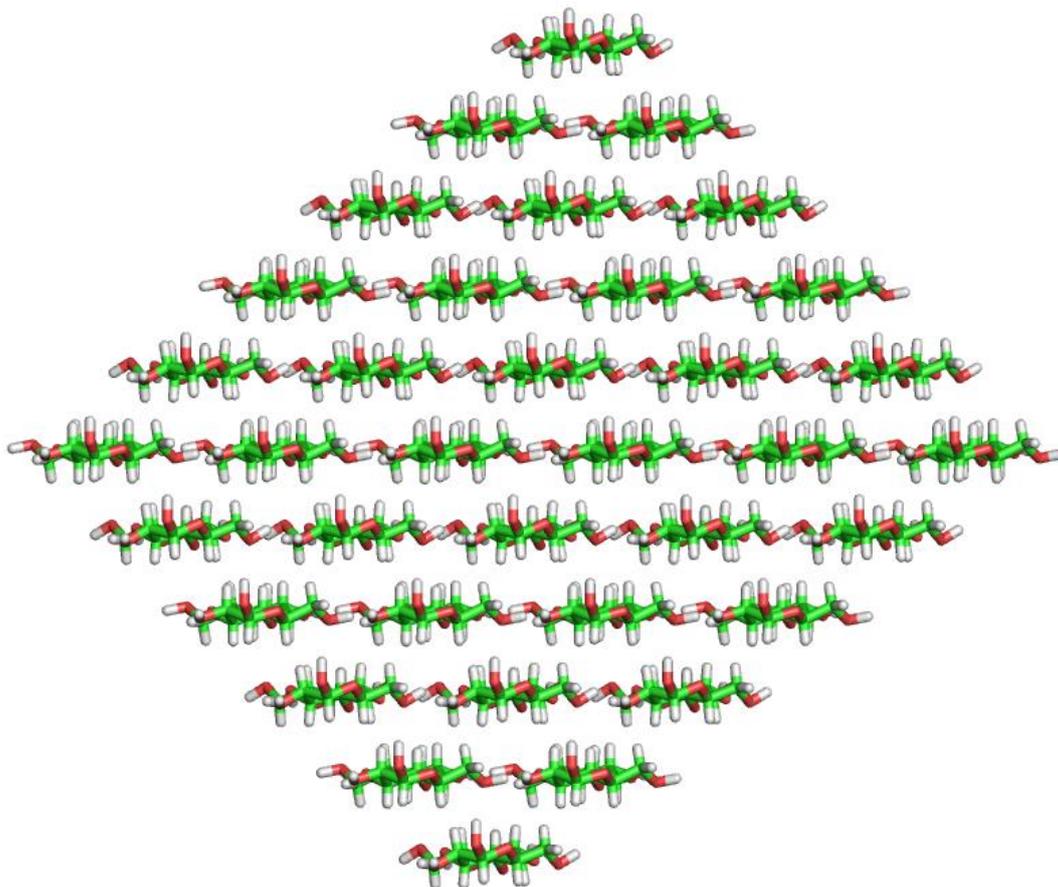


Fig. 1-5 The *ab* projection of the native cellulose crystal model.

セルロース III 型とは、天然 I 型および再生セルロースである II 型結晶試料の液体アンモニアやアミン類の処理によって得られるセルロース結晶多形のひとつで、その処理前の結晶型に対応して III<sub>I</sub> 型と III<sub>II</sub> 型に分類される。I $\beta$  型を出発構造とする III<sub>I</sub> 型は液晶状態を経て II 型へと変化する。また、熱処理によって可逆的に I $\beta$  型へ戻ることも知られている。セルロース III<sub>I</sub> 型結晶構造に対して、当初、Sarko ら<sup>22</sup>によって 2 本分子鎖を持つ結晶構造が提案されたが、近年になって東京大学の Wada ら<sup>17</sup>は高結晶性試料と放射光光源を用いた回折データから単斜晶で空間群 P2<sub>1</sub>、密度 1.54 g/cm<sup>3</sup> となり、1 本分子鎖が格子に充填した結晶構造を報告した。これより、III<sub>I</sub> 型結晶構造は I $\beta$  型構造を反映して分子鎖がすべて同じ方向に配列した平行分子鎖パッキング構造であることが明らかになった。同時期に、セルロース II 型結晶についても、高分解能結晶構造解析データが Langan ら<sup>14</sup>によって報告され、1970 年代後半から議論されてきた、ヒドロキシメチル基配向やグルコース骨格に関する諸問題について解決を見た。セルロース II 型結晶は、単斜晶であり、空間群 P2<sub>1</sub>、密度 1.60 g/cm<sup>3</sup> で単位格子内に、互いに独立な 2 本の分子鎖が逆向きにグルコース残基半分 (1/4c) ずれて充填している。Fig. 1-6 と Table 1-1 に、これまで報告されてきた代表的な結晶構造データの概要をまとめた。

セルロース III<sub>I</sub> 型、II 型はどちらもヒドロキシメチル基配向は *gt* である。そのため、I 型では、O5 とのみ作用するプロトドナーの O3 が、O3-H $\cdots$ O5 (主)と O3-H $\cdots$ O6 (副)の 2 つに分かれた分子内水素結合が存在する。分子鎖間関係を見ると、II 型では、平行に配置される分子鎖間では O2-H $\cdots$ O6, O6-H $\cdots$ O2、逆平行な配置でとなる分子鎖間について、O6-H $\cdots$ O3, O6-H $\cdots$ O6, O2-H $\cdots$ O2 などといった多様な水素結合の存在が示唆されている。一方、III<sub>I</sub> 型では、O2-H $\cdots$ O6, O6-H $\cdots$ O2 分子鎖間水素結合が隣接分子鎖を交互につないでいる<sup>23</sup>。

セルロース III<sub>I</sub> 型を 260 °C のグリセロール中で処理するとセルロース IV<sub>I</sub> が作製され、直接セルロース I から調製することは出来ない。このセルロース IV<sub>I</sub> はセルロース I $\beta$  と

同じ X 線回折図を与える。近年、高結晶性セルロース III<sub>I</sub> を 260°C にて、30 分間グリセロール処理した試料の X 線回折、FT-IR 測定、固体 <sup>13</sup>C-NMR 測定を行われた結果、この試料はラミーセルロースと同程度の結晶性を持つセルロース Iβ 型であること<sup>24</sup> が明らかになった。繰り返し処理や高温での処理によってセルロース IV<sub>I</sub> 型が得られる可能性も追求されたが、いずれもセルロース Iβ 型のみ得られている。このことから、セルロース IV<sub>I</sub> 型とはセルロース Iβ 型の乱れた構造であると解釈される。

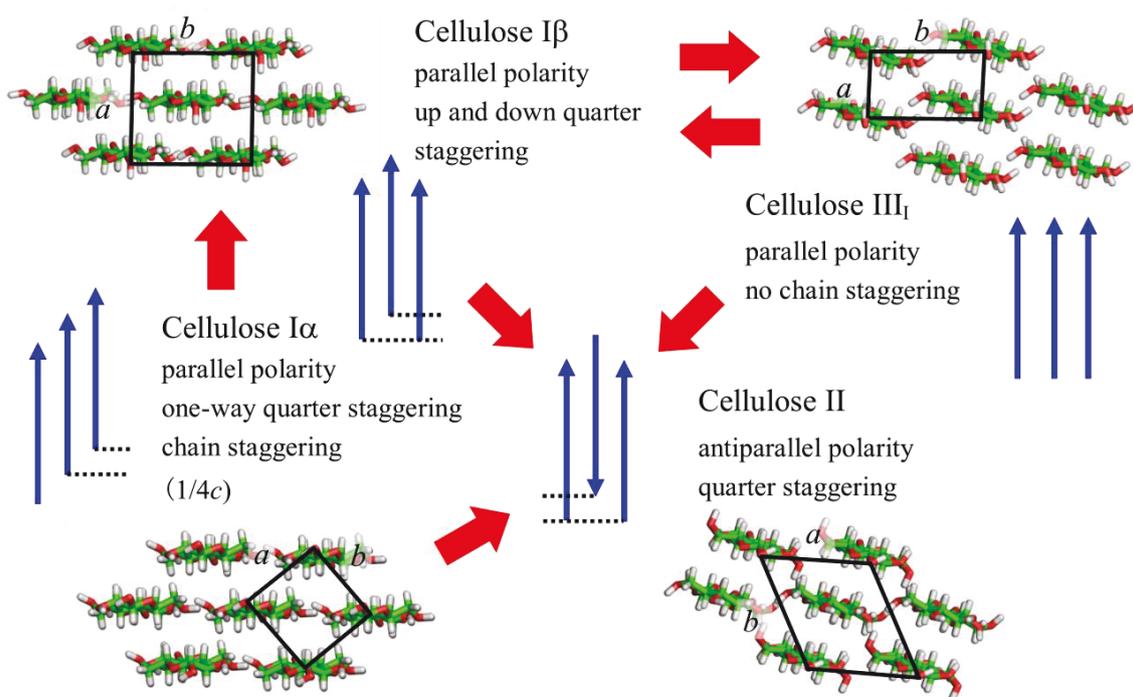


Fig. 1-6 The  $ab$  projections and unit cell of the crystal structures of cellulose I $\alpha$ , I $\beta$ , II and III<sub>1</sub>. The blue arrows show the packing of a cellulose molecule chain.

Table 1-1 Lattice parameters of the crystal structures of cellulose polymorphs

Allomorph	Space group	Chain packing	lattice constants						no.of chains	density (g/cm <sup>3</sup> )	Ref
			<i>a</i> (nm)	<i>b</i> (nm)	<i>c</i> (nm)	$\alpha$ (deg.)	$\beta$ (deg.)	$\gamma$ (deg.)			
I $\alpha$	P1	P"up" <sup>a</sup>	6.717	5.962	10.400	118.08	114.80	80.37	1	1.61	15
I $\beta$	P2 <sub>1</sub>	P"up"	7.784	8.201	10.380	90.00	90.00	96.50	2	1.63	16
II	P2 <sub>1</sub>	AP <sup>b</sup>	8.010	9.040	10.360	90.00	90.00	117.10	2	1.60	14
III <sub>1</sub>	P2 <sub>1</sub>	P"up"	4.450	7.850	10.310	90.00	90.00	105.10	1	1.54	17

<sup>a</sup> P"up" parallel up packing ( reducing end points toward c direction )

<sup>b</sup> AP anti-parallel packing

## 第3節 計算化学手段と使用プログラム

### 1.3.1 計算化学手段の概略

計算化学手段は、その背景理論によって、分子力学 (MM : Molecular Mechanics) 法と分子軌道 (MO : Molecular Orbital) 法に大別される。前者は、原子を原子核と電子を含めて1点で表現し、典型的な古典力学によって、分子の立体構造からポテンシャルエネルギーを近似的に求める。この際、経験的パラメータを適用することでポテンシャルエネルギーを計算する。一方、後者は量子力学を背景に電子構造も考慮され、経験的なパラメータを使わずに計算出来、数学的にも厳密であるが、MM法と比べて圧倒的に多い計算量を必要とする。DFT法は、MO法と同様に量子化学理論を背景とするが、生体高分子のような大規模な系に適用できる手段である。この方法は基底状態に関しては、電子密度によって波動関数が一意的に決まることに基づいている。

つまり、基底状態に関しては、量子力学で Schrödinger 方程式を解くことと同等である。

立体構造最適化とは、プログラムに初期構造を入力し、ポテンシャルエネルギーが最も安定な立体構造を求めるプロセスである。さらに、MD法では、ポテンシャルエネルギー関数をもとに Newton の運動方程式を解き、分子の動きを解析する (量子力学を背景とした第一原理分子動力学法という手段もある。)。MD法で生体高分子のダイナミクスを解析する場合、MMポテンシャル関数を用いる古典MD法が一般的である。物質系を構成する粒子1つ1つに対する運動方程式を、数値解析によって、時間に対する位置、速度、エネルギーなどの変化をシミュレーションする。物質 (固体, 液体, 気体) は、粒子 (原子, 分子, イオン) の集合体であるため、系のマクロな性質 (密度, 硬さ, 内部エネルギー等) は、系を構成する多数の粒子の位置や速度といったミクロな変数の統計量として決定される。MD法は、マクロな性質に内在する原子・分子レベルでのミクロな現象を明らかにすることが出来る。

現在の高性能計算機をもってしても、実際に我々が観測するマクロな性質と比べては

るかに少ない粒子数とはるかに短い時間を計算機内部で仮想的に再現している現状である。従って、近似的に温度一定 (すなわち運動エネルギーの平均が一定)、体積一定、あるいは圧力一定の条件を必要に応じて設定することが必要となる。

一般に、材料を解析対象とする場合、せいぜいナノメートルオーダーの領域が計算対象となる。その上で、Fig. 1-7 に示すような周期境界条件を設定し、基本セルでおこった現象は周囲にあるすべてのレプリカセルに反映させることで、仮想的に無限大の領域を評価する。計算対象が結晶材料の場合、周期境界セルと結晶単位格子を一致させる必要はなく、周期境界セルを複数の単位格子で構成する。これによって、単位格子を超えた領域の現象が再現される。

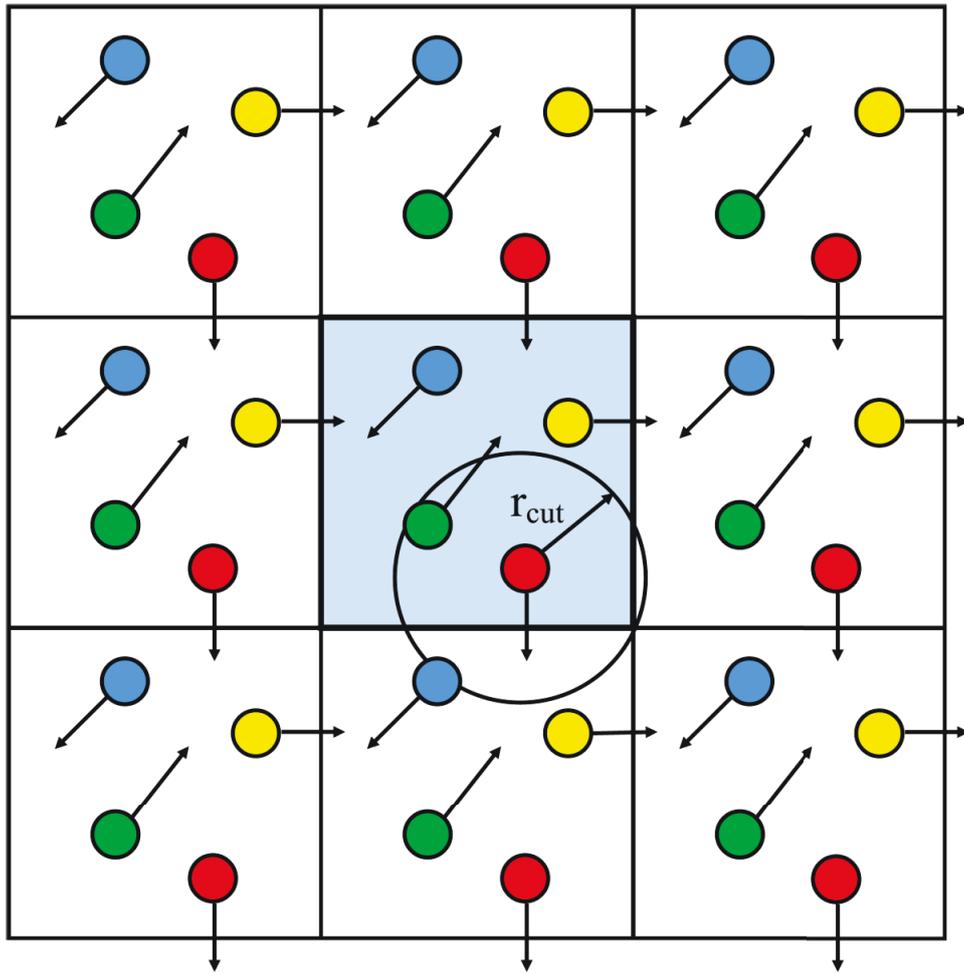


Fig. 1-7 Two-dimensional representation of periodic boundary condition.

### 1.3.2 計算に用いたプログラム

#### 分子動力学計算プログラムパッケージ AMBER

AMBER (Assisted Model Building with Energy Refinement)<sup>25</sup>は、カリフォルニア大学の Kollman らのグループによって生体分子のために開発されたモデリングおよび分子力学と動力学計算シミュレーションプログラムパッケージである。AMBER は、ハーバード大学で開発された CHARMM (Chemistry at HARvard Molecular Mechanics)、フロンゲン大学 (現在の開発はチューリヒ工科大学) で開発された GROMOS (GRONigen MOlecular Simulation) などと並ぶ、この分野の草分け的なソフトウェアである。AMBER は独自の有用性の高いパラメータを持ち、近年このプログラムを用いた論文が多数報告されている。現在は、AMBER14 がリリースされ、計算支援ソフトウェアとして AMBER Tools 13 が公開されている。

AMBER はプログラム開発過程で、ポテンシャルの改良にも力が注がれており、特に、点電荷の算出に静電ポテンシャル最適化法 (ESP; Electro Static Potential) を取り入れ、そのことは、相互作用エネルギーの良好な再現をするために重要な意味を持った。ESP 法では、分子軌道計算から得られた軌道を用い、分子表面上において静電ポテンシャルを計算していく。後に、ESP 法を更に改良した RESP (Restrained Electro Static Potential) 法が提案されている。

AMBER 力場は、レナードジョーンズ及びクーロンポテンシャルによる非結合相互作用、結合長の伸縮、結合角の変角、及び二面角のねじれなどの分子内自由度によるポテンシャル項の和で表現される。ここで、レナードジョーンズポテンシャルは、ファンデルワールス力による引力に、近接反発力を加えたポテンシャルである。(1)式は AMBER 力場の関数形の例であり、これに各原子種のレナードジョーンズパラメーターや、原子種の組み合わせによってできる様々な原子間結合、結合角、二面角それぞれについてのパラメータ (平衡値と力の定数等) がデータベースとなって全体の力場となってお

り、ポテンシャルエネルギー関数に該当する。変数の概要について、Fig. 1-8 に示す。

本研究では糖質の分子性結晶を扱っており、分子力学を必要とする場面では、糖分子パラメータを適用させている。現在利用出来る糖分子パラメータの一つに、ジョージア大学の Woods ら<sup>26, 27</sup>により開発されている GLYCAM シリーズが存在する。現在、GLYCAM06 が公開され、孤立電子対を明示的に表現した EP モデルや、様々な糖残基に対応したパラメータ整備が精力的に行われている。これらの力場パラメータの開発に当たっては数多くのモデル化合物に対して HF/6-31G(d)レベルの量子化学計算を実施することで評価・検討がなされており、糖残基を構成する原子に RESP 電荷が個別に割り当てられている。

$$\begin{aligned}
V = & \sum_{bonds} K_{ij}^r (r_{ij} - r_{ij}^{eq})^2 \\
& + \sum_{angles} K_{ijk}^\theta (\theta_{ijk} - \theta_{ijk}^{eq})^2 \\
& + \sum_{dihedrals} \frac{V_{ijkl}^n}{2} [1 + \cos(n\phi_{ijkl} - \gamma_{ijkl})] \\
& + \sum_{j=1}^{atoms} \sum_{i>j}^{atoms} \frac{q_1 q_2}{\epsilon R_{ij}} \\
& + \sum_{j=1}^{atoms} \sum_{i>j}^{atoms} \left[ \frac{A_{ij}}{R_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{R_{ij}^6} \right] \\
& + \sum_{improper} K_{imp}^x (x_{imp} - x_{imp}^{eq})^2
\end{aligned} \tag{1}$$

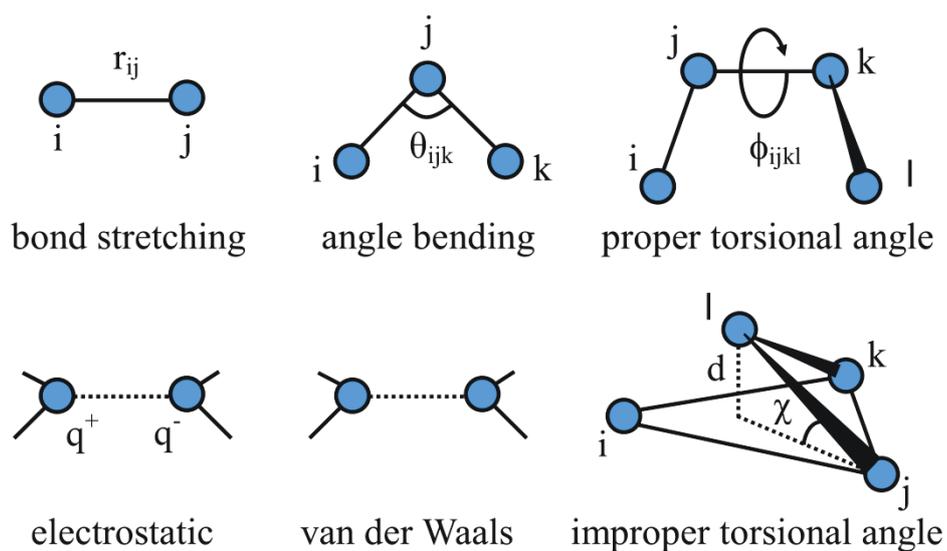


Fig. 1-8 The schematic view of each variable in the equation showing potential energy.

## 量子化学計算プログラム Gaussian

半経験的な分子軌道法には、複数のパラメータの信頼性の向上や、d 電子系への応用などが困難であるという欠点が存在した。それらの欠点を克服するために、Pople らによって Gaussian<sup>28</sup>が開発された。1970 年に初版 Gaussian 70 が開発され、改訂を重ねる中で DFT 法を取り入れるなどの改良もなされた。実験データから導き出される経験的パラメータを一切用いない非経験的分子軌道法の普及に寄与した。Slater 軌道の代わりに Gauss 軌道を導入したことが名前の由来となっており、Gauss 軌道の導入が、Hartree-Fock 法や密度汎関数理論などの第一原理計算を用いた方法の研究を加速させた。今日、第一原理計算プログラムとして最も広く用いられている。

現在は Gaussian, Inc.の量子化学計算プログラムであり、多くの分子や反応の性質を予測することができる。その例として、分子のエネルギーと構造、遷移状態のエネルギーと構造、分子軌道、結合エネルギーと反応エネルギー、多極子モーメント、振動周波数、原子電荷と正電荷ポテンシャル、IR とラマンスペクトル、NMR 物性、分極率と超分極率、熱化学的性質、反応経路と多岐に渡る。これらの性質は、分子系の基底状態や励起状態についてだけでなく、気相中と溶液中の両方においても求めることができ、さらに置換基効果や反応のメカニズム及びポテンシャルエネルギー面や励起エネルギーなどの分野を研究する場合に強力な手段となる。現在は Gaussian09 が最新版としてリリースされている。

## 第4節 研究方法

### 1.4.1 結晶モデルの構築と計算システムの概要

セルロースの X 線・中性子回折によって得られる繊維図には奇数次の子午線反射が生じないため、繊維軸方向 ( $c$  軸) に 2 回らせん対称が存在する。このことは、原子  $A(x, y, z)$  に対して、これを  $c$  軸周りに 180 度回転させた後に  $c$  軸に沿って  $c$  軸長の半分正方向に移動した点に等価な原子  $A'(-x, -y, z + 0.5)$  が複製されることを意味する。結晶モデル構築に先立って、セロビオースの原子座標から、結晶構造の 2 回らせん対称と一致するように独立分子鎖モデルを構築した。結晶モデルの構築に当たっては、独立分子鎖モデルを空間群と格子パラメータに従って対称操作した。単位格子の軸ベクトルの取り方として、 $c$  軸を分子鎖の軸として、 $a$  軸と  $b$  軸の挟む角  $\gamma$  を鈍角に、また  $a$  軸に短い軸を取ることとする。座標軸は  $y$  軸の正の向きは  $x$  軸の正の向きから一直角分反時計回りに回転した向きとする右手系に従った軸ベクトルを採用されている (Fig. 1-9)。本学位研究では、必要な原子座標や空間群、格子パラメータといった情報は高分解能 X 線・中性子線回折による結晶構造解析データから得た。結晶モデルは空間群および格子パラメータを参考に基準とする分子を三次元空間におき、結晶構造の対称性に基づいて構築した。分子鎖数や残基数、形状の異なるものを複数作成し、計算に使用した。

実際のセルロースナノファイバーはマイクロメートルオーダーの繊維長を有し、分子シミュレーションが扱う系としては、無限長を想定した系が考えられる。セルロース結晶を対象とした初期の MD 計算研究例として、水溶液中のセルロース I 型結晶繊維を対象とした MD 計算研究が Heiner らによって報告された。周期境界条件で基本セルのセルロース結晶相 (重合度  $6 \times$  分子鎖数 36 本) は、縦方向が 6 層の分子鎖シートで構成され、周期境界条件によって、繊維軸を含む水平方向に無限大の大きさを持つ平板状のセルロース結晶として設定された。それに対し、本研究では、重合度が 40 残基長の、24 本、36 本または 48 本の分子鎖数で構成される極小な結晶モデルを構築し、それらを周期境界

セル内に水和させた計算モデルとした。周期境界条件によって、まるで、ナノサイズのセルロースマイクロフィブリル断片が水溶液中で分散している状態が想定される。

こうして、本研究における溶媒和 MD 計算では、構築した結晶モデルを周期境界セルの中央に位置させ、その周囲に溶媒分子 (例えば TIP3P 水分子<sup>29</sup> や有機分子) を約 20,000 ~ 40,000 個程度配置したものを計算システムとした (Fig. 1-10)。計算プログラムは AMBER を使用し、対象系のモデリングに際しては、糖分子パラメータとして Glycam04 あるいは Glycam 06 を適用した。溶媒和 MD 計算に入る前段階として、構造最適化計算によって、溶媒や溶質の構造緩和を実施した。そうした前処理を経た系に対して、10 kcal/mol · Å<sup>2</sup> の位置束縛条件を適用しながら、20 K から目的温度まで 1 K/ps の速度で昇温プロセス後、位置束縛条件を解除して平衡化計算を実施した。その後、目的に応じた手続きを経て、production run に移行し、得られた MD 軌跡の解析を行った。

一方、Fig. 1-11 に示すような結晶モデルから切り出した孤立分子鎖シートモデル (重合度 2~10、分子鎖数 2、3 または 4 本) の立体構造最適化計算を行った。分子鎖シートモデルの最適化挙動より、結晶内の格子エネルギーの影響を受けない孤立分子鎖シートがポテンシャル曲面上でどのような位置にあるかを推定した。MD 計算で対象とした有限結晶モデルと比較して計算対象のサイズがはるかに小さいこと、および初期構造から大幅な立体構造変化が予想されるため、電子構造の緩和を考慮出来る DFT 法を採用した。どの計算においても共通して、DFT 構造最適化計算の前段階に、Glycam06 を組み合わせた AMBER 力場で水素原子のみを最適化した。続いて、基底関数を 6-31G(d) とした B3LYP 法あるいは CAM-B3LYP 法で DFT 構造最適化計算を実施し、得られた緩和構造に対して、同じ汎関数で、基底関数を 6-311G(d) としたエネルギー一点計算に供した。これらの計算は Gaussian09 プログラムにより実施した。

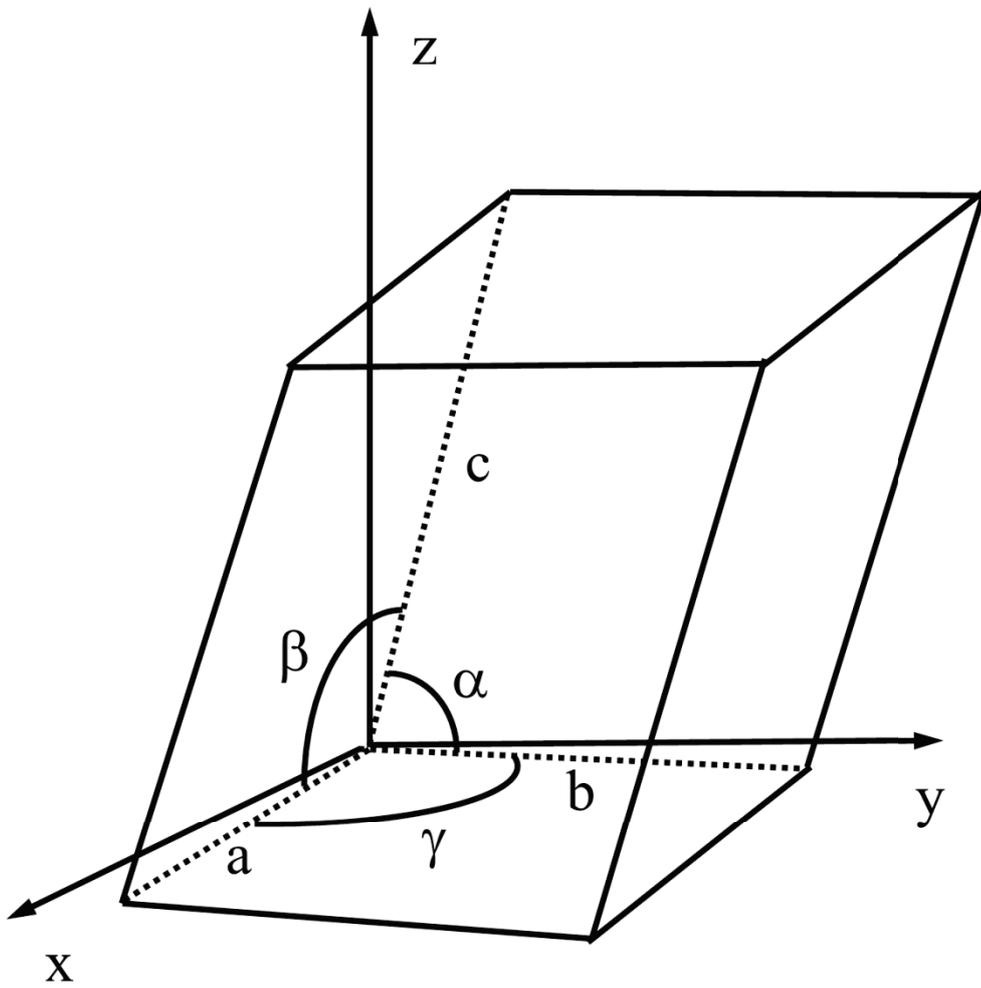


Fig. 1-9 Unit cell definition using parallelepiped with lengths  $a$ ,  $b$ ,  $c$  and angles between the sides given by  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ .

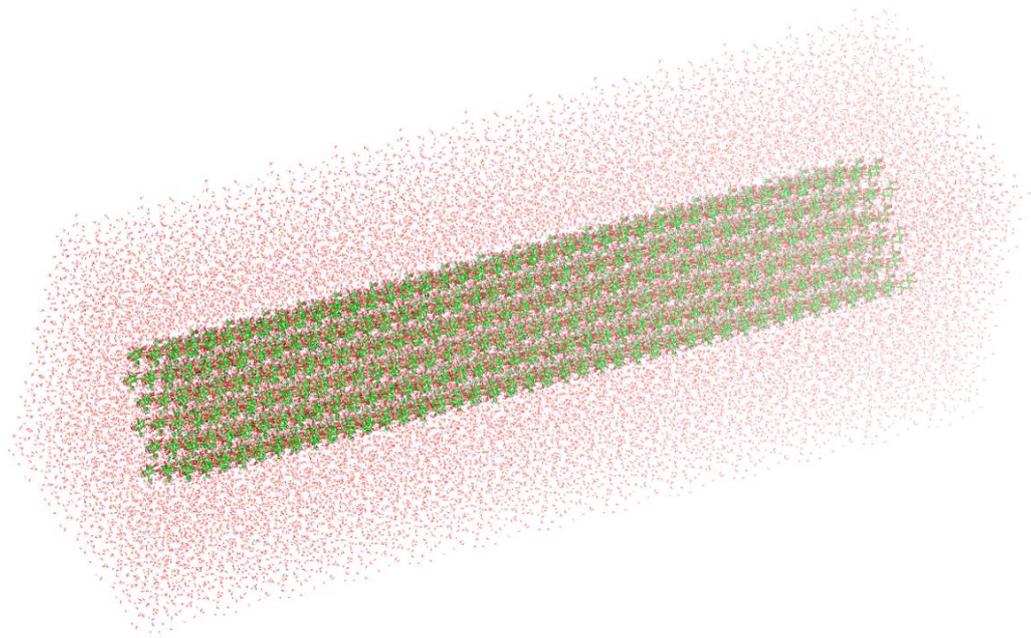


Fig. 1-10 The solvent box system of a cellulose crystal model.

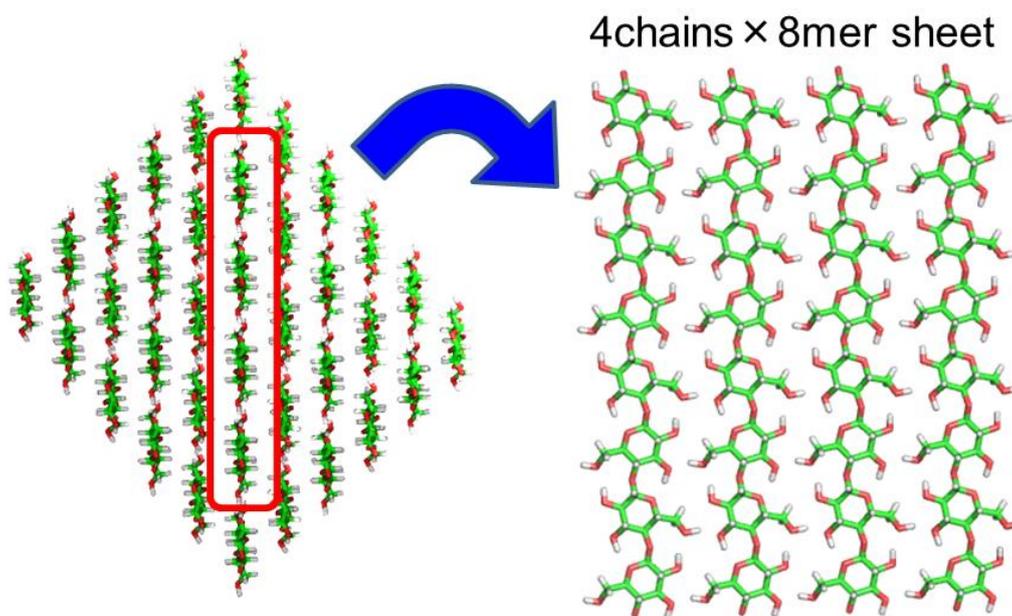


Fig. 1-11 The isolated chain sheet extracted from the cellulose crystal model.

### 1.4.3 分子鎖間相互作用エネルギーの算出法と基底関数重なり誤差の補正

モデル全体のエネルギーを  $E_{\text{total}}$ 、任意の 1 分子鎖のエネルギー  $E_1$  と隣接分子鎖のエネルギー  $E_2$  と定義して、分子鎖間相互作用エネルギー  $\Delta E_{\text{bind}}$  を以下の式で算出した。

$$\Delta E_{\text{bind}} = 1/2[E_{\text{total}} - (E_1 + E_2)] \quad (2)$$

3 あるいは 4 分子鎖の分子鎖シートモデルでは、内部の 1 分子鎖のエネルギーを  $E_1$ 、その他の分子鎖のエネルギーを  $E_2$  とした。ここで、4 分子鎖シートモデルでは、シート内に 2 つの分子鎖が内部に存在するので、それぞれの内部分子鎖から得られた  $\Delta E_{\text{bind}}$  は平均を取った。2 分子鎖モデルでは、 $E_1$ 、 $E_2$  両方とも、どちらかの分子鎖のエネルギーと定義することで対処した。 $\Delta E_{\text{bind}}$  算出のために、基底関数重なり誤差 (BSSE ; Basis Set Superposition Error)<sup>30</sup> を Counterpoise 法<sup>31</sup>により補正した。

A-B という会合体を計算するとき、A-B 中の A は、B の基底関数を取り込むことが出来る。ふつうはこの取り込みは相互作用とみなせるが、小規模の基底関数では、B の基底関数を A の基底関数の分極関数や分散関数のように使われてしまう。その結果、相互作用エネルギーだけでなく、基底関数の改良による安定化エネルギー (BSSE) が取り込まれた形で数値が出力される。どんなに大規模な基底関数であってもこの寄与が完全に除外しない。一般に counterpoise 法では、Fig. 1-12 のエネルギー計算①～⑤のそれぞれのエネルギーにより、BSSE は以下のように求められる。

$$BSSE = (E_A^g - E_A^d) + (E_B^g - E_B^d) \quad (3)$$

これにより、BSSE 補正された系のエネルギーは次のようになる。

$$BSSE \text{ Corrected energy} = E_{AB} + BSSE \quad (4)$$

一般化すると、n 個の分子の相互作用系の場合は(3)式、(4)式に相当するエネルギー計算は①'～③'のような手続きを 2 分子の場合と同様に行うこととなる。①'全系 (1, 2...n) のエネルギーを計算、②'分子 1～n の計算の際、左記の分子以外の分子上に基底関数のみを置いた計算、③'分子 1～n のみの計算の 2n+1 パターンの計算を実行する。

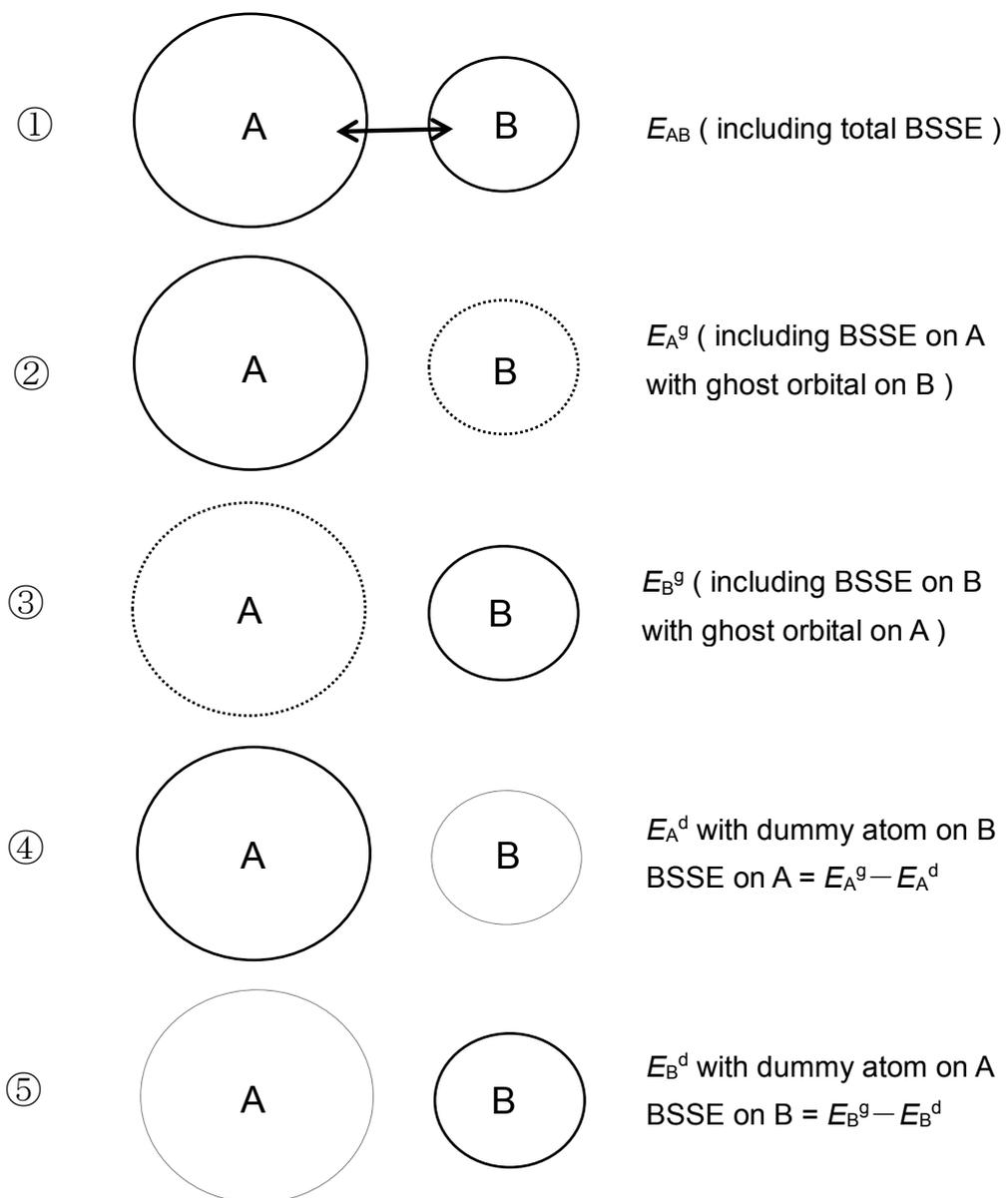


Fig. 1-12 The flow of the BSSE compensation by the counterpoise method.

## 参考・引用文献

- (1) Doblin MS, Kurek I, Wilk DJ, Delmer DP (2002) Cellulose Biosynthesis in Plants: from Genes to Rosettes. *Plant Cell Physiol* 43:1407-1420.
- (2) Hu SQ, Gao YG, Tajima K, Sunagawa N, Zhou Y, Kawano S, Fujiwara T, Yoda T, Shimura D, Satoh Y, Munekata M, Tanaka I, Yao M (2010) Structure of bacterial cellulose synthase subunit D octamer with four inner passageways. *Proc Natl Acad Sci USA* 107:17957-17961.
- (3) Morgan JLW, Strumillon J, Zimmer J (2013) Crystallographic Snapshot of cellulose synthesis and membrane translocation. *Nature* 493:181-187.
- (4) Whitney JC, Hay ID, Li C, Eckford PDW, Robinson H, Amaya MF, Wood LF, Ohman DE, Bear CE, Rehm BH, Howell PL (2011) Structural basis for alginate secretion across the bacterial outer membrane. *Proc Natl Acad Sci USA* 108:13083-13088.
- (5) Sunagawa N, Fujiwara T, Yoda T, Kawano S, Satoh Y, Yao M, Tajima K, Dairi T (2013) Cellulose complementing factor (Ccp) is a new member of the cellulose synthase complex (terminal complex) in *Acetobacter xylinum*. *J Biosci Bioeng* 115:607-612.
- (6) Araki J, Wada M, Kuga S, Okano T (1998) Flow properties of microcrystalline cellulose suspension prepared by acid treatment of native cellulose. *Colloids Surfaces A: Physicochem Eng Aspects* 142:75-82.
- (7) Saito T, Isogai A (2004) TEMPO-Mediated Oxidation of Native Cellulose. The Effect of Oxidation Conditions on Chemical and Crystal Structures of the Water-Insoluble Fractions. *Biomacromolecules* 5:1983-1989.
- (8) Hayashi N, Ishihara M, Sugiyama J, Okano T (1998) Selective degradation of the cellulose Ia component in *Cladophora* cellulose with *Trichoderma viride* cellulase *Carbohydr Res* 305:109-116.
- (9) Endo T, Kitagawa R, Zhang F, Hirotsu T, Hosokawa J (1999) Mechano-chemical Preparation of Novel Cellulose-Poly (ethylene glycol) Composites *Chem Lett* 28:1155-1157
- (10) Kondo T (2005) Nano-pulverization of native cellulose fibers by counter collision in water. *Cellulose Commun* 12:189-192.
- (11) Kondo T (2008) New Aspects of Cellulose Nanofibers. *Mokuzai Gakkaishi* 54:107-115.
- (12) Attala RH, VanderHart DL (1984) Native cellulose: a composite of two distinct crystalline forms. *Science* 223:283-285.
- (13) Sugiyama J, Vuong R, Chanzy H (1991) Electron diffraction study of the two crystalline phases occurring in native cellulose from an algal cell wall. *Macromolecules* 24:4168-4175.
- (14) Langan P, Nishiyama Y, Chanzy H (2001) X-ray structure of mercerized cellulose II at 1 angstrom resolution. *Biomacromolecules* 2:410-416.
- (15) Nishiyama Y, Sugiyama J, Chanzy H, Langan P (2003) Crystal structure and hydrogen bonding system in cellulose Ia from synchrotron X-ray and neutron fiber diffraction. *J Am Chem Soc*

125:14300–14306.

- (16) Nishiyama Y, Langan P, Chanzy H (2002) Crystal structure and hydrogen-bonding system in cellulose I $\beta$  from synchrotron X-ray and neutron fiber diffraction. *J Am Chem Soc* 124:9074–9082.
- (17) Wada M, Chanzy H, Nishiyama Y, Langan P (2004) Cellulose III<sub>1</sub> crystal structure and hydrogen bonding by synchrotron X-ray and neutron fiber diffraction. *Macromolecules* 37:8548–8555.
- (18) 近藤哲男：セルロースの1次構造。「セルロースの事典」，セルロース学会編，朝倉書店，東京，pp.77-81 (2000).
- (19) Sarko A, Muggli R (1974) Packing Analysis of Carbohydrates and Polysaccharides. III. *Valonia* Cellulose and Cellulose II. *Macromolecules* 7: 486-494.
- (20) Gardner KH, Blackwell J (1974) The structure of native cellulose. *Biopolymers* 13:1975-2001.
- (21) Koyama M, Helbert W, Imai T, Sugiyama J, Henrissat B (1997) Parallel-up Structure Evidences the Molecular Directionality during Biosynthesis of Bacterial Cellulose. *Proc Natl Acad Sci USA* 94:9091–9095.
- (22) Sarko A, Southwick J, Hayashi J (1976) Packing analysis of carbohydrates and polysaccharides. 7. Crystal structure of cellulose III<sub>1</sub> and its relationship to other cellulose polymorphs. *Macromolecules* 9:857–863.
- (23) Sugiyama J, Horikawa Y (2008) The cellulose microfibril and its polymorphs. *Mokuzai Gakkaishi* 54:49-57.
- (24) Wada M (2001) In Situ observation of the crystalline transformation from cellulose III to I $\beta$ . *Macromolecules* 34:3271–3275.
- (25) Case DA, Darden TA, Cheatham TE III, Simmerling CL, Wang J, Duke RE, Luo R, Walker RC, Zhang W, Merz KM, Roberts B, Wang B, Hayik S, Roitberg A, Seabra G, Kolossváry I, Wong KF, Paesani F, Vanicek J, Liu J, Wu X, Brozell SR, Steinbrecher T, Gohlke H, Cai Q, Ye X, Wang J, Hsieh M-J, Cui G, Roe DR, Mathews DH, Seetin MG, Sagui C, Babin V, Luchko T, Gusarov S, Kovalenko A, Kollman PA (2009) AMBER 11. University of California, San Francisco.
- (26) Kirchner KN, Woods RJ (2001) Solvent interactions determine carbohydrate conformation. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:10541–10545.
- (27) Basma M, Sundara S, Calgan D, Venali T, Woods RJ (2001) Solvated ensemble averaging in the calculation of partial atomic charges. *J Comput Chem* 22:1125–1137.
- (28) Frisch MJ, Trucks GW, Schlegel HB, Scuseria GE, Robb MA, Cheeseman JR, Scalmani G, Barone V, Mennucci B, Petersson GA, Nakatsuji H, Caricato M, Li X, Hratchian HP, Izmaylov AF, Bloino J, Zheng G, Sonnenberg JL, Hada M, Ehara M, Toyota K, Fukuda R, Hasegawa J, Ishida M, Nakajima T, Honda Y, Kitao O, Nakai H, Vreven T, Montgomery Jr JA, Peralta JE,

Ogliaro F, Bearpark M, Heyd JJ, Brothers E, Kudin KN, Staroverov VN, Kobayashi R, Normand J, Raghavachari K, Rendell A, Burant JC, Iyengar SS, Tomasi J, Cossi M, Rega N, Millam JM, Klene M, Knox JE, Cross JB, Bakken V, Adamo C, Jaramillo J, Gomperts R, Stratmann RE, Yazyev O, Austin AJ, Cammi R, Pomelli C, Ochterski JW, Martin RL, Morokuma K, Zakrzewski VG, Voth GA, Salvador P, Dannenberg JJ, Dapprich S, Daniels AD, Farkas O, Foresman JB, Ortiz JV, Cioslowski J, Fox DJ (2009) Gaussian 09, Revision C.01. Gaussian Inc., Wallingford.

- (29) Jorgensen WL, Chandrasekhar J, Madura J, Impey RW, Klein ML (1983) Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. *J Chem Phys* 79:926–935.
- (30) Boys SF, Bernardi F (1970) The calculation of small molecular interactions by the differences of separate total energies. Some procedures with reduced errors. *Mol Phys* 19:553–566.
- (31) Simon S, Duran M, Dannenberg JJ (1996) How does basis set superposition error change the potential surfaces for hydrogen-bonded dimers? *J Chem Phys* 105:11024–11031.

## 第2章

### セルロース III<sub>I</sub>型結晶モデルで観察される結晶構造転換挙動

#### 第1節 緒言

セルロース結晶は天然型を起点として、分子鎖の配置と配向が異なるいくつかの結晶形へ転移する。その中でも、セルロース III<sub>I</sub>型結晶は、天然 I 型結晶試料の液体アンモニア処理によって得られ、さらに最安定な II 型結晶へと転移する。近年、Wada ら<sup>1</sup>の研究グループによって放射光を用いた X 線・中性子線による高分解能のセルロース III<sub>I</sub>型の結晶構造解析データが発表された。

セルロース III<sub>I</sub>型結晶と天然 I 型結晶の結晶形間の結晶転移は、ヒドロキシメチル基配向の変換と分子鎖間水素結合の組み替えを伴う I 型の平面状分子シートと III<sub>I</sub>型の波形分子鎖シート間の構造変換で特徴付けられる。

また、筆者の所属研究室では、これまで、セルロース III<sub>I</sub>型結晶モデルを対象とした熱水処理に相当する条件で溶媒和 MD 計算を実施し、提案されていた III<sub>I</sub>型⇒I<sub>β</sub>型の結晶転移挙動を計算機上で部分的に再現することに成功した<sup>2</sup>。セルロース結晶形間の結晶転移に関する分子論的理解は、セルロース科学の分野で重要なテーマである。さらにセルラーゼによるセルロースバイオマスの高効率糖化手段として、セルロース III<sub>I</sub>型結晶への変換を経るプロセスが注目されている。

本章では、セルロース III<sub>I</sub>型結晶モデルの 370 K MD 計算を実施し、得られた軌跡により、結晶モデルの形状変化や構造パラメータの挙動、および分子鎖間水素結合交換の詳細を解析した。さらに、III<sub>I</sub>型および I 型結晶を構成する分子鎖シートに対して DFT 計算を実施し、分子鎖シート構造の安定性を評価した。

## 第2節 方法

### 2.2.1 セルロース III<sub>I</sub>型結晶モデルの分子動力学計算

セルロースIII<sub>I</sub>の結晶モデルの構築には、Wadaら<sup>1</sup>によるX線と中性子回折実験による結晶構造解析データを用いた。セルロースIII<sub>I</sub>型結晶はセルロース分子鎖がジグザグに配置された構造であり、セルロース結晶構造データに従って、2種の親水性(010)、(100)面と疎水性(1-10)面での解析が出来るように、形状の異なるAおよびBの2種の結晶モデルを設定した。Table2-1に構築した結晶モデルについてまとめた。結晶モデルの名称は、“モデルタイプ・分子鎖数 - 重合度”で定義した。セルロース結晶モデル表面を構成する結晶面が異なる2種類の結晶モデルについて、重合度 (DP : Degree of Polymerization)がグルコース残基長40のセルロース分子鎖24本または48本で構成する合計4種の結晶モデルを構築した (Table 2-1)。2種の結晶モデルの*ab*投影面をFig. 2-1に示す。TIP3P水分子モデル<sup>3</sup>を満たした溶媒和ボックス中に1個の結晶モデルを配置し、周期境界条件を適用した系を計算システムとした。

MD計算プログラムにはAMBER9のPMEMDモジュール<sup>4</sup>、糖分子パラメータにはGLYCAM04<sup>5, 6</sup>を使用した。初期段階で、系の構造緩和を目的とした最適化計算を実施し、温度20 K⇒300 Kの昇温過程において、セルロースIII<sub>I</sub>結晶モデルに10 kcal/mol・Å<sup>2</sup>の位置束縛条件を適用しながら、NTVアンサンブルで100 ps以上の平衡化計算に供した。次に、セルロースIII<sub>I</sub>結晶モデルに対する位置束縛条件を解除し、300 K、1 barのNTPアンサンブル条件で1 nsの計算を実施し、1 K/psで370 Kまで昇温した。平衡化後に370 K、1 barのNTPアンサンブルでMD計算を最大80 nsまで実施した。比較のため、300 K、1 barの定温・定圧MD計算も実施した。これらの計算はPME法<sup>7</sup>で、水素原子を含む結合の伸縮振動を制限するSHAKEオプション<sup>7</sup>を設定し、積分ステップ2 fsとした。通常の原子間非結合相互作用に対して、三つの共有結合を介して連結した原子間の非結合相互作用にかける係数である1—4相互作用スケール因子は糖質分子の設定値を採用した。

Table 2-1 Dimensions and number of molecules of crystal models

Label	Base plane dimensions	No. of chains	DP	No. of waters
<i>A24-40</i>	6 (010)×4 (1-10)	24	40	21 197
<i>B24-40</i>	6 (010)×4 (100)	24	40	16 846
<i>A48-40</i>	8 (010)×6 (1-10)	48	40	41 373
<i>B48-40</i>	8 (010)×6 (100)	48	40	30 631

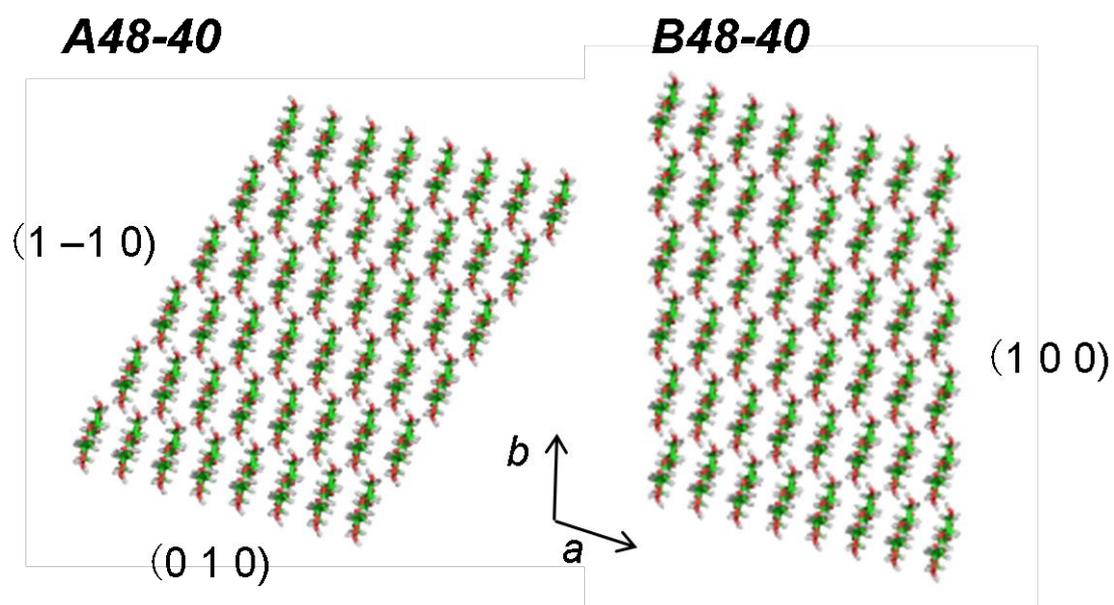


Fig. 2-1 Projections of the  $ab$  base-planes of two 48-chain crystal models and lattice plane labels.

分子の表示には、PyMOL™ 1.5.0.3 (Schödinger, LLC)ソフトウェアによって描画した。以降、本研究では、本ソフトウェアを分子グラフィックスとして使用した。

MD 計算によって得られた軌跡データの解析に当たっては、AMBER プログラムパッケージに含まれる PTRAJ モジュールを使用した。まず、結晶モデル内部 (中央 4 分子鎖をコア分子鎖と定義)に存在する残基のヒドロキシメチル基配向転移における構造パラメータ変化を解析した。これは、ある任意のグルコース残基のヒドロキシメチル基配向と、水素結合ペアとなる残基のヒドロキシル基の回転パラメータとそれらに係る水素結合ジオメトリーを時系列で追跡した。一方、結晶モデル表面残基のヒドロキシメチル基配座分布もまた解析した。任意の結晶面における、分子鎖間水素結合は時間に対する占有率として、全残基について算出し、結晶全体の交換率として評価した。次に、構成残基ごとに水素結合占有率を抽出し、グラフィック表示する解析手段を開発し、可視化のために Voxler® (Golden Software, Inc., Golden, CO, USA)ソフトウェアを使用することで、水素結合ペアの位置と占有率を色によって表示した。

## 2.2.2 セルロース III<sub>I</sub>型、Iβ型結晶を構成する孤立分子鎖シートモデルの量子化学計算

セルロース III<sub>I</sub>型および Iβ型結晶の分子鎖シートの安定性を評価するために、Wadaらおよび Nishiyama ら<sup>8</sup>による X線・中性子回折実験の結晶構造解析データを用い、III<sub>I</sub>型については (1-10)面と (100)面由来の 2 種、Iβ型については (100)面由来の 1 種の分子鎖シートに対して残基・分子鎖数が異なる複数の孤立分子鎖シートモデルを構築し、DFT 法によって構造最適化した。孤立分子鎖シートモデルは分子鎖数が 2~4 で、それぞれ DP がグルコース残基長 4 か 6 のいずれかで構成されるようにした。

DFT構造最適化計算の前段階に、Glycam06を適用したAMBER力場で水素原子のみを最適化した。続いて、基底関数を6-31G(d)とした、B3LYP法<sup>9,10</sup>でDFT構造最適化計算を実施し、得られた緩和構造に対して、同じ汎関数で、基底関数を6-311G(d)としたエネルギー一点計算に供した。

また、Liiらによって、糖質分子のDFT計算における基底関数として、分散関数 (diffuse 関数)が必要であると提案<sup>11</sup>していたことから、一部の孤立分子鎖シートモデルに対して、B3LYP/6-311+G(d)//B3LYP/6-31G(d)計算を実施した。エネルギー一点計算では、モデル全体のエネルギーを  $E_{\text{total}}$ 、任意の 1 分子鎖のエネルギー  $E_1$  と隣接分子鎖のエネルギー  $E_2$  と定義して、分子鎖間相互作用エネルギー  $\Delta E_{\text{bind}}$  を以下の式で算出した。

$$\Delta E_{\text{bind}} = 1/2[E_{\text{total}} - (E_1 + E_2)]$$

3あるいは4分子鎖の分子鎖シートモデルでは、内部の 1 分子鎖のエネルギーを  $E_1$ 、その他の分子鎖のエネルギーを  $E_2$  とした。ここで、4分子鎖シートモデルでは、シート内に2つの分子鎖が内部に存在するので、それぞれの内部分子鎖から得られた  $\Delta E_{\text{bind}}$  は平均を取った。2分子鎖モデルでは、 $E_1$ 、 $E_2$  両方とも、どちらかの分子鎖のエネルギーと定義することで対処した。 $\Delta E_{\text{bind}}$  算出のため、BSSE<sup>12</sup>をCounterpoise法<sup>13</sup>により補正した。これらはDFT計算プログラムとしてGaussian09<sup>14</sup>を使用した。

### 第3節 結果と考察

#### 2.3.1 セルロース III<sub>I</sub>型結晶モデルの結晶構造転換挙動の追跡

300K MD 計算において、III<sub>I</sub>型結晶モデルは安定して III<sub>I</sub>型 O2---O6 分子鎖間水素結合を維持した<sup>3</sup>。熱水処理に相当する 370 K MD 計算では、結晶モデル内部の多くのヒドロキシメチル基が III<sub>I</sub>型 *gt* 配向から I $\beta$ 型 *tg* 配向へほぼ不可逆的に変換した。Fig. 2-2 に 370 K MD 計算における **B48-40** モデルのコア分子鎖 O2H---O6 分子鎖間水素結合に関わる置換基の構造パラメータ変化をプロットした。これより、ヒドロキシメチル基配座 ( $\omega$ ) 変換と 6 位ヒドロキシル基配座 ( $\chi_6$ ) と 2 位ヒドロキシル基配座 ( $\chi_2$ ) 変換がすべて同じ時刻に発生しているのがわかる。また、水素結合変換 ( $\Gamma_{OO}$ ,  $\Gamma_{HO}$ ,  $\theta_{HOH}$ ) も同期している。他の残基においても同様の傾向が確認された。一方、水素結合ペアに対応する 3 位のヒドロキシル基配向については、目立った変化は観察されなかった。

Fig. 2-3 に結晶モデル表面残基のヒドロキシメチル基配座を示す。300 K MD 計算において、(010)結晶面で *gg* 配座と *gt* 配座がほぼ等価に分布し、(100)と(1-10)結晶面では主に *gt* 配座が分布した。一方、370 K MD 計算においては、すべての結晶面において、*gt* 配座の分布が減少し、*tg* 配座が増加した。(010)結晶面では、すべての表面残基のヒドロキシメチル基は溶媒と直接、相互作用するが、残りの 2 つの結晶面では、表面残基ヒドロキシメチル基の半分が *gt* 配座をとるときに隣接分子鎖間との水素結合形成が可能である。その結果、*gt* 配座が主要な分布となったと考察した。

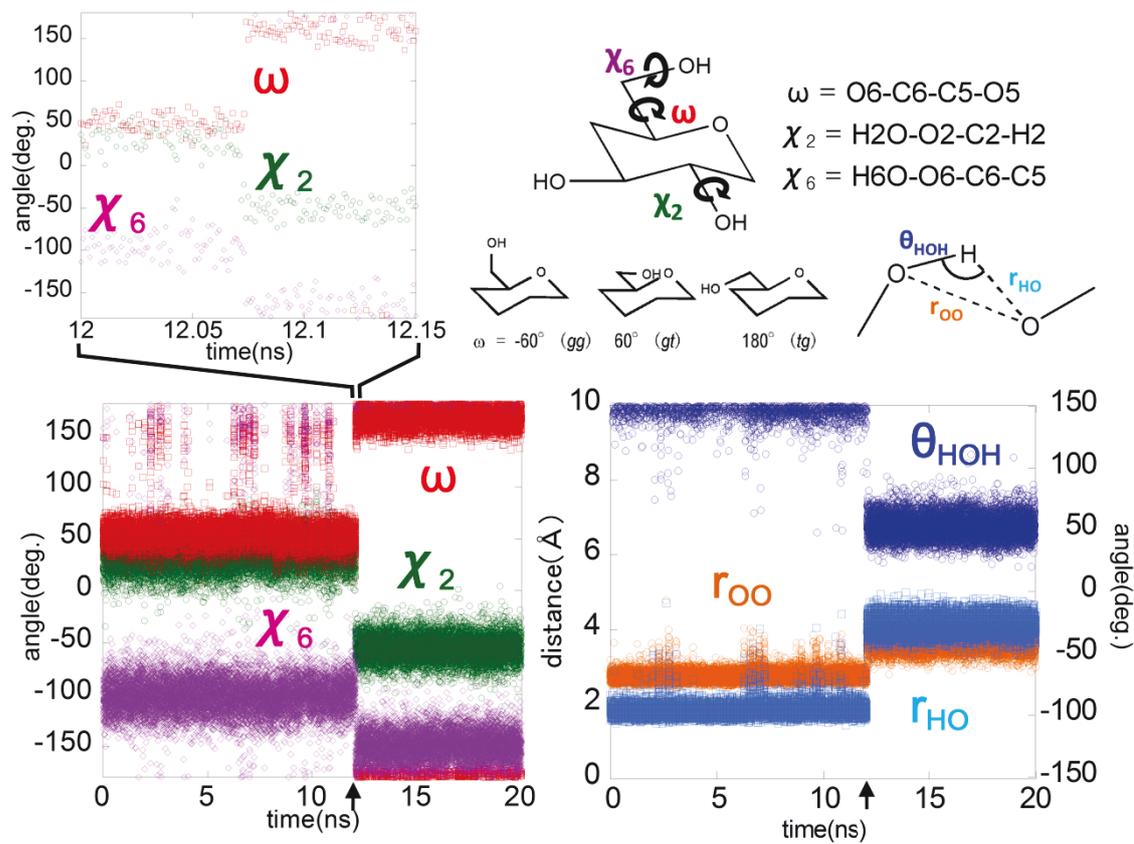


Fig. 2-2 Trajectories of  $\omega$ ,  $\chi_2$  and  $\chi_6$  angles, and intermolecular hydrogen bond geometries observed for the core unit residues of the crystal model at 370 K.

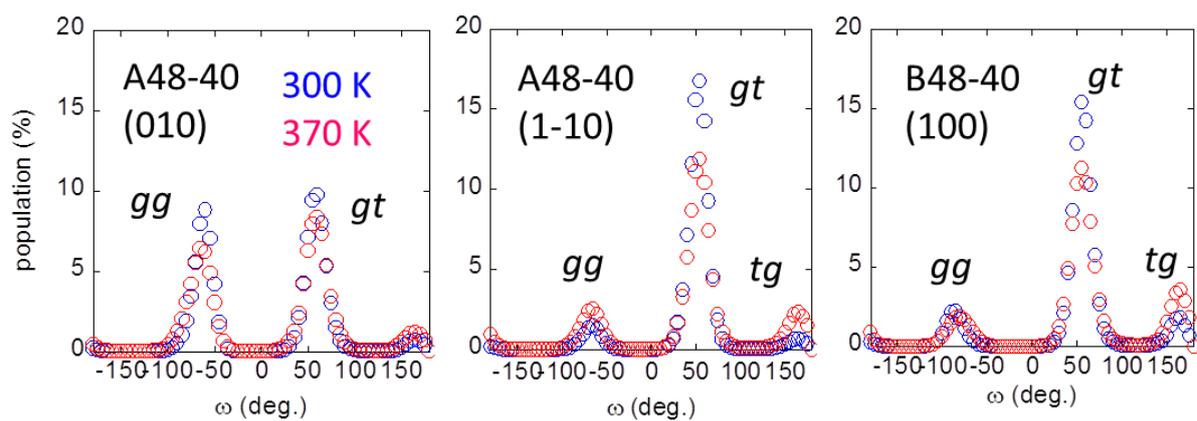


Fig. 2-3 The  $\omega$  angles populations (%) of the surface residues of the three types of crystal surfaces from 0 to 10ns. Each profile includes the  $\omega$  angles obtained from the 160 and 240 residues for (010) and (100)/(1-10) crystal surfaces, respectively.

Fig. 2-4 に結晶モデル全体の(1-10)結晶面における分子鎖間水素結合占有率 (1 ns 間隔)の変化を示す。370 K MD 計算の間、III<sub>I</sub>型結晶由来の O2---O6 分子鎖間水素結合の占有率は低下し、I $\beta$ 型 O6---O3 水素結合の占有率は増加し続けた。結晶モデル全体で O3---O6 水素結合の水素結合占有率は最大で 90%以上に達した。水素結合交換は結晶タイプによって異なり、**B48-40** モデルが **A48-40** モデルと比べて速く進行し、O3---O6 水素結合の占有率は前者で最大約 96%に達したが、後者では約 66%で一定となった。しかしながら、A タイプの溶媒和環境の表面に位置する(1-10)分子鎖シート内に存在する 25%の水素結合ペアに注目すべきである。**A48-40** モデルについて、結晶内部の分子鎖間水素結合ペアだけで占有率を見積もるとおよそ 80%となった。一方、**B48-40** モデルに対して、80 ns まで計算を延長させたが、I $\beta$ 型由来 O6---O3 分子鎖間水素結合占有率は 50 ns 以降変化が無かった。分子鎖 24 本の結晶モデルにおいても、対応する分子鎖 48 本モデルとよく似たプロットを与えた。このことから、交換速度は結晶モデルの分子鎖数ではなく形状に依存することが示された。

水素結合変換の進行に伴い、(1-10)結晶面分子鎖シートは III<sub>I</sub>型の波状から I型直線状に変化した (Fig. 2-5)。この III<sub>I</sub>→I $\beta$ 結晶転移における分子鎖シートの変換スキーム (Fig. 2-6)は実際のセルロース III<sub>I</sub>結晶試料の熱処理による *in situ* 結晶転移実験の結果<sup>15</sup>と一致した。さらに I型結晶モデルで観察された右巻きらせん変形<sup>16-18</sup>を発生し、A モデルにおいて最も顕著なねじれ変形が観察された。

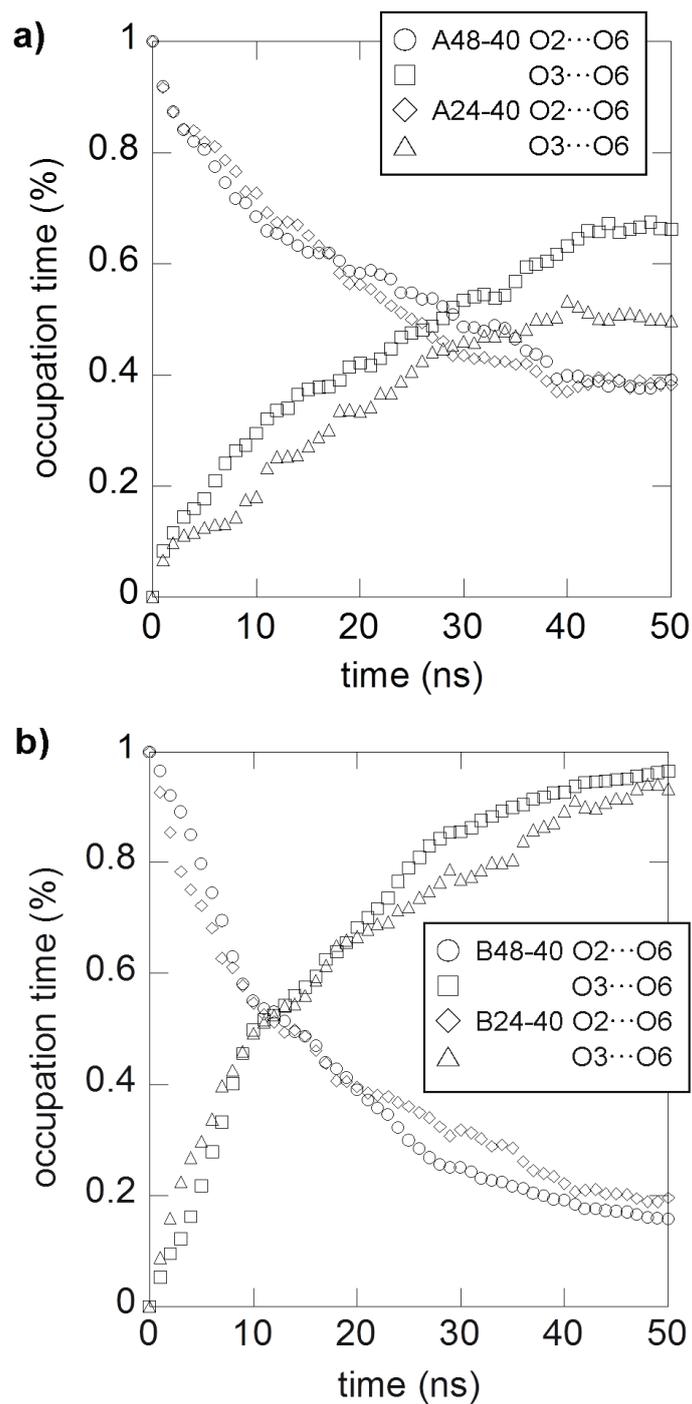
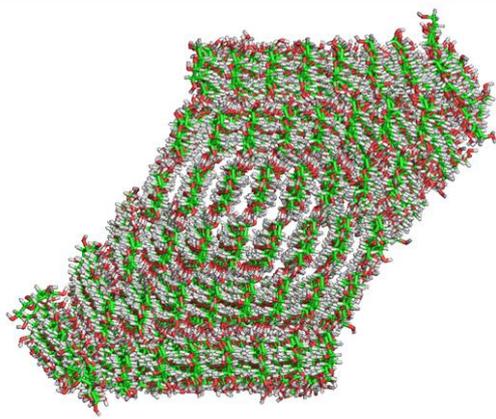


Fig. 2-4 Time dependence of the time occupied by cellulose-III<sub>r</sub>-like O2–O6 and cellulose-I-like O3–O6 intrasheet hydrogen-bond formation for the **A48-40** and **A24-40** (a), and **B48-40** and **B24-40** (b) crystal models. The occupation times of the whole crystal models have been averaged at every 1 ns trajectory for the overall crystal model.

**A48-40**



**B48-40**

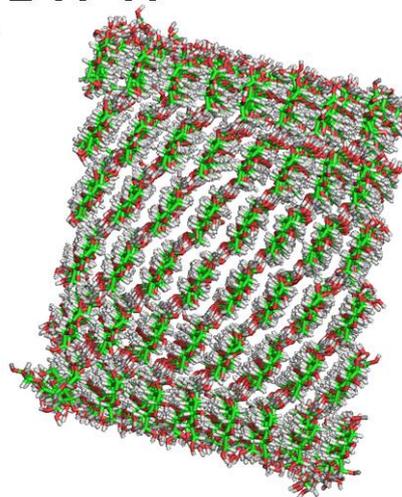


Fig. 2-5 *ab* projections of the **A48-40** and **B48-40** crystal models after simulation for 50 ns.

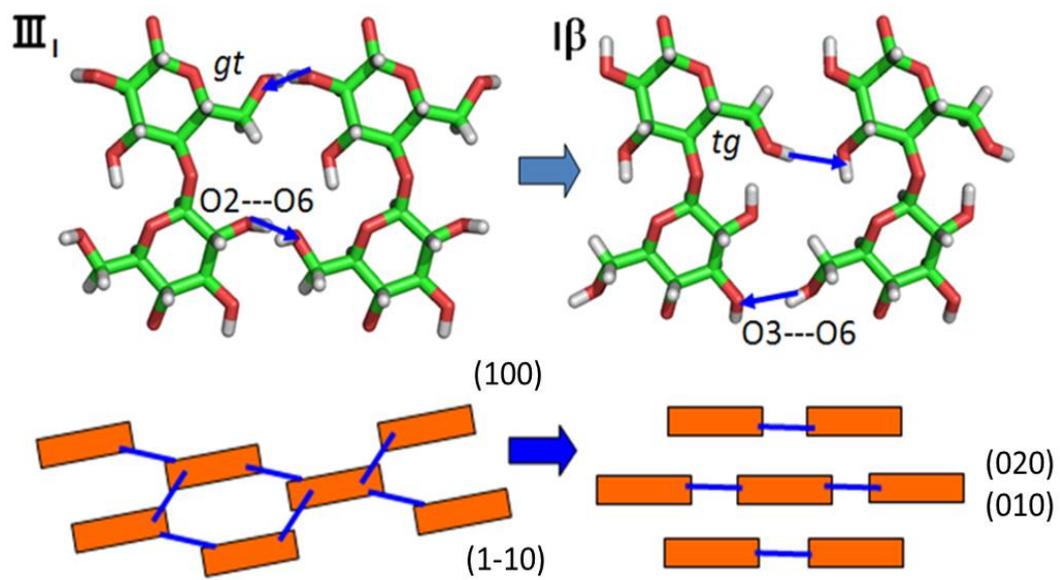


Fig. 2-6 Conversion scheme of the chain sheet from the cellulose  $\text{III}_1$ - to I-type.

次に、構成残基ごとに水素結合占有率を抽出し、グラフィック表示する解析手段を開発し、全残基 (1,920 残基)の水素結合変換挙動を追跡した。Fig. 2-7 は、**B48-40** モデルの(1-10)結晶面中央分子鎖シート (結晶モデルの端から 6 番目のレイヤー)の I<sub>B</sub>型由来 O3---O6 分子鎖間水素結合を時間占有率 (1 ns 間)で表示したものである。それ以外のプロットについては付録の Fig. A-1 ~ Fig. A-6 に示した。色で表示される四角形は水素結合位置を直接表示している。大部分の水素結合が 100 %か 0 %のいずれかであり、中程度の占有率を持つものが稀であった。このことは、本質的に、初期構造の持つ O2---O6 分子鎖間水素結合が不可逆的に I 型由来 O3---O6 分子鎖間水素結合へと変化するスキームと一致する。水素結合占有率を示す色のパターンは、どの結晶内部残基であっても、ランダムに水素結合交換が生じるものの、変換が生じた場所から分子鎖軸に沿って、隣接する残基に水素結合交換が伝播していくことが示唆された。同様の交換スキームは **A48-40** モデルの(1-10)面分子鎖シートでも観察された。このランダムな分子鎖間水素結合交換は均一に結晶モデル内部で起こった。しかしながら、時分割 X 線繊維回折からエチレンジアミンなどによって複合結晶を形成する際、セルロースマイクロクリスタルの結晶サイズの膨潤過程が観察<sup>19</sup>されていることから、実際の結晶転移領域では、分子鎖間水素結合交換が不均一に広がる可能性がある。

表面層における分子鎖間水素結合に目を向けると、結晶内部とは異なり、中程度の分子鎖間水素結合占有率が観察され、溶媒環境に置かれたヒドロキシメチル基配向の可逆的な変化を反映したと考えられる。**B48-40** モデルでは、水素結合が全く無いことを示す空白シンボルの表示 (0 %)と中程度占有率の表示が交互に出現していた。これは、表面のヒドロキシメチル基が溶媒相に向いたものは O2---O6 分子鎖間水素結合を維持し、内部に向いたものは回転することで、(1-10)結晶面に沿って、セルロース I 型由来の O3---O6 分子鎖間水素結合を形成したと考えられる。

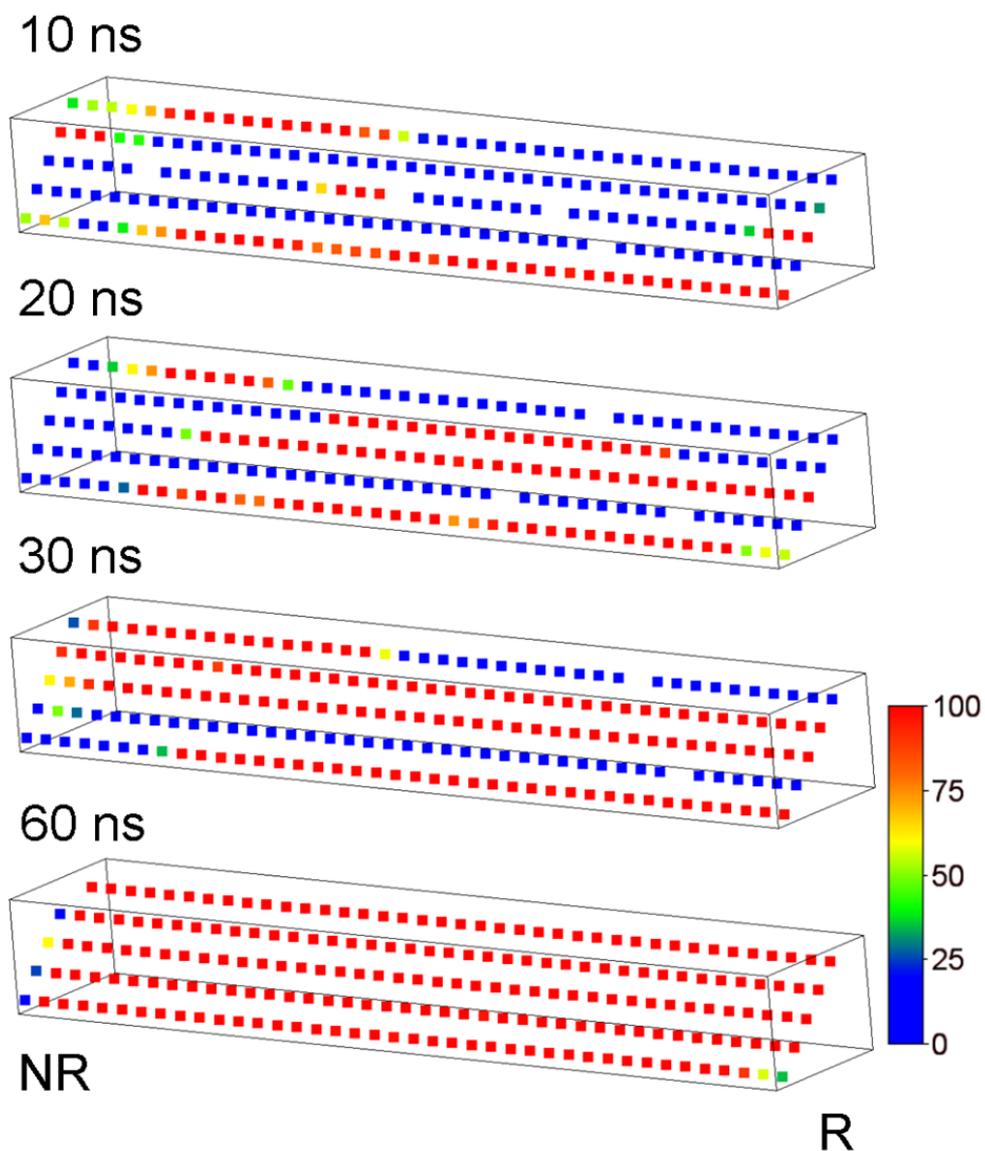


Fig. 2-7 Formation patterns of cellulose-I-like O3–O6 hydrogen-bonds on the central (1–10) chain sheet of the **B48-40** crystal model. Each symbol represents the average time occupied by hydrogen-bond formation for each bonding pair involved in the chain sheet. The occupation times have been averaged from either the 9–10 ns, 19–20 ns, 29–30 ns, or 59–60 ns trajectory. R, reducing terminal; NR, non-reducing terminal.

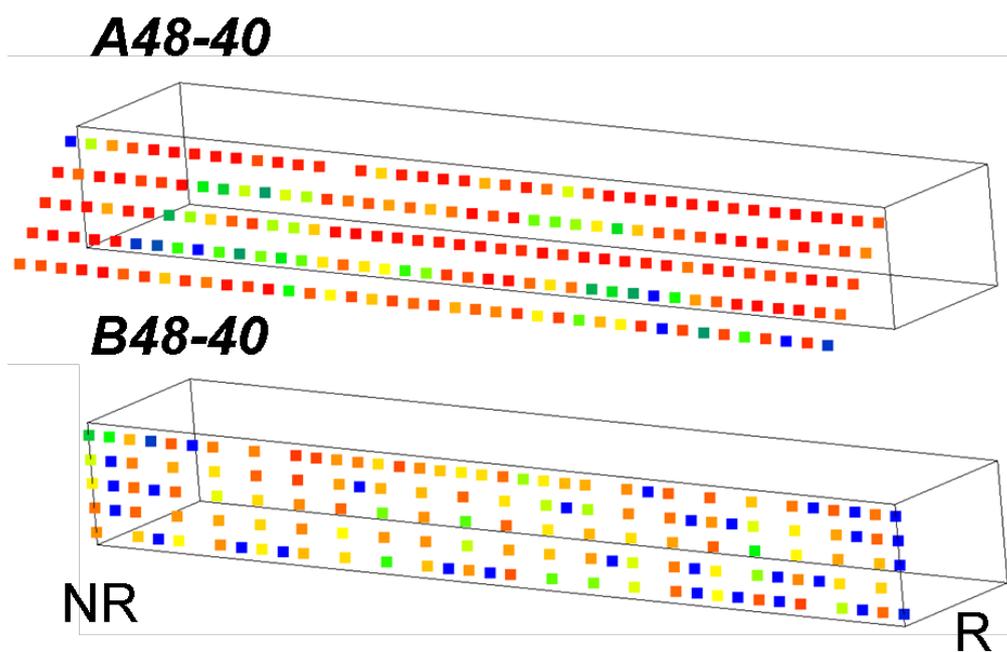


Fig. 2-8 Formation patterns of time occupied by cellulose-III<sub>T</sub>-like O2–O6 hydrogen-bonds observed for the surface (1–10) and (100) chain sheets of the **A48-40** and **B48-40** crystal models, respectively. The occupation times have been averaged from the final 1 ns (49–50 ns) trajectory. The color bar in Fig. 2-8 is applicable.

### 2.3.2 分子鎖シートモデルの量子化学計算による III<sub>I</sub>型⇒Iβ型結晶転移プロセス裏付け

分子鎖シートモデルの DFT 計算において、III<sub>I</sub>型(100)分子鎖シートモデルは、最適化の過程でシート構造が垂直に折れ、初期構造を維持しなかった。一方、III<sub>I</sub>型(1-10)シートモデルと Iβ型(100)シートモデルは初期構造を維持した (Fig. 2-9)。これらの結果は、III<sub>I</sub>型(100)分子鎖シートが結晶のパッキング構造のみでしか安定して存在出来ないことを示唆する。また、Iβ型(100)シートモデルでは、最適化構造において、実際の溶媒とセルロースで観察されるようなわずかな右巻きねじれ変形が発生した。構造最適化計算によって、III<sub>I</sub>型(100)分子鎖シートモデルは完全に構造が変化してしまったにもかかわらず、ヒドロキシメチル基配座は最適化構造においても初期構造の *gt* 配座であり、O2---O6 分子鎖間水素結合を維持した。セルロース III<sub>I</sub>型(1-10)/(100)分子鎖シートについて、O2---O6 分子鎖間水素結合は、初期構造と比べて酸素-酸素原子間距離が若干長くなった。更に、4 分子鎖のセルロース III<sub>I</sub>型結晶(100)分子鎖シートモデルの構造最適化計算を実施したところ、シート構造が自発的に巻き始め、非常に多くの最適化ステップを経て最終的にチューブ形態になる現象を発見した。DFT で予測されたチューブ構造の特性については第 4 章で詳細に報告する。

BSSE 補正後の分子鎖間相互作用エネルギー $\Delta E_{\text{bind}}$ の値は、Iβ型(100)分子鎖シートモデルは III<sub>I</sub>型(1-10)分子鎖シートモデルのそれらよりも平均して残基当たり 4.27 kcal/mol 低くなっており (Table 2-2)、加えて、孤立分子鎖で DFT エネルギーを比較しても、セルロース I 型分子鎖は残基当たり 0.5 kcal/mol 安定化している。これは明らかに、III<sub>I</sub>型(1-10)分子鎖シートモデルから Iβ型(100)分子鎖シートモデルへの変換は分子鎖間相互作用の発熱的变化であることが示された。III<sub>I</sub>型(100)分子鎖シートモデルでは、III<sub>I</sub>型(1-10)シートモデルより、わずかに残基当たり 1.0 kcal/mol 不安定化していた。以上の DFT 計算は、これまで実施してきた MD 計算と同様に III<sub>I</sub>型→Iβ型結晶転移過程において、III<sub>I</sub>型(1-10)分子鎖シートが Iβ型に変換する結晶転移プロセスを裏付けた。

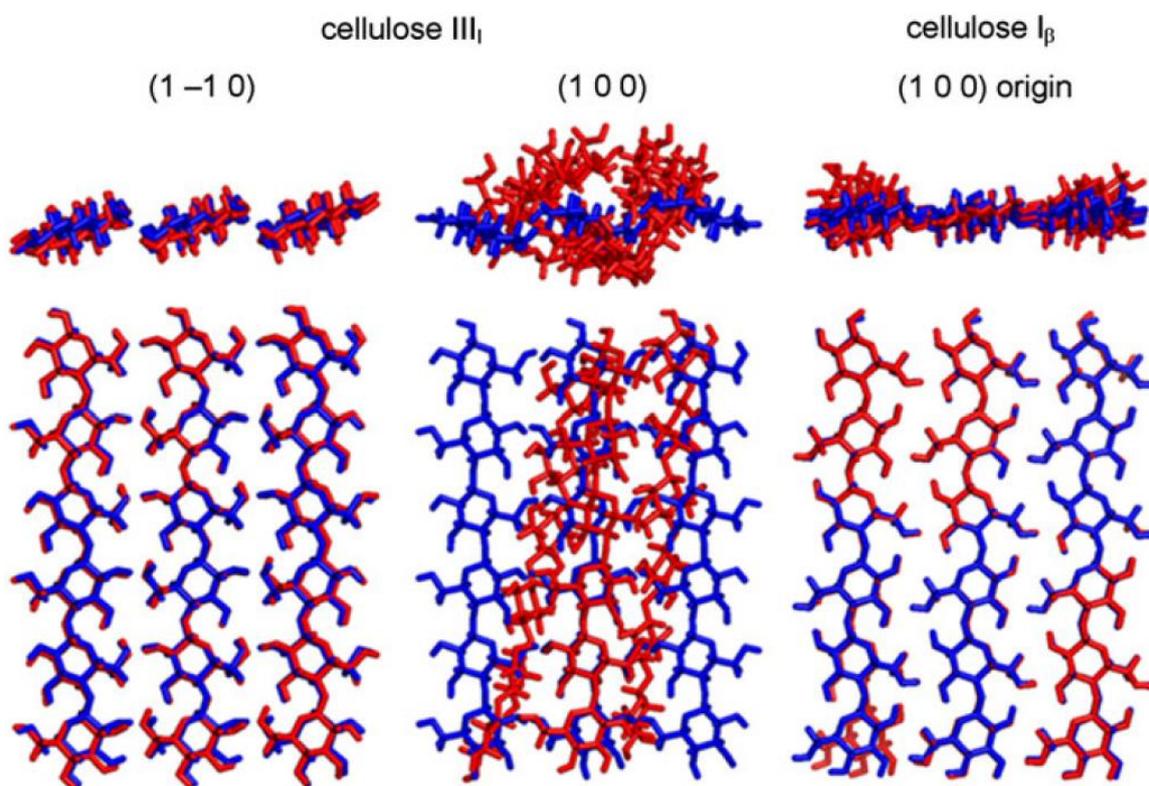


Fig. 2-9 Superimposed structures of the initial (blue) and DFT-optimized (red) 3×cello-hexamers of the cellulose III<sub>1</sub> (1-10) and (100), and cellulose I<sub>β</sub> (100) chain sheets.

Table 2-2 Binding energies,  $\Delta E_{\text{bind}}$ , of the chain sheet models (kcal/mol per residue)

No. of chains $\times$ DP	III <sub>I</sub> (1 -1 0) sheet model <sup>a</sup>	I $\beta$ origin (1 0 0) sheet model <sup>a</sup>
B3LYP/6-311G(d) single-point energies		
2 $\times$ 4	-6.85	-11.03
2 $\times$ 6	-6.62	-11.20
3 $\times$ 4	-6.77	-11.10
3 $\times$ 6	-6.91	-11.18
4 $\times$ 4	-7.33	-11.24
4 $\times$ 6	-7.00	-11.33
B3LYP/6-311G(d) single-point energies		
2 $\times$ 4	-6.74	-10.56

<sup>a</sup> B3LYP/6-31(d) optimized structures

## 第4節 結論

第2章では、セルロース III<sub>I</sub>型結晶モデルで観察される結晶構造の転換挙動について議論した。先行研究では、セルロース III<sub>I</sub>型から I<sub>β</sub>型への結晶転移は、水素結合様式の交換に伴う分子鎖シートの変換がはじめに生じ、分子鎖の 1/4c ずれを発生させるために、繊維軸方向に分子鎖すべりが起こるだろうと推測されていた<sup>2</sup>。本研究の MD 計算では、熱水処理条件下で、セルロース III<sub>I</sub>型結晶モデルの分子鎖シートが、ほぼ完全な I 型分子鎖シートへと変換し、これまで提案されてきた分子鎖シート構造の変換スキームを再現するに至った。加えて、孤立分子鎖シートモデルの DFT 計算では、III<sub>I</sub>型から I<sub>β</sub>型へのシート構造変換が発熱的であることも示した。セルロース III<sub>I</sub>型結晶の *ab* 断面を投影すると、(1-10)面と(100)面に沿って、二方向に分子鎖シートが形成しているが、(1-10)面由来の分子鎖シートが主要となり、その積層構造で解釈される。シート間相互作用として、天然セルロースでは疎水性相互作用が、III<sub>I</sub>型では水素結合という静電的相互作用がそれぞれ支配的であるが、主要な分子鎖シートの積層構造である点においては、セルロース I 型および III<sub>I</sub>型のパッキング様式は類似した特徴を持つ。セルロース III<sub>I</sub>型から I<sub>β</sub>型への結晶転移において、熱によって分子鎖シートの変換を引き起こす一方で、その代償として、シート間相互作用変化は吸熱的かもしれない。分子鎖シートの構造変換に続く、繊維軸方向に沿った分子鎖すべりはより遅く進行し、結晶転移現象の律速段階となっている可能性が考えられる。

## 参考・引用文献

- (1) Wada M, Chanzy H, Nishiyama Y, Langan P (2004) Cellulose III<sub>I</sub> crystal structure and hydrogen bonding by synchrotron X-ray and neutron fiber diffraction. *Macromolecules* 37:8548–8555.
- (2) Yui T, Okayama N, Hayashi S (2010) Structure conversion of cellulose III<sub>I</sub> crystal models in solution state: a molecular dynamics study. *Cellulose* 17:679–691.
- (3) Jorgensen WL, Chandrasekhar J, Madura J, Impey RW, Klein ML (1983) Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. *J Chem Phys* 79:926–935.
- (4) Case DA, Darden TA, Cheatham TE III, Simmerling CL, Wang J, Duke RE, Luo R, Merz KM, Pearlman DA, Crowley M, Walker RC, Zhang W, Wang B, Hayik S, Roitberg A, Seabra G, Wong KF, Paesani F, Wu X, Brozell S, Tsui V, Gohlke H, Yang L, Tan C, Mongan J, Hornak V, Cui G, Beroza P, Mathews DH, Schafmeister C, Ross WS, Kollman PA (2006) AMBER 9. University of California, San Francisco.
- (5) Kirchner KN, Woods RJ (2001) Solvent interactions determine carbohydrate conformation. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:10541–10545.
- (6) Basma M, Sundara S, Calgan D, Venali T, Woods RJ (2001) Solvated ensemble averaging in the calculation of partial atomic charges. *J Comput Chem* 22:1125–1137.
- (7) Ryckaert JP, Cicotti G, Berendsen HJC (1977) Numerical integration of the cartesian equations of motion of a system with constraints: molecular dynamics of n-alkanes. *J Comput Phys* 23:327–341.
- (8) Nishiyama Y, Langan P, Chanzy H (2002) Crystal structure and hydrogen-bonding system in cellulose I $\beta$  from synchrotron X-ray and neutron fiber diffraction. *J Am Chem Soc* 124:9074–9082.
- (9) Becke AD (1988) Density-functional exchange-energy approximation with correct asymptotic behavior. *Phys Rev A* 38:3098–3100.
- (10) Becke AD (1993) Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange. *J Chem Phys* 98:5648–5652.
- (11) Lii J-H, Ma B, Allinger NL (1999) Importance of selecting proper basis set in quantum mechanical studies of potential energy surfaces of carbohydrates. *J Comput Chem* 20:1593–1603.
- (12) Boys SF, Bernardi F (1970) The calculation of small molecular interactions by the differences of separate total energies. Some procedures with reduced errors. *Mol Phys* 19:553–566.
- (13) Simon S, Duran M, Dannenberg JJ (1996) How does basis set superposition error change the potential surfaces for hydrogen-bonded dimers? *J Chem Phys* 105:11024–11031.
- (14) Frisch MJ, Trucks GW, Schlegel HB, Scuseria GE, Robb MA, Cheeseman JR, Scalmani G, Barone V, Mennucci B, Petersson GA, Nakatsuji H, Caricato M, Li X, Hratchian HP, Izmaylov

AF, Bloino J, Zheng G, Sonnenberg JL, Hada M, Ehara M, Toyota K, Fukuda R, Hasegawa J, Ishida M, Nakajima T, Honda Y, Kitao O, Nakai H, Vreven T, Montgomery Jr JA, Peralta JE, Ogliaro F, Bearpark M, Heyd JJ, Brothers E, Kudin KN, Staroverov VN, Kobayashi R, Normand J, Raghavachari K, Rendell A, Burant JC, Iyengar SS, Tomasi J, Cossi M, Rega N, Millam JM, Klene M, Knox JE, Cross JB, Bakken V, Adamo C, Jaramillo J, Gomperts R, Stratmann RE, Yazyev O, Austin AJ, Cammi R, Pomelli C, Ochterski JW, Martin RL, Morokuma K, Zakrzewski VG, Voth GA, Salvador P, Dannenberg JJ, Dapprich S, Daniels AD, Farkas O, Foresman JB, Ortiz JV, Cioslowski J, Fox DJ (2009) Gaussian 09, Revision A.02. Gaussian, Inc., Wallingford CT.

- (15) Wada M (2001) In Situ observation of the crystalline transformation from cellulose III<sub>1</sub> to I $\beta$ . *Macromolecules* 34:3271–3275.
- (16) Matthews JF, Skopec CE, Mason PE, Zuccato P, Torget RW, Sugiyama J, Himmel ME, Brady JW (2006) Computer simulation studies of microcrystalline cellulose I $\beta$ . *Carbohydr Res* 341:138–152.
- (17) Yui T, Hayashi S (2007) Molecular dynamics simulations of solvated crystal models of cellulose I $\alpha$  and III<sub>1</sub>. *Biomacromolecules* 8:817–824.
- (18) Yui T, Nishimura S, Akiba S, Hayashi S (2006) Swelling behavior of the cellulose I $\beta$  crystal models by molecular dynamics. *Carbohydr Res* 41:2521–2530.
- (19) Nishiyama Y, Wada M, Hanson BL, Langan P (2010) Timeresolved X-ray diffraction microprobe studies of the conversion of cellulose I to ethylenediamine-cellulose I. *Cellulose* 17:734–745.

## 第3章

### セルロース結晶構造を構成する分子鎖シートの計算化学研究

#### 第1節 緒言

セルロース分子鎖は結晶構造中で平面ジグザグ状の2回らせん構造をとり、グルコース残基のヒドロキシル基やヒドロキシメチル基が、ほぼ、分子鎖平面に沿って配置する。それに対し、分子鎖に垂直な方向は疎水的性質を持つとされる。結晶構造中で、分子鎖は互いに水素結合によって連結され、分子鎖シートを形成する。天然I型結晶において分子鎖シート全体の形状は平面に近く、分子鎖シート間では疎水性相互作用が支配的となる。一方、天然I型から派生する各種のセルロース結晶型(II型、III型)においては、分子鎖間水素結合の形成方向が二つになり、分子鎖シート形状は波型となる。

セルロースの単結晶繊維は、結晶学的な前提として、結晶面は平面性を有しているが、原子間力顕微鏡や透過型電子顕微鏡により、天然I型結晶のセルロースマイクロフィブリル右巻きねじれ変形<sup>1,2</sup>がしばしば観察されている。例えば、バクテリアセルロースの生合成において、狭くねじれたセルロースリボンが観察されており<sup>3,4</sup>、近年では、トウヒ(常緑針葉樹)材中のねじれたセルロースマイクロフィブリルは、結晶面同士が接着することで、繊維軸長を制限する可能性が報告されている<sup>5</sup>。

筆者の所属する研究室では、これまでにセルロースI $\alpha$ 型及びI $\beta$ 型の有限結晶モデルに対して、AMBER力場に糖分子パラメータGlycam04を適用したMD計算を実施し、結晶モデルの右巻きねじれ変形を観察しており、I $\beta$ 型よりもI $\alpha$ 型結晶モデルがより大きなねじれ変形量を示すことを見出した<sup>6,7</sup>。同時期に、Mathewsらもまた、CHARMM/CSFFを適用した同様のMD計算研究によって、セルロースI $\beta$ 型結晶モデルが右巻きねじれ変形となることを報告した<sup>8</sup>。

その後、いくつかの研究グループにより、様々な力場 (AMBER/Glycam06,<sup>9, 10</sup> CHARMM C35,<sup>10</sup> GROMOS 45a4,<sup>10</sup> OPLS<sup>11</sup>)で天然セルロース結晶の右巻きねじれ変形についての検証がなされ、粗視化力場 (M3B,<sup>12</sup> REACH,<sup>13</sup> MARTINI<sup>14, 15</sup>)によるセルロース結晶モデルの分子シミュレーション研究もなされるようになった。中でも、MARTINI粗視化力場では、セルロース結晶を構成する分子鎖の本数により、右巻き<sup>14</sup>あるいは左巻き<sup>15</sup>のねじれ変形を示すことが報告されている。最近になって、MathewsらはCHARMM C35とAMBER/Glycam06を適用した800 nsに渡る長時間高温MD計算を実施し、セルロースI $\beta$ 型結晶モデルが一旦はねじれるものの、段階的に昇温していく過程で、結晶モデルの分子鎖間水素結合が発達し、その結果、ねじれが解消し、セルロースI $\alpha$ 型とI $\beta$ 型の中間体(I-HT)に相当する構造を得た<sup>9</sup>。一方、Haddenらの研究グループは、Glycam06を適用したMD計算により、セルロースマイクロフィブリルのねじれ変形は、分子鎖同士のファンデルワールス力の増大により、マイクロフィブリル表面において、分子鎖間水素結合を弱めることを示唆した<sup>16</sup>。

第2章で、III<sub>I</sub>型およびI $\beta$ 型結晶を構成する分子鎖シートに対してDFT構造最適化計算による結果から結晶転移現象について知見を得た。そこで、本章では、高精度結晶構造が報告されている結晶多形(I $\alpha$ <sup>17</sup>, I $\beta$ <sup>18</sup>, II<sup>19</sup>及びIII<sub>I</sub><sup>20</sup>)を対象とし、それら構成結晶面の分子鎖シートに対して、4種の体系的でより高精度なDFT計算を実施し、結晶モデルの溶媒和MD計算による評価と併せて、セルロース結晶構造の構造特性について、新たな知見を報告する。

## 第2節 方法

### 3.2.1 セルロース結晶の孤立分子鎖シートモデルの量子化学計算

これまで報告されているNishiyamaら、LanganらおよびWadaらによるX線・中性子回折実験の結晶構造解析データを用いて、I $\alpha$ 型<sup>17</sup> (110)面、I $\beta$ 型<sup>18</sup> (100)面、II型<sup>19</sup>(010)面、(020)面、(110)面、III<sub>I</sub>型<sup>20</sup>(1-10)面に由来する6種のセルロース結晶構造を構成する孤立分子鎖シートモデルを構築した。それぞれのモデルは分子鎖数が4本で、DPはグルコース単位で6残基あるいは8残基で構成されている。

これらのモデルについて、DFT構造最適化計算の前段階に、Glycama06<sup>21</sup>を適用したAMBER力場で水素原子のみを最適化した。DFT計算では、ハイブリッド汎関数であるB3LYPあるいは長距離相互作用を導入したCAM-B3LYP<sup>22</sup>のいずれかの汎関数に対して基底関数6-31G(d)を組み合わせたDFT構造最適化計算に供した (4×8残基長モデルは、CAM-B3LYPによる計算のみを実施した。 )。

更に、最適化構造に対して、最適化計算と同じ汎関数で、基底関数を6-311G(d)としたエネルギー一点計算により安定性を評価した。エネルギー一点計算では、分子鎖間相互作用エネルギー $\Delta E_{\text{bind}}$ を以下の式で算出した。

$$\Delta E_{\text{bind}} = 1/2[E_{\text{total}} - (E_1 + E_2)]$$

4分子鎖の分子鎖シートモデルでは、内部の1分子鎖のエネルギーを $E_1$ 、その他の分子鎖のエネルギーを $E_2$ とした。この $\Delta E_{\text{bind}}$ 算出のために、BSSE<sup>23</sup>をCounterpoise法<sup>24</sup>により補正した。また、1分子鎖のエネルギー $E_1$ と分子鎖間相互作用エネルギー $\Delta E_{\text{bind}}$ から分子鎖シートの安定化エネルギー $\Delta E_{\text{sheet}}$ を以下で定義した。

$$\Delta E_{\text{sheet}} = E_1 + \Delta E_{\text{bind}}$$

ここで、シート内に2つの分子鎖が内部に存在するので、それぞれの内部分子鎖から得られた  $E_1$  と  $\Delta E_{\text{bind}}$  から得られた分子鎖シートの安定化エネルギー  $\Delta E_{\text{sheet}}$  は平均を取った。これらの DFT 計算プログラムとして Gaussian09 を使用した<sup>25</sup>。

### 3.2.2 セルロース結晶多形モデルの溶媒和分子動力学計算

溶媒和MD計算のためのセルロース結晶モデル構築には、前項と同様に、Nishiyamaら、LanganらおよびWadaらによるX線・中性子回折実験の結晶構造解析データを用いた。結晶構造データに従ってDPがグルコース残基長40のセルロース分子鎖を配置し、Table 3-1、Fig. 3-1に示すように7種の結晶モデルを構築した。天然セルロース結晶に相当する2種類のモデルは極性面が溶媒に対して最も露出するように設計した。また、セルロースII型及びIII型結晶モデルについては、**A**もしくは**B**タイプの分子鎖シートモデルが堆積した構造を構築した。セルロースII型結晶モデルについて、**B**タイプは、対角線方向が(010)面 (分子鎖が“パラレルアップ”)あるいは(020)面 (分子鎖が“パラレルダウン”)の分子鎖シートとなるように、それぞれ**B-1**、**B-2**を定義した。

構築した結晶モデルの大きさに応じて28,000~40,000個程度のTIP3P水分子<sup>26</sup>モデルを満たした直方体の溶媒和ボックス中に構築した結晶モデルを配置し、周期境界条件を適用した系を計算システムとした。

MD計算プログラムにはAMBER12のPMEMDモジュール<sup>27</sup>、糖分子パラメータにはGLYCAM06<sup>21</sup>を使用した。初期段階では、系の構造緩和を目的とした最適化計算を実施し、温度20 Kから300 Kへの昇温過程において、NTVアンサンブルでセルロース結晶モデルに10 kcal/(mol · Å<sup>2</sup>)の位置束縛条件を適用した平衡化計算に供した。次いで、production runでは300 K、1 barのNTPアンサンブルでMD計算を20 nsまで実施した。これらの計算はPME法<sup>28</sup>を適用し、水素原子を含む結合の伸縮振動を制限するSHAKE<sup>29</sup>オプションを使用し、積分ステップ2 fsとした。通常の原子間非結合相互作用に対して、1—4相互作用スケール因子は糖質分子の設定値を採用した。

MD計算によって得られた軌跡データの解析に当たっては、AMBERプログラムパッケージに含まれるPTRAJモジュールを使用した。また、ダイナミクス構造を詳細に検討するために、MD軌跡をアニメーションにより可視化するVMD 1.9.1<sup>30</sup>を使用した。

Table 3-1. Dimensions and number of molecules of the crystal models

Allomorph	Label of crystal model	Base plane dimensions <sup>a</sup>	No. of chains	DP	No. of waters
I $\alpha$	-	6 (010) $\times$ 6 (100)	36	40	28 350
I $\beta$	-	6 (110) $\times$ 6 (1-10)	36	40	36 792
II	<i>A36</i>	6 (010) $\times$ 6 (1-10)	36	40	40 116
	<i>B36-1/-2</i>	6 (110) $\times$ 6 (1-10)	36	40	38 125,38 571
III <sub>1</sub>	<i>A48</i>	8 (010) $\times$ 6 (1-10)	48	40	41 216
	<i>B48</i>	8 (010) $\times$ 6 (100)	48	40	30 492

<sup>a</sup>Number of chains (lattice plane)

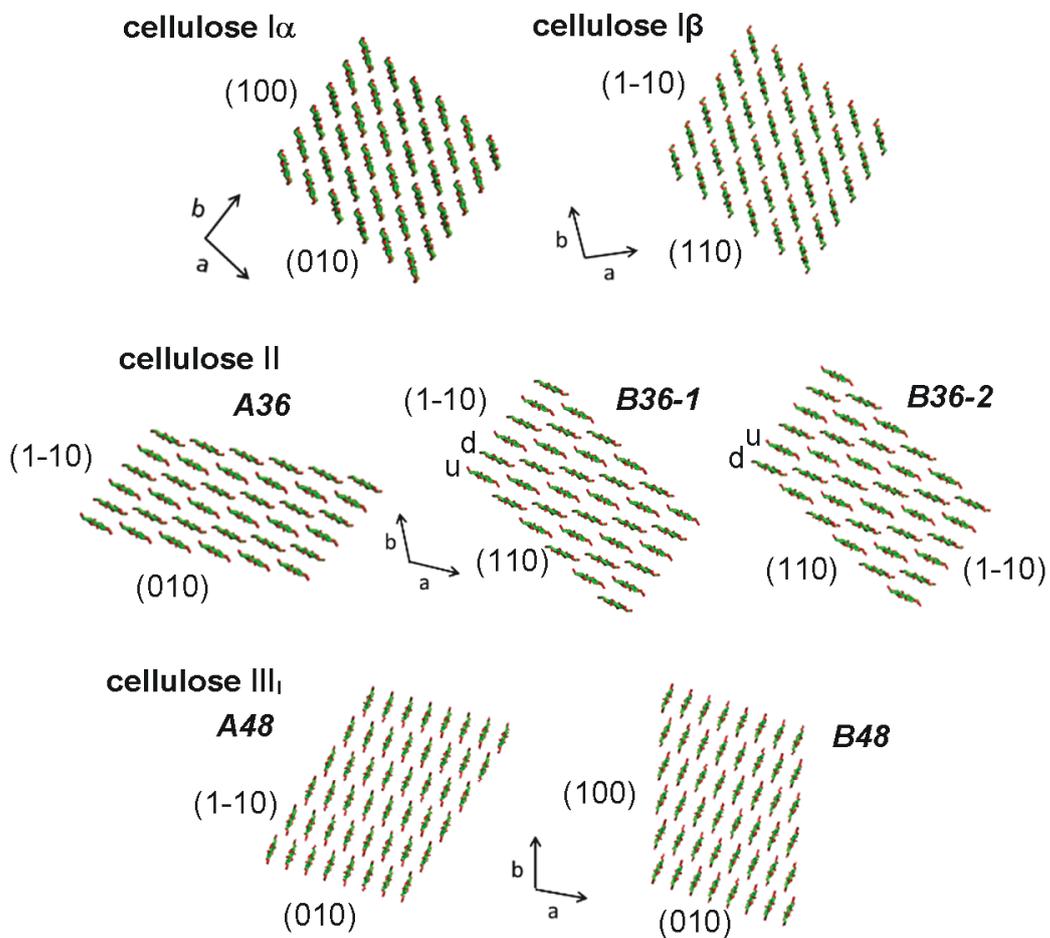


Fig. 3-1 Projections of the  $ab$  base-planes of the seven crystal models and lattice plane labels. The “ $u$ ” and “ $d$ ” notations in the cellulose II **B36-1** and **-2** models denote the “parallel up” and “parallel down” chain sheets composing the (010) and (020) lattice planes running diagonally, respectively.

MDシミュレーションの間に生じた、セルロース結晶モデルのねじれ変形は、中央分子鎖の平面性からの逸脱の程度により評価したFig. 3-2に示すような、残基の重心位置を結ぶ仮想的な結合により、繊維軸に沿った分子鎖シートのねじれ角 ( $\theta$ )を二面角により定義した。MD計算の結晶モデルでは、正と負の残基位置で観察された $\theta$ 値の平均値を取った。明らかに、 $\theta$ 値は繊維軸上の残基の相対位置に依存する。最大の $\theta$ 値は末端 ( $\theta_{\pm 20}$ )あるいは、中間位置 ( $\theta_{\pm 1}$ )になると予想される。右巻きねじれを与える時計回り方向に分子鎖シートがねじれ変形するとき、 $\theta$ になるように定義した。この仮想的なねじれ角の測定に当たっては、MD軌跡の最終1nsを解析対象とし、測定値の平均値をプロットした。また比較のために、DFT計算で得られた最適化構造についても同様にねじれ変形を評価した。

その他の、MD軌跡解析は、結晶モデル内部の構造パラメータについても実施した。結晶モデル内部 (表層を除く全ての分子鎖と定義)に存在する残基のヒドロキシメチル基配向を解析した。必要に応じて、水素結合解析も並行して実施した。

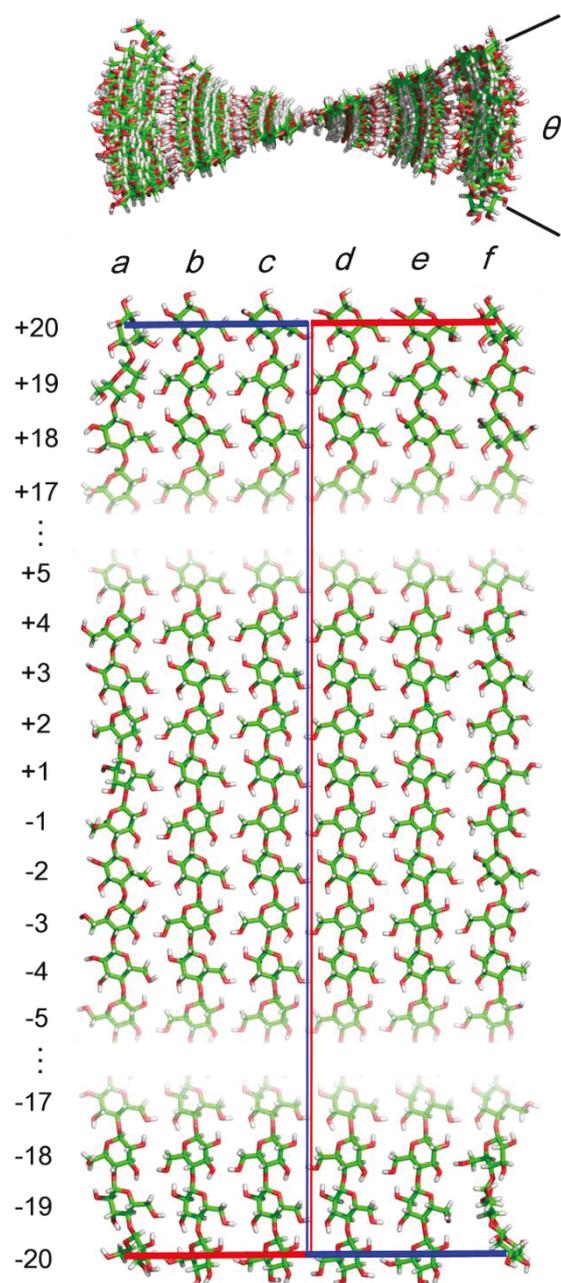


Fig. 3-2 Molecular chain sheet along with the residue position labeling. The chain labeling is arbitrary among the chain sheets. Sheet-twisting torsion angles are defined by the virtual bonds connecting the centers of gravity (G) of the residue(s):  $\theta_{+20} = G(a,+20) - G[(c,+20), (d,+20)] - G[(c,-20), (d,-20)] - G(f,-20)$ ,  $\theta_{-20} = G(a,-20) - G[(c,-20), (d,-20)] - G[(c,+20), (d,+20)] - G(e,+20)$ , and so on. The solid line in blue represents the virtual bonds defining  $\theta_{+20}$ , and that in red,  $\theta_{-20}$ .

### 第3節 結果と考察

#### 3.3.1 セルロース結晶を構成する孤立分子鎖シートモデルの DFT 構造最適化計算

Fig. 3-3 に 4×8 残基長のセルロース I $\alpha$ 型(110)面、I $\beta$ 型(100)面、II 型(010)面、(020)面、(110)面、及び III<sub>I</sub> 型(1-10)面由来の分子鎖シートモデル 6 種の初期構造と CAM-B3LYP DFT 最適化構造の重ね合わせ図を示す。4×6 残基長の DFT 最適化計算では実質的に類似した構造を与えた。II 型(110)面を除いた全てのモデルについて、DFT 構造最適化計算後もシート構造を維持しており、 $\phi$ (O5-C1-O4-C4)と $\psi$ (C1-O4-C4-O5)で定義されるグリコシド結合回転角は 5° ~10° 程度のわずかな変化が観察された。セルロース II 型(110)モデル以外のシート形状を維持した 5 種の分子鎖シートでは、ヒドロキシメチル基  $\omega$ (O5-C5-C6-O6)は、初期配座 (天然型セルロース結晶では *tg* 配座、セルロース II 型、III<sub>I</sub> 型では *gt* 配座)を概ね維持した。CAM-B3LYP DFT 最適化計算においては、4×6 残基長および 4×8 残基長のセルロース II 型(010)分子鎖シートモデルで、還元末端側の 2 つのヒドロキシメチル基が *tg* 配座へと変換していたことを確認した。B3LYP および CAM-B3LYP DFT 構造最適化した 5 種の分子鎖シートモデルの  $\phi$ ,  $\psi$ ,  $\omega$  の値について、付録の Table A-1 ~ Table A-2 に示した。

DFT 構造最適化された天然型セルロース (I $\alpha$ と I $\beta$ )の分子鎖シートモデルは溶媒和結晶モデルで観察された右巻きねじれ変形を示し、これらのねじれ変形量はほぼ同程度であったことを確認した。第 2 章で、B3LYP 汎関数でセルロース I $\beta$ 型の分子鎖シートモデルが右巻きねじれ変形となることを既に述べている。他方で、セルロース II 型(010)面と(020)面由来の分子鎖シートモデルでは、前者が右巻き、後者が左巻きといった、それぞれ反対方向のねじれ変形となった。セルロース II 型分子鎖シートモデルの両方とも、天然型セルロース分子鎖シートモデルよりも大きなねじれ変形を与えた。これら 2 種の分子鎖シートの間には、水素結合スキームの細かな違いに加え、初期の分子鎖配置が実質的に異なっている。例えば、*ab* 断面図を投影したとき、(010)面では分子鎖が

時計回りに傾いた配置であるのに対して、(020)面では反時計回りに傾いた配置となる。このことが、2種の分子鎖シートモデルにおける、反対方向のねじれ変形に起因すると考えられる。分子鎖が平行配置である(010)面と(020)面由来のシートモデルとは対照的に、分子鎖が逆平行配置である(110)面シートモデルはDFT構造最適化により、完全に元のシート形状を崩した。セルロース III<sub>I</sub>型(1-10)面由来の分子鎖シートモデルはシート形状を維持し、対象とした6種類の分子鎖シートモデルの中で初期構造との逸脱が最も小さく、そのことは、III<sub>I</sub>型(1-10)面由来の分子鎖シートが結晶構造中のパッキング様式において、ポテンシャルエネルギーの極小点付近に位置することを示唆する。III<sub>I</sub>型(100)面由来の分子鎖シートは、構造最適化計算を実施すると、シート構造が自発的に巻き始め、最終的にチューブ形態になり、詳細については第4章で述べる。

Fig. 3-4は、シート形状を維持した5種の4×6mer分子鎖シートモデルのB3LYPおよびCAM-B3LYP DFT最適化構造のシートねじれ角( $\theta$ )を残基位置に対して、プロットしたものである。2種類のプロットは、適用したDFT汎関数の違いによるものであるが、それぞれの分子鎖シートモデルは互いに類似しているものの、2種類のセルロース II型分子鎖シートモデルにおいては、比較的大きな違いが観察された。セルロース I $\alpha$ 型とI $\beta$ 型の分子鎖シートモデルでは、最も対称的でかつなめらかな $\theta$ 曲線を与え、そのことは、シートモデルのねじれ変形が一様になっていることを示唆している。更に重要なこととして、汎関数がどちらであっても、2つのセルロース I型分子鎖シートモデルの $\theta$ 曲線はそれぞれほぼ等価となっており、これは、I $\alpha$ 型とI $\beta$ 型の孤立分子鎖シート構造はポテンシャルエネルギー曲面上で同じねじれた最適化構造の近くに位置していることを提案する。セルロース II型(010)モデルの $\theta$ 曲線について、構造最適化によって、最大のねじれ変形となり、最小値が正の残基位置に向かってずれ、ほとんど非対称な変形となっていた。同様に、Fig. 3-5は、5種の4×8mer分子鎖シートモデルのCAM-B3LYP DFT最適化構造のシートねじれ角の変化を表している。Fig. 3-4における4×6残基長の $\theta$ 曲

線と同じ基本的な特徴が認められる一方で、4×6 mer と 4×8 mer の分子鎖シートモデルの間に以下に述べる 2 つの観点において、若干の差異が認められた。4×8 mer の 2 つのセルロース I 型分子鎖シートモデルでは、4×6 mer 分子鎖シートモデルとは対照的に、正よりも負の残基位置において、 $\theta$  値はより大きくなる傾向になった。セルロース II 型(010)分子鎖シートモデルについて、4×8 mer における  $\theta$  曲線では、4×6 mer のプロットより対称性の良い挙動となっていた。CAM-B3LYP DFT 最適化構造について、4×6 mer および 4×8 mer のセルロース II(010)分子鎖シートモデルの両方で観察された非対称な  $\theta$  曲線の特徴は、恐らく、*tg* 配座の出現に関係すると考えられる。末端残基における乱れを評価に当たっては、現在のシートねじれ角の定義はある程度粗い見積もりであり、シートのねじれ変形を評価するより厳密な手法が必要であることに注意すべきである。平面状の構造であるセルロース I 型分子鎖シートと比較して、セルロース I $\alpha$  型分子鎖シートの相対的に非対称なねじれ変形は波形のシート形状に起因すると考えられ、より大きな分子鎖シートモデル、特に、分子鎖数の増大で改善されるかもしれない。

全ての初期構造における分子鎖間水素結合の酸素-酸素間距離は 0.253 nm から 0.278 nm の間となり、DFT 構造最適化後、約 0.27 nm といったおおよそ理想的な結合長へと変化した。このことは、分子鎖間水素結合は、分子鎖シートモデルのねじれ変形的作用をもたらす役割を果たしている可能性を示唆する。その一方で、強い分子内水素結合 O3...O5 では、繊維軸に沿ったヤング率に大きく影響を与え、セルロース分子鎖の二回らせん構造を安定化させている。Hadden らは、セルロース I $\beta$  型結晶の体系的な溶媒和 MD 計算により、結晶モデルのねじれ変形は、ファンデルワールス力を増大させ、分子鎖間水素結合を弱めることを提案した<sup>16</sup>。

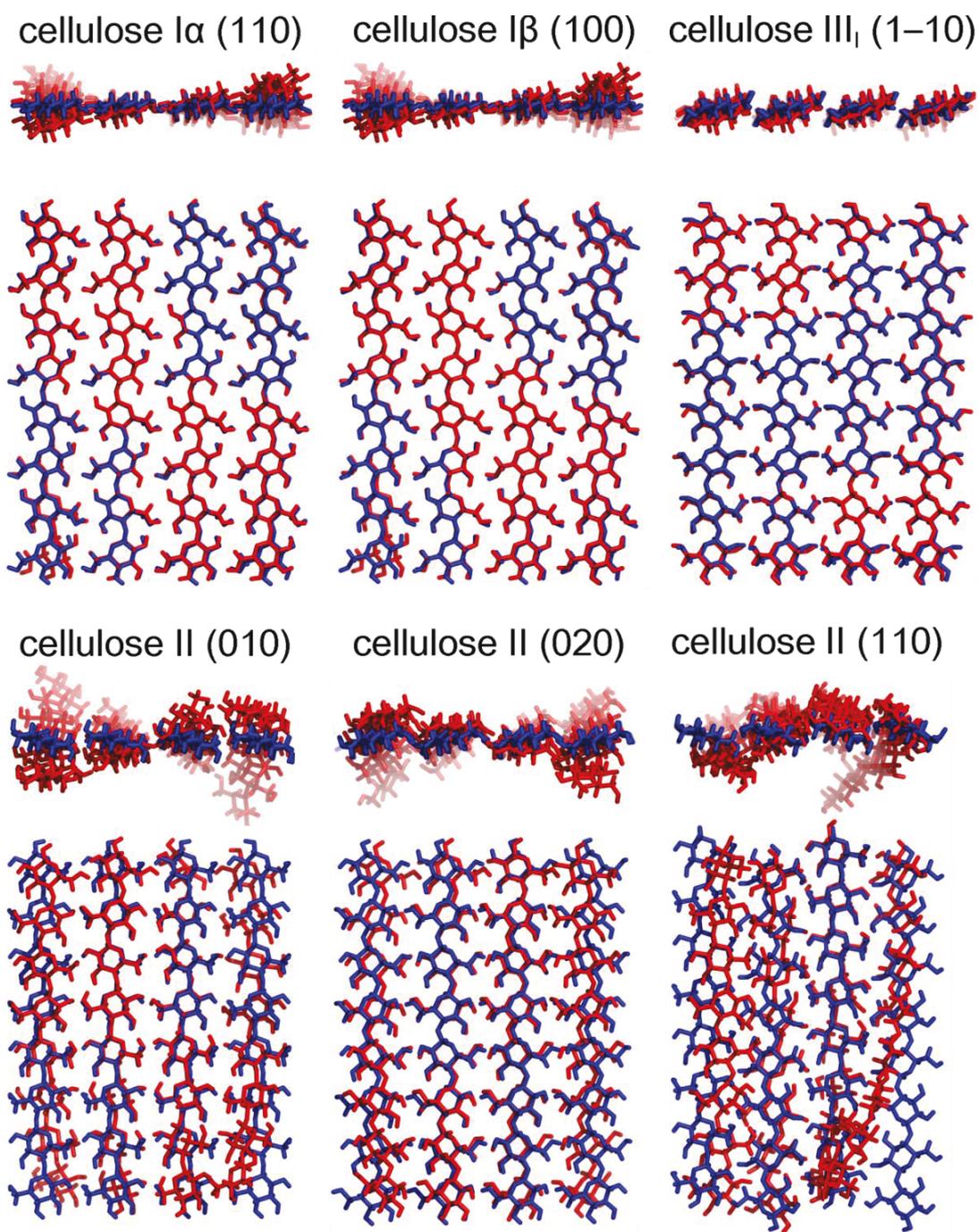


Fig. 3-3 Superimposed structures of the crystal (blue) and DFT-optimized (red) 4×cello-octamers of the cellulose chain sheet models.

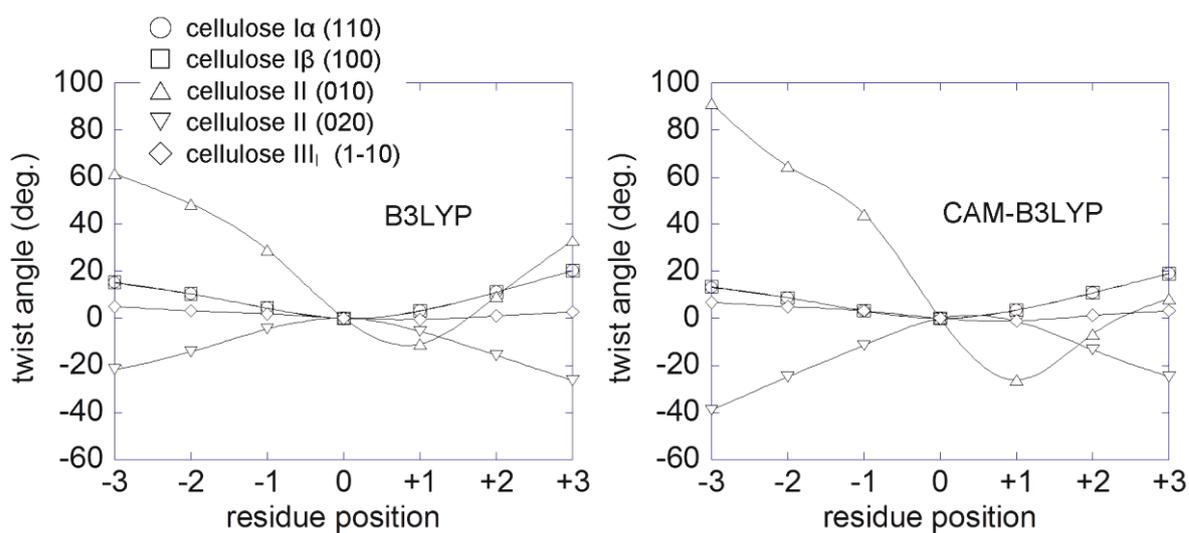


Fig. 3-4 Variations in sheet twist angle ( $\theta$ ) of the B3LYP and CAM-B3LYP DFT-optimized structures of the five  $4 \times$ cello-hexamer chain sheet models with respect to residue position.

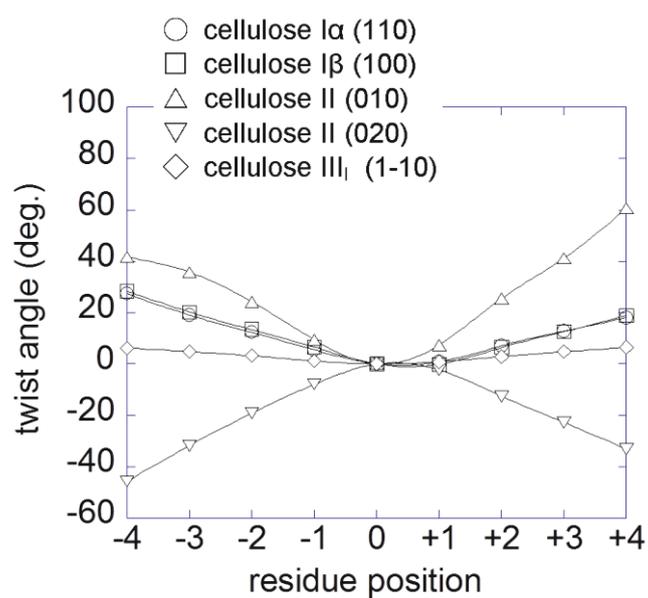


Fig. 3-5 Variations in sheet twist angle ( $\theta$ ) of the CAM-B3LYP DFT-optimized structures of the five  $4 \times$ cello-octamer chain sheet models with respect to residue position.

B3LYP 法は量子化学計算の標準法であるハイブリッド汎関数を採用した DFT 計算であるが、本計算では、分散力や長距離交換相互作用が改善される CAM-B3LYP 法による構造最適化計算並びにエネルギー一点計算を実施した。エネルギー一点計算の結果を Table 3-2 に示す。第 2 章で取り扱った I $\beta$ 型(100)面及び III $_1$ 型(1-10)面由来分子鎖シートモデルの B3LYP/6-311G(d)//B3LYP/6-31G(d)計算と比較すると、汎関数の改良により、若干安定化していたが、定性的には変化が無いことを確認した。

2 種類の天然型セルロース由来の分子鎖シートモデルは、構造最適化で、類似したねじれ構造を与え、孤立分子鎖 ( $E_l$ )と分子鎖間相互作用エネルギー ( $\Delta E_{\text{bind}}$ )が近い値となり、その結果、分子鎖シートの安定化エネルギー ( $\Delta E_{\text{sheet}}$ )もまた同様となった。2 種類の天然セルロースに対するこれら  $\Delta E_{\text{sheet}}$  値は、残りの分子鎖シートモデルよりも遥かに低い (>5 kcal/モル残基)。セルロース III $_1$ 型(1-10)面由来分子鎖シートモデルの  $\Delta E_{\text{sheet}}$  は 3 番目に安定で、続いて、セルロース II 型(020)面、(010)面の順になった。 $\Delta E_{\text{sheet}}$  値について、セルロース II 型(010)面分子鎖シートモデル (~3 kcal/モル残基)を除いて、全ての分子鎖の差は事実上無視できる値となった (<1 kcal/モル残基)。特に、III $_1$ 型(1-10)面から I $\beta$ 型(100)面由来分子鎖シートへの構造変化は  $\Delta E_{\text{sheet}}$  値の差が -5.4 kcal/mol per residue となり、著しく発熱的变化であった。最適化されたセルロース I $\beta$ 型(100)面由来分子鎖シートは、初期の平面分子鎖シートに比べ、ねじれ変形することで、より安定化されたことに注目すべきである。ただし、結晶構造全体の熱力学的な比較をするためには、分子鎖シート間の相互作用の変化に注意を払わなければならない。結晶構造のパッキング様式において、I $\beta$ 型結晶では、セルロース分子鎖は最も効率的に充填され、最も大きな密度 1.63g/cm<sup>3</sup> が提案されている。続いて、I $\alpha$ 型 (1.61 g/cm<sup>3</sup>)、II 型 (1.60 g/cm<sup>3</sup>)、III $_1$ 型 (1.54 g/cm<sup>3</sup>)の密度の順となっている。天然型セルロースの結晶構造は、平面分子鎖シートの積層構造であることが一般的に受け入れられつつある。立体構造安定性を決める上で、シート間相互作用は疎水的相互作用や弱い CH $\cdots$ O 水素結合が支配的となる

ようである。同様に考えると、II型(010)面、(020)面及びIII<sub>I</sub>型(1-10)面由来分子鎖シートは主要な分子鎖シートと定義出来、従って、それらそれぞれの結晶構造は、主要な分子鎖シートの積層構造で特徴付けられる。シート間に疎水性相互作用が働いている天然型セルロースとは異なり、II型では(110)面、III<sub>I</sub>型については(100)面に沿って、付加的な分子鎖間水素結合で連結される。第2章で述べたように、セルロースIII<sub>I</sub>型(1-10)由来分子鎖シートからI型分子鎖シートへの変換を契機に、セルロースIII<sub>I</sub>型(100)面の分子鎖間水素結合が大きく減少する。恐らく、セルロースII型結晶においても同様に、キラリティの異なる2種の分子鎖シートから生じるねじれ変形の傾向により、(010)面と(020)面分子鎖シートの積層構造を緩め、結果として、結晶領域の更なる変形を引き起こすのではないかと考えられる。

Table 3-2 DFT energies of the CAM B3LYP DFT-optimized 4×cello-octamer chain sheet models

Chain sheet model	DFT energies (kcal/mol per residue)		
	$\Delta E_1^a$	$\Delta E_{\text{bind}}$	$\Delta E_{\text{sheet}}$
I $\alpha$ (110)	0.01	-12.93	-12.92
I $\beta$ (100)	0.00	-12.79	-12.79
II (010)	3.01	-7.95	-4.94
II (020)	0.49	-6.67	-6.17
III <sub>I</sub> (1-10)	0.91	-8.31	-7.40

<sup>a</sup> Relative to the I $\beta$  (100) model.

### 3.3.2 セルロース結晶モデルの溶媒和 MD 計算との比較による分子鎖シートの構造特性

Fig. 3-6 には MD 軌跡最終 1 ns に対して実施した解析の平均値をプロットし、結晶モデルの初期構造と最終構造を表示した。付録として、Table A-3 に、結晶モデルから抽出した中央分子鎖シートに相当する 80 残基の $\phi$ - $\psi$ 値を示した。同様に、Table A-4 に結晶モデルの中央ユニットセルにおける結晶パラメータをまとめた。これらパラメータは、MD 軌跡最終 5 ns から算出した平均値である。溶媒和分子動力学計算で観察されるセルロース I $\alpha$ 型と I $\beta$ 型結晶の右巻きねじれ変形現象は、以前に報告<sup>6,7</sup>されており、セルロース I $\alpha$ 型が I $\beta$ 型よりもねじれ変形量は大きくなることがわかっている。本解析により、セルロース 2 回らせん周期当たりの分子鎖シートのねじれ角 ( $\theta$ )のらせんピッチはセルロース I $\alpha$ 型で 3.88°/pitch、I $\beta$ 型で 2.51°/pitch と見積もられ、完全なねじれ 1 周期分の繊維長は、およそ 93 nm と 140 nm にそれぞれ対応する。これらの値は、過去に報告された研究の結果 (I $\alpha$ 型 : 142 nm、I $\beta$ 型 : 170 nm)よりそれぞれ幾分短くなっており、これは、結晶モデルサイズや分子鎖長の違いを反映していると考えられる。Zhao らは、らせんピッチは、結晶モデルの断面積に反比例することが提案した<sup>31</sup>。また、Paavilainen らは、59 分子鎖数 40 残基長で構成されるセルロース I $\beta$ 型結晶モデルに、OPLS 力場を適用し、およそ 500 nm から 600 nm の完全なねじれ 1 周期分の繊維長を予測した<sup>11</sup>。このねじれ 1 周期分の繊維長は、実験系におけるマイクロフィブリルで観察された値 (バクテリアセルロース<sup>3</sup>で 600 nm から 1  $\mu$ m、藻類のセルロース<sup>1</sup>では 700 nm)に相当する。これまでの報告から、ねじれ変形は結晶モデルのサイズや表面積に依存することを踏まえて、現実の系と比較して、非常に小さいサイズの結晶モデルであることを考慮すると、本研究の MD 計算によって予測した完全なねじれ 1 周期分の繊維長はオーダーを再現しており、定量的に合理的な結果となった。DFT 構造最適化されたセルロース I $\alpha$ 型と I $\beta$ 型のシートモデルでの $\theta$ 値は、完全なねじれ 1 周期分の繊維長がおよそ 60 nm と見積もられ、結晶におけるパッキング力のない場合での繊維長であるとみなせる。結晶モデルのねじれ

変形の主要な要因として、分子鎖シートのねじれを考慮すると、セルロース I $\alpha$ 型モデルの大きなねじれについて、シート間相互作用が I $\beta$ 型よりも I $\alpha$ 型モデルの方が弱いことを示唆している。Nishiyama らは、I $\beta$ 型結晶の隣接分子鎖シート間において、I $\alpha$ 型結晶よりも強い CH $\cdots$ O 相互作用の存在<sup>17</sup>を指摘した。セルロース II 型結晶から得られた結果は、簡単なものではなく、A36 モデルではわずかに右巻きにねじれ、2 種類の B36 モデルにおいては若干、左巻きのねじれ構造を与えた。DFT 構造最適化された分子鎖シートモデルのねじれ様式と異なり、結晶モデルにおけるねじれ変形のキラリティーは結晶モデルの形状に明確に依存する結果となった。このことは、構成分子鎖シートから生じる協同的なねじれ変形ストレスと結晶表面上における溶媒効果に起因すると考えられる。セルロース III<sub>1</sub> 型結晶モデルは DFT 構造最適化された(1-10)シートモデルと本質的に同じ傾向となり、A48 及び B48 両方の結晶モデル全体で顕著な変化は観察されず、長期のシミュレーション時間でごくわずかな右巻きのねじれ変形となっていた。これらは、セルロース III<sub>1</sub> 型は、主要な(1-10)分子鎖シートの積層構造と解釈されることが示唆され、改めて、第 2 章で報告した研究内容を支持する結果となった。

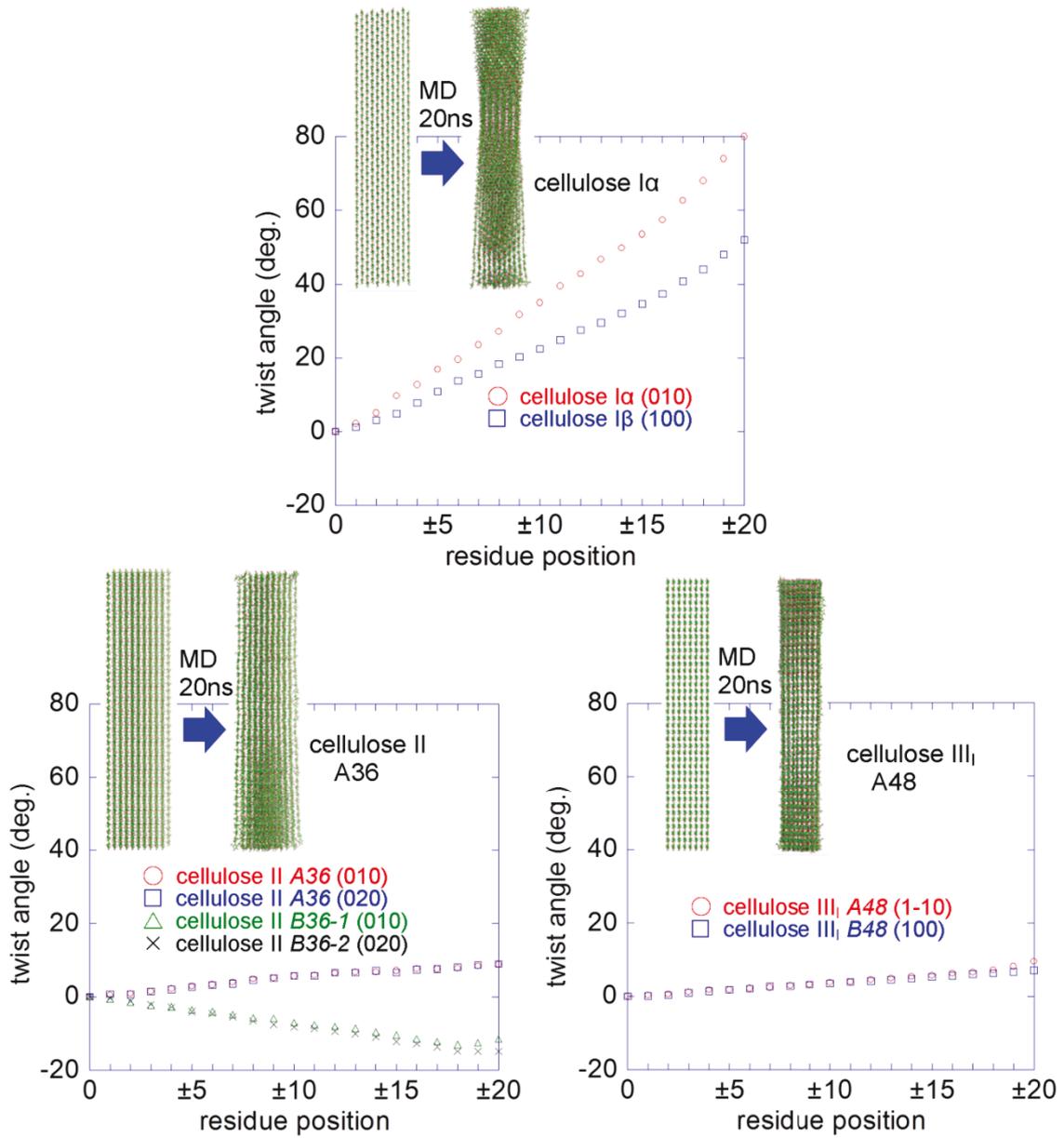


Fig. 3-6 Variations in sheet twist angle ( $\theta$ ) with respect to residue position and the side view of the MD final frame of the representative crystal model. The  $\theta$  values were averaged for the final 1 ns trajectories of the crystal models.

Fig. 3-7 は結晶モデルの内部残基におけるヒドロキシメチル基 ( $\omega$ )配向の分布を示している。2種の天然型結晶モデルと III<sub>1</sub>型結晶モデルのヒドロキシメチル基はそれぞれ、*tg* 配座あるいは *gt* 配座の初期配向を概ね維持していた。III<sub>1</sub>型では、A48 と B48 の両方とも結晶モデルで、わずかな *tg* 配座が出現していた。セルロース II 型結晶モデルでは、 $\omega$  配向 (初期構造は *gt* 配座)は天然型結晶モデルより若干多様な分布となっていた。A36 と B36-1 モデルの(010)分子鎖シートでは、マイナーな *gg* 配座の分布が見られ、同じ結晶モデルの(020)分子鎖シートにおいて、時折、*tg* 配座へと変換していた。この *tg* 配座の存在は、セルロース II 型結晶の乱れ構造として実験的に提案されてきた<sup>32-34</sup>。Langan らは、ヒドロキシメチル基について、従来の *gt* 配座との代わりに、(010)分子鎖シートの残基を *gg* 配座と *tg* 配座に、(020)分子鎖シートでは *tg* 配座に設定することで、結晶構造モデルと X 線回折データとの間における構造の一致さを表している重み付きの信頼度因子 ( $R''$  因子)が最も改善されたと報告した<sup>37</sup>。本研究におけるセルロース II 型結晶モデルの MD シミュレーションはこのヒドロキシメチル基のマイナーな配座を再現した。

最終 1 ns の軌跡において、O3---O5 分子内水素結合が A36 モデルにおいて、(010)分子鎖シートでは 94 %で、(020)分子鎖シートでは 80 %の水素結合占有率となっており、恒常的な水素結合形成を確認したが、一方で、O3---O6 分子内水素結合については、それぞれの分子鎖シートにおいて、11 %と 59 %の水素結合占有率となっていた。この結果は明らかにヒドロキシメチル基のマイナーな分布の存在と関連がある。B36-1 モデルについても同様の水素結合形成の多様性が観察された。ここで、結晶モデルのねじれ変形に関わらず、初期の分子鎖シートを形成している分子鎖間水素結合が本質的に保存されているということに注目すべきである。

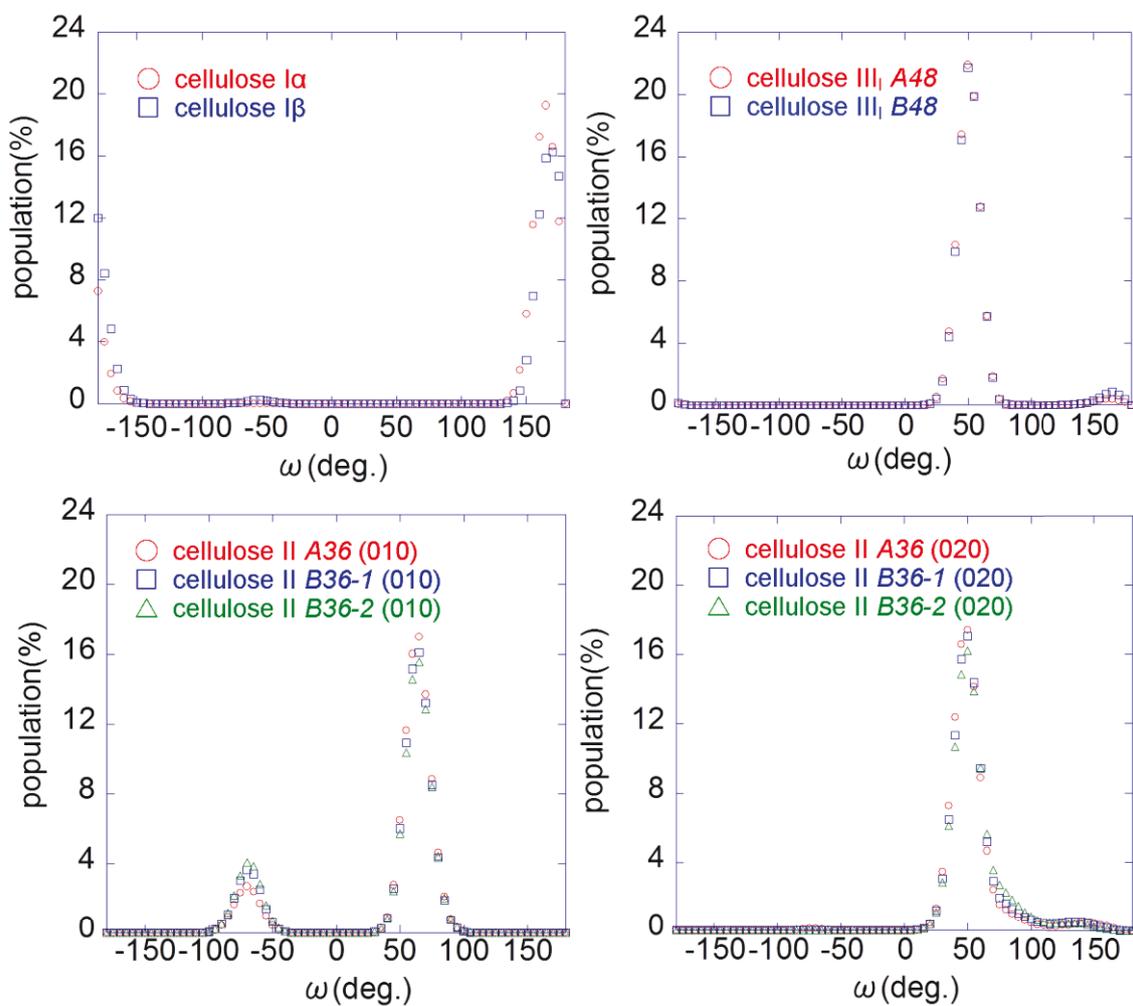


Fig. 3-7  $\omega$  angle populations (%) of the internal residues of crystal models extracted from the MD trajectories from 15 to 20 ns. Each profile includes the  $\omega$  angles obtained from the 320, 480 and 160 residues of the cellulose I $\alpha$  and I $\beta$ , cellulose III<sub>I</sub>, and cellulose II (010) and (020) lattice planes, respectively.

## 第4節 結論

第3章では、セルロース結晶構造を構成する分子鎖シートの計算化学研究を、様々な結晶多形に対して、網羅的かつ体系的に実施し、孤立状態でもシート形状を維持した主要なセルロース結晶由来の分子鎖シートを提案した。2つの天然型セルロース結晶のパッキング様式と類似して、セルロース II 型および III<sub>I</sub> 型は、主要な分子鎖シートの積層であることを裏付けた。Fig. 3-8 は4種類の主要な分子鎖シートモデルのポテンシャルエネルギーの概略図を表したものである。セルロース II 型結晶に由来する2種類の分子鎖シートモデルの初期構造は、それぞれ互いに異なるキラリティーのねじれ構造に対応する極小点よりも高いエネルギー位置に存在するが、結晶のパッキング力の下において、分子鎖シートモデルのねじれ変形が反対のキラリティーへと変化することが可能なように、極小点付近は比較的広いポテンシャル井戸となっていると考えられる。天然セルロース結晶の分子鎖シートは、右巻きねじれ構造に相当するエネルギー極小点よりやや高い位置に存在する。DFT 最適化の前後で初期構造を維持したセルロース III<sub>I</sub> 型結晶 (1-10) 分子鎖シートについては、セルロース III<sub>I</sub> 型結晶が準安定であることを考慮して、セルロース I $\beta$  型分子鎖シート構造のエネルギー位置からエネルギー障壁を越えた極小点の近傍に位置する。セルロース I $\alpha$  型と I $\beta$  型の両方の分子鎖シートモデルは、実際のマイクロフィブリルと同様に、結晶モデルの MD 構造より大きなねじれ変形量が大きくなり、本質的に等価な構造へと集約した。実際の系で見込まれているねじれ変形量と比較して、本研究では、有限長の分子鎖シートや結晶モデルを使用していることが、ねじれ変形量をやや大きく見積もってしまうという点に注意すべきである。

分子鎖シートモデルの DFT 構造最適化は、分子鎖シートの変形を生じさせる目的というよりは、孤立系における実際の分子鎖シート固有の構造特性を評価するために実施した。少なくとも、予測された変形挙動や提案した変換スキームを定性的には検証出来たのではないかと考えられる。Parthasarathi ら<sup>34</sup>、French ら<sup>35</sup>の研究グループはそれぞれ

れ独立して、AIM (Atoms-in-Molecules)に基づく量子理論により、セルロース結晶多形の水素結合やその強度を明示的にした非共有結合性相互作用の解析を報告した。分子鎖シートで観察されたねじれ変形やその他の変形挙動の厳密な解明に当たっては、AIM 解析が適用出来るかもしれず、今後の展開の1つになり得る。

本研究におけるセルロース II 型結晶モデルの MD シミュレーションは、セルロース結晶多形の結晶構造解析で提案されていたヒドロキシメチル基のマイナーな配座<sup>18</sup>を再現したことは注目すべき知見である。また、ねじれ変形の結果として、セルロース II 型(010)面由来の分子鎖シートモデルについて、還元末端残基のヒドロキシメチル基が *tg* 配座へと発展したことについても同様である。

セルロース I $\alpha$ 型と I $\beta$ 型の間における、分子鎖シートと結晶モデルのねじれ変形挙動の比較は、I $\alpha$ 相の準安定構造は弱いシート間相互作用に起因することを提案する。繊維軸方向のせん断応力下における結晶化は、セルロース I $\beta$ 型相を形成するための、十分な分子鎖シートの構造緩和を妨げるかもしれない。酢酸菌 *Acetobactor xylinum* によって産出されるバクテリアセルロースリボンにおいて、セルロース I $\alpha$ 相の結晶化が長軸方向のせん断応力によって誘発されることを Yamamoto ら<sup>38</sup>は実験的に提案した。Kataoka と Kondo<sup>39</sup>は、せん断応力によって誘発される結晶化の概念を木質細胞壁の形成に適用し、細胞伸長によって生じたせん断応力下にある一次壁は準安定な I $\alpha$ 相が豊富に存在し、細胞の分化後に形成する二次壁はストレスのない I $\beta$ 相に富むことを報告した。シート間の相互作用に関する力学的現象として、Cabrera ら<sup>40</sup>は、天然型結晶の圧力が増大するにつれて、(004)反射の鋭いピークが相対的に残るのに対し、隣接分子鎖シート間の間隔に相当する(200)反射は有意に位置を変え、消失したことを指摘した。このことは、分子鎖シート間のせん断歪みの発生を意味する。

ヤング率が、天然型セルロース結晶とセルロース II 型結晶に対して、実験的・理論的に見積もられており、124-220 GPa (天然型)<sup>41-47</sup>、78-163 GPa (II 型)<sup>41-43,46,48</sup> の範囲となっ

ている。Eichhorn ら<sup>48</sup>は、ラマン分光法と X 線回折法の測定によって、セルロース II 型の結晶領域は過剰応力となっていることが示唆した。本研究から、セルロース II 型のマイクロフィブリルがセルロース I 型マイクロフィブリルでみられたようなねじれ変化を示す可能性がある。加えて、セルロース II 型のねじれ変形ストレスはより小さく、これは、結晶相は隣接している主要な(010)面と(020)面由来の分子鎖シートにおける、2 種類のそれぞれ異なるキラリティーのねじれ変形ストレスが互いに打ち消しあっていることが示唆された。セルロース IB 結晶で報告されている横方向弾性率の理論的計算<sup>49,50</sup>を実施することで、この提案の直接的証拠について得られるかもしれない。

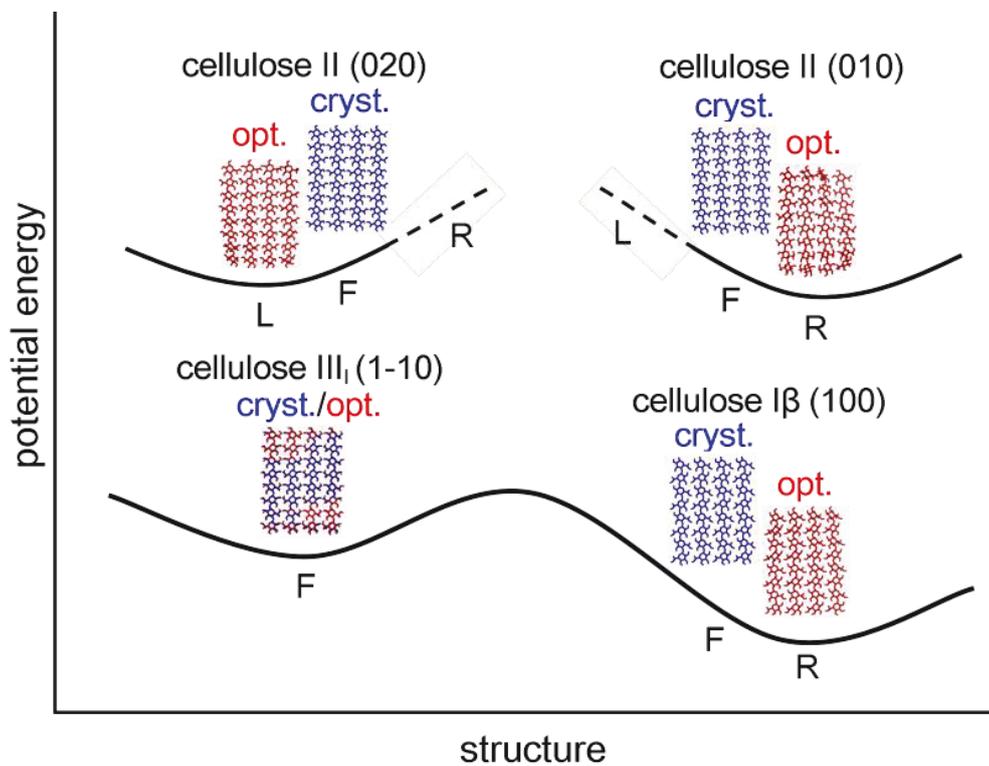


Fig. 3-8. Schematic representation of the potential energy diagrams proposed for the cellulose I<sub>β</sub>, II, and III<sub>I</sub> chain sheet models of the crystal (cryst. in blue) and DFT-optimized (opt. in red) structures. **F** denotes the flat structure, and **L** and **R** denote the left- and right-handed twisted structures.

## 参考・引用文献

- (1) Hanley SJ, Revol JF, Godbout L, Gray DG (1997) Atomic force microscopy and transmission electron microscopy of cellulose from *micrasterias denticulata*; evidence for a chiral helical microfibril twist. *Cellulose* 4:209–220.
- (2) Koyama M, Helbert W, Imai T, Sugiyama J, Henrissat B (1997) Parallel-up structure evidences the molecular directionality during biosynthesis of bacterial cellulose. *Proc Natl Acad Sci USA* 94:9091–9095.
- (3) Hirai A, Tsujii M, Horii F (1998) Helical sense of ribbon assemblies and splayed microfibrils of bacterial cellulose. *Sen-i Gakkaishi* 54:506–510.
- (4) Bowling AJ, Amano Y, Lindstrom R, Brown RM (2001) Rotation of cellulose ribbons during degradation with fungal cellulase. *Cellulose* 8:91–97.
- (5) Fernandes AN, Thomas LH, Altaner CM, Callow P, Forsyth VT, Apperley DC, Kennedy CJ, Jarvis MC (2011) Nanostructure of cellulose microfibrils in spruce wood. *Proc Natl Acad Sci USA* 10:1195–1203.
- (6) Yui T, Nishimura S, Akiba S, Hayashi S (2006) Swelling behavior of the cellulose I $\beta$  crystal models by molecular dynamics. *Carbobohydr Res* 341:2521–2530.
- (7) Yui T, Hayashi S (2007) Molecular dynamics simulations of solvated crystal models of cellulose I $\alpha$  and III $_1$ . *Biomacromolecules* 8:817–824.
- (8) Matthews JF, Skopec CE, Mason PE, Zuccato P, Torget RW, Sugiyama J, Himmel ME, Brady JW (2006) Computer simulation studies of microcrystalline cellulose I $\beta$ . *Carbohydr Res* 341:138–152.
- (9) Matthews JF, Bergensträhle M, Beckham GT, Himmel ME, Nimlos MR, Brady JW, Crowley MF (2011) High-temperature behavior of cellulose I. *J Phys Chem B* 115:2155–2166.
- (10) Matthews JF, Beckham GT, Bergensträhle-Wohlert M, Brady JW, Himmel ME, Crowley MF (2012) Comparison of cellulose I $\beta$  simulations with three carbohydrate force fields. *J Chem Theory Comput* 8:735–748.
- (11) Paavilainen S, Róg T, Vattulainen I (2011) Analysis of twisting of cellulose nanofibrils in atomistic molecular dynamics simulations. *J Phys Chem B* 115:3747–3755.
- (12) Bu L, Beckham GT, Crowley MF, Chang CH, Matthews JF, Bomble YJ, Adney WS, Himmel ME, Nimlos MR (2009) The energy landscape for the interaction of the family 1 carbohydrate-binding module and the cellulose surface is altered by hydrolyzed glycosidic bonds. *J Phys Chem B* 113:10994–11002.
- (13) Glass DC, Moritsugu K, Cheng X, Smith JC (2012) REACH Coarse-Grained Simulation of a Cellulose Fiber. *Biomacromolecules* 13:2634–2644.
- (14) Wu S, Zhan HY, Wang HM, Ju Y (2012) Secondary structure analysis of native cellulose by molecular dynamics simulations with coarse grained model. *Chin. J Chem Phys* 25:191–198.

- (15) Wohler J, Berglund LA (2011) A coarse-grained model for molecular dynamics simulations of native cellulose. *J Chem Theory Comput* 7:753–760.
- (16) Hadden JA, French AD, Woods RJ (2013) Unraveling cellulose microfibrils: a twisted tale. *Biopolymers* 99:746–756.
- (17) Nishiyama Y, Sugiyama J, Chanzy H, Langan P (2003) Crystal structure and hydrogen bonding system in cellulose I $\alpha$  from synchrotron X-ray and neutron fiber diffraction. *J Am Chem Soc* 125:14300–14306.
- (18) Nishiyama Y, Langan P, Chanzy H (2002) Crystal structure and hydrogen-bonding system in cellulose I $\beta$  from synchrotron X-ray and neutron fiber diffraction. *J Am Chem Soc* 124:9074–9082.
- (19) Langan P, Nishiyama Y, Chanzy H (2001) X-ray structure of mercerized cellulose II at 1 Å resolution. *Biomacromolecules* 2:410–416.
- (20) Wada M, Chanzy H, Nishiyama Y, Langan P (2004) Cellulose III $_1$  crystal structure and hydrogen bonding by synchrotron X-ray and neutron fiber diffraction. *Macromolecules* 37:8548–8555.
- (21) Kirschner KN, Yongye AB, Tschampe SM, González-Outeiriño J, Daniels CR, Foley BL, Woods RJ. (2008) GLYCAM06: A generalizable biomolecular force field. Carbohydrates. *J Comput Chem* 622–655.
- (22) Yanai T, Tew DP, Handy NC (2001) A new hybrid exchange–correlation functional using the coulomb-attenuating method (CAM-B3LYP). *Chem Phys Lett* 393:51–57.
- (23) Boys SF, Bernardi F (1970) The calculation of small molecular interactions by the differences of separate total energies. Some procedures with reduced errors. *Mol Phys* 19:553–566.
- (24) Simon S, Duran M, Dannenberg JJ (1996) How does basis set superposition error change the potential surfaces for hydrogen-bonded dimers? *J Chem Phys* 105:11024–11031.
- (25) Frisch MJ, Trucks GW, Schlegel HB, Scuseria GE, Robb MA, Cheeseman JR, Scalmani G, Barone V, Mennucci B, Petersson GA, Nakatsuji H, Caricato M, Li X, Hratchian HP, Izmaylov AF, Bloino J, Zheng G, Sonnenberg JL, Hada M, Ehara M, Toyota K, Fukuda R, Hasegawa J, Ishida M, Nakajima T, Honda Y, Kitao O, Nakai H, Vreven T, Montgomery Jr JA, Peralta JE, Ogliaro F, Bearpark M, Heyd JJ, Brothers E, Kudin KN, Staroverov VN, Kobayashi R, Normand J, Raghavachari K, Rendell A, Burant JC, Iyengar SS, Tomasi J, Cossi M, Rega N, Millam JM, Klene M, Knox JE, Cross JB, Bakken V, Adamo C, Jaramillo J, Gomperts R, Stratmann RE, Yazyev O, Austin AJ, Cammi R, Pomelli C, Ochterski JW, Martin RL, Morokuma K, Zakrzewski VG, Voth GA, Salvador P, Dannenberg JJ, Dapprich S, Daniels AD, Farkas O, Foresman JB, Ortiz JV, Cioslowski J, Fox DJ (2009) Gaussian 09, Revision C.01. Gaussian Inc., Wallingford.

- (26) Jorgensen WL, Chandrasekhar J, Madura JD, Impey RW, Klein ML (1983) Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. *J Chem Phys* 79:926–935.
- (27) Case DA, Darden TA, Cheatham III TE, Simmerling CL, Wang J, Duke RE, Luo R, Walker RC, Zhang W, Merz KM, et al (2012) AMBER 12. University of California, San Francisco.
- (28) Ryckaert JP, Cicotti G, Berendsen HJC (1977) Numerical integration of the cartesian equations of motion of a system with constraints: molecular dynamics of n-Alkanes. *J Comput Phys* 23:327–341.
- (29) Essmann U, Perera L, Berkowitz ML, Darden TA, Lee H, Pedersen LG (1995) A smooth particle mesh ewald method. *J Chem Phys* 103:8577–8593.
- (30) Humphrey W, Dalke A, Schulten K (1996) VMD - Visual Molecular Dynamics. *J Molec Graphics* 14:33–38.
- (31) Zhao Z, ShklyaeV OE, Nili A, Mohamed MNA, Kubicki JD, Crespi VH, Zhong L (2013) Cellulose microfibril twist, mechanics, and implication for cellulose biosynthesis. *J Phys Chem A* 117:2580-2589.
- (32) Kolpak FJ, Weih M, Blackwell J (1978) Mercerization of cellulose: 1. Determination of the structure of mercerized cotton. *Polymer* 19:123–131.
- (33) Kono H, Numata Y, Erata T, Takai M (2004) <sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H resonance assignment of mercerized cellulose II by two-dimensional MAS NMR spectroscopies. *Macromolecules* 37:5310–5316.
- (34) Langan P, Nishiyama Y, Chanzy H (1999) A revised structure and hydrogen-bonding system in cellulose II from a neutron fiber diffraction analysis. *J Am Chem Soc* 121:9940–9946.
- (35) Langan P, Sukumar N, Nishiyama Y, Chanzy H (2005) Synchrotron X-ray structures of cellulose I $\beta$  and regenerated cellulose II at ambient temperature and 100K. *Cellulose* 12:551–562.
- (36) Parthasarathi R, Bellesia G, Chundawat SPS, Dale BE, Langan P, Gnanakaran S (2011) Insights into hydrogen bonding and stacking interactions in cellulose. *J Phys Chem A* 115:14191–14202.
- (37) French AD, Concha M, Dowd MK, Stevens ED (2014) Electron (charge) density studies of cellulose models. *Cellulose* 21:1051-1063.
- (38) Yamamoto H, Horii F, Hirai A (1996) In Situ crystallization of bacterial cellulose II. Influences of different polymeric additives on the formation of celluloses I $\alpha$  and I $\beta$  at the early stage of incubation. *Cellulose* 3:229–242.
- (39) Kataoka Y, Kondo T (1996) Changing cellulose crystalline structure in forming wood cell walls. *Macromolecules* 29:6356–6358.
- (40) Cabrera RQ, Meersman F, McMillan PF, Dmitriev V (2011) Nanomechanical and structural properties of native cellulose under compressive stress. *Biomacromolecules* 12:2178–2183.
- (41) Kroon-Batenburg LMJ, Kroon J, Northolt MG (1986) Chain modulus and intramolecular hydrogen bonding in native and regenerated cellulose fibers. *Polym Commun* 27:290–292.

- (42) Tashiro K, Kobayashi M (1991) Theoretical evaluation of three-dimensional elastic constants of native and regenerated celluloses: role of hydrogen bonds. *Polymer* 32:1516–1526.
- (43) Marhöfer RJ, Reiling S, Brickmann J (1996) Computer simulations of crystal structures and elastic properties of cellulose. *Ber, Bunsen-Ges Phys Chem* 100:1350–1354.
- (44) Šturcová A, Davies GR, Eichhorn SJ (2005) Elastic modulus and stress-transfer properties of tunicate cellulose whiskers. *Biomacromolecules* 6:1055–1061.
- (45) Tanaka F, Iwata T (2006) Estimation of the elastic modulus of cellulose crystal by molecular mechanics simulation. *Cellulose* 13:509–517.
- (46) Diddens I, Murphy B, Krisch M, Müller M (2008) Anisotropic elastic properties of cellulose measured using inelastic X-ray scattering. *Macromolecules* 41:9755–9759.
- (47) Iwamoto S, Kai W, Isogai A, Iwata T (2009) Elastic modulus of single cellulose microfibrils from tunicate measured by atomic force microscopy. *Biomacromolecules* 10:2571–2576.
- (48) Eichhorn SJ, Young RJ, Davies GR (2005) Modeling crystal and molecular deformation in regenerated cellulose fibers. *Biomacromolecules* 6:507–513.
- (49) Eichhorn SJ, Davies GR (2006) Modelling the crystalline deformation of native and regenerated cellulose. *Cellulose* 13:291–307.
- (50) Wu X, Moon RJ, Martini A (2013) Crystalline cellulose elastic modulus predicted by atomic models of uniform deformation and nanoscale indentation. *Cellulose* 20:43–55.

## 第4章

### セルロースナノチューブの構造特性と立体構造安定性

#### 第1節 緒言

ナノチューブは、応用面での高いポテンシャルを有しており、様々なナノ構造体の代表例であり、ナノテクノロジーの最も重要なキーワードのひとつとなっている。中でも、最も知られているカーボンナノチューブ(CNT)<sup>1,2</sup>は、熱・電気伝導性や力学特性が非常に大きいために、半導体、燃料電池、光学機器といった電子機器への応用や構造材料としての利用が検討されてきている。その一方、近年では、炭素以外の様々な物質からなるナノチューブの合成に成功されるようになり、あらゆる物質からナノチューブ構造が出現する時代に突入したといえる。

無機・金属ナノチューブとしては、CNT以降、硫化タングステンなどの金属硫化物系、窒化ケイ素、窒化ホウ素などの窒化物系、酸化バナジウム、チタニア、シリカ、希土類酸化物などの金属酸化物系、白金などの貴金属系など各種のナノチューブが相次いで合成されている。白金ナノチューブを例に取れば、チューブ形成による触媒効率の向上が期待されており、高機能低環境負荷材料の提案等がなされている。CNTや無機・金属ナノチューブは共有結合・イオン結合・金属結合を含んだ一次結合によって出来ているため、半導体や光応答性、触媒などといった応用が期待されている。一方、タンパク質・脂質・糖質・DNA・合成高分子などで構成される有機ナノチューブもまた数多く見出されているが、応用面では、CNTや無機・金属ナノチューブとは異なり、ホスト・ゲスト科学、薬剤運搬システム、陽イオンの認識などが期待されている。有機ナノチューブは低分子が水素結合やファンデルワールス力といった比較的弱い力によって自己組織化することで得られる。典型的な有機ナノチューブは両親媒性分子を構成単位

としており、この両親媒性が自己組織化に大きく寄与していると考えられている<sup>3</sup>。分子の自己組織化は速く、超分子構造形成の単純な新規手法である。こうしたボトムアップ的アプローチによって、多くの新規ナノチューブが創製されてきている<sup>47</sup>。

第2章及び第3章で述べたように、セルロースIII<sub>1</sub>型結晶構造の構成要素である(100)面由来の孤立分子鎖シートモデルのDFT最適化計算を行った際、分子鎖シートが自発的にチューブ形態へと自己組織化する現象を発見した。本章では、このDFT計算によって予測されたセルロースナノチューブ (CelNT)構造のチューブ構築原理と、それに基づいて構築したサイズと形状の異なる複数のCelNTの立体構造や熱力学特性について溶媒和MD計算により体系的に解析した。

## 第2節 方法

### 4.2.1 セルロース III<sub>I</sub>型結晶(100)面由来孤立分子鎖シートモデルの DFT 構造最適化計算

セルロース III<sub>I</sub>型(100)分子鎖シートモデル構築のための座標情報は Wada らによる X線・中性子線による結晶構造解析データ<sup>8</sup>から得た。孤立分子鎖シートモデルはセルロース4分子鎖×2, 4, 6, 8, 10merで構成されるようにした。

構造最適化計算の前段階に、Glycam06<sup>9, 10</sup>を適用したAMBER力場で水素原子のみを最適化した。構築したセルロースIII<sub>I</sub>型(100)分子鎖シートを汎関数CAM-B3LYP<sup>11</sup>と基底関数6-31G(d)によるDFT構造最適化計算に供し、同じ汎関数で、基底関数を6-311G(d)とした一点計算を実施した。分子鎖間相互作用エネルギー $\Delta E_{\text{bind}}$ を以下の式で算出した。

$$\Delta E_{\text{bind}} = 1/2[E_{\text{total}} - (E_1 + E_2)]$$

この $\Delta E_{\text{bind}}$ 算出のために、BSSE<sup>12</sup>をCounterpoise法<sup>13</sup>により補正した。これらはDFT計算プログラムとしてGaussian09<sup>14</sup>を使用した。

### 4.2.2 計算化学手段によるセルロースナノチューブ形成の検証

MD計算のための初期構造は、2回らせん対称を持つセルロース分子鎖を回転行列によって、円形に対象操作した。セルロース分子鎖のヒドロキシメチル基配向はgtを初期配座とした。チューブ構築原理については、第3節にて詳細に述べる。最大17,000個程度のクロロホルム分子を満たした溶媒和ボックス中にチューブモデルを配置し周期境界条件を適用した系を計算システムとした。クロロホルム分子について、極性が低い性質を持ち、力場パラメータが整備されていたことから溶媒分子として採用した。

MD計算プログラムにはAMBER11のPMEMDモジュール<sup>15</sup>、糖分子パラメータにはGLYCAM06を使用した。初期段階では、系の構造緩和を目的とした最適化計算を実施し、温度20 Kから300 Kへの昇温過程において、NTVアンサンブルでセルロース結晶モデルに10 kcal/mol・Å<sup>2</sup>の位置束縛条件を適用した平衡化計算に供した。次いで、平衡化

後に300 K、1 barのNTPアンサンブルでMD計算を10 nsまで実施した。これらの計算はPME法<sup>16</sup>を適用し、水素原子を含む結合の伸縮振動を制限するSHAKE<sup>16</sup>オプションを使用し、積分ステップ2 fsとした。通常の原子間非結合相互作用に対して、1—4相互作用スケール因子は糖質分子の設定値を採用した。

CeINTモデルの300 Kにおける溶媒和自由エネルギーを3D-RISM (Three-dimensional reference interaction site model)理論<sup>17, 18</sup>を用いて見積もった。この際、MD最終構造の中央10残基を抽出し、末端をメトキシ基でキャップした構造に対して実施した。3D-RISM理論による溶媒和自由エネルギーの計算は愛媛大学の宮田竜彦博士に委託した。

MD計算によって得られた軌跡データの解析に当たっては、AMBERプログラムパッケージに含まれるPTRAJモジュールを使用した。MD軌跡解析は、末端20 mer以外の部分について、ヒドロキシメチル基配向と分子鎖間水素結合を解析した。そこで、構成残基ごとに水素結合占有率を可視化のためにVoxler® (Golden Software, Inc., Golden, CO, USA)ソフトウェアを組み合わせることで、水素結合ペアの位置と占有率を色によって表示した解析も実施した。また、ダイナミクス構造を詳細に検討するために、MD軌跡をアニメーションにより可視化するVMD 1.9.1ソフトウェアを使用した。

### 第3節 結果と考察

#### 4.3.1 DFT 最適化計算において自己組織化したセルロースナノチューブの構造特性解析

はじめにセルロース III<sub>I</sub> 型(100)分子鎖シートモデルの構造最適化計算における変形挙動について概説する。III<sub>I</sub> 型(100)面由来の孤立分子鎖シートモデルは構造最適化の初期段階で分子鎖シートが自発的にねじれ、その後、DFT 構造最適化の進行に伴って、シートが円筒状に巻き始め、最終段階では、分子鎖間水素結合によって、シートの両端がジッパーのように閉じていくことでチューブ構造となった。分子鎖シートが巻いていく挙動は、繊維軸に沿って、セロビオース単位の 1/4 繊維周期のずれを同時発生させた。セルロース III<sub>I</sub> 型結晶の初期構造は構成分子鎖同士について、そうした分子鎖のずれは観察されず、予測されたチューブ構造においては、分子鎖シートの両端に位置する分子鎖が他の分子鎖ペアと同様の配置となっていた。Fig. 4-1 に DFT 構造最適化されたチューブ構造 (4 分子鎖、重合度 10) とチューブ構築原理の概略図を示した。このチューブ状分子は、分子鎖が右巻きらせん対称に配置し、それぞれの分子鎖は 2 回らせん対称を保持しながら、わずかに左巻きのねじれ変形をしていた。隣接分子鎖が分子鎖軸方向に 1/4 繊維周期並行移動した構造であることを構築原理としたとき、 $4n$  ( $n = 1, 2, 3, \dots$ ) の分子鎖数で構成され、重合度や分子鎖数の拡張が可能なチューブ構築原理が示唆された。こうして予測されたセルロースナノチューブを CeINT と命名した。

Table 4-1 に DFT 構造最適化計算された異なる重合度のセルロース III<sub>I</sub> 型(100)分子鎖シートモデル、つまり 4 分子鎖 CeINT モデルの隣接分子鎖間の相互作用エネルギー  $\Delta E_{\text{bind}}$  を列挙した。相互作用エネルギーを見ると、分子鎖は 2 種類に大別出来る。相互作用エネルギーがより小さい分子鎖については、シート両端に由来する分子鎖に相当し、シート両端が部分的に閉じきっておらず、繊維周期以上のずれが分子鎖間相互作用を反映したと考えられる。分子鎖シート内部に由来する分子鎖については、隣接分子鎖間の関係としてどの部分においても、1/4 繊維周期の分子鎖ずれが存在する。シート両端に由

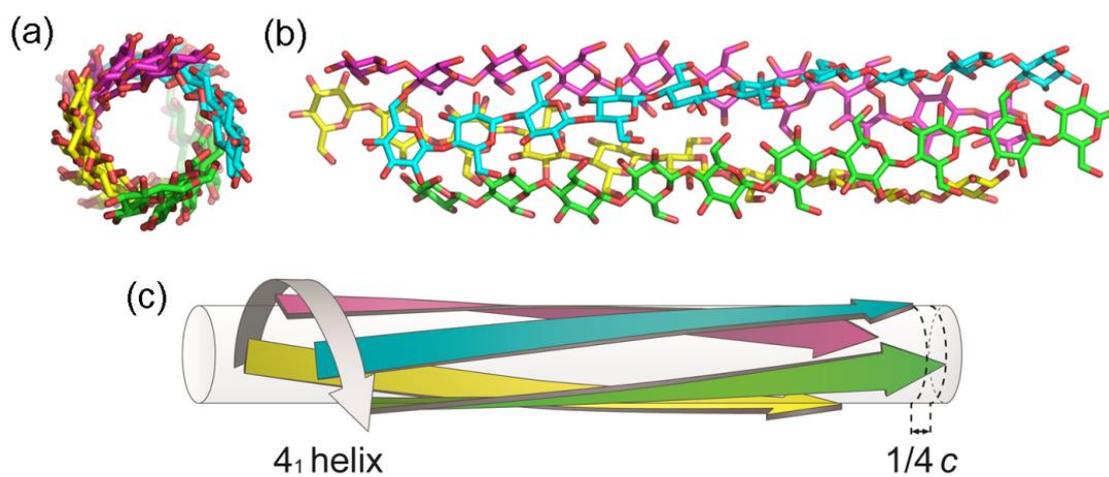


Fig. 4-1 Cross-sectional (a) and side (b) views of the DFT-optimized nanotube structure consisting of four cello-oligomers with DP=10. A schematic representation of the corresponding nanotube with the four-fold, right-handed, parallel arrangement of the oligomers represented by arrows (c). The same coloring patterns for the oligomers are used in the three representations.

Table 3-1 Intermolecular energies<sup>a</sup> (kcal/mol per residue) of the CelNT models

No. of chains × DP	Oligomer number			
	1	2	3	4
4×2mer	-5.49	-8.75	-8.53	-5.22
4×4mer	-6.85	-8.42	-8.20	-6.55
4×6mer	-8.00	-8.37	-8.28	-7.82
4×8mer	-8.14	-8.46	-8.56	-8.19
4×10mer	-8.25	-8.50	-8.59	-8.29

<sup>a</sup> The intermolecular energy,  $\Delta E_{\text{bind}}$ , between adjacent oligomers is calculated using the equation:  $\Delta E_{\text{bind}} = 1/2[E_{\text{total}} - (E_1 + E_2)]/DP$ , where  $E_{\text{total}}$  is the DFT energies of the total model,  $E_{\text{total}}$ , and  $E_1$  and  $E_2$  are those of the oligomer defined by the number and the rest, respectively. The basis set superposition error was estimated using the counterpoise method<sup>12, 13</sup>.

来する繊維周期以上の分子鎖ずれの影響は、低重合度ほど大きくなると考察出来る。

次に分子鎖間相互作用エネルギーの値の大きさについてであるが、CelNT の分子鎖間相互作用エネルギーの平均は残基当たり -8.5 kcal/mol である。第 2 章で述べたように、セルロース III<sub>I</sub> 型(1-10)分子鎖シートモデルでは、分子鎖間相互作用エネルギーは残基当たり -7 kcal/mol であり、一方、セルロース Iβ 型(100)分子鎖シートにおいて、残基当たり -11kcal/mol であった。CelNT はシートが顕著な湾曲によって形成したにもかかわらず、セルロース結晶モデルの構成分子鎖と同等の相互作用エネルギーによって集合していることが示唆された。

Table 4-2, 4-3 には、予測された CelNT モデルの構造パラメータについてまとめたものである。セルロース III<sub>I</sub> 型結晶(100)由来分子鎖シートは酸素-酸素間距離にして 2.642 Å の O6-H---O2 分子鎖間水素結合を形成している。チューブ形成の結果、酸素-酸素間距離はわずかに伸び、また O2-H---O5 分子鎖間水素結合といった酸素-酸素間距離にして平均で 2.775 Å の新たな分子鎖間水素結合を形成していた。グリコシド結合回転角については、Φ (O5-C1-O4-C4) と Ψ (C1-O4-C4-C5) を定義し、解析を実施したが、後者において、初期構造から約 20° 程度の有意な違いが見られた。一方、ヒドロキシメチル基配向 ω (O5-C5-C6-O6) もまた初期値から違いが見られ、セルロース分子鎖に沿って、交互に 49° あるいは 63° となっており、この交互の関係に連動して O2-H---O5 分子鎖間水素結合も出現していた。1/4 繊維周期の分子鎖ずれを発生させた同様の分子鎖すべりが、ヒドロキシメチル基配向の交互の関係性と同様に起こることは過去のセルロース III<sub>I</sub> 型結晶モデルの溶媒和 MD 計算<sup>19</sup>によって観察されている。また、注目すべき点として、1/4 繊維周期の分子鎖配置のずれはセルロース II 型結晶<sup>20</sup>の分子鎖シートでも見出され、2 回らせん対称を持つセルロース分子鎖が効率的に単位格子内に充填されている。

Table 4-2 The principal rotation parameters of the CelNT model predicted by DFT calculation

No. of chains × DP	$\Phi$ (deg.) <sup>a</sup>	$\Psi$ (deg.) <sup>a</sup>	$\omega$ (deg.) <sup>a</sup>	
			odd	Even
Crystal <sup>b</sup>	-92	-146	44	44
4×2mer	-93	-158	56	64
4×4mer	-90	-165	53	63
4×6mer	-89	-166	51	63
4×8mer	-89	-166	49	63
4×10mer	-89	-166	48	63

<sup>a</sup> The conformation of the hydroxymethyl group is defined by  $\omega$  (O5-C5-C6-O6). The glycosidic torsion angles  $\Phi$  and  $\Psi$ , which describe the relative orientation of adjacent glycosyl residues in same chain, are defined by (O5-C1-O4-C4) and (C1-O4-C4-C5), respectively.

<sup>b</sup> Cellulose III<sub>I</sub> by high-resolution crystal structure analysis data<sup>8</sup>.

Table 4-3 The hydrogen-bonds geometry of the CeINT model predicted by DFT calculations

No. of chains × DP	O6-H6O---O2		O2-H2O---O5 <sup>a</sup>	
	distance (Å)	angle (deg.)	distance (Å)	angle (deg.)
Crystal	2.642	14.7	-	-
4×2mer	2.857	19.3	2.683	20.0
4×4mer	2.781	26.5	2.773	23.6
4×6mer	2.770	28.1	2.806	26.3
4×8mer	2.777	28.3	2.804	28.0
4×10mer	2.774	28.6	2.808	28.3

<sup>a</sup> The intermolecular hydrogen bonds O2-H2O---O5 appears only the odd number residue.

#### 4.3.2 様々な構築 CelNT モデルの構造安定性評価とダイナミクス挙動

DFTで予想された CelNT は分子鎖が 1/4 繊維周期ずれた配置となっていたことが明らかとなった。セルロース結晶多形の構造を俯瞰すると、分子鎖間水素結合により分子鎖シートを形成し、I 型結晶<sup>21, 22</sup>や II 型結晶では、これら結晶構造の分子鎖配置も 1/4 繊維周期ずれている。天然 I 型の 1 つである I $\alpha$ 型では、一方向に分子鎖ずれがシフトしていくのに対し、I $\beta$ 型では、交互に分子鎖が配置され、これら I 型結晶は分子鎖が平行になっていることが特徴である一方で、II 型結晶では、分子鎖が交互に配置され、逆平行になっている点で大きな構造上の違いがある。これらを踏まえて、分子鎖本数が  $4n$  で構成され、右巻きらせん対称あるいは左巻きらせん対称によって、分子鎖ずれが一方向にシフトするモデルや、分子鎖本数が  $2n$  で構成され、回転対称によって、分子鎖が交互に配置するモデルが予想され、それぞれを H<sub>R</sub>, H<sub>L</sub>, R と定義した。これらは、分子鎖配向が平行 (P)あるいは逆平行 (AP)が考えられ、モデルが計 6 種類となる (Fig. 4-2)。

チューブ形成を確認した DFT 計算では大きな系を扱うことは非常に難しく、先程予想された 6 種類のモデルについて重合度や分子鎖数を拡張させて計算することが不可能である。将来の CelNT 創製研究に向けて、そうした計算が技術的に可能な MD 法で、サイズを拡張した CelNT を対象として、CelNT の構造安定性や溶媒中でのダイナミクスについて検証するに至った。MD 計算のためのモデルは、“分子鎖配向-対称性-CelNT” と定義し、DP がグルコース残基長 80 でそれぞれ 6 種類の CelNT モデルを構築した。構築モデルに対し、クロロホルムを溶媒分子とした溶媒和 MD 計算を実施した。

クロロホルム溶媒和 MD 計算の結果、AP-H<sub>R</sub>-CelNT モデルと AP-H<sub>L</sub>-CelNT のモデルは立体構造を崩し、残り 4 種のモデルについてはチューブ構造を維持した。MD 軌跡の最終 1 ns について、CelNT モデルの分子鎖間相互作用  $\Delta E_{\text{int}}$  を見積もった (Table 4-4)。

CelNT モデルの分子鎖間相互作用解析に当たっては、最終 1 ns の MD 軌跡から溶媒分子を排除して、真空中条件で計算した。

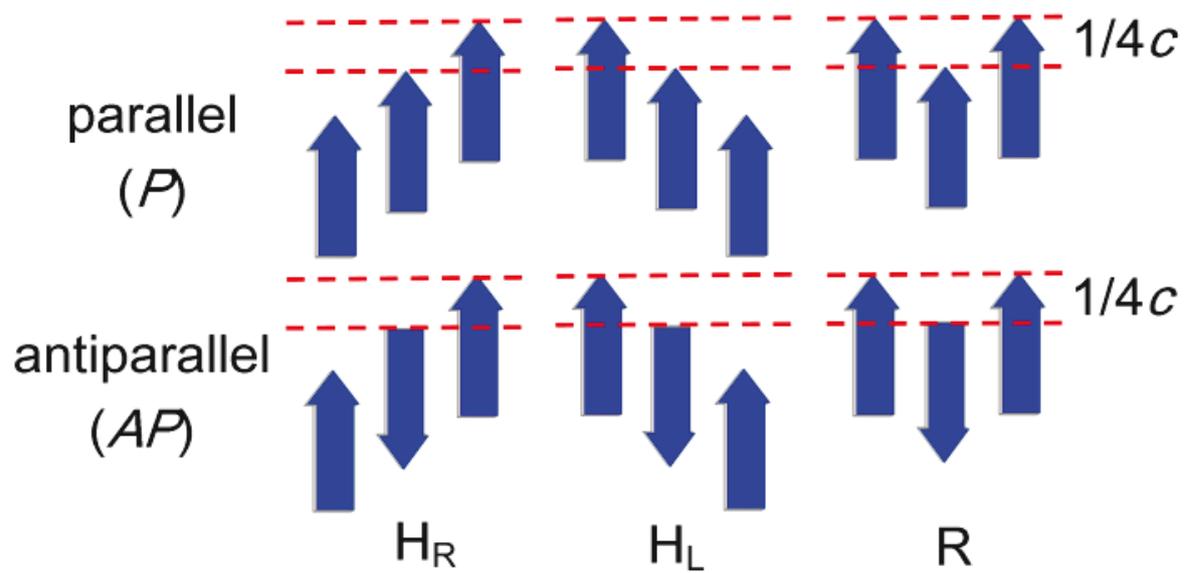


Fig. 4-2 The schematic representation of the six chain arrangement modes for the CeI NT models examined in the MD calculations.

Table 4-4 Intermolecular and solvation free energies (kcal/mol per residue)

Chain polarity	Symmetry operation	$\Delta E_{\text{int}}^a$	$\Delta G_{\text{solv}}^b$	$\Delta G_{\text{int}}^c$
Parallel	H <sub>R</sub>	-3.04	-0.471	-1.93
	H <sub>L</sub>	-2.48	-0.825	-1.61
	R	-2.42	-0.920	-1.66
Antiparallel	H <sub>R</sub>	— <sup>d</sup>	— <sup>d</sup>	— <sup>d</sup>
	H <sub>L</sub>	— <sup>d</sup>	— <sup>d</sup>	— <sup>d</sup>
	R	-3.24	0.439	-0.914

<sup>a</sup> See the footnote a of Table 1 for the definition of intermolecular energy. The values were averaged from both the all chain pairs and the MD trajectory of the final 1 ns.

<sup>b</sup> 3D-RISM solvation free energy change of a truncated CeINT model calculated from the structure of the final time frame.

<sup>c</sup> Intermolecular free energy;  $\Delta G_{\text{int}} = \Delta E_{\text{int}} - T\Delta S_{\text{int}} + \Delta\Delta G_{\text{solv,int}} \approx \Delta E_{\text{int}} + \Delta G_{\text{solv,int}}$ , assuming  $\Delta S_{\text{int}} \approx 0$ , where difference in solvation free energy between the neighboring oligomers,  $\Delta\Delta G_{\text{solv,int}}$ , was calculated by the same definition of intermolecular energy.

<sup>d</sup> Not determined.

Fig. 4-3、4-4 に MD 最終座標の CelNT モデルについて、断面図と側面図をそれぞれ示した。平行分子鎖配置についてはは右巻きらせん対称を持つ *P-H<sub>R</sub>-CelNT* が安定で、全モデルの中では、*AP-R-CelNT* は分子鎖間相互作用エネルギーが最安定で、残基当たり -3.24 kcal/mol となり、断面図についても他のモデルより比較的対称性の良いチューブ構造となっていた。チューブ構造を崩した *AP-H<sub>R</sub>-CelNT* と *AP-H<sub>L</sub>-CelNT* について検討してみると、当初、らせん対称に従って分子鎖を交互に配置した初期構造から、MD 計算の過程で分子鎖のずれが消失し、チューブを構成する分子鎖シート構造が歪んでいたことを確認した。一方、他のモデルについては、隣接分子鎖間の関係として、1/4 繊維周期のずれを保持し、チューブ構造を維持していた。

10 ns 時点における、MD 構造に対して、クロロホルム分子の溶媒和自由エネルギー  $\Delta G_{\text{solv}}$  について、3D-RISM 理論に基づいて見積もった結果、*P-H<sub>R</sub>-CelNT* で 1 残基当たり -0.471 kcal/mol で、*AP-R-CelMT* で 1 残基当たり 0.439 kcal/mol となった。また、分子鎖間相互作用の自由エネルギー変化 ( $\Delta G_{\text{int}} = \Delta E_{\text{int}} - T\Delta S_{\text{int}} + \Delta\Delta G_{\text{solv,int}}$ ) は、それぞれ残基当たり -1.93 kcal/mol、-0.91 kcal/mol となり、CelNT がクロロホルム系で熱力学的に安定に存在することが示された。クロロホルムが溶媒として適切かどうかについてはまだ議論の余地が残されている。当初、構築した CelNT モデルについて水系での溶媒和 MD 計算を実施したところ、ピラノース環同士のスタッキングが生じ、CelNT のチューブ構造がすぐに崩壊した。平面 2 回らせん構造を形成するセルロース分子鎖は、エクアトリアル方向にヒドロキシル基とヒドロキシメチル基が配置した極性領域と、アキシアル方向にピラノース平面が連続した疎水性領域を併せ持つ両親媒性高分子に相当する。天然セルロース結晶では、分子鎖が水素結合によって連結された分子鎖シートを形成し、さらにシート間で疎水性相互作用が支配的となる。結晶表面は、主に、分子鎖シート両端で構成される極性面となる。一方、CelNT は、チューブ形態という特徴に加え、分子鎖シート極性端が露出せず疎水性表面のみとなる。

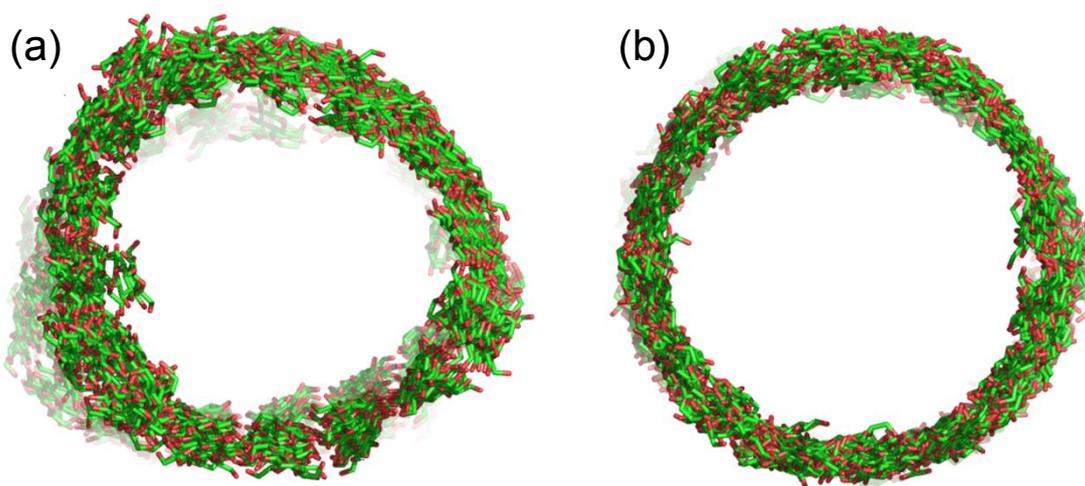


Fig. 4-3 Cross-sectional views of the *P*-HR- (a) and *AP*-R-CeINT (b) models from the final frame of the MD trajectory.

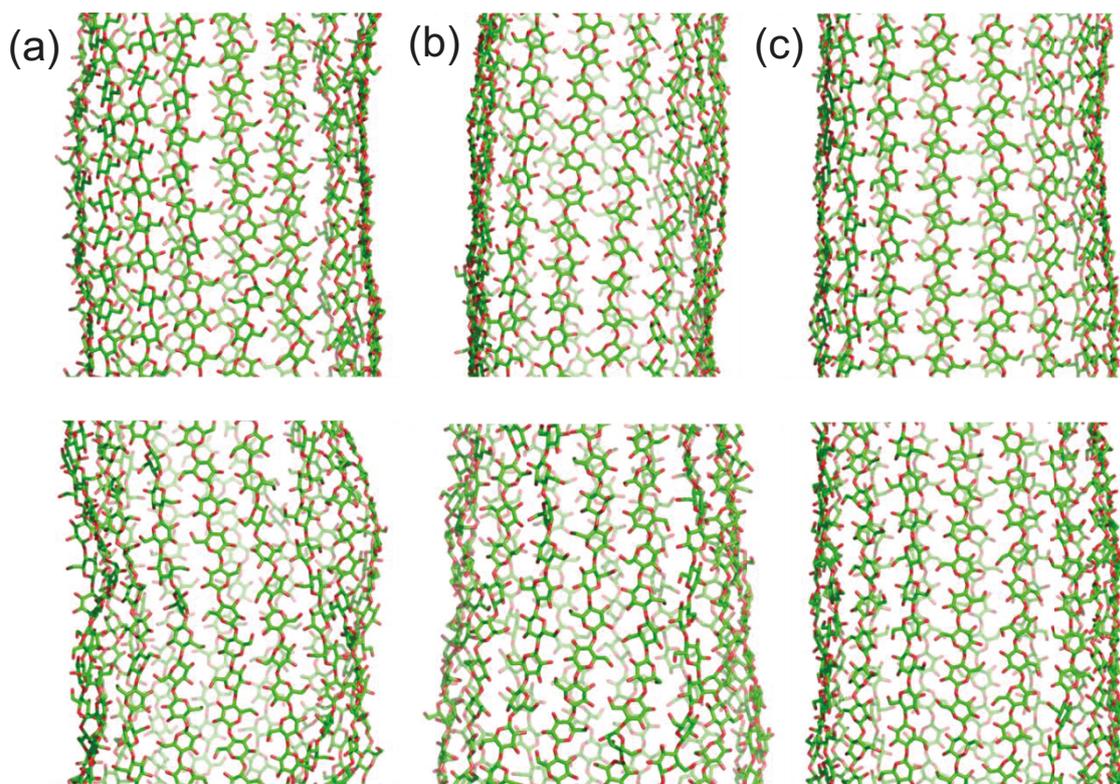


Fig. 4-4 The side views of the all CelNT models from the final frames of the MD trajectories for the H<sub>R</sub> (a) , H<sub>L</sub> (b) and R (c) with parallel (top) and antiparallel (bottom) chain polarity, consisting of 16 cellulose chains with DP = 80.

この特徴から有機溶媒に対する親和性を持つセルロースの新たな高次構造形態と位置づけられる、そこで、典型的な有機溶媒であるクロロホルム分子を溶媒として採用した。

次に、MD 軌跡の最終 5 ns のヒドロキシメチル基配向に対する分布を取ると、MD 計算の過程で、初期構造の *gt* から *gg* や *tg* への配座変換が生じ、3 パターンの配座を取っていた。また、詳細に検討すると、*P-H<sub>R</sub>-CelNT* モデルについては取り得る配座パターンが分子鎖に沿って、交互に出現していた。一方、*AP-R-CelNT* モデルは、そうしたパターンが見受けられなかった (Fig. 4-5)。

最終 1 ns の分子鎖間水素結合占有率について、最大で 70 %、次いで 40 %、10 %となっており、高い占有率を示している分子鎖間水素結合パターンは O6 が関係していることから、ヒドロキシメチル基配向と分子鎖間水素結合に相関があると考えられる (Table 4-5)。次に構成分子鎖数の影響について検討を行ったところ、分子鎖本数の増大につれて、CelNT 構造の乱れが小さくなった。一方、分子鎖間相互作用エネルギーは実質的に一定となっており、分子鎖本数の影響を受けないことを確認した。分子鎖の本数が増えていくと、多様化していた水素結合が特定のパターンを取るようになり、恒常的な分子鎖間水素結合を形成した。このことは、分子鎖数増大に伴って、CelNT の曲面分子鎖シートが平面性を増すにつれて、セルロース結晶構造で見られるような一定の水素結合形成の傾向に近づいたと考察した。最後に 16 分子鎖モデルについて、Fig. 4-6 に示すように、構成残基ごとに水素結合占有率を抽出し、Fig. 4-6 のように表示したところ、*P-H<sub>R</sub>-CelNT* モデルは、全体の水素結合占有率はそうした局所的な水素結合形成を反映し、大部分の水素結合が 0~30 %か 70~100 %のいずれかであり、一方、*AP-R-CelNT* モデルは、そうした局所的な水素結合形成は観察されず、中程度の占有率が一様に分布していた。

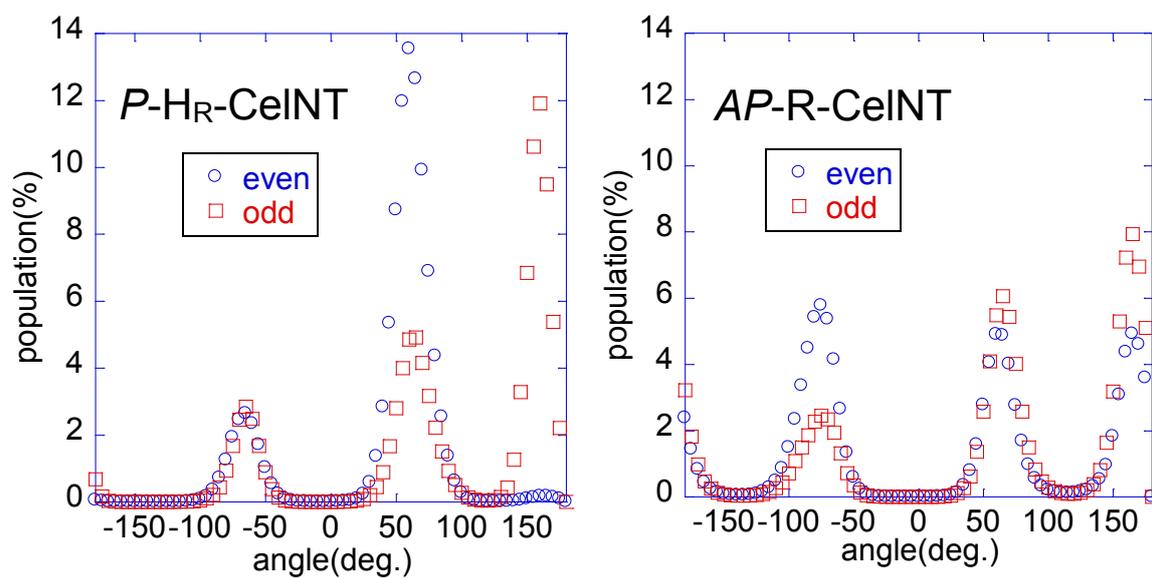


Fig. 4-5 The  $\omega$  angles populations (%) of the internal residues of crystal models extracted from MD trajectory for 5 to 10 ns. Each profile includes the  $\omega$  angles obtained from the 640 residues for the CeINT models.

Table 4-5 The occupation times of intermolecular hydrogen-bonds of the CeINT models from the final 1 ns trajectory

CeINT	No. of chains	O2---O2	O2---O3	O2---O6	O3---O6	O6---O6
	8	35.0	34.2	33.2	33.6	18.1
<i>P</i> -H <sub>R</sub>	12	33.2	32.4	41.0	38.6	15.8
	16	14.7	12.9	72.9	44.1	8.0
<i>AP</i> -R	8	27.4	3.3	28.6	72.3	13.1
	12	27.7	<1.0	34.5	79.5	9.1
	16	23.4	<1.0	45.4	75.2	6.5

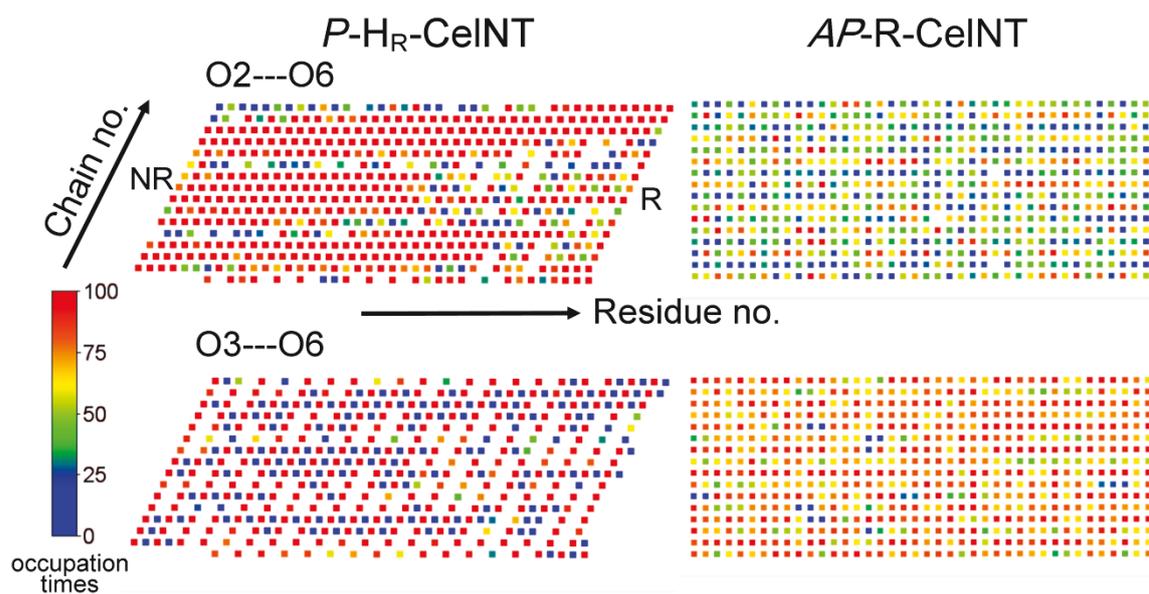


Fig. 4-6 The formation patterns of intermolecular hydrogen-bonds of the CeINT models. Each symbol represents the average time occupied by hydrogen-bond formation for each bonding pair involved in the chain sheet. The occupation times have been averaged from either the 9–10 ns.R, reducing terminal; NR, non-reducing terminal.

## 第4節 結論

DFT 計算によって提案された CeINT は、セルロース結晶構造中に存在する分子鎖シート間の分子鎖間相互作用エネルギーと類似した値を持ち、疎水環境中において安定に存在する可能性を見出した。MD 計算によって、大きなサイズの CeINT のダイナミクス挙動についても観察された。天然型セルロース結晶は、平面状分子鎖シートの疎水的なスタッキングによっても説明出来る。同様に、構成要素との界面における疎水性相互作用の自己集合により、CeINT の多層構造あるいはゲスト分子を導入した複合体構造がより現実的な形状となり得るだろう。

セルロース材料において、ナノメートルスケールの径とマイクロメートルオーダーに及ぶ繊維長を持つセルロースナノファイバー (CNF) は、代表的なナノ構造体である。CNF は、主に、植物由来セルロースの分解によって調製され、様々な高分子マトリックスにおける強化材としての関心が持たれている<sup>23</sup>。本研究によって提案された CeINT を基盤としたナノ構造体は、疎水性表面の特徴を持ち、CNF 繊維を上回る優位性を有する。チューブの曲率によっては外表面方向にいくつかのヒドロキシル基が配向する可能性があるにもかかわらず、CeINT 表面は疎水性が支配的となる。そのため、CeINT はナノ複合材料における強化材として標準的に使われる CNF よりも、疎水性を持つ熱可塑性を持つ高分子材料により良く適合すると予想される。CNF 調製で用いられる一般的なトップダウン的な過程と対比して、CeINT は溶媒中に分散したセルロース分子の沈殿・凝集化のようなボトムアップ的なプロセスを経て容易に調製されるかもしれない。両親媒性を持っているセルロースに対する良溶媒は、水素結合する部分や極性部分の両方を含むべきとされており<sup>24</sup>、セルロース分子あるいはセルロース結晶の溶媒として、クロロホルム分子は明らかに不適である。CeINT を分散させるひとつの可能性として、セルロース溶媒を非極性溶媒へと置換していく手段がある。CeINT の分散溶液を調製する可能な手段については、セルロースを溶解させる溶媒を、非極性溶媒へと置換する方法が考

えられる。この溶媒置換の方法については、塩化メチレン溶液中におけるセルロースエステルナノ粒子に対してポリビニルアルコールへの溶媒置換<sup>25</sup>などが報告されている。最近、Sakakibaraら<sup>26</sup>によって、セルロース誘導体ナノロッドの単分子膜を気液界面で合成させることに成功しており、同様の戦略もまた、多層構造も含めた CeINT 構造の創製に応用出来るのではないかと考えている。ずり減粘 (せん断を与えると軟化する) の特性を有する疑塑性流体 (粘性の性質を持つ流体の 1 モデル) である水溶性懸濁液において、セルロースマイクロフィブリルは、架橋したネットワークを形成する<sup>27-30</sup>。また、強いせん断力をかけると、高アスペクト比を持つ長くもつれたマイクロフィブリルとなることが報告されている<sup>27</sup>。CeINT 繊維の懸濁液についても、同様な力学特性を持つと予想される。可能な架橋スキームとして、ネットワークの接合部では、CeINT 繊維末端の乱れ構造が集合し、そこでは、隣接する CeINT のセルロース分子鎖と、孤立したもつれたセルロース分子鎖が存在するかもしれない。非極性溶媒中において、そのようなセルロース分子鎖との間に、効率的に水素結合を形成することが考えられる。

## 参考・引用文献

- (1) Iijima S (1991) Helical microtubules of graphitic carbon. *Nature* 354:56–58.
- (2) Iijima S, Ichihashi T (1993) Single-shell carbon nanotubes of 1-nm diameter. *Nature* 363:603–605.
- (3) Shimizu T, Masuda M, Minamikawa H (2005) Supramolecular nanotube architectures based on amphiphilic molecules. *Chem Rev* 105:1401–1443.
- (4) Chuah CT, Sarko A, Marchessault RH (1983) Triple-helical crystalline structure of curdlan and paramylon. *Macromolecules* 16:1375–1382.
- (5) Deslandes Y, Marchessault RH, Sarko A (1980) Triple-helical structure of (1,3)- $\beta$ -D-glucan. *Macromolecules* 13:1466–1471.
- (6) Ikeda M, Hasegawa T, Numata M, Sugikawa K, Sakurai K, Fujiki M, Shikai S (2007) Instantaneous inclusion of a polynucleotide and hydrophobic guest molecules into a helical core of cationic  $\beta$ -1,3-glucan polysaccharide. *J Am Chem Soc* 129:3979–3988.
- (7) Harada A, Li J, Kamachi M (1992) The molecular necklace: a rotaxane containing many threaded  $\alpha$ -cyclodextrins. *Nature* 356:325–327.
- (8) Wada M, Chanzy H, Nishiyama Y, Langan P (2004) Cellulose III<sub>I</sub> crystal structure and hydrogen bonding by synchrotron X-ray and neutron fiber diffraction. *Macromolecules* 37:8548–8555.
- (9) Kirchner KN, Woods RJ (2001) Solvent interactions determine carbohydrate conformation. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:10541–10545.
- (10) Basma M, Sundara S, Calgan D, Venali T, Woods RJ (2001) Solvated ensemble averaging in the calculation of partial atomic charges. *J Comput Chem* 22:1125–1137.
- (11) Yanai T, Tew T, Handy N (2004) A new hybrid exchange-correlation functional using the coulomb-attenuating method (CAM-B3LYP). *Chem Phys Lett* 393:51–57.
- (12) Boys SF, Bernardi F (1970) The calculation of small molecular interactions by the differences of separate total energies. Some procedures with reduced errors. *Mol Phys* 19:553–566.
- (13) Simon S, Duran M, Dannenberg JJ (1996) How does basis set superposition error change the potential surfaces for hydrogen-bonded dimers? *J Chem Phys* 105:11024–11031.
- (14) Frisch MJ, Trucks GW, Schlegel HB, Scuseria GE, Robb MA, Cheeseman JR, Scalmani G, Barone V, Mennucci B, Petersson GA, Nakatsuji H, Caricato M, Li X, Hratchian HP, Izmaylov AF, Bloino J, Zheng G, Sonnenberg JL, Hada M, Ehara M, Toyota K, Fukuda R, Hasegawa J, Ishida M, Nakajima T, Honda Y, Kitao O, Nakai H, Vreven T, Montgomery Jr JA, Peralta JE, Ogliaro F, Bearpark M, Heyd JJ, Brothers E, Kudin KN, Staroverov VN, Kobayashi R, Normand J, Raghavachari K, Rendell A, Burant JC, Iyengar SS, Tomasi J, Cossi M, Rega N, Millam JM, Klene M, Knox JE, Cross JB, Bakken V, Adamo C, Jaramillo J, Gomperts R, Stratmann RE, Yazyev O, Austin AJ, Cammi R, Pomelli C, Ochterski JW, Martin RL,

- Morokuma K, Zakrzewski VG, Voth GA, Salvador P, Dannenberg JJ, Dapprich S, Daniels AD, Farkas O, Foresman JB, Ortiz JV, Cioslowski J, Fox DJ (2009) Gaussian 09, Revision C.01. Gaussian Inc., Wallingford
- (15) Case DA, Darden TA, Cheatham TE III, Simmerling CL, Wang J, Duke RE, Luo R, Walker RC, Zhang W, Merz KM, Roberts B, Wang B, Hayik S, Roitberg A, Seabra G, Kolossváry I, Wong KF, Paesani F, Vanicek J, Liu J, Wu X, Brozell SR, Steinbrecher T, Gohlke H, Cai Q, Ye X, Wang J, Hsieh M-J, Cui G, Roe DR, Mathews DH, Seetin MG, Sagui C, Babin V, Luchko T, Gusarov S, Kovalenko A, Kollman PA (2009) AMBER 11. University of California, San Francisco
- (16) Ryckaert JP, Cicotti G, Berendsen HJC (1977) Numerical integration of the cartesian equations of motion of a system with constraints: molecular dynamics of n-alkanes. *J Comput Phys* 23:327–341.
- (17) Hirata F, ed., (2003) Molecular theory of solvation, *springer-Kluwer, Dordrecht*, Netherlands.
- (18) Miyata T, Ikuta Y, Hirata F (2011) Free energy calculation using molecular dynamics simulation combined with the threedimensional reference interaction site model theory. II. Thermodynamic integration along a spatial reaction coordinate. *J Chem Phys* 134:044127.
- (19) Yui T, Hayashi S (2009) Structural stability of the solvated cellulose III<sub>I</sub> crystal models: a molecular dynamics study. *Cellulose* 16:151–165.
- (20) Langan P, Nishiyama Y, Chanzy H (2001) X-ray structure of mercerized cellulose II at 1 angstrom resolution. *Biomacromolecules* 2:410–416.
- (21) Nishiyama Y, Sugiyama J, Chanzy H, Langan P (2003) Crystal structure and hydrogen bonding system in cellulose I $\alpha$  from synchrotron X-ray and neutron fiber diffraction. *J Am Chem Soc* 125:14300–14306.
- (22) Nishiyama Y, Langan P, Chanzy H (2002) Crystal structure and hydrogen-bonding system in cellulose I $\beta$  from synchrotron X-ray and neutron fiber diffraction. *J Am Chem Soc* 124:9074–9082.
- (23) Oksman K, Sain M (eds) (2006) Cellulose nanocomposites: processing, characterization, and properties. *ACS Symp Ser* 938, American Chemical Society, Washington.
- (24) Olsson C, Wesman G (2013) Direct dissolution of cellulose: background, means and applications. In: van de Ven T, Godbout L (eds) Cellulose–fundamental aspects, *InTech*, Chapt 6, pp 144–178.
- (25) Wondraczek H, Petzold-Welcke K, Fardim P, Heinze T (2013) Nanoparticles from conventional cellulose esters: evaluation of preparation methods. *Cellulose* 20:751–760.
- (26) Sakakibara K, Granström M, Kilpeläinen I, Helaja J, Heinilehto S, Inoue R, Kanaya T, Hill JP, Nakatsubo F, Tsujii T, Ariga K (2013) Light-harvesting nanorods based on pheophorbide-appending cellulose. *Biomacromolecules* 14:3223–3230.

- (27) Pääkkö M, Ankerfors M, Kosonen H, Nykänen A, Ahola S, Osterberg M, Ruokolainen J, Laine J, Larsson P, Ikkala O, Lindström T (2007) Enzymatic hydrolysis combined with mechanical shearing and high-pressure homogenization for nanoscale cellulose fibrils and strong gels. *Biomacromolecules* 8:1934–1941.
- (28) Lasseuguette E, Roux D, Nishiyama Y (2008) Rheological properties of microfibrillar suspension of TEMPO-oxidized pulp. *Cellulose* 15:425–433.
- (29) Klemm D, Kramer F, Moritz S, Lindström T, Ankerfos M, Gray D, Dorris A (2011) Nanocelluloses: a new family of naturebased materials. *Angew Int Ed* 50:5438–5466.
- (30) Charani PR, Dehghani-Firouzabadi M, Afra E, Shakeri A (2013) Rheological characterization of high concentrated MFC gel from kenaf unbleached pulp. *Cellulose* 20:727–740.

## 第5章 総括

近年報告された高分解能結晶構造解析データをもとに構築した結晶モデルと単独分子鎖シートモデルに対して、計算化学研究を実施した。

天然セルロース I 型結晶構造は、右巻きねじれ変形を引き起こすストレスを内在し、さらに、I $\alpha$ 型および I $\beta$ 型の分子鎖シートが実質的に同じ立体構造であることから、相対的に大きなねじれ変形を与えた I $\alpha$ 型結晶モデルにおいて、より弱い分子鎖シート間相互作用で結晶構造を維持していることが推定された。

セルロース II 型結晶構造は、隣接分子鎖シートが異なるキラリティにねじれ変形することで、ストレスを内在していることが示唆された。DFT 最適化計算の結果から、I 型結晶と同様に、II 型は(010)と(020)分子鎖シート、III<sub>I</sub>型は(1-10)分子鎖シートの積層で解釈される階層構造が示唆された。更に、セルロース III<sub>I</sub> 型 → I 型結晶の転移現象を部分的に再現し、分子鎖シートの変換スキームを裏付けた。

有限セルロース結晶モデルの水和 MD 計算では、ナノオーダーサイズの結晶モデルが実際のセルロース結晶フィブリルで発生する高次構造変化や結晶転移を少なくとも定性的に再現し得ることが示された。こうした研究過程で、新規セルロース材料として、セルロースナノチューブを提案し、疎水性表面を持つナノチューブやナノロッド構造形成の可能性を見出した。

以上の研究成果から、セルロース結晶の持つ階層構造における特性を分子鎖シートという観点から明らかにし、その構造的長を活かした新規ナノ材料提案へと展開した。本研究で得られた知見や手法が、セルロースに限らず、今後の構造多糖の機能性制御など広い分野の研究に寄与することが期待出来る。

## 参考論文

- (1) Uto T, Hosoya T, Hayashi S, Yui T (2013) Partial crystalline transformation of solvated cellulose III<sub>I</sub> crystals, reproduced by theoretical calculations. *Cellulose* 20:605–612.
- (2) Uto T, Mawatari S, Yui T (2014) Structural stability of molecular chain sheet models of cellulose crystal allomorphs; a theoretical calculation study, *J Phys Chem B*, in press.
- (3) Uto T, Miyata T, Yui T (2014) Prediction of cellulose nanotube models through density functional theory calculations. *Cellulose* 21:87–95.

## 謝辞

本研究を遂行するに当たり、終始多大なご指導と激励を賜りました湯井 敏文 准教授に深くお礼を申し上げます。湯井先生は、研究に向かう姿勢、実験全般、論文作成に至るまで、時に応じて厳しくご指導いただき、暗中模索の中においては、大変優しく親身なご助言のおかげで、挫けずに研究に打ち込むことが出来ました。その上、先生には、私が研究者として成長するための貴重な機会を多く頂きました。様々なテーマや計算手法のみならず、計算機クラスター構築等にも触れることが出来、数多くの学会発表や論文執筆の経験は何物にも代え難いです。こうして自分を磨いてきた過程で、研究における考え方を少しずつではありますが身に着けることが出来ました。教員養成系からの転向にも関わらず、受け入れ、育てて下さいました御恩は一生忘れません。湯井先生には深く感謝致します。

本研究の過程において御助力頂いた宮崎大学工学部環境応用化学科の林 幸男教授、宮崎大学工学部環境応用化学科の保田 昌秀 教授のお二方には博士後期課程での副指導教員になって頂き、研究内容のみならず、いつも相談に乗って下さり、様々なサポートをして頂きました。いつもご助言とご配慮、有難う御座いました。学位審査の過程で、宮崎大学農学部応用生物科学科の太田 一良 教授、宮崎大学工学部環境応用化学科の白上 努 准教授、宮崎大学工学部工学基礎教育センターの松本 仁 准教授におかれましては、研究に関するご指導に加え、日頃より私の健康や進路等を気にかけてくれ、激励を下さいましたことに対しまして、心より感謝致します。

参考論文の共著者であるウィーン農科大学の細谷 隆史 博士には、量子化学計算について無知な自分に辛抱強く指導していただき、貴重なご助言をして下さいました。研究者としての真摯な姿に、非常に多くの刺激を受けました。また、愛媛大学大学院理工学研究科数理物質科学専攻の宮田 竜彦 助教には、CeINT研究のために、プログラムの改良までしていただき、ご負担をおかけして申し訳ありませんでした。共著者のお二人にはいつも丁寧にご対応下さいましたこと、改めて御礼申し上げます。

セルロース学会の諸先生方には、非常に多くのご支援とご指導を頂きました。また、同世代の学生や若手研究者である先輩の皆様も含め、多くの刺激を頂きました。私のたどたどしい説明にも関わらず、研究に興味を持って下さり、議論をして下さいましたことは、非常に貴重な経験になりました。本当に有難う御座いました。

私の学部学生時代の指導教員であります宮崎大学教育文化学部の境 幸夫 教授には、学部時代を振り返りますと、大学院進学を控えた自分のためにお忙しい時間の中、様々な指導をして頂きました。また、修士・博士課程の進学に当たり、背中を押して下さいましたこと、心より感謝したいと思います。また、宮崎大学教育文化学部の村岡 嗣文 教授には、学びや進学について、多くの御指導を頂きました。改めて、私はこうして多くの人に支えられてきたことのだということを噛みしめております。

宮崎大学工学部物質環境化学科湯井研究室で、いつも手助けをしていただきました椎葉 大偉 博士、同研究室で共に一生懸命研究に打ち込んでくれました長尾 和正 君、田中 亜門武 君、馬渡 翔 君、池田 祐樹 君、その他研究室の皆様のご熱心な協力を得ました。一緒に研究に向き合った日々はかけがえのない思い出です。皆様無しでは、ここまで研究を展開することは出来ませんでした。心から感謝します。

また、研究や進路についてご助言を頂きながら、ここにお名前を記すことができなかった多くの方々にも感謝申し上げます。最後に、これまで私を支えてくださった親友や家族に改めて感謝の念を表します。

## 付録(Appendix)

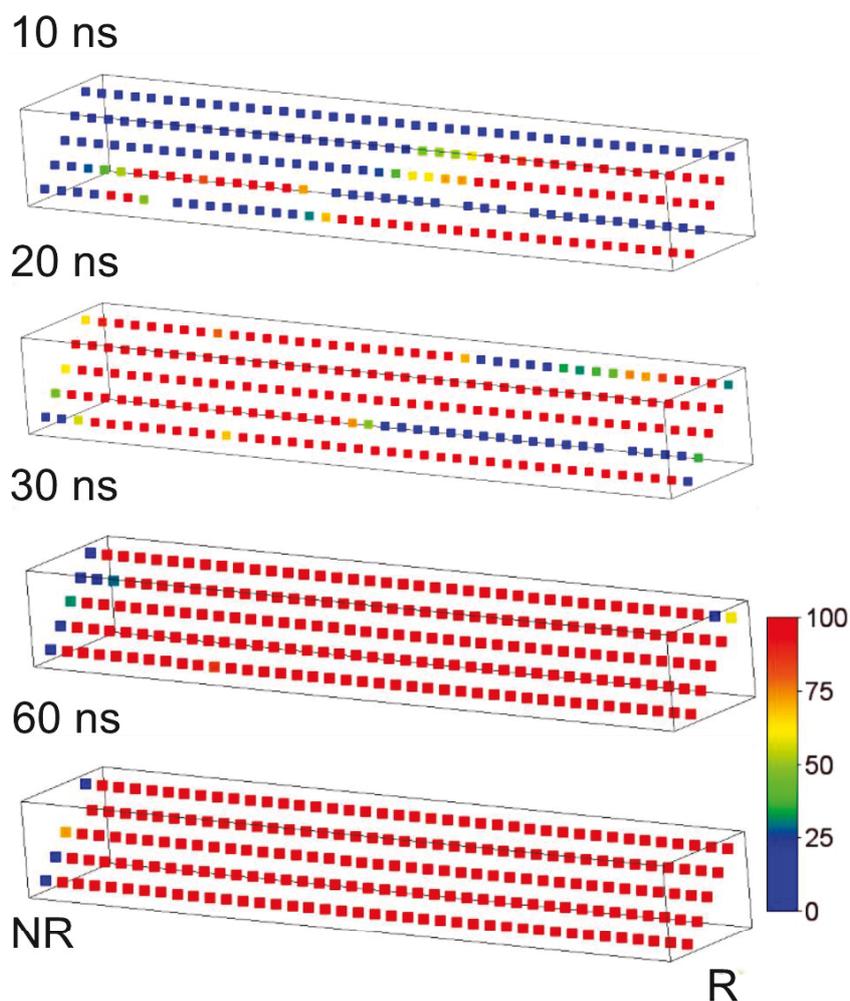


Fig. A-1 Formation patterns of cellulose-I-like O3–O6 hydrogen-bonds on the 7th layer (1–10) chain sheet of the **B48-40** crystal model. Each symbol represents the average time occupied by hydrogen-bond formation for each bonding pair involved in the chain sheet. The occupation times have been averaged from either the 9–10 ns, 19–20 ns, 29–30 ns, or 59–60 ns trajectory. R, reducing terminal; NR, non-reducing terminal.

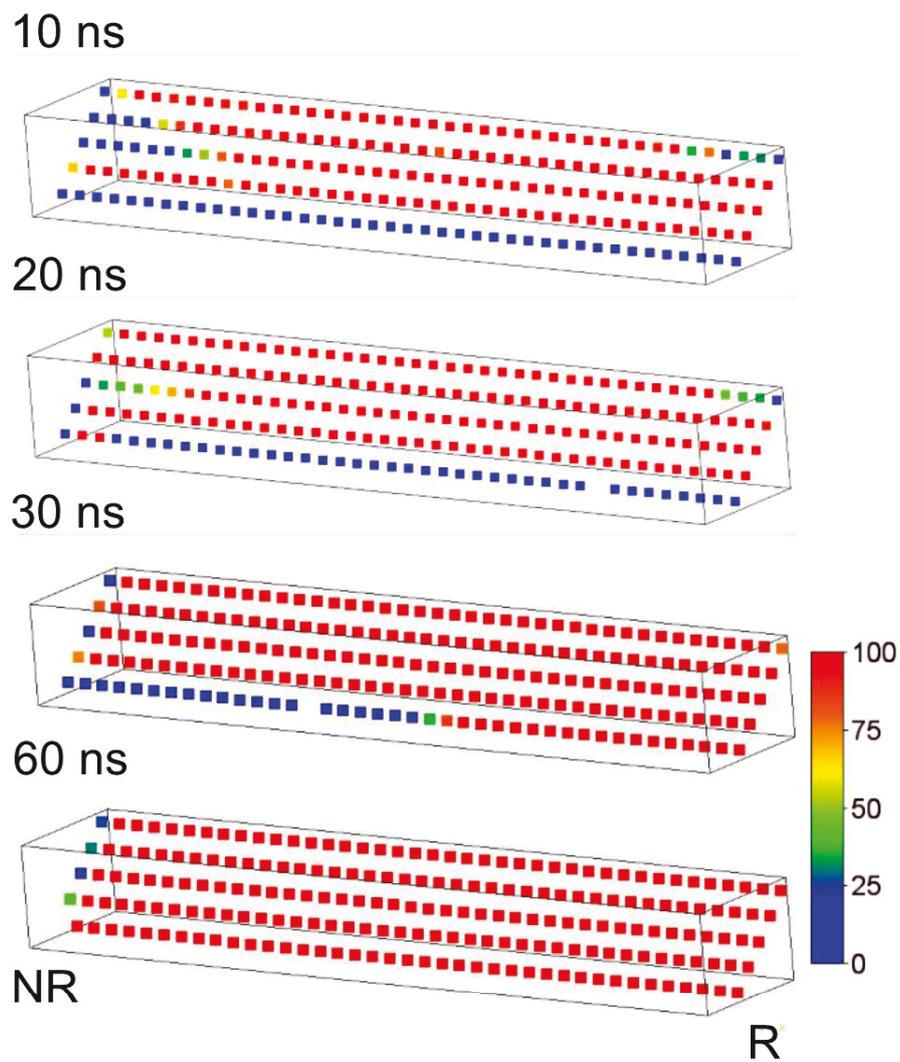


Fig. A-2 Formation patterns of cellulose-I-like O3–O6 hydrogen-bonds on the 8th layer (1–10) chain sheet of the **B48-40** crystal model. Each symbol represents the average time occupied by hydrogen-bond formation for each bonding pair involved in the chain sheet. The occupation times have been averaged from either the 9–10 ns, 19–20 ns, 29–30 ns, or 59–60 ns trajectory. R, reducing terminal; NR, non-reducing terminal.

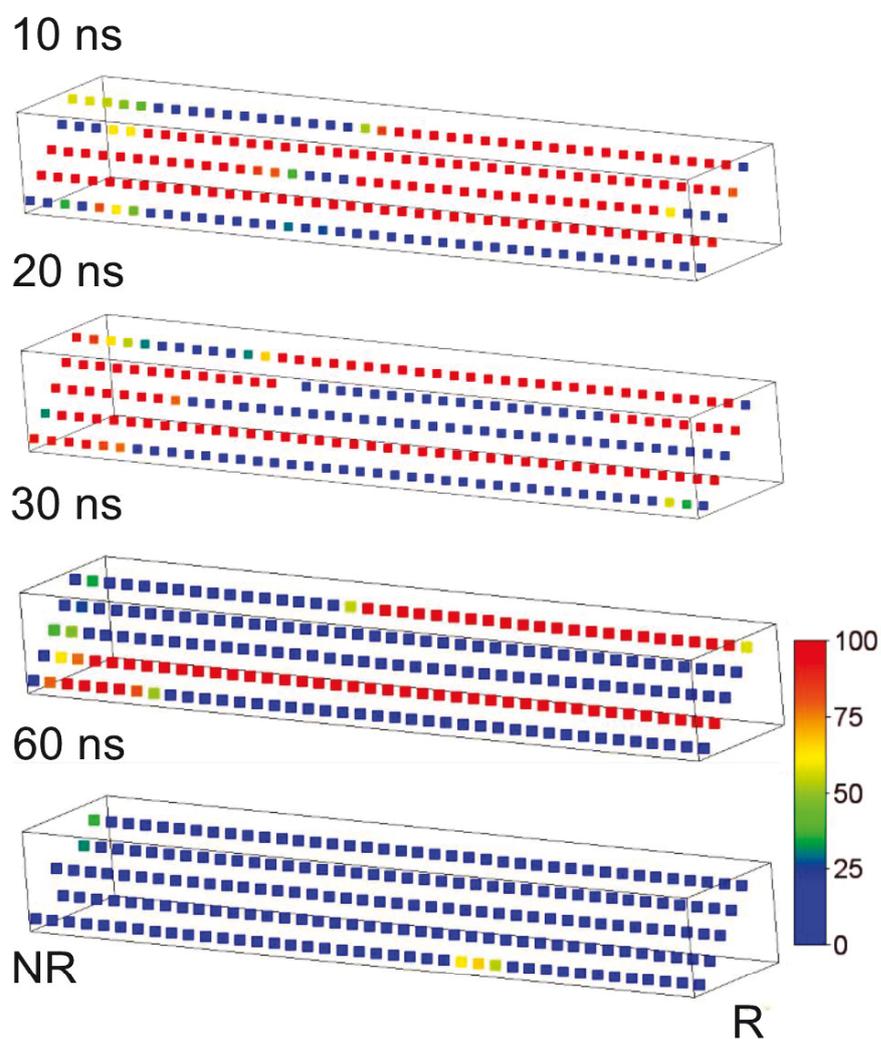


Fig. A-3 Formation patterns of cellulose-I-like O2–O6 hydrogen-bonds on the 6th layer (1–10) chain sheet of the **B48-40** crystal model. Each symbol represents the average time occupied by hydrogen-bond formation for each bonding pair involved in the chain sheet. The occupation times have been averaged from either the 9–10 ns, 19–20 ns, 29–30 ns, or 59–60 ns trajectory. R, reducing terminal; NR, non-reducing terminal.

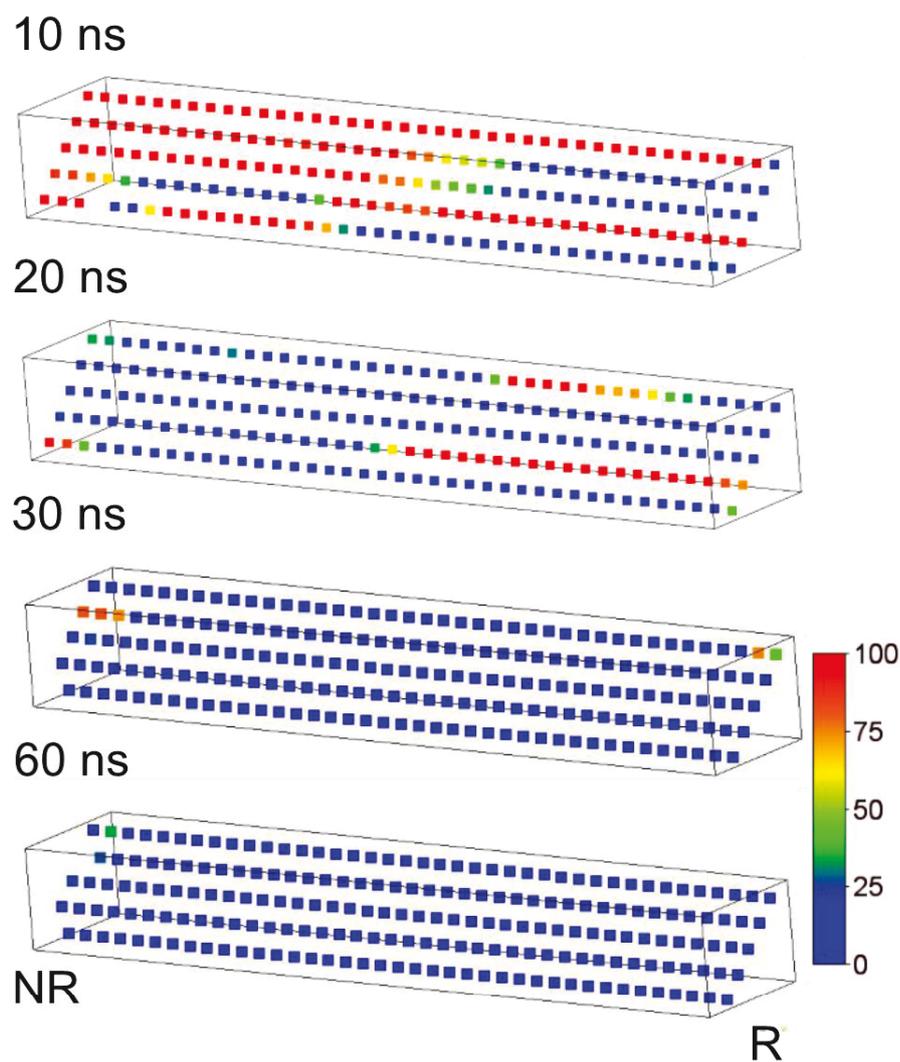


Fig. A-4 Formation patterns of cellulose-I-like O2–O6 hydrogen-bonds on the 7th layer (1–10) chain sheet of the **B48-40** crystal model. Each symbol represents the average time occupied by hydrogen-bond formation for each bonding pair involved in the chain sheet. The occupation times have been averaged from either the 9–10 ns, 19–20 ns, 29–30 ns, or 59–60 ns trajectory. R, reducing terminal; NR, non-reducing terminal.

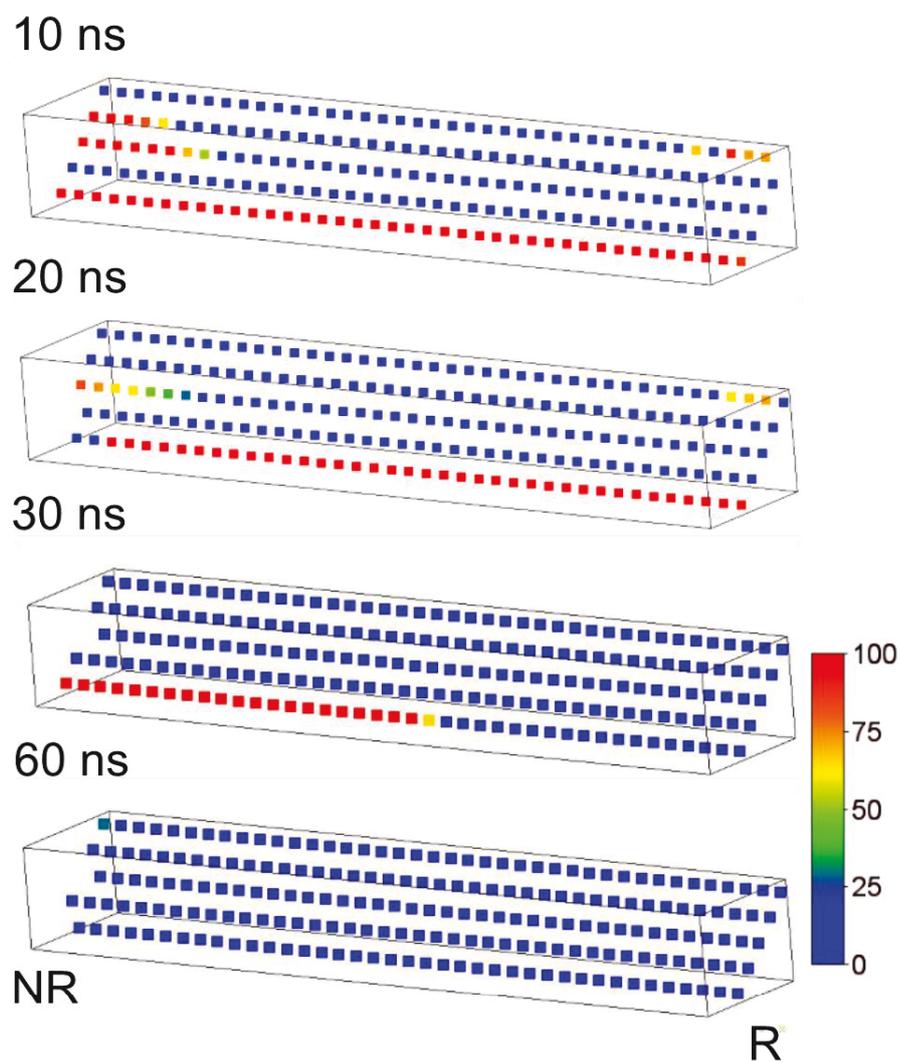


Fig. A-5 Formation patterns of cellulose-I-like O2–O6 hydrogen-bonds on the 8th layer (1–10) chain sheet of the **B48-40** crystal model. Each symbol represents the average time occupied by hydrogen-bond formation for each bonding pair involved in the chain sheet. The occupation times have been averaged from either the 9–10 ns, 19–20 ns, 29–30 ns, or 59–60 ns trajectory. R, reducing terminal; NR, non-reducing terminal.

Table A-1 Values of glycosidic  $\phi$ - $\psi$  and hydroxymethyl group  $\omega$  orientations of the DFT-optimized 4×cello-hexamer chain sheet models

Cellulose I $\alpha$  chain sheet model

Positions <sup>a</sup>		B3LYP			CAM-B3LYP		
Chain	Residue	$\phi$ (deg.)	$\psi$ (deg.)	$\omega$ (deg.)	$\phi$ (deg.)	$\psi$ (deg.)	$\omega$ (deg.)
	Obsd.	-98.3	-139.0	166.8	-98.3	-139.0	166.8
<i>A</i>	+3	-90.8	-140.9	157.2	-90.5	-142.1	158.3
	+2	-94.5	-140.8	162.6	-94.1	-141.4	163.2
	+1	-92.2	-141.2	159.1	-91.9	-142.1	159.8
	-1	-95.8	-141.6	162.6	-95.4	-142.2	163.1
	-2	-92.0	-144.6	162.1	-92.0	-145.3	162.9
	-3	-	-	177.9	-	-	178.7
<i>B</i>	+3	-93.3	-140.9	162.2	-92.9	-141.8	162.8
	+2	-94.0	-141.5	163.2	-93.8	-142.3	163.9
	+1	-94.4	-142.0	163.4	-93.8	-142.6	164.0
	-1	-95.0	-141.5	162.9	-94.4	-142.0	163.4
	-2	-94.5	-143.5	164.4	-94.2	-144.1	165.2
	-3	-	-	-179.7	-	-	-178.9
<i>C</i>	+3	-93.8	-142.0	163.9	-93.4	-142.7	164.5
	+2	-94.5	-141.3	163.4	-94.0	-142.1	164.0
	+1	-94.3	-141.9	163.5	-93.8	-142.6	164.1
	-1	-95.6	-141.6	164.0	-95.0	-142.5	164.6
	-2	-95.2	-143.0	164.1	-94.3	-143.4	164.5
	-3	-	-	-176.5	-	-	-176.3
<i>D</i>	+3	-95.5	-140.6	163.3	-94.8	-141.1	163.6
	+2	-91.9	-141.2	158.9	-91.8	-142.2	160.0
	+1	-94.8	-140.1	162.5	-94.4	-140.9	163.0
	-1	-90.6	-141.7	160.5	-90.6	-142.8	161.4
	-2	-93.4	-137.6	160.2	-93.1	-138.4	160.8
	-3	-	-	-176.6	-	-	-175.5

<sup>a</sup> See Fig. 3-2 for the definition of the position labeling. The chain labeling is arbitrary.

Cellulose I $\beta$  chain sheet mode

Positions <sup>a</sup>		B3LYP			CAM-B3LYP		
Chain	Residue	$\phi$ (deg.)	$\psi$ (deg.)	$\omega$ (deg.)	$\phi$ (deg.)	$\psi$ (deg.)	$\omega$ (deg.)
	Obsd.	-98.4	-142.4	169.4	-98.4	-142.4	169.4
<i>A</i>	+3	-90.8	-140.9	157.2	-90.4	-142.0	158.1
	+2	-94.6	-140.8	162.6	-94.1	-141.4	163.2
	+1	-92.1	-141.3	159.0	-91.9	-142.1	159.7
	-1	-95.7	-141.7	162.5	-95.4	-142.2	163.0
	-2	-91.7	-144.5	161.2	-91.6	-145.1	161.9
	-3	-	-	-179.2	-	-	-178.5
<i>B</i>	+3	-93.3	-140.9	162.2	-92.8	-141.7	162.9
	+2	-94.0	-141.5	163.2	-93.7	-142.3	163.9
	+1	-94.5	-141.9	163.3	-93.8	-142.6	163.9
	-1	-95.1	-141.7	162.9	-94.4	-142.1	163.5
	-2	-94.8	-143.5	164.8	-94.5	-144.2	165.6
	-3	-	-	-179.7	-	-	-178.9
<i>C</i>	+3	-93.9	-141.9	163.8	-93.3	-142.8	164.5
	+2	-94.4	-141.3	163.4	-94.0	-142.1	164.0
	+1	-94.3	-141.9	163.5	-93.9	-142.6	164.1
	-1	-95.6	-141.6	164.0	-95.0	-142.5	164.7
	-2	-95.1	-143.0	164.1	-94.4	-143.2	164.4
	-3	-	-	-176.6	-	-	-176.3
<i>D</i>	+3	-95.5	-140.5	163.3	-94.8	-141.0	163.6
	+2	-92.1	-141.1	158.9	-91.9	-142.2	159.9
	+1	-94.8	-140.1	162.5	-94.4	-140.9	163.1
	-1	-90.6	-141.7	160.5	-90.6	-142.8	161.5
	-2	-93.4	-137.7	160.2	-93.2	-138.4	160.8
	-3	-	-	-176.5	-	-	-175.5

<sup>a</sup> See Fig. 3-2 for the definition of the position labeling. The chain labeling is arbitrary.

## Cellulose II (010) chain sheet model

Positions <sup>a</sup>		B3LYP			CAM-B3LYP		
Chain	Residue	$\phi$ (deg.)	$\psi$ (deg.)	$\omega$ (deg.)	$\phi$ (deg.)	$\psi$ (deg.)	$\omega$ (deg.)
	Obsd.	-96.8	-143.5	72.2	-96.8	-143.5	72.2
<i>a</i>	+3	-81.0	-122.0	66.9	-79.3	-141.7	67.7
	+2	-88.9	-140.5	78.6	-91.1	-146.9	59.1
	+1	-85.3	-140.9	55.9	-85.5	-159.1	56.3
	-1	-89.4	-144.9	60.4	-92.4	-145.1	58.8
	-2	-86.1	-137.8	55.7	-75.6	-134.4	55.1
	-3	-	-	58.6	-	-	59.6
	<i>b</i>	+3	-96.7	-134.8	85.8	-79.7	-125.6
+2		-81.1	-119.9	83.8	-92.1	-133.0	92.1
+1		-91.7	-140.9	74.1	-81.6	-132.2	67.6
-1		-85.6	-134.1	61.2	-77.3	-128.1	60.5
-2		-109.1	-142.4	63.4	-108.2	-138.2	58.4
-3		-	-	63.0	-	-	59.9
<i>c</i>		+3	-94.7	-134.9	99.2	-93.7	-145.4
	+2	-84.1	-132.0	71.0	-91.5	-136.4	158.4
	+1	-93.0	-137.3	68.7	-90.5	-132.3	82.3
	-1	-84.2	-132.5	60.2	-76.2	-131.7	69.3
	-2	-98.6	-144.1	64.0	-96.5	-144.0	61.4
	-3	-	-	59.6	-	-	57.3
	<i>d</i>	+3	-87.9	-139.4	80.1	-90.4	-158.8
+2		-89.5	-146.8	55.7	-71.3	-133.7	57.4
+1		-90.2	-148.1	56.4	-87.7	-148.7	59.2
-1		-89.7	-147.8	57.4	-88.9	-143.6	55.9
-2		-94.4	-152.3	63.5	-94.5	-155.2	61.9
-3		-	-	57.3	-	-	56.7

<sup>a</sup> See Fig. 3-2 for the definition of the position labeling. The chain labeling is arbitrary.

## Cellulose II (020) chain sheet model

Positions <sup>a</sup>		B3LYP			CAM-B3LYP		
Chain	Residue	$\phi$ (deg.)	$\psi$ (deg.)	$\omega$ (deg.)	$\phi$ (deg.)	$\psi$ (deg.)	$\omega$ (deg.)
	Obsd.	-93.6	-150.8	58.1	-93.6	-150.8	58.1
<i>a</i>	+3	-90.1	-163.1	65.2	-87.4	-157.0	77.1
	+2	-88.6	-159.7	60.0	-86.5	-158.8	57.0
	+1	-87.2	-161.5	52.4	-86.4	-162.1	51.5
	-1	-88.8	-160.1	59.0	-88.0	-160.6	58.2
	-2	-88.0	-162.8	53.0	-87.5	-164.4	53.0
	-3	-	-	58.5	-	-	58.2
	<i>b</i>	+3	-89.2	-167.6	88.7	-88.8	-161.3
+2		-88.5	-163.4	56.8	-86.9	-166.1	55.3
+1		-86.6	-163.9	53.0	-86.6	-164.4	54.5
-1		-87.4	-163.1	53.9	-87.1	-164.8	53.2
-2		-86.7	-164.1	53.1	-86.4	-166.0	53.9
-3		-	-	55.3	-	-	55.4
<i>c</i>		+3	-89.9	-148.0	77.2	-89.7	-160.5
	+2	-85.4	-163.6	53.8	-86.7	-167.7	56.1
	+1	-86.9	-161.9	53.3	-86.9	-165.7	54.8
	-1	-87.0	-162.6	53.8	-87.0	-165.0	54.2
	-2	-86.5	-163.8	52.6	-86.3	-166.3	53.4
	-3	-	-	55.6	-	-	55.7
	<i>d</i>	+3	-91.9	-162.9	70.6	-89.2	-165.3
+2		-87.8	-166.0	56.3	-89.1	-166.6	57.8
+1		-88.8	-160.1	60.7	-88.0	-164.2	60.1
-1		-87.7	-162.1	53.3	-87.8	-163.7	54.5
-2		-85.6	-167.4	57.7	-85.1	-170.3	57.1
-3		-	-	56.2	-	-	56.9

<sup>a</sup> See Fig. 3-2 for the definition of the position labeling. The chain labeling is arbitrary.

Cellulose III<sub>I</sub> (1-10) chain sheet model

Positions <sup>a</sup>		B3LYP			CAM-B3LYP		
Chain	Residue	$\phi$ (deg.)	$\psi$ (deg.)	$\omega$ (deg.)	$\phi$ (deg.)	$\psi$ (deg.)	$\omega$ (deg.)
	Obsd.	-92.0	-146.5	44.2	-92.0	-146.5	44.2
<i>a</i>	+3	-88.9	-154.1	53.4	-88.3	-157.9	51.8
	+2	-86.0	-152.5	63.6	-84.3	-152.7	62.3
	+1	-89.9	-152.6	61.5	-89.2	-154.6	59.4
	-1	-86.2	-151.9	63.1	-84.9	-151.6	61.7
	-2	-87.0	-157.8	59.7	-86.2	-161.7	57.2
	-3	-	-	62.0	-	-	60.8
	<i>b</i>	+3	-88.4	-150.4	53.5	-86.9	-151.4
+2		-87.8	-151.1	61.4	-87.0	-151.5	59.5
+1		-88.4	-150.7	61.6	-87.2	-151.7	59.8
-1		-89.5	-149.9	62.6	-88.6	-150.3	61.1
-2		-84.0	-156.5	58.5	-82.6	-157.1	56.2
-3		-	-	61.8	-	-	60.7
<i>c</i>		+3	-88.6	-150.0	53.9	-87.3	-151.6
	+2	-87.9	-151.0	60.9	-86.9	-151.5	59.3
	+1	-88.4	-151.1	62.0	-87.2	-152.3	60.4
	-1	-88.6	-149.6	62.0	-87.6	-150.0	60.3
	-2	-83.8	-156.1	58.0	-82.4	-157.0	56.1
	-3	-	-	62.9	-	-	61.4
	<i>d</i>	+3	-86.4	-150.3	58.6	-84.7	-150.6
+2		-89.9	-153.5	60.8	-89.6	-155.6	58.9
+1		-86.4	-152.7	63.7	-84.4	-153.4	62.3
-1		-90.7	-151.2	62.5	-90.4	-152.8	60.8
-2		-86.2	-155.3	63.7	-84.5	-155.9	62.2
-3		-	-	62.1	-	-	60.8

<sup>a</sup> See Fig. 3-2 for the definition of the position labeling. The chain labeling is arbitrary.

Table A-2 Values of glycosidic  $\phi$ - $\psi$  and hydroxymethyl group  $\omega$  orientations of the CAM-B3LYP DFT-optimized 4×cello-octamer chain sheet models

Cellulose I $\alpha$  chain sheet model

Positions <sup>a</sup>		$\phi$ (deg.)	$\psi$ (deg.)	$\omega$ (deg.)
Chain	Residue			
	Obsd.	-98.3	-139.0	166.8
<i>a</i>	+4	-91.1	-142.2	158.6
	+3	-94.5	-142.4	163.8
	+2	-92.0	-142.3	159.9
	+1	-94.9	-142.0	163.8
	-1	-92.3	-143.1	160.5
	-2	-95.5	-142.1	163.3
	-3	-92.1	-145.4	163.0
	-4	-	-	178.9
<i>b</i>	+4	-93.2	-141.6	162.9
	+3	-93.9	-142.8	164.2
	+2	-93.7	-142.3	163.7
	+1	-94.1	-142.6	164.3
	-1	-93.8	-142.9	164.3
	-2	-94.3	-142.2	163.6
	-3	-94.1	-144.1	165.3
	-4	-	-	-178.7
<i>c</i>	+4	-93.3	-142.4	164.0
	+3	-93.6	-142.2	163.9
	+2	-93.6	-142.3	163.9
	+1	-93.9	-142.6	164.2
	-1	-93.6	-142.5	163.9
	-2	-94.8	-143.1	165.0
	-3	-94.1	-143.3	164.1
	-4	-	-	-176.3
<i>d</i>	+4	-94.5	-140.9	163.3
	+3	-91.8	-142.4	160.4
	+2	-94.8	-141.4	163.7
	+1	-92.0	-142.6	160.8
	-1	-94.6	-140.9	162.9
	-2	-90.4	-143.5	161.7
	-3	-92.8	-137.9	160.5
	-4	-	-	-175.5

<sup>a</sup> See Fig. 3-2 for the definition of the position labeling. The chain labeling is arbitrary.

Cellulose I $\beta$  chain sheet mode

Positions <sup>a</sup>		$\phi$ (deg.)	$\psi$ (deg.)	$\omega$ (deg.)
Chain	Residue			
	Obsd.	-98.4	-142.4	169.4
<i>a</i>	+4	-94.6	-140.8	163.3
	+3	-91.7	-142.4	160.3
	+2	-94.7	-141.3	163.6
	+1	-91.9	-142.7	160.7
	-1	-94.5	-140.8	162.8
	-2	-90.4	-143.5	161.7
	-3	-92.8	-138.0	160.8
	-4	-	-	-175.5
<i>b</i>	+4	-93.2	-142.4	164.0
	+3	-93.7	-142.3	163.9
	+2	-93.5	-142.2	163.7
	+1	-93.8	-142.6	164.2
	-1	-93.5	-142.2	163.6
	-2	-94.6	-143.3	164.9
	-3	-94.4	-143.3	164.3
	-4	-	-	-176.1
<i>c</i>	+4	-93.1	-141.7	162.9
	+3	-94.0	-142.8	164.3
	+2	-93.7	-142.3	163.6
	+1	-94.1	-142.7	164.4
	-1	-93.8	-142.8	164.1
	-2	-94.1	-142.1	163.4
	-3	-94.2	-143.3	164.2
	-4	-	-	-178.8
<i>d</i>	+4	-91.1	-142.2	158.5
	+3	-94.5	-142.5	163.9
	+2	-92.0	-142.4	159.9
	+1	-95.0	-142.0	163.8
	-1	-92.2	-142.9	160.3
	-2	-94.8	-141.5	163.0
	-3	-90.4	-142.6	161.4
	-4	-	-	155.6

<sup>a</sup> See Fig. 3-2 for the definition of the position labeling. The chain labeling is arbitrary.

## Cellulose II (010) chain sheet model

Positions <sup>a</sup>		$\phi$ (deg.)	$\psi$ (deg.)	$\omega$ (deg.)
Chain	Residue			
	Obsd.	-96.8	-143.5	72.2
<i>a</i>	+4	-84.9	-144.8	68.2
	+3	-90.8	-152.8	55.9
	+2	-90.3	-155.7	57.8
	+1	-94.8	-147.9	60.3
	-1	-78.0	-135.5	57.2
	-2	-90.9	-144.8	58.3
	-3	-86.0	-140.1	56.3
	-4	-	-	74.1
<i>b</i>	+4	-88.7	-136.9	159.3
	+3	-86.6	-138.4	154.6
	+2	-84.7	-134.9	66.8
	+1	-86.2	-133.2	70.7
	-1	-89.3	-136.4	62.1
	-2	-86.9	-135.9	59.7
	-3	-101.4	-139.3	63.0
	-4	-	-	64.0
<i>c</i>	+4	-86.3	-137.4	77.7
	+3	-86.0	-149.1	64.9
	+2	-88.3	-130.3	57.8
	+1	-91.4	-137.5	62.6
	-1	-90.2	-136.5	62.5
	-2	-92.1	-138.0	63.5
	-3	-86.7	-135.1	59.5
	-4	-	-	60.2
<i>d</i>	+4	-86.4	-143.9	74.0
	+3	-87.4	-152.6	54.5
	+2	-96.5	-150.4	60.0
	+1	-79.8	-137.2	58.0
	-1	-94.5	-148.6	60.7
	-2	-78.0	-135.8	57.2
	-3	-90.5	-147.0	58.7
	-4	-	-	54.2

<sup>a</sup> See Fig. 3-2 for the definition of the position labeling. The chain labeling is arbitrary.

## Cellulose II (020) chain sheet model

Positions <sup>a</sup>		$\phi$ (deg.)	$\psi$ (deg.)	$\omega$ (deg.)
Chain	Residue			
	Obsd.	-93.6	-150.8	58.1
<i>a</i>	+4	-87.3	-157.1	77.2
	+3	-86.1	-158.5	57.0
	+2	-86.4	-160.6	50.9
	+1	-86.7	-161.7	57.8
	-1	-86.5	-162.7	52.8
	-2	-87.7	-160.9	58.3
	-3	-87.6	-168.1	53.3
	-4	-	-	63.2
<i>b</i>	+4	-88.2	-161.4	79.5
	+3	-86.4	-165.7	55.2
	+2	-86.2	-163.3	54.0
	+1	-85.8	-164.8	52.9
	-1	-85.4	-164.8	53.9
	-2	-86.7	-164.3	52.9
	-3	-86.0	-166.4	53.5
	-4	-	-	55.5
<i>c</i>	+4	-88.7	-160.7	80.7
	+3	-86.2	-167.2	56.0
	+2	-86.2	-165.2	54.8
	+1	-85.8	-164.6	53.6
	-1	-86.0	-165.6	53.4
	-2	-86.2	-164.7	54.0
	-3	-85.9	-165.7	52.6
	-4	-	-	55.4
<i>d</i>	+4	-89.8	-163.9	71.1
	+3	-89.0	-166.7	57.2
	+2	-86.9	-164.6	60.4
	+1	-87.3	-162.1	53.6
	-1	-87.3	-163.1	58.2
	-2	-87.1	-162.7	54.2
	-3	-85.0	-169.2	56.7
	-4	-	-	56.8

<sup>a</sup> See Fig. 3-2 for the definition of the position labeling. The chain labeling is arbitrary.

Cellulose III<sub>I</sub> (1-10) chain sheet model

Positions <sup>a</sup>		$\phi$ (deg.)	$\psi$ (deg.)	$\omega$ (deg.)
Chain	Residue			
	Obsd.	-92.0	-146.5	44.2
<i>a</i>	+4	-88.0	-157.1	51.9
	+3	-85.3	-152.0	62.2
	+2	-88.5	-154.7	59.7
	+1	-85.8	-151.0	61.6
	-1	-88.5	-155.4	60.0
	-2	-86.1	-150.3	61.5
	-3	-86.3	-162.8	56.9
	-4	-	-	61.0
<i>b</i>	+4	-87.1	-151.1	51.7
	+3	-88.0	-150.6	59.1
	+2	-86.9	-151.9	60.3
	+1	-88.5	-150.2	60.7
	-1	-86.2	-152.8	60.0
	-2	-89.4	-149.4	60.8
	-3	-82.5	-157.3	56.2
	-4	-	-	60.8
<i>c</i>	+4	-87.5	-151.1	52.2
	+3	-87.6	-150.8	58.9
	+2	-86.6	-152.3	61.2
	+1	-88.6	-149.8	60.2
	-1	-86.3	-153.3	60.2
	-2	-88.5	-149.2	60.3
	-3	-82.8	-157.3	55.9
	-4	-	-	61.7
<i>d</i>	+4	-84.5	-150.5	57.8
	+3	-89.8	-155.5	58.8
	+2	-83.7	-153.2	62.3
	+1	-90.1	-152.6	60.2
	-1	-83.9	-154.0	61.9
	-2	-90.4	-152.2	60.7
	-3	-84.6	-155.3	62.1
	-4	-	-	60.6

<sup>a</sup> See Fig. 3-2 for the definition of the position labeling. The chain labeling is arbitrary.

Table A-3 Average values <sup>a</sup> of glycosidic  $\phi$ - $\psi$  orientations of the central chain sheet<sup>b</sup> of the MD crystal models

Allomorph	Chain sheet model	$\phi$ (deg.)	$\psi$ (deg.)
cellulose I $\alpha$	(110)	-92 $\pm$ 6.5	-143 $\pm$ 6.6
cellulose I $\beta$	(100)	-91 $\pm$ 5.5	-142 $\pm$ 5.3
cellulose II	(010)	-88 $\pm$ 6.0	-150 $\pm$ 6.3
cellulose III <sub>I</sub>	(020)	-91 $\pm$ 6.1	-152 $\pm$ 6.6
	(1-10)	-97 $\pm$ 5.8	-143 $\pm$ 5.8

<sup>a</sup> The values were averaged from the final 5 ns trajectories.

<sup>b</sup> Comprising 80 residues extracted from the middle 20 residues of the fore inner chains consisting of the central chain sheet.

Table A-4 Average values a of the lattice parameters of the core unit cell of the MD crystal models.

Allomorph	Crystal model	<i>a</i> (nm)	<i>b</i> (nm)	<i>c</i> (nm)	$\alpha$ (deg.)	$\beta$ (deg.)	$\gamma$ (deg.)
cellulose I $\alpha$	obsd.	0.672	0.596	1.040	118.1	114.8	80.4
		0.677 $\pm$ 0.025	0.601 $\pm$ 0.020	1.075 $\pm$ 0.024	120.1 $\pm$ 3.1	112.7 $\pm$ 3.0	81.1 $\pm$ 2.7
cellulose I $\beta$	obsd.	0.778	0.820	1.038	90.0	90.0	96.5
		0.762 $\pm$ 0.021	0.825 $\pm$ 0.019	1.077 $\pm$ 0.018	90.5 $\pm$ 1.8	90.3 $\pm$ 2.1	97.6 $\pm$ 2.4
cellulose II	obsd.	0.810	0.903	1.031	90.0	90.0	117.1
	<b>A36</b>	0.840 $\pm$ 0.023	0.883 $\pm$ 0.021	1.074 $\pm$ 0.018	90.5 $\pm$ 2.0	89.7 $\pm$ 2.0	118.0 $\pm$ 2.6
	<b>B36-1</b>	0.849 $\pm$ 0.022	0.879 $\pm$ 0.021	1.072 $\pm$ 0.018	89.8 $\pm$ 2.0	90.1 $\pm$ 2.0	118.2 $\pm$ 2.6
	<b>B36-2</b>	0.847 $\pm$ 0.023	0.878 $\pm$ 0.021	1.074 $\pm$ 0.018	89.6 $\pm$ 1.9	89.8 $\pm$ 2.0	118.4 $\pm$ 2.7
cellulose III <sub>I</sub>	obsd.	0.445	0.785	1.031	90.0	90.0	105.1
	<b>A48</b>	0.446 $\pm$ 0.016	0.754 $\pm$ 0.025	1.074 $\pm$ 0.018	90.0 $\pm$ 1.9	89.9 $\pm$ 2.2	93.6 $\pm$ 3.3
	<b>B48</b>	0.446 $\pm$ 0.018	0.755 $\pm$ 0.027	1.074 $\pm$ 0.023	90.1 $\pm$ 2.3	89.9 $\pm$ 2.6	93.4 $\pm$ 3.5

<sup>a</sup> The values were averaged from the final 5 ns trajectories.

<sup>b</sup> The innermost unit cell in the crystal model.