

液晶の相転移

液晶の相転移の測定は、古くから光学顕微鏡とキャピラリー法によってきた。特に偏光顕微鏡により、ホットプレート上の試料をのぞくと、相変化に対応したすばらしい色の変化を楽しむことができるので、種々の測定法が発達した現在でも、顕微鏡観察は人気の衰えぬ研究方法である。このように肉眼にたよってきた液晶観察法に、熱測定が登場してきたのは、長い液晶研究の歴史において比較的最近のことである。液晶に関心をいだく人が一度は目を通す G. W. Gray の著作 (1962 年) にも熱測定のごとはふれられていない¹⁾ この 10 年間、測定法の確立、簡便な熱測定装置の普及によって、この方面のデータは著るしく増大してきている。

しかし、1967 年の E. M. Barrall II らの論文では、まだ液晶の熱測定を行った例が少ないことが指摘されており、熱測定による種々の化合物の転移温度、転移熱を得ることが重要であることが指摘されている。E. M. Barrall II により、*p*-azoxyanisole²⁾ anisoldazine,²⁾ cholesteryl myristate²⁾ 各種の cholesteryl ester³⁾ について、また E. M. Barrall II または H. Arnold により芳香核をもったいくつかの液晶を形成する化合物^{4) 5)} について DSC による研究が報告されている。

どのような化学構造をもったとき、中間相をとり得るかという議論は、液晶研究のかわらぬテーマの一つである。この場合は多くの化合物を合成し、精製するとともに、転移温度の決定をすばやく行う方法が要求されている。この目的には、DTA, DSC などが適しており、熱測定の研究というよりはむしろ、従来のキャピラリー法の代用といった使い方がなされている。

液晶の形成に際して核生成の問題が、古くはディラトメトリーなどから議論されているが、最近 DSC を用いてこの方面の研究が行われ、cholesteryl nonanate などコレステロール誘導体およびその二成分系について報告がされている。^{6) 7)} W. P. Brennan らは最近 DSC による液晶の文献を整理した報告を出している⁸⁾ これには、各種の化合物、すなわち、*p*-azoxyanisole, 2-N-*p*-ethoxybenzylidene-*p*-*n*-butyl aniline, cholesteryl benzoate, palmitate, myristate, oleate などの DSC 曲線がそえられている。これらの DSC 曲線は、DSC によって得られた熱履歴に鋭敏に対応している様子を示しており、中間相の微妙な構造変化をとらえることが可能なことを示唆している。

液晶を形成する化合物が熱履歴の差によって、ことなった結晶形をとり得ることは、1930 年代から、一部の化合物、例えば *p*-*n*-alkoxy benzoic acids などについては知られていたが、近年、T. Shinoda ら⁹⁾ は、N-(*p*-methoxy benzylidene)-*p*-*n*-butyl-aniline (MBBA) を用いて、より明瞭な変化を見出ししている。

図は T. Shinoda らの用いた MBBA の DSC 曲線である。Run 1 は 8 K/min で冷却した曲線で、319 K のピークは液体からネマティック相への転移、266 K は結晶化を示している。Run 2 は 8 K/min での昇温曲線、Run 3 は 64 K/min での冷却曲線、Run 4 は 8 K/min の昇温で 210 から 275 K に異常な発熱がみられ、290 と 297.5 K に融解が観測される。290 K のピークは準安定結晶の融解を示している。

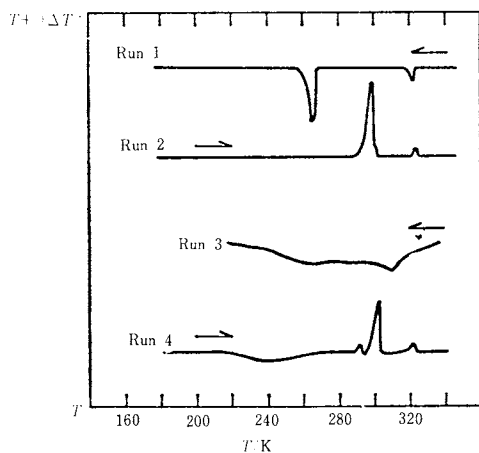


図 1 MBBA の DSC 曲線

T. Shinoda らは、断熱型熱量計中で、安定結晶、準安定結晶を作り、熱容量の測定を行い、結晶間およびそれぞれの結晶とネマチック相の間のエントロピー差などを計算している。

今後、液晶を形成する化合物の結晶およびガラス状態について、多くの興味が寄せられるものと考えられる。

文 献

- 1) G. W. Gray, "Molecular Structure and the Properties of Liquid Crystal", Academic Press, London and New York (1962)
- 2) E. M. Barrall, II, R. S. Porter, J. F. Johnson, J. Phys. Chem. **71**, 895 (1967)
- 3) E. M. Barrall, II, R. S. Porter, J. F. Johnson, *ibid.* **71**, 1224 (1967)
- 4) E. M. Barrall, II, R. S. Porter, J. F. Johnson, Mol. Cryst. Liq. Cryst. **3**, 299 (1968)
- 5) H. Arnold, *ibid.* **2**, 63 (1966)
- 6) J. M. Pochan, H. W. Gibson, J. Amer. Chem. Soc. **93**, 1279 (1971)

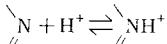
- 7) J. M. Pochan, H. W. Gibson, *ibid.* **94**, 5573 (1972)
- 8) W. P. Brennan, A. P. Gray *Thermal Analysis Application Study 13*, Perkin-Elmer (1974)
- 9) T. Shinoda, Y. Maeda, H. Enokido, *J. Chem. Thermodynamics* **6**, 921 (1974)

(晶山立子)

酵素—リガンド相互作用の熱測定

酵素とリガンド(基質, 阻害物質, 補酵素, など)の特異的相互作用は, 酵素の機能を解明するために広く研究されている。この相互作用の熱的性質は酵素反応メカニズムを考察する上で重視され, 最近, しばしば種々の酵素とリガンドとの結合過程における熱測定が行われている。

ここに紹介する論文は, 酵素リボヌクレアーゼA (以下 RNase と略す) と 3'-シトシン—リン酸 (以下 3'-CMP と略す) をはじめとするヌクレオチド系の基質類似物質(阻害物質)との相互作用についてのものである。まず 1) の論文では, RNase (アミノ酸残基 124, 分子量 14000) と 3'-CMP-RNase 複合体の各系でエンタルピー 滴定と電位差滴定が pH 4 ~ 8 の範囲で行われ, RNase にある 4 個のヒスチジン残基 (His 12, 48, 105, 119) のプロトン付加。



の状態について論じ, 続いて 2) では, RNase と 3'-CMP の結合反応熱が種々の pH で測定され, 相互作用の解析がなされている。さらに 3) では, いろいろの阻害物質との結合熱が調べられ, RNase の特異性発現および触媒反応における活性化自由エネルギー低下の機構にまで言及されている。

熱量計は LKB flow microcalorimeter が使用され, 酵素濃度としては $7 \sim 2 \times 10^{-4} \text{ M}$ で, $20 \sim 40 \mu\text{J/s}$ の範囲の測定が $\pm 10\%$ の精度でなされている。

図 1 に RNase のエンタルピー 滴定を示す¹⁾。実線はヒスチジンイミダゾール基 4 個のプロトン解離定数 pK とプロトン付加のエンタルピー変化 ΔH_p を用いて描かれた。3'-CMP との複合体でのエンタルピー 滴定および電位差滴定の結果と合わせて, 3'-CMP の結合により結合部位にある His 12 と 119 では pK 値がシフトして解離状態に変化が起こるとともに, 結合部位にはない His 48 でもプロトン付加が起こっていると結論されている。このことは NMR 解析などから導かれた結果と一致している。

図 2 は RNase と 3'-CMP との結合のエンタルピー変化 ΔH_B の pH 依存性を示しており, 3 個のヒスチジンの pK, ΔH_p から得られる理論曲線とよく一致している²⁾。この

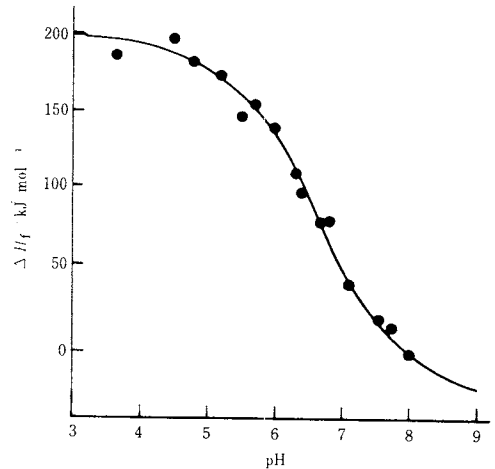


図 1 RNase のエンタルピー 滴定曲線

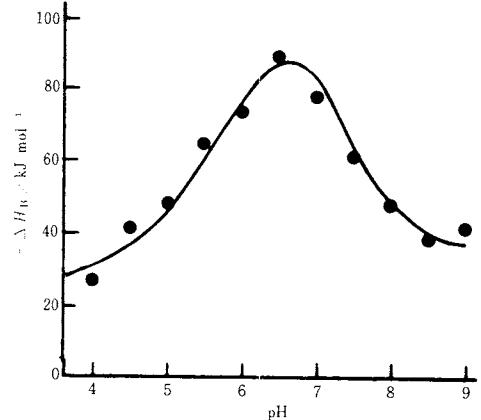


図 2 RNase と 3'-CMP の反応熱の pH 依存性

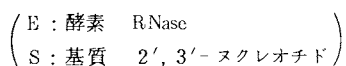
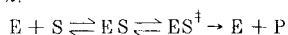
ことから 3 個のヒスチジン残基の役割について 1) で得られたのと同様の結論が導かれている。

さらに, ヌクレオチドとの相互作用のメカニズムとして, 1) RNase と阻害物質は 1 : 1 で結合する 2) His 12, 48, 119 のプロトン付加が熱力学的に阻害物質を結合しやすくする 3) プロトンの結合部位は各々独立である 4) ヌクレオチドのリン酸基は 2 個アニオンの状態でのみ結合する, という仮定にたち, 結合のエンタルピー変化の pH 依存性を解析している。それによれば, 正電荷を持ったヒスチジンと 3'-CMP の結合のエントロピー変化は正であることが導かれ, この結合が静電的相互作用によるものであることを示唆している。

つぎに 3) の論文では, 種々の阻害物質 (ヌクレオチド, ヌクレオシド, オルソリン酸) とヒスチジンが荷電した状態にある RNase (pH 6.5 以下) との相互作用について検討し, RNase の特異性が "Structural specificity" と

"thermodynamic selectivity"によって達成されているとしている。前者はヌクレオシド部分とのエンタルピー的な相互作用に起因しているのに対し、後者はリン酸基とRNaseの正荷電部とのエントロピー的な静電的相互作用で説明されている。両者を比較すると静電的な相互作用の方がかなり大きく、種々の阻害物質のRNaseとの結合の強さの差はほとんどこの相互作用の違い、すなわちリン酸基部分の相違によるといえる。

以上3つの論文で、阻害物質と静電的相互作用をすることによってRNaseは非常に安定な複合体を生成することが示されているが、通常の基質との結合において生成するミハエリス複合体も同様な安定化が起こっていると考えられる。基質の一つである2', 3'-ヌクレオチドの加水分解



においてミハエリス複合体(ES)の静電的相互作用による安定化のエネルギーが評価されている。遷移状態($ES^{\ddagger}$)としてはpentacoordinated中間体、すなわちSのリン酸が2個アニオンのかたちになり、一方Eのヒスチジンはプロトンが付加されたかたちとなって結合した状態であ

ると推定されている。これは、この論文で考えられているRNaseと阻害物質の結合様式と同等である。このことからさらに、遷移状態すなわち $ES^{\ddagger}$ の生成自由エネルギー変化($\Delta G^{\ddagger}$)に対して静電的相互作用がどの程度寄与しているかをRNaseと阻害物質の結合熱測定の結果を用いて評価している。それによれば、静電的相互作用による $\Delta G^{\ddagger}$ の減少は33kJ/molであり、一方絶対反応速度論の取扱いから得られた酵素触媒による加水分解の活性化エネルギー減少は46kJ/molとなって、静電的相互作用がかなり大きな割合を占めていることがわかる。すなわち、酵素触媒反応の速度増大に対して静電的相互作用の寄与が非常に大きいことが示された。

酵素と基質あるいは阻害物質との複合体の安定化ということから、熱測定を通じて酵素のもつ触媒機能の熱力学的意義が示されたことは興味深い。

文 献

- 1) M. Fogel, R. Biltonen, Biochemistry **14**, 2603 (1975)
- 2) M. Fogel, R. Biltonen, Biochemistry **14**, 2610 (1975)
- 3) M. Fogel, A. Albert, R. Biltonen, Biochemistry **14**, 2616 (1975)

(深田はるみ)

内外情報

★ 生物系の熱力学および熱測定研究懇談会

(Workshop on Thermodynamic and Calorimetric Studies of Biological Systems)

1976年4月5日～9日。Santa Margherita Ligure, Italyにおいて、ヨーロッパ分子生物学協会の後援で開催される。主なテーマは生物系での熱測定技術、生体物質の熱力学的性質、たんぱく質、核酸、炭水化物、生体膜における転移の熱力学、細胞および複合反応系研究のための熱測定の利用、などである。

参加者を少人数に絞るため、組織委員会では限られた範囲にだけ案内を出している。日本からは広海啓太郎(京大農)、田村 守(阪大産研)の二氏が参加される。

連絡先: Prof. Giovanni Rialdi, Istituto Chimica Industriale Via Pastore, 3, 16132 Genova, Italy.

★ 第7回実験熱力学会議

(7th Experimental Thermodynamics Conference)

1976年4月7～9日、Bristol大学にて行われる予定

連絡先: Dr. G. Pilcher, Chemistry Department, University of Manchester, Manchester M 139 PL, U.K.

★ 熱物理的性質に関する第5回ヨーロッパ会議

(5th European Conference on Thermophysical Properties)

1976年5月18～21日、Moscowにて行われる予定

連絡先: Dr. K. A. Yakimovich, Conference Secretary, Institute for High Temperatures, Korowinskoye Rd., 127412, Moscow I-412, USSR.

★ 第11回熱物理的性質 AIAA会議

(11th AIAA Thermophysics Conference)

1976年7月14～16日、San Diegoにて行われる予定

連絡先: Mr. Edward E. Luedke, TRW Systems Group, Bldg. R1, Rm. 2028, One Space Park, Redondo Beach, California 90278, U.S.A.

★ 第1回熱分析に関するヨーロッパシンポジウム

(1st European Symposium on Thermal Analysis)

1976年9月20日～24日、Salford大学(英国Salford)