

“Workshop on Thermodynamic and Calorimetric Studies on Biological Systems” に出席して

(阪大産研) 田 村 守

この4月5日から9日まで、ヨーロッパ分子生物学機構(EMBO)による標題のworkshopがイタリアのジェノヴァ市から車で1時間程の所にある Santa Margherita Ligure で約100人程の人達が集って行われた。筆者はこの会議のorganizerの一人である、Prof. Rialdi, G. (U. of Genova)と、当研究室の林 晃一郎教授のおかげでまたま同会議に出席する機会を得たので、その印象等を紹介させていただきたい。なお、筆者は元来熱測定は門外漢であり、測定上の問題や、装置等に関しては、あやふやな紹介はかえって混乱をまねく恐れがあるのでここでは省かせていただくことにする。なお日本からは筆者以外に京大農学部の高海、大西両氏が出席された。

会議はイタリアから、E. Antonini (U. of Roma), G. Rialdi (U. of Genova), V. Crescenzi (U. of Trieste) が、アメリカから、R. Biltonen (U. of Virginia) 及び R. Lumry (U. of Minnesota) がorganizerとなり、熱力学、特にカロリメトリーの生物系への応用に重点が置かれているように思えた。参加者は同一のホテルに泊まり食事と同じであったためか、互いに親しく話をすることができた。このことは参加していた半分近い若い人達にとって、いわゆる大家といわれる人達と、かなりつっ込んだ議論が、個人的にも行えた点、非常に良い方法だと思われた。一般の発表(15分)以外に11の講演が行われ、午後3時からはopen discussionが行われた。以下、簡単にその内容を紹介したい。

初日には Prof. R. Pain (U. of Newcastle) が “Thermodynamics in Biology” の題で最初に一般的な話をした。彼はいくつかの装置の例を示しながら、最近の生物系での測定結果をいくつか紹介し、熱測定の生物系の研究における有効性を強調した。その中では、エントロピー(ΔS°)が温度の関数である場合の注意が筆者には興味を持たれた。この場合、生化学の分野において、いわばルーチン化している平衡定数の温度変化より、ファントホッフの式を用い、 ΔH° 、 ΔS° を求める方法にもう一度詳細な検討が必要と思われる。ここでは、彼が主張するように、カロリメトリーによる ΔH° の直接測定がその主要

な役割を果たすであろう。

このことは次に行われた Prof. S. Gill (U. of Colorado) の “Microcalorimetry of Biochemical Systems; Techniques and the Comparison with Van't Hoff Results” でさらに明確に提出された。彼は最近開発された Flow-calorimeter の応用例として、ヘモグロビンと一酸化炭素の結合の反応熱を4段階の結合のそれぞれについて測定した。結果は、平衡定数の温度変化から得られたものと大幅に異っていた(平衡定数の温度変化は K. Imai らの詳細な研究がある)。両者による ΔH° の差は現在のところ結論を出すにいたっていないが、一般的な意味でファントホッフの式が成立するかどうか非常に興味を持たれた。

Prof. S. Timasheff (U. of Brandeis) は “Thermodynamics of Self-assembling Systems” の題で、最近の生化学の分野において話題になっている microtubules の各種条件下で assembly について報告したが、大部分、microtubule とその assembly についての説明を電子顕微鏡写真等で説明し、熱力学的な解析はわずかであった。

午後になって、“The Application of Microcalorimetry Techniques to the Thermodynamic Studies of Complex Systems” が、Prof. R. Biltonen (U. of Virginia) によって行われた。そこでは、酵素と基質との反応、動力学的手法、各種生体膜、蛋白質やDNA、RNA等の変性の応用例が示された。しかしながら、現在、あらゆる可能な物理化学的測定方法が用いられ、詳細な機構が解析されている時、単にその反応熱を並べることに少々疑問を感じざるを得なかった。特に変性や、RNAのヘリックス-ランダム転移等で明確にNMR等からいくつかの状態がとらえられているにもかかわらず、ほとんどといって良い程無視されていた。このような他の測定結果を無視する態度はこの会議の大部分の発表で見られ、筆者にはまったく解せなかった。さらに、後に詳しく述べるが、熱測定の主要な武器になりつつあると思われる Differential Scanning Calorimeter (以後DSCと略す)の測定中、系が平衡になっているかどうかに関し、十分な吟味がなされていなかった。(本会議中、約7割がDSCで行われているにもかかわらず、測定結果が、行きと帰りで一致することを述べたのは後述の Privalov ただ一人であった)

2日目はProf. I. Wadsö (U. of Lund)による“Calorimetric Investigation of Cellular Systems”が行われた。彼はウエの受精およびその後起る変化、あるいはバクテリアの増殖、ガン細胞の一つであるヒーラ細胞の増殖、等での熱発生を報告した。また医学の臨床の面からの応用例として、異常ヘモグロビンを含む血液のDSCを示した。筆者にとって興味があったのは、赤血球において、いくつかの代謝中間体をAssayしながら、同時に熱を測った例であった。試みとしては面白かったが、実験条件、解釈等にはかなり問題があるように思えた。他の方法と組み合わせると、さらに結果が明確になることと思われる。

DSCにおける平衡の問題は次に発表されたP. Ross (NIH)の“Calorimetric Investigation of Gelation of Sick Cell Hemoglobin”で示された。彼は異常ヘモグロビンの一つであるsickle cell hemoglobin (以下HbS)の酸素化型のDSCを測定し、ゲル化に伴う ΔH° を各種条件下で求めた。この際、DSCの昇温速度を変えると、そのサーモグラムの形が変化する(ΔC_p の温度に対するカーブのピークがずれる)ことをゲル化の速度過程と見なした。しかし筆者にはこれは逆に測定が各温度において平衡(ゲル化という反応と)になっていないことを示しているように思えた。しかしながら集った熱測定の大家から質問もなく、彼の話は良い評判であった。この平衡に関し、筆者は二つの意味で常に疑問を感じていた。一つは測定自身の問題、他は反応系が可逆かどうかであった。この二つの意味での平衡の問題は会議を通じてただ一度も議論されなかった。これは会議の後半の一般演題で次々とDSCによる各種蛋白質の変性実験、膜の転移の熱力学量が報告されたが、納得がゆかなかったものがいくつかあった。特に多数の演題を占めた、蛋白質の変性実験において、各段階で系が平衡にあるかどうか一切の検討もなされていなかった。この問題を取り扱ったのは3日目のP. Privalov (Inst. of Protein Research, Moscow)であった。彼は変性におけるTwo-State Modelの提唱者であるが、t-RNAを用いて、詳細な解析から、熱的に少なくとも5つ以上の異った状態をとらえ、NMRの測定結果と合わせ議論し、温度を上げながら測定しても、下げながら行っても両者は完全に一致することを強調した。

近年、生体膜で一種の相転移に多くの関心が集っているが、蛋白質の変性も含め、転移による ΔH° の値も多数報告されたが、NIHのTasakiは神経膜の場合、明らかなヒステレシスが見られること、系が平衡ではないことを示し、多数の演者が示してきた、測定結果を相転移として取り扱う時、熱力学量(ΔH° , ΔS°)の不十分さを示したのは印象的であった。

最後の日には、Prof. R. Lumry (U. of Minnesota) が

“The Dynamic Nature of Protein Function and its Thermodynamic Consequences”で締めくくった。彼は以前から主張してきた、enthalpy-entropy compensation および entropy-volume compensationの例をいくつか示し、その生物学的意義を論じた。

本会議の発表の中で、多数見られたのは、単に生物系から得られた物質の熱力学量を求めればそれでこと足りるという態度であった。それは本会議に生化学者が殆んど出席していなかったことにもよるが、得られた結果の生物学的意義に関しては筆者から見てかなり悲観的といわざるを得なかった。生化学者からの発表としては、T. Kodama (Univ. College London)のミオシン-ATPaseの熱測定があった。また、Prof. K. Hiromi (Kyoto Univ.)はプロテアーゼインヒビターと加水分解酵素の反応を紹介した。

4日目になって Prof. J. Brandts (U. of Massachusetts)が“The Mechanisms of Protein Folding and Unfolding”の題でNMRや他の測定結果を引用しながら、蛋白質の変性について機構的な議論を展開した。彼はプロリンの“isomerization”が変性における律速であることを主張した。

多くの実験結果の報告の中で、理論的な議論は、H. Isenberg (Weizman Inst.)が3成分系について現象論的な記述を行った。

最後に全体として筆者が受けた印象をまとめると、発表の殆んどは単にカロリメーターを“biological substances”に応用したものであった。また最も失望したのは、ディスカッションが非常にかたより、10人程の人達によって、同じ議論が繰り返えされ、いわゆる大家以外の発言はほとんど封じられたことだった。

ここで述べなかった招待講演者およびその演題名は最後に付記する。また各セッション名も最後に記すことにする。最後に本会議に出席する機会を与えていただいた当研究室の林 晃一郎教授およびProf. G. Rialdiにお礼を申し上げます。また生化学者として片寄った印象記になってしまった点については読者の方々におわび申し上げます。

上記以外の招待講演

Prof. A. Beezer (Chelsea College)

“Microbiological Microcalorimetry”

Prof. H. Krakauer (U. of Washington)

“Calorimetric Analysis of the Response of Lymphocytes to Stimulation”

Prof. V. Crescenzi (U. of Trieste)

“Thermodynamic Studies of Interacting Biological Systems”

Prof. J. Rupley (U. of Arizona)
 “Calorimetric Studies of Weakly Associating Systems”
 Dr. F. Frank (Unilever Res.)
 “Thermodynamics of Small Molecule Biopolymer Analogues in Solution”

セクション名:

1. General Aspects of Biological Thermodynamics and Calorimetric Techniques

2. Calorimetric Techniques Applied to the Study of Complex Biological Systems
3. Calorimetric and Thermodynamic Studies of Interacting Biological Systems
4. Conformational Changes of Biological Macromolecules
5. Thermodynamic Studies of Model Systems of Biological Relevance

ドイツ熱分析学会第1回シンポジウム

ドイツ熱分析学会Gessellschaft für Thermische Analyse (GEFTA) は 1975 年 6 月 23~24 日にわたり、第1回シンポジウムを H. Lehmann 教授の議長のもとに Kassel 大学で開催した。次の論文 9 件が Sumposium papers として Thermochimica Acta, **15**, 123 (1976) に発表された。

Der Einsatz von thermoanalytischen Geräten in der chemischen Industrie
 E. Marti, Basel, Schweiz

Anomalien bei der Glasumwandlung amorpher Substanzen
 G. Henze, Leverkusen, B.R.D.

Kalorimetrische Bestimmung der Komplexstabilität von Additionkomplexen des SbCl_5 mit substituierten Acetessigsäureaniliden
 A. Kettrup, K. Striegler, Paderborn, D.D.R.

Thermoanalytische Untersuchungen auf dem Gebiet der Komplexchemie

G. Liptay, Budapest, Ungarn

Neuere Untersuchungen mit Wärmeleitfähigkeitszellen bei der EGA

D. Krug, W. Hadrich, Tübingen, B.R.D.

Thermogravimetrische Oxydationsversuche und dilatometrische Untersuchungen an binären Kobalt-Chrom-Legierungen

W. Krajewski, H. Winterhager, Aachen, B.R.D.

Differenzthermoanalyse und Kristallzüchtung in System $\text{In}_2\text{S}_3\text{-Bi}_2\text{S}_3$

V. Krämer, Freiburg, B.R.D.

Bildung und thermische Stabilität von Rhodium-Oxiden
 G. Bayer, Zurich, Schweiz; H.G. Wiedemann, Greifensee, Schweiz

Studies of non-stoichiometric oxides by thermoanalytical methods

O. Toft Sørensen, Risø, Denmark

モントリオール大学のマイクロカロリーメトリー・シンポジウムについて

去る 5 月 7 日、モントリオール大学においてマイクロカロリーメトリー・シンポジウムが開かれた。これは当地で 25 年前 初めての熱測定の実験室を創始した同大学化学科の Marcel Rinfret 教授の退任を記念して催されたもので、同教授のほか、ケベック州にある四大学を代表する講師の講演がなされた。当日のプログラムは次の通りである。

第 I 部 座長 R. L. Benoit (Université de Montréal)

1. D. D. Patterson (McGill University)

液体の構造とカロリーメトリー

2. H. Daoust (Université de Montréal)

高分子電解質溶液研究へのマイクロカロリーメトリーの応用

第 II 部 座長 M. Bourgon (Université de Montréal)

3. C. Jolicoeur (Université de Sherbrooke)

マイクロカロリーメトリーの開発と応用

4. G. Patterson (Université du Québec à Montréal)

液体分子の相互作用におよぼす分子の形と立体障害の影響

5. M. Rinfret (Université de Montréal)

マイクロカロリーメトリーの 25 年

簡単な要旨資料は下記にあります。

大阪府立大学農学部生物物理化学研究室 高橋克忠