

アポ酵素リアクターを用いた重金属イオンの フローインジェクションカロリメトリー

佐藤生男

(平成2年12月3日受理)

Flow-Injection Calorimetry of Heavy Metal Ions Using Apoenzyme-Reactors

Ikuo Satoh

(Received December 3, 1990)

A novel calorimetric flow-injection analysis for cofactors with use of immobilized metalloenzymes and thermistors was proposed. The biosensing system was assembled with a combination of the enzyme-reactor and the thermistor probe for monitoring the enzymatic activity. Heavy metal ions ranging from micromolar to millimolar levels were calorimetrically determined through its activation of the immobilized metal-free enzyme (apoenzyme) reactor. The overview of the apoenzyme reactivation microassay for heavy metal ions was described.

1. はじめに

「酵素を使って微量の重金属を測る」という研究課題に筆者はここ数年来、関わってきている¹⁻¹⁰⁾。重金属イオンの識別素子として、固定化酵素を充填した微小リアクターを用い、この酵素リアクターの触媒活性をフローインジェクションカロリメトリーで検出、測定することを考案した。その結果、亜鉛(II)、銅(II)、コバルト(II)の各種イオンを 10^{-6} M ($M \equiv \text{mol dm}^{-3}$)から 10^{-3} Mの濃度範囲で、特異的(バイオアフィニティー)に測定できることを見出した。

選択的な検知、反応試薬として酵素を利用する分析法には、混合物中の目的成分だけを分離操作を経ること無く直接、しかも温和な条件で鋭敏に定量できる利点がある。このような特色を生かして、近年、臨床・食品化学分析の分野では従来からの化学的分析法に代

わり、生体成分の測定に酵素分析法が採用されるようになった。現在、酵素に限らず抗原、抗体、オルガネラ、細胞、組織、器官など様々な生理活性物質の固定化(素子化)技術が著しく進展し、化学種の選択的検出素子としてバイオセンサー¹¹⁾あるいはバイオセンシング¹²⁾への応用が積極的に試みられている。これらの測定系では、どのような生体素子を使用するにせよ、それらの生物活性の検出器(トランスデューサー)を通じて「化学種」という入力情報が「電気信号」という出力情報に変換される。この検出器として熱電変換素子を適用すれば、あらゆる生物化学反応を検知できる筈であり、汎用性に富む測定が期待される¹³⁾。これらすべての反応には、多少とも熱量変化が伴う故である。

ときに酵素素子を用いたセンサーの測定対象はともすれば、基質に偏りがちであった。筆者らはこれに対して、活性の発現にコファクター(補因子)を必要とする酵素類に着目し、コファクターセンサーの開発を企図した。まずはコファクターとアポタンパク質との結合・解離に付随する酵素活性の変化を指標とする重金属イオンのバイオセンシングに取り掛かった。特にフローカロリメトリーと組み合わせることにより、微小な温度変化のモニタリングだけで、選択的にしかも

神奈川工科大学工学部工業化学工学科：厚木市下荻野
1030 〒243-02

Department of Chemical Technology, Faculty of
Engineering, Kanagawa Institute of Technology,
1030, Shimo-Ogino, Atsugi-shi 243-02, Japan

継続的に前述の重金属イオンを簡易に測定できることがわかった。ここでは筆者らのフローインジェクションマイクロカロリメトリーに基づいた、アポ化金属酵素を利用する重金属イオンの測定について紹介する。

2. フローインジェクションマイクロカロリメトリー

カロリメトリーの際立った特長の一つに、「どのような反応系でも測定対象となり得る汎用性」が挙げられるのは申すまでもない。一連の酵素触媒反応が円滑に進行する生体反応系のモニタリングには取り分け有用である。不均一系にして、光学的に不透明な試料でも測定可能であることは周知のとおりである。この特性並びに前述の「すべての生物化学反応にはエンタルピー変化が伴う」という点に注目し、MosbachとDanielssonはいちはやく、固定化酵素を充填したリアクターを準断熱形のフローカロリメータに組込んで、汎用性に優れたバイオセンシングシステムを案出し、この測定装置を「酵素サーミスター (Enzyme Ther-

mistor)」と称した¹⁴⁾。この測定系は連続流れ分析(いわゆるフローインジェクション分析法¹⁵⁾)に基づくものであり、識別・反応試薬にミニバイオリクター、検出器にサーミスタープローブを据え付けたものに他ならない。試料の測定頻度が 20h^{-1} 前後で、 $0.1\text{m}^\circ\text{C}$ という微小な温度変化を1%の精度で検出できることなどを考慮すると、むしろフローインジェクションマイクロカロリメトリー (Flow Injection Microcalorimetry) というほうが相応しい。その後の改良を経て近年、Fig. 1に示す測定系をそのまま一つの箱に収めた装置あるいはこの系の根幹をなすアルミニウム製の恒温槽(熱媒体は空気)と増幅器を計装したホイートストーンブリッジとが、スウェーデンのLund大学化学センター純正応用生物化学科およびThermometric社から入手できるようになった(商品名: Thermal Assay Probe)¹⁶⁾。本装置および測定法の原理と応用など、詳細に関しては文献を参照されたい¹⁷⁻²¹⁾。ただし、このようなフローインジェクションマイクロカロリメトリーでその検出感度を規定する要因が少なくとも2点あることを指摘しておく。第一に着目した生物化学反応のエンタルピー変化量であり、第二に単位重量当たりの触媒活性、すなわち比活性である。

3. 重金属イオンのバイオセンシング

3.1 測定の原理と特長

金属酵素やフラビン酵素では、それぞれ金属イオンやマクレオチドがコファクターとして酵素タンパク質の触媒部位に配位、結合した状態(ホロ酵素)で初めて触媒機能を発揮できる。つまり、これらコファクター類がホロ酵素から遊離すると、もはや触媒活性は認められなくなる。この相互変換を模式的にFig. 2に示す。このコファクターとタンパク質部分(アポ酵素)間の結合の強さにより金属酵素はその解離定数(K_d)の値から、金属酵素($K_d < 10^{-8}\text{M}$)と金属活性化酵素($K_d = 10^{-3} \sim 10^{-6}\text{M}$)とに分類される²²⁾。通常、精製過程において前者がホロ酵素の状態取得され得るのに対し、後者では金属イオンが容易に脱離するためアポ化され、失活し易い。しかし、その金属イオンの添加により再び活性化される。

さて人為的にアポ酵素を得るには、キレート剤などを用いて金属酵素の活性部位から金属イオンを除去すればよい。取得された一定量のアポ酵素に固有の金属イオンを賦与する時、賦与量に応じた金属イオンが触媒部位に取り込まれ、結合するものと仮定すれば、そ

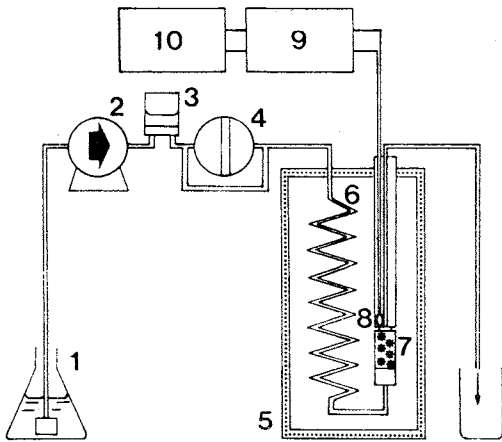


Fig. 1 Schematic diagram of the biosensing system based on flow injection microcalorimetry. 1: Carrier reservoir (buffer solution). 2: Peristaltic pump ($1.0\text{ cm}^3\text{ min}^{-1}$). 3: Pulse damper. 4: Rotary injection valve. 5: Thermostatted aluminum cylinder ($80 \times 250\text{mm}$; $30 \pm 0.001^\circ\text{C}$). 6: Heat exchanger (thin-walled acid-proof steel tubing; 0.8mm , i. d.). 7: Reactor packed with immobilized enzymes. 8: Thermistor attached to a gold capillary placed in a polymer tube. 9: DC-type Wheatstone bridge with a chopper-stabilized operational amplifier. 10: Recorder.

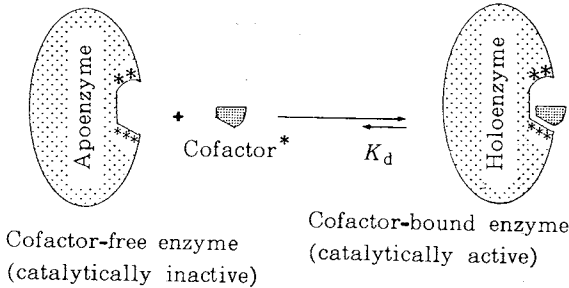


Fig. 2 The binding of cofactors to the apoenzyme.
* : cofactors (heavy metal ions, nucleotides etc), ** : substrate-binding site, *** : catalytic site.

の金属イオン量に対応した酵素の再活性化が予期される。したがって、予め金属イオンの添加量と発現された酵素活性の関係を求めておけば、未知量の金属イオンを測定できることになる。一方、金属酵素の種類によって触媒活性の発揮に必要な金属イオンは各々異なる。そこで個々の金属酵素を適宜、使い分けることで、固有の金属イオンの選択的検出が可能とされる。

アポ酵素とホロ酵素間の変換過程において、金属酵素を適当な担体に固定化し、微小カラムに充填して酵素リアクターとして用いれば、測定の連続化、操作性の著しい向上が可能となる。さらに比較的高価な酵素試薬の再使用性と安定化も付加されることになる。同様の考えから、TownshendやJohanssonらは吸光度法や高速液体クロマトグラフィー法を酵素活性の検出手段とした金属イオンの微量分析を報告している^{23,24)}。

いずれの金属酵素を用いるにせよ、すべて同一の活性測定法を基準にすれば、アポ化金属酵素を利用した測定法の妥当性が検討し易くなる。すなわち、特定の金属イオンの識別素子としての酵素リアクターを除けば、常に唯一の測定装置で、原理上、金属酵素の種類に対応した数の金属イオンを検出、定量できる。これらの着想のもとに、筆者らはフローインジェクションマイクロカロリメトリーに基づく金属イオンのバイオセンシングを創案した²⁵⁾。測定の具現化に際し、操作の簡易性、迅速性に加えて、高性能、高感度の温度測定を容易に実現できる装置の起用を考慮し、Danielssonらの開発に懸かる「酵素サーミスター」を適用することにした。言わば、「アポ酵素サーミスター」(Apoenzyme Thermistor)を用いた重金属イオンのバイオセンシングを試みたわけである。

Table 1 Characteristics of the Flow-Injection Microcalorimetry of Heavy Metal Ions Using Apoenzyme-Reactors

Mild assay conditions
High sensitivity
High selectivity
Reusability of the enzymes due to the immobilization
Low-priced assay
Continuous flow use
Compact assay system
Feasibility of handling
Feasibility of field works
Separability of metal-trapping and activity-sensing process
Versatility due to the interchangeability of the reactor

「金属酵素」、「固定化酵素」、「フローインジェクションマイクロカロリメトリー」というキーワードで特徴付けられるこの様な測定法には、それぞれに固有の特長が兼備されるものと期待される (Table 1)。原子吸光計など比較的高価な装置によらずとも、どこにでも持ち運びできる装置により、高感度にして、簡易かつ、安価、安全な測定が予期され得るわけである。

3. 2 測定操作

測定操作は単純であり、Fig. 3にフローシートを示すロータリー式の試料注入バルブを介しての各試薬相互の汚染を避けるため、基質液、金属イオン液 (標準液または試料液)、キレート剤液の通液用に別々のバルブを合計3個、Fig. 1の測定系に組み込んだ。キャリアーで継続的に洗浄した酵素リアクターに基質液を導き、ホロ酵素 (活性部位が金属イオンで飽和されている状態) の活性をまず求める。活性の追跡は温度変化として、応答曲線上 (Fig. 4) に得られる鋭いピークの測定からなされる。次に必要量のキレート剤を通液することで、アポ化したリアクターに未知量の金属イオンを含んだ試料液を添加する。再度、基質液を導入することで、再活性化による温度応答を検出する。前もって作成しておいた検量線から、その濃度が算出される。さらに十分量の金属イオン液を賦与し、ホロ酵素の状態に復帰させることで、一測定サイクルが完了する。酵素の種類や酵素リアクターの充填容積にもよるが、一サイクル当たりの所用時間は10分ないし15分

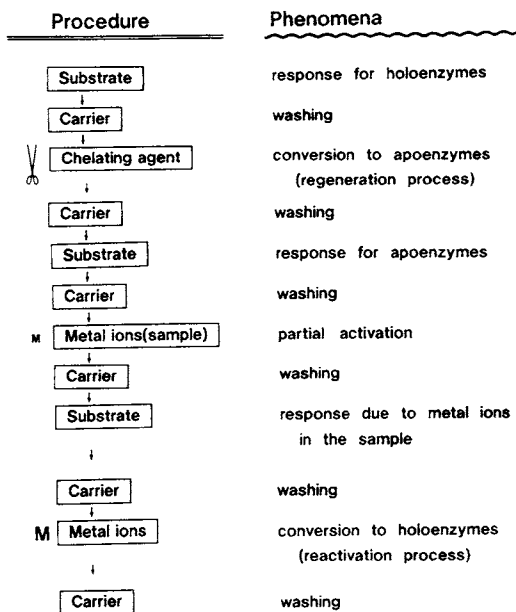


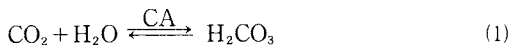
Fig. 3 The assay procedure based on the flow-injection analysis using the apoenzyme reactor.

間程度である。このようにして測定された重金属イオンの測定例を Table 2 に要約する。それでは個々の金属酵素を使用した重金属イオンの測定例について述べることにしよう。

3.3 亜鉛 (II) イオンの測定

3.3.1 カルボニックアンヒドラーゼ

一般に金属酵素は触媒活性の中心的役割を演じる金属イオン名に因んで、亜鉛酵素、銅酵素などと呼ばれている。亜鉛酵素の数はきわめて多く知られており、120種にも及ぶと言われる²⁶⁾。赤血球から精製されるカルボニックアンヒドラーゼ (略称 CA, EC 4.2.1.1) は中でも、ターンオーバー数が最も高く、次のように血液中における二酸化炭素の水和あるいは脱炭酸反応を調節する重要な生体触媒である。



本酵素 1 モルにつき亜鉛 1 モルが結合しており、(2) 式に示すようにエステラーゼ活性も呈す。そこでウシ赤血球から単離されたこの酵素 (略称 BCA) を微細孔性ガラス (Controlled-Pore Glass; 略称 CPG) に固定化し、加水分解活性を指標とした特異的測定を検討した¹⁾。

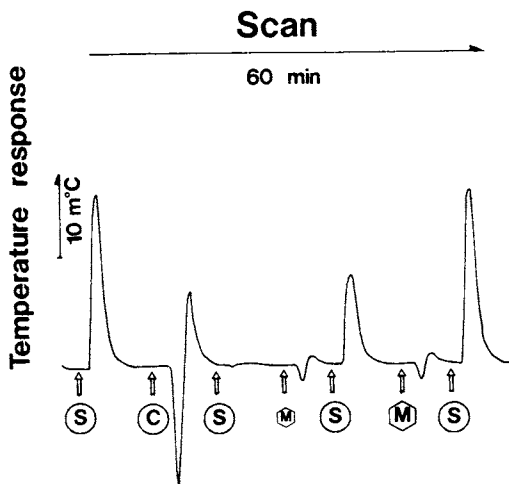
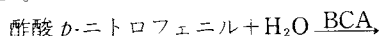
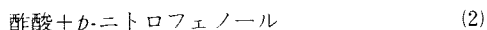


Fig. 4 Schematic presentation of a reaction cycle in the proposed flow-microcalorimetric biosensing system using the reactor packed with the immobilized metalloenzymes. The arrows indicate changes in the perfusing medium (flow rate 1.0 cm³ min⁻¹). (S) : substrate, (C) : chelating agent for regeneration of the apoenzymes, (M) : trace amount of heavy metal ions, (M) : Sufficient amount of heavy metal ions for complete reactivation of the once metals-exposed enzymes.

Table 2 Heavy Metal Ions Analyzed with the Proposed Colorimetry

Metal	Recognition element	Chelating agent	Range / mM**	Ref.
Zn (II)	Alkaline phosphatase	PDC***	0.010 ~ 1.0	10)
Zn (II)	Bovine carbonic anhydrase	PDC***	0.025 ~ 0.25	1)
Cu (II)	Ascorbate oxidase	DTTC****	0.0001 ~ 0.050	2)
Cu (II)	Galactose oxidase	DTTC****	5.0 ~ 20.0	8)
Co (II)	Bovine carbonic anhydrase	PDC***	0.050 ~ 0.20	4)

* Sample volume 0.5 cm³; ** M - moldm⁻³; *** 2,6-pyridine dicarboxylate; **** N, N-diethylthiocarbamate.



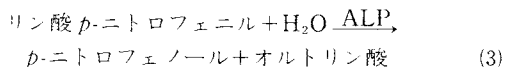
フローインジェクションカロリメトリーにより、酵素活性を検出するにはキャリアーの選択が肝要となる。その活性の最適 pH 域を含む緩衝液を選ぶことは勿論のこと、緩衝液の組成、濃度についても熟慮する必要がある。エステル類の加水分解のエンタルピー変化は非常に小さく、リン酸塩緩衝液中での温度変化の検知は容易でない。このような場合、アミン系の緩衝

液(例えばトリスヒドロキシメチルアミノメタン)を利用すると好都合である。オレイン酸など弱酸類でもトリスへのプロトン化熱が相対的に大きなことに着目して、リボタンパク質リパーゼによるカルボン酸エステル(トリグリセリド)のモニタリングが可能であることを既に認めていた²⁷⁾。さらにトリス緩衝液はリン酸塩緩衝液に比べ、塩基性側での重金属イオンの溶解性に富むことなどを考え、0.1M液(pH8.0)をキャリアー液として使用した。つまり、(2)式の反応で遊離される酢酸の解離に引き続く、ヒドロニウムイオンの付加熱を測定することで、アポ・ホロ両酵素間の相互変換に伴う酵素活性の変動を追跡した。

最初に基質として酢酸 *p*-ニトロフェニル液 (3.0mM) を0.5ml ($l \equiv dm^3$) ずつ継続的に30回、ホロ状態の酵素リアクター(充填量: 0.3ml) に注入した。反応系の温度を30°C(制御精度: $\pm 1 mC$) に、通液速度を1.0ml min^{-1} に設定したところ、発熱方向に鋭いピークが得られ、約5 mC の温度変化を2%の精度で測定できることが示された。因に緩衝液にリン酸塩を適用した場合と比較してみたら、予測したとおり、トリス-塩酸緩衝液を採用することで単位濃度当たり3倍もの応答が得られることが認められた。そこで次にキレート剤として2, 6-ピリジンジカルボン酸液(10 mM, pH5.0)を用い、酵素活性と通液量との関係を調べた。通液量の増加と共に、活性は急激に低下し始め、5 ml 以下通液すると変動が認められなくなり、アポ化されたものと見なした。また活性低下に及ぼすキレート液の pH の影響を検討したが、塩基性側での顕著な失活は観察されなかった。これらの基礎的知見をもとにして、いよいよアポ酵素の活性の回復に及ぼす亜鉛(II)イオンの濃度依存性を求めた。試料液量が0.5 ml の場合には25~250 μM の濃度範囲で、また0.1ml にすると0.1~1.0mM の範囲を測定できることがわかった (Fig. 5)。

3. 3. 2 アルカリホスファターゼ

アルカリホスファターゼ(略称 ALP, EC 3.1.3.1)を使うと、さらに低濃度の亜鉛イオンを定量できることが示された^{7,10)}。この加水分解酵素はオルトリン酸のモノエステル結合を切断し、酵素免疫測定法^{28,29)}における標識用酵素としての用途が知られている。この触媒反応の代表例を次式に示す。



アフィニティクロマトグラフィー用に開発されたエ

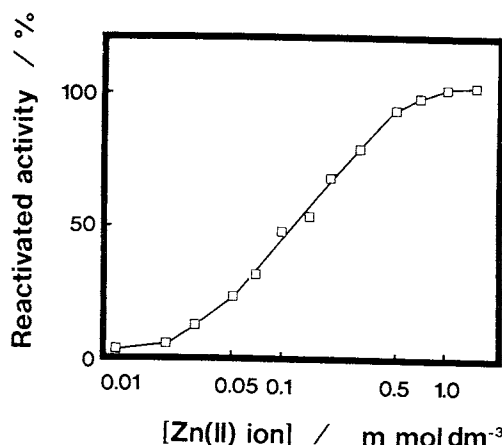


Fig. 5 Calibration curve for zinc (II) ions using the reactor (bovine carbonic anhydrase, 3.0 cm^3). Carrier : 0.1mol dm^{-3} Tris-HCl(pH 8.0), Sample volume : 0.5 cm^3 , Substrate : 3.0mmol dm^{-3} *p*-nitrophenyl acetate(pH8.0), Chelating agent : 10mmol dm^{-3} 2, 6-pyridine dicarboxylate (pH5.0).

ホキシドアクリルビーズ(EupergitC, 粒径: 100~200 μm , 平均孔径: 40nm, 表面積: 180 m^2)を担体として、大腸菌由来のALPを固定化後、微小カラムに充填(0.29ml)し、識別素子としての特性を求めた。

キャリアーには、やはりトリス-塩酸緩衝液(0.1M, pH8.0, 1.0Mの食塩を含む)を用い、100mMの基質(リン酸 *p*-ニトロフェニル)を0.1ml注入したときの触媒活性の追跡を行った。キレート剤に20mMの2,6-ピリジンジカルボン酸を用いると、2.5ml通液するだけでほとんど発熱応答(活性)は認められなくなった。この際、pHを4から8の範囲で0.5ずつ変えたキレート液でアポ化に及ぼす影響を検討したが、大きな差異は見られず、いずれのpHでも可逆的に何度も相互変換できることが示された。

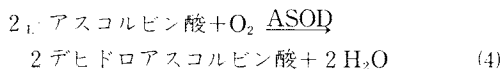
ときに亜鉛イオンの添加量を0.5ml (pH6.0)とした場合、測定可能な濃度範囲は10 μM から1.0mMであった。この検量線の再現性に関し、70, 150, 300 μM における測定を3回ずつ繰り返したところ、それぞれ24.0, 49.0, 68.0mCとはほぼ一定の応答が得られた。またアポ酵素の再活性化に及ぼす亜鉛イオン液のpHの影響についても試験したが、pHが4.0から6.0の間では、いずれも何の違いも見られなかった。また測定の実験について他の2価イオンに対する応答の有無をしらべたところ、カルシウム、コバルト、銅、マグ

ネシウム、マンガン、ニッケル、鉛イオンに対し、僅かながら活性化が見られた。とくにコバルトイオンの場合は、亜鉛に対し30%もの応答が示された。そこでこのALPはコバルトイオンセンサーとしても利用できる可能性があり、現在検討を加えているところである。この固定化酵素リアクターは昼夜にわたって30°Cの状態でも保存してもかなり安定であり、1箇月間に少なくとも120回の使用に耐えることが確認された。なお吸光光度法に基づいた活性の検知法(3)式における生成物のp-ニトロフェノールの405nmにおける吸収を測定)よれば、検出感度はなお一層向上し、その検出限界は0.1μMと100倍にもなることがわかった⁶⁾。さらにまたpH-ISFET(水素イオン感受性電界効果形トランジスター)をトランスデューサーとしたポテンショメトリーを採用すれば、カロリメトリーによる場合と同じ濃度範囲を測定できることも示された⁹⁾。これら検出原理の互いに異なる方法を適用することで、アポ酵素を用いた金属イオンのバイオセンシングの可能性の一端がより具体的に明らかとされた。この他にも、カルボキシペプチダーゼを利用した亜鉛の測定を試みたが、酵素素子の安定性、アポ酵素への変換、金属イオンに対する選択性など、解決すべき問題点も多く、ここでは省略する。

3. 4 銅 (II) イオンの測定

3. 4. 1 アスכולピン酸オキシダーゼ

銅酵素には酸化反応の触媒作用に携わる場合が多く見受けられる。アスכולピン酸オキシダーゼ(略称:ASOD EC 1.10.3.3)はこの好例であり、(4)式に示すように、L-アスכולピン酸からデヒドロアスכולピン酸への酸化に関与する。



分子状酸素が関係する酸化反応は通例、多量の発熱変化を伴う。キュウリから単離されたASODをCPG上に固定化し、(4)式の反応で生じる熱量変化の測定を行った結果、約70kJ mol⁻¹という値が求められた³⁰⁾。したがって、この酵素反応を指標とする銅イオンのバイオセンシングを試みれば、発熱変化が顕著であるだけにより高感度、高精度な温度測定、つまりより微小濃度領域における測定が可能なものと思われた。

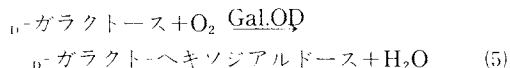
果たせるかな測定範囲は1~50μMへと、検出下限の低濃度方向へのシフトが認められた。さらに亜鉛、コバルト、ニッケル、マグネシウム、カルシウムなど他の2価カチオンには全く応答せず、選択性に極めて

優れていることが示された²⁾。このアポ化にはN,N-ジエチルジチオカルバミン酸(略称:DDTC, 20mM, pH8.0)を利用し、0.3mlの酵素リアクターに対し、僅か1mlの添加で事足り、一測定に必要な時間も40分間と短縮された。そればかりか、酵素素子の安定性にも長じ、90回に及ぶアポ・ホロ相互変換が可能であった。ところで臨床化学分析上、血清銅の測定はWilson病の診断に有力な知見を提供するものとされている³¹⁾。そこで血清中の銅(II)イオンの微量測定に応用したところ、数例ではあるが従来測定法との間に相関性が見出された³²⁾。

またアンペロメトリーに基づくモニタリングによれば、(4)式で消費される酸素量の測定を通じ、0.5~2.0μMとさらに高感度測定の可能性が示された³⁾。このモニタリングは食品分析への応用を目指して、ココア中の銅の定量に適用され、原子吸光分析による結果との間に良い一致が見られた。このようにしてASODの固定化物を選択的識別素子とすることで、アポ酵素リアクターを用いる金属イオンの測定法の妥当性と実用化への可能性が同時に明らかとされた。

3. 4. 2 ガラクトースオキシダーゼ

本酵素(略称Gal. OD: EC 1.1.3.9)は1モルにつき、1モルの銅を含み、次式に示すD-ガラクトースの酸化反応の触媒作用を早す。



*Dactylium dendroides*を給源とするGal. ODは水溶液の状態でも、いとも容易にアポ化され得る一方、再活性化にはかなりの時間が必要とされる。CPG上への固定化物を充填したリアクターでは、著しい熱量変化はえられず、そのためmMの桁での測定しか実現できていない³⁾。この測定系ではやはり、再活性化に長時間を要し、微量測定には不向きと思われる。また酸素電極や過酸化水素をデバイスとしたアンペロメトリーによるモニタリングも併せて検討した⁵⁾。測定時間の短縮化はなされたものの、濃度範囲は似たり寄ったりの結果であった。したがって、この高感度測定の困難さはトランスデューサーよりも、酵素素子自体の性質によるものと考えられる。

3. 5 コバルト (II) イオンの測定

哺乳類などの生体中ではコバルトはビタミンB₁₂の構成成分として機能し、食餌中の含量が不足すると、コバルト欠乏症が発生する。亜鉛酵素には亜鉛を他のイオンで置換しても、酵素活性を発揮することが観察

されている。BCA でもこの様な傾向が見出されたので、(2)式の酵素反応を活性のモニタリングにそのまま用いたり。アポ化用のキレート剤も亜鉛測定時と同じ濃度、pHの溶液を適用した結果、通液量は2.5mlと半減した。測定濃度範囲(試料量:0.5ml)は亜鉛の場合に比べ、多少狭くなり、ダイナミックレンジにして50~200 μ Mとなった。先にも述べたとおり、ALPを用いると検出限界、濃度範囲、素子の操作安定性のいずれの点でもより良いデータが得られそうである。

4. おわりに

本フローインジェクションマイクロカロリメトリーで試験的に用いた金属酵素の種類はまだ数例に過ぎない。しかも検出限界はやっと μ Mのレベルに迫り着いたばかりである。しかし、電気化学測定法や吸光光度測定法に基づく活性の検出結果と合わせ考えると、このアポ酵素リアクターを識別素子とする重金属イオンの微量分析(アポ酵素サーミスター)の手掛かりはつかめたようである。重金属イオンの微量測定の重要性が臨床・食品・発酵・環境化学などの各分析分野でますます認識されつつある現在、かかるバイオセンシングの開発、実用化は少なからず寄与するものと考え次第である。本測定で得られた検量線はいずれもシグモイド型となり、固定化されたアポ酵素への重金属イオンの結合は見掛上、吸着平衡によるものと示唆される。それでもこれら両者間の相互作用、重金属イオンの水和状況や対イオンの種類というような金属イオンを取巻くマイクロ環境の影響など、詳細な解明はまだこれからである。基礎的知見ばかりでなく、実際への応用を同時に念頭に置きながら、コファクターセンサーの開発を追及して行きたい。

文 献

- 1) I. Satoh, K. Ikeda and N. Watanabe, Proc. 6th Sensor Sym., Tsukuba, Japan. (1986), p. 203.
- 2) I. Satoh, S. Kimura and T. Nambu, Tech. Digest 4th Int. Conf. Solid-State Sensors and Actuators (Transducers' 87), Tokyo, Japan, (1987) p. 789.
- 3) I. Satoh, R. Abe and T. Nambu, *Denki Kagaku*, **56**, 1045 (1988).
- 4) I. Satoh, MRS Int. Sym. Proc., Biosensors, Vol. 14 (I. Karube, ed.), (1989) p. 45.
- 5) I. Satoh, T. Kasahara and N. Goi, *Sensors and Actuators*, **B1**, 499 (1990).
- 6) I. Satoh and T. Masumura, Proc. 9th Sensor Sym., Tokyo, Japan, (1990), p. 197.
- 7) I. Satoh, Proc. 3rd Int. Meet. Chemical Sensors, Cleveland, U. S. A., (1990), p. P-106.
- 8) I. Satoh, *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 印刷中
- 9) I. Satoh and, Y. Aoki, *Denki Kagaku*, **58**, 1114 (1990).
- 10) I. Satoh, *Biosensors and Bioelectronics*, 印刷中.
- 11) 鈴木周一編“バイオセンサー”, 講談社サイエンスティフィク, 東京 (1984) .
- 12) 軽部征夫編“バイオセンシング”, 啓学出版, 東京 (1988) .
- 13) 佐藤生男, 電気化学, **56**, 70 (1988).
- 14) K. Mosbach and, B. Danielsson, *Biochim. Biophys. Acta*, **364**, 140 (1974).
- 15) J. Růžička and E. H. Hansen, “Flow Injection Analysis”, John Wiley & Sons, Inc. (1981); 石橋信彦, 与座範政共訳, 化学同人, 京都 (1983).
- 16) 佐藤生男, “センサの事典”(高橋 清, 森泉豊栄共編), 朝倉書店, 東京, (1991), p. 371.
- 17) B. Danielsson and K. Mosbach, “Biosensors — Fundamentals and Applications —”, (A. P. F. Turner, I. Karube and G. S. Wilsson, eds.), Oxford University Press, London (1988), p. 575.
- 18) B. Danielsson and K. Mosbach, “Methods in Enzymology”, **137**, (K. Mosbach, ed.), Academic Press Inc., New York and London (1988), p. 181
- 19) 佐藤生男, 遺伝, **43**, 13 (1989).
- 20) I. Satoh, “Chemical Sensor Technology”, Vol. 2, (T. Seiyama, ed.), Kodansha Ltd., Tokyo (1989) p. 269
- 21) B. Danielsson, *J. Biotechnol.*, **15**, 187 (1990).
- 22) F. W. Wagner, “Methods in Enzymology”, **158**, (J.F. Riordan, B.L. Vallee, eds.), Academic Press Inc., San Diego (1988), p. 21.
- 23) A. Townshend and A. Vaughan, *Talanta*, **16**, 929 (1969).
- 24) L. Riesinger, L. Ögren, G. Johansson, *Anal. Chim Acta*, **154**, 251 (1983).
- 25) 佐藤生男, 化学工業, **40**, 423 (1989).
- 26) B. L. Vallee, *Carlsberg Res. Commun.*, **45**, 423 (1980).
- 27) I. Satoh, B. Danielsson and K. Mosbach, *Anal.*

- Chim. Acta*, **131**, 255 (1981).
- 28) B. K. van Weemen and A. H. W. M. Schuurs, "Principles of Enzymatic Analysis" (H. U. Bergmeyer, ed.), Verlag Chemie, Weinheim and New York, (1978), 山羽 力, 早川堯夫, 谷本 剛共訳, 広川書店, 東京 (1984) p. 126.
- 29) 北川常廣, "酵素免疫測定法", 蛋白質・核酸・酵素, 別冊 No. 41, (1987), p. 46.
- 30) 佐藤生男, 川崎政芳, 菅原茂樹, 未発表.
- 31) 松原高賢, "臨床化学分析 V—電解質—" (北村元仕, 斎藤正行, 丹羽正治共編), 東京化学同人, 東京, (1976), p. 106.
- 32) 佐藤生男, 木村伸一, 未発表.

書評

新 熱測定の進歩 I

日本熱測定学会編
リアライズ社, 158頁, 8,000円(消費税込)(1990年)

近頃はどうかやデータベースが大流行のようである。「○○の情報サービスのためのデータベースの構築」というタイトルをつけておくとかなりふんだんに予算が出るようであるし、何よりもパソコン雑誌は「データベースソフト」の記事に満ちている。にも拘らず、最も利用されていると思われる新聞記事のデータベースすら利益を上げていないことが疑問とされえないのは不思議である。

熱力学は現象論であるから、特定の物質に関する熱力学関数をそれ自身の枠組の中から導出することはできず、観測値から定めなくてはならない。しかも、熱力学の関係式が成立していないことが多い。ファクトデータベースの中で最初にまとめられたのが熱力学データを主体とした International Critical Table であったことにはこのような背景がある。

コンピュータの普及とともに熱力学データベースも印刷物からコンピュータ用の記憶媒体に載せられるようになってきた。このことは、熱力学データそのものに価値があるのではなく、それを用いて計算を行った結果に価値があるのであって、ユーザの計算に便利な形で提供しようということに他ならない。

このような時期にあたり「熱測定の進歩」が「新熱測定の進歩」と粧を改め、最初の特集としてデータベースを取りあげたのは、時宜を得た企画と思われる。特に、データベースの構築に関する問題よりもデータベースをどう使いこなすかという観点に力点が置かれており、酸化物、硫化物、複合酸化物、化合物半導体、熱媒流体等実用上重要な材料に関する最近の進歩が懇切に解説されているのは嬉しい限りである。

また、これらの応用のサポートとなる熱力学データベースの世界各地の最近の情況も紹介されており、より信頼性の高い熱力学データへのアクセスのためには有用な指針となろう。

熱力学データの実用上の重要性は本特集の随所に強調されているが、データを製造する立場にある熱測定の専門家はその対象を「興味ある化合物」、「新しい現象を具現する化合物」に絞りがちである。このような「測定屋」の方には、実用上の要請に応えるためにも是非御一読願いたいものである。

データのユーザーにとって、本特集を一読すれば熱力学データを使いこなせるようになるといえば嘘になるであろう。熱力学の基本の理解なくして「使いこなす」ことはとうてい不可能である。しかし、そのための良い刺戟となろうし、学習のためのヒントともなろう。この意味では、本特集が本会会員以外で熱力学を必要としている人達に広く読まれることをも期待するものである。

(国立身障者リハビリテーションセンター 山内 繁)