

# 有脂および脱脂牛血清アルブミン(BSA)の熱構造転移と安定性

児玉美智子, 竹林新二, 城所俊一\*, 上平初穂\*\*

(平成4年6月29日受理)

## Thermal Transitions and Stability of Fatty Acid-Containing and Defatted Bovine Serum Albumin (BSA)

Michiko Kodama, Shinji Takebayashi, Shun-ichi Kidokoro\* and Hatsuhō Uedaira\*\*

(Received June 29, 1992)

The thermal denaturation (N-D transition) of fatty acid-containing and defatted (fatty acid-free) bovine serum albumin (BSA) at pH 7.00 was investigated by differential scanning microcalorimetry. The enthalpy change ( $\Delta H_{cal}$ ) associated with the thermal transition from the native to the denatured state for the fatty acid-free BSA was about 30% lower than that for the fatty acid-containing BSA. The calorimetric data of two BSA's were analyzed on the basis of a double deconvolution method proposed by S.Kidokoro et.al.(Biopolymers 26,231(1987)). By this method, the thermal transition of the defatted BSA was analyzed to be a three-state transition, while the thermal transition of the fatty acid-containing BSA was estimated to be a four-state transition, corresponding to a three-domain structural model for this protein.

### 1. 緒言

タンパク質は20種類のアミノ酸がペプチド結合によって連結したポリペプチド鎖から構成され、生体における代謝反応の触媒や細胞内外の物質移動などの機能を発現するためには、アミノ酸配列に対応して構成される $\alpha$ -ヘリックス

スや $\beta$ -構造等の二次構造を含んだ高次の立体構造をとらねばならない。

牛血清アルブミン(BSA)は牛血清中に最も多く含まれているタンパク質であり、血液中に取り込まれた栄養物質および薬物などの輸送タンパク質としての機能を有することが知られている<sup>1)2)</sup>。BSAの1次構造をFig.1に示すが、これは分子量66,267、アミノ酸残基数582からなる1本鎖のタンパク質で、3つのドメイン構造(Fig.1のI, IIおよびIII)から構成され、17個のS-S結合と1つのシステイン基(-SH基)、さらに図中に矢印で示す18個の $\alpha$ -ヘリックス構造を有することが明らかにされている<sup>3)4)</sup>。また、一般にはBSAの高次構造の内部に取り込まれた脂肪酸の除去は困難であることも報告されている<sup>5)6)</sup>。本研究においては、脂肪酸除去の操作を行ったBSAとこの操作を行わない、すなわち脂肪酸含有のBSAの熱構造転移の相違を高感度示差走査熱量測定によって比較、検討した。

岡山理科大学理学部生物化学科：〒700 岡山市理大町1-1

Department of Biochemistry, Okayama University of Science, 1-1 Ridai-cho Okayama 700, Japan

\* 相模中央化学研究所：〒229 相模原市西大沼4-4-1  
Sagami Chemical Research Center, Nishiohnuma 4-4-1  
Sagamihara, Kanagawa 229, Japan

\*\* 繊維高分子材料研究所：〒305 茨城県つくば市東1-1-4  
Research Institute for Polymers and Textiles, Tsukuba,  
Ibaraki Pref. 305, Japan

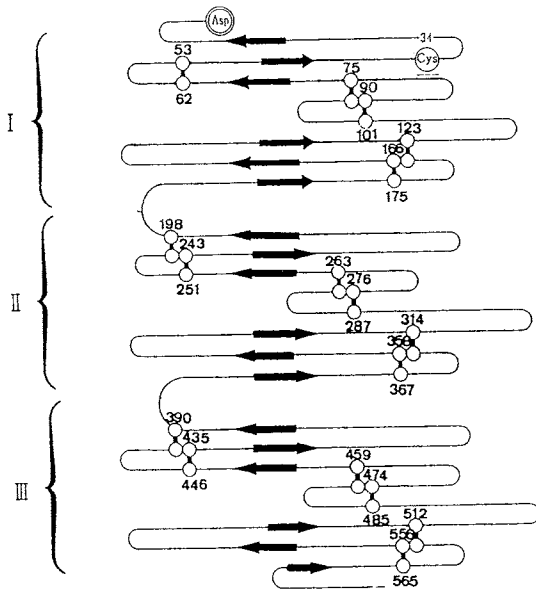


Fig.1 Three-domain model of bovine serum albumin (BSA). The BSA molecule is composed of three (I,II,and III) domains, seventeen S-S- bondings (⊗) and eighteen  $\alpha$ -helical structures ( $\rightarrow$ ). The diagram was constructed by referring "K.Aoki, T.Takagi, H. Terada (Eds.), Serum Albumin, pp.1,38, Kodansha (1984)".

一方、近年の高感度型熱量計の開発によって、タンパク質の熱構造転移に伴われる熱力学量を解析する種々の方法が提案されるに至っている<sup>9)-12)</sup>。そこで、本研究では、城所らによって開発されたDouble deconvolution法<sup>11),13)-15)</sup>に従って上述、2種のBSAの熱構造転移に伴われる熱力学量を解析した。その結果、BSAの天然(N)状態から熱変性(D)状態への熱構造転移は<sup>16)-18)</sup>、X線構造解析によって明かにされている構造ドメインモデル<sup>3)</sup>に対応する多状態転移であることを明らかにしたのでそれについて報告する。

## 2. 実験

### 2.1 試薬

牛血清アルブミン(Code No.250010 Lot No.86)は Miles社から購入した。脂肪酸除去に使用した活性炭は、和光純薬工業のDarcoG-60である。BSA内に1つ存在するCys残基(-SH基)の化学修飾には、ナカライテスクのヨードアセトアミド(SH基蛋白質研究用)を用いた。また、ゲルろ過はPharmacia LKB社製のSephadex S-200HRカラムによって行った。試料の調整には10mMリン酸Na塩緩衝溶液(pH=7.00)を使用した。

### 2.2 脱脂および有脂の2種BSAの調整

#### 2.2.1 脂肪酸除去

市販のBSA内に含まれる脂肪酸を除去するために用いた活性炭処理法<sup>6)19)</sup>の操作手順を以下に記す: 5gのBSAを脱気水100mlに溶解し、これに脱気・洗浄した活性炭を重量比3:4(活性炭:BSA)の割合で加えた。この溶液のpHを2.75に調整し、温度3℃で24時間攪拌した。その後、超遠心操作(15,000rpm×30min)によって活性炭を取り除き、さらに上澄み液を0.2 $\mu$ mのフィルターで吸引ろ過した。このようにして得られたBSA溶液のpHを0.1M-KOHを用いて7.00に調整した。

#### 2.2.2 システイン残基(Cys)の化学修飾

BSA内に1つ存在するCys残基(-SH基)は、BSA分子間でのS-S結合をつくりやすい。そこでこの反応を阻止するために、ヨードアセトアミド(ICH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>)を用いて-SH基を-SCH<sub>2</sub>CONH<sub>2</sub>に置換した<sup>19)</sup>。その手順を以下に記す: 2.2.1の脂肪酸除去の操作を行ったBSA溶液(pH=7.00)にKCl(0.2mol/l)を加え、さらにヨードアセトアミドをモル比5:1(ヨードアセトアミド:BSA)の割合で加え、温度3℃で24時間攪拌した。その後、温度3℃で4日間透析し、透析外液の電気伝導度測定によって透析完了を確認した。

この透析後の試料を凍結乾燥し、脂肪酸除去の操作を行ったBSAの粉末を回収した。また、2.2.1の脂肪酸除去の操作を行わないBSAについても上述の化学修飾および透析の操作を行ない、凍結乾燥によってその粉末を回収した。

#### 2.2.3 ガスクロマトグラフィーによる脂肪酸除去の確認

2.2.1の活性炭処理法によるBSA内の脂肪酸除去の効果を確認するために、以下の方法に従って脂肪酸の抽出を行った<sup>20)21)</sup>: 2.2.2で得られた2種のBSA粉末の各々400mgを蒸留水8mlに溶解した。これに1N-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>の0.1mlと混合溶液(イソオクタン: イソプロピルアルコール=1:40)(体積比)の40mlを除々に加え、さら0.1N-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>の16mlとイソオクタンの24mlを加えた。この溶液を分液ロートを用いて振とうした後に、上澄み液(イソオクタン相)を分離した。その後、イソオクタン24mlを用いて抽出操作を5回繰り返して、上澄み液を回収し、エバポレーターを用いて濃縮した。このイソオクタンの濃縮液のガスクロマトグラフィー(GC)スペクトルを測定した。GC装置はパーキンエルマー社製Q-MASS910であるが、キャピラリーカラム(PEG-20M, 25m×0.25mm)を用い130℃から250℃までの昇温分析を行った。

GC分析によって得られた2種BSAの結果を比較すると、活性炭処理を行わないBSAは、重量比を明確にすることはできないが、炭素数8~16の脂肪酸を含み、活性炭処理を行なったBSAではこれらの脂肪酸が除去されていることが明らかにされた。従って以後、前者を有脂BSA、後者を脱

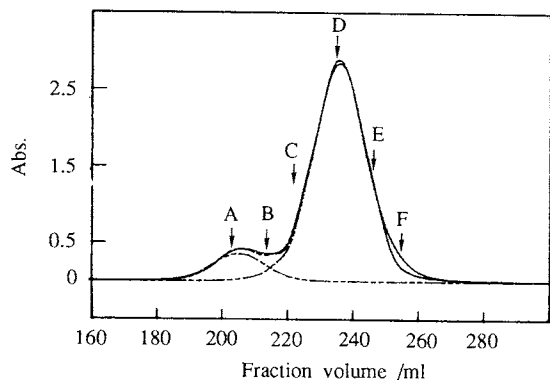


Fig.2 Gel filtration of fatty acid-containing BSA. The BSA was separated on a Sephadex S-200HR in phosphate buffer solution. The fraction volume was 4 ml. Fractions were analyzed by their absorbances at 280 nm.

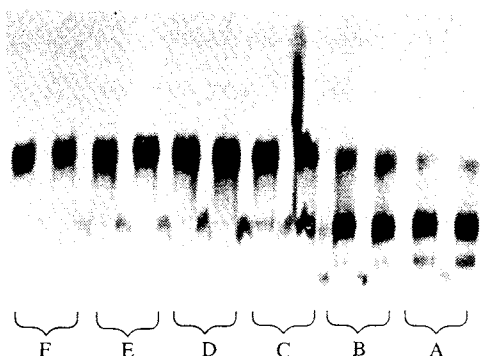


Fig.3 Electrophoretic analysis of the fractions A,B,C,D,E, and F of fatty acid-containing BSA obtained by the gel filtration shown in Fig.2.

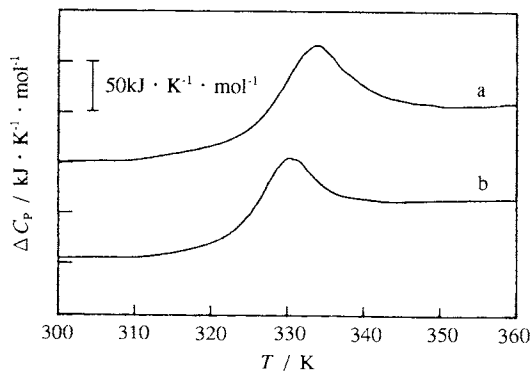


Fig.4 Excess heat capacity ( $\Delta C_p$ ) versus temperature ( $T$ ) curves of fatty acid-containing BSA (a) and defatted BSA (b) at pH 7.00.

脂BSAと呼ぶ。

### 2.2.4 ゲルろ過による単量体の分離

凍結乾燥より得られた脱脂および有脂の2種BSAは共に多量体を含んでいる可能性がある。そこで、Sephadex S-200HR カラム(2.5×90cm)によるゲルろ過によって各々BSAの単量体を分画した。カラムをリン酸Na塩緩衝溶液で平衡化した後にBSA溶液(100mg/5ml)を徐々にカラムに添加し、溶出液はフラクションコレクターを用いて4mlずつ採取した。これら分画試料の280nmでの吸光度を測定したが、有脂BSAの分画試料の吸光度(Abs.)を溶出量に対してプロットした結果の一例をFig.2に示す。

### 2.2.5 電気泳動測定による単量体の確認

Fig.2の有脂BSAのゲルろ過の結果を参照すると、吸光度(abs)vs.溶出量(ml)曲線は波線で示すように多量体(180~220ml)と単量体(220~260ml)の2つの領域に区分される。そこでA~Fの各分画試料のポリアクリルアミドゲル電気泳動測定を行った。用いた泳動緩衝溶液はグリシン(14.4g)とトリス(3g)を蒸留水1lに溶解し、pHを7.00に調整したものである。

電気泳動測定の結果をFig.3の写真に示すが、Fig.2のA~Cに対応する分画試料は2~3本のバンドを示し、単量体のみならず多量体も含まれていることが明らかにされた。また、Fig.2のD~Fに対応する分画試料は1本のバンドを示し、単量体のみを含むことが確認された。これに基づいて高感度示差走査熱量測定にはD以降の単量体試料を用いた。脱脂BSAについても電気泳動測定を行い、単量体試料であることを確認後に測定用試料として用いた。

### 2.3 高感度示差走査熱量測定(DSC)

示差走査熱量測定(DSC)は、Microcal社製MC-2型高感度示差走査熱量計を使用した。この熱量計はA/D-converter (Data-translation DT-2801)内蔵のIBM-PS.2コンピューターによって、測定の操作およびデータの取り込みが行われる。DSCは45°C/hの昇温速度で行った。また、測定に用いたBSAの濃度は $4.03 \sim 4.09 \times 10^{-5}$  mol/lであるが、吸光係数  $A_{1cm}^{mol} = 44.500 (A_{1cm}^{1\%} = 6.67)^{22}$  を用いて280nmの吸光度から算出した。また、熱データの解析は、城所<sup>11)</sup>によって開発されたDouble deconvolution 解析用のソフトに従ってNECコンピューターを用いて行った。さらに、この解析法によって得られた熱力学パラメタを初期条件として、FACOM M-780コンピューターを用いて非線型最小二乗法SALSプログラム<sup>23)</sup>による最適化を行った<sup>12)</sup>。

## 3. 結果と考察

熱測定より得られた有脂および脱脂の単量体BSAの過剰熱容量( $\Delta C_p$ )vs.温度( $T$ )曲線をFig.4aおよびbにそれぞれ示すが、N→D状態の熱構造転移に基づく吸熱現象が観察さ

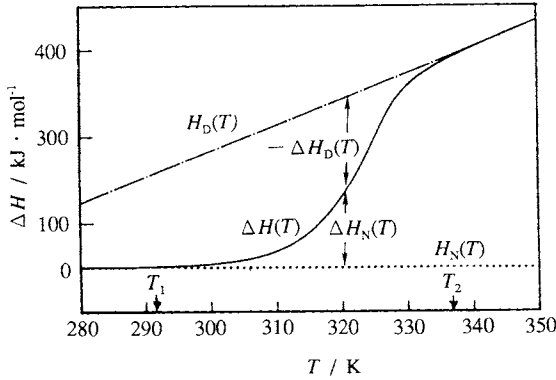


Fig.5 Schematic diagram explaining the correlation of excess enthalpy function  $\Delta H(T)$ , enthalpy function of native state  $H_N(T)$ , and enthalpy function of heat denatured state  $H_D(T)$ .  $H_D(T)$  and  $\Delta H(T)$  are plotted as the excess values from  $H_N(T)$ .  $T_1$  and  $T_2$  are initial and final temperatures of thermal denaturation (N-D transition), respectively.

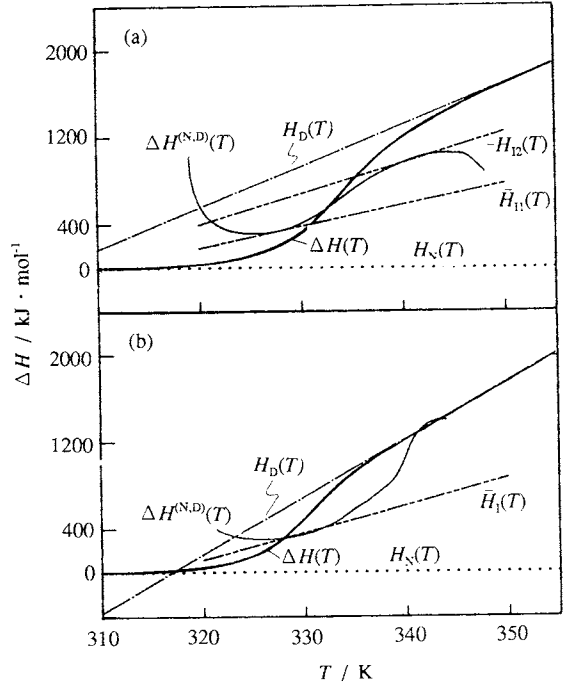


Fig.6 Excess enthalpy function  $\Delta H(T)$ , enthalpy function of native state  $H_N(T)$ , enthalpy function of heat denatured state  $H_D(T)$  for fatty acid-containing BSA (a) and defatted BSA (b) at pH 7.00. Hypothetical excess enthalpy function of intermediate state  $\Delta H^{(N,D)}(T)$  is obtained by the double deconvolution analysis<sup>11)</sup>.  $\Delta H(T)$ ,  $H_D(T)$ , and  $\Delta H^{(N,D)}(T)$  are plotted as the excess values from  $H_N(T)$ . Enthalpy functions of two intermediate states,  $H_{11}(T)$  and  $H_{12}(T)$ , are assumed for fatty acid-containing BSA (a), and enthalpy function of one intermediate state  $H_1$  for defatted BSA (b).

れる。この転移に伴われる吸熱ピークに着目すると、脂肪酸除去により転移ピーク温度は低下し、転移面積は減少することが示される。Fig.4に示す2種BSAの $\Delta C_p \sim T$ 曲線を基にして、城所によって開発されたソフトを用いて式(1)~(7)に従って解析した<sup>11,13-15)</sup>。

$$\Delta H(T) = \int_{T_1}^T \Delta C_p(T) dT \quad \dots\dots(1)$$

$$\Delta H_N(T) = \Delta H(T) - H_N(T) \quad \dots\dots(2)$$

$$\Delta H_D(T) = \Delta H(T) - H_D(T) \quad \dots\dots(3)$$

$$\frac{d}{dT} \ln f_N(T) = - \frac{\Delta H_N(T)}{RT^2} \quad \dots\dots(4)$$

$$\frac{d}{dT} \ln f_D(T) = - \frac{\Delta H_D(T)}{RT^2} \quad \dots\dots(5)$$

$$f_I(T) = 1 - f_N(T) - f_D(T) \quad \dots\dots(6)$$

解析の手順を要約すると、転移開始温度( $T_1$ )よりも低温側、すなわち転移前のN状態の $\Delta C_p$ 曲線を基準線とし、この開始温度よりも高温側の $\Delta C_p$ 曲線を(1)式に従って積分するとFig.5に示す $\Delta H(T)$ 関数(実線)が得られる。この図に示す転移終了温度( $T_2$ )よりも高温側の $\Delta H(T)$ 関数を低温領域に外挿することによって、転移後のすなわちD状態のエ

ンタルピー関数 $H_D(T)$ (破線)が求まる。また、 $T_1$ よりも低温側の $\Delta H(T)$ 関数はN状態のエンタルピー関数 $H_N(T)$ (破線)に相当し、これを高温領域まで外挿して示す。このようにして求めた $\Delta H(T)$ 、 $H_N(T)$ および $H_D(T)$ を(2)および(3)式にそれぞれ代入することによって、Fig.5に示す $\Delta H_N(T)$ および $\Delta H_D(T)$ が得られる。次に、 $\Delta H_N(T)$ および $\Delta H_D(T)$ を(4)および(5)式のそれぞれ代入することによって、N状態のモル分率関数 $f_N(T)$ およびD状態のモル分率関数 $f_D(T)$ が求められる。さらに、(6)式より中間(I)状態のモル分率関数 $f_I(T)$ が得られる。

上述の方法に従って求めた有脂および脱脂BSAの $\Delta H(T)$ 、 $H_N(T)$ および $H_D(T)$ の相関関係をFig.6aおよびbにそれぞれ示す。また、Fig.7aおよびbは有脂および脱脂BSAの $f_N$ 、

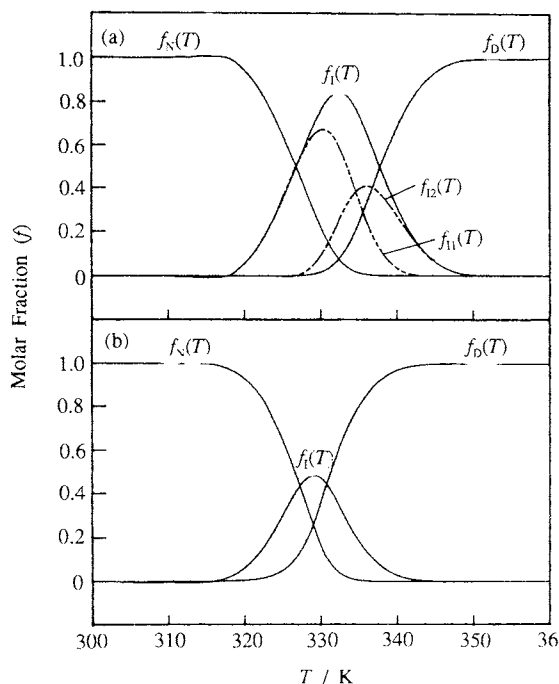


Fig.7 Molar fraction functions of native, heat denatured, and intermediate states,  $f_N(T)$ ,  $f_D(T)$ , and  $f_I(T)$  for fatty acid-containing BSA (a) and defatted BSA (b).  $f_I(T)$  of fatty acid-containing BSA (a) is analyzed into two molar fraction functions of intermediate states 1 and 2,  $f_{I1}(T)$  and  $f_{I2}(T)$ .

Table 1 Calorimetric enthalpy change ( $\Delta H_{cal}$ ) and van't Hoff enthalpy ( $\Delta H_{vH}$ ) at midpoint temperature ( $T_m$ ) associated with thermal transition of native to denatured states for fatty acid-containing and defatted BSA's.

	fatty acid-containing BSA	defatted BSA
$T_m / K$	332.0	328.9
$\Delta H_{cal} / kJ \cdot mol^{-1}$	990	590
$\Delta H_{vH} / kJ \cdot mol^{-1}$	260	323

$f_D$ および $f_I$ を温度(T)の関数としてそれぞれ示す。Fig.7から明らかなように、両BSAとも $f_N + f_D < 1$ の関係を示し、これらBSAのN→D状態への熱構造転移は中間(1)状態を経て進行する多状態転移であることが示される。

Table 1は2種BSAのN→D転移に伴われる熱力学量を示す。

有脂および脱脂BSAの熱力学量を比較すると、特に、熱測定から求めた転移中点温度( $T_m$ )でのエンタルピー変化量( $\Delta H_{cal}$ )が大きく異なることが特色としてあげられる。すなわち、脱脂BSAの $\Delta H_{cal}$ は有脂BSAに比べて約1/3ほど減少している。また、両BSAの $\Delta H_{cal}$ は共に計算より求めたvan't Hoffエンタルピー( $\Delta H_{vH}$ )よりも大きく、この結果からも、これらBSAのN→D転移が多状態転移<sup>24)-26)</sup>であることが示唆される。そこで、多状態転移であることを考慮して、(7)式に従って中間状態のエンタルピー関数 $\Delta H^{(N,D)}(T)$ を求めた<sup>11),13)-15)</sup>。

$$\Delta H^{(N,D)}(T) = \frac{\Delta H(T) - H_N(T)f_N(T) - H_D(T)f_D(T)}{1 - f_N(T) - f_D(T)} \dots\dots\dots(7)$$

得られた2種BSAの中間状態のエンタルピー関数 $\Delta H^{(N,D)}(T)$ をFig.6aおよびbにそれぞれ加える。有脂BSAの $\Delta H^{(N,D)}(T)$ はシグモイド型を示し、従ってこのエンタルピー関数はFig.6aに示す $H_{I1}(T)$ と $H_{I2}(T)$ のエンタルピー関数で表わされる2つの状態に分解される<sup>11),13)-15)</sup>。そこで(2)および(3)式を用いてさらに計算を押し進め、 $H_{I1}(T)$ と $H_{I2}(T)$ にそれぞれ対応するモル分率関数、 $f_{I1}(T)$ および $f_{I2}(T)$ を求めた(計算に際しては、(2)、(3)式の $\Delta H(T)$ を $\Delta H^{(N,D)}(T)$ 、 $H_N(T)$ を $H_{I1}(T)$ さらに、 $H_D(T)$ を $H_{I2}(T)$ にそれぞれ置き換えて行った)。この様にして求めた $f_{I1}(T)$ および $f_{I2}(T)$ をFig.7aに破線で示すが、有脂BSAのN→D転移は2つの中間状態から構成される4状態転移であることが明らかになった。

一方、脱脂BSAの中間状態のエンタルピー関数はFig.6bに示すように直線に近似され、 $H_I(T)$ で表される1個の中間状態が存在する<sup>11),13)-15)</sup>。すなわち、脱脂BSAのN→D転移は有脂BSAとは異なり1つの中間状態から構成される3状態転移であることが明らかになった。

Fig.6aおよびbから得られる有脂および脱脂BSAの熱力学パラメータを初期条件として、非線形最小二乗法SALSプログラムによる熱力学関数の最適化を行った。有脂BSAの相転移を3状態および4状態モデルに適合させることによる実測値からの二乗平均誤差はそれぞれ0.576mJ/K、0.047mJ/Kとなり、また脱脂BSAの2状態および3状態モデルに対する二乗平均誤差はそれぞれ0.290mJ/K、0.060mJ/Kとなった。従って、これらの結果から、有脂および脱脂BSAの熱構造転移はそれぞれ3状態および4状態モデルに従うことが確認された。有脂および脱脂BSAの最適転移に対する熱力学関数の計算値をTable 2に示す。

本研究においては、示差走査熱量測定によって得られたN→D状態への熱構造転移に伴われる熱力学量を解析することによって、有脂および脱脂BSAのこの転移はそれぞれ4状態および3状態から構成されることを明らかにした。この結果に基づいて考察すると、有脂BSAの4状態転移とい

Table 2 Thermodynamic functions for fatty acid-containing and defatted BSA's.  $T_{N1}$ ,  $T_{N2}$  and  $T_{ND}$  are the temperatures at which  $\Delta G_{N1}$ ,  $\Delta G_{N2}$  and  $\Delta G_{ND}$  given by equation  $d/dT(\Delta G_{Ni}(T)/T) = \Delta H_{Ni}(T)/T^2$  ( $i=I1, I2$  or D) are equal to zero, respectively.

	fatty acid-containing BSA	defatted BSA
$T_{N1} / K^a$	325.37±0.93	326.54±0.66
$\Delta H_{N1} / kJ \cdot mol^{-1}$	227±22	250±17
$\Delta S_{N1} / J \cdot K^{-1} \cdot mol^{-1}$	697±65	767±52
$T_{N2} / K^a$	329.23±0.12	
$\Delta H_{N2} / kJ \cdot mol^{-1}$	598±19	
$\Delta S_{N2} / J \cdot K^{-1} \cdot mol^{-1}$	1817±59	
$T_{ND} / K^a$	331.81±0.16	328.08±0.15
$\Delta H_{ND} / kJ \cdot mol^{-1}$	989.9±5.2	586.1±4.0
$\Delta S_{ND} / J \cdot K^{-1} \cdot mol^{-1}$	2983±16	1786±12
$\Delta C_p / kJ \cdot K^{-1} \cdot mol^{-1}$	39.5±0.5	40.0±0.6

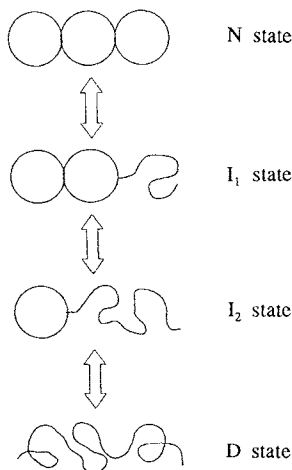


Fig.8 Schematic diagram of the process of thermal transition for fatty acid-containing BSA. The diagram was constructed by considering a four (N, I<sub>1</sub>, I<sub>2</sub> and D)-state model obtained by the double deconvolution analysis<sup>1)</sup> and a three-domain model<sup>3)</sup> shown in Fig.1.

う現象は、従来のX線構造解析等の研究によって明らかにされているこのタンパク質の3ドメイン構造モデルにうまく適合する。Fig.8にこの3ドメイン構造モデルと本研究で得られた4状態転移を考慮した転移過程を模式的に示

す。N状態を構成する3つのドメイン構造の内のどれか1つがまず最初に壊れることでI<sub>1</sub>状態が、次に残り2つのドメイン構造の内のどちらか一方が壊れることでI<sub>2</sub>状態が実現される。最終的には3つのドメイン構造の全てが壊れたD状態が達成されると考えられる。

一方、従来の研究からは、BSA中に取り込まれた脂肪酸はC端側のドメイン(Fig.1のIII)および中間領域のドメイン(Fig.1のII)に存在することが報告されている<sup>7)</sup>。従って、本研究で得られた脱脂BSAの3状態転移という現象は、脂肪酸を除去することによってドメインIIおよびIIIのどちらか一方が十分に構造化されていない状態にあることを示唆する。その結果、熱転移過程において1つの中間状態が存在する3状態転移が発現されたとも考えられる。また、Fig.7aとbの有脂および脱脂BSAのモル分率温度関数を比較すると、両BSAの $f_{i2}(T)$ の温度依存性はほとんど等しく、さらにaに示す $f_{i2}(T)$ と $f_D(T)$ の和は、bの $f_D(T)$ に近いことが示される。この結果に基づくと、脱脂BSAの十分に構造化されていないドメイン構造のどれかが不安定なために転移過程において熱力学的に独立の状態に成り得ず、これによって有脂BSAの示すI<sub>2</sub>状態は実現されず、I<sub>1</sub>からD状態への直接の転移が生じたとも考えられる。脱脂BSAの転移機構を明らかにするためには分光学的手段等の他の測定方法を加えた検討が必要であると考えられる。しかし、上述のいずれの転移機構においても脂肪酸を除去することでBSAのドメイン構造のどれかが不安定化することが明らかになった。

#### 4. 謝 辞

本研究を行なうにあたり、多数の御助言および御協力をいただきました岡山理科大学工学部 竹田邦雄教授に厚く御礼申し上げます。

また、GCスペクトルの測定および解析を行って下さいました岡山理科大学理学部 直島好仲教授に深く感謝致します。

#### 文 献

- 1) V.M.Rosenoer, M.Oratz and M.A.Rothschild (Eds.). *Albumin Structure, Function and Uses*, Pergamon Press(1977).
- 2) 青木幸一郎, 高木俊夫, 寺田弘編, “血清アルブミン” 講談社, (1984), p.131.
- 3) J.R.Brown, *Fed.Proc.* **34**,591(1975).
- 4) R.G.Reed, F.W.Putnam and T.Peters,Jr., *Biochem. J.* **191**, 867(1980).
- 5) 青木幸一郎, 高木俊夫, 寺田弘編, “血清アルブミン” 講談社, (1984), p.1.

- 6) R.F.Chen, *J.Biol.Chem.* **242**,173(1967).
- 7) R.G.Reed, R.C.Feldhoff, O.L.Clute and T.Peters,Jr. *Biochemistry* **14**,4578(1975).
- 8) C.B.Berde, B.S.Hudson, R.D.Simoni and L.A.Sklar, *J. Biol. Chem.* **254**,391(1979).
- 9) E.Freire and R.L.Biltonen, *Biopolymers* **17**,463(1978).
- 10) V.V.Filimonov, S.A.Potekhin, S.V.Matveev and P.L. Privalov, *Mol.Biol.* **16**,551(1982).
- 11) S.Kidokoro and A.Wada, *Biopolymers* **26**,231(1987).
- 12) S.Kidokoro, H.Uedaira and A.Wada, *Biopolymers* **27**,271 (1988).
- 13) 上平初穂, 城所俊一, 和田昭允, 生物物理 **27**,60 (1987).
- 14) 城所俊一, 熱測定 **14**,143(1987).
- 15) 城所俊一, 和田昭允, 蛋白質核酸酵素 **33**,348(1988).
- 16) D.Ya.Leibman, Ye.I.Tiktopulo and P.L.Plivalov, *Biofizika* **20**,No.3,376(1975).
- 17) E.I.Tiktonulo, P.L.Privalov, C.N.Borisenko and G.V. Troicbku, *Molek.Biol.(Russian)* **19**(4),1072(1985)
- 18) M.Yamasaki, H.Yano and K.Aoki, *Int.J.Biol.Macromol.* **12**, 263(1990).
- 19) M.Sogami, J.F.Foster, *Biochemistry.* **7**,2172(1968).
- 20) K.Takeda, K.Sasa, K.Kawamoto, A.Wada and K.Aoki, *J. Colloid Interface Sci.* **124**,284(1987).
- 21) V.P.Dole, *J.Clin.Invest.* **35**,150(1956).
- 22) H.A.Sober and R.A.Harte, (Eds.), "Handbook of Biochemistry (Selected Date for Molecular Biology)," 2nd ed.,p.C-71.CRC Press, Cleveland, OH,1973.
- 23) T.Nagasawa and Y.Oyanagi, (K.Matsusita,Ed.), "Recent Developments in Statistical Interence and Data Analysis",North-Holland(Amsterdam),(1980),p.221.
- 24) 高橋克忠, 蛋白質核酸酵素 **33**,337(1988).
- 25) 上平初穂, 熱測定 **15**,130(1988).
- 26) P.L.Privalov and S.J.Gill, *Adv.Protein Chem.* **39**,191(1988).

## 要 旨

脂肪酸含有およびこれの除去操作を行なった脱脂牛血清アルブミン(BSA)のpH7.00での熱変性(N-D転移)を示差走査マイクロ熱量計を用いて検討した。脱脂BSAのNからD状態への熱構造転移に伴われるエンタルピー変化量( $\Delta H_{ca}$ )は有脂BSAに比べて約30%程度、減少した。2種BSAのこの熱測定データを城所ら(Biopolymers 26, 231 (1987))によって開発されたdouble deconvolution法に従って解析した。この解析によって、脱脂BSAは3状態転移に、また有脂BSAはこのタンパク質の3-ドメイン構造モデルに対応する4状態転移に従うことが明らかになった。

## 新刊紹介

### 「新版 熱分析」

神戸博太郎, 小沢丈夫編

(講談社サイエンティフィク)

定価 5,900円

本書は、15年前に出版された同名の書の改定版である。この間の熱分析の進歩は目ざましく、コンピュータ利用技術の貢献もあって、実に広範囲な分野に応用されるに至っている。本書は、最近の進歩を踏まえ、基礎から応用までのスタンダードな教科書としての体裁を整えている。

編者の言によれば、本書の意図の一つに啓蒙と教育があげられている。確かに、熱分析の原理、特徴、限界をわきまえた上で、研究に応用できれば、まさに「百戦危うからず」である。前半部は、主要な熱分析について、測定法と解析技法について過不足無く記述され、後半部は各分野の専門家による実際の応用例が、サンプリングからデータ解釈まで詳述されている。取り上げられている材料は、無機物、金属、プラスチック、ゴム、医薬品、食品など幅広い。材料のボーダーレス時代を迎えて、広い分野の研究者、技術者に一読をおすすめしたい。

(東京工業大学 橋本寿正)