

## レポート

## 第28回熱測定ワークショップ報告

1998年5月9日(土)、第28回熱測定ワークショップ「Recent topics of titration calorimetry」が近畿大学11月ホール小ホールで開催された。本ワークショップは、5月7日(木)、8日(金)の2日間にわたって開催された第37回熱測定講習会—滴定カロリメトリーの基礎と応用—に引き続いて行われた。講習会では、滴定型熱量測定の実用例を論文で読み何ができるのかを知りたい方、これから導入する方、購入したが他の利用法を知りたい方などを対象に基礎を中心に実用例について講習が行われたので、ワークショップでは、少しアドバンスな形で滴定型熱量測定の最新のトピックスについて滴定型熱量計自身から色々の観点での応用について以下の話題を提供頂いた。

「Some Sources of Systematic Errors in Titration Microcalorimetry. Use of Chemical Calibration and Test Processes」(I. Wadsö, Lund大学), 「Structure-Based Molecular Design Based Upon Thermodynamic Principles」(E. Freire, Johns Hopkins大学), 「Evaluation of Enzyme Activity: Forward and Backward Reaction Catalyzed by a Protease Thermolysin」(城所俊一, 相模中研), 「Application of Isothermal Titration Calorimetry to Antigen-Antibody Interaction」(鳥越秀峰, 理研), 「Titration Calorimetry of Tryptophan Synthase Complex」(油谷克英, 阪大), 「Calorimetric Study of Specific and Non-specific DNA Binding by c-Myb DNA-binding domain」(織田昌幸, 協和醗酵), 「Nonaqueous Coordination Chemistry Studied by Titration Calorimetry」(石黒慎一, 九大), 「Titration Calorimetry of Cycloamylose-iodine Complex Formation」(北村進一, 京都府大), 「Stabilization Enthalpy of Vesicles Composed of Negatively Charged-Phospholipid Studied by ITC」(児玉美智子, 岡山理大), 「Titration Calorimetry of Nonionic Surfactant Solutions」(荒殿誠, 九州大), 「Titration Calorimetry of Binary Solutions」(木村隆良, 近畿大)(敬称略)。

今回は海外からの招待者と共通に討論できるように公用語を英語とした。参加人数はゴールデンウィークの最後の土曜日であったにもかかわらず47名で前日の第37回熱測定講習会(滴定カロリメトリーの基礎と応用)に出席された方も多くの方が参加された。大きなスクリーンと劇場風

のゆったりとした会場で討論を頂いた。

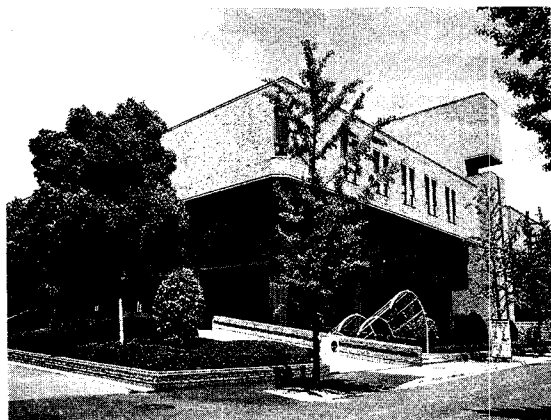
最初にオルガナイザーの木村が歓迎挨拶とこのワークショップの企画の過程を紹介した。提供頂いた話題を要約すると: 滴定型熱量測定から得られたデータは高精度であるが、高い確度を得るためには装置の設計、使用上何が問題になるのかまた通常行われるジュール熱による検定のみでは十分でなく標準系での検定が必要であることを実例を挙げながら示された。滴定型熱量計の最も多い利用が期待される定組成化合物を生成する平衡系の解析においてもその結合のモル比、平衡定数、生成エンタルピー、生成エントロピーなどを決定するために高い精度をどのように実現するかについて紹介した。(Wadsö)

分子構造からbindingの環境を設計する戦略上でタンパク質のフォールディングおよびbindingエネルギーを熱力学パラメータから決める構造パラメータに基づくGibbsポテンシャル関数を開発している。分子のコンフォメーションをきめるエネルギーの極小値や溶媒和エントロピーなども検討できる。この分子設計のアルゴリズムはbinding siteの発見、新規主要リガンドの設計と最適化の過程を含んでおり、HIVプロテアーゼのインヒビターについて適応した例を紹介した。(Freire)

Thermolysinによるジペプチドの加水分解を滴定型熱量計で測定し、Michaelis-Menten式で解析、酵素活性のパラメータを算出された。熱量測定は反応前後の積分量のみ注目されたが、最近安定性、投薬効果などの熱量計による測定にも見られるように実測の熱出力の時間変化を速度論的に取り扱うことができ、分光法などとは異なりプローブの要らない有効な方法であることを、対象系に適應する時の注意点を含めて詳細に紹介した。(城所)

マウスの抗ダンシルモノクロナール抗体のFv, Fab\*, Fabと抗原分子のダンシルリジンとの結合反応系について温度をかえて測定され、決定したK, ΔG, ΔH, ΔS, ΔC<sub>p</sub>などの熱力学量から抗原-抗体の結合能と結合様式についてドメインとの関係を、conformation, van der Waals力, 水素結合, 疎水相互作用の寄与に分離して紹介した。(鳥越)

トリプトファン合成酵素はサブユニットa, bよりなるa<sub>2</sub>b<sub>2</sub>複合体でサブユニットが複合体を形成することにより反応の活性を増幅し機能を発現する。この機構を大腸菌ト



リプトファン合成酵素の野生型および11種の変異型を用いて測定し、それぞれのサブユニットと複合体形成状態での熱力学パラメータを決定することにより複合体形成によるコンフォメーション変化が大きな役割をしていることを紹介した。(油谷)

c-Myb DNA-binding domain (R2R3) と同起源のDNA についてDNA 認識機構を明らかにするため、binding の熱力学量を塩濃度や温度、種々変異体をもちいて測定し、熱容量変化が塩濃度の影響を大きく受け、DNA 水和の効果、疎水性相互作用や内部振動の効果やR2R3のDNA 認識にメカニズムについて詳細を検討した。さらに、R2とR3の接続領域にあるPro140の役割を明らかにし、フォールディングのメカニズムとの類似性を紹介した。(織田)

他の方法では難しい非水溶媒中での金属イオンとリガンドとの錯形成反応について伝導型と等温壁型の特徴を生かした独自の滴定型熱量計を開発され、DMSO、DMF、DMA、アセトニトリル、ピリジンなどの非プロトン性溶媒について金属錯体形成の熱力学量を決定し、その溶媒効果などを明らかにされた。遷移金属のハロゲン錯体では金属の八面体から四面体への配位構造変化が重要な役割をすること、形成する錯体種のそれぞれの挙動を見事に分離、反応スキームを解明できること、更に複雑な3元錯体などの解析にも応用した例などを紹介した。(石黒)

グルコース残基が21, 23, 25, 26, 27, 29, 30, 31個からなるシクロアミロースの水溶液中でのヨード錯体形成の熱力学量を滴定型熱量計で測定し、シクロアミロースの鎖長にかかわらず2個のヨードが入ること、その結合には協同性が見られることを示し、それらの錯形成メカニズムをシクロアミロース構造のシミュレーションと合わせて紹介した。(北村)

リン脂質からできるベシクルがその存在環境のイオン種により、その構造や性質を大きく変え、Dimyristoylphos-

phatridylglycerol (DMPG) はNa<sup>+</sup>イオンの存在で1ヶ月成長期をもって筒状構造に成長する。しかしCa<sup>2+</sup>イオンの存在下では迅速に成長し、Ca<sup>2+</sup>イオン濃度の増加とともにゲル-液晶転移温度が高温側に移動し、転移ピークの形状はシャープになるが小さくなる。このDMPGとCa<sup>2+</sup>イオンのbindingの熱力学量を滴定型熱量計で決定し、DMPGのconformation変化が液晶相に対するよりもゲル相に対するほうが大きいことを明らかにし、Ca<sup>2+</sup>とbindingしたベシクルとしていないベシクルの違いを定量的に評価した結果を紹介した。(児玉)

ポリエチレングリコールモノオクチルエーテル [C<sub>8</sub>H<sub>17</sub>·(OC<sub>2</sub>H<sub>4</sub>)<sub>j</sub>OH, C<sub>8</sub>E<sub>j</sub>, j=3~5] + 水系の精密で詳細なエンタルピー測定より、熱力学式を用いてミセル形成の熱力学量を明らかにし、ミセル中の平均分子数とその温度変化の解析から非イオン性界面活性剤が形成するミセルの特徴を紹介した。(荒殿)

滴定カロリメトリーは部分モルエンタルピーを直接測定する方法であるので、熱量計に若干の改良を加えて、分子を構成している官能基がまったくおなじであるキラル分子同志のごくわずかな混合熱を系統的に測定し、ヘテロキラルな相互作用は分子充填による効果以外に官能基相互作用の違いによる効果があることを紹介した。(木村)

最後にオルガナイザーの児玉がご協力のお礼を述べ、続いてWadsö教授とFreire教授に総評をお願いした。Wadsö教授からは「単位をSIに統一すべきである。実験値には誤差を書くべきである。」というコメントをいただいたが、両教授から滴定型熱量計を使って今まで考えていなかった色々のこと勉強できた非常に面白いワークショップであったとの感想を頂いた。本ワークショップは滴定型熱量計を使ってできる応用の可能性を探る方向で極めて単純な2成分系から界面活性剤、ベシクル、金属錯体、シクロアミロース、酵素、DNAなどの生体物質などの非常に複雑な系まで、その利用の可能性について、問題提起と測定法から解析法まで、日頃同じ装置を使いながら討論の場が違いほとんど出会うことのない研究内容を方法論という立場で一同に会して紹介頂き、幅広い情報交換ができた場であった。

懇親会は同ホール地下のレストランで行われ、児玉先生から提供頂いた逸品のワインとワークショップの話題を肴に活発な議論、色々の情報交換と懇親の宴が続いた。

今回は第37講習会に引き続いての第28回ワークショップで最長4日もの長きにわたり貴重なお時間を頂き講義と話題提供を快くお引き受け頂いた講師の先生方、ご支援を頂いた熱測定学会、熱測定振興会および多大なるご援助を頂いた岡山理科大学、近畿大学にオーガナイザー一同紙面をお借りしてお礼申し上げます。

(オーガナイザー：木村隆良、深田はるみ、児玉美智子)