磁気的方法による生体物質の研究

中 野 儀 人*
大 塚 仁 也*
田 崎 明*

は じ め に

磁気的方法を手段としている研究では、いわゆる静¹⁾磁気測定と常磁性共鳴 (EPR) や核磁気共鳴 (NMR) などの動的な磁気測定が代表的なものであり、これに最近では、Mössbauer 効果⁴⁾や超伝導を使用した高磁場測定などが加わってきた。静的並びに動的磁気測定のいずれにせよ、これらの方法は、各研究グループや個人によって得意、不得意もあるが、一部の教科書に書かれているように、EPR をやれば、静的な測定をしないで済むというものではなく、互いに相補的な役割を持っている。EPR や NMR の測定技術は、光学における吸収スペクトルの測定のように、装置が企業ベースに乗って一般化され、それ程に特別な教育を受けなくても利用できるようになり、多くの研究者に用いられるようになったことは喜ばしいことであるが、測定の内容は、研究を行なう人の目的意識によって様々である。たとえば、EPR をとってみると、生物の研究者の中には、ある試料の対電子の定性的な検出のみで満足している場合が多い。静的な測定においても同様に、たとえば磁化率については、その温度変化が Curie の法則に従うものとして、イオンの価数や対電子の数を決めるにとどまることが多い。本稿において、我々が紹介しようと思うヘム蛋白の磁気測定については、元々、我々のグループが、小谷らによる金属錯化合物の分子論の研究の延長として、出発した由来もあって、測定の方法が、活性中心にある鉄イオンの電子状態エネルギー準位を詳細に決定することにあるので、以前に行なわれていた磁気測定とは、いろいろな点で異なった内容のものである。そのような訳で、測定に要求される精度や条件は理論の立場から与えられ、これらの諸条件は、実験の立場から見ると全く苛酷な場合もある。もちろん、理論と実験の両輪あいま

っての研究は、最も望ましいことはまちがいない。現在まで、理論と実験の諸条件が、相い容れないところは、互いに検討し、譲り合って進んできた。

さて、生物々々中で、磁気的方法が適用できるものは、その物質の中に磁気モーメントが存在することが、不可欠な条件であることは言うまでもない。したがって、静磁気測定や EPR は、遷移金属イオンを含むものや、反応の過程でラジカルができるものに制限される。一方、NMR は、H を始め、 $B^{11}C^{13}N^{14}N^{15}O^{17}F^{19}P^{31}$ など、核磁気モーメントを持つものが多いので、適用範囲は広いと言える。NMR については、他に多くの解説⁵⁾もあるので、本稿では、省略するが、hemoglobin の鉄イオンの電子状態が、ほぼ決定された現在、我々のグループでも O^{17} -NMR によって、oxy-hemoglobin 内の鉄と酸素の結合の問題を研究する計画を進めていることを付け加えておく。ヘム蛋白は、よく知られているように、生物活性の中心に鉄イオン⁶⁾が存在し、その三次構造まで決定されていることで、生体物質としては、すでに陳腐な部類に入るかもしれないが、「生物活性を現在の物理学の言葉で書き直す」ことを目的とする者にとって、最も適した生物物質であると言える。我々の立場は、いわゆる生物学的でないという諷刺を受けることもあるが、生物活性も「物理的法則」にしたがっていることに間違いないであろうから、物理学に足を踏まえて、生物を眺める努力も重要であると信ずる。

I. 磁気的情報とエネルギー準位の決定

§ 1. ヘム蛋白に磁気測定を適用する意味

hemoglobin の研究は、常に、hemoglobin が酸素分子といかなる機構によって結合するのかを知る目的で行なわれてきたが、その研究のために、磁気測定がいかなる役割を果たしたかまず述べよう。図 1 に、自由な酸素分子と、hemoglobin の 2 価の鉄イオンのエネルギー準位を示した。この鉄イオンのエネルギー準位は、後述する我々の実験や理論を通して決められたも

Some Magnetic Studies on Biological Materials:

* Norihito NAKANO, Jinya OTUKA, and Akira TASAKI
大阪大学基礎工学部物性教室 (Department of Material Science, Osaka Univ.)

Combination of Binding State (S=0)

図1. 酸素分子 (右) と *deoxy-hemoglobin* (左) のエネルギー構造. 点線は, *oxy-hemoglobin* の反磁性 (S=0) を作る可能な結合の組合せ.

のであるが, 結論を先に利用して話を進めることにした. 酸素分子は, S=1 の常磁性分子であるが, 8,000 cm^{-1} および 13,000 cm^{-1} だけ高い位置に S=0 の励起エネルギー状態が存在する. 一般的な分子から考えると, この励起エネルギーは, かなり小さな値である. 一方, *deoxy-hemoglobin* の鉄イオンでは, 外殻電子は (3d)⁶ であるが, 遷移金属の特長として, 細く分れたエネルギー準位が多数現われる. すなわち, 基底状態は S=2, (⁵B₂, ⁵E) であるが, 直ぐ上に S=0 並びに S=1 の状態が存在する. さて, 興味あることは, この *hemoglobin* に酸素が結合することによって, 鉄イオンの価数に変化しないにもかかわらず, 酸素並びに鉄イオンともに, その常磁性を消失して *oxy-hemoglobin* は S=0 の反磁性の状態となる. このことから, 酸素と結合する *deoxy-hemoglobin* 中の鉄イオンのエネルギー状態は, S=0 または S=1 の状態であると予想される. 図1に, S=0 の結合状態を作る可能な組合せを点線で示した. 現在進行中の理論計算によれば, $^3\Sigma(\text{O}_2)$ と $^3E(\text{Fe}^{2+})$ との組合せ, つまり S=1 の準位同志が結合に関与しているように思われる. S=0 同志, つまり $^1\Delta_g(\text{O}_2)$ と $^1A_1(\text{Fe}^{2+})$ の組合せも否定された訳ではない. 重要なことは, 結合に寄与している鉄イオンのエネルギー状態が, 基底状態 (S=2) ではなく, 励起状態 (S=1 または S=0) になっていることである. これらの励起状態のエネルギー準位は, *hemoglobin* と酸素が, うまく結合するように, 鉄イオンを囲むポルフィリンおよびペプチド鎖の環境によって, 調節されていると考えるべきである. *hemoglobin* の酸素吸着における positive feedback⁹⁾ の作用の原因は, このような結合に関与する鉄イオンのエネルギー状態が, 励起状態に相当しているということに由来するのではないかと考えられる. さて, 本稿では, このような意味を持つ鉄イオン, すなわち活性中心の

エネルギー準位の詳細を決定するために, 従来, 我々が行ってきた磁気測定について解説する.

§2. 鉄イオンの電子状態と磁気測定

実験的にエネルギー準位を決めて行くには, それぞれのエネルギー間隔に応じて最適な方法がある. エネルギー間隔には, 約 10,000 cm^{-1} から 0.1 cm^{-1} まであり, 千差万別であるために, 1つの方法で全域を被うことはできない. 実例として *met-hemoglobin* と *deoxy-hemoglobin* のエネルギー準位の大略を図2, 図3に示し, 話を進めよう. 左端から, 自由イオンのエネルギー準位, ヘム蛋白質中のエネルギー準位. 基底状態の微細構造, ゼーマンエネルギーの部分を示した. S=1/2 が基底状態になっている酸化型ヘム蛋白質 (酸化型 low spin) の誘導体を除いては, ヘム蛋白質の鉄イオンが受ける場 (配位子場) は, ほぼ正方対称 (C_{4v}) と考えてよいので, 群論の表示で群 C_{4v} の既約表現の名称を使って状態を示した. 下端には, エネルギー準位を実験的に決定する測定方法の主な領域を示した. 一般の錯塩と同じように, 原理的には可視部付近の光吸収スペクトルによって, $d \rightarrow d$ 遷移を捉えることは可能であるが, ポルフィリンの π 電子の吸収が強いために, スピン禁制遷移を観測することは実際上不可能である. したがって, 酸化型については, 上述の波長領域の光吸収スペクトル測定は, 実際行なわれていない. しかし, 還元型については, スピン許容遷移があり, かなり強い吸収線が得られる. 実際 Eaton¹⁰⁾ らは, 還元型 $C_{yt c}$ について, $^1A_1 \rightarrow ^1A_2$ の遷移を 5,600 Å の波長付近で観測している.

磁化率の測定においては, 物質の磁気モーメントの大きさを知ることができる. 室温付近での常磁性磁化率の値から, 基底状態の全スピン S の値を知り, これから基底状態の電子配置を知ることができる. Pauling¹¹⁾ らの初期の磁化率の測定は, このような目的で行なわれた. しかし, もし分子が, いくつかの定常状態に分布し, 分子の平均の磁気モーメントの大きさが, 各定常状態の磁気モーメントの熱的統計平均で与えられる場合, 磁化率の温度変化の測定によって, 各定常状態のエネルギー間隔を求めることができる.¹⁴⁾ *met-hemoglobin* について考えてみよう (図2). 基底状態 6A_1 の6重のスピン状態は, 3つのエネルギー準位に分離しており, この間隔はそれぞれ 60 cm^{-1} , 20 cm^{-1} 位である. このエネルギーを温度に換算すると, それぞれ 40°K, 14°K 位である. Boltzmann 統計にしたがひ, 試料がこの温度を通過するとき, 分子の各エネルギー

図 2. *met-hemoglobin* (Fe^{3+}) のエネルギー構造 図 3. *deoxy-hemoglobin* (Fe^{2+}) のエネルギー構造

準位への分布の仕方が変更が起こり、それは分子の平均の磁気モーメントの大きさに変化を起こさせる。したがって、液体窒素温度 (77°K) から、液体ヘリウ

ム温度 (4.2°K) の温度領域で連続的に磁化率の値を知ることができれば、これらの分離エネルギーを決定することができる。¹⁶⁾還元型 (図 3) の基底状態 $5B_2$ の

スピン状態の分離についても同様のことが言える。¹⁷⁾このようなエネルギー構造を微細構造と呼んでいる。我々は、このようなエネルギー分離を、磁化率測定から決定した。また、酸化型(図2)において、励起状態 $S=1/2$ が基底状態 $S=5/2$ より、自由エネルギー差で表わして、¹⁸⁾ $200\sim 300\text{ cm}^{-1}$ だけ高いエネルギー準位にある。それゆえに、前と同様にこのエネルギー間隔に等しい温度付近で、磁気モーメントの変化が見られるはずである。飯塚らは、液体窒素温度から室温に至る磁化率の温度変化から、このエネルギー間隔を決定した。¹⁹⁾ 図2には、自由エネルギー差のうち、エンタルピー分を示してある。

§ 3. 常磁性共鳴(EPR)と Mössbauer 効果の役割

EPR は、 $2\sim 30\text{ mm}$ の波長の電磁波を使って、電子スピンの共鳴を起こさせ、その吸収スペクトルを観測する。その意味で、光吸収スペクトルの測定と似ている。しかし、このようなミリ波帯では、まだ技術的な問題が多く、濃度のうすい生体物質の測定に、現在、利用できるのは、 $30, 12, 8, 6\text{ mm}$ 程度であり、共鳴させるべきスピン状態間のエネルギー差(ゼーマン・エネルギー差)が、丁度これらの限定されたミリ波のエネルギーに等しくなるように、試料に静磁場をかけて調節する。普通、共鳴点は $h\nu = g\beta H$ で表わし、吸収線の位置を g 値で表現することになっている。 h -プランク定数、 β -ボーア磁子、 ν -ミリ波の周波数、 H -試料にかける静磁場である。ところで、光吸収スペクトルと違い、EPR では、不対電子の存在することが不可欠であるが、さらに重要な2つの制限がある。(1) ゼーマン・エネルギー間の遷移は $\Delta S_z = \pm 1$ の場合だけ、強い EPR 吸収線として観測される(撰択則)。(2) 外殻電子数が奇数個のとき、ゼロ磁場で、エネルギー準位は少なくとも2重に縮退し(Kramers の縮退)、この縮退が磁場によって解ける。この場合、EPR 吸収線は必ず観測され得るが、偶数個のときは、ゼロ磁場でもエネルギーの縮退がないことが多く、この分離巾がかなり大きいときは、EPR の観測は困難になる。この2つの制限は、測定上不利な点であるが、一方、吸収線の解析に役立つものである。*met-hemoglobin* を例にとって考えてみよう。酸化型鉄の最外殻電子数は5個であるから、EPR の観測は可能である。²⁰⁾ 磁場をかけることによって、エネルギー微細構造の各二重項 $S_z = \pm 5/2, \pm 3/2, \pm 1/2$ の縮退(Kramers の縮退)が解けて、 $\Delta S_z = \pm 1$ の遷移、すなわち $S_z = \pm 1/2$ のゼーマン分裂による EPR だけが観測される。普通使わ

れる電磁石による最高磁場 $\sim 10^4\text{ Oe}$ で、ゼーマン分裂は $\sim 1\text{ cm}^{-1}$ であり、 $2\sim 30\text{ mm}$ のミリ波を使用して、EPR 吸収線を観測するのに適している。しかし、 $S_z = -3/2 \rightarrow S_z = -1/2$ のような二重項間の遷移は、 20 cm^{-1} 程度の遷移エネルギーを必要とするので、²¹⁾ 現在のミリ波($0.3\sim 5\text{ cm}^{-1}$)では観測することができない。Ingram らは、最低の二重項 $S_z = \pm 1/2$ のゼーマン分裂による EPR を観測し、¹⁰⁾ $g=2$ と $g=6$ を得た。磁場が、ヘム面に垂直にかけられたとき $g=2$ であり、平行にかけられたとき $g=6$ である。一方、*deoxy-hemoglobin* (図3)では、最外殻電子数は6個であり、Kramers の縮退は存在しない。また、 $\Delta S_z = \pm 1$ の制限によって、 $S_z = \pm 1$ や $S_z = \pm 2$ のゼーマン分裂による EPR 吸収線は見られない。残されている遷移は、 $S_z = 0 \rightarrow S_z = \pm 1$ や $S_z = \pm 1 \rightarrow S_z = \pm 2$ の遷移であるが、これは、かなり大きな遷移エネルギーを必要とし、これを与えるだけのミリ波が、現在まだ存在しないので非常に困難である。実際、*deoxy-hemoglobin* の EPR は、まだ観測されていない。

ヘム蛋白質について行なわれている磁気測定として、この他に Mössbauer 効果が挙げられる。これは、試料の中にある鉄の同位元素 Fe^{57} に、 γ 線を照射し、その吸収線を観測する。EPR では、電磁波が電子スピンによって吸収され、そのスペクトルを観測するのに対し、Mössbauer 効果では、 γ 線が鉄の原子核によって吸収され、その吸収スペクトルを観測するので、この吸収線から得られる鉄イオンの電子状態の情報は、間接的なものであり、それゆえに解析がより複雑になる。 γ 線は、 Co^{57} が原子核崩壊するとき放出する放射線を使用するので、その波長は一定である。それゆえに、線源を試料に対して動かして、ドップラー効果によって、いろいろな波長の γ 線を作る。得られた吸収スペクトルは、次の3つの情報に基づき、鉄の電子状態の解析に供される。

(i) 化学シフト これは、吸収線の位置のづれを表わす量である。化学シフトは、Mössbauer 効果に限らず、一般の NMR に常に現われてくる量であり、また、その内容も NMR で論じられているものと同様である。これは、核磁気モーメントと核外電子の全 S 電子密度との相互作用であり、化学シフトの大きさは、この実効 S 電子密度に比例する。したがって、これは鉄イオンの価数を推定するのに役立つ。ヘム蛋白質の中には、*peroxidase* のように、鉄イオンの価数が4⁴⁾ 価や5価になると推定されているものもある。このよ

うなものに应用することによって、正確な価数を知ることができる。

(ii) 四重極分裂 核の位置に核外電子が作る静電的ポテンシャルが、球対称でないとき、吸収線が分裂する。静電ポテンシャルの歪みのうちで、双極子ポテンシャルは、吸収スペクトルに影響を与えず、四重極ポテンシャルより高い次数の歪みしか影響を与えない。さて、*met-hemoglobin* (図2) の $S=5/2$ の状態では、5個の d 電子は5本の d 電子単位に各1個ずつ平行スピで収容され、静電ポテンシャルは、ほぼ球対称になるので四重極分極は小さい。 $S=1/2$ が基底状態である low spin type の誘導体では、5個の d 電子は、5本の d 電子単位のうち3本の単位に収容されるので、静電ポテンシャルは球対称からずれ、四重極分裂は大きくなる。このように、四重極分裂は、核外電子の電子構造を推定する重要な情報源である。

(iii) 核スピと磁場との相互作用 核スピは、それが受ける磁場によって、吸収スペクトル線の分裂を起こす。そのような磁場には、大別して2種類あり、第1は外部から加えた磁場で、いわゆるゼーマン分裂を引き起こすものと、第2は内部磁場と称するものである。鉄イオンの d 電子は磁気モーメントを持つことが多く、この磁気モーメントが核の位置に磁場を作る。もし、外部磁場をかけて、この d 電子の磁気モーメントを配向させてやれば、それによって核の位置に大きな内部磁場ができるから、これによって磁気モーメントの大きさを知ることができる。*met-hemoglobin* (図2) は、液体ヘリウム温度のような低温では、 $S_z=\pm 1/2$ の状態だけが実現していて、これによって内部磁場が作られているが、外部磁場を加え、ゼーマン分裂により $S_z=\pm 3/2$ などとも実現させるようにすることができる。その結果、磁場の強さを大きくするに伴ない、内部磁場の大きさが変わってくる。この変わり方は、 $S_z=\pm 3/2$ と $S_z=\pm 1/2$ のエネルギー差に依存する。すなわち、吸収スペクトルの磁場依存性から、 d 電子微細構造の決定を行なうことができる。Lang らは、こうして *met-hemoglobin* のエネルギー単位の決定を行なった⁴⁾。

Mössbauer 効果は、このように種々の情報を与えるが、天然に存在する Fe^{57} の含有量は非常に少ない (2.17%) ので、特に強い γ 線源がない限り、ヘム鉄を Fe^{57} に入れ換えて含有量を上げてやらねばならない。かかる短所もあるが、磁化率や EPR と異なり、不對電子の存在を必要としないので、これらの応用の

利かない $S=0$ の *oxy-hemoglobin* の電子状態の研究には有用であろう。

II. 静磁気測定技術と解析

ここでは具体的に、静磁気測定によって、いかにしてエネルギー単位を決定し得るのかを述べよう。このような静磁気測定は、我々のグループが確立したものであって、その基礎となったものは、日本における物性物理分野での磁気研究の技術であった。微細な単結晶の磁化率を測定し得る高感度の磁気天秤や、数ミリ立方の生体物質の磁気異方性を測定するトルク計などは、一般に物性物理で取り扱う物質より2桁高い精度を持たなければならない。というのは、生体物質では、金属イオン濃度が物性物理で扱う無機物より2桁程度低いからである。測定結果は、電子計算機を用いて理論的解析が行なわれ、生体物質のエネルギー状態が明らかにされてきた。

§ 4. 磁化、磁化率の量子力学的な意味

磁化率は、物質を磁場中に置いた際に生じる磁気モーメントが、磁場の強度に比例する場合の比例係数のことであり、物質の物理定数である。しかし、ミクロな意味で分子の磁化率を定義したり、単結晶を考える際には、磁場ベクトル ($\vec{H}$) と生じる磁化ベクトル ($\vec{M}$) との間を結ぶテンソル ($\vec{\chi}$) で表現され、 $\vec{M}=\vec{\chi}\vec{H}$ と表わされる。しかし、さらに我々のグループで行なっているような極低温 (1.5°K) や、超伝導マグネットを用いた強磁場 (60KOE) の下では、磁場の強度と磁気モーメントは、単なる比例関係にあるのではなく、「常磁性飽和」と呼ばれる現象が現われる。その場合、本来の磁化率の物理定数としての定義を拡張して、磁化率を温度のみならず、磁場の関数として取り扱っている。物質の磁化率を、その発生原因から眺めると、よく知られているように、(1)不對電子の磁気モーメントが熱統計にしたがって分布することで生じる ²²⁾Langevin 型の常磁性、(2)電子の軌道運動に伴って生じる反磁性²²⁾、(3)Van Vleck の常磁性¹⁴⁾と呼ばれる温度変化を示さないものなどがある。普通、固体物理で扱う物質では、反磁性より常磁性の方が、絶対値で2桁ばかり大きく、この反磁性を無視して実験結果を検討することができるが、生体物質では前に述べたように金属イオン濃度が2桁少ないので、常磁性項と反磁性項は同じ程度の大きさになり、どうしても実験的な分離を考えなくてはならない。幸い、温度変化する ²²⁾Langevin 型の常磁性項は、高い温度領域では絶対温

度 T に逆比例 (Curie の法則) し, $T \rightarrow \infty$ の極限ではゼロになる. 一方, 反磁性項および, Van Vleck の常磁性は温度に依存しないから, 我々は, 測定して得た磁比率 χ を絶対温度 T の逆数でプロットすることによって, 温度に依存する常磁性項のみをデーターから分離して解析を行なった. この温度に依存する常磁性項が, § 2 で述べたように, エネルギー単位の決定に用いられるものである.

一般に, 分子が幾つかの定常状態を実現しているとき, 各定常状態の熱的統計平均から, いろいろな物理量が見積られる. 磁化率を導くためには, 各定常状態の磁化ベクトルの熱的統計平均から, 平均磁化ベクトルを求めなければならない. 簡単のために, 分子の磁化率テンソルの主軸がわかっており, その方向を x, y, z としよう. この座標軸に対して, 一般に磁場が (H_x, H_y, H_z) のようかけられたとする. 各定常状態のエネルギー λ_i ($i=1, 2, \dots$) が与える磁気モーメントの x, y, z 方向成分は $m_{ix} = -\partial\lambda_i/\partial H_x$, $m_{iy} = -\partial\lambda_i/\partial H_y$, $m_{iz} = -\partial\lambda_i/\partial H_z$ で表わされるから, 分子当りの磁化ベクトルの x 成分は

$$M_x = -\frac{\sum_i \frac{\partial\lambda_i}{\partial H_x} \exp\left(-\frac{\lambda_i}{kT}\right)}{\sum_i \exp\left(-\frac{\lambda_i}{kT}\right)} \quad (1)$$

となり, y, z 成分もそれぞれ同型である. こうして, 磁化率テンソルの主値は

$$\chi_x = \frac{M_x}{H_x}, \quad \chi_y = \frac{M_y}{H_y}, \quad \chi_z = \frac{M_z}{H_z} \quad (2)$$

で求められる. 試料が水溶液のように, 分子の配向が全くないとき, 観測される磁化率は, 各主値の算術平均

$$\langle\chi\rangle = \frac{1}{3}(\chi_x + \chi_y + \chi_z) \quad (3)$$

になる. 温度が高い極限では, $\exp$ が展開できて, 磁化率は温度の逆数に比例するという Curie の法則が得られる. しかし, 温度が低くなるに伴い, 磁化率は Curie の法則からずれてくる. このずれの様子は, エネルギー単位 λ_i に関する情報になる. その実例として, 還元型の場合の微細構造について論じよう. § 2 で, deoxy-hemoglobin は $S_z = \pm 2, \pm 1, 0$ の3つのエネルギー単位に分裂していることを述べた. このようなエネルギー単位の分裂は, ある定数 D を使って $E = DS_z^2$ と表わされることが容易にわかる. さらに磁場が加わったとき, ゼーマンエネルギーも加わって, エネルギーは Hamiltonian

$$\begin{aligned} \mathcal{H} &= DS_z^2 + 2\beta\vec{S} \cdot \vec{H} \\ &= DS_z^2 + 2\beta(S_x H_x + S_y H_y + S_z H_z) \end{aligned} \quad (4)$$

の固有値として求められる. これを Spin Hamiltonian と称し, S_z の固有関数 $|2\rangle, |-2\rangle, |1\rangle, |-1\rangle, |0\rangle$ を基底関数として方程式が作られる. さて, 磁場が余り大きくないならば, ($H \leq 10$ KOe) 第2項を第1項に対する摂動として取り扱う. 一方, 第1項に対する Schrödinger 方程式の解は, とりも直さず, 図3に示されている微細構造のエネルギー単位を与える. 摂動として扱われるゼーマン項 (第2項) は, 磁場の昇べきの展開式として得られるが, 展開式は磁場の偶数次のみ現われる (磁場を逆転してもエネルギーは不変であるから). 磁場が非常に弱いならば, 磁場の2次まででよい. この場合, (1)(2)式から容易にわかるように, 磁化率は磁場に依存しない量になる. しかし, 磁場が強くなるに伴い, 高次まで求めなければならない. 4次以上の項は, 磁化率を磁場に依存させる項である. さて, こうして求められたエネルギー固有値から, (1)式にしたがって磁化ベクトル成分の計算を行なう. その場合, $\exp$ の中の磁場に依存する項を展開し, 最終的に磁化ベクトルを磁場の昇べきの展開式として表わす. その結果, 次のような磁化ベクトルが得られる.

$$\begin{aligned} M_x &= M_y = \chi_1 H_x + \phi_1 (H_x^2 + H_y^2) H_x + \psi_1 H_x^3 H_x + \dots \\ M_z &= \chi_0 H_z + \phi_0 (H_x^2 + H_y^2) H_z + \psi_0 H_z^3 + \dots \end{aligned} \quad (5)$$

$\chi_1, \phi_1, \dots$ 等の係数は, D をパラメーターとする温度の関数である. Hamiltonian (4)式は, xy について対称であるから, 磁化ベクトルも xy について対称になる. 磁化の計算を, 磁場の何次まで必要であるかは, 次の2つの要因によって規定される.

- (1) ゼーマン項が, DS_z^2 の項に比べて, どの程度小さい値になっているか.
- (2) ゼーマン項が kT に比べて, どの程度小さな値になっているか.

超伝導磁石などを使用した高磁場においては, (1)(2)の条件が満足されず, したがって摂動法を使用することはできず, また $\exp$ を展開することもできない. 幸い, 最近, 電子計算機が発達し, 余り時間をかけずに正確に計算が行なえる. さて, 求められた磁化ベクトルは, 実験の条件を考慮して使用される. 試料が水溶液状のように, 観測される磁化は, 磁化ベクトルの空間的平均に相当する場合, 1分子当りの平均磁化は

$$\langle M \rangle = \frac{\int (M_z \cos \theta + M_x \sin \theta) \cdot \sin \theta \, d\theta}{\int \sin \theta \, d\theta} \quad (6)$$

となる。したがって、測定される磁化率は

$$\chi = \frac{\langle M \rangle}{H} \quad (7)$$

この磁化率は、 D をパラメーターとして含む温度並びに磁場の関数である。 D の値は、その温度依存性および磁場依存性の形を規定する。ところで一方、試料が単結晶のように分子の配向が制限されている試料においては、観測される磁化または磁化率は、結晶の unit cell 中の分子についての磁化ベクトルまたは磁化率テンソルの和になる。unit cell 中に分子が2個以上あるとき、一定の座標軸へ各分子の磁化ベクトルまたは磁化率テンソルを直交変換し、加え合わさねばならない。

§ 5. 水溶液の磁化率の測定

この節では、分子の配向していない試料の磁化率を、いかに測定したかを示し、若干の実例を示そう。磁化率の測定法には幾つかあるが、多くの場合、試料を磁場勾配中に入れたときに働く力を力学的に測定する。常磁性や反磁性物質では、磁場中の試料の磁気エネルギーは、 $E = -1/2 \cdot \chi H^2$ で表わされ、磁場勾配によって働く力は、

$$F = -\frac{dE}{dx} = \chi H \frac{dH}{dx} \quad (8)$$

となる。 χ は磁場勾配の方向にとった座標軸である。力の測定は、天秤を用いるのが最も便利でかつ感度がよい。 $H \cdot dH/dx$ の値は、 χ の既にわかっている標準試料を用いて求めておけば、力の測定から磁化率が得られよう。

実際に測定して得る磁化率 χ は、試料全体のものであり、水や蛋白質部分などの反磁性磁化率と測定しようとしている不対電子の常磁性項の和である。

$$\chi_{\text{total}} = \chi_{\text{para}} + \chi_{\text{dia}} + \chi_{\text{van}} \quad (9)$$

χ_{dia} は、試料中のすべての反磁性磁化率であり、 χ_{van} は、Van Vleckの常磁性磁化率であるが、これらは温度変化しない項である。 χ_{para} が、測定して得ようとしている不対電子の常磁性磁化率であり、温度変化する項である。これが、不対電子の電子状態の情報を与えるもの

であるが、これを測定するために、どの程度の力を測定しなければならないか見積ってみよう。市販の電磁石では、磁場およびその勾配は、 $H \sim 10^4 \text{ Oe}$, $dH/dx \sim 10^3 \text{ Oe/cm}$, *deoxy-hemoglobin*の室温における磁化率 χ_{para} は $\sim 10^{-2} \text{ emu/mol} (= \chi_M)$, *deoxy-hemoglobin*は、かなり高濃度のものが得られて $\sim 10 \text{ mM}$, 試料容積は最高 $\sim 1 \text{ ml}$ であるから、試料の全量は $10 \mu \text{ mol} (= m)$ である。力を $F = m \chi_M \cdot H \cdot dH/dx$ から求めると、 $\sim 1 \text{ dyn}$ (約 1 mgw)になる。この力を天秤で測定するにしても、かなり高感度 (0.01 dyn) の天秤すなわちセミマイクロ天秤が必要になる。図4に、我々が現在使用している磁気天秤と試料の部分を示した。天秤の梁に小さな鏡をつけ、投光器からくる光を反射して、それを双光電管で受けて梁の傾きを検出する。その信号を電力増幅して、引き戻しコイルに負帰還して、天秤が自動的に平衡を保つようにする。力は電気的出力として、とり出せるようにしてある。試料容器は、試料が磁場勾配を受けるように、電磁石の中央より、いくらかずらしてあることに注意しよう。もし室温でのみ磁化率の測定を行ないたいならば、市販の高感度化学天秤の皿の下に穴を開けて、試料を吊す部分

図4 磁化率の温度変化の測定図 (磁気天秤と電磁石)

品を作れば、これを電磁石の上に載せて、測定することも可能である。しかし、極低温に到る温度変化を行なうためには、系全体を真空容器の中に収めなければならない。そして、熱伝導に必要な程度のわずかな交換ガス (He ガス) を入れ、保護管の外から液化ガスなどで冷却する。試料の温度は、試料容器の中に温度計を入れて測定される。温度計には、いくつか種類があるが、多く用いられるものは、熱電対 (AtCo-Pt) とカーボン抵抗²⁵⁾である。前者は、その起電力から、後者はその抵抗値から、温度を測定する。熱電対の起電力は、ほぼ温度 T に比例しているのに対し、カーボン抵抗の抵抗値は、ほぼ $1/T$ に比例しているという特徴があり、この特徴により、使用される温度領域も異なる。前に述べたように、磁化率を $1/T$ に対してプロットするのであるから、カーボン抵抗が好ましいように思えるが、 T の大きい領域では、カーボン抵抗では精度が悪いので、むしろ熱電対の方が好ましい。

図5に、*deoxy-hemoglobin* の磁化率を、室温から液体窒素の温度領域で測定した結果を、 χ と $1/T$ の関係で示した。それによれば、 χ と $1/T$ は、かなりきれいな直線関係になっていることを示している。すなわち、温度変化する常磁性項は、Curie の法則にしたがい、 $\chi_{\text{para}} = N\mu^2/3kT$ と表わせることを示している。 $1/T=0$ の外挿点から、反磁性項と温度変化しない常磁性項が得られるが、これは知識の対象ではない。分子の磁気モーメント μ は、 χ と $1/T$ の直線の勾配から得られる。磁気モーメントは、しばしばボーア磁子 β を単位として表現され、 $\mu = n\beta$ と表わし、有効ボーア磁子数 n を使用する。この *deoxy-hemoglobin* では、 $n=5.3$ となっている。有効ボーア磁子数の量子力学的意味によれば、 $n=2\sqrt{S(S+1)}$ であるから、これからスピン S の大きさを見積ると、 $S=2$ がほぼ満足し、*deoxy-hemoglobin* の全スピンは $S=2$ と言われている。厳密には、 $S=2$ から $2\sqrt{S(S+1)} \approx 4.9$ が得られ、実験値の方が少し大きくなっているが、その理由は、軌道角運動量が少し生きていることに基因する。

このように比較的高い温度領域では、Curie の法則から、基底状態の全スピンの大きさを決定することが

図5. *deoxy-hemoglobin* の磁化率の温度変化。温度範囲は、液体窒素温度 (77°K) から室温 (〜300°K) まで。

できるが、さらに温度を下げ液体ヘリウム温度付近に到ると、磁化率は Curie の法則からのずれが現われる。図6に、同じ *deoxy-hemoglobin* の磁化率の液体窒素温度から 2°K までの測定結果を示した。測定結果には、 χ_{para} の部分だけ示してある。このような低い温度では、 χ と $1/T$ は、直線性からかなりずれている。その理由は、温度が下るに伴って、最低の単位 $S_z=0$ (図3) へ分布が偏ってくるために、有効ボーア磁子数が減少することに基因する。実線は、この微細構造の分裂巾を D で表わし、前節で論じた計算方法によって得た理論曲線である。 $D=5 \text{ cm}^{-1}$ が、かなりよく一致しているということは、3つのエネルギー単位が、それぞれ 20 cm^{-1} 、 5 cm^{-1} で分裂していることを表わす¹⁷⁾。

met-hemoglobin では、事態はもう少し複雑である。図7に、*met-hemoglobin* の *Azide* 誘導体について、室温から液体窒素温度まで測定した磁化率の温度変化を示した²⁶⁾、 $1/T > 0.006$ すなわち $T \leq 170^\circ \text{K}$ では、 χ と $1/T$ は、ほぼ直線関係となり、Curie の法則に基づき、その勾配から、この物質は $S=1/2$ が基底状態になっていることがわかる。しかし、 $T > 170^\circ \text{K}$ になると、直線関係から激しくずれることが見られる。その理由は、 $S=1/2$ の基底状態から $500 \sim 1000 \text{ cm}^{-1}$ だけ高いエネルギーの位置に $S=5/2$ の励起状態があり、温度が上昇するに伴い、この状態への分布が起こ

図 6. deoxy-hemoglobin の磁化率の温度変化. 温度範囲は液体窒素温度 (77°K) から 2°K まで.

図 7. met-hemoglobin Azide の誘導体 (基底状態は $S=1/2$) の磁化率の温度変化. 温度範囲は液体窒素温度 (77°K) から室温 (～300°K) まで.

り始めるからである。したがって、この磁化率の温度変化から、 $S=1/2$ の基底状態と $S=5/2$ の励起状態のエネルギー差 (厳密には、自由エネルギー差) を求めることができる。ここに示した met-hemoglobin の Azide 誘導体が典型的な例であるので、これを示したが、これはエネルギー単位を表わした図 2 の $S=5/2$ の単位と $S=1/2$ の単位の順序が逆になった場合であり、基底状態が $S=1/2$ であるので low spin と呼ばれる。それに対して、 $S=5/2$ が基底状態になっている場合を high spin と呼んでいる。この場合も、励起状態 $S=1/2$ が非常に低いので、met-hemoglobin の Azide 誘導体と同じような現象が見られることが

わかっている。

この他、電子状態を決定するために、非常に多く測定が、我々のグループで行なわれているが、紙面制約から、これ以上の実例は省略する。

§ 6. 単結晶の磁化率の測定

分子が配向していない水溶液のような試料の磁化率の測定では、磁化率テンソルの空間的平均が得られるが、もし単結晶で磁化率の測定を行なえば、磁化率テンソルの主値が明らかにし得ると思われる。幸い、かなりのヘム蛋白質で、単結晶を作ることができるので、鉄の電子状態について、さらに詳細な構造を知ることができる。ここでは、今まで行なわれた、単結晶の磁化率の方向依存性測定の仕方と、若干の実例を述べよう。

磁化率の方向依存性測定は、単結晶に均一磁場をかけ、その磁場の方向を回転させながら、試料に働く回転力 (トルク) を測定するものであるから、トルク測定と言う。もちろん、単結晶の磁化率が球対称であるならば、トルクは生じない。単結晶の磁化率が球対称にならないためには、分子の磁化率が球対称でないことが不可欠である。一般的に考えて、分子の磁化率テンソルの 3 つの主値が、互いにすべて異なっていると、その値と方向をそれぞれ (χ_a, χ_b, χ_c) , (xyz) とする。一方、磁場に固定した座標系を (XYZ) とする。磁場は XY 座標面に平行に回転し、磁場の方向を Y 軸にとる。したがって、 Z 軸は、磁場の回転面

に対して垂直になる。さて、2つの座標系 (xyz) と (XYZ) の関係は、Euler 角を使って表現できよう。座標系 (xyz) を z 軸のまわりに、反時計方向に φ だけ回転し、新しくできた座標系の y 軸のまわりに、 θ だけ回転し、最後に Z 軸のまわりに ψ だけ回転する。こうして、座標系 (XYZ) に一致させることができる。この手続きから、 ψ は、回転する磁場の角度に対応していることに注意しよう。このような、直交変換により、(XYZ) 座標系で、(0H0) である磁場は、(xyz) 座標系では、 $H \cdot (-\cos \theta \cdot \cos \varphi \cdot \sin \psi - \sin \varphi \cdot \cos \psi, -\cos \theta \cdot \sin \varphi \cdot \sin \psi + \cos \varphi \cdot \cos \psi, \sin \theta \cdot \sin \psi)$ となる。したがって、分子の磁気エネルギーは、

$$\begin{aligned} E &= -\frac{1}{2} \vec{H} \chi \vec{H} \\ &= -\frac{1}{2} H^2 \{ \chi_x (-\cos \theta \cdot \cos \varphi \cdot \sin \psi - \sin \varphi \cdot \cos \psi)^2 \\ &\quad + \chi_y (-\cos \theta \cdot \sin \varphi \cdot \sin \psi + \cos \varphi \cdot \cos \psi)^2 \\ &\quad + \chi_z (\sin \theta \cdot \sin \psi)^2 \} \end{aligned} \quad (10)$$

単結晶の磁気エネルギーを得るためには、unit cell 中に存在する分子について、(10)式の総和をとらねばならない。しかし、unit cell 中に1分子しかないとしても、一般性は失われないから、以下の議論では、こう仮定する。試料に働くトルクの、磁場の回転方向での大きさは、(10)式を、 ψ で偏微分することによって得られ、次のようになる。

$$\begin{aligned} L &= -\frac{\partial E}{\partial \psi} = \frac{1}{2} H^2 \left[\left(\chi_z - \frac{\chi_x + \chi_y}{2} \right) \sin^2 \theta \sin 2\psi \right. \\ &\quad + (\chi_x - \chi_y) \left\{ \cos 2\varphi \cdot \frac{\cos^2 \theta + 1}{2} \cdot \sin 2\psi \right. \\ &\quad \left. \left. + \sin 2\varphi \cos \theta \cos 2\psi \right\} \right] \end{aligned} \quad (11)$$

少し、複雑な式であるが、重要な特徴を挙挙しよう。

- (1) トルクは、磁場の回転角 ψ に対して、 π の周期で変化する正弦曲線である。
- (2) 正弦曲線の振幅は、磁場の強さの2乗に比例する。
- (3) トルクを与える物理量は、磁化率テンソルの主値の差 $\chi_z - (\chi_x + \chi_y)/2$ および $\chi_x - \chi_y$ である。
- (4) 分子に対する回転磁場の方向 (θ, φ) は、この磁化率テンソルの主値の差の係数を決定する。

次に、単結晶に働くトルクをいかにして測定するかを述べよう。図9に、現在、我々が使用しているトルク計を示した。試料を、細いコルツ棒の先端に付けて均一磁場に置き、試料が受けるトルクをコルツ棒のトルクとして伝達し、これを測定する。コルツ棒の上端は、逆トルクコイルに固定し、この逆トルクコイル

図8. トルクの温度変化の測定図(トルク計と電磁石およびクライオスタット部)

を非常に細いリン青銅のリボンで吊す。逆トルクコイル、コルツ棒および試料は、互いに固定され全体として自由回転できるようにしておく。試料に働くトルクは、逆トルクコイルに小さな鏡を付け、磁気天秤の場合と同様に、帰還電流を逆トルクコイルに流して平衡を保つ。帰還する電流は、トルクの大きさに比例し、この電流を測定すればよい。蛋白質の単結晶によるトルクは、極端に小さい値であるので、できるだけブランクトルクを小さくしなければならない。したがって、温度計は、試料に付ける訳にはゆかず、少し離して、温度測定を行なう必要がある。

図9に、液体ヘリウム温度における deoxy-hemoglobin²⁷⁾ 単結晶のトルク曲線とその振幅の磁場依存性を示した。この測定曲線は、(11)式から期待される特徴(1)(2)をよく示している。図10には、同じ deoxy-hemoglobin²⁷⁾ のトルク曲線の温度変化の様子を示した。結晶に対する回転磁場の方向および磁場の強さを一定にし、ただ温度が異なった条件である。温度が下るに伴い、振幅は非常に大きく変化しているが、一方、位相もいくらか変化している。(11)式の中で、温度に依存する量は、 χ_x, χ_y, χ_z であり、振幅の温度依存性は、これらに由来するものであるが、一方、位相

Deoxy Hemoglobin Form II crystal

* liq. He Temp.

* $H \parallel (011)$ plane

図 9. 液体ヘリウム温度における *deoxy-hemoglobin* 単結晶のトルク曲線. (上)トルク曲線の磁場変化, (下)トルク曲線の振幅 (peak to peak) の磁場依存性.

(B) $H \parallel (0\bar{1}1)$ plane
magnetic field 2200 Oe.

図 10. *deoxy-hemoglobin* 単結晶のトルク曲線の温度変化.

の温度依存性は、 $\chi_s - (\chi_x + \chi_y)/2$ と $\chi_x - \chi_y$ の温度依存性が相似形でないことによるものである。これを満足するためには、 χ_x , χ_y , χ_s が互いにすべて異なっていることが必要である。 *met-hemoglobin* (high spin) は、EPR の測定によって、磁化率テンソルの2つの主値が互いに等しいことがわかっており、したがって、位相の温度依存性はない。これに対して、*deoxy-hemoglobin* は、磁化率テンソルの3つの主値がすべて互いに相異しており、したがって、このことは、 x と y が対称になっている Hamiltonian (4)式を使って、解析を行なうことは、不十分であることを示している。

このような xy の非対称性も考慮できるように, (4)式に次のような E 項を加える。

$$\mathcal{H} = DS_x^2 + E(S_x^2 - S_y^2) + \beta \vec{S} g \vec{H} \quad (12)$$

この式が, spin Hamiltonian の一般的な式である。 D , E は, エネルギーの微細構造を与える定数であり, 磁化率の温度依存性から見積ることができる。図11に, 一定磁場のもとで測定したトルクの値の温度変化を示した。3本の測定結果は, 結晶に対する磁場の方向を3通り選んで行なったものである。解析の都合上, 縦軸は $3kT/\beta^2 \cdot 2L/H^2$ の量をプロットしてある。この量は,

$$\begin{aligned} & \left(n_x^2 - \frac{n_x^2 + n_y^2}{2} \right) k_1 \sin(2\psi + \delta_1) \\ & + (n_x^2 - n_y^2) k_2 \sin(2\psi + \delta_2) \end{aligned}$$

のような量に対応している。 n_x , n_y , n_z は有効ボーア磁子数の主値であり, k_1 , k_2 , δ_1 , δ_2 は角度 ($\theta\varphi$) のみの関数である。実線曲線は, (12)式に基づいて解析し

図 11. deoxy-hemoglobin 単結晶のトルクの値の温度変化。

図 12. deoxy-hemoglobin 単結晶のトルク曲線とヘムの配向を示すステレオ投影。

た,理論曲線であり,これは $D=5.3\text{cm}^{-1}$, $E=0.9\text{cm}^{-1}$ の組が,測定結果にもっともよく一致する。²⁷⁾ E の値は, xy の非対称性分を示すものであるが, D に比べて十分少ない値であるので,配向のない試料つまり水溶液試料の磁化率の温度変化は $D=5\text{cm}^{-1}$, $E=0$ で説明し得るのである。

単結晶による磁化率の測定は,以上のようにエネルギー単位を決定するため役立つのであるが,さらに大切なことは,トルク曲線の位相や振幅から,分子の磁化率テンソルの主軸の方向を知ることができることである。本来4回軸対称であるヘムが, *deoxy-hemoglobin* のヘムでは少しこの対称性が崩れている訳である。*deoxy-hemoglobin* のヘムは,第6配位座が空であると考えられているので,この非対称性分は蛋白質部分の影響によるものであることに違いない。この問題は,興味あるものであるが,まだ十分に解明されていない。現在進行中の結晶について,一例を図12に示そう。この図は,3次元的なベクトルを,ステレオ投影によって2次元的に表現したものである。現在, *deoxy-hemoglobin* のX線解析が,詳細に行なわれており,それに基づいて,ヘムの配向を知ることができる。図には $\alpha_1\text{I}$, $\alpha_2\text{I}$...などで,ヘム面に垂直の方向を示した。実線は,磁場の回転面を表わし, X印は,トルクがゼロになる位置を表わしている。図11における3本のトルクの温度変化は,この3つの回転磁場に対応している。Aの場合は,磁場がヘム面にかなり平行に回転しているのであるから,トルクは小さいし, Cの場合は,かなり垂直に回転しているのであるから,トルクは大きい。これは,当然考えられることである。また,ヘム面に垂直または平行な方向が,磁化率テンソルの主軸になっていると期待されるので,確かにそのような方向でトルクはゼロになっている。

あ と が き

以上述べたように,磁気測定には,いろいろの種類があり,それらによって金属イオンの電子状態およびエネルギー状態を,かなり詳細にかつ広く知ることができることが理解頂けたと思う。*hemoglobin* では,鉄のエネルギー状態がほぼ決定された現在,このエネルギー状態が,いかにして特徴的な *hemoglobin* の生物活性を発揮しているのかを,理論的かつ実験的に解明され始めてきた。このような現在,磁気測定というものは,どのようなものであり,どのような役割を果たすものであるかを,明らかにしておくことは,今後,

測定が行なわれたり,結果を発表されるときに理解のために,意義あるものと考え,ここに,余り深く立ち入らず,しかも本質性を失わないように,その概括を述べておいた。

文 献

- 1) 飯田修一他:物理測定技術3“磁気測定”朝倉書店(1967)
- 2) 伊藤宗行他:実験化学講座続13“電子スピン共鳴吸収”丸善(1967)
Slichter C. P.: “Principles of Magnetic Resonance”, Hanper and Row, New York (1963)
Carrington A. and McLachlan A. D.: “Introduction to magnetic resonance with applications to chemistry and chemical physics” Harper and Row, New York (1967)
- 3) 藤原鎮男他:実験化学講座続12“核磁気共鳴吸収”丸善(1967)
Abragam A.: “The Principles of Nuclear Magnetism”, Oxford Univ. Press, London and New York (1963)
- 4) 森田雄平:「蛋白質核酸酵素」14(1969)652.
Lang G. and Marshall W.: *Proc. Phys. Soc.*, 87(1966) 3.
- 5) 赤坂一之, 井之敏明:「生物物理」11(1971) 1.
- 6) Perutz M. F.: *J. Mol. Biol.*, 13(1965) 646,
Perutz M. F., Kendrew J. C. and Watson H. C.: *J. Mol. Biol.*, 13(1965) 669.
Bolton W., Cox J. M. and Perutz M. F.: *J. Mol. Biol.*, 33(1968) 283,
Perutz M. F., Muirhead M., Cox J. M. and Goaman L. C. G.: *Nature* 219(1968) 131.
- 7) Moore C. E.; “ATOMIC ENERGY LEVELS”, Circular of the National Bureau of Standards 467, U.S.A. (1949)
- 8) Schoffa G., Scheller W., Pistau O. and Jung F.: *Acta Biol. Med. Ger.*, 3(1959) 65.
- 9) Monod J., Wyman J. and Changeux J. P.: *J. Mol. Biol.*, 12(1965) 88.
- 10) Gibson J. F., Ingram D. J. E. and Schonland D.: *Disc. Faraday Soc.*, 26(1958) 72.
- 11) Ballhausen C. J.: “Introduction to ligand field theory” McGraw-Hill (1962)
- 12) Eaton W. A. and Charney E.: *J. Chem. Phys.*, 51(1969) 4502
- 13) Taylor D. S.: *J. Am. Chem. Soc.*, 61(1939) 2150.
Pauling L. and Coryell C. D.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S.*, 22(1936) 210.
Coryell C. D., Pauling L. and Dodson R. W.: *J. Phys. Chem.*, 43(1939) 825.
Taylor D. S. and Coryell C. D.: *J. Am. Chem. Soc.*, 60(1938) 1177.
Coryell C. D. and Stitt F.: *J. Am. Chem. Soc.*, 62(1940) 2942.
- 14) Van Vleck J. H.: “The Theory of Electric and Magnetic Susceptibility” Oxford Univ. Press, Oxford (1932)
- 15) Griffith J. S.: *Biopolymers Symposia* (1) (1964) 35.
- 16) Tasaki A., Otsuka J. and Kotani M.: *Biochem. Bio-*

- phys. Acta*, 140 (1967) 284.
 Uenoyama H., Iizuka T., Morimoto H. and Kotani M.: *Biochem. Biophys. Acta*, 160 (1968) 159.
- 17) Nakano N., Otsuka J. and Tasaki A.: *Biochem. Biophys. Acta*, 236 (1971) 222.
- 18) Griffith J. S.: *Proc. Roy. Soc., Ser. A* 235 (1956) 23.
 George P., Beeststone J. and Griffith J. S.: *Rev. Mod. Phys.*, 36 (1964) 441.
- 19) Iizuka T. and Kotani M.: *Biochem. Biophys. Acta*, 181 (1969) 275.
 Iizuka T., Kotani M. and Yonetani T.: *Biochem. Biophys. Acta*, 167 (1968) 257.
 Iizuka T. and Kotani M.: *Biochim. Biophys. Acta*, 194 (1969) 351.
- 20) Bennett J. E., Ingram D. J. E., George P. and Griffith J. S.: *Nature*, 170 (1955) 394.
- 21) Yonetani T., Drott H. R., Leigh J. S., Reed G. H., Waterman M. R. and Asakura T.: *J. Biol. Chem.*, 245 (1970) 2998.
- 22) Kittel C.: "Introduction to Solid State Physics", John Wiley and Sons. Inc., New York (1953)
- 23) 田崎明:「日本物理学会誌」21 (1966) 282.
- 24) Figgis B. N.: *J. Chem. Soc.*, 3 (1964) 3423.
 Figgis B. N. and Nyholm R. S.: *J. Chem. Soc.*, 4 (1958) 4190.
- 25) 天谷和夫他:実験化学講座5“熱的測定及び平衡”丸善 (1958)
- 26) Iizuka T. and Kotani M.: *Biochem. Biophys. Acta*, 154 (1968) 417.
- 27) Nakano N., Otsuka J. and Tasaki A.: *Biochem. Biophys. Acta*, in print.

日本生物物理学会

入会手続の案内

本会に正会員として入会を希望される方は所定の入会申込書に次の事柄を記入の上、入会金、および1年分の会費を添えて事務局宛お送り下さい。

- (1) 姓名(ローマ字読み方付)生年月日
 (2) 最終卒業学校、学科名とその年月
 ただし学生(学部、大学院在学中の者)は入学年月と卒業または終了予定年月を必ず記載すること。
 (3) 勤務先とその所在地、職名、および現住所。(4) 専門分野。
 (5) 学生は入学年月を記入した在学証明書を添付すること。

入会申込書は事務局にありますからお申出下さい。

会費	入会金	500円	一般会員	年額	2,400円
(会費は前納制で1月より12月分です)			学生会員	年額	1,800円

名古屋市千種区不老町・名古屋大学理学部内

振替口座名古屋 17939 日本生物物理学会事務局