熱測定で見るタンパク質の高次構造

田中晶善*

タンパク質の変性に伴う熱の吸収を精密測定することにより、タンパク質分子の“かたち”，すなわちドメイン構造，オリゴマー形成状態，およびリガンド結合によるそれらの変化などに関する知見が得られる。これをX線結晶構造解析などの結果と併せ用いることにより，タンパク質分子の構造と機能について総合的な理解が可能となる。その具体例のいくつかを紹介する。

酵素などの球状タンパク質では，分子内に複数のドメインがあり，それぞれのドメインが異なった機能を持つ場合がしばしばある。また，複数の分子が集まって機能を発揮する場合も多い。ドメインは「分子進化」という視点からも興味深い対象である。

解糖系の初発反応を触媒する酵素であるヘキソキナーゼには大小2つのドメインがある。それらを隔てる深い溝に，基質の1つであるグルコースが結合すると，グルコースを包み込むように2つのドメインが閉じることが，X線結晶構造解析から知られている。

図1はヘキソキナーゼが熱変性する様子を，断熱型示差走査熱量計（adiabatic differential scanning calorimeter, 以下 DSC）によって観測したものである⁽¹⁾。一定の速さで低温側から徐々に温度を上げていったときの比熱の変化を記録しており，変性が起こる温度付近では，変性反応に要する熱をタンパク質が余分に吸収するため，比熱が通常より大きくなる。その比熱のピーク位置からおおよその変性温度が知られる。

図1-Aは遊離のヘキソキナーゼの場合である。変性温度を異にする2つのピークが観測され，2つのドメインがそれぞれ独立に変性する様子が伺われる。これにグルコースを加えると図1-Bのように単一のピークしか観測されず，分子全体として変性していることがわかる。これはX線結晶構造解析の結果と符合しており，構造的なドメイ

図1 ■ *E. coli* のヘキソキナーゼ（単量体）のDSC曲線
文献1の図2に基づいて抜粋。遊離の酵素（A），および100mMグルコース共存（B）の場合。pH 8.5，無塩。

ンと変性反応の挙動単位とがよく対応していると言えよう。

DSCは，熱変性などの相転移に伴う比熱の変化を測定する装置であるが，上記のようにDSC曲線はタンパク質の高次構造を反映しており，DSCの結果から高次構造を推測できることも多い。熱測定は熱力学量が直接に求められる点で重要であるが，特にDSCはその精度の高さと理論的背景の確かさから，たとえばアミノ酸置換による変性の熱力学量への効果を定量的に調べ，タンパク質の構造安定性に寄与する因子を解析することに積極的な役割を果たしている^(2,3)。本稿では，球状タンパク質の高次構造との関連でDSCを用いた研究例を紹介する。

DSC 測定 の原理

1. 二状態転移モデル

タンパク質は巨大分子であるが、その変性反応は分子が徐々にほぐれていくのではなく、いったん変性が始まると、その分子全体が一挙に変性する。すなわち、基本的には天然のコンパクトな立体構造を保った分子種Nと、その構造が壊れて変性した分子種Dの2つの状態のうちの1つだけをとる*1。

タンパク質の熱変性では、ゆで卵のような不可逆な熱変性を連想しがちだが、これは変性した分子の会合などが原因であって、変性反応は独立した素過程としては本質的には可逆である。事実、熱変性させた試料を冷却すると天然の構造に巻き戻る例が、特に球状小型タンパク質で多く知られ

ている。

NとDの間には次のような平衡が成り立つ。

K は平衡定数で、 $K=[D]/[N]$ である。変性反応の進行度 α を用いると $K=\alpha/(1-\alpha)$ である。また ΔH は変性反応に伴うエンタルピー変化、つまり一定圧力の条件下で変性反応を起こすのに必要な熱量である。直感的に言えば、ゆで卵を作るのに必要なガスの量に対応する。

一般に、分子量が2万ないし3万程度以下の小型球状タンパク質の変性は、式1の「all or none モデル」、あるいは「二状態転移モデル」で説明できることが多い。平衡反応であるから、式1について van't Hoff の式が成り立つ。

図 2 ■ タンパク質の熱変性に伴う吸光度の変化 (A), 比熱の変化=DSC 曲線 (C), およびグラムあたりのエンタルピーの変化 (D)

横軸はいずれも温度。Bは、AまたはDに基づく van't Hoff プロット。CとDは微分・積分の関係にある。

*1 「温度が上がるにつれてタンパク質の構造が徐々にほぐれるように思われる。変性温度の範囲内では、構造の一部は保存され、一部は壊れている」(パーロー『生命科学のための物理化学』第2版, 野田春彦訳, 東京化学同人, p.50)。これは図4のようなDSC曲線を解説した記述の一部であるが、これが個々の分子を念頭においたものであれば誤りである。1個の分子に着目した場合、天然状態Nか変性状態Dかのいずれかであって、温度変化とともに「構造が徐々にほぐれる」のではない。徐々に変化していくのはマクロな平衡定数 K である。DSC曲線のピークはその K の温度変化が最も大きく、またNとDの分子の比がほぼ1:1である温度に相当する。

なお最近、変性や再生反応の中間体としての「モルテン・グロビュール」についての研究が進んでいるが、上記の教科書の記述とは直接には無関係である。モルテン・グロビュールについての詳細はたとえば文献⁽⁴⁾、およびそこに引用されている文献を参照されたい。

$$\frac{d(\ln K)}{d(1/T)} = -\frac{\Delta H^\circ}{R} \quad (2)$$

R は気体定数, T は絶対温度である.

タンパク質の変性は, たとえば吸光度や蛍光の変化として観測される. そこで温度変化に対するその変化量を記録し (図 2-A), そこから変性反応の進行度 α を求めて平衡定数 K を得, その自然対数 $\ln K$ を T の逆数 $1/T$ に対してプロットすると, その傾きから ΔH° を求めることができる (図 2-B). 熱測定によらず, このようにして平衡定数 K の温度変化から間接的に求められたエンタルピー変化を van't Hoff のエンタルピー変化といい, ΔH_{vH} で表わす (単位は $\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}$). これは “1 モル” のタンパク質を変性させるのに必要な熱量を表わす.

一方, DSC によって熱変性反応に伴うタンパク質の比熱の変化とエンタルピー変化を直接測定することができる. 溶媒である水は比熱が大きく, その比熱の海の中に 0.1~1% 程度しか存在していないタンパク質の比熱の変化を正確に測定するのは容易ではなく, ちょうど高層ビルの屋上に立っている人が背伸びしたときの身長の変化を地上から正確に測定するのに似た困難が伴う. そのため, DSC 装置には精密測定のための種々の工夫が凝らされている. 装置の詳細は文献^(5,6)に詳しく解説されている.

熱変性反応は吸熱反応であるから, 変性反応が起こる温度範囲においては溶液中のタンパク質の比熱が異常に大きくなる. その比熱変化を記録したものが DSC 曲線であり, 図 2-C のような結果が得られる. DSC 曲線とベースラインに囲まれた面積は変性反応を行なわせるために系に余分に加えた熱量である. このようにして, 熱測定から直接に得られたエンタルピー変化をカロリメトリックなエンタルピー変化といい, Δh_{cal} で表わす (単位は $\text{J}\cdot\text{g}^{-1}$). これに分子量 M をかけると, 1 モルあたりのエンタルピー変化, ΔH_{cal} が得られる.

一方, DSC 曲線はエンタルピーの温度依存性 (図 2-D) を温度で微分したものに対応し, 温度変化に伴う平衡定数の変化を測定していることに

もなるので, DSC 曲線からは ΔH_{cal} のほかに ΔH_{vH} も同時に求めることができる.

2. 2 種類のエンタルピー変化

ここで, ΔH_{vH} と ΔH_{cal} という 2 種類のエンタルピー変化が得られたが, タンパク質の熱変性反応が式 1 に従う限り両者は一致する. 逆に言えば, 測定原理を異にするこれら 2 つのエンタルピー変化の比が 1 であれば, その熱変性反応が二状態転移 (式 1) であることの実験的根拠となる. DSC 装置の設計者でもある Privalov は α -キモトリプシンをはじめとした 5 種の小型球状タンパク質の熱変性を種々の pH で測定して $\Delta H_{\text{vH}}/\Delta H_{\text{cal}}$ の値を求め, 総計 52 点の平均値として 0.95 ± 0.03 という, きわめて 1 に近い値を得ている⁽⁷⁾.

これに対し, たとえば分子が二量体を形成して変性反応をする場合,

を考えると, 平衡定数として観測されるのは N_2 と D_2 との間の平衡に基づくものである. つまり, 挙動単位である N_2 と D_2 それぞれを見かけの 1 分子と考えている. 平衡定数の温度依存性から式 2 によって ΔH が求められるが, その単位, $\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}$ の “mol⁻¹” は, 見かけの 1 分子の 1 モル, つまり二量体 1 モルあたりである. しかし, 平衡定数 K の観測や, van't Hoff のプロット自体からはそのことはわからない. ΔH_{vH} が, しばしば “見かけの ΔH ” と言われるのはここに由来する.

これに対し, 熱測定からは 1 グラムのタンパク質の変性に要する熱量 Δh_{cal} , およびこれに分子量をかけた単量体 1 モルあたりの “真の ΔH ”, ΔH_{cal} が直接に求められる. 変性反応が式 3 に従う場合, 2 つのエンタルピー変化の比, $\Delta H_{\text{vH}}/\Delta H_{\text{cal}}$ は 2 となる (図 3 参照). このように, $\Delta H_{\text{vH}}/\Delta H_{\text{cal}} > 1$ は分子間の正の相互作用を表わす. ΔH_{vH} を Δh_{cal} で割った値は「挙動単位の分子量」と呼ばれる. これは “見かけの 1 分子” の分子量であり, 式 3 で言えば N_2 , D_2 の分子量である. 逆に $\Delta H_{\text{vH}}/\Delta H_{\text{cal}} < 1$ である場合は, 分子

図 3 ■ 乗客の体重（たとえば 60 kg）に基づいて一人を 1 単位と見なすカロリー車夫と“ひとまとまりの行動単位”を 1 単位と見なすファント車夫
乗客間に“正の相互作用”がある場合、同じ“1 単位”でも、ファント車夫はカロリー車夫よりも疲れる。2 人の車夫の疲れ方を比較すれば、“行動単位”の人数（この場合は 2 人）がわかる。

内に複数のドメインが存在し、それぞれが二状態転移の変性反応を起こすような場合に対応する。その逆数、 $\Delta H_{cal}/\Delta H_{vH}$ は当然 1 より大きいが、この値は、1 分子が実際に何分子としてふるまうかを示す値と見なせる。

前出のヘキシキナーゼのように、分子内に A、B 2 つのドメインがあってそれぞれが独立に変性する場合、その変性反応は、

のように表わされる。分子種 $D_A N_B$ は、ドメイン A が変性し、ドメイン B が構造を保持しているものである。

*2 式 5 は、 Δh_{cal} が同じでも、DSC 曲線がシャープになるほど ΔH_{vH} の値が大きくなることを示している。したがって、一般に分子量の大きいタンパク質は小さいものに比べ DSC 曲線が鋭くなる。

高分子ではないが、その極端な例は氷が水になる現象である。温度と比熱の関係を表わすグラフでは、比熱は 0°C という一点において無限大に発散し、しかも面積を積分すれば $334 \text{ J} \cdot \text{g}^{-1}$ ($80 \text{ cal} \cdot \text{g}^{-1}$) という有限の融解熱 (Δh_{cal}) が得られ、ディラックの δ 関数のような挙動を示す。したがって、式 4 に従えば ΔH_{vH} は無限大であり、これを Δh_{cal} で割った値、「挙動単位」の分子量も無限大となる。つまりコップ 1 杯の水全体が巨大な 1 分子としてふるまう。

図 1-A のヘキシキナーゼの例のように、2 つの変性温度が離れている DSC 曲線からは、複数のドメインがあることは一見して明らかであるが、変性温度が近いと単一のピークとして観測される。後者の場合でも、 $\Delta H_{vH}/\Delta H_{cal} < 1$ となり、式 1 とは区別されるが、それぞれのドメインに注目すれば、やはり二状態転移であって、各温度で式 4 の平衡が成り立っている。

DSC 曲線のピーク温度 T_m におけるピークの高さ（過剰な比熱の大きさ）を c_{max} とすると、 ΔH_{vH} と Δh_{cal} は次のような関係にある。

$$\Delta H_{vH} = 4RT_m^2(c_{max}/\Delta h_{cal}) \quad (5)$$

詳細な解析の前に、DSC 曲線の下側の面積を測って Δh_{cal} を求め、またピークの高さを求めれば ΔH_{vH} が求められる*2。通常、二状態転移か否かを判定するには、複数の分光学的手法を併用し、それらを比較することにより行なわれるが、DSC では上記のように“グラフ用紙と物差し”で簡単に判定できる。さらに詳細な DSC 曲線の解析を行なうことにより、種々の有用な知見が得られる。具体的な方法を詳しく解説したものととして、文献^(5,6,8)およびそれらに引用された文献を参照していただきたい。

単純な二状態転移 ($N \rightleftharpoons D$) の例

リゾチーム

図 4 は T4 フェージ・リゾチームのアミノ酸置換タンパク質の 1 つについて、熱変性反応を観測した例である⁽⁹⁾。この変異型タンパク質や、野生型の場合も含め、 ΔH_{vH} と ΔH_{cal} の比は 1 となり、熱変性が N と D の二状態転移であることを示している。

不可逆な熱変性を起こすタンパク質では、試料を一旦高温まで走査した後、低温に戻しても天然

図 4 ■ T4 ファージのリゾチーム (Cys 54→Thr + Cys 97→Ala 置換型) の DSC 曲線

文献 9 の図 1 に基づいて改変。pH 2. Δ は変性の前後での比熱の差 Δc_p 。破線はベースラインで、これは Δh_{cal} を 0 と仮定した場合の仮想的な DSC 曲線に相当する。DSC 曲線とベースラインで囲まれた面積から Δh_{cal} が評価できる。

構造は戻らず、したがって、再走査してもベースライン状の DSC 曲線しか得られないが、リゾチームの場合は再走査すると初めの DSC 曲線と同一の結果が得られる。したがって、リゾチームの熱変性は可逆反応である。また、DSC では 1 分あたり 1°C で昇温させながら走査することが多いが、その走査速度を変えても結果は変わらない。これらのことから、リゾチームの場合は、測定している各温度で式 1 の平衡が完全に成り立っており、式 2 に基づいた平衡熱力学的解析をすることの妥当性が実験的に保証されたことになる。

図 4 では変性反応の前後のベースラインに差 (Δ) があり (変性の前後での比熱の差 $\Delta c_p > 0$)、変性タンパク質は天然構造よりも比熱が大きいのことを示している。これはほとんどのタンパク質の熱変性で観測されており、主として疎水性アミノ酸が溶媒の水へ露出することに起因すると考えられている。 Δc_p がゼロでないことは変性の熱力学量の温度依存性に大きく影響し、変性のギブズ自由エネルギー変化^{*3}が、高温側のみならず、低温側でもマイナスの値を取り得ることが予想される。つまり通常の熱変性 (高温変性) の他に、温度を下げることによってやはり高次構造が壊れるこ

と (低温変性) が理論的に予測され、ミオグロビンをはじめ、いくつかの実験例が報告されている。たとえ氷結しなくとも、低温にしておけばタンパク質は安定であるというのは必ずしも正しくない。

分子内に複数のドメインを持つタンパク質

λ リプレッサー

分子内ドメインが独立に変性する顕著な例の一つは、遺伝子調節タンパク質 λ リプレッサーである。その野生型タンパク質の DSC 曲線⁽¹⁰⁾ (図 5, wild type) は、約 20°C も離れた 2 つのピークを持つ。低温側が N 末端側のドメイン (オペレーター DNA 結合ドメイン)、高温側が C 末端側のドメインの熱変性にそれぞれ対応する。

ここで面白いのは、N 末端側ドメインに属するアミノ酸残基を別のアミノ酸に置換した場合である。図 5 に示すように、N 末端側ドメインはアミノ酸置換によって安定性に変化が起こり、低温側のピーク温度は大きく変化する。しかし、高温側のピーク温度にはほとんど変化がない。

このことは、アミノ酸置換によって N 末端側ドメインの構造に変化が起こっても C 末端側には影響が及ばず、2 つのドメインが構造的に独立していることを示している。C 末端側ドメインの欠落した、N 末端側ドメイン単独 (アミノ酸残基 1~

図 5 ■ λ リプレッサーの DSC 曲線⁽¹⁰⁾

野生型 (wild type) およびこれにアミノ酸置換を加えた種々の変異型タンパク質の例。pH 8. エール大学 Sturtevant 教授提供の原図に基づいて抜粋。

*3 変性のギブズ自由エネルギー $\Delta G^\circ = -RT \ln K$ で、この値が正であるほど N 状態が安定となる。負では D 状態が安定となる。

92 のみ) の DSC 曲線は、全タンパク質を用いた場合の対応する DSC 曲線 (図 5 低温側) とほぼ同一である⁽¹¹⁾ ことも同様に理解できる。これは、2つのドメイン間に相互作用がなく独立して変性する例であるが、これはむしろ例外に属し、一般にはドメイン間には相互作用がある。

グルコアミラーゼ

澱粉をグルコースに加水分解する酵素である *Rhizopus* のグルコアミラーゼ⁽¹²⁾ の場合、DSC 曲線は単一ピークであるが、変性温度がわずかに異なる 2つのドメインの熱変性として解析できる⁽¹³⁾。

グルコアミラーゼの強力な阻害物質である SGI (1-deoxy-1,5-diamino glucopyranose) をこれに加えると、DSC 曲線は単一のピークのまま全体に高温側にシフトする。この結果の解析から、次のことが判明した。すなわち SGI は、2つのドメインのうち高温で変性する側に結合して、このドメインの変性温度をより高温側にシフトさせること、および低温側ドメインには SGI は結合しないが、2つのドメイン間に正の相互作用があり、その結果、SGI が高温側に結合すると低温側のドメインの変性温度も高温側にシフトするのである⁽¹³⁾。

これは、次のような解析に基づいている。種々の濃度の SGI 共存下で測定した DSC 曲線から、これら2つのドメインの熱変性に関する ΔH_{vH} がそれぞれ求められる。一方、SGI 共存下での各ドメインの変性温度の逆数に対して、SGI 初濃度の対数をプロットすると、その直線の傾きから、やはりそれぞれのドメインの ΔH_{vH} を求めることができる。これら2つの方法で評価した ΔH_{vH} を比較すると、高温側のドメインでは両者がよく一致するが、低温側ではまったく一致しなかった。このことは、高温側ドメインへの SGI の結合のみが、物理的実体を伴った解釈可能なものであることを示している。

Aspergillus のグルコアミラーゼでは、2つのドメイン、つまり触媒ドメインと澱粉結合ドメインが存在することが報告されている。上記の *Rhizopus* のグルコアミラーゼでも同様の構造が期待できるとすれば、SGI が結合する高温側ドメインが触媒ドメイン、低温側が基質結合に関与する基

質結合ドメインである可能性が示唆される。

CAP

カタボライト活性化タンパク質 (CAP) は、分子内に大小2つのドメインを持つことがX線結晶構造解析から認められ、cAMP はその大きいほうのドメイン (N末端側) に結合する。CAP 単独の DSC 曲線⁽¹⁴⁾ は単一のピークを持ち、 $\Delta H_{\text{vH}}/\Delta H_{\text{cal}}$ は2に近い。このことは、CAP が通常二量体として存在することと符合し、変性反応は前述の式3で表わすことができる。

これに対し、CAP に cGMP を結合させた場合は、低温側に肩を持つような DSC 曲線が観測され、また cAMP を結合させると3つのピークが観測される。これらはそれぞれ、2つおよび3つのドメインの変性として解析することができる。つまりこの場合は、ヘキソキナーゼとは逆に、リガンド結合によってドメインの挙動が分離される例である。

CAP への結合様式の違いによって、ヌクレオチドをいくつかに分類した研究⁽¹⁵⁾ によると、cGMP は CAP の構造にほとんど影響を与えないのに対して、cAMP は分子全体に構造変化をひき起こしている。DSC における挙動の違いは、ヌクレオチド-CAP 複合体における構造の違いを反映しているものと考えられる。

図 6 ■ アーモンド β -グルコシダーゼの DSC 曲線⁽¹⁶⁾
理論曲線と比較するため、図では黒丸で表わしてある。pH 6. 点線は、この DSC 曲線を分子内の3つのドメインの熱変性として分解した理論曲線。実線はその3つの理論曲線の和。破線はベースライン。

β-グルコシダーゼ

セルラーゼの一種であるアーモンドの β-グルコシダーゼの DSC 測定⁽¹⁶⁾では、中性付近では2つのピークが観測され、分子内に複数のドメインを持つことが明らかである。解析の結果、分子内に3つのドメインがあることが判明した(図6)。ところが、酸性側では DSC のピークが1つしか観測されず、ドメインは2つに減少する。これは pH の変化によって、すなわち H⁺ というリガンドの特異的な解離・会合によって、タンパク質分子の構造が変化することを示している。

マルチドメインタンパク質の DSC 測定の例は他にも多いが、さらに込み入った系を解析しているものとして、Privalov による総説⁽¹⁷⁾がある。ペプシノーゲンの2つのドメインの Δh_{cal} を、110°C での値に換算して比較することにより、各ドメインの「部分分子量」を評価し、別途求められている値とよく一致する結果を得た、という面白い例も紹介されている。これは、110°C 付近ではタンパク質の“個性”が失われ、 Δh_{cal} が一定値をとることに基づいている。

多量体を形成するタンパク質の例

プロテアーゼインヒビター

Streptomyces のプロテアーゼインヒビター SSI は、常温で二量体を形成している。その DSC 曲線のピークは、濃度の増大とともに高温側にシフトする⁽¹⁸⁾。これは SSI の熱変性が解離を伴うことを示しており、次の式に従って解析できる。

類似の例として、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼがあり⁽¹⁹⁾、この場合、相同な3つのプロトマーが変性反応とともに解離する。

ヌクレアーゼ

図7は *Staphylococcus* のヌクレアーゼのアミノ酸置換タンパク質の1つについて、種々の濃度で DSC 曲線を得た例である。この場合、 $\Delta H_{vH}/\Delta H_{cal}$ は1より大きくなり、分子間相互作用が存在していることを示している。SSI の例とは逆

図7 ■ *Staphylococcus* のヌクレアーゼのアミノ酸置換タンパク質 Ala 90→Ser の DSC 曲線とその濃度依存性

濃度は左から右へ、23 mg・ml⁻¹ から 4.3 mg・ml⁻¹ まで順次減少している。縦軸は比熱、すなわち単位質量あたりに換算した熱容量であるので、濃度によらずピーク高さは変わらない。pH 7.

に、濃度が高くなるとともにピーク温度が低温側にシフトすることから、この場合は変性に伴って多量体化(二量体化)が進行することがわかる⁽²⁰⁾。また、ヌクレアーゼの野生型および種々の変異型タンパク質が同じ挙動を示しており⁽²⁰⁾、おおよそ次式が成り立つ。

変性に伴う多量体化という場合、ゆで卵のような不可逆変性を連想しがちであるが、ヌクレアーゼの場合は完全に可逆的で、再走査をしてもまったく同じ DSC 曲線が再現される。

なお、多量体化の問題からはそれるが、ヌクレアーゼで興味深いのは、全アミノ酸 149 残基のうち、C末端側の 13 残基を欠落させた“フラグメント”の場合である。この 13 残基は三次構造上でも分子の端にあり、活性中心を形成しているわけでもなく、一見、重要とも思われない部分である。ところがこれを欠落させたフラグメントの DSC 曲線ではまったくピークが見られず、常温においてすでに高次構造が失われている。ところがこれに対し、一次構造上では中心付近にあるアミノ酸 6 残基、Thr 44 から Lys 49 を欠落させたフラグメントでは、全タンパク質とほぼ同じ

DSC 曲線が観測される。

これらのことから、タンパク質の高次構造を保持する要因はかなり複雑であり、部分的要素の寄せ集めではないと言えよう。酵素利用技術に関する 1970 年頃の文献では、酵素の活性中心だけを取り出すことが 80 年代初頭にもできるようになる、と書かれているものもあるが、あまりに楽観的な予想であった。一見無駄に見える部分が“役に立つ”部分を支えている場合がある——むしろ、一般的と言うべきだろう。

*

以上、高次構造との関連で DSC を用いた研究のいくつかについて紹介した。上記のように、高次構造が既知のタンパク質であれば、より総合的な理解が得られるが、未知の場合でも熱測定だけに基づいて高次構造をある程度予測することが可能である。熱測定はその本質上、現象論的な面のあることを免れないが、測定機器や解析理論の進歩によって、タンパク質の高次構造に関しても、有用な、熱測定でしか得られない詳細な知見が得られるようになってきた。

DSC 測定は精製タンパク質が 2~3 ミリグラムあれば少なくとも 1 回の測定ができる（現在開発中と聞く、さらに高感度な DSC 装置では、必要量は 1 桁低くなるだろう）。そしてその単純に見える 1 本の DSC 曲線から多彩な情報を掘り起こすことができる。1 本のスキャンを取るのに 2 時間程度（以上）必要だが、こういうのんびりした時間のスパンも熱測定の意外な魅力かも知れない。

草稿にご意見・ご助言を賜りました京都大学 外村辨一郎先生、大阪府立大学高橋克忠先生、深田はるみ先生に感謝いたします。図 3 は三重大学教育学部化学科学生大矢真弓さんの手になるものです。

文献

- 1) K. Takahashi & J.M. Sturtevant: *Biochemistry*, **20**, 4693 (1981).
- 2) 油谷克英: 生物物理, **32**, 27 (1992).
- 3) 田中晶善, 北村進一: 生物物理, **32**, 110 (1992).
- 4) 油谷克英, 中村春木: “蛋白質工学”, 朝倉書店, 1991, p. 60.
- 5) J.M. Sturtevant: *Ann. Rev. Phys. Chem.*, **38**, 463 (1987).
- 6) 高橋克忠: 蛋白質 核酸 酵素, **33**, 337 (1988).
- 7) P.L. Privalov & N.N. Khechinashvili: *J. Mol. Chem.*, **86**, 665 (1974).
- 8) 城所俊一, 和田昭充: 蛋白質 核酸 酵素, **33**, 348 (1988).
- 9) C. Hu, S. Kitamura, A. Tanaka & J.M. Sturtevant: *Biochemistry*, **31**, 1643 (1992).
- 10) M.H. Hecht, J.M. Sturtevant & R.T. Sauer: *Proteins: Struct., Funct., Genet.*, **1**, 43 (1986).
- 11) R.S. Stearman, A.D. Frankel, E. Freire, B. Lui & C.O. Pabo: *Biochemistry*, **27**, 7571 (1988).
- 12) K. Hiromi, M. Ohnishi & A. Tanaka: *Molec. Cell Biochem.*, **51**, 79 (1983).
- 13) A. Tanaka: *Netsu Sokutei (Calorimetry and Thermal Analysis)*, **18**, 77 (1991).
- 14) L.R. Ghosami, A.M. Brown & J.M. Sturtevant: *Biochemistry*, **27**, 5257 (1988).
- 15) R.H. Ebricht, S.F.J. LeGrice, J.P. Miller & J.S. Krakow: *J. Mol. Biol.*, **182**, 91 (1985).
- 16) A. Tanaka: *Agric. Biol. Chem.*, **55**, 2773 (1991).
- 17) P.L. Privalov: *Adv. Protein Chem.*, **35**, 1 (1982).
- 18) K. Takahashi & J.M. Sturtevant: *Biochemistry*, **20**, 6185 (1981).
- 19) 端谷隆文, 山本昌英, 藤田省三, 深田はるみ, 高橋克忠: 農化誌, **66**, 348 (1992).
- 20) A. Tanaka, J.M. Flanagan & J.M. Sturtevant: *Protein Science*, **2**, 567 (1993).

研究員公募

三菱化成生命科学研究所特別研究員

三菱化成生命科学研究所 第 5 プロジェクトでは特別研究員 (postdoctoral fellow) を 1 名募集しています。

資格: 博士号取得者, またはそれに相当する研究業績があり, 分子生物学の素養のある者。また, すぐに着任可能であることが望ましい。

研究テーマ: ショウジョウバエ本能行動の分子生物学 (同性愛行動の原因遺伝子クローニングなど)

期間: 採用日から 1 年ごとの更新により 2~3 年間

応募方法: 履歴書, 研究業績目録, 推薦書を添えて下記に送付のこと。

照会先: 〒194 東京都町田市南大谷 11
三菱化成生命科学研究所
第 5 プロジェクト 山元大輔
Tel. 0427-24-6299, Fax. 0427-29-1252