OUKA
Osaka University Knowledge Archive

Title	Development of an Adiabatic Low-temperature Microcalorimeter and Thermal Study on Low-temperature Behavior of Protein Crystals
Author(s)	宮崎, 裕司
Citation	大阪大学, 1993, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/38092
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

Osaka University

氏名	宮崎裕司（みやざきゆうじ）
博士の専攻分野の名称	博士（理学）
学位記番号	第 10594 号
学位授与年月日	平成5年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 理学研究科無機及び物理化学専攻
学位論文名	**Development of an Adiabatic Low-temperature Microcalorimeter and Thermal Study on Low-temperature Behavior of Protein Crystals** **（断熱型ミクロカロリメータの開発および蛋白質結晶の低温挙動に関する熱的研究）**
論文審査委員	（主査） 教授 菅 宏 （副査） 教授 京極 好正　教授 徂徠 道夫

論文内容の要旨

従来，断熱型熱量計による熱容量測定は，数g乃至数十gの試料量を必要とし，これが貴重試料への広範な適用の限界となっていた。この点を改良すべく，1g以下の試料量でも高精確度な熱容量測定を可能とする断熱型ミクロカロリメータを開発した。この装置では，抵抗温度計と熱電体を組み合わせた温度移送法という新しい温度測定法が開発され，これにより試料セルが小型化され（内容積1.2cm³，質量4.31193g），結果として1g以下の試料についての測定が可能になった。この装置の温度測定の精度は，20Kで±0.20mK，80Kで±0.062mK，300Kで0.027mKであった。空セル測定から見積もられた測定精度は60K以上で±0.1%であった。安息香酸の実測値と他の文献値との差は，60K以上で±0.3%であった。

開発した装置を用いて蛋白質結晶の低温熱容量測定を行った。蛋白質結晶では，蛋白質分子は三次元周期格子を形成するが，分子自身はエネルギーが近接した多数の立体配座を有し，室温では宛も液体のように揺らいでいる。温度を低下させるとこれらの運動は凍結し，ガラス転移点を経て非平衡状態に移ることが期待される。蛋白質結晶のガラス転移はこれまで多くの指摘が行われながら，誰も直接的証拠を得ることに成功していない。今回，正方晶系卵白リゾチームおよび単斜晶系馬ミオグロビン結晶の低温挙動について研究を行った。蛋白質分子の運動と水との関わりを調べるために，含水量を変えた測定も行った。リゾチーム結晶では約150Kに，またミオグロビン結晶では約185Kにガラス転移特有の熱容量ジャンプとエンタルピー緩和課程を見い出した。含水量の多い結晶ではガラス転移温度より高い温度で過冷却した結晶水の結晶化による発熱が見られ，共融解や氷の融解も観測された。結晶化の起こる温度でアニールすると，ガラス転移点における熱容量ジャンプは小さくなり，リゾチーム結晶ではガラス転移温度は150Kと変化しなかったが，ミオグロビン結晶では170Kと低くなった。融解エンタルピーの解析から，蛋白質結晶中には直ちに結晶化する水とアニールすることによって結晶化する水（自由水），そして結晶化しない水（束縛水）の三種類の水が存在することがわかった。また含水量が増加するにつれてガラス転移温度が降下するという可塑効果が見い出された。従って観測されたガラス転移は蛋白質分子と束縛水の共同的な運動の凍結によるものと結論される。このことはガラス転移点より高い温度での結晶水の熱容量が純粋な氷および水だけの寄与よりも大きいことからも裏付けられる。さらにミオグロビン結晶に対してエンタルピー緩和時間を測定し，その温度依存性より活性化エンタルピーを求めた。以上の結果はこれらの蛋白質結晶が多成分よりなる新しい範疇のガラス性結晶に属することを示している。

論文審査の結果の要旨

宮崎君は温度移送法に基づく新しい原理の低温用ミクロ断熱型熱量計を改良することにより，大量に得難い貴重試薬など測定対象を飛躍的に拡大することに成功した。これを用いて正方晶系リゾチーム，および単斜晶系ミオグロビン両結晶の低温熱容量測定を行い，蛋白質分子と周囲の水との共同的運動の凍結に基づくガラス転移現象，およびその温度の含水量依存性を明瞭に観測した。これらの発見は生体物質が示す機能の基礎的理解を深める上で重要な貢献であり，博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。