

ホスト/ゲスト滴定曲線と 非線形フィッティングを利用する 結合定数(解離定数)の算出

2020.5.25 M1 塩澤文

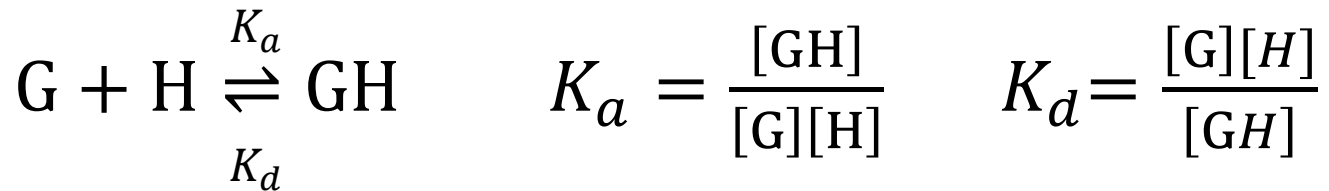
目次と参考資料

1. 結合定数(解離定数)
 2. 結合定数を測定する手法
 3. 滴定曲線の非線形フィッティングを利用する結合定数の算出
生体機能関連化学実験法((株)化学同人、p.19-p.33)
 4. 滴定曲線の測定のコツ
 5. 滴定曲線から結合定数を求める
 6. エクセルのソルバー機能を利用する非線形最小二乗フィッティング(実践)
- 非線形最小二乗法
<https://ist.ksc.kwansei.ac.jp/~nishitani/MapleHiki/?NonLinearFit>
 - エクセルを利用する非線形最小二乗フィッティング
https://science.shinshu-u.ac.jp/~tiiyama/?page_id=12039
<http://tsuyu.cocolog-nifty.com/blog/2010/07/excel-24f0.html>
<https://qiita.com/msano/items/dc96da37ce8ddd4a7c1d>

1. 結合定数(解離定数)

複数の化学種や生体分子が可逆的に解離・結合(会合)する系があるとき、その結合の強弱を示す値

- ゲスト(G)とホスト(H)が1:1錯体を形成する場合



G: ゲスト(基質)、H: ホスト(レセプター)、GH: 1:1錯体、
 K_a : 結合定数、 K_d : 解離定数

2. 結合定数を測定する手法

- 表面プラズモン共鳴 (SPR) センサー
- 等温滴定型カロリメトリー (ITC)
- 水晶振動子マイクロバランス (QCM) 法
- 吸収スペクトル法
- 蛍光スペクトル法
- 蛍光偏光解消法
- 核磁気共鳴 (NMR) スペクトル法
- CD スペクトル法
- サイクリックボルタンメトリー (CV) 法

※CV と NMR 以外は、吉本研で測定可能

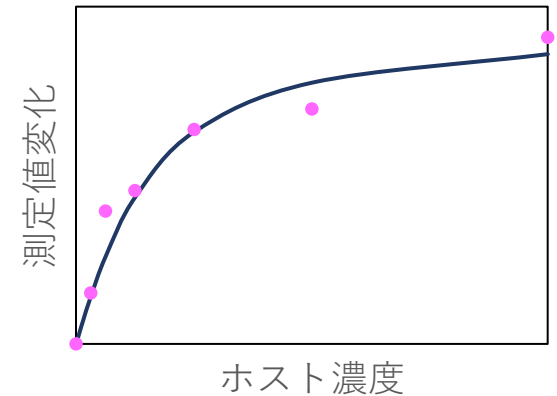
3. 滴定曲線の非線形フィッティングによる結合定数の算出

- 滴定曲線

ゲスト(あるいはホスト)分子の濃度を一定に保ち、ホスト(ゲスト)の濃度を連続的に変化させたときの物理量の変化を測定して作成する。

ゲスト(ホスト): 一定濃度

ホスト(ゲスト): 種々の濃度を加える



- 非線形最小二乗フィッティング

実験で得られた測定結果に理論式を当てはめ、最小二乗法により非線形の理論曲線(変数の収束値)を獲得すること。

→変数の中に結合定数(解離定数)が含まれる。

4. 滴定曲線の測定のコツ

- ①、②、③の測定値を多めに測定すること

※①、②、③の領域は、それぞれ少なくとも3点以上は必要。

①と③の測定点の充実: モル比法で正確な結合組成を算出する場合に重要。

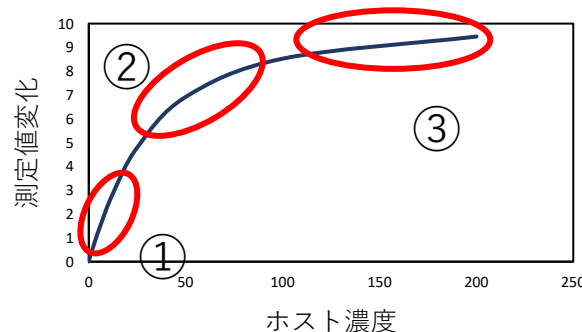
②と③の測定点の充実: 正確な結合定数を算出する場合に重要。

- ゲスト濃度を一定にしたとき

①ホスト << ゲスト: 錯体濃度が線形に上昇する領域

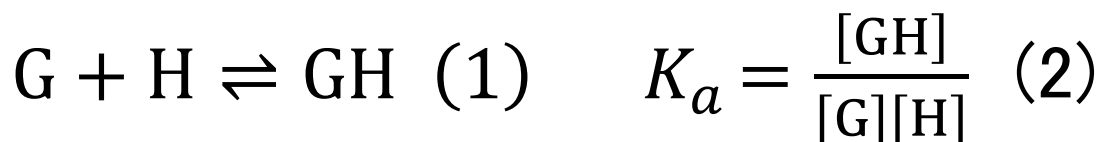
②ホスト \approx ゲスト: 錯体濃度が非線形に上昇する領域

③ホスト >> ゲスト: 錯体形成が終了する領域



5. 滴定曲線から結合定数を求める

[1] ゲストとホストが1:1錯体を形成する場合の平衡式(式1)と結合定数(式2)、物質収支式(式3・4)



$$[G_0] = [G] + [GH] \quad (3)$$

$$[H_0] = [H] + [GH] \quad (4)$$

G: ゲスト(基質)、H: ホスト(レセプター)、GH: 1:1錯体、
 K_a : 結合定数、 $[G_0]$: ゲストの初濃度、 $[H_0]$: ホストの初濃度

5. 滴定曲線から結合定数を求める2

[2] $[G_0]$ を一定、 $[H_0]$ を連続的に変化させたときゲストの特定波長における吸光度変化 ΔA_{obs} の式(式5)

前頁式3を式2に代入し、Lambert-beer式を用いる

$$\Delta A_{\text{obs}} = \frac{b \Delta \varepsilon_{11} K_a \Delta [G_0] [H]}{1 + K_a [H]} \quad (5)$$

- b : 光路長
- $\Delta \varepsilon_{11}$: 1:1錯体の分子吸光係数 ε_{11} からフリーゲストの分子吸光係数 ε_G を引いた値($\Delta \varepsilon_{11} = \varepsilon_{11} - \varepsilon_G$)

5. 滴定曲線から結合定数を求める3

- ホストとゲストの相互作用が比較的強い場合

$$\Delta A_{obs} = \frac{b\Delta\varepsilon}{2K_a} \left[1 + K_a[H]_0 + K_a[G]_0 - \left\{ (1 + K_a[H]_0 + K_a[G]_0)^2 - 4K_a^2[H]_0[G]_0 \right\}^{\frac{1}{2}} \right] \quad (6)$$

- 濃度と一次の対応をしているシグナルであれば、何でも構わない。

→吸光度変化 ΔA , 蛍光強度変化 ΔF , 蛍光偏光度変化 ΔmP , 化学シフト値変化 $\Delta\delta$ にも利用可能

6. エクセルのソルバー機能を利用する 非線形最小二乗フィッティング

- ソルバー機能

複数の変数を含む数式において、目標とする値を得るための、最適な変数の値を求めることができる機能。

- 実際にエクセルを動かしながら説明します。