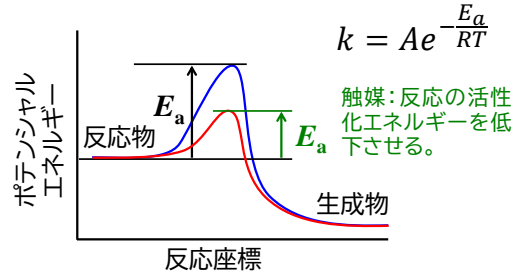


反応化学

1

触媒

遅い律速段階を避ける代替経路を提供することで、反応の活性化エネルギーを下げる。



2

酵素

均一系生体触媒

触媒としてはたらくタンパク質

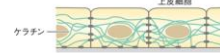
3

主なタンパク質の機能

構造タンパク質

・構造の維持

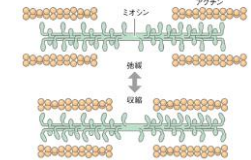
【例】爪や毛髪をはじめ、細胞の形態保持にはケラチンが重要な役割を果たす。結合組織の線維状網目構造は、コラーゲンやエラスチンによって構成されている。



運動タンパク質

・運動、収縮

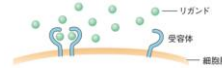
【例】細胞の移動には、細胞骨格であるアクチンが関与する。筋収縮の収縮はアクチンとミオシンの滑り反応で生じる。



受容体タンパク質

・細胞内外の化学刺激に対する応答

【例】細胞外のリガンドは、標的細胞の細胞膜に存在する受容体と結合し、刺激として感知される。



4

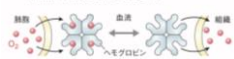
主なタンパク質の機能

輸送タンパク質

(例・ヘモグロビン)

・酵素や脂質などの物質を輸送

【例】赤血球中のヘモグロ빈は、鉄で取り込んだ酸素を結合し、全身の細胞へ運ぶ。細胞膜のフェリスチンやトランスフェリンは、細胞内外の物質を選択的に透過させる。



生体防御系タンパク質

・病原体や異物に対する防御

体内に侵入した細菌やウイルスは、抗体により免疫系が活性化し、排除される。



ホルモンタンパク質

・血流を介して標的器官に作用

【例】膵島から分泌されるインスリンは、主に脂肪と肝臓に受容され、グルコースの吸収を促し、血糖値を低下させる。



酵素タンパク質

・生体内の化学反応の促進

【例】でんぷん、蛋白質、中性脂肪などの高分子化合物は、消化酵素により低分子 (単糖、アミノ酸、脂肪酸) に分解される。



人体の正常構造と機能 (日本医事新報社(2017)より引用)

5

酵素

(例)

砂糖 $\xrightarrow[\text{(消化管内)}]{\text{スクラーゼ}}$ ブドウ糖・果糖

デンプン $\xrightarrow[\text{(だ液)}]{\text{アミラーゼ}}$ 麦芽糖

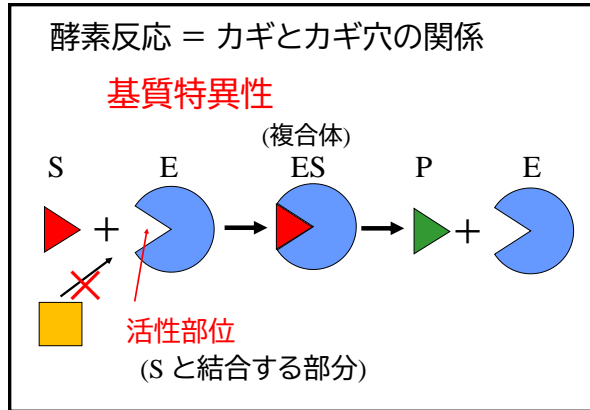
基質 (S) 酵素 (E) 生成物 (P)
(Substrate) (Enzyme) (Product)

微量、短時間で生化学反応を進行させる

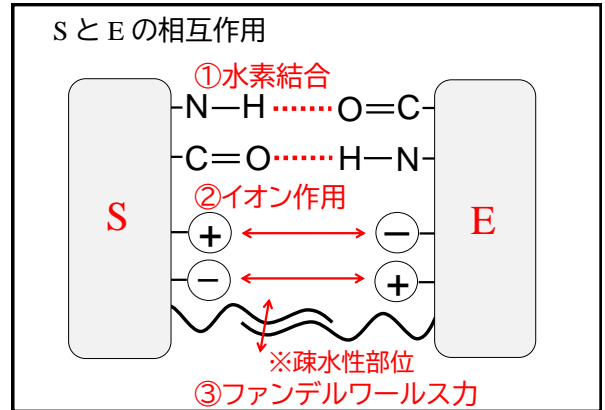
(触媒反応)



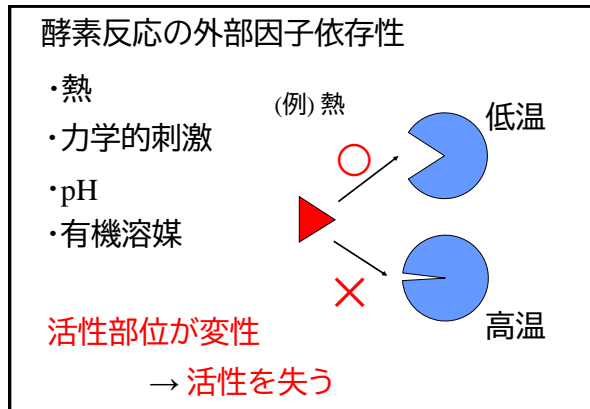
6



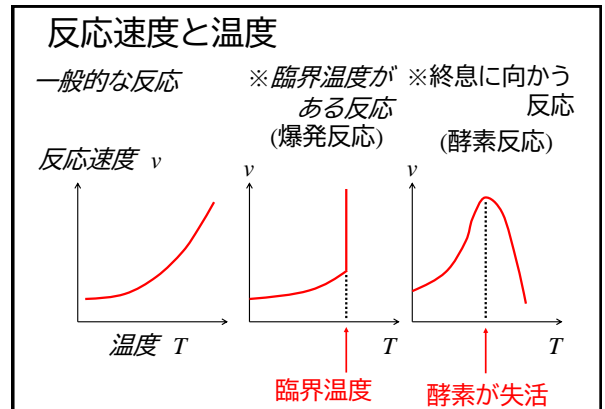
7



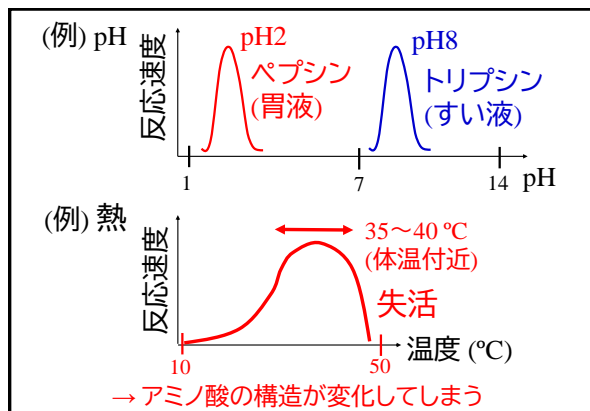
8



9



10



11

ミカエリス-メンテン機構

生成物Pの生成速度 v は

$$v = \frac{k_b[E]_0}{1 + K_M/[S]_0}$$

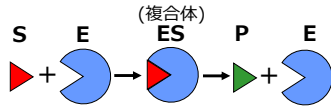
[S]: 基質の濃度
 K_M : ミカエリス定数

Leonor Michaelis
(1875-1949)

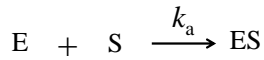
Maud L. Menten
(1879-1960)

12

酵素の反応速度



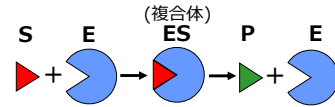
第1ステップ: 複合体ESの形成



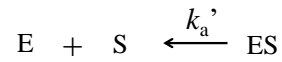
$$ES \text{の生成速度} = k_a[E][S]$$

13

酵素の反応速度



第2ステップ: ESの可逆反応

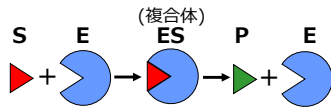
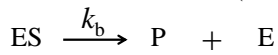


$$E, S \text{の生成速度} = k_a'[ES]$$

(ESの分解速度)

14

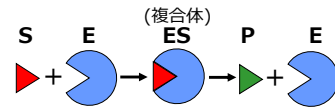
酵素の反応速度

第3ステップ: ESからのP生成とE脱離
(→ Eが再生される)

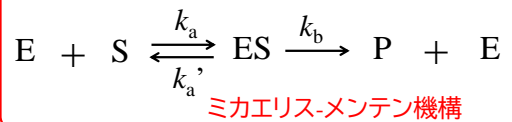
$$P \text{の生成速度} = k_b[ES]$$

15

酵素の反応速度

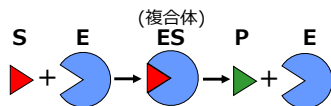


3つのステップをまとめると、



16

酵素の反応速度



遅い 速い

Eは単独もしくは複合体として存在

SはEより過剰量存在

17

ミカエリス-メンテン機構

- ✓ 基質のある初濃度 $[S]_0$ に対して、生成物が生成される初速度は酵素の全濃度 $[E]_0$ に比例する。
- ✓ ある $[E]_0$ において $[S]_0$ が小さいときは、生成物の生成速度は $[S]_0$ に比例する。
- ✓ ある $[E]_0$ において $[S]_0$ が大きいときは、生成物の生成速度は $[S]_0$ に依存しなくなり、最大速度 v_{\max} というある最大速度に達する。

18

ミカエリスメンテンの式

ミカエリスメンテン機構によると、生成物の生成速度は、

$$v = k_b[ES]$$

である。定常状態の近似を用いて、次のように書くことで酵素-基質複合体の濃度を得ることができる。

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_a[E][S] - k_a'[ES] - k_b[ES] \approx 0$$

これから、次の式が得られる。

$$[ES] = \frac{k_a[E][S]}{k_a' + k_b}$$

19

ミカエリスメンテンの式

$$[ES] = \frac{k_a[E][S]}{k_a' + k_b}$$

ここで、[E]と[S]はそれぞれ遊離の酵素と基質の濃度である。次にミカエリス定数を、

$$K_M = \frac{k_a' + k_b}{k_a}$$

と定義する。酵素と、加えた基質の濃度で速度式を表すために、 $[E]_0 = [E] + [ES]$ に着目し、

20

ミカエリスメンテンの式

$$[E]_0 = \frac{K_M[ES]}{[S]} + [ES] = [ES]\{1 + K_M/[S]\}$$

と書く。さらに、普通の基質は酵素に対して過剰量あるので、遊離の基質濃度は近似的に初濃度に等しく、

$$[S] \approx [S]_0$$

と書ける。したがって、

$$[ES] = \frac{[E]_0}{1 + K_M/[S]_0}$$

が得られる。

21

ミカエリスメンテンの式

$$v = k_b[ES]$$

に代入すると、

$$v = \frac{k_b[E]_0}{1 + K_M/[S]_0}$$

が得られる。

22

ミカエリスメンテンの式

$$v = \frac{k_b[E]_0}{1 + K_M/[S]_0}$$

ミカエリスメンテンの式は、以下のような実験の測定結果を説明できる。

$[S]_0 \ll K_M$ のとき、速度は $[S]_0$ に比例する。

$$v = \frac{k_b}{K_M} [S]_0 [E]_0$$

$[S]_0 \gg K_M$ のとき、速度は最大に達し、 $[S]_0$ に依存しなくなる。

$$v = v_{max} = k_b[E]_0$$

23

ミカエリスメンテンの式

$$v = \frac{k_b[E]_0}{1 + K_M/[S]_0}$$

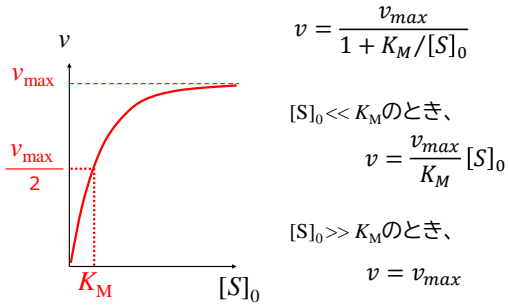
ミカエリスメンテンの式に $v_{max} = k_b[E]_0$ を代入すると、

$$v = \frac{v_{max}}{1 + K_M/[S]_0}$$

を得る。

24

ミカエリス–メンテンの式



25

ミカエリス定数の意味

$$K_M = \frac{k_a' + k_b}{k_a}$$

酵素と基質の親和性

K_M が大きい EとSの親和性が低い
 ESから酵素が解離しやすい

K_M が小さい EとSの親和性が高い
 ESが強く結合して形成される

26

 K_M と v の解析

$$v = \frac{v_{\max}}{1 + K_M/[S]_0} = \frac{v_{\max}[S]_0}{K_M + [S]_0}$$

イーディー–ホフステアのプロット
 (Eadie–Hofstee plot)

ラインウィーバー–バークのプロット
 (Lineweaver–Burk plot)

ヘインズ–ウルフのプロット
 (Hanes–Woolf plot)

27

イーディー–ホフステアのプロット

$$v = \frac{v_{\max}[S]_0}{K_M + [S]_0}$$

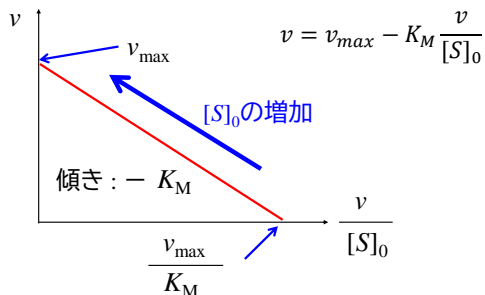
両辺に $(K_M + [S]_0)$ をかけて整理すると、線形回帰分析に都合の良い形に変形できる。

$$v(K_M + [S]_0) = v_{\max}[S]_0$$

$$v = v_{\max} - K_M \frac{v}{[S]_0}$$

28

イーディー–ホフステアのプロット



・ v_{\max} を精度良く求めるためには高濃度の $[S]_0$ が必要。
 ・ 精密な実験操作が必要。

29

ラインウィーバー–バークのプロット

$$v = \frac{v_{\max}[S]_0}{K_M + [S]_0}$$

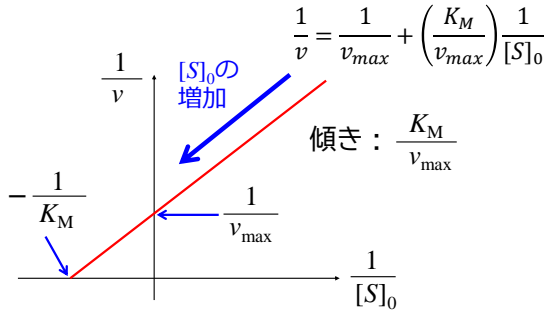
両辺の逆数をとることで、線形回帰分析に都合の良い形に変形できる。

$$\frac{1}{v} = \frac{K_M + [S]_0}{v_{\max}[S]_0}$$

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{v_{\max}} + \left(\frac{K_M}{v_{\max}} \right) \frac{1}{[S]_0}$$

30

ラインウィーバー-バークのプロット



・高濃度の $[S]_0$ が必要 (低濃度域だと誤差が生じやすい)

31

ヘインズ-ウルフのプロット

$$v = \frac{v_{\max}[S]_0}{K_M + [S]_0}$$

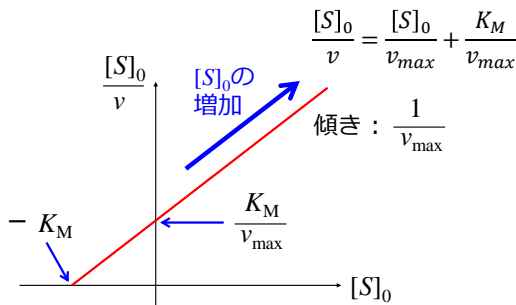
両辺の逆数を取り、両辺に $[S]_0$ をかけると、線形回帰分析に都合の良い形に変形できる。

$$\frac{1}{v} = \frac{K_M + [S]_0}{v_{\max}[S]_0}$$

$$\frac{[S]_0}{v} = \frac{[S]_0}{v_{\max}} + \frac{K_M}{v_{\max}}$$

32

ヘインズ-ウルフのプロット

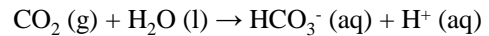


・低濃度の $[S]_0$ で解析。

33

例題1

炭酸デヒドラターゼは血液細胞中の CO_2 の水和を触媒し、炭酸イオンを生じる。



次のデータは、 $\text{pH}=7.1$ 、 273.5 K 、酵素濃度が 2.3 nmol L^{-1} のとき、この反応で得られたものである。

$[\text{CO}_2]_0 (\text{mmol L}^{-1})$	1.25	2.5	5	20
$v (\text{mmol L}^{-1} \text{ s}^{-1})$	2.78 $\times 10^{-2}$	5.00 $\times 10^{-2}$	8.33 $\times 10^{-2}$	1.67 $\times 10^{-1}$

この反応の最大速度とミカエリス定数を求めよ。

34

酵素の触媒効率

酵素のターンオーバー頻度 k_{cat} はある時間内に活性部位で起こる触媒反応サイクル (ターンオーバー) の数をその時間で割った量である。

この量は1次の速度定数と同じ単位で、ミカエリス-メンテン機構では酵素-基質複合体から生成物が離脱する速度定数 k_b と同じ値である。

$$v_{\max} = k_b [E]_0$$

なので、

$$k_{\text{cat}} = k_b = \frac{v_{\max}}{[E]_0}$$

となる。

35

酵素の触媒効率

酵素の触媒効率 η は、比 k_{cat}/K_M である。 η が大きいほど、酵素の効率が大きい。触媒効率は酵素反応の実効速度定数と考えられる。ミカエリス定数から、

$$\eta = \frac{k_{\text{cat}}}{K_M} = \frac{k_a k_b}{k_a' + k_b}$$

が求まる。

36

例題2 炭酸デヒドラーゼの触媒効率を求めよ。