

4.2 酵素反応速度論

酵素反応では、1個の基質に対して作用するものから、決まった順に複数の基質分子を結合するものまでさまざまである。酵素の反応機構を調べるうえで反応速度論は有力な手がかりを与える。酵素活性の測定は一定の温度、pH条件で、特定時間内の基質の減少速度あるいは生成物の生成速度を測定することによって行う。反応に影響を与える因子は温度、pH以外に時間、酵素量、基質濃度などがある。基質濃度以外の条件を一定にして基質濃度だけを変化させ酵素活性を測定すると、基質濃度が低いときには酵素活性は基質量に比例して上昇する(図4.5 a)。しかし基質量が多くな

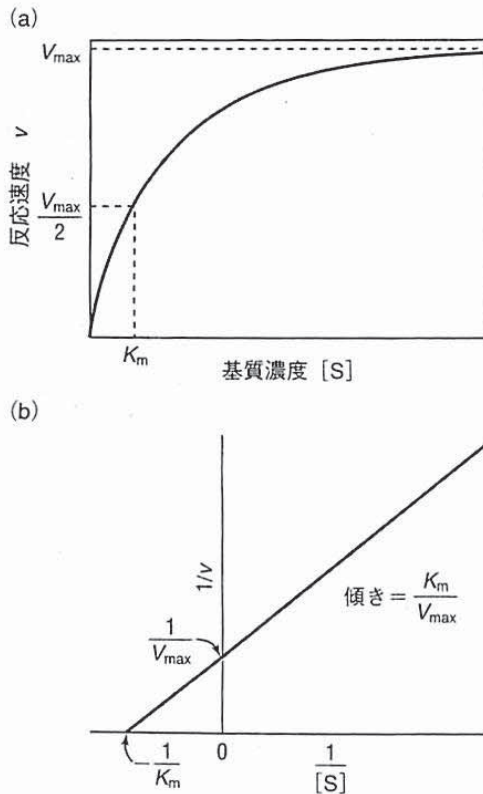
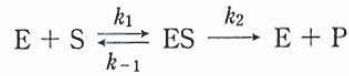


図4.5 酵素の反応速度 (a) ミカエリス・メンテンの式に従う酵素反応における反応速度 v と基質濃度 $[S]$ の関係。 V_{\max} : 最大反応速度, K_m : ミカエリス定数. (b) ラインウィーバー・パークプロット, ミカエリス定数と最大反応速度を直線の外挿から求められる。

な酵素反応を、酵素 (E) が基質 (S) と結合し、酵素-基質 (ES) 複合体を形成し、つぎに ES 複合体が解離し酵素と生成物 (P) を生成する下記の反応式で表した。



k_1, k_2, k_{-1} はそれぞれの反応定数である。また ES 複合体形成の定常状態では、

$$k_1[E][S] = (k_2 + k_{-1})[ES]$$

となる。また $K_m = (k_2 + k_{-1})/k_1$ とすると、

$$[ES] = \frac{[E][S]}{K_m}$$

全酵素濃度を $[E_t]$ とし、

$$[E] = [E_t] - [ES]$$

$$[ES] = \frac{[E_t][S]}{K_m + [S]}$$

酵素反応速度 v は、

$$v = k_2[ES] = \frac{k_2[E_t][S]}{K_m + [S]}$$

と表される。定常状態の酵素が基質ですべて飽和した状態では $[ES]$ は $[E_t]$ に近づく。このときの反応速度を V_{\max} とすると、

$$V_{\max} = k_2[E_t]$$

となる。したがって v は、

$$v = \frac{V_{\max}[S]}{K_m + [S]}$$

と表され、これを一般にミカエリス・メンテンの式という。 K_m はミカエリス定数とよばれ、最大反応速度 V_{\max} の 1/2 を示すときの基質濃度と等しい。酵素の K_m 値は酵素と基質の親和性を表し、 K_m 値が小さいということは低濃度の基質存在下で酵素反応が進行するということである。酵素の V_{\max} 値と K_m 値を求めるにはミカエリス・メンテンの式の逆数を取り、次式のように変形する。これをラインウィーバー・パークの式とよぶ。

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V_{\max}[S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$

基質濃度を変えて、反応速度 v を測定する。横軸に基質濃度の逆数 $1/[S]$ 、縦軸に反応速度の逆数 $1/v$ をとり、プロットすると直線になる(図4.5 b)。直線と縦軸の交点は $1/V_{\max}$ となり、横軸との交点は $-1/K_m$ となり、 V_{\max} および K_m を求めることができる。

につれその増加は小さくなり、あるところで飽和し一定になる。この活性を最大反応速度という。これはすべての酵素に基質が結合し、フル稼働している状態に対応する。L. Michaelis と M. Menten は、このよう