

19. 生命と物質

255. 酵素反応の反応速度

(3)

$E + S \rightleftharpoons E \cdot S$ において、 $K = \frac{[E \cdot S]}{[E][S]}$ が一定だから、

$[S] \rightarrow \infty$ のとき、 $[E] \rightarrow 0 \quad \therefore [E \cdot S] \rightarrow c$

よって、 $v_{\max} = k[H_2O] \cdot c = 5.0s^{-1} \times 0.30\text{mmol/L} = 1.5(\text{mmol/L})s^{-1}$

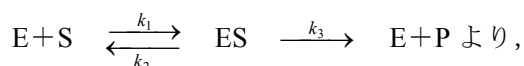
酵素反応の基本形 (1 基質反応)

反応機構図



$$\text{酵素反応速度} : V = \frac{V_{\max}}{1 + \frac{K_m}{[S]}} \quad \text{ただし, } K_m = \frac{k_2 + k_3}{k_1}$$

解説



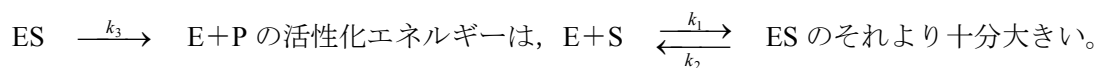
$$[E_t] = [E] + [ES]$$

$$v_1 = k_1[E][S]$$

$$v_2 = k_2[ES]$$

$$v_3 = k_3[ES]$$

また,



よって, 反応速度は $v_1 \approx v_2 \gg v_3$ である。

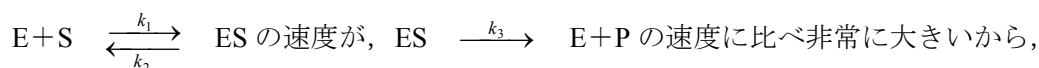
したがって, 酵素反応速度 = $ES \xrightarrow{k_3} E + P$ の反応速度とみなしてよい。

(全体の反応速度を決めるこのような反応段階を律速段階という。)

つまり, 酵素反応速度を V とすると, $V = v_3 = k_3[ES]$ としてよい。

したがって, 酵素反応速度 $V = \frac{V_{\max}}{1 + \frac{K_m}{[S]}}$ は, $v_3 = k_3[ES]$ を変形することで得られる。

では, $V = \frac{V_{\max}}{1 + \frac{K_m}{[S]}}$ を求めてみよう。



ごく短い時間においては P の生成量, すなわち S の減少量は無視してよい。

よって, $[S]$ は一定とみなしてよい。

したがって, $E + S \xrightleftharpoons[k_2]{k_1} ES$ の平衡定数 $K = \frac{[ES]}{[E][S]}$ から, $[ES]$ も一定とみなせる。

この[ES]が一定である状態を定常状態と呼ぶことにすると、
定常状態では、ESの生成速度と消失速度がつり合っているから、 $v_1 = v_2 + v_3$ である。

よって、

$$k_1[E][S] = k_2[ES] + k_3[ES] \quad \dots \textcircled{1}$$

また、

$$[E_t] = [E] + [ES] \text{ より、}$$

$$[E] = [E_t] - [ES] \quad \dots \textcircled{2}$$

①, ②より、

$$k_1([E_t] - [ES])[S] = k_2[ES] + k_3[ES]$$

$$[ES](k_1[S] + k_2 + k_3) = k_1[E_t][S]$$

$$\therefore [ES] = \frac{k_1[E_t][S]}{k_1[S] + k_2 + k_3}$$

$$\therefore [ES] = \frac{[E_t][S]}{[S] + \frac{k_2 + k_3}{k_1}}$$

酵素反応速度を V とすると、 $V = v_3$ としてよいから、 $V = k_3[ES]$ より、

$$V = \frac{k_3[E_t][S]}{[S] + \frac{k_2 + k_3}{k_1}}$$

ここで、 $\frac{k_2 + k_3}{k_1} = K_m$ とおくと、(K_m はミカエリス定数と呼ばれる定数である。)

$$V = \frac{k_3[E_t][S]}{[S] + K_m}$$

$$\therefore V = \frac{k_3[E_t]}{1 + \frac{K_m}{[S]}}$$

また、[ES]の理論上の最大値は $[E_t]$ だから、

$$V_{\max} = k_3[ES]_{\max} = k_3[E_t]$$

ゆえに、

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

ミカエリス定数 K_m の意味

$v_1 \approx v_2 \gg v_3$ より,

$$K_m = \frac{k_2 + k_3}{k_1} \approx \frac{k_2}{k_1}, \quad k_1[E][S] \approx k_2[ES]$$

よって,

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

つまり, ミカエリス定数 K_m は ES の解離定数に近似できる。

よって, ミカエリス定数 K_m は基質と酵素の親和性の大きさの指標となる。

また,

$$V = \frac{V_{\max}}{2} \text{ のとき, } V = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]} \text{ より, } K_m = [S]$$

よって,

基質濃度と反応速度の関係を調べたとき

$V = \frac{V_{\max}}{2}$ となるときの基質濃度とミカエリス定数 K_m が一致する。

まとめ



$$[E_t] = [E] + [ES]$$

$$[S_t] = [S] + [ES]$$

$$v_1 = k_1[E][S]$$

$$v_2 = k_2[ES]$$

$$v_3 = k_3[ES]$$

定常状態において、 $v_1 = v_2 = v_3$ より、

$$k_1[E][S] = k_2[ES] + k_3[ES]$$

ここで、 $v_3 = k_3[ES]$ を求めるにあたって、 $[E]$ はじやまだから、

$[E] = [E_t] - [ES]$ を代入し、 $[E]$ を消去すると、

$$k_1([E_t] - [ES])[S] = k_2[ES] + k_3[ES]$$

$$[ES](k_1[S] + k_2 + k_3) = k_1[E_t][S]$$

$$[ES] = \frac{[E_t][S]}{\frac{k_2 + k_3}{k_1} + [S]}$$

酵素反応速度を V とすると、 $V = v_3$ としてよいから、

$$V = k_3[ES]$$

よって、

$$V = \frac{k_3[E_t][S]}{\frac{k_2 + k_3}{k_1} + [S]} = \frac{V_{\max}[S]}{K_m + [S]}$$

ミカエリス定数 K_m の意味

$$v_1 \approx v_2 \gg v_3 \text{ より、 } K_m = \frac{k_2 + k_3}{k_1} \approx \frac{k_2}{k_1}, \quad k_1[E][S] \approx k_2[ES]$$

$$\text{よって、 } K_m \approx \frac{[E][S]}{[ES]} = K_s$$

つまり、ミカエリス定数 K_m は ES の解離定数に近似できる。

よって、ミカエリス定数 K_m は基質と酵素の親和性の大きさの指標となる。

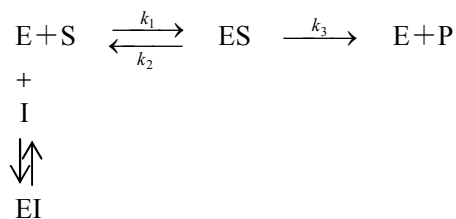
$$\text{また、 } V = \frac{V_{\max}}{2} \text{ のとき、 } V = \frac{V_{\max}[S]}{K_m + [S]} \text{ より、 } K_m = [S]$$

よって、基質濃度と反応速度の関係を調べたとき

$$V = \frac{V_{\max}}{2} \text{ となるときの基質濃度とミカエリス定数 } K_m \text{ が一致する。}$$

競争阻害（拮抗阻害）への応用

競争阻害の反応機構図



$$\text{酵素反応速度} : V = \frac{V_{\max}}{1 + \frac{K_m}{[\text{S}]} \left(1 + \frac{[\text{I}]}{K_I} \right)}$$

ただし,

$$K_m = \frac{k_2 + k_3}{k_1}$$

$$K_I = \frac{[\text{E}][\text{I}]}{[\text{EI}]}$$

解説

$$[\text{E}_t] = [\text{E}] + [\text{ES}] + [\text{EI}] \quad \dots \textcircled{1}$$

EI の解離定数を K_I とおくと,

$$K_I = \frac{[\text{E}][\text{I}]}{[\text{EI}]} \quad \dots \textcircled{2}$$

定常状態において, $v_1 = v_2 + v_3$ より,

$$k_1[\text{E}][\text{S}] = k_2[\text{ES}] + k_3[\text{ES}] \quad \dots \textcircled{3}$$

まず, $[\text{EI}]$ を消去する。

$$\textcircled{2} \text{より, } [\text{EI}] = \frac{[\text{E}][\text{I}]}{K_I}$$

これを①に代入すると,

$$[\text{E}_t] = [\text{E}] + [\text{ES}] + \frac{[\text{E}][\text{I}]}{K_I}$$

続いて, この式を $[\text{E}]$ の等式に変形する。

$$[\text{E}] \cdot \left(1 + \frac{[\text{I}]}{K_I} \right) = [\text{E}_t] - [\text{ES}]$$

$$\therefore [\text{E}] = \frac{[\text{E}_t] - [\text{ES}]}{1 + \frac{[\text{I}]}{K_I}} \quad \dots \textcircled{4}$$

③, ④より,

$$k_1 \left\{ \frac{[E_t] - [ES]}{1 + \frac{[I]}{K_I}} \right\} [S] = (k_2 + k_3)[ES]$$

$$\left\{ \frac{[E_t] - [ES]}{1 + \frac{[I]}{K_I}} \right\} [S] = \frac{k_2 + k_3}{k_1} [ES]$$

$$\left\{ \frac{[E_t] - [ES]}{1 + \frac{[I]}{K_I}} \right\} [S] = K_m [ES]$$

$$[E_t][S] - [ES][S] = K_m [ES] \cdot \left(1 + \frac{[I]}{K_I} \right)$$

$$[ES] \left\{ [S] + K_m \left(1 + \frac{[I]}{K_I} \right) \right\} = [E_t][S]$$

$$[ES] = \frac{[E_t][S]}{[S] + K_m \left(1 + \frac{[I]}{K_I} \right)}$$

$$[ES] = \frac{[E_t]}{1 + \frac{K_m}{[S]} \left(1 + \frac{[I]}{K_I} \right)}$$

酵素反応速度を V とすると, $V = v_3$ としてよいから,

$$V = k_3 [ES]$$

よって,

$$V = \frac{k_3 [E_t]}{1 + \frac{K_m}{[S]} \left(1 + \frac{[I]}{K_I} \right)}$$

ゆえに,

$$V = \frac{V_{\max}}{1 + \frac{K_m}{[S]} \left(1 + \frac{[I]}{K_I} \right)}$$