

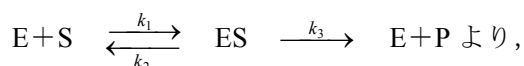
## 酵素反応の基本形 (1 基質反応)

## 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



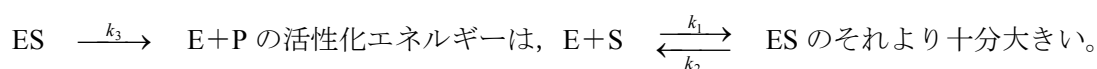
$$[E_t] = [E] + [ES]$$

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

$$v_2 = k_2[ES]$$

$$v_3 = k_3[ES]$$

また,



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

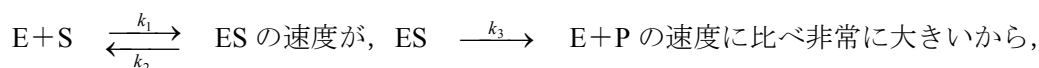
したがって, 酵素反応速度 =  $ES \xrightarrow{k_3} E + P$  の反応速度とみなしてよい。

(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。

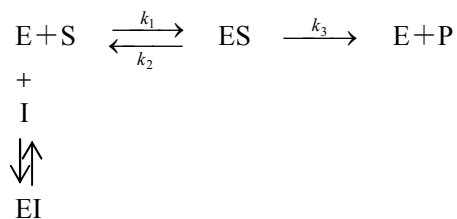
$$\text{また, } V = \frac{V_{\max}}{2} \text{ のとき, } V = \frac{V_{\max}[S]}{K_m + [S]} \text{ より, } K_m = [S]$$

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



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

ただし,

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

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

## 解説

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

EIの解離定数を $K_I$ とおくと,

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

定常状態において,  $v_1 = v_2 + v_3$  より,

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

まず, [EI]を消去する。

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

これを①に代入すると,

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

続いて, この式を[E]の等式に変形する。

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

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

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,

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

## 補足

## アロステリック酵素

## アロステリック酵素

酵素の中には基質と酵素が反応する部位（活性部位）以外の部位（アロステリック部位）をもつものがあり、そのような酵素をアロステリック酵素という。

アロステリック部位には、特定の調節物質（エフェクター）が結合し酵素タンパク質の立体構造を変化させることで酵素活性、つまり酵素反応速度の調節を行う。

ちなみに、アロステリック **allosteric** とは「立体的に異なる」という意味で、発見当初、アロステリック部位に結合する物質が基質とは立体構造が異なる物質であったことからそう呼ばれた。

現在では、基質がエフェクターとして働くものも知られており、エフェクターが基質や生成物の場合、それをホモトロピックエフェクター、基質や生成物以外のエフェクターをヘテロトロピックエフェクターという。

**反応速度曲線が S 字カーブ (sigmoidal curve) ならばアロステリック酵素である。**

基質がエフェクターを兼ね、基質がアロステリック部位に結合すると活性が低い  $E_0$  型から高い  $E_A$  型になる酵素の場合、基質濃度が低いときは活性が低い  $E_0$  型の割合が高いので反応速度曲線は  $E_0$  型に近いが、基質濃度を高くしていくと活性が高い  $E_A$  型の割合が高くなるので反応速度曲線は  $E_A$  型に近くなる。

つまり、基質濃度の増加に伴い酵素反応速度が  $E_0$  型から  $E_A$  型へとシフトしていく。

よって、横軸に基質濃度、縦軸に反応速度をとると、反応速度曲線は S 字カーブを描く。

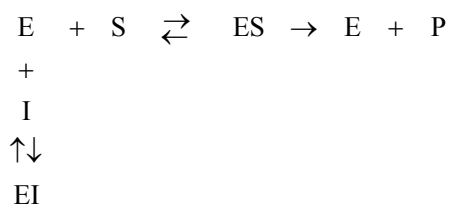
また、その酵素が酵素反応を抑制するアロステリック部位ももつならば、抑制物質濃度を一定にした場合、その S 字カーブは基質濃度方向に平行移動したものになる。

**酵素反応阻害のパターン**

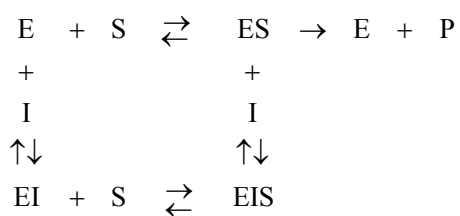
E : 酵素, S : 基質, I : 阻害剤, P : 生成物とする。

**競争阻害**

阻害剤が酵素の活性部位またはその近くに結合して酵素活性を阻害する。

**非競争阻害**

酵素または酵素基質複合体と可逆的に結合して酵素活性を阻害する。

**不競争阻害 (反競争阻害)**

酵素基質複合体とだけ可逆的に結合し, 遊離の酵素とは結合しない阻害。

