

第3章

酵素の性質と働き

- 1 酵素とは
- 2 酵素の種類
- 3 酵素の特性
- 4 酵素反応速度論
- 5 アイソエンザイム
- 6 血清酵素の診断への利用

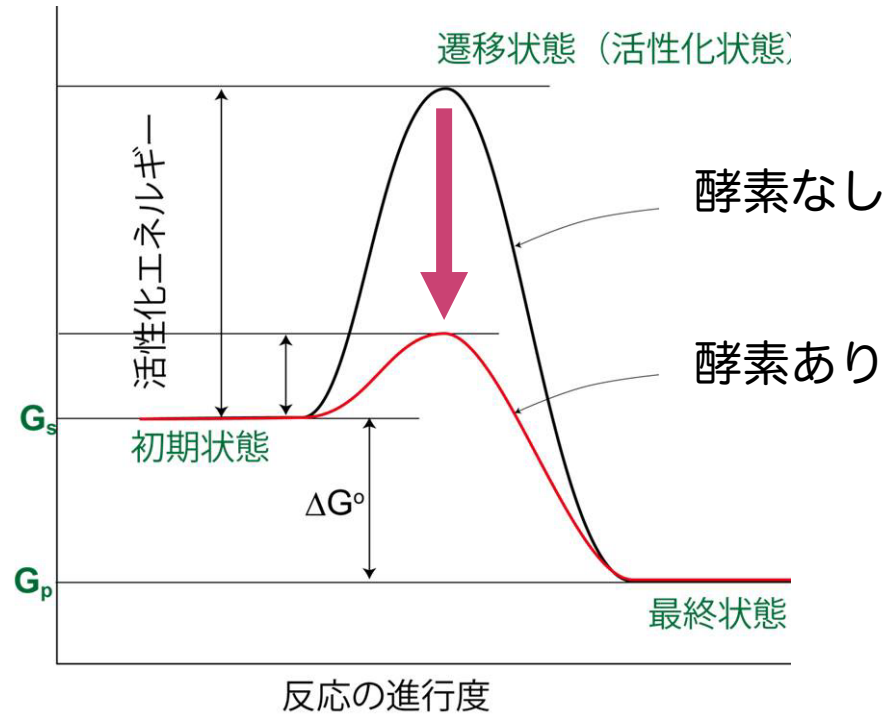
20190926
生化学③

酵素とは

生体触媒 (タンパク質)

触媒：

- 反応物質以外のもの
- 自身は変化しない
- 活性化エネルギーを小さくする
- 反応速度を上げる
- 平衡を変えることはない
- 平衡に至るまでの時間を短くする



酵素反応

①酵素には触媒作用を行う特定の部位（活性中心）があり、
基質が酵素の基質結合部位（活性中心）に結合する



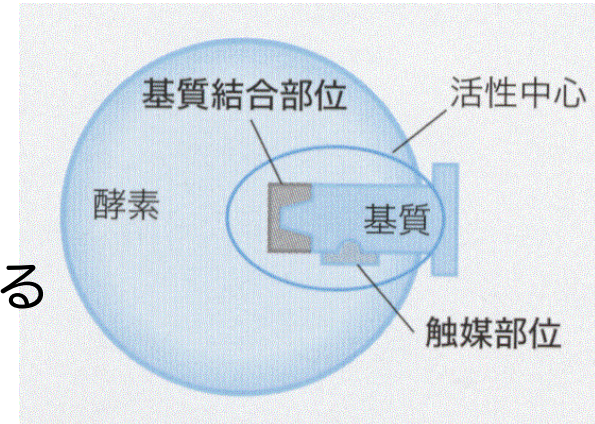
②複合体となり，触媒作用発揮する



③基質が生成物に変化し，酵素から離れる



④酵素は再び基質と結合する



E: enzyme (酵素)

S: substrate (基質)

ES: ES complex (酵素-基質複合体)

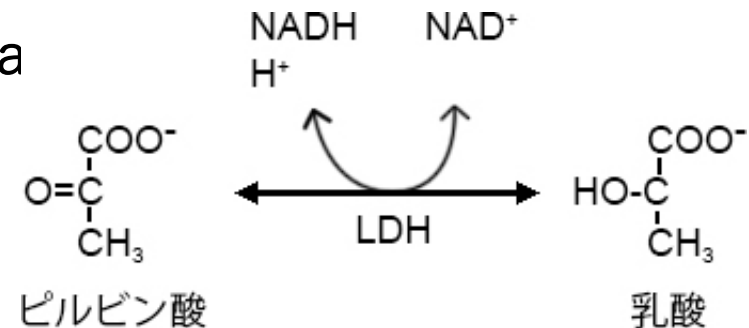
P: product (生成物)

酵素の種類

酵素番号 EC : enzyme commission numbers

反応の種類により6群に分類され、番号がついている

1. 酸化還元酵素 (オキシドレダクターゼ, oxidoreductase)
2. 転移酵素 (トランスフェラーゼ, transferase)
3. 加水分解酵素 (ヒドロラーゼ, hydrolase)
4. 脱離酵素 (リアーゼ, lyase)
5. 異性化酵素 (イソメラーゼ, isomera)
6. 合成酵素 (リガーゼ, ligase)



- 4桁で表示, ドットで区切る
- 左端数字が上記1-6の分類
- 2桁目からは反応特異性, 基質などによって分類
- IUBMB (国際生化学分子生物学連合) によって決定

EC 1.1.1.27 L-Lactate: NAD⁺ oxidoreductase 系統名
lactate dehydrogenase 常用名
(乳酸デヒドロゲナーゼ, 乳酸脱水素酵素)

1. 酸化還元酵素 オキシドレダクターゼ

基質分子の酸化，還元反応を触媒し，多くの場合，酸素あるいは水を付加または除去する．酸化と還元反応は同時に起こるため，基質の酸化，還元に伴い，還元か，酸化される補酵素を必要とする．

- 脱水素酵素 デヒドロゲナーゼ
- 酸化酵素 オキシダーゼ
- 酸素添加酵素 オキシゲナーゼ
- 過酸化水素を基質とする酵素 ペルオキシダーゼ
カタラーゼ

EC 1.1.1.1 アルコール脱水素酵素



代表的な酸化還元酵素．

肝臓に存在し，アルコールをアルデヒドに酸化する．

酵素の系統名（正式名）

EC 1.1.1.1 アルコール：NAD⁺ 酸化還元酵素

2. 転移酵素 トランスフェラーゼ

ある分子から他の分子に1個の原子団を転移する反応を触媒

- トランスアミナーゼ **アミノ基転移**

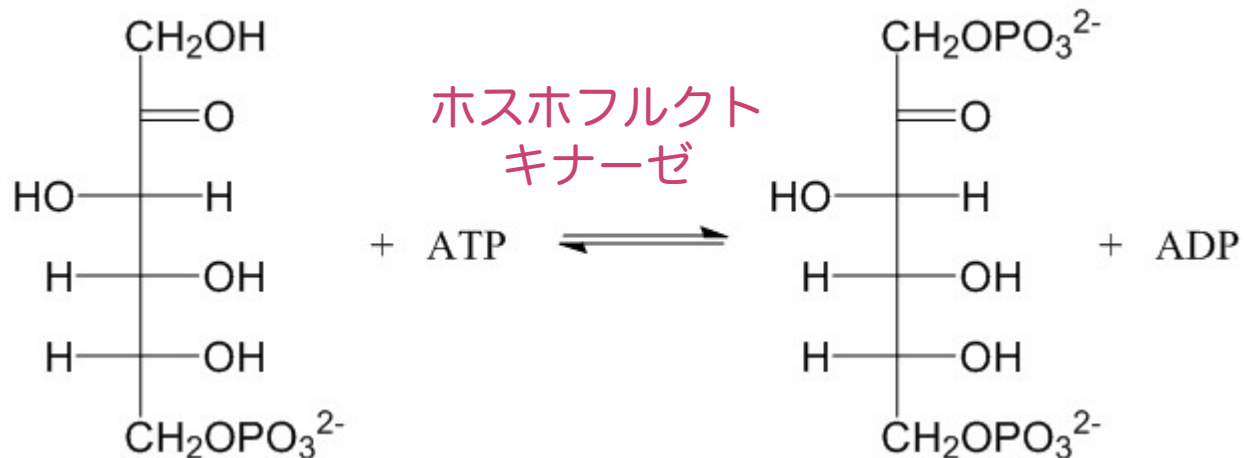
AST (GOT) アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ

ALT (GPT) アラニンアミノトランスフェラーゼ

- キナーゼ **リン酸転移**

クレアチンキナーゼ

ヘキソキナーゼ



フルクトース6-リン酸

フルクトース1,6-ビスリン酸

3. ヒドロラーゼ 加水分解酵素

加水分解（水を付加して結合を分解する）

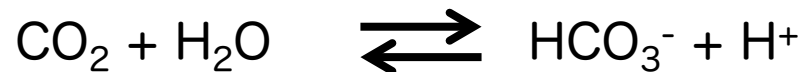
- エステル
 - ホスファターゼ（リン酸エステル）
 - リパーゼ
 - ヌクレアーゼ
- グリコシド結合
 - α -アミラーゼ（デンプン）
 - マルターゼ（マルトース 麦芽糖）
 - スクラーゼ（スクロース ショ糖）
 - ラクターゼ（ラクトース 乳糖）
- ペプチド結合
 - ペプシン
 - トリプシン
 - キモトリプシン
 - アミノペプチダーゼ
 - カルボキシペプチダーゼ
 - ジペプチダーゼ

4. リアーゼ 脱離酵素

基質の分子から一部の原子団を切り離して二重結合を作ったり、逆に、新たな原子団を基質の二重結合部分に割り込ませたりする反応を触媒

シンターゼ（ATPを使わない）ともいう。

EC 4.2.1.1 炭酸脱水酵素 carbonic anhydrase

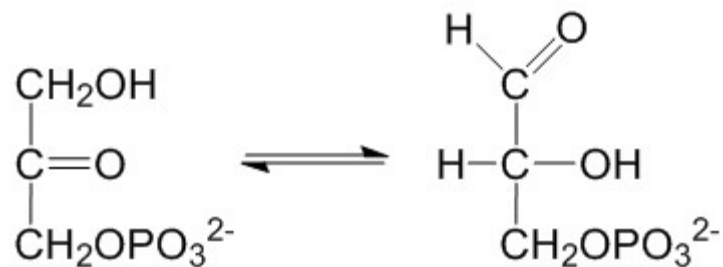


炭酸水素イオン
(重炭酸イオン)

5. イソメラーゼ 異性化酵素

1個の基質から1個の生成物（異性体）

EC 5.3.1.10 トリオースリン酸イソメラーゼ



ジヒドロキシアセトンリン酸

グリセルアルデヒド 3-リン酸

6. リガーゼ 結合酵素, 合成酵素

2個の分子の結合. 通常ATPからADPの変換が必要
シンテターゼともいう.

EC 6.5.1.1 DNAリガーゼ

5'-AGTCTGATCTGACC
3'-TCAGACTAGACTGGAGCT

TCGAGGTATGCTAGTGCT-3'
CCATACGATCACGA-5'



5'-AGTCTGATCTGACCTCGAGGTATGCTAGTGCT-3'
3'-TCAGACTAGACTGGAGCTCCATACGATCACGA-5'

酵素（反応）の特性

1. 活性部位 active site
2. 酵素反応の第一段階は酵素-基質複合体 (ES) の生成
3. ESは酵素-生成物複合体 (EP) に変わり、ついで酵素と生成物 (P) に解離する
4. 触媒効率：反応速度 10^6
5. 高い特異性（基質特異性，反応特異性）
6. 調節可能
7. 細胞内局在
8. 温和な条件（常温，常圧，中性付近のpH），ごく微量，水溶液中
9. 平衡を変えない
10. 活性化エネルギーを低下させる
11. 酵素は触媒であり，反応の前後で酵素濃度は変化しない。
12. その他（アイソザイム，変性，酵素阻害剤が医薬品）

13. 触媒作用のあるRNA分子 (リボザイム) を除くと、ほぼすべての酵素はタンパク質である。
14. タンパク質単独で触媒活性をもつ酵素、補因子と呼ばれる別の化学物質を必要とする酵素もある。
15. 補因子には Fe^{2+} や Cu^{2+} などの金属イオンや補酵素と呼ばれる有機化合物がある。
16. 補因子が酵素タンパク質と強固に結合している場合は、それらの補因子を補欠分子族とよぶ。
17. 補酵素や金属を結合して完全な触媒作用があるとき、ホロ酵素とよび、結合していないタンパク質部分だけの酵素をアポ酵素とよぶ。
18. 補酵素は水溶性ビタミンであることが多く、酵素反応において特定の官能基の運搬体として作用する。

基質特異性

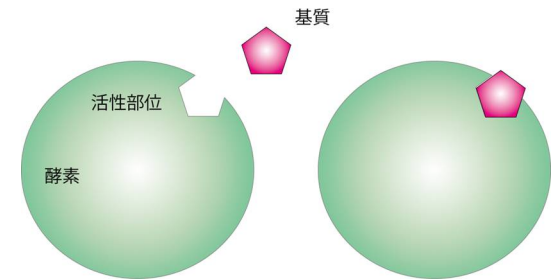
- 類似した構造をもつ限られた化合物に対して同じタイプの反応を触媒する**基質特異性**をもっている。
- 酵素分子内の基質が結合する部分を**活性中心（活性部位）**とよぶ。
- 基質と活性中心の構造は、鍵と鍵穴のように相補的であると考えられてきた（**鍵と鍵穴説**）
- 最近、基質が近づくと酵素の活性中心が構造変化して基質と結合する（**誘導適合説**）が提唱されている

基質特異性の例

α -アミラーゼ（唾液、膵臓）は α -1,4結合でつながったアミロースを分解できるが、 β -1,4結合でつながったセルロースを分解できない
セルラーゼはアミロースを分解できないが、セルロースを分解できる

鍵と鍵穴モデル（1894年）

酵素が酵素-基質複合体を形成する時、酵素が極めて高い特異性で基質を認識する機構は、鍵穴が鍵を正しく識別する機構に類似するものと考えた。

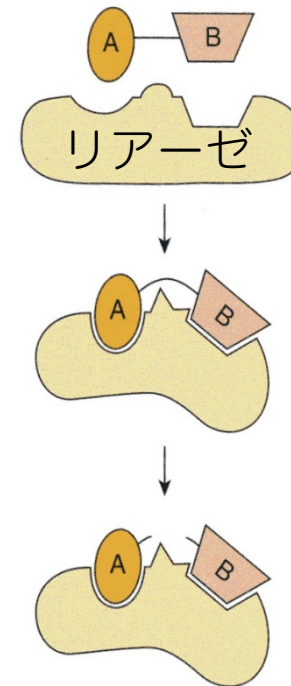


誘導適合モデル（1968年）

基質の結合が酵素の立体構造の変化を誘導

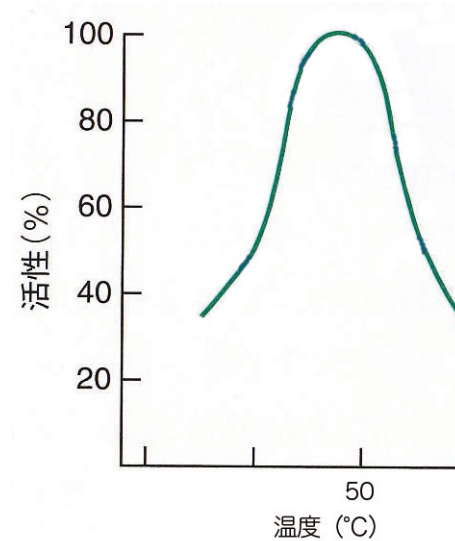
例) リアーゼの活性部位

- ①基質A-Bが酵素に結合する
- ②酵素のコンホメーションが変化
(酵素の触媒に関与する残基が適正に配置される)
- ③AとBとの間の結合にひずみが生じてその切断が容易になる



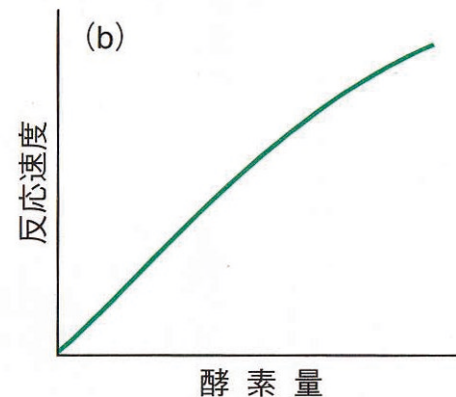
温度

- 温度が高くなると，運動エネルギーが高まり，反応物の衝突頻度が増え，反応速度が上昇
- 10°Cの温度上昇により速度2倍
- より高温になると，酵素の三次元構造を形成している非共有結合を破壊（変性）する。
- ヒト酵素では45-55°C
- Taq ポリメラーゼ（高温でも安定）



酵素濃度

反応速度は酵素濃度に比例する
ある量を超えると増加は少なくなる

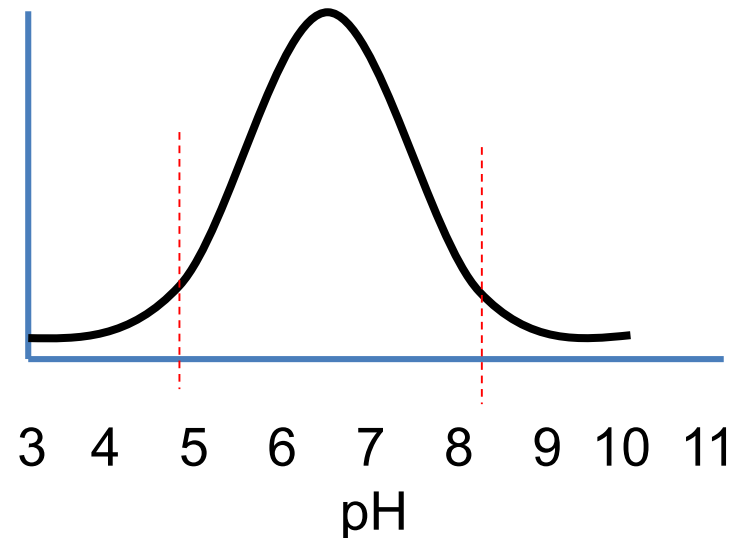


pH

- 酵素の活性部位の荷電状態
- 酵素の変性 極端なpHは酵素の変性をもたらす可能性
- 基質の荷電状態
- 酵素が最大の活性を示すpHを至適pH optimal pH

ペプシン (胃) 2
トリプシン (十二指腸) 8

活性 (%)



イオン強度

反応液の電解質濃度に影響を受ける。
高塩濃度では反応が阻害されることが多い

基質濃度の影響

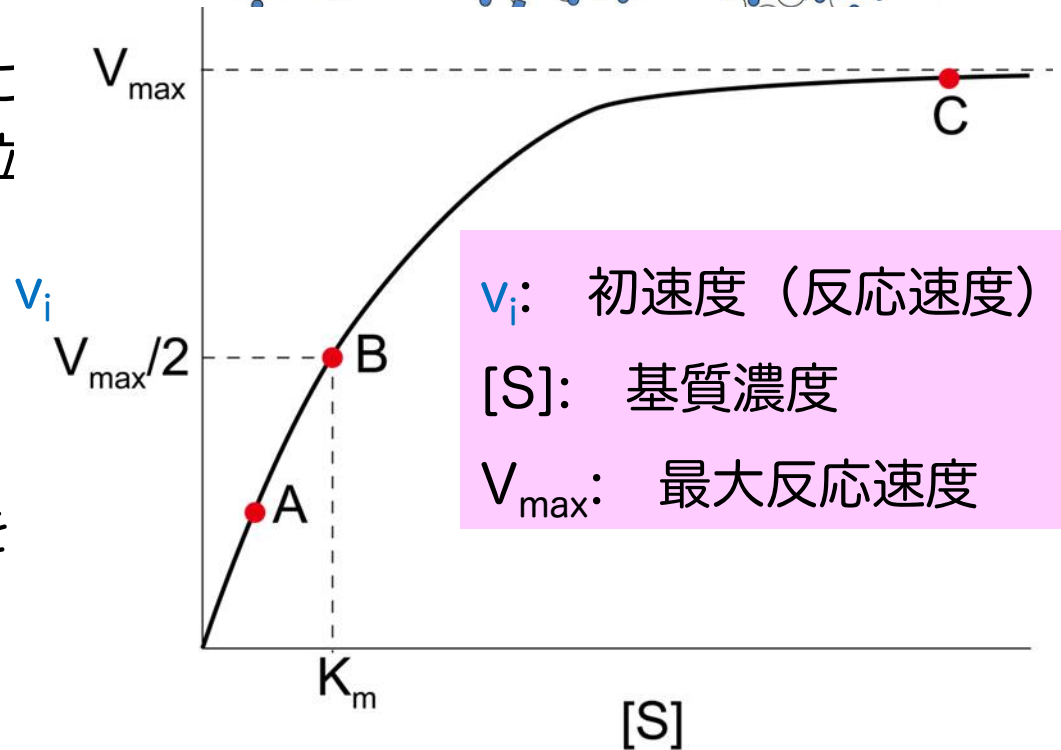
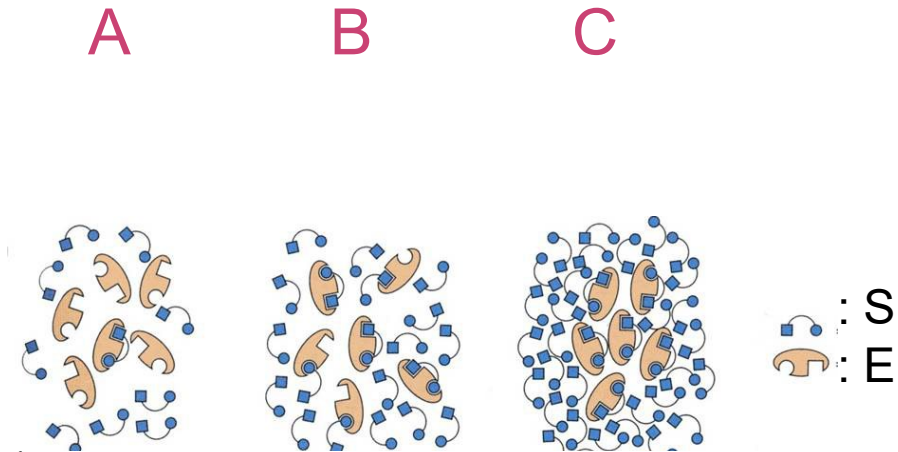
一定量の酵素

反応速度は基質の濃度に比例
(A点, B点) .

ある濃度以上では一定の値に
近づく. 酵素分子の結合部位
が基質で飽和 (C点) .

この値を最大速度とよび,
 V_{max} で表す.

最大反応速度の1/2の速度を
与える基質濃度を
ミカエリス定数 (K_m)

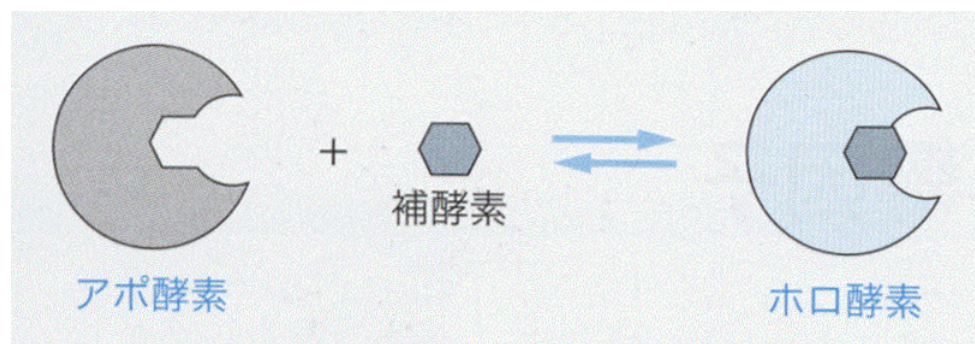


補助因子を必要とする酵素

補助因子：非タンパク質性低分子化合物や金属イオン

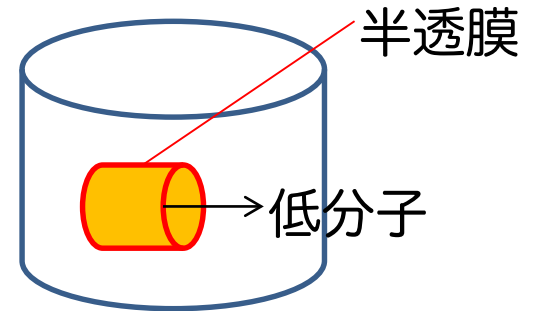
- 補欠分子族 prosthetic group
- 補因子 cofactor
- 補酵素 coenzyme

アポ酵素(apoenzyme) + 補助因子 → ホロ酵素(holoenzyme)



補欠分子族：酵素分子に強固に組み込まれている

- ピリドキサーリン酸
- フラビンモノヌクレオチド
- フラビンアデニンモノヌクレオチド
- チアミンピロリン酸
- ビオチン
- 金属 Co, Cu, Mg, Mn, Zn
(金属酵素 metalloenzyme)



透析で除かれない

補因子：酵素あるいは基質と可逆的に会合

酵素，あるいはATPの様な基質と，容易に解離しうる形で一時的に結合する = 透析により除くことが可能

- 金属イオン
(金属により活性化される酵素：metal-activated enzyme)

補酵素

小有機分子

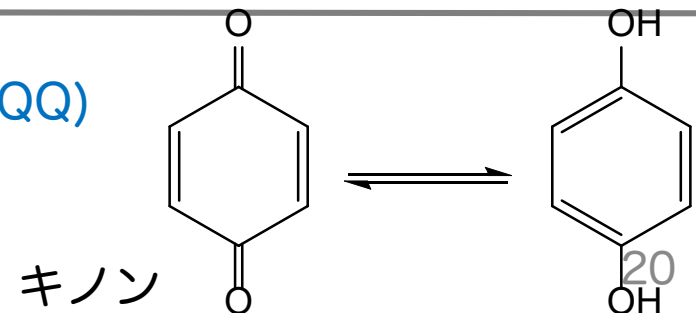
ビタミンC
ビタミンK

ビタミンB群	補酵素	転移させる官能基
B ₁ (thiamine)	チアミンピロリン酸 (TPP)	アルデヒド
B ₂ (flavin)	FMN, FAD	水素 (電子)
B ₆	ピリドキサルリン酸 (PLP)	アミノ基 (-NH ₂)
ナイアシン	NAD ⁺ , NADP ⁺	水素 (電子)
パントテン酸	補酵素A (CoA)	アシル基 (-CO-R)
B ₁₂	デオキシアデノシルコバラミン メチルコバラミン	水素 メチル基
ビオチン	ビオチン	カルボキシ基
葉酸	テトラヒドロ葉酸	1単位 (ホルミル基など)

キノン

ピロロキノリンキノン (PQQ)

ATP, UDPG



酵素反応速度論

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

ミカエリス・メンテンの式

$[S] \ll K_m$ の時

$$K_m + [S] \doteq K_m$$

$$v = k [S]$$

$[S] = K_m$ の時

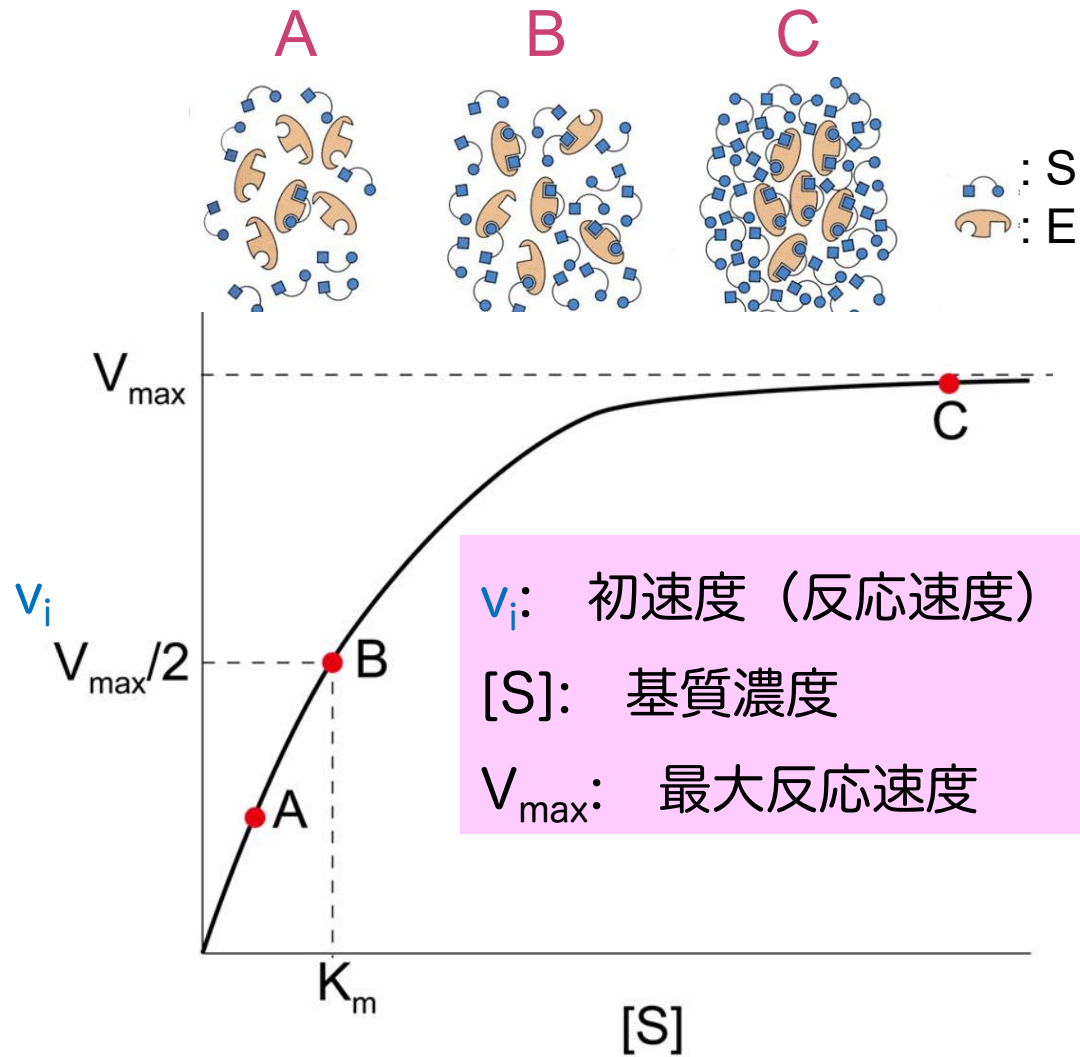
$$K_m + [S] = 2[S]$$

$$v = V_{\max}/2$$

$[S] \gg K_m$ の時

$$K_m + [S] \doteq [S]$$

$$v = V_{\max}$$



ラインウィーバー・バークのプロット

図3-12

ミカエリス・メンテン式の両辺の逆数をとれば、

$$1/v = (K_m + [S]) / V_{\max}[S]$$

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

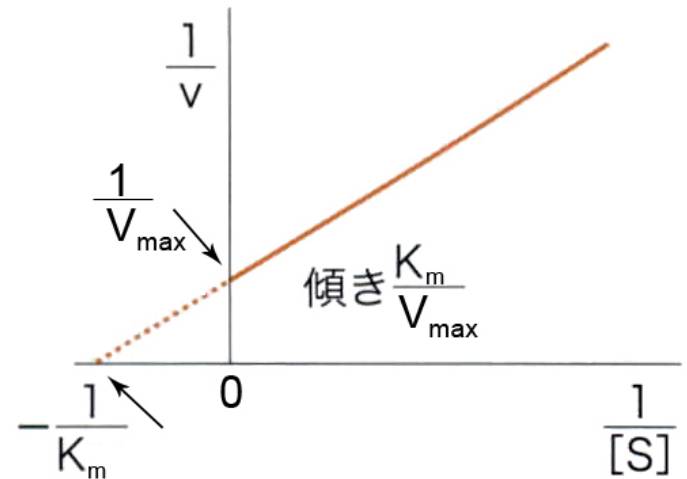
$$1/v = K_m/V_{\max}[S] + [S]/V_{\max}[S]$$

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

K_m や V_{\max} を求めるのに使われる。

基質濃度を変えて反応を行い、それぞれの初速度を測定する。

基質濃度の逆数 $1/[S]$ を横軸に、反応速度の逆数 $1/v$ を縦軸に図示（二重逆数プロット）すると、傾きが K_m/V_{\max} 、縦軸の交点が $1/V_{\max}$ 、横軸の交点が $-1/K_m$ を与える直線が得られる。



K_m 値の活用

K_m 値の小さい方が酵素と基質の親和性が大きい

1. 一つの酵素に対して複数の基質がある場合,
どの基質が反応しやすいか
2. 一つの基質に対して複数の酵素がある場合,
どの酵素がおもに働くか
3. 代謝経路の推察ができる
4. 生体内での濃度を推察できる
酵素活性測定時の基質濃度がわかる

阻害剤 inhibitor

- 抗生物質
- 抗がん剤
- 食品保存剤
- 殺虫剤
- 化学兵器

酵素の特定の部位に結合して反応速度を低下させる物質

阻害剤の分類

- **不可逆的阻害**：酵素の活性中心に度結合すると離れない物質

有機リン化合物（パラチオン， マラチオン， サリン）

セリンプロテアーゼ（アセチルコリンエステラーゼ）を不可逆的に阻害
活性部位のセリン残基を特異的にリン酸化

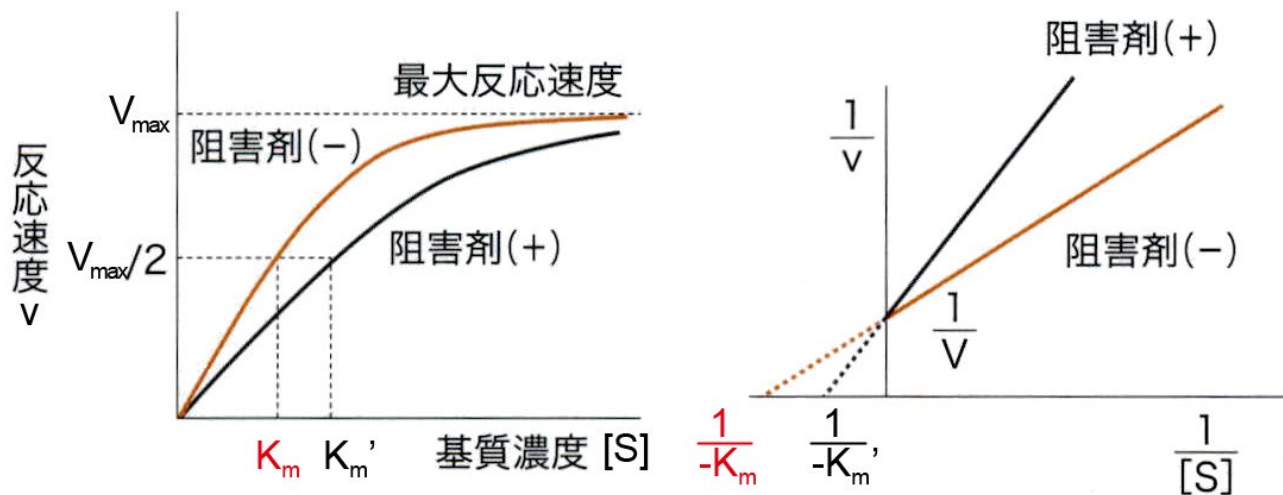
- **可逆的阻害**：結合するが条件を変えると離れる物質

拮抗（競合）阻害：基質と化学構造が類似----- V_{max} 不変

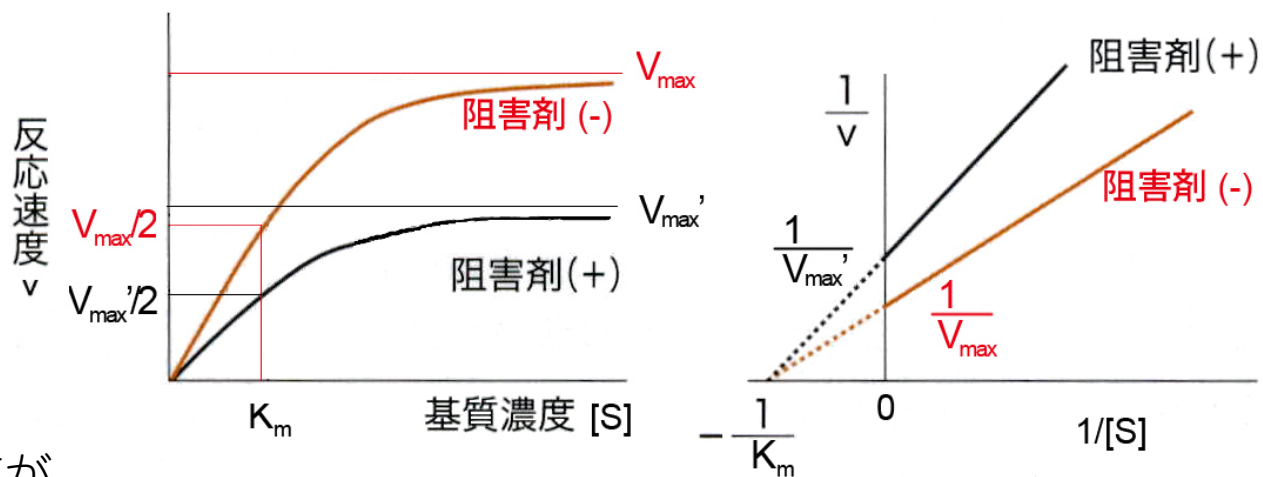
非拮抗阻害：酵素の活性部位とは別の部位に結合----- K_m 不変

(EIS→Pはslow)

拮抗
(競合)



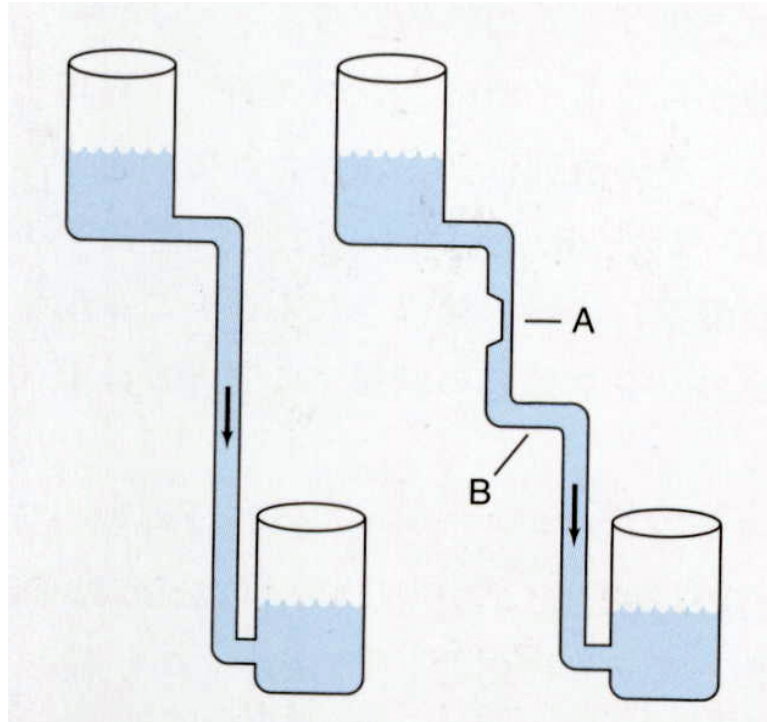
非拮抗



EIS→Pの反応が遅い

酵素活性の調節

生細胞では代謝産物の流れは**一方向性**
最も遅い反応が全体の流れを調節（**律速反応**）



Aの流れが全体の
流れを調節

B：エネルギー
順位が変わらないと
しても全体では流れ
が進む

真核生物では逆反応は別の細胞内区画で行われたり、
特殊な代謝中間体が一方に存在することで
両者が共存できるようになっている

酵素活性調節

$$\text{触媒能力 (酵素活性)} = \text{酵素分子の濃度} \times \text{触媒効率}$$

1. 酵素量の調節

数時間

合成調節

遺伝子転写, 翻訳

分解調節

タンパク質分解

2. 酵素の触媒効率の調節

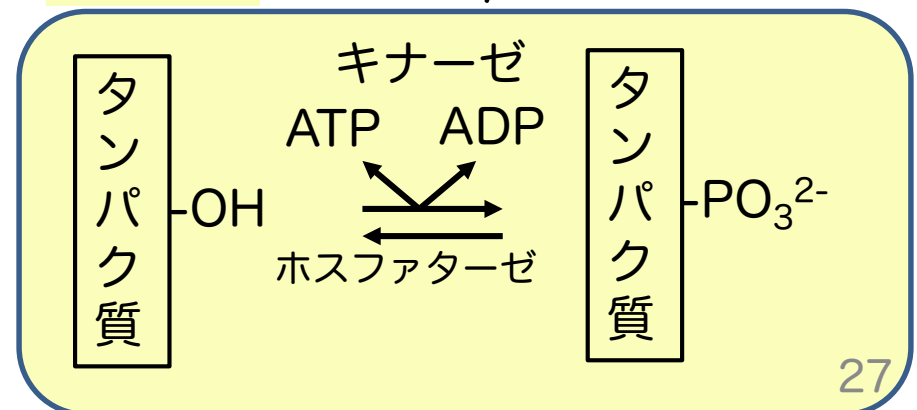
短時間 (数秒から数分)

① フィードバック調節

② **アロステリック** 酵素: 活性部位とは異なる部位にエフェクター分子結合 → 活性中心の立体構造変化 → 活性調節

③ 化学修飾による調節: **リン酸化** on/off

④ タンパク質限定分解

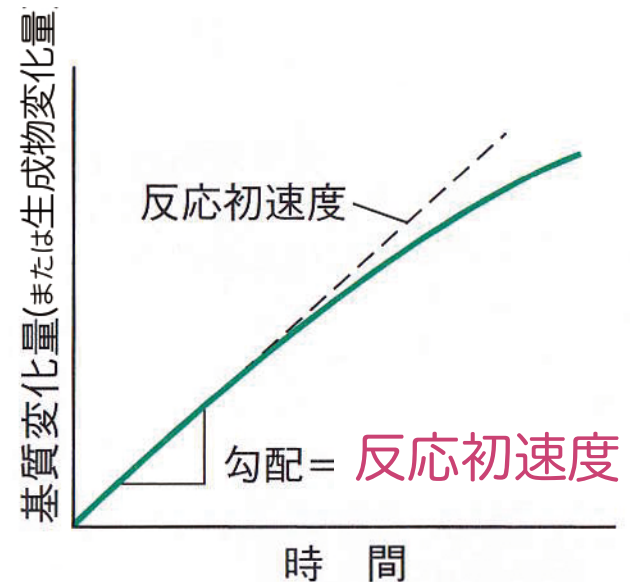
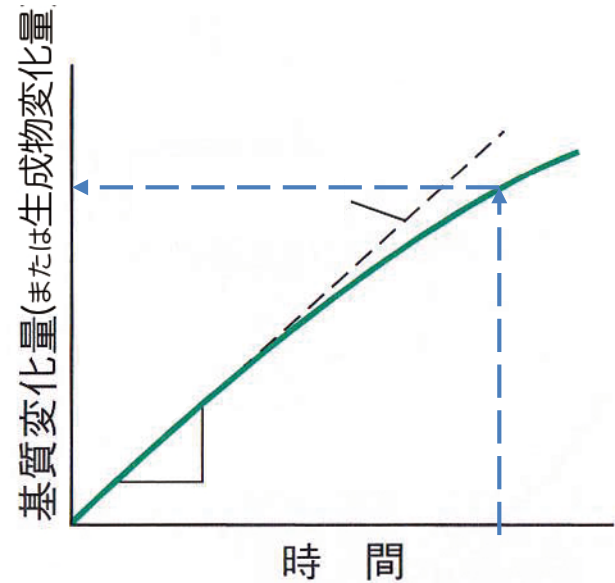


酵素活性測定法

- 1 **定点測定法**：反応開始後一定時間後に反応を停止させ，その反応時間内に生成された生成物量を定量
- 2 **初速度測定法**：反応開始から経時的に反応生成物を測定する．反応産物の蓄積がほとんどないので，逆反応を無視できる．

時間がたつと反応速度は低下する．

- ①基質が使われて濃度が低下する
- ②反応生成物が反応を抑える
(生成物阻害)
- ③反応によってpHが変化する
- ④酵素が失活する



酵素活性の単位

1) 国際単位 (IU) :

1分間に1 μmol の基質を変化させる

酵素活性量

2) katal :

1秒間に1molの基質を変化させる酵素活性量

接頭辞

m (ミリ) : 10^{-3}

μ (マイクロ) : 10^{-6}

n (ナノ) : 10^{-9}

p (ピコ) : 10^{-12}

f (フェムト) : 10^{-15}

分子活性 : 単位時間に酵素1分子が変化させることができる基質分子数 (ターンオーバー数)

$$k_{\text{cat}} (\text{ケイキャット}) = V_{\text{max}}/E_0$$

例) 検査項目 : ALT

基準値 : 8~49 IU/L

肝臓に最も多く含まれる酵素。肝細胞が破壊されると血液中に流れ出すので、急性肝炎で最も強く上昇し、慢性肝炎や脂肪肝などでも上昇。激しい運動の後に一過性の上昇が見られることがある。

酵素により分子活性（代謝回転数）が異なる

分子活性（代謝回転数）：

単位時間内に、酵素1分子によって
反応を受ける基質分子の最大数

酵 素	触媒される反応	代謝回転数 (/sec)
パピイン	ペプチド結合の加水分解	10
リボヌクレアーゼ	RNAリン酸エステル結合 の加水分解	10^2
キナーゼ	リン酸基の転移	10^3
アセチルコリンエ ステラーゼ	アセチルコリンの分解	10^4
カルボニックアン ヒドラーゼ	CO_2 を HCO_3^- に	10^6
カタラーゼ	H_2O_2 を H_2O と O_2 に	10^7

5. アイソエンザイム (アイソザイム)

基質，酵素反応は同じ

酵素タンパク質の構造が異なる酵素群

- アミノ酸配列が異なる場合（一次構造が異なる）
- サブユニットの組合せが異なる場合（四次構造が異なる）
- 酵素活性に必要なアミノ酸部分配列は類似していることが多い。

①乳酸デヒドロゲナーゼ (LD, LDH) — 筋肉型，心臓型

②アルカリ性ホスファターゼ (ALP)

③ α -アミラーゼ (AMY) — 唾液，膵

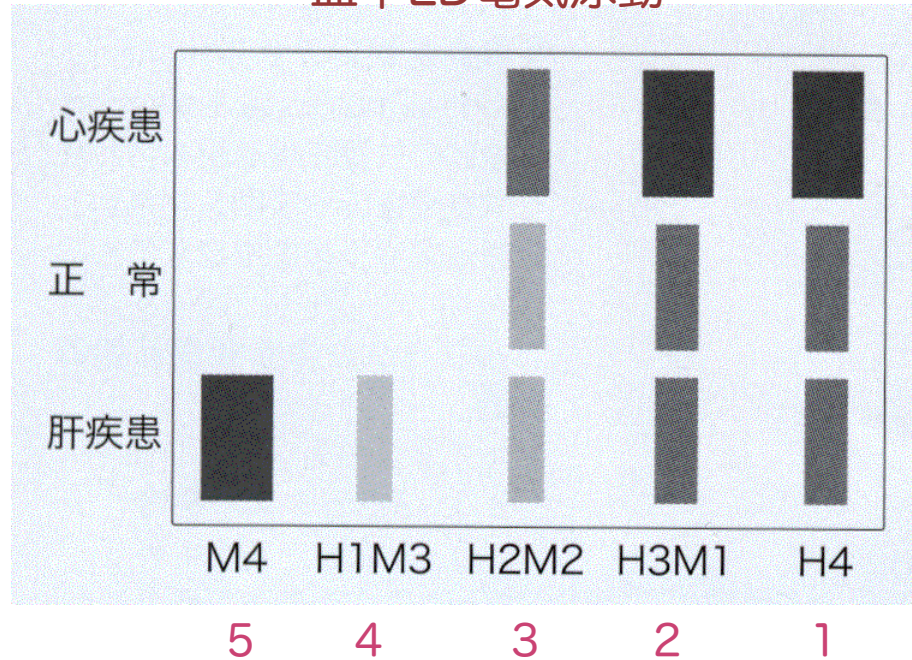
④クレアチンキナーゼ (CK)

⑤アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (AST)

⑥アルドラーゼ (ALD)-A型，B型

乳酸脱水素酵素 LD, LDH lactate dehydrogenase

血中LD電気泳動



- 四量体
- 骨格筋型 M 型と、心筋型 H 型のサブユニットから構成
- 5種類のアイソザイム
- 細胞が傷つくと、LDHが血液中に流れ出る
(逸脱酵素)

	型	構成	発現器官
1	LD ₁	HHHH	心臓, 赤血球
2	LD ₂	HHHM	心臓, 赤血球
3	LD ₃	HHMM	脳, 腎臓
4	LD ₄	HMMM	骨格筋, 肝臓
5	LD ₅	MMMM	骨格筋, 肝臓

6. 血清中に存在する酵素

- 本来細胞内ではたらく。疾病時に増加。
- 特定の組織から血中へ分泌されてはたらく。疾病時低下。
- 外分泌（消化酵素）→組織障害で血中へもれる。

酵 素	診断の対象となる主疾患
アミノトランスフェラーゼ	
ASTアスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ	
ALTアラニンアミノトランスフェラーゼ	
乳酸デヒドロゲナーゼアイソザイム LD	
クレアチンキナーゼ CK	
コリンエステラーゼ CHE	
アミラーゼ AMY	
アルカリ(性)ホスファターゼ ALP	
γ -グルタミルトランスぺプチダーゼ γ -GT	