Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2026-11-28

酵素反応の研究（I）：電気伝導度法に依る卵白，ペプシン初期反応速度の測定に就いて

石井，健三
松田，二郎

(Citation)
兵庫農科大学研究報告．自然科学編,1(1):19-22

(Issue Date)
1953-12

(Resource Type)
departmental bulletin paper

(Version)
Version of Record

(JaLCDOI)
https://doi.org/10.24546/81006041

(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/81006041

KOBE UNIVERSITY

酵素反応の研究

I. 電気伝導度法に依る卵白，ペプシン初期反応速度の測定に就いて*

石井健三　松田二郎　（物理化学講座）

Studies on the Enzyme-substrate Reaction

I. The measurment of the initial reaction velocity for eggalbumin-pepsin reaction by the electric conductance method

Kenzo Ishii and Jiro Matsuda

1 緒　　論

ペプシンの蛋白に於ける加水分解反応に就いては，従来有機，生物化学方面に於いて極めて多くの研究が行われて居るが，その動力学的，熱力学的方面は殆ど行われて居ない．併しながら酵素反応の物理化的学研究方法は，其の反応機構の解明に極めて有力な武器である様に思われる．其所で我々は其の予備実験として加水分解時に於ける反応溶液の電気伝導度の変化と反応量との関係を定量的に調べ，両者の間の簡単な関係式を考察せんとした．嘗つて Sjögvist はペプシン分解反応に際して，反応溶液の伝導度に著しい変化の生ずる事を初めて認め，更に Northrop は長時間に亘る之等の分解反応と伝導度との関係を調べ，両者が比例関係に無い事を指摘した.[1] 併しながら我々は極めて初期反応段階に於ては，此の両者は互いに相関関係にある事を実験的に確かめ，両者の間の関係を考察した．

2 実　　験

交流ブリッジ電源に1000サイクル発振器，零点指示器に陰極線オッシログラフを用い又，可変抵抗，可変容量空気コンデンサーにより零点を求めた.[2] 反応容器は Fig. I の如き硬質ガラス製反応管と予熱管とを連結し，反応管底部に1cm²の白金電極を3cmの間隔に封入した．±1/100°C の恒温槽に浸し平衡温度に達した後スプレイで予熱管中のペプシン溶液を反応管に移し，同時に測定を開始した．アルブミンは生卵より Hopkins 法により，ペプシンは Wilkinson Co. Ltd. 製のものを Northrop 法により精製した．反応液はすべて塩酸酸性 pH 2 で行つた．攪拌器は実験の結果必要を認めなかつたので之を用いなかつた．

3 結　　果

Fig. II～Fig. IX により抵抗変化とフォルモール滴定法によるアミノ体窒素増加量との関係を示す．Fig. V で

Fig. I

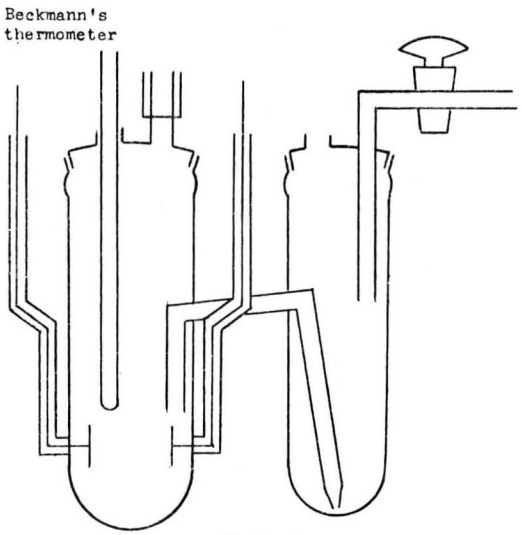


Table I

$v/\frac{dR}{dt}$ (mg/ohm)

t°C / alb.%	40°C	38°C	34°C	30 C
5%	2.7	2.7		2.8
2.5%	1.1	1.0	1.0	

示される如く，初期反応段階に於ては両者は完全に一致する．之等を図示すると Fig. VI～Fig. IX の如くである．此の結果により単位時間に於けるアミノ体窒素生成量と抵抗変化量とを比較すると Table 1 の如き結果を得た．即ち初期反応段階に於いては実験濃度範囲内で両者は比例関係にあると見做される．反応中に於る抵抗変化は主として反応生成物による pH の変化から生ずるものである．併し其の pH 変化範囲は測定初期段階に於い

* 昭和27年4月 日本化学会 第5年会にて講演

Fig. Ⅱ

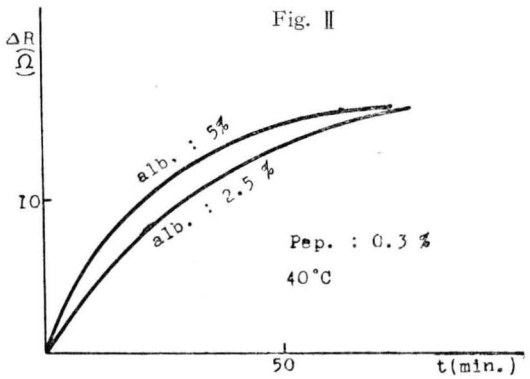


Fig. Ⅲ

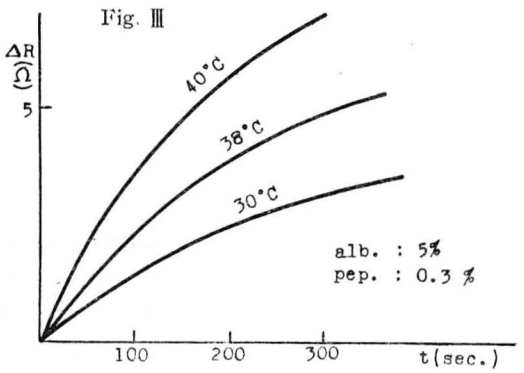


Fig. Ⅳ

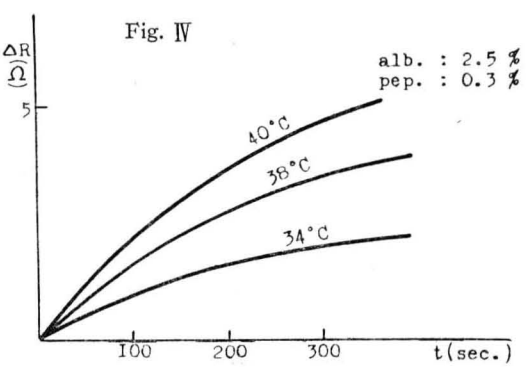


Fig. Ⅴ

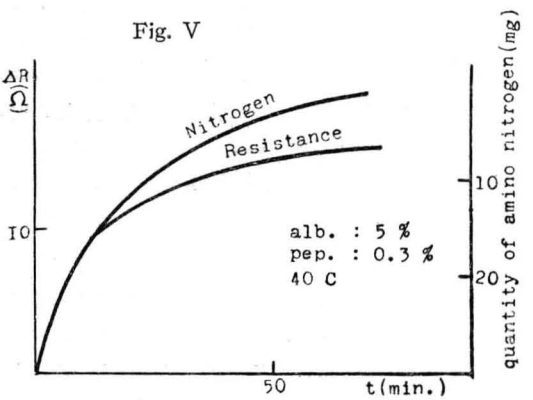


Fig. Ⅵ

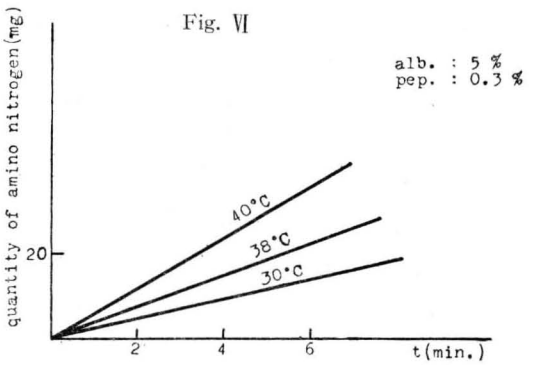


Fig. Ⅶ

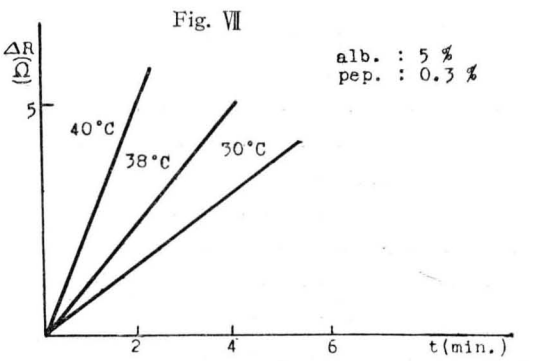


Fig. Ⅷ

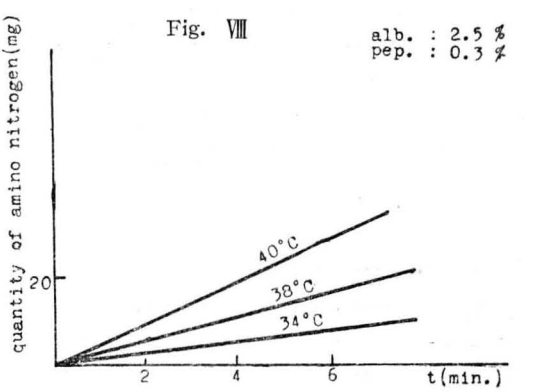
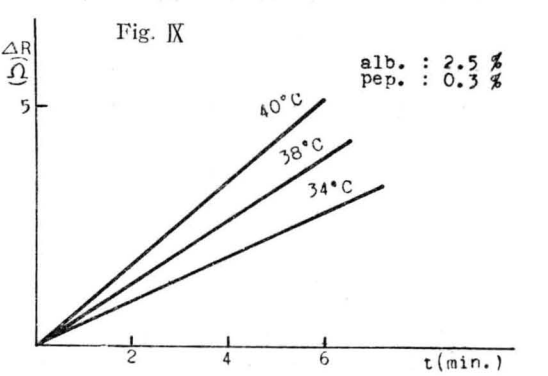


Fig. Ⅸ



ては極めて僅かである.[3] 時間と共に両者にズレを生ずるのは反応生成物による伝導度の増加が影響して来るものである. Northrop は此の様なペプシン分解反応中に於ける伝導度の変化が，生成カルボン酸による伝導度の増加と生成アミノ基と遊離酸の結合より生ずる伝導度の減少とによるとし，従つて伝導度の変化は此の両者の間の相対的な値を示すのみであり反応速度自身には比例しないと結論した.[1] 我々の実験に於ても Fig.V の如く両者にズレを生ずるのは生成カルボン酸による伝導度の増加が影響して来たものと思われる. 併しながら反応液に緩衝溶液を用いた場合，最初の数分内に於ては伝導度の変化（増加）は殆ど無視出来る範囲内にあり，之は初期反応段階に於いては，生成カルボン酸による伝導度の増加が無視出来る事実を示し，従つてかゝる段階に於ける伝導度の減少は水素イオンの減少量，従つてアミノ体窒素の増加量を示すものと見做される.

4 考　　察

ペプシンによる加水分解反応に於いては，其の反応段階に多くの複雑な問題があるが，其の初期段階に於ける状態を知る事が反応機作を知る上に於いても極めて重要である.[4] Tiselius は電気泳動，沈降速度等の測定より，ペプシンによるアルブミン分解反応が典型的な 'all or none' 型の反応である事を示した.[5] 又酸性側に於てアミノ基は正の charge を持ち其の反応速度は，反応液中の水素イオン濃度に影響されて，溶液全体の酸濃度によるものではない.[1] 其所で我々は本実験に於ける伝導度を簡単にイオン易動度の面から考え次の如く考察した.

k: 比伝導度
C: 塩酸濃度
A: アルブミン濃度
B: 反応アルブミン濃度
b: 容器抵抗容量
K: アルブミン分子中のアミノ体窒素の数
k: 生成ペプチド中のアミノ体窒素の数
n: アルブミン一分子より生ずるペプチドの数
P: 残溜ペプチドのアミノ体窒素の総数
l: イオン易動度
R: 抵抗値
t: 反応時間
v: 反応速度

$t=0$ の時の k を k_0 をすると

$$1000k_0=(C-KA)l_H+Cl_{Cl}+AKl_A$$

$t=\Delta t$ の時の K を $k_{\Delta t}$ とすると

$$1000k_{\Delta t}=\{C-K(A-B)-B\Sigma P-B\Sigma nk\}l_H+Cl_{Cl}+B\Sigma Pl_p+B\Sigma nkl_{nk}+(A-B)Kl_A$$

故に

$$\Delta k=\frac{1}{1000}\cdot B\{K(l_H+l_A)-\Sigma P(l_H+l_P)-\Sigma nk(l_H+l_{nk})\}$$
$$\fallingdotseq B(K-\Sigma P-\Sigma nk)l_H$$

之から

$$\frac{dR}{dt}=\frac{bl_H}{1000k_0^2}\cdot\frac{dB(\Sigma P+\Sigma nk-K)}{dt}$$

$B(\Sigma P+\Sigma nk-K)$ は明らかに反応によるアミノ体窒素の濃度を表わす故

$$\frac{dB(\Sigma P+\Sigma nk-K}{dt}=v$$

以上より

$$\frac{v}{\frac{dR}{dt}}=\frac{1000}{bl_H}\cdot k_0^2=const.$$

即ち初期段階に於いては，反応速度と抵抗変化速度とは比例関係にある. 本実験に於ては，$b\fallingdotseq 3$, なる故，上式の各辺の第一項は $1000/bl_H\fallingdotseq 1$, 第一表を用いる便宜上窒素量を延単位で表わす為に両辺に其の分子量の倍数 $28000\times\alpha$ を乗ずると，

$$28000\alpha\cdot\frac{v}{\frac{dR}{dt}}=\frac{\frac{dN_2}{dt}}{\frac{dR}{dt}}=28000\alpha k_0^2$$

第一表の結果を代入すると，アルブミン濃度 5%, 2.5% の場合，いづれも $\alpha=1/11$, となり良く一致した値を示す. α は主として，複雑なイオン作用，アルブミン，ペプシンの反応濃度によるものと思われる.

5 結　　論

アルブミンのペプシン分解反応を，電気伝導度によつて調べ，其の結果初期段階に於いては，反応速度と抵抗変化速度とが比例する事を認めた. 更に其のイオン易動度による関係式を両者の間に考察し，其の比例恒数が αk_0^2 である事を認めた.

文　　献

1) Northrop, The Combination on Enzyme and Substrate. *J. Gen. Physiol.* 2. 113. (1920)
2) G. Jones. & R. C. Josephs, The Measurement of the Conductance of Electrolytes. *J. Am. Chem. Soc.* 50. 1049. (1928)
3 H.K. Cubin, The Denaturation of Proteins. *Bio-*

chem. J. **23**. 25. (1929)

4) M. Damodran. & P. S. Krishnan, Enzymic Proteolysis. *ibid.* **32**. 1919. (1938)

5) A. Tiselius, Some Observations on Peptic Digestion of Egg-Albumin. *ibid.* **33**. 1752 (1939)

Résumé

The exhaustive studies on the enzymic hydrolysis of proteins have ever been made in organic and biochemistry.

But it would also be of great importance to investigate its reaction velocity by the physicochemical method during the earlier stages of the digestion. By means of it, some knowledge about the mechanism of the digestion would be gained. For this purpose, some investigations along this line have been carried out in this laboratory.

Sjögvist found that there were marked changes in the electric conductivity in the process of the pepsin digestion, and moreover Northrop concluded that its changes didn't follow the actual rate of digestion, probably due to the liberated free acid groups which increased the conductivity, and also to the liberated free amino groups which decreased it.

But in our laboratory, by the experimental data on this subject, we could find that its change followed the reaction rate during the very early stage of the digestion of egg-albumin by pepsin, and the following experimental equation based on the ionic movilities could be obtained, that is, $v/dR/dt=\alpha k_0^2$