

酵素の働きについて定量的に解析するための 新しい実験方法の開発に関する研究

Studies on the Development of New Experimental Methods
for Quantitative Analysis of the Structure and Function of Enzyme

西野 秀 昭

Hideaki NISHINO

福岡教育大学・理科教育ユニット (生物)

(令和2年9月14日受付, 令和2年12月10日受理)

要 約

本研究は, 高等学校での探究活動への導入を視野に, 酵素の働きについて科学的に研究するための定量的な分析が必要な酵素反応速度の測定に役立つ, 新しい実験方法の提案を行うものである。その際には, 研究費に限りがあることを考慮して, できるだけ身の回りの物をも活用し, 材料の入手し易さや安価性の向上を念頭に置き, 酵素反応を定性的のみならず定量的に測定する実験方法を検討した。即ち, 高価な分析機器が無くても実施可能な酵素反応の実験方法を次のようなレベル順で, 定量的な分析手法として検討した。具体的には, 分析機器無し (マイクロチューブの目盛の利用等), 簡易な機器で (時計・天秤・手持屈折計等), 簡易な方法で酵素反応速度を定量化し, ミカエリス・メンテンの式に当てはめてミカエリス定数 (K_m) や最大反応速度 (V_{max}) を算出, 等である。結果, 研究環境が整っていないくても定量的な酵素反応の分析に通じる手法が可能であったことから, 将来的に高等学校等での探究活動への導入の可能性が考えられた。

キーワード 酵素, 働き, 科学的, 反応速度, 定量的, 分析

1 目 的

酵素の働きを調べるためには, 分光光度計 (八木他, 2008) や高速液体クロマトグラフィー (HPLC) (八木他, 2008; Takakuwa 他, 1994), ガスクロマトグラフ質量分析 (GC - MS) (八木他, 2008) など, たいへん高価な分析機器が必要なのが通常である。新しい学習指導要領では, 高等学校などでも理科の授業での探究活動を充実することを通じた, 科学的に学ぶ態度の育成が求められている (文部科学省, 2018) ことから, 学校現場などでもそのような高価な機器を使うような実験を通じた探究活動が必要となってしまう感がある。しかし学校現場では高価な分析機器を購入したり, それらを維持・管理したりするには予算も人員も限られており, 現実的ではない。そこで本研究では, 学校現場だけでなく, 研究者も含めてもっと幅広く, 例えば高等学校での探究活動 (高等学校生物基礎・生物の出版会社の教科書参照) において, 通常理科にある機器・器具等の活用を踏まえ, 及び, 低予算の機器等の購入も前提にして, 次のような諸実験を提案するための基礎実験を行った。即ち, 分析機器無し (マイクロチューブの目盛の利用等) での実験, 簡易な機器等 (時計・天秤・手持屈折計等) を使った実験, 特別な機器等を使わずに酵素反応速度を測定し, ミカエリス・メンテンの式に当てはめてミカエリス定数 (K_m) や最大酵素反応速度 (V_{max}) を算出する実験, 等が実施できる実験方法の提案を行うための実験機器や実験素材, 材料などの検討を行い, 研究環境が整っていないくても定量的な酵素反応分析に通じる手法が可能であるか検討を行った。

その結果、時計やタイマー、ストップウォッチで反応に要する時間を計ったり、電子天秤で反応前後のグラム数を量ったり、チューブの目盛りで体積変化を測ったりすることで酵素反応の分析が可能であった。また、フィルムケース（代替品プッシュバイアル、図1）のフタが、酵素反応で生じる酸素による圧力の増加に耐えかねて飛ぶまでの時間を計ることで、ミカエリス・メンテンの式〔酵素反応速度 $v = [S]V_{max} / (K_m + [S])$ 〕に基づいて、酵素の最大反応速度 (V_{max}) やミカエリス定数 (K_m , 酵素の基質親和性を示すパラメーター) を算出 (例: 吉田他, 2002) することも可能だったので本研究論文にて紹介したい。

2 方法

酵素反応の定量的な測定に目盛り付きマイクロチューブも利用する実験: マイクロチューブの中には、メスシリンダーのような円柱状で0.1mL単位の目盛りが付いているものがある (図2)。本研究では、例えば、2.0mL Graduated Microcentrifuge Tube with Locking Cap, Natural (500/bag, Molecular BioProducts, Inc. 9389 Waples Street, San Diego, CA 92121, USA) という、フタが簡易にロックできるタイプのマイクロチューブを用いた。このマイクロチューブは実験後に洗浄して再利用することで減価償却も可能である。

定量する酵素反応としては、唾液アミラーゼをまず採り上げた。基質は、25% (w/v) 濃度になるように蒸留水に懸濁したフェキ糊デンプン (100% コーンスターチ, 不易糊工業) (以降, 25% 糊デンプン) を、ガーゼ2枚でろ過したろ液を用いた (ガーゼは未使用のものを予め水道水で洗浄し、蒸留水で濯いで用いた)。マグネットスターラーで均一な懸濁液となるようにしたろ過25% 糊デンプンを、2.0mL マイクロチューブの目盛り1.5mLまで加えた。使用する緩衝液〔ここでは10mM リン酸ナトリウム緩衝液 (pH7.0)〕で糊デンプンを2回洗うと上澄みに濁りが観察されなくなった (再懸濁後の遠心条件は、図3の遠心機で10,000rpmで室温10分。以降の遠心も全て室温で行った)。手持屈折計 RAB-10 (図4) で測定しても濁りは0%であった (5% 又は 10% グルコース水溶液を標準とした)。元の1.5mL目盛りまで同じ緩衝液で懸濁し、ヒトの唾液を1滴 (0.050gほど)、スポイトで加えて、5回上下逆様にしてよく混ぜた後、37°Cで静置した。唾液は粘性が高く、マイクロピペットでは取り扱いが難しいため、スポイトで吸い上げ、反応液へ静かに1滴を滴下する方式を取った。静かに滴下した唾液1滴のグラム数をマイクロ電子天秤 (AG104, METTLER TPLEDO 社) で20回測定したところ、毎回0.050gほどであった。20分経過後、10,000rpmで10分遠心し、上清をマイクロピペットで丁寧に取り除き、沈殿の体積をマイクロチューブの目盛りで読み取った。遠心時の遠心機への配置から、沈殿の表面は平らだがマイクロチューブの長軸に対して斜めになる。そこで、マイクロチューブの目盛りの線が斜めになった沈殿表面側面の線と交差するように遠心機にマイクロチューブを設置して遠心した。

酵素反応の定量的な測定に時計・電子天秤・手持屈折計等も活用する実験: 酵素反応の結果、一定量の産物が蓄積する時間を時計で計る、残った基質のグラム数を電子天秤で量る、酵素反応液の屈折率の変化を手持



図1 フィルムケースの代替品「プッシュバイアル」(モノタロウ HP より引用)

フィルムケースは理科の実験に活用されることから理科室等にある可能性もあるが、無い場合には、市販のプッシュバイアルが代替品となる。教材会社等から比較的安価 (教材会社のケニスでは、30mL サイズの50個入で税抜2,500円) に販売されている。

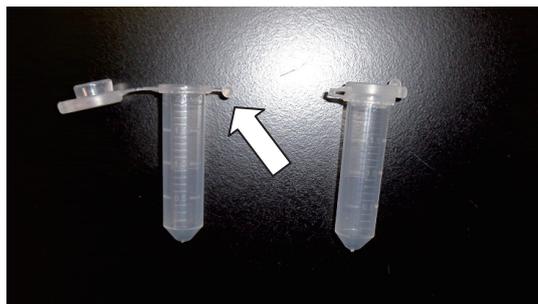


図2 本研究で用いた0.1mL単位の目盛りがついた2.0mLマイクロチューブ

チューブのフタが外れないようにストッパー (白矢印) でフタを固定できるようになっている (右がフタをストッパーで留めた場合)。



【遠心機】
ハイスピンミニ遠心機
HSC-12000
【価格】
¥24,800 (税抜)
【回転数】
1,000~12,000rpm

(写真とも、AS ONEカタログより引用・改変)

図3 比較的高速回転が可能だが安価なハイスピンミニ遠心機を活用

最大回転数は12,000rpmが可能。遠心時間は、別にタイマー等で管理する。調べた限り、この価格帯でこの回転数が出せる遠心機は他には見出せなかった。

屈折計で測る、という手法を検討した。上述したマイクロチューブの目盛りを活用する実験の唾液アミラーゼの酵素反応測定で、電子天秤や手持屈折計の利用価値を既に示している。しかし、上述の実験では酵素反応を停止せずに基質の減少や生成物の増加を測定している。必要に応じて終濃度6%のトリクロロ酢酸(TCA)(48%濃度のものを体積比で1/8になるように加えて直ぐに混合する)を加えることで酵素反応を停止させた後、遠心(図3の遠心機を使用)して上清と沈殿に分けることができるので、基質の減少量や生成物の増加量を測定できる。そこで、トリプシン(図5)によるタンパク質加水分解酵素反応を定量的に分析する方法を検討した。

基質は、市販のスkimミルク(脱脂粉乳)(森永、雪印などから販売されているが、ここでは森永製を用いた)を用いた。skimミルクは、100g中にタンパク質を34.0g含んでいる(使用した森永製品の場合)。他の成分は、脂質1.0g、炭水化物53.3g、他ビタミン類や無機塩類等である。このskimミルク25%水溶液をトリプシンの基質とした。skimミルク25%水溶液に48%TCAを終濃度6%になるように加えてフタを閉めて5回上下逆様にすることで良く混合し、遠心(10,000rpm 5分)すると、白い沈殿が形成され、上澄みは透明だった。TCAを加えないとこのような沈殿は見られなかった。トリプシンは1mMの塩酸に溶かし、0.1mLあたり1.0mg含むように調製し、使用まで氷冷した。反応は次の通り行った。2.0mLマイクロチューブに、マグネットスターラーで攪拌している25%skimミルク水溶液1.5mLを加えた。37°Cで2分間、事前に保温(例えば、図6)してトリプシンを0.1mL加えてフタをロックし素早く5回上下逆様に内容物を混合し、37°Cに静置した。20分後、48%TCAを終濃度6%になるように加え、素早く5回上下逆様に10,000rpmで5分遠心した。対照は、トリプシンの代わりに1mM塩酸を用いて同じことを行った。



図4 手持屈折計(アズワンカタログから引用)

手持屈折計は、果樹園などの農業の現場で、果物等の糖度を簡易測定するため等に用いられる。写真はRAB-10で、屈折率最大10%まで測定できる。必要に応じてRAB-50(屈折率最大50%まで測定できる)も用いた。価格は税抜12,000円程度。本研究では、5%又は10%濃度のグルコース溶液で標準化を行った。



【酵素】
トリプシン(ブタ膵臓)
SIGMA
Cat.no. T-7409 10g
【価格】
18,300円(税抜)
【1回当り費用】
9.2円(税抜, 5mg)

図5 実験に用いたトリプシン



図6 マイクロチューブをセットした発泡スチロールと保温ポット、穴を開けるためのコルクボーラー

市販の保温ポットなら、ビーカー等よりも比較的保温性が良い。温度変化は温度計でモニターする。発泡スチロール等にマイクロチューブを差す穴は、希望の直径のコルクボーラーで円形に開けることができる。図では実際に穴を開けるのに使った直径のコルクボーラーを箱の上に置いている。

同じ手法を使うと、最適温度を見出す実験も可能であると考えられる。37℃を中心に、10℃違う27℃と47℃での保温を、市販の保温ポットを用いて行った(図6)。反応液が入ったマイクロチューブは、発砲スチロールなどに刺して、この発砲スチロールなどは保温ポットの口に丁度はまるようにカットしておく(図6)。

スキムミルク以外に、やはり市販品のゼラチン(コラーゲン変性物)もタンパク質分解酵素の基質として使えるか試みたが、TCAで沈殿にできないことから用いなかった。しかし、液体薬を飲むためのゼラチンカプセル(図7)がタンパク質分解酵素の反応速度を測定するのに使えるのではないかと考え、試みてみた。

用いたゼラチンカプセルは、ドラッグストアやホームセンターなどで手に入りやすい(ここでは、松屋の#0、内容量0.68mLのHFカプセルを用いた)(図7)。以前は、ドデシル硫酸ナトリウム(SDS、タンパク質の変性作用を持つ界面活性剤)が成分として含まれていたが、現在売られているものには含まれていないので、酵素反応実験に好都合であると考えた。

ここでの実験は、オブラート袋(ジャガイモデンプン製)に唾液を加えて漏れてくる様子を観察する実験(西野, 2009)に倣ったものである。1.5mLマイクロチューブの下側(目盛りとして0.1mlあたり)で、ハサミでカットして、これにフタ側(小さいほう)を取り除いたゼラチンカプセルをセットした(図7)。ゼラチンカプセル内にpHが異なる緩衝液を0.5mL加え、さらに0.1mLのトリプシン(1.0mg)をマイクロピペットで勢いよく入れることで混合し、ゼラチンカプセルが加水分解されて内容液が漏れてくるまでの時間(秒)を測定した。

また、トリプシンと同様に、ゼラチンカプセルを使って、高等学校の生物科目の教科書で必ず採り上げられているペプシン(図8)でも最適pHを観察する実験を行った(図9)。各pHともペプシンの濃度は、溶解する限界に近い10mg/mLとした。

また、塩酸の各種濃度でpH1~4の状態を作った。この範囲のpHで、ゼラチンカプセルからは液漏れすることは、少なくとも一晩は観察されなかった。しかし、ペプシンの濃度を溶解度の最大まで引き上げても、液漏れするまで数時間かかることがあった。そこでゼラチンカプセルをペプシン酵素反応に使えるようにするため、爪楊枝をゼラチンカプセルに立てて入れておくことで、「反応促進材(「剤」では無い)」としてある程度の柔らかさになったゼラチンカプセルの底を爪楊枝の自重で突き破ってくることを利用した。即ち、ゼラチンカプセルがペプシンの作用によって「ある程度の柔らかさ」に達する時間を計っていることに



図7 ゼラチンカプセルのタンパク質分解酵素反応への利用

以前はSDSが入っていたが、現在は入っていないので、酵素の働きに影響する成分は含まれていない。



図8 実験に用いたペプシン



図9 ペプシンの最適pHの観察・実験

爪楊枝は各々太さが異なることから、電子天秤で予めほぼ同じグラム数の爪楊枝を選抜して使っている。一方で、ゼラチンカプセルは、胃腸で溶ける時間に差があると薬の効果に影響してくることから厚さが均一にできていると考えられる。

なる。このような工夫によってゼラチンカプセルから液漏れしてくるまでの時間を秒単位で測定できるようになった。マイクロチューブは試験管はさみに挟んで図9のように箱の上に置いた。温度は室温（25℃前後くらい）で行った。

酵素反応をミカエリス・メンテンの式に当てはめてミカエリス定数 (Km) や最大反応速度 (Vmax) を算出する実験：ミカエリス・メンテンの式は、酵素反応速度を v 、基質の濃度を $[S]$ 、最大酵素反応速度を V_{max} とすると、次の式で表す事ができる（例えば、吉田他、2002）。

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

高校生物科目の教科書によく記載されている肝臓（動物）ではなく、植物であるニンジンのカタラーゼ酵素活性を用いて、この K_m や V_{max} を求めることができないか検討した。これによって、教科書に既に記載されている動物に加えて、植物でも共通にカタラーゼ酵素を有することを生徒が知ることで、生き物におけるカタラーゼという酵素の働きを普遍的・帰納的に理解することに繋がると考えられる。

カタラーゼが触媒する反応式は次の通りである。



O_2 は、常温では気体である。そこで、スーパーマーケットなどで手に入るニンジンをおろし金で勢よくトレイに擦り下ろす。ダイコンなどと違い、擦り下ろしたニンジンはほとんど繊維状で液体部分がほとんどなく、一定量のグラム数を量りやすい。その 1.0g を電子天秤でフィルムケース（又は、図1に示したプッシュバイアル）に量り取る。濃度が異なる（ここでは、0.5% から 3.0% まで 0.5% ずつ変化させた）過酸化水素水（市販の消毒液オキシドールを過酸化水素 3.0% 濃度として利用）を 10.0mL、フィルムケースに入れて直ぐフタを完全に閉め、その瞬間からストップウォッチ（又は秒数を計ることができるタイマーやスマートフォンなど）で、フィルムケース内の酸素分圧が上昇しフタが飛ぶように外れるまでの秒数を計った。反応は室温（25℃前後くらい）で行った。カタラーゼ酵素反応で生成した酸素の分圧に耐えきれなくなってフタが飛ぶときの圧力を「CaroP（キャロップ）」とすると、フタが飛ぶまでに時間（秒）を計れば、ニンジンカタラーゼの酵素反応速度である CaroP/min（1 分間あたりの CaroP の増加）を計算できる。

3 結果と考察

ヒト唾液アミラーゼの定量的な測定の代表的な結果は表1のようになった。表1は、上澄みを取り除いた後の沈殿の体積測定に加え、簡易な機器を用いた場合の、電子天秤によるグラム数の測定と、手持屈折計による上澄みのグルコース相当量（%）も示した代表的な結果である。

「代表的な結果」で実験結果を示すのは、この「代表的な結果」が、高等学校の探究活動等で生徒の各班から出される実験結果、と考えてもらいたいからである。限られた授業時間内ではこのような結果が出てきて、他の班でも同じ実験を行ってれば比較ができ、値が異なっていれば議論を深め、振り返り等を行う事につなげる事ができる。

表1の結果から、酵素反応による基質の体積の変化を簡易な方法によって数字で表すことができたことから、このような簡易な実験方法によっても定量的な比較や分析が可能となることが分かった。また、同じ実験操作を使って、ヒト唾液アミラーゼの pH 依存性も定量的に比較・分析が可能となると考えられる。そのような代表的な結果を表2に、実験の詳細と共に示す。

表1 ヒト唾液アミラーゼによる糊デンプン消化の酵素反応としての簡易定量化

唾液(アミラーゼ)	-	+	差
沈殿の体積(mL)	0.40	0.20	0.20
沈殿のグラム数(g)	0.42	0.23	0.19
上清(屈折率%)	0.0	2.7	2.7

屈折率は、手持屈折計を用いて、グルコース水溶液を標準液として RAB-10 又は RAB-50 を用いた。電子天秤は、マイクロ電子天秤を用いた。ヒト唾液 1 滴を 1.5mL の蒸留水で希釈して RAB-10 で測定しても屈折率は 0.0% で、屈折率への影響は見られない。

基質の体積変化の測定に加えて、マイクロ電子天秤によるグラム数の変化や手持屈折計による屈折率の変化を用いて行ったトリプシンによるスキムミルク中のタンパク質の加水分解についての定量的な分析結果の代表的な例を表3に示す。

スキムミルクはタンパク質だけでなく、炭水化物も含むが、唾液アミラーゼの代わりにトリプシンで糊デンプンが消化されるかの実験を行えば、トリプシンが糊デンプンは基質にしないことから炭水化物は分解しない事、即ち基質特異性も分かる事になる。また、同様にして、保温のための工夫も行って(図6)、トリプシンの最適温度を見出すために本研究で工夫した実験の代表的な結果を表4に示す。

スキムミルクを基質としたトリプシンの最適 pH の観察実験も試みたが、基質のスキムミルクが pH によって凝集することがあり、基質の状態として同じ状態ではないことから最適 pH の実験にはスキムミルクは使えなかった。

そこで、液体薬を飲むためのゼラチンカプセル(図7)がタンパク質分解酵素の反応速度を測定するのに使えるのではないかと考え、試みた。代表的な結果を表5に示す。緩衝液の種類によらず、ある程度の傾向は読み取れる。

表2 ヒト唾液アミラーゼの pH 依存性実験の定量化

pH	6.0	7.0	8.0
上清(屈折率%)	2.5	2.5	2.3
沈殿の減少(g)	0.19	0.22	0.19
沈殿の減少(%)	87.7	100	87.6

緩衝液は、pH6.0, 7.0, 8.0の各10mMリン酸ナトリウム緩衝液を用いた。沈殿の減少したグラム数は、各pHで対照のマイクロチューブでの沈殿のグラム数から各pHでの反応後の沈殿のグラム数を引いた差として求め、pH7.0での減少したグラム数を100%として他のpHでの相対的な減少量を比較した。

表3 トリプシンによるスキムミルクタンパク質の加水分解酵素反応の定量的分析

	1mM HCl	トリプシン	差
上清(屈折率%)	15.7	16.7	1.0
沈殿の体積(mL)	0.40	0.30	0.10
沈殿のグラム数(g)	1.77	1.66	0.11

沈殿のグラム数は、事前に量った各々のマイクロチューブのグラム数を差し引いている。マイクロチューブは、各々、若干のグラム数の違いがあるので1本ずつグラム数を事前に量って記録しておく。

表4 トリプシンの最適温度

温度(°C)	27	37	47
上清(屈折率%)	18.5	19.0	20.5
沈殿の減少量(g)	0.09	0.15	0.11
沈殿の減少量(%)	60.0	100	73.3

上清での屈折率にあまり変化が無かったのは47°Cの方が沈殿しないペプチドの加水分解が比較的進みやすいのかもしれない。沈殿のグラム数からは温度による差が見られ、37°Cが最適であった。

表5 トリプシンの pH 依存性

pH	6.0*	7.0*	8.0*	8.0#	9.0#
秒数	33	30	23	17	18

秒数は、ゼラチンカプセルからトリプシン溶液が漏れてくるまでの時間。トリプシンの最適 pH は文献通り、最も速くリークが観察された pH8 付近と考えられた。*:0.1Mリン酸ナトリウム緩衝液；#:0.1M Tris-塩酸緩衝液

表6 ニンジンカタラーゼ酵素反応速度の測定

H ₂ O ₂ (S)	CaroP までの秒	CaroP/min (v)	1/v	1/S
3.0	64	0.937	1.07	0.333
2.5	92	0.652	1.53	0.400
2.0	150	0.400	2.50	0.500
1.5	202	0.297	3.37	0.667
1.0	238	0.252	3.97	1.00
0.5	-	-	-	-

過酸化水素水 0.5% ではフタが飛ぶほどの圧力は得られなかった。

一方、ペプシンでの実験でも、高等学校の生物科目の記述通り、pH2 が最も速く、33秒でゼラチンカプセルから爪楊枝が落ちてきた(図10)。pH1 が続いて72秒で爪楊枝が落ちてきた。一方、pH3 と pH4 では一晩(15時間)以上かけても爪楊枝は落ちてこなかった。

ペプシンの濃度を溶解度の最大まで引き上げても、爪楊枝が無ければ液漏れするまで数時間かかることがあった。これは理に適っていて、胃の酸性条件下でゼラチンカプセルが溶解すると胃酸のために薬が駄目になる可能性が考えられるが、十二指腸以降で周りのpHが中和されてからゼラチンカプセルが溶解した方が、薬の効果が最大に発揮されるのではと考えられた。このような考察も高校生物科目での探究活動で可能かもしれない。

次に、酵素反応をミカエリス・メンテンの式に当てはめてミカエリス定数(Km)や最大反応速度(Vmax)を算出する実験を行った。代表的な結果が表6で、それをExcelでグラフにし、Lineweaver-Burkの式を自動で計算させたのが、図11である。

図11でExcelデータから自動算出した式、 $(1/v) = 3.7631(1/S) + 0.4275$ から、 $K_m = 8.8(\%)$ 、 $V_{max} = 2.34(\text{CaroP}/\text{min})$ と計算される。即ち、過酸化水素水の濃度が8.8%のとき、 V_{max} である2.34 CaroP/minの半分のカタラーゼ酵素反応速度が得られていることになる。しかし、過酸化水素水の濃度は、市販のオキシドールでは3%程度なので、これを用いて実測できない理論値を計算で求めることができる事を示せたと考える。

擦り下ろしたニンジンの保存性も検討した。擦り下ろしたことで、細胞の内容物が漏出して、その中にタンパク質分解酵素などがあれば、カタラーゼ酵素の反応が漸次低下することが危惧されたからである。そこで、ニンジン1本を一気に、ほぼすべて擦り下ろし

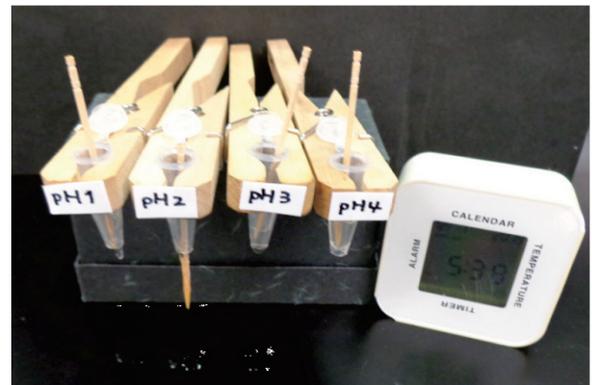


図10 ペプシンの最適 pH の観察・実験の結果

pH2 が最も速く、33秒でゼラチンカプセルから爪楊枝が落ちてきた。pH1 が続いて72秒で爪楊枝が落ちてきた。一方、pH3 と pH4 では一晩(15時間)以上かけても爪楊枝は落ちてこなかった。

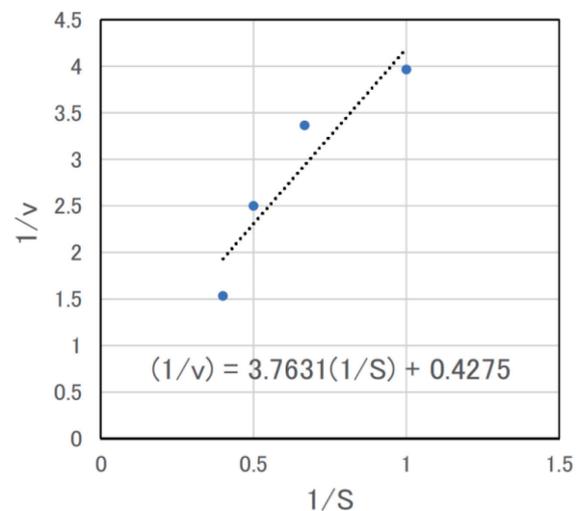


図11 ニンジンカタラーゼ酵素反応の Lineweaver-Burk プロットの代表的な例

てよく混合し、2つのホーロートレイに分けて入れ、少なくとも3時間までの間、1つは室温に置き、もう1つは氷上において保冷した場合にカタラーゼ酵素活性に低下がみられるか検討した。その結果、保存が室温か氷上かに関わらず、カタラーゼ酵素活性に有意な低下は見られなかった。このことから、少なくとも3時間以内であれば、擦り下ろしたニンジンの保存性や、細胞の破壊によるタンパク質分解酵素の影響などは考慮しないで良いと考えられた。また一気に1本分のニンジンを擦り下ろすことで、ニンジンの部位におけるカタラーゼ活性の強さ（予備的に調べると、土に埋まっている状態で、上の方ほどカタラーゼ活性が高かった）の違いも影響しないことになる。このことから、ニンジンの擦り下ろしは取り扱いが容易であり、高等学校の探究活動でも活用され得る可能性は大きいと考えられた。

4 まとめ

本研究では、これまでは高価な分析機器が無ければできないと考えられていた、酵素反応の定量的な解析実験が、様々な工夫をしながら身の回りの物等や安価な機器・材料等を使って実施可能になる手法を開発した。ホームセンターやドラッグストア、スーパーマーケットなどで手に入る材料や、理科の実験室に通常あるマイクロチューブや安価なマイクロチューブ遠心機、電子天秤、薬品などを使い、果物等の糖度分析に使う手持屈折計で反応の前後での基質や生成物の濃度や量の変化を測定できた。今後は、COVID-19の状況が落ち着きを見せたら、このような安価に定量的な解析ができる手法を高等学校の探究活動へ導入するための実践研究を行うことで、新学習指導要領の教育目標の実現に貢献して行きたい。

参考文献

- ・浅島誠他24名(2019), 改訂生物基礎, 東京書籍
- ・浅島誠他27名(2019), 改訂生物, 東京書籍
- ・文部科学省(2018), 高等学校学習指導要領(平成30年告示)解説 理科編理数編, 113-147, 実教出版
- ・本川達雄・谷本英一他16名(2018), 生物基礎 改訂版, 数研出版
- ・本川達雄・谷本英一他16名(2018), 生物 改訂版, 数研出版
- ・西野秀昭(2009), 身近なものを使った消化のしくみを学ぶ実験の工夫 - 味覚による体感や視覚で学ぶ -, 科教研報, Vol.24, No.2, 133-136
- ・島田正和他14名(2019), 改訂版 生物基礎, 数研出版
- ・島田正和他22名(2019), 改訂版 生物, 数研出版
- ・庄野邦彦, 他11名(2019), 生物基礎 新訂版, 実教出版
- ・庄野邦彦・馬場昭次他17名(2019), 生物 新訂版, 実教出版
- ・Takakuwa, Y., Nishino, H., Ishibe, Y., and Ishibashi, T. (1994) J. Biol. Chem., Vol.269, No.45, 27889-27893
- ・八木達彦・福井俊郎・一島英治・鏡山博行・虎谷哲夫(2008), 酵素ハンドブック, 第3版
- ・吉里勝利他20名(2019), 高等学校 改訂 生物基礎, 第一学習社
- ・吉里勝利他20名(2019), 高等学校 改訂 生物, 第一学習社
- ・吉田勉他6名(2002), 新しい生化学・栄養学実験, 8章 酵素, 72-84, 三共出版

附記

本研究成果の一部は、科学研究費助成事業(学術研究助成基金助成金)(基盤研究(C)「次期改訂理科教科書の生命生物観察実験の再現性と科学性に資する根拠データベース構築」課題番号16K01021)の交付、及び令和2年度福岡教育大学研究支援事業科研費獲得推進支援プロジェクトによる助成を受けて行えたものである。

本研究内容に関する問合せ先

西野 秀昭 (にしの ひであき)

〒811-4192 福岡県宗像市赤間文教町1番1号 福岡教育大学・理科教育ユニット(生物)

e-mail: hideakin@fukuoka-edu.ac.jp Tel 0940-35-1385(研究室直通) Fax 0940-35-1716(生物事務室)