

$$\begin{aligned}
 k_{DD} &= \frac{k_{\text{obs}}^2}{k_{AA}K} = \frac{k_{\text{obs}}^2}{k_{AA} \exp\left(\frac{-\Delta_r G^\ominus}{RT}\right)} = \frac{k_{\text{obs}}^2}{k_{AA} \exp\left(\frac{nFE_{\text{cell}}^\ominus}{RT}\right)} \\
 &= \frac{(1.6 \times 10^3 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1})^2}{(1.5 \times 10^2 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}) \exp\left(\frac{(96485 \text{ C mol}^{-1}) \times [(0.260 - 0.304) \text{ V}]}{(8.314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}) \times (298.15 \text{ K})}\right)} \\
 &= 9.5 \times 10^4 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}
 \end{aligned}$$

第13章

13.7 k_c/K_M とは、酵素と基質の二次反応速度定数 k_2 であり、この条件で $k_2 c_{E,0}$ が偽一次反応速度定数 k_1 となる。題意を式(11.21)に代入して、

$$\ln \frac{6.00 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}}{2.20 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}} = -k_2 \times (1.00 \times 10^{-8} \text{ mol dm}^{-3}) \times (1.23 \times 10^2 \text{ s})$$

$k_2 \equiv k_c/K_M = 1.06 \times 10^6 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ と得られる。

また、題意より、 $c_s < 2.20 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ で $K_M/c_s > 1$ ということであるので、 K_M は、 $2.5 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ より大きいと考えられる。

13.8 式(13.7)より

$$v \equiv -\frac{dc_S}{dt} = \frac{V_{\text{max}}}{1 + K_M/c_S}$$

$$-dc_S(1 + K_M/c_S) = V_{\text{max}} dt$$

これを積分すると

$$-\int_{c_{S,0}}^{c_S} dc_S - K_M \int_{c_{S,0}}^{c_S} dc_S/c_S = V_{\text{max}} \int_0^t dt$$

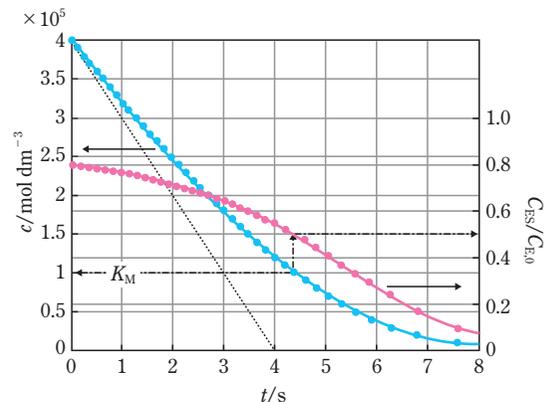
$$(c_{S,0} - c_S) + K_M \ln \frac{c_{S,0}}{c_S} = V_{\text{max}} t$$

左辺第1項はゼロ次反応による濃度変化、第2

項は一次反応による濃度変化を表している。

ある c_S に対する t を計算し、 t に対してプロットすると右図の●のようになる。破線はゼロ次反応を想定したときの濃度の減少の様子を表している。

また、式(13.6)より、ある c_S に対する $c_{ES}/c_{E,0}$ を求めて、対応する t に対してプロットすると、●のようになる。 $t = 44 \text{ s}$ あたりで、 $c_S = K_M$ となり、そのとき $c_{ES}/c_{E,0} = 0.5$ となることがわかる。



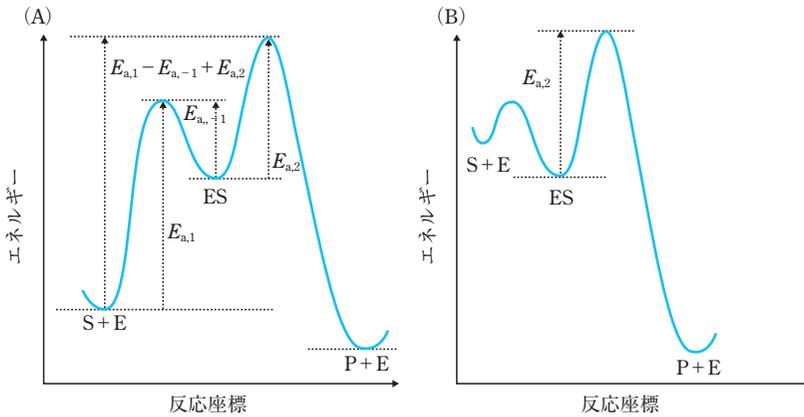
13.9 式(13.14)に代入して、

$$K_M = \frac{2.0 \times 10^4 \text{ s}^{-1} + 0.04 \times 10^4 \text{ s}^{-1}}{5.0 \times 10^7 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}} = 4.08 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$$

また、 $k_{-1} \gg k_2$ であるので、前駆平衡近似は成り立つ。

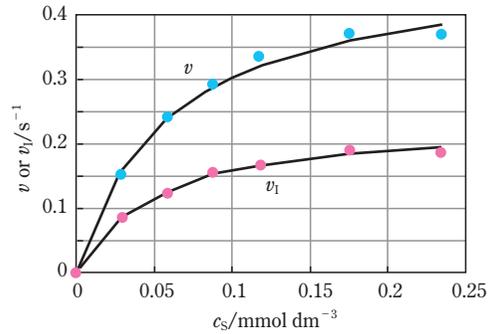
$k_1/k^\ominus = A_1 \exp(-E_{a,1}/RT)$ 、 $k_{-1}/k^\ominus = A_{-1} \exp(-E_{a,-1}/RT)$ 、 $k_2/k^\ominus = A_2 \exp(-E_{a,2}/RT)$ とし、 A_1 、 A_{-1} 、 A_2 は同程度であると仮定するなら、 $k_{-1} \gg k_2$ であるため、 $ES \rightarrow S + E$ の活性化エネルギーより、 $ES \rightarrow P + E$ の活性化エネルギーの方が大きくなる。また、 $K_M/c_S \gg 1$ のとき、 $v = (k_2/K_M) c_S c_{E,0} \ll k_2 c_{E,0}$ であるので、図の(A)のように、 $S + E \rightarrow ES$ の活性化エネルギーは、 $ES \rightarrow P + E$ の活性化エネルギーより大き

くなる。また、 $K_M/c_S \ll 1$ のとき、 $c_{ES}/c_E = c_S/K_M \gg 1$ となり、ほとんどの酵素は ES 状態となる。そのときの律速段階は図の (B) に示すように、 $ES \rightarrow P+E$ であり、系の活性化エネルギーは $E_{a,2}$ である。



13.10 問題のデータをプロットすると右の図のようになる。式(13.7)にしたがって、 v を c に対してプロットし、重みをつけずに非線形回帰すると $V_{\max}/s^{-1} = 0.48 \pm 0.02$ 、 $K_M/\text{mol dm}^{-3} = 0.058 \pm 0.007$ と得られる。

同様に、 v_1 を c に対してプロットし、重みをつけずに非線形回帰すると $V_{\max}/s^{-1} = 0.238 \pm 0.009$ 、 $K_M/\text{mol dm}^{-3} = 0.051 \pm 0.006$ と得られる。誤差範囲内では K_M は変化しておらず、 V_{\max} だけが減少したと判断できる。式(13.42)の場合に相当して非拮抗阻害である。



13.11 問1 式(13.7)に代入して

$$v_A = \frac{k_c c_{E,0}}{1 + K_{M,A}/c_A} = \frac{(150 \text{ s}^{-1}) \times (1.00 \times 10^{-8} \text{ mol dm}^{-3})}{1 + (2.00 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}) / (5.00 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3})} = 1.07 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3} \text{ s}^{-1}$$

問2 式(13.26)を上式の式で割り、相当する値を代入すると

$$v_{A,1} / v_A = \frac{k_c c_{E,0}}{1 + \left(1 + \frac{c_I}{K_I}\right) K_{M,A} / c_A} \bigg/ \frac{k_c c_{E,0}}{1 + K_{M,A} / c_A} = \frac{1 + K_{M,A} / c_A}{1 + \left(1 + \frac{c_I}{K_I}\right) K_{M,A} / c_A}$$

$$1 + \frac{c_I}{K_I} = \left\{ \left(\frac{1 + K_{M,A} / c_A}{v_{A,1} / v_A} \right) - 1 \right\} / (K_{M,A} / c_A)$$

$$K_I = c_I / \left[\left\{ \left(\frac{1 + K_{M,A} / c_A}{v_{A,1} / v_A} \right) - 1 \right\} c_A / K_{M,A} - 1 \right]$$

$$= (5.00 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}) / \left[\left\{ \frac{1 + (2.00 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}) / (5.00 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3})}{1/2} - 1 \right\} \times \frac{(5.00 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3})}{(2.00 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3})} - 1 \right]$$

$$= 1.43 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$$

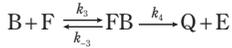
問3 基質濃度が K_M より十分小さい条件では、ほとんどの酵素は遊離状態にあるので、初速度は $v = (k_c/K_M) c_{E,0} c_S$ で表される。したがって、速度の比は

$$\frac{v_A}{v_B} = \frac{(k_{c,A}/K_{M,A})c_{E,0}c_A}{(k_{c,B}/K_{M,B})c_{E,0}c_B} = \frac{(k_{c,A}/K_{M,A})}{(k_{c,B}/K_{M,B})} = \frac{(150 \text{ s}^{-1})/(2.00 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3})}{(100 \text{ s}^{-1})/(10.00 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3})} = 7.5$$

13.12 基質自身が阻害剤となっている(基質阻害(substrate inhibition)とよぶ)。ここで、基質阻害がなかった場合、破線のようにになると考えるとする。\$c_S\$ の高いところで阻害が起こっているの、不拮抗阻害と考えられる。式(13.32)の \$c_1\$ を \$c_S\$ に入れ替えて、次の式が得られる。

$$v = \frac{k_2 c_{E,t}}{1 + \frac{K_M}{c_S} + \frac{c_S}{K_{SI}}}$$

13.13 図 13.14 の各過程の速度定数を以下のように定義する。



この過程で 4 つの酵素種が現れるので、4 つの式を連立させれば、各酵素濃度が得られる。簡単のため、各酵素種の濃度は小文字のイタリックで示すこととする(例えば、\$c_{EA} \equiv ea\$)。4 つのうちの 1 つは、質量保存の法則である。

$$c_{E,0} = e + ea + f + fb \tag{1}$$

他の 3 つは、題意にしたがい、4 種の酵素種のうち、任意の 3 種に対して定常状態近似すればよい。

$$(d ea / dt =) 0 = k_1 c_A e - (k_{-1} + k_2) ea \tag{2}$$

$$(d f / dt =) 0 = k_2 ea + k_{-3} fb - k_3 c_B f \tag{3}$$

$$(d fb / dt =) 0 = k_3 c_B f - (k_{-3} + k_4) fb \tag{4}$$

また、酵素反応速度は次のように与えられる。

$$v \equiv k_4 fb \tag{5}$$

式(1)~(5)を連立して、解けばよい。

$$\text{式(4)より、} f = [(k_{-3} + k_4) / k_3] / c_B \cdot fb \tag{6}$$

$$\text{式(2)+式(3)より、} k_2 ea - k_4 fb = 0 \text{ だから、} ea = (k_4 / k_2) fb \tag{7}$$

$$\text{式(1)に式(7)を代入して、} e = [(k_{-1} + k_2) / k_1] / c_A \cdot fb = [(k_{-1} + k_2) / k_1] / c_A \cdot (k_4 / k_2) fb \tag{8}$$

式(6)、式(7)、式(8)を式(1)に代入して

$$c_{E,0} / fb = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1 c_A} \frac{k_4}{k_2} + \frac{k_4}{k_2} + \frac{k_{-3} + k_4}{k_3 c_B} + 1 = \left(\frac{k_2 + k_4}{k_2} \right) \left(1 + \frac{k_{-1} + k_2}{k_1 c_A} \frac{k_4}{k_2 + k_4} + \frac{k_{-1} + k_2}{k_1 c_A} \frac{k_2}{k_2 + k_4} \right) \tag{9}$$

最後の式変形は、ミカエリス-メンテンの基本式のように、定数項を 1 とするためにまとめるためである。

$$\text{式(9)を式(5)に代入して、} k_c \equiv \frac{k_2 k_4}{k_2 + k_4}, \quad K_M^A \equiv \frac{k_4}{k_2 + k_4} \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}, \quad K_M^B \equiv \frac{k_2}{k_2 + k_4} \frac{k_{-3} + k_4}{k_3} \text{ とおくと、式(13.48)}$$

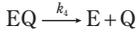
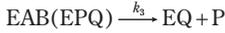
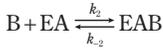
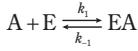
が得られる。

ここで、酵素と基質 A あるいは B の触媒効率(二次反応速度定数)は次のように与えられる。

$$\frac{k_c}{K_M^A} = \frac{k_1 k_2}{k_{-1} + k_2}, \quad \frac{k_c}{K_M^B} = \frac{k_3 k_4}{k_{-3} + k_4}$$

また、触媒定数は $\frac{1}{k_c} = \frac{1}{k_2} + \frac{1}{k_4}$ と書き換えることができる。この逆数表現は、2 段の反応の直列に進行していることを示している(13.1 節 [参考 13.2](#))

13.14 図 13.13 の各過程の速度定数を以下のように定義する.



演習問題 13.13 と同様に, 酵素の分子種は 4 つで, 4 つの方程式は次のように与えられる.

$$c_{E,0} = e + ea + eab + eq \quad (1)$$

$$(de/dt) = 0 = k_{-1}ea + k_4eq - k_1c_Ae \quad (2)$$

$$(deab/dt) = 0 = k_2c_Bea - (k_{-2} + k_3)eab \quad (3)$$

$$(deq/dt) = 0 = k_3eab - k_4eq \quad (4)$$

$$v \equiv k_4eq \quad (5)$$

式(1)~式(5)を連立して解けばよい.

$$\text{式(4)より, } eab = (k_4/k_3)eq \quad (6)$$

$$\text{式(3)に式(6)を代入して } ea = [(k_{-2} + k_3)/(k_2c_B)]eab = [(k_{-2} + k_3)k_4/(k_2k_3c_B)]eq \quad (7)$$

式(2)に式(7)を代入して

$$e = [k_{-1}/(k_1c_A)]ea + [k_4/(k_1c_A)]eq = [(k_{-1}(k_{-2} + k_3)k_4)/(k_1k_2k_3)]eq + [k_4/(k_1c_A)]eq \quad (8)$$

式(6), 式(7), 式(8)を式(1)に代入して

$$\begin{aligned} c_{E,0}/eq &= \frac{k_{-1}(k_{-2} + k_3)k_4}{k_1k_2k_3c_Ac_B} + \frac{k_4}{k_1c_A} + \frac{(k_{-2} + k_3)k_4}{k_2k_3c_B} + \frac{k_4}{k_3} + 1 \\ &= \left(\frac{k_3 + k_4}{k_3} \right) \left(\frac{k_{-1}(k_{-2} + k_3)k_4}{k_1k_2(k_3 + k_4)c_Ac_B} + \frac{k_3k_4}{k_1(k_3 + k_4)c_A} + \frac{(k_{-2} + k_3)k_4}{k_2(k_3 + k_4)c_B} + 1 \right) \end{aligned} \quad (9)$$

$$\text{式(9)を式(5)に代入して, } k_c \equiv \frac{k_3k_4}{k_3 + k_4}, \quad K_M^A \equiv \frac{k_3k_4}{k_1(k_3 + k_4)}, \quad K_M^B \equiv \frac{(k_{-2} + k_3)k_4}{k_2(k_3 + k_4)}, \quad K_I^A \equiv \frac{k_{-1}}{k_1} \text{ とおくと, 式}$$

(13.44)を得る.

13.15 問 1 ES 複合体生成反応の速度定数.

問 2 $\log(V_{\max})$ が傾き 1 で pH に比例して増加しているので塩基触媒.

問 3 酸触媒を表しており, 折れ曲がり点はその pK_a に相当する.

問 4 ES 複合体生成に関する塩基触媒は His12 の塩基型で, 酸触媒は His119 の酸型である.

問 5 ES 複合体の分解(生成物生成)に関する塩基触媒は His119 の塩基型で, 酸触媒は His12 の酸型である.

13.16 ここでは, フリーソフト gnuplot[®] を使って解析した結果について述べる. 式(13.12)にしたがって, $1/v$ を $1/c$ に対してプロットし, 重みをつけずに線形回帰すると

$$1/(v/\text{mmol dm}^{-3} \text{ s}^{-1}) = A/(c/\text{mmol dm}^{-3}) + B \text{ とするとき, } A/\text{s} = 62 \pm 7, \quad B/\text{dm}^3 \text{ mmol}^{-1} \text{ s} = 14 \pm 1 \text{ と得られる}$$

る. $V_{\max} = 1/B$ であるので, 誤差は $\delta V_{\max} = \sqrt{\left(\frac{d(1/B)}{dB}\right)^2} \delta B^2 = \delta B/B^2$ となり, 0.05 mmol と得られる(式

(14.37)). 結果として $V_{\max} = (7.1 \pm 0.5) \times 10^{-2} \text{ mmol dm}^{-3} \text{ s}^{-1}$ となる. また, $K_M = A/B$ となるので, 誤差は

$$\delta K_M = \sqrt{\left(\frac{\partial A}{B \partial A}\right)_B^2 \delta y_2^2 + \left(\frac{A \partial(1/B)}{\partial B}\right)_A^2 \delta y_1^2} = \sqrt{\left(\frac{\delta A}{B}\right)^2 + \left(\frac{A \delta B}{B^2}\right)^2} \text{ となり, } 0.75 \text{ mmol dm}^{-3} \text{ と得られる(式}$$

(14.37). したがって $K_M = (4.5 \pm 0.8) \text{ mmol dm}^{-3}$ となる.

式(13.7)にしたがって、 v を c に対してプロットし、重みをつけずに非線形回帰すると

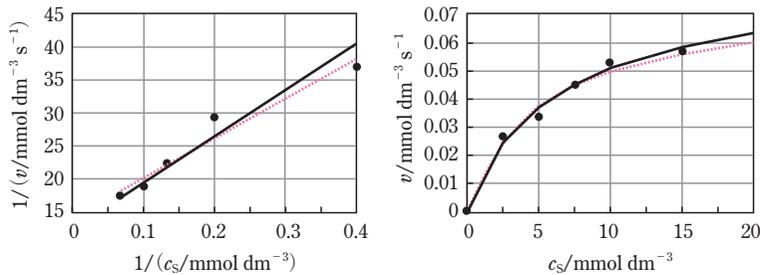
$$v/\text{mmol dm}^{-3} \text{ s}^{-1} = C \times (c/\text{mmol dm}^{-3}) / [D + (c/\text{mmol dm}^{-3})]$$

で、 $C/\text{s}^{-1} = (8.2 \pm 0.5) \times 10^{-2}$ 、 $D/\text{mmol dm}^{-3} = 6 \pm 1$ と得られる。これより、 $V_{\max} = C = (8.2 \pm 0.5) \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ 、 $K_M = D = (6 \pm 1) \text{ mmol dm}^{-3}$ となる。

右図で、線形解析したものは赤の破線で、非線形解析したものは黒の実線で示している。逆数プロットでは、 c_S が小さい領域での誤差が、重みなしの線形解析に大きく影響する。また、結果の解釈に関しても、解析誤差の観点から、非線形解析の方が優れている。

※ちなみに、 $1/v$ に対して、 $\delta(1/v) = \sqrt{\left(\frac{d(1/v)}{dv}\right)^2} \delta v^2 = \delta v / v^2$ の誤差があるとし、重み付き線形解析を

すると、例えば、 $\delta v / \text{mmol dm}^{-3} \text{ s}^{-1} = 0.004$ とした場合、 $A/\text{s} = 70 \pm 8$ 、 $B/\text{dm}^3 \text{ mmol}^{-1} \text{ s} = 12.4 \pm 0.7$ となり、 $V_{\max} = (8.1 \pm 0.5) \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ 、 $K_M = (5.6 \pm 0.9) \text{ mmol dm}^{-3}$ となる。この結果は非線形回帰結果とほぼ一致する。このように、逆数の線形回帰をする場合には、必ず重み付きで解析しなければならない。



第14章

14.9 式(14.13)と式(14.14)より $\xi = \frac{k_B T}{D} = \frac{(1.38065 \times 10^{-23} \text{ J K}^{-1}) \times (293.15 \text{ K})}{1.31 \times 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}} = 3.09 \times 10^{-11} \text{ kg s}^{-1}$

また、式(14.13)より、 $r = \frac{\xi}{6\pi\eta} = \frac{3.09 \times 10^{-11} \text{ kg s}^{-1}}{6 \times 3.142 \times (1.002 \times 10^{-3} \text{ Pa s})} = 1.64 \times 10^{-9} \text{ m} = 1.64 \text{ nm}$

※これは水和したタンパク質の r である。式(14.13)は長い棒状分子には適用できない。

14.10 式(14.47)に代入して、 $D = \frac{RTu}{|z|F} = \frac{\left(8.31 \frac{\text{J}}{\text{mol K}}\right) \times (298.15 \text{ K}) \times \left(8.29 \times 10^{-8} \frac{\text{m}^2}{\text{V s}}\right)}{2 \times 96485 \frac{\text{C}}{\text{mol}}} = 1.06 \times 10^{-9} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$

式(14.46)に代入して、

$$\lambda = |z|Fu = 2 \times \left(96485 \frac{\text{C}}{\text{mol}}\right) \times \left(8.29 \times 10^{-8} \frac{\text{m}^2}{\text{V s}}\right) = 0.01599 \frac{\text{C m}^2}{\text{V mol}} = 0.01599 \frac{\text{A m}^2}{\text{V mol}} = 1.60 \times 10^{-2} \text{ m}^2 \text{ S mol}^{-1}$$

式(14.14)に式(14.47)を代入し、 $J = \text{kg m}^2 \text{ s}^{-2} = \text{C V}$ であることに留意すると、

$$r = \frac{k_B T}{6\pi\eta D} = \frac{|z|F}{6\pi\eta u N_A} = \frac{2 \times 96485 \frac{\text{C}}{\text{mol}}}{6 \times 3.14 \times \left(1.002 \times 10^{-3} \frac{\text{kg}}{\text{m s}}\right) \times \left(8.29 \times 10^{-8} \frac{\text{m}^2}{\text{V s}}\right) \times \left(6.23 \times 10^{23} \frac{1}{\text{mol}}\right)}$$

$$= 2.0 \times 10^{-10} \text{ m} = 2.0 \text{ \AA}$$