

生物科学実験Ⅱ 酵素反応

	学生番号	氏名
実験者：		
共同研究者：		
実験期間		

【結果1】 血漿の濃度

渡された血漿の濃度を、吸光度を測定することにより求める。

表 1. 血漿の吸光度

波長/nm	280
吸光度	

上記表 1 は血漿原液を_____倍に希釈したものである。

濃度の算出に用いる換算係数 K は 1.15 である。

C : 血漿濃度、 K : 換算係数 A : 吸光度とすると、

$C=K \times A$ より、血漿原液の濃度は_____ mg/ml となる。

【結果2】 血漿原液を用いた酵素活性の測定

表 2. 基質原液と血漿原液を用いた酵素活性の測定

時間/min	吸光度(A_{340})
0.5	
1	
1.5	
2	
2.5	
3	
3.5	
4	
4.5	
5	

表 4 を基に、横軸を基質濃度([S])、縦軸を反応速度(v)としたグラフを図 2 として添付する。さらに、[S], v それぞれの逆数をとって横軸($1/[S]$)、縦軸($1/v$)としたグラフ(Lineweaver-Burk プロット)を作成し、図 3 として添付する。

※ 基質濃度は原液の基質濃度と反応系に加えた体積を考慮して算出する

$$\text{例: } 2 \text{ 倍希釈なら } 30 \text{ mM} \div 2 \times (0.1 \text{ ml} \div 3 \text{ ml}) = 0.5 \text{ mM}$$

※ 図 2 には近似線のみを、図 3 には近似線を X 軸の交点まで引き、近似式を表示する。

図 3 の近似式を用い、本実験から得られる血漿に含まれる酵素の K_m と V_{max} の値は以下の通りとなる。

$$K_m = \underline{\hspace{2cm}} \text{ mM}$$

$$V_{max} = \underline{\hspace{2cm}} \text{ } \mu\text{M/min}$$

計算式(根拠) ※枠に収まらない場合は別紙添付を明記して使用する。

【結果 4】 基質濃度一定(原液)で血漿濃度を変化させた際の酵素活性

表 5. 基質濃度一定、血漿の希釈率を変化させた際の吸光度変化(A_{340})

時間/min	原液(mg/ml)	希釈率: 1/2	希釈率:	希釈率:	希釈率:	希釈率:	希釈率:
0.5							
1							
1.5							
2							
2.5							
3							
3.5							
4							
4.5							
5							

それぞれの溶液について横軸を時間、縦軸を吸光度(A_{340})としてグラフを作成し、図 4 として添付する。

※ 図 4 には近似線を加え、対応する近似式を書き込む

また、それぞれの希釈率に対応する近似線の傾きの絶対値(吸光度変化)から、上記と同様に反応速度(v)を算出する(表 6)。希釈率は血漿量(E)に換算する。

表 6. 血漿濃度あたりの吸光度変化と反応速度

希釈率	1	1/2					
血漿量(E) (mg)							
吸光度変化 (min^{-1})							
反応速度(v) ($\mu\text{M}/\text{min}$)							

表 6 を基に、横軸を血漿量(E)、縦軸を反応速度(v)としたグラフを図 5 として添付する。

※ 血漿量は[結果 1]で算出した原液の血漿濃度と反応系に加えた体積を考慮して算出する

例: 50 mg/ml の血漿原液を 2 倍希釈したなら

$$50 \text{ mg/ml} \div 2 \times 0.1 \text{ ml} = 2.5 \text{ mg}$$

※ 図 5 にも近似線と近似式を書き加える