タンパク質分解酵素のはたらき

３年Ａ組　勝野友紀菜
３年Ｂ組　今江　菜摘
３年Ｂ組　矢野　仁美
指導教諭　野上　朋子

１．要約

わたしたちは「生のパイナップルを使うとゼリーが固まらない」という現象に注目し、パイナップルに含まれているタンパク質を分解する酵素とその性質について研究することにした。サンプル瓶を用いることで少量の実験材料で簡単に行える実験方法を確立し、その実験方法で、パイナップルに含まれているタンパク質分解酵素の存在、酵素のもつ基質特異性や熱変性を確認することができた。また、扱いやすいカラーネガフィルムや洗濯用合成洗剤を用いることで、より簡便な実験方法の開発を試みることができた。研究成果の一部は「かがくのひろば」(2008 年 11 月実施)や公開研究会のポスター発表(2009 年２月実施)などで発表したが、本研究は 2009 年度をもって終えるので、最後にこれまでの研究内容をまとめておくこととする。

キーワード　タンパク質、タンパク質分解酵素、基質特異性、熱変性、発酵食品、洗濯用合成洗剤、カラーネガフィルム

２．実験１『食品に含まれるタンパク質分解酵素』

(1) 実験１－１「タンパク質を分解する酵素」

《目的》

パイナップルにはタンパク質を分解する酵素が含まれることを確認する。また、その酵素は、タンパク質にのみ作用することを確認する。

《準備物》

ゼリー(タンパク質)、葛(デンプン)、生のパイナップル片(1cm 角、２個)、サンプル瓶(２個)、爪楊枝(２本)、薬さじ(２本)

《方法》

ゼリー、葛の入った２個のサンプル瓶に、爪楊枝に刺した生のパイナップルの小片をそれぞれ加え、30 秒間振り放置した。このとき、瓶のふたと底を親指と人差し指で挟むように持ち、軽く振ることに注意した。これは手から伝わる体温によってゼリーが溶けるのを防ぐためである。５分間後、サンプル瓶内の様子を確認した。

《結果》

ゼリーは徐々にとけていき、最終的には液状になった。それに対し、葛では変化が見られず固体のままであった。

図１　ゼリーが液状になった様子

《考察》

パイナップルには、ゼリー(タンパク質)を分解する物質が含まれていることがわかった。調べた結果、この物質はタンパク質分解酵素(プロテアーゼ)であることがわかった。また、デンプンである葛が分解されなかったことから、タンパク質分解酵素はタンパク質にのみ作用する(基質特異性がある)ことがわかった。

(2) 実験１－２「酵素の熱による影響」

《目的》

実験１－１で確認したタンパク質分解酵素のはたらきと熱の関係を調べる。

《準備物》

ゼリー、生のパイナップル片(1cm 角、1 個)、加熱したパイナップル片(1cm 角、１個)、缶詰のパイナップル片(1cm 角、１個)、サンプル瓶(３個)、爪楊枝(３個)、薬さじ(１本)

《方法》

ゼリーの入った３個のサンプル瓶に生のパイナップル片と缶詰のパイナップル片、レンジで加熱したパイナップル片をそれぞれ入れ、30 秒間振り放置した。５分後、サンプル瓶内の様子を確認した。

《結果》

生のパイナップルはゼリーを分解したのに対し、加熱したパイナップルや缶詰のパイナップルはゼリーを分解しなかった。

《考察》

酵素反応が見られた生のパイナップルを加熱したあとで変化が見られなくなったことから、パイナップルに含まれるタンパク質分解酵素は熱に弱い(熱変性する)ことがわかった。また、缶詰のパイナップルでは反応が見られなかったことから、缶詰のパイナップルはタンパク質分解酵素のはたらきがないことがわかった。これは、缶詰の製造行程で熱処理がされ、パイナップル中のタンパク質分解酵素が失活するため、反応しなくなったといえる。

(3) 実験１－３「タンパク質分解酵素をもつ食品」

《目的》

パイナップル以外の食品の中から、タンパク質分解酵素を含むものを見つける。

《準備物》

ゼリー、大根片(1cm 角、１個)、キウイフルーツ片(1cm 角、1 個)、リンゴ片(1cm 角、１個)、レモン片(1cm 角、１個)、サンプル瓶(４個)、爪楊枝(４個)、薬さじ(１本)

《方法》

ゼリーの入った４個のサンプル瓶に大根片、キウイフルーツ片、リンゴ片、レモン片をそれぞれ入れ、30 秒間振り放置した。５分後、サンプル瓶内の様子を確認した。

《結果》

キウイフルーツはゼリーを分解したのに対し、大根、リンゴ、レモンはゼリーを分解することはなかった。

《考察》

キウイフルーツにはタンパク質分解酵素が含まれていると推測した。調べた結果、キウイフルーツには「アクチニジン」というタンパク質分解酵素が含まれていることがわかった。また、今回の実験では使用しなかったが、表１に示すような食品もタンパク質分解酵素をもつことがわかった。

表１　様々な食品に含まれるタンパク質分解酵素

食品	タンパク質分解酵素
パパイヤ	パパイン、キモパパイン
イチジク	システインプロテアーゼ、フィシン
マンゴー	プロテアーゼ
生姜 バナナ	システインプロテアーゼ、ショウガプロテアーゼ

大根は「消化によい」食品としてよく知られている。その理由を探るため、ゼリーを葛に代えて追実験を行ったところ、葛は分解されて液状になった。この結果から、大根にはデンプンの分解にはたらきかける酵素「ジアスターゼ」が含まれていることを確認できた。

(4) 実験１－４「発酵食品に含まれる酵素」

《目的》

発酵食品にはタンパク質分解酵素が含まれるかどうかを確認する。

《準備物》

ゼリー、味噌、納豆(３粒)、サンプル瓶(２個)、爪楊枝(２個)、薬さじ(１本)

《方法》

ゼリーの入った２個のサンプル瓶に味噌、納豆をそれぞれ入れ、30 秒間振り放置した。５分後、サンプル瓶の中の様子を確認した。

《結果》

納豆はタンパク質を分解したのに対し、味噌はタンパク質を分解することはなかった。

《考察》

この実験結果から、納豆にはタンパク質を分解するはたらきがあり、味噌にはタンパク質を分解するはたらきがないことがわかった。調べた結果、納豆にはタンパク質分解酵素「ナットウキナーゼ」が含まれていることがわかった。

(5) 実験１－５「合成洗剤に含まれる酵素」

《目的》

「タンパク質分解酵素入り」の表記がある洗濯用合成洗剤には、タンパク質分解酵素が含まれることを確認する。

《準備物》

ゼリー、洗濯用合成洗剤(洗剤Ａ：アタック高活性バイオ EX［花王(株)］、洗剤Ｂ：Daily Needs バイオホワイト［三協(株)］)、サンプル瓶(２個)、ピンセット、薬さじ(２個)

《方法》

ゼリーの入った２個のサンプル瓶に洗剤Ａ、洗剤Ｂをそれぞれ入れ、30 秒間振り放置した。５分後、サンプル瓶の中の様子を確認した。

《結果》

洗剤Ａを加えたゼリーは溶けて液状になった。それに対し、洗剤Ｂを加えたゼリーは変化が見られなかった。

《考察》

洗剤Ａで変化が見られたことから、洗濯用合成洗剤に含まれている酵素は、タンパク質を分解するとわかった。洗剤Ｂの結果について、洗剤に含まれる酵素の量が少量であったため、変化を確認するに至らなかったと思われる。

３．実験２『洗剤に含まれるタンパク質分解酵素』

実験１『食品に含まれるタンパク質分解酵素』における実験１－４の結果、洗濯用合成洗剤に含まれている酵素はタンパク質を分解することがわかった。また、洗剤によってタンパク質を分解する能力が異なることもわかった。この分解能力の違いと合成洗剤中に存在する２種の粒(青、白)に何か関係があるのではないかと考え、さらなる実験を進めることとした。そのとき、実験で用いるタンパク質素材をゼリーからフィルムに代え、生ものより扱いやすく、実験の簡便化も試みることにした。

(1) 実験２－1「洗剤の粒の種類による反応性の違い」

《目的》

洗濯用合成洗剤について、２種類の粒(青、

白)による反応性の違いを確認する。

《準備物》

洗濯用合成洗剤(アタック高活性バイオ EX［花王(株)］)、サンプル瓶(３個)、カラーネガフィルム片(SUPERIA X-TRA400［FUJICOLOR］、1cm 角、３個)、ピンセット(２個)、蒸留水

《方法》

合成洗剤を青い粒と白い粒の２種類に分けた。そして、３つのサンプル瓶 a, b, c にそれぞれ、5ml の水と 1cm 角に切ったカラーネガフィルム(以下、フィルム)の小片を入れ、表２に示すように、サンプル瓶 a, b に合成洗剤の青い粒、白い粒を加えた。比較のため、合成洗剤を加えないサンプル瓶 c も作成した。そして、３つのサンプル瓶を同時に泡が立たない程度に 10 秒間ふり、その後、室内で放置してフィルムの様子を観察した。

表２　サンプル瓶に加えた粒の種類と数

	瓶 a	瓶 b	瓶 c
青い粒	10 粒	0 粒	0 粒
白い粒	0 粒	10 粒	0 粒

ただし、時間の計測は、洗剤を入れた時点から開始した。

《結果》

時間経過とともに変化したサンプル瓶内の様子を表３にまとめた。

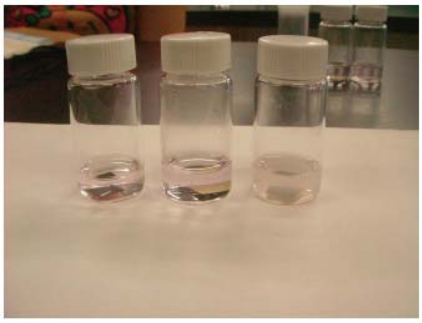

図２　サンプル瓶内の様子

表３　時間経過に伴う変化の様子

時間	瓶 a	瓶 b	瓶 c
10 秒	水が赤く染まった	水が赤く染まった(以降、変化なし)	水が赤く染まった(以降、変化なし)
195 秒	青色の粒が析出		
450 秒	赤色の粒が析出		
780 秒	黄色の粒が析出		
1220 秒	無色透明のプラスチック板のみが残った		

《考察》

この実験から、合成洗剤の青い粒にのみタンパク質を分解する酵素が含まれていることがわかった。フィルムは図２のように、プラスチック製のフィルムベースの上に感光性の異なる３種類(赤、緑、青)の層から成っている。また、これら３種類の感層は色素で染められたデンプン粒子でできていることが知られている。感層中のデンプンが合成洗剤に含まれているタンパク質分解酵素により分解されることで、色素が水相へ出てきたと考えられる。しかし、全ての瓶において 10 秒間で水が赤変したこと、時間経過とともに青、赤、黄の順に発色した粒が析出したことなどについて疑問の残る結果となった。

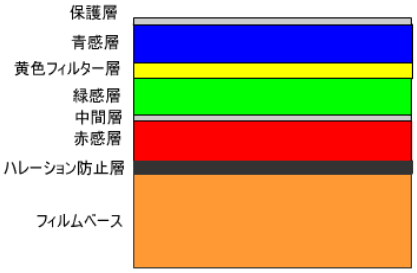

図３　カラーネガフィルムの構造(断面)

HP「camera's room」より引用

⑵ 実験２－２「温度による反応性の比較」

《目的》

実験２－１で確認したタンパク質分解酵素のはたらきと熱の関係を調べる。

《準備物》

洗濯用合成洗剤、サンプル瓶(３個)、フィルム片(1cm 角、３個)、湯(50℃)、ピンセット(２個)

《方法》

実験２－１と同様に、サンプル瓶 a, b, c を用意し、３つのサンプル瓶を同時に泡が立たない程度に 10 秒間ふった。その後、50℃の湯中に放置してフィルムの様子を観察した。

《結果》

50℃の条件下では室温での実験と比べて半分の時間で、実験２－1 の結果と同じ現象が見られた。

《考察》

この実験結果から、洗剤は室温より高温の条件の方が、酵素のはたらきが活発であることがわかった。

４．問題点と今後の課題

実験で用いるタンパク質素材をゼリーからフィルムに代えたことにより、生ものより扱いやすく、さらなる実験の簡便化に成功した。しかし、フィルムは水や光に弱いという性質があり、洗剤を加えることで水溶液の液性が弱アルカリ性になっている。これらが実験結果にどのような影響を与えるのか検証する必要がある。

５．参考文献

［１］ 「ニューステージ新訂化学図表」，浜島書店編集部編、浜島書店

［２］ 「酵素の ABC」，中村隆雄著、学会出版センター（1998）

［３］ 朝日子供新聞わくわく理科タイム http://www.asagaku.com/rika_time/2006/5/0531.

［４］ camera’s room「カラーフィルムの構造と現像プロセス」 http://members.jcom.home.ne.jp/camera/color/kouzou.htm

［５］ 科学技術の礎 http://www.monokowashi.com/index.html

６．謝辞

本研究を進めるにあたり、多くの先生に大変お世話になりました。本校教諭の米田隆恒先生には、実験概要を提供していただきました。奈良女子大学教授の植野洋志先生には、酵素について興味深いお話をしていただきました。奈良高等学校教諭の藤澤育子先生には、実験に協力していただきました。この場を借りて、御礼申し上げます。また、実験方法からポスターなどまで指導して下さった指導教諭の野上朋子先生、本当にありがとうございました。