

公開講座に使えるテーマ (3) …「果汁を使ったタンパク質の加水分解」と 「酵素と光学活性の関係」

胸組虎胤

Useful experimental themes for extension lectures (3) … “Hydrolysis of proteins using fruit juices” and ”Relationship between optical activity and enzymes”

Toratane Munegumi

公開講座に使える新しい実験として、果汁に含まれる酵素（タンパク質分解酵素）を使ってゼラチンの加水分解を行う実験、および酵素の立体特異性を旋光度の変化によって確認する実験を実施した結果について報告する。それとともに、これらのテーマを公開講座で実施する場合の工夫について考察した。

1. はじめに

1-1. 学校外理工系教育、公開講座、博物館

2002年度から公立の小中学校および高等学校は完全週5日制となった。それとともに授業項目が約30%削減され¹⁾、授業時間数も減らされた。理科の授業内容も例外ではなく減らされた。これでは児童、生徒が身につける知識量は明らかに少なくなる。この状況の中では、以前と質の異なった学力を追求するか、あるいは以前と同程度の学力を身につけさせるために、学校の授業を効率化するか、学校外教育を充実させるしかない。

学校外教育を充実させるには公開講座、学習塾、博物館、テーマパーク、地域の人材活用、高等教育機関の利用等、様々な方法が考えられる。このうち学校外理科教育を担うものとして、博物館（特に科学館）は重要な役割を果たすであろう。博物館は「博物の館」を意味する²⁾。その機能と目的は、博物館法第2条の以下の文に規定されている。「歴史、芸術、民俗、産業、自然科学等に関する資料を収集し、保管（育成を含む）し、展示して教育的配慮の下に一般公衆の利用に供し、その教養、調査研究、レクリエーション等に資するために必要な事業を行い、あわせてこれらの資料に関する調査研究をすることを目的とする機関」³⁾。博物館は、資料の種類、機能等、様々な分類が可能であるが、ここでは資料の種類では理工学資料を展示し、教育機能を果たせる博物館を問題にしている。

1-2. 高等教育機関等の博物館的機能

博物館には専門の学芸員という人材や展示物というコンテンツがあり、さらには実験施設をもつものもある。

博物館的な人材、コンテンツ、施設を持ち、同様の役割を果たすのは博物館以外にもある。たとえば、高等教育機関、研究所、などである。これらの機関は通常は教育、研究機関として機能しており、教官、技官という人材、研究成果や実験施設というコンテンツをもつ。通常は、展示機能を主としていないが、一時的な博物館（temporary museum, テンポラリー博物館）として機能することが可能である。人材、コンテンツ、施設を教育、展示用に配置し直せばよいのである。

実際、多くの高等教育機関、研究所等では、施設公開等の名目で、博物館的な展示を一時的に行っている。小山工業高等専門学校でも7月末から8月はじめに「学校紹介」という学校公開行事を行っている。この行事では、展示、演示実験、実験講座等が行われている。また、学生主催による学園祭等でも科学的な展示、実験が行われるのであれば、これもテンポラリー博物館と言えるであろう。

1-3. テンポラリー博物館と公開講座

テンポラリー博物館では展示だけでなく、公開講座が同時に行われていてもよい。この公開講座はその日にたまたま出席した人たちが参加する場合や、あらかじめ人数を限定して募集を

かける場合があるだろう。また、講座を他の催しや展示と関係なく別室で行う場合や、展示物を見にきた人たちが講座を立ち聞きしたり、実験を行っている受講者の実験を周りから見られるようにできる場合など様々なタイプが可能であると考えられる。これらの分類については他の機会に論じることにする。一方、テンポラリー博物館以外でも、公開講座の形式は様々である。どのような形式の公開講座にも利用できるように、公開講座のコンテンツを加工可能にしておくことは、重要なことであると考えられる。

本研究では、公開講座に利用できる新しいコンテンツの提案を行い、その加工方法について少し触れる。ここでは、「果汁を使ったタンパク質の加水分解」というテーマで、果汁に含まれるタンパク質分解酵素でゼラチンを分解する反応を取り上げ、「酵素と光学活性の関係」というテーマでアミノアシラーゼによるN-アセチル-DL-アラニンの立体特異的加水分解反応と旋光度との関係を取り上げた。これらの実験テーマは、筆者が予備実験を行ってある程度確立したものである。実際に中学生を対象とした公開講座等で試みられているが、その結果は本論文の対象としていない。

2. 実施方法と結果・考察

2-1. 果汁を使ったタンパク質の加水分解

2-1-1. 果汁に含まれるタンパク質加水分解酵素について

生命体（生物）を構成している物質は様々ある。タンパク質、核酸、多糖は生体高分子（分子量が大きい）と呼ばれ、とくに重要な物質である。一方、脂質は重要な物質であるが大きな分子量を持っていない。これらの物質の一部は体の中で合成することができ、多くは生命を維持するために体の外から食物として取り入れる必要がある。タンパク質、多糖、脂質は3大栄養素、これに、核酸、ミネラル、ビタミン、食物繊維を含めて7大栄養素と言うことがある。

ところで、タンパク質は体の外から取り入れただけでは役に立たない。生命体はタンパク質を一旦アミノ酸という構成単位に分解してから、それを配列し直してその生命体に役立つ新しいタンパク質を作る（図1）。

タンパク質

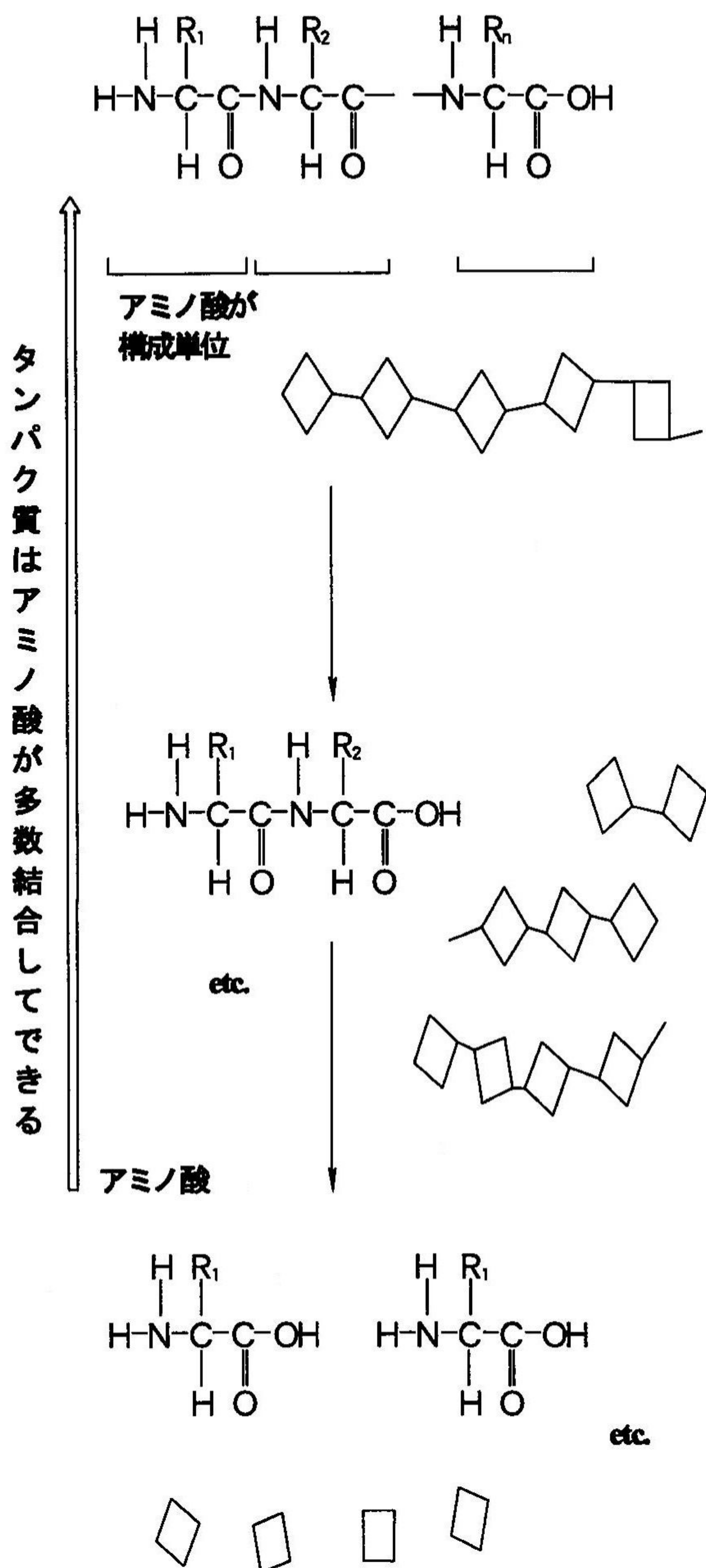


図1. タンパク質とアミノ酸

動植物はタンパク質を分解する様々な酵素を持っている。特に、植物の果実に含まれる酵素は入手しやすく、よく研究されている。表1に果実に含まれる酵素をいくつか示す。

表1. 果実に含まれるタンパク質分解酵素⁴⁾

果実名	酵素名	分子量
パパイヤ	パパイン papain [EC 3.4.22.2]	23406
イチジク	フィシン ficin [EC 3.4.22.3]	26000
パイナップル	ブロメライン bromelain [EC 3.4.22.4]	31000
キウイフルーツ	アクチニジン actinidin [EC 3.4.22.14]	128000
メロン	ククミシン cucumisin [EC 3.4.21.25]	50000

ここではパイナップルの果汁を使って、タンパク質を加水分解する実験を行った。分解すべきタンパク質にはゼラチンを用いた。ゼラチンは動物の骨、皮膚、腱を作っているコラーゲンというタンパク質を水と煮沸して水溶性に変えたタンパク質である。よくゼリーとして菓子などに使われるのはこれを原料としたものである。

2-1-2. 実験操作

実験操作はA. 色素の抽出、B. ゼラチンのゲル作製、C. ゲルの堅さ比較、D. 果汁とゼラチンの反応からなる。それぞれの操作を以下に示す。

A.色素の抽出

- (1) 乾燥ブルーベリー（またはブドウの皮）1gに水15mlを加えて乳鉢上で碎き、綿をさしたロートに注いでろ過する。
- (2) ろ液を試験管（18 x 150 cm）で受ける。
- (3) ろ液3mlずつをピペットで別々の試験管に分ける。
- (4) 1つ目の試験管にレモン水（酸性）1ml、2つ目の試験管に水（中性）1ml、3つ目の試験管に重曹水（4%炭酸水素ナトリウム水溶液、アルカリ性）1mlを加え、軽く振って混合する。これらはゼラチンに色を付けるのに使う。（図2）

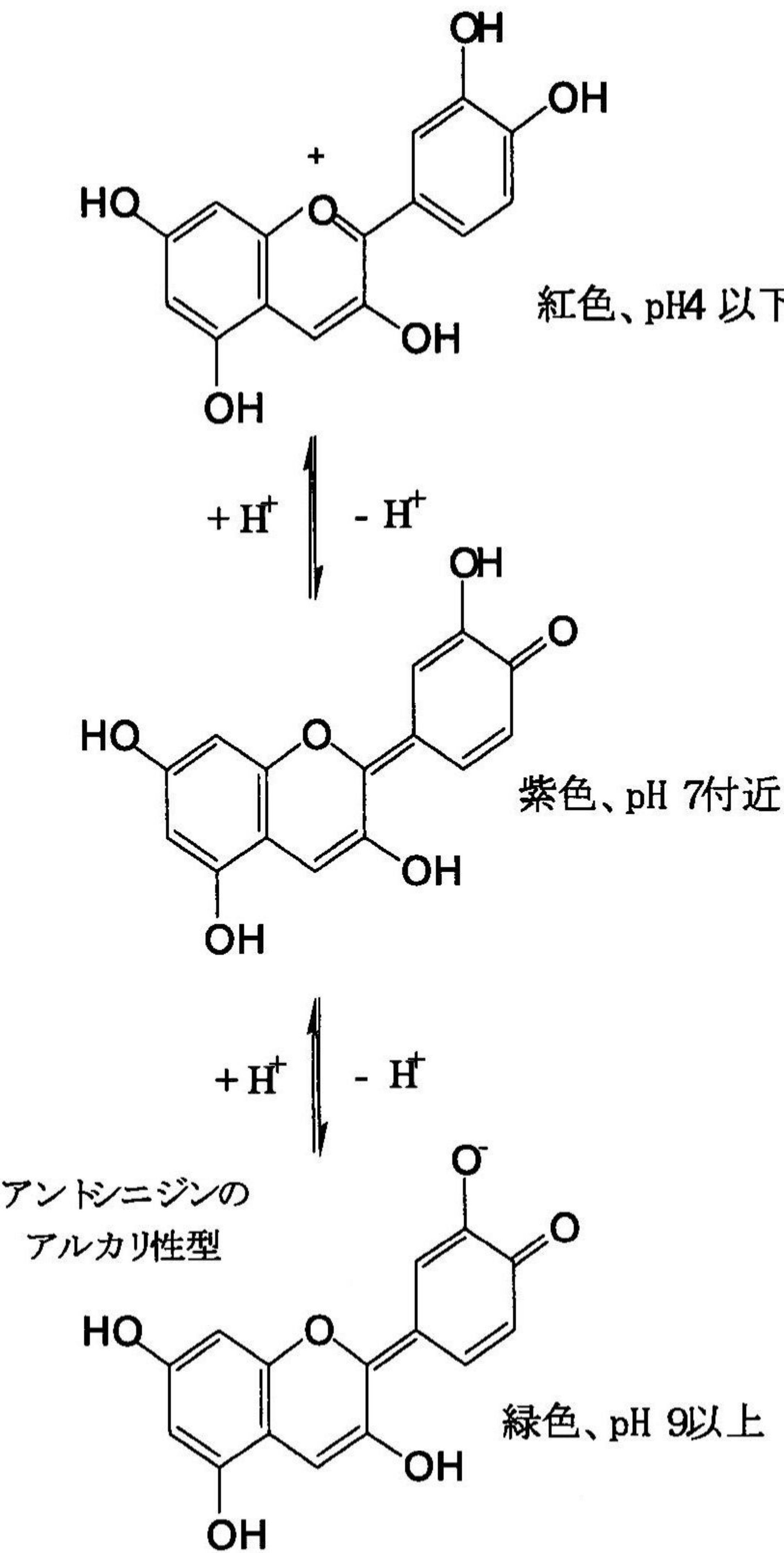


図2. 色素のpHによる色の変化

ブルーベリー、ぶどう、紫キャベツ、ナスなどの紫色の色素は、アントシアニン（anthocyanin）という色素の色である。アントシアニンは糖質とアントシアニジン（anthocyanidine）という物質が結合した構造をもっている。アントシアニンに色があるのはシアニジンの部分が色を発することによる。アントシアニジンは酸性、中性、アルカリ性で異なった構造に変わるので、それぞれ、緑、紫、紅色を発する。

B.ゼラチンのゲルを作る

- (1) 6本の円筒ガラス管の下端から7cmのところマジックインキで印をつける。
- (2) 円筒ガラス管2本ずつに紅色、緑、紫の色素溶液を1mlずつ加える。

(3) 粒状ゼラチン (Acros 社製) 2.5 g に水 47.5 ml (47.5 g)、5 g に水 45 ml (45 g) 7.5 g に水 42.5 ml (42.5 g) を加えて湯浴中で加熱し、それぞれ 5%、10%、15% のゼラチン水溶液を作る。

(4) 色素水溶液の入った 3 本の円筒ガラス管 (平底型ガラス製培養チューブ、ふたつき (三商) 18 x 120 cm) に次の組み合わせでゼラチン水溶液を注ぎ、溶液の上端がマジックインキの印まで達したら注ぐのを止め、軽くかくはんする。

組み合わせ:	紅	_____	5%
	紫	_____	10%
	緑	_____	15%

(5) 円筒ガラス管にふたをして、冷蔵庫で 20 分間冷却してゲルを形成させる。

C. ゲルの硬さを比較する (図 3)

(1) 円筒管のふたを開け、それぞれに水 1 ml を加え、図 3 のようにプラスチック製の細管をセットして、6.5 cm のくぎをゲルの上端に自然落下させる (力を加えない)。この実験を紅、紫、緑のゲル各 1 本ずつについて行う。(残りの紅、紫、緑のゲル 1 本ずつはこのときは使わない。)

(2) ゲルの上端から落下したくぎの先端までの長さを測って記録する。

(3) 落下実験を行ったゲルからくぎを抜いて、鉄製のさじでかき混ぜる。

D. パイナップル果汁をゼラチンと反応させる

(1) パイナップルの碎片を乳鉢でつぶしてとれたジュースをろ過して試験管に取る (少なくとも 5 ml 以上は必要)。

(2) パイナップルの抽出液 1 ml ずつを残りの紅、紫、緑のゲルの上に注ぎ、5 分間静かに振る。

(3) くぎの落下試験をする。

(4) ゲルの上端から落下したくぎの先端までの長さを測って記録する。

(5) 落下実験を行ったゲルからくぎを抜いて、鉄製のさじでかき混ぜて見る。ゲルの形が崩れて細くなるのを確かめる。

2-1-3. 結果・考察

色のついたゼラチンの作製には、アントシアニンを用いたが、ゼラチン水溶液で希釈すること

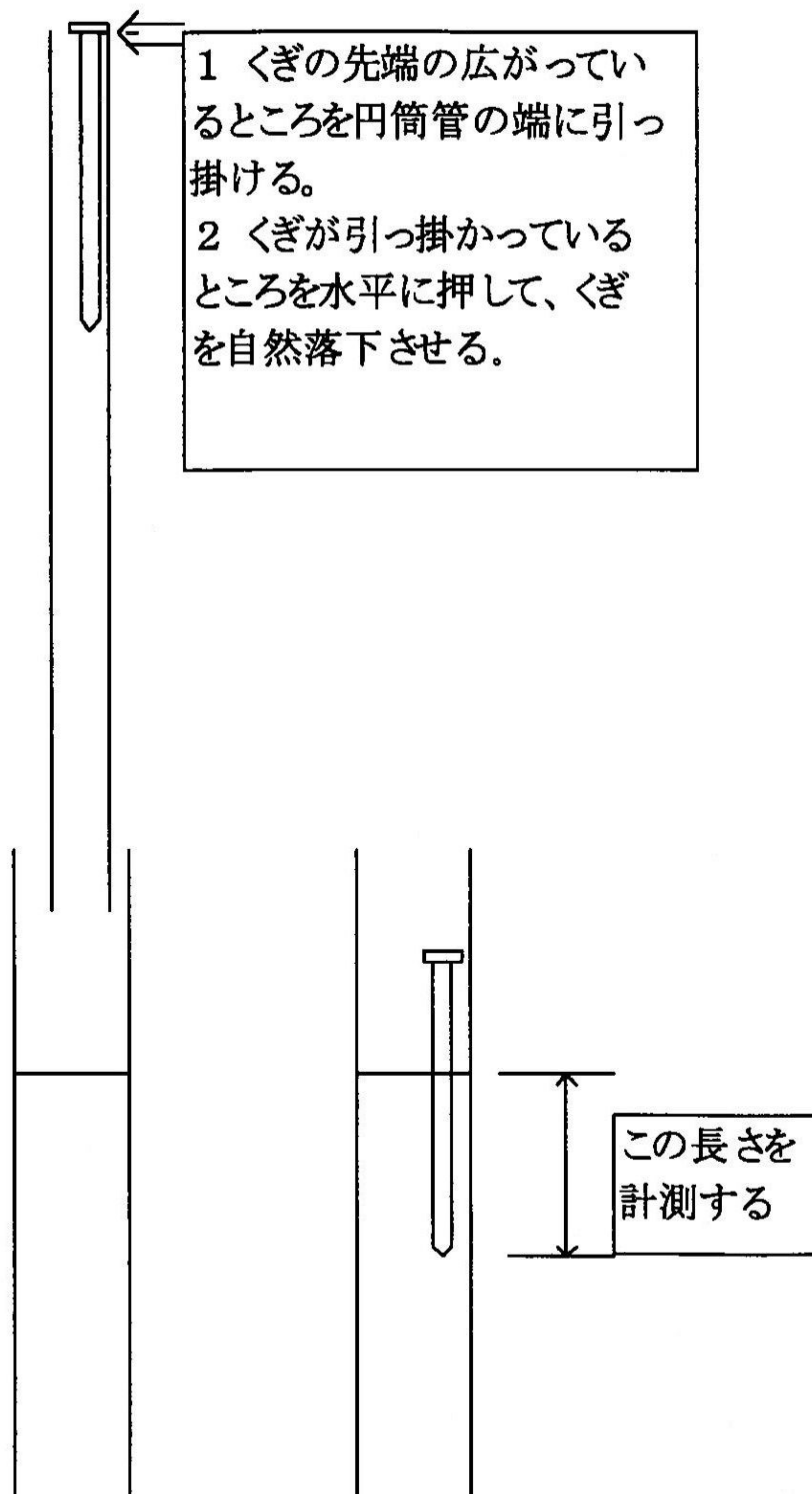


図 3. ゲルの硬さを比較する

で色が薄くなるため、ゼラチンとの混合液としたときに十分な色が出るように色素の量を調整する必要があった。今回用いた量は十分であったが、新しいぶどうの皮の方が抽出は容易であった。

希薄なゲルを用いた場合ほど、くぎは深くゲルに進入し、ゲルの堅さを見る明確な指標となった。しかし、ゲルは温度が上がることによって柔らかさが変化するため、一定温度で行った方が適切な比較になる。今後、このようにして作製したゲルへのくぎの進入とゼラチンの濃度、温度の関係を見る実験を組み立てることも可能であろう。今回は、室温 (25 ~ 30℃) 実験したが、ガラス管を手でしっかり握って実験している場合には、はっきりした結果はでないであろう。

公開講座に使えるテーマ（３）…「果汁を使ったタンパク質の加水分解」と「酵素と光学活性の関係」

また、ゲルの入ったガラス管の上部にパイナップル果汁を添加した場合とただの水を添加した場合とを比較しても、ゲルの溶解にあまり大きな違いが見られなかった。この理由については、今後、検討する必要がある。しかし、この２つの試料を別々に鉄製の葉さじでかき混ぜたところ、パイナップルを入れた方は見る見るうちに溶解したが、水の方はほとんどゲルの溶解は観察されなかった。この実験でパイナップルのタンパク質分解酵素がゼラチンを分解している様子をはっきりと確認できた。さらに、化学的に確認できる実験を工夫することが課題である。

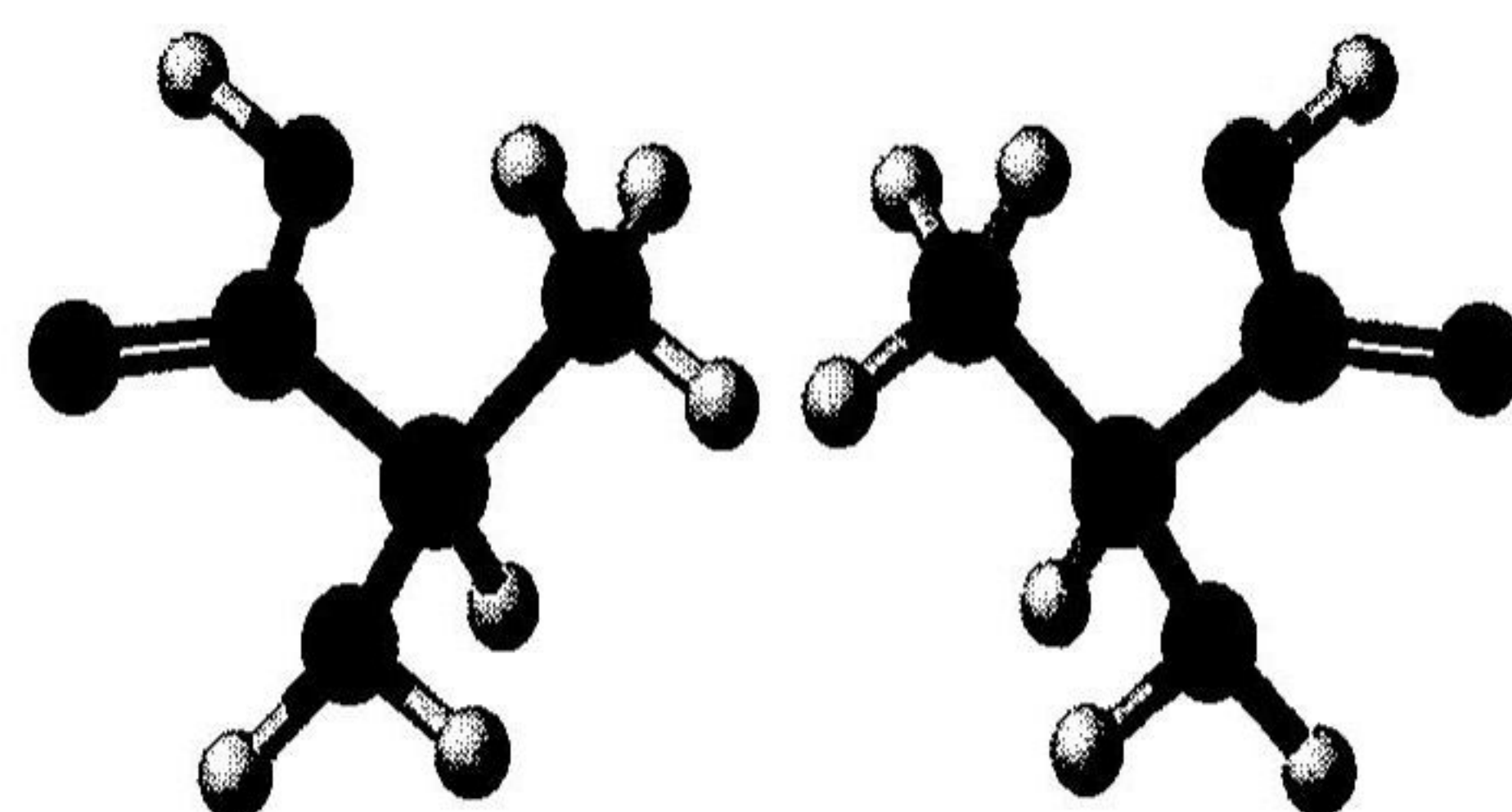
これらの実験をたとえば中学生対象の公開講座で実施する場合には、色素の抽出とゼラチンの作製までで冷却も含めて約６０分から９０分かかるだろう。これにくぎを刺す実験とパイナップル果汁でゼラチンを溶かす実験を含めると全体で１５０分から１８０分で終了できる。ただし、ぶどう皮やパイナップルの切り身をあらかじめ作成しておけば１５０分以内には終了できる。テンポラリー博物館でたまたま現れた人にやってもらうには、料理番組のようにあらかじめ出来上がっている試料を実験者に渡して実験してもらえばさらに短い時間で済むことになる。

２－２．酵素と光学活性との関係

２－２－１．酵素と光学活性について

酵素は人間をはじめ生命体の中で物質を合成したり分解したりする“触媒”の働きをする“タンパク質”である。このタンパク質は“片手構造”のアミノ酸がいくつもつながった構造をしている（図１）。ここで“片手構造”といったのは、アミノ酸が理論的には“右手型”と“左手型”の互いに鏡像関係にある構造が可能である（図４）のに対して、生命体のタンパク質はその一方（たとえば“左手型”）でできている。その結果、タンパク質でできている酵素は“左手型”のアミノ酸やそれと似た構造の物質と好んで反応する。つまり、左手と左手がかみ合って握手ができるのによく似ている（図５）。

ここで実際に取り上げる反応５）は、N-アセチル-L-アラニン（N-Ac-L-Ala）にアシラーゼに作用させ、N-アセチル-L-アラニン（N-Ac-



右型

左型

図４．アミノ酸の右型と左型

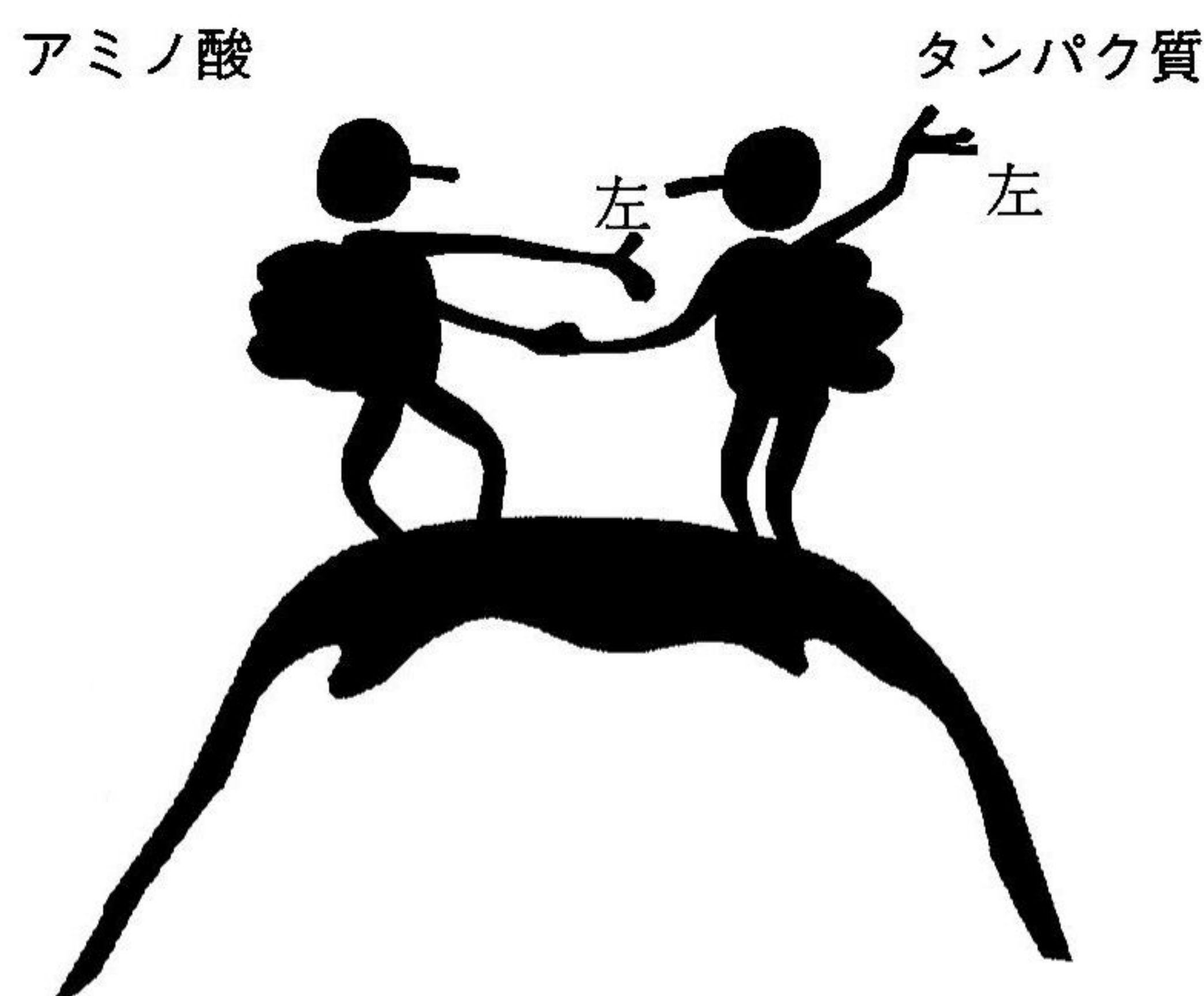


図５．左手同士で握手するところ

L-Ala) だけを加水分解する酵素反応である。この反応を旋光度の変化によって調べる。反応前の旋光度は０度であるが、反応後には旋光度の符号はプラスになるはずである。なぜならば、N-アセチル-L-アラニンのD体とL体の旋光度はそれぞれ＋６６度（D）、－６６度（L）、アラニンのD体とL体の旋光度は－１４度（D）、＋１４度（L）であり、反応後にはN-アセチル-L-アラニンが減少して、L-アラニンが生成し、D-アラニンは生成しないからである。

２－２－２．実験操作

N-アセチル-DL-アラニンの酵素反応（A）に時間がかかるため、反応を最初に開始した後、待ち時間ができる。この時間を埋めるとともに実験についての理解を深めてもらうために、この時間

を利用して単糖の旋光度を簡易旋光計で測定する実験 (B) をおこなうことが効果的と考えた。

A. N-アセチル-DL-アラニンの酵素反応

- (1) N-アセチル-DL-アラニン (0.20 g、渡辺化学工業) を 1.5 ml のプラスチックチューブに取り、トリス塩酸緩衝液 (pH7.5) 1 ml を加えて溶液をつくる。
- (2) これに酵素アシラーゼ (*Aspergillus genus* 製 東京化成) 0.015 g を加えて攪拌し、37℃でヒートバス中数時間反応させた (2 時間)。この反応中、操作 B に示すように単糖の旋光度の測定を行う。
- (3) 6 M の濃塩酸 5 ml に反応液を注いで反応を停止させる。
- (4) 反応液を遠心分離し、上澄みをガラス試料管に集めて旋光度を測定する。これには、デジタル旋光計 (日本分光 DIP181) を用いる。

B. 単糖の旋光度測定の実験

- (1) グルコース (東京化成)、フルクトース (東京化成) のそれぞれ 5 %、10 %、15 % の水溶液 100 g ずつを作製する。
- (2) 溶液を円筒ガラス管 (平底型ガラス製培養チューブ、ふたつき (三商) 18 x 120 cm) に入れ、これをさらに簡易旋光計 (LP-1 島津理化機械) (図 6) の塩ビ管に挿入して、旋光度を測定する。これに先立ち、あらかじめ、蒸留水を用いて光の透過率の最も低い箇所を明らかにしておく。
- (3) 以上の実験で単糖の種類、濃度によって、旋光度がどのように変化するか比較する。

2-2-3. 結果・考察

アシラーゼを用いた 2 時間の反応では、デジタル旋光計による旋光度の測定値は、ナトリウム D 線 (589nm) で光路長 5cm セルを使用した場合には +0.02 ~ +0.03 であり、光路長 10cm セルを使用した場合には +0.04 ~ +0.06 であった。これらの値は、理論どおりプラスの符号という結果であったが、反応時間をさらに延ばすとその値に変化が現れるのか、あるいは最大値はどの程度になるか等、実験の最適化を行う必要があるだろう。

また、単糖の旋光度の測定では、光源として懐中電灯という多色光を使用しているため接眼部の偏光版を回転させると様々な色が現れ、旋光度の決定が難しかったが (通過する光の波長によって

回転角度が異なることが原因)、どの程度回転させたら最も暗くなるかを調べることによって回転角度を求めた。しかし、色が様々に変化することも場合によっては、実験する者の興味を引き出すのに役立つと考えられる。

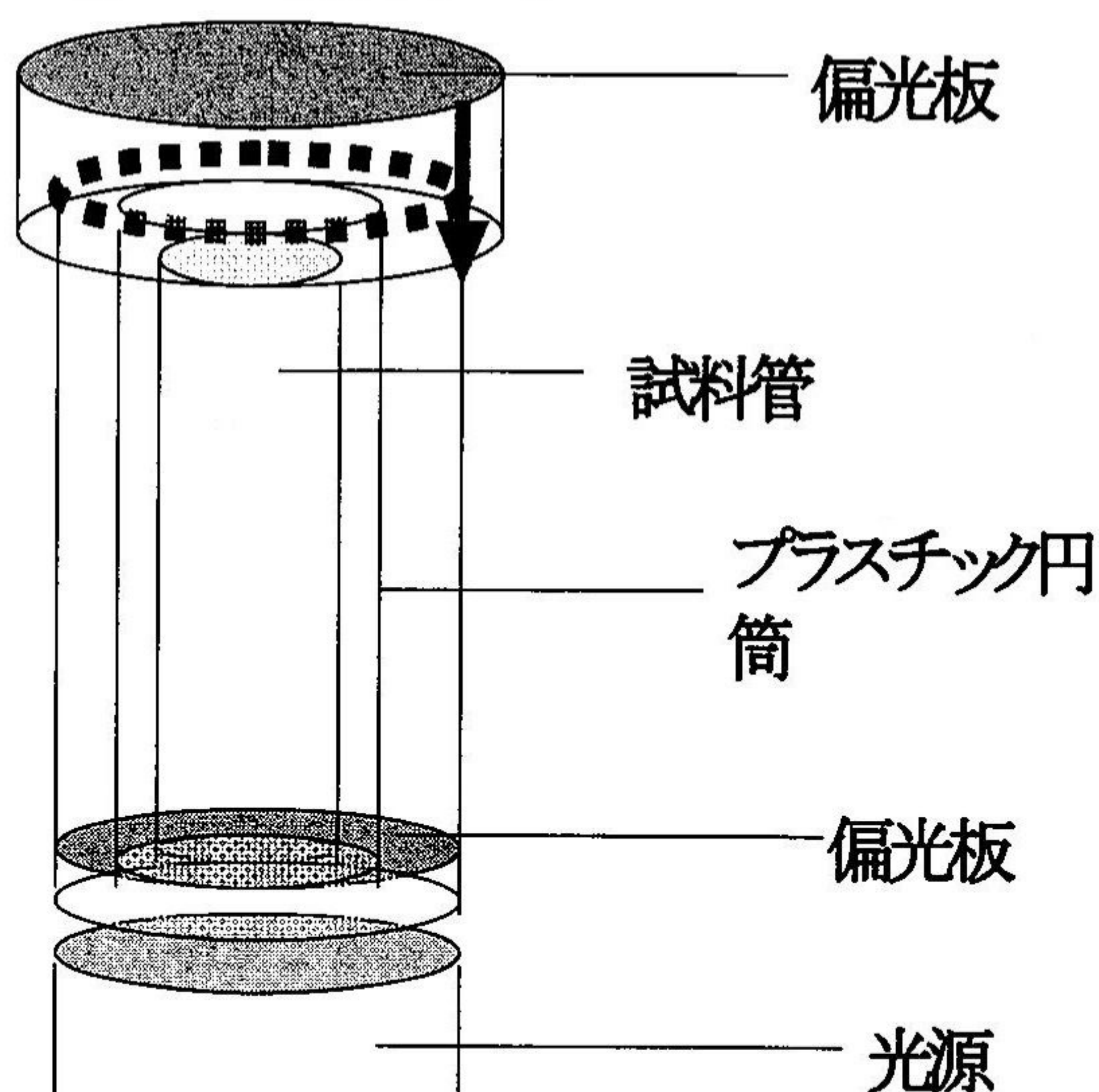


図 6. 簡易旋光計

3. おわりに

公開講座で利用可能な 2 つのテーマについて紹介したが、テンポラリー博物館を通行する人々を対象にこれらのテーマを実施するには、まだ工夫が必要である。短い時間に手際よく見せなければならないし、その時間内で興味を引かなければならない。その点では、展示の工夫も必要になってくるであろう。今後、これらのことも考慮して、より効果的な実験テーマと説明のセットを開発することが重要であろう。さらに、実際に公開講座で実施した結果についても検討すべきである。

参考文献

- 1) 高木幹夫、「ゆとり教育は子どもたちから自尊感情を奪った」、論座、2001 年 1 号、p 62-65.
- 2) 大堀哲、「教師のための博物館の効果的利用法」、p 3、東京堂出版 (1997)
- 3) 同上、p 4、
- 4) 田宮信雄、丸尾文治、「酵素ハンドブック」、朝倉書店 (1982)
- 5) 後藤俊夫ら訳、「マイクロスケール有機化学実験」、p 432、丸善 (1990)

「受理年月日 2002 年 9 月 27 日」