

# 酵素実験のマイクロスケール化

金本 吉泰

中学校の教科書で取り上げられている「消化酵素」に関するだ液アミラーゼの実験について、試験管等を用いる従来の方法に比べて準備や後片付けが簡便であり、実験授業の省力化につながる方法について報告する。

[キーワード] 中学校理科 生命 消化酵素 実験実習 マイクロスケール実験

## はじめに

消化酵素の実験については、中学校第2分野第2学年の単元「動物の体のつくりと働き」の「生命を維持する働き」で扱われている。学習指導要領においては、「生命を維持する働き」について、「消化や呼吸、血液の循環についての観察、実験を行い、動物の体が必要な物質を取り入れ運搬している仕組みを観察、実験の結果と関連付けてとらえること」<sup>\*1)</sup>とされており、学習指導要領解説においては「消化については、動物には消化器官が備わっており、その働きによって、食物が物理的及び化学的に消化され、栄養分が吸収される仕組みを理解させる。その際、消化酵素を用いた実験を行い、ペプシン、アミラーゼなど代表的な消化酵素に触れる」<sup>\*2)</sup>とされている。

今年度の中学校理科研修講座テキストでは、アミラーゼとペプシンの作用について、デンプンと削り節を基質として用いた実験が紹介されている<sup>\*3)</sup>。しかし、多くの試験管等の器具を必要とする方法であるため、中学校現場においては、このように準備や片付けが煩雑となってしまう実験の実施は困難である。そこで今回、テキストに掲載されている実験方法について、教員の手間を極力省く形にすることを主眼に改善を図った。

## 1 必要器具の準備

### (1) マイクロチューブ

試験管の代わりに用いる。ベネジクト反応を確認する際に煮沸処理を行うため、ロック機能付きのものが望ましい。当センターで用いているものは以下の製品。

EPPENDORF社製 DNA LoBind Tube 2.0mL  
(Safe-Lock Tubes)

### (2) 保温用フロート

酵素反応の際にマイクロチューブを40℃前後の水の中で保温する際に用いる。当センターでは、100円ショップ等で販売している発泡ポリスチレンボードを約5cm角に切り出したものに、マイクロチューブの径とほぼ同じ幅のコルクボーラーで8つ穴を空け、中心にモールを差し込んで持ち手とした図1のようなものを使用している。

### (3) 煮沸用保持器

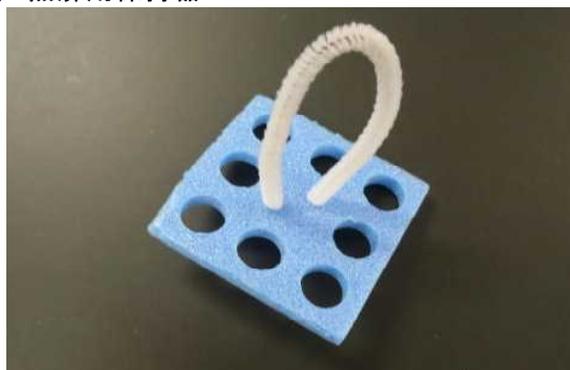


図1 酵素反応時の保温用フロート

保温用フロートは多くのマイクロチューブを固定できる利点がある一方、ポリスチレンで作成しているために高温になると変形して使用できなくなる。そのため、ベネジクト反

応のように高温での処理を行うためには別の保持器が必要となる。当センターでは、以下のようにして、針金を用いた煮沸用の保持器を作成している。

- ① 針金を30cm程度の長さに切断する。
- ② 片端から10cmのところを直角に曲げる。
- ③ 図2のように、針金にマイクロチューブを押し当てながら、マイクロチューブの径に合わせた針金のループを少なくとも4つ作成する。

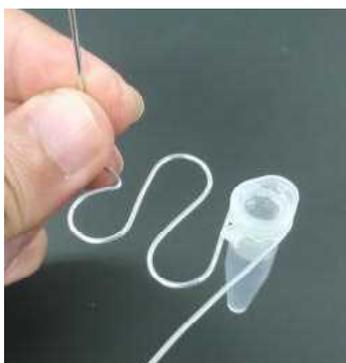


図2 ループの作り方

- ④ ループが4つできたら、残りの針金も反対側と同じように直角に曲げ、ビーカーの端に引っかけるために図3のように両端を加工して完成。

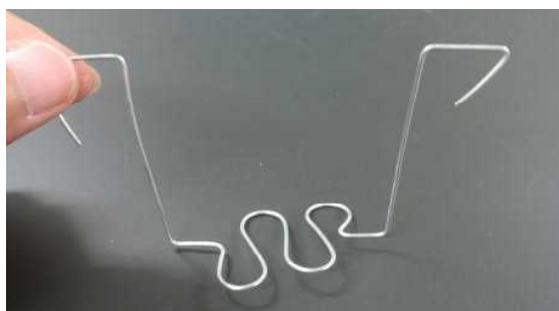


図3 完成形

## 2 マイクロスケール酵素実験

### (1) 準備

- ・デンプン溶液（1%水溶液）
- ・削り節
- ・0.5%塩酸
- ・ペプシン0.5%塩酸溶液（0.5%塩酸にペプシン濃度が2%になるよう溶解したもの）
- ・ヨウ素溶液
- ・ベネジクト液
- ・ろ紙片【5mm×20mm程度】（1班に8枚）
- ・マイクロチューブ（1班に8本）
- ・保温用フロート（1班に1つ）

- ・煮沸用保持器（1班に1つ）
- ・300mLビーカー
- ・実験用ガスコンロ（またはガスバーナー）
- ・上質紙（A4サイズ）
- ・ラップ（A4サイズの上質紙を覆う程度の大きさ）
- ・油性マジック
- ・2mLピペット+ゴム球

### (2) 実験手順

- ① マイクロチューブの蓋（または側面）に、1～8の数字を油性マジックで記入する。
- ② 1～8のマイクロチューブに、以下のように溶液等を入れる。（1と7以外に入れるろ紙は何も含ませずそのまま入れる）
  - 1→デンプン溶液0.5mL+水1.0mL+だ液を染みこませたろ紙片1枚
  - 2→デンプン溶液0.5mL+水1.0mL+ろ紙片1枚
  - 3→デンプン溶液0.5mL+ペプシン0.5%塩酸溶液1.0mL+ろ紙片1枚
  - 4→デンプン溶液0.5mL+0.5%塩酸1.0mL+ろ紙片1枚
  - 5→削り節1片+ペプシン0.5%塩酸溶液1.5mL+ろ紙片1枚
  - 6→削り節1片+0.5%塩酸1.5mL+ろ紙片1枚
  - 7→削り節1片+水1.5mL+だ液を染みこませたろ紙片2枚+ろ紙片1枚
  - 8→削り節1片+水1.5mL+ろ紙片1枚
- ③ マイクロチューブの蓋をしっかりと閉め、保温用フロートにセットする（図4）。



図4 保温用フロートにセットした様子

- ④ 300mLビーカーに200mL程度の水を入れ、温度計で水温を見ながらガスコンロで加熱し、42～43℃程度に温める。
- ⑤ 42～43℃になったら火を止め、1～8のマイクロチューブを差し込んだ保温用フロートを浮かべて10分間保温する（図5）。



図5 酵素反応のための保温中

- ⑥ 10分後、まず1～4のマイクロチューブを取り出し、5～8のチューブは保温を続ける。
- ⑦ 図6のように、上質紙に1～4の区画を記入し、その上にラップを重ねる。

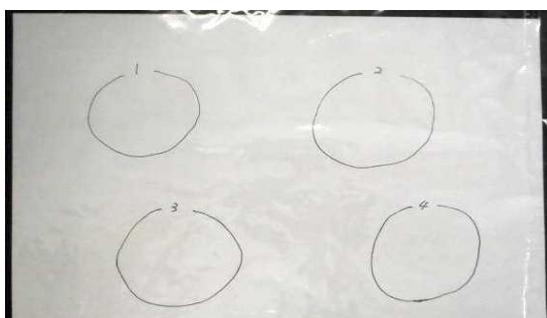


図6 1～4の区画作成

- ⑧ 1～4のマイクロチューブ内の液体を、5割～8割程度それぞれの区画のラップ上に滴下する（図7）。



図7 液体の滴下（チューブを慎重に傾けて行う）

- ⑨ 滴下した1～4の液体に、ヨウ素溶液を数滴滴下してヨウ素デンプン反応の有無を確認する（図8）。

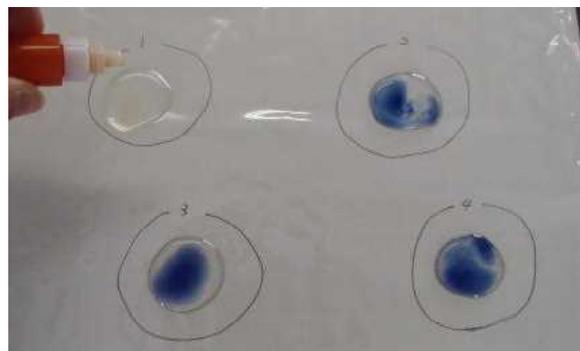


図8 ヨウ素溶液滴下後の変化

- ⑩ 5～8のマイクロチューブを取り出し、削り節の変化を確認する（図9）。

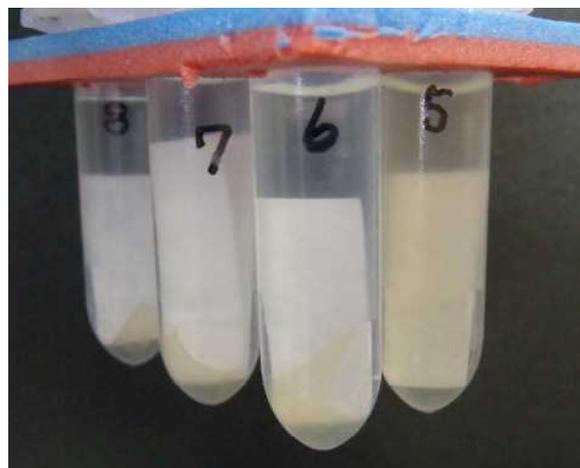


図9 削り節の変化

- ⑪ 1～4のマイクロチューブ内に残った液体にベネジクト液を2～3滴入れた後、蓋をしっかりと閉めてから煮沸用保持器にセットし、図10のように煮沸する。



図10 煮沸による加熱処理

- ⑫ 沸騰させながら1～4のマイクロチューブ内の液体の変化を観察し、どれかに変化がみられたら火を止め、煮沸用保持器を持ち上げてベネジクト反応の有無を確認する(図11)。



図11 ベネジクト反応の確認

### 3 成果と課題

#### (1) 成果

従来の試験管を用いる方法に比べ、この方法を用いることによるメリットとしては、主に次の3点が考えられる。

##### ① 準備・後片付けの簡略化

準備については、試験管立てや試験管のかわりにマイクロチューブと保温用フロート、煮沸用保持器を用いるため、手軽に準備できる。後片付けについては、ヨウ素デンプン反応の確認では、ラップと紙をそのまま捨てることで処理でき、数が多いマイクロチューブは基本的に使い捨てであるため、実験後の洗浄作業が減少する。

##### ② 実験結果の視認性の向上

ヨウ素デンプン反応の確認を白い紙の上で行うため、色の変化を確認しやすい。

##### ③ 廃液量の減少

マイクロスケール実験であるため、ベネジクト反応後の銅イオン含む廃液量はかなり減少する。

#### (2) 課題

この実験の課題としては、次のような2点を考えている。

##### ① 実験コスト

以前に比べてマイクロチューブの単価は下がって入手しやすくなったが、当センターで使用しているEPPENDORF社製 DNA LoBind Tube 2.0mL(Safe-Lock Tubes)は、販売単位が基本的には1,000本入りで8,700円となっており、中学校で購入する消耗品としてはまだまだ安価なものではない。

ただ一方で、マイクロスケール実験化に伴って使用する薬品量が減少し、薬品についてのコストは下がると思われる。

##### ② ペプシンの入手

当センターがこの実験で用いているペプシンは酵素力価が1:10,000でブタ胃粘膜由来のものである。和光純薬のカタログを見ると50g入りでも18,000円という価格であり、簡単には購入できない。

#### おわりに

中学校現場では実習助手もおらず、空き時間が少ない上に部活動の指導もあるため、十分な実験準備や片付けの時間が取れない場合が多い。今回紹介した実験方法の中には、他の実験の省力化にもつながる手法があるため、様々な場面で応用していただきたい。

これによって、生徒実験の省力化とともに実験時間の短縮にもつなげていただければ、実験を通した生徒の主体的・協働的な学びの授業をつくる上で有効であると考えている。

#### 参考文献

- 1) 文部科学省 中学校学習指導要領 第2章 各教科 第4節 理科
- 2) 文部科学省 中学校学習指導要領解説 理科編
- 3) 北海道立教育研究所附属理科教育センター 平成27年度 理科の観察・実験指導等の充実を目指して(中学校編)

(かなもと よしひろ 生物研究班)