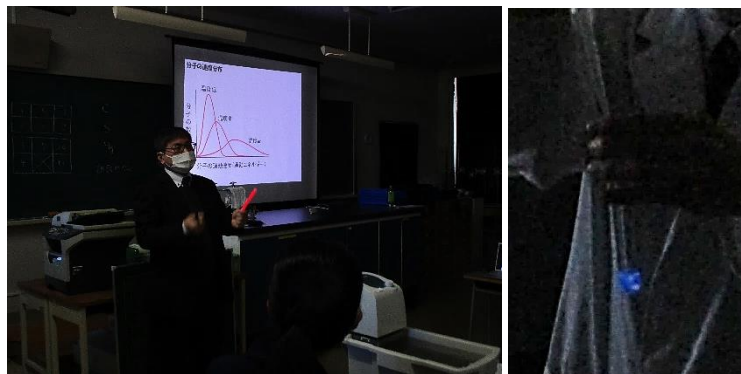


< SS-Lecture 講座8 >

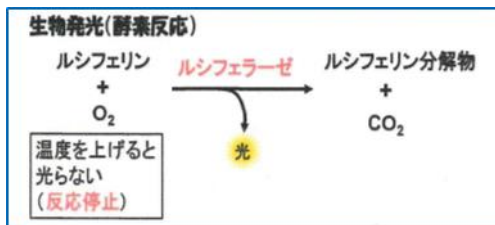
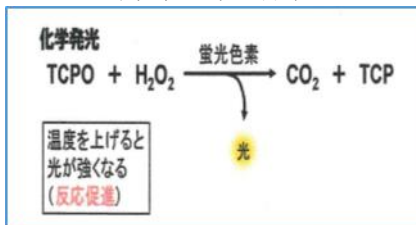
化学発光と生物発光

3月20日(土)に群馬大学教育学部の日置英彰教授とTAの大学生を7名お招きして、「化学発光と生物発光」についての講義と実験を行いました。研究室のTAの方々によるアドバイスも受けながら、グループ毎に仮説を立て、実験を行うことで仮説を検証し、考察するという探究的な活動でした。



左：ケミカルライトの光 右：ウミホタルの発光

今回はルミノール発光を実験



(今回の課題)

実験A

- ← ルミノール液 1mL
- ← 過酸化水素 1mL
- ← ペルオキシダーゼ 1mL
- ← 80°C 1分間加熱
- ← 室温に戻す

実験Aの結果

加熱すると最初強く光ったが、光らなくなる。
室温に戻しても音いままである

実験B

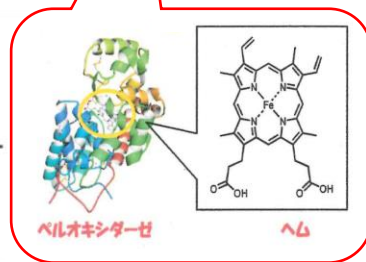
- ← ルミノール液 1mL
- ← 過酸化水素 1mL
- ← ペルオキシダーゼ 1mL
- ← 80°C 1分間加熱
- ← 室温に戻す

実験Bの結果の予想

[光る・光らない]

そう予想した理由

・ペルオキシダーゼだけ加熱すると変性して、触媒として働かなくなるから。
・実験Aでは加熱すると最初強く光ったが、光らなくなったが、これは徐々にペルオキシダーゼが変性しているからではないかと考えたから。



実験Aと実験Bの結果を比較して、探究してみたいことはありますか？
どんなことを探究してみたいか書いてください。

実験Aでも実験Bでも光った。実験Bでも光った理由としては、80°Cでもペルオキシダーゼが変性しなかったこと、ペルオキシダーゼ自体は変性しているがヘムが変性していなかったことが考えられる。実験Aでやがて光らなくなったのは、化学反応が終わったからだと考えられる。ペルオキシダーゼは何で変性するのか、発光にはヘムが関係しているのか、ヘムを加熱しても発光するのかを知りたい。タンパク質が変性してもヘムが変性しなければ発光するのかを知りたい。

多くの班が「光らない」と予測した実験Bが発光。
疑問や課題を設定して実験してみよう！

課題
加熱する溶液を混ぜたらどうなるのか

仮説
あの組み合わせによる違いはない

実験計画と結果

	ルミノール	過	ハム	
①	○	○	×	① 光あり ⇒ 光る
②	○	×	○	② 光あり
③	×	○	○	③ 光なし
④	○	×	×	④ 光あり ⇒ 光る
⑤	×	○	×	⑤ 弱く光る ⇒ 光る
	×	×	○	光る
	○	○	○	光る

○2種類以上の物質を加熱するときは混合したものを加熱

〈結果〉
○ 過酸化水素水とペルオキシダーゼとを加熱すると光る。
⇒ 過酸化水素水とペルオキシダーゼを別々に加熱して混合したら光る。

考察(どの実験から何がわかったか具体的に書いてください)

- 加熱する溶液の組み合わせを変えたらどうなるのか
(2種類以上の物質を加熱するときは混合したものを加熱する)
- ↳ 過酸化水素水とペルオキシダーゼとを加熱すると光る。この際、ルミノールの加熱の有無は発光に関係ない。
- 過酸化水素水とペルオキシダーゼを別々に加熱したらどうなるのか
↳ 発光のため、過酸化水素水とペルオキシダーゼを混合したときに発光を阻害する物質が混入したと推定した。
- ペルオキシダーゼ内のハムとグロブ質のどちらに酵素作用があり、発光に関係するのかわかるのか
↳ ハムとH₂O₂、ペルオキシダーゼをそのまま混合したときに発光した。ことから、ハムに酵素作用があると推定した。

課題
ペルオキシダーゼ + ルミノール
アセトロビン + ルミノール
はどちらも発光する
という事は それぞれ共通した要素のハムが発光の原因か

仮説
ハム水溶液 + ルミノール は発光する。
ハムが発光の原因ではない。

実験計画と結果

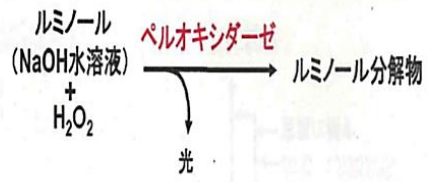
- ① 1ml ルミノール + 1ml H₂O₂ の試験管を2本作る
- ② ①のうち1本にハム(1ml)を加え発光するか調べる → 発光した
- ③ ②を1分間加熱して発光したか2分経たずに光は弱くなるか
- ④ 1分間加熱したハム + ルミノール + H₂O₂ 1ml が発光するか → 弱く発光

考察
① ハムとルミノールを混ぜたら発光 → 発光の原因はハム
② ハムは熱で失活して

考察(どの実験から何がわかったか具体的に書いてください)

- ① ハム + 塩酸 + ルミノール → 発光はしなかった。ハムは熱に強く酸に強い。
- ② ハム + ルミノール + H₂O₂、アセトロビン + ルミノール + H₂O₂ はどちらも発光する。共通した要素のハムが発光の原因か。ハムは発光する。ハム + ルミノール + H₂O₂ → 発光した。ペルオキシダーゼの存在の原因はハムが加熱しても発光した。ハムは熱に強い。
- ③ ハムは酸に強い。ハム + 塩酸 + ルミノール → 光る。ハムは酸に強く熱に強い。ハムは90℃で失活する。
- ④ ハムの正体は? ハムが光るのはボルフィリンか Fe かどちらか調べたい。
1. ボルフィリン + ルミノール + H₂O₂
2. 硫酸鉄 + ルミノール + H₂O₂
→ ハムが発光する原因はボルフィリンか鉄でなく、2つが合わさったハムに由来して発光する。

まとめ: ルミノール反応



まとめ
この反応は化学発光で、ペルオキシダーゼ中のハムが触媒している。
ペルオキシダーゼ中のハムは過酸化水素と加熱すると分解する。

(受講した生徒の感想)

生物や化学の基礎から教えていただいて、とても分かりやすかったです。学校で習った知識を使って、班のみんなで必死に考えることができて楽しかったです。自分たちが知りたいことに対して、どんな実験をしたら調べることが出来るのかをみんなで考えたのが、一番難しくて楽しかったです。自分一人ではなく、仲間と一緒に考えることの大切さを学んだので、これからは自分が疑問に思ったことに対して仲間と一緒に探究していきたいです。

