

2Ep-4

Euglena における糖代謝の Fru-2,6-P₂ による調節と
Pyruvate kinase の占める働きについて

・ 桜庭春彦、榎本俊樹、宮武和孝、北岡正三郎（大阪府大、農化）

Fructose-2,6-bisphosphate (Fru-2,6-P₂) は近年、解糖系調節因子として発見された糖代謝中間体である。本物質は酵母菌やラット肝臓においては解糖系調節酵素である phosphofructokinase (PFK) を強力に活性化し、この逆反応を触媒する fructose-1,6-bisphosphatase を阻害する。Euglena では解糖系酵素 P_i-PFK（本生物において PFK に代わる酵素）が Fru-2,6-P₂ により活性化されることが判明している。¹⁾

しかしながら我々は本物質が P_i-PFK の活性化作用にとどまらず、さらに多様な作用を持つことを見出した。すなわち Fru-2,6-P₂ は Euglena における可溶性貯蔵糖である trehalose の分解合成を触媒する trehalose phospholyase を阻害し、²⁾ 解糖系末端酵素である pyruvate kinase を活性化した。Pyruvate kinase は解糖系における調節酵素の一つと言われ、種々の代謝中間体によりその活性が調節されることが知られている。本研究は Euglena の糖代謝における Fru-2,6-P₂ の生理的役割を解明するためにこの pyruvate kinase に着目し、本酵素を高度に精製しその酵素化学的性質及び生理的意義を明らかにすることを目的とした。今回は Euglena からの本酵素の精製法及び Fru-2,6-P₂ を始めとする種々の代謝中間体が本酵素活性に及ぼす影響について報告する。

Euglena gracilis の葉緑体欠損株 (SM-ZK) を 5日間光照射下で Koren-Hutner 倍地で培養し、超音波破碎により粗酵素を調製した。これを 6~16% polyethylene glycol 6000 により分画し、DEAEセルロースカラムクロマトグラフィーの後、ハイドロキシアパタイトクロマトグラフィーを行い、次いでセファデックス G-150 カラムによるゲルろ過を行うことで、回収率 48%、精製倍率 1200倍の精製標品を得た。本酵素は、Fru-1,6-P₂ によりアロステリックな活性化を受け、その活性化の半飽和濃度 (K_a値) は 0.9mM であった。ところが Fru-2,6-P₂ による活性化作用をみると、その K_a値は 0.4mM を示し Fru-1,6-P₂ の場合の半分以下の値を示した。また Fru-2,6-P₂ の存在により本酵素の phosphoenolpyruvate に対する飽和曲線は sigmoid 型から Michaelis 型の形状に変化し K_{s0.5}値は 3.3mM から 0.3mM にまで減少した。そこで、Euglena におけるこれら代謝中間体の濃度を測定し pyruvate kinase の生理的役割について考察を加えた。

1) K. Miyatake, et al., Agric. Biol. Chem., 50, 2417 (1986)

2) K. Miyatake, et al., Biochem. Biophys. Res. Commun., 122, 906 (1984).