

3C-9

発芽種子のミトコンドリアにおけるイソクエン酸脱水素
酵素の化学的性質

赤浦友子, 山本幸男 (名大農薬化)

植物細胞の可溶性成分には NADP-dependent, ミトコンドリアには NAD と NADP に dependent なイソクエン酸脱水素酵素 (ICDH) がみとめられている。ミトコンドリアにある NADP-ICDH は可溶性成分の NADP-ICDH と化学的性質において異なる (山本, *plant physiol* 44, 262, '69)。植物におけるイソクエン酸代謝の調節を知るためには、これら ICDH の化学的性質を明らかにしておかねばならない。

NADP-ICDH はどの植物のミトコンドリアにもみとめられるが、脂肪性種子は発芽とともに胚乳あるいは子葉ミトコンドリアにおいて NAD-ICDH の活性をも高める。 (Tanner & Beavers, *Z. Pflanzenphysiol.* 53: 72, '65, 佐藤・山田 植物学会 1967)。しかし澱粉種子のミトリササゲ子葉ミトコンドリアにおいては NAD-ICDH 活性は発芽期を通じて出現しない。

われわれはまえにこのミトリササゲミトコンドリアに低濃度のグリセロールを添加すると NADP-ICDH 活性が抑制されるのに対応、NAD-ICDH 活性があらわれることを報告した。 (上記 *plant. physiol.*, および植物生理学会 '68)。

① 同一酵素蛋白が *conformation* を変えることにより NAD と NADP の使用度を変えているのか、

② NAD-ICDH と NADP-ICDH の2種の酵素がグリセロールに異なった *response* を行っているのか、

を明らかにするため、酵素の溶出、安定化、精製分離、各種グリセロール誘導体に対する反応、性質を調査した。

この ICDH はミトコンドリアの超音波処理では溶出しないが、0.5% *digitonin* 処理で溶出した。溶出酵素はグリセロールにより NADP-ICDH 活性を弱め、NAD-ICDH 活性を出現させた。この溶出酵素は凍結状態に保っても 24 時間でグリセロールによる NAD-ICDH 活性出現能力を無くした。いくつかのものをテストしたなかで *dithiothreitol* を含んだショ糖を添加し、凍結状態に保てば 90~100%, 5 日目でも 70% 以上の NAD-ICDH 出現能力を保存することがわかった。NAD-ICDH の出現に対しエナレングリコール、グリコール酸、グリセリン酸、 α -グリセロリン酸、 β -グリセロリン酸、ジグリセリン、ジアセタン、ジグリコール酸、ショ糖、グルコース、マンニトールの影響を試験したがグリセロールと同作用は示さなかった。3 炭素 3 価アルコールに特有で 3 つの -OH の何れが置換されても NAD-ICDH を出現させる効力を無くした。動物の NAD-ICDH は ADP で、カビ・酵母の NAD-ICDH は 5'AMP で活性化されるがミトリササゲミトコンドリアの NAD-ICDH 活性と NADP-ICDH 活性は ADP によりなんらの影響をうけず、5'AMP で同程度に抑制された。ジギトニン抽出液をショ糖, *dithiothreitol* 共存下で *Sephadex G-200 column* により精製したがグリセロールを加えて測った NAD-ICDH 活性 *peak* と NADP-ICDH *peak* は一致した。この活性最大のフラクションをさらに Disk 電気泳動法で分離したが、NAD-ICDH 活性と NADP-ICDH 活性を示す位置は完全に一致した。上記①の可能性が強まっている。