たが、これら脂質を超音波により乳化して反応液に添加したところ、フォスファチジルセリンにより著しいNa-K-ATPaseの活性化が起こり、Tritonなどによる失活も完全に回復することが認められた。更にDiisopropylfluorophosphateによりNa-K-ATPase活性が完全に阻害されることより、セリンがこの酵素の活性中心に関与することがうかがわれ、前述の結果と合わせて、フォスファチジルセリンがNa-K-ATPaseの活性中心に重要な位置を占めることが考えられる。また、成牛の脳蛋白質のミクロソーム分画についても、ほぼ同様の結果が得られた。

ミトコンドリア内膜の蛋白質

浅見行一（放射線医学総合研究所生物研究部）

酸化リン酸化の機構がミトコンドリアの膜構造と密接に関係したものであることは良く知られている。ミトコンドリア膜を特徴づけている蛋白質が何であるか知ることは、これらの機構の理解に必要であろう。今回は膜成分を可溶化し、SDS-ゲル電気泳動を用いて蛋白質成分を分子量に従って分離し、主成分について知ろうと試みた。

ミトコンドリア内膜をSottocasaら(1969)の方法に従って分離し、それから亜ミトコンドリア粒子を得て内膜成分とした。これをアオキシコール酸・コール酸を用いて可溶化し、SM尿素、0.1%ラウリル硫酸ナトリウム、0.1%メルカプトエタノールに対して透折して可溶化試料を得た。電気泳動は10%ポリアクリルアミド、0.1%ラウリル硫酸ナトリウム中を行ない、アミドブラックで染色後、濃度計によって記録し、標準試料と比較して分子量を測定した。

内膜成分として主なものは分子量 $61\sim 65 \times 10^3$ 、 $49\sim 55 \times 10^3$ 、 $28\sim 31 \times 10^3$ の三成分である。第二のpeakは主としてATPaseに由来するもので、亜ミトコンドリア粒子を尿素処理してATPaseを除去した後で可溶化した試料では第一と第三のpeakが主成分となる。

Greenらの「構造蛋白質」分画と「チトクロム」分画をBeattieら(1966)の方法によって分離し、可溶化して比較すると、「チトクロム」分画は第一、第三のpeakを多く含むのに対し「構造蛋白質」に

第二、第三のpeakを多く含む。

以上の結果から膜構造の保持に関係する分画は第三のpeakである可能性が示唆される。この分画は膜蛋白質全体の10~20%を占めると思われる。

食用蛙(ウシ蛙)変態と肝PEP carboxykinase

伊藤博元・後藤至孝・長野 弘・宿谷良一

(日本医科大学大学生化学教室)

通常カエル幼生は、その変態時には食物を摂取しなくなる。従ってその時期には低分子物質からの糖新生が盛んに行なわれていると考えられる。われわれは、このことを酵素レベルで説明することが可能か否かを調べるために、糖新生系路のkey enzymeの一つと言われているphosphoenol pyruvate carboxykinase(PEPCK, E. C. 4. 1. 1. 32)を選び、その動態を、変態との関連において調べた。自然変態では、オタマジャクシの時に $8 \mu \text{ moles}/\text{min}/\text{mg wet}$ しかなかった上清の活性が、L/T=2の時には、3倍の $24 \mu \text{ moles}/\text{min}/\text{mg wet}$ にまで増加した。核および、ミトコンドリアのこの酵素活性には変化が認められないから、変態期における活性の上昇は、上清の酵素によることがわかった。この結果から、細肪内分布を計算すると、幼生では60%の活性が上清分画に見られるが、L/T=2付近ではこれが80%に上昇する。ミトコンドリア酵素は、幼生では、全活性の約30%を占めるが、成蛙では、殆んど消去する。

すなわち、幼生では、ミトコンドリアと上清分画にあったPEPCKは、成蛙では殆んどが、上清分画に局限することがわかる。他方、Triiodothyronine誘導変態(5 μg 腹腔内注射)では、投与後、8日目より活性値は急激に上昇して、 $4 \mu \text{ moles}/\text{min}/\text{mg wet}$ から $20 \mu \text{ moles}/\text{min}/\text{mg wet}$ になる。この投与群の細胞内分布は自然変態同様上清分画の酵素の上昇が明らかになった。0.75% NaClを注射した対照群も、活性の軽度上昇を見たが、それは $10 \mu \text{ moles}/\text{min}/\text{mg wet}$ 程度のわずかなものであった。これは、おそらく飢餓に基づく活性の上昇と思われ、この対照群の細胞内分布を見ると、やはり上清の酵素のわずかな上昇がみられた。すなわち、変態時に、本酵素活性が上昇するのは、細胞上清分