

ウニ卵の Glycogen 分解機構

日野晶也・安増郁夫 (早大・教育・生物)

Two pathways for enzymatic breakdown of glycogen in sea urchin eggs and their activation upon fertilization

AKIYA HINO, IKUO YASUMASU

ウニ卵を用いた Glycolysis の解析が進み Key Enzyme も明らかになってきている。その Key Enzyme の一つである Phosphorylase の生成物 Glucose-1-phosphate の量がウニの種類により大きく違う事が疑問として残っていた。この違いは何によるものか探ってみた。ウニ卵の Glycogen 分解には、G1P を作り G6P にする系 (phosphorylase—phosphoglucomutase 系) と、Glucose を作り G6P にする系の二つが存在する。各種のウニで中間生成物を測定し、Mass action ratio を算出すると、ムラサキウニ、アカウニでは、Mutase step が平衡定数を大きく上まわっていた。これは、G1P から G6P の合成反応はありえないことを意味している。それぞれの酵素の活性を測定すると、Phosphorylase の受精による活性化は確認できたが、この現象を説明できる程の Mutase の活性の違いはないことがわかった。そこで、これは基質である Glycogen の存在様式の違いであると仮説をたて、検討してみた。まず Glycogen は10% PCA に soluble なもの (Free) と、タンパクに Bound しているものに分けられ、この Bound の状態にあるものは、Phosphorylase によって分解されにくいことが明らかになった。また、G1P 量の少ないウニには、Bound した Glycogen が多かったので、このことが原因であると思われる。さらに、受精により、Glycogen が Bound から Free の状態になることがわかり、これは、Bound した Glycogen の多いもの程 Free への変化量が多く、さらに Homogenate でも確認できた。また、この反応は2価イオン、ATP、Polyamine によって高まる事がわかった。

ウニ卵 Pyruvate Kinase の Kinetics

浅井隆志・安増郁夫 (早大・教育・生物)

Studies on pyruvate kinase activity from unfertilized and fertilized eggs of sea urchin

TAKASHI ASAI, IKUO YASUMASU

ムラサキウニ卵の Pyruvate Kinase (P. K) は受精後活性化される。未受精卵 (UF) 受精卵 (F) の P. K はともに同一 V_{max} 値をもち、F の K_m 値は低い。C-AMP, Ca^{++} , FDP, Spermidine は UF の P. K の K_m 値を低下させる。また P. K の基質である ADP と PEP も K_m 値を低下させる。すなわち P. K の活性化を起す。ウニ卵の受精の際、これらの物質のどれが K_m 値の低下を起しているのかを明らかにするため、UF, F それぞれの P. K 活性の Kinetics を、活性化物質の存在下で比較した。基質である PEP, ADP の P. K 活性化の濃度は UF, F とともに同一であるから、F の P. K はすでにこれらの物質によって活性化されたとはいえない。その他の活性化物質中 Spermidine の P. K 活性化濃度は卵内濃度に比較してはなはだしく低いので、受精による活性化に関与しないであろう。UF, F の P. K を活性に最適の濃度の Ca^{++} , C-AMP, FDP の共存下で測定すると、全く同じ低い K_m 値を示す。それは受精後30分の K_m 値とほぼ一致するので、これらの物質が受精後の活性化に関与しているものと思われる。受精後10分めの P. K は Ca^{++} , 20分では Ca^{++} , C-AMP, 30分では Ca^{++} , C-AMP, FDP での K_m 値の低下がないことから、それぞれの時期の F 卵の P. K はすでに上記の物質で活性化されている状態であると思われる。これらの活性化物質の濃度の受精後の変化は、上記の推論を支持する。

また P. K は生産物である ATP によって阻害される。