

カイコ卵の Malic enzyme : その精製と性質

高橋 進・景山 節(京大・霊長研) 大西英爾(名大・理・生物)

Malic enzyme from diapause eggs of silkworm, *Bombyx mori*: Purification and properties
SUSUMU Y. TAKAHASHI, TAKASHI KAGEYAMA,
EJI OHNISHI

筆者らは、カイコ卵の糖代謝に関する実験をつづけて来たが、カイコの休眠中に高い malic enzyme 活性を見出したのでその精製と若干の酵素的性質について報告する。Malic enzyme はつぎの反応を触媒する。 $L\text{-malate} + \text{NADP} \xrightleftharpoons[\text{Mn}^{++}]{\text{Mg}^{++}} \text{pyruvate} + \text{CO}_2 + \text{NADPH}$ 。本酵素は昆虫においては Faulkner (1956) により同じ昆虫の血液から報告されて有機酸の代謝および gluconeogenesis において主要なはたらきをしていると考えられているが以後報告はない。本実験にはカイコの休眠卵を用いたが、一般的に休眠中においては TCA 回路の周辺の酵素活性は低い、本酵素の活性はきわめて高いので休眠中の糖代謝または NADP の回転系においてある役割をもっている可能性がある。以下結果の概略を示す。本酵素は可溶性分画に存在し顆粒分画には活性を検出できない(他の動物組織では Mt-type と soluble type の酵素が存在するのは対照的である)。DE-AE セルローズ、硫酸処理、P-Cellulose、カルシウムホスフェートゲル処理により732倍に精製された。精製をすすめると非常に不安定になる。至適 pH は 9.0 付近にあり活性には Mg^{++} または Mn^{++} が必須であり EDTA 処理、または pCMB により完全に活性を失うが EDTA 処理のばあいは Mg の添加で活性を回復する、Malate および NADP に対する K_m 値はそれぞれ $253 \mu\text{M}$, $3.3 \mu\text{M}$ であった。分子量は 61,000 であった。pyruvate が反応の生成物であることが Friedman and Haugen の方法により確かめられたが NADPH の生成量と pyruvate の生成量とはほぼ完全に一致する。以上は本酵素が Malic enzyme すなわち malatedehydrogenase (decarboxylating), E. C. 1. 1. 1. 40 であることを示唆する。

蚕卵の休眠初期におけるグリコーゲン分解の中間代謝産物

大岡忠一(都立大・理・生物)

Metabolic intermediates of glycogenolysis in silkworm egg at the onset of diapause
TADAKAZU OHOKA

蚕卵の压榨汁に $[^{14}\text{C}]$ グリコーゲンを加えて incubate したのち 80% エタノール上清中に生成する放射性代謝産物を分画し、休眠卵および即時浸酸による人工的非休眠卵について比較検討した。休眠卵では低分子中性糖分画に多量の放射性物質が検出され、非休眠卵ではこの量はかなり少ない。糖リン酸エステルに分画についても、休眠卵では多く、非休眠卵では少ない。中性オリゴ糖をペーパークロマトグラフィーの長時間展開によって分けると、マルトース、マルトトリオースなどと一致する位置に放射能が検出された。休眠卵において各分画の放射能の増加の時間的経過をしらべると、中性糖分画へは 5~10 分でかなり急速に入るが、糖リン酸エステルへはかなりおくらせて徐々に入る。またグリコーゲンをラベルした休眠卵から、超遠心 ($100,000 \times g$) でえられる glycogen-pellet をトリス緩衝液に suspend すると、無機リン酸を加えなくても 30 分で 1% 程度の低分子物質への分解がみられる。以上の事実から $[^{14}\text{C}]$ グリコーゲンの蚕卵による分解の初めの過程は酵素的加水分解反応である可能性が考えられる。

また、グリコーゲンの性状の相異により、分解速度にかなり違いのあることがわかった。Bueding らの方法により、クロロホルム法で調製された $[^{14}\text{C}]$ -グリコーゲンは、TCA 法により調製したものよりも分解速度は相当おそいが、休眠卵により、より特異的に分解される。‘native’ な性質を保つよう注意深く調製されたものは分解量が非常に少なく、またグリコーゲンが蚕白と結合しているかどうかは、分解速度にあまり関係がないことがわかった。