

ムラサキウニのクエン酸縮合酵素の精製とその性質

岡林 謙, 中埜栄三(名大・理・生)

Purification and some properties of citrate synthase from the sea urchin egg

KEN OKABAYASHI, EIZO NAKANO

ムラサキウニ (*Anthocidaris crassispina*) 未受精卵を材料として、硫酸分画, DEAE セルロース, セツファデックス G-200 クロマトグラフィーにより、クエン酸縮合酵素 (EC 4. 1. 3. 7) を約30倍 (比活性 0.5 units/mg) に部分精製して、その性質について検討した。ゲルろ過により、酵素の分子量は約10万と推定された。至適 pH は 100mM Tris-HCl 中で 7.8 にあり、オキサロ酢酸(OAA), アセチル CoA (Ac. CoA) に対する見かけの K_m はそれぞれ 3.3, 33 μ M であった。OAA は酵素を熱変性から守る働きをもつので、この酵素は OAA と結合して構造上の変化をおこすらしい。Mg, Mn, Ca は酵素活性を阻害したが、K, Na, NH_4 , EDTA, NaF, DTT, pCMB, ヨードアセトアミドは活性にほとんど影響を与えなかった。ATP, GTP は酵素活性を著しく阻害するが、CTP, UTP, TTP にはあまり強い阻害作用はなかった。アデニンヌクレオチドによる酵素の阻害の強さは ATP > ADP > AMP の順であり、ATP による阻害は Ac. CoA に対しては拮抗型 ($K_i = 1$ mM) であるが、OAA に対しては混合型であった。ウニ胚の発生過程において酸素消費の増加に伴って、ATP 量の減少と ADP・AMP 量の増加が報告されているので未受精卵では強く阻害されている酵素活性が発生の進行に伴い、次第に弱い阻害しかうけなくなり、TCA 回路全体の活性が増加することが示唆される。

ヒトデのヘキソースリン酸脱水素酵素について
松岡教理, 佐藤義一, 堀 浩(北大・理・動物)

Studies on the starfish hexose 6-phosphate dehydrogenase

NORIMASA MATSUOKA, YOSHIKAZU SADO, SAMUEL H. HORI

H6PD がヒトデ、ナマコの類にも存在することはすでに報告した。しかし、これが脊椎動物の H6PD と homologous かどうかについてはまだ確証がない。そこでこの点を明らかにするためヒトデより H6PD を部分精製しその酵素学的性質およびフナ H6PD のウサギ抗体との免疫学的反応を調査した。

ヒトデ H6PD を native form で精製するに当たり、これを壊すと考えられる蛋白分解酵素を trypsin-inhibitor および hemoglobin-Sepharose 4B の affinity chromato. 等により阻害・除去し最終的に比活性 100 倍の native form を得た。その酵素学的性質は(1)本酵素はきわめて不安定であるが、高濃度の NH_4^+ によりその活性が維持される。(2)分子量は約20万。(3)広い基質特異性を示し、G6P, Gal6P, dG6P (NADP), Glucose (NAD) に対する pH 7.5 での K_m 値はそれぞれ 0.008, 0.43, 0.49, 1600mM。(4) PCMB および DEA に対して耐性を示すが、50°C, 5 min の熱処理によりほぼ完全に失活。(5) Mg^{++} , Ca^{++} の影響は基質の種類により異なり、G6P, Gal6P では約20%の阻害、dG6P では約30%の活性化が見られる。またフナ H6PD の抗体との反応は (6) Agar diffusion で沈降線を形成しないが、ポリアクリルアミド電気泳動において、ヒトデ H6PD はフナ H6PD 抗体によりその移動度が大きく変化する。(7)ゲルろ過により分子量約50万の可溶性抗原抗体反応産物が分離できる。(8)フナ H6PD 抗体によりヒトデ H6PD は同種抗原の場合と同様に G6PD 活性は上昇、dG6PD 活性は低下する。以上の結果はヒトデ H6PD が脊椎動物と homologous であることを強く示唆するものであり、従って動物界における H6PD の分化は棘皮動物出現の頃に起こったと推察される。