



Title	Phosphoglucomutase from Higher Plants : Multiple Forms and Properties
Author(s)	Takamiya, Shinzaburo
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	http://hdl.handle.net/11094/24607
DOI	
rights	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

氏名・(本籍)	高 宮 信 三 郎
学位の種類	理 学 博 士
学位記番号	第 4 2 1 1 号
学位授与の日付	昭 和 53 年 3 月 25 日
学位授与の要件	理学研究科 生物化学専攻 学位規則第 5 条第 1 項該当
学位論文題目	植物ホスホグルコムターゼの多形性と諸性質
論文審査委員	(主査) 教授 福井 俊郎 (副査) 教授 佐藤 了 教授 堀尾 武一

論 文 内 容 の 要 旨

ホスホグルコムターゼはこれまで動物組織、微生物など種々の起源より精製され研究されてきたが、多形性、サブユニット構造の有無、起源による反応形式の相違についてさらに解明すべき点がある。また、高等植物起源のホスホグルコムターゼについては、高度に精製されてその性質が調べられた例がない。一方、ジャガイモ塊茎のホスホグルコムターゼは切断傷害に伴ない失活し、その失活が蛋白合成阻害剤で阻害されるという報告があり、本酵素の分解系の存在が推定されている。ここでは高等植物のホスホグルコムターゼの構造と機能および *in vivo* での挙動を明らかにする目的でジャガイモ塊茎から本酵素を精製し、その特性を調べた。

〔I〕 ジャガイモ塊茎のホスホグルコムターゼの多形性

ジャガイモ塊茎の粗抽出液の硫酸分画標品を DEAE—セルロースカラムに吸着させ KCl の濃度勾配で溶出すると、2 つの活性分画に分離された (溶出順に Peak I, Peak II)。各分画を同じ条件下で再クロマトグラフィーすると、それぞれ最初のクロマトグラフィーの溶出位置に溶出された。Glucose-1, 6-P₂ による処理、および還元剤の有無によっても Peak I, II の再クロマトグラフィーの溶出パターンは変化しなかった。Peak I, II の量比は原料購入の季節、品種、生育時期によりあまり変わらず、それぞれ 36~47%, 64~53% であった。Peak I 酵素を焦点電気泳動にかけると等電点 5.76 の主成分 (Peak L_a) の他に 5.91 (I_b)、6.20 (I_c)、の 2 つの副成分に分離され、量比はそれぞれ 56~80, 15~30, 3~12% の範囲であった。Peak II 酵素の等電点は 5.62 であった。即ちジャガイモ塊茎にはイオン交換クロマトグラフィー、あるいは焦点電気泳動により分離される主要な 2 つ、おそらくは 4 つの分子種が存在するものと考えられる。

〔Ⅱ〕 エンドウマメ、ソラマメ種子の粗抽出液のクロマトグラフィー

エンドウマメ、ソラマメ種子の粗抽出液をジャガイモ塊茎の場合と同じ条件下でDEAE-セルロースカラムで溶出すると、それぞれ単一の活性ピークとして溶出され、その位置はジャガイモ塊茎のPeak Ⅱ酵素のそれと一致した。

〔Ⅲ〕 ジャガイモ塊茎のホスホグルコムターゼの精製とその諸性質

Peak I_a酵素はDEAE-セルロース、Sephadex G-200によるクロマトグラフィー、および焦点電気泳動により粗抽出液から収率9%、1800倍に精製され、最終標品はディスク電気泳動上均一であり、比活性は480units/mg蛋白であった。Peak Ⅱ酵素はSephadex G-200、ヒドロキシルアパタイトを用いて部分精製した。Peak I_a酵素の分子量はゲルろ過法およびSDSディスク電気泳動法によりそれぞれ6万と6.2万の値が得られた。ウサギ筋肉および酵母の酵素が解離する条件でSDSディスク電気泳動を行ってもサブユニットには解離しなかった。Peak Ⅱ酵素の分子量もゲルろ過法で6万の値が得られた。Peak I_a酵素のアミノ酸組成はウサギ筋肉、酵母のそれと比較して全体として著しい違いはみられなかったが、グリシンとセリンの含量が高い特徴がみられた。Peak I_a, I_b, I_c, Ⅱ酵素ともに活性発現にはGlucose-1,6-P₂およびMg²⁺を必須とし最大活性にはEDTAなどのキレート試薬が必要であった。Peak I_a酵素の反応機構はウサギ筋肉酵素と同じくping-pong形式であり、一部の微生物の酵素にみられるsequential形式とは明らかに異なっていた。そのGlucose-1-P, Glucose-1,6-P₂に対するK_m値はそれぞれ60μM, 1.8μMであった。また、Fructose-1,6-P₂, Glycerate-2,3-P₂による阻害様式、Be²⁺による失活様式はそれぞれウシ肝臓やウサギ筋肉の酵素と同様であった。Peak Ⅱ酵素は反応機構、阻害様式の点においてはI_a酵素と差はみられなかったが、至適pHが約0.4pH unitアルカリ側に寄っている点とGlucose-1-Pに対するK_m値が大きい(120μM)点明らかに異っていた。細胞分画を行なうとホスホグルコムターゼ活性はほとんどすべて可溶性画分に回収され、I, Ⅱによる差はみられなかった。

論文の審査結果の要旨

高宮君の論文は主としてジャガイモ塊茎よりホスホグルコムターゼを精製しその性質を詳細に調べたもので、高等植物起源の本酵素に関する知見としてははじめてのものである。

この研究においてジャガイモのホスホグルコムターゼが主要な2つの分子種(I, Ⅱ)から成ることを見出し、それぞれを精製した結果、Iを単一蛋白質の状態に分離することができた。IとⅡの分子量は何れも60,000であり、Iは変性状態でもサブユニットに解離しない。Iのアミノ酸組成はウサギ筋肉、酵母のホスホグルコムターゼと比較して全体としては類似しているが、一部に特徴的な差異が認められる。IとⅡについて補助因子の要求性、反応速度論的な反応機構、代謝中間体や金属イオンによる阻害などを調べたが、それらについては著しい相違を見出さず、動物起源の酵素に近い性質を示した。一方、IとⅡは至適pHと反応速度論的パラメータにおいて明らかな相違が認められた。

以上のように高宮君の論文は植物ホスホグルコムターゼの精製とその性質についていくつかの新しい知見を得たものであり、また、今後本酵素の植物組織内における動態を研究していく上で重要な基礎となるもので、理学博士として十分価値あるものと認める。