



Title	PURIFICATION AND PROPERTIES OF SPLEEN-TYPE PYRUVATE KINASE OF RATS
Author(s)	Nagao, Yoshinobu
Citation	大阪大学, 1983, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/27757
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏 名・(本籍)	なが 長	お 尾	よし 嘉	のぶ 信
学 位 の 種 類	理	学	博	士
学 位 記 番 号	第	5 9 4 6	号	
学位授与の日付	昭 和 58 年 3 月 17 日			
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当			
学 位 論 文 題 目	ラットの脾臓型ピルビン酸キナーゼの精製と性質			
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 堀 尾 武 一			
	(副査) 教 授 中 川 八 郎 教 授 福 井 俊 郎			

論 文 内 容 の 要 旨

正常ラットの肝臓と筋肉に存在するピルビン酸キナーゼの大部分は、それぞれ、肝臓型 (L型) および筋肉型 (M型) アイソザイムである。担癌ラットの肝臓では脾臓型 (S型) アイソザイムが増加する。S型アイソザイムとM型アイソザイムは免疫学的に交差することが知られており、しかも、S型ピルビン酸キナーゼのフルクトース1,6-ジリン酸 (FDP) による活性化および分子量に関して、種々の異なる報告がなされていた。そこで本研究では、上記の事柄を明確にする目的で、ラットの移植癌であるローダミンサルコーマよりS型アイソザイム、また、ラットの骨格筋よりM型アイソザイムの精製を行い、それぞれの性質を検討した。

S型とM型アイソザイムの精製過程の一部には、それぞれの酵素のリン酸基に対するアフィニティーを利用し、リン酸セルロースカラムを用いたアフィニティークロマトグラフィーを利用した。また、S型アイソザイムの精製過程には、S型アイソザイムが、FDPと結合した時と結合していない時で、等電点 (pI) を異にすることを有効に利用した。

S型アイソザイムは二種のFDP結合部位を持ち、FDPを結合していない型はpI7.8、1st部位にFDPを結合した型はpI6.6、また両部位 (1stと2nd) 部位にFDPを結合した型はpI6.2を有する。M型アイソザイムにはFDP結合部位がなく、pI7.4を有する。S型アイソザイムには、FDP および酵素濃度に依存した、サブユニットの単量体 $\rightleftharpoons$ 2量体 $\rightleftharpoons$ 4量体の解離会合が見られるが、M型アイソザイムはそれに依存せず常に4量体で存在する。

アミノ酸分析およびペプチドマップの比較から、S型アイソザイムとM型アイソザイムは蛋白質化学的に異なることが明らかになった。反面、両者は非常に類似した蛋白質であることも明らかになっ

た。

論文の審査結果の要旨

正常ラットの肝臓と筋肉に存在するピルビン酸キナーゼの大部分は、それぞれ、肝臓型（L型）および筋肉型（M型）アイソザイムである。担癌ラットの肝臓では脾臓型（S型）アイソザイムが増加する。S型アイソザイムとM型アイソザイムは免疫学的に交叉することが知られており、しかも、S型ピルビン酸キナーゼのフルクトース1,6-ジリン酸（FDP）による活性化および分子量に関して、種々の異なる報告がなされていた。本論文では、上記の事柄を明確にする目的で、ラットの移植癌であるローダミンサルコーマからS型アイソザイム、また、ラットの骨格筋からM型アイソザイムの精製を行い、それぞれの性質を検討した。

S型とM型アイソザイムの精製過程の一部には、それぞれの酵素のリン酸基に対するアフィニティーを利用し、リン酸セルロースカラムを用いたアフィニティークロマトグラフィーを利用した。また、S型アイソザイムの精製過程には、S型アイソザイムが、FDPと結合した時と、結合していない時で、等電点（pI）を異にすることを有効に利用した。

S型アイソザイムは二種のFDP結合部位を持ち、FDPを結合していない型はpI 7.8、第一部位にFDPを結合した型はpI 6.6、また、第一部位と第二部位の両方にFDPを結合した型はpI 6.2を有する。M型アイソザイムにはFDP結合部位がなく、pI 7.4を有する。S型アイソザイムには、FDPおよび酵素濃度に依存した「サブユニットの単量体 $\rightleftharpoons$ 2量体 $\rightleftharpoons$ 4量体」の解離会合が見られるが、M型アイソザイムはそれらに依存せず、常に、4量体で存在する。

アミノ酸分析およびペプチドマップの比較から、S型アイソザイムとM型アイソザイムは蛋白質化学的に異なる反面、極めて類似している。

上記の研究業績は、担癌による代謝変異の研究に具体的、物質的基盤を与えたものであり、理学博士の学位論文として十分に価値があるものと認められる。