

2 - 2 - 2
 La PEP-carboxylase
 J.-C. Prévôt

PEP-carboxylase

The phosphoenolpyruvate-carboxylase activity of latex is localised in the cytoplasmic serum. It is only catalysed by a single enzyme (E.C. 4.1.1.31) which converts the phosphoenol pyruvate irreversibly into oxaloacetic acid in presence of CO₂ and magnesium.

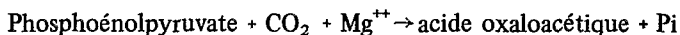
In order to be able to study it without being subject to interference by certain dehydrogenases and enzymes capable of also using phosphoenol-pyruvate, a purification procedure has been devised.

★

La PEP carboxylase joue vraisemblablement un rôle considérable dans l'orientation du métabolisme des laticifères vers la synthèse du caoutchouc. Il était donc important de l'étudier. Ce travail est en cours.

L'activité de la PEP carboxylase (PEPC) du latex est localisée uniquement dans le sérum C.

Elle n'est apparemment catalysée que par une seule enzyme (EC 4.1.1.31) :



Avant d'analyser ses caractéristiques, il était nécessaire de la purifier, afin d'éliminer les enzymes susceptibles d'utiliser le même substrat et d'éviter ainsi toutes interférences pouvant fausser les résultats.

La figure 1 montre en effet que l'énolase, mais aussi la pyruvate kinase (PK) et la phosphatase acide (PA) peuvent utiliser le phosphoénolpyruvate pour le transformer, soit en acide 2 phosphoglycérique (enolase), soit en pyruvate (PA et PK).

Le protocole de purification (tableau 1) mis au point a donné des résultats satisfaisants.

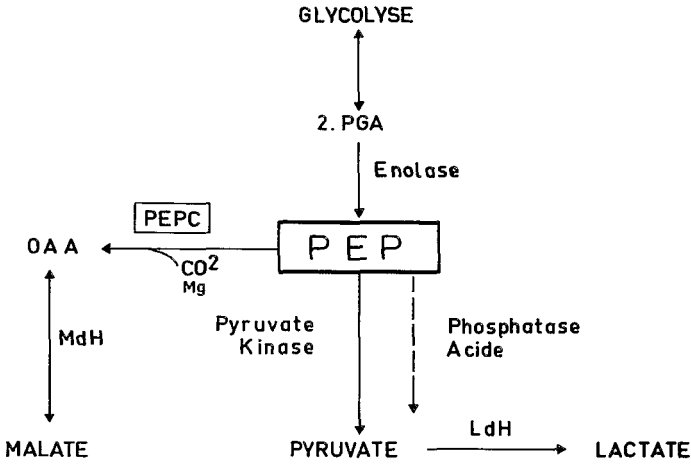


Figure 1
Schéma du carrefour phosphoénol-pyruvique

Tableau 1
Schéma de purification de la phosphoénolpyruvate carboxylase

Étapes	Protéines totales	PEPC U. totales	UI	Récupération %	Purification
Centrifugation 25.000 g - 30' G. 200	338	64	0,19	100	00
Tris HCl 0,1 M pH 8,2 1 M ClNa	49	46	0,95	71,8	x 5
SO ₄ (NH ₄) ₂ 0 - 45 %	45	36,9	0,82	57,6	x 4,3
DEAE - A.50					
Tris HCl 0,05 M pH 8,2 ClNa 0,1 M	10	29	2,97	45,0	x 15,6
ClNa 0,1 M → 0,8 M					
SO ₄ (NH ₄) ₂ 0 - 45 %	7	11,8	1,68	18,4	x 8,8
G. 100					
Tris 0,05 M pH 8,2 ClNa 0,1 M	3	9,1	3,00	14,2	x 15,8
DEAE A. 50					
Tris HCl 0,05 M pH 8,2	0,8	5,5	6,90	8,6	x 36,3