



Title	植物の低温生化学的研究 V : 冬と春におけるポプラ靱皮部の五炭糖磷酸回路の活性
Author(s)	匂坂, 勝之助; SAGISAKA, Shonosuke
Citation	低温科学. 生物篇, 27, 97-108
Issue Date	1970-02-20
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/17756
Type	departmental bulletin paper
File Information	27_p97-108.pdf



植物の低温生化学的研究 V*

冬と春におけるポプラ靱皮組織の 五炭糖燐酸回路の活性

匂坂勝之助

(低温科学研究所)

(昭和44年9月受理)

I. 緒 言

このポプラ靱皮部を用いた実験の目的は二つある。主な目的は冬と春の時期における代謝活性上の相違点を一層細かく検索することであり、つぎに、これらの時期における代謝活性上の相違点の一つであるトランスケトラーゼについてのこれまでの知見を確認することである。

先の報告¹⁾で靱皮部における物質代謝には、冬型とも云うべき体制のあることを述べた。この考え方の成り立つ理由として、解糖系と五炭糖燐酸回路の4つの反応段階で冬から春に移行する過程において活性に変化のおこることをあげた。酵素活性の変化の原因として、酵素の絶対量は変わらないが調節機構によるものと、酵素量の変動によるものがある。これまでの実験の過程で、トランスケトラーゼ以外の酵素についても酵素量の変動する可能性が考えられた。とくに、G6PDH および 6PGDH の触媒する段階は、通常の解糖系と五炭糖燐酸回路の分岐点に位置しているのでその活性の消長を検討する必要を感じた。

この実験で、冬と春の靱皮部では G6P の脱水素反応の活性に変動のおこることがわかった。トランスケトラーゼと同様に冬の方が活性が強い。また、従来のトランスケトラーゼ活性についての知見も明瞭に確認出来た。

なお、本文では次の略号を用いた。

F6P, フラクトース 6-燐酸; G6PDH, グルコース-6-燐酸脱水素酵素; 6PGDH, 6-ホスホグルコン酸脱水素酵素; G6P, グルコース 6-燐酸; E4P, エリスロース 4-燐酸; R5P, リボース 5-燐酸; Xu5P, ザイリュロース 5-燐酸; Ru5P, リュブロース 5-燐酸; P5P, ペントース 5-燐酸; 6PGLU, 6-ホスホグルコン酸; S7P, セドヘプチュロース 7-燐酸; GA3P, グリセルアルデヒド 3-燐酸; PHI, ホスホヘキソズイソメラーゼ。

II. 材料と方法

粗酵素液: 実験に用いた *Populus gelrica* は 3 月 11 日と 5 月 27 日に採取したもので、靱皮部の粗抽出液の調製は前報²⁾と同様である。粗酵素液は直ちに 12,000×g で 10 分間遠心した。

* 北海道大学低温科学研究所業績 第 1008 号

この操作の沈澱区分を 1.0 ml の 0.2 M 硼酸緩衝液, pH 8.5 で 0°C, 40 分間処理し同様に 10 分間遠心した。冬 (3 月 11 日) と春 (5 月 27 日) の試料は共に 1.5 g の靱皮部 (生重量) から出発して, トリス塩酸抽出液区分 2.1 ml, 硼酸緩衝液抽出液区分 1.0 ml, および硼酸緩衝液処理後の沈澱区分 2.0 ml (0.05 M トリス塩酸緩衝液に懸濁した) とした。

市販の酵素類と試薬: 乳酸脱水素酵素, 酸性ホスファターゼなどの酵素類は Boehringer u. Sohne GmbH 製を用いた。G6P-U-¹⁴C はグルコース-U-¹⁴C からクレアチン燐酸による燐酸化³⁾により合成した。比放射能は 6.9×10^6 cpm/ μ mole である。この G6P-U-¹⁴C には少量の F6P-U-¹⁴C を含む。その他の試薬は前報¹⁾の通りである。

反応液組成と反応条件: 反応液は 0.50 ml に次のものを含む; G6P-U-¹⁴C 0.23 μ mole, MgCl₂ 1.2 μ mole, TPN⁺ 0.13 μ mole, ピルビン酸 5.0 μ mole, 乳酸脱水素酵素 3.6 単位, トリス塩酸緩衝液 pH 7.7, 10 μ mole, および酵素液 0.44 ml (上清区分の実験にはトリス塩酸緩衝液の抽出液 0.22 ml と硼酸緩衝液の抽出液 0.22 ml を加えたものを用い, 沈澱区分の実験には懸濁液から 0.44 ml をとって用いた)。反応は 25°C で 14 時間継続し, ポプラの抽出液を加えない対照についても同様に行なった。

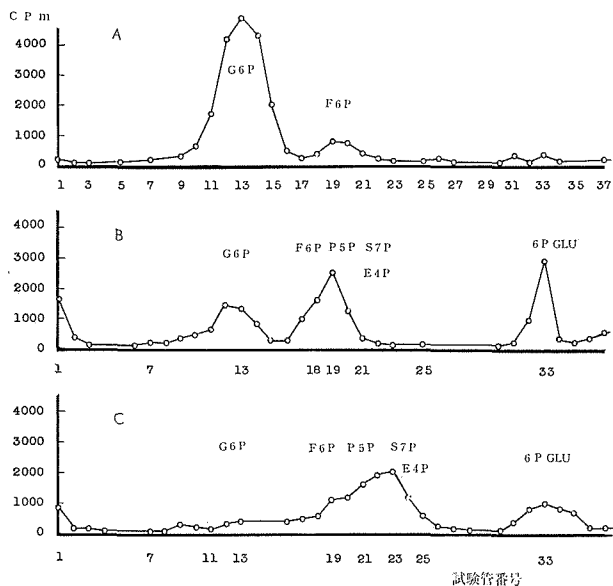
反応生成物の分析: 1. Dowex 1 クロマトグラフィー。反応の停止は 0.5 ml のアルコールを加えて行ない, 遠心後 (3,000 rpm. 5 分), 沈澱はアルコール 1.0 ml で洗ってこの上清を主な区分と合し減圧下にアルコールを除去した。濃縮物は少量の水に溶解したあと 4 N アンモニア水で pH 8 付近としてから, Dowex 1 X-4 (Cl⁻型 3 cm \times 0.31 cm²) のカラムに加え, 前報²⁾に準じて糖の燐酸エステルを順次溶出した。この際, 各々の溶媒は 35 ml ずつ使用し, 溶離液は 5 ml ずつ集めた。この溶離液中の放射能の測定は, それぞれ 50 μ l をとって窓なしの自動ガスフローカウンターで行なった。

分析試料は 5 つあって, それぞれ A (対照), B (3 月 11 日の試料, 上清区分による反応物), C (3 月 11 日の試料, 沈澱区分による反応物), D (5 月 27 日の試料, 上清区分による反応物) および E (5 月 27 日の試料, 沈澱区分による反応物) と略記した。

2. 糖燐酸エステルのペーパークロマトグラフィーと放射能の検出。Dowex 1 から溶離してきた各区分の燐酸エステル類は次のようにして濃縮した。すなわち, 目的とする番号の試料を減圧下に濃縮したのち, 少量の水で試験管に移し, R5P 0.9 μ mole を加えてから 1.0 M の酢酸バリウム 0.10 ml と 2.0 ml のアルコールを加えた。生成した沈澱はアルコールで 2 回洗ったのち 2 N 酢酸を加えて溶解し, Dowex 50 (H⁺型, 0.8 cm \times 1.1 cm²) を通して Ba⁺⁺ を完全に除去した。通過液は再び減圧下に濃縮し, n-ブタノール・酢酸・水 (50:25:30 v/v) の溶媒で下降法により 22°C で 18 時間展開した。

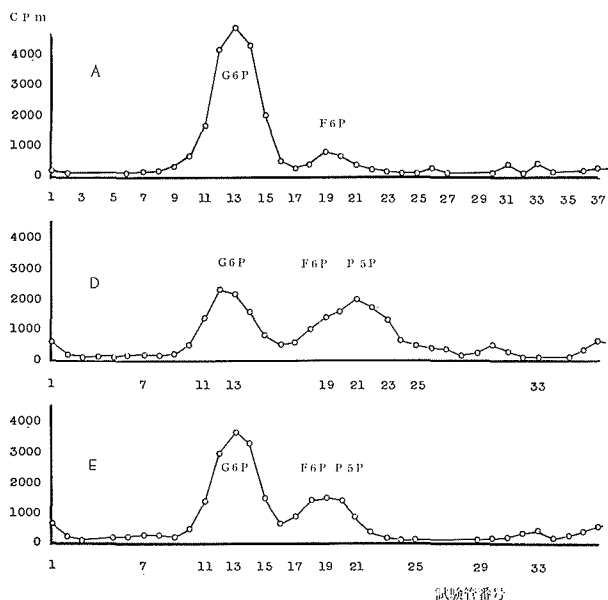
クロマトグラム上の糖燐酸エステルの検出は, 鉄-スルホサリチル酸試薬⁴⁾によって行なった。また, 放射能の検出にはラジオペーパークロマトグラフ (JPC-102 型, 日本無線 KK 製) を使用した。

3. 糖燐酸エステルの加水分解と糖のペーパークロマトグラフィー。酸性ホスファターゼによる水解条件は次の通りである。すなわち, 放射性燐酸エステルを含む溶液 (濃縮して Ba⁺⁺ を除去したもの) をあらかじめ KHCO₃ で pH 4.5 付近としたのち, 酢酸緩衝液 pH 4.9, 135



第1図 ポプラ鞣皮部の抽出液によって G6P-U-¹⁴C から生成した放射性糖リン酸エステルの Dowex 1 クロマトグラフィーによる分離 (1)

A: 対照 B: 冬の可溶性蛋白質による反応生成物 C: 冬の難溶性蛋白質による反応生成物
 反応液組成: G6P-U-¹⁴C 0.23 μ mole (1.58×10^6 cpm), MgCl₂ 1.2 μ mole, TPN⁺ 0.13 μ mole, ビルビン酸 5.0 μ mole, 乳酸脱水素酵素 3.6 単位, トリス塩酸緩衝液 pH 7.7, 10 μ mole, および鞣皮部抽出液 0.44 ml, 全容は 0.50 ml. 14 時間, 25°C で反応. 略号は本文参照

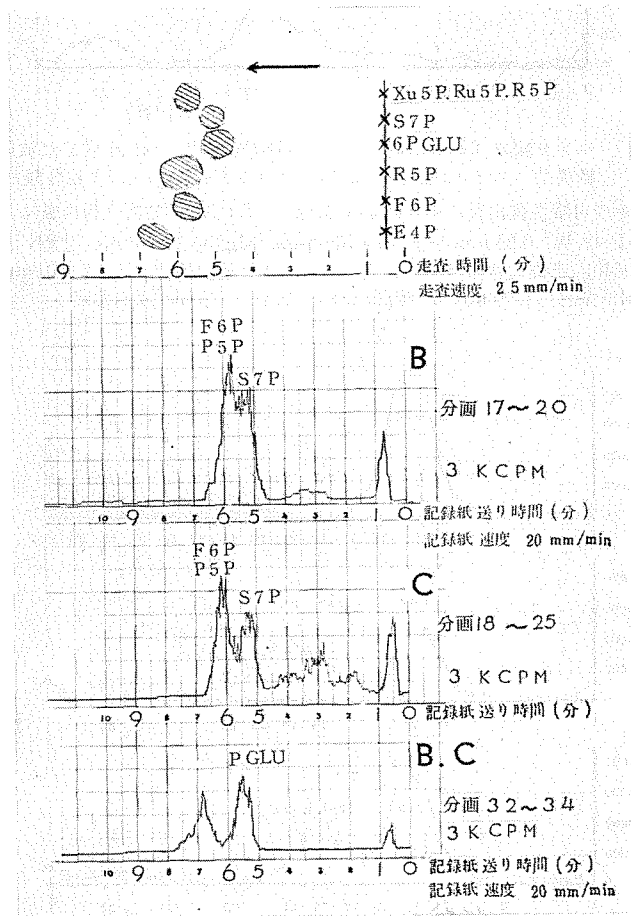


第2図 ポプラ鞣皮部の抽出液によって G6P-U-¹⁴C から生成した放射性糖リン酸エステルの Dowex 1 クロマトグラフィーによる分離 (2)

A: 対照 D: 春の可溶性蛋白質による反応生成物 E: 春の難溶性蛋白質による反応生成物
 反応液組成と条件は第1図と同じ. 略号は本文参照

μmole , MgCl_2 $8 \mu\text{mole}$ を加え, これに 1 M 酢酸緩衝液, $\text{pH } 4.9$ に溶解したホスファターゼ ($200 \mu\text{g}$) を加えて全容 1.0 ml で 37°C , 120 分間反応せしめた。反応後, 88°C で 2 分間加熱してから減圧下に濃縮, これに 0.03 ml の水と R5P 0.010 ml ($0.9 \mu\text{mole}$) を加えて溶解し, 酢酸バリウム $5 \mu\text{mole}$ とアルコール 0.20 ml を加えて室温に放置した。遠心後, 沈澱をアルコール 0.20 ml で洗ってこれを母液と合して減圧下にアルコールを除去した。ついで, 少量の水に溶解し, $\text{Dowex } 50$ を通して Ba^{++} を除き濃縮後クロマトグラフィーに用いた。糖のクロマトグラフィーの溶媒には, フェノール・*n*-ブタノール・酢酸・水 ($20:20:8:40$, v/v) の上部⁵⁾あるいは *n*-ブタノール・酢酸・水 ($45:10:20$, v/v) の2種を下降法で用いた。前者の溶媒はアラビノースとフラクトースの分離に用い3回展開を反覆した。

遊離の糖の検出は, $3,5\text{-diacetyl-1,4-dihydrolutidine}$ の生成による方法¹²⁾ によった。放射能の検出は前記の磷酸エステルと同様に行なった。



第3図 ベーパークロマトグラフィーによる $\text{S7P-U-}^{14}\text{C}$ と $6\text{PGLU-U-}^{14}\text{C}$ の検出

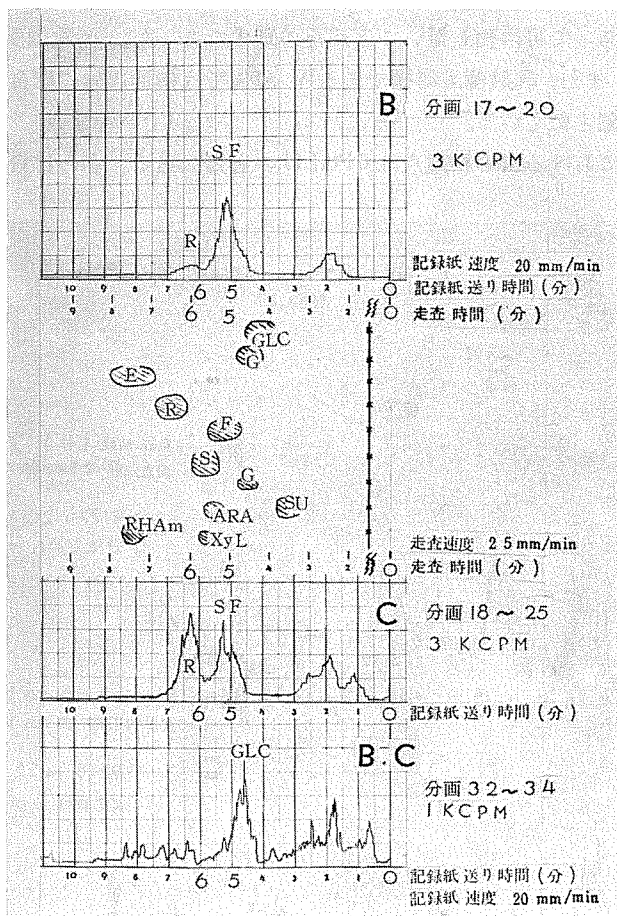
溶媒: *n*-ブタノール・酢酸・水 ($50:25:30$, v/v)。下降法で 22°C , 18 時間展開したのち鉄-スルホサリチル酸試薬で発色した。標準試薬のクロマトグラムを図中に示した。分析試料を展開した濾紙の部分は带状に切ったのちに走査を行なった

III. 結 果

G6PDH と 6PGDH について

第1, 2図は, ポプラ靱皮部の酵素によって G6P-U-¹⁴C から生成した糖磷酸エステルを Dowex 1 を用いて分画したものである。後述の固定操作によって存在が明らかになった化合物は図中に示してある。

第1, 2図を通じて次の二つのことが明らかである。すなわち, G6PDH はトリス塩酸緩衝液や硼酸緩衝液で容易に抽出される状態と抽出し難い二つの状態のものがあ、後者の組織構造と結合した冬期の強い活性は春になると殆んど検出出来なくなる。第1, 2図の A はポプラの抽出液を加えない対照実験で, 図中の 2 番目の放射能の山 (試験管 19 番付近) は F6P-U-¹⁴C



第4図 脱磷酸後の放射性糖のペーパークロマトグラフィーによる検出

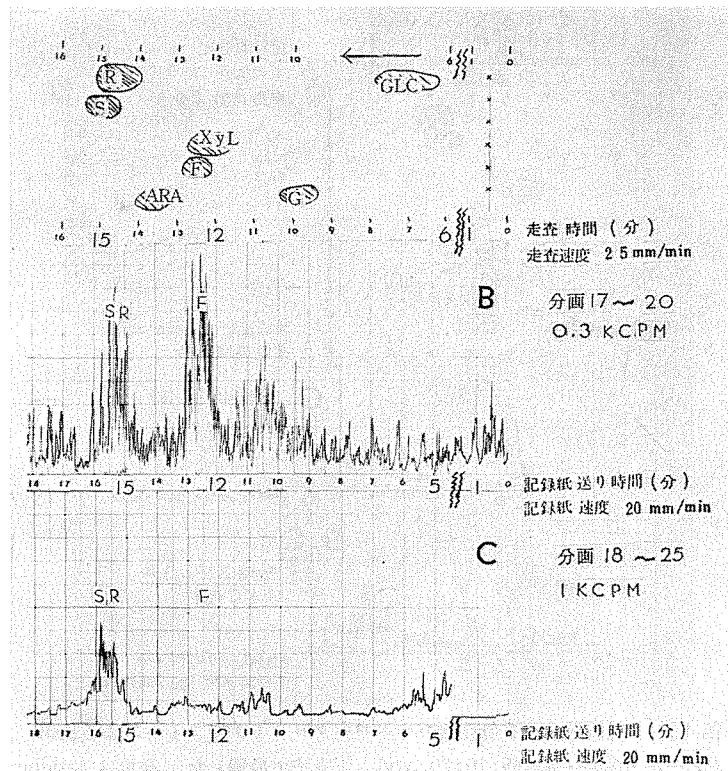
溶媒: n-ブタノール・酢酸・水 (45:10:20, v/v)。下降法で展開した。発色は lutidine 誘導体の生成によった。図中の略号は次の通りである。S, セドヘプテュロース; F, フラクトース; P, ペントース; GLC, グルコン酸; G, グルコース; R, リボース; E, エリスロース; Su, 蔗糖; ARA, アラビノース; XyL, ザイリュロース; RHAm, ラムノース。標準試薬による糖のクロマトグラムと走査用の分析試料は第3図と同様の方法で作製した

であって、この量は反応の零時間と同じである（この F6P-U-¹⁴C は、グルコース-U-¹⁴C を燐酸化する反応に使用した酵素中に含まれる微量の PHI 活性による）。第1図 B と第2図 D は、それぞれ冬と春の試料の上清を酵素として加えた実験で、対照に比べて G6P-U-¹⁴C が減少しそれからの生成物が蓄積している。従って、上清区分に G6PDH の存在を示している。

一方、第1図 C と第2図 E を比較すると、冬のもは G6P-U-¹⁴C が全く消失しているのに反して春の酵素液を加えた実験では大部分の放射能が G6P として残っている。従って、春の靱皮部の構造と結合した G6PDH は活性が非常に弱いことがわかる。この区分の粗酵素液に含まれる五炭糖異化作用は既に別な方法で検出している²⁾ので、春期における五炭糖燐酸回路の律速段階の一つは G6PDH にあることが明らかになった。

ポプラ靱皮部の G6PDH 活性の検出は、通常の比色法では不可能であったが、粗酵素液中に G6PDH の阻害物質が存在¹⁾することに加えて、ここで明らかになったように活性の主な部分は沈澱区分にあって可溶化し難いことがその理由であった。動物細胞の G6PDH は上清区分に存在する⁶⁾。また、乳酸菌も同様である⁷⁾。酵母では構造成分に結合しているように思われ、ポプラの靱皮部と似ている。

第1図と第2図における次の相違点は 6PGLU の有無にある。春の材料を用いた実験では



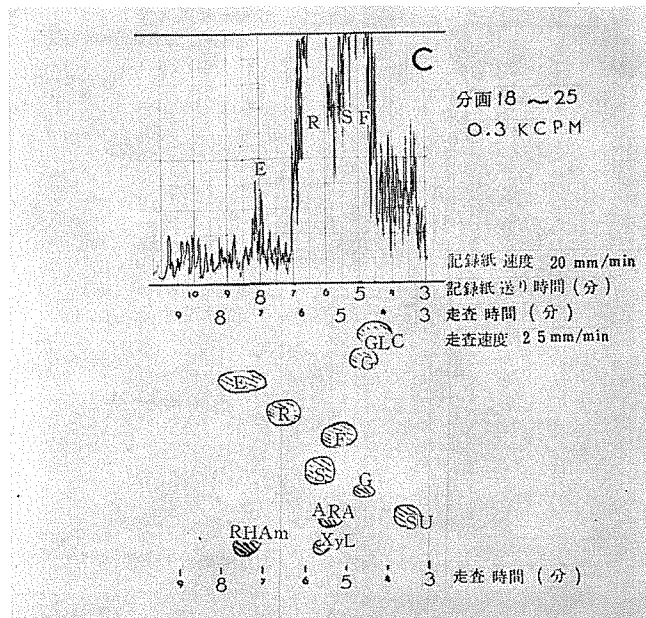
第5図 脱燐酸後の放射性糖のペーパークロマトグラフィーによる検出

溶媒：フェノール・n-ブタノール・酢酸・水 (20:20:8:40, v/v)。下降法で3回展開を反覆した。略号は第4図と同じ

6PGLU の溶離してくる位置に放射能が認められない。クロマトグラムで試験管番号 30 から 0.01 N 塩酸を溶離液として用いるので、それより前の溶離液（アルカリ性あるいは中性付近の pH）に比べて急激な pH の変化があり、対照実験にもみられるようにこの位置には常に微量成分が僅か出現する。従って、第 1 図の B と C の様に明瞭な場合についてのみ分析を行なった。6PGLU が Dowex 1 クロマトグラム上で図示の位置に出現することは市販の標品によってたしかめた。その際の 6PGLU の定量は 6PGDH によって行なった。なお、ペーパークロマトグラフィーによる放射性 6PGLU の検出は第 3 図 (B, C Fr 32~34, 水解前) と第 4 図 (B, C Fr 32~34, 水解後) の如く行なった。

S7P の有無とトランスケターゼ活性について

第 1 図の B および C の第 2 の放射能の山の磷酸エステルクロマトグラムは第 3 図の通りである。S7P は 6PGLU と重なるが F6P や P5P などと区別が出来て、クロマトグラムを走査すると明らかに二つの放射能の成分に分れた。Dowex 1 クロマトグラフィーで S7P と 6PGLU は既に分けてあるから F6P と P5P より Rf の低い成分は S7P によるものと云えよう。第 4 図と第 5 図は水解後の糖のクロマトグラムとそれを走査した結果である。B と C を比べると、B ではセドヘプテロースとフラクトースの位置に大部分の放射能がみられる。別の溶媒による第 5 図 B ではこれらの糖は完全に分離し、放射能はフラクトースが稍多く、これより Rf の高いセドヘプテロースとリボースの部分がこれに次いでいる。第 4 図でリボースの量の少ないことがわかっているので、この位置の放射能の大部分はセドヘプテロースによるものと考えられる。



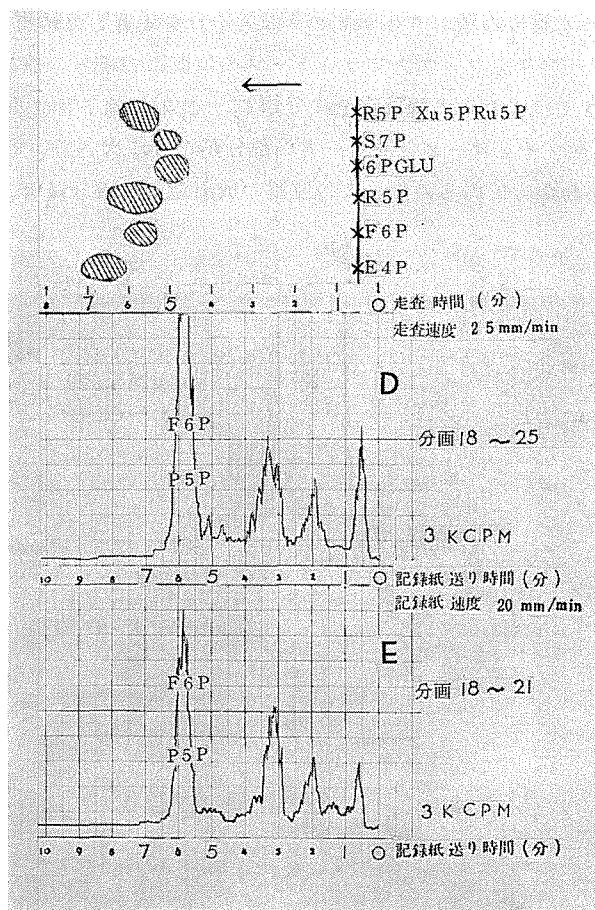
第 6 図 脱磷酸後の放射性糖のペーパークロマトグラフィーによる検出
溶媒, 展開法, 発色は第 4 図参照

一方、第4図Cと第5図Cから判断するとCの放射性糖は、リボースなどの五炭糖とセドヘプチュロースが主でフラクトースによる放射能は少ないものと思われる。

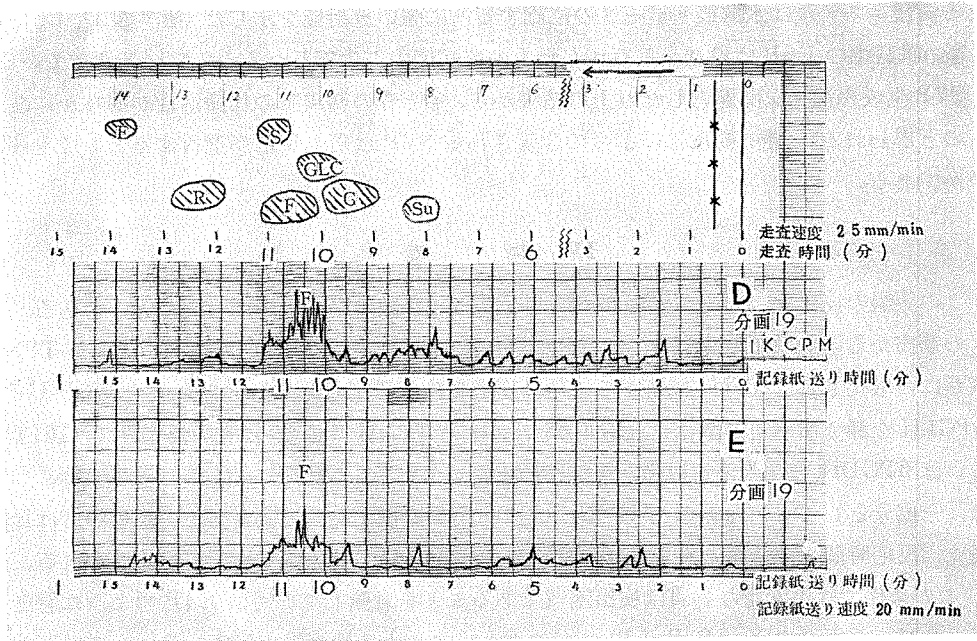
冬期のポプラ靱皮部はトランスケターゼ活性が強いので、G6Pから生成したP5Pは速かにS7Pとなるので、Bの試料にリボースの少ないことが理解出来る。また、Cの試料は可溶性蛋白質が比較的少ない酵素液であるから五炭糖の異比作用が強く、トランスケターゼなどの活性が低いので糖リン酸エステルとしてP5Pが多く、S7Pが蓄積しつつあるものと考えられる。

なお、E4Pは不安定なので検出困難と思われたが、水解後のクロマトグラム(第6図)にエリスロースと思われる放射能が検出された。

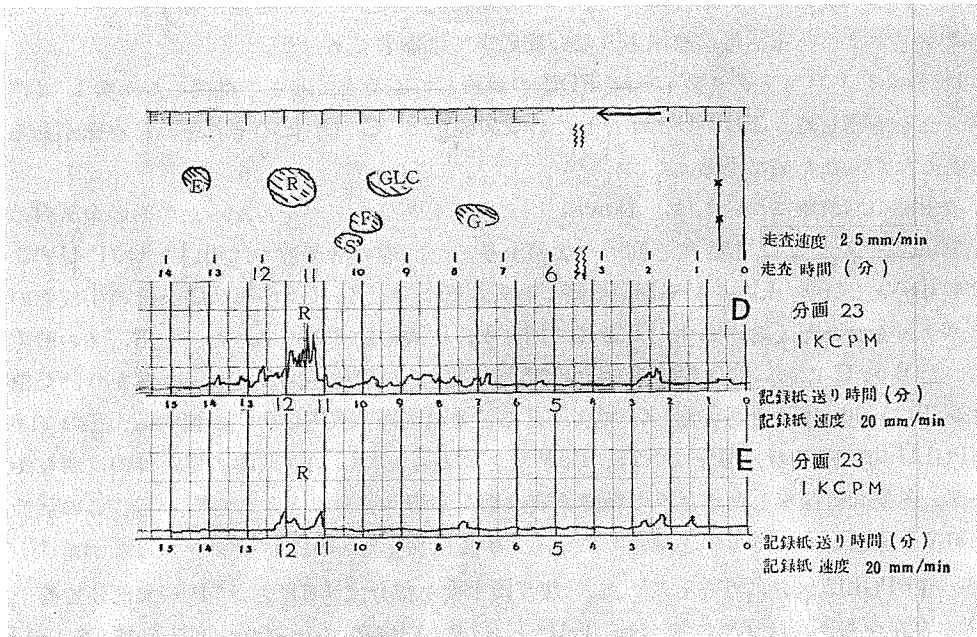
春の靱皮部を用いた実験のDとE(第7図)を冬のもの(第3図)と比較するとF6PよりRfの低いS7Pの位置に放射能の存在しないことがわかる。DとEの試験管19中のリン酸エステルをそれぞれ水解したのち走査した結果を第8図に示した。第7図と合せ考えると、放射能の大部分はフラクトースであって五炭糖と思われる放射能もみられる。さらに、試験管23に含



第7図 春の靱皮部抽出液によるS7P-U-¹⁴C生成の検討
溶媒, 方法は第3図参照



第8図 脱磷酸後のフラクトースとリボースの放射能 (1)
 溶媒, 方法および略号は第4図参照



第9図 脱磷酸後のフラクトースとリボースの放射能 (2)
 溶媒, 方法および略号は第4図参照

まれる磷酸エステルは水解後リボースの位置する所に強い放射能を示した(第9図 D, E)。なお、春の試料中の F6P は最初から存在したもので反応中に生成したものでないと考えている。

S7P 生成の活性を問題とした以上の結果から、冬と春の靱皮部の代謝活性が明らかになったものと思われる。春の靱皮部によって合成される S7P は若し反応が進行するとしても非常に僅かである。

IV. 考 察

この実験の反応は過剰の乳酸脱水素酵素とピルビン酸の存在下に進行したものである。うさぎの筋肉からの乳酸脱水素酵素では TPNH が基質となる⁹⁾から、反応液中に生成した TPNH は直ちに再酸化されて TPN^+ にもどるように反応条件を設定した。従って、加えた G6P-U-¹⁴C が 6PGLU を経てすべてが酸化される (0.46 μmole の TPNH に相当) に十分な条件で、G6PDH あるいは 6PGDH の関与する段階が律速段階となっている。G6P-U-¹⁴C からの生成物については、一成分として 2~3 μg の G6P-U-¹⁴C に相当する量で検出可能である。反応温度は比較的高く、反応時間も充分長くとったので酵素液中にある微弱な活性も検出可能と思われる。他方、この条件では不安定な物質は検出困難であることを意味していて、E4P のように官能基の露出しているものや Xu5P (Ru5P) などのようにアルカリ性溶媒で反応し易いものはかなり分解することを予測していた。

実際、S7P の検出、G6P の減少などの実験目的は達したが、予測したとおり Xu5P などが蓄積し反応が進行しない条件ではそれらの分解物とみなされる放射能が存在していて、とくにトランスケトラーゼ活性の検出されない反応系では顕著であった。

Dowex 1 クロマトグラフィーは FDP の溶離してくるところまで継続したが第 1, 2 図に示すことを省略した。FDP-U-¹⁴C としての放射能が B, C, D, E のそれぞれに意味がある程に存在しなかったためである。

放射能の回収率については、Dowex 1 クロマトグラフィーを行なったのちの全試料の放射能測定で、D と E は対照 A と同一の数値を与えた。春の酵素液では用いた G6P-U-¹⁴C の 51.2% (D) と 24.9% (E) が 6PGLU を経て消失した。そして、G6P-U-¹⁴C とその生成物の磷酸エステルを含めたものから生じた遊離の糖は D, E 共に約 3% であった。一方、冬の酵素液を用いた B と C においては 89.1% (B) と 77.1% (C) の放射能が回収され、水解を受けた糖は約 9% (B) と 3% (C) であった。C ではほとんどすべての G6P-U-¹⁴C が消失し、その 21.8% が 6PGLU で、残りの大部分は S7P, P5P などであった。C で回収率の低い理由は明らかでないが、冬期間に採集したポプラの粗酵素液は糖を不溶性部分にとりこむ¹⁰⁾から、この活性の差が可成り影響しているものと推定している。B では加えた G6P-U-¹⁴C の 71.3% が消失し、24.8% が 6PGLU 区分に存在していた。残りの主要な部分は F6P と S7P が大部分で若干の P5P が存在することはすでに述べた。F6P と S7P (+P5P) の比率をおよそ 6:4 (第 4 図 B, 第 5 図 B) とすると F6P-U-¹⁴C は約 21×10^4 cpm で対照 A に比べて約 8×10^4 cpm 増加したことになる。B に用いた冬の粗酵素液上清は P5P の異化反応とトランスケトラーゼ活性が強く、反応時間も長かったので、6PGLU 以下の反応系は平衡に近い状態にあったとみなされよ

う。そのような条件下で反応液に同時に存在していた G6P と F6P がそれぞれ 27×10^4 cpm と 21×10^4 cpm であることは、PHI による反応の平衡が $F6P/G6P=35/65$ である¹⁾ことを考慮すると、反応中に生成した S7P, E4P あるいは 6PGLU の PHI に対する阻害効果の大きいことを示している。B における F6P の増加は、トランスケトラーゼ反応の結果生成した GA3P が FDP を経て F6P となったものと思われる。

第3図 B, C で、6PGLU より Rf の高いリン酸エステルは E4P の分解物と考えられる。Dowex 1 クロマトグラフィーで E4P の主要な部分は F6P の溶離する位置付近に出現するが、6GLU 付近にも四炭糖の反応¹¹⁾を示すものが見出される。この理由はいまだ明らかでないが、E4P のアルデヒドの酸化が起った結果と考えている。この形をとるとリン酸エステル分離の溶媒では濾紙上で、E4P と分離しないが、ホスファターゼ処理後はエリスロースと完全に分離し原点寄りに位置する筈であるからエリスロースと区別出来る。実際、第4図 B, C のエリスロースの位置に第3図 B, C にみられるような 6PGLU に匹敵する放射能は検出出来なかった。

V. 摘要と結論

- 1) 五炭糖リン酸回路の活性を検討する研究の一環として、この回路の出発点に位置する G6PDH の活性を冬と春のポプラ靱皮部抽出液を用いて検討した。G6P-U-¹⁴C を用いた定性的な実験で、冬の靱皮部の G6PDH は春のものよりはるかに高い活性を有することがわかった。冬の強い G6PDH の大部分は靱皮部の不溶性の構造成分と結合しているが、春になるとこの部分に見出される活性は僅かである。比較的可溶性の蛋白質区分には、冬、春共に弱い G6PDH が検出出来た。冬の靱皮部からの可溶性あるいは不溶性区分の酵素液を用いると、6PGLU の蓄積が顕著であって、この時期における酵素活性の特徴の一つと思われる。春の酵素液ではその蓄積がみられない。
- 2) 靱皮部からの粗抽出液が示すトランスケトラーゼ活性を G6P-U-¹⁴C の生成物を通じて検討を加えた。冬の靱皮部中にある強いトランスケトラーゼ活性が春に消失することを確認した。

文 献

- 1) 匂坂勝之助 1969 植物の低温生化学的研究 III. ポプラの生活環境変化と関連した基質流量の調節機構について. 低温科学, 生物篇, **27**, 81-88.
- 2) 匂坂勝之助 1968 植物の低温生化学研究 I. ポプラの Ribose 5-phosphate の代謝反応系について. 低温科学, 生物篇, **26**, 33-43.
- 3) Lowenstein, J. M. 1963 Preparation of tritium labeled substrates. *In Methods in Enzymology* (S. P. Colowick and N. O. Kaplan eds.), Academic Press, London, **6**, 877-878.
- 4) Wade, H. E. and Morgan, D. E. 1963 Detection of phosphate esters on paper chromatograms. *Nature*, **171**, 529-530.
- 5) 渡辺敏幸・麻生 清 1960 白蠟油の糖組成について. 醗酵工学, **38**, 435-440.
- 6) Dixon, M. 1965 *Enzymes*, Longmans, London, 627.
- 7) DeMoss, R. D. 1955 Glucose-6-phosphate and 6-phosphogluconic dehydrogenases from *L. mesenteroides*. *In Methods in Enzymology* (S. P. Colowick and N. O. Kaplan eds.), Academic Press, London, **1**, 328-334.

- 8) Kornberg, A. and Horecker, B. L. 1955 Glucose-6-phosphate dehydrogenase. *In Methods in Enzymology* (S. P. Colowick and N. O. Kaplan *eds.*), Academic Press, London, **1**, 323-326.
- 9) Kornberg, A. 1955 Lactic dehydrogenase of muscle. *In Methods in Enzymology* (S. P. Colowick and N. O. Kaplan *eds.*), Academic press, London, **1**, 441-443.
- 10) 匂坂勝之助 未発表.
- 11) Dische, Z. and Dische, R. 1958 Methods for quantitative determination of tetroses. *Biochim. Biophys. Acta*, **27**, 184-188.
- 12) Smith, H. 1967 Sensitive location reagent for the simultaneous detection of sugars, amino sugars and sialic acid. *Nature*, **215**, 638.

Summary

Measurements of the activity of pentose phosphate cycle were made in bark extracts of *P. gelbrica* sampled in winter and spring. Experiments are focused to the two oxidative steps catalyzed by G6PDH and 6PGDH. With the aid of lactic dehydrogenase and excess amounts of pyruvate, the rate of transformation of G6P-U-¹⁴C into 6PGLU, S7P and pentose phosphates has been studied.

The crude enzyme preparation from winter bark is high in G6PDH, as compared to the spring extract and rich in transketolase activity, yielding a mixture of 6PGLU, S7P and pentose phosphates. The G6PDH is found in insoluble fraction of bark tissues. Upon budding, most of the GPDH disappeared from the fraction. Therefore, in winter, G6P is metabolized rapidly via pentose phosphate cycle, and in spring, as growth proceeds, there occurs a shift in metabolism, such that the tissue contains very little G6PDH and is virtually free from transketolase.