

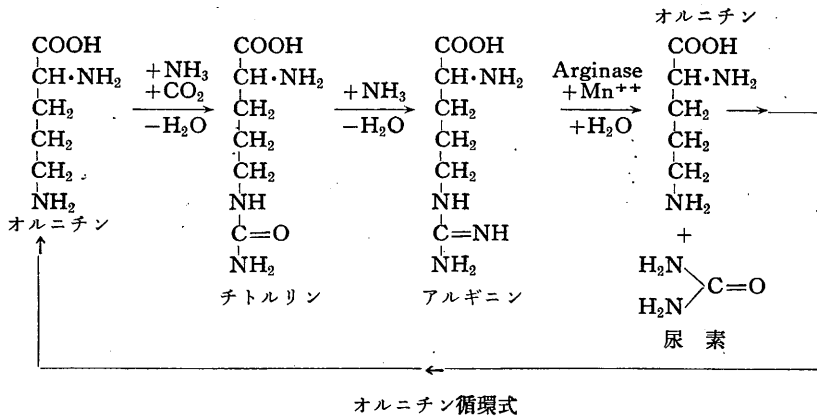
フィト・アルギナーゼに関する研究

第8報 刀豆アルギナーゼの精製について

小笠原八十吉

I 緒 言

アルギナーゼは次のオルニチン循環式¹⁾²⁾に示すように、アルギニン分解してオルニチンと尿素とを生成する酵素生蛋白質体である。



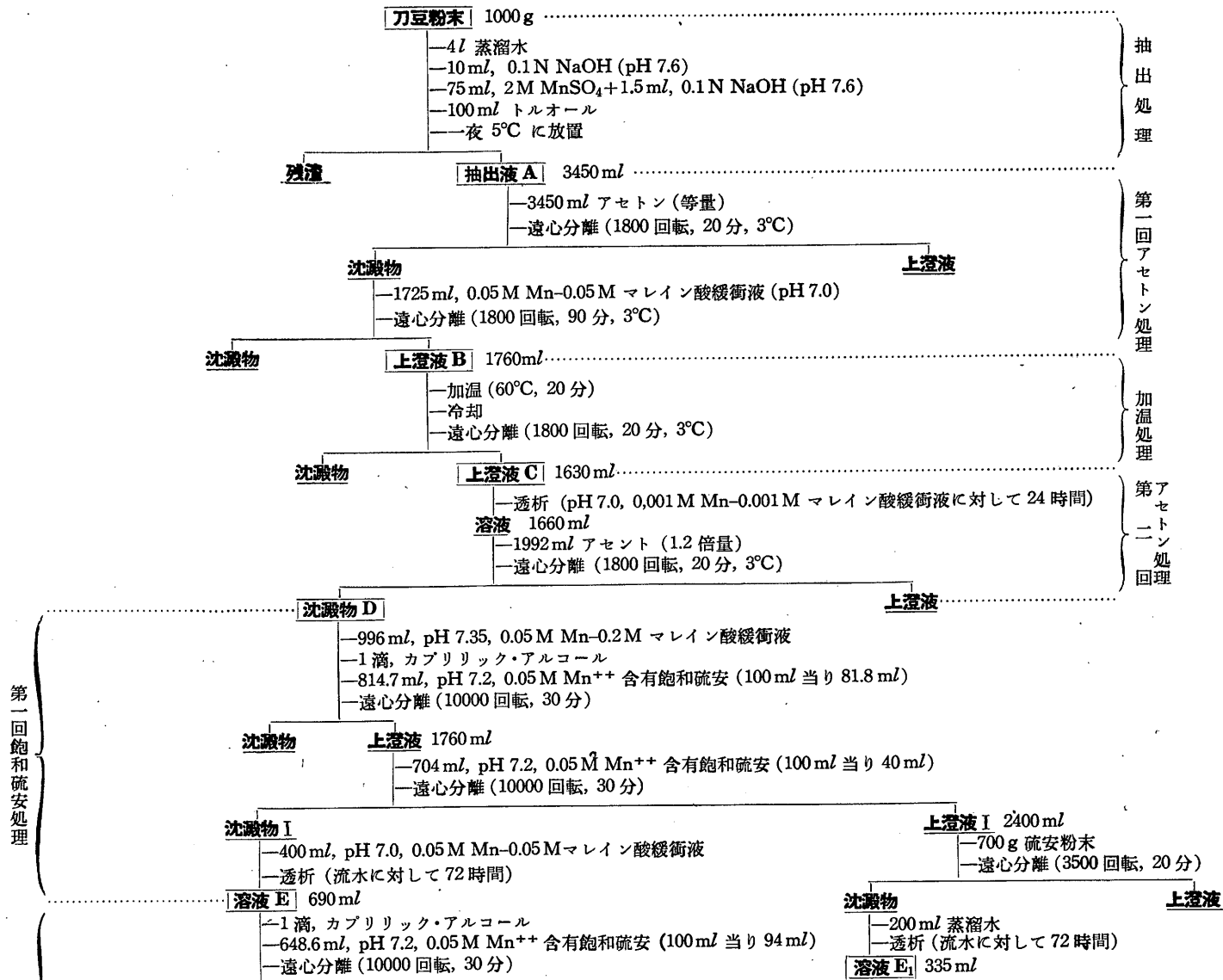
従つて、生体にとってアルギナーゼは極めて重要な生化的作用を営んでいる。生体中、動物のアルギナーゼは肝臓中に含有されるものが著名であり、植物のアルギナーゼは、刀豆種実中に存在する云々ゆる刀豆アルギナーゼ (Jackbean-Arginase) が代表的なものである。

動物のアルギナーゼは詳細に研究せられているが、植物のアルギナーゼは未だ全くその報告に乏しい。

著者は、動物と植物との両アルギナーゼ生蛋白質体は、その化学的特性が異つてゐることに着目し、両蛋白質体の差異を精細に検討しようとして企てた。その為には、植物アルギナーゼの精製純化が先決問題である。然るに、刀豆アルギナーゼの精製分離は未だ全く行われていない。

周知の通り、刀豆種実中には、アルギナーゼ以上に多量のウレアーゼ蛋白質体が存在している。そして、一般にアルギナーゼはアルブミン様の蛋白質体³⁾であり、ウレアーゼはグロブリン様の蛋白質体⁴⁾である。

第1表 アルギナーゼ精製の順序

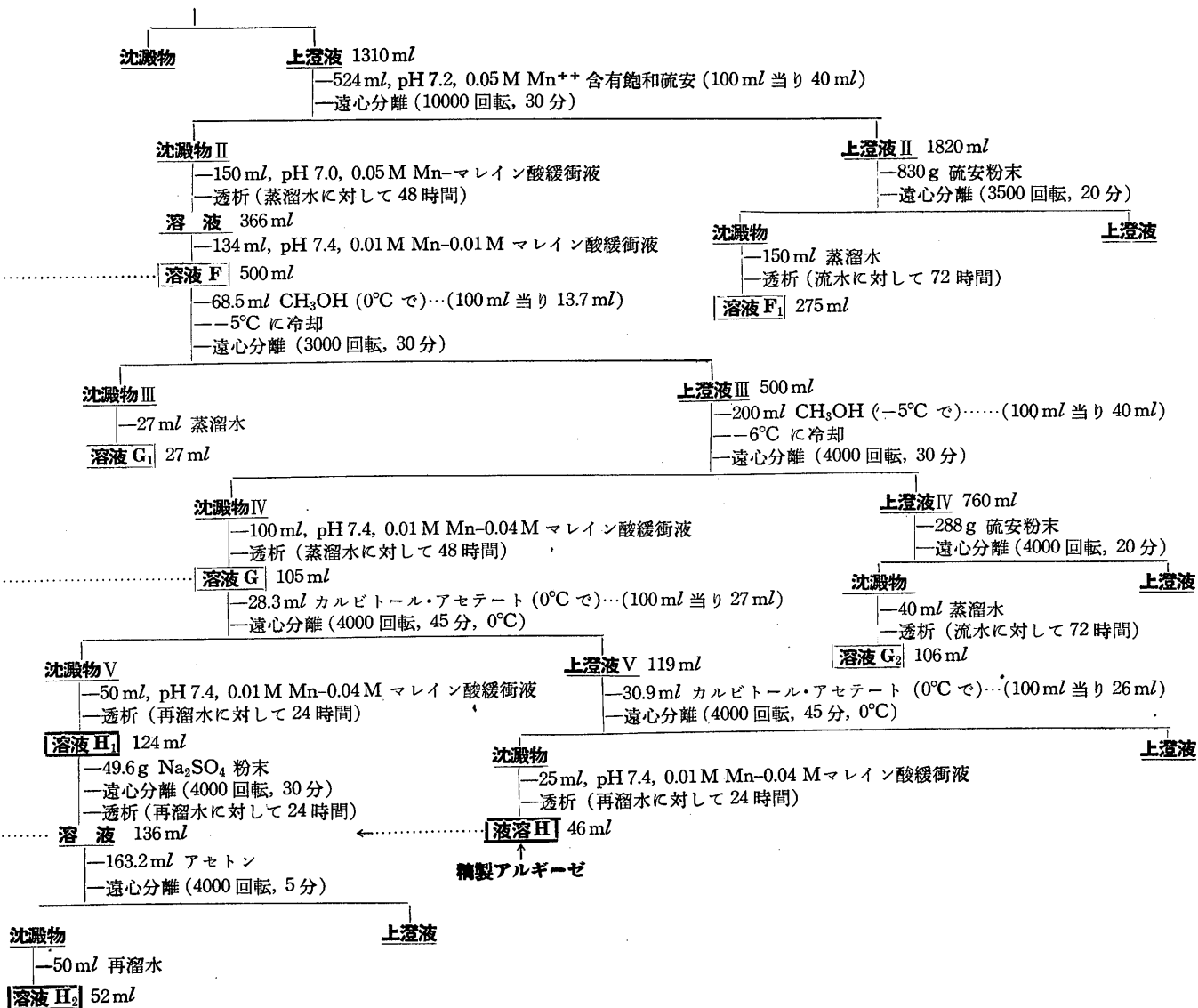


小笠原 フイト・アルギナーゼに関する研究 第8報

第二回飽和硫安処理

メタノール処理

カルビトール・アセテート処理



そこで著者は、アルギナーゼとウレアーゼとを分離しつつ、一つの新しい精製法によつて刀豆から精製アルギナーゼを得る事が出来たので、その結果をここに報告する。

II アルギナーゼ精製実験

アルギナーゼの精製は第1表に示す順序に従つて行つた。抽出処理、第一回アセトン処理、加温処理(60°Cで20分間)、第二回アセトン処理、第一回飽和硫酸処理、第二回飽和硫酸処理、メタノール処理並にカルビトール・アセテート $[C_2H_5O(CH_2)_2O(CH_2)_2OOCCH_3]$ 処理等の精製操作によつて、溶液 H (精製アルギナーゼ) を調製した。精製操作の特徴は総括の部に後述する。

(得られた 124 ml の溶液 H₁ 中には、アルギナーゼも存在する事が明らかとなつた。そこで更に Na₂SO₄ による分離を試みた。然し良好な結果が得られなかつた。このものにアセトン処理を行つたものが、第1表に示す溶液 H₂ である。

III 活力並に窒素量の測定実験

A. 実験方法

1. アルギナーゼ活力の測定方法

測定しようとする溶液を適当なアルギナーゼ濃度に稀釈する。その稀釈液から 0.2 ml をとり、それに 0.2 ml の 0.02 M MnSO₄ を加え、37°C で 20 分間インキュベーションする。後、2.3 ml の pH 10.93 緩衝液 (M/10 グリシン, N/10 NaOH) と、0.3 ml のアルギニン溶液 (0.3 ml 中 3000 γ の Urea-N を含有する) とを添加して、37°C で 20 分間アルギナーゼ反応を行う。後、0.3 ml の 1N・H₂SO₄ を加え、100°C で 10 分間加熱処理をなし、アルギナーゼを完全に失活させる。

生成した尿素はウレアーゼによつて NH₃ に分解させ、得られた NH₃-N をマイクロ滴定法によつて測定する。これらアルギナーゼ活力の測定は、著者の提案した微量測定法⁵⁾⁶⁾に従つて行つた。

2. ウレアーゼ活力の測定方法

測定しようとする溶液を適当なウレアーゼ濃度に稀釈する。その稀釈液から 0.2 ml をとり、それに 2.5 ml の pH 7.0 緩衝液 (M/15 Na₂HPO₄, M/15 KH₂PO₄) と、0.3 ml の尿素溶液 (0.3 ml 中に 3000 γ の NH₃-N を含有する) とを加えて、総量を 3.0 ml とにし、37°C で 20 分間ウレアーゼ反応を行う。後 0.3 ml の 1N・H₂SO₄ を加え、100°C で 10 分間加熱処理をなし、ウレアーゼを完全に失活させる。生成した NH₃-N はアルギナーゼと同一微量測定法⁵⁾⁶⁾に従つて決定した。

3. 窒素量の測定方法

測定しようとする蛋白質溶液 1 ml から分解生成する NH₃-N が、300 γ 以内になるよう適当な蛋白質濃度に稀釈する。その稀釈液から 1 ml をとり、マイクロケルダール法⁷⁾によつて分解し、生成した NH₃-N は微量測定法⁸⁾に従つて窒素量を決定した。

B. 実験結果

1. アルギナーゼの活力

II項のアルギナーゼ精製実験から得られた各溶液のアルギナーゼ活力を前述の実験方法に従って測定すると、第2表の通りとなる。

第2表の全アルギナーゼ活力とは、アルギニンから分解生成する Urea-N の γ 数で示したアルギナーゼ活力を、溶液全量当りに計算したものを指している。

この全アルギナーゼ活力を、抽出液 A に対する比率で示すと、抽出液 A, 溶液 B, C, E, F, G 並に H の割合は、10000, 9172, 7910, 4819, 1830, 435 並に 160 となつて、次第に減少している。

第2表 アルギナーゼ純度の上昇

種類	全アルギナーゼ活力		全ウレアーゼ活力		全窒素量		全アルギナーゼ活力 全窒素量	
	Urea-N の γ	A に対す る比率	NH ₃ -N の γ	A に対す る比率	N の γ	A に対す る比率	Urea-N の γ N の γ	A に対す る比率
抽出液 A	53500000	10000	433010000	10000	13100000	10000	4	1
上澄液 B	49070000	9172	346624500	8005	5921203	4520	8	2
上澄液 C	42318650	7910	307870000	7110	4061100	3100	10	2.5
溶液 E	25782857	4819	10868661	251	397557	303	65	16.3
溶液 F	9790545	1830	1385879	32	50654	39	193	48.3
溶液 G	2327292	435	389984	9	7272	6	320	80
溶液 H	856312	160	0	0	2062	2	415	103.8
溶液 E ₁	419923	78	3074400	71	584307	446		
溶液 F ₁	5362	1	0	0	120100	92		
溶液 G ₁	156451	29	953706	22	30125	23		
溶液 G ₂	117765	22	43945	1	3013	2		
溶液 H ₁	516646	97	385381	9	4643	4		
溶液 H ₂	134368	25	46732	1	1714	1		

亦、溶液 E₁, F₁, G₁, G₂, H₁ 並に H₂ の全アルギナーゼ活力は、抽出液 A の 10000 に対して、夫々、78, 1, 29, 22, 97 並に 25 となつている。

第2表の全窒素量 (γ) の測定値で、夫々の全アルギナーゼ活力 (γ) を割つた数値を算出すると、液 A, B, C, E, F, G 並に H は、夫々、4, 8, 10, 65, 193, 320 並に 415 となり、次大に増大している。この数値を更に抽出液 A の 1 に対する比率で示すと、2, 2.5, 16.3, 48.3, 80 並に 103.8 となつている。

2. ウレアーゼの活力

第2表の全ウレアーゼ活力とは、尿素から分解生成する NH₃-N の γ で示したウレアーゼ活力を、溶液全量当りに計算したものを指している。

この全ウレアーゼ活力を、抽出液 A の 10000 に対する比率で示すと、B, C, E, F, G 並に H は、夫々、8005, 7110, 251, 32, 9 並に 痕跡となつている。従つて、精製溶液 H 中には、グロブリン様のウレアーゼ蛋白体は、殆んど認めることが出来なかつた。

抽出液 A に対する溶液 E₁, F₁, G₁, G₂, H₁ 並に H₂ のウレアーゼ活力の比率は、夫々、71, 0, 22, 1, 9 並に 1 となつている。

3. 全窒素量

第2表の γ 数で表した全窒素量を、更に比率で示すと、抽出液 A, 溶液 B, C, E, F,

G 並に H は、夫々、10000 から、4520, 3100, 303, 39, 6 並に 2 へと次第に激減している。従つて精製溶液 H 中の全窒素量は、抽出液 A の約 1/5000 となつている。

溶液 E₁, F₁, G₁, G₂, H₁ 並に H₂ の全窒素量は、抽出液 A の 10000 に対して、夫々 446, 92, 23, 2, 4 並に 1 となつている。

C. 精製実験に対する検討

以上の活力並に窒素量の結果から判断すると、第一回飽和硫酸処理後得られた溶液 E 中の全アルギナーゼ量は、抽出液 A に比して半減したに過ぎないのに、全ウレアーゼ量は約 1/40 に激減している。その時の $\frac{\text{全アルギナーゼ活力}}{\text{全窒素量}}$ は、A に比して 16.3 倍に増加している。

亦、第二回飽和硫酸処理後の溶液 F のアルギナーゼ量は、抽出液 A に比して約 1/5 に減少しているのに対して、ウレアーゼ量は、1/300 以下に急速に減少している。その時の $\frac{\text{全アルギナーゼ活力}}{\text{全窒素量}}$ は A の 48.3 倍となつている。

従つて、飽和硫酸処理によつてアルギナーゼとウレアーゼを分離する操作は、効果的な方法である。

メタノール処理後の溶液 G のアルギナーゼ量は A の約 1/23 となつているのに対して、ウレアーゼ量は 1/1000 以下に消失している。そして、 $\frac{\text{全アルギナーゼ活力}}{\text{全窒素量}}$ は、A の約 80 倍に上昇している。

亦、カルビトール・アセテート処理後の溶液 H 中のアルギナーゼ量は、A の約 1/63 に減じているのに対して、ウレアーゼ量は痕跡となり、その活力を殆んど認める事が出来なかつた。 $\frac{\text{全アルギナーゼ活力}}{\text{全窒素量}}$ は A の約 104 倍にまで上昇している。

従つて、その操作に周密な注意を払うならば、メタノール並にカルビトール・アセテートの使用はアルギナーゼとウレアーゼの分離に、亦アルギナーゼの精製法に極めて効果的な方法である。

刀豆種実中には、アルギナーゼ以上に極めて多量のウレアーゼが存在している。このアルブミン様のアルギナーゼ蛋白体とグロブリン様のウレアーゼ蛋白体との分離に成功する事は、アルギナーゼ精製過程に於て、極めて肝要な事である。

IV 濾紙電気泳動法による純度の確認実験

A. 実験方法

1. 濾紙電気泳動装置

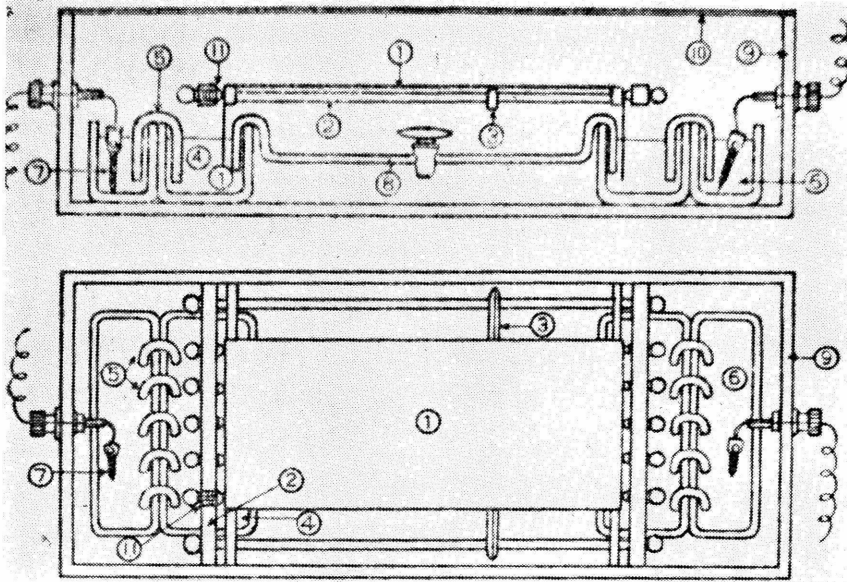
第1図に示す装置により実験を実施した。濾紙は東洋濾紙 No. 51 を使用した。

2. 緩衝液

各種の pH の緩衝液を使用して、その良否を検討したが、ペロナール・ソーダ緩衝液⁹⁾ (8.82g のペロナール・ソーダ、4.68g の酢酸ソーダ並に 80.8ml の N/10 酢酸を蒸溜水で 2l にした液) が最も良好な結果を得た。この緩衝液は pH 8.5, $\mu=0.045$ であつた。

3. 電流と電圧

50mA までの電流と、100V~1000V の電圧とを自由に調節出来る極めて精密な自動定電流定電圧直流装置を使用し、0.2mA/cm, 6.3~10 Volt/cm の条件下で泳動を行つた。



第1図 濾紙電気泳動装置¹⁰⁾

- | | | | |
|-------------|----------|------------------------|-------------|
| ① 濾紙 | ② 濾紙緊張用棒 | ③ 物質添加部支持棒 (移動可能) | ④ 電解液槽 |
| ⑤ U字管 (寒天橋) | ⑥ 電極槽 | ⑦ 白金電極 | ⑧ 両槽液面調整コック |
| ⑨ 外装箱 | ⑩ 外装箱上蓋 | ⑪ 濾紙抑圧用楔 (ステンレススプリング入) | |

4. 蛋白質の確認法 (染色法¹¹⁾)

泳動した濾紙片を染色液 (0.05g の Bromphenol blue, 1.0g の昇汞並に 2ml の水酢酸を蒸留水で 100ml にした液) に 20 分間浸した後取り出し, 別の容器の 2% 酢酸液に浸し, 洗滌する方法をとつた。

5. 泳動時間

以上のような条件のもとで 8 時間泳動を行つた。

B. 実験結果並に純度の判定

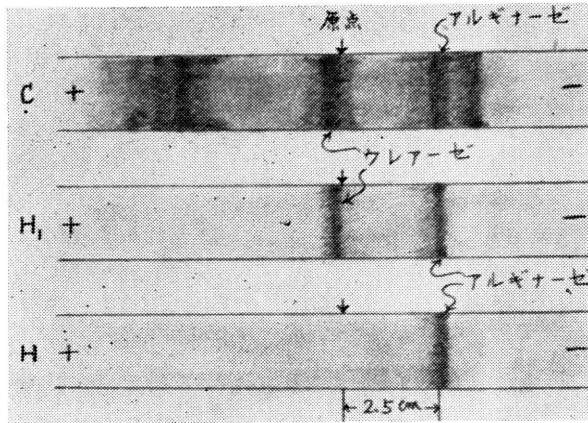
以上の実験方法で濾紙電気泳動を行つた実験結果が第 2 図である。

この図に示すように, 抽出液 A のアセトン並に加温処理後の上澄液 C は, 陰陽両極に泳動する多数部分の蛋白体に分離した。

カルビトール・アセート処理後の精製溶液 H は, 試料添加部の中央部から 2.5cm 陰極側に泳動した一つの濃厚な呈色を与えた。それ以外の部位には, 呈色は認められなかつた。亦, 溶液 H₁ は陰陽両極に殆んど泳動しない蛋白部 (試料を附着した中央部) と, 2.5cm 陰極側に泳動した蛋白部とに分離した。それ以外の呈色は認められなかつた。

第 2 表の活力並に第 2 図の泳動図によるまでもなく, 上澄液 C は陰陽両極に泳動分離する各種の蛋白体から成立つている事は云うまでもない。この上澄液 C が次第に精製操作を経て, 同一荷電量の蛋白体のみから組成される溶液 H に到達している。

第2表によると、溶液 H 中には、ウレアーゼの活力は殆んど認める事が出来なかつた。そして、 $\frac{\text{全アルギナーゼ活力}}{\text{全窒素量}}$ は抽出液 A の 104 倍に上昇していた。従つて、第2図の溶液 H の泳動図は、アルギナーゼ並にそれに類似の蛋白体の呈色である事は明らかである。



第2図 濾紙電気泳動法によるアルギナーゼの分離

アルギナーゼ並にウレアーゼ蛋白体の泳動位置を明らかに認める事が出来た。

第2表によると、溶液 H₁ はアルギナーゼのみならず、ウレアーゼをも含有している。従つて、第2図の溶液 H₁ の2部分の呈色は、アルギナーゼ様の蛋白体並にウレアーゼ様の蛋白体と判断される。そして、この条件下に於けるウレアーゼ様蛋白体は陰陽両極に殆んど泳動しない蛋白体である。

このような溶液 H 並に H₁ の泳動図から判断すると、上澄液 C の泳動図中にも、アルギナーゼ

V 連続濾紙電気泳動法による分離精製実験

A. 実験の目標

純度のほぼ判定された溶液 H を、更に分離精製しようと企てた。然し、試薬類のみによる純化は極めて困難である事を知つた。そこで、連続濾紙電気泳動実験によつて、更に精製を進めようと計画した。

B. 連続濾紙電気泳動法の原理

この装置は Durrum¹²⁾ (1951年) 並に Grassmann¹³⁾ (1953年) の考案による新装置である。

濾紙を電解液の保持体とし、上より緩衝液を流し、これと直角方向に通電して絶えず上より緩衝液を補給し、連続的に物質を下部へ流出させ、重力による展開液の流動作用と、電気的作用とを併合させて、物質の分離を行う。即ち、物質は $\frac{\text{易動度}}{\text{流下速度}} = \tan \alpha$ の角度で分離され、下部で補集される(第3図)。

C. 実験並にその結果

第4図の装置により、使用する緩衝液に溶解した溶液 H を試料供給管に入れ、分離精製実験を行つた。

濾紙は東洋濾紙 60×60cm サイズのものを用い、電源は 100~1000 Volt, 0~50 mA の定電流定電圧直流供給装置を使用した。

緩衝液や濾紙の種類、電圧や電流の数値等、種々かえて各種の条件下で 72 時間泳動を行つた。

然しながら、いずれの実験結果も明確な分離精製は得られなかつた。

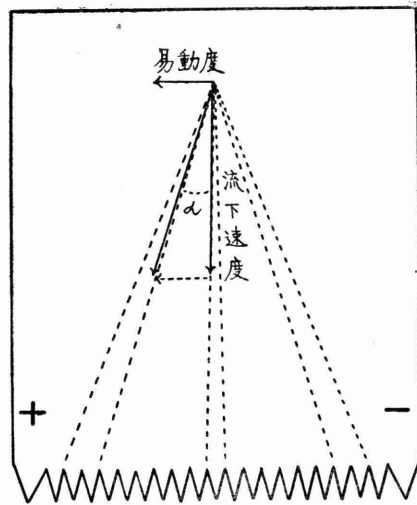
約2ヶ月の精製実験の結果得られた精製アルギナーゼが溶液 H である。このような処理後のこの精製アルギナーゼは、連続濾紙電気泳動的には更に分離精製出来ない事が明らかとなつた。

VII 精製アルギナーゼの二、三の性質

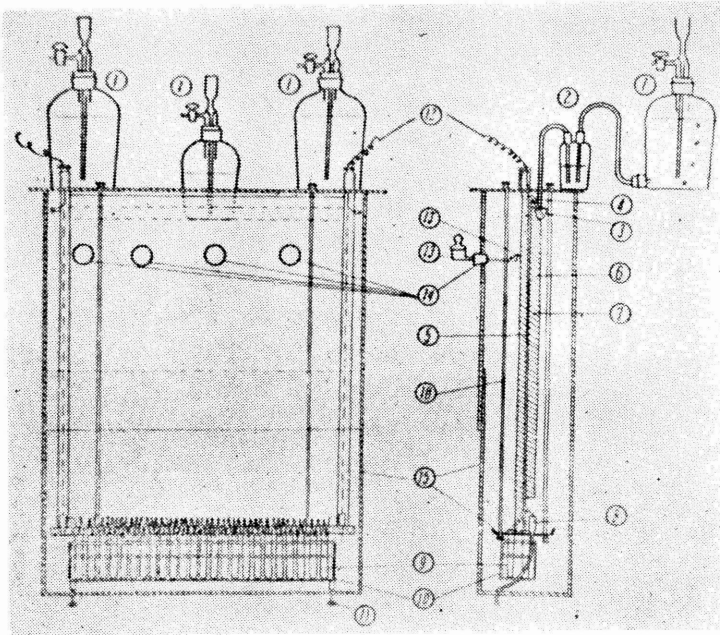
A. アルギナーゼ反応の pH

1. 実験方法

溶液 H 或は H₁ の稀釈液から 0.2ml をとり、これに、pH 7.0 に調節した 0.2ml の 0.02M MnSO₄, CoSO₄ 或は NiSO₄ を加え、37°C で 20 分間インキュベーションを行う。後、種々の pH の緩衝液 2.3ml と、0.3ml



第3図 アルギナーゼ蛋白体の分離



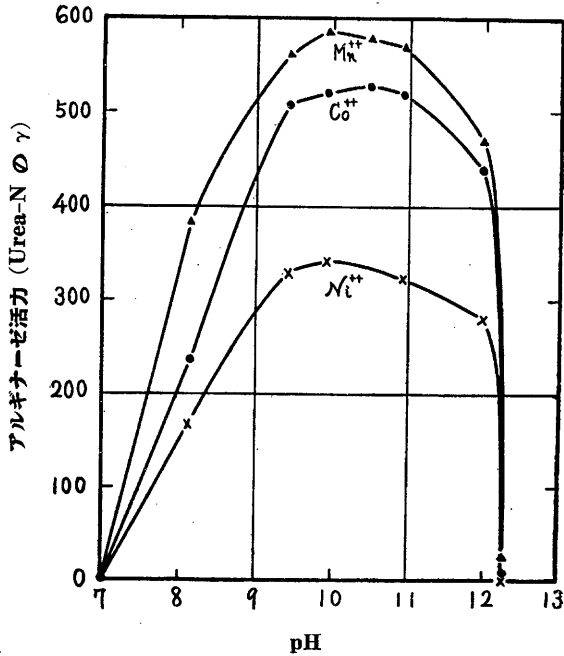
- ① 緩衝液瓶
- ② 緩衝液速度調節瓶
- ③ 緩衝液供給樋
- ④ ガラス棒
- ⑤ 濾紙
- ⑥ 濾紙保持枠
- ⑦ 白金電極
- ⑧ 電極洗滌液捕集漏斗
- ⑨ 分離成分捕集試験管
- ⑩ 分離試験管立
- ⑪ 試験管立調節ネジ
- ⑫ 電極リード線
- ⑬ 試料供給管
- ⑭ 試料供給濾紙接触片
- ⑮ 供給管挿入口
- ⑯ 気密槽

第4図 連続濾紙電気泳動装置

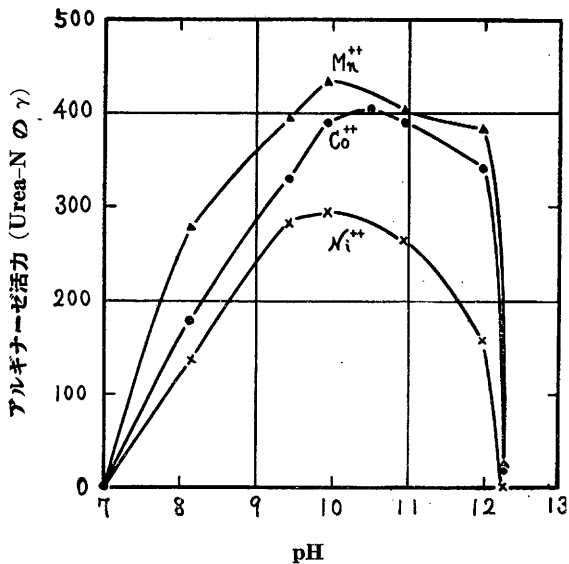
のアルギニン溶液とを加えて 37°C で 20 分間アルギナーゼ反応を行う。以下 II 項のアルギナーゼ活力の測定法と同一操作で行つた。

2. 実験結果

以上の操作で、溶液 H のアルギナーゼ反応に於ける pH 実験を行つた。第5図はその



第5図 精製アルギナーゼの活力と pH との関係



第6図 アルギナーゼ(溶液 H₁) 活力と pH との関係

実験結果である。

これによると、Mn²⁺、Co²⁺ 或は Ni²⁺ のいずれの賦活剤を添加した場合にも、pH 7.0 以下並に 12.2 以上では、アルギナーゼ活力は全く認められなかつた。

Mn²⁺、Co²⁺ 或は Ni²⁺ 添加の場合に於けるアルギナーゼ反応の最適 pH は、夫々 10.0、10.5、或は 10.0 附近にあつた。最も効果的な賦活剤は Mn²⁺ であり、Ni²⁺ は最も劣つていた。

以上の第5図と全く同一傾向が第6図の溶液 H₁ の pH-曲線からも得られた。

溶液 H はウレアーゼを含有しないが、溶液 H₁ はウレアーゼをも含有している。従つて、ウレアーゼの混在は、アルギナーゼ反応の pH-曲線に、大差を生じないものと判断される。

B. アルギナーゼの熱安定性

1. 実験方法

溶液 H の稀釈液から 0.2ml をとり、これに pH 7.0 に調節した 0.2ml の 0.02M MnSO₄ あるいは CoSO₄ を加える。後、57°C で 0~180 分間加温処理をなし、その後、pH 7.0 に調節した 0.2ml の再溜水を加え、37°C で 20 分間インキュベーションを行う。その後、2.1ml の pH 9.42 緩衝液と、0.3ml のアルギニンとを加えて、37°C で 20 分間アルギナーゼ反応を行う。

亦、別に、溶液 H の稀釈液から 0.2ml をとり、これに pH 7.0 に調節した 0.2ml の再溜水を加え、

0~180 分間 57°C で加温処理をなし、後、pH 7.0 に調節した 0.2ml の 0.02M $MnSO_4$ 或は $CoSO_4$ を加え、37°C で 20 分間インキュベーションを行う。その後、上記と同一の緩衝液とアルギニンを加えてアルギナーゼ反応を行う。以下の操作は、II 項のアルギナーゼ測定法と同一に行つた。

2. 実験結果

以上の実験方法によつて得られた結果が第 7 図並に第 8 図である。

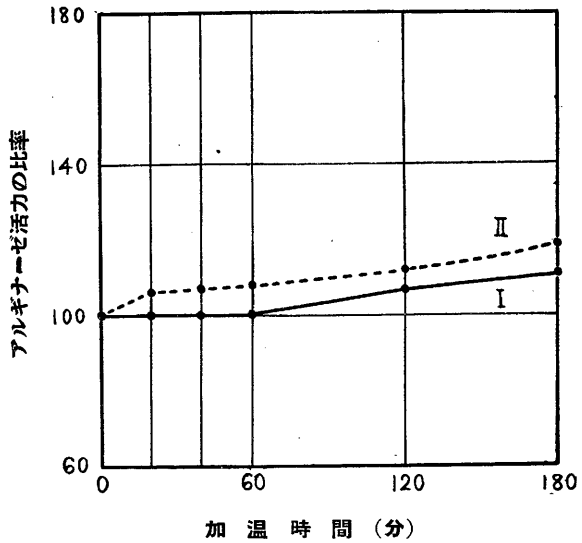
0 分間処理即ち 57°C の加温処理を全く行わなかつた場合のアルギナーゼ活力を 100 にとつて、それに対する Relative activity で、これらの図の曲線は示してある。

第 7 図並に第 8 図の曲線 I は、57°C 加温処理の際に Mn^{++} 並に Co^{++} を添加した場合、曲線 II は Mn^{++} 並に Co^{++} の代りに再溜水を添加した場合である。然し、曲線 II にも、インキュベーションの際に賦活剤として Mn^{++} 並に Co^{++} を添加した。

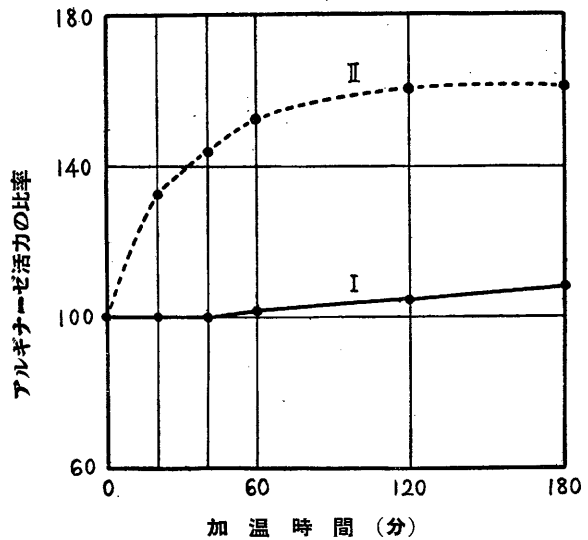
著者の行つた従来の実験結果⁶⁾によると、 Mn^{++} 不添加の刀豆アルギナーゼは、熱に極めて不安定であり、57°C、180 分処理後には完全に失活された。然し、 Mn^{++} 添加のものは、熱に安定となり、180 分処理後にも、殆んど失活されなかつた。第 7 図並に第 8 図の Mn^{++} 並に Co^{++} 添加 57°C 処理の曲線 I も、同様に極めて安定であつた。然し、 Mn^{++} 並に Co^{++} 不添加 57°C 処理の曲線 II も、それ以上に極めて安定であつた。しかも、 Co^{++} 不添加のものは活力の著るしい増強さえ認められた。

C. 精製アルギナーゼと Mn^{++} の結合

第 7 図並に第 8 図の実験結果から



第 7 図 精製アルギナーゼの熱安定性
I... Mn^{++} 添加 II... Mn^{++} 不添加



第 8 図 精製アルギナーゼの熱安定性
I... Co^{++} 添加 II... Co^{++} 不添加

判断すると、溶液 H は、既に充分な Mn^{++} を含有しているものと推測される。

そこで、更に溶液 H の稀釈液から 0.2ml をとり、これに賦活剤は全く添加せずに、その代りに pH 7.0 の再溜水を加えてインキュベーションを行つた。

一般に、賦活剤 (Mn^{++} , Co^{++} , Ni^{++}) 不添加の場合には、アルギナーゼ活力は発現されない。然るに、この時の実験結果は、同一条件下で Mn^{++} 添加の実験結果と、ほぼ同一活力を得た。

以上の諸結果を総合して考察する時、溶液 H は、既に Mn^{++} を含有している事は明らかである。充分な Mn^{++} が存在していれば、 Mn^{++} 不添加処理のものも熱に安定である事は云うまでもない。充分な Mn^{++} の存在する溶液 H 中に、更に Mn^{++} 或は Co^{++} を添加すれば過量となり、増強作用は弱められる。これが、 Mn^{++} 或は Co^{++} 不添加処理の場合が、増強作用の高かつた理由と考えられる。

本実験に於ては、 Mn^{++} 含有マレイン酸緩衝液を常に添加しつつ精製処理を行つた。従つてアルギナーゼ蛋白体と Mn^{++} が強く結合し、透析処理で Mn^{++} を除去する事が出来なかつた。溶液 H 中に Mn^{++} の存在する理由はこれであろう。

Mn^{++} 含有マイレン酸緩衝液を精製操作に採用した著者の方法は、アルギナーゼの安定性を高める上に、極めて効果的であつたものと判断される。

Ⅶ 総 括

一般に動物のアルギナーゼ精製には、60°C 加温処理で熱安定性を高めてから、アセトン並に硫酸処理に進む方法がとられている。

これらの操作については、既に Richards and Hellerman¹⁴⁾, Hunter and Downs¹⁵⁾ 並に Mohamed and Greenberg¹⁶⁾ 等によつて報告されている。

著者は、60°C 加温処理前にアセトン処理をなし、その結果第2表に示す好結果を得た。

Mn^{++} が刀豆アルギナーゼの安定剤として、最も有効である事は、既に著者が報告⁶⁾した。従つて、精製中常に Mn^{++} 含有溶液にする事が肝要である。高濃度の Mn^{++} 含有溶液の作製には、マイレン酸緩衝液が最も適切であつた。それ以外の緩衝液では Mn の沈澱物を生ずるので不適當であつた。

このように、精製中常に Mn^{++} 含有マレイン酸緩衝液を使用した。その為に Mn^{++} がアルギナーゼ蛋白体と強く結合して、透析処理で完全に Mn^{++} を除去する事が出来なかつた。これがアルギナーゼの失活を防止して、良好な精製実験を得る原因となつた。

硫酸アンモニア、メタノール並にカルビトール・アセテートは、冷却、遠心分離、透析等の諸操作と適切な組合せで実施すれば、極めて有効な精製剤である事が明らかとなつた。

活力の測定並に濾紙電気泳動実験から判断すると、精製溶液 H はアルギナーゼ様の蛋白体のみからなつている。

然しながら、動物のアルギナーゼ実験¹⁷⁾¹⁸⁾¹⁹⁾を参照すると、この溶液 H も単一蛋白体ではあるまい。Tiserius の電気泳動装置にかけたならば、更に3成分程度の蛋白質に分離するであろう。

このような疑念を解決し、更にアルギナーゼの精製分離を進展させる為に、連続濾紙電

気泳動実験を行つた。然しながら、それ以上の精製分離の得られない事が明らかとなつた。

動物のアルギナーゼ³⁾と同様、精製刀豆アルギナーゼは無色の蛋白体であつた。

pH 8.5 のペロナール・Na 緩衝液を使用した濾紙電気泳動実験によると、アルギナーゼは陰極に泳動する蛋白体であつた。

アルギナーゼ反応の至適 pH は 10.0~10.5 附近であつた。

終りに臨み本研究は本学々長青木誠四郎先生の御支援並に本学教官橋本英子氏の助力によつて遂行し得たものである。ここに厚く感謝する。

(本報告の要旨は昭和 31 年 6 月 23 日 日本農芸化学会関東支部第 165 回講演会に於いて講演した。)

(化学研究室)

文 献

- 1) H.A. Krebs and K. Henseleit: Z. Physiol. Chem., 210, 33 (1932).
- 2) A.M. Srb and N.H. Horowitz: J. Biol. Chem., 154, 129 (1944).
- 3) C.B. Tompson: Science, 104, 576 (1946).
- 4) J.B. Sumner and K. Myrbäck: The Enzymes, Vol. 1, Part 2, 878 (1951).
- 5) Kondo and Ogasawara: Bull. Research Inst. Food Science, Kyoto Univ. 4, 24 (1951).
- 6) Kondo and Ogasawara: Bull. Research Inst. Food Science, Kyoto Univ. 10, 46 (1952).
- 7) 赤堀四郎: 酵素研究法, 1, 162 (1955).
- 8) A.E. Sobel, A. Hirschman, and L. Besman: Anal. Chem., 19, 927 (1947).
- 9) C.V. Holt, et al: Biochem. Z., 323, 345 (1952).
- 10) W. Grassmann and K. Hannig: Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem., 290, 1 (1952).
- 11) 森 五彦, 小林茂三郎: 濾紙電気泳動法の実際, 113 (1955).
- 12) E.L. Durrum: J. Am. Chem. Soc., 73, 4875 (1951).
- 13) W. Grassmann, & K. Hannig: Z. Physiol. Chem., 292, 32 (1953).
- 14) M.M. Richards and L. Hellerman: J. Biol. Chem., 134, 237 (1940).
- 15) A. Hunter and C.E. Downs: J. Biol. Chem., 155, 173 (1944).
- 16) M.S. Mohamed and D.M. Greenberg: Arch. Biochem., 8, 349 (1945).
- 17) J.B. Sumner and K. Myrbäck: The Enzymes, Vol. 1, Part 2, 904 (1951).
- 18) J. Bach: Nature, 158, 376 (1946).
- 19) M.S. Mohamed: Acta Chem. Scand., 3, 56 (1949).

正 誤 表

頁	箇 所	誤	正
7	附 図 番 号	13 ~ 29	11~27(夫々2づつ繰上げ)
7	参考文献1行目	Tabrikafion	Fabrikation
14	柱	斎 斎	斎 藤
16	柱	藤 藤	斎 藤
16	下より10行目	Rexikon	Lexikon
42	下より3行目	組 識	組 織
45	上より5行目	オルチニン	オルニチン
〃	下より13行目	生化的作用	生化学的作用
46	上より21行目	アセント	アセトン
53	上より6行目	VII	VI