



Title	水産動物筋肉の酵素化学的研究 : 3. 好氣的解糖作用に及ぼす各種阻害剤の効果について
Author(s)	柴田, 猛; SHIBATA, Takeshi
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 12(3), 201-209
Issue Date	1961-11
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/23139
Type	departmental bulletin paper
File Information	12(3)_P201-209.pdf



水産動物筋肉の酵素化学的研究

3. 好氣的解糖作用に及ぼす各種阻害剤の効果について

柴 田 猛

(北海道大学水産学部水産生物化学教室)

Enzymatic Studies on the Muscle of Aquatic Animals

3. The effect of various inhibitors on aerobic glycolysis of fish (*Cyprinidae*) and squid (*Ommastrephes sloani pacificus*) muscle

Takeshi SHIBATA

Abstract

A study was made of the effect of various inhibitors on aerobic glycolysis in fish and squid muscle extract.

(1) Jodoacetate inhibits lactate and pyruvate formation and also fructose diphosphate utilization.

(2) There is no effect on the end product formation of glycolysis by malonate, 2,4-dinitrophenol and cyanide.

(3) By fluoride lactic acid and pyruvic acid production is inhibited.

(4) Arsenate exerts a slight acceleration on the formation of lactate and pyruvate.

(5) The effect of arsenite is the same as that of arsenate on pyruvate formation in squid, whereas lactate formation in fish is fairly inhibited.

(6) The role of these inhibitors in the multi-enzyme system is discussed.

緒 言

前報¹⁾に於て、好氣的解糖作用の最終産物としてコイでは乳酸、イカでは焦性ブドウ酸が蓄積することを報告した。両者共に、fructose-diphosphate (FDP) が存在していなければ、ATP, DPNの補助因子を充分に加えても、乳酸及び焦性ブドウ酸は生成しない。この一連の研究は解糖系の limiting factor の探究を目的とするために、ここで FDP を解糖系の基質に用い、各種阻害剤による最終産物の蓄積に及ぼす影響を述べる。これより得られた複雑な複合酵素系の kinetics とその反応位置の解明は limiting step の手掛りを与えるだろう。

また筋肉酵素製品の抽出の際、抽出条件によっては、ミトコンドリア系の顆粒やその破片がチトプラズマの解糖系の酵素と混在する恐れがある。特にミトコンドリアには主な呼吸系酵素がすべて含まれているので、解糖作用とは相反した作用を行う。Pasteur 効果 Crabtree 効果はその例であるが、その呼吸系の酵素作用の効果をもみるために、呼吸阻害剤も含めて選ばれた。特にイカの焦性ブドウ酸の蓄積(軟体類の特徴とも思われる)が TCA サイクルの回転を促進するものか、オクトピンの合成²⁾、ある種のプテリンの合成³⁾ 又はその他の径路に利用されるものかどうかについての考察の一助になるであろう。

実 験

試料として市販の養殖コイ・フナとスルメイカを用いた。酵素製品の抽出条件、反応組成液、操作及び測定法は前報¹⁾と同様に行った。阻害剤は市販品をそのまま使用した。砒酸は砒酸ソーダを pH 7.6 に中和し、亜砒酸は無水亜砒酸を NaOH でとかし、pH 7.6 に中和して使用した。

結 果

ヨード酢酸の効果——解糖系の特異的阻害剤であるモノヨード酢酸の効果が第1表及第2表に示される。コイ、イカ共に最終産物の蓄積の阻害がみられる。即ち乳酸は 60 分反応で 82%、焦性ブドウ酸は 50% 阻害される。又 $10^{-3}M$ では焦性ブドウ酸の生成が 75% 阻害される。ヨード酢酸が Baldwin⁵⁾ の如くトリオーズ磷酸脱水酵素を阻害するなら、トリオーズ磷酸が蓄積する⁶⁾筈であるが、FDP の利用にも阻害がみられ、特にコイでは阻害が著しい。コイでは 60 分で 67%、イカでは 30%である。著者のコイ筋肉アルドラーゼの実験⁷⁾によると、コイアルドラーゼもヨード酢酸によって阻害されることが認められている。しかしイカでは FDP の阻害が少く $10^{-4}M$ では 10%、 $10^{-3}M$ では $10^{-3}M$ と変わらない。

ディニトロフェノールの効果——酸化磷酸化の uncoupler としてのこの阻害剤は高エネルギー磷酸化合物の形成を阻止する。FDP 以下の解糖系に於ては ATP がつくられるので、この磷酸受容体の確保のために行われた。その結果は第1表及び第2表に示される。コイに於ては乳酸の生成に効果なく、又 FDP にも、最初の 20 分を除いては効果がなかった。イカでは FDP の変化には全く効果がなく、焦性ブドウ酸の生成が僅かに増加している。この原因は考察で述べる様に少くとも ADP の確保のためではない。恐らく別の原因によるものであろう。

マロン酸の効果——TCA サイクルの特異的阻害剤のマロン酸の効果が第3表及び第4表に示される。焦性ブドウ酸が TCA サイクルに利用されるのを防ぐために使用した。イカに於ては FDP や焦性ブドウ酸に対して変化なく、また濃度による効果もない。コイの場合は反応初期に於て FDP、焦

Table 1. Effect of jodoacetate and dinitrophenol on aerobic glycolysis in carp muscle extract

The standard medium was the same as the Lepage's glycolytic system⁴⁾, except that 1.9 μ moles of FDP and 0.96 mg extract protein per ml of incubation mixture were used. Incubation, 30°.

+ and - represent increase and decrease, respectively

The values are expressed as μ moles per ml of incubation mixture.

Inhibitors	Control		Jodoacetate		Dinitrophenol	
	0		10^{-3}		10^{-4}	
Concentration (M)	0		10^{-3}		10^{-4}	
Incubation time	-FDP	+Lactate	-FDP	+Lactate	-FDP	+Lactate
	μ moles	μ moles	μ moles	μ moles	μ moles	μ moles
min.						
20	0.58	1.42	0.59	0.18	1.12	1.55
40	1.36	1.73	0.46	0.28	1.34	1.64
60	1.40	1.71	0.46	0.31	1.52	1.73
80	1.42	2.13	0.46	0.31	1.60	2.08
120	1.61	2.44	0.56	0.31	1.63	2.44

Table 2. Effect of jodoacetate and dinitrophenol on aerobic glycolysis in squid muscle extract

The standard medium was the same as the Lepage's glycolytic system, except that pyruvate and fluoride were omitted and 2.8 μ moles of FDP and 0.50 mg extract protein per ml of incubation mixture were used. Incubation, 30°

Inhibitors	Control		Jodoacetate		Dinitrophenol	
Concentration (M)	0		10 ⁻³		1.3×10 ⁻⁴	
Incubation time	-FDP	+Pyruvate	-FDP	+Pyruvate	-FDP	+Pyruvate
min.	μ moles	μ moles	μ moles	μ moles	μ moles	μ mole
20	2.00	1.40	1.10	0.63	2.00	1.69
40	2.11	1.54	1.39	0.76	2.11	1.85
60	2.15	1.54	1.51	0.77	2.13	1.86
80	2.15	1.51	1.67	0.81	2.15	1.84
100	2.21	1.49	1.77	0.80	2.16	1.86

Table 3. Effect of malonate on aerobic glycolysis in carp muscle extract

Experimental conditions were the same as in Table 1, except that 2.8 μ moles of FDP and 0.89 mg extract protein were used.

Concentration (M)	control			10 ⁻³		
Incubation time	-FDP	+Lactate	-Pyruvate	-FDP	+Lactate	-Pyruvate
min.	μ moles	μ moles	μ moles	μ moles	μ moles	μ moles
20	1.34	1.16	1.46	1.00	0.99	1.08
40	1.65	1.88	2.26	1.33	0.89	1.84
60	1.78	1.88	2.83	1.50	1.69	2.41
80	1.92	2.05	3.13	1.56	1.69	2.78
120	1.95	2.32	3.26	1.83	2.49	3.20

Table 4. Effect of malonate on aerobic glycolysis in squid muscle extract

Experimental conditions were the same as in Table 2, except that glucose, moreover, was omitted.

Concentration (M)	Control		0.5×10 ⁻³		0.5×10 ⁻²		0.5×10 ⁻¹	
Incubation time	-FDP	+Pyruvate	-FDP	+Pyruvate	-FDP	+Pyruvate	-FDP	+Pyruvate
min.	μ moles	μ moles	μ moles	μ moles	μ moles	μ moles	μ moles	μ moles
20	2.52	1.39	2.44	1.45	2.52	1.48	2.52	1.29
40	2.70	1.72	2.53	1.86	2.69	1.93	2.52	1.73
60	2.70	1.81	2.61	1.93	2.69	1.98	2.69	1.83
80	2.70	1.87	2.57	1.93	2.69	1.95	2.72	1.92
120	2.76	1.76	2.59	1.91	2.69	1.94	2.76	1.89

性ブドウ酸、乳酸の変化に対してやや阻害的に作用するが、120分では殆ど何れも効果がなくなっている。

青酸の効果——酸化系の呼吸阻害剤の青酸の効果がコイの場合に行われた。結果は第5表に示される。何れについても著しい効果が表われていない。青酸と焦性ブドウ酸が結合物をつくるために⁸⁾測定の際、焦性ブドウ酸の絶対値が低くなるため、イカに於て青酸阻害の実験を行わなかった。

Table 5. Effect of cyanide on aerobic glycolysis in carp muscle extract

Experimental conditions were the same as in Table 1, except that 3.5 μ moles of sodium pyruvate and 0.91 mg extract protein were used.

Incubation time	Control			Cyanide (10^{-3} M)		
	-FDP	+Lactate	-Pyruvate	-FDP	+Lactate	-Pyruvate
min.	μ moles	μ moles	μ moles	μ moles	μ moles	μ moles
20	0.76	0.89	0.66	0.86	0.85	0.46
40	1.06	1.60	1.40	1.06	1.16	1.00
60	1.11	1.69	1.77	1.12	1.47	1.30
80	1.12	1.87	1.90	1.32	1.86	1.70
120	1.22	2.09	2.27	1.42	1.87	2.06

弗化物の効果——ATP ase の阻害剤として弗化物を用いた。結果は第1図及び第2図で示される。イカに於ては 10^{-3} M で焦性ブドウ酸が45% 阻害されるが、 10^{-4} M では効果がない。しかし

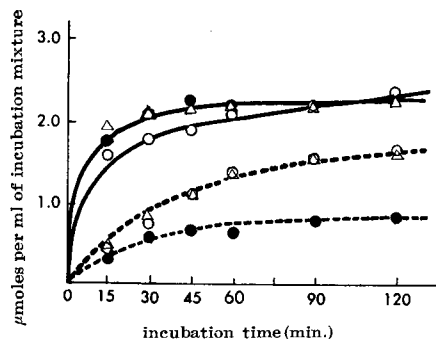


Fig. 1

Fig. 1. Effect of fluoride on aerobic glycolysis in squid muscle extract

The standard medium contained 40 μ moles of phosphate buffer (pH 7.6), 6 μ moles of $MgCl_2$, 0.2 μ mole of DPN, 3.5 μ moles of FDP and 0.49 mg extract protein per ml of incubation mixture

—————: decreased FDP; - - - - -: increased pyruvate. ○: no added fluoride; Δ : 10^{-4} M sodium fluoride; ●: 10^{-3} M fluoride

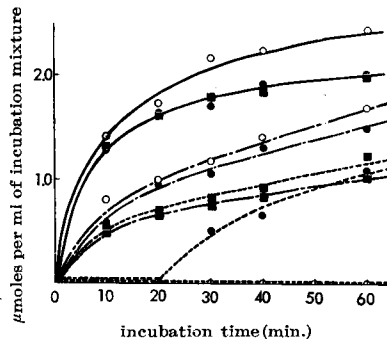


Fig. 2

Fig. 2. Effect of fluoride on aerobic glycolysis in crucian carp muscle extract

The standard medium was the same as the Lepage's glycolytic system, except that 40 μ moles of Tris buffer (pH 7.6), 4.9 μ moles of FDP, 3.5 μ moles of sodium pyruvate and 0.70 mg extract protein per ml of incubation mixture were used without glucose.

- - - - -: increased lactate; ———: decreased pyruvate; ———: decreased FDP. ○: no added fluoride; ●: 2×10^{-2} M sodium fluoride; ■: 4×10^{-2} M fluoride

$3 \times 10^{-2} M$ では完全に阻害される。フナの場合も乳酸の生成が $2 \times 10^{-2} M$ では 13%, $4 \times 10^{-2} M$ では 36% 阻害されている。FDP は両濃度とも 20% の阻害を示す。しかし焦性ブドウ酸の減少は対照よりも増加しており、加えた焦性ブドウ酸の 35% が利用されている。これは **Lepage** の解糖系に弗化物が **ATP ase** 阻害剤として用いられているがこれが又 **enolase** を阻害するので焦性ブドウ酸がつかられない。そこで **triose phosphate dehydrogenase** によって生じた **DPNH** を利用させるために、焦性ブドウ酸を加えて乳酸の生成を強化している。もし **enolase** が完全に阻害されると焦性ブドウ酸の減少と対応して乳酸が生成される。対照では **FDP** より焦性ブドウ酸が供給されるために減少をみせず、その量は乳酸量と対応する。弗化物の存在では、酸化還元助酵素の回転が既存の焦性ブドウ酸と乳酸脱水素酵素に依存することになり、焦性ブドウ酸の減少をもたらす。**Lepage** 系の弗化物の濃度は $3 \times 10^{-2} M$ で、 $4 \times 10^{-2} M$ 以上の高濃度にすることが出来なかった。又弗化物は乳酸脱水素酵素も阻害する。イカで阻害濃度がフナよりも低く、乳酸脱水素酵素の活性も小さいので、恐らく **enolase** の阻害に対応していると思われる。

砒酸の効果——砒酸の不可逆的置換物としての砒酸の効果は第 3 図及第 4 図に示めされる。イカでは、**FDP** の利用も焦性ブドウ酸の生成も短時間の反応では増加する傾向にある。しかし反応時間を長くすると、(例えば、120分) どの濃度も一致した平衡点が得られる。促進の程度は焦性ブドウ酸で 30 分 $10^{-2} M$ で対照の 2.6 倍になる。フナでは **Lepage** の反応系に弗化物が存在しているのでやや複雑になるが、弗化物が存在しないときには、イカと同様に **FDP** と乳酸の生成が促進され、共に対照の 1.3 倍になる。しかし焦性ブドウ酸の減少の割合は少くなり、60 分で対照の 50% しか利用されていない。残りの部分には **FDP** より補給された部分が含まれる。しかし弗化物の存在で対照と変わりなく、恐らく **enolase** の部分で支配されるか、効果が弗化物に優先されるものかも知れない。砒酸の阻害は無機リン酸との比によって変るが⁹⁾、リン酸緩衝液の濃度は反応溶液 1 ml 当り 2μ mole で、**FDP** 及び **endogenous** の無機リン酸が 4μ mole であるから、殆ど解糖系だけの影響と思われる。トリス緩衝液を用いても効果は変わらない。

亜砒酸の効果——酸化還元反応による亜砒酸の効果が第 5 図及び第 6 図に示される。イカに於ては、作用型式が砒酸の場合と類似しており、焦性ブドウ酸は 60 分 $10^{-2} M$ で対照の 1.35 倍になる。**FDP**

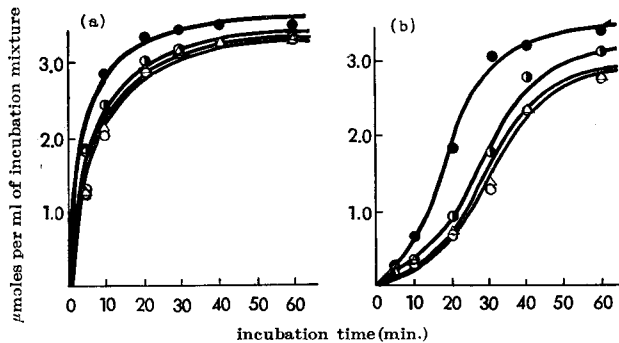


Fig. 3. Effect of arsenate on aerobic glycolysis in squid muscle extract

Experimental conditions were the same as in Fig. 1, except that 3.7μ moles of **FDP** and 0.40 mg extract protein were used. (a) shows amount of **FDP** decreased (b) shows amount of pyruvate formed

○ : no added arsenate; △ : $10^{-4} M$ sodium arsenate; ● : $10^{-3} M$ arsenate;
● : $10^{-2} M$ arsenate

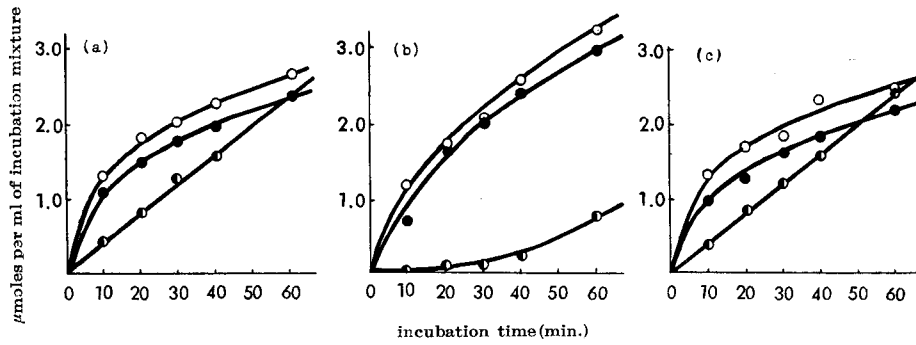


Fig. 4. Effect of arsenate and fluoride on aerobic glycolysis in crucian carp muscle extract

The standard medium was the same as the Lepage's glycolytic system, except that 4.7μ moles of FDP, 3.5μ moles of sodium pyruvate, 10μ moles of sodium fluoride or/and 8μ moles of sodium arsenate and 0.90 mg extract protein per ml of incubation mixture were used without glucose. (a) for fluoride (b) for arsenate (c) for fluoride and arsenate

○ : decreased FDP; ● : increased lactate; ● : decreased pyruvate

の利用は全く変化がない。フナではやや様式を異にし、FDP では $10^{-3}M$ までは効果がないが、 $10^{-2}M$ で 10% だけ阻害される。しかし乳酸の生成には可成りの阻害効果のみせ、 $10^{-2}M$ で 60% 阻害がみられる。この系では焦性ブドウ酸の添加による強化は行われていないので、イカより考え、乳

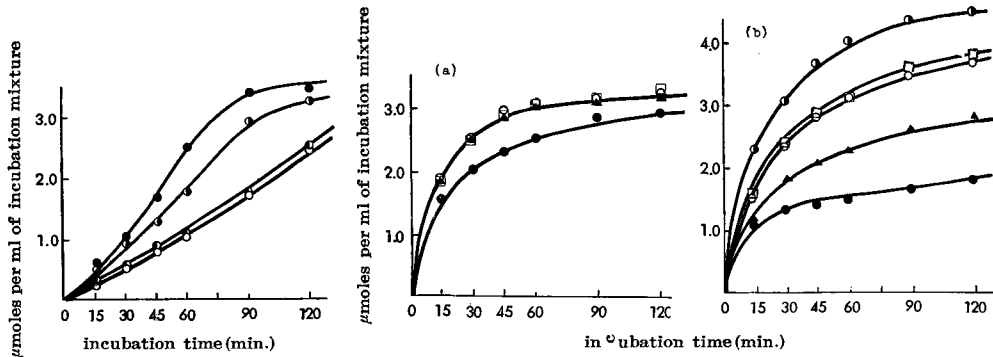


Fig. 5

Fig. 6

Fig. 5. Effect of arsenite on pyruvic acid formation in squid muscle extract

Experimental condition were the same as in Fig. 1, except that 4.9μ moles of FDP and 0.49 mg extract protein were used.

○ : no added arsenite; ● : 10^{-4} M sodium arsenite; ● : 10^{-3} M; ● : 10^{-3} M

Fig. 6. Effect of arsenite on aerobic glycolysis in crucian carp muscle extract

The standard medium was the same as the Lepage's glycolytic system, except that 3.6μ moles of FDP, 0.90 mg extract protein per ml of incubation mixture were used without glucose, pyruvate and fluoride. (a) shows amount of FDP decreased. (b) shows amount of lactate formed.

● : complete Lepage's system (but without glucose only); □ : no added arsenite; ○ : 10^{-4} M arsenite; ▲ : 10^{-3} M; ● : 10^{-2} M

酸脱水素酵素の段階で阻害されていると想像される。

考 察

好気的な呼吸系と嫌気的な解糖系の相互作用について多くの研究がなされているがその機構については多様に思われる。しかしそのどちらかの系を阻害する事により他の系の作用を円滑に進める事が可能である。この推定を基礎にして、呼吸系を阻害する試薬を用いる事により、(恐らくこれらの阻害剤によって嫌気的な条件が誘導される)解糖系への効果をしらべたが、イカ、コイ及びフナの等張抽出液の解糖系には著しい効果を与えなかった。解糖系を妨害する呼吸系の酵素が存在していないと考えられる。勿論 *endogenous* の基質の不足が考えられるが、予備実験で、コハク酸脱水素酵素活性がこの抽出条件では表われない事、酵母ヘキソキナーゼとブドウ糖と ATP の共存による ADP の供給も効果がない事、又嫌気的(脱気法)にも差がなかった事等がいっそうこの推定をつよめる。しかし後述の如く他の酸化系が存在する可能性のある証拠もある。

沃度酢酸阻害でイカがコイと違う事が興味があり、FDP の利用がコイより多い。アルドラーゼに阻害作用がないが、又 *triose phosphate dehydrogenase* が阻害されても、イカでは α -グリセロリン酸への径路で進み得る¹⁰⁾。現在トリオーズリン酸の蓄積を研究中である。ディニトロフェノールは硫酸及び亜硫酸と同様に酸化的リン酸化の阻害であるが、解糖系の ATP 形成には阻害がないと推定される。マロン酸の効果も反応初期では阻害的に作用しているが、Usuki & Okamura⁶⁾ のカキの鰓の実験で焦性ブドウ酸が半分に減じていると報告している。推定と矛盾する結果だが、反応時間を長くすると対照と一致することより、TCA サイクルの阻害でないとは推定される。又青酸はチトクローム系の阻害が主な役目で、黄色酵素系の水素移動系には余り効果がない。これにはアザイドがあるが、この効果に興味がある。それはこれらの反応系を長時間作用させると、生じた乳酸及び焦性ブドウ酸が消失する。恐らくこれらの物質が酸化されたためと思われる。

弗化物は ATP ase と *enolase* の阻害を行うが、少なくとも ATP ase 作用がこの抽出液中に考えられない。それは、イカでは ATP を加えていないし、又 ATP の効果も少しいし、ADP の効果もない事より推定される。*enolase* だけの阻害ならイカでは 3-Phosphoglyceric acid の蓄積がみられる筈であるが、阻害剤の存在下に於けるリン酸化化合物の蓄積は尚研究中である。尚前述の Usuki & Okamura⁶⁾ の実験によるとこのリン酸化化合物が蓄積されることを報告している。フナ及びコイではやや様相を異にし、唯乳酸の生成が助酵素の酸化還元速度に依存する。Balázs¹¹⁾ の呼吸系と解糖系の混在する脳懸濁液の実験で弗化物が解糖系の好気阻害を増加すると述べている。第 6 図の (b) にみられる様に、著者の実験では弗化物及び焦性ブドウ酸の存在しないときの方が乳酸の形成が低下している。コイ、フナに常にみられる現象であるが、弗化物の存在でも、焦性ブドウ酸の減少が乳酸の形成量よりも多く 1 対 1 の対応をしめさない。焦性ブドウ酸及び乳酸の酸化酵素の存在を暗示するかも知れない。

硫酸の阻害効果は *phosphoglyceryl arsenate* の硫酸加水分解とされているが、これが起ったとしても還元型の助酵素がつかられ、又これらの系で、ADP-ATP の共転関係が内生的の濃度ですみ、ADP に余り関係しないので阻害効果がみられないと考えられる。Balázs¹¹⁾ 系も硫酸に効果がなかった事が報告されている。促進の原因は硫酸の結合がリン酸より早く、又 *kinase* の回転が *arsenolysis* の速度よりも遅いためであろう。

亜硫酸の効果は硫酸の作用といくらか異なる。Crane & Lipmann⁹⁾ は反応中で硫酸が亜硫酸に還元され、ケトン酸の酸化の阻害をおこすと報告している。亜硫酸は硫酸と異なり、酸化還元によって作

用すると思われる。Gibbs & Calo¹²⁾によると、砒酸で阻害される *triose phosphate dehydrogenase* 又 *3-phosphoglyceric acid kinase* が亜砒酸で阻害されないことを認めている。しかし亜砒酸は *pyruvic acid oxidase*¹³⁾ もしくはケト酸の酸化脱炭酸酵素に敏感である。イカには前述の様にその様な酵素系の存在が推定されるから焦性ブドウ酸の消費が少なくなったために、亜砒酸又砒酸の促進効果として認められるのかも知れない。又コイの焦性ブドウ酸の減少が大きいこともこの酵素の存在を仮定すれば説明し得る。亜砒酸の効果が焦性ブドウ酸の増加をもたらすことが、バッタの飛翔筋で *in vivo* に報告されている¹⁴⁾。普通これらの酵素系はミトコンドリア区分に含まれるが、著者の反応系で確めていない。フナの場合の乳酸脱水素酵素の阻害も亜砒酸の還元によると思われる。FDP の利用の減少もアルドラーゼ酵素部分の一部の還元に戻せられる。コイ筋肉アルドラーゼがシステインによって阻害される事⁷⁾ 及び亜砒酸の阻害が *dimercaptan* によって回復される¹³⁾ ことより推定される。何れの阻害も *phosphorylation* に関係するので阻害機構解明には更に *phosphorylation* を測定せねばならない。

阻害剤は多かれ少かれ他の酵素にも影響する。複合系の特異な阻害剤の存在が少い。最近乳酸脱水素酵素に作用する特異的阻害剤 *oxamic acid* がガン細胞の解糖系に使用されているが¹⁵⁾、焦性ブドウ酸と構造が類似して拮抗阻害を行う。それで焦性ブドウ酸が存在するときは阻害機構の解明が複雑となる。今ここで使用された亜砒酸が解糖系中に於いて乳酸脱水素酵素を特異的に阻害するとすれば、この系の解明に役立つであろう。

要 約

コイ、フナ及びイカの筋肉抽出液を用いて、FDP を基質にし解糖系の最終産物の蓄積に及ぼす各種阻害剤の効果を調べた。ヨード酢酸は乳酸、焦性ブドウ酸の形成を阻害する許りでなく FDP の利用も阻害される。酸化的磷酸化の *uncoupler* のデニトロフェノール、TCA サイクルの阻害剤のマロン酸、呼吸阻害の靑酸は何れも大きな効果はなかった。弗化物を *ATP ase* の阻害剤として用いたが、焦性ブドウ酸の形成が阻害されるが、助酵素の酸化還元には関与しない。イカではコイ等よりも阻害され易い。砒酸は最終産物の蓄積をいくらか促進する。亜砒酸はイカでは砒酸と同様であるが、コイ及びフナでは乳酸の形成が阻害される。乳酸脱水素酵素の阻害と考えられる。これらの事実より抽出液中の呼吸系の酵素の存在の有無と阻害機構が考察された。

本研究に当り、終始変らぬ御指導と援助をいただいた吉村克二教授に対して深く感謝いたします。

文 献

- 1) 柴田猛・吉村克二 (1960). 日水誌 26, 294.
- 2) Van Thoai, N. & Robin, Y. (1959). *Biochem. Biophys. Acta* 35, 446.
- 3) 妻木徳一 (1959). 化学と工業 12, 605.
- 4) Lepage, G.H. (1951). in W. W. Umbreit et al, *Mannometric Techniques and Tissue Metabolism*. 143 p. Minneapolis; Burgess Publishing Co.
- 5) Baldwin, E. (1953). 江上不二夫外訳 動的生化学. 327 p. 東京; 岩波書店.
- 6) Usuki, I. & Okamura, N. (1956). *Sci. Rep. Tohoku Univ. (Biol.)* 22, 225.
- 7) 柴田 猛 (1958). 北大水産彙報 9, 218.
- 8) Laidler, K. (1954). *Introduction of the Chemistry of Enzymes*. 85 p. New York; McGraw-Hill Book Co., inc.

- 9) Crane, R.K. & Lipmann, F. (1953). *J. Biol. Chem.* 201, 235.
- 10) 吉村克二・柴田 猛 (1961). 昭和 36 年度日本水産学会秋季大会に発表.
- 11) Balázs, R. (1959). *Biochem. J.* 72, 561.
- 12) Gibbs, M. & Calo, N. (1960). *Biochem. Biophys. Acta* 44, 341.
- 13) Reiss, O.K. & Hellerman, L. (1958). *J. Biol. Chem.* 231, 557.
- 14) Kubista, V. (1958). *Biochem. Z.* 330, 315.
- 15) Papaconstantinou, J. & Colowick, S.P. (1961). *J. Biol. Chem.* 236, 278, 285.