



Title	水産動物臓器の有機リン化合物に関する研究 I : エゾアワビ肝膵臓中の酸可溶性核酸成分について
Author(s)	関, 伸夫; SEKI, Nobuo; 新井, 健一 他
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 17(4), 184-192
Issue Date	1967-03
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/23289
Type	departmental bulletin paper
File Information	17(4)_P184-192.pdf



水産動物臓器の有機リン酸化合物に関する研究 I
エゾアワビ肝膵臓中の酸可溶性核酸成分について

関 伸夫・新井健一・斎藤恒行

I. Studies on the Organic Phosphates in Viscera of Aquatic Animals

Acid-soluble nucleotides in the hepatopancreas of abalone,
(*Haliotis discus hannai*)

Nobuo SEKI*, Ken-ichi ARAI* and Tsuneyuki SAITO*

Abstract

The acid-soluble substances of the hepatopancreas of abalone have been studied by anion-exchange chromatography and found to contain adenine, adenosine, uridine, guanine, guanosine, hypoxanthine, inosine, xanthine, AMP, UMP, IMP, GMP, ADP, UDP, UDP-hexose, UDP-N-acetylhexosamine, CDP-X, GDP, ATP and nicotinic acid. Among the acid-soluble nucleotides of the hepatopancreas, the adenylic series and the uridylic series were observed at 54 percent and 37 percent respectively, while in muscle, as already shown, the uridylic series were scarcely found.

緒 言

従来より著者らの教室では、水産動物筋肉中の ATP 分解物の研究、および筋肉中の微量の酸可溶性核酸成分について検討を続けているが、水産動物内臓中の酸可溶性核酸成分に関する報告はあまりない。筋肉に比較して、その生理的機構に可成りの差が認められる内臓では、これらの成分の組成、含量に当然、大きな違いが予想される。また、その結果によって、臓器機能の特異性との関係を明らかにすることが出来る。また、動物の種の違いによる酸可溶性成分の分布、含量等の比較を行うことによって、比較生化学的な立場からも、興味ある結果が期待される。今回は、エゾアワビ肝膵臓中の酸可溶性核酸成分について検討したので、報告する。

実 験 方 法

試料として用いたエゾアワビ (*Haliotis discus hannai*) の肝膵臓 50 g は生存状態にあるアワビより採取し、直ちに2倍量の冷 0.6 N-HClO₄ で抽出した。抽出液を遠心分離後、残渣を等量の 0.6 N-HClO₄ で再抽出した後、上澄液を合せ、これをエーテルで振って、エーテル可溶物を除去した。エーテルを、ロータリーエバポレーターで除いたのち、6 N-KOH で中和、生成した KClO₄ を遠心分離で除去。これをそのままイオン交換クロマトグラフィーに供しても良好な溶出ピークが得られないので、HCl で酸性として、活性炭処理を行なった。試料を 2 cm×10 cm の活性炭カラムに吸着させ、0.01 M-EDTA で洗淨、水洗した。活性炭をアンモニア性エタノール溶液 (95% エタノール:濃アン

* 北海道大学水産学部水産化学教室

モニア水:水, 50:2:48) で処理し, 溶出液を 30°C 以下で濃縮し, Dowex 1×8 ギ酸型カラムに吸着させた。カラムからの溶出は Stepwise elution system により, 溶媒には, ギ酸-ギ酸ソーダを使用した。

50 g の試料を用いたのでは, 微量成分の検出, その他十分な検討が行なえなかつたので, 別に 500 g の肝臓を用い細部にわたる検討に当てた。抽出法は, 50 g 試料の場合と同様の方法で行なつたが, 中和後, 酢酸バリウムを加え, バリウムで沈澱する部分と沈澱しない部分に分け, それぞれをアニオン交換クロマトグラフィーに供した。

樹脂からの溶出液はフラクションコレクターで分取し, 各フラクションはその紫外線吸収極大波長での吸光度を島津製 QR 50 型光電分光光度計で測定した。紫外線吸収スペクトルは, 島津自記紫外分光光度計を用いて測定し, 塩基成分の推定を行ない, また臭素化によるスペクトルの変化¹⁾も塩基の推定手段とした。

総リン酸は Fiske & Subbarow 法²⁾に準じて分解し, 中島らの方法³⁾で発色, 定量した。リボースは, オルシノール法⁴⁾により定量した。ピリミジンヌクレオチドの場合は臭素で分解⁵⁾した後, オルシノール反応を行なつた。

ペーパークロマトグラフィーは 2*N*-酢酸で洗浄した東洋濾紙 No. 3 を用いた。溶媒は次に示す通りである。なおヌクレオチドの検出には主として (1)-(4), 上昇法により, ヌクレオチドには (5)-(7), 下降法を使用し, それぞれ室温で標準物質とともに展開し, 展開後スポットの位置は紫外線ランプ (東芝 F1-3S 型) により検出した。

- (1) 水 (pH 10)
- (2) イソプロパノール-飽和硫酸-水 (2:79:19)
- (3) イソアミルアルコール-5% Na₂HPO₄
- (4) メタノール-濃塩酸-水 (7:2:1)
- (5) メタノール-水-濃アンモニア水 (6:3:1)
- (6) エタノール-M-酢酸アンモニウム緩衝液 (pH 3.8)
- (7) エタノール-M-酢酸アンモニウム緩衝液 (pH 7.5)

糖のペーパークロマトグラフィーには次の溶媒を用い, アニリンヒドロジンフタレート⁶⁾を噴霧して, スポットを検出した。

- (8) *n*-ブタノール-エタノール-水 (4:1:1)
- (9) 酢酸エチル-ピリジン-水 (2:1:2)
- (10) *n*-ブタノール-ピリジン-水 (6:4:3)

標準試薬は次のものを用いた。

5'-CMP, 5'-GMP, 5'-UMP は武田薬品工業株式会社; アデニン, ヒポキサンチン, イノシン, 5'-AMP, ニコチン酸は和光純薬工業株式会社; 5'-IMP は味の素; グアノシン, ウリジン, *N*-アセチルグルコサミンは東京化成工業株式会社; *D*-ガラクトサミンは生化学工業; キサンチン, 3'-CMP は Nutritional Biochemicals Corporation; アデノシン, グアニン塩酸塩は Zellstoffabrik Waldhof; 5'-UDP は C. F. Boehringer & Soehne GmbH, Mannheim; UDP-グルコース, UDP-*N*-アセチルグルコサミン, 5'-ATP は Sigma Chemical Company.

実験結果

エゾアワビ肝臓抽出液からイオン交換クロマトグラフィーで得られた溶出図を Fig. 1 に示した。

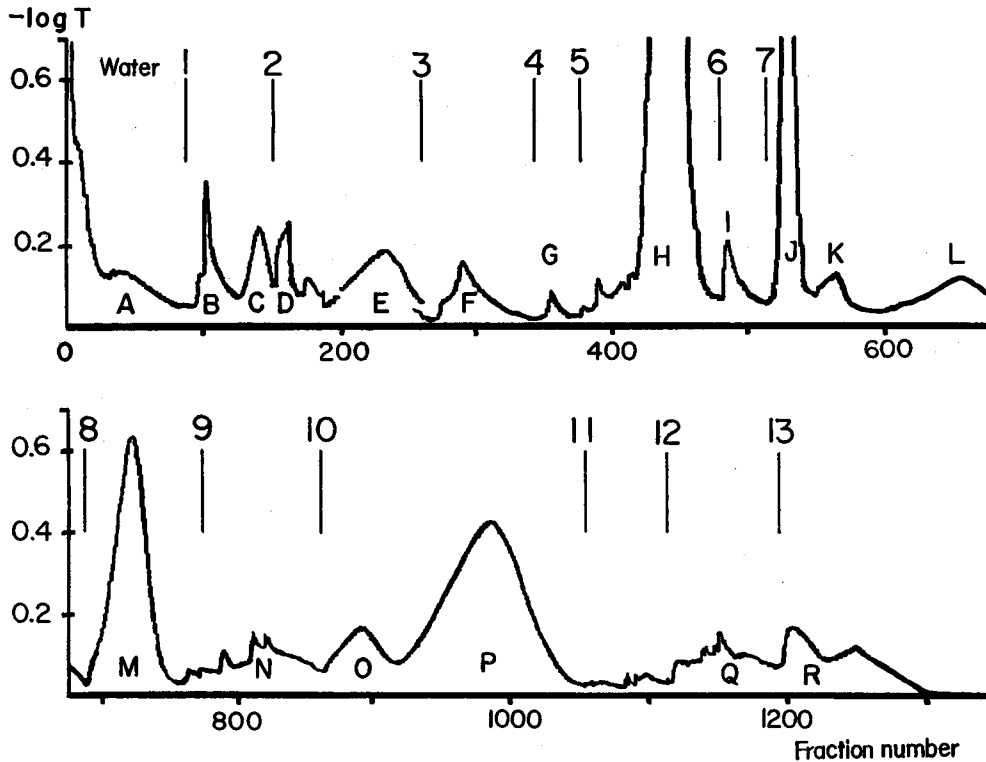


Fig. 1. Ion-exchange chromatography of the acid-soluble fraction of the hepatopancreas of abalone

The extract, equivalent to 50 g of hepatopancreas, was separated on a Dowex 1×8 (formate) column (ϕ 1.2 cm×30 cm) by stepwise elution. Fraction size was 10 ml. Eluting solutions: ① 0.005 N-formic acid (FA), ② 0.01 N-FA, ③ 0.02 N-FA, ④ 0.05 N-FA, ⑤ 0.1 N-FA, ⑥ 0.1 N-FA+0.05 M-Sodium formate (SF), ⑦ 0.1 N-FA+0.1 M-SF, ⑧ 0.1 N-FA+0.2 M-SF, ⑨ 0.1 N-FA+0.3 M-SF, ⑩ 0.1 N-FA+0.4 M-SF, ⑪ 0.1 N-FA+0.5 M-SF, ⑫ 0.1 N-FA+0.7 M-SF, ⑬ 0.1 N-FA+1.0 M-SF

ピーク A, B, C に認められたヌクレオシドおよび塩基の紫外線吸収スペクトル, リボース定量値, およびペーパークロマトグラフィーの結果を Table 1 に総括した。

Peak A

このピークはアニオン交換樹脂に吸着されなかった画分, および水洗により溶出した画分である。紫外線吸収物質の大部分は核酸成分ではないが, ペーパークロマトグラフィーでアデノシンと推定されるスポットを得た。

Peak B

このピークからはペーパークロマトグラフィー (溶媒 (1)) で4個のスポットが検出され, それぞれ Rf 値の大きい方から B-a, B-b, B-c, B-d とする。B-c および B-d は別の溶媒でペーパークロマトグラフィーを行なうと, それぞれ2個ずつのスポットが得られるので, このピークには少なくとも

Table 1. Analytical data concerning Nucleosides and Bases isolated from hepatopancreas of abalone

Peak	λ max (m μ)		PC* Rf values						Ribose per mole base	Nucleosides and Bases identified	
	pH 2	pH 11	Solv. 1	2	3	4	11	12			
A	258	260	0.44	0.24	0.57	0.57				0.92	adenosine
B-a	263	263	0.82		0.82	0.79				0.90	uridine
B-b	250	254	0.77	0.54	0.69					0.92	inosine
B-c	250	259	0.64	0.40					0.34	—	hypoxanthine
	253		0.66	0.41	0.60				0.16	1.01	guanosine
B-d	248		0.37	0.25			0.24			—	guanine
	262	268	0.37	0.32	0.42	0.49	0.40			—	adenine
C-a	267	242	0.53	0.24						—	xanthine
		275									

* PC: Paper chromatography used Toyo Roshi filter paper No. 3.

Solvent systems;

1. H₂O (pH 10)
2. iso-propyl alcohol-sat. (NH₄)₂SO₄-H₂O (2:79:19)
3. iso-amyl alcohol-5% Na₂HPO₄
4. methyl alcohol-conc. HCl-H₂O (7:2:1)
11. iso-propyl alcohol-N HCl (8:2)
12. n-butanol-formic acid-H₂O (77:10:3)

も6種の物質が混在している。これらは Table 1 の分析結果よりウリジン, イノシン, グアノシン, ヒポキサンチン, グアニン, アデニンである。主成分はイノシンであるが, 量的な分析は行なえなかった。

Peak C

このピークの再クロマトグラフィーを行なうと, 2成分以上が混在するが相互の分離は悪い。ペーパークロマトグラフィーで3つのスポットを得る。このうち1つは前のピークより由来したと考えられるイノシンである。このピークの主成分 (C-a) は Table 1 の分析結果からキサンチンである。

残りの1つは (C-b) 紫外線吸収スペクトルが pH 2 で λ max. 230 m μ , λ min. 242 m μ にあり, 臭素化によりピークは消失する。リポースは臭素分解により始めて発色する。これらから, このものの塩基はシトシンと推定される。総リン酸は塩基1モルに対して1.65モルであった。このものの酸

Table 2. Paper chromatography of the nucleotide obtained by acid hydrolysis of C-b

Substance	Rf values	
	Solvent 6	7
C-b	0.38	0.28
Hydrolysate of C-b	0.22	0.35
5'-CMP	0.22	0.35
3'-CMP	0.27	0.43

6. ethanol-M-ammonium acetate buffer pH 3.8 (75:30)
7. ethanol-M-ammonium acetate buffer pH 7.5 (75:30)

分解物 ($N-HCl$, $100^{\circ}C$, 40 分間) からはペーパークロマトグラフィーにより 5'-CMP に相当するスポットを得た (Table 2)。CDP はこの溶出位置には出ない。以上から C-b は CDP-X と推定されるが、X については検討中である。

Peak D

このピークの紫外線吸収スペクトルは短波長程吸光値が高く、 $220\sim 300 m\mu$ の間にピークはない。ペーパークロマトグラフィーで紫外線吸収スポットは検出出来なかったため、このものは不純物によるものと考えられる。

Peak E および Peak G

ピーク E は pH 2 で紫外線の極大吸収値が $330 m\mu$ に、ピーク G は $310 m\mu$ にある。いずれも核酸成分とは異なる様である。辻野ら⁹⁾ によって報告されている紅藻の特殊成分と、スペクトル的には似ており、アワビ筋肉中にも発見されていることから同一物である可能性も考えられるが、詳細については未検討であり、本体は不明である。

Peak F

このピークは、4 種類の溶媒を用いたペーパークロマトグラフィーで単一のスポットを得る。リン酸、リボースともに検出されない。 $0.01 N-HCl$ 溶液中で吸収極大が $261.5 m\mu$ にあり、臭素化によりスペクトルは変化しない。アルカリ性溶液中では、 $257.5 m\mu$, $263.5 m\mu$, $270 m\mu$ に 3 つのピークを示す。この紫外線吸収スペクトルは標準のニコチン酸から得られるスペクトル⁷⁾ と全く同じであり、ニコチンアミドのそれとは異なる。溶媒 (6), (7), n -ブタノール-アセトン-水 (45:5:50), 80% アセトン⁸⁾ でペーパークロマトグラフィーを行なうと、それぞれ R_f 0.79, 0.74, 0.32, 0.58 を示し、いずれも標準のニコチン酸に一致する。以上から、このピークはニコチン酸と同定した。

Peak H

紫外線吸収スペクトルは pH 2 で吸収極大は $258 m\mu$ にあり、pH 11 で $260 m\mu$ にある。臭素化によって、ピークは消失しない。これからアデノシン系ヌクレオチドと考えられ、塩基-総リン酸のモル比は、1:0.92 である。溶媒 (6), (7) を用いたペーパークロマトグラフィーによって、 R_f 0.32, 0.17 を示し、標準の AMP に一致する。このピークは AMP である。

Peak I

紫外線の吸収スペクトルは $0.01 N-HCl$ 溶液中で吸収極大が $258 m\mu$ にある。アルカリ性溶液中では $240 m\mu$ に移ることからこのものは核酸成分ではないと考えられる。溶媒 (6), (7) でペーパークロマトグラフィーを行なうと R adenosine は、それぞれ 0.84, 0.59 を示す。リン酸、リボースともに検出されず、本体は不明である。

Peak J

吸収スペクトルは pH 2 および pH 11 で $262 m\mu$ に吸収極大をもち、臭素化によりこのピークは消失する。これからこのものはウリジン系ヌクレオチドと考えられる。塩基、総リン酸、リボースのモル比は、1:0.95:1.06 である。溶媒 (5), (6), (7) でペーパークロマトグラフィーを行なうと、それぞれ R_f 0.42, 0.48, 0.27 を示し、いずれも標準の UMP に一致する。

Peak K

このピークは紫外線吸収スペクトル、臭素化によるスペクトルの変化 (ピークは臭素化により消失) からウリジン系ヌクレオチドで、塩基、総リン酸、リボースのモル比は 1:0.98:1.05 である。溶媒 (6), (7) を用いて、ペーパークロマトグラフィーを行なうと標準の UMP に一致する。5' ヌクレオチダーゼで処理すると、塩基 1 モル当り、1 モルのリン酸を放つ。以上からこのピークは前のピーク (ピーク J) と同一のものと思われるが、これ以上の検討は試料が少なく行なえなかった。500 g 試料

からは、このピークに相当するものは得られなかった。

Peak L

紫外線吸収スペクトルをみると、極大吸収は pH 2 で 249 m μ にあり、臭素化によってもスペクトルに変化はなく、pH 11 で吸収の極大は 253 m μ に移る。これからイノシン系ヌクレオチドと推定される。このものを *N*-HCl 中で、100°C、1 時間加水分解した後、加水分解物を溶媒 (1), (2) を用いて、ペーパークロマトグラフィーを行うと *R_f* がそれぞれ 0.63, 0.38 を示し、いずれも標準のヒポキサンチンに一致する。以上から塩基はヒポキサンチンである。塩基、総リン酸、リボースのモル比は 1:0.99:0.94 である。このものを溶媒 (5), (6), (7) で展開すると、*R_f* 0.32, 0.37, 0.12 をそれぞれ示し、いずれも標準の IMP に一致する。以上から、このものは IMP である。

Peak M

このピークは 500 g 試料では、バリウムで沈澱しない部分から得られ、再クロマトグラフィーで 2 つのピークを得る。これらを M-a, M-b のピークとする。50 g の試料からは M-b のピークは得られなかった。

M-a: 紫外線吸収スペクトルは、ピーク J と同じスペクトルを示し、臭素化によりピークは消失

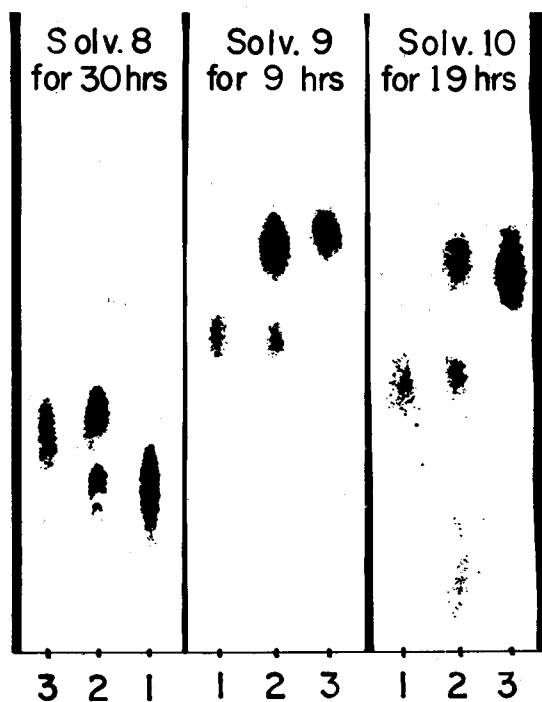


Fig. 2. Paper chromatograms of acid hydrolysates of *M*-a fraction: Sample was heated at 100° in 0.01 *N*-HCl for 15 minutes. Descending chromatography was carried out on borate buffered Toyo Roshi filter paper No. 50 at room temperature.
 1: Authentic *N*-acetylgalactosamine
 2: Hydrolysates of *M*-a
 3: Authentic *N*-acetylglucosamine

する。ウラシル，総リン酸，リボースのモル比は1:1.90:0.98である。ペーパークロマトグラフィーを行なうと，UDPには一致せず，標準のUDP-*N*-acetylglucosamineに一致する。*R_f*は溶媒(6)，(7)で，それぞれ0.33，0.37である。このものを0.01*N*-HCl中で100°，15分間分解した後，活性炭処理を行ないヌクレオチドと糖の部分に分別した。ヌクレオチドはアンモニア性アルコールで，活性炭より溶出，濃縮後，溶媒(6)，(7)でペーパークロマトグラフィーを行なったところ，標準のUDPと少量のUMPに相当する2個のスポットを検出した。

活性炭に吸着されなかった糖の部分は，ホウ酸処理⁹⁾をした東洋濾紙 No. 50 を用いて溶媒(8)，(9)，(10)でペーパークロマトグラフィーを行ない，標準の*N*-アセチルグルコサミンおよび*N*-アセチルガラクトサミンに一致する2個のスポットを得た(Fig. 2)。また糖部分を2*N*-HCl，100°，3時間で脱アセチル化した後，濾紙につけニンヒドリン酸化を行ない¹⁰⁾，そのまま前記溶媒で展開すると標準のグルコサミンおよびガラクトサミンのニンヒドリン酸化物に一致する2個のスポットを検出した。以上からM-aはUDP-*N*-acetylglucosamineと，UDP-*N*-acetylgalactosamineとの混合物と考えられる。

M-b: このものの紫外線吸収スペクトルは典型的なウリジン系ヌクレオチドである。塩基と総リン酸のモル比は1:1.80である。ペーパークロマトグラフィーを溶媒(6)，(7)を用いて行なうと，それぞれ*R_f* 0.24，0.26を示し，いずれも標準のUDP-glucoseに一致するスポットをうる。これ以上の検討は試料が少なく行なえなかったが溶出位置から考えても，UDP-hexoseと推定される。

Peak N

このフラクションは単一のピークではない様に思われるが，再クロマトグラフィーで得られた主成分についてのみ検討出来，他のピークは微量で検討出来なかった。この紫外線吸収スペクトルは，0.01*N*-HCl溶液中で吸収極大が256 m μ ，極小が229 m μ にあり，270 m μ ~280 m μ に肩を持つ。臭素化によりピークは消失する。これからこのものはグアノシン系ヌクレオチドと推定され，グアニン，総リン酸，リボースのモル比は1:0.91:1.08である。ペーパークロマトグラフィーでは溶媒(5)，(6)，(7)で，それぞれ*R_f*が，0.24，0.34，0.13を示し，いずれも標準のGMPに一致する。以上からこのフラクションの主成分はGMPである。

Peak O

吸収スペクトルは，酸性およびアルカリ性溶液中で典型的なウリジンヌクレオチド型のスペクトルを示し，臭素化によってピークは消失する。ウラシル-総リン酸-リボースのモル比は1:1.84:0.92である。これからこのヌクレオチドはUDPと推定される。標準のUDPとともに溶媒(5)，(6)，(7)でペーパークロマトグラフィーを行なうと，*R_f*はそれぞれ0.31，0.27，0.19を示し，いずれも標準のUDPに一致する。以上からこのピークはUDPである。

Peak P

このピークの紫外線吸収スペクトルは，ピークH(AMP)と全く同じアデノシンヌクレオチド型のスペクトルを示す。臭素化によってもピークは消失しない。塩基-総リン酸-リボースのモル比は1:2.05:0.97である。溶媒(5)，(6)，(7)を用いて，ペーパークロマトグラフィーを行なうと，それぞれ*R_f*; 0.21，0.14，0.04を示し，いずれも標準のADPに一致する。以上からこのピークはADPと同定した。

Peak Q および Peak R

これら2つの画分は相互の分離が悪く，合せて再クロマトグラフィーを行なうと3つのピークが得られる。最初のピークは紫外線吸収スペクトル，リン酸，リボースの定量からADPと考えられる。次のピークは，酸性およびアルカリ性溶液中で典型的なグアノシンヌクレオチド型のスペクトルを示

し、臭素化によりピークは消失する。グアニン-総リン酸のモル比は1:1.80であり、このものはGDPと推定される。

最後のピークは溶離液⑩で溶出された。紫外線吸収スペクトルは、アデノシン系スペクトルを示し、アデニン-総リン酸-リボースのモル比は1:2.82:1.11である。以上から、このピークはATPと考えられる。

考 察

エゾアワビ肝膵臓から、塩基、ヌクレオシドとして、アデニン、グアニン、キサンチン、ヒポキサンチン、アデノシン、グアノシン、ウリジン、イノシンが認められた。これらの化合物は、アニオン交換樹脂(ギ酸型)では相互の分離がうまくゆかない。また、ピークA、ピークBの画分は、かなり強く着色しており、この色はフェノール、あるいはエーテルで除去出来なかった。このため塩基、ヌクレオシドの定量は行えなかった。この塩基、ヌクレオシド画分は試料50gの分析によれば、260 μ mでの全紫外線吸収値のおよそ5%にすぎない。Horstmann¹¹⁾が無脊椎動物のカタツムリ(*Helix pomatia* L.)の内臓で行なった分析では、イオン交換体(Dowex 2, ギ酸型)に吸着されない画分と、水で溶出される画分から少量のアデノシン、ヒポキサンチンおよびキサンチンを認めている。アワビ肝膵臓から過塩素酸抽出法によって見出されるホマリ¹²⁾は、本実験では活性炭処理の段階で水洗により除去された。

ヌクレオチドとしては、CDP-X, AMP, UMP, IMP, GMP, UDP-N-acetylhexosamine, UDP-hexose, UDP, ADP, GDP, ATPを認めた。またこれらの含量を分子吸光係数¹³⁾を用いて概算した(Table 3)。

Table 3. Nucleotide contents of the hepatopancreas of abalone

Nucleotide	Content (μ moles/g., wet weight)
AMP	0.57
ADP	0.52
ATP	0.10
UMP	0.32
UDP	0.13
UDP-N-acetylhexosamine	0.37
IMP	0.10

西田ら¹⁴⁾が行なったエゾアワビ筋肉とここで用いた肝膵臓50gの試料とは同一個体より採取したものである。この両者を比較すると、筋肉からは、塩基とヌクレオシドは全く検出されていない。ヌクレオチド含量は筋肉ではアデノシンヌクレオチドが全ヌクレオチドの90%以上であり、ATPは68%を占めている。これに反し、肝膵臓では高エネルギー成分は微量である。アデノシンヌクレオチドとウリジンヌクレオチドが全ヌクレオチドに占める割合は、それぞれ、54%, 37%であり、筋肉に比較して、ウリジンヌクレオチドの比率が高くなっている。ウリジンヌクレオチドの中ではUDP-sugarが可成りの量を占めている。肝膵臓で得られた酸可溶性成分のパターンは、明らかに筋肉に比べて、物質代謝型を示している様に思われる。カタツムリ内臓ではアデニンヌクレオチドは全ヌクレオチドの50%以下が普通である¹¹⁾。

ヌクレオチドの中でIMPは少量が肝膵臓に認められたが、筋肉には検出されていない。これはエ

ゾアワビ筋肉に AMP deaminase が欠損している^{15,16)}ことによるところが大きいと考えられる。肝臓中の IMP が AMP の脱アミノによって生成したものであるかどうかは不明である。

UDP-sugar については、UDP-hexose のピークに相当するものは 50 g の試料からは認められなかった。UDP-N-acetylhexosamine, 恐らく、UDP-N-acetylglucosamine と UDP-N-acetylgalactosamine の混合物と推定されるが、この含量は Lunt ら¹⁷⁾がエビ (*Homarus vulgaris*) の肝臓から得た値、0.15~0.75 $\mu\text{mole/g}$, wet weight の範囲にあり、全ヌクレオチドのおよそ 16% を占める。なおカタツムリの UDP-sugar の割合も 10~16% を占めている¹¹⁾。

要 約

エゾアワビ肝臓中の酸可溶成分をイオン交換クロマトグラフィー等により分析し、アデニン、アデノシン、ウリジン、グアニン、グアノシン、イノシン、ヒポキサンチン、キサンチン、AMP, UMP, IMP, GMP, ADP, UDP, UDP-hexose, UDP-N-acetylhexosamine, CDP-X, GDP, ATP, ニコチン酸を認め、ヌクレオチド含量を求めた。

文 献

- 1) Suzuki, T. & Ito, E. (1958). J. Biochem. **45**, 403.
- 2) Fiske, C. H. & Subbarow, Y. (1925). J. Biol. Chem. **66**, 375.
- 3) 中島宣郎・市川恒平・吉村育子・栗山千枝子・鎌田政喜・藤田栄一郎 (1963). 農化誌 **37**, 558.
- 4) Ashwell, G. (1957). Methods in Enzymology, vol. 3, 87.
- 5) Cohn, W. E. (1956). Biochem. J. **64**, 28 p.
- 6) 辻野 勇・斎藤恒行 (1961). 北大水産集報 **12**, 49.
- 7) Green, R. W. & Tong, H. K. (1956). J. Am. Chem. Soc., **78**, 4896.
- 8) Kodicek, E. & Peddi, K. K. (1951). Nature **168**, 475.
- 9) Cabib, E., Leloir, L. F. & Cardini, C. E. (1953). J. Biol. Chem. **203**, 1055.
- 10) 阿武喜美子・瀬野信子 (1965). 実験化学講座 23, 生物化学 1, p. 388, 丸善株式会社.
- 11) Horstmann, H. J. (1965). Biochem. Z. **342**, 23.
- 12) 西田清義・新井健一・斎藤恒行 (1965). 北大水産集報 **16**, 114.
- 13) Cohn, W. E. (1957). Methods in Enzymology, vol. 3, 740.
- 14) 西田清義・新井健一・斎藤恒行 (1966). 北大水産集報, 投稿中.
- 15) 新井健一 (1961). 同誌 **11**, 225.
- 16) ——— (1966). 日水誌 **32**, 174.
- 17) Lunt, M. R. & Kent, P. W. (1961). Biochem. J. **78**, 128.