

## 磷酸モノエステラーゼの構造

千葉大学医化学教室 (主任 赤松 茂教授)

麻 生 芳 郎

YOSHIRO ASO

水解酵素の補酵素の研究は、酸化還元酵素に於けると異り、殆ど未開拓に等しい状態にあつたが、小林<sup>(1)</sup>は、磷酸モノエステラーゼ III (アルカリ性フォスファターゼ) の補酵素の化学的検索の結果、之がヒスチジンであることを推定し、次いで諸種アミノ酸に補酵素作用はあるが、実験によつて、ヒスチジンが他種アミノ酸に比べ、遙かに強力な補酵素作用を呈することを明らかにした。

本報告は、ホロ酵素生成に於けるアポ酵素、補酵素及び  $Mg^{++}$  の質量相関関係を追求し、同酵素構造を解析したものである。

実験は総て、微量の酵素作用の測定に極めて適するパラ・ニトロフェノール磷酸ソーダを基質として行われた。

### 実 験

基質 パラ・ニトロフェノール磷酸ソーダ<sup>(2)</sup>。

アポ酵素<sup>(3)</sup> Albers' 腎酵素粉末液 (10 mg %) 50 ml を 1% borax 液 2 l に、次いで 2% bicarbonate 液 2 l に各 1 日間透析したもの。無色透明、恒温に於て耐久性。毎試験時、蒸流水を以て、10 倍に稀釈して用いる。

### 実 験 方 法

酵素試験 稀釈アポ酵素液 1 ml,  $M/10$  Veronal-塩酸緩衝液 (pH=9) 2 ml, アミノ酸溶液 1 ml,  $M/20$   $MgCl_2$  液 1 ml, 蒸溜水 4 ml, 計 8 ml の混液を  $37^\circ$ , 60 分放置後,  $M/400$  パラニトロフェノール磷酸ソーダ溶液 2 ml を添加, 総量 10 ml とする (基質終濃度  $M/2000$ )。実験温度  $37^\circ$ 。

水解度の測定 酵素液は極めて稀釈されている故、検液は除蛋白せず、これに直ちに等量の飽和炭酸ソーダを加えて、酵素反応を中絶し、アルカリ性反応で呈色する遊離パラニトロフェノールの黄色を光度計法によつて測定する (Filter:  $S_{43}$ )。実測される吸光係数 (E) と水解度との間には、次の関係がある。 水解度 % =  $E/2 \times 100$

E は、30 分、60 分、120 分後に測定した。60 分迄は、E は直線的に増加する。

\*  $Mg^{++}$  非添加またアミノ酸非添加実験では、夫々相当量の蒸溜水を追加する。

### 成 績

#### ホロ酵素の生成

10 倍稀釈アポ酵素液は、 $Mg^{++}$  及びアミノ酸の添加なしでは、60 分以内で、パラニトロフェノールの遊離は認められない。しかし、アポ酵素に  $5 \times 10^{-3} M$   $Mg^{++}$  のみを添加するときは、残余補酵素に基づくと思われる水解が認められるが、この値は活性化最大値の約 10% に相当する ( $Mg^{++}$  添加時試験の対照として実測値より差引く)。

アポ酵素に、 $5 \times 10^{-3} M$   $Mg^{++}$  の存在の下で、ヒスチジン、ヒスタミン或は諸種アミノ酸を後述のように至適濃度に添加するときは、ホロ酵素生成は最大に達する。その時の活性度はアポ酵素原液の調整時により多小の相違はあるが、同一の稀釈アポ酵素液では、ホロ酵素最大生成時の基質水解度は何れも相等しい (第 1 表)。

#### ヒスチジン、ヒスタミン及び諸種アミノ酸の補酵素能

$M/200$   $Mg^{++}$  存在の下で、ヒスチジン、ヒスタミン及び諸種アミノ酸の諸濃度とホロ酵素成生率との関係を検べた。吸光係数 E は、0 分、30 分、60 分に測定したが、直線的に上昇するから、第 2 表には 60 分値のみを記載した。また、此の成績は、pA-Activity 曲線として第 I, II 図に示されている。此の曲線の経過は何れも、濃度上昇に従う上昇部、最大平坦部及び下降部から成り、広い pA 範囲に亘る

第1表 アポ酵素の賦活

| 時間<br>(分) | Mg <sup>++</sup> (5 × 10 <sup>-4</sup> M/l) 添加 |                                     |                                            |         | Mg <sup>++</sup> 非添加                |                                     |                                            |         |                            |
|-----------|------------------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------------|---------|-------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------------|---------|----------------------------|
|           | 5 × 10 <sup>-4</sup> M<br>histidine            | 1 × 10 <sup>-3</sup> M<br>histamine | 1 × 10 <sup>-2</sup> M<br>aspartic<br>acid | Control | 5 × 10 <sup>-4</sup> M<br>histidine | 1 × 10 <sup>-3</sup> M<br>histamine | 1 × 10 <sup>-2</sup> M<br>aspartic<br>acid | Control | Control<br>(5 倍濃原<br>酵素使用) |
| 30        | 0.17                                           | 0.17                                | 0.17                                       | 0.02    | 0.08                                | 0.08                                | 0.08                                       | 0.00    | 0.01                       |
| 60        | 0.34                                           | 0.34                                | 0.34                                       | 0.04    | 0.16                                | 0.16                                | 0.16                                       | 0.00    | 0.02                       |
| 120       | 0.62                                           | 0.61                                | 0.61                                       | 0.08    | 0.30                                | 0.30                                | 0.30                                       | 0.01    | 0.05                       |

表中の数値は“E”である。

第2表 アミノ酸濃度とアポ酵素活性 (5 × 10<sup>-3</sup> M Mg<sup>++</sup> 添加)

| 濃度 (M/l)<br>アミノ酸                                                                                                                         | 対 照            | 1/25           | 1/50           | 1/100          | 1/250          | 1/500          | 1/1000         | 1/2000         | 1/4000         | 1/8000         | 1/16000         |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|
| tyrosine                                                                                                                                 | 0.28<br>(1.00) |                |                |                | 0.22<br>(0.79) | 0.28<br>(1.00) | 0.28<br>(1.00) | 0.24<br>(0.86) | 0.16<br>(0.57) | 0.08<br>(0.28) | 0.05<br>(0.17)  |
| leucine                                                                                                                                  | 0.27<br>(1.00) | 0.16<br>(0.60) | 0.23<br>(0.81) | 0.26<br>(0.96) | 0.27<br>(1.00) | 0.27<br>(1.00) | 0.24<br>(0.88) | 0.16<br>(0.58) | 0.07<br>(0.28) | 0.04<br>(0.14) | 0.01<br>(0.04)  |
| arginine                                                                                                                                 | 0.29<br>(1.00) | 0.16<br>(0.55) | 0.22<br>(0.77) | 0.27<br>(0.93) | 0.29<br>(1.00) | 0.29<br>(1.00) | 0.27<br>(0.93) | 0.23<br>(0.79) | 0.15<br>(0.51) | 0.08<br>(0.28) | 0.04<br>(0.14)  |
| alanine                                                                                                                                  | 0.32<br>(1.00) | 0.32<br>(1.00) | 0.32<br>(1.00) | 0.32<br>(1.00) | 0.32<br>(1.00) | 0.28<br>(0.88) | 0.20<br>(0.63) | 0.10<br>(0.31) | 0.04<br>(0.12) | 0.02<br>(0.06) |                 |
| aspartic acid                                                                                                                            | 0.32<br>(1.00) | 0.26<br>(0.81) | 0.30<br>(0.93) | 0.32<br>(1.00) | 0.32<br>(1.00) | 0.32<br>(1.00) | 0.32<br>(1.00) | 0.25<br>(0.77) | 0.16<br>(0.50) | 0.08<br>(0.25) | 0.03<br>(0.10)  |
| histamine                                                                                                                                | 0.30<br>(1.00) | 0.02<br>(0.06) | 0.04<br>(0.13) | 0.12<br>(0.40) | 0.20<br>(0.67) | 0.26<br>(0.87) | 0.30<br>(1.00) | 0.30<br>(1.00) | 0.28<br>(0.94) | 0.25<br>(0.84) | 0.18*<br>(0.60) |
| histidine                                                                                                                                |                | 0.08<br>(0.24) | 0.14<br>(0.42) | 0.26<br>(0.77) | 0.32<br>(0.94) | 0.34<br>(1.00) | 0.34<br>(1.00) | 0.34<br>(1.00) | 0.34<br>(1.00) | 0.34<br>(1.00) | 0.34*<br>(1.00) |
| * 1/32000 1/64000                                                                                                                        |                |                |                |                |                |                |                |                |                |                |                 |
| * 1/20000 1/24000 1/28000 1/32000 1/40000 1/48000 1/56000 1/64000 1/128000                                                               |                |                |                |                |                |                |                |                |                |                |                 |
| * 0.10 0.04 0.32 0.29 0.27 0.24 0.20 0.15 0.10 0.06 0.02<br>(0.30) (0.13) (0.94) (0.86) (0.80) (0.70) (0.59) (0.45) (0.29) (0.17) (0.06) |                |                |                |                |                |                |                |                |                |                |                 |

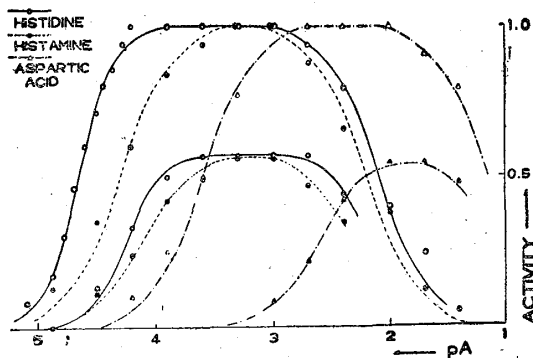
表中の数値は 60 分値“E”で、( ) 内は活性度である。

対照は、5 × 10<sup>-4</sup> M histidine 及び 5 × 10<sup>-3</sup> M Mg<sup>++</sup> により 100% 活性

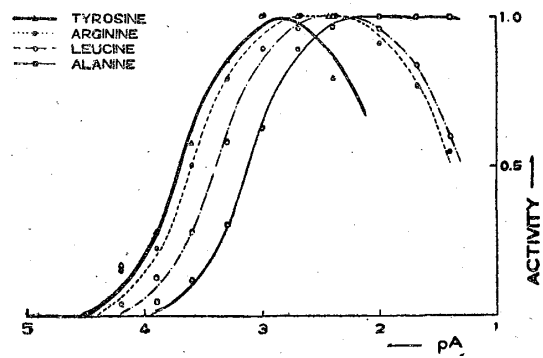
化したものの値である。実験時日、酵素調整時により多小動揺するが、

同時実験では厳密に一致することは第1表に見られる通りである。

第 I 図



第 II 図



横軸の pA は添加アミノ酸濃度の逆数の対数を表す。

第3表 アミノ酸濃度とアポ酵素活性

| 濃度<br>アミノ酸    | 対 照            | 1<br>25        | 1<br>50        | 1<br>100       | 1<br>250       | 1<br>500       | 1<br>1000      | 1<br>2000      | 1<br>4000      | 1<br>8000      | 1<br>16000     | 1<br>32000     |
|---------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| aspartic acid | 0.33<br>(1.00) | 0.14<br>(0.48) | 0.18<br>(0.54) | 0.18<br>(0.54) | 0.14<br>(0.43) | 0.07<br>(0.22) | 0.03<br>(0.09) |                |                |                |                |                |
| histamine     | 0.31<br>(1.00) |                |                |                | 0.10<br>(0.32) | 0.14<br>(0.45) | 0.17<br>(0.55) | 0.17<br>(0.55) | 0.15<br>(0.49) | 0.12<br>(0.39) | 0.07<br>(0.23) | 0.03<br>(0.10) |
| histidine     | 0.32<br>(1.00) |                |                |                | 0.14<br>(0.44) | 0.18<br>(0.56) | 0.18<br>(0.56) | 0.18<br>(0.56) | 0.18<br>(0.56) | 0.16<br>(0.51) | 0.10<br>(0.31) | 0.04<br>(0.13) |

表中の数値は、60 分値 “E” で、( ) 内は活性度である。対照は  $5 \times 10^{-4}$  M histidine 及び  $5 \times 10^{-3}$  M  $Mg^{++}$  で 100% 活性化した値である。

ベル型曲線となつている。此處で注目すべきは、上昇部がヒスタミン及び一般アミノ酸では 2 次 S 型曲線であるに対し、ヒスチジンに於いてのみは 3 次 S 型曲線であることである。下降部は総て 2 次 S 型である。

アミノ酸による賦活は  $Mg^{++}$  非添加の場合に於ても行われ、その場合のホロ酵素生成は  $Mg^{++}$  添加時の 50~60% に相当する。これは  $Mg^{++}$  がホロ酵素生成に絶対的に必要である事を疑わしめる所見であらう。しかし熊井の報告にては  $Mg^{++}$  不添加時の補酵素による活性化は 10% に止まる。故について私は  $Mg^{++}$  不添加の場合の添加アミノ酸濃度とホロ酵素生成量の関係を実験した、その pA-Activity 曲線は第 I 図の低い曲線群として示されている。もし、これらの曲線の最大値を 100% と見做すときは、各曲線の性質は  $Mg^{++}$  添加試験の場合と異ならず、たゞそれぞれ右に稍移動しているに過ぎない。この  $Mg^{++}$  不添加試験に於てアミノ酸が示す活性は、試験液に不可避免的に混入する  $Mg^{++}$  に起因すると推定せられる。事実此の値は実験を反復する度に動揺した。これを明かにする必要がある。

### $Mg^{++}$ 濃度の影響

至適濃度のヒスチジン、ヒスタミン或はアスパラギン酸の添加の下に、諸種濃度の  $Mg^{++}$  を加え、そのホロ酵素生成率を見るに、ホロ酵素生成率は  $Mg^{++}$  の濃度増加に伴い上昇し、 $5 \times 10^{-3}$  M 乃至  $5 \times 10^{-2}$  で最大となる。この成績の解析は次章に記述する (第 4 表)。

### 酵素構造の解析

pA-Activity 曲線の上昇部が、ヒスチジンでは 3 次 S 型曲線に、ヒスタミン及び他種アミノ酸では 2 次 S 型曲線になるのは、アポ酵素がホロ酵素生成に際して、ヒスチジン 3 分子或はヒスタミンまた他種アミノ酸 2 分子と結合するものである事を示している、一般的に考察するために、アポ酵素 1 分子が、先づ、アミノ酸 m 分子と可逆的に結合して、アポ酵素アミノ酸結合体を形成し、之が更に  $Mg^{++}$  1 原子との可逆的結合によりホロ酵素を生成するとする。

質量作用の法則によれば、

$$\frac{[apo][A]^m}{[apo Am]} = K_1 \dots \dots \dots (1)$$

第4表  $Mg^{++}$  濃度とアポ酵素活性

| $Mg^{++}$ 濃度<br>(M/I) | histidine ( $5 \times 10^{-4}$ M) |      |          | histamine ( $1 \times 10^{-3}$ M) |       |          | aspartic acid ( $1 \times 10^{-2}$ M) |      |          |
|-----------------------|-----------------------------------|------|----------|-----------------------------------|-------|----------|---------------------------------------|------|----------|
|                       | 20 分                              | 40 分 | activity | 20 分                              | 40 分  | activity | 20 分                                  | 40 分 | activity |
| 0                     | 0.08                              | 0.15 | 0.64     | 0.065                             | 0.13  | 0.56     | 0.06                                  | 0.12 | 0.48     |
| $5 \times 10^{-7}$    | 0.08                              | 0.15 | 0.64     | 0.065                             | 0.13  | 0.56     | 0.06                                  | 0.12 | 0.48     |
| $5 \times 10^{-6}$    | 0.08                              | 0.16 | 0.69     | 0.08                              | 0.16  | 0.67     | 0.08                                  | 0.16 | 0.62     |
| $5 \times 10^{-5}$    | 0.10                              | 0.20 | 0.87     | 0.11                              | 0.215 | 0.90     | 0.11                                  | 0.22 | 0.88     |
| $5 \times 10^{-4}$    | 0.11                              | 0.22 | 0.96     | 0.12                              | 0.23  | 0.96     | 0.125                                 | 0.25 | 1.00     |
| $5 \times 10^{-3}$    | 0.115                             | 0.23 | 1.00     | 0.12                              | 0.24  | 1.00     | 0.125                                 | 0.25 | 1.00     |
| $5 \times 10^{-2}$    | 0.115                             | 0.23 | 1.00     | 0.12                              | 0.24  | 1.00     |                                       |      |          |

表中の数値は “E” である。

$$\frac{[\text{apo Am}][\text{Mg}]}{[\text{holo}]} = K_2 \dots\dots\dots(2)$$

|                |                         |
|----------------|-------------------------|
| [apo]          | 遊離アポ酵素の濃度               |
| [A]            | 遊離アミノ酸の濃度               |
| [apo Am]       | アポ酵素とm分子アミノ酸の結合体の濃度     |
| [Mg]           | 遊離 Mg <sup>++</sup> の濃度 |
| [holo]         | 生成ホロ酵素の濃度               |
| K <sub>1</sub> | apo Am 結合体の解離恒数         |
| K <sub>2</sub> | ホロ酵素の解離恒数               |

アポ酵素の濃度が、アミノ酸或は Mg<sup>++</sup> 濃度と比べて著く小ならば、[A] は添加アミノ酸、[Mg] は添加 Mg<sup>++</sup> 濃度に等しい。ホロ酵素形成系に於けるアポ酵素の諸型の間には、次の関係がある。

$$[\text{APO}] = [\text{apo}] + [\text{apo Am}] + [\text{holo}] \dots\dots(3)$$

[APO] アポ酵素の総濃度

$$\therefore \frac{[\text{APO}]}{[\text{holo}]} = \frac{[\text{apo}]}{[\text{holo}]} + \frac{[\text{apo Am}]}{[\text{holo}]} + 1 \dots\dots(3)'$$

$$\therefore \frac{[\text{holo}]}{[\text{APO}]} = \frac{[\text{A}]^m}{K_1 K_2 + \left(\frac{K_2}{[\text{Mg}]} + 1\right)[\text{A}]^m} \dots\dots(4)$$

此の式は、ホロ酵素生成率が [Mg], [A] の函数であることを示している、ここで [Mg] が大で、且一定であるならば ( $5 \times 10^{-3} \text{ M}$ ),  $\frac{K_1 K_2}{[\text{Mg}]} = k$ , 且  $K_2/[\text{Mg}] + 1 \approx 1$  と置換え得る故、(4) 式は、次式に簡略化し得る。

$$\frac{[\text{holo}]}{[\text{APO}]} = \frac{[\text{A}]^m}{k + [\text{A}]^m} \dots\dots\dots(4)'$$

第 I, II 図に於ける上昇部の曲線群は、此式に従つて画いたもので、ヒスチジンの場合には  $m = 3$ , ヒスタミン及び他種アミノ酸の場合では  $m = 2$  であることは、実験成績の示す所による。

pA-Activity 曲線の下降部は、ホロ酵素生成が、高濃度のアミノ酸の存在で不活性化される事を示している。今、仮に、生成ホロ酵素が、さらに n 分子アミノ酸と結合して、不活性型ホロ酵素になるものとすれば、その際のアポ酵素の諸型は、次式により示される。

$$[\text{APO}] = [\text{apo}] + [\text{apo Am}] + [\text{holo}] + [\text{loho}] \dots\dots\dots(5)$$

[loho] 不活性化酵素 (ロホ酵素) 濃度

又、質量作用の法則により、

$$\frac{[\text{holo}][\text{A}]^n}{[\text{loho}]} = K_3 \dots\dots\dots(6)$$

K<sub>3</sub> ロホ酵素の解離恒数

(1), (2), (5), (6) 式より

$$\frac{[\text{holo}]}{[\text{APO}]} = \frac{[\text{A}]^m}{\frac{K_1 K_2}{[\text{Mg}] + \left(\frac{K_2}{[\text{Mg}] + 1}\right)[\text{A}]^m + \frac{1}{K_3}[\text{A}]^{m+n}} \dots\dots\dots(7)$$

此式の右辺分母第 3 項は [A] が小なる時は、第 2 項に対し無視し得る故、(7) 式は (4) 式に一致するようになる。他方 [A] が大である時は、第 1 項が消去され、

$$\frac{[\text{holo}]}{[\text{APO}]} = \frac{K_3}{\left(\frac{K_2}{[\text{Mg}]} + 1\right)K_3 + [\text{A}]^n} \dots\dots(8)$$

ここで、添加 Mg<sup>++</sup> 濃度が K<sub>2</sub> に比して大で、 $\frac{K_2}{[\text{Mg}]} \approx 0$  とすれば、

$$\frac{[\text{holo}]}{[\text{APO}]} = \frac{K_3}{K_3 + [\text{A}]^n} \dots\dots\dots(8)'$$

(8)' 式の  $n = 2$  とすれば、第 I, II 図の下降曲線を得て、実測活性度値の諸点は曲線上に位する。この成績は生成ホロ酵素に 2 分子アミノ酸或はヒスタミンが更に結合すれば不活性化を来すことを示すものである。

#### Mg<sup>++</sup> 不添加試験で、なおアミノ酸による活性化の解析

(4) 式に於て、[A] がホロ酵素生成率最大値、即ち 1.00 に到達するに充分な程、大であるならば、 $K_1 K_2/[\text{Mg}]$  は無視し得る故、

$$\frac{[\text{holo}]}{[\text{APO}]} = \frac{1}{\frac{K_2}{[\text{Mg}]} + 1} \dots\dots\dots(9)$$

ここで、添加 Mg<sup>++</sup> 濃度を M, 既存 Mg<sup>++</sup> 濃度を x で表すならば、

$$\frac{[\text{holo}]}{[\text{APO}]} = \frac{1}{\frac{K_2}{M+x} + 1} \dots\dots\dots(9)'$$

此の式に第 4 表の種々の実測値を代入して得られる数個の式を相互に組合せて聯立二元方程式とし、x の値が求められる。但し、activity が 1.00 に近い場合には、E 測定の実験誤差が算出 x 値に大きく響くので計算から除外した。之により求められた x の平均値は、ヒスチジンで  $1.7 \times 10^{-5} \text{ M}$ , ヒスタミンで  $0.8 \times 10^{-5} \text{ M}$ , アスパラギン酸で  $0.7 \times 10^{-5} \text{ M}$  である。即ち、検液中に既存する Mg<sup>++</sup> 量は、約 10 万分の 1 モルであるが、この Mg<sup>++</sup> が何れの試薬に由来するかは別として、この程度の混入は、現在避け得ないものと思われる。よつて燐酸モノエステラーゼのアポ酵素は、Mg<sup>++</sup> の存在に於てのみ、補酵素と結合して賦活されるものと云い得る。

また、(7) 式に於て Mg<sup>++</sup> 濃度が微小であれば、

右辺分母の  $[A]^m$  係数は 1 より大となり, activity 最大値の低下 (第 1 図に於る低い曲線群) を説明し得る。

なお, 既存検液  $Mg^{++}$  含量の値を (9)' 式に代入して求められる  $K_2$  の値は, ヒスチジンで  $1.01 \times 10^{-5}$ , ヒスタミンで  $0.63 \times 10^{-5}$ , またアスパラギン酸で  $0.77 \times 10^{-5}$  と夫々よく一致した値が計算された。

## 考 按

磷酸モノエステラーゼ III (アルカリ性フォスファターゼ) に対するアミノ酸の影響に関する文献は種々あるが, その成績の解釈は一致していない。

この相違は, 各研究者により使用された酵素剤が精粗の差があるにしても, 何れもそれ自体活性なるホロ酵素のままを供試した実験であり, 之等の成績を各自が検討した事に基いていると思われる。例えば, Bodansky<sup>(4)</sup>(1936) は, 腎, 腸, 骨の自家消化液を単純に透析したもの (この液中のモノエステラーゼは, 大部分がホロ酵素であり, アポ酵素型は, 僅かに過ぎない) を用いて,  $Mg^{++}$  及び低濃度のアミノ酸添加による活性増加を認め,  $0.0125 M Mg^{++} + 0.0625 M glycine$  の添加を至適濃度の一例として挙げているが,  $Mg^{++}$  を activator と論じ, 他方アミノ酸は, 酵素の水解反応過程に於ける不活性化を阻止するものとしている。Albers<sup>(5)</sup>(1940) は, 之に対し, 彼の酵素剤 (腎ホロ酵素) での実験で  $\frac{M}{60} \sim \frac{M}{240}$  のアミノ酸の添加は,  $Mg^{++}$  の存在如何に拘らず賦活も阻害も認められず, ロイシンの場合にはむしろ阻害されると報告した。また, Hove, Elvehjem & Hart<sup>(6)</sup>(1940) は, 腸の粗酵素液を用い, 之が  $Zn^{++}$  により 40~100% 活性を増加せしめられるが, 透析酵素液では,  $Zn^{++}$  の添加は反つて軽度の阻害を来し, 透析外液を同時に添加すれば

$Zn^{++}$  の活性増加作用は再び現れ, 他方, 諸種アミノ酸の添加は, 透析酵素液の活性には殆ど影響を与えないが,  $Zn^{++}$  の同時添加は矢張り 50~150% の活性増加を示す事を認め, この成績からアミノ酸は透析外液同様, 腸フォスファターゼに対する  $Zn^{++}$  の活性増加作用に必要な因子として仿くものと解釈している。最近に到り, Bodansky<sup>(7)</sup>(1949) は, 骨のフォスファターゼが,  $0.0117 M$  ヒスチジンにより約 70% の阻害を受け,  $Mg^{++}$  の同時添加により更に阻害度は増大すると報じた。また,  $Co^{++}$  にフォスファターゼ活性増加作用がある事を認め, アミノ酸によつて阻害を受けた酵素をも再活性化し,  $Mg^{++} + Co^{++}$  添加では, この再活性化作用が一層顕著な事からフォスファターゼには,  $Mg^{++}$  以外に, 尚第二の必須金属が存在し, アミノ酸による阻害は, アミノ酸が此の第二必須金属と complex を生成するによると論じている。併し, 彼が腸酵素に就て行つた実験では, アミノ酸による阻害を除き酵素を再活性化するには必ずしも  $Co^{++}$  を要せず,  $Mg^{++}$  のみで充分であると云う。このように, 彼はアミノ酸による磷酸酵素阻害から出発して金属イオンの作用機序を論じているに過ぎない。併し, 彼の透析酵素液に含まれる  $Mg^{++}$  量は,  $0.00001 M$  と報告しているが, この値は, 本報告の検液既存  $Mg^{++}$  含量と偶然にも一致している。

一般に, 賦活並に阻害様式の解釈は, 複雑化を避ける為に充分精製された酵素に就て行つた実験成績に基かねばならない。私がここに記述したる考察は, アミノ酸及び  $Mg^{++}$  によるアポ酵素の活性化と, 過剰アミノ酸による阻害の実験とを解析したものであるから, 従来 of 所論から一歩進んで alkaline phosphomonoesterase の構造について新たな知見を加えたものである。

## 結 論

磷酸モノエステラーゼ III (至適 pH 9) のアポ酵素は, 3 分子のヒスチジン或は 2 分子の他種アミノ酸またはヒスタミンと, さらに他方  $Mg^{++}$  1 原子と可逆的に結合してホロ酵素を生成する。このホロ酵素も, もし, アミノ酸或はヒスタミンが過剰に存在する時は, ついで, それらの 2 分子を可逆的に結合して不活性化する。

本研究は, 文部省から赤松教授に与えられた科学研究費により, 赤松教授指導の下に行われた。ここに深く感謝する。

文 献

- 1) 小林: 日生化; 19, 129 (1947)
- 2) 大森: Enzymologia; 4, 217 (1937)
- 3) 熊井: J. Biochem.; 33, 277 (1941)
- 4) O. Bodansky: J. Biol. Chem.; 114, 273 (1936)
- 5) D. Albers: Z. physiol. chem.; 266, 1 (1940)
- 6) F. Hove, C. A. Elvehjem & E. B. Hart: J. Biol. Chem.; 134, 425 (1940)
- 7) O. Bodansky: J. Biol. Chem.; 179, 81 (1949)

千葉医学会第29回臨時総会演題

(基礎医学)

(昭和28年6月27日 法医学教室講堂)

1. 胃癌で死亡した少年の剖検例……………守屋 弘(石橋病理)
2. 実験的肺結核症の治療効果の比較……………柴田 鶴彦, 浜田美志, 島田 隆( " )
3. 変形菌の食品中における分布状況に就て……………志賀 信雄, 鴻 孝義(腐敗研究所)
4. Enterococcus の衛生細菌学的研究……………佐藤正彦, 福原公明( " )
5. 2-methyl-1.4 naphthoquinone の毒性に関する研究……………北沢吉郎( " )
6. 抗酸性菌に作用する一好熱放線菌に就て……………栗原弘雄, 豊浦公世( " )
7. ノカルドルビンの人型結核菌に対する試験管内作用……………中河原義春( " )
8. 重症結核患者の腸内細菌について……………板垣修造(衛生)
9. 腔内細菌と乳児腸内細菌との関係に就て……………工藤博爾( " )
10. "M. tensor fasciae suralis" の1例……………野中俊郎, 石井貞一(鈴木解剖)
11. 最近5ヶ年間の解剖学実習に於て見られた筋の破格に就て……………鈴木隆之, 成田龍三( " )
12. 血球の類脂体性血液型物質より炭水化物性型物質の化性について……………藤塚次雄(法 医)
13. A型の亞型(A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub>)について……………平沢正夫( " )
14. 自殺かアドルム中毒か……………木村 康( " )
15. 胎児性畸型芽腫の1剖検例……………岩津英雄(滝沢病理)
16. 囊腫腎の1剖検例……………荒木 喬( " )
17. 微小部誘導による皮膚分極曲線……………羽岡千寿(第一生理)
18. 痛覚の電気刺激閾値並びにそれに対する通流第3作用……………山川普吾, 藤岡玄治( " )
19. 神経閾値に対する通流第3作用(矩形脈波通流)……………斎藤次郎( " )
20. 上膜剝離神経における通流第3作用(直流通流)……………宮田 誠( " )
21. 神経興奮伝導に対する通流第3作用(矩形脈波通流)……………本間三郎, 大倉淳男( " )
22. 神経における直流通流第3作用の強き期間曲線に及ぼす影響について……………西村文夫( " )
23. 上膜剝離神経の強き期間曲線及びそれに対するイオンの影響……………山崎 衛( " )
24. 上膜剝離神経の強まり要素に対するイオンの影響……………元吉滋直( " )
25. 神経陽極開放閾値に関する研究……………上山 巖( " )
26. 筋疲労曲線に関する研究……………巷岡 務( " )
27. 家兎下肢の Onkographie について……………荻野正之( " )
28. β-ray と神経及び筋の電気刺激閾値……………赤畑正光( " )
29. 二三抗赤痢サルモネラ菌剤の薬理……………村山 智, 大岡重弘, 久我哲郎, 方波見 猛(薬 理)
30. グリコチアニン分解細菌酵素に就て……………中村 彰(医 化)
31. ピロフオスファターゼに就て……………泉谷哲夫( " )
32. ペプチダーゼに就て……………渡辺剛夫( " )
33. 磷酸デエステラーゼに就て……………黒川信雄( " )
34. 白鼠性周期と副腎……………向島 迪, 丸山俊夫(第二生理)
35. 家兎の腎排泄能と利尿の関係……………岡田忠難, 武居光典( " )
36. メラノホーレンホルモン分泌機序に関する研究……………鈴木董三, 白井忠臣, 倉沢和秀( " )