酸化還元酵素に就いて分光分析から見た 2, 3 の知見

久 保 秀 雄

(昭和33年2月6日 受理)

Études spectrophotométriques sur les systèmes
des enzymes oxydo-réductives

Hideo KUBO

(Laboratoire de Physiologie physico-chimique, Faculté de Médecine, Université d'Osaka)

L'interaction physico-chimique entre l'enzyme, la coenzyme et le substrat a été étudiée dans notre laboratoire. Ce rapport a pour but d'exposer les résultats obtenus principalement au moyen de la spectrométrie sur le système de l'enzyme des acides aminés et celui de l'enzyme d'acide glutamique.

1. L'absorption du rayon ultraviolet de la solution du p-chloromercuri benzoate augmente par l'incorporation du groupe SH de l'enzyme d'acide glutamique. Selon cette opération, le nombre du groupe SH a été de 52 pour une molécule de l'enzyme, dont 20 se combine avec le substrat, L-acide glutamique.

2. L'atome fer enzymatiquement actif a été trouvé dans la molécule de l'enzyme des acides aminés, ce qu'on ne savait pas jusqu'à aujourd'hui.

3. En utilisant l'o-phénanthroline, indicatrice de l'existence de Fe^{+2} , nous avons trouvé ceci: Fe^{+3} de l'enzyme préparée est réduit concurremment avec la réduction de la FAD à mesure que le substrat, D-alanine, est oxydé par l'oxydase.

4. D'après les résultats des recherches cinétiques, nous voulons exposer le schéma concernant la combinaison entre les éléments enzymatiques.

5. Une méthode spectrophotométrique pour calculer la constante de combinaison du système de l'enzyme a été exposée par la ferri coloration du p-chloromercuri benzoate incorporé.

1. 緒 言

生命維持に必要なエネルギー獲得の最初の段階は生体酸化還元にある。この反応は酸化還元酵素系列によつて円滑に進められる。これらの酵素系に関する知見はここ半世紀足らずの間に目ざましく拡充された。

この著しい進歩がもたらされる基礎となつた理由の一つとして次のことを挙げてよいと思う。それは研究方法として化学的なものに止まらず、物理的とくに吸収スペクトルによる分析法が早くから採り入れられたことである。物理的方法を自由に駆使して酵素に関する基準の方法と知識を私らに示した代表者の一人として直ぐ頭に浮ぶのは Warburg, O. である。氏の秀れた才能によるは言うまでもないが氏が物理学者を父にもち幼にしておそ

らく物理的知識に恵まれる環境にあつたことも大きな素因かも知れない。

酸化還元酵素系は蛋白成分なる酵素と一次的に酸化還元に与る助酵素との複合体と見做される。助酵素は酵素と結合或は近接して、はじめて生理的に酵素作用をあらわし得る。一般に助酵素の酸化還元に関するエネルギー準位は酵素と結合することによつて変動をうける^{1,2)}。助酵素はその分子構造から窺われるようにそれぞれ特有の、或は適当な方法で他から分離し得られる吸収帯を可視部或は紫外部にもつて従つて他の反応成分と共存しながら助酵素そのものの変化を分光的に追跡し得る。

我々の教室ではビリヂン或はフラビン誘導体を助酵素

1) 久保秀雄: 酸化還元電位 (共立社) p. 167.

2) 久保秀雄: 生体の科学 6, 244 (1950).

Molécule de la protéine de
Negel et Brömel
pm; 80,000

Molécule de la déshydrogénase glutamique
pm; 70,000

Fig. 1 Schéma de la combinaison entre les substances participant aux enzymes,
oxydase des D-acides aminés et déshydrogénase glutamique.

とする L-グルタミン酸脱水素酵素系と D-アミノ酸酸化酵素系に就いて酵素、助酵素或は基質アミノ酸などの間の物理的な相互交渉のメカニズムを検討してきた^{3,4,5,6,7}。その結果として、これらの酵素系の物理的な場の構造に Fig. 1 に示すような模式を推定した。

この模式の拠りどころは光散乱⁸、超遠心、反応速度^{9,10,11}、電流滴定^{12,13} などから得た成績であるが、反応速度の測定は型のように酸素消費量を眺める他に、適当な波長における光の吸収の変化を追うて得た知見が基礎になっている。

そこで、成績のうち吸収スペクトルによる分析に主として依つて得た知見を抜きだして述べたのが本編の内容である。

2. 材料と方法

グルタミン酸脱水素酵素或は D-アミノ酸酸化酵素は我々の方法によつて肝臓或は腎臓から抽出。このうち前者は Olson の方法を改良したものであり、後者は我々の教室で初めて採り出し得たもので、共に結晶酵素である⁷。

助酵素も我々の方法によつて抽出¹³。

吸収スペクトルは型のように Beckman 分光光度計を用い、吸収セルの光路は 1 cm で、 $\log I_0/I$ の誤差 0.002 以下のものである。

螢光測定には Brice Phoenix の光散乱光度計を用いた

3. 成 績

3.1. グルタミン酸脱水素酵素の SH-基数

...p-chloromercuri benzoate との相互交渉...

多くの酸化還元酵素作用に与る基の一つとして SH-基があげられる。この SH-基を捕捉する代表者の一つ、p-chloromercuri benzoate (pCMB) をグルタミン酸脱水素酵素に加えると酵素作用が全く失われる。一方、この結合によつて pCMB の紫外吸収が著しく変わる。この性質を利用すると結合基としての遊離の SH-基の態度を推測する目安となり得る。Fig. 2 にチステインによる pCMB の吸収変化を示した。

- 3) 久保秀雄：酵素化学シンポジウム 5, 1 (1950).
- 4) 山野俊雄，椋本 功：酵素化学シンポジウム 9, 92 (1954).
- 5) 岩坪源洋，亘弘，曾山辰男，伊藤一男，西幹禎雄，平岡健二郎：酵素化学シンポジウム 10, 135 (1954).
- 6) 岩坪源洋，石橋正守，高階経世，茨木健二郎，榎田平次：酵素化学シンポジウム 12, 36 (1956).
- 7) 久保秀雄外：国際酵素化学シンポジウム Topoc 2-1 (1957).
- 8) 伊藤健二：大阪大学医学雑誌 8, 771 (1956).
- 9) 小林 博：大阪大学医学雑誌 8, 777 (1956).
- 10) 石橋正守：大阪大学医学雑誌 8, 7 (1956).
- 11) 平岡健二郎：大阪大学医学雑誌 8, 677 (1956).
- 12) 三谷周三：大阪大学医学雑誌 9, 829 (1957).
- 13) 岩坪源洋，榎田平次，高部 清：大阪大学医学雑誌 8, 233 (1956).

D.O.

Fig. 2 Accroissement de l'absorption du p-chloromercuribenzoate à cause de la combinaison avec la cystéine.

酵素 SH-基と pCMB との結合が平衡に達するのには或程度の時を要する. Fig. 3 はその範例を示している.

$\Delta E_{255 m\mu}$

Fig. 3 Nécessité du temps d'atteindre à l'équilibre de la réaction entre le pCMB et l'enzyme. (combinaison entre pCMB et le groupe-SH de la déshydrogénase glutamique, compétant avec L-glutamate)

pCMB と酵素 SH-基とが結合すると 255 mμ に於ける吸収度増加が pCMB 1 分子当たり 240% に達する. この波長をえらんだのは酵素そのものの吸収を考慮したからである (Fig. 4 参照)

測定波長は 255 mμ, 平衡時間分を置いて吸光度を測定した.

いま, 一定量の pCMB に酵素を加え 255 mμ での吸収増加を酵素量の函数として眺めると Fig. 5 のように

Fig. 4 Spectre d'absorption de déshydrogénase glutamique, tampon phosphatique 0.1 M de pH 7.6, concentration de l'enzyme 0.14 mg/ml.

Fig. 5 Dosage spectrophotométrique du groupe SH de la déshydrogénase glutamique

なる. ただし図の点線は更に酵素と結合し得る基質 L-グルタミン酸を加えた場合を示す.

酵素の分子量は光散乱法からこの濃度では 100 万と与えられている. 実測吸収度の増加は pCMB 1 分子について 240% となるから, いまの場合, 酵素 1 分子に就いて約 54 個の SH-基がある計算になる.

酵素に基質 L-グルタミン酸を混ぜて pCMB の吸収増加の様様を見ると基質濃度の増加と共に吸収増加は低下してついに飽和に達する. Fig. 5 の点線はこの一例で

ある。すなわち、酵素に対する基質と pCMB との結合は互に競りあい一旦結合すれば他は犯し得ないことを示している。云い換えれば酵素と基質との結合のすくなくとも一つは SH-基を介して行われる。こうして酵素を基質で飽和させると上に述べた酵素 SH-基 54 個のうち約 20 個が減つた計算になる。

基質を逆反応の α -ケトグルタル酸 或は アンモニア にとつたとき 1 モル酵素当りの SH-基の動きを 基質濃度の函数としてあらわすと Fig. 6 のようになる。

- (1) E + α -cétooglutarate
(2) E + glutamate
(3) E + ammonium

Fig. 6 Diminution du nombre de groupe-SH de la déshydrogénase glutamique, par addition des substrats (par la méthode spectrophotométrique de M. Boyer)

反応 $\text{グルタミン酸} + \text{DPN}^+ + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \alpha\text{-ケトグルタル酸} + \text{NH}_4^+ + \text{DPNH}$ の生成産物 α -ケトグルタル酸とアンモニアも L-グルタミン酸と同じく pCMB に基づく吸収帯の吸収度の減少が見られる。このことは酵素 SH-基は上の反応そのものに与つているといえる。

SH-基と結合する L-グルタミン酸の結合基はアミノ基である。その拠りどころはグルタミン酸の SH-基飽和濃度と等しい濃度のグルタル酸を pCMB に加えても吸収度の増加は見られないことである。ただし α -ケトグルタル酸は、上に述べたようにグルタミン酸に比し 15%程度は低い SH-基と結合する (Fig. 6²¹) からカルボキシル基に連るカルボニール基は一応結合基として考えの中に入れなければならない。

グルタミン酸脱水素酵素は L 体のみを分解するに反し、D 体には全く作用しない。逆に D 体は L 体の分解を阻止する立体異性体である。いまの場合 pCMB に基

づく吸収帯の吸収度の増加への D 体の影響を見るに果して何の動きも示さない。(Fig. 7 参照) すなわち、酵素 SH-基は L-グルタミン酸と結合するが、D-体とは結合しない。

Fig. 7 Stéréo-Spécificité du groupe SH de la déshydrogénase glutamique au point de vue de l'accroissement d'absorption du pCMB.

3.2. グルタミン酸脱水素酵素の NH₂-基

.....Aldéhyde benzoïque との相互交渉.....
ベンツアルデヒドはアミノ基を捉える。結合すると

Fig. 8 Spectre d'absorption du système composé de l'aldéhyde benzoïque et la déshydrogénase glutamique.

Composition:	I	II
Aldéhyde benzoïque	—	10^{-4} M
Déshydrogénase glut.	1.4 mg/ml	~1.4 mg/ml
Tampon de pyrophosphate	2.6 ml	~2.3 ml
	(0.1 M)	

吸収が変わる。

一定量のベンツアルデヒドに対してその吸収度の増加を酵素濃度の函数にとると Fig. 9 のようになる。飽和点が認められる。計算すると脱水素酵素1分子内に108個のアミノ基が存在することとなる¹⁶⁾。

ΔD . O. 250 $m\mu$

Concentration de glutamicodéshydrogénase.

Fig. 9 Accroissement de l'absorption de l'aldéhyde benzoïque à cause de la combinaison avec la déshydrogénase glutamique.

Concentration finale de l'enzyme	Concentration de l'aldéhyde	Absorption du système (250 $m\mu$)	Accroissement de l'absorption (250 $m\mu$)
10^{-8} M	10^{-4} M		
6.67	1.13	1.200	0.07
13.33	"	1.30	0.17
26.67	"	1.43	0.30
40.00	"	1.625	0.495
66.67	"	1.94	0.81
107	"	2.25	1.12
133	"	2.25	1.12
240	"	2.25	1.12

pH 11.8, 25°C

この結合によつて現われる吸収度の変化は pH がアルカリ性側に傾くほど強く出る。Fig. 8 と Fig. 9 は pH 11.8 での測定である。アミノ基の解離を pK 9~10 とするとベンツアルデヒドが結合するのはアミノ基の分子型であろうと思われる。この媒質の点に関してはなお問題を残すものとしてよいだろう。

3.3. D-アミノ酸酸化酵素系の助酵素と鉄

..Flavine adénine dinucléotide と鉄との相互交渉..

14) 川島長利: 大阪大学医学雑誌 9, 935 (1957).

15) 沢田重信: 大阪大学医学雑誌 9, 943 (1957).

16) 森 茂雄: 大阪大学医学雑誌 投稿中

d'en haut des courbes,

- (1) FAD (2.96×10^{-4} M),
- (2) FAD FeSO_4 (1.11×10^{-4} M) pyrophosphate (M/60),
- (3) FAD FeSO_4 (1.66×10^{-4} M) pyrophosphate,
- (4) FAD FeSO_4 (3.33×10^{-4} M) pyrophosphate.

Fig. 10 Spectres d'absorption de la flavine adénine dinucléotide en présence du pyrophosphate et du fer.

d'en haut des courbes,

- (1) FMN (3.33×10^{-5} M),
- (2) FMN FeSO_4 (1.11×10^{-4} M) pyrophosphate (M/60, concentration finale),
- (3) FMN FeSO_4 (1.66×10^{-4} M) pyrophosphate,
- (4) FMN FeSO_4 (3.33×10^{-4} M) pyrophosphate.

Fig. 11 Spectres d'absorption de la flavine mononucléotide en présence du pyrophosphate et du fer.

- (1) RF (3.33×10^{-5} M),
 (2) RF FeSO_4 (1.11×10^{-4} M) pyrophosphate (M/60, concentration finale),
 (3) RF FeSO_4 (1.66×10^{-4} M) pyrophosphate,
 (4) RF FeSO_4 (3.33×10^{-4} M) pyrophosphate.

Fig. 12 Spectres d'absorption de la riboflavine en présence du pyrophosphate et du fer.

- (1) dans la solution du pyrophosphate de M/60 à pH 8.3
 (2) dans la solution du phosphate de M/60 à pH 8.3
 (3) dans la solution de l'acide maleïque de M/60 à pH 5.8

Fig. 13 Effacement de la fluorescence de la flavine adénine dinucléotidh en présence de l'ion de fer.

鉄はフラビン・アデニン・ヂヌクレオチド (FAD) と直接にも交渉する。FAD の他にその類縁物質フラビ

ン・モノヌクレオチド (FMN) 及びリボフラビンに就いても同じで、それらの吸収曲線の 450 mμ の極大吸収波長が鉄が加わると共に 430 mμ に向つてずれ同時に吸光係数も小さくなる。(Fig. 10, 11, 12)

- (1) dans la solution du pyrophosphate de M/60 à pH 8.3
 (2) dans la solution du phosphate de M/60 à pH 8.3
 (3) dans la solution de l'acide maleïque de M/60 à pH 5.8
 (FMN: 3.33×10^{-6} M)

Fig. 14 Effacement de la fluorescence de la flavine mononucléotide en présence de l'ion de fer.

- (1) Intensité relative dans la solution du pyrophosphate de M/60 à pH 8.3
 (2) dans la solution du phosphate de M/60 à pH 8.3
 (3) dans la solution de l'acide maleïque de M/60 à pH 5.8
 (Riboflavine: 3.33×10^{-6} M)

Fig. 15 Effacement de la fluorescence de la riboflavine en présence de l'ion de fer.

鉄と FAD との相互作用はイソプロキサチン核を介して行われると一応考えてよい。

FAD 溶液に $346\text{m}\mu$ の Hg 輝線スペクトル光を与えると緑色の螢光が出る。

この螢光は FAD に FeSO_4 を加えることによつて弱まる。FMN 或はリボフラビンに就いても同様である。(Fig. 13, 14, 15)

3.4. アミノ酸化酵素系と鉄

…D-アミノ酸化酵素に於ける鉄の関与性…

酵素作用と金属イオンとの関係は近年になつて注目されてきた。ピリジン酵素系には一般に Zn を、フラビン酵素系には一般に Fe を本質的に必要とするものが多い。ところが D-アミノ酸化酵素に対しては Fe を必要としないものと今まで思われてきた。最近、我々の研究によると、これも Fe を必要とする公算が非常に大きくなつてきた。我々は近頃、D-アミノ酸化酵素を結晶化することができたから、この純な標本に就いて分析してみると酵素 1 分子当り約 10 個の鉄を含むことを知つた。そのうち 2~3 個の鉄が酵素反応に与るとの結論を得た¹⁴⁾。この鉄が FAD と酵素との結合に与っているだろ

Fig. 16 Réduction du Fe^{+3} dans l'oxydase des acides aminés

うことは酸素消費量の面から見て推測される。

D-アミノ酸化酵素或はこれから助酵素 FAD をはずした蛋白部分 (Negelein-Brömel 蛋白) では抽出したままの状態では o-phénanthroline を加えても発色を見ない。しかし還元剤で還元しておくで発色を見る。これは $\text{Fe}^{+3} \rightarrow \text{Fe}^{+2}$ なる変化のあつたことを意味する。この際、鉄の他にこの試薬にかかるような他の金属を含まないことは確めてある。

このことは酵素的還元によつても認められる。すなわち、嫌気状態で基質アラニンにこの酵素を作用させるとアラニンの酸化生成物の生ずると共に Fe^{+3} 及び FAD の還元が見られる¹⁷⁾。鉄は鉄試薬による $510\text{m}\mu$ の波長における光の吸収の増加及び FADH の生成による $450\text{m}\mu$ の波長における光の吸収の減少から見られる。Fig. 16 と Fig. 17 はこの成績である。Fig. 18 はその化学的収支である。

Fig. 17 Réduction du fer et de la FAD couplée avec l'oxydation enzymatique de l'alanine.

アラニンの酸化から生成された焦性ブドウ酸量と FAD³ 及び Fe^{+3} の還元量とが互に相伴つて消長している。

以上の成績と別に得た速度論的な結果から D-アミノ酸化酵素系に於ける鉄の関与性に就いて Fig. 19 のようなシェーマを挙げる。

3.5. 酵素系に於ける結合恒数の算出に吸収スペクトルによる分析法の特殊な応用

…グルタミン酸脱水素酵素系への適用…

酵素系と基質との結合恒数についてはその強さなどは反応速度の測定或は起速心法または平衡透析法などから求

Système de la réaction (ml) :			
	I	II	III
Protéine de Negelein et Brömel (17.6 mg/ml)	2.5	2.5	2.5
FAD (1 mg/ml)	0	0.013	0.15
Alanine (0.5 M)	0.2	0.2	0.2
o-Phénaanthroline (0.92 mg/ml)	0.2	0.2	0.2

Résultat ($10^{-5}M$) :			
	I	II	III
FAD réduit	0	0.25	1.35
Fe réduit (Fe^{++})	5.9 ₆	9.9 ₄	13.2 ₃
Acide pyruvique produit	2.5	29	34

Fig. 18 Réduction du Fe^{+3} couplée avec l'oxydation de l'alanine

Fig. 19 Schéma du rôle du fer qui joue à la combinaison entre l'oxydase et la FAD.

めるのが通常である。しかし酵素反応成分組成上の制限或は精度の上から時として困難さに出会うことが少なくない。SH-基に関しては pCMB との結合に基づく特殊吸収が現われる。これを利用して結合恒数の算出が次のようにして可能である¹⁸⁾。

グルタミン酸脱水素酵素 (結晶蛋白) の SH-基を E, pCMB を I, 結合体を EI であらわすと

K_I : 解離恒数

酵素に結合した pCMB は $[EI]$ と等しいから、結合による 255 m μ での吸収増加を $\Delta\epsilon$ であらわすと

$$\Delta\epsilon = k[EI] \quad k: \text{比例常数} \quad (2)$$

式 (1) と (2) から

$$[EI]^2 - \{E + K_I + I\}[E]I + E \cdot I = 0 \quad (3)$$

これは $[EI]$ について2根 $\alpha, \beta (\alpha \geq \beta)$ をもつが E が増すにつれて $\Delta\epsilon$ は一定値になるから $E \rightarrow 0$ に対し

て $d[EI]/dE \rightarrow 0$ 。この条件を満たすものとして根 β のみをとる。 β によって

$$\lim_{E \rightarrow 0} d[EI]/dE = I/(K_I + I) \quad (4)$$

ここで Fig. 5 の測定値を例にとると次のようになる。pCMB の濃度 $[I]$ $2.57 \times 10^{-5} M/l$ に対して酵素の $460 \times 10^{-9} M/l$ で飽和しているから $2.57 \times 10^{-5}/460 \times 10^{-9} \approx 54$ すなわち酵素1モルに対して pCMB 54 個結びついている。 $k = 6.8 \times 10^3$ となる。酸素量 $3.2 \times 10^{-7} M$ で吸収の増加 $\Delta\epsilon$ は 0.1, 従つて

$$d[EI]/dE = 0.1/6.8 \times 10^3 \times 54 \times 3.2 \times 10^{-7} = 0.85,$$

$I = 2.57 \times 10^{-5} M$ であるから (4) により

$$\therefore K_I = 4.50 \times 10^{-6} M/l, \quad pH 6.5, \quad 20^\circ C.$$

pCMB と基質とは競りあつて結合する。拮抗的に酵素反応を阻害する。これを利用して次のように操作する。

基質を S, これと酵素との結合を解離恒数 K_S であらわすと

基質の総量を S であらわすと

$$K_I = \{E - [EI] - [ES]\} \{I - [EI]\} / [EI] \quad (6)$$

$$K_S = \{E - [EI] - [ES]\} \{S - [ES]\} / [ES] \quad (7)$$

式 (6) と (7) から $[ES]$ を消去すると

$$K_S = K_I S [EI] / \{[EI]^2 - (K_I + I + E)[EI] + EI\} - K_I [EI] / \{I - [EI]\} \quad (8)$$

一般に $[EI] = f_S(E)$ の関係となる。

Fig. 20 に於いてある E_1 に対して $f_S(E_1) = [EI]_1$ か

ら $[EI]_1$ が求められる ($\Delta\epsilon_1 = k[EI]_1$). ところが基質 S の加わらない $f(E)$ 曲線では $[EI]_1$ に対応して E_2 が求められる. $[EI]_1 = f(E_2)$ が満足される. 式 (1) から

$$[EI]_1^2 - [E_2 + K_I + I][EI] + E_2 I = 0 \quad (9)$$

式 (3) に E_1 を代入した式と式 (9) から

$$K_S = \frac{K_I[EI]}{I - [KI]} \left(\frac{S}{E_1 - E_2} - 1 \right) \quad (10)$$

(10) 式から K_S を求めるには $[EI] = f_S(E)$ 曲線上で E_1 に対する $[EI]_1$ を求め, この $[EI]_1$ に対応する E_2 を $f(E)$ 曲線上で求めるとよい.

Fig. 20

グルタミン酸に対しては:

$$E_1 = 6.5 \times 10^{-7} \times 54$$

$$E_2 = 3.2 \times 10^{-7} \times 54$$

$$[EI]_1 = 0.1 \times 10^{-3} / 6.8$$

$$K_I = 4.5 \times 10^{-6}$$

であるから式 (10)

$$K_S = 3.42 \times 10^{-2} \text{ M/l, pH 6.5, } 20^\circ\text{C}$$

α -ケトグルタル酸に対しては:

$$E_1 = 5.4 \times 10^{-7} \times 54$$

$$E_2 = 3.2 \times 10^{-7} \times 54$$

$$[EI]_1 = 1.47 \times 10^{-5}$$

$$K_I = 4.5 \times 10^{-6}$$

であるから式 (10) によつて

$$K_S = 1.12 \times 10^{-2} \text{ M/l, pH 6.5, } 20^\circ\text{C.}$$

$\Delta F = -RT \ln K$ から結合のエネルギーを求めると

$$(\Delta F)_{\text{glutamate}} = 1.9 \text{ Kcal/mol}$$

$$(\Delta F)_{\text{cétoglutarate}} = 2.5 \text{ Kcal/mol}$$

$$(\text{pH 6.5, } 20^\circ\text{C})$$

これはグルタミン酸脱水素酵素の SH-基 とアラニン 或は α -ケトグルタル酸との結合に就いての値である. 酵素反応の上から求めた結合のエネルギーは次のように我々は与えている.

$$(\Delta F)_{\text{glutamate}} = 3.3 \text{ Kcal/mol,}$$

$$(\Delta F)_{\text{cétoglutarate}} = 4.8 \text{ Kcal/mol}$$

$$(\text{pH 6.5, } 20^\circ\text{C})$$

このことは酵素と基質との結合が SH-基以外にもあることから上の 1~2 Kcal/mol の差は他の結合部位へ与えられるものと考えるのが妥当であろう. SH-基は基質と 2~3 Kcal 程度の結合をする.

§ 4. む す び

酸化還元酵素系を形成する各要素間の相対する結合基の推定, ひいてはその結合の強さ更に反応機転を知る上に於いて分光的取扱いがどれほど重宝であるかに就いて我々の成績を例にとつて述べた.

巨視的な取扱いによる収穫は一応その方法の上で頂点にまで来たと思える. 次に来る否すでに來ている問題は生体作用物質に就いてのその微視的取扱いである. 酵素-基質複合体, 酵素-助酵素複合体, とくにそれらの励起状態に関する知識の追求である. 分光学がこれに対して果す役割を考えるとき前途に洋々たる希望がもてる. 基礎的知見の理解, しかも誤なく応用することは生物学徒にとつて必ずしも容易でない. 巧妙な生体现象をその複雑さから抽象することは基礎学者にとつて必ずしも容易ではないだろう. ここにこの跨る領域に基礎並に應用の両者が協力すべき要請がひしひし感ぜられる.