チロシン代謝におよぼすニコチン酸とトリプトファンの影響

中嶋 洋子*, 鈴江 緑衣郎*, 真田 宏夫**, 宇津木 良夫***

国立栄養研究所, *成人栄養部, **基礎栄養部, ***病態栄養部

Effects of Nicotinic Acid and Tryptophan on Tyrosine Metabolism

Yoko Nakashima*, Ryokuero Suzue*, Hiroo Sanada**, Yoshio Utsuki***

*Division of Adult Nutrition, **Division of Basic Nutrition, ***Division of Nutrition and Diseases, The National Institute of Nutrition

In the nicotinic acid supplemented rats, the uptake of ^{14}C -tyrosine into brain was lower than that of the nicotinic acid deficient rats at 2 hours after the administration of ^{14}C -tyrosine. The causes of decrease in the uptake of ^{14}C -tyrosine into the brain by the administration of nicotinic acid to the nicotinic acid deficient rats was described in this paper.

(1) The nicotinic acid deficient rats converted ^{14}C -tyrosine more slowly to $^{14}\text{CO}_2$ than the nicotinic acid supplemented rats. And the disappearance of ^{14}C -tyrosine from serum was rapid by the administration of nicotinic acid to the nicotinic acid deficient rats.

(2) Nicotinic acid caused no change in tyrosine concentrations in the liver. Therefore, increased production of labeled CO_2 by the administration of nicotinic acid did not affect the dilution of the labeled tyrosine by cold tyrosine.

(3) Tyrosine transaminase activity observed in the nicotinic acid deficient rats was lower than that of the nicotinic acid supplemented rats.

Therefore, the increased activity of tyrosine transaminase in liver and the increased turnover of ^{14}C -tyrosine in the body after the administration of nicotinic acid to the nicotinic acid deficient rats decreased the uptake of ^{14}C -tyrosine into the brain.

Jap. J. Nutr., 36 (2) 61~68 (1978)

ニコチン酸は主として NAD (NADH), NADP (NADPH) などの酸化還元助酵素の形で広く動物組織に含まれており, 組織中では肝臓に最も多い。ニコチン酸欠乏は皮膚炎, 粘膜炎, および多彩な精神・神経症状などを伴うペラグラの原因ともなっており, ニコチン酸拮抗物質の投与により, 重篤な精神・神経症状をひき起こし, ついには視床下部に壊死を起こすことが報告されている¹⁾²⁾。

前報において, ニコチン酸欠乏飼料で飼育したシロネズミ脳では, 脳・神経ホルモンであるカテコールアミンの濃度がニコチン酸投与群に比べて減少しており, これはニコチン酸欠乏になるとカテコールアミンの生合成が減少するためであることを報告した³⁾。この際, ^{14}C -tyrosine をニコチン酸欠乏および投与シロネズミに腹腔内注射し, 2 時間後に, 脳を摘出してとりこまれた ^{14}C -tyrosine の量を測定したところ, 両群の脳のチロシン濃度は変わらないにもかかわらず, ニコチン酸欠乏群では投与群に比べて, 脳にとりこまれた ^{14}C -tyrosine の量は 2 倍もの増加がみられた。そこで今回はこの原因を明らかにすることを試みた。

まず, ニコチン酸欠乏シロネズミとニコチン酸投与シロネズミに ^{14}C -tyrosine を腹腔内投与した後の呼吸中への $^{14}\text{CO}_2$ の排出量, 血清中の ^{14}C -tyrosine の消失速度および脳への ^{14}C -tyrosine のとりこみ速度について経時的に変化を調べたところ, ニコチン酸を投与した群では ^{14}C -tyrosine の分解が促進していることがわかった。そこで, 次に肝臓の tyrosine と tryptophan の濃度および tyrosine transaminase [2, 6, 1, 5]

活性と tryptophan pyrrolase (oxygenase) [1, 13, 1, 12] 活性を測定し、ニコチン酸がどのような機構を介して ^{14}C -tyrosine の分解を促進しているか調べたので報告する。

実験方法

1. 実験動物および飼料組成

実験には Sprague Dawley 系の雄シロネズミ (3 週齢, 初体重 50~60 g) を用いた。ニコチン酸欠乏飼料 (tryptophan imbalanced diet) で 4 週間飼育し、ニコチン酸欠乏シロネズミを作った。飼料および水は自由摂取とした。ニコチン酸欠乏飼料で飼育すると 2 週目ぐらいから体重の増加はほとんどみられなくなり、体毛が抜けてニコチン酸欠乏症状を示した。

ニコチン酸欠乏飼料の組成は前報に記載したとおりである³⁾。シロネズミでは tryptophan からニコチン酸が生合成されるためニコチン酸欠乏になりにくいので、tryptophan imbalance という現象を用いて実験を行った。すなわちビタミンフリーカゼイン (70 g/kg diet) に DL-methionine (3g/kg), DL-threonine (3.6 g/kg), L-lysine-HCl (1.26 g/kg), DL-phenylalanine (1.4 g/kg), L-histidine (0.38 g/kg) を加え、tryptophan が制限アミノ酸になるようにした。ビタミン混合からはニコチン酸を除いた。このニコチン酸欠乏飼料 100 g に対して 10 mg のニコチン酸を添加した飼料をニコチン酸添加飼料とした。

2. ^{14}C -tyrosine 投与後の呼気中, 血清中, 脳中の放射活性の測定

3 週齢のシロネズミにニコチン酸欠乏飼料を 4 週間与えた後, 2 群に分けた。1 群にはニコチン酸 1 mg を 2 ml の生理食塩水に溶かして腹腔内注射し, 他群には生理食塩水 2 ml を同様にして与えた。ニコチン酸を投与して 24 時間後に L-tyrosine- ^{14}C (体重 100 g 当り 10 μCi) を両群のシロネズミに腹腔内注射し, すぐにガラス製の代謝ケージに入れて呼気を集めた。呼気は monoethanolamine-methyl cellosolve (2:1) に吸収させた。この溶液 1 ml を methanol に溶き, シンチレーター (POPOP 50 mg と PPO 2 g をトルエン 500 ml に溶く) を 10 ml 加えて, 液体シンチレーションカウンターで測定した。

シロネズミは ^{14}C -tyrosine を投与して 30 分, 1 時間, 2 時間, 3 時間, 4 時間後に断頭し, 血液を採取し, 脳を摘出した。

脳は 0.4 N-過塩素酸 10 ml を加えて homogenize し, homogenate を 12,000 $\times$ g で 15 分間遠心して上澄を集めた。上澄を 2 ml とり, KOH で pH を 7.2~7.4 に調整し, 3 ml にメスアップした。生じた白色沈澱を遠心して除き, その上澄を 1 ml バイアルビンにとり, Bray の溶液⁴⁾ を 10 ml 加えて液体シンチレーションカウンターで測定した。

血清 3 ml に 4 N-過塩素酸を 3 ml 加えて除たん白し, この上澄を 2 ml とって KOH で pH 7.2~7.4 に調整し, 4 ml にメスアップした。この溶液の遠心上澄を 1 ml バイアルビンにとり, Bray の溶液を 10 ml 加えて液体シンチレーションカウンターで測定した。

3. 酵素活性の測定

肝臓を 2 g とり, 0.14 M KCl を 6 ml 加えて homogenize した。homogenate は 15,000 $\times$ g で 30 分遠心し, 上澄を集めた。この上澄を酵素活性の測定に用いた。

Tyrosine transaminase 活性の測定は Diamondstone の方法により測定し⁵⁾, tryptophan pyrrolase 活性の測定は Knox らの方法により⁶⁾ 行なった。

4. 肝臓の tyrosine および tryptophan 濃度の測定

酵素活性の測定の場合と同様の肝臓 homogenate の上澄を tyrosine および tryptophan の測定に用いた。この上澄 1ml に50%トリクロル酢酸を 0.2ml 加えて除たん白し, tyrosine および tryptophan の測定に用いた。

Tyrosine 濃度は Udenfriend らの nitrosonaphtol 法により⁷⁾ 定量した。また tryptophan は Denklaらの方法により⁸⁾ 測定した。

実験結果

1. 体重, 肝重量に及ぼすニコチン酸の影響

3 週齢の雄シロネズミをニコチン酸欠乏飼料およびニコチン酸添加飼料で 4 週間飼育したときの体重と肝重量を測定するとニコチン酸添加群ではニコチン酸欠乏群に比べて増加していた (Table 1)。またニコチン酸添

Table 1 Effect of nicotinic acid on liver and body weight

Diet	Body weight (g)	Liver weight (g)	$\frac{\text{Liver weight}}{\text{Body weight}} \times 100(\%)$
Nicotinic acid supplemented	189 $\pm$ 11	11.1 $\pm$ 0.5	5.9 $\pm$ 0.1
Nicotinic acid deficient	98 $\pm$ 4	4.8 $\pm$ 0.1	4.8 $\pm$ 0.1
Nicotinic acid deficient+Nicotinic acid (1mg)	109 $\pm$ 5	7.3 $\pm$ 0.1	6.5 $\pm$ 0.3
Nicotinic acid deficient+Tryptophan (10mg)	107 $\pm$ 3	6.9 $\pm$ 0.4	6.5 $\pm$ 0.2
Commercial*	267 $\pm$ 7	11.9 $\pm$ 0.2	4.5 $\pm$ 0.1

Male rats (50~60g) were fed a nicotinic acid deficient diet or nicotinic acid supplemented diet for 4 weeks. The nicotinic acid deficient rats were given nicotinic acid (1 mg/rat) or tryptophan (10 mg/rat) intraperitoneally 24 hours before death. * The group of rats were given a commercial diet during the experimental period. All values are the average $\pm$ standard error of the mean of six rats.

加群の肝臓は白くなっており, 肉眼的に脂肪の蓄積が認められ, 体重に対する肝重量はニコチン酸欠乏群に比べてニコチン酸添加群は増加していた。ニコチン酸欠乏シロネズミにニコチン酸 (1 mg/1匹) または tryptophan (10 mg/1匹) を腹腔内注射し, 24時間後に肝臓を摘出して調べると肉眼的に脂肪の蓄積が認められ, 肝重量は30%の増加がみられた。体重あたりの肝重量もまたニコチン酸または tryptophan の投与により増加した。

2. ^{14}C -tyrosine の代謝に及ぼすニコチン酸の影響

^{14}C -tyrosine を腹腔内に投与し, 2時間後に脳にとりこまれた放射活性を調べるとニコチン酸投与群ではニコチン酸欠乏群の約 1/2 量であることを前報で報告した³⁾。そこでこの実験ではニコチン酸投与群ではニコチン酸欠乏群に比べて ^{14}C -tyrosine の脳へのとりこみが減少する原因を明らかにすることを試みた。

前報³⁾ で報告したように ^{14}C -tyrosine を腹腔内投与し, 2時間後に ^{14}C -tyrosine の脳へのとりこみを調べるとニコチン酸添加群ではニコチン酸欠乏群に比べて約半分に減少していた。そこでニコチン酸の投与によって ^{14}C -tyrosine の脳へのとりこみが減少する原因を明らかにすることを試みた。

ニコチン酸欠乏シロネズミにニコチン酸を 1 mg 腹腔内注射して24時間後に ^{14}C -tyrosine (体重100 g 当り 10 μCi) を腹腔内注射し, 呼気中に排泄された $^{14}\text{CO}_2$, 血清中の ^{14}C -tyrosine, 脳にとりこまれた ^{14}C -tyrosine の量を経時的に測定した (Fig. 1)。

A. Amount of radioactivity in expired CO_2 (cumulative dpm)

B. Amount of radioactivity in serum ($\text{dpm} \times 10^3/\text{ml}$)

C. Amount of radioactivity in brain ($\text{dpm} \times 10^3/\text{ml}$)

Fig. 1 The effect of nicotinic acid on ^{14}C -tyrosine evolution and amount of radioactivity in serum and brain after ^{14}C -tyrosine injection. Nicotinic acid deficient rats were injected nicotinic acid (2 mg/100 g body weight) (—•—) or saline solution (2 ml/100 g body weight) (×---×) 24 hours before ^{14}C -tyrosine ($10 \mu\text{Ci}/100 \text{ g}$ body weight) injection and $^{14}\text{CO}_2$ was collected as described under "Methods". The amount of radioactivity in expired CO_2 , serum and brain was assayed as described under "Methods". A: Amount of radioactivity in expired CO_2 . B: Amount of radioactivity in serum. C: Amount of radioactivity in brain.

呼吸中に排出された $^{14}\text{CO}_2$ の量は ^{14}C -tyrosine 投与後、30分、1時間、2時間、3時間、4時間いずれの時点でもニコチン酸投与群ではニコチン酸欠乏群よりも増加していた (Fig. 1, A)。血清中の ^{14}C -tyrosine はニコチン酸投与群ではニコチン酸欠乏群に比べて減少しており、ニコチン酸投与群では ^{14}C -tyrosine の分解がすみやかであると考えられた (Fig. 1, B)。また脳にとりこまれた ^{14}C -tyrosine はニコチン酸投与群の方がニコチン酸欠乏群より少なかった (Fig. 1, C)。これらの結果からニコチン酸投与群では ^{14}C -tyrosine の分解が盛んになり、血清中の ^{14}C -tyrosine のレベルがすみやかに低下するため、 ^{14}C -tyrosine の脳へのとりこみが減少すると考えられた。

3. 肝臓の tyrosine および tryptophan 濃度に及ぼすニコチン酸の影響

ニコチン酸によって肝臓の tyrosine 濃度が変わり、 ^{14}C -tyrosine の稀釈が変わるため分解速度に影響を与えていることが考えられるので、ニコチン酸欠乏群および添加群、ニコチン酸欠乏群にニコチン酸または tryptophan を投与したときの肝臓の tyrosine 濃度を測定した (Table 2)。またニコチン酸または tryptophan の投与により、肝臓の tryptophan 濃度も変化していることが考えられるのであわせて測定した。

肝臓の tyrosine 濃度はニコチン酸欠乏群、ニコチン酸添加群、ニコチン酸欠乏群にニコチン酸または tryptophan を投与した群、いずれの群の間にも有意差はみられなかった。しかし tryptophan 濃度はニコチン酸欠乏群ではニコチン酸添加群に比べて減少していたが、ニコチン酸または tryptophan の投与により増加した。この結果から、ニコチン酸の投与により ^{14}C -tyrosine の分解速度が速くなるのは、肝臓の cold の tyrosine 濃度の変化により ^{14}C -tyrosine の稀釈率が変わったためではないと考えられた。

Table 2 Effect of nicotinic acid on tyrosine and tryptophan concentrations in liver

Diet	Tyrosine ($\mu\text{g/g}$ liver)	Tryptophan ($\mu\text{g/g}$ liver)
Nicotinic acid supplemented	110.2 ± 0.07	10.6 ± 0.43
Nicotinic acid deficient	119.4 ± 0.13	5.5 ± 0.41
Nicotinic acid deficient + Nicotinic acid (1 mg)	108.3 ± 0.74	7.6 ± 0.41
Nicotinic acid deficient + Tryptophan (10 mg)	110.6 ± 0.46	8.8 ± 0.36
Commercial	120.4 ± 0.03	14.0 ± 0.33

The experiment is the same as given in Table 1. All values are the average $\pm$ standard error of the mean of six rats.

Fig. 2 Effect of nicotinic acid and tryptophan on tyrosine transaminase activity in liver. Male rats (50~60 g) were fed a nicotinic acid deficient diet or a nicotinic acid supplemented diet for 4 weeks. The nicotinic acid deficient rats were given nicotinic acid (1 mg/100 g body weight), tryptophan (10 mg/100 g body weight) or saline (2 ml/100 g body weight) intraperitoneally 24 hours before sacrifice. *The group of rats were given a commercial diet during the experiment. The values are the average of six rats. The vertical bars are the standard errors of the mean. Tyrosine transaminase activity is expressed in micromoles of *p*-hydroxyphenylpyruvate formed per hour per mg protein. The results are the average of six rats. The vertical bars are the standard errors of the mean.

4. 肝臓のtyrosine transaminase 活性に及ぼすニコチン酸の影響

ニコチン酸の投与により ^{14}C -tyrosine の分解が速くなる原因を明らかにするため、tyrosine の分解に関与している酵素である肝臓の tyrosine transaminase 活性を調べた。

肝臓の tyrosine transaminase 活性はニコチン酸添加群ではニコチン酸欠乏群の3倍に増加していた (Fig. 2)。また、ニコチン酸欠乏にしたシロネズミにニコチン酸または tryptophan を腹腔内注射し、24時間後に tyrosine transaminase 活性を測定すると酵素活性は増加していた。

そこで、ニコチン酸の投与により ^{14}C -tyrosine の分解が速くなるのは、tyrosine の分解酵素である tyrosine transaminase 活性が増加するためであると考えられた。

5. 肝臓の tryptophan pyrrolase 活性に及ぼすニコチン酸の影響

tyrosine transaminase は副腎皮質ホルモンなどのホルモンを介して酵素誘導が起こることが知られてい

る。ニコチン酸によるこのような酵素活性の増加は副腎皮質ホルモンを介しているかどうか推定するため、tyrosine transaminaseと同様に副腎皮質ホルモンを介して酵素誘導が起こることが知られているtryptophan pyrrolase 活性についてニコチン酸の影響を調べた。

Fig. 3 Effect of nicotinic acid and tryptophan on tryptophan pyrrolase activity in liver.

The experiment condition is the same as given in Fig. 2.

Tryptophan pyrrolase activity is expressed in micromoles of kynurenine formed per hour per mg protein.

肝臓の tryptophan pyrrolase 活性はニコチン酸欠乏群ではニコチン酸添加群に比べて増加していたが、ニコチン酸を投与すると24時間後には酵素活性はニコチン酸添加群と同じレベルにまで低下した。しかし tryptophan 投与群ではニコチン酸投与群ほどに tryptophan pyrrolase 活性の低下はみられなかった。このように tyrosine transaminase 活性と tryptophan pyrrolase 活性はニコチン酸投与による酵素活性の変動のしかたが逆になっていることから、ニコチン酸は副腎皮質ホルモンを介して、tyrosine transaminase 活性を増加させているのではないと推測された。

考 察

ニコチン酸投与シロネズミではニコチン酸欠乏シロネズミに比べて、腹腔内に投与した ^{14}C -tyrosineの脳へのとりこみが減少する原因は、ニコチン酸が ^{14}C -tyrosineの分解を促進するためだと推定された。ニコチン酸の投与により、 ^{14}C -tyrosineの分解が促進する原因として、(1)肝臓の tyrosine 濃度に差異があるため ^{14}C -tyrosineの稀釈率が異なる。(2)tyrosineの分解酵素である tyrosine transaminase 活性が増加する。この2点が考えられる。

肝臓の tyrosine 濃度には両群で差はなかったので、ニコチン酸の投与により ^{14}C -tyrosineの分解が促進するのは ^{14}C -tyrosineの稀釈率が違うためではないと考えられた。しかしニコチン酸投与群では肝臓の tyrosine transaminase 活性はニコチン酸欠乏群の3～4倍に増加していたことから、分解酵素活性の増加により ^{14}C -tyrosineの分解が盛んになったのではないかと推定された。

tyrosine transaminase は glucocorticoid や hydrocortisone のような副腎皮質ホルモン、食餌の摂取、アミノ酸混合物の投与などにより酵素活性が増加することが知られている⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾。また肝臓の tryptophan pyrrolase 活性は、副腎皮質ホルモンや tryptophan の投与により増加することが知られている⁽¹¹⁾⁽¹²⁾。本実験

で、tyrosine transaminase活性はニコチン酸の投与で約3倍に増加したが、tryptophan pyrrolase活性は逆にニコチン酸添加群の方がニコチン酸欠乏群に比べて減少していた。このようにニコチン酸の投与により、両酵素活性の変動が異なるのでニコチン酸は副腎皮質ホルモンを介して、tyrosine transaminase 活性に影響を与えているのではないと考えられた。

tryptophan pyrrolase 活性はニコチン酸添加飼料群の方がニコチン酸欠乏飼料群よりも減少しているのは、ニコチン酸欠乏飼料にニコチン酸を添加することによって tryptophan が制限栄養素になるためと考えられた。また tryptophan pyrrolase 活性はニコチン酸欠乏シロネズミにニコチン酸を投与しても増加しなかったが、tryptophan を投与すると増加した。これらのことから tryptophan pyrrolase の活性は tryptophan により影響を受けていると考えられた。またニコチン酸欠乏群で肝臓の tryptophan の濃度が減少しているのは tryptophan pyrrolase 活性が増加していることから分解が促進された結果ではないかと考えられた。

tyrosine transaminase 活性はニコチン酸欠乏群ではニコチン酸添加群に比べて減少していたが、ニコチン酸または tryptophan の投与により増加した。この理由としてニコチン酸欠乏群での飼料摂取量の減少が考えられた。

ニコチン酸欠乏群では実験最終日の飼料摂取量は 3.5 ± 0.5 g であり、ニコチン酸添加群では 16 ± 4 g であり、ニコチン酸欠乏群ではニコチン酸添加群より飼料摂取量は少なかったが、ニコチン酸欠乏群にニコチン酸または tryptophan を投与すると飼料摂取量は 10.4 ± 3 g と増加した。このようにニコチン酸投与群では飼料摂取量が増加したにもかかわらず肝臓の tyrosine 濃度には変化がないこと、 ^{14}C -tyrosine を腹腔内投与するとニコチン酸投与群では呼気中の $^{14}\text{CO}_2$ の排出がニコチン酸欠乏群に比べて増加したこと、ニコチン酸投与群ではニコチン酸欠乏群に比べて肝臓の tyrosine transaminase 活性が増加していたことなどからニコチン酸投与群では tyrosine の分解が促進しているものと考えられた。

要 約

多彩な精神・神経症状を呈するペラグラの一原因ともなっている tryptophan imbalanced diet で飼育したシロネズミでは、脳・神経ホルモンであるカテコールアミンの生合成が減少していることを前報で報告した。この際 ^{14}C -tyrosine を腹腔内注射し、2時間後に脳を摘出して、脳にとりこまれた放射活性を測定したところ、ニコチン酸投与群ではニコチン酸欠乏群に比べて脳にとりこまれた放射活性は減少していたので、この原因を明らかにすることを試みた。

1) ニコチン酸欠乏および投与シロネズミに ^{14}C -tyrosine を投与し、呼気中に排泄される $^{14}\text{CO}_2$ の量と、血清中と脳中の放射活性について経時的な変化を調べた。ニコチン酸投与群ではニコチン酸欠乏群に比べて、呼気中に排泄される $^{14}\text{CO}_2$ の量は増加しており、血清中の放射活性の減少速度は速かった。したがって脳にとりこまれる放射活性は減少していた。

2) 肝臓の tryptophan 濃度はニコチン酸欠乏群ではニコチン酸添加群に比べて減少していたが、ニコチン酸または tryptophan の投与により増加した。しかし肝臓の tyrosine 濃度にはニコチン酸添加群、ニコチン酸欠乏群、ニコチン酸または tryptophan 投与群、どの群にも差はみられなかったので、 ^{14}C -tyrosine の cold の tyrosine による希釈率が異なるためにニコチン酸投与群では呼気中の $^{14}\text{CO}_2$ の排泄が増加したのではないと考えられた。

3) 肝臓の tyrosine transaminase 活性はニコチン酸投与群ではニコチン酸欠乏群に比べて増加していた。

しかし tryptophan pyrrolase 活性は逆にニコチン酸欠乏群の方がニコチン酸投与群よりも増加していた。

これらの結果からニコチン酸欠乏シロネズミにニコチン酸を投与すると呼気中への $^{14}\text{CO}_2$ の排泄が増加すること、肝臓の tyrosine transaminase 活性が増加することから tyrosine の分解が盛んになっていると推定された。

文 献

- 1) Steinberg, S.S. and Philips, F.S. : *Science*, **127**, 644 (1958)
- 2) Woolley, D.W. : *J. Biol. Chem.*, **193**, 497 (1945)
- 3) Nakashima, Y., Sanada, H., Utsuki, Y. and Kawada, S. : *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **24**, 67 (1978)
- 4) Bray, A.G. : *Anal. Biochem.*, **1**, 279 (1960)
- 5) Diamondstone, T.I. : *Anal. Biochem.*, **16**, 395 (1966)
- 6) Knox, W.E. and Mehler, A.H. : *J. Biol. Chem.*, **187**, 419 (1950)
- 7) Udenfriend, S. and Cooper, J.R. : *J. Biol. Chem.*, **196**, 227 (1952)
- 8) Denkla, W.D. and Dewey, H.K. : *J. Lab. and Clin. Med.*, **69**, 160 (1964)
- 9) Holter, D., Wicks, W.D. and Kenney, F.T. : *J. Biol. Chem.*, **242**, 1053 (1967)
- 10) Tomkins, G.M., Gelehrter, T.D., Granner, D., Martin, D.W., Samuels, H.H. and Thompson, E.B. : *Science*, **166**, 1474 (1969)
- 11) Labrie, F. and Korner, A. : *J. Biol. Chem.*, **243**, 1116 (1968)
- 12) Feigelson, P. and Greengard, O. : *J. Biol. Chem.*, **237**, 3714 (1962)

(受付 : 53年3月21日)