Thermodynamics of Enzymatic Transamination of F-GOT in Normal Fowl Blood Plasma

III. Relationship between Temperature and Velocity in F-GOT Reaction

Kazuhiko YAMADA

*Department of Animal Physiology and Feeding, College of Agriculture,
University of Osaka Prefecture, Sakai-shi, Osaka 591*

(Received for publication September 8, 1975)

Abstract. The effect of temperature on F-GOT reaction was analyzed kinetically by varying temperature within a range from 0 to 60°C. The results obtained are summarized as follows.

1. The rate of F-GOT-catalyzed reaction increased gradually with a rise in temperature within a range from 4 to 40°C. It passed through a maximum at 50°C and decreased rapidly, if not precipitously, at a temperature between 56 and 60°C. On the contrary, the addition of pyridoxal 5'-phosphate (PALP) to such heat-treated preparations increased or restored the activity in part. The molar concentration of PALP required for maximal activity was 1×10^{-3} M. An apparently maximal activation with PALP was also observed in preparations stabilized at a constant temperature of 20°C.

2. The GOT reaction in both directions met the condition of conventional first-order reactions. No special equilibrium, however, was recognized in an approach to equilibrium in the reaction in both directions.

3. The temperature coefficient Q_{10} varied from 1 to 4 at a temperature between 0 and 50°C. It increased by approximately 1.3 times for a rise of every 10°C.

4. Reactions took place a little later than usual when carried out at a temperature below 20°C. The reaction velocity, however, was found to increase continuously with a rise in temperature within a range from 4 to 40°C. The Arrhenius equation was used to express the relationship between the temperature concerned and the average value of energy of activation. When calculated from the slope of the straight line in Arrhenius' graph, this energy was 9,024.18 calories per mole. On the other hand, when calculated from the $\log V_{\max}$ -vs.- $1/T$ point at 50°C, the energy of activation showed a tendency to proceed toward inferiority, deviated from presenting any linear correlation.

From these results, it was concluded that F-GOT might be stable and retain full activity at 40°C.

鶏血漿中 F-GOT の酵素作用の性質について

III. F-GOT 反応における速度と温度との関係

山田一彦

大阪府立大学農学部家畜生理・飼養学教室

鶏血漿中 F-GOT [20] の活性測定条件としての温度範囲は、すでにその測定法¹⁾[17] の中で吟味されているが、当該温度下における F-GOT 反応の速度論的な解析や、同反応における補体的要素 [8, 13] の活性発現に与える影響に関する検討は行われていない。

そこで本報告では、これらの点を明らかにするために、 Q_{10} 方式 [14] に準拠して細分した 0-60°C [6, 13-15] 間の各温度区における耐熱処理血漿試料中 F-GOT の比活性 [4, 13, 15] と、それらに対する Pyridoxal 5'-phosphate (PALP) 効果 [7, 8] について検討を加え [17, 22], 同時に、同酵素の反応速度 [14] および反応次数 [1, 4] を、系上²⁾[17-20] 対応する R-GOT 系酵素 [18, 19] 群を対照として測定した。そしてさらに、この場合の反応速度定数 (k) [1, 14] の温度変化から、見掛けの賦活エネルギー (E_A) [13, 14] および温度係数 (Q_{10}) [14] を求め、これらを表現様式として、本系酵素反応における反応速度と温度間関係の速度論的解析を試みた。

材料および方法

A. 実験材料

Arbor Acres 種、8カ月齢、平均体重 3.65 kg の雄 60羽を用い、頸静脈から採血した後、型のごとく分離した二重蔭酸加血漿 [17] を試料として用いた。

本試料の pH は 7.9 ± 0.1 、総蛋白質量は 4.6 ± 0.1 g/dl である。

B. 実験方法

1. 耐熱処理後の PALP 添加試料の作成とその活性測定法

一定量の血漿を用いて、4, 10, 20, 30, 40, 50, 56 および 60°C 下で、それぞれ30分間加熱処理し、0°C, 700×g, 15分の条件下で遠沈した後、得られた各上清部を耐熱処理試料として二分した。そして両試料群の pH をいずれも 7.4 に調整した後、その一方に PALP を、 $0.1 \times 10^{-3}M$ もしくは $0.2 \times 10^{-3}M$ 差で、終濃度

$(0.1-2.0) \times 10^{-3}M$ の割合に添加し、20°C 下で30分間反応させた後、0°C, 10分間冷却した“PALP 添加試料”³⁾[7, 8, 22] を調製し、残余の耐熱処理試料を対照に、型のごとく活性を測定 [17] した。測定活性は、比活性 [μM Oxaloacetate (Ox)/mg protein N] [17] として表現した。反応液中 PALP 濃度の検定には、Dempsey ら [2]⁴⁾の方法を用いた。なお、本実験で使用する PALP は、0.1mM PALP-0.1M PBS, pH 7.4 の条件下においては、418m μ 位成分 [12] として純度 95% が確認されている⁵⁾[22]。

2. F-GOT 反応の経時変化と反応次数の解析法

本系反応の経時変化の解析は、反応温度条件 4, 10, 20, 30, 40 および 50°C 下における経過時分 10, 20, 30, 40, 50, 60, 120, 180 および 240 分時の血漿試料中 F, R 系 GOT⁶⁾の比活性 [17] および反応速度 ($v = \Delta[P]/\Delta t = -\Delta[A]/\Delta t$) [14] の経時プロットによって行った。また、本系反応の反応次数は、反応時間 0-60分の経時分 (t) に対する $\log(a-x)$ プロット [1] を作図し、その直線性向の有無によって解析した。この場合の反応速度定数は、($k = 1/a \cdot x/(t_2 - t_1)$) [1] を基本式として算定した。

3. F-GOT 反応における見掛けの E_A 測定法

Velick ら [16] の方法に準拠して調製 [21] した“基質 (Sub.) α -Ketoglutarate (KG)” [21, 22] 群を用いて、4, 10, 20, 30, 40 および 50°C 下における血漿試料中 F-GOT の反応初速度 (V_i) [21] を ($v/t-t$) グラフ法 [11] によって求め [21, 22], 各温度区における V_i と当該“基質濃度” ($[s]$) 間の逆数値関係を、Lineweaver-Burk (L-B) プロット [6, 13-15, 21] として作図した。そして $1/V_i = 0$ に外挿して得られた各温度区における最大反応速度 (V_{max}) [21, 22] 値の ($\log V_{max} - 1/T$) プロット [6, 11] の直線の勾配から $\tan^{-1}\alpha$ を測定し、ついで Arrhenius の式 ($k = Ce^{-E_A/RT}$) [14] の変形式 ($\log V_{max} = \log C - E_A/4.574T$) [11] を用いて、本系反応における見掛けの E_A を算定した。

4. F-GOT 反応における Q_t の測定法

反応温度 0°C 下の F-GOT の V_i 値を基準 (v_{t1}) に、 10°C 差で測定した $10\text{--}50^\circ\text{C}$ 区内の各 $V_i(v_{t2})$ 値を、測定式 $Q_t = v_{t2}/v_{t1}$ [14] にあてはめ、それぞれ Q_{10} 値として各温度下における F-GOT 反応の Q_t を求めた。

結 果

A. 耐熱処理試料の F-GOT 活性と PALP によるその賦活効果

耐熱処理温度 $4\text{--}50^\circ\text{C}$ 区試料中の F-GOT 活性は、処理温度の上昇とともに漸増し、 50°C 処理試料においてはその最大を示した。しかしこれよりさらに高温度側の $56\text{--}60^\circ\text{C}$ 処理試料群では、明らかに活性の減衰が認められた。

Fig. 1 (下段) に、その実際例を図示した。なお、図中、活性温度間関係を示す山型曲線上の破線部分は、同関係下の実線部分と比較して、耐熱処理温度の間隔に差があることを示している。また、矢印で指示した試料群の耐熱処理温度は 4°C 、そして 50°C 区に次ぐ高温側二温度区でのそれは、それぞれ 56 および

60°C である。また、同図、左縦軸の外側数値は耐熱処理試料の活性単位を示すもので、同内側数値は、 4°C 区処理下の試料活性を 0 とした場合の各温度区における試料活性の増減の単位を示している。

これら耐熱処理試料に、PALP を終濃度 $(0.1\text{--}1.0) \times 10^{-3}\text{M}$ の割合に添加 (方法: B-1 項) した場合の F-GOT 活性は、PALP 濃度の増加に対して比例的に増大し、 $1 \times 10^{-3}\text{M}$ の PALP 添加試料でのそれは最大を示した。しかし、 $(1.1\text{--}2.0) \times 10^{-3}\text{M}$ 相当の PALP 添加によって、活性は著明に減少した。

Fig. 2 は、 4°C 区耐熱処理試料での上述関係を図示したものである。

また、これらの結果に準拠して調製した終濃度 $1 \times 10^{-3}\text{M}$ の PALP を含む各耐熱処理試料中 F-GOT の活性-温度間関係を図示すると、Fig. 1 (上段) のとおりである。それによると、当該試料中 F-GOT に対する PALP 効果は、対照試料中同活性 (Fig. 1, 下段) の 1.9-2.3 倍に相当する活性の賦活もしくは変性の復活現象 [14] として示され、それは 20°C 処理試料において最大であった。しかし、耐熱処理試料中最も大きな活性を示した 50°C 区試料における同効果は、最

Fig. 1. Stability of F-GOT to heating for 30 minutes and its activation by pyridoxal 5'-phosphate

Remarks.

1. The result obtained is expressed by the mean of 60 experiments.
2. The vertical bar indicates the standard deviation.

Fig. 2. Effect of pyridoxal 5'-phosphate concentration on F-GOT activity

Remarks.

1. PALP: Abbreviation for pyridoxal 5'-phosphate.
2. The molar concentration of PALP required for maximal activity is indicated by arrow.

も小さい。なお、本活性曲線の単位は、Fig. 1 (下段)における耐熱処理試料に対する場合と同様の関係に従って、右縦軸内・外の数値によって示してある。

各反応系の反応前後の条件 [17, 22] には、全く変化はない。

B. F-GOT 反応の経時変化と反応次数

反応時間 0-240 分の経過時間内にあって、4-50°C 間の各温度区 (方法: B-2 項) において、それぞれ求められた双曲線型の F-GOT 活性曲線によると、反応開始後 10-60 分にかけて漸増した活性は、120 分経

過後には最大となり、180 分に移行、240 分経過時にはわずかながら減衰傾向を示した。この間、F-GOT の反応速度は、経時的に漸減傾向を見せるが、副次反応の介在による反応速度の加速、もしくは減速の傾向は認められない。また、上述各温度下における反応 0-60 分時の反応速度定数は、低温度側から、それぞれ 2.42, 3.05, 3.47, 3.79 および 4.12×10^{-2} で、その $[\log(a-x)-t]$ プロットは、いずれも直線性向を見せ、当該反応は、形式上、一次の反応形式をとった。しかしこれらの F-GOT 反応と、反応 0-60 分間内にある、それぞれ一次の反応型式を示す二つの副次反応が介在する、系上対応する R-GOT 系酵素由来の反応との間には、直接的な平衡関係は存在しない。

Fig. 3-4 は、反応温度 40°C 下における、F, R 系 GOT の比活性 (Fig. 3) および反応速度 (Fig. 4) の経時変化の実例を図示したものである。なお、Fig. 3 左縦軸の外側数値は、産生 Ox 量による F-GOT の比活性単位を、同軸内側数値は R-GOT 反応液中の Ox 残量単位を、それぞれ示している。また、同図、

Fig. 3. Equilibrium of the reaction

Remarks.

1. The reaction was run in the forward direction (○—○) in the presence of 2 mM of alpha-ketoglutarate and 2×10^3 mM of L-aspartate, at pH 7.4 (0.1 M phosphate buffer), at 40°C. For measurement of the reverse reaction (●—●), the same method was used, except that 2 mM oxaloacetate and 2×10^3 mM L-glutamate were replaced by alpha-ketoglutarate and L-aspartate.

The beginning of the reaction is indicated by arrow.

2. R-GOT activity is expressed by a (○—○) curve.
3. See item 2 of the remarks in Fig. 1.

Fig. 4. Time course of reaction velocities

Remarks.

1. The arrow indicates the reaction velocity for 10 minutes after the start of reaction.
2. See items 1 and 2 of the remarks in Fig. 3.

右縦軸数値は、産生 α -KG 量で表わした R-GOT 系酵素の比活性単位を示すものである。

各経過時試料を含む反応系の反応前後の条件には、経時的な変化は認められない。

C. F-GOT 反応の見掛けの E_A 値

反応温度 4-40°C 区 (方法: B-3項) の ($\log V_{\max} - 1/T$) プロットは、20°C 区の ($\log V_{\max} - 1/T$) 点を交点とする両側温度区にかけて、直線 a, b から成る折線として示された。しかし、反応温度 50°C 区における ($\log V_{\max} - 1/T$) 点は、上述両直線関係の埒外にプロットされた。

Fig. 6 は、4-50°C 間の各温度区における (V_i [s]) 関係の L-B プロット (Fig. 5) から求められた $V_{\max}$ を、($\log V_{\max} - 1/T$) 関係に置きかえて作図したもので、直線 a, b の各 $\tan^{-1}\alpha$ 角から、それぞれ算定された 4-40°C 区における F-GOT 反応の見掛けの E_A 値は、Table 1 に示すとおりである。また、同図、 $\log V_{\max}$ 軸上に示した (●) 印は、反応温度 50°C 下

Fig. 5. Some variations of maximum velocity with changes in temperature of reaction

Remarks.

1. Double reciprocal plot of initial steady-state velocity against alpha-ketoglutarate (KG) concentration at a given concentration of L-aspartate, at pH 7.4, at 4-50°C.
2. See References 21 and 22.

における ($\log V_{\max} - 1/T$) 点を示すものである。

D. F-GOT 反応における Q_{10} 値

0°C 区 Q_{10} を 1 とする場合の 10-50°C 区間の各 Q_{10} 値は、その低温側から 1.17, 1.33, 2.26, 3.04 および 3.85 であった。

考 察

耐熱処理温度 50°C 区の活性をピークとする山型曲線 (Fig. 1, 下段) として示された 4-60°C 区の耐熱処理試料群における F-GOT 活性の賦活もしくは復活に見られる PALP 効果 (Fig. 1, 上段) は、56-60°C 区の高温度側失活試料 (結果: A 項) をも含めて、一連の耐熱処理試料群中 F-GOT が、なお PALP との結合能 [7, 8, 12] を有し、しかもこれらを補体的要素として必要としていることを示唆するものである。しかもその PALP 効果は、一定の濃度範囲までは活性発現に比例的 (Fig. 2) [7, 8, 22] であり、20°C 処理区の試料活性をピークとする、終濃度として PALP $1 \times 10^{-3} M$ 添加の各試料の示した活性差 (Fig. 1, 上段) は、それぞれの処理温度区試料中 F-GOT の PALP 結合能の差として理解されることから、PALP 結合能において最も低く、しかも見掛け上、最大活性を示した 50°C 耐熱処理試料の活性上昇 (結果: A 項) の成因は、実

Fig. 6. Variation of maximum velocity with changes in absolute temperature

Remarks.

Between 4 and 40°C the slope of straight line a-b was yielded by logarithmic plot of maximum velocity ($\log V_{\max}$) against reciprocal of absolute temperature ($1/T$).

Table 1. Energy of activation in F-GOT reaction

Reaction	Catalyst	Temperature (°C)	Energy of activation (cal/M)
Transamination	F-GOT	4	5,118.67±212.94
		10	5,229.55±217.55
		20	11,130.33±463.02
		30	11,629.27±483.78
		40	12,013.08±499.74

Remarks.

1. Energy of activation was calculated by using the Arrhenius equation, except that $\log V_{\max}$ was used instead of $\log k$.
2. $\pm$: Standard deviation.
3. See item 1 of the remarks in Fig. 1.

質的には E_A 増加を伴わない, (Fig. 6, 結果: C項), 加熱による触媒能の当該温度下での一時的増大による熱賦活効果 [14], あるいは反応温度とは無関係な速度の部分的関与 [14] に由来するものと考えられた.

これらの事実は, 実験の条件としての温度区選択の一般則 [14] からみて, 本系反応における最適温度が, 活性曲線 (Fig. 1, 下段, 結果: A項) 上, 最大の E_A (結果: C項) およびそれに準ずる Q_t (結果: D項) を示した 40°C 区にあることを示唆するものであり, 従来, F-GOT 活性の測定条件 [17] として用いてきた当該温度区選択の有意性が, 活性-温度間の反応速度論的な解析結果からも立証されることとなった. また, 系本反応は, 形式上, 一次反応に属する反応次数を持っている (結果: B項) が, この点は, F-GOT 反応の発現に基質中 α -KG 成分濃度が支配的であり [20, 21], 反応液中に想定される α -KG 成分と産生 Ox 成分間相互の相対的な濃度比と OD 間の関係が直線的であった事実 [17, 22] とも符合している. また, 当該反応時の E_A 変化 (Table 1) は, 温度上昇に伴って, 本反応系に特徴的な Arrhenius グラフ [14] (Fig. 6) として示され, その E_A の大きさや同グラフ上の直線性向は, Nisonoff らの組織内 GOT の場合 [9, 10] と比較して明らかに相違しているところから, 本項では, これらの点について考察を加えてみる.

豚心筋を素材に調製された試料 [10] 中組織内 GOT の E_A 測定の試みは, $(\log V_i - 1/T)$ 関係を用いて, Nisonoff ら [9] によって行われているが, その場合の測定条件を, 著者の場合と比較してみると, 次のとおりである. すなわち, 基質溶媒として両者に用いられている PBS 濃度は, GOT 系酵素由来のアミノ基転移反応においては触媒の効果を持ち [3], 平衡的な反

応活性の期待される 0.03–0.12 M 範囲 [9, 22] 内の, それぞれ 0.033 M [9] および 0.1 M [22] で, その調整 pH 7.4 区も, PALP 遊離による当該酵素蛋白質の変性失活 [5, 16, 22] や, 系上産物の転化もしくは破壊 [5, 22] などを顧慮する必要のない pH 範囲 [10, 22] 内にある. しかしながら, これらを用いて調製された, α -KG 濃度として 2.5 μ M/ml を含む Nisonoff らの組織内 GOT 用基質は, 血漿中 F-GOT の $V_{\max}$ 到達に要求された, α -KG 濃度として 2.0 μ M/ml を含む基質 [21, 22] より, さらに過剰量の α -KG を含み, GOT 系酵素における “Excess Sub.” [16] による活性発現の抑制 [15, 21] が考慮される基質側条件を備えている. この点からすると, Nisonoff らの GOT 標品 [10] で算定された E_A [9] は, 実際値より幾分小さく計算されている可能性があるものと考えられる.

この数値上の同様の問題点は, Nisonoff らの行っている $(\log V_{\max} - 1/T)$ 関係による, とくに低温度下における E_A 測定の作図解析の実際においても提起され, 同関係に準拠する E_A 算定の結果は, $(\log V_{\max} - 1/T)$ 関係に従って求められた同結果と比較して, 明らかに小さく計算されることが知られている (著者). この事実は, 低温度下の GOT 系酵素反応における誘導期の現象, もしくは自家触媒 [9, 14] の影響を, 本算定法での結果には加味・考慮する必要があることを示唆するものであり, E_A 測定において, $\log k$ [6, 14] にかえて $\log V_{\max}$ 値を用いる意義 [11, 14] の論議とともに, 今後問題点が残されているが, ここでは, $(\log V_i - 1/T)$ 関係から測定した F-GOT の E_A 値を対照に, Nisonoff ら標品での同値と比較してみる.

Nisonoff らは, 13–57°C 区間の $(\log V_i - 1/T)$ グ

ラフ上にあつて直線関係を示す, 13-40°C 区間の組織内 GOT の E_A として, 12,500 cal/M を計算しているが, 温度上昇に伴う E_A 増大の範囲については触れていない. そこで同グラフを用いて, この間の E_A 変化を, 13, 20, 28, 32, 35, 38 および 40°C と判読される各温度区での ($\log V_i - 1/T$) 点プロットの $\tan^{-1}\alpha$ 角から試算した結果, 12,198.63 cal/M から 13,350.25 cal/M までが当該温度区内における E_A 増大の範囲であり, その間の平均 E_A として 12,899.35 cal/M が与えられた.

この結果から, 13°C 区 E_A を基準とする場合の 40°C 区 E_A の増加率を求めてみると, それはようやく 1.09 倍を示すに過ぎない. これに対して, 10-40°C 間の各 Q_{10} 区で測定した F-GOT の平均 E_A は, 9,807.36 cal/M であり, これは組織内 GOT のそれと比較してかなり小さい. しかし, 各 Q_{10} 区間相互の E_A 増大率は, 温度上昇とともに増加し, 40°C 区間の平均 E_A として計算された 12,013.08 cal/M は, 10°C 区間の同 E_A 4,456.76 cal/M の 2.36 倍に相当する. この見掛けの E_A 増大に関する直示的なデータは, この場合の ($\log V_i - 1/T$) グラフと比較して, 計測される数値面の一部を除き同傾向の ($\log V_{\max} - 1/T$) グラフ (Fig. 6) 上にも求めることができ, 図中, 20°C 区を境として, $\tan^{-1}\alpha$ 角の異なる二本の直線から成る折線は, 本系反応が温度上昇とともに加速されることを意味するものであり, これはまた, 温度上昇に伴う本系反応の律速段階の相違を示唆するものと考えられる. そしてこの点は, 一般酵素反応の Q_{10} 値の枠 1-5 [6, 14] 内にある F-GOT Q_{10} 値の増加傾向 (結果: D 項) にも裏付けされている.

このように, Nisonoff ら標品での E_A 増加が, 熱失活を無視することができる温度範囲 [6, 13-15] 内では直線的であるのに対して, 同温度範囲 (Fig. 1, 結果: A 項) 内における F-GOT の E_A 変化 (Fig. 6, Table 1, 結果: C 項) は, 20°C 区の両側温度区において, 二つの部分的反応の関与の可能性 [14] が考察される折線として示され, Arrhenius 式 [14] に関して適合的な両種 GOT の反応速度-温度間関係に示された解析的性状間には, 明らかな相違が認められた.

要 約

4-60°C 間各区の耐熱処理血漿試料中 F-GOT の活性曲線は, 50°C 区処理の試料活性をピークとする山型曲線として示される. また, これらの試料に対する

定量範囲の Pyridoxal 5'-phosphate (PALP) 添加の効果は, PALP 濃度に比例的な活性の賦活, もしくは復活傾向として示され, そのうち, 最高活性の発現は, 20°C 区の処理試料において認められた.

このように, 補体的要素として PALP をとる F-GOT は, 形式上, 一次の反応に属する反応次数を持ち, 熱失活を無視することができる温度範囲内の 4-40°C 区において, 反応速度定数 (k) の温度変化から求められたこれら酵素の見掛けの賦活エネルギー (E_A) は, 平均 9,024.18 cal/M である. また, Arrhenius 式に適合するこれら F-GOT の E_A 算定の基準となった, 反応初速度 (V_i) から測定された最大反応速度 ($V_{\max}$) と絶対温度 (T) 間の関係を示す, ($\log V_{\max} - 1/T$) プロット上の, 20°C 区を境とする折線グラフは, 当該温度の両側温度区では, 温度上昇とともに, 本系反応速度が律速的に変化・加速され, その反応最適温度は 40°C 区にあることを示している. この場合, 0°C 区の温度係数 (Q_t) を基準に算定した, 10-50°C 区間にあつて, 10°C 差の Q_t を示す Q_{10} 値範囲は 1-4 である.

なお, これらの反応に, 系上, 対応する R-GOT 系酵素由来の R-GOT 反応との間には, 直接的な平衡関係は存在しない.

文 献

- [1] Amsden, J. P. (1950). Speed of reaction. Catalysis. Adsorption. In *Physical Chemistry for Premedical Students*, 2nd ed., McGraw-Hill Book Co., Inc. and Kōgakusha Co., Ltd., New York, Toronto, London and Tokyo, 254-275.
- [2] Dempsey, W. B., and Christensen, H. N. (1962). The specific binding of pyridoxal 5'-phosphate to bovine plasma albumin. *J. biol. Chem.*, **237**, 1113-1120.
- [3] Fasman, G. D., and Niemann, C. C. (1951). A reinvestigation of the kinetics of the urease-catalyzed hydrolysis of urea. I. The activity of urease in the presence of sodium and potassium phosphate. *J. Amer. chem. Soc.*, **73**, 1646-1650.
- [4] Hess, B. (1963). Basis of measurement of activity. In *Enzymes in Blood Plasma*, Henley, K. S., translator, Academic Press Inc., New York and London, 130-138.
- [5] Jenkins, W. T., Yphantis, D. A., and Sizer, I. W. (1959). Glutamic aspartic transaminase. I. Assay, purification, and general properties.

- J. biol. Chem.*, **234**, 51-57.
- [6] Lehninger, A. L. (1975). Enzymes: Kinetics and inhibition. In *Biochemistry*, 2nd ed., Lehninger, A. L., editor, Worth Pub. Inc., New York, 183-216.
- [7] Meister, A., Sober, H. A., and Peterson, E. A. (1952). Activation of purified glutamic-aspartic apotransaminase by crystalline pyridoxamine phosphate. *J. Amer. chem. Soc.*, **74**, 2385-2386.
- [8] Meister, A., Sober, H. A., and Peterson, E. A. (1954). Studies on the coenzyme activation of glutamic-aspartic apotransaminase. *J. biol. Chem.*, **206**, 89-100.
- [9] Nisonoff, A., and Barnes, F. W. Jr. (1952). Mechanisms in enzymatic transamination. Kinetic studies of the glutamate-aspartate reaction. *J. biol. Chem.*, **199**, 713-728.
- [10] Nisonoff, A., Henry, S. S., and Barnes, F. W. Jr. (1952). Variables in the spectrophotometric estimation of glutamate-aspartate kinetics. *J. biol. Chem.*, **199**, 699-711.
- [11] 奥貫一男・稲垣 稔 (1956). Aminoacid decarboxylase. 酵素研究法 2, 赤堀四郎編, 朝倉書店, 東京, 713-742.
- [12] Peterson, E. A., and Sober, H. A. (1954). Preparation of crystalline phosphorylated derivatives of vitamin B₆. *J. Amer. chem. Soc.*, **76**, 169-175.
- [13] 佐竹一夫 (1965). 酵素・一般生物化学, 三共出版, 東京, 211-239.
- [14] 高宮 篤 (1955). 酵素反応の解析的研究法. 酵素研究法 1, 赤堀四郎編, 朝倉書店, 東京, 198-263.
- [15] 田宮信雄・八木達彦訳 (1974). 酵素. コーン・スタンプ生化学, 3 版, 東京化学同人, 東京, 165-187.
- [16] Velick, S. F., and Vavra, J. (1962). A Kinetic and equilibrium analysis of the glutamic oxaloacetate transaminase mechanism. *J. biol. Chem.*, **237**, 2109-2122.
- [17] 山田一彦 (1971). 鶏の血漿中 Aspartate-, alanine-aminotransferase 系アミノ基転移酵素の活性測定法について. 日獣誌, **33**, 237-249.
- [18] 山田一彦 (1972). 鶏血漿中 Globulins から単離した Aspartate- および Alanine-aminotransferase 系アミノ基転移酵素の活性とその物理化学的性状について. I. 日獣誌, **34**, 341-350.
- [19] 山田一彦 (1973). 鶏血漿中 Albumin から単離した Aspartate- および Alanine-aminotransferase 系アミノ基転移酵素の活性とその物理化学的性状について. 日獣誌, **35**, 133-147.
- [20] 山田一彦 (1973). 鶏血漿中 Globulins から単離した Aspartate- および Alanine-aminotransferase 系アミノ基転移酵素の活性とその物理化学的性状について. II. 日獣誌, **35**, 209-221.
- [21] 山田一彦 (1976). 鶏血漿中 F-GOT の酵素作用の性質について. I. F-GOT 反応における基質濃度と反応速度との関係. 日獣誌, **38**, 59-64.
- [22] 山田一彦 (1976). 鶏血漿中 F-GOT の酵素作用の性質について. II. F-GOT 反応における pH の影響. 日獣誌, **38**, 127-133.