植物過酸化酵素の生理的意義*

森 田 雄 平 (京都大学食糧科学研究所)

昭和 35 年 6 月 8 日 受 理

I. 緒 言 1855 年 Schönbein⁽¹⁾ は動植物組織が過酸化水素を活性化し、その酸化力によってグアヤックチンキを青変させるという現象を発見した。同氏はこの反応がある種の酵素作用によるのであろうと考えていたが、1898 年に至って Linossier⁽²⁾ が膿を用いてこれを実証し、この反応を触媒する酵素をはじめて peroxidase (過酸化酵素) と命名して oxidase と区別したのである。この酵素は現在白血球中に存在する myeloperoxidase として広く知られている。その後 Raudnitz⁽³⁾ や Loew⁽⁴⁾ は peroxidase を (1) 式の反応を触媒する酵素であると定義し、ここではじめて catalase とも区別されるようになった。

Peroxidase はひろく動植物の組織や体液中に存在することが漸次証明されて、Bach ら⁽⁵⁾をはじめ多くの研究者により、各種の動植物組織および体液を材料として単離精製が試みられた。その結果現在までに第 1 表に示すように 10 種の peroxidases が結晶状に単離されているほか、イチジク⁽⁶⁾、牛肝臓⁽⁷⁾、パン酵母⁽⁸⁾、甘藷⁽⁹⁾、蚕豆⁽¹⁰⁾からも純度の高い peroxidases が調製されている。

第 1 表 結晶 Peroxidases

種	類	分子量	分子軸比	色	Prosthetic group	研究者
1.	西洋ワサビ peroxidase II	44000	6.7 : 1	赤褐色	protohemin 1 個	Theorell ⁽¹¹⁾
2.	牛乳 lactoperoxidase B	92700	4 : 1	緑 色	未知 hemin 1 個	Theorell ら ⁽¹²⁾
3.	牛乳 lactoperoxidase A	82000	—	緑 色	未知 hemin 1 個	Polis ら ⁽¹³⁾
4.	大根 peroxidase a	54500	4.5 : 1	赤褐色	protohemin 1 個	森 田 ら ⁽¹⁴⁾
5.	カブ peroxidase	57200	—	赤褐色	protohemin 1 個	山 崎 ら ⁽¹⁵⁾
6.	カブ peroxidase D	43000	—	赤褐色	protohemin 1 個	細 谷 ⁽¹⁶⁾
7.	犬白血球 myeloperoxidase	149000	5 : 1	緑 色	未知 hemin 2 個	Agner ⁽¹⁷⁾
8.	小麦 peroxidase 556	—	—	赤褐色	protohemin	萩 原 ら ⁽¹⁸⁾
9.	小麦 peroxidase 566	—	—	赤 色	—	田 川 ら ⁽¹⁹⁾
10.	大根 peroxidase c	46000	—	赤 色	protohemin 1 個	森 田 ら ⁽²⁰⁾

これらの精製酵素を用いてその理化学的性質や化学組成についても多くの研究が行われている。なかでも Theorell ら⁽²¹⁾による西洋ワサビ peroxidase II および牛乳 lactoperoxidase B と、森田ら⁽²²⁾による大根 peroxidase a に関する研究は最も進んでおり、分子量、分子形、hemin との結合様式、等電点なども明らかにされた。また特に大根 peroxidase a は全アミノ酸組成や糖組成が判明し、滴定や電気泳動実験からもその特異な蛋白構造についての知見が得られている。また次章でのべるように、Theorell, Keilin, Chance, George らは西洋ワサビ、牛乳、酵母の peroxidases を用いて、特に prosthetic group である hemin を中心としての反応機構を解明した。

このように peroxidase は多くの酵素類のなかでも、その本性や触媒作用の機構などの酵素そのものについての研究が最も進んでいるものの 1 つである。しかしながら翻って、この酵素が生体内において如何なる役割を演じているかという生理的意義については、現在のところ遺憾ながら殆んど判明しておらない。特に植物界においては peroxidase は殆んどすべての組織内に存在し、しかも生理的活動の盛んな組織や時期において活力が強いことが知られている。したがって peroxidase が植物体の何らかの生理的活動と密接に関連していることは当然想像できるにもかかわらず、生体内でどのような反応を触媒しているかの具体的なことについては明らかでない。これは peroxidase 反応が生体内において営まれていると想像することに対して多くの疑問が生じているばかりでなく、この酵素が peroxidase 反応以外の新しい触媒作用を営み得ることが明らかにされてきているか

* Physiological Role of Phyto-Peroxidase.

By Yuhei MORITA (Research Institute for Food Science, Kyoto University)

らである。また著者らは天然に存在する植物 peroxidase が決して 1 種類ではなく多様性を示し、これらは分光学的性状にしたがって a, b, c の 3 群に大別できることを明らかにした。数年前までに単離精製されて理化学的性状を研究されてきた植物 peroxidase は、その殆んどが peroxidase a 群に属するが、最近においては b, c 群が a 群と同様に植物体内に実在していることが証明されつつある。このような多様性の観点からも、この酵素に関する従来の生理学的研究の成果が再検討を迫られているのである。

本文ではまず peroxidase の反応機構を概説し、しかるのちに生体内外におけるこの酵素の挙動をのべて、その生理的意義を考察してみたい。

II. Peroxidase 反応の機構とその生理的意義 1931 年 Kuhn ら⁽²³⁾が peroxidase 分子中に hemin が存在することを示唆し、Keilin ら⁽²⁴⁾がこれを証明したが、第 1 表に示したように、これまでに分析された植物 peroxidase はすべて分子中に 1 個の protohemin を含有しており、この酵素の触媒機構のうち過酸化水素の活性化がこの hemin 基、特にその中の鉄原子を中心として起ることが判明した。即ち Keilin ら⁽²⁴⁾は西洋ワサビ peroxidase に過酸化水素を加えると 2 種の赤色活性化合物が生成することを認め、Theorell⁽¹¹⁾ はこれに加えて 1 種の緑色活性化合物を発見した。しかしてこれらの活性化合物に水素供与体を加えると、もとの peroxidase に還元することを実証したのである。これらの事実に基づき、分光学的な方法と磁気化学的方法によって Chance ら⁽²⁵⁾, Theorell ら⁽²⁶⁾, Keilin ら⁽²⁷⁾および George⁽²⁸⁾ は次の 3 段階の反応を経て peroxidase 反応が遂行されることを明らかにしたのである。

peroxidase (赤褐色) complex I (緑色)

水素供与体 complex II (赤色)

けれども (3), (4) 式に示す水素供与体と complex I または II との反応機構の詳細についてはまだ殆んど研究が進んでいない。その理由の 1 つは第 2 表に示すような多数の物質がこの反応の水素供与体として働き得るのであって、基質特異性が極めて低いからである。

第 2 表 Peroxidase 反応の水素供与体

1. 芳香族アミン類: aniline, *o*-, *m*-, *p*-toluidine, mesidine, *o*-anisidine, *o*-, *m*-, *p*-chloroaniline, *o*-, *m*-, *p*-phenylenediamine, benzidine, dimethyl-*p*-phenylenediamine, phenylethylamine, *p*-bromoaniline, *p*-iodoaniline.
2. フェノール類: phenol, catechol, hydroquinone, resorcinol, tyrosine, dihydroxyphenylalanine, *p*-hydroxydiphenyl, guaiacol, vanilline, *p*-cresol, mesitol, durenol, pyrogallol, flavone.
3. Endiol 類: ascorbic acid, dihydroxyfumaric acid, triosereductone.
4. 芳香族酸類: benzoic acid, salicylic acid, protocatechuic acid, gallic acid, *p*-aminobenzoic acid.
5. その他: leucomalachite green, leucophenolphthalein, cytochrome c, DPNH, TPNH, nitrite, iodide, uric acid, indole, indoleacetic acid, indolepropionic acid, indolebutyric acid, tryptophan, adrenaline, proteins.

これらの水素供与体のなかから生体内における真の基質を求めることは困難で、特異性に関する研究だけからこの問題の結論を得ることはできない。植物呼吸酵素全般とこの酵素との関連性を考察した上で、はじめて端緒がつかめるものと思う。初期には peroxidase が他の oxidase 類と共働して植物の末端酸化酵素系の一員として働きエネルギー代謝に直接関与すると考えられた。これは当時 phenolase, ascorbic acid oxidase などが植物の末端呼吸酵素であると想像され、しかも peroxidase がこれらの oxidase と基質を共通にするということから考えられたのである。また古くには phenolase や ascorbic acid oxidase が作用するときに過酸化水素が生成すると誤認されていた。すなわち植物の酸素呼吸には常に中間体として過酸化水素が形成され、この有害な過酸化水素を peroxidase が消費するとも想像されたのである。けれども現在ではこの想像は全くその影をひそめてしまっている。何故ならば一方においては動物における場合と同様、植物体内において正常なエネルギー代謝に関与する末端呼吸酵素はチトクロム系であることが証明されつつあるし、また他方において植物体内で過酸化水

素が中間体として形成されるという証明もないからである。チトクロム系以外の末端酸化酵素系においては、チトクロム系のように酸化的磷酸化反応を起して有効なエネルギー利用をはかるという証明はされておらない。したがって第 2 表に示した基質のうちでチトクロム系に直接関係のない物質、例えば phenol 類, endiol 類, amine 類などを基質とする oxidase 反応や peroxidase 反応は遊離エネルギーの浪費をしていることになる。そこで 1953 年 Lenhoff ら⁽²⁹⁾は peroxidase がチトクロム c を基質としてチトクロム系と共軛するという説を提案した。即ち同氏らは peroxidase がチトクロム reductase, diaphorase との協同作用によって見掛上 DPNH を分子状酸素で酸化する反応に関与すると説明しておる。小麦胚芽中の酵素系についても田川ら⁽³⁰⁾は同様な考えのもとに実験を行っている。けれども peroxidase とチトクロム系の細胞内分布の状況などを考慮すればこの説には難点が多い。また peroxidase がこのように文字通りの定義にしたがって peroxidase 作用を営むためには、他の oxidase 系から常に過酸化水素の供給を受けねばならない。ところが生体外の反応で過酸化水素を形成する oxidase は diaphorase のようなフラビンを含む酵素に限られており、しかも植物細胞内でチトクロム系が働いているような条件下において、これらのフラビン酵素類がチトクロム系と拮抗して直接分子状酸素に働かき過酸化水素を生成することは証明されてもおらないし、またそのように考えることも不適当である。前にのべたように Lenhoff らは diaphorase が DPNH-oxidase として働いて過酸化水素を生成することを仮定しているが、この diaphorase の真の働きの DPNH-oxidase 作用を営むことにあるのではなく、lipoyl dehydrogenase 作用を営むことにあることが最近 Massey⁽³¹⁾によって証明された。その他のフラビン酵素についてもおそらく同様のことが言えると思う。したがって植物体内においては peroxidase 作用の前提となる過酸化水素が生成することも疑わしいのである。著者はここで peroxidase の定義があくまでも人為的な反応に立脚して定められたことを強調しておきたい。またたとえ未知の oxidase 作用によって過酸化水素が生体内において正常に生成し、これが peroxidase によって消費されるのであるとしても、前にのべた理由によって peroxidase 反応を受ける水素供与体が可逆的酸化還元体としてエネルギー代謝に直接関与するとは考えにくい。むしろこの物質の不可逆的な代謝それ自体に peroxidase 反応の意義があるかと推察できる。前記 (3), (4) 式にしたがって基質 (AH₂) から 1 当量の脱水素が起って生じる反応生成物 (AH) は、1 種の free radical であることが最近明らかにされつつある⁽³²⁾。したがって生体外での反応では、この AH がさらに peroxidase 反応の基質として (6) 式のように 1 当量の脱水素を受ける場合のほかに、(7)~(10) 式のように種々の二次的な非酵素的反応を経て最終生成物となる。

中間物質 AH はきわめて反応性に富んでおるため、生体内において細胞液中に溶存する状態では、その寿命も著しく短いものと考えねばならない。山崎⁽³³⁾は peroxidase の生理的意義がこのような free radical を形成することにあるのではないかと考えているが、この反応が生体内で有意義であるためには、この free radical を有効に捕捉してさらに変化せしめる酵素系または受容体を必要とするのである。今後このような観点からも真の基質を探究する研究が望まれる。

III. Peroxidase が営む oxidase 作用と hydroxylase 作用 1939 年 Theorell ら⁽³⁴⁾は西洋ワサビ peroxidase が dihydroxyfumaric acid oxidase と同一物であることを証明した。即ち peroxidase は分子状酸素の存在下においては過酸化水素の添加なしにこの基質の酸化を触媒することができるのである。この報告は他の系から過酸化水素が供給されることを必要としない peroxidase の新しい触媒作用として、前章に示した疑問に答える重要な発見であった。Dihydroxyfumaric acid oxidase は Theorell らの研究にやや先立って Szent-Györgyi 一派⁽³⁵⁾によって研究が始められた酵素であるが、同氏らはこの酵素反応の基質である dihydroxyfumaric acid がブドウの葉その他の植物組織中に天然に存在し、しかもこれが ascorbic acid に構造類似する endiol 化合物であることに着目して、後者と同様に可逆的酸化還元物質として植物の呼吸作用に直接関与するのであ

うと推察した。前章に示した理由の通り、このような意味での peroxidase の役割はおそらく植物体内では演じられていないと思うが、これらの研究業績は peroxidase が営む oxidase 作用または hydroxylase 作用に関する研究の端緒ともなり、また基礎ともなっているために重視すべきであると思う。現在この基質以外にも第 3 表に示すような種々の物質が oxidase 作用の基質として利用されることが報告されている。

第 3 表 植物 Peroxidase が営む Oxidase 作用

基 質	酵 素 源	Co-factor	研 究 者
Dihydroxyfumaric acid	西洋ワサビ, スカンボ		Theorell ら ⁽³⁴⁾
"	西洋ワサビ		Keilin ら ⁽²⁷⁾
"	西洋ワサビ	Mn ⁺⁺	Chance ⁽³⁶⁾
"	カ ブ		山 崎 ら ⁽¹⁵⁾
"	大 根		森 田 ら ⁽³⁷⁾
Triose reductone	カ ブ		山 崎 ら ⁽³⁸⁾
Indole acetic acid	西洋ワサビ	Mn ⁺⁺	Kenten ⁽³⁹⁾
"	カ ブ		山 崎 ら ⁽⁴⁰⁾
"	<i>Omphalia flavida</i>		Ray ら ⁽⁴¹⁾
"	<i>Omphalia flavida</i> , 西洋ワサビ		Ray ⁽⁴²⁾
Indole propionic acid	西洋ワサビ	Mn ⁺⁺	Kenten ⁽⁴³⁾
Indole butyric acid			
Phenylacetaldehyde	エンドウ	Mn ⁺⁺	Kenten ⁽⁴⁴⁾
Phenylpyruvic acid	西洋ワサビ, ルービン	Mn ⁺⁺	Conn ら ⁽⁴⁵⁾
Oxalic acid	西洋ワサビ	Mn ⁺⁺	Kenten ら ⁽⁴⁶⁾
Oxalacetic acid			
Ketomalonic acid			
Dihydroxytartric acid			
DPNH	西洋ワサビ	Mn ⁺⁺ +monophenol	Akazawa ら ⁽⁴⁷⁾
TPNH			

これらのうちで dihydroxyfumaric acid と indoleacetic acid とは Mn⁺⁺ および phenol の添加を必要としない oxidase 反応の基質として、この酵素作用の機構を究明するための研究に重要であり、また特に後者は植物生長素として重要な働きを演じているだけに、この物質の酸化による不活性化反応は生理的にも重要な意義をもつと考えられる。Dihydroxyfumaric acid oxidase 作用については、これまでこの反応の stoichiometry (基質/O₂ 比) や CO-阻害などに背反する実験成績が報告されたために、久しく反応機構に関する定説がなかったが、最近に至って Mason⁽⁴⁹⁾、山崎ら^(15,38) の研究により、この反応においても基質の第 1 段酸化生成物である free radical が重要な役割を演じていることが明らかにされつつある。山崎らによれば peroxidase が触媒する oxidase 反応は本質的にはやはり peroxidase 反応を含むのであって、まず基質の自然酸化によって生じた過酸化水素の存在のもとに、peroxidase が前記 (2), (3), (4) 式にしたがって peroxidase 反応を営み、ここで生成した free radical AH が (11) 式にしたがって過酸化水素を再生して反応が進行するというのである。

この仮説は西洋ワサビ peroxidase II, 大根 peroxidase a や山崎らのカブ peroxidase などが営む oxidase 反応の実験成績を説明するためには全く合理的であると思う。しかしながら著者ら⁽³⁷⁾が指摘したように、この反応には CO-阻害があるという Theorell らの実験成績を説明することができない。このような矛盾は indoleacetic acid oxidase 作用の場合にも認められる。カブ peroxidase を用いて行った山崎ら⁽⁴⁰⁾の実験成績によれば、この場合にも free radical がやはり重要な役割を果し、この反応も本質的に peroxidase 反応であると考えらることのできる。山崎らはこの場合 CO-阻害を認めなかったと報告しているが、*Omphalia* peroxidase を用いた Ray⁽⁴²⁾の実験では明瞭な CO-阻害が認められている。このような矛盾は、研究者によって反応生成物がまちまちであることに併せて、単に実験条件の差異だけに基ずくとは考えられない。著者ら⁽³⁷⁾は dihydroxyfumaric acid を基質とする oxidase 作用では、作用条件のほかに peroxidase の種類が異なれば実験成績が著しく異なることを報告したが、これらの両基質に対する peroxidase の oxidase 作用について従来多くの背反した成績が報告されているのは、主としてこのように酵素の種類が異っておったことに原因しているのであろうと思う。Peroxidase の多様性については次章において詳しくのべるが、山崎らの仮説は peroxidase a 群の触媒機

構を説明するのに合理的であっても, peroxidase b 群および c 群の oxidase 作用機構を説明するのに適当ではない。このことは例えば植物と動物の tryptophan peroxidase のように⁽⁶⁰⁾, 見掛上は同じ基質の酸化反応を触媒しておいても酵素の種類がちがえばその触媒機構ひいては反応生成物に顕著な相違があることから当然考えることができるのである。このような観点から, peroxidase b 群および c 群の oxidase 作用機構に対しては Lemberg ら⁽⁵¹⁾や Mason⁽⁴⁹⁾ が示唆した ferrous peroxidase による分子状酸素の直接活性化という仮説を無視することはできないと思う。この Mason らの考えは反応生成物のその後の運命をも考慮している点で free radical 説よりも進んでいると思う。前章でものべたように peroxidase が営む peroxidase 作用および oxidase 作用の意義について, これらの反応がエネルギー代謝に関与することを考えるよりも, むしろ酸化をうける基質および第一次生成物のその後の運命を究明することにさらに重点がおかれてしかるべきであろう。Peroxidase の oxidase 作用に関連して Mason ら⁽⁵²⁾は最近西洋ワサビ peroxidase が dihydroxyfumaric acid の存在下で分子状酸素による phenylalanine, tyrosine, *p*-cresol, salicylic acid などの水酸化反応を触媒することを報告している。この hydroxylase 作用は植物体内における polyphenol 類 (antocyan, flavone, tannine, lignin など) の生合成に関与する反応として注目されるべきものと思う。

IV. Peroxidase の多様体とチトクロムなどの関係 1940 年 Theorell⁽⁵³⁾ は西洋ワサビの根から理化学的性状を相違する 2 種の peroxidase を単離してこれらを peroxidase I および II と命名した。この業績はその後久しく無視されていたばかりでなく, 天然に peroxidase I が存在することは一時 Keilin ら⁽²⁷⁾により否定されたこともある。ところが近年 Jermyn ら⁽⁵⁴⁾は濾紙電気泳動法を用いて, 西洋ワサビの根には 5 種の peroxidases が天然に存在することを実証して, peroxidase I も天然に実在するのであろうと推察した。Jermyn らの報告に先立って著者ら^(9,10,55)もまたすでに甘藷, 蚕豆, 大根などがいずれも理化学的性状を相違する peroxidases を少なくとも 2 種以上ずつ同時に含有することを確かめていた。最近細谷⁽¹⁶⁾もカブ中に 4 種の peroxidases が存在することを実証し, 田川⁽¹⁹⁾も小麦から 2 種の peroxidases を単離している。このように植物体が同一組織内に少なくとも 2 種以上の peroxidases を同時に含有しているという事実もまた, この酵素の生理的意義を考察するにあたって極めて重要な資料になると思う。これらの植物 peroxidases は第 4 表に示すように分光学的性状に基いて a, b, c の 3 群に大別することができる。

第 4 表 植物 Peroxidases の種類

群	吸収極大位置* (mμ)		種 類	研究者
	酸化型	還元型		
a			西洋ワサビ peroxidase II	Theorell ⁽¹¹⁾
	405	439	大根 peroxidase a	森 田 ら ⁽¹⁴⁾
	498	561	甘藷 peroxidase a	近 藤 ら ⁽⁹⁾
	640		蚕豆 peroxidase a	森 田 ら ⁽¹⁰⁾
			小麦 peroxidase 556	萩 原 ら ⁽¹⁸⁾
b			イチジク peroxidase	Sumner ら ⁽⁶⁾
			カブ peroxidase A ₁ , A ₂ , D**	細 谷 ⁽¹⁶⁾
	414	428	甘藷 peroxidase b	近 藤 ら ⁽⁹⁾
	530	534	蚕豆 peroxidase b	森 田 ら ⁽¹⁰⁾
		563	エンドウ peroxidase b	松 下 ら ⁽⁵⁶⁾
c			西洋ワサビ peroxidase I	Theorell ⁽⁵³⁾
	419	425	大根 peroxidase c	森 田 ら ⁽⁵⁵⁾
	540	563	小麦 peroxidase 566	田 川 ら ⁽¹⁹⁾
			カブ peroxidase B	細 谷 ⁽¹⁶⁾

* ここでは便宜上 a 群: 大根 peroxidase a, b 群: 蚕豆 peroxidase b, c 群: 大根 peroxidase c の吸収極大波長を示した。同一群内の peroxidase は極大波長の位置に多少のちがいはあっても, 吸収曲線の形状が極めて近似している。

** 山崎⁽¹⁶⁾のカブ peroxidase は細谷の A₁ または A₂ に相当する。

ら⁽⁵⁷⁾により発見されたもので, 同氏らによりやはり蚕豆緑葉から多少単離精製されたが, このものはひろく植物細胞内に存在している。次にこの事実をいとぐちとして peroxidase とチトクロムとの関連性を考察してみたい。Hill らによれば, チトクロムとは “a compound of an iron porphyrin or haem with a specific protein having, in the ferrous form, an absorption spectrum and properties resembling, but not identical with, a typical haemochromogen” である。しかるに peroxidases の組成と諸性質とはこの定義の条件を十分に満足

これら 3 群の peroxidases は pyrogallol や guaiacol などの phenol 類を基質とする peroxidase 反応ではほぼ同程度の強力な活力を示すので, この観点からは明瞭な区別をすることはできない。けれどもその分光学的性状から判断すれば, 蛋白と hemin との結合様式や, 蛋白構造が異なるばかりでなく, 前章においてのべたように oxidase 作用を営む際の挙動が著しく相違するのである。したがってこれら 3 者の植物体内における役割は全くちがっているのではなからうかと想像できる。

さて著者⁽¹⁰⁾はこれらの peroxidases のうち蚕豆緑葉から単離精製した peroxidase b がチトクロム b₃ と同一物であることを証明した。チトクロム b₃ は 1951 年 Hill

させるものであるから、当然 peroxidase もまたチトクロムの分類の中に入れてよいことになる。換言すれば、peroxidase とチトクロムとは別個の酵素として分類され研究されてきたが、実は同一物を一方はある特定の酵素作用、他は分光学的性質という違った 2 面から眺めておったのではあるまいか。もちろんすべての peroxidases またはすべてのチトクロムがそうであろうというのではない。けれども前記のように少くともチトクロム b_3 は強力な peroxidase 活力をもつことが証明されたし、このほか Lundegårdh⁽⁶⁸⁾ はチトクロム dh の本体が還元型 peroxidase に基質が結合した complex にはかならないことを報告している。またこれまでは細胞内のチトクロム b 群の挙動は主としてその α 吸収帯 (約 560 m μ) の変化を追跡することによって研究されているが、植物 peroxidases はいずれも 560 m μ 近辺に還元吸収帯をもつから、従来の分光学的方法だけではチトクロム b 群と peroxidases とが混同されていた場合も多いと思う。peroxidase a 群の標準酸化還元電位は -270 mV 近辺の非常に低い値をもつが⁽⁶⁹⁾、peroxidase b 群および c 群はこれよりもずっと高い値をもつと予測できるので、生体内では還元型の状態で存在することも想像できるのである。この想像に関連して最近 Martin ら⁽⁶⁰⁾ は興味ある事実を報告している。即ち同氏らは小麦の根の細胞中に存在する hemin 化合物のうち約 20% はチトクロム類であって、これらは b_3 を除いてミトコンドリアに局在し、 b_3 もミクロゾームに局在している。これに対し残り約 80% を占める hemin 化合物は細胞液中に溶存し、その殆んどが還元型の状態で存在するとのべている。この不明の hemin 化合物は分光学的性状をみれば peroxidase a 群の 1 つではない。種々の性状を総合判断して、著者はこれが c 群に属する peroxidase の 1 種であろうと考えている。このほか天然に存在する peroxidase の形態は a 群に属するものが主体ではなかろうということは田川ら⁽¹⁹⁾ の実験成績によっても支持できると思う。以上の考察からチトクロム b 群と peroxidases とは密接な関係を有することが明白となったが、これらの事実は peroxidases についてだけではなく、チトクロムの生理的意義をも再検討すべきであることを示唆していると思う。特にこれらの酵素類の細胞内における分布状態と併せて詳細な研究が行われることが望ましい。

また最近チトクロム c が変性を受けたり、蛋白分解酵素の作用を受けて蛋白構造の一部が分解すれば peroxidase 作用力を発現するという報告がある^(61, 62)。この業績は catalase が示す peroxidase 作用についての同様な報告⁽⁶³⁾ とともに注目すべきであろうと思う。これらの実験成績はいずれも peroxidase が他の hemin 酵素の前駆体または分解産物ではなかろうかという疑問を喚起している。このほか Stumpf⁽⁶⁴⁾ は落花生の芽生え中に長鎖脂肪酸を酸化脱炭酸して長鎖脂肪属アルデヒドを生成する特異な peroxidase が存在することを報告しているし、Dolin⁽⁶⁵⁾ は *Streptococcus faecalis* 中の DPNH peroxidase の本体がフラビン酵素の 1 種であると報告している。これらの報告もまた peroxidase の多様性を理解するためには有力な助けになろう。従来西洋ワサビや牛乳その他の強力な peroxidases とは別に、弱い作用力をもつ酵素を pseudoperoxidase と総称したこともある⁽⁶⁶⁾。けれどもこの区別は或る特定の基質 (例えば pyrogallol) に対する作用力の強弱に基いて立てられたものにすぎない。各種の基質に対する特異性に差があることを考慮すればこの区別は無用であると思う。就中 peroxidase a, b, c 3 群は各種基質に対する特異性に多少の違いはあってもともに強力な活力をもち、またこれらが peroxidase 反応を営むときの機構は同一であるようだから、peroxidase 作用の観点からは何れを優先させることもできない。ただ前にのべたようにこの酵素の酸化還元電位や oxidase 作用に関しては明白な差違を示すので、生体内での役割を考察するに先立ってこれらの各成分の含有割合や、各成分と生理現象との相関々係を個々に究明することが肝要であろう。Jermyn ら⁽⁶⁴⁾ の実験成績によれば、西洋ワサビや甘藷などに存在する peroxidases の各成分の含有量はこれらの植物の生理的条件や栽培時期にしたがって別個に変動消長することがわかる。従来行われてきたように、peroxidase の本体を究明することなしに総合的な peroxidase 作用力を或る特定の生命現象と結びつけて考察することなどは今日においては意味を失っている。前章に記した dihydroxyfumaryl acid oxidase 作用および indoleacetic acid oxidase 作用に関するこれまでの研究はその典型的な例であって、西洋ワサビ以外の各種の植物組織の示すこの酵素作用と peroxidase 作用力との間に相関々係があるという事実をみて、その植物組織中の peroxidase の本体を究明することなしに、直ちに入手しやすい精製した西洋ワサビ peroxidase II を用いて研究を継続したために多くの矛盾が生れてきたのである。近年植物の病理現象または異常条件下における生理現象と結びつけて peroxidase の挙動を観察している有用な研究業績も多いが、これらの場合にも上記の注意が肝要であると思う。

- (1) C. F. Schönbein : *Verhandl. naturforsch. Ges. Basel*, 1, 339 (1855).
- (2) M. G. Linossier : *Compt. rend. soc. biol.*, 50, 373 (1898).
- (3) R. Raudnitz : *Zentr. Physiol.*, 12, 790 (1899).
- (4) O. Loew : *U. S. Dept. Agr. Report*, No. 68, 47 (1901).
- (5) A. Bach, A. Chodat : *Ber.*, 36, 600 (1903).
- (6) J. B. Sumner, S. F. Howell : *Enzymologia*, 1, 133 (1936).
- (7) W. E. Knox : in S. P. Colowick, N. O. Kaplan (eds.) "Methods in Enzymology", Vol. II, Academic Press, New York, 1955, p. 242.
- (8) R. Abrams, A. M. Altschul, T. R. Hogness : *J. Biol. Chem.*, 142, 303 (1942).
- (9) 近藤金助, 森田雄平 : 京大食研報告, 4, 12 (1951); 10, 33 (1952).
- (10) 森田雄平 : 同誌, 15, 56 (1954); Y. Morita : *Mem. Research Inst. Food Sci., Kyoto Univ.*, 11, 38 (1956).
- (11) H. Theorell : *Enzymologia*, 10, 250 (1941).
- (12) H. Theorell, K. G. Paul : *Arkiv Kemi, Mineral. Geol.*, 18 A, No. 12 (1944).
- (13) D. Polis, H. W. Shmukler : *J. Biol. Chem.*, 201, 475 (1953).
- (14) Y. Morita, K. Kameda : *Mem. Research Inst. Food Sci., Kyoto Univ.*, 12, 14 (1957).
- (15) I. Yamazaki, K. Fujinaga, I. Takehara, H. Takahashi : *J. Biochem. (Tokyo)*, 43, 377 (1956).
- (16) T. Hosoya : *ibid.*, 47, 369 (1960).
- (17) K. Agner : *Acta Chem. Scand.*, 12, 89 (1958).
- (18) B. Hagihara, K. Tagawa, I. Morikawa, M. Shin, K. Okunuki : *Nature*, 181, 1656 (1958).
- (19) K. Tagawa, M. Shin, K. Okunuki : *ibid.*, 183, 111 (1959); K. Tagawa, M. Shin : *J. Biochem. (Tokyo)*, 46, 865 (1959).
- (20) 森田雄平, 亀田勝造 : 未発表.
- (21) H. Theorell : *Arkiv Kemi, Mineral. Geol.*, 15 B, No. 24 (1942); 16 A, No. 3 (1942); 16 A, No. 14 (1943); H. Theorell, Å. Åkesson : *ibid.*, 16 A, No. 8 (1942); 17 B, No. 7 (1943).
- (22) 森田雄平, 近藤金助 : 京大食研報告, 13, 60 (1954); 森田雄平 : 同誌, 15, 64 (1954); 森田雄平, 長谷川喜代三 : 同誌, 15, 82 (1954); Y. Morita, K. Kameda : *Mem. Research Inst. Food Sci., Kyoto Univ.*, 14, 49, 61 (1958); *Bull. Agr. Chem. Soc. Japan*, 23, 28 (1959).
- (23) R. Kuhn, D. B. Hand, M. Florkin : *Z. physiol. Chem.*, 201, 255 (1931).
- (24) D. Keilin T. Mann : *Proc. Roy. Soc. London*, B 122, 119 (1937).
- (25) B. Chance : *Arch. Biochem.*, 21, 416 (1949); 22, 224 (1949); 24, 410 (1949); *J. Am. Chem. Soc.*, 72, 1577 (1950); *Arch. Biochem. Biophys.*, 37, 235 (1952); 40, 153 (1952); 41, 404, 416, 425 (1952); B. Chance, H. Higgins : *ibid.*, 41, 432 (1952).
- (26) H. Theorell, A. Ehrenberg, B. Chance : *ibid.*, 37, 237 (1952); H. Theorell, A. Ehrenberg : *ibid.*, 41, 442 (1952).
- (27) D. Keilin, E. F. Hartree : *Biochem. J.*, 49, 88 (1951).
- (28) P. George : *Nature*, 169, 612 (1952); *Biochem. J.*, 54, 267 (1953), 55, 220 (1953); *J. Biol. Chem.*, 201, 413 (1953).
- (29) H. M. Lenhoff, N. O. Kaplan : *Nature*, 172, 730 (1953).
- (30) K. Tagawa, M. Shin : *J. Biochem. (Tokyo)*, 46, 875 (1959).
- (31) V. Massey : *Biochim. Biophys. Acta*, 37, 314 (1960).
- (32) I. Yamazaki : *J. Biochem. (Tokyo)*, 44, 425 (1957); I. Yamazaki, H. S. Mason, L. Piette : *Biochem. Biophys. Research Commun.*, 1, 336 (1959).
- (33) 山崎勇夫 : 蛋白質 核酸 酵素, 4, 195 (1959).
- (34) H. Theorell, B. Swedin : *Naturwiss.*, 27, 95 (1939); B. Swedin, H. Theorell : *Nature*, 145, 71 (1940).
- (35) I. Banga, A. Szent-Györgyi : *Z. physiol. Chem.*, 225, 57 (1938); I. Banga, E. Philippot : *ibid.*, 258, 147 (1939).
- (36) B. Chance : *Advances in Enzymol.*, 12, 153 (1951); *J. Biol. Chem.*, 197, 577 (1952).
- (37) 森田雄平, 亀田勝造 : 日農化大会, 1959年4月.
- (38) I. Yamazaki : *J. Biochem. (Tokyo)*, 44, 425 (1957).
- (39) R. H. Kenten : *Biochem. J.*, 59, 110 (1955).
- (40) I. Yamazaki, H. Souzu : *Arch. Biochem. Biophys.*, 86, 294 (1960).
- (41) P. M. Ray, K. V. Thimann : *Science*, 122, 187 (1955); *Arch. Biochem. Biophys.*, 64, 175 (1956).
- (42) P. M. Ray : *ibid.*, 64, 193 (1956); 87, 19 (1960).
- (43) R. H. Kenten : *Biochem. J.*, 61, 353 (1955).
- (44) R. H. Kenten : *ibid.*, 55, 350 (1953).
- (45) E. E. Conn, S. Seki : *Federation Proc.*, 16, 167 (1957).
- (46) R. H. Kenten, P. J. G. Mann : *Biochem. J.*, 53, 498 (1953).
- (47) T. Akazawa, E. E. Conn : *J. Biol. Chem.*,

- 232, 403(1958); E. E. Conn, L. M. Kraemer, P. N. Niu, B. Vennesland: *ibid.*, 194, 143 (1952).
- (48) P. M. Ray: *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 9, 81 (1958).
- (49) H. S. Mason: *Advances in Enzymol.*, 19, 79 (1957).
- (50) G. H. Wiltshire: *Biochem. J.*, 55, 408 (1953).
- (51) R. Lemberg, J. W. Legge: "Hematin Compound and Bile Pigments", Interscience, New York, 1949.
- (52) H. S. Mason, I. Onopryenko, D. H. Buhler: *Biochim. Biophys. Acta*, 24, 225 (1957).
- (53) H. Theorell: *Arkiv Kemi, Mineral. Geol.*, 14 B, No. 1 (1940); 16 A, No. 2 (1942).
- (54) M. A. Jermy, R. Thomas: *Biochem. J.*, 56, 631 (1954).
- (55) Y. Morita, K. Kameda: *Mem. Research Inst. Food Sci., Kyoto Univ.*, 12, 1(1957).
- (56) S. Matsushita, F. Ibuki: *Biochim. Biophys. Acta*, 40, 540 (1960).
- (57) R. Hill, R. Scarisbrick: *New Phytologist*, 50, 98 (1951).
- (58) H. Lundegårdh: *Nature*, 181, 28(1958).
- (59) H. A. Harbury: *J. Am. Chem. Soc.*, 75, 4625 (1953).
- (60) E. M. Martin, R. K. Morton: *Biochem. J.*, 65, 404 (1957).
- (61) 浅野 朗, 佐藤 了: 生化学, 31, 599(1959).
- (62) H. Tuppy, S. Paléus: *Acta Chem. Scand.*, 9, 365 (1955).
- (63) 上代浩三: 蛋白質 核酸 酵素, 1, 1(1956).
- (64) P. K. Stumpf: *J. Biol. Chem.*, 223, 643 (1956).
- (65) M. I. Dolin: *Arch. Biochem. Biophys.*, 46, 483 (1953); *J. Biol. Chem.*, 225, 557 (1954).
- (66) C. Oppenheimer: "Die Fermente und ihre Wirkungen", Bd. II, s. 1172, 1939.
-