[農化 第 51 卷, 第 10 号, R 101~R 107, 1977]

多面的生理作用をもつジホスホグリセリン酸の 多機能酵素による新代謝調節*

(昭和 52 年度農芸化学奨励賞受賞)

佐々木 隆 造

(京都大学農学部)

I. は じ め に

2,3-ジホスホグリセリン酸 (2,3 DPG**) は 1925 年 Greenwald⁽¹⁾により発見された。この化合物は生物界に広く分布しているが、その存在量に関しては著しい特徴がある^(1,2)。すなわち、ヒト、ブタ、ウサギ、ネズミなどの多くの哺乳動物の赤血球中に非常に高濃度 (4~8 mM) に存在する。しかし哺乳動物でもウシ、ヤギ、ヒツジなどの反芻動物の赤血球中の含量は μ M のオーダーである。また組織中の 2,3 DPG 濃度は常に分析試料への赤血球の混入があり、正確な値はわからないが、1~100 μ M であろう。

2,3 DPG の生理機能に関しては、1944 年 Sutherland ら⁽³⁾により解糖系の酵素ホスホグリセロムターゼ (PGA mutase, 第 2 図の反応 3 を参照) の補酵素であることが証明された。しかし、ヒトなどの赤血球中の 2,3 DPG 濃度は PGA mutase 反応の補酵素として必要な濃度の数百倍にも達しており、その機能に関して種々の仮説が提出された。1967 年 Benesch⁽⁴⁾ および Chanutin ら⁽⁵⁾が 2,3 DPG がヘモグロビン (Hb) と相互作用することを発見し、

2,3 DPG が高濃度に存在する意義が確立された。第 1 図に示すように、2,3 DPG が増加するにつれて Hb の酸素飽和曲線は右側に移行する。すなわち酸素は Hb から離れやすくなる。平地での肺胞内酸素分圧は 100 mmHg である故に、2,3 DPG が生理的濃度 (約 6.7 mM) に存在しても肺では 98% の Hb が酸素化をうけ、動脈血により組織に運ばれる。組織の酸素分圧を約 40 mmHg とすると、2,3 DPG が存在しない場合には、わずか 10% 以下しか組織への酸素供給に利用されていないことになるが、2,3 DPG が存在すると Hb の酸素飽和度は約 70% となり、約 30% 近くが酸素供給に利用されたことになる。これは 2,3 DPG がデオキシ Hb と優先的に結合し、オキシ Hb $\rightleftharpoons$ デオキシ Hb の平衡を右側にずらせることによるものであり、2,3 DPG は赤血球の組織への酸素供給能を高めている。

このように 2,3 DPG の機能の重要性と多面性が明ら

第 1 図 ヘモグロビンの酸素飽和曲線に対する 2,3 DPG の影響⁽⁶⁾

2,3 DPG 濃度: 0.15 mM (○), 2.9 mM (▽), 6.7 mM (●), 17.7 mM (▲), 35.5 mM (■).

* A Multifunctional Enzyme: Novel Regulatory Mechanism of Diphosphoglycerate Metabolism
Ryuzo SASAKI (Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Kyoto University)

** 以下の略号を使用した。DPG: ジホスホグリセリン酸, PGA: ホスホグリセリン酸, MPG: モノホスホグリセリン酸, P_i : 無機リン酸, Hb: ヘモグロビン, TNBS: トリニトロベンゼンスルホン酸, TNP: トリニトロフェニル, PGA mutase: ホスホグリセリン酸ムターゼ, DPG mutase: ジホスホグリセリン酸ムターゼ, DPG ase: 2,3 ジホスホグリセリン酸ホスファターゼ。

かとなり、2,3 DPG 代謝の調節機構の解明は重要な研究課題となった。著者は、哺乳動物赤血球中の 2,3 DPG 代謝と機能に関する研究に従事し、2,3 DPG 代謝の特異な代謝調節機構の存在を証明するとともに 2,3 DPG の機能の多面性をも拡大した。

II. 2,3 DPG 代謝

1. 2,3 DPG 代謝に関与する酵素とその多機能性

2,3 DPG の代謝は解糖系バイパスである。2,3 DPG は 1,3-ジホスホグリセリン酸(1,3 DPG)と 3-ホスホグリセリン酸(3PGA)からジホスホグリセロムターゼ(DPGmutase)の働きにより合成され、2,3-ジホスホグリセリン酸フォスファターゼ(DPGase)により 3PGA と無機リン酸(Pi)に分解される。この経路は発見者の名にちなんで Rapoport-Luebering サイクルとも呼ばれる^(7,8)。この二つの反応および PGAmutase 反応を詳しく示したのが第 2 図であり、2,3 DPG の合成反応(反応 1)は、1,3 DPG の高エネルギーリン酸結合を消費して進行する反応であるために非可逆反応である。2,3 DPG の分解反応(反応 2)は加水分解反応であり、これも非可逆反応である。したがって、両反応を触媒する酵素 DPGmutase と DPGase は異なる酵素タンパクであると固く信じられていた。

著者は酵母の PGAmutase の研究に、本酵素は本来の PGAmutase のみならず反応 1 および 2 をも触媒し、これら三活性は同一活性中心により発現されていること

を見出した⁽⁹⁻¹²⁾。このことから赤血球中の 2,3 DPG 代謝は 1 種類の酵素タンパクにより遂行されており、それは、PGAmutase そのものではないかと考えた。もしこの仮説を証明することができるならば、2,3 DPG 代謝の調節機構を考えるうえで重大な新知見となると考え研究を開始した。まず 2,3 DPG の微量定量法を開発し⁽¹³⁾、三活性測定法を確立した後、ヒト赤血球より三酵素の精製を開始した⁽¹⁴⁾。ヒト赤血球の溶血液を DEAE-セルローズへの吸脱着、硫酸分画、DEAE-セファデックス、セファデックス G-100、ホスホセルローズおよびヒドロキシアパタイトを使ったクロマトグラフィー、焦点電気泳動により精製した。ホスホセルローズの段階までは、三活性はほとんど同一画分に存在したが、ホスホセルローズによるクロマトグラフィーで未吸着画分と吸着画分にわかれた。ほとんどの DPGmutase および DPGase 活性と 43% の PGAmutase 活性は未吸着画分に存在した。吸着画分は DL-2 PGA を含む緩衝液で特異的に溶出され、PGAmutase が高くわずかな DPGmutase および DPGase 活性が存在した。この画分を peak I と呼ぶ。未吸着画分をヒドロキシアパタイトカラムにかけリン酸濃度を変化させると二つの peak が得られる。peak II は PGAmutase が比較的高く、DPGmutase および DPGase 活性の低いピークである。peak III にはほとんどの DPGmutase および DPGase 活性と 40% の PGAmutase 活性が回収される。

第 2 図 2,3 DPG の関与する三種類の反応

第 1 表 赤血球内の三活性とアイソザイム

赤血球 の起源	Peak	活性(赤血球内の%)		
		PGA mutase	DPG mutase	DPGase
ヒ ト	I	55	0.3	0.5
	II	27	9.0	7.0
	III	18	90.7	92.5
ブ タ	I	92	1.2	1.5
	II	2	3.6	3.9
	III	6	95.2	94.6

各 peak の三活性が赤血球内でしめる割合を計算してみると第 1 表のようになる。第 1 表にはブタ赤血球の値も併記してある⁽¹⁵⁻¹⁷⁾。このように peak I は PGAmutase 活性が高く、このタンパクは解糖系の PGAmutase として働いている。2,3 DPG の代謝に関与する DPGmutase と DPGase 活性は peak III に集中しており、この酵素タンパク質は赤血球内の 2,3 DPG 代謝を支配している。peak II の存在意義は不明である。peak III タンパクは電気泳動と超遠心分析で均一であり、三活性の熱失活曲線は同一である故に、三活性は同一タンパク質により触媒されている。

2. 同一活性中心による三活性の発現

以上のように、2,3 DPG の合成と分解は従来の考えと全く異なり、同一の多機能酵素により遂行されているこ

とが明らかになったが、2,3 DPG の代謝調節を考えるときに問題となるのは、2,3 DPG の代謝活性が同一活性中心に由来するかいなかである。

この問題を解決するために化学修飾剤トリニトロベンゼンスルホン酸 (TNBS) を使用した⁽¹⁸⁾。TNBS はもっぱらアミノ基と反応するが、SH 基とも反応する。この試薬を使って peak III 酵素を修飾すると第 3 図 (A) のように酵素の修飾 (367nm の吸収増加) に伴って三活性が同時に失活する。2,3 DPG が共存すると修飾は抑制され、三活性は保護される。2,3 DPG は第 2 図に示したように三つの反応すべてに関与する化合物である。第 3 図 (A) の 2,3 DPG 非存在下の場合の修飾と活性低下の関係をプロットしなおすと第 3 図 (B) のようになり、酵素 1 モル (分子量=61,000) 当り約 1 モルのトリニトロフェニル基 (TNP 基) が結合すると、三活性はほとんど完全に失活する。酵素の SH 基量は TNBS による修飾の前後で変化しない故に、失活はアミノ基の TNP 化による。

酵素の TNP 化による失活は一次反応であり、2,3 DPG は一次反応の反応速度定数を減少させる。2,3 DPG 濃度と速度定数の変化を解析すると 2,3 DPG-酵素複合体の解離定数を算出しうる。このようにして求めた解離定数は第 2 表に示すように三種類の反応で求めた 2,3 DPG に関する動力学的パラメーターとよく一致する。なおイ

第 3 図 酵素のトリニトロベンゼンスルホン酸による修飾

酵素はヒト赤血球より得た peak III を使用。(●) PGAmutase ; (▲) DPGmutase ; (×) DPGase ; (○) 367nm の吸光度。

2,3 DPG 濃度 : 0 (—), 1 mM (---), 5 mM (---)。

(A) 修飾の time course と活性の低下。(B) (A) における 2,3 DPG 非存在下の場合の結果を再プロットした。

第 2 表 2, 3 DPG および 2 PGA に対する動力学定数

化合物	定数	測定値		測定法
		0.13M KCl+ 0.02M NaCl	0.1M KCl	
2, 3 DPG	K_d	μM	μM	化学修飾
	K_m	180	82	PGAmutase 反応
	K_m	200	80	DPGase 反応
	$K_i^{(20)}$	250	—	DPGmutase 反応
2 PGA		mM		
	K_d	2.5	—	化学修飾
	K_i	2.0	—	PGAmutase 反応

オン強度は赤血球内の条件 (0.13 M KCl+0.02 M NaCl) を選んだが、赤血球酵素の活性は一般に 0.1 M KCl 存在下で測定されるので、両条件下で実験した。

以上のように三活性は同一活性中心により発現されること、活性中心にはアミノ基が存在すること、このアミノ基は 2, 3 DPG の酵素への結合に必須な残基であることが明らかになった。

TNBS による酵素活性低下に及ぼす種々の化合物の影響を検討した。1, 3 DPG は 2, 3 DPG と同様に酵素の失活を保護する。3 PGA および 2 PGA は保護効果を示したが、その濃度は DPGmutase 反応における K_m 値⁽¹⁹⁾あるいは DPGase 反応における K_i 値⁽²⁰⁾などよりはるかに高濃度であった。また PGAmutase 反応は高濃度のモノホスホグリセリン酸 (MPG) により阻害され、その阻害は 2, 3 DPG に対して拮抗的である。この時の K_i 値と保護効果より求めた MPG-酵素複合体の解離定数はよく一致する (第 2 表)。したがって三活性に必須なアミノ基は DPG 部位にあり、MPG は高濃度になると DPG 部位にも結合しうること示している。P_i やホスホグリコール酸は DPGase 活性の促進剤であり、他の二つの活性の阻害剤である。これらは DPGase 反応における K_a 値⁽²⁰⁾より判断して十分な量を与えても TNBS による活性低下を保護しなかった。

3. 反応機構と 2, 3 DPG 代謝の調節

第 4 図は反応速度論的研究^(14, 19, 20)および化学修飾実験⁽¹⁸⁾より得られた結果を総合して考え出した三活性の反応機構のモデルである。酵素には MPG 結合部位と DPG 結合部位があり、DPG 部位にアミノ基が存在する。両部位に MPG および 1, 3 DPG が結合して DPGmutase 反応は進行する。DPGase 反応は DPG 部位に 2, 3 DPG が結合し、さらに MPG 部位にも 2, 3 DPG が結合するこ

第 4 図 三活性が同一活性中心により発現される機構

S は基質, I は阻害剤, A は活性化剤, E_F は effector であり, P_i やホスホグリコール酸を意味する。

第 5 図 2, 3 DPG 代謝の調節機構の特徴

A は活性化, I は阻害を意味する。

とにより進行すると考える。ただし 2, 3 DPG の MPG 部位への結合はいまのところ確固たる証拠はなく、酵母の PGAmutase の有する DPGase 活性の解析結果^(10, 11)よりの推論である。P_i やホスホグリコール酸など (effector と表示) は MPG 部位に結合して、DPG 部位における 2, 3 DPG の分解を促進する。PGAmutase 反応は両部位に MPG と 2, 3 DPG が結合して進行する。このように考えると各化合物の三反応における機能をうまく説明しうる。まず MPG は MPG 部位に結合することにより DPGase 反応を阻害する。1, 3 DPG は不安定な化合物であり、他の二つの反応における機能はわからない。2, 3 DPG は DPG 部位に結合するために DPGmutase 反応において、1, 3 DPG に対する拮抗的阻害剤となる。また effector は MPG 部位に結合するために DPGmutase および PGAmutase 反応を阻害する。

このような機構の 2, 3 DPG の代謝調節における意義を考える (第 5 図)。通常高エネルギーリン酸結合を消費して進行する反応とその逆反応は異なる酵素により触媒される。例えば $\text{F6P} \rightleftharpoons \text{FDP}$ 反応は PFK および FDP-

ase という異なる酵素により触媒され, effector (AMP) は両酵素に対して相反する効果を及ぼし, 調節効率をあげている。他方, 2,3 DPG 代謝に関しては, 合成反応が 1,3 DPG の高エネルギー反応を消費して進行する反応であるにもかかわらず, 合成と分解反応は同一タンパクの同一活性中心により触媒されている。この結果, まったく不可逆な合成と分解反応があたかも一つの可逆反応のようになる。したがって合成反応の生成物である 2,3 DPG の蓄積は合成反応の停止であると同時に, 分解反応のスタートである。また分解反応の生成物である 3PGA の蓄積は分解反応の停止であり, 同時に合成反応進行のための一要因となる。effector は両反応に全く相反する効果を及ぼし調節効果を増幅しうる。

このように 2,3 DPG 代謝は特異な機構により調節されていることを証明したが, まだ不明な点もかなりある。たとえば DPGase 活性の強い促進剤であるホスホグリコール酸が赤血球内に存在するかいなかについては不明である。

4. 多機能酵素の普遍的存在

以上のような性質を持った多機能酵素の存在を種々の哺乳動物について調べてみると, ブタ⁽¹⁷⁾およびウサギ⁽²¹⁾など 2,3 DPG を大量に含む赤血球中にはヒトと同じような酵素が存在した。これらの赤血球内には三活性の比が異なるアイソザイムが存在する。すなわち PGAmutase 活性が非常に高く, DPGmutase および DPGase 活性の低い酵素と, PGAmutase 活性は低いが DPGmutase および DPGase 活性の高い酵素が存在する。前者を class I 酵素, 後者を class II 酵素と呼んで分類する⁽¹⁵⁾。class I 酵素は解糖系の PGAmutase として働いている故に, 全細胞中に存在する。ところが class II 酵素は 2,3 DPG を高濃度を持つ細胞中に大量に存在する。たとえばウシ赤血球のように 2,3 DPG 量の低い (20 μ M⁽¹³⁾) 赤血球中には class II 酵素はほとんど検出されない。したがって, 多くの哺乳動物赤血球中に大量の 2,3 DPG が蓄積する理由は, class II 酵素が大量に存在すること, 2,3 DPG に対して親和力を持つ Hb が存在することである。2,3 DPG が Hb と結合することによって遊離 2,3 DPG 濃度が減少し, DPGmutase 活性の阻害が解除され, 2,3 DPG が蓄積する。

Class I 酵素と class II 酵素の関係についてはよくわかっていない。peak I と III のアミノ酸組成はよく似ているが⁽²²⁾, 免疫学的には関係がない⁽²³⁾。

III. 2,3 DPG の機能

最近, 赤血球内 2,3 DPG の機能が拡大されつつある。すなわち解糖系の kinase 類やヌクレオチド代謝系の酵素を阻害することが知られた⁽²⁴⁻²⁸⁾。これらの中で特に注目すべきことは 2,3 DPG の AMP 脱アミノ酵素の阻害である。

ヒト赤血球内ヌクレオチドの特徴は, そのほとんどがアデニンヌクレオチドであること, ヌクレオチド代謝に関与する酵素を数多く欠損していることである。通常の細胞内では前駆体からプリンヌクレオチドの生合成はもちろん, ヌクレオチド間の相互転換も行なわれているが, 赤血球内では前駆体からの合成経路ならびに IMP から GMP への転換経路は欠損している。しかるにヒト赤血球内には高い AMP 脱アミノ酵素活性がみられる。この酵素の作動はアデニンヌクレオチドの不可逆な消失であり, 最終的には赤血球細胞の寿命を短縮することになる。したがって本酵素は赤血球成分により強く抑制されていなければならない。通常 AMP 脱アミノ酵素は複雑なアロステリック酵素であり, ヒト赤血球の場合にも K^+ 要求性, AMP 飽和曲線のシグモイド性, ATP による活性化, 2,3 DPG および P_i による阻害がみられる。これら AMP 脱アミノ酵素に影響を与える因子のうち, ATP と 2,3 DPG の細胞内有効濃度 (遊離型濃度) は, 酸素分圧, pH, Mg^{2+} 濃度により大きく変動する。このような要因をすべて包含した実験系で AMP 脱アミノ酵素の速度論的研究を行ない第 3 表のような結果を得た⁽²⁹⁾。条件 A は全 Hb が酸素化された時, すなわち動脈中の赤血球内での遊離の ATP, 2,3 DPG 濃度である。このような条件下で基質 AMP 濃度を変化させ, その時の AMP 脱アミノ酵素活性よりアデニンヌクレオチドの half-life を算出した。条件 B は全 Hb が脱酸素化される条件であ

第 3 表 赤血球内アデニンヌクレオチドの寿命

[AMP] mM	Half-life (時間)		
	条件 A	条件 B	条件 C
	[ATP] =0.18 mM [2,3DPG] =3.2 mM	[ATP] =0.11 mM [2,3DPG] =1.2 mM	[ATP] =0.18 mM [2,3DPG] =0 mM
0.01	119.8	34.2	0.52
0.02	28.6	9.5	0.26
0.03	12.3	4.5	0.18
0.04	6.7	2.6	0.14
0.05	4.2	1.7	0.11

る。また条件Cは 2,3 DPG がない場合の値であり、遊離 ATP 濃度は 0.18mM とした。赤血球内 AMP 濃度は 0.01~0.02mM であり、実際の生体内は条件AとBの間中であろう。したがってアデニンヌクレオチドの half-life は、おおざっぱに見積って 19~77 時間になる。これは Mager らの生体実験結果、8~9 日という half-life よりはるかに低い⁽³⁰⁾。しかし 2,3 DPG の存在しない場合 (条件C) に比較すると、2,3 DPG はヌクレオチドの half-life をはるかに延長している。Mager らの値とのくいちがい、AMP 脱アミノ酵素の制御因子として、2,3 DPG の他に未知の物質が存在するためであるのかもしれない。いずれにせよ 2,3 DPG は、AMP 脱アミノ酵素のアロステリック阻害剤としてアデニンヌクレオチド代謝を調節していることは明らかであり、2,3 DPG の新機能を確立したのである。

IV. 2,3 DPG と疾病

2,3 DPG は大変重要な化合物である故に、その濃度の変動と病気のしは病態とが相関関係があるのではないかと考えられている。実際に低酸素血症や血液循環系の障害を伴った糖尿病患者には 2,3 DPG レベルの上昇が観察されている⁽³¹⁾。著者らは一連の貧血患者の赤血球中の PGAmutase 活性が非常に高いことを発見した。酵素活性の変動は病気の進行情況ともよく一致した⁽³²⁾。この現象の生化学的意義を明らかにするには、活性変動の内容 (class I と II のうちどちらの酵素の変動) を明らかにする必要がある。

V. お わ り に

赤血球内 2,3 DPG の濃度を自由に变化させうるならば、その利用価値ははかり知れない。古い輸血用血液でも酸素供給能を高め、輸血後の赤血球寿命を延長しうる。輸血などと言わず、ある種の化合物を投与することにより 2,3 DPG 濃度を制御しうるならば、病気の治療におおいに役立つであろう。スポーツの世界記録が続出する。出走前の競走馬に投与する悪い奴もいるかもしれない。生体の代謝制御機構はこんな計画を夢としてみようほど強力で厳密なものかもしれない。夢を実現することが科学であろう。

食品成分と赤血球内 2,3 DPG 濃度、ひいては赤血球の寿命の関係を確立することが著者の目的であるが、ほんの出発点に立ったばかりである。

本研究遂行に際し、御指導賜りました京都大学農学部、千葉英雄教授、名古屋大学農学部、杉本悦郎教授ならびに御協力いただきました皆様方に厚くお礼申し上げます。

- (1) I. Greenwald : *J. Biol. Chem.*, **63**, 339 (1925).
- (2) S. Rapoport and G. M. Guest : *ibid.*, **138**, 269 (1941).
- (3) E. W. Sutherland, T. Posternak and C. F. Cori : *ibid.*, **179**, 501 (1949).
- (4) R. Benesch and R. E. Benesch : *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **26**, 162 (1967).
- (5) A. Chanutin and R. R. Curnish : *Arch. Biochem. Biophys.*, **121**, 96 (1967).
- (6) J. Duhm and E. Gerlach : *The Human Red Cell In Vitro*, ed. by T. J. Greenwald and G. A. Jamieson, Grune and Stratton, Inc., 1974, p. 111.
- (7) S. Rapoport and J. Luebering : *J. Biol. Chem.*, **183**, 507 (1950).
- (8) S. Rapoport and J. Luebering : *ibid.*, **189**, 683 (1951).
- (9) R. Sasaki, E. Sugimoto and H. Chiba : *Arch. Biochem. Biophys.*, **115**, 53 (1966).
- (10) R. Sasaki, E. Sugimoto and H. Chiba : *Biochim. Biophys. Acta*, **227**, 584 (1971).
- (11) R. Sasaki, M. Hirose, E. Sugimoto and H. Chiba : *ibid.*, **227**, 595 (1971).
- (12) R. Sasaki, S. Utsumi, E. Sugimoto and H. Chiba : *Eur. J. Biochem.*, **66**, 523 (1976).
- (13) R. Sasaki, K. Ikura, E. Sugimoto and H. Chiba : *Anal. Biochem.*, **61**, 43 (1974).
- (14) R. Sasaki, K. Ikura, E. Sugimoto and H. Chiba : *Eur. J. Biochem.*, **50**, 581 (1975).
- (15) R. Sasaki, K. Ikura, H. Narita and H. Chiba : VIIIth International Berlin Symposium on Structure and Function of Erythrocytes, (1977), in press.
- (16) H. Chiba, K. Ikura, H. Narita and R. Sasaki : *ibid.*, in press.
- (17) R. Sasaki, K. Ikura, H. Narita and H. Chiba : *Agric. Biol. Chem.*, **40**, 2213 (1976).
- (18) K. Ikura, R. Sasaki, E. Sugimoto and H. Chiba : *Eur. J. Biochem.*, **66**, 515 (1976).
- (19) Z. B. Rose : *J. Biol. Chem.*, **243**, 4810 (1968).
- (20) Z. B. Rose and J. Liebowitz : *ibid.*, **245**, 3232 (1970).
- (21) H. Narita, S. Utsumi, S. Katsura, K. Ikura, R. Sasaki and H. Chiba : 論文準備中.
- (22) L. F. Hass, R. H. Sheibley, W. K. Kappel and K. B. Miller : *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **72**, 976 (1976).
- (23) K. Ikura, H. Narita, R. Sasaki and H. Chiba : 論文準備中.

- (24) S. K. Srivastava and E. Beutler : *Arch. Biochem. Biophys.*, **148**, 249 (1972).
- (25) D. W. Darnall and L. V. Murray : *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **46**, 1222 (1972).
- (26) J. Ponce, S. Roth and D. R. Harkness : *Biochem. Biophys. Acta*, **250**, 63 (1971).
- (27) A. Askari and S. N. Rao : *ibid.*, **151**, 198 (1968).
- (28) L. C. Yip and M. E. Balis : *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **63**, 722 (1975).
- (29) R. Sasaki, K. Ikura, S. Katsura and H. Chiba : *Agric. Biol. Chem.*, **40**, 1797 (1976).
- (30) J. Mager, A. Dvilansky, A. Razin, E. Wind and G. Izak : *Israel J. Med. Sci.*, **2**, 297 (1966).
- (31) Y. Kanter, S. P. Bessman and A. N. Bessman : *Diabetes*, **24**, 724 (1975).
- (32) H. Chiba, K. Ikura, R. Sasaki, E. Sugimoto and H. Saimyoji : *J. Biochem.*, **76**, 96 (1974).

(昭和 52 年 6 月 13 日受理)