

호르몬과 효소

金 泳 垠

서울대학교 藥學大學

(Received March 25, 1977)

Young Eun Kim (*College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151*):
Hormone and Enzyme

호르몬과 효소와의 關係를 包含하는 事項은 다음과 같이 考慮할 수 있다. 即, 1. 효소生成에 미치는 호르몬의 작용, 2. 효소活性에 미치는 호르몬의 作用, 3. 효소活性에 關與하는 諸因子(助酵素, activator, inhibitor)에 대한 호르몬의 作用, 4. 효소에 依한 호르몬의 合成, 5. 효소에 依한 호르몬의 分解等이다.

最近 50年間の 이 分野의 發展相은 實로 括目할 만하며 또 그에 關한 報文도 枚擧할 수 없을 程度이다. 本稿에 주어진 本題에 對하여는 最近에 學論되어 있는 호르몬의 標의 細胞의 receptor에 對하여, 호르몬의 第2의 messenger로서의 cyclic AMP 및 그의 類似體인 DBC-AMP 그리고 호르몬에 依한 효소誘導에 對하여 紹介하고자 한다.

호르몬의 分子生物學的 作用機構

各種 호르몬이 個個의 生理作用을 나타내기 爲해서는 첫째로 標의 器官의 受容體(receptor)에 特異적으로 結合하는 것이 必須적으로 되어 있다. 一般적으로 小分子의 호르몬 特히 steroid hormone은 細胞內에 存在하는 細胞質受容體와 結合하여 複合體를 形成한 後 溫度依存性的 receptor transformation을 거쳐 急速히 核內에 移轉되어 마침내 核 receptor complex를 形成한다. 이 過程은 steroid hormone에 있어서 共通의이며 receptor binding→receptor transformation→translocation, acceptor binding의 3段階를 거쳐서 遺傳子活性化를 일으킨다. 이 受容體는 細胞質中에서 8S의 沈降係數를 가진 蛋白質이지만 어떤 條件下에서는 4S subunit로 分離되어 核膜上에서 5S로 變하여 核內에 移行되는 것으로 生覺된다¹⁻³⁾.

Steroid hormone과 thyroid hormone은 細胞增殖作用이 強하며 核內에서의 轉寫活性을 促進하는 것으로 알려져 있다. thyroid hormone 特히 T₃ (3, 5, 3'-triiodothyronine)의 受容體에 關한 研究은 近來에 이르러 急速한 進展을 보게 되었으며 그 受容體는 細胞質과 核內에도 存在하지만 結合의 性質이 steroid hormone과는 相違하다⁴⁾. 그러나 이들 兩호르몬의 核內에서의 receptor는 DNA에 結合되어 있는 蛋白質中의 非히스톤性蛋白質⁵⁾ 特히 酸性蛋白質과 結合하는 것으로 報告되어 있다⁶⁾.

한편 polypeptide hormone의 作用機構에 對해서는 위에서 言及한 바 있는 steroid hormone 및 thyroid hormone은 細胞膜을 自由롭게 通過하여 細胞質에 存在하는 受容體에 結合한다.

한편 peptide hormone의 受容體는 標的組織의 細胞膜에 存在하므로 그것과 結合하여 그 자리에서 호르몬이 識別(discrimination)된 후 細胞內에 增幅(amplify)되는 것으로 알려져 있다. 大概 이 受容體는 adenylylase와 關係가 있으므로 호르몬과 受容體가 結合하면 受容體의 立體構造가 變化되어 adenylylase가 活性化되어서 ATP에서 cyclic AMP가 生成된다. 이 cyclic AMP가 細胞內의 second messenger⁷⁾로서 作用하여 proteinkinase를 活性化하여 特殊한 酵素 및 其他 蛋白質을 磷酸化하므로써 그 增幅作用의 結果 各種 細胞의 機能을 調節하는 것으로 思料되고 있다.

호르몬의 Second Messenger로서의 Cyclic AMP

Cyclic AMP는 catecholamine, glucagon, ACTH, TSH, prostaglandin等 호르몬에 依해 增加되며 second messenger로서 作用한다. 이와 反對로 insulin은 細胞內의 濃度を 減少시킨다. 호르몬에 依한 細胞內 cyclic AMP의 濃度の 增減만으로서 호르몬作用의 全部가 說明될 수 있을지는 疑問이지만 호르몬 作用을 物質 level에서 解明하는데 貴重한 尺度의 하나가 되고 있다는 것은 疑心할 餘地가 없다. 標的臟器內의 cyclic AMP의 濃度の 增減에 미치는 호르몬의 影響에 對한 大要는 Table I 提示되어 있다²⁹⁾. 그러나 호르몬作用이 cyclic AMP를 仲介하여 이러나는 것으로 確定하기 爲해서는 그 호르몬으로 處理된 標的細胞內의 cyclic AMP의 濃도가 增加되어야만 하며 同時에 cyclic AMP의 生成을 促進하는 adenylylase의 活性이 增加해야 한다. 또 cyclic AMP의 phosphodiesterase에 依한 細胞內分解를 抑制하는 theophylline을 添加하였을 때 호르몬 作用이 增強되어야 한다. 그 밖에 cyclic AMP로 處理하였을 때 호르몬과 같은 效果가 나타나는 것을 前提로 하고 있다³⁰⁾.

그러나 cyclic AMP가 透過되지 않은 組織例를 들어서 脂肪, 甲狀腺, 骨, 心臟, 唾液腺 등이 있다. 이와 같은 組織에 對해서는 cyclic AMP의 誘導體 N⁶, O^{2'}-dibutyryl cyclic AMP (DBC-AMP)가 利用된다. DBC-AMP는 大體로 cyclic-AMP의 1/10 濃度로서 效果를 나타낸다. 이것은 phosphodiesterase에 依한 分解를 받기 어렵기 때문에 細胞內蓄積이 增加되어 効力を 나타내는 것으로 알려져 있다³¹⁾. DBC-AMP를 HeLa細胞에 加하면 細胞內에는 N⁶-monobutyryl cyclic AMP만이 남게 되고 O^{2'}-monobutyrate, cyclic AMP는 急速히 分解된다³²⁾. DBC-AMP를 投與하였을 때 效果를 나타내는 本態는 다음과 같이 說明되고 있다. 即 DBC-AMP는 cyclic AMP 結合蛋白質과 結合하지 않으며 DBC-AMP 結合蛋白質은 따로 있는 것으로 되어 있다. 한편 N⁶-monobutyryl cyclic AMP는 cyclic AMP 結合蛋白質과는 結合이 可能하다. 따라서 cyclic AMP와 cyclic AMP 結合蛋白質과의 結合에 對하여 拮抗的으로 作用한다. 以上과 같은 點에서 미루어 보아 DBC-AMP는 N⁶-monobutyryl cyclic AMP로 變化하여 作用을 나타내는 것으로 思料되고 있다^{31~33)}.

그 호르몬이 cyclic AMP를 中繼하여 作用이 나타나는 것이 確實하여도 그것만으로서 호르몬의 作用이 分子生物學的으로 解明된 것은 아니다. Cyclic AMP에 依한 代謝의 調節이 cyclic AMP 依存性 蛋白質 磷酸化 酵素의 活性에 依한 것임이 判明되어 있는 例는 glycogen 分解³⁴⁾와 合成系³⁵⁾, 脂肪分解系³⁶⁾ 其他 histon의 磷酸化³⁷⁾等에 對한 것을 들 수 있다. 그러나 gene expression에 미치는 意義에 對해서는 未詳으로 남아있는 實情이다. cyclic AMP 培養細胞에서 酵素 誘導라는 것은 一般的으로 酵素蛋白質의 合成의 增進을 意味하는 것이며 다만 그 過程에서 Actino-

mycin D (Act D)로 阻止되는 段階, 即 m-RNA 의 transcription level 에서 誘導가 일어나는 경우와 Act D로 阻止를 받지 않는 酵素蛋白의 translation (post-transcription) level 에서 感應하는 등 그 作用의 樣相이 細胞에 따라 또는 酵素別로 多樣하다.

호르몬이 投與된 後 그 生理作用을 나타내기 까지는 標的細胞의 細胞質에 存在하는 polysome 上에서 特異한 蛋白의 合成이 이루어져야 하며 그러기 爲해서는 核內에서 RNA 의 合成이 必須的으로 된다. 호르몬 投與後 標的細胞에서 RNA 가 合成되기 까지의 時間은 各 호르몬에 따라서 다르며 子宮을 標的組織으로 하는 estrogen 의 경우는 數分間이고, thyroid hormone 의 경우는 肝을 標的臟器로 할 때는 數時間의 潛伏期를 달리하고 있다(Table II). 이 事實은 호르몬의 細胞膜에 對한 透過性和 細胞內의 濃度の 差異도 影響을 받는다.

호르몬을 投與한 後에 그 標的組織의 核과 chromatin 을 分離하여 RNA polymerase 活性을 測定하면 兩者에서 다 增加를 나타내지만 호르몬에 따라서 差異가 認定된다. Table II에서 보는 바와 같이 *in vivo* 에서 RNA 合成이 增加된 後에 *in vitro* 에서 變化가 일어나고 있으며 RNA polymerase 는 高이온濃度에 比해서 低이온濃度에서 測定하였을 때에 그 活性이 높으며 또 호르몬 投與後에 活性이 나타나기 까지의 時間도 빠르다는 것이 나타나 있다, 核의 RNA polymerase 를 測定할 때 高이온濃度에서는 m-RNA 를 低이온濃度에서는 r-RNA 가 合成된다는 것에 對한 始初의 報告者는 Widnell 및 Tata¹³⁾이다. 最近에 이르러 前者는 RNA-polymerase II에 該當하고 核의 核小體以外的 部分에 存在하며 α -amanitin 에 對하여 極히 感受性이고 Mg^{++} 을 要求한다. 한편 後者는 RNA-polymerase I에 該當하며 核小體에 存在하고 α -amanitin 에 對하여 抵抗性이며 Mn^{++} 을 要求한다. r-RNA 를 合成한다는 것이 明白히 되어 있다.

r-RNA 의 合成은 m-RAN 合成에 比해서 極히 低濃度の Act D에 依해서 阻害된다는 것이 報告되어 있다^{18, 29)}. 호르몬을 投與하면 m-RNA 에 比해서 r-RNA 의 合成이 積極的으로 進行된

Table I—The effect of hormones on the concentration of cyclic AMP in target organ cells

Tissue	Hormone	Change of cyclic AMP
adipose, brown	catecholamines	increase
adipose, white	catecholamines	increase
	glucagon	increase
	ACTH	increase
	TSH	increase
	secretin	increase
	insulin	decrease
	prostaglandin	decrease
adrenal cortex	ACTH	increase
anterior pituitary	vasopressin	increase
	prostaglandin	increase
bone	parathyroid hormone	increase
	prostaglandin	increase
cardiac muscle	catecholamine	increase
	glucagon	increase
kidney, cortex	parathyroid hormone	increase
	prostaglandin	increase
kidney, medulla	vasopressin	increase
liver	catecholamines	increase
	glucagon	increase
	insulin	decrease
ovary (corpus luteum)	LH	increase
pancreas (islets)	glucagon	increase
	epinephrine	decrease
parotid	catecholamines	increase
platelet	prostaglandins	increase
	catecholamines	decrease
skeletal muscle	catecholamines	increase
skin (frog)	α -MSH	increase
	norepinephrine	decrease
	melatonin	decrease
smooth muscle	catecholamines	increase
testes	LH (ICSH)	increase

Table II—The latent period of time for nucleus RNA synthesis and maximum increase of labeled RNA, RNA polymerase and chromatin

Hormone	Target organ	Latent period of time and maximum activity			
		Labeled RNA <i>in vivo</i>	RNA polymerase at low concentration	RNA polymerase at high concentration	Chromatin activity
Estrogen	Rat's uterus ^{8,9)}	2~10 min 500%	1 hr 150%	24 hr 50%	2 hr 70%
Somatotropin	Rat's liver ^{11,12,13)} Rat's muscle ^{14,15)}	1 hr 50~100%	2 hr 80% 18 hr 50%	NE* 18hr 50%	Inhibition
Hydrocortisone	Rat's liver ^{16,17)}	1 hr 300%	2~4 hr 75%	NE	4 hr 30%
Testosterone	Rat's prostate ^{18,19,21)} testis ¹⁶⁾	1.5 hr 300~500%	2 hr 120%	20%	NE
thyroid hormone	Rat's liver ²²⁾ frog's liver ²³⁻²⁵⁾	3 hr 350% 8 hr 600%	12 hr 200% —	24 hr 50% —	4 days 50%

* NE : No effect

Table III—Induction of alkaline phosphatase by cyclic AMP, dibutyryl cyclic AMP and theophylline

Additions	Final concentration	Alkaline phosphatase	Acid phosphatase
	(mg/ml)	(nmoles/hr/mg protein)	
none	—	55	1220
cyclic AMP	0.4	99	1160
cyclic AMP	1.0	196	1160
theophylline	0.18	137	1060
cyclic AMP + theophylline	0.4	413	1280
	0.18		
cyclic AMP + theophylline	0.4	645	1280
	1.0		
none	—	49	1340
DB cyclic AMP	0.05	73	1480
DB cyclic AMP	0.25	186	1570
DB cyclic AMP	0.50	680	1720
DB cyclic AMP	1.0	3650	1920
DB cyclic AMP	2.5	14400	3060

타는 것이 Wyatle 및 Tata²⁸⁾에 의해서 確認되어 있다.

Cyclic AMP 와 그 誘導體인 Dibutyryl Cyclic AMP 에 의한 酵素誘導

Cyclic AMP, DBC-AMP 에 의한 培養細胞의 酵素誘導에 관한 報文은 많으나 그 程度를 보면 數倍에 不過하다. Koyama³⁸⁾는 mouse 乳癌細胞 FM 3 A 系細胞에서 alkaline phosphatase (AL-P)가 最高 300倍에 이르는 誘導增加를 確認하였다(Table III). III에서 보는 바와 같이 cyclic AMP 1mg/ml 3日間 處理로 3.6倍의 AL-P의 誘導가 있었으며 theophylline은 0.18 mg/ml로 2.5倍의 上昇을 보여주었다. 그 밖에 cyclic AMP, theophylline의 同時添加群에서는 相乘效果가 分明하다. 이러한 處理에 있어서 acid phosphatase에는 아무런 變動이 없었다. DBC-AMP는 cyclic AMP에 比해서 同一한 濃度에서 越等하게 有效하였으며 2.5 mg/ml로 活性은 顯著(300倍)하게 나

타나고 있다. 이때 acid phcsphatase도 2倍로 活性이 增加되어 있으나 이것은 AL-P의 酸性領域(pH 4.8)에서의 活性인지 分明치 않다. 한편 또 다른 實驗에 의하면 DBC-AMP (0.5 mg/ml)로 B-6細胞의 日時經過에 따른 AL-P 誘導效果를 보면 Fig. 1에서와 같이 1日의 lag phase를 두고 8日까지는 急速度로 增加하며 12日에는 plateau에 到達한다. 그 사이에 제 3일에, 또는 제12일에 正常培養地에 옮기면 翌日부터 活性이 低下되지만 完全히 元狀態로 도라갈 때 까지는 3日과 6日을 要한다. Cyclic AMP, DBC-

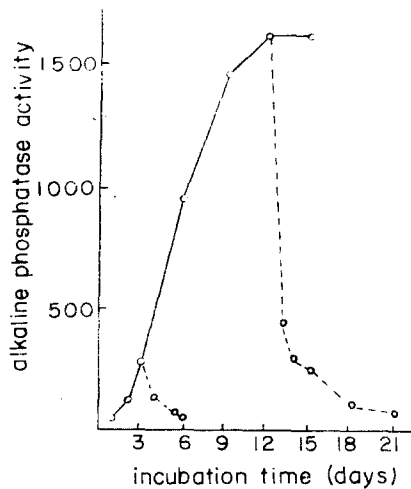


Fig. 1—Kinetics of alkaline phosphatase induction by dibutyryl cyclic AMP

○—○; phosphatase activity of DBC-AMP-added culture medium, ○··○ phosphatase activity at the normal culture medium transferred after 3 or 12 days.

않다. Parasada 등은 neuroblastoma의 培養細胞에서 DBC-AMP (0.5 mM 3日 培養으로 50倍)가 tyrosine hydroxylase를 強하게 誘導하는 것을 確認하였으나 cyclic-AMP는 無効였다. 그러나 Na-butyrate는 DBC-AMP의 半程度の 効力を 나타냈다⁴⁰. Cyclic AMP, DBC-AMP에 依한 酵素誘導가 transcription level에서 이루어지는 것으로 생각되는 예를 들면 Charter⁴¹는 닭 細胞培養으로 glutamin synthetase가 $1.2 \times 10^{-3}M$ 의 cyclic AMP로 24時間 後에 2~3倍로 또 DBC-AMP ($0.8 \times 10^{-3}M$)로는 8배나 增加한다고 報告하고 있다. Cortisone ($3 \times 10^{-8}M$)은 10倍 以上으로 誘導한다. Act D ($1.6 \times 10^{-7}M$)과 cycloheximide ($7 \times 10^{-6}M$)로 完全히 glutamine synthetase의 誘導는 阻止되므로 DBC-AMP의 本 酵素誘導는 RNA의 새로운 合成을 거쳐서 이루어지는 것이라 하겠다⁴².

Cyclic AMP에 의한 Translation (Post Transcription) Level에서의 酵素誘導

副腎의 ACTH에 依한 corticoid의 產生은 cyclic AMP의 仲介로 이루어지는 것으로 되어있다. Cyclic AMP에 依한 steroid 產生의 促進은 puromycin과 cycloheximid에 依해서 阻止되므로 steroid 產生에 關與하는 酵素의 新生을 必要로 한다. 그러나 이 系에서는 Act D가 無効이므로 post-transcription level에서 cyclic AMP가 作用하는 것으로 思料된다. 이 機轉은 cyclic AMP에 依해서 副腎皮質의 proteinkinase가 活性化되어서 ribosome protein이 磷酸化되어서 translation을 促進하는 것으로 推定하고 있다⁴³. 事實上 *in vitro* 및 *in vivo*에서 ribosome protein이 磷酸化되는 것이 報告되어 있으나 生理的 意義는 分明하지 않다⁴³. Barnet에 依하면 培養

AMP의 이 系에서의 作用機轉을 살펴보면 cycloheximid, Act S₃ (Act D와 類似한것)과 같은 細胞의 蛋白合成 RNA 合成을 90% 以上을 阻止하는 物質을 DBC-AMP (1mg/ml)와 同時에 添加하여 34時間培養할 때 기이 完全하게 酵素誘導가 阻止되었다³⁹. 이 結果로 비루어 볼 때 誘導에는 새로운 蛋白質, RNA 合成이 必要하다는 것이 分明하며 大體로 transcription level에서 誘導가 일어나고 있는 것으로 思料된다. 이와같이 DBC-AMP가 cyclic AMP에 比해서 強하였으므로 Koyama는 DBC-AMP가 細胞內에서 esterase에 依해서 分解되어 生成될 것으로 짐작되는 butyrate를 試驗해 본 結果 Na-butyrate가 DBC-AMP와 同程度の AL-P 誘導効果가 있음을 發見하였다. 그뿐만 아니라 butyrate보다 多小 炭素數가 많거나 작은 脂肪酸에서도 効果가 있었으나 butyrate가 가장 効果的이었다. 脫 carboxyl化 또는 NH₂를 導入한 것은 無効였다³⁹. 이와같이 若干의 構造特異性은 있으나 butyrate의 誘導機轉에 對해서는 分明치

H-35의 tyrosine aminotransferase (TAT)는 DBC-AMP에 의해 합성이 2배로 증가되며 이 酵素의 誘導는 cycloheximide에 의해서 阻止된다. DBC-AMP에 의한 TAT의 誘導는 insulin에 의해서 더욱 증가하지만 phosphoenol pyruvate carboxykinase의 境遇는 insulin에 의해서 阻止되었다⁴⁴. Potter 등도 培養 H-35 細胞에서 TAT가 DBC-AMP와 insulin에 의해 誘導되는 것을 確認하였으며 이들의 誘導가 cycloheximide로 阻止되나 RNA 합성을 cordicepin (3'-deoxyadenosine) 또는 Act D로 抑制하여도 差異가 없으므로 translation level에서 誘導가 이러한다고 主張하고 있다⁴⁵. Oliver 등에 의하면 Rat 肝의 TAT 합성은 cyclic AMP에 의해서 誘導가 促進되지만 이때 Act D로 抑制를 받지 않는다⁴⁶. 肝의 TAT에 關해 興味있는 點은 epinephrine以外에 puromycin 投與의 境遇에도 增進된다는 事實이다. Microsome 分割의 TAT는 cyclic AMP와 puromycin 또는 ATP로 3배나 增加하며 이때 TAT는 polysome에서 遊離되고 있으나 cycloheximide로 阻止되지 않으므로 peptide chain의 合成延長(elongation)이 아니고 蛋白合成의 終結(termination) 또는 遊離(release)의 段階에서 作用하는 것으로 推定되고 있다. 아마 酵素의 遊離 促進의 機轉은 polypeptide t-RNA의 esterase를 活性化하는데 있는 것으로 思料되고 있다⁴⁷.

結 語

Steroid hormone 및 triiodothyronin (T_3)는 核蛋白中에서도 非 histone 性蛋白과 結合한다는 것과 glucagon 및 其他 peptide hormone이 細胞膜의 receptor와 結合하여 adenylylase를 活性化하므로서 cyclic AMP를 生成하며 이것이 protein kinase를 活性化한다는 것은 이미 잘 알려져 있는 事實이다. 活性化된 protein kinase가 核의 histon 및 非 histon 性蛋白의 磷酸化를 促進하는 것이 遺傳子活性化의 방아쇠와 같은 役割을 한다고 思料된다. 이들 各種 호르몬이 相互作用하므로서 本來의 各種 호르몬 作用을 나타내는 것으로 思料된다. peptide hormone의 second messenger로 되어 있는 cyclic AMP의 生成機構와 cyclic AMP, 기타 그 誘導體인 dibutyryl cyclic AMP에 의한 酵素誘導를 mouse 乳癌 FM 3 A 系 細胞의 alkaline phosphatase의 增加 促進을 例를 드려 紹介하였으며 이것이 transcription level에서 促進하는 것을 說明하였다. 또 cyclic AMP에 의한 酵素誘導가 post transcription (translation)의 level에서 나타나는 例를 steroid 產生 酵素, tyrosine amino transferase (TAT) 등을 들어 紹介하였다. 最近 癌을 gene expression의 異常으로 推定하고 있으므로 20世紀의 世界的인 研究課題인 癌의 本態가 究明될 날도 不遠한 것으로 期待된다.

文 獻

1. E.V. Jensen and E.R. de Sombre, *Ann. Rev. Biochem.*, **41**, 203 (1972).
2. B.W. O'Malley and A.R. Means, *Science*, **183**, 610 (1974).
3. E.V. Jensen and E.R. de Sombre, *ibid*, **182**, 126 (1973).
4. J.R. Tata, *Nature*, **257**, 18 (1975).
5. N. Deffer, B. Dastugue, M.M. Sabatier, P. Tomopoulos, and J. Kruh, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **67**, 995 (1975).
6. M.I. Surks, D. Koerner, H.L. Schwartz, and J.H. Surks, *J. Biol. Chem.*, **248**, 7066 (1973).
7. E.W. Sutherland, L. Oye, and R.E. Butcher, *Recent Progr. Horm. Res.*, **21**, 623 (1965).

8. T.H. Hamilton, C.C. Widnell, and J.R. Tata, *J. Biol. Chem.*, **243**, 408 (1968).
9. A.R. Means and T.H. Hamilton, *Pro. Nat. Acad. Sci. USA*, **56**, 1954 (1966).
10. K.L. Barker and J.C. Warren, *Pro. Nat. Acad. Sci. USA*, **53**, 1298 (1966).
11. A. Korner, *Recent Prog. Horm. Res.*, **21**, 205 (1965).
12. A. Korner, *Biochem. J.*, **92**, 449 (1964).
13. C.C. Widnell and J.R. Tata, *Biochem. J.*, **98**, 621 (1966).
14. J.R. Florini and C.R. Breuer, *Biochemistry*, **5**, 1870 (1966).
15. C.B. Breuer and J.R. Florini, *Biochemistry*, **5**, 3857 (1966).
16. D.L. Greerman, W.D. Wicks, and E.T. Kenny, *J. Biol. Chem.*, **240**, 4420 (1966).
17. M.E. Dahmus and J.B. Bonner, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **54**, 1370 (1965).
18. H.G. William-Ashmar, S. Liao, R.L. Hancock, L. Turkowitz, and D.A. Silverman, *Recent Progr. Horm. Res.*, **20**, 247 (1964).
19. J.R. Tata, *Proc. Nucleic Acids Res. Mol. Biol.*, **5**, 191 (1966).
20. S. Liao, K.R. Leininger, D. Sagher, and R.W. Endocrinology, **77**, 763 (1965).
21. S. Liao, R.W. Barton, and A.H. Lin, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **55**, 1593 (1966).
22. J.R. Tata and C.C. Widnell, *Biochem. J.*, **98**, 604 (1966).
23. J.R. Tata, *Biochem. J.*, **105**, 783 (1967).
24. K.H. Kim and P.P. Cohen, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **55**, 1251 (1966).
25. H. Nakagawa, K.H. Kim, and P.P. Cohen, *J. Biol. Chem.*, **242**, 635 (1966).
26. S.P. Blatti, C.J. Ingles, T.J. Lindell, P.W. Morris, R.F. Weaver, F. Weinberg, and W.J. Rutter, *Cold Spring Symposia on Quantitative Biology*, **XXXV**, 1970, p-649.
27. J.R. Tata, *Biochem. J.*, **104**, 1 (1967).
28. G.R. Wyatt and J.R. Tata, *Biochem. J.*, **109**, 253 (1968).
29. K.J. Hittelman and R.W. Butcher, *Effect of Drug on Cellular Control Mechanism*, B.R. Edited by R.B. Rabin and Freedman Macmillan, London, 1974, p-153.
30. I. Pastan and R.L. Perlman, *Nature New Biol.*, **229**, 5 (1971).
31. E. Kaukel and H. Hilz, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **46**, 1011 (1972).
32. E. Kaukel, K. Mundhenk, and H. Hilz, *Fur. J. Biochem.*, **27**, 197 (1972).
33. J.P. Miller, D.A. Schuman, M.B. Scholter, M.K. Dimmitt, C.M. Stewart, T.A. Khwaja, R.K. Robins, and L.N. Simon, *Biochem.*, **12**, 1010 (1973).
34. C. Villa-Palasi and K.K. Schlander, *Fed. Proc.*, **29**, 938 (1970).
35. C.A. Chelala and H.N. Torres, *Biochem. Biophys. Acta*, **298**, 504 (1970).
36. J.D. Corbin and E.G. Krebs, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **36**, 328 (1968).
37. T.A. Langan, *J. Biol. Chem.*, **244**, 5763 (1969).
38. H. Kcyama, R. Kato, and T. Ono, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **46**, 305 (1972).
39. H. Kcyama and T. Ono, *Biochemistry Symposium*, 1972, p. 368.
40. K.N. Prasad, J.C. Waymire, and N. Weiner, *Exp. Cell. Res.*, **73**, 110 (1972).
41. G.L. Charter, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **43**, 1102 (1971).
42. G.N. Gill and L.D. Garren, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **68**, 768 (1971).
43. D. Kabat, *Biochem.*, **9**, 4160 (1970).
44. C.A. Barnett and W.D. Wicks, *J. Biol. Chem.*, **246**, 7201 (1971).
45. F.R. Eutcher J.E. Becker, and V.R. Potter, *Exp. Cell Res.*, **66**, 321 (1971).
46. C.C. Chuh and I.T. Oliver, *Biochem.*, **10**, 2990 (1972).
47. G. Donovan and I.T. Oliver, *Biochem.*, **11**, 3904 (1972).