

Nocardia sp의 生理 生化學的研究

(第 2 報) Tellurite 還元酵素에 關하여

洪 淳 德

慶北大學校 農科大學 農化學科

(1977년 9월 22일 수리)

The Physiological and Biochemical Studies of *Nocardia* sp

(Part 2) Tellurite-Reducing Enzyme

Soon-Duck Hong

Department of Agricultural Chemistry, College of Agriculture

Kyung-Pook National University, Taegu, Korea

(Received Sept. 22, 1977)

Abstract

Distribution of tellurite- and tellurate-reducing enzymes in the cell of *Nocardia* sp, the purification and the chemical properties of enzymes were investigated. Tellurite- and tellurate-reducing enzymes were located in the cytoplasm, but T. T. C. reduction part was in the cell membrane.

Purification of tellurite- and tellurate-reducing enzymes was possible with the application of ammonium sulfate precipitation method and DEAE-Cellulose or CM-Cellulose column chromatographic method from the crude soluble part of the cell.

On investigating the properties of purified enzyme, one of NADP, NADPH and reductive methylene blue (leucomethylene blue) was thought to react as a hydrogen donor. Both NADH and NADPH, or either of them would be physiological hydrogen donor.

In the reaction of this enzyme, either tellurite or tellurate reacts as a hydrogen acceptor, but on the other hand either selenite or selenate also reacts as a hydrogen acceptor.

諸 論

Nocardia sp의 菌學的 및 分類學的인 位置에 對해서는 第 1 報에서 記述한 바와 같으며 本報에서는 tellurite 還元酵素에 對하여 檢討코져 한다.

Nocardia sp의 tellurite 및 tellurate 還元酵素에 對한 研究는 寺井⁽¹⁾는 精製酵素를 使用하여 水素供與體로서 malic acid dehydrogenase 를 反應系에 共軛시켜 實驗을 하였으나 以外에 NADH, 還元型

methylen blue, 還元型 diethyl safranin 等도 水素供與體로서 作用할 수 있다고 하였다.

그리고 渡邊, 洪 等도^(2,3,4,5) 水素供與體 및 各 基質에 對하여 報告한 바 있다. 그런데 상당히 넓은 範圍에 걸쳐 微生物 細胞構成酵素로서 分布하고 있는 이 酵素가 이러한 生理的 意義를 가지고 있는 가에 對해서는 거의 보고된 바를 볼 수 없다.

이 酵素의 基質인 tellurite 또는 tellurate 의 自然界에 있어서의 存在는 매우 적으며, 또한 이 酵素가 이들 物質만을 基質로서 할 것 같으면 오히려

이 효소의 세포내에서의 존재價値는 全然 그 意義를 가질 수 없을 것이다. 그렇지만 本 효소의 基質 特異性은 오히려 非特異的인 것으로서 이의 生理的 基質은 다른 物質이라 할 것 같으면 이 효소의 존재 意義 및 이의 生理的 作用은 저절로 理解가 될 것이다. 이러한 理由에 立脚해서 著者는 上記 *Nocardia* sp의 tellurite 還元 효소를 對象으로 하여 우선 細胞入의 存在部位를 電子顯微鏡으로 精밀히 調査함과 아울러 細胞를 破碎하여 細胞成分을 超遠心分劃法에 따라 分別하여 上記 電子顯微鏡學的 結果와 서로 比較해서 이의 存在部位를 究明하였다. 그리고 本 효소의 精製를 試圖하여 精製 효소에 對하여 효素化學의 諸 性質을 調査하여 特別히 自然界에서 올바른 生理的 基質이 어떠한 物質인가를 알아냄과 同時에 이의 生理的 意義를 明白히 할 目的으로 이 研究를 하였다.

材料 및 方法

1. 使用菌體

本實驗에 使用한 菌株는 第1報에서와 같은 菌株로서 *Nocardia* sp이다.

2. 培養法

第1報과 같이 主로 tellurite 還元 효소의 抽出精製를 目的으로 하였기 때문에 nutrient broth에서 30°C, 40時間 振盪培養法으로 培養하였다.

方 法

1. 효素液의 精製

Nocardia sp를 nutrient broth에서 40時間 振盪培養한 後, 集菌하여 菌體를 生理的 食鹽水로서 2回 洗滌한다. 洗滌 菌體를 0.25M sucrose液으로 20% 菌體가 되도록 현탁하여 French press에서 2回 破碎시켜 5000 rpm 40分 遠心하고 그 上澄液을 1000 rpm 40分, 그 上澄液을 2000 rpm 40分, 또한 그 上澄液을 3000 rpm 40分, 이어서 3000 rpm의 上澄液을 4000 rpm 40分 遠心分離하였다.

그리고 4000 rpm의 上澄液을 IN CH₃COOH로서 pH 4.0으로하여 7000 rpm 10分間 遠心分離하였다.

이 沈殿物을 70% 飽和硫安으로 沈殿시켜 冷室에 30分間 放置後 遠心沈殿物을 透析한다. 이 透析液을 NaOH로 pH 8.0으로 調整하여 DEAE-Cellulose column(1.1×18 cm, 1 fraction 5 ml/min)에

吸着시켜 M/100 CH₃COONa(pH 8.0)으로 溶出하여 最初에 溶出되는 蛋白質 peak部分을 모아 70% 飽和硫安으로 鹽析하여 沈殿物을 하룻밤 透析한다.

다시 이 透析液을 NaOH로서 pH 8.0으로 調整하여 CM-Cellulose column(2.5×30 cm, 1 fraction 5 ml/min)에 吸着시켜 溶出液으로 展開한 後, 最初에 溶出되는 peak部分을 모아 70% 飽和硫安液으로 鹽析하여 透析으로 硫安을 除去시켜 精製 효素液으로 하였다.

2. Tellurite 還元能 測定

(1) 金屬 tellurium의 分析

精製 효素液 1.0 ml, M/5 Tris-butler(pH 7.0) 0.3 ml, NADH液(5 mg/0.5 ml)을 混合하여 37°C 10分間 incubate한 後 M/200 K₂TeO₃ 0.2 ml를 加하여 37°C에서 60分 incubate하여 析出하는 金屬 tellurite에 물 3.0 ml를 添加하여 500 mμ의 波長에서 吸光度를 測定한다. 한으로는 Folin法⁽⁶⁾에 의하여 精製 효素의 蛋白質 濃度를 測定하여 효素反應液의 吸光度와의 比를 算出하여 효素의 比活性으로 하였다.

그리고 intact cell은 菌體 100 mg을 M/15 phosphate buffer(pH 7.0) 4.0 ml에 suspend하여 0.5% K₂TeO₃ 1.0 ml를 加하여 37°C 60分 incubate한다. 이것을 遠心하여 菌體를 2回 水洗하여 이 洗滌菌體에 물 5.0 ml를 加하여 Opar⁽⁷⁾에 의하여 500 mμ에서 吸光度를 測定 菌體入의 金屬 tellurite量을 測定하여 菌體의 tellurite 還元能으로 하였다.

(2) Leucomethylene blue法⁽⁸⁾ (Hydrosulfide 添加)

Thunberg管의 側室에 0.1% methylene blue 0.5 ml, 1% hydrosulfide 0.2 ml를 加하여 methylene blue로 還元시켜 leucomethylene blue로 하고, 主室에는 효素液 0.3 ml, 基質 0.2 ml, M/15 phosphate buffer(pH 6.0) 0.3 ml를 加하여 3分間 진공 pump로 吸引하여 incubate하면 leucomethylene blue가 酸化되어 生成하는 methylene blue의 發色時間을 測定하여 그 逆數를 求하여 효素活性으로 하였다.

(3) NADH 減少에 依한 tellurite 還元能의 測定

水素供與體로서 NADH를 使用하여 tellurite 還元能을 보았던바 NADH가 水素供與體가 됨을 알았다. 따라서 tellurite 還元 효素의 活性은 測定은 다음과 같은 反應系에 依하여 測定할 수 있다. 卽 효素液 1.0 ml NADH(5 mg/0.5 ml) 0.5 ml, M/5

Tris buffer (pH 7.0) 0.3 ml를 추가하여 37°C 10分 pre-incubate 하고 여기에 各 基質을 0.2 ml 加하여 37°C 60分間 incubate 한 後 물 3.0 ml를 加하여 tellurite의 還元에 依하여 生成된 金屬 tellurium의 吸光度 500 m μ 를 求하였다.

4. NADPH 減少에 依한 tellurite의 還元能測定

水素供與體로서 NADPH를 使用하여도 NADPH와 같은 結果를 얻을 수 있었다. 그래서 NADPH를 水素供與體로 하는 反應系에 依하여 NADH와 같이 酵素活性的의 測定이 可能하였다.

結果 및 考察

1. Tellurite 還元酵素의 細胞內 存在部位

第1報에서 記述한 形態의 觀察의 結果 tellurite 및 tellurate 鹽의 還元部位는 細胞質中에 存在한다는 것이 理解된다. 그러면 細胞質中에서 어떠한 存在樣式을 하고 있는가를 究明하기 爲하여 nutrient broth에서 40時間 培養한 菌體를 破碎하여 細胞顆粒成分을 遠心分別하여 各 分割物에 對한 tellur 還元能을 測定하였다.

그 結果 Fig. 1에서 보는 바와같이 細胞內 可溶

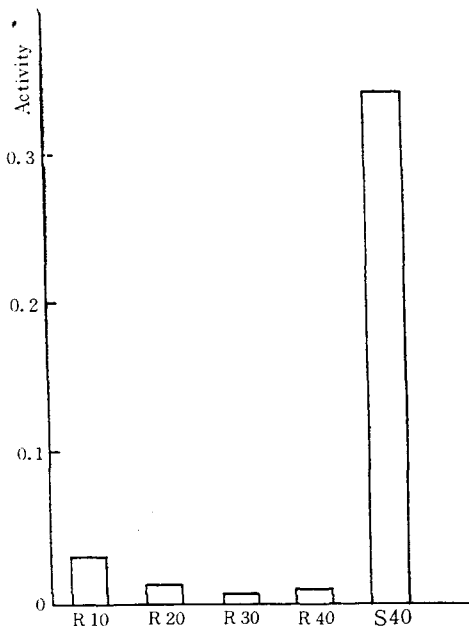


Fig. 1. Tellurite-Reducing Activity of Fraction of Cell Extract.

成分 劃分(S 40)에 酵素活性이 顯著하게 높으며 다른 分割物보다 10倍 乃至 數10倍 높은 것을 알 수 있다. 그러므로 tellurite 還元酵素는 細胞入에 있어서 溶性成分으로서 存在하고 있다는 것이 明白하며 또한 이 結果는 前報의 電子顯微鏡에 依한 觀察 結果와도 一致한다 (Fig. 1).

한편 菌體 破碎遠心分割物을 使用하여 succinic acid 및 malic acid를 基質로 하여 T. T. C.를 水素受容體로하여 이들 有機酸의 脫水素酵素活性을 T. T. C. 還元能으로부터 測定하였다.

Succinic acid를 基質로 하였을 때는 還元 T. T. C.의 吸光度에 對한 intact cell 1g 相當量의 各 分割物의 比를 나타내었고 (Fig. 2) malic acid는 還元 T. T. C.의 γ 數를 反應時에 使用한 各 分割物의 總窒素量으로 除하여 나타내었다 (Fig. 3).

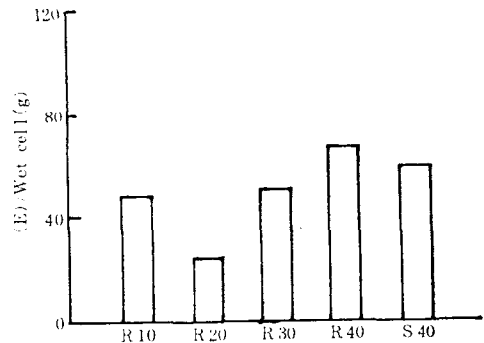


Fig. 2. T. T. C.-Reducing Activity of Centrifuged Cell Fraction with Succinate as Substrate.

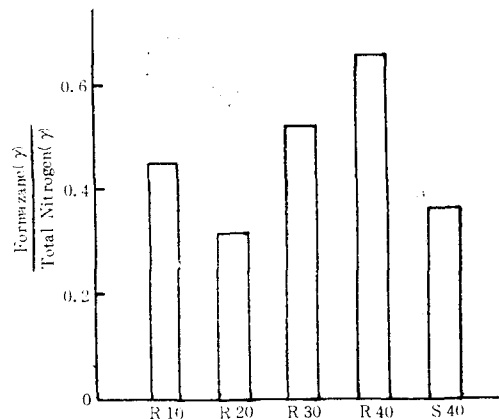


Fig. 3. T. T. C.-Reducing Activity of Centrifuged Cell Fraction with Malate as Substrate.

Succinic acid, malic acid 어느 것을 基質로 하더라도 R₁₀ 劃分이 活性이 높고, R₂₀ 에서 最低值를 나타내고 R₃₀, R₄₀ 에서 活性이 점차 增加한다.

특히 R₄₀ 卽 microsome 劃分에 最大活性이 보인다.

細胞內 最大顆粒成分이 存在하리라고 생각하는 R₁₀ 劃分 및 細胞內 最少顆粒成分이 存在하는 microsome 에 對하여 蔗糖濃度 勻配 遠心分劃法으로, 遠心管의 蔗糖溶液은 0.5 ml 間幅으로 分劃하여 그 各各에 對하여 succinate dehydrogenase 의 活性을 Warburg 檢壓法에 依하여 測定한 結果 Fig. 4 에서 보는 바와같이 R₁₀ 劃分에는 遠心力에 依하여 比較的 쉽게 沈降되는 部分으로, 2 個의 酵素活性이 보이고 microsome 에서는 沈降이 어려운 小顆粒部分에 酵素의 存在가 顯著하게 設定된다.

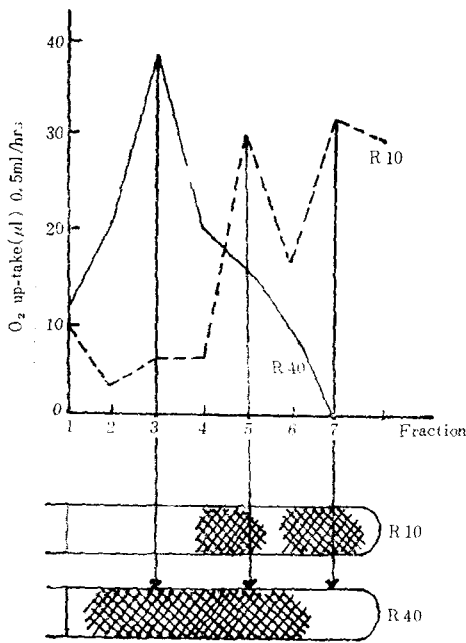


Fig. 4. Precipitation Curve of Succinate Dehydrogenase of Cell Fraction R₁₀ and Cell Fraction R₄₀ by Sucrose Density Gradient Centrifugation Method.

以上の 結果만으로는 R₁₀ 및 R₄₀ 의 酵素가 各各 다른 것이라는 斷定은 위험하다. R₄₀ 에서 認定되는 酵素로 本來 細胞에 있던 것으로 R₁₀ 劃分中에 存在하여 細胞破碎時에 어떤 基因으로 部分的 細斷이 일어나서 이것이 遠心分別時에 microsome 劃分에 移行할 것이라고 생각하는 것이 아마 타당할 것 같

다. 이러한 考察은 電子顯微鏡學的 觀察 結果와도 아주 잘 一致된다.

2. Tellurite 還元酵素系의 精製

Tellurite 還元酵素가 細胞溶性成分에 存在한다는 것은 上記한 結果로부터 明白하며 이 分劃物을 出發材料로 하면 tellurite 還元酵素의 精製가 可能할 것이다. 그래서 著者는 細胞溶性 成分을 菌體로부터 調製하여 여기에 硫安을 添加하여 30%, 50%, 70%飽和로 하여 各 硫安濃度에 따라 鹽析되는 蛋白劃分에 對해 tellurite 를 基質로하여 酵素作用에 依한 析出되는 金屬 tellurium 의 吸光度 增加에 對한 基質濃度와의 比를 求하여 酵素의 比活性을 算出한 結果 Fig. 5 에서와 같이 70% 飽和硫安 沈澱部分이 다른 劃分에 比하여 顯著한 還元能을 나타낸다. 그런 故로 70% 飽和硫安鹽析法을 使用하므로써 本 酵素와 精製를 할 수 있는 可能性이 窺보 인다.

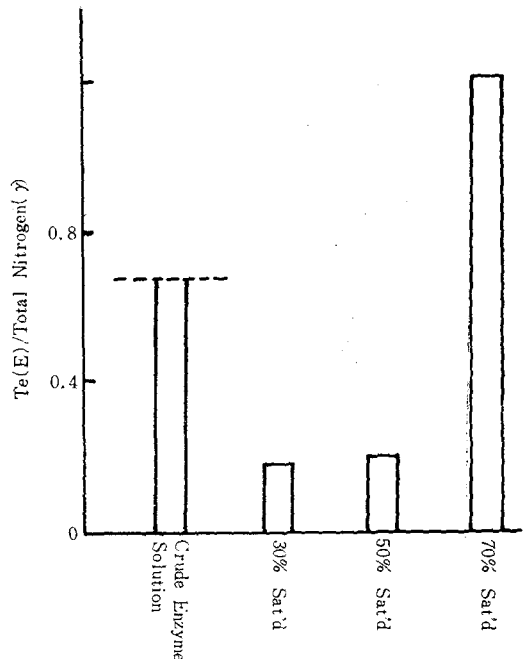


Fig. 5. Tellurite-Reducing Activity of Protein of Cell Extract (S 40) Precipitated at Various Concentration of Ammonium Sulfate.

한편 細胞溶性成分을 몇 가지 pH 로 나누어 各各의 pH 에 따라 析出되는 蛋白質劃分에 對해서 tellurite 還元能을 檢討하였다. 卽 溶性成分을 1N CH₃

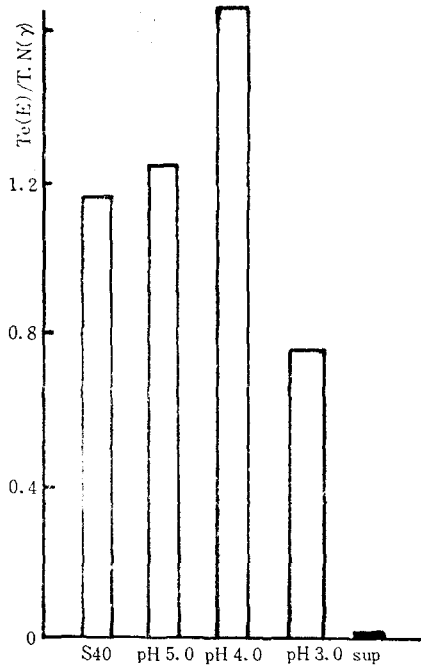


Fig. 6. Tellurite-Reducing Activity of pH dependent Precipitation Fraction in the Soluble Ingredient of the Cell. (S 40)

COOH 로 pH 5.0 으로 하여 30 分間 放置, 沈澱物을 分別하여 그 上澄液을 다시 pH 4.0 으로 하여 30 分間 放置, 遠心分離하고 이 上澄液을 pH 3.0 으로 하여 沈澱物과 上澄部分으로 나누어 各各의 劃分에 對하여 還元能을 測定한 結果 Fig. 6 에서와 같이 pH 4.0 의 沈澱部分이 높은 酵素活性을 나타낸다.

그래서 pH 4.0 의 沈澱物을 더욱 精製하기 위하여 DEAE-Cellulose column 을 使用하였던 바 거의 만족할 만한 結果가 얻어졌다.

우선 細胞溶性成分의 pH 4.0 沈澱劃分을 물로 再溶解하여 이것을 70% 飽和硫酸으로 鹽析하여 이 沈澱物에 對한 DEAE-Cellulose column chromatography 法을 실시하여 이 chromatography 에서 分離한 各 蛋白質 peak 에 對한 tellurite 還元能을 測定한 結果 Fig. 7 에서와 같이 最初에 溶出되는 peak 劃分이 原液(pH 4.0 部分)의 約 二 倍의 活性을 가지는 것을 알 수 있다.

그리하여 이 column chromatography 에서 第 1 peak 의 70% 硫酸鹽析法으로 부터 沈澱되는 蛋白質을 물에 溶解시켜 透析한다.

다음에 이어서 CM-Cellulose column chromatog-

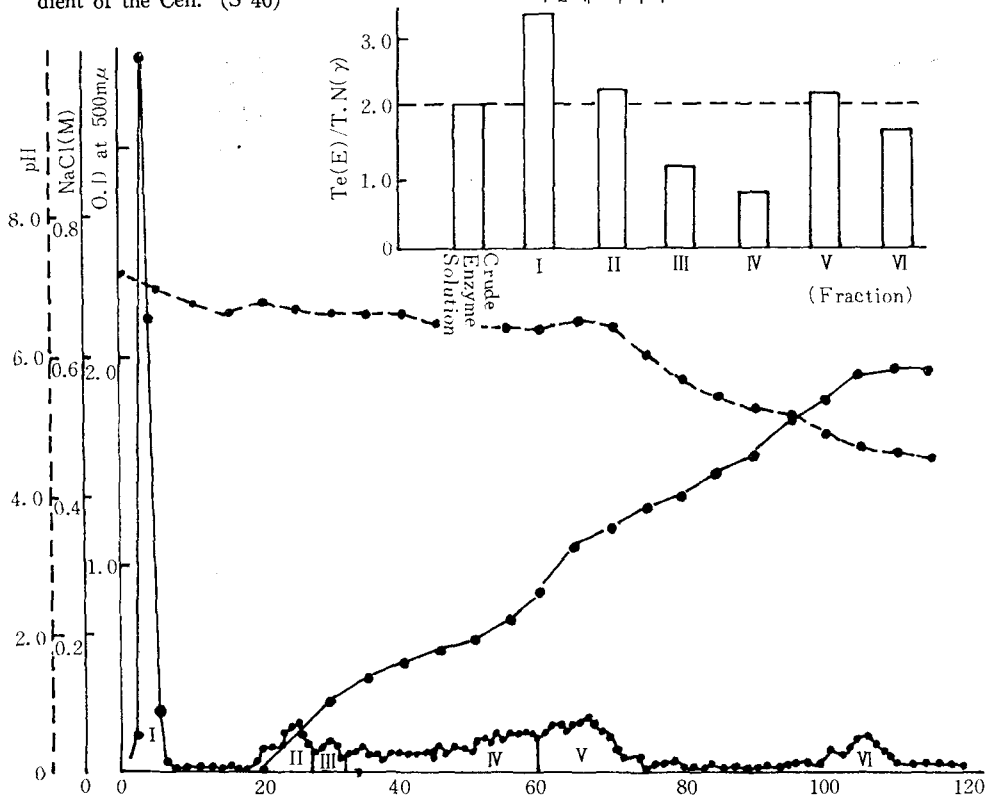


Fig. 7. Tellurite-Reducing Activity and DEAE-Cellulose Column Chromatography of Cell Fraction Precipitated by 70% Saturated Ammonium Sulfate at pH 4.0. (S 40)

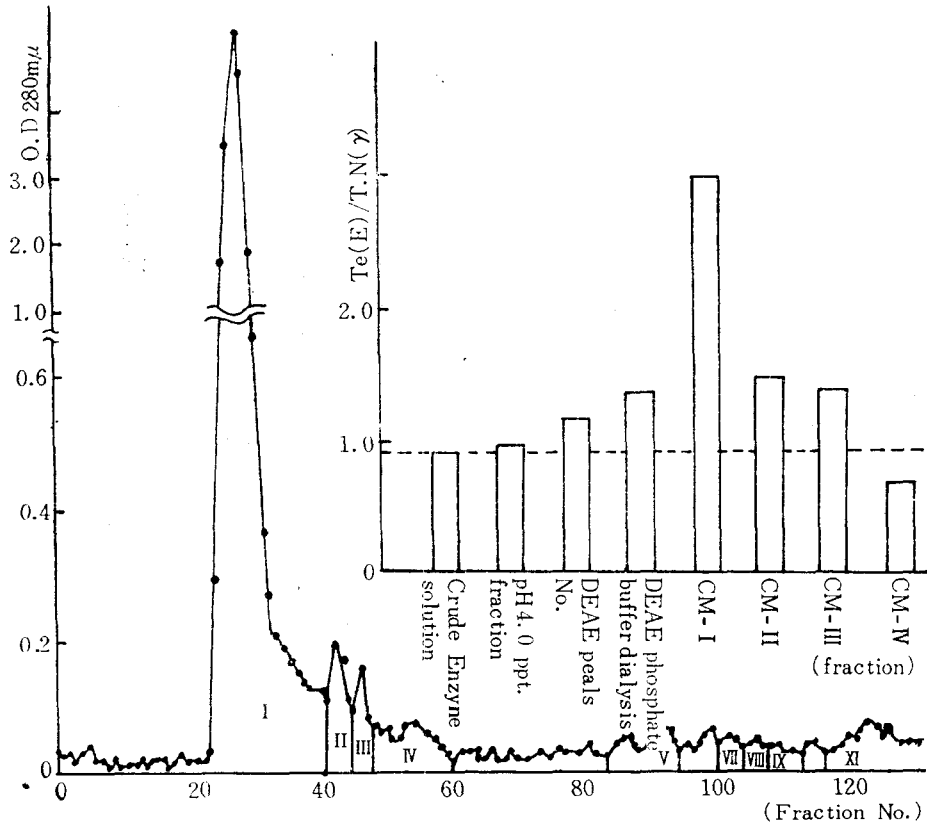


Fig. 8. Tellurite-Reducing Activity of Enzyme Purified by Precipitation of Cell Extract (S 40) at pH 4.0 and 70% Saturated Ammonium Sulfate, respectively DEAE-Column Chromatographic Fractionation and CM-Cellulose Chromatographic Fractionation.

raphy 法에 依한 分離된 各 蛋白質 peak 의 還元能을 測定한 結果 Fig. 8 과 같이 最初에 溶出되는 第 1 peak 部分이 현저한 活性을 나타내며 原液보다 約 3 倍의 還元能을 가지는 것을 알 수 있다.

따라서 tellurite 還元酵素는 上述한 精製法을 使用하면 적어도 原液의 數倍 程度의 酵素活性을 가진 精製酵素를 調製할 수 있으므로 以後의 實驗에서 使用한 酵素는 全部 이 方法에 따라 調製하였다.

3. Tellurite 還元酵素系의 基質特異성과 이의 水素供與體

Tellurite 및 tellurate 를 基質로 할 때 이것을 還元하기 爲하여는 어떠한 水素供與體를 必要로 한다. 一般적으로 生物體에서의 水素供與體로서는 NADH, NADPH 및 還元型 flavin 등이 알려져 있으나 著者는 NADH, NADPH 를 使用하여 이들 중 어느 것이 水素供與體로 될 수 있는가를 比較檢討하였던 바 Fig. 9 에서와 같이 어느 基質에 對해서도

NADH 의 作用이 높은 것을 알 수 있다.

그리고 NADPH 도 水素供與體로서의 作用을 한다. 그런데 tellurite 를 基質로 할 때도 水素供與體에 關係없이 항상 tellurate 를 基質로 한 때보다 높은 活性을 나타내었다.

이와같이 어떤 基質을 使用하든 간에 水素供與體로서 NADPH 를 使用하면 NADH 에 比하여 항상 基質還元能의 低下가 보이는데 그 理由의 하나로서 使用한 NADPH 의 濃度를 생각할 수 있으므로 以上の 反應系에 對하여 NADPH 의 添加量을 各各 0, 2, 3, 5 mg 으로 하여 析出되는 金屬 tellurium 를 測定하면 Fig. 10 에서 보는 바와 같이 添加 NADPH 量의 增加와 더불어 거의 直線인 酵素活性增大가 認定되며 3~5 mg 의 NADPH 에서 거의 一定值를 나타낸다.

그런데 上述한 實驗서에 NADPH 添加量은 5 mg 이므로 NADPH 量의 不足에 依한 基質還元能의 低下에 기인된 것이라고 생각 할 수 없다.

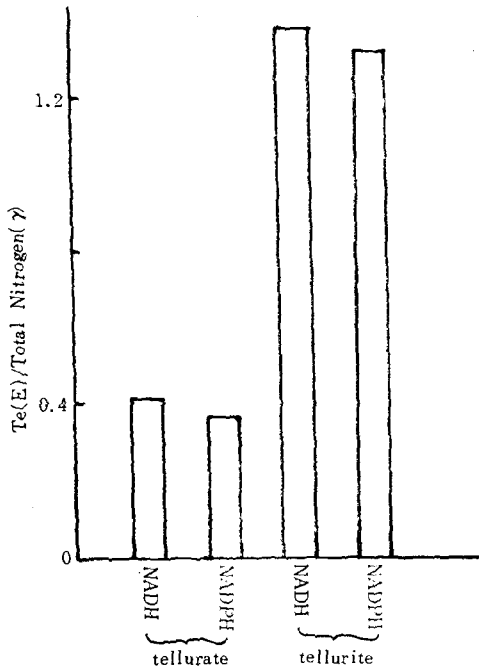


Fig. 9. Reducing Activity of Tellurite and Tellurate by Purified Enzyme in the Different Kinds of Hydrogen Donor.

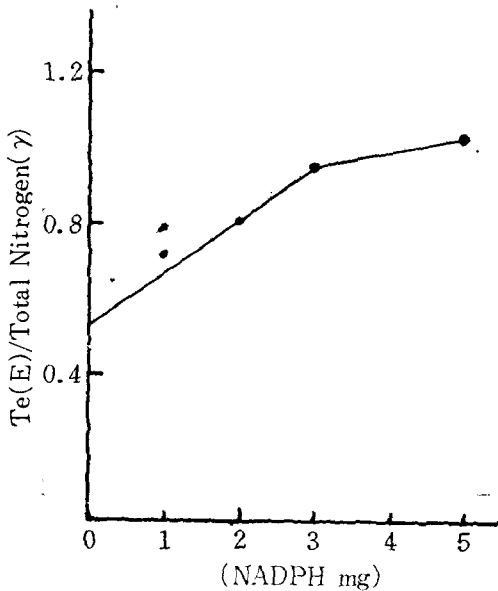


Fig. 10. The Concentration of NADPH and the Tellurite-Reducing Activity.

어쨌든간에 NADH 및 NADPH의 兩者는 生理的水素供與體로서 作用할 수 있는 것으로 생각되거나 自然界에 그다지 많지 않은 것으로 생각되는

tellurite 및 tellurate가 全的으로 生理的 基質이 된다고는 斷定하기 어렵다.

그래서 tellurite 및 tellurate와 化學構造가 비슷한 selenite 및 selenate를 基質로하여 몇 가지 實驗을 통하여 檢討하였는데 이들 研究 結果는 다음에 言及하기로 하고 이에 앞서 tellurite를 基質로 하였을 때 몇 가지 酵素의 性質을 究明하였다.

먼저 上述한 反應系에서 使用하는 Tris buffer의 最適 pH를 檢討한 結果 Fig. 11과 같이 pH 7.0에서 最大活性을 나타내므로 本酵素에 의한 tellurite 還元測定은 全部 中性附近의 pH를 使用하기로 하였다.

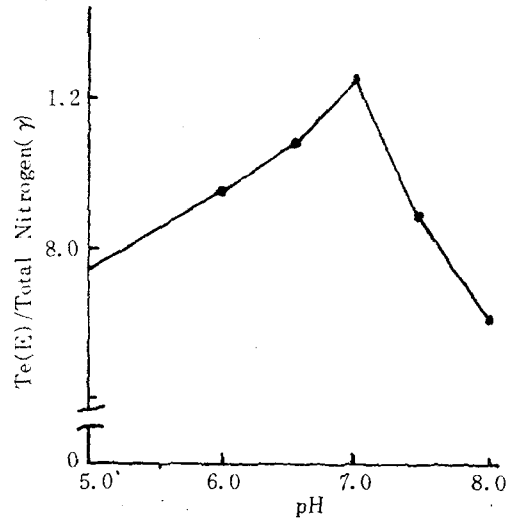


Fig. 11. Optimal pH of Tellurite-Reducing Enzyme.

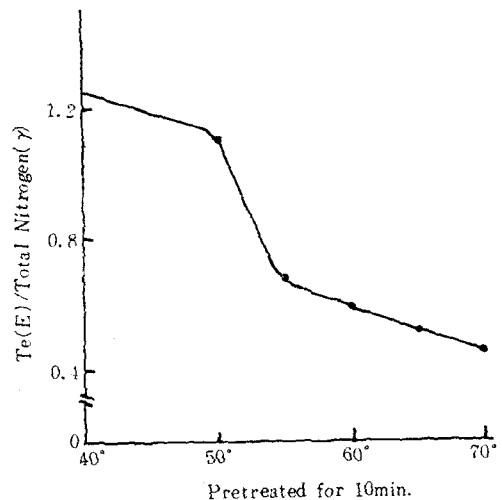


Fig. 12. Inactivation of Tellurite-Reducing Enzyme against Heat.

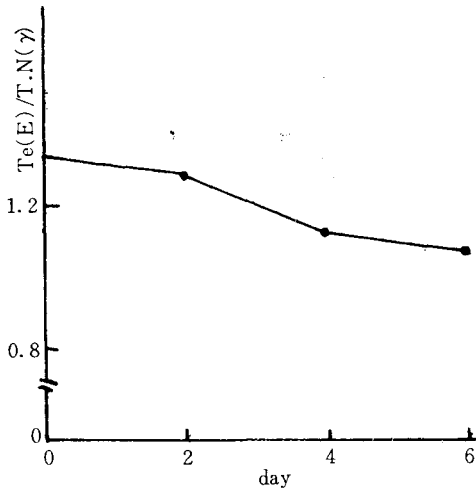


Fig. 13. Stability of Tellurite-Reducing Enzyme incubated at 5°C.

그리고 또 본 精製 酵素의 熱에 對한 安定性を 測定하였던 바 10分間 處理하면 Fig. 12와 같이 逆 S字狀 失活曲線을 나타낸다. 본 酵素는 50°C까지 加熱에 對해서 安定하지만 55°C 以上の 加熱에는 그 活性이 約 1/2로 된다.

다음에 精製酵素를 5°C의 低溫室에 保存하면서 저장일수에 따른 tellurite의 還元能의 變化를 測定한 結果 Fig. 13과같이 6日間の 貯藏에도 不拘하

고 比較的 安定하며 約 23%의 失活이 된다. 따라서 本 酵素를 低溫室에 貯藏하면 約 一週日間은 安定하다는 것을 말할 수 있다.

그리고 NADH 및 NADPH를 各各 水素供與體로 하여 tellurite로 還元시킬 때 基質의 還元能에 미치는 各種 鹽類의 阻害效果를 測定하였다.

Fig. 14에서와 같이 阻害劑 無添加反應系에 對한 活性을 100%로하고 各各의 物質의 阻害效果를 調査하여보면 NADH 및 NADPH 어느 것을 水素供與體로 하여도 거의 같은 阻害傾向을 보이고 EDTA MnCl₂에서는 그다지 阻害作用이 일어나지 않으나 黃酸第二鐵의 阻害效果는 아주 현저하다.

NADH 反應系의 경우 黃酸第一鐵의 最終濃度 10⁻⁴M에서 約 90%의 阻害가 보이며 NADPH系는 約 80%의 阻害率을 나타낸다.

Tellurite 및 tellurate와 化學構造가 類似한 selenite 및 selenate의 還元이 可能하므로 이를 基質로 하고 水素供與體로서 NADH 및 NADPH로 하여 還元能을 測定한 結果 Fig. 15, Fig. 16과 같이 NADH를 水素供與體로하면 selenate에 比하여 selenite의 還元能은 높으며, 또 NADPH를 水素供與體로 하기 보다는 NADH를 水素供與體로 하는 것이 基質의 還元能이 높음을 알 수 있다.

다음은 selenite, selenate를 基質로하고 NADP를 水素供與體로 하여 各 pH에 依한 NADH의 消費를 보았던 바, 이들 중 어느 것을 基質로 하더라도 pH 7.0附近에 最適 pH를 나타낸다.

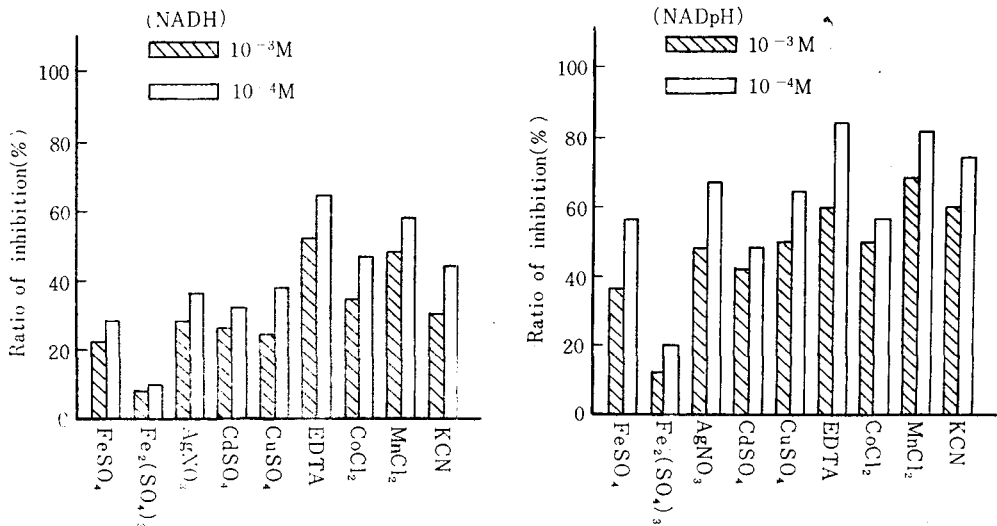


Fig. 14. Inhibitory Effect of Various Salts Against Tellurite-Reducing Enzyme.

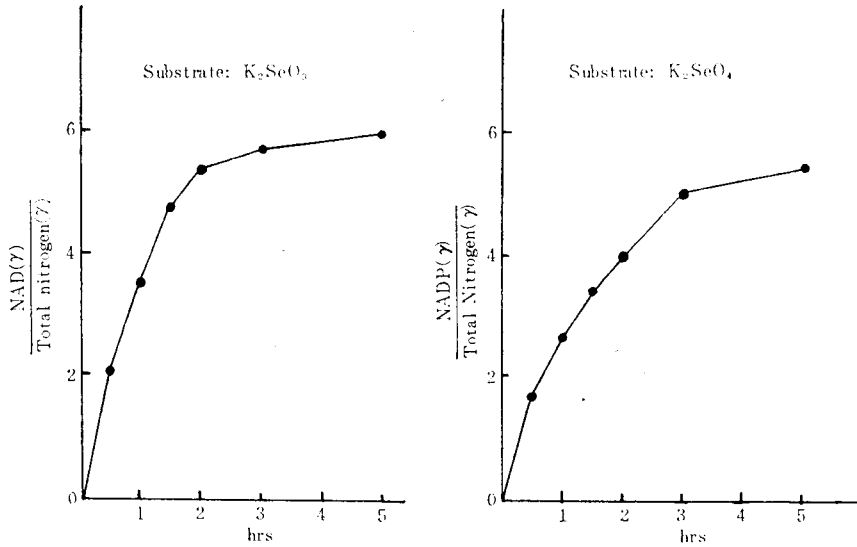


Fig. 15. Reducing Activity of Selenate and Selenite by purified Enzyme. Presence of NADH or NADPH as a Hydrogen Donor.

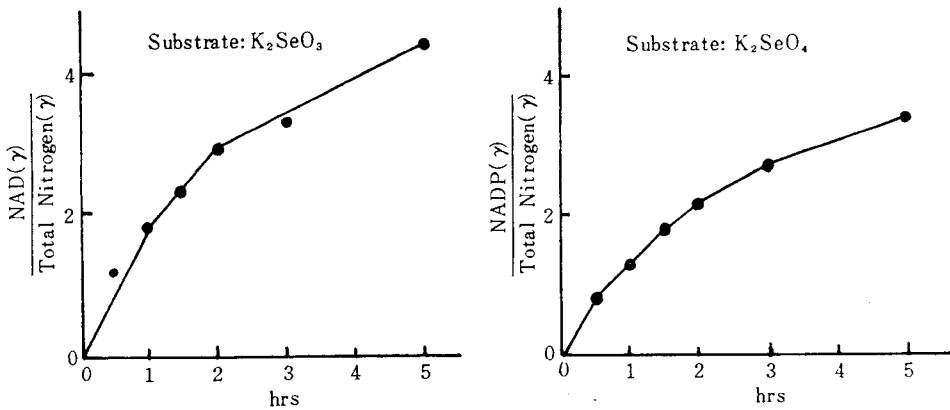


Fig. 16. Reducing Activity of Selenate and Selenite by purified Enzyme. Presence of NADH or NADPH as a Hydrogen Donor

또上記와 마찬가지로 NADPH를 水素供與體로 하였을 때도 NADH와 같이 pH 7.0附近에最適이었다.

以上과 같이 tellurite 還元酵素는 基質 特異성이 넓으며, selenite, selenate에 대해서도作用한다.

한편 水素供與體의 特異성에 대해서도 NADH 및 NADPH의 어느 것이든 水素供與體로 되는 것으로 보다 이의 特異성은 상당히 폭넓은 것이라 생각된다.

다. 그래서 人工的 水素供與體로서 leucomethylene-blue를作用시켰을 때 基質에 對한 還元能의 如何를 究明할 目的으로 다음과 같은 實驗을 하였다.

即 Fig. 19에서와 같이 selenite 및 selenate의 어느 것을 基質로 하여도 leucomethylene blue는 水素供與體로作用하며 또한 그最適 pH는 上述한 實驗과 같이 pH 7.0이었다.

그러므로 本酵素의 水素供與體는 leucomethylene

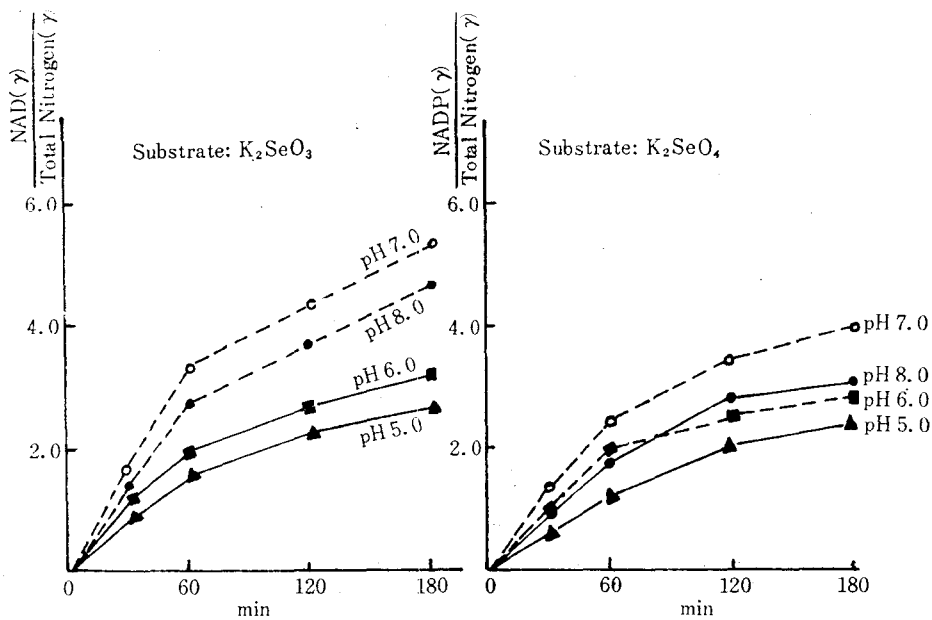


Fig. 17. Optimal pH on the Reduction of Selenate and Selenite. Presence of NADH as a Hydrogen Donor.

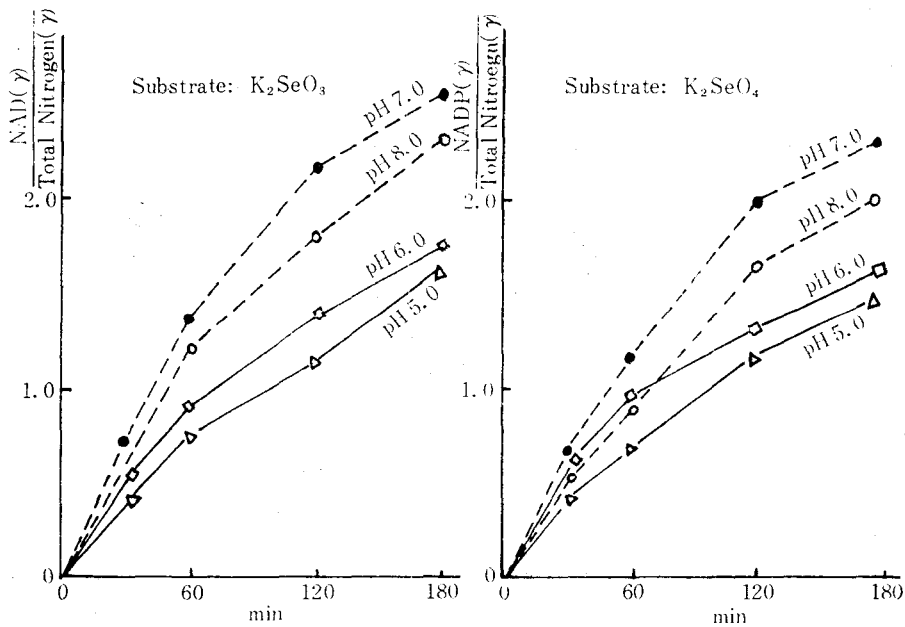


Fig. 18. Optimal pH on the Reduction of Selenite and Selenite. Presence of NADPH as a Hydrogen Donor.

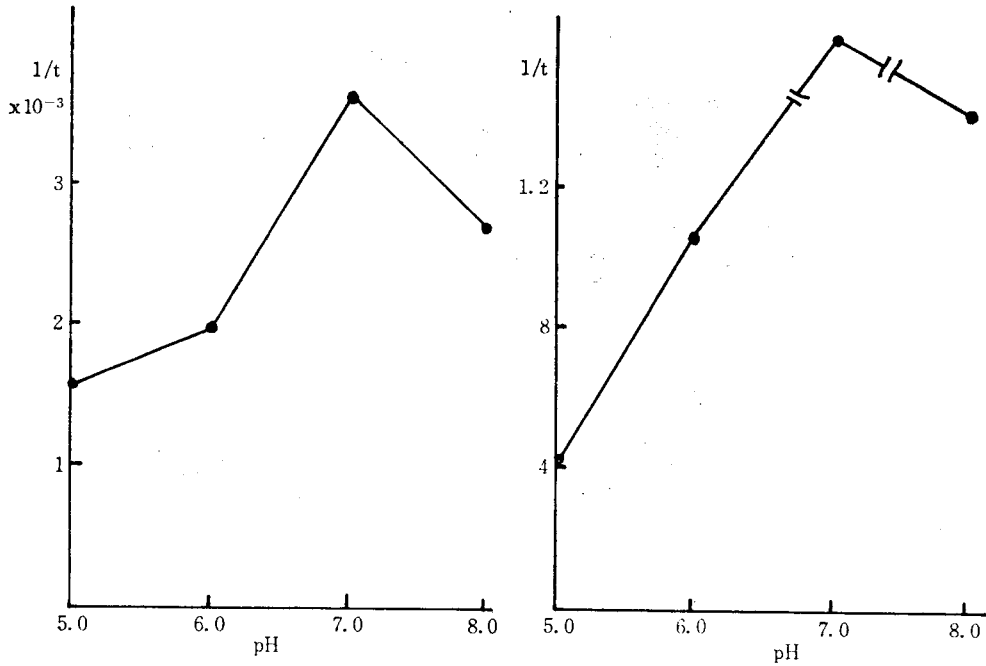


Fig. 19. Time and pH for Color Development of Leuco Methylene blue as a Hydrogen Donor.

blue, NADH, NADPH 어느 것이든 다 좋을 것 같다.

要 約

Nocardia sp의 tellurite 및 tellurate還元효소의 세포내 분포 및 이의精製法에 대한實驗과 효소化學의性質에 대한研究를要約하면 다음과 같다.

Nocardia sp의 tellurite 및 tellurate還元효소는細胞質中에安在하며 T. T. C.의還元部位와는細胞內에서의存在樣式이 서로 다르다.細胞溶性成分을菌體로부터調製하여 이것을材料로 해서 硫安鹽析法, DEAE-Cellulose column chromatography 등을併用함에 따라, tellurite 및 tellurate還元효소의精製가可能하다.

以上の精製효소를使用하여 이의 효소化學의性質에 대하여檢討한結果, 水素供與體로는 NADH, NADPH還元型(methylene blue)의 어느 것이든作用한다는 것을알았지만은 아마生理的水素供與體는 NADH, NADPH의兩者이든가 또는 이들兩者中에서 어느 하나일 것이다. 한편 이들水

素供與體에對한水素受容體는本 효소에 있어서 는 tellurite가 효소의基質이 되지만은 tellurite 및 tellurate와化學構造가類似한 selenite, selenate를還元하여 各各의基質化合物中에含有되어 있는金屬을析出한다는 것도알게 되었다.

參 考 文 獻

- 1) 寺井武雄: 日本生化學, 30, 41 (1958).
- 2) 渡邊晋, 洪淳德: 日本大學學術發表會 (1964).
- 3) 渡邊晋 外: 日本農藝化學會大會講演要旨, p. 241 (1966).
- 4) 洪淳德: 日本大學學術發表會 (1967).
- 5) 洪淳德, 室岡治義: 日本大學學術發表會 (1965).
- 6) O. Folling and V. Ciocalteu: *J. Biol. Chem.*, 37, 627 (1927).
- 7) 赤堀四郎: 酵素研究法, 第4卷, p. 104. 朝倉書店 (1961).
- 8) D. Jerchel and W. Mohle: *Ber.*, 77, 591 (1944).