

## 紅藻オキツノリ抽出液による塩基性 アミノ酸の酵素的分解

伊藤 啓二・宮沢 啓輔  
(広島大学水畜産学部・食品工業化学科)

Enzymatic Decomposition of Basic Amino Acids by the Cell Free  
Extract of a Red Alga, *Gymnogongrus flabelliformis*

Keiji ITO and Keisuke MIYAZAWA

Department of Food Chemistry and Technology, Faculty of Fisheries  
and Animal Husbandry, Hiroshima University, Fukuyama

(Fig. 1-5; Tables 1-6)

紅藻の一種オキツノリ *Gymnogongrus flabelliformis* は特異な塩基性アミノ酸の gigtartinine<sup>1,2)</sup> およびグアニルウレイド化合物の gongrine<sup>3)</sup> をエキス成分中に多量に含み、この両成分と citrulline によってこの海藻の可溶性窒素の半量近くが占められている<sup>4)</sup> 生化学的に甚だ興味ある藻類である。

著者らはこの特殊なアミノ酸の生理的意義を追究する過程で、オキツノリを  $-20^{\circ}\text{C}$  のフリーザー中に凍結貯蔵したところ、数週間の貯蔵期間に gigtartinine および citrulline 含量が著しく減少することを知った。そこでさらに、無細胞抽出液によるアミノ酸分解能を調べた結果、この抽出液には特に塩基性のL-アミノ酸を強く分解する酵素活性の存在することが明らかとなった。

食品の保蔵もしくは生体成分の研究に際し、生物体組織を冷凍貯蔵することは、細菌の繁殖を抑制するとともに生物組織中に存在する多くの酵素系の関与する反応を低温で抑え、成分的な変化を防止するために一般的に広く用いられている。しかし、このオキツノリの場合のように、ある種の成分が凍結貯蔵中、比較的短期間に酵素的变化を受けることは、食品化学的にも、また生化学的にも非常に重要なことであろう。また、海藻類に存在する酵素系についての研究例も決して多いものでなく、特にアミノ酸代謝に関するものでは JACOBI<sup>5)</sup>, CITHAREL<sup>6)</sup>, REUTER<sup>7)</sup> らの報告が見られる程度である。

さらに、塩基性L-アミノ酸を酸化的脱アミノ分解する酵素については BOULANGER<sup>ら</sup><sup>8)</sup> が七面鳥の肝臓から抽出したものが唯一のようである。したがって、この面からもこの海藻の抽出液による塩基性アミノ酸の分解は興味ある問題と思われる。

ここではこのアミノ酸分解反応の至適 pH、温度、基質特異性、分解生産物などにつき得られた結果を報告する。

### 実験方法

海藻 実験に用いたオキツノリ *Gymnogongrus flabelliformis* はすべて12~3月の干潮時に広島市向宇品海岸の潮間帯で採集し、研究室に持ち帰り、異物を除去後、直ちに、もしくは  $-20^{\circ}\text{C}$  のフリーザー

一中に凍結貯蔵して分析に供した。

**遊離アミノ酸の定量** 藻体を3倍量のエタノールと磨砕し、80°C、15分間温浸後濾過する。残渣をさらに2回、70%エタノールで抽出する。全抽出液を合し、減圧濃縮によりエタノールを溜去後、蒸留水で定容として日立034型アミノ酸自動分析器により測定した。Gigartinineは10cmのカラムで arginine の後部に溶出する。模式的な溶出図を Fig. 1 に示した。

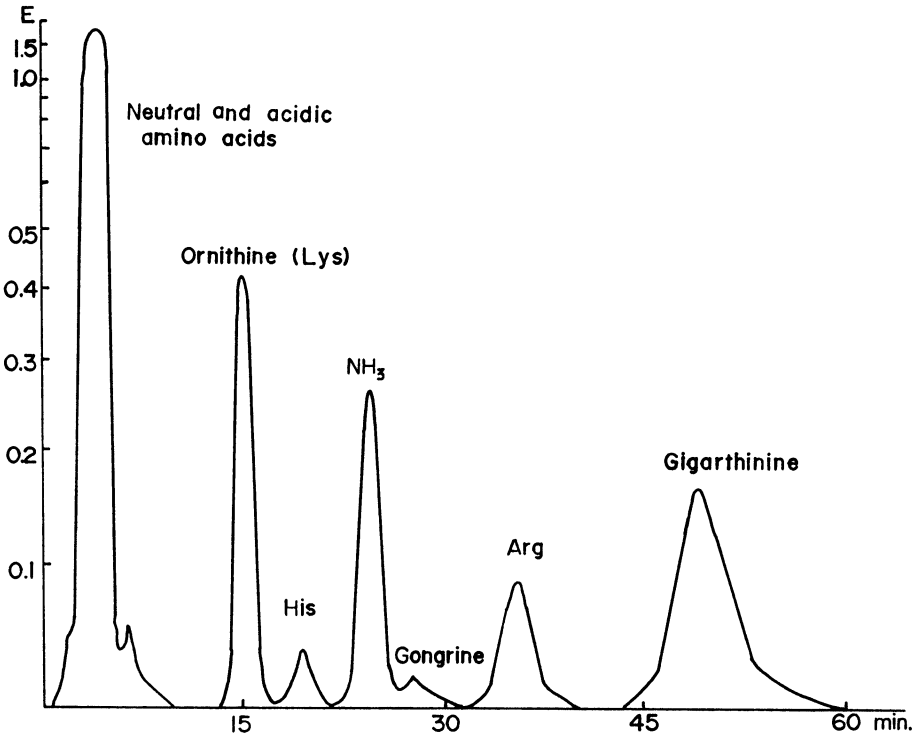


Fig. 1 An elution pattern of basic amino acids in the extract of *Gymnogongrus flabelliformis* by a Liquid Chromatography of the Hitachi 034 Type.

**粗酵素液の調製** 生鮮あるいは凍結海藻を pH 8.0 の 0.1 M Tris 緩衝液等量とともに冷却した乳鉢中で少量の海砂を加えて磨砕し、10,000 rpm で30分間冷却遠心分離、上澄液を得る。この抽出液をセロファンチューブにて、蒸留水に対し24時間透析を行ったものを粗酵素液とした。

**アミノ酸の分解反応** 反応は粗酵素液 1 ml, 塩基性アミノ酸 2~4  $\mu$  moles を含む水溶液 1 ml, pH 8.0, 0.1M 硼砂緩衝液 2 ml を混合し、所定の条件で反応させたのち、直ちに希塩酸で pH 2~3 に調節する。これに 20ml のエタノールを添加、蛋白質を沈澱させる。遠心分離後上澄液を減圧濃縮、乾涸し、2ml の pH 2.2 の緩衝液に溶解して前記のアミノ酸分析計にてアミノ酸を定量した。なお17種の L-アミノ酸混合液としては国際試薬 K.K. 製のアミノ酸分析計用標準液を、DL-ornithine HCl は和光純薬、DL-lysine HCl は片山化学K.K.製、L-gigartinine HCl は著者らの研究室で海藻より抽出したもの、DL-gigartinine HCl は合成<sup>9)</sup>したものを用いた。

**ペーパークロマトグラフィー** 展開溶媒としてn-ブタノール：ピリジン：酢酸：水 (4 : 1 : 1 : 2) を用い、東洋濾紙 No.50にて下降法による。

## 実験結果

オキツノリ凍結貯蔵中における遊離アミノ酸含量の変化 オキツノリを採集直後  $-20^{\circ}\text{C}$  のフリーザー中に凍結貯蔵したものを一週間毎に取り出し、遊離アミノ酸量を測定した結果を Table 1 に示した。表示した以外のアミノ酸はいずれも含量が  $100\text{g}$  当り  $30\ \mu\text{moles}$  以下であり、量的な変化も少ないので省略した。表に見られるように citrulline, gigartinine は新鮮時それぞれ  $100\text{g}$  当り  $573\ \mu\text{moles}$ ,  $1616\ \mu\text{moles}$  の多量存在していたが、急速に減少して、7 週後にはわずかに citrulline が  $20\ \mu\text{moles}$ , gigartinine は  $60\ \mu\text{moles}$  を残存するのみとなった。その反面, glycine および alanine では明らかに増加の傾向が認められた。しかし、前二者の減少に見合う程の量的に大きな増加ではなかった。

Table 1. Changes in free amino acid contents of *Gymnogongrus flabelliformis* during storage at  $-20^{\circ}\text{C}$ . Values are expressed in  $\mu$  moles/100g of wet wt.

Storage period (weeks)	0	1	2	3	4	5	6	7
Amino acids								
Taurine	442	450	500	450	450	422	463	500
Aspartic acid	61	53	—	52	50	40	49	60
Glutamic acid	375	380	510	427	343	322	300	300
Citrulline	573	206	174	64	50	15	12	20
Glycine	105	—	73	100	105	124	155	160
Alanine	42	—	94	112	93	114	125	140
Gigartinine	1616	723	448	163	157	70	41	60

無細胞抽出液中の遊離アミノ酸含量の変化 藻体を pH 8.0 の Tris 緩衝液とともに磨砕抽出し、 $10,000\text{ rpm}$  で30分間遠心分離後の抽出液を  $25^{\circ}\text{C}$  に放置して各アミノ酸含量の変化を見たものが Table 2 である。凍結貯蔵時における変化と全く同様な傾向が極めて短時間に生じ、gigartinine は3時間で完全に消失した。

Table 2. Changes in free amino acid contents in the Tris buffer extracts of *G. flabelliformis* during incubation at  $25^{\circ}\text{C}$ . Values are expressed in  $\mu$  moles/10m $\ell$  of the extract.

Incubation period (hours)	0	0.5	1.0	3.0
Amino acids				
Taurine	26.8	26.8	27.1	26.4
Aspartic acid	2.1	2.2	2.1	2.7
Glutamic acid	23.6	22.6	22.2	19.9
Citrulline	24.7	22.2	22.0	7.2
Glycine	6.5	6.3	6.5	7.2
Alanine	6.5	6.9	7.2	7.9
Gigartinine	127.0	99.5	18.9	0

抽出液（粗酵素液）によるアミノ酸の分解 オキツノリ抽出液自体では生鮮時多量に含まれる citrulline, gigartinine の分解消失として認められるが、その他の含量の少ないアミノ酸に対しても分解性が予想されたので、一般の蛋白質構成アミノ酸17種を等量を含む混合液を添加して分解度を調べた結果が Table 3 である。粗酵素液として藻体を Tris 緩衝液で抽出後、可溶部を透析して低分子成分を除去したのを用い、17種の L-アミノ酸をそれぞれ 2.5  $\mu$ moles/ml を含む混合溶液を基質として所定時間後、アミノ酸含量を測定したものである。結果は残存率で示した。すなわち、arginine でもっとも減少が著しく、4時間で97%が、lysine では70%が分解された。さらに histidine, methionine の両者にも減少が認められるが、これらは4時間で約20%の分解であった。その他13種のアミノ酸についてはとくに減少もしくは増加と明瞭に判断出来るものはなかった。ついで、この分解は塩基性アミノ酸において著しいことから、histidine, gigartinine, arginine, ornithine の4種を含むアミノ酸混合液につき分解速度を比較した結果が Fig. 2 である。Ornithine も lysine と同様分解される。Histidine の分解度は arginine, gigartinine および ornithine の三者より遥かに低いことは Table 3 に示された結果と矛盾しないものである。以上のことは、オキツノリ抽出液は gigartinine, lysine, ornithine, arginine, histidine の塩基性アミノ酸を、また程度に差があるが citrulline, methionine をも分解することを示している。

Table 3. Decomposition of amino acids by the extract of *G. flabelliformis*. The reaction mixture: the dialyzed extract, 1 ml; 17 amino acids mixture, 1 ml (containing 2.5  $\mu$  moles of each amino acid); pH 8.0 borate buffer, 4 ml. Bath temperature, 30°C. Values are expressed in residual rate.

Amino acids	Incubation period (hours)			
	0	1.0	2.5	4.0
Aspartic acid	100%	—%	—%	102%
Threonine	100	—	—	101
Serine	100	—	—	103
Glutamic acid	100	—	—	100
Proline	100	—	—	101
Glycine	100	—	—	102
Alanine	100	—	—	103
Cystine	100	—	—	100
Valine	100	—	—	103
Methionine	100	—	—	77.4
Isoleucine	100	—	—	100
Leucine	100	—	—	102
Tyrosine	100	—	—	100
Phenylalanine	100	—	—	99
Lysine	100	76.4	51.6	29.8
Histidine	100	100	84.2	77.1
Arginine	100	56.4	21.1	3.2

緩衝液の種類による影響 反応時に添加する緩衝液の種類によってアミノ酸の分解に差異が生ずるか否かを調べたのが Table 4 である。緩衝液はいずれも pH 8.0, 0.1M 濃度で、基質として arginine 4  $\mu$ moles/ml の溶液を用いた。表に見られるように磷酸緩衝液は Tris 緩衝液、硼砂緩衝液に比し明らかに分解力を低下せしめるようである。すなわち、反応1時間で硼砂もしくは Tris 緩衝液では当初の arginine のほぼ

Table 4. Decomposition of arginine and liberation of ammonia by the dialyzed extract added with different kinds of pH 8.0 buffer solution. The reaction mixture: the dialyzed extract, 1 ml; arginine solution, 1 ml; buffer solution, 2 ml. Bath temperature, 30°C.

Buffer solutions	Incubation period (minutes)			
		Initial	30	60
0.1 M Phosphate buffer	Arginine	4.0 $\mu$ moles	1.7 $\mu$ moles	1.5 $\mu$ moles
	Ammonia	0	2.0	2.7
0.1 M Borate-HCl buffer	Arginine	4.0	1.2	0.8
	Ammonia	0	3.0	2.8
0.1 M Tris-HCl buffer	Arginine	4.0	0.9	0.7
	Ammonia	0	2.6	3.0

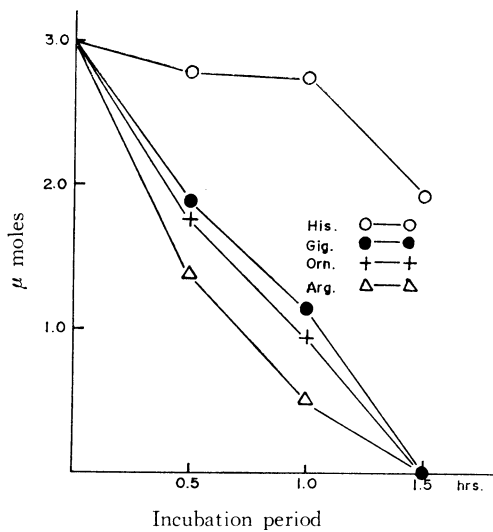


Fig. 2 Decomposition of basic amino acids by the dialyzed extract. The reaction mixture: the extract, 1 ml; the mixture of histidine, gigartinine, ornithine and arginine solutions, 1 ml; pH 8.0 borate buffer, 2 ml. Bath temperature, 30°C.

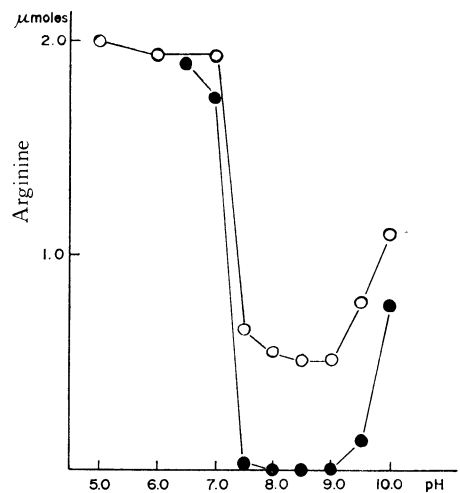


Fig. 3 Effect of pH on decomposition of arginine by the dialyzed extract. The reaction mixture: the extract, 1 ml; arginine solution, 1 ml; buffer solution, 2 ml (pH 5.0—6.5, 0.1 M citrate buffer; pH 7.0, 0.1 M phosphate buffer; pH 7.5—10.0, 0.1 M borate buffer). Incubation period: ○—○, 30 min; ●—●, 60 min. Temp., 30°C.

80%を分解したのに対し、磷酸緩衝液では60%程度しか分解していない。

また、arginine の分解に伴ってアンモニアが生成する (Table 4)。このアンモニアの生成量は arginine の減少量に相当するものであって、arginine 1 mole からアンモニアの 1 mole が生成するものと考えられる。

**pH の影響** arginine を基質としたとき、その分解反応におよぼす pH の影響を示したのが Fig. 3 である。pH 調整の都合上一種類の緩衝液によったものではない為、反応に対する塩類の種類の影響も含まれ

た結果ではあるが, arginine は pH 7.0 以下では全く分解されない. pH 8.0~9.0 において活性が最も強く, 至適 pH はこの範囲にある.

**温度の影響** 10°C~50°Cにおける arginine の分解速度を比較したものが Fig. 4 である. 40°Cでは30分後, 50°Cでは加温直後に活性が失われる. これは蛋白質の熱変性によるものであろう. 反応速度は30°Cで最も早い, 10°Cの低温でもそれほど大きな差が見られないのが特徴的である.

**光学異性体に対する基質特異性** L-および DL-アミノ酸に対する分解性を Table 5 に示した. この実験では特に反応時間を意識的に5時間に延長した. 結果は表に見られるように L-lysine, L-ornithine, L-gigartinine ではほぼ完全に分解される条件下で, DL-lysine は当初の52%, DL-ornithine は47%, DL-gigartinine では47%がいずれも分解されずに検出された. このことは明らかに L-型のアミノ酸のみが反応に関与し, D型は分解されないものと説明出来る. したがって, このアミノ酸分解作用は L-アミノ酸に特異的であると考えられる.

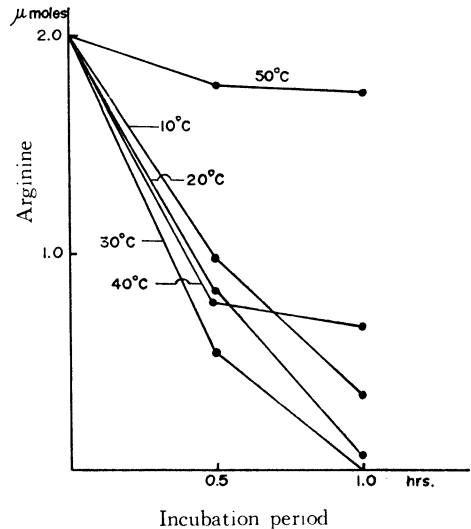


Fig. 4 Effect of temperature on decomposition of arginine by the dialyzed extract. The reaction mixture: the extract, 1 ml; arginine solution, 1 ml; pH 8.0 borate buffer, 2 ml.

Table 5. Decomposition of L- and DL- basic amino acids by the dialyzed extract. The reaction mixture: the dialyzed extract, 1 ml; amino acid solution, 1 ml; borate buffer 2 ml. Bath temperature, 30°C.

Amino acids	Incubation period (minutes)			
	Initial	45	90	300
L-Ornithine	4.0 <sup>μ</sup> moles	1.6 <sup>μ</sup> moles	0.9 <sup>μ</sup> moles	0 μ moles
DL-Ornithine	3.0	1.5	1.4	1.4
L-Lysine	3.3	1.5	0.9	0.2
DL-Lysine	3.1	1.8	1.5	1.6
L-Gigartinine	4.3	1.8	0.5	0
DL-Gigartinine	4.3	2.1	2.0	2.0

**Arginine および gigartinine 分解物の検索** このオキツノリ抽出液による塩基性アミノ酸分解反応機構追究の目的で, まず arginine および gigartinine の分解生成物の検索を行なった. この両アミノ酸を対象とした理由は, 反応の前後において, 遊離アンモニアの増加とともに, これら両アミノ酸の減少は認められるが, 坂口反応による発色度には変化がみられず, 分解反応が guanidine 基もしくは guanylurea 基には及んでいないと考えられ, その分解物の検出に坂口反応が有効と判断されたからである. L-arginine HCl もしくは L-gigartinine HCl 100 mg を 50 ml の蒸留水に溶解, これに 50 g のオキツノリ凍結藻体から常法により抽出し, 48時間透析して充分低分子物質を除去した粗酵素液全量, および pH 8.0 の硼砂緩衝液

100 ml を加え、30°C、6時間反応させた。反応終了後希塩酸で pH 2~3 として、生ずる蛋白質の沈澱を遠心分離によって除去する。この溶液を Dowex 50 X-8 カラム (H<sup>+</sup>, 2.0×25cm) で処理し、N-アンモニア水で溶出、坂口反応陽性部を集める。これを濃縮乾涸し、20 ml の蒸留水に溶解、ペーパークロマトグラフィーの試料とした。結果が Fig. 5 である。Arginine を基質とした場合、反応後には坂口反応陽性スポ

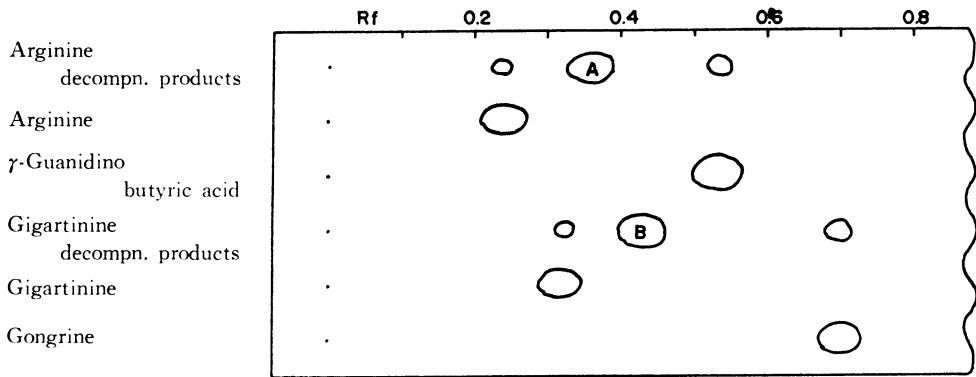


Fig. 5 A paperchromatogram of decomposition products of arginine and gigartinine by the dialyzed extract. Developing by the Sakaguchi's reagent. Solvent, n-BuOH : AcOH : pyridine : H<sub>2</sub>O=4 : 1 : 1 : 2.

ットは3ヶ認められる。Rf の最も小さいものは arginine のそれと一致し、未反応のものである。また Rf の最大のもの (Rf 0.53) は量的には少ないが、γ-guanidinobutyric acid の位置とよく一致する。中間に生ずる Rf 0.36 の“スポットA”は量的にも多く、かつ坂口反応による色調は arginine のそれと変わらないことから、この物質が arginine 分解の際の主生成物と考えられた。Gigartinine を基質とした場合でも同様に坂口反応陽性のスポット3ヶを与える。最も Rf の小さいものは未分解の gigartinine (Rf 0.32), Rf の大きなものは gongrine のそれ (Rf 0.70) とよく一致する。ただし、gongrine の生成量は arginine における γ-guanidinobutyric acid と同様極めて少ない。中間に位置する Rf 0.43 の“スポットB”はその発色状況から量的に最も多いと判断され、分解の主生産物であると推定した。なお、gigartinine の場合、坂口反応による色調は三者いずれも橙色を呈し、guanyleureido 化合物の特徴を現わしていた。

上述の“スポットA”および“B”に発色する物質の性質を更に確認するため、多量に展開したペーパークロマトグラフよりこの部分を切抜き、蒸留水により抽出したものについて、陰イオン交換樹脂に対する吸着性、2, 4-dinitrophenylhydrazin および semicarbazide との反応性<sup>10)</sup>などを調べた。両者とも -COOH 基、および >CO 基の存在が示され、かつ α-アミノ基を欠除することから α-ケト酸であると推定された。

### 考 察

以上のような結果から、紅藻オキツノリの凍結貯蔵中に見られる citrulline, gigartinine の分解は組織中に存在する酵素の作用によることは明らかであろう。魚類のリパーゼなどは -13°C の低温でもよく働き、遊離脂肪酸増加の原因となる<sup>11)</sup>ことが古くから知られている。しかし、この海藻のように遊離アミノ酸成分が -20°C の低温でも大きく変化することは極めて特殊であろう。Table 1 に示したアミノ酸含量の変化の中で glycine および alanine は gigartinine, citrulline の減少とは逆に増加の傾向を示している。このことはこの間に分解作用のみならず合成作用も行われていることが示唆されるのであるが、gigartinine, citrulline の減少量に比すれば、glycine, alanine の増加量は遙かに少ないので合成面に関しては本研究では特に考慮をしていない。

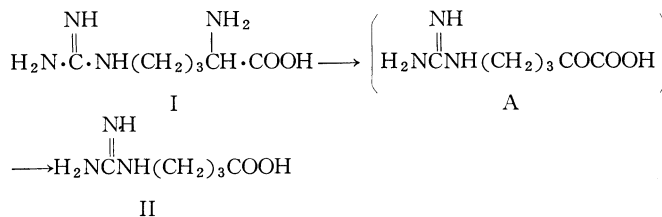
オキツノリを pH 8.0 の緩衝液とともに磨砕抽出した場合の gigartinine の減少は全く早く、Table 2 に示す実験例では僅か1時間でおよそ85%が分解されている。citrulline の減少は11%程度であって gigartinine の方がより著しい。このように抽出液中のある種の成分が短時間に失われることも今後の成分研究上留意する必要がある。しかし、このような gigartinine および citrulline の分解は凍結もしくは磨砕などの手段によって細胞組織が破壊された際に見られるようで、海藻を海岸で採集後、実験室内で海水中に浸漬、5~10°C で5日間通気培養を行い、経日的に遊離アミノ酸を80%エタノールで抽出測定を行った<sup>12)</sup>場合には Table 6 に見られるように gigartinine, citrulline の減少はなく、むしろ増加の傾向が認められた。当然に、これらの遊離アミノ酸の増加は環境海水中の窒素源の多寡に起因するものであろう<sup>13)</sup>が、少なくともこの分解作用は生活細胞の中では強く働いているものではないと思われる。一方、このアミノ酸の分解は histidine を除くいずれの塩基性アミノ酸に対しても強力であり、至適 pH 8.0~9.0 (Fig. 3) と比較的広く、最適温度は 30°C 付近にあるが、低温でもそれ程活性の低下しないのが特徴的である。基質の光学異性体に対する特異性の点では Table 5 に示されるように lysine, ornithine, gigartinine の三者とも L-型が100%分解されるのに対し、DL型では約50%が残存することから L-アミノ酸に特異的であり、D-アミノ酸は分解されないと思われる。

Table 6. Contents of free taurine, glutamic acid, citrulline and gigartinine in the extracts of *G. flabelliformis* cultured at room temperature (5—10°C)<sup>12)</sup>. Values are expressed in  $\mu$  moles/10 g of fresh alga.

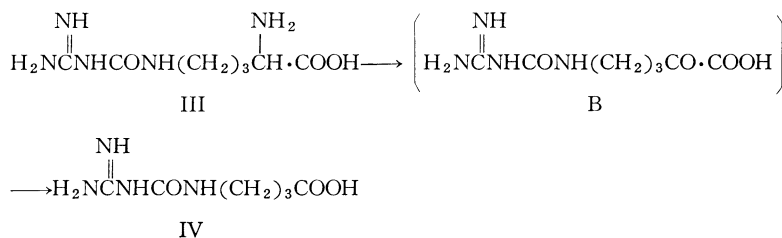
Amino acids	Culture period			
	Initial	2 hr.	24 hr.	5 days
Taurine	41	39	53	49
Glutamic acid	45	53	52	48
Citrulline	55	67	67	54
Gigartinine	112	160	162	183
Ammonia	19	31	41	39

Arginine および gigartinine の分解生成物にケト酸が見出される (Fig. 5) こと、アミノ酸の分解に伴いほぼ等モルのアンモニアの生成が見られること、および粗酵素液を透析処理して低分子物質を除去し、アミノ基の受容体に相当するものを添加しなくても分解は充分進行することから、この分解はトランスアミナーゼ的なものではなく、むしろ塩基性アミノ酸に特異的なL-アミノ酸酸化酵素の作用に相当すると考えられる。この基質特異性の点からは BOULANGER ら<sup>8)</sup>の報告した L-amino acid oxidase とよく類似しているようである。

Fig. 5 におけるアミノ酸分解物の検索において arginine (I) では  $\alpha$ -ケト酸と思われるA物質の他に、少量ではあるが  $\gamma$ -guanidino butyric acid (II) が、gigartinine (III) よりもB物質の他に gongrine (IV) が検出されたことは、これらの塩基性アミノ酸の脱アミノから一部は更に脱カルボキシル反応まで進行したと考えられる。







著者らはかつて、gigartinine, gongrine の海藻中の分布について gigartinine は紅藻中にかなり広く分布するが gongrine の分布はオキツノリほか数種に限られていることを報告した<sup>14)</sup>。このことはオキツノリにあっては塩基性アミノ酸の酸化的な脱アミノ及び脱カルボキシル酵素が存在し、細胞の状況の如何によってこれらの酵素が活性化され gongrine が蓄積されるのであろう。また、 $\gamma$ -guanidinobutyric acid のオキツノリに存在する<sup>15)</sup>ことも同様に説明されよう。Arginine や gigartinine が存在していても、 $\gamma$ -guanidinobutyric acid や gongrine の検出されない海藻では、この種の酵素が存在しない為と思われるが、今後海藻界におけるこの酵素の分布の検討によって明らかになるであろう。また、同時にこの酵素の精製、諸性質等の究明も今後の課題である。

### 要 約

紅藻の一種オキツノリ *Gymnogongrus flabelliformis* を $-20^{\circ}\text{C}$ に凍結貯蔵すると藻体遊離アミノ酸の主要成分である gigartinine および citrulline が著しく減少し、7週間の貯蔵で両者とも95%以上が分解された。藻体を pH 8.0 の Tris 緩衝液とともに磨砕して得た抽出液を $25^{\circ}\text{C}$ に置いた場合には更に顕著であって、gigartinine は3時間で完全に消失した。更に透析処理した抽出液に17種のアミノ酸混合液を添加して分解性をみたところ、この抽出液は特に塩基性アミノ酸を強く分解することを知った。

以上のことは本海藻に塩基性アミノ酸を特異的に分解する酵素の存在を示唆したので、この反応に対する緩衝液の種類の影響、至適温度、pH、基質特異性、分解生産物について調べた。結果は以下の如くである。

- (1) 磷酸緩衝液は Tris 緩衝液。硼砂緩衝液に比較して arginine 分解の活性を低下させる。
- (2) 反応の至適温度は $30^{\circ}\text{C}$ 附近にある。
- (3) 反応の至適 pH は8.0~9.0の間にある。
- (4) 塩基性アミノ酸である L-arginine, L-ornithine, L-lysine, L-gigartinine は強く分解するが、L-histidine, L-methionine にも弱い分解力を持つ。DL-Ornithine, DL-lysine, DL-gigartinine は50%しか分解されず、この反応は L-アミノ酸に特異的であると推察される。
- (5) Arginine, gigartinine の分解生産物をペーパークロマトグラフィーによって検索したところ、いずれも主生成物として相当する  $\alpha$ -ケト酸が検出された。したがって、この海藻抽出液には塩基性アミノ酸の酸化的脱アミノ反応に関与する酵素の存在が推定された。

### 文 献

- 1) 伊藤啓二・橋本芳郎：日本水産学会誌，**32**，274~279 (1966)。
- 2) ITO, K. and HASHIMOTO, Y.: *Nature*, **211**, 417 (1966)。
- 3) ITO, K. and HASHIMOTO, Y.: *Agr. Biol. Chem.*, **29**, 832~835 (1965)。
- 4) 伊藤啓二・宮沢啓輔・橋本芳郎：日本水産学会誌，**33**，572~577 (1967)。
- 5) JACOBI, G.: *Planta*, **49**, 561~577 (1957)。
- 6) CITHAREL, J.: *Compt. rend.*, **265**, 1616~1618 (1967)。
- 7) REUTER, G.: *Nature*, **190**, 441 (1961)。
- 8) BOULANGER, P. and OSTEUX, R.: *Compt. rend.*, **241**, 125~127, 613~615 (1955)。

- 9) ITO, K. and HASHIMOTO, Y.: *Agr. Biol. Chem.*, **33**, 237~241 (1969).
- 10) MAGSANIK, B. and UMBARGER, H. E.: *J. Am. Chem. Soc.*, **72**, 2308~9 (1950).
- 11) 小野豊樹：日本水産学会誌，**3**，255~264 (1935).
- 12) 宮沢啓輔・伊藤啓二・松本文夫：昭和45年度日本水産学会春季大会講演 (1970).
- 13) 伊藤啓二・佐藤孜郎・佐藤美和・松本文夫：日本水産学会誌，**26**，938~943 (1960).
- 14) 伊藤啓二・宮沢啓輔・橋本芳郎：日本水産学会誌，**32**，727~729 (1966).

## SUMMARY

The red alga, *Gymnogongrus flabelliformis* has a peculiar free amino acid pattern, in which one characteristic amino acid, gigartinine, is the most dominant component<sup>1~4)</sup>. Recently, we observed that the contents of gigartinine and citrulline in the extracts of the alga decreased markedly during storage at about  $-20^{\circ}\text{C}$ .

The purpose of this paper is to report that the cell free extract of *Gymnogongrus flabelliformis* has an enzymatic activity for the decomposition of basic L-amino acids.

- 1) The cell free extract was prepared by grinding the alga with an equal volume of pH 8.0 Tris buffer in a mortar previously chilled and centrifuging for 30 min. at 10,000 rpm under chilling. The supernatant obtained was dialyzed against distilled water for 24 hours.
- 2) The extract showed a deaminative activity towards L-gigartinine, L-arginine, L-lysine and L-ornithine, and decomposed 50% of DL-gigartinine, DL-lysine and DL-ornithine. It suggests that D-isomers are not affected.
- 3) The influence of the different kinds of buffer solution on the decomposing activity of the extract towards arginine was examined. The phosphate buffer showed a slightly inhibitive effect.
- 4) Effects of pH and temperature on the decomposing activity of the extract were examined. The pH optimum was relatively broad. The activity of the extract did not vary appreciably from pH 8.0 to 9.0. The optimum temperature was about  $30^{\circ}\text{C}$ .
- 5) The decomposition products of arginine and gigartinine were surveyed by paperchromatography and the corresponding  $\alpha$ -keto acid to each one of the amino acids was detected, respectively. The data suggest that the extract of the alga has an activity to catalyze oxidative deamination of basic L-amino acids.