

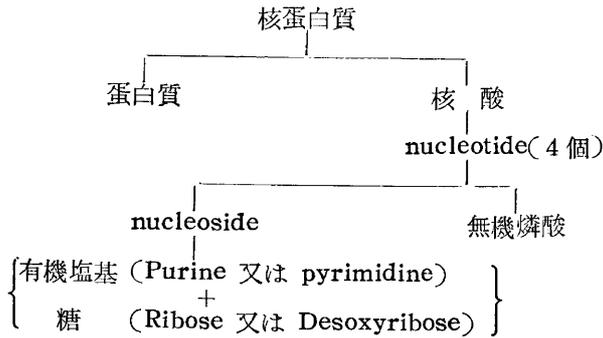
# 大豆の核酸について

岡 本 繁 子\*

## 緒 言

核酸は動物及び植物のあらゆる生活細胞の構成物である核蛋白質の構成成分として、蛋白質と結合して存するもので、生命現象の鍵を握る物質として最近その研究も活発になつて来た。

核酸を稀薄なアルカリで加水分解すると、4個の nucleotide に分解し、これを弱アルカリで分解を行うと nucleoside 即ち、有機塩基と糖の化合物と、遊離の無機磷酸とを与える。これを核蛋白質の組成として図示すると次の通りである。



今日では化学的に性質の異なる五つの一般的型の核酸が存在している。即ち酵母核酸を代表とする Ribonucleic Acid (RNA) と、胸腺核酸を代表とする Desoxyribonucleic Acid (DNA) である。

植物核酸については、動物核酸程には研究されていないが、又その文献も少ないのであるが、高等植物の組織ことに穀類の胚芽中に核酸様の物質が存在することは古く Osborn, Harris らによつて指摘され、小麦の胚芽から単離された。Levene, La Forge<sup>1)</sup>らはこれが酵母核酸 (RNA) と同一物質であることを確認し、ついでこのほか稲の胚芽、トウモロコシ胚、エンドウの葉、ネギの鱗茎、タバコの葉などから RNA のみならず、DNA までもその存在を認められ、従来からの“DNAは動物生体内のみに存在する”という考えを覆すに至つた。

一般に今日迄に分離されている核酸は種子の胚芽中のものが多く、かつ胚芽全体から直接に核酸のみを抽出したものであつて、穀実内における形態についてあ

まり深く考慮されていない。しかし最近、近藤、森田氏らがぬか層、蛋白質層及び胚芽を全く除去した米粉末からこれを調製し、コメグルテリンが核蛋白質であることを証明したのは興味あることである。コメグルテリンが核蛋白質であることは、植物性組織中に正常成分として核蛋白質が存在することを始めて確認したものと云える。

核酸が蛋白質の生物学的合成に対して持つ本質的な意義については Caspersson 及び Brachet<sup>1)</sup>による仮説の提出以来多くの人々によつて説明されて来た。そして今日細胞質においては RNA が蛋白合成に積極的に働いていることが確認されている。即ち植物においてはエンドウの受精及びその初期の発生過程において RNA 及び DNA が蛋白合成に利用されていることや又植物細胞に生長が著しく阻害される様な処理をしてこれに酵母核酸 (RNA) を与えると阻害が回復することは、植物の生長に対する核酸の重要性を示すものであり、これからもこの生長阻害が蛋白質合成の阻害であることは明らかである。そこで食物科学的にも核酸が如何に大切な物質であるかが認識されるのである。又核酸の応用価値も食物科学は勿論のこと、医学生化学、農学など種々の分野に伸びつつあることは喜ばしいことである。

私は高等植物核酸の一種として大豆核酸をとりあげこれの定量を行つた結果、RNA 及び DNA は夫々かなりの含量をもつことがわかり、更に大豆穀実中から核酸を抽出してこれが定性的に RNA 及び DNA を含有することを知つた。又その構成成分の研究として Ribose、有機塩基 (Purine 及び Pyrimidin)、無機磷酸、及び窒素の検索を試みた結果、夫々の検出及び定量をすることが出来た。

## 実 験

### [1] 核酸及び各形態磷の定量 (Schneider 法)<sup>2)</sup>

#### A. 実験材料

材料として、北海道産の白大豆を白で粉末にした Soybean meal を用いた。但し大豆の皮は粉末にしにくかつたので除き、穀実のみを使つた。なお廃棄率

\*昭和34年度卒業生 平教授指導

は次の如くであつた。

大豆1400g	$\left\{ \begin{array}{l} \text{Soybean meal} \quad 1250\text{g} \\ \text{皮(フスマ)} \quad 115\text{g (約3.2\%)} \end{array} \right.$

B. 抽出操作

(1) 酸可溶性燐化合物の除去

Soybean meal 5g を正確に秤取し、10% 氷冷 Trichloroacetic acid (TCA)50ml を加え、氷冷しつつ充分混ぜてから速かに遠心分離す

(註1)

酸可溶性燐化合物とは、燐酸、mononucleotide、糖類、その他低分子燐酸エステルなどで、これらの抽出は冷時に出来るだけ速に行うことが必要である。

る。上澄を分け、沈澱に再び10%氷冷 TCA 50 ml を加えて均一な懸濁液としてから、速かに遠心分離する。沈澱は次の(2)に用い上澄は先の上澄と合併して酸可溶性劃分とする。

(2) 燐脂質の除去

(1)の沈澱を 20ml の水に懸濁し、40ml の95% Alcohol を追加してよく混ぜた後遠心分離する。沈澱を再び 95% Alcohol に懸濁した後遠心分離して、(1)で用いた TCA を出来るだけ除去する。次に沈澱を Alcohol:Ether (3:1) の混液 30ml に懸濁し、沸石を入れ、冷却管をつけて湯浴中で 3分間沸騰せしめ、冷却後遠心分離し、得られた沈澱を同様に計 3回抽出し、3回分の Alcohol.Ether 抽出液を合併して燐脂質劃分とする。

(3) 核酸の抽出

(2)沈澱に 10ml の冷水と10%氷冷 TCA30ml を混じ均一な懸濁液としてから遠心分離する。次に沈澱を 5% TCA40ml 中に再び懸濁し、90°C の湯浴中で 15分間加熱後冷却し、遠心分離する。上澄をとり沈澱に 5% TCA50ml を加えよく攪拌してから遠心分離する。以上の抽出液を合併して核酸劃分とする。

(4) 燐蛋白質

(3)の沈澱に 2% NaOH40ml を加え、沸騰湯浴中で10分間加熱して溶解せしめる。これを燐蛋白質劃分とする。

C. 定量

1) 各形態燐の定量 (Allen法)

(1) 酸可溶性燐化合物

(a)試料:前記操作による上澄液100mlを用いた。

(b)試薬: Amidol 試薬 (1g の Amidol と 20g

の純重亜硫酸ソーダを水で溶かして100ml とする。外面を黒くぬつた壺に密栓して貯え、約10日後に上澄を傾瀉して用いる。) Ammonium-molybdate8.3% (モリブデン酸アン

(註2)

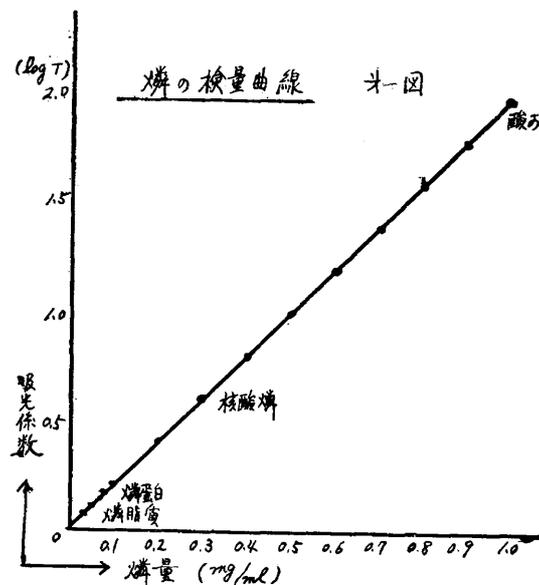
燐モリブデン酸アンモンを適当な還元剤で還元してモリブデン青とし、生じる青色を標準溶液と比色定量する方法。

R.J.L. Allen は還元剤として Amidol (12-4 Diamino phenol) を用い、発色の条件を吟味して従来諸法の欠点を克服した。

モンの溶解を容易にする為少量のアンモニア水を加える。) 燐酸塩標準溶液 mg/cc (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> を夫々 0.1, 0.2, 0.3~1.0mg を含有する様に蒸溜水にとかして用いた。)

(c)操作: 2 ml の試料液を micro-kjeldahl flask にとり、2.2ml の60%過塩素酸を加え分解し、分解後 1ml の水を加え沸騰湯浴中に10分間放置後、2 ml の Amidol 試薬と 1 ml の Ammonium-molybdate (8.3%) 及び水で 25ml とし、5~30分間の間にコタキ製光電比色計 (Filter S72) を用いて測定した。

先に燐酸塩標準溶液でもって、同様にして検量曲線を作り、これより中挿法にて燐の含有量を求めた。



第1図は燐の検量曲線である。

(d)結果:

2 ml中の燐量 ..... 1.0g100ml中 (Soybean meal 5g中)の燐量 ...50.0mg Soybean meal100mg中の燐量...1000.0mg(1%)

(2) 磷脂質

(d)試料：前記操作による上澄液90mlを用いた。

(b)操作：前記(1)と同方法により、第1図から  
 磷脂含有量を求めた。

(c)結果：

2 mlの磷脂量 .....0.035mg  
 90ml中 (Soybean meal 5 g中) の磷脂量.....  
 .....1.575mg  
 Soybean meal 100g中の磷脂量 ..... 31.5mg  
 (0.03%)

(3) 磷蛋白質

(a)試料：前記操作による溶液 40ml を用いた。

(b)操作：前記(1)(2)と同方法による。

(c)結果：

(註3)

5~30分間の間にも呈色の度合が変化あるため私は正確をきし全てを、試薬を加えてから、15分後に統一して測定した。

2 ml 中の磷脂量.....0.08mg  
 40ml 中(Soybean meal 5 g)の磷脂量...1.6mg  
 Soybean meal 100g中の磷脂量.....32.0mg  
 (約0.03%)

2) 核酸の定量

(1) Ribonucleic Acid の定量 (Orcinol-HCl 反応...Ken 等の方法<sup>2)</sup>)

(a)試料：前記核酸割分抽出液を用いた。<sup>(註4)</sup>

(b)試薬：FeCl<sub>3</sub> を0.02%含む濃 HCl (分析用)  
 10% Orcinol-Alcohol 溶液。

(c)操作：試料 5 ml を目盛付試験管にとり 5 ml の HCl-FeCl<sub>3</sub> 試薬及び 0.3ml の Orcinol 試薬を加えて20分間沸騰湯浴中で加熱し、冷却後水で全量 15ml としてコタキ製光電比色計 (Filter S 61) を用いて、同様に比色定量して作った検量曲線と照らし、RNA の量を求めた。

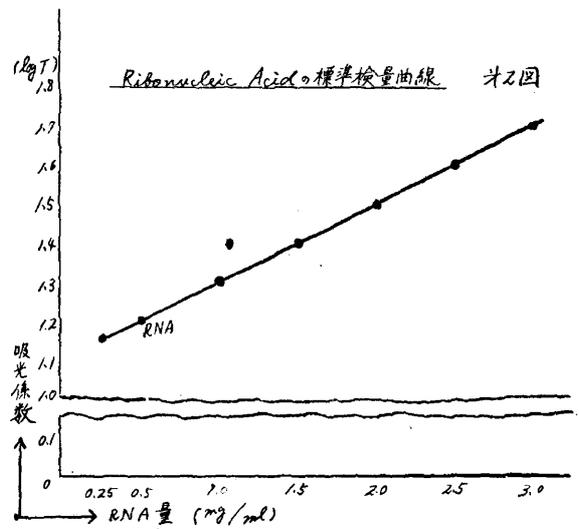
第2図が RNA の検量曲線である。

(註4)

この混液は共栓付フラスコ中に保存する。コルクはペントースを含むから決して用いてはならない

(註5)

密栓して暗所に貯える。(新しい時は殆んど無色であるが、古くなるにつれてオレンジ色を帯びて来る。)



(d)結果：

1 mg 中の RNA の量.....0.5mg  
 130mg中(Soybean meal 5 mg中)の RNA 量  
 .....65.0mg  
 Soybean meal 100g 中の RNA 量 .....  
 .....1300.0mg  
 (1.3%)

(2) Desoxyribonucleic Acid の定量 (システイン-硫酸反応<sup>2)</sup>)

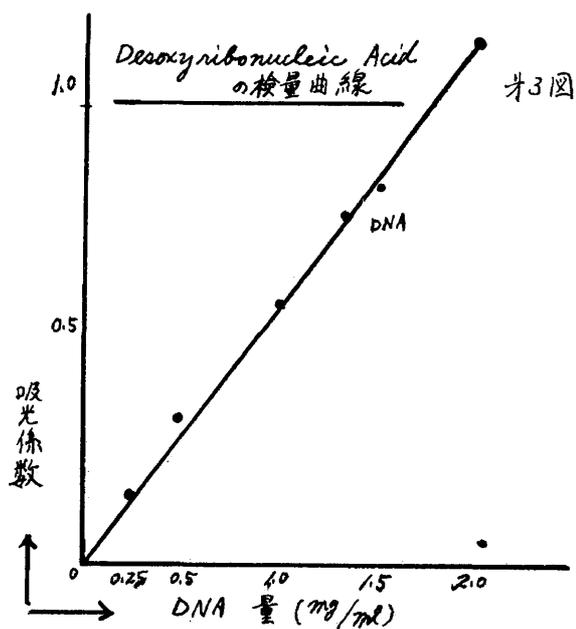
(a)試料：前記核酸割分抽出液を用いた。

(b)試薬：5% 塩酸システイン水溶液液

70 (容量)%, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (分析用硫酸を稀める)

(c)操作：塩酸システイン試薬0.05mlに検液0.5 ml を加えてから 5 ml の 70% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> を加える。添加後ガラス棒で激しく攪拌してから 40°C に 5 分間放置し、H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 添加後10分後に生じた紅色の強さをコタキ製光電比色計 (Filter S50) を用いて測定し、その結果を DNA 標準試料での呈色から作った検量曲線にのせ DNA 量をよみとる。但し私の場合 DNA 量が微量であり、試料そのままでは呈色が困難であつたので、試料を 60°C 以下で10倍に濃腹して測定し、検量曲線からよみとつた値を1/10にして含有量を計算した。

第3図が DNA の検量曲線である。



(d)結果:

- 1 ml 中のDNA量……………0.135mg
- 130ml中 (Soybean meal 5g中) のDNA量  
……………17.55mg
- Soybean meal 100g中のDNA量…351.0mg  
(約0.35%)

以上の定量結果をまとめると第1表の如くである。

第1表

大豆粉末中の核酸及び各形態磷の含量

核酸及び各形態磷の名称	大豆粉末100g中のmg数
Ribonucleic Acid	1,300. mg
Desoyribonucleic Acid	351. mg
酸可溶性化合物	1,000. mg
磷脂質	31.5mg
磷蛋白質	32. mg

〔Ⅱ〕大豆核酸の抽出

核酸及び核蛋白質の様な生命現象に密接な関係を有する物質の研究を行うにあたって重要な問題の1つは天然のままでは出来るだけそれに近い形で核酸や核蛋白質を分離精製することである。1930年まではアルカリ抽出、酸沈澱といつたかなりはげしい処理方法が採られていた。しかし核酸や核蛋白質が高分子であることが判明してからは、例えば食塩水抽出、アルコール沈澱の様な出来るだけ温和な方法が採用される様になつて来た。

私はこの方法に従い、アルコール沈澱法を取り入れた抽出法で大豆核酸の抽出を試みた。

A. 試料

核酸及び各形態磷の定量に用いたと同じく、北海

道産の白大豆での Soybean meal を用いた。

B. 操作

Soybean meal 500g を冷水 2l中に一様に混吊し 40% NaOH を 62.5ml を加え、氷で10~15°Cに冷し乍ら1時間震盪攪拌した後遠心分離し、上澄液に15gの硅藻土と15gの bentonite を加えて浄化し 40ml の濃 HCl を加え、pHを氷醋酸で6.5にした後、毎分2500回転で20分間遠心分離し、上澄液を別器にとつておき、沈澱を500mlの水で混吊し、再び遠心分離する。この上澄液と前の上澄液とを合併しこの液と同量の Alcohol を加えて濃 HCl にした後氷を用いて 10°C に温度を保ち乍ら30分攪拌器で震盪攪拌すると核酸沈澱が生成するから、遠心分離してこれを集め、Alcohol で2回充分に洗滌した後デンケーター中にて10日間乾燥した後、更に真空中にて P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 上で10日間乾燥した。

C. 取量

生成物は灰白色粉末で、Soybean meal 500g から4.227gが得た。即ち0.8454%である。

〔Ⅲ〕大豆核酸の構成分研究

A. 窒素の定量 (Kjeldahl法)

- (a)試料: 前記抽出による大豆核酸を用いる。
- (b)操作: 核酸200ml を正確に micro kjeldahl flask に採取し、濃 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> と少量の酸化剤を加え Kjeldahl 分解装置にて約6時間分解し、終了後 Kjeldahl 窒素蒸溜装置を用いて窒素を定量した。
- (c)結果: N/10NaOH での滴定数 = N/10H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 40 ml に対して 29.5ml であつた。

$$\frac{0.0014 \times (40 - 29.5) \times 100}{0.2} = 7.35 (\%)$$

故に前記抽出の大豆核酸の窒素含有量は7.35%である。

B. 磷の定量 (Allen法)

- (a)試料: 5% TCA 1ml 中に前記抽出による大豆核酸 10mg 含有する溶液をつくり、これを用いた。
- (b)操作: 前記各形態磷の定量の場合と同様に比色定量し、第1図の検量曲線から、中挿法により磷量を求めた。

(c)結果:

- 試料液 2ml中 (核酸20mg中) の磷量 ……0.3mg
- 大豆核酸100mg中の磷量……………1.5mg  
(1.5%)

故に以上の窒素と磷の定量結果からその比 (N/P) は

$$\frac{N}{P} = \frac{7.35}{1.5} = 4.9$$

そこで次の第2表から分析値をよみ

第2表  
テトラヌクレオチドの構造式から計算したN、Pの含量の理論値<sup>(註6)</sup>

核 酸	分 子 式	分子量	N (%)	P (%)	N/P
Ribonucleic Acid	$C_{38}H_{45}O_{28}N_{15}P_4Na_4$	1375	15.27	9.03	1.69
Desoxyribonucleic Acid	$C_{38}H_{46}O_{25}N_{15}P_4Na_4$	1328	15.81	9.35	1.69

(註6) 普通には核酸はそのNa塩として精製されるので、核酸の構造式からNa塩として計算した値である。

N/P分析値を1.69としてみると、私のN/Pの値4.9は窒素含有量が燐含有量に対して多すぎることになるが、抽出大豆核酸の内には不純物として、後述の反応検査に示す様に蛋白質が完全に分離せずに入っている為に、蛋白性窒素がこの値の中にも入っている為であろうと考えられる。そこで窒素係数を用いて抽出大豆核酸の純度を計算してみると。

不純物としての蛋白質量の百分率は、

$$(7.35 - 1.69) \times 6.25 + 35 (\%)$$

故に私の抽出大豆核酸の純度は約65%であるといえる。

C. 核酸の定性

1) Ribonucleic Acid の定性 (Orcinol-HCl反応)

(a)試料: 10% TCA 1 ml 中に前記抽出による大豆核酸 10mg を含有する溶液を作り、これを用いた。

(b)操作: 前記 RNA の定量の場合と同様に反応させ、その呈色の有無を見る。

(c)結果: Orcinol-HCl 反応による Ribose の呈色により、鮮かなる緑色を呈した。これにより RNA の含量を確認した。

2) Desoxyribonucleic Acid の定性 (システイン一硫酸反応)<sup>2)</sup>

(a)試料: Ribonucleic Acid の定性と同一物を用いた。

(b)操作: 前記 DNA の定量の場合と同様に反応させ、その呈色の有無をみる。

(c)結果: システイン一硫酸反応による Desoxyribose の呈色により紅色を生じた。これにより DNA の含有をも確認した。

D. 蛋白質の定性

核酸は必ず核蛋白質という形で、蛋白質と結合して各生体の組織中に存在しているので、抽出大豆核酸の純度試験として次の2方法で蛋白質の定性を試みた。

1) Biuret 反応<sup>5)</sup>

抽出大豆核酸溶液 1 ml に 40% NaOH 3 ml を加え、更に 1% 硫酸銅溶液 1~2 滴を加えると淡紫色を呈した。

2) Xanthoprotein 反応<sup>5)</sup>

抽出大豆核酸溶液 3 ml に濃 HNO<sub>3</sub> 1 ml を加えて煮沸すると、鮮かな黄色を呈した。

以上の2反応より、わずかに不純物として蛋白質が完全に分離されないで残存していることが確認された。

その含有量は、前記の計算より35%であるといえる。

E. 糖 (Pentose) の検出 (醋酸アニリン試験)<sup>(註7) 6)</sup>

(a)試料: 抽出大豆核酸溶液

(b)試薬: (醋酸アニリン試験紙)。5%醋酸アニリン溶液に細長く切った濾紙片を浸した後取り出し乾燥して使用する。

(註7)

この呈色反応は、濃 HCl と共に加熱することによつて生成される furfural に起因する。しかして methylpentose からは methylfurfural を生じ hexose からは w-hydroxymethyl furfural を生成し、これらの物質と試薬との縮合物が呈色の原因となるのである。

(c)操作及び結果: 試料溶液 1 ml を試験管にとり、これに 1 ml の濃 HCl を加えて煮沸し、試験管の口に醋酸アニリン試験紙をあてがい、発生する蒸気に触れさせると、試験紙は桜赤色を呈した。以上の結果から Pentose を検出したことを認めたことを認めた。

F. 有機塩基の検索 (Paper Chromatography法)<sup>7) 1)</sup>

1) 試料の調製

大豆核酸50mgを直径1cmの glass bombe 中にとり 6N の HCl 2 ml を加え、封管後 120°C の油浴中で2時間加水分解して、HCl を湯浴上で溜去し、蒸溜水 2 ml で溶解して、これを Paper Chromatography 用 Sample とした。

2) 操 作

(a)方法: Paper Chromatography 一次元上昇法

(b)濾紙: 東洋濾紙 No.50 (40cm × 3cm)

(c)展開液: n-Butanol 水飽和(約84%)

(d)展開温度及び時間: 32°C 恒温器中約15時間

(e)発色方法(吸着位置の決定)

濾紙を風乾後105°Cで20分加熱し、0.1molの醋酸第2水銀1容、1molの醋酸ソーダ3容、水6容を発色時毎に新しく混和した溶液の中に3)秒浸し、水を入れてあふれさせ、ゆるい流水中<sup>(註8)</sup>で完全に洗滌する。洗滌後硫化アンモン溶液中を通すと、先の溶液で濾紙上にHg塩として固定された塩基が、硫化水銀の黒いSpotとなつて現れる。これが Purine 及び pyrimidine base の位置を示す。

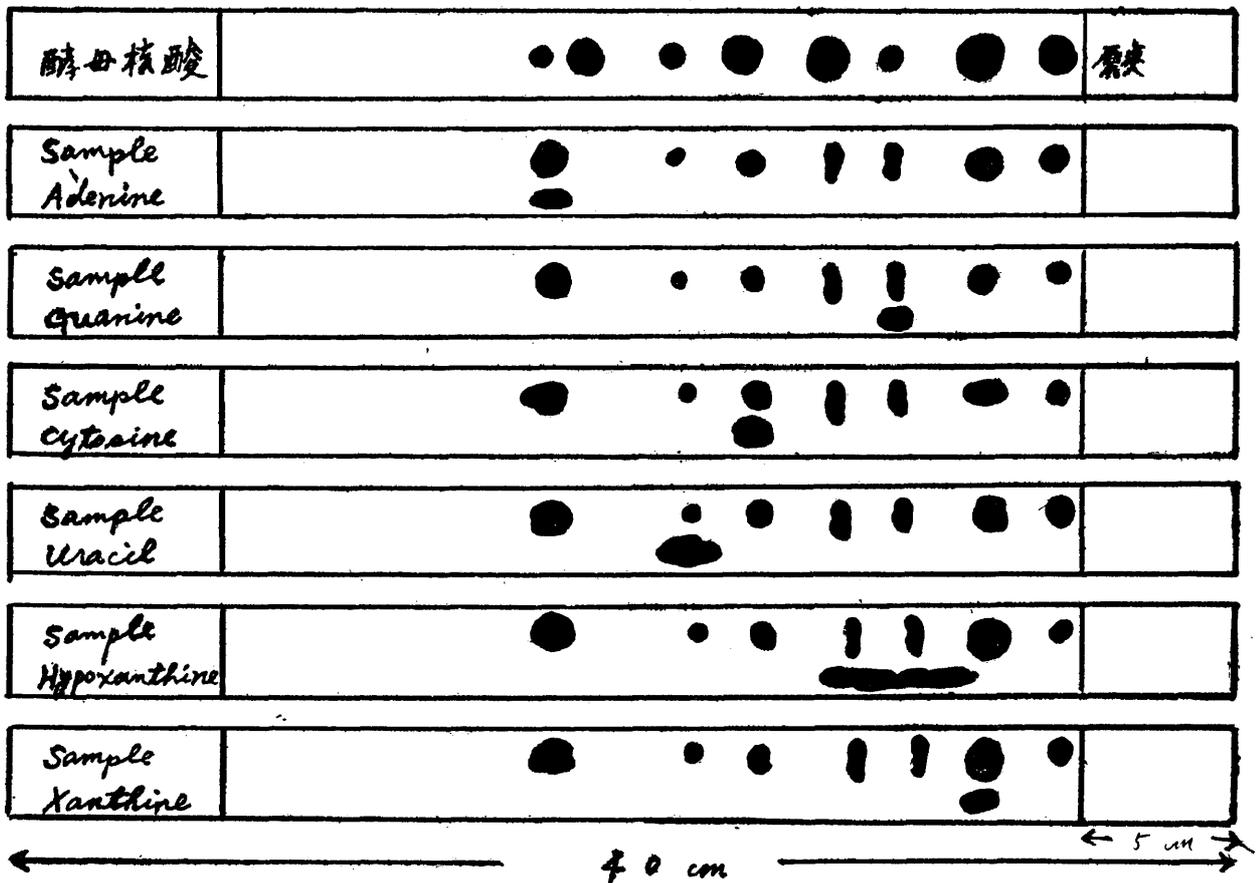
3) 結果

発色処理により、黒色の Spot 7 個を検出した。この Spot の名称を決定する為に、夫々の塩基の純粋物及び酵母核酸の純粋物との同時展開をも試めた。酵母核酸からは Spot 8 個を検出した。次に第3表及び第4図で夫々の Rf 値及び縮尺1/2の図を表わす。

(註8)

洗滌が完全であるか否かを見る為、別の濾紙片に Hg(NO)<sub>3</sub> を吹きつけ乾燥後 Sample 展開の濾紙と同容器の中で同時に洗滌し、時々取り出して硫化アンモン溶液に浸してみ、黒変するか否かで判定した。

第4図



第3表

Base	酵母核酸の Rf 値	大豆核酸 Sample の Rf	Standard の Rf
Adenine	0.48	0.47	0.47
Guanine	0.10	0.11	0.11
Cytosine	0.23	0.23	0.24
Uracil	0.32	0.32	0.32
Hypoxanthine	0.17	0.16	0.17
Xanthine	0.02	0.055	0.059
?	0.018	0.017	
?	0.43		

以上の結果から、Purine base 4 個即ち、Adenine, Guanine, Hypoxanthine, Xanthine と、Pyrimidine base 2 個即ち、Cytosine, Uracil を検出確認した。

この内 Hypoxanthine と Xanthine とは正規の核酸構成成分というよりも、Hypoxanthine は Adenine, Xanthine は Guanine から生成されるものであるから、夫々大豆核酸中に Adenine, Guanine が存在する関係から共存するのであろうと推定された。後1個の Rf 値が一番小さい

Spot は、相当する塩基が存在せず、なお不明であるが、核酸中に残存する蛋白質から生成された物質らしいと思われる。

### 總括と考察

- 1) Schneider 法による大豆核酸の定量結果は、RNA A1, 3%, DNA 0.35% 含有していることがわかった。しかし Schneider 法は主に動物組織からの定量法に適しているので、植物組織の場合は、この方法の変法 Ogur-Rosen, Schneider 法が適切であると思われる。
- 2) 大豆粉中の各形態磷の含有量は、酸可溶性磷化合物 1%, 磷脂質 0.03%, 磷蛋白質 0.03% であつた。
- 3) 大豆粉 500g より得た大豆核酸の収量は、4.227g であつた。即ち、0.8454% である。
- 4) 抽出大豆核酸の定性は、RNA 及び DNA 共陽性であつた。故に抽出生成物には、両型核酸とも含有していることが確認された。
- 5) 抽出核酸がはたして純粋か否かをみる為に、核酸と必ず結合して存する蛋白質の検出を試みると、不純物として蛋白質が完全に分離されずに残存していることがわかつた。
- 6) 大豆核酸構成成分の研究  
次の結果から大豆核酸構成成分として、夫々次の物質の存在を認めた。即ち諸言でのべた如く、核酸は動植物の細胞内の核蛋白質の構成成分として蛋白質と結合して存し、遊離の無機磷酸と nucleoside (有機塩基と糖) のよつた nucleotide 4 個から構成されていることが再確認された。

(a) 糖の検出を試みたところ、これも陽性であつた。

この反応は Ribose 特有の反応であるから、構成糖分は Ribose であることが証明され、更に一層 RNA の存在が明確になつた。

(b) 構成成分の定量として、窒素 7.35%, 磷 1.5% の含量であつた。その比を理論分析値と比べてみると、磷に対して窒素が多すぎる、これは核酸の構成成分の含量が一定であるとされているので、N/P は一定でなければならぬのであるが、前述の如く、抽出核酸中その不純物として蛋白質が含まれているので、磷に対して窒素が相当数多くなることが推定された。

(c) N/P 値が大きいくところから、蛋白質の含量を計算して抽出核酸の純度を出してみると、約 65% であつた。

(d) 有機塩基の検出として、Paper Chromatography

一次元上昇法で、Purine base として Adenine, Guanine, Hypoxanthine, Xanthine の 4 個と、Pyrimidine base として Cytosine, Uracil の 2 個と、後 1 個の存在を認めた。

(e) 前記の磷定量は磷酸量に基き定量されているのでその構成成分の内、磷酸も含有していることも理論上認められた。

以上の研究結果より、大豆核酸は、かなりの含量をもつことが明らかとなり、更に大豆穀実から核酸部分を抽出して、これが定性的に RNA 及び DNA であることを認めた。

従来から、植物組織からの核酸については主として RNA のみが抽出研究されているが、以上の方法によれば、RNA と共に DNA をも抽出できることは興味あることである。

しかし抽出核酸中、少量ながら他の物質、(主に蛋白質と思われる) が共存していたが、これは精製を試みるが必要であつたかと思われ、この点検討の余地を残している。

又核酸というものの本体を知り、その役目ともいえる動物及び植物内の蛋白合成という働きや、多方面にわたる利用価値からも、核酸が如何に重要な物質であるかが認識されたことは、意義深いことであると思われる。と共に今後増々種々の生物に於ける核酸の研究が活発に行われることを望むものである。

終りに臨んで、終始懇切丁寧なる御指導を賜りました、平友恒教授に対して心より謝意を表します。

### 参 考 文 献

- 1) 共立出版株式会社編：蛋白質，核酸，酵素，第12巻，第3巻
  - 2) 江上不二夫編集：核酸及び核蛋白質，上巻，下巻
  - 3) *Archivs of Biochemistry and Biophysico.* (1955) p.253~6 *Soybean Nucleic Acid*
  - 4) 永原太郎，岩尾裕之共著：食品分析法
  - 5) *Practical Physiological Chemistry.* p.38, p.40
  - 6) 湯川又夫著：農芸化学分析書，第一編 p.138
  - 7) 佐竹一夫著：クロマトグラフィー
- J. Bonner, 山田登, 丸尾文治, 共訳：植物生化学  
○ 赤松茂編：生化学  
○ 日本植物成分総覧  
○ 日本農芸化学会誌，第23巻，林金雄，永田幸雄，井上昂，柳沢一郎，“トウモロコシ胚の核酸について”。