

STANISŁAW E. KARPIAK

## HYDROLIZA GLIKOGENU I TRANSGLIKOZYDACJA W MIĘŚNIACH SKÓJKI (*UNIO SP.*)

Z Zakładu Chemii Fizjologicznej A. M. we Wrocławiu  
Kierownik: prof. dr T. Baranowski

W trakcie doświadczeń nad aktywnością enzymów glikolitycznych mięśni zwierających muszle u skójki (*Unio sp.*) stwierdziłem (20), że pomimo bardzo słabej aktywności fosforylazy rozpad glikogenu jest dość znaczny. Nasunęło to przypuszczenie, że w zwieraczach czynny jest układ enzymów rozkładających glikogen drogą hydrolizy.

Od czasu odkrycia fosforylazy glikogenu przez Parnasa i Baranowskiego w roku 1935 [30] rozpowszechnił się pogląd, że w mięśniach fosforyliza jest zasadniczym procesem rozkładu glikogenu, zaś odwrócenie tego procesu drogą jego syntezy. Obszerne omówienie historii poglądów można znaleźć w pracy T. Baranowskiego [7]. Jednakże już w początkowej fazie rozwoju poglądów na rolę fosforylazy pojawiały się prace świadczące, że w mięśniach obok fosforylazy występuje również hydroliza glikogenu. W pracowni Parnasa Z. Augustin [1, 2, 3] stwierdził ten fakt w mięśniach serca wołu, konia, królika, psa i świni. Needham [29] zaobserwował to w tkankach embrionalnych.

W niektórych tkankach i organach napotkano na trudności bezpośredniego wykazania fosforylazy. Przykładem są badania przeprowadzone na mięśniach ryb (za Augustinem — 2) lub na mięśniach gładkich żołądka kury [25]. Nagromadzenie znacznego materiału doświadczalnego o fosforylizie nie tylko glikogenu i skrobi, lecz również różnych oligosacharydów, spowodowało, że dawniejsze obserwacje dotyczące hydrolitycznego rozpadu glikogenu [8, 9, 10, 11, 29, 33, 40] poszły w zapomnienie. W grupie uczonych starających się podtrzymać pogląd na rolę hydrolitycznego rozkładu glikogenu do ostatnich czasów można wymienić Pałladina i jego współpracowników (32). Ostatnio pracę na temat rozmieszczenia amylazy w tkankach i organach zwierzęcych ogłosili Mc Geachin i współpr. (16).

Powody, dla których pomijano amylolizę były dwojakie. Po pierwsze, dane o tym procesie opierały się na dowodach pośrednich, głównie na

oznaczaniu redukcji cukrowej, a po drugie, panował pogląd, że karbohydrazy jako fermenty hydrolityczne mogą jedynie przeprowadzać rozkład, gdyż w warunkach organizmu hydroliza jest procesem nieodwracalnym. Ostatnio poglądy na rolę karbohydraz uległy pewnej rewizji. Okazało się, że cały szereg tych enzymów posiada zdolność do transglikozydacji, czyli przenoszenia reszt cukrowych (14), w wyniku czego zachodzi synteza różnych oligo- i polisacharydów. Danych dostarczyły przede wszystkim badania nad enzymami adaptacyjnymi u bakterii [14, 19, 39]. Również badania nad właściwościami enzymów zwierzęcych, np. śluzówki psa potwierdziły ten fakt [5].

We krwi została znaleziona alfa-transglikozydaza [26, 27] przeprowadzająca nie tylko rozpad glikogenu czy skrobi do glikozy i maltozy, lecz również syntetyzująca z maltozy i maltotriozy szereg polimerów glikozy. W ziemniakach [37] udało się zaobserwować syntezę amylozy przy udziale D-enzymu.

Niniejsza praca przedstawia wyniki badań nad amyloлизą i transglikozydacją w zwieraczach skóry. Gdy rozpoczynałem tę pracę przed 3 laty do amylolyzy w mięśniach odnoszono się jeszcze bardzo sceptycznie, dlatego większość materiału tej pracy jest poświęcona wykazaniu tego procesu.

#### METODYKA

Badania przeprowadziłem na tylnych zwieraczach muszli skóry. Ich część wewnętrzna (skośnie prążkowana) nazywana będzie mięśniami A, zaś część zewnętrzna (włókna gładkie) — mięśniami B\*.

Oba rodzaje mięśni zwieraczy rozcierałem w temp. 2° z 3—4 objętościami wody destylowanej. Po pewnym czasie zawiesinę odwirowywałem, a płynu z nad osadu używałem do prób. Część doświadczeń została wykonana na wyciągach wodnych mięśni odwodnionych acetonem w temp. —10°. Po wysuszeniu mięśnie takie rozcierałem na proszek. Wyciąg sporządzałem w ten sposób, że rozcierałem proszek z 20 objętościami wody.

Redukcję cukrową oznaczałem metodą Nelsona w modyfikacji Kinga [21], odbiałęczałem wyciągi bądź woframianem sodu [21], bądź mieszaniną  $Ba(OH)_2$  i  $ZnSO_4$  wg Samogyi [34]. Pierwszy sposób odbiałęczania umożliwiał oznaczenie sumy ciał redukujących, drugi — tylko redukcję cukrową.

Glikogen wydzielałem po odbiałęczeniu wyciągów wodnych 10% kwasem trójchlorooctowym i zadaniu etanolem. Ilość glikogenu obliczałem z ilości zwolnionej glikozy po 2 godzinnej hydrolizie roztworów glikogenu w 1 n HCl w temp. 100°.

Wolną glikozę oznaczałem manometrycznie za pomocą notatyny [18] f-my Sigma.

Fosfor oznaczałem metodą Fiske i Subbarow [15] w modyfikacji Lohmanna i Jendrassika [24].

Aktywność fosfatazy glukozy-6-fosforanu mierzyłem metodą opisaną przez Swanson [35]. Preparat glukozy-6-fosforanu dostałem od dr M. Orłowskiego.

\* Uwagi dotyczące morfologii i funkcji badanych mięśni w pracy na str. 153.

Handlowe preparaty maltozy f-my Merck oczyszczałem na kolumnie węglowo-cellitowej [38]. Poszczególne cukry eluowałem z kolumny w następujący sposób [31]: glikozę — wodą i 2,5% etanolem, maltozę — 10% etanolem, a maltotriozę — 15% etanolem.

Chromatograficzny rozdział cukrowych produktów reakcji enzymatycznych przeprowadzałem za pomocą chromatografii bibułowej spływowej i krążkowej. Do chromatografii spływowej używałem bibuły Whatman 1 (spływ przez 48—72 godz. w temp. pokojowej) lub bibuły Whatman 4 (przez 24 godz.) stosując rozpuszczalnik: n-butanol-lod. kwas octowy-woda (4 : 1 : 5). Szybki rozdział cukrów, bo w ciągu 3 godzin, uzyskiwałem na krążkach bibuły Whatman 1 o średnicy 22 cm za pomocą układu: n-butanol-aceton- amoniak-woda (40 : 50 : 3 : 15) [36].

Plamy cukrowe wywoływałem roztworem benzydyny [4].

### WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Punktem wyjścia niniejszej pracy było stwierdzenie przeze mnie, że aktywność fosforylazowa zwieraczy, zarówno mięśni A jak i B, jest bardzo słaba, bo 30—40 razy słabsza w stosunku do aktywności fosforylazowej mięśni królika. Aktywności fosforylazowej zwieraczy nie zwiększa NaF, który okazał się silnym aktywatorem fosforylasy mięśni żaby i królika, jak wykazały to badania Baranowskiego i Mochackiej [6].

Pomimo niskiej aktywności fosforylasy stwierdziłem, że w wyciągach wodnych znika znaczna część glikogenu i jednocześnie narasta redukcja cukrowa. Wynik takiego doświadczenia przedstawia tabela 1.

*Tabela 1.* Zmiana wartości glikogenu i glikozy w czasie 2-godzinnej inkubacji wyciągów wodnych świeżych mięśni w temp. 37° (w mg na 100 g mięśni)

*Table 1.* Changes in glycogen and glucose during 2 hours' incubation of aqueous extracts of fresh muscles at 37°C. (in mg. per 100 g. of muscle)

	Przed inkubacją 1)		Po inkubacji 2)			
	glikoza 3)	glikogen 4)	glikoza 3)	Δ	glikogen 4)	Δ
Mięśnie A 5)	5	1800	130	125	1400	400
Mięśnie B 6)	5	560	90	85	480	80

Before incubation 1); After incubation 2); glucose 3); glycogen 4); Muscles A 5); Muscles B 6).

Widać z niej, że w czasie 2 godzinnej inkubacji wyciągów wodnych mięśni znikło w mięśniach A — 22% glikogenu (400 mg), zaś w mięśniach B — 15% (80 mg glikogenu). Jednocześnie wzrosła suma ciał redukujących w mięśniach A — 26-krotnie, zaś w mięśniach B — 18-krotnie.

*Tabela 2.* Wpływ fosforanu na przyrost redukcji w czasie 60 min. inkubacji wyciągu wodnego w temp. 35°. (w mg glukozy na 100 g mięśni)

*Table 2.* The effect of phosphate on reduction increase during 60 min. incubation of aqueous extract at 35°C. (in mg. of glucose per 100 g. of muscle)

	Mięśnie A 1)	Mięśnie B 2)
Kontrola 3)	40,0	60,0
W 0,03 M mod. fosfor o pH 7,5	30,0	10,0

Muscles A 1); Muscles B 2); Control 3).

*Tabela 3.* Zmiana fosforu frakcji fosforowych oraz redukcji w wyciągu wodnym mięśni po 3 godz. inkubacji w 30° w mg na 100 g mięśni)

*Table 3.* Change in phosphorus of phosphorus fractions and reduction in aqueous extracts of muscles after 3 hours' incubation at 30°C. (in mg. per 100 g. of muscle)

	Mięśnie A 1)		Mięśnie B 2)	
	przed 3)	po inkubacji 4)	przed 3)	po inkubacji 4)
P <sub>o</sub> 5)	8,8	17,3	7,3	10,6
P <sub>2</sub>	1,6	0	1,7	0
P <sub>7</sub>	1,1	0	0	0
P <sub>e</sub>	10,5	4,7	7,3	5,7
P <sub>r</sub>	22,0	22,0	16,3	16,3
Redukcja (glikoza) 6)	13,7	96,0	12,0	36,0

P<sub>o</sub> — nieorganiczny ortofosforan

P<sub>2</sub> — fosfor odszczepiający się po 2 minutowej hydrolizie w temp. 100° w 0,1 NHCl

P<sub>7</sub> — fosfor odszczepiający się po 7 minutowej hydrolizie w 1N HCl w temp. 100°

P<sub>e</sub> — fosfor trudnohydrolizujących estrów fosforowych

P<sub>r</sub> — całkowity fosfor związków rozpuszczalnych w kwasach

P<sub>o</sub> — inorganic orthophosphate

P<sub>2</sub> — phosphorus splitting off after 2 min. hydrolysis N HCl at temp. of 100°C.

P<sub>7</sub> — phosphorus splitting off after 7 min. hydrolysis in 1N HCl at a temp. of 100°C.

P<sub>e</sub> — phosphorus of poorly hydrolyzing phosphorus esters

P<sub>r</sub> — total phosphorus of acid-soluble compounds

Muscles A 1); Muscles B 2); before 3); after incubation 4); after 5); reduction (glucose) 6).

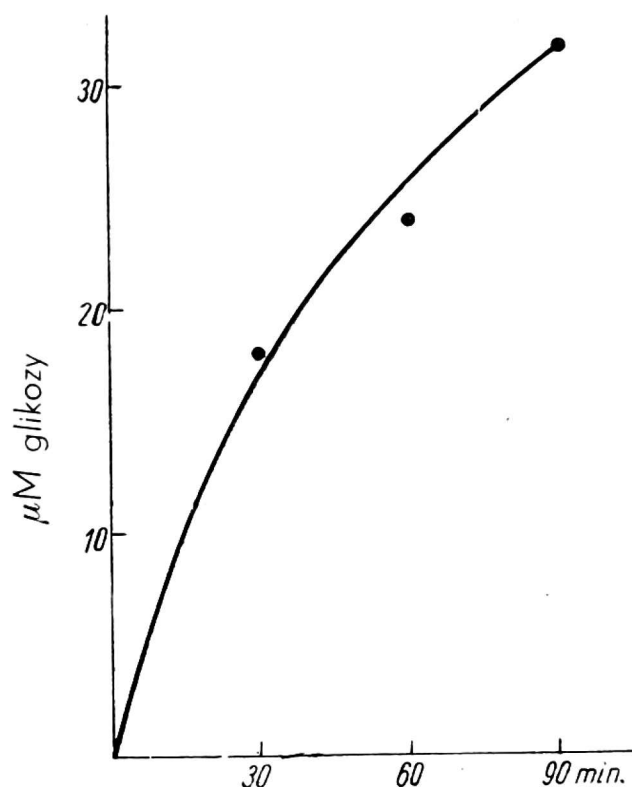
Z doświadczeń nad wpływem obecności nieorganicznego ortofosforanu na redukcję (tab. 2) oraz zachowania się fosforu frakcji fosforowych (tab. 3) wynika, że narastanie redukcji nie jest związane z procesem fosforylizy. Nie obserwuje się bowiem znikania zawartego w wyciągu nieorganicznego ortofosforanu, a wręcz przeciwnie, jego przyrost. Dodanie ortofosforanu nie zwiększa redukcji, a nawet ją zmniejsza.

Zająłem się następnie identyfikacją związków redukujących pojawiających się w czasie rozpadu glikogenu. Jeżeli rozpad posiada charakter amylolyzy, to należałoby po inkubacji wyciągów spodziewać się występowania glikozy, maltotriozy lub innych oligosacharydów pochodzących z hydrolitycznego rozpadu glikogenu.

W celu jakościowego i ilościowego oznaczenia glikozy posłużyłem się notatyną. Wykonałem z nią dwa rodzaje doświadczeń. W jednym oznaczałem glikozę nagromadzającą się w czasie inkubacji. W tym celu w określonych odstępach czasu wstawiałem próbki na 5 minut do wrzącej łaźni wodnej dla przerwania inkubacji i w odbiałczu oznaczałem glikozę (ryc. 1).

W drugim wariantcie doświadczeń (ryc. 2 i 3) inkubowałem wyciągi mięśniowe razem z notatyną, usuwając tym samym glikozę w chwili jej pojawiania się.

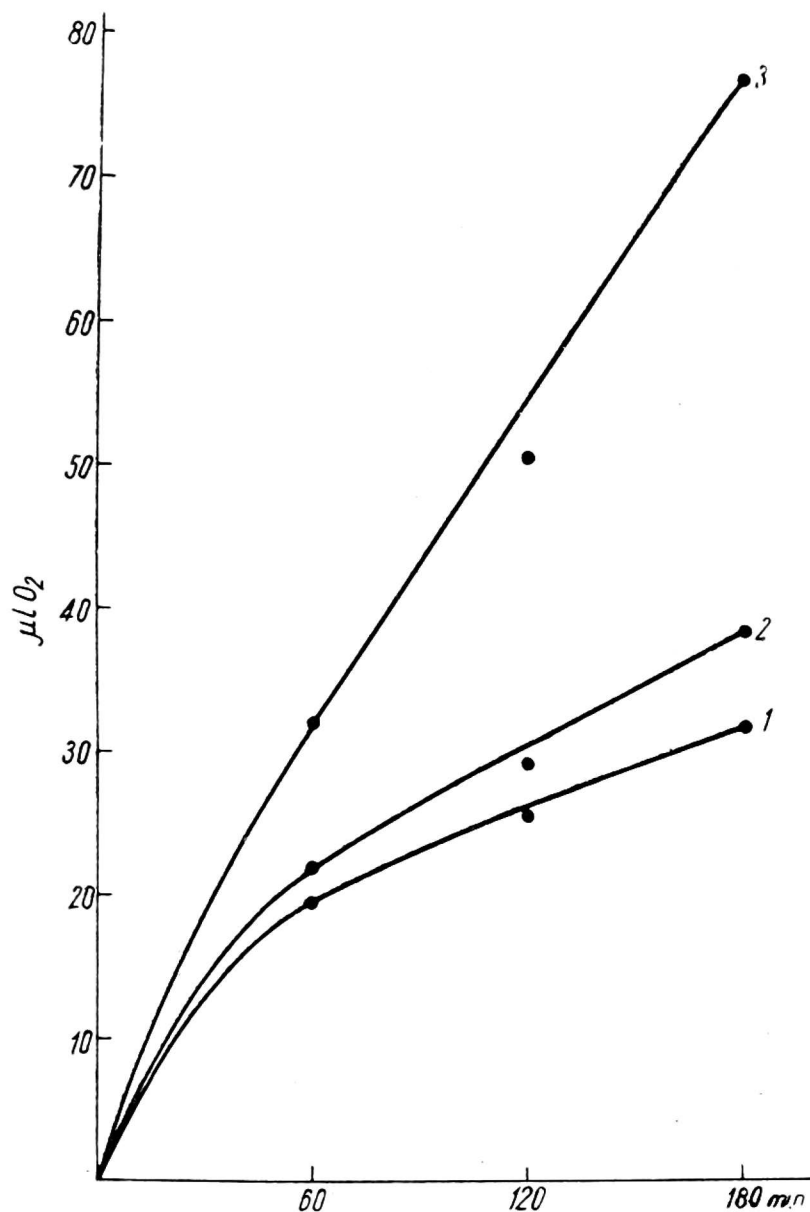
Porównanie wyników obu rodzajów doświadczeń wykazuje, że w obecności notatyny uwalnia się więcej glikozy niż przy jej braku. W przeliczeniu na 100 g mięśni w ciągu 1 godziny mięśnie A uwalniają w obecności notatyny 300  $\mu\text{M}$  glikozy, co odpowiada 48,6 mg rozłożonego do glikozy glikogenu, zaś mięśnie B — więcej, bo 500  $\mu\text{M}$  glikozy, odpowiadającym 81 mg glikogenu. Przy braku notatyny w analogicznych warunkach mięśnie mieszane uwalniają tylko 24  $\mu\text{M}$  glikozy, więc proces biegnie 10—20 razy wolniej. Zauważone różnice można tłumaczyć dwojako: po pierwsze, przy braku notatyny większość glikozy zostaje włączona w jakieś procesy przemiany materii, a po drugie, gromadząca się glikoza hamuje postęp rozkładu glikogenu, względnie produktów pośrednich.



Ryc. 1. Pojawienie się wolnej glikozy w wyciągu wodnym zwieraczy. Wynik został wyrażony w  $\mu\text{M}$  glikozy i przeliczony na 100 g mięśni.

Fig. 1. Appearance of free glucose in aqueous extracts of adductor muscles. The results have been calculated in  $\mu\text{M}$  of glucose and prorated for 100 g of muscle.

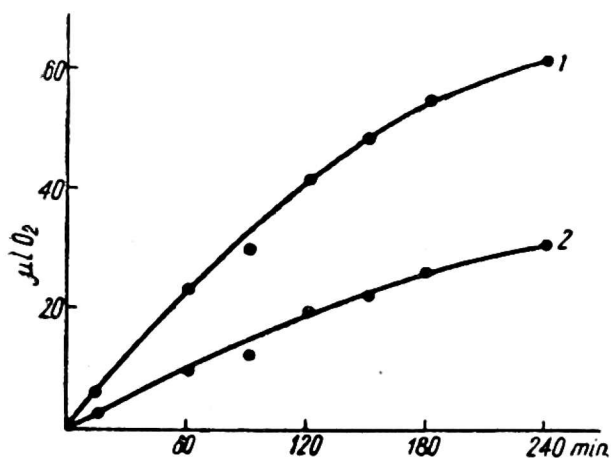
Celem upewnienia się, czy pojawiająca się w wyciągach glikoza pochodzi istotnie z rozkładu glikogenu wykonałem doświadczenie, w którym do wyciągu mięśniowego dodałem glikogenu skójkki. Jak widać to na ryc. 2 ilość uwolnionej glikozy wyraźnie się zwiększyła. Na tej samej rycinie daje się zauważyć przyrost glikozy w obecności NaCl, co świadczyłoby o aktywności amylazowej.



Ryc. 2. Pojawienie się glikozy w wyciągu zwieraczy w obecności notatyny po dodaniu NaCl i glikogenu skójkki. 1 — wyciąg kontrolny (0,9 ml + 0,1 ml wody); 2 — wyciąg po podaniu (0,9 ml wyciągu + 0,1 ml 10% NaCl); 3 — wyciąg (0,9 ml + 50 glikogenu).

Fig. 2. Appearance of glucose in aqueous extract of adductor muscles in the presence of notatin after addition of NaCl and muscles glycogen. 1 — control extract (0,9 ml + 0,1 ml of water); 2 — extract after addition (0,9 ml of extract + 0,1 ml 10% NaCl); 3 — extract (0,9 ml + 50 mg of glycogen).

Ponieważ pojawianie się wolnej glikozy mogłoby być niedość przekonującym dowodem na występowanie amylolizy, wykonałem doświadczenia oznaczania glikozy w obecności florydżyny, inhibitora fosforylazy (ryc. 3).

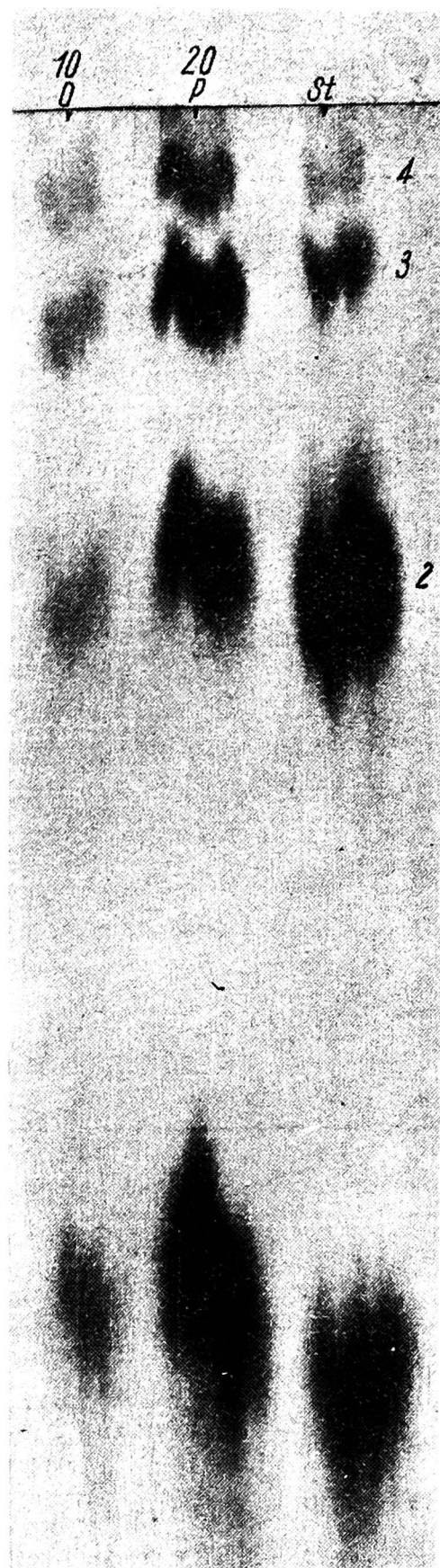


Ryc. 3. Wpływ florydżyny na pojawienie się glikozy w obecności notatiny. 1 — próba kontrolna, sam wyciąg; 2 — wyciąg z dodatkiem 0,1 ml nasyconego wodnego roztworu florydżyny.

Fig. 3. The effect of floridzin on appearance of glucose in the presence of notatin. 1 — control, extract alone; 2 — extract with added 0,1 ml of a saturated aqueous solution of floridzin.

Ryc. 4. Chromatografia produktów rozkładu glikogenu przez wyciągi wodne tylnych zwieraczy skójkii. O — wyciąg przed inkubacją; P — wyciąg po inkubacji; St — roztwór standardowy. 1 — glikoza; 2 — maltoza; 3 — maltotrioza; 4 — maltotetraza.

Fig. 4. Chromatography of the products of decompositions of glycogen by aqueous extracts of the posterior adductor muscles of swan mussel. O — extract before incubation; P — extract after incubation; St — standard solution; 1 — glucose; 2 — maltose; 3 — maltotriose; 4 — maltotetraose.



Wykres wykazuje, że wprawdzie dodanie florydżyny zmniejszyło ilość glikozy, nie mniej jednak tylko o połowę w stosunku do wyciągu inkubowanego bez florydżyny.

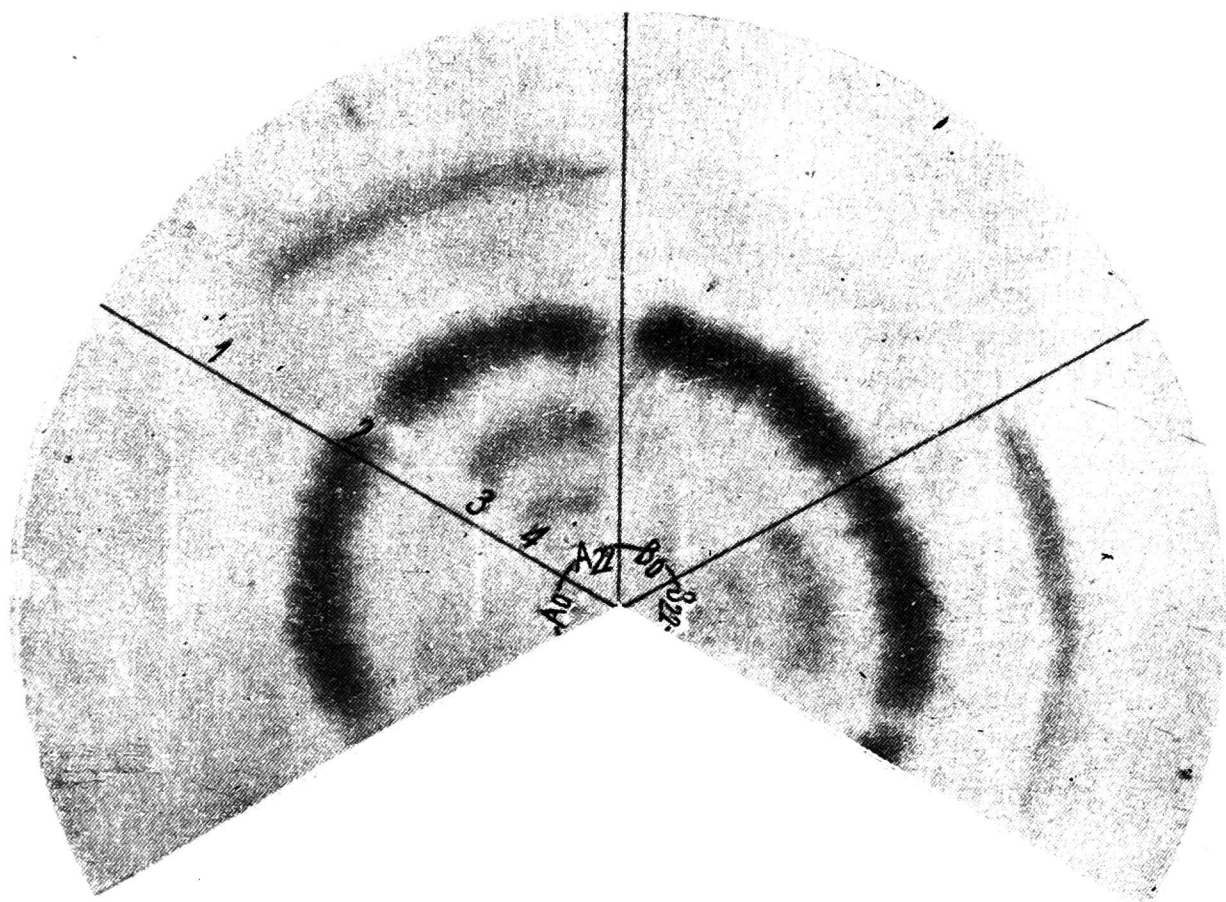
Ponieważ florydżyna zahamowała połowicznie proces zjawiania się glikozy, nasunęło się pytanie, czy glikoza nie pochodzi z rozpadu jakiegoś estru fosforowego. Możliwym źródłem mógłby być ester glukozo-1-fosfo-

rowy, lub glukozy-6-fosforowy. Jak wiadomo w mięśniach nie stwierdzono dotychczas występowania odpowiednich fosfataz, nie mniej jednak wykonałem oznaczenie aktywności fosfatazy glukozy-1-fosforanu i fosfatazy glukozy-6-fosforanu. Otrzymałem jednakże wyniki negatywne.

Po wyczerpaniu pośrednich dowodów występowania amylolyzy przeszedłem do chromatograficznej identyfikacji produktów enzymatycznych.

Wyniki przedstawia ryc. 4.

Wśród produktów rozpadu glikogenu stwierdziłem obecność glikozy, maltozy, maltotriozy i maltotetrozy, oraz obecność wyższych oligosacharydów pozostających w miejscu naniesienia.



Ryc. 5. Produkty transglukozydacji w wyciągach wodnych zwieraczy skójki. 1 — glukoza; 2 — maltoza; 3 — maltotrioza; 4 — maltotetroza.

Fig. 5. Products of transglucosidization in aqueous extracts of adductor muscles of swan mussels. 1 — glucose; 2 — maltose; 3 — maltotriose; 4 — maltotetraose

W wyciągach świeżych mięśni głównych produktem rozkładu glikogenu jest glukoza, w mniejszej ilości stwierdzić można obecność oligosacharydów. Na chromatogramach wyciągów mięśni odwodnionych acetonem w większym stopniu zaznaczają się oligosacharydy. Być może, że jest to następstwem inaktywacji niektórych enzymów rozkładających produkty pośrednie rozpadu glikogenu.

Wyniki przedstawione powyżej wykazują, że w mięśniach zwieraczy skójki obok fosforylizy biegnie proces hydrolitycznego rozpadu glikogenu.



Nasunęło się pytanie, czy proces hydrolitycznego rozpadu glikogenu w zwieraczach skóry jest procesem odwracalnym. W tym celu inkubowałem wyciągi wodne świeżych mięśni z maltozą i chromatograficznie rozdzielałem powstające produkty.

Jak widać to na ryc. 5, po inkubacji pojawiła się glikoza, maltotrioza i maltotetroza, oraz prawdopodobnie wyższe oligosacharydy, gdyż w miejscu naniesienia pozostały jeszcze jakieś cukry. Pojawienie się wymienionych związków świadczy o występowaniu transglikozydacji, w wyniku której przebiega synteza oligosacharydów oraz uwalnia się częściowo glikoza.

Przedstawione wyniki dowodzą występowania w zwieraczach skóry układu enzymatycznego prowadzącego nie-fosforolityczny rozkład glikogenu oraz syntezę polimerów glikozy drogą transglikozydacji. Wymienione procesy nie dają się wytłumaczyć aktywnością znanych w mięśni karbohydraz, jak enzymu rozbijającego wiązania 1 : 6 glikozydowe w glikogenu tzw. „debrancher factor” [22], lub syntetyzującego wiązania 1 : 6 glikozydowe z wiązań 1 : 4 glikozydowych tzw. „brancher factor” [12, 13, 23], gdyż wymienione enzymy działają wyłącznie w obecności fosforylasy [13]. Spełniają one tym samym jedynie pomocniczą rolę w syntezie i rozkładzie glikogenu, podczas gdy karbohydrazy zwieraczy odgrywają ważniejszą rolę w przemianie glikogenu.

Panu prof. dr T. Baranowskiemu, Kierownikowi Zakładu Chemii Fizjol. autor składa podziękowanie za cenne rady i wskazówki.

Pannie Jadwidze Mucha, asystentowi techn., autor dziękuje za pomoc w wykonywaniu analiz.

*С. Э. Карняк*

## ГИДРОЛИЗ И ТРАНСГЛЮКОЗИДАЦИЯ В МЫШЦАХ UNIO SP.

### *Содержание*

В водяных экстрактах замыкающих мышц *Unio sp.* обнаружено ферментативный гидролиз гликогена. Во время инкубации экстрактов появляются восстанавливающие вещества и свободная глюкоза, но не замечается исчезновение неорганического ортофосфата.

Хроматографическим методом были разделены продукты ферментативного гидролиза, среди которых обнаружено глюкозу, мальтозу, мальтотриозу, мальтотетрозу и высшие полимеры глюкозы.

Во время инкубации экстрактов с мальтозой обнаружено хроматографическим методом глюкозу и синтез мальтотриозы и мальтотетрозы.

Эти данные свидетельствуют о том, что в водяных экстрактах замыкающих мышц *Unio sp.* происходит гидролитическое разложение гликогена и синтез полимеров глюкозы из мальтозы путем трансглюкозидации.

St. E. Karpiak

## HYDROLYSIS OF GLYCOGEN AND TRANSGLUCOSIDATION IN MUSCLE OF UNIO SP.

*Summary*

In the water extracts of sphincter muscle of *Unio* sp. the enzymatic hydrolysis of glycogen has been found. During the incubation of muscle extracts the rise of level of reductable substances and free glucose is observed and measured quantitative. At the same conditions the inorganic orthophosphate does not disappear.

The products of glycogen hydrolysis were separated chromatographically and showed the presence of glucose, maltose, maltotriose, maltotetraose and higher polymers of glucose.

During the incubation of muscle extracts following sugars were formed from maltose; glucose, maltotriose and maltotetraose.

This facts indicate that water extracts of adductors are able to split the glycogen by hydrolysis and to synthesize the glucose polymers from maltose by transglucosidation.

## PIŚMIENNICTWO

1. Augustin Z.: *Z. Physiol. Chem.*, 1938, 255, 61.
2. Augustin Z.: *Acta biol. exper.*, 1938, XII, 45.
3. Augustin Z.: *Sprawozd. T-wa Nauk. we Lwowie*, 1938, 18, 95.
4. Bacon J. S. D., Edelman J.: *Bioch. J.*, 1951, 48, 114.
5. Bacon J. S. D., Clark Smith: *J. Physiol.*, 1951, 15.
6. Baranowski T., Mochnacka I.: *Acta Physiol. Pol.*, 1950, I, Suppl. 77.
7. Baranowski T.: *Postępy biochemii*, 1958, IV, 121.
8. Barbour A. D. J.: *J. Biol. Chem.*, 1930, 29, 1929.
9. Carruthers A., Wei Young Lee: *J. Biol. Chem.*, 1935, 105, 525.
10. Carruthers A. J.: *J. Biol. Chem.*, 1935, 105, 535.
11. Cori G. T., Closs J. O., Cori C. F.: *J. Biol. Chem.*, 1933, 103, 13.
12. Cori G. T., Cori C. F.: *J. Biol. Chem.*, 1943, 151, 57.
13. Cori G. T.: *Glycogen structure and enzyme storage disease deficiencies in glycogen*, Harvey lectures vol. XLVIII, 145. New York, 1954.
14. Edelman J.: *Adv. in enzymol.*, 1956, 17, 189.
15. Fiske C. H., Subbarow Y.: *Biol. Chem.*, 1925, 66, 375.
16. McGeachin R. L., Cleason J. R., Adams M. R.: *Arch. Bioch. Biophys.*, 1958, 75, 403.
17. Giri K. V., Venkataraman R., Narasimba Rao P. L.: *Arch. Bioch. Biophys.*, 1954, 51, 62.
18. Hehre E. J.: *Polysaccharide synthesis from disaccharides w: Colowick S. P., Kaplan N. O. — Methods in enzymology vol. I*, 183, New York, Academic Press., 1957.
19. Karpiak St. E.: *Arch. Immunol. Terap. Dośw.* 1959, 7, 505.
20. Karpiak St. E.: *Acta Physiol. Pol.* 1960, 11, 157.
21. King E. J.: *Microanalysis in medical biochemistry Ed. II*, London, 1951.
22. Kunitz M.: *Gen. Physiol.*, 1946, 29, 393.

23. Larner J.: J. Biol. Chem., 1953, 202, 491.
24. Lohmann K., Jendrassik L.: Bioch. Z., 1926, 178, 419.
25. Mejbaum W.: Sprawozd. Wrocław. T-wa Nauk., 1951, 6, dod. 5.
26. Miller K. D., Copeland W. H.: Bioch. Biophys. Acta, 1956, 22, 193.
27. Miller K. D., Copeland W. H.: J. Biol. Chem., 1958, 231, 997.
28. Mochnacka I.: Prace Wrocław. T-wa Nauk., 1953, ser. B. Nr 63.
29. Needham J., Lehman H.: Bioch. J. 1937, 31, 1210.
30. Parnas J. K., Baranowski T.: Comptes rend. d. soc. d. biol., 1935, 120, 307.
31. Pazur J. H., Tipton C. L., Budovich T., Morsh J. M.: J. Amer. Chem. Soc., 1958, 80, 119.
32. Pietrowa A. N., Lebediewa M. B.: Biochimia, 1950, 15, 277.
33. Power M. H., Clawson T. A.: J. Biol. Chem., 1928, 78.
34. Somogyi M.: J. Biol. Chem., 1937, 117, 771.
35. Swanson M. A.: Glucose-6-phosphates from liver. w: Colowick S. P., Kaplan N. O. — Methods in enzymology, vol. II, 541 Academic Press. New York, 1955.
36. Venner H., Herb W.: Z. physiol. Chem., 1957, 308, 398.
37. Walker G. J., Whelan W. J.: Nature, 1959, 183, 46.
38. Whistler R. L., Durso D. F.: J. Amer. Chem. Soc., 1950, 72, 677.
39. Wiesmayer A., Cohn M.: Feder Proc., 1957, 16, 270.
40. Winter L. B.: Bioch. J., 1937, 31, 236.

Otrzymano: 15. 5. 1959.