

農學博士滿田久輝君の「ビタミンB₂の生合成機構に関する研究と

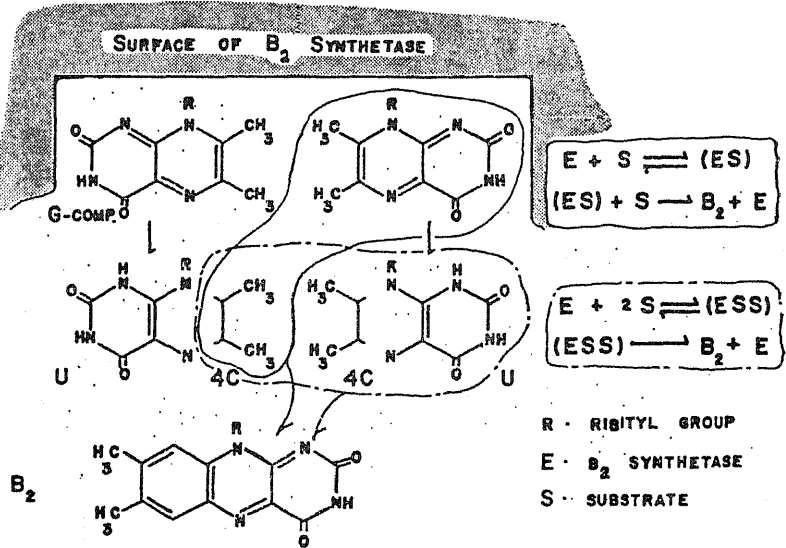
その応用」に対する授賞審査要旨

滿田久輝君は四〇年余に亘りビタミンB₁・B₂・Cおよび葉酸が如何にして生合成されるか、また、その存在意義は奈辺にあるかを植物自体の立場に立つて解明し、その間に見出した新事実について活用を計り、広く食糧・栄養學を通じて人類の福祉に貢献している。

特にビタミンB₂の生合成機構に関する研究としては、綠葉(ホウレンソウ)から綠色螢光物質 6. 7-dimethyl-8-ribityllumazine (G物質)を分離結晶化し(一九五八)、さらに紫色螢光物質(V物質)をも結晶化し 6-methyl-7-hydroxy-8-ribityllumazine と構造を決定した(一九六一)。そして綠葉についてG物質を前駆物質とするB₂生合成系の存在を初めて実証した(一九六一)。

その結論として次の三点に要約することができる。

- (一) Scheme 1 に示す如く B₂ synthetase により G 物質二モルから B₂ 一モルが生成され、B₂ の oxylene 部分は G 物質自身から供給され、四 C 化合物の添加を全く必要としない。この関係は精製純化した酵素においても不変である (Scheme 1 参照)。
- (二) V 物質は綠葉中に存在するフェノールの酸化によって生ずるキノンによる G 物質の脱水素的脱メチル化反応に

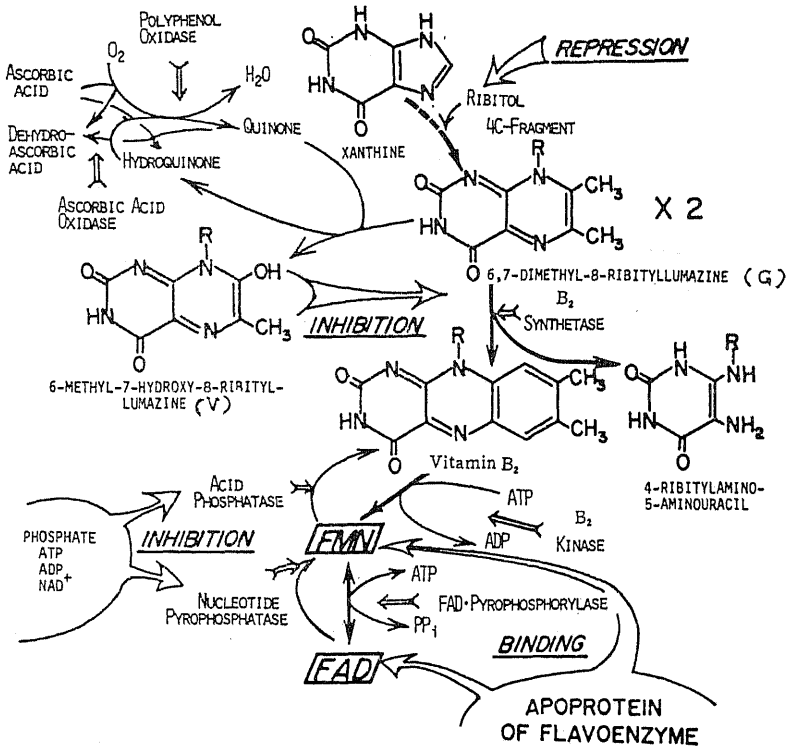


Scheme 1. Reaction with B₂ Synthetase.

よって生成するもの、phenol oxidase-O₂ の反応系と共役している。

(三) 嫌気状態ではV物質は生成せず、B₂のみが生成する。V物質がB₂ synthetaseの強力な阻害物質であることはB₂ 生合成系に重要な意義を有している。Flavin mononucleotide (FMN) はB₂ の adenosine triphosphate (ATP) より、リン酸化されて生成しB₂ kinaseが本反応を触媒している。一方緑葉ではFMNを水解しB₂を生成するacid phosphataseが共存している。in vitroでは、このphosphatase活性はB₂ kinase活性の約一〇〇〇倍にも達している。このため、本酵素のin vivoにおける実態を究明することは極めて重要である。

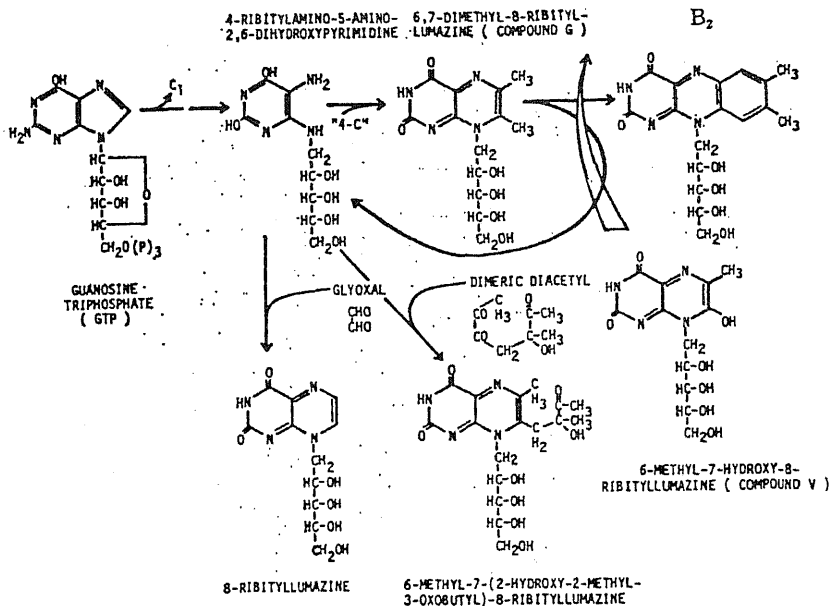
一九六五年満田君はATP, adenosine diphosphate (ADP), adenosine monophosphate (AMP) の合成



Scheme 2. Pathway and Regulating System in the Biosynthesis of B₂ and Related Compounds.

ヌクレオチドおよび無機リン酸が phosphatase の強力な阻害物質となる事実を発見した。この ATP の役割は FMN から Flavin adenine dinucleotide (FAD) への生合成および生分解にも適用されることを証明した (Scheme 2 参照)。

ATP が B₁ および B₂ の生理活性に果している役割はビタミン学の領域のみならず、生化学全般に亘り極めて意義深いことである。さらに高フラビン生産菌 *Eremothecium ashbyii* の休止菌体実験系 (B₂ の生合成は行なうが、タンパク質・核酸生合成は行なわない) を確立し、いかなる種類のプリン塩基が最も直接



Scheme 3. Proposed Pathway for Flavinogenesis.

的な前駆物質であるかを検索した結果、xanthine が最も有効であることを立証し、その [2-¹⁴C] xanthine, [2-¹⁴C] guanine を用いた休止菌体実験で guanosine triphosphate (GTP) からの込みが顕著であることを実証した。また glyoxal の添加による B_2 生合成の阻害に 8-ribityllumazine が蓄積する事実を見出し、G 物質直前の前駆物質を 8-ribityllumazine から glyoxal 部分を除いた 4-ribityl-amino-5-amino-2,6-dihydroxypyrimidine (RADP) と同定した。一方 dimeric diacetyl を trapping agent として休止菌体実験系を用いた物質で 6-methyl-7-(2-hydroxy-2-methyl-3-oxobutyl)-8-ribityllumazine の両緑色蛍光物質を菌体中に蓄積せしめた。生体内において B_2 synthetase 反応の副産物 RADP は B_2 生合成に再利用される。すなわち上記の副産物と物質直前の前駆物質が同一

であることを実証し、G 物質二モルから B₂ synthetase により B₂ 一モルが生成され、同時に生成する副産物 RADDP が B₂ 合成に再利用される事実を実証した。一方 *Asbya gossypii* の休止菌体を用いた実験によつて ethanol 存在下に特異的かつ顕著な B₂ 生産が行なわれる事実を見出し、[2-¹⁴C] ethanol を用いた実験でも明らかに B₂ 骨格中にとり込まれることも実証した。これを要するに xanthine から GTP を経て B₂, FMN, FAD の合成機構の全容を明らかにしている (Scheme 3 参照)。

以上のような基礎研究が応用研究に発展した実例の二、三を示すと次の如くである。

- (一) 生命を維持したまま穀類を長期間貯蔵させるためには、呼吸酵素系を抑制することが不可欠である。低水分、低温貯蔵はそのための必須条件の一つである。さらに呼吸酵素系を抑制できれば貯蔵性の向上が期待できる。満田君は冷血動物の冬眠中の呼吸に関する研究 (一九五六) からヒントを得て稲粃や穀類の休眠密着包装法を開発した (一九六九)。本法は強靱で湿気やガスの遮断性の優秀なプラスチック・フィルム袋に稲粃、穀類、豆類を入れ、袋内の空気を炭酸ガスで置換し、密閉後一定時間放置すると、穀粒中のタンパク質と炭酸ガスとの間に interaction がおこり袋内の空間体積は減少し、見掛け比重は最初の 〇・八〇〜〇・八五から 〇・九五〜一・〇〇の密着包装体となる。開封すると穀粒中に吸着していた炭酸ガスは同じ速度で可逆的に脱着する。稲粃は室温で普通貯蔵した場合は一年間で発芽力は無くなるのに較べ、本法で貯蔵した稲粃は室温で三年間貯蔵しても発芽力の低下はほとんど見られない。また本法で貯蔵した玄米、白米は湿気による品質劣化を完全に防止できる上、酸素の大部分が除去されているので、酸化作用による古米化はほとんどなく、コクゾウ虫や菌類

の繁殖も全くない。本法は食品衛生上も安全で経済的であるので、海外でも高く評価され、一九七四年には食糧・栄養学領域の世界最高賞である国際食品科学工学会賞インターナショナル賞が授賞されている。近年国内でも広汎に実施されるようになり、食糧貯蔵や流通機構の改善に寄与している。また、炭酸ガスとタンパク質との *interaction* に関する新事実の発見を動物にも応用し、呼吸酵素系を抑制し、代謝回転速度を低下せしめ、自己のエネルギーの損耗、含有成分の消費を防ぎ、動物性タンパク質の鮮度保持に有効であることを立証している。活魚の炭酸ガスと酸素の混合ガスによる休眠法の開発はその一例である（一九七九）。

(二) またビタミンB₁強化米を創製し（一九五二）、今日まで二七年の永きに亘り国民保健に貢献しているほか、ビタミンCの強力な還元力を利用してビールの混濁を防止する方法を提案し（一九五五）、日本および韓国のビール業界に利用されている。

(三) これらの広汎な基礎および応用研究の業績に対し第一回科学技術庁長官賞（一九五九）、日本栄養食糧学会賞（一九六二）、日本ビタミン学会賞（一九六三）、その他国際食品科学工学会賞（バブコック・ハート賞）（一九七二）などが授賞されている。その他、世界各地シカゴ（一九七〇）、マドリッド（一九七四）等の国際会議でも招待講演を行ない、第一〇回国際栄養学会議副会長・組織委員長（京都一九七五）、第五回国際食品科学工学会議会長（京都一九七八）などをも務め、食糧・栄養科学発展のために今日もなお活躍している。

一、主要な論文目録

(一) ビタミンB₂に関する研究

- 1) Mitsuda, H., Kawai, F. and Morioka, S.: Biogenesis of Riboflavin in Green Leaves. 1. Confirmation of Enzymatic Reaction for Synthesis of Riboflavin from 6, 7-Dimethyl-8-ribityllumazine. *The Journal of Vitaminology*, **7**, 128-136 (1961)
- 2) Mitsuda, H., Kawai, F., Suzuki, Y. and Nakayama, Y.: Biogenesis of Riboflavin in Green Leaves. 2. Enzymatic Formation of 6-Methyl-8-ribityl-2, 4, 7-trioxohexahydropteridine from 6, 7-Dimethyl-8-ribityllumazine. *The Journal of Vitaminology*, **7**, 243-246 (1961)
- 3) Mitsuda, H., Kawai, F., Suzuki, Y. and Nakayama, Y.: Biogenesis of Riboflavin in Green Leaves. 3. On Enzymatic Conversion of 6, 7-Dimethyl-8-ribityllumazine to Riboflavin and 6-Methyl-8-ribityl-2, 4, 7-trioxohexahydropteridine. *The Journal of Vitaminology*, **7**, 247-255 (1961)
- 4) Mitsuda, H., Kawai, F., Suzuki, Y. and Satani, E.: Biogenesis of Riboflavin in Green Leaves. 4. Enzymatic Formation of Riboflavin and Complete Inhibition of Enzymatic Formation of 6-Methyl-8-ribityl-2, 4, 7-trioxohexahydropteridine from 6, 7-Dimethyl-8-ribityllumazine Under Anaerobic Condition. *The Journal of Vitaminology*, **8**, 178-184 (1962)
- 5) Mitsuda, H., Suzuki, Y. and Kawai, F.: Biogenesis of Riboflavin in Green Leaves. 5. Absence of the Effect of Cysteine and Ascorbic Acid on the Enzymatic Conversion of 6, 7-Dimethyl-8-ribityllumazine to Riboflavin Under Anaerobic Condition. *The Journal of Vitaminology*, **9**, 121-124 (1963)
- 6) Mitsuda, H., Suzuki, Y. and Kawai, F.: Biogenesis of Riboflavin in Green Leaves. 6. Non-enzymatic Production of 6-Methyl-7-hydroxy-8-ribityllumazine from New Organic Reaction of 6, 7-Dimethyl-8-ribityllumazine with p-Quinone. *The Journal of Vitaminology*, **9**, 125-135 (1963)
- 7) Mitsuda, H., Kawai, F., Nakayama, Y. and Tomozawa, Y.: Studies on Plant Flavokinase. 1. Occurrence of Flavokinase in Green Leaves. *The Journal of Vitaminology*, **9**, 136-141 (1963)

- 8) Mitsuda, H., Tomozawa, Y. and Kawai, F.: Studies on Plant Flavokinase. 2. The Purification and Some Properties of Bean Flavokinase. *The Journal of Vitaminology*, **9**, 142-148 (1963)
- 9) Mitsuda, H., Tomozawa, Y., Tsuboi, T. and Kawai, F.: Levels of Enzymes for Biosynthesis and Degradation of Flavins in Spinachs. *The Journal of Vitaminology*, **11**, 20-29 (1965)
- 10) Mitsuda, H.: Factors Affecting Levels on the Flavin Coenzymes in Higher Plants. *Proceedings of the Japan Academy*, **42**, 940-945 (1966)
- 11) Mitsuda, H., Tsuge, H., Tomozawa, Y. and Kawai, F.: On the Enzymatic Hydrolysis of FAD in Spinach Leaves. *The Journal of Vitaminology*, **16**, 31-38 (1970)
- 12) Mitsuda, H., Tsuge, H., Tomozawa, Y. and Kawai, F.: Multiplicity of Acid Phosphatase Catalyzing FMN Hydrolysis in Spinach Leaves. *The Journal of Vitaminology*, **16**, 52-57 (1970)
- 13) Mitsuda, H., Tsuge, H. and Kawai, F.: Preparation and Properties of Crystalline Riboflavin-Tryptophan Complex. *The Journal of Vitaminology*, **16**, 219-224 (1970)
- 14) Mitsuda, H. and Suzuki, Y.: Effects of 8-Azaguanine, Chloramphenicol and 3-Amino-1, 2, 4-triazole on Riboflavin Formation by *Eremothecium ashbyii*. *The Journal of Vitaminology*, **16**, 172-179 (1970)
- 15) Mitsuda, H., Kawai, F., Suzuki, Y. and Yoshimoto, S.: Biogenesis of Riboflavin in Green Leaves. 7. Isolation and Characterization of Spinach Riboflavin Synthetase. *The Journal of Vitaminology*, **16**, 285-292 (1970)
- 16) Suzuki, Y. and Mitsuda, H.: A Second-order Kinetic Reaction Catalyzed by Riboflavin Synthetase from a High-riboflavinogenic *Eremothecium ashbyii*. *Biochimica et Biophysica Acta*, **242**, 500-503 (1971)
- 17) Mitsuda, H. and Nakajima, K.: Development of Specific Experimental Systems for Flavino-

- genesis Using Non-growing Cell of *Eremothecium ashbyii*. The Journal of Vitaminology, 18, 131-136 (1972)
- 18) Mitsuda, H. and Nakajima, K.: Stimulatory Effects of Purines on Flavinnogenesis by Non-growing Cell of *Eremothecium ashbyii*. The Journal of Vitaminology, 18, 137-147 (1972)
- 19) Tsuge, H. and Mitsuda, H.: Studies of the Molecular Complex of Flavins. IV. Activity and FAD-fluorescence Change Caused by the Chemical Modification of Tryptophyl and Tyrosyl Residues in Glucose Oxidase. Journal of Biochemistry, 73, 199-206 (1973)
- 20) Mitsuda, H., Suzuki, Y., Kawai, F. and Nakajima, K.: Fluctuation of the Nucleotide Pools of Flavinnogenic and Nonflavinnogenic Strains of *Eremothecium ashbyii* Grown in the Presence of Purines. Journal of Nutritional Science and Vitaminology, 19, 29-42 (1973)
- 21) Mitsuda, H. and Nakajima, K.: Effects of 8-Azaguanine on Riboflavin Production and on the Nucleotide Pools in Non-growing Cells of *Eremothecium ashbyii*. Journal of Nutritional Science and Vitaminology, 19, 215-227 (1973)
- 22) Tsuge, H. and Mitsuda, H.: Studies on the Molecular Complex of Flavins. V. Possible Role of Free Sulfhydryl Group in Apoprotein of Glucose Oxidase and 6-Amino Group in Adenine Moiety of FAD. Journal of Biochemistry, 75, 399-406 (1974)
- 23) Mitsuda, H. and Nakajima, K.: Guanosine Nucleotide Precursor for Flavinnogenesis of *Eremothecium ashbyii*. Journal of Nutritional Science and Vitaminology, 21, 331-345 (1975)
- 24) Mitsuda, H., Nishikawa, Y. and Nakajima, K.: Formation of Guanine Ribonucleotidyl-(3'-5')-adenosine in a Flavinnogenic Strain of *Eremothecium ashbyii*. Journal of Nutritional Science and Vitaminology, 22, 115-133 (1976)
- 25) Mitsuda, H. and Nakajima, K.: Isolation of 4-Ribitylamino-5-amino-2, 6-dihydrooxypyrimidine

- from a High Flavinogenic Mold *Eremothecium ashbyii*. Journal of Nutritional Science and Vitaminology, **22**, 307-312 (1976)
- 26) Mitsuda, H., Nadamoto, T. and Nakajima, K.: Reutilization of By-product for Riboflavin Formation in the Riboflavin Synthetase Reaction. Journal of Nutritional Science and Vitaminology, **22**, 67-70 (1976)
- 27) Mitsuda, H., Nadamoto, T. and Nakajima, K.: Identification of the Second Product of the Riboflavin Synthetase Reaction. Journal of Nutritional Science and Vitaminology, **22**, 381-387 (1976)
- 28) Mitsuda, H., Nakajima, K. and Nadamoto, T.: Nucleotide Precursor in Riboflavin Biosynthesis. Journal of Nutritional Science and Vitaminology, **22**, 477-480 (1976)
- 29) Mitsuda, H., Nakajima, K. and Nadamoto, T.: The Immediate Nucleotide Precursor, Guanosine Triphosphate, in the Riboflavin Biosynthetic Pathway. Journal of Nutritional Science and Vitaminology, **23**, 23-34 (1977)
- 30) Mitsuda, H., Nadamoto, T. and Nakajima, K.: The Relation between Purine Metabolism and Flavinogenesis in *Eremothecium ashbyii*. The Identification of S-Adenosylmethionine and S-Adenosylhomocysteine Accumulated in Non-growing Cells of *E. ashbyii*. Journal of Nutritional Science and Vitaminology, **23**, 71-79 (1977)
- 31) Mitsuda, H., Nakajima, K. and Yamada, Y.: Formation of 4-Ribityl-amino-5-amino-2, 6-dihydroxypyrimidine in an Adenine-Riboflavin Doubleless Mutant of *Bacillus subtilis*. Journal of Nutritional Science and Vitaminology, **23**, 161-164 (1977)
- 32) Mitsuda, H., Nakajima, K. and Yamada, Y.: Studies on the Intermediates in the Biosynthetic Pathway of Riboflavin. 1. Identification of a Green Fluorescent Compound, Compound G₁, Ac-

- cumulated in Nongrowing Cells of *Eremothecium ashbyii* by the Addition of Dimeric Diacetyl. Journal of Nutritional Science and Vitaminology, **23**, 305-318 (1977)
- 33) Mitsuda, H., Nishikawa, Y. and Nakajima, K.: Relationship between Accumulation of Guanine Ribonucleotidyl-(3'-5')-adenosine and Formation of Riboflavin. Journal of Nutritional Science and Vitaminology, **23**, 403-412 (1977)
- 34) Mitsuda, H., Nakajima, K. and Yamada, Y.: Examination of the Structure of an Unknown Green Fluorescent Compound, Compound G₃, Accumulated in Non-growing Cells of *Eremothecium ashbyii* by the Addition of Dimeric Diacetyl. Journal of Nutritional Science and Vitaminology, **23**, 413-422 (1977)
- 35) Mitsuda, H., Nakajima, K. and Nishikawa, Y.: Relation between Sugar Metabolism and Riboflavin Formation in Non-growing Cells of *Eremothecium ashbyii*. Journal of Nutritional Science and Vitaminology, **2**, 35-46 (1978)
- 36) Mitsuda, H., Nakajima, K. and Ikeda, Y.: Effects of Various Metabolites (Sugars, Carboxilic Acids and Alcohols) on Riboflavin Formation in Non-growing Cells of *Ashbya gossypii*. Journal of Nutritional Science and Vitaminology, **24**, 91-103 (1978)
- 37) Mitsuda, H., Nakajima, K. and Yamada, Y.: Isolation and Identification of Green Fluorescent Compounds Accumulated in Non-growing Cells of *Eremothecium ashbyii* by the Addition of Glyoxal. Journal of Nutritional Science and Vitaminology, **24**, 113-122 (1978)
- 38) Mitsuda, H., Nakajima, K. and Yamada, Y.: Isolation of 4-(1'-D-Ribitylamino)-5-amino-2,6-dihydroxypyrimidine from a Riboflavin-Adenine-deficient Mutant of *Bacillus subtilis*. The Journal of Biological Chemistry, **253**, 2238-2243 (1978)

(一) 関係論文

- 1) Mitsuda, H.: Information on Vitamin C. Bulletin of the Institute for Chemical Research, Kyoto University, 32, 1-7 (1954)
- 2) Mitsuda, H.: Enrichment of Rice by Soaking Method. Proceedings of the First International Congress of Food Science and Technology, Volume II, 521-528 (1965)
- 3) Mitsuda, H., Kuga, M., Yamamoto, A. and Kawai, F.: Skin-Packaging and Preservation of Grain and Foods by Carbon Dioxide Exchange Method (CEM). Proceedings of the Fourth International Congress of Food Science and Technology, Volume IV, 100-114 (1974)

外一〇件

(二) その他の研究発表論文 一八九件

(四) 著書類 一五件