

生化学史における高木兼寛の位置

—— 酵素学とビタミン学の劇的な出会いと 近代生化学の成立・発展 ——

生命とはなにか という問いは、人間が永久にもち続ける疑問であろう。

これをどのようにとらえるかはまったく自由であるが、生化学では従来、生命のとらえ方として、それを実体的なものとしてではなく、むしろ一つの状態としてとらえるならわしがある。“河の流れ”のように動的な「状態そのもの」として生命をとらえようとするのである。「ゆく河の流れは絶えずして、しかももとの水にあらず、…かつ消え、かつ結びて、久しくとどまりたるためしなし」(方丈記)のその流れである。

生化学では、いままでに二つの主要な流れを明らかにしてきた。一つは、食物をとり、これを分解し、エネルギーを獲得するという「エネルギーの流れ」とでもいえるものである。糖質代謝、脂質代謝、蛋白質代謝という従来の生化学の主要な内容はみな、このエネルギーの流れの具体例である。その研究の源流は、あとで詳述するようにブッフナーが「細胞なしの発酵」を発見した時、つまり1897年に始まるといってよいであろう。

もう一つの流れは「情報の流れ」とでもよぶべきものである。DNAの情報がRNAに転写され、RNAの情報が蛋白質に翻訳されるというときのその流れである。エーヴェリ(Avery)らが遺伝情報の本体がDNAであることを発見し(1944)、ワトソン(Watson)らがDNAの構造とその複製理論を展開し(1953)、さらにニールンバーグ(Nirenberg)らがその塩基配列と各アミノ酸の対応関係を明らかにしたとき(1961)、この「情報の流れ」の大綱はできあがったといってよいであろう(情報の流れには、遺伝のように世代を越えて流れるものもある)。

生命は、よく蠟燭の炎にたとえられる。そこには激しい物質(蠟)の化学

変化がありながら、外観は平穏な一定の形を保っている。激しい変化は「エネルギーの流れ」であり、一定の形は「情報の流れ」の制御によると考えてよいであろう*。

本小論で述べることは、生化学の中心をなすその「エネルギーの流れ」の研究史に関するものであり、ブッフナーにはじまる酵素学と高木兼寛にはじまるビタミン学の歴史的な出会いをその中心に据えるものである。

1. ブッフナーにはじまる酵素学の道 ——細胞なしの発酵——

発酵とくにアルコール発酵は、人類がアルコールの生産のために先史時代から利用してきた自然現象である。アルコールを醸造するとき、炭酸ガスの泡をさかんに放出して沸騰しているようにみえるので、沸騰する (fervere) から発酵 (fermentation) と名づけられたという。

発酵の原因が酵母菌、つまり生長と増殖を行うことのできる微生物にあると考えたのはパストゥール (Louis Pasteur, 1822-1895) であった (1860)¹⁾。彼は発酵が物質 (触媒) による反応ではなく、生きている微生物そのものによっておこる現象であり、“生命なしに発酵はない。細胞なしに発酵はない”を主張しつづけた。

しかしパストゥールが亡くなると間もなく、チュービンゲンのブッフナー (Eduard Buchner, 1860-1917) は、酵母菌から発酵のできる無細胞抽出液 (つまり細胞をまったく含まない抽出物) を得ることに成功した (1897)²⁾。彼はそのころ兄のハンス (Hans Buchner, 1850-1902) と一緒に、病気の治療の目的で酵母の抽出物を得ようとしていた。方法は、酵母を砂と一緒にすりつ

* この情報の流れの下流には、神経伝達による情報の流れやホルモンによる情報の流れがある。いずれも化学構造の認識による伝達である (その意味では酵素反応の酵素・基質の間にも化学構造の認識による情報の流れがあると考えてよい)。情報はまたすべてエネルギーの変形であるともいわれる。しかし、これらの問題については、これ以上ここでは論及しないことにする。

ぶし(細胞を壊し), けいそう土を加えて, 压榨機で液体を搾り出すというものであった。得られた液体は, 腐敗させないために(普通の防腐剤は毒性が強くて臨床に使えないため, ジャムを作るときの保存法にしたがって)砂糖をくわえて微生物の増殖を防ぐことにした。ところが驚いたことに, こうして作った溶液が砂糖を激しく発酵したのである。

ブッフナー兄弟はこうして, “アルコール発酵を起こすには酵母細胞のような複雑な装置を必要とせず, 酵母汁つまり酵母細胞から溶け出した物質で十分である”という結論をだしたのであった(つまり“細胞なしの発酵”をはじめて証明したのである)。パストゥールの支持者たちにとってはこれは驚くべきことで, おそらく今日なら脳の無細胞抽出液がものを“憶えた”とか“考えた”とかいった事件に遭遇したようなものであったであろう。

酵素学, 代謝学, つまり生化学の源流はこのようなにはじまったのである。そしてこの流れはみるみるうちに急流となり, 大河となり, そして現在まで続くのである。ブッフナーは, 単純にこの“溶け出した物質”は単一な物質であろうと考えてチマーゼ(zymase)という名称をあたえた(今日からみれば, このチマーゼなる物質はいうまでもなく数多くの酵素, 補酵素の混合物である)。

リン酸と補酵素の関与

英国リスター研究所のハーデン(Arthur Harden, 1865-1940)とヤング(William John Young, 1878-1942)は, 1905年ころ二つの重要な発見をした³⁾。第一の発見は発酵にリン酸が深く関わっていることであった。酵母抽出



ブッフナー (1860-1917)

ドイツ, ミュンヘンに生まれる。ミュンヘン大学で有機化学を学ぶ。1897年, 酵母から発酵素を抽出することに成功, 生化学に新紀元を画す。この成功は現代分子生物学の原点であるとされる。1907年, ノーベル化学賞を受賞する。

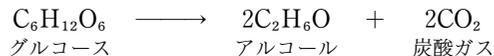
液による発酵の特徴はそれが長く持続しないことであつた。糖を加えると、はじめは活発に泡立つが、まもなく衰え、停止してしまうのである。ところが停止したこの段階で、無機リン酸を加えるとふたたび活性をよび起こし、激しく発酵しだすのである。

発酵が衰弱、停止するのは、その間に無機リン酸が有機リン酸に変わり、無機リン酸が欠乏するためであることが分かった。蓄積する有機リン酸化合物の一つはフルクトース 1, 6-ニリン酸であつた。彼らはこのフルクトース 1, 6-ニリン酸の他に、少量のグルコース 6-リン酸とフルクトース 6-リン酸も確認した(ハーデンらのこの業績はリン酸が生化学で注目される始まりであり、これによってハーデンは 1929 年のノーベル化学賞を受賞した)。

第二の発見は、酵母抽出液の中に補酵素 (coenzyme) なるものが存在することであつた。抽出液を限外濾過して濾液と残留物に分けると、そのいずれにグルコースをくわえても発酵は起こらないのに、これら二つを一緒にしてグルコースをくわえるとさかんに発酵するのである(抽出液の煮沸物や透析外液にもこの限外濾液と同じ効果があることが分かった)。彼らはこうして、発酵がおこるためには高分子の残留物(酵素蛋白)の他に、熱によって破壊されない透析性の低分子の物質、つまり補酵素が必要であることを確認した。

ノイベルクによる発酵経路

研究の焦点は、糖から出発してアルコールと炭酸ガスになるまでの中間段階に向けられた。アルコール発酵の収支は一応



となるが、これはけっして単一の反応ではなく多くの反応の連鎖であることは十分予想された。この連鎖の研究にはじめて歩を進めたのは、ドイツのカイザー・ウィルヘルム研究所のノイベルク (Carl Alexander Neuberg, 1877-1956) であつた。彼はすでに、ピルビン酸を脱炭酸してアセトアルデヒドにする酵素(ピルビン酸脱炭酸酵素)を発見していたが(1911)、これを基礎に

1920年頃、永山武美(1885-1977, 慈恵医大名誉教授, 第三代学長)は、このカイザー・ウィルヘルム研究所のノイベルクに師事していた。ノイベルク学説の全盛時代であった。永山は、多くの黴類のなかにピルビン酸脱炭酸反応が共通して存在すること、さらに黴の種類を問わずこの反応によるピルビン酸からのアセトアルデヒドの産生収率はきわめて良好であることを明らかにした⁵⁾。この研究によってピルビン酸の脱炭酸反応はすべての生物に共通な主要な代謝路であることが明らかになった。

2. 酵母と筋肉における糖代謝過程の類似性

ノイベルク一派によるアルコール発酵の中間段階の研究が進む一方、動物組織における糖の嫌氣的(無酸素的)分解の研究が進められていた。はじめ、動物組織による糖成分・グリコーゲン(グルコースの重合物)の消失することを解糖とよんでいたが、普通は糖から嫌氣的に生ずるのは乳酸であるので、後には「糖から嫌氣的に乳酸を生成する過程」を解糖とよぶようになった。

1920年以降の研究によって、解糖とアルコール発酵とは本質的に共通な代謝過程であることが次々と明らかになり、両者の研究はその後協力しながら発展することになった。

ピルビン酸までの代謝過程——中間代謝のリン酸化合物——

ノイベルクと同じカイザー・ウィルヘルム研究所のマイヤーホフ(Otto Meyerhof, 1884-1951)は、すでに発酵、解糖両過程におけるリン酸の重要性を認めていた(1926)⁶⁾。彼は、グリコーゲンに筋肉のしぼり汁(抽出液)を加えると乳酸に変わること、そしてリン酸を加えるとさらに激しく乳酸生成を続けることを観察していた。これはとりもなおさず、ブッフナーの酵母抽出液での実験を筋肉で確立したことであり、画期的な出来事であった。以後この方法で、グリコーゲン→乳酸という解糖系の代謝過程がつつぎと明らかになっていった。



エムデン (1874-1933)



マイヤーホフ (1884-1951)

エムデン。ドイツ、ハンブルグ生まれ。ミュンヘン大学などで医学を学び、のちホーフマイターに師事した。フランクフルト大学に移り、そこで筋肉の糖代謝を研究。ナチスのユダヤ人弾圧のため、傷心のうちに急死。ノーベル賞最有力候補者であったため、数年生き長らえたら必ず受賞したといわれる。

マイヤーホフ。ドイツ、ハノーバーの生まれ。ハイデルベルグ大学などで医学を学んだのち、キール大学でヒルと一緒に筋収縮と乳酸生成の研究を行う。ナチスのユダヤ人弾圧のためフランスに亡命、さらにアメリカに渡った(1940)。論敵、ノイベルグもニューヨークに逃げていた。弟子のリップマンやオチョアやナッツハマンゾーンもこぞってアメリカに渡った。1922年、ノーベル医学生理学賞をヒルと一緒に受賞した。

まずマイヤーホフは、抽出液の中にグルコースをグルコース 6-リン酸に変える酵素(ヘキソキナーゼ)が存在することを発見し⁷⁾、さらにフランクフルト大学のエムデン(Gustav Emden, 1874-1933)らは、筋抽出液がこのグルコース 6-リン酸をフルクトース 6-リン酸とフルクトース 1, 6-二リン酸に変えることを見いだした⁸⁾。こうして1930年までに、グルコースはまずグルコース 6-リン酸、フルクトース 6-リン酸になり、続いてフルクトース 1, 6-二リン酸に変化することが明らかになった。

エムデン一門はさらに、フルクトース 1, 6-二リン酸が炭素 3 化合物、つまりグリセルアルデヒド 3-リン酸とジヒドロキシアセトンリン酸に分解すること、そしてこれに続く両物質の共役的酸化還元を仮定してホスホグリセリン酸とグリセロリン酸に変化すること、さらにホスホグリセリン酸はピルビ

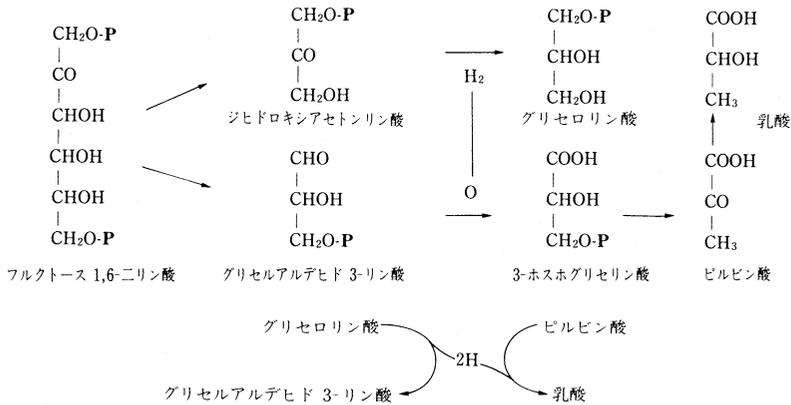


図1. エムデンが提出した解糖経路

ン酸に分解していくことを提案した (1933, 図1. 上). また解糖の終産物・乳酸はピルビン酸の還元で生成するが, この還元はグリセロリン酸のグリセルアルデヒド 3-リン酸への酸化と共役しているのではないかと仮想した (図1. 下).

一方, マイヤーホフらは, 先にピルビン酸を乳酸に還元する酵素 (乳酸脱水素酵素) を発見していたが (1912), 続いてジヒドロキシアセトンリン酸をグリセルアルデヒド 3-リン酸に変える酵素 (トリオースイソメラーゼ) を発見した (1935). そしてこれらを基礎にして彼らは, ピルビン酸を乳酸に還元する (アルコール発酵ではアセトアルデヒドをエチルアルコールに還元する) 共役系は, エムデンらが主張したグリセロリン酸の酸化ではなく, むしろグリセルアルデヒド 3-リン酸の酸化であろうと考えた⁹⁾. すなわち



こうして, エムデンとマイヤーホフらの研究が主になって, ノイベルグに

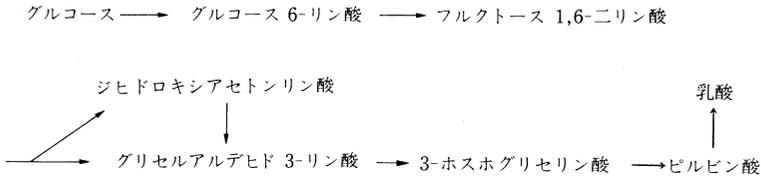


図2. エムデン・マイヤーホフ・パルナスの解糖経路

代わる新しい経路図(図2)が確立された。これが今日知られているエムデン・マイヤーホフ経路(あるいはグリコーゲン分解についてのパルナスの貢献を評価してエムデン・マイヤーホフ・パルナス経路)の原型である。

酸化還元の問題——補酵素の構造と働き——

ハーデンらによって発見された補酵素は、ストックホルムのオイラー(Hans Karl August von Euler-Chelpin, 1873-1964)らによって純化されていた。彼らは、この純化した補酵素がアルデヒド脱水素酵素の必須な補助因子であることを明らかにし、さらにその分子構造の解明に向かった。

一方、カイザー・ウィルヘルム研究所のワールブルグ(Otto Warburg, 1883-1970)らも脱水素酵素の補酵素を精製していた。そしてこの物質が1分子のニコチン酸アミドと1分子のアデニン、2分子のリボース、3分子のリン酸からなることを明らかにした。そして脱水素酵素の作用で基質から脱離した水素原子2個を結合するのは、そのニコチン酸アミド部位であることも証明した(1935/6)¹⁰⁾。オイラーらの純化したものは、ワールブルグらのものよりリン酸が1分子少ないだけで、その他の点ではまったく異なるところはない(1936)¹¹⁾。

解糖(ないし発酵)において、グリセルアルデヒド3-リン酸とピルビン酸(ないしアセトアルデヒド)のあいだで酸化還元がおこるが、このとき(グリセルアルデヒド3-リン酸脱水素酵素と乳酸脱水素酵素(ないしアルコール脱水素酵素)の存在のもとに)一方の物質から他方の物質へ水素原子を運ぶのはオイラーの補酵素の役割であった。現在、オイラーの補酵素はNAD(ニコチン酸

アミド・アデニン・ジヌクレオチド), ワールブルグのそれは NADP (ニコチン酸アミド・アデニン・ジヌクレオチドリン酸) とよばれている (図 3). また水素を結合したかたち (還元型) はそれぞれ NADH_2 , NADPH_2 であらわされた (これらの研究でオイラーは 1929 年のノーベル化学賞を, ワールブルグは 1931 年のノーベル医学生理学賞を受賞した).

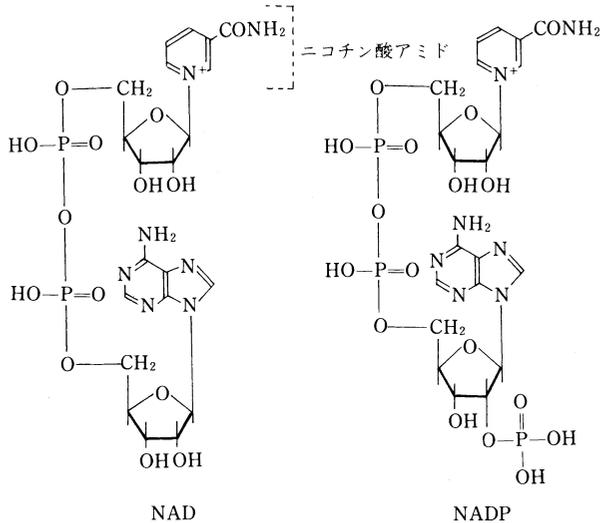


図 3. 補酵素 NAD, NADP の化学構造

代謝とエネルギーの流れ

—— アデノシン三リン酸 (ATP) の存在とその構造 ——

ハーバード大学のフィスケ (Cyrus Hartwell Fiske, 1890-1978) とサブロウ (Yellapragada Subbarow, 1896-1948) は, 筋抽出液からアデニンを含まないリン酸化合物を単離した. 分析の結果は, その物質がアデニン 1 分子, リボース 1 分子, リン酸 3 分子からなることを示した (1929)¹²⁾. 一方, マイヤーホフ研究室のローマン (Karl Lohmann, 1898-1978) らも, 筋肉から熱

に分解されやすいリン酸化合物を単離した。そしてそれはピロリン酸を結合したアデニル酸、つまりアデノシン三リン酸（おそらくフィスケ・サバロウのと同じ物質）であろうと考えた（1929）¹³⁾。

ピロリン酸の結合位置についてはフィスケもローマンも言及しなかったため、このアデノシン三リン酸の構造はしばらく不明のままであった。その結合位置を決定し、現在のアデノシン三リン酸 (ATP) の構造式 (図 4 (III)) を提出したのは、大連病院の牧野堅（1908-1990, のち慈恵医大名誉教授）とローマンであった（1935）¹⁴⁾¹⁵⁾。それまでは (I), (II) のような構造式が提出されていた。

この二人、牧野とローマンの論文は、ドイツの同じ生化学雑誌に掲載されたが、牧野の論文の受付日（1935年3月14日）の方が、ローマンのそれ（同年9月14日）より半年早かった。しかし現在、ATPの構造を決定したのはローマンであると一般にいわれている（それはおそらく、ローマンが世界の生化学の中心であったドイツ学派に属し、そのことが有利にはたらいたためと思われる）。ATPの構造決定に貢献した牧野の名誉は、現在、丸山工作（千葉大学教授）、カルカー（Herman Kalckar, ボストン大学教授）、フルトン（Joseph Fruton, エール大学教授）らによって回復されつつある。

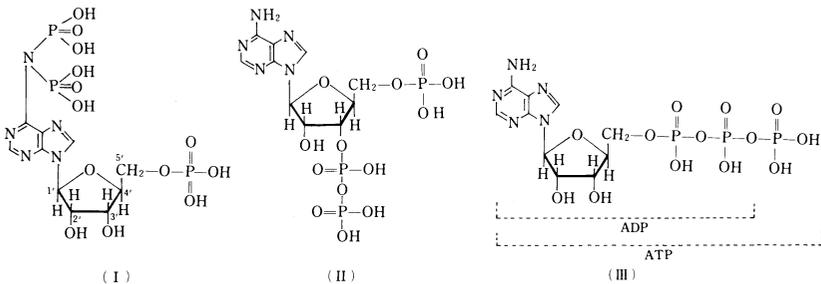


図 4. アデノシン三リン酸 (ATP) の化学構造
(III) が正しい構造

マイヤーホフらは、解糖を進めるためには ATP が必要であり、それを透析で除くと解糖は停止し、これに ATP を加えると再び進行することを発見し、ATP が解糖過程に補酵素的に働いていることを示した(1931)¹⁶⁾。これは先に述べた、2分子の ATP を使って、グルコースを次々とリン酸化してフルクトース 1, 6-二リン酸にするためであった。

ATP は末端のリン酸結合を切るとき、大きいエネルギーを放出するので、このエネルギーをつかって他の物質をリン酸化したり、その他の仕事するのに使われる（このような結合は一般に高エネルギーリン酸結合とよばれた）。こうして 1930-40 年間に解糖ないし発酵における ATP や ADP の演ずる役割が次々と明らかになっていった。

解糖における ATP の生成については、パルナスらの「筋肉抽出液に 3-ホスホグリセリン酸を加えると ATP が生成する」(1934)¹⁷⁾ という報告が動機になって、マイヤーホフら (1935)⁹⁾、ニーダムら (1936)¹⁸⁾、さらにワールブルグら (1939)¹⁹⁾ がその機構を明らかにしていった。先にのべた代謝図(図 1)では、グリセルアルデヒド 3-リン酸は 2 段階でピルビン酸になるように書かれているが、実際はもう少し複雑で、しかも図 5 のような経路で 2 個の ATP の合成が絡んでいるのである。つまり反応経路の途中で普通のリン酸結合が次々と高エネルギーリン酸結合に変わり、それが ATP の合成に使われるのである。

このように解糖（ないし発酵）過程における ATP の合成反応は 2 箇所あり、しかもグリセルアルデヒド 3-リン酸はグルコース 1 分子から 2 分子できるわけであるから、1 分子のグルコースから換算すると 4 分子の ATP が合成されることになる。しかしグルコース 1 分子がこの代謝に入るとき、すでに 2 分子の ATP を使ってフルクトース 1, 6-二リン酸になるわけであるから、差し引き正味 2 ($4-2=2$) 分子の ATP が新生されたことになる。

このようにして、ハーデンらが発見したリン酸と補酵素(NAD, ATP など)の役割がようやく明らかになった。

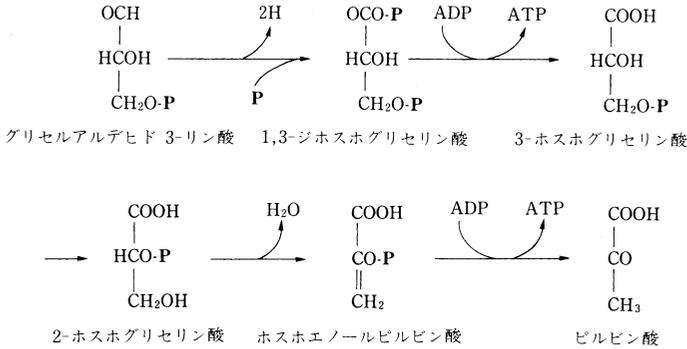


図5. 解糖における ATP の生成反応

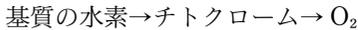
3. ピルビン酸の好氣的代謝

生物にみられる呼吸のしくみは、1783年のラボアジェの燃焼説(呼吸とは酸素を取り込んで炭酸ガスと水を放出することであるという学説)以来、酵素学者、生化学者にとってもっとも魅力のある研究課題であった。グルコースがどのような過程で炭酸ガスと水になるのか、解糖過程とはどのような関係にあるのか。そしてこの呼吸過程で生物はいかにしてエネルギーを獲得するのか…といった問題である。

1920年代になって、呼吸過程つまり生体酸化について二つの相反する学説が提出された。一つは、ウィーランド (Heinrich Otto Wieland, 1877-1957) によって出された水素活性化説で、呼吸とは“まず基質の水素が脱水素酵素によって活性化され、それが酸素(一種の水素受容体)に渡される”ことであるというものであった²⁰⁾。いま一つは、ワールブルグが主張した酸素活性化説で、こちらは“まず酸素が呼吸酵素によって活性化され、その酸素が基質分子を酸化する”というものであった²¹⁾(ウィーランドとワールブルグは、それぞれ1927年のノーベル化学賞、1931年のノーベル医学生理学賞を受賞した)。

この対立する二つの学説は、しかし1925年にケイリン (David Keilin,

1887-1963, ケンブリッジ大学の寄生虫学者) がチトクローム系という一種の水素伝達系を発見したことによって²²⁾ 和解・統一されることになった。すなわち、ウィーランドがいう脱水素反応によって活性化された水素が、チトクローム系を介して運搬され、最後にワールブルグの呼吸酵素（現在のチトクローム・オキシターゼ）によって活性化された酸素と結合するというのである(1925)。すなわち



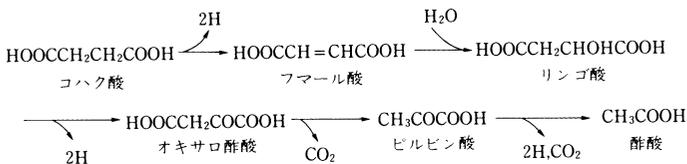
である。

ピルビン酸の還元によって乳酸を生成する嫌氣的代謝（解糖）とは違って、好氣的条件（呼吸）では、この還元に使われる NADH_2 が（チトクローム系によって）酸化されるため、乳酸の生成はなく、むしろピルビン酸の好氣的分解による酸素の吸収と炭酸ガスの放出が続行することになる。

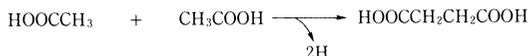
炭素 4 個のジカルボン酸経路

嫌氣的代謝（解糖）と好氣的代謝（呼吸）の関係は、ピルビン酸の中間代謝の研究から、次第に明らかになっていった。とくに注目されたのは、ピルビン酸の好氣的代謝における炭素 4 個（4C）のジカルボン酸、すなわちコハク酸、フマル酸、リンゴ酸、オキサロ酢酸の関与であった。

ツンベルグ（Torsten Ludvig Thunberg, 1873-1952）らの研究をもとにして、1920 年代には一応次のような反応が仮定されていた。



ツンベルグらはさらに、2 分子の酢酸からコハク酸ができる



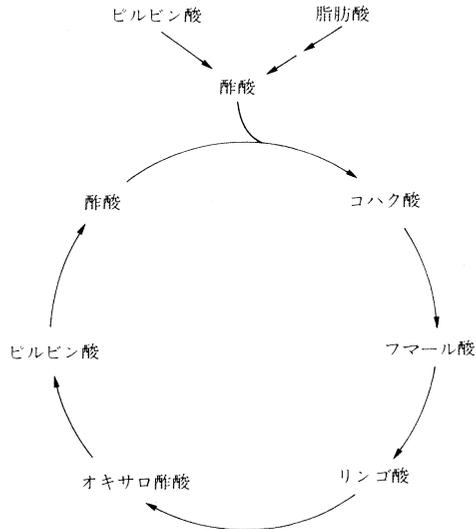


図6. ツンベルグが仮想したジカルボン酸サイクル

なる反応を仮定すると、これはピルビン酸や脂肪酸から生じる酢酸を分解する一つのサイクル(図6)が成立することを示した(ジカルボン酸サイクルといってよいものである)²³⁾。つまり1分子の酢酸がこのサイクルに入ると、酸化されて、2分子の炭酸ガスと水に変化するといっているのである。

しかし、このサイクルのコハク酸から酢酸までの経路は一応可能であるが、2分子の酢酸が結合してコハク酸になる反応は全くの仮定であり、それを支持する事実は得られなかった。したがって、このようなサイクルが実際に働く可能性は否定された(ただ後に述べるクエン酸サイクルの原型になったことは注目すべきであろう)。

1934-7年ごろ、ハンガリーのセント・ジェルジ(Albert Szent-Gyorgyi, 1893-1986)は、ハトの胸筋(の切片やミンチ)をつかって呼吸を調べていた。彼は、胸筋に先ほどの4Cジカルボン酸を添加すると、呼吸が著しく増強することを発見した²⁴⁾。しかも、それはごく少量加えただけで効果を発揮するの

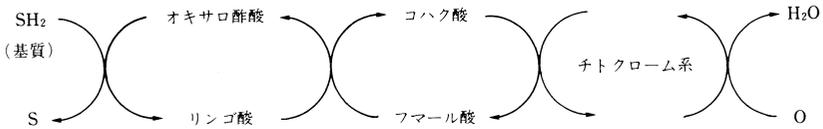


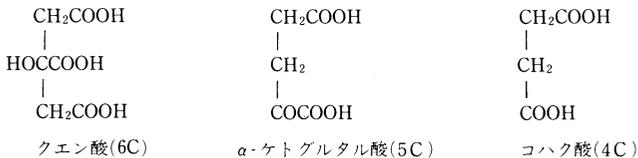
図7. セント・ジェルジが仮想したC₄-ジカルボン酸水素伝達系

で、直接基質になるよりは、むしろ触媒的に働いているものと考えられた。彼は、この4Cジカルボン酸はおそらく呼吸基質（例えばピルビン酸）の水素をチトクローム系に渡すための水素運搬体になるのであろうと仮想した（図7. 当時この考えは呼吸の4Cジカルボン酸説とよばれた（1937））。

しかし、セント・ジェルジはこの経路を水素運搬系としてのみ考えたため矛盾に遭遇することになった。リンゴ酸脱水素系（オキサロ酢酸—リンゴ酸）はNADを補酵素とするのに、コハク酸脱水素系（フマル酸—コハク酸）はそれを要求しないため、水素がコハク酸脱水素系にまで運搬されないのである（したがって水素は酸素にまで到達しないのである）。これが4Cジカルボン酸説最大の欠陥になった。

クレプスのクエン酸サイクル

その後、ピルビン酸の好氣的分解の様相は全くちがった観点から眺められるようになった。それはクレプス（Hans Adolf Krebs, 1900–1981）らが、ピルビン酸とオキサロ酢酸が縮合して7Cの化合物を生じ、これが6Cのクエン酸、5Cのα-ケトグルタル酸、さらに4Cのジカルボン酸に変化していく可能性を示したからであった²⁵⁾。



彼らは、クエン酸がハトの胸筋ミンチの呼吸を（先のセント・ジェルジの4Cジカルボン酸と同様に）著しく増強すること、またクエン酸が α -ケトグルタル酸、コハク酸に変化すること、さらにオキサロ酢酸がピルビン酸と縮合してふたたびクエン酸になることを実験的に示したのである。これがクエン酸サイクルないしトリカルボン酸サイクルとよばれるものの原型である（図8）。

図のように、3Cのピルビン酸はオキサロ酢酸に縮合してサイクルに入り、炭酸ガスと水素を放出しながら、もとのオキサロ酢酸を生成し、再びピルビン酸を受け入れる状態にもどるといっているのである。このようにしてオキサロ酢酸は最初1分子あれば、理論的には無限に繰り返しピルビン酸を分解できるわけで、サイクル上の各物質はピルビン酸の酸化的分解に対して触媒的に働いているのである。こう考えると、クレプスの学説は、ツンベルグの仮説、セント・ジェルジの仮説を統合しながら、しかもそれよりはるかに進歩したも

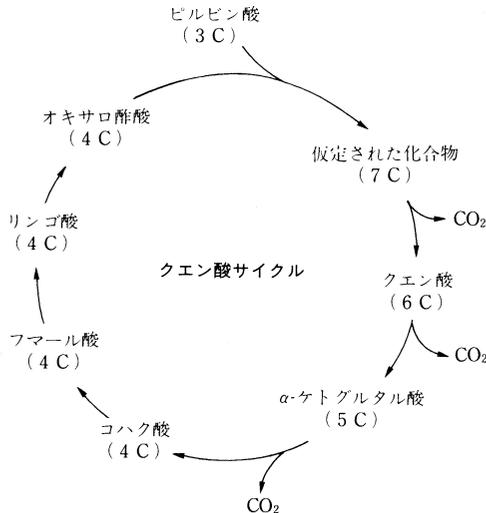


図8. クレプスが提出した初期のクエン酸サイクル
クレプス・サイクルともトリカルボン酸（TCA）サイクルとも呼ばれる

のであることが分かるのである。

問題は、ピルビン酸とオキサロ酢酸の縮合物、つまり 7C 化合物が実際に生成するかどうかである。当時、7C 化合物の生成を確認しようとする多くの実験が試みられたが、すべて失敗に終わった。したがってオキサロ酢酸は 3C 化合物のピルビン酸とではなく、ピルビン酸由来の何か特別な形の 2C 化合物と反応して直接 6C のクエン酸になるのではないかと考えられた。この 2C 化合物は（遊離の形の酢酸ではなく何かに結合した形を仮定して）“活性酢酸”とよばれたが、間もなくリップマンらによってその存在が明らかになった(後述 263-265 頁)。

こうして、グルコースは解糖作用によってピルビン酸となり、その 1 個の炭素は炭酸ガスとして除かれ、残りの 2 個の炭素は活性酢酸となってクエン酸サイクルに入り、完全分解を受けることになったのである。

解糖系ならびにクエン酸サイクルが、糖代謝において重要であることはい

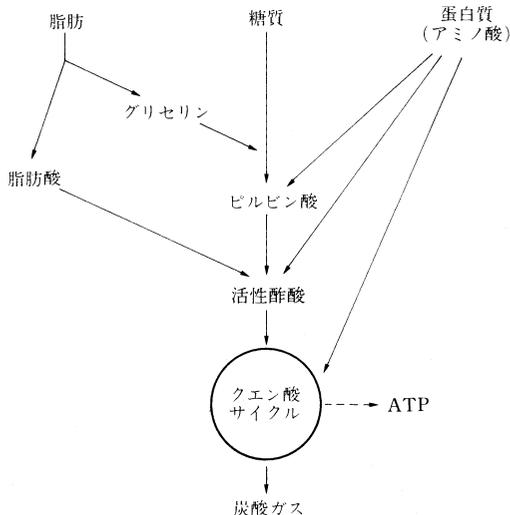


図9. 糖質代謝, 脂肪代謝, 蛋白質 (アミノ酸) 代謝とピルビン酸, クエン酸サイクル



セント・ジエルジ (1893-1986)



クレプス (1900-1981)

セント・ジエルジ. ハンガリーの人。ブタペスト大学で医学を学んだのち、セゲト大学医化学教授(1930)。1945年、ナチスに追われアメリカに渡る。生体酸化、ビタミン、筋収縮など、研究の幅は広い。1937年、ノーベル医学生理学賞を受賞。

クレプス。ドイツに生まれ、ゲッチンゲン大学などで医学を学んだ後、カイザー・ウィルヘルム研究所のワールブルグに師事。フライブルグ大学でオルニチンサイクル(尿素サイクル)を発見。ナチスに追われて英国に渡り(1933)、ホプキンスに師事。クエン酸サイクルを発見(1937)。1953年、ノーベル医学生理学賞を受賞。

うまでもないが、脂肪代謝、蛋白質代謝においてもまたきわめて重要な位置をしめている。脂肪の主要成分である脂肪酸の長い鎖の分解は、炭素2個を単位として順次切断し(β -酸化²⁶⁾)、その炭素2個の断片が活性酢酸となって、クエン酸サイクルに入りこむのである。蛋白質の成分であるアミノ酸の分解もまた、活性酢酸になってこのサイクルにはいるか、あるいは直接このサイクルに入って完全に分解されるのである(図9)。

クエン酸サイクルの機能として重要なのは、代謝と共役して作動するATPの生産である。呼吸過程と共役してATPが合成されることを最初に指摘したのはソ連のエンゲルハルト(Vladimir Aleksandrovich Engelhardt, 1894-1984)であった²⁷⁾。解糖系の目的の一つがATPの生産にあったように、このクエン酸サイクルの目的の一つもATPの大量生産にある。クエン酸サイクルで脱水素された水素(NADH_2)は(ケイリンのチトクローム系を中心とする)水素伝達系を通り、酸素と結合して水になる過程で大量のエネルギー

を放出するが、そのエネルギーをつかって ATP の合成が行われるのである。

マイヤーホフ門下のオチョア (Severo Ochoa, 1905-) は、こうして合成される ATP の合成効率は、利用酵素一原子あたり 2 ないし 3 分子の ATP であることを実験的にしめした²⁸⁾。そうすると、クエン酸サイクルが一回転するごとに (つまり 1 分子のピルビン酸が完全に分解され、5 箇所から 2H が放出されるごとに)、10-15 分子の ATP が合成されることになる。きわめて効率のよい合成系といえる。(オチョアはその後研究の方向を RNA の合成に変え、その研究によって 1959 年のノーベル医学生理学賞を受賞した)。

4. 補酵素とビタミンとの出会い

1930 年代までの生化学の状況はおおよそこのようなものであった。その後、生化学は各代謝系の調節機構、生理的意義を求めるとともに、代謝に関わる各酵素反応の分子レベル、電子レベルでの機序を追及していくのである。

1930 年後半からとくに目立つ現象は、新しい補酵素が次々と発見され、それを中心に酵素反応の機序が次々と明らかにされていったことである。補酵素 NAD が脱水素酵素の補酵素として水素受容体、水素運搬体になったように、それぞれの補酵素はその反応の特異性に応じた働きを遂行するのである。そして間もなく、反応機序の研究は必然的に各補酵素の構造とその働きを中心に展開することになった。

研究成果のなかでもっとも印象的であったのは、すべての補酵素はその構造のなかに一つのビタミンを含み、しかも補酵素作用のもっとも中心部を占めていることであった。つまり、ビタミンは補酵素を介して酵素分子の最も重要な活性中心を構成しているのである。

補酵素とビタミンは、両者を結び付けている濃い血縁関係のことも知らずに、互いに見知らぬものとして生まれ、育った。そして結局はお互いに異母兄弟であることを認め合うのである。一方は酵素抽出液から生まれ、他方は生きた生物から生まれた。補酵素の方は低い体制レベルの研究から、つまり酵素が触媒活性をしめすために何を必要とするかを研究することから発見さ

れ、ビタミンの方は高い体制レベルの研究から、つまり生きて動物が病気をせずに健康に成長するには食物中に何を必要とするかを研究することから発見された。

二人が出会って互いに認め合った時点から、補酵素、ビタミンの異母兄弟はおたがいに相手を刺激しながら生化学の爆発的な発展をうながすのである。

5. ビタミン学の道 —— 欠乏症の発見と食物の分析から ——

ビタミンは、19世紀の終りごろから今世紀にかけて、一方は欠乏症の研究面から、他方は食物の分析の面からその存在が確認されていった。その研究史の源流にさかのぼって眺めてみたい。

高木兼寛による脚気の研究 —— ビタミン発見への道 ——

19世紀後半、米を主食とする日本や東南アジアの諸国には、脚気という病気が蔓延していた。手足がむくみ、身体を動かすと動悸がして呼吸困難に陥り、神経が麻痺して起立困難、歩行困難をとまなうといった得体の知れない恐ろしい病気であった。日本では、明治になってこの病気はさらに流行し、政府はその対策に手をやいていた。とくに軍隊では、この病気が戦力に甚大な影響を与えるため、その予防法、治療法の確立が急がれた。このような状況に真正面から応えたのが海軍軍医・高木兼寛（1849-1920）であった。彼は5年間の英国留学を終えて帰国したばかりであった。

高木は、まず海軍兵士についてその生活要因と脚気罹患率との関係をつぶさに調査した。そしてある興味ある事実を発見した。つまり、脚気という病気は食事の質に関係があり、糖質が過剰で蛋白質が過少である（蛋白質：糖質=1：9にちかい白米飯の）ときにこの病気にかかり、反対にこの量比が適切である（蛋白質：糖質=1：4にちかいパン食、麦飯食の）ときにはこの病気にかかることがないという事実であった（1883）²⁹⁾³⁰⁾。彼は、この栄養欠陥説



高木兼寛 (1849-1920)

海軍軍医。英国セント・トーマス医学校で医学を学ぶ。1883年、脚気の栄養欠陥説を提出。1884年、軍艦乗組員について食事の改善によって脚気の予防に成功し、この学説の正しいことを証明した。現在、ビタミンの先覚者として位置づけられる。慈恵医大の創立者。

ともいうべき学説を広めると同時に、脚気の予防・治療の実践、つまり兵食の改善にのりだしていった。

しかし、当時はまだこの「栄養の欠陥で病気がおこる」という考えはあまりにも先駆的であったため、理解できる人はほとんどいなかった。むしろ脚気は黴菌によって伝染する一種の伝染病であるという考えが支配的であった。パスツール、コッホに始まる細菌病理学の著しい成功のために、正体不明の病気があれば、それは黴菌の仕業ではないかという一種の期待感があったからである。実際、ペーケルハリング(Cornelis Adrianus Pekelharing, 1848-1922)や緒方正規(1854-1919)らは、脚気の原因菌を発見したとして伝染病説を主張していた³¹⁾³²⁾。

北里柴三郎(1852-1931)は当時ドイツに留学し、コッホに師事していたが、その地からこの二人、ペーケルハリング、緒方の実験の甘さを指摘し、批判していた³³⁾³⁴⁾。脚気伝染病説に好意的であったコッホの研究室にありながら、科学者らしい態度で、実験の不備な点を指摘していた北里の態度は高く評価すべきであろう。

高木が進めようとした兵食の改善はきわめて困難であったが、海軍練習艦・竜驤、筑波の乗組員をつかった壮大な実験の成功によって、ようやくそれが可能になった。竜驤には従来の白米食を積み、筑波には高木の蛋白質を多くした改善食を積んで、それぞれ376名、333名の乗組員をのせて、同じコースを同じ時間(9か月)をかけて航海した。結果は、竜驤からは167名も

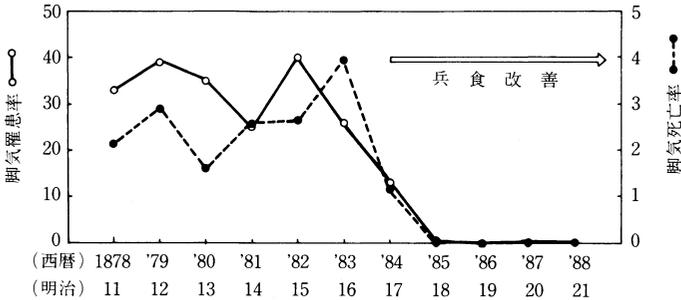


図 10. 高木兼寛の兵食改善による脚気患者の激減
 明治 17 年の兵食改善によって脚気罹患率，死亡率がともに激減した

の重症脚気患者を出し、そのうち 25 名もの兵士が死亡したのに対して、改善食の筑波からは一人の患者も出さなかった。このような明確な実験事実にもとづいて、高木は海軍兵食を改善し、1884 年以降海軍から脚気病を完全に駆逐してしまったのである (図 10)³⁰⁾。

高木の業績をさらに発展させたのはオランダの研究者たちであった (当時オランダでは本国にはなくてアジアの植民地に多くみられた脚気という病気を調査するため医学者をジャカルタに派遣していた)。その一人、衛生学者エイクマン (Christian Eijkman, 1858-1930) は、明治 30 年 (1897)、病態栄養学上の重要な発見をした。ニワトリを白米で飼育すると、脚気の症状 (白米病 = 多発性神経炎) を発現するが、これに米糠を加えると完全に治癒するというのである。はじめ彼は、白米はもともと毒素をもっており、米糠がその毒作用を中和する考えたが³⁵⁾ (高木が、白米の毒性を蛋白が打ち消すと考えたのと大変似ている)、後に後継者グリーンズ (Gerrit Grijns, 1865-1944) の意見に従って、白米には脚気を予防する因子が欠けているが、米糠の中に存在する同因子がこれを補うという考え方に変わった (1906)³⁵⁾³⁶⁾。そして同因子は蛋白質そのものでないことも明らかになった。

こうしてこの未知の因子の探索は世界の多くの研究者によって開始された。鈴木梅太郎 (1874-1943)、フンク (Casimir Funk, 1884-1967)、エディー



エイクマン (1858-1930)



ホプキンス (1861-1947)

エイクマン. オランダの衛生学者. ジャカルタに派遣され, そこで脚気を研究. 1897年, ニワトリの白米病(脚気)を発見, 米糠の予防治療効果を報告. のちユトレヒト大学教授. 1929年, ノーベル医学生理学賞を受賞.

ホプキンス. 英国ケンブリッジ大学初代生化学教授. 1909年, ネズミの成長実験によって副栄養素を発見. その他, トリプトファン, グルタチオン, キサンチン酸化酵素などを発見, 研究の幅は広い. 現代生化学の父といわれる. 1929年, エイクマンと共にノーベル医学生理学賞を受賞.

(E.S. Edie), ヤンセン (Barend Coenraad Petrus Jansen, 1884-1962) らであった. そして最終的に結晶として取り出したのはそのヤンセンであった(1926)³⁵⁾. かつてエイクマンがニワトリの脚気(白米病)を発見した伝統ある研究室の業績であった. フンクはこの物質にビタミンという名称をあたえた. そして彼は, この脚気のほかに, クル病や壊血病やペラグラなどもこの種の未知栄養素の欠乏症であろうと考えた.

新しい栄養素としてのビタミン

一方, 脚気の研究とは違う領域で, 動物の栄養についての地道な研究が進められていた. ケンブリッジ大学の生化学者ホプキンス(Frederick Gowland Hopkins, 1861-1947)らの研究である. 彼らは, 動物の成長には, 糖質, 脂肪, 蛋白質, ミネラルのほかに未知の栄養素(副栄養素)が必要であること

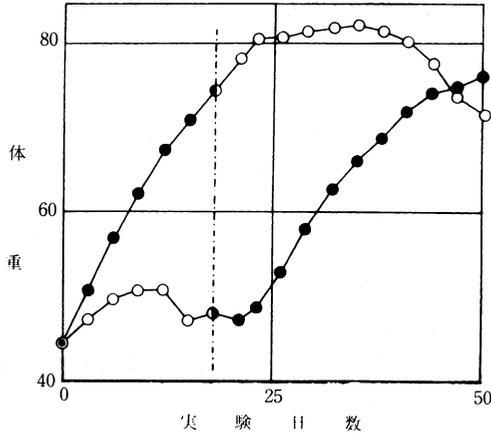


図 11. ホブキンスのシロネズミ飼育実験

シロネズミに蛋白、糖、脂肪、ミネラルを与えるだけでは、体重が下降しはじめ
るが(○印)、これにわずかの乳汁を加えるとよく上昇する(●印)。つまり乳汁中
に微量で有効な物質(成長促進因子)があることを示す。

を見いだしていた(1906, 図 11)³⁷⁾。そして、脚気のような欠乏症をおこす因
子とこの未知栄養素とは、結局おなじカテゴリーにはいる物質であろうと考
えた。

実際、マッカラム (E.V. McCollum, 1879-1967)³⁸⁾ やドラモンド (J.C.
Drummond, 1891-1952)³⁹⁾ らは、この未知栄養素類のなかに、夜盲症を予防
する因子(今日のビタミン A)、脚気を予防する因子(ビタミン B)、壊血病
を予防する因子(ビタミン C)、クル病を予防する因子(ビタミン D)などが
ふくまれることを明らかにした(要するにこれらビタミンとは、生体が合成
できないため、栄養素として摂らねばならない物質群なのである)。

そしてあらためてビタミン B と命名された脚気予防因子は、さらに細分さ
れてビタミン B₁ とよばれるようになった(ビタミン B に含まれる成長促進
因子はビタミン B₂ と呼ばれることになった)。したがって、ヤンセンが結晶
化したのは、このビタミン B₁ の結晶ということになる。

高木兼寛によって提出された脚気の栄養欠陥説は、このようにして多くの

研究者の努力によって新しいビタミン学説に発展し、「脚気はビタミン B₁ の欠乏によっておこる」ということになったのである。

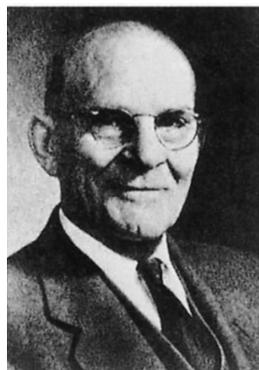
脚気予防因子・ビタミン B₁ が結晶になると、今度はその化学構造を明らかにすることであった。これには、牧野堅 (1908-1990, 慈恵医大名誉教授), ウィリアムス (Roger Runnels Williams, 1886-1965), ウィンダウス (Adolf Windaus, 1876-1959) らが参加した。そして最終的に確認された構造式は牧野が提出した図 12 (III) であった。

ウィリアムスはあらためて、ビタミン B₁ の物質名をチアミン (thiamine) と呼ぶよう提案し、国際的名称として採用された。

はじめ、ウィリアムスは図 12 (I) のような構造式を提出していた⁴⁰⁾。ウィンダウスも別の構造式 (II) を提出していた⁴¹⁾。いずれもピリミジン環とチアゾール環が直接つながっている構造である。牧野は、この 2 式を比較しながら、またビタミン B₁ の化学的性質から考えて、別の可能性があることを提案した。つまりピリミジン環と



牧野 堅 (1908-1990)

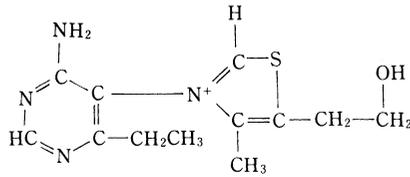


ウィリアムス (1886-1965)

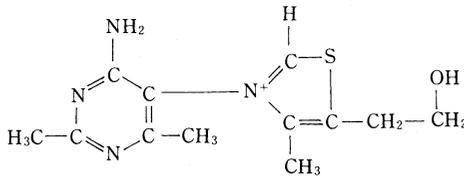
牧野 堅。満州医科大学で医学を学び、大連病院で、ATP やビタミン B₁ の構造を決定した。熊本大学、慈恵医大の教授を歴任。

ウィリアムス。アメリカ、ベル・テレホン・ラボラトリー化学部長。1935 年、私設研究室でビタミン B₁ を研究。結晶化、構造決定、合成に成功した。

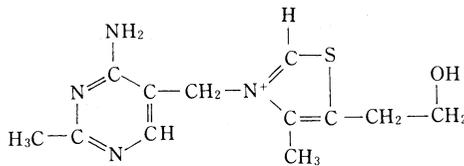
チアゾール環が CH_2 を介してつながっているという現在の構造式 (III) である。牧野はこのアイデアを論文にまとめて発表した (1936)⁴²⁾。まもなくこの構造式の正しいことがウィリアムスらによって示され⁴³⁾、さらに合成によって確かめられた⁴³⁾。ウィンダウスの研究室からも同じ構造式 (III) がまもなく発表された⁴⁴⁾。(ウィンダウスはすでにステリンの研究で1928年のノーベル化学賞を受賞していた)。



(I)



(II)



(III)

図 12. ビタミン B₁ の化学構造
(III) が正しい構造

ビタミンの体内での働き

生体は新しい栄養素としてビタミンを要求し、これが欠乏すると重篤な欠乏症に陥る。しかも必要量はきわめて微量であるというのである（ビタミンB₁の場合、ヒトで1 mg/日である）。このような微量でしかも不可欠である物質、ビタミンとはいったい体内で何をしているのであろうか。

すでに1920年頃から、ビタミンB₁欠乏動物では糖質の代謝に異常があり、体内に乳酸、ピルビン酸が蓄積していることが知られていた⁴⁵⁾。これはB₁がなにか乳酸ないしピルビン酸の分解に関与しており、その欠乏によってこれらの物質が蓄積するのではないかと考えられた。

間もなく、オックスフォード大学のピータース (Rudolph Peters, 1889-1982) らは、B₁欠乏ハトの脳で、乳酸を酸化する速度（つまり酸素の取り込み）が衰えており、これにB₁を加えるとその速度が再び回復してくることを発見した（1932。B₁のこの作用はカタトルリン catatorulin 効果と呼ばれた）⁴⁶⁾。

その後、B₁が直接関与するのは乳酸の分解ではなく（これと直接代謝的に結びついている）ピルビン酸の分解であることが明らかになった。ピルビン酸の分解がおくれるため、それが還元されて乳酸になってしまうのである。エルビエム (Conrad Arnold Elvehjem, 1901-1962) らは、このことをニワトリの脳や心や腎で証明し⁴⁷⁾、実際にB₁欠乏ニワトリではピルビン酸の処理が著しく遅延していること（つまりB₁はピルビン酸の代謝分解に不可欠であること）を確認した（1936）⁴⁷⁾。

上記カタトルリン効果（酸素取り込み回復効果）にしても、B₁の有効濃度が0.1 μMという低濃度であることから考えて、B₁自身が酸化されることは考えにくく、むしろB₁はピルビン酸の酸化分解にたいして何か触媒的な働きをしているものと想像された。

ピルビン酸といえば、先述のように、糖質代謝はもちろん蛋白質代謝、脂肪代謝の要（かなめ）になる物質である。ビタミンB₁欠乏時つまり脚気のさいに示される重篤な症状は、おそらくこの要になるピルビン酸の代謝障害に

起因するものと考えられた。分子レベルから見て、 B_1 はこの代謝で一体何をしているのだろうか。

1930年代なかばの多くの研究室では、新しい生化学が生まれ出る前夜のような様相を呈していた。

6. 二つの道の劇的な出会い

脚気、ビタミン B_1 、チアミン二リン酸 (TDP)

ビタミンの作用機構についての魅力ある問題は再び発酵の研究から解かれはじめた。

1932年、ストックホルム大学のアウハーゲン (Ernst Auhagen, 1904-) は、酵母のピルビン酸脱炭酸酵素が補酵素(つまり耐熱性、透析性の有機化合物)を必要とすること、そしてその補酵素は従来知られていたもの(例えばオイラーの NAD など)とは異なることを見いだした⁴⁸⁾。ピルビン酸脱炭酸酵素といえば、かつてノイベルグが発見し⁴⁾、永山によって微生物に広く分布していることが明らかになった酵素である⁵⁾。反応はピルビン酸をアセトアルデヒドと炭酸ガスにするものであった(236頁「ノイベルグによる発酵経路」を参照)。

マイヤーホフ一門のローマンは、先の牧野、ウィリアムスらのビタミン B_1 の構造決定やピータース、エルビエムらのピルビン酸代謝にたいするビタミン B_1 の添加効果や、さらに今のアウハーゲンによるピルビン酸脱炭酸酵素の補酵素の発見などに強い刺激をうけていたが、彼はさっそくこの脱炭酸酵素・補酵素の構造解明に乗り出していった(ローマンといえば、ATPの構造決定に参加した優れた生化学者。242頁「代謝とエネルギーの流れ」を参照)。

ローマンらは、酵母からこの補酵素を結晶として単離し、その分析データから遂にその構造を決定した(1937)⁴⁹⁾。得られた構造は、なんとビタミン B_1 のピロリン酸エステル(つまりチアミン二リン酸 (thiamine diphosphate, TDP))であった(図13)。

それまで、脚気の予防因子ないし新しい栄養素の一つとしてのみ考えられ

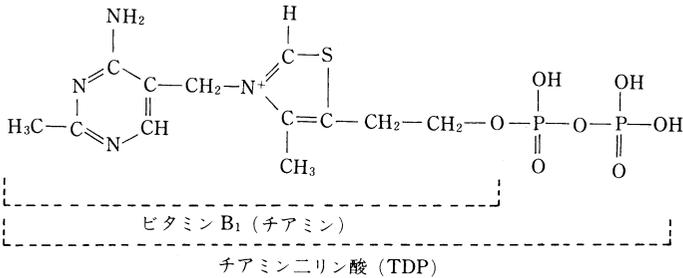


図 13. ビルビン酸脱炭酸酵素の補酵素の化学構造

てきたビタミンが、実は酵素化学の方法で探してみると、驚いたことに補酵素の成分であったのである。この発見は、補酵素とビタミンとの初めての、しかも劇的な出会いであった。この出会いの生化学者、栄養学者に与えた衝激はまことに絶大であった。

動物のビルビン酸代謝にたいするチアミン二リン酸 (TDP) の影響もさっそく調べられた。動物のビルビン酸の代謝は、好氣的条件を必要とし、また遊離のアセトアルデヒドを産生しないなど、複雑で酵母のそれとは若干異なるが、その本質的なところでは両者共通であろうと考えられていた。

ピータースらは、ビタミン B₁ 欠乏ハトの脳をつかって、この TDP の添加がビルビン酸の分解を著しく促進すること、そしてそれは B₁ の添加効果よりはるかに強いことを証明した⁵⁰⁾。つまり動物においても、B₁ は体内で TDP に変化し、その TDP がビルビン酸脱炭酸酵素の補酵素になっていることをはっきり示したのである。

こうして、高木、エイクマン以来嫌悪されてきた (脚気時の) 白米 (糖質) の毒性は、じつは TDP の減少によるビルビン酸の代謝障害、つまりビルビン酸の蓄積がその主因であることが明らかになった。そしてこのビルビン酸の代謝障害は解糖系からクエン酸サイクルへの流れを阻害し、逐次的にクエン酸サイクルの縮小、ATP 産生の減退をおこし、いっそう重篤な脚気症状に導くものと想像された (クエン酸サイクルの α -ケトグルタル酸の脱炭酸酵素も TDP を補酵素とするので、B₁ 欠乏はさらにこの面からも障害することが

推測された)。

一般的にいて TDP を要求する酵素は、他の補酵素を要求する酵素に比べて、その種類は比較的少ない方である。したがって B₁ 欠乏による代謝障害はこの数少ない酵素反応に集中することになる。

現在、酵素反応における TDP の詳しい作用機構は、まずチアゾール環の 2 位の炭素に基質 (ピルビン酸) が結合し、同時に脱炭酸することにあるとされている。

ニワトリ皮膚炎、パントテン酸、補酵素 A (CoA)

動物組織でピルビン酸が好氣的に代謝されるとき (つまりクエン酸サイクルで分解をうけるときは)、いったん炭素 2 個の化合物 (活性酢酸) になってから、オキサロ酢酸と縮合することはすでに述べた (248 頁「クレプスのクエン酸サイクル」)。つまりピルビン酸は TDP 参加のもとに脱炭酸され、さらに脱水素されて酢酸になるが、その酢酸は何かにか結合した形 (活性酢酸の形) であるらしいというのである。

1945 年ころ、ハーバード大学のリップマン (Fritz Albert Lipmann, 1899-1986) は、この活性酢酸の本体 (酢酸は一体何にか結合しているのか) について精力的に研究を進めていた。そしてこの物質が、サルファ剤をアセチル化 (酢酸を結合) してそれを不活化する因子や、コリンをアセチル化してアセチルコリンにする因子と同じものであることを確かめた。彼は、この熱安定、透析性の因子、つまり酢酸を受授する因子を補酵素 A (coenzyme A, CoA, 補酵素 A の A はアセチル化を意味する) と名付け、その化学構造の解明に向かった。

リップマンは始めから、この CoA の構造のなかに何かビタミンが含まれていることを予想していた。それは、すでにビタミン B₁ の誘導体がピルビン酸脱炭酸酵素の補酵素になっていることに強いインパクトを受けていたからである。彼は、いろいろのビタミンについて調べたあげく、けっきょくパントテン酸が含まれていることを見いだした (1945、パントテン酸はすでにニワトリの皮膚炎を予防するビタミンとして知られていた)⁵¹⁾。



リップマン (1899-1986)



リネン (1911-1979)

リップマン。ドイツ、ケーニヒスベルグ生まれ。ベルリン大学などで医学を学んだのち、カイザー・ウィルヘルム研究所でマイヤーホフに師事。ナチスに追われアメリカに亡命。ハーバード大学教授、ロックフェラー大学教授を歴任。補酵素 A (CoA) を単離し、パントテン酸が構成成分であることを発見。その他「高エネルギーリン酸結合」なる概念を提出し、多くの生化学者を魅了した。1953 年、ノーベル医学生理学賞を受賞。

リネン。ドイツ、ミュンヘン生まれ。ミュンヘン大学生生化学教授。1951 年、アセチル CoA の構造をリップマンに先駆けて決定した。1961 年、脂肪酸合成のカルボキシラーゼがピオチンを補酵素とすることを証明。1964 年度ノーベル医学生理学賞を受賞。

やがて、共同研究者ノベリ (Gurino David Novelli, 1918-1983) は CoA の全構造を決定した(1954. 図 14)⁵²⁾。

次の問題は、活性酢酸の構造(つまり酢酸はこの CoA のどこに結合しているかという問題)であった。CoA は(図 14 にみるように)末端に SH 基をもっているが、活性酢酸の構造は、この SH 基に酢酸を結合した(アセチル CoA という)形であった。これを決定したのはリップマン一門ではなく、ミュンヘン大学のリネン (Feodor Lynen, 1911-1979) らであった (1951)⁵³⁾。

リップマンには、この SH 基のことは全く眼中になかった。酢酸はおそらく CoA の中のパントテン酸かリン酸のところ結合するものばかり思っていた。リネンらに先をこされたリップマンらの

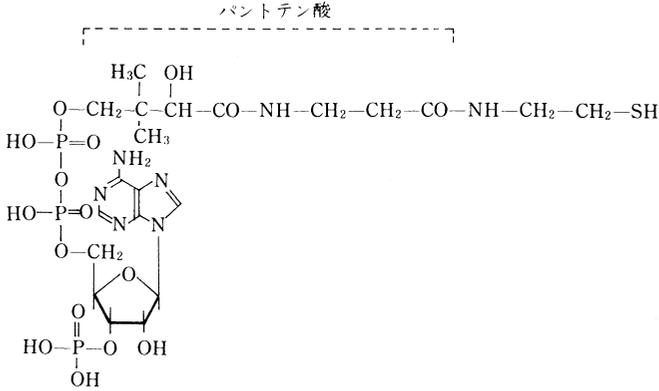


図 14. 補酵素 A (CoA) の化学構造

落胆ぶりは大変なもので、リネンらの情報が伝えられた瞬間、リップマンの研究室は、まるで空襲にでもあったような騒ぎであったといわれている。ノベリら共同研究者はアセチル CoA を手にしているながら分析をおこなっていたのである。

活性酢酸 (アセチル CoA) とクエン酸サイクルの関係から、糖質代謝における CoA の重要性は明らかであるが、脂肪酸の酸化 (β -酸化) の場合にも多くのアセチル CoA が産生されて、やはりクエン酸サイクルに入るのである (クエン酸サイクルの α -ケトグルタル酸の酸化も CoA の参加で行われ、この場合はサクシニル CoA が産生される)。また脂肪酸の合成にもアセチル CoA がその材料になることが知られている。CoA の役割はこのように、糖質代謝、脂肪代謝、蛋白質代謝の全域にまたがり、殆ど際限がないほどである。

パントテン酸は、すでにニワトリの皮膚炎を予防するビタミンとして知られていたが (1935)、その化学構造は 1940 年にウィリアムスらによって決定された⁵⁴⁾。CoA の中にパントテン酸が含まれることが明らかになったのは (上述のように 1945 年であるから) パントテン酸の構造決定から 5 年後のこと

であった。

ペラグラ、ニコチン酸、NAD

NAD, NADP は脱水素酵素の補酵素として、ある基質を酸化して自らは NAD, NADP の還元型 (NADH₂, NADPH₂) となり、次いで他の基質を還元してもとの NAD, NADP にもどる。あるいは (酸素にまで連続している) 水素伝達系に水素をわたしてもとの NAD, NADP にもどる。このような可逆的酸化還元を行う部位は、構造中のニコチン酸アミドであり、ここが可逆的に水素を結合したり、放出したりするのである (図3 参照)。生体における酸化還元反応の種類は無数といってよいから、この補酵素の活躍の舞台もまた無数といってよい。これらについてはすでに詳しく述べた (241 頁「酸化還元の問題」を参照)。

ピルビン酸が脱炭酸の後、脱水素して酢酸 (活性酢酸) になる際にも、この NAD が関係していることはいうまでもない (後に詳述)。

1937 年になって、このニコチン酸アミド (またはニコチン酸) が、実は犬の黒舌病やヒトのペラグラを予防するビタミンであることが明らかになった⁵⁵⁾。すでに 1935 年に、ニコチン酸アミドがこの補酵素の成分であることが分かっていたから、その 2 年あとになって、やっとそのビタミンとしての作用が明らかになったわけである。発見の順序が他のビタミン、補酵素の場合とは逆であったところが面白い。

ペラグラというのは、1905-11 年頃、米国南部で爆発的に発生した重篤な疾患であるが、その三症状が、皮膚炎 (dermatitis)、下痢 (diarrhea)、痴呆 (dementia) であり、ついには死 (death) にいたるといっているので、そのイニシャルをとって 4D と称して恐れられた。

はじめ、ペラグラの原因としては中毒説、伝染病説が主流であったが、1915 年、ゴールドベルガー (Joseph Goldberger, 1874-1929) らは、ペラグラ患者の栄養調査を行い、この病気が穀物 (トウモロコシ) を多くとり、動物性食品をあまりとらない人に多いことを発見した。そして食物中のペラグラ予防因子が欠乏すると、この病気を発症するのであろうと推論した (1928)⁵⁶⁾。よ



ゴールドベルガー (1874-1929)



エルビエム (1901-1962)

ゴールドベルガー. アメリカ公衆衛生局勤務. ペラグラの伝染病説に反対し, 食料調査から食物中のペラグラ予防因子の欠乏が原因であることを主張した.

エルビエム. ノルウェイ系のアメリカ人. ウィスコンシン大学生化学教授. ニコチン酸アミドがイヌの黒舌病に治療効果があることを証明した (間もなく同系統の疾患, ペラグラ病の治療にも有効であることが証明された).

うやくその 10 年後になってこのペラグラ予防因子がニコチン酸アミドないしニコチン酸であることが証明されたわけである (前述)⁵⁵⁾.

成長停止, ビタミン B₂, FAD

先述のように, ビタミンの発見は, 脚気の予防の研究と動物の成長の研究から生まれたものであったが, 食物中のこの水溶性不可欠因子(ビタミン B)については単一のものでないことは初めから予想されていた. 動物にたいする抗脚気性と成長促進性が必ずしも平行せず, また両因子の安定性がそれぞれ異なっていたからである. 1927 年になって, 脚気予防因子の方をビタミン B₁, 成長促進因子の方をビタミン B₂ と区別して呼ぶように提案された. このことはすでに述べた.

クーン (Richard Kuhn, 1900-1967) の研究室やカラー (Paul Karrer, 1889-1971) の研究室では, ビタミン B₂ の近縁物質が数多く合成され, その比較研究からビタミン B₂ はリボフラビン (riboflavin, 図 15) であることが確認された (1935)⁵⁷⁾⁵⁸⁾.

次いで, ワールブルグー門のテオレル (Hugo Theorell, 1903-1982) は,



ワールブルグ (1883-1970)



テオレル (1903-1982)

ワールブルグ. カイザー・ウィルヘルム研究所教授。1920年代のウィーランドとの呼吸機構についての論争は有名。またワールブルグの検圧計で有名。1935年、脱水素酵素の補酵素(NADP)を発見、構造決定。1938年、FADの単離と構造決定。ユダヤ人でありながらナチス高官を籠絡してドイツにとどまった希有な科学者。1931年、ノーベル医学生理学賞受賞(呼吸酵素の研究)。

テオレル. スウェーデン、カロリンスカ研究所、ノーベル医学研究所生化学教授。1933年、ベルリンに留学、ワールブルグのもとで黄色酵素を結晶化、FMNを補酵素とすることを証明。1955年、ノーベル医学生理学賞を受賞。

NADH₂を酸化する酵素(黄色酵素)から色素部分を分離し、それがリボフラビンリン酸(FMN)であることを確かめた⁵⁹⁾。しかし、その後ワールブルグらは、D-アミノ酸酸化酵素から補酵素を単離し、それが1分子のリボフラビンと1分子のアデニンと2分子のリン酸からなるフラビン・アデニン・ジヌクレオチド(FAD, 図15)であることを確かめたので⁶⁰⁾、このFMNは、酵素を単離する間に現れたFADの分解産物であろうと推測した(1938)⁶⁰⁾。そのためFMNの存在、機能については一時期混乱を生じたが、現在ではFADを補酵素とする酵素とは別に、FMNを補酵素とする酵素も確かに存在することが明らかになっている。

FADを補酵素とする酵素には、クエン酸サイクルのコハク酸脱水素酵素やピルビン酸脱水素酵素複合体に含まれるジヒドロリポイル脱水素酵素(後述)など数多くあるが、FMNを補酵素とする酵素も数こそ少ないものの、水素伝達系の初発酵素、NADH₂脱水素酵素のように重要なものが存在する。

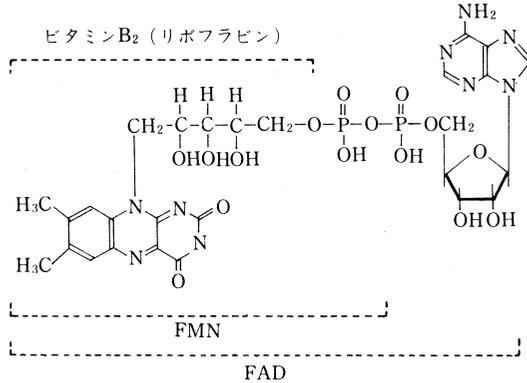


図 15. 補酵素 FMN, FAD の化学構造

これら補酵素 FAD, FMN が酸化還元に参加するとき、直接水素を授受する部位はそのフラビン部分であることも確かめられた。

ピルビン酸脱水素酵素複合体 —— 補酵素作用の具体例 ——

以上、枚挙的にビタミンと補酵素の関係について述べてきたが、ここでは補酵素がどのように酵素反応に関わっているかについて考えてみたい。具体例としては脚気ともっとも関係が深く、しかも先程から何度も登場してきたピルビン酸のアセチル CoA への脱炭酸、脱水素反応をとりあげることにする。

この反応は、次の三つの酵素の連続反応であると考えられている (図 16)。すなわち、ピルビン酸脱水素酵素 (E_1 , 酵母のピルビン酸脱炭酸酵素に相当)、ジヒドロリポイルアセチル転移酵素 (E_2)、ジヒドロリポイル脱水素酵素 (E_3) である。また補酵素としては TDP, FAD, CoA, NAD, リポ酸を必要とする (最後のリポ酸は微生物のビタミンであるが、動物では合成できる)。そしてこれらの酵素、補酵素はすべて一つの酵素複合体として組織化されていることが知られている (複合体はテキサス大学のリード (Lester James Reed, 1925-) らによって初めて分離され、詳細に研究された⁶¹⁾)。

段階

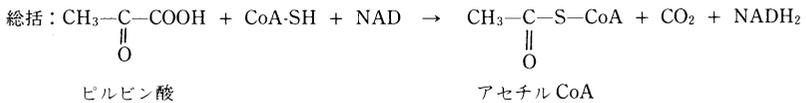
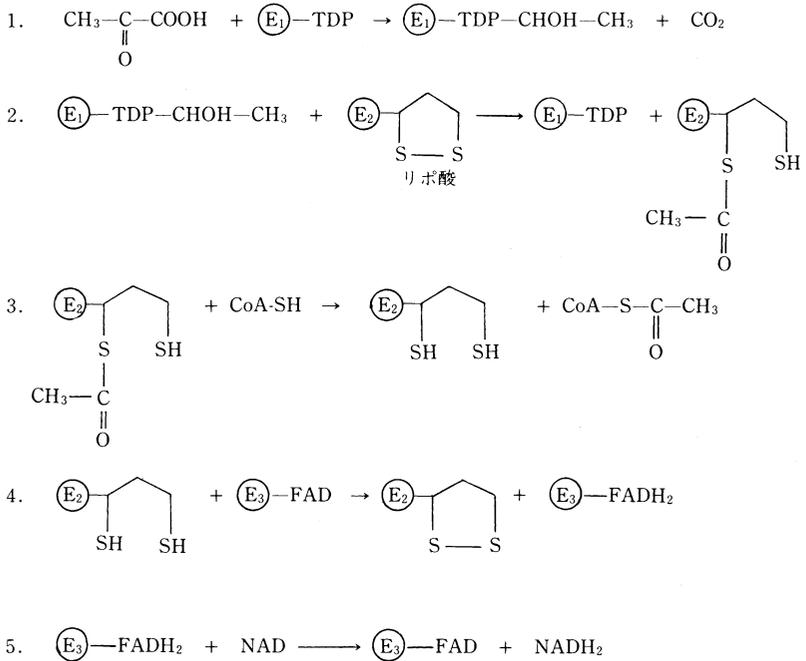


図 16. ピルビン酸脱水素酵素複合体によるピルビン酸のアセチル CoA への脱炭酸、脱水素反応

複合体の芯になっているジヒドロリポイルアセチル転移酵素 (E₂) はピルビン酸脱水素酵素 (E₁) とジヒドロリポイル脱水素酵素 (E₃) を結合しており、また E₁ は TDP を、E₂ はリポ酸を、E₃ は FAD をそれぞれ補酵素として結合している。

反応過程を図 16 にしたがってごく簡単に説明すると、まず段階 1 で、ピル

ピルビン酸は E_1 に結合した TDP のチアゾール環に反応・結合してカルボキシル基を炭酸ガスにして失い、 E_1 は次の段階 2 で、この TDP から水素とアセチル基を E_2 の酸化型リポ酸に転移する。段階 3 では、CoA がアセチル基と反応して、アセチル CoA になると同時に還元型リポ酸を生成する。段階 4 では、 E_2 の還元型リポ酸は E_3 によって酸化され、もとの酸化型リポ酸に復帰する。同時に E_3 の FAD は $FADH_2$ に還元される。最後の段階 5 で、 E_3 の $FADH_2$ の水素は NAD に渡され、 $NADH_2$ を生成する。総括すると、この連続反応によってピルビン酸と CoA と NAD からアセチル CoA (活性酢酸) と炭酸ガスと $NADH_2$ を生成したことになる (この $NADH_2$ は、水素伝達系の初発反応であり FMN を補酵素とする $NADH_2$ 脱水素酵素(上述)に水素を渡して、もとの NAD にもどる)。

以上、糖代謝の流れを中心に、とくにピルビン酸代謝に焦点を合わせて、いくつかの補酵素とビタミンの働きについて眺めてきた。補酵素とビタミンの出会いがいかに活気溢れるものであったかがよく分かるのである。生化学はこの出会いによって爆発的にその内容を広め、深めてきたのである。

補酵素には、さらにビタミン B_6 を中心にすえるもの、葉酸を中心にするもの、ビタミン B_{12} をすえるもの、ビオチンをすえるもの、などその数はさらに多くなる。そして、その活躍の舞台もさらに蛋白質・アミノ酸代謝、核酸代謝、ミネラル代謝にまで拡大されるのである。こうなると、それを説明することは、もう本小論の目的を逸脱することであり、内容がほとんど現代生化学の内容そのものになってしまうのである。

本小論の目的は、ブッフナーの無細胞発酵の研究と高木兼寛の脚気の栄養学的研究が源流になって、その二つの流れがいかに生化学の生成・発展に寄与してきたかを大筋において眺めてみることであった (図 17 参照)。その意味では以上の記述で十分であると思われる。

7. 再びブッフナーと高木兼寛について

すべての歴史には共通な一つの型があるといわれる。始めに草創期があり、次いで発展期、定常期が続き、やがて退潮期が訪れる。そしてそれぞれの時代には、それぞれに適した人材が求められ、それぞれに相応しい人物が栄光の座につくといわれる。

科学の世界でもその草創期に求められる人物は、能吏型の学者であるよりはむしろ（言葉は悪いが）山師型の学者であるといわれる。広漠たる原野に鉱脈を探りあてる才能は、山師としての勘であり、能吏としての几帳面さではない。しかし、いったん発見された鉱脈から鉱石を掘り出すのは能吏の仕事であり、山師の仕事ではない。事業が発展するにつれて、発見者としての

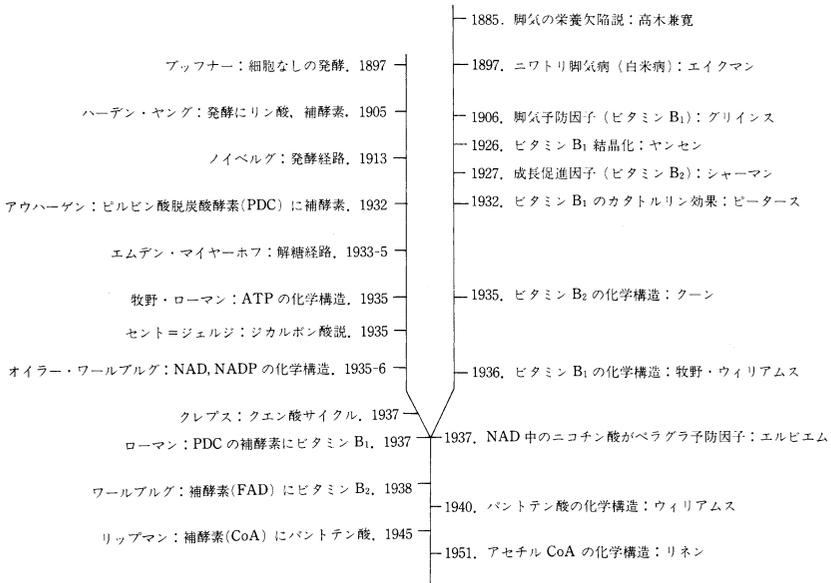


図 17. ブッフナーの研究と高木兼寛の研究を源流とみる生化学の発展史

役割は減り、彼に期待するものはなくなるのである。

生化学の草創期、ビタミン学の草創期に現れた先駆者として、筆者はブッフナーと高木兼寛をおいた。そしてそれを源流として、二つの流れがいかに隆盛に生化学を築いてきたかを眺めてきた。

この二人には、先駆者らしい共通な型破りの性格がみとめられる。

ブッフナーの無細胞発酵の成功は現代分子生物学の原点であるといわれる。「細胞なしに、生命なしに発酵はない」というパストゥールの学的権威がまだ完全に生きているときに、彼は「生命をもたない酵素(チマーゼ)」こそが発酵をおこすもとだと云いはじめたのである。鉦脈を探る勘は鋭く冴えていた。そして、その後長く彼は生氣論にとどめをさした化学者として高い評価をうけてきたのである。

高木の場合も、パストゥール、コッホらの細菌病理学の権威が完成されつつある時代に、脚気は栄養の欠陥によっておこるといふ、まことに珍妙な学説を提出した。激しい誹謗と中傷をうけたのは当然であった。しかし、彼の鉦脈の勘はまさに当たっていたのである。現在、ビタミンへの扉を最初に開いた先覚者として国際的に高い評価をうけている。

それ以後の二人の生き方もまことに興味深い。能吏型の生き方ができないのである。

無細胞発酵を発見してから13年後(1910)、ブッフナーは、フランス化学会の招きで、発酵についての特別講演を行っている。すでにその頃は、ハーデン、ノイベルグら能吏型研究者によって、発酵は多くの酵素によって、また補酵素やリン酸の参加のもとに進行することが明らかになっていたが、彼はこれらの事実を認めることができなかった。講演のなかで彼は、酵素はチマーゼ一つしかなく、また補酵素は存在せず、リン酸の関与もないと述べている。この考えは、彼がこの世を去るまで変わることはなかった。

高木の場合も同じようであった。彼は、脚気の栄養説をだした1883年以来、脚気の予防策として蛋白質の多い麦飯を推奨していたが、エイクマン、マッカラムらによって脚気はビタミンB欠乏症であることが明らかになってからも、麦飯は蛋白質が多いから脚気を予防できると講演し続けた。彼もまた

能吏型研究者についていくことができなかつたのである。

二人とも能吏型の研究をさけ、別の世界に進んでいった。

ブッフナーは1917年7月、ドイツ陸軍少佐として東部戦線（第一次世界大戦）に出征した。彼はもう還暦に近い年であったのに、喜々として若者のごとく戦場に赴いたといわれる。そして間もなくそこで戦死するのである。

高木の場合は、その後脚気の予防の実践活動に、また医学校、病院を設立して国民医療の実践に向かつていった。彼は、むしろこの領域でも十二分に本領を發揮することができたのである。

この最後の違いは、化学者であったブッフナーと医学者であった高木との違いであろうか。

この小論を書き終って、ある因縁めいたものを感じている。

脚気が栄養素・ビタミン B₁ の欠乏によっておこる疾患であり、またビタミン B₁ の作用が主にピルビン酸脱炭酸酵素の補酵素になることであることはくり返し述べた通りであるが、その因縁めいた話というのは、脚気栄養欠陥説の高木が創設した慈恵医大に、脚気予防因子・ビタミン B₁ の最終的構造式を提出した牧野堅が医化学教授として招へいされたことであり、またその前任者・永山武美がすでにノイベルグの研究室でピルビン酸脱炭酸酵素の普遍性を明らかにしていたことである。しかもこの三人の業績の間には何ら必然的な関係がなかつたのである。牧野の業績は高木の没後満州の大連病院でなされたものであり、また永山の業績はまだビタミンという言葉さえない時代の発酵過程の研究にすぎなかつたのである。

この三人が時期こそちがえ同じ医学校で教鞭をとっていたことがどうしても偶然とは思えないのである。

文 献

- 1) Pasteur L. Memoire sur la fermentation alcoolique. Ann Chim 3e Ser 1860; 58: 1083.
- 2) Buchner E. Alkoholische Gaehrung ohne Hefezellen (Vorlaeufige Mittheilung). Ber Deut Chem Ges 1897; 30: 117-24.

- 3) Harden A, Young WJ. The alcoholic ferment of yeast-juice. Proc Roy Soc 1906; B77: 405-520.
- 4) Neuberg C, Kerb J. Ueber zuckerfreie Hefegaerungen. Biochem Z 1913; 53: 406-19.
- 5) Nagayama T. Ueber die Zerlegung der Brenztraubensaure durch verschiedene Pilze. Biochem Z 1921; 116: 303-6.
- 6) Meyerhof O. Ueber die enzymatische Milchsaeurebildung im Muskelextrakt (I). (II). Biochem Z 1926; 178: 395-418, 462-90.
- 7) Meyerhof O. Ueber die enzymatische Milchsaeurebildung im Muskelextrakt (III). Biochem Z 1927; 183: 176-215.
- 8) Emden G, Laquer F. Ueber die Chemie des Lactacidogens (III). Z Physiol Chem 1921; 113: 1-9.
- 9) Meyerhof O, Kiessling W. Ueber den Hauptweg der Milchsaeurebildung in der Muskulatur. Biochem Z 1935; 283: 83-113.
- 10) Warburg O, Christian W. Pyridin, der wasserstoffuebertragende Bestandteil von Gaerungsfermenten (Pyridin-Nucleotide). Biochem Z 1936; 287: 291-328.
- 11) Euler HV. Die Cozymase. Erg Physiol 1936; 38: 1-30.
- 12) Fiske CH, Subbarow Y. Phosphorus compounds of muscle and liver. Science 1929; 70: 381-2.
- 13) Lohman K. Ueber die Pyrophosphatfraktion im Muskel. Naturwissenschaften 1929; 17: 624-5.
- 14) Makino K. Ueber die Konstitution der Adenosin-Triphosphorsaure. Biochem Z 1935; 278: 161-3.
- 15) Lohmann K. Konstitution der adenylypyrophosphorsaure und adenosindiphosphorsaure. Biochem Z 1935; 282: 120-3.
- 16) Meyerhof O, Lohmann K. Ueber die Energetik der anaeroben Phosphagensynthese ("Kreatinphosphorsaure") im Muskelextrakt. Naturwissenschaften 1931; 19: 575-6.
- 17) Parnas JK, Ostern P, Mann T. Ueber die Verkettung der chemischen Vorgaenge im Muskel. Biochem Z 1934; 272: 64-70.
- 18) Needham DM, Pillai RK. The coupling of oxido-reductions and dismutations with esterification of phosphate in muscle. Biochem J 1937; 31: 1837-51.
- 19) Warburg O, Christian W. Isolierung und Kristallisation des Proteins des oxydierenden Gaerungsferments. Biochem Z 1939; 303: 40-68.
- 20) Wieland H. Ueber den Verlauf der oxydationsvorgaenge. Ber Chem Ges 1922; 55: 3639-48.
- 21) Warburg O. Ueber die Grundlagen der Wielandschen Atmungstheorie. Biochem Z 1923; 142: 518-23.
- 22) Keilin D. On cytochrome, a respiratory pigment, common to animals, yeast, and higher plants. Proc Soc 1925; B98: 312-39.

- 23) Thunberg T. Zur Kenntnis des intermediaeren Stoffwechsels und der dabei wirksamen Enzyme. *Skand Arch Physiol* 1920 ; 40 : 1-91.
- 24) Szent-Györgyi A. Observation on the function of peroxidase system and the chemistry of the adrenal cortex : description of a new carbohydrate derivative. *Biochem J* 1928 ; 22 : 1387-409.
- 25) Krebs HA, Johnson WA. The role of citric acid in intermediate metabolism in animal tissues. *Enzymologia* 1937 ; 4 : 148-56.
- 26) Dakin HD. The mode of oxidation in the animal organism of phenyl derivatives of fatty acids : part V. Studies on the fate of phenylvaleric acid and its derivatives. *J Biol Chem* 1909 ; 6 : 221-33.
- 27) Engelhardt VH. Die Beziehungen zwischen Atmung und Pyrophosphatumsatz in Vogelerthrocyten. *Biochem Z* 1932 ; 251 : 343-68.
- 28) Ochoa S. "Coupling" of phosphorylation with oxidation of pyruvic acid in brain. *J Biol Chem* 1941 ; 138 : 751-73.
- 29) Takaki K. On the cause and prevention of kakke. *Transactions Sei-I-Kwai* 1885 ; 4 (Suppl) : 29-37.
- 30) Takaki K. Three lectures on the prevention of health amongst the personnel of the Japanese Navy and Army. *Lancet* 1906 ; 1 : 1369-74, 1451-5, 1520-3.
- 31) Pekelharing CA, Winkler C. Mittheilungen ueber die Beri-Beri. *Dtsch Med Wochenschr* 1887 ; 13 : 845-8.
- 32) 緒方正規. 脚気病毒発見. *東京医事新誌* 1885 ; 367 : 454-7, 368 : 492-7, 369 : 517-22.
- 33) Kitasato S. Pekelharing CA, Winkler C. Mittheilungen ueber Beri-Beri. *Centralbl Bakt* 1888 ; 2 : 77-9.
- 34) 北里柴三郎. 緒方氏の脚気「バチレン」説を読む. *中外医事新報* 1889 ; 212 : 57-9.
- 35) Jansen BCP. Early nutritional researches on beriberi leading to the discovery of vitamin B₁. *Nutr Abstr Rev* 1956 ; 26 : 1-14.
- 36) Kik MC. Gerrit Grijns. *J Nutr* 1957 ; 62 : 3-12.
- 37) Hopkins FG. The analyst and the medical man. *Analyst* 1906 ; 31 : 385-97., Feeding experiments illustrating the importance of accessory factors in normal dietaries. *J Physiol* 1912 ; 44 : 425-60.
- 38) McCollum EV, Davis M. The nature of the dietary deficiencies of rice. *J Biol Chem* 1915 ; 23 : 181-230., McCollum EV, Kennedy C. The dietary factor operating in the production of polyneuritis. *J Biol Chem* 1916 ; 24 : 491-502.
- 39) Drummond JC. The nomenclature of the so-called accessory food factors (vitamins). *Biochem J* 1920 ; 14 : 660.
- 40) Williams RR. Structure of vitamin B. *J Am Chem Soc* 1935 ; 57 : 229-30.
- 41) Windaus A, Tschesche R, Grewe R. Ueber das antineuritische Vitamin. *Z Physiol Chem* 1935 ; 237 : 98-104.
- 42) Makino K, Imai T. Bemerkung ueber die Chemie des antineuritische Vita-

- mins. Z Physiol Chem 1936 ; 239 : i.
- 43) Williams RR. Structure of vitamin B₁. J Am Chem Soc 1936 ; 58 : 1063-4., Synthesis of vitamin B₁. J Am Chem Soc 1936 ; 58 : 1504-5.
 - 44) Grewe R. Ueber das antineuritische Vitamin. Z Physiol Chem 1936 ; 242 : 89-96.
 - 45) Collazo JA, Bayo CP. Ueber die Wirkung der B-Vitamin und des Insulins auf die Kohlenhydrat-Stoffwechselstoerungen bei Mangel an B-Vitamin. Biochem Z 1931 ; 238 : 335-50.
 - 46) Gavrilescu N, Meilejohn AP, Passmore R, Peters R. Carbohydrate metabolism in birds : the site of the biochemical lesion in avian polyneuritis. Proc Soc Lond 1932 ; B110 : 431-47.
 - 47) Sherman WC, Elvehjem CA. In vitro studies on lactic acid metabolism in tissues from polyneuritic chicks. Biochem J 1936 ; 30 : 785-93., The effect of polyneuritis in chicks upon the in vivo rate of removal of pyruvate injected intravenously. J Nutr 1936 ; 12 : 321-8.
 - 48) Auhagen E. Co-Carboxylase, ein neues Co-Enzym der alkoholischen Goerung. Biochem Z 1932 ; 204 : 149-67.
 - 49) Lohmann K, Schuster P. Untersuchungen ueber die Cocarboxylase. Biochem Z 1937 ; 294 : 188-214.
 - 50) Banga I, Ochoa S, Peters RA. CXXXV. Pyruvate oxidation in brain. VI. The active form of vitamin B₁ and the role of C₄ dicarboxylic acids. Biochem J 1939 ; 33 : 1109-21.
 - 51) Lipmann F. Acetylation of sulfanilamide by liver homogenates and extracts. J Biol Chem 1945 ; 160 : 173-90.
 - 52) Novelli GD, Schmetz FJ, Kaplan NO. Enzymatic degradation and biosynthesis of coenzyme A. J Biol Chem 1954 ; 206 : 533-45.
 - 53) Lynen F, Reichert E. Zur chemischen Struktur der "aktivierte Essigsaeure". Angew Chem 1951 ; 63 : 47-8.
 - 54) Williams RJ, Major RT. The structure of pantothenic acid. Science 1940 ; 91 : 246.
 - 55) Elvehjem CA, Madden RJ, Strong FM, Woolley DW. Relation of nicotinic acid and nicotinic acid amide to canine black tongue. J Am Chem Soc 1937 ; 59 : 1767-8.
 - 56) Goldberger J, Wheeler GA. Experimental black tongue of dogs and its relation to pellagra. Publ Healthl Rep 1928 ; 43 : 172-217.
 - 57) Kuhn R, Reinemund K, Weygand F, Stroebele R. Ueber die Synthese des Lactoflavin (Vitamin B₂). Ber Deut Chem Ges 1935 ; 68 : 1765-74.
 - 58) Karrer P, Schoepp K, Benz F. Synthesen von Flavin. Helv Chim Acta 1935 ; 18 : 426-9.
 - 59) Theorell H. Das gelbe Oxydationsferment. Biochem Z 1935 ; 278 : 263-90.
 - 60) Warburg O, Christian W. Isorierung der prosthetische Gruppe der d-Aminosaeureoxydase. Biochem Z 1938 ; 298 : 150-68., Bemerkung ueber

gelbe Fermente. Biochem Z 1938 ; 298 : 368-77.

- 61) Reed LJ. Multienzyme Complexes. Acc Chem Res 1974 ; 7 : 40-6.