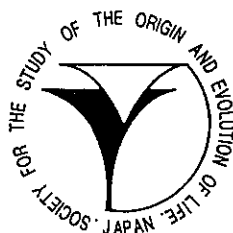


Viva Origino

VOL.23 (No.1)

March 1995

第20回学術講演会 講演要旨集



The Society for the Study of the Origin
and Evolution of Life
JAPAN

生命の起原および進化学会 会則

地球上における生命の起原を科学的に解明することと、生物進化の究明により、生命体の本質を明らかにしようとする。本学会は、関係諸分野の英知を集め、互の連繫によって新しい型の総合科学を確立・発展させることにより、上記の目的達成を期するものである。

第一条 本学会は、生命の起原および進化学会 (Society for the Study of the Origin and Evolution of Life-Japan, SSOEL-Japan) という。

第二条 本学会は、会員の生命の起原および進化の研究の発展と、日本における当該研究の開拓・推進をはかり、関連学(協)会および、多くの人々の当該研究に対する理解を深め、もって学術・文化の発展に寄与するものとする。

第三条 本学会は、前条の目的達成のため次の事業をおこなう。

1. 研究発表会・学術講演会の開催
2. 学会誌等の出版物の刊行
3. その他前条の目的達成のため必要な事業

第四条 本学会は前条の事業をおこなうため事務局をおくる。

第五条 本学会の会員は、正会員と賛助会員とし、入会手続きは別途定める。

第五条の2 正会員は、第二条に示す研究に従事する個人で、学会が承認したものとする。

第五条の3 賛助会員は、本学会の目的に賛同し、その事業を援助する個人または個体で学会が承認したものとする。

第六条 会員は、別途定められた会費等の費用を前納しなければならない。定められた期間以上これらを滞納した場合は、会員の資格は消失するものとする。

第七条 会員は、本学会のおこなう事業に参加し、本学会発刊の学会誌 Viva Origino その他印刷物の配布をうけることができる。

第八条 本学会は、会長1名、副会長1～2名および学会運営委員(以下委員と略す)を若干名、会計監査2名をおくものとする。

第九条 委員および会計監査は、正会員の互選による。選出された委員は学会運営委員会(以下委員会と略す)を構成し、学会運営の任にあたる。

第十条 会長・副会長は委員会が正会員の中から選出する。

第十一条 会長・副会長・委員・会計監査の任期は2年とする。

第十二条 委員会は、学会運営および学会事業をおこなうため、委員長1名、常任委員若干名を選出し、学会運営常任委員会(以下常任委員会と略す)を構成し、その任にあたらせるものとする。

第十三条 会長は学会を代表し、学会運営は委員長が総括の任にあたる。

第十四条 常任委員会は、必要なとき委員会を招集し、本学会に関する諸事項を審議・決定する。

第十五条 常任委員会は、正会員の中から専門委員を委嘱し、本学会に関する諸事項を諮問することができる。

第十六条 委員会において、本学会員として不適当と決議されたものは、会員の資格を消失するものとする。

第十七条 会員の退会届け者および会員資格消失者については、常任委員会は退会手続きをとるものとする。

第十八条 本学会は、年1回定期総会を開き、必要なときは臨時総会を開くものとする。

第十九条 本学会会則の改正は、会員の3/4以上の出席の総会において3/4以上の同意を要する。

学会入会手続きに関する付則

1. 入会申し込み書に必要事項を記入し、常任委員会へ提出のうえ会員資格の承認をうける。
2. 会員としての資格を承認されたものは、すみやかに所定の入会金、会費(1年分)、学会誌購読料(1年分)を事務局へ納入する。
3. 上記費用の納入されたものについて、常任委員会は入会手続きをとり、会員として登録する。
4. 本学会の入会は推薦によりおこない、委員会で承認する。

会費その他に関する付則

1. 入会金(正会員ののみ) 1,000円
2. 会費
正会員 年額 5,000円
賛助会員 年額(1口) 10,000円
3. 学生のための入会金・会費
正会員で、大学または大学院あるいはこれに準じる学校に在学する学生は、在学証明書の添付により、次の特典を与えるものとする。
入会金 500円、会費(年額) 2,500円
4. 学会誌 Viva Origino 購読料 年額 5,000円
但し、会員には無料配布とする。
5. 会費その他の費用の納入の猶予期限は1年以内とする。
6. 会費払込振替口座
(加入者名) 生命の起原および進化学会
(口座番号) 大阪 8-3673

Viva Origino

Vol.23 (No.1)

March 1995

The Society for the Study of the Origin
and Evolution of Life
JAPAN

第20回学術講演会

期 日 1995年3月14日(火)、15日(水)

会 場 愛媛県県民文化会館

〒790 松山市道後町2丁目5-1

大会参加費 参加登録費 一般：4,000円(学生：2,000円)

懇親会参加費 一般：5,000円(学生：4,000円)

第20回大会委員長

村山 徹郎(愛媛大学・理学部)

〒790 松山市文京町2丁目

☎ 0899-24-7111(内線3586)

Fax 0899-23-2545

※講演中の写真およびビデオの撮影はご遠慮ください

プログラム

1995年3月14日(火) 9時50分

大会委員長挨拶

村山徹郎(愛媛大・理)

ポナムベルマ博士を偲んで

大島泰郎(東工大・生命理工)

A 化学進化(1) (10:00~11:00)

司会: 河合建一、川本圭造

1. 宇宙での化学進化のエネルギー

斎藤 威・小林憲正¹・笠松隆志¹

(東大・宇宙線研、¹横浜国大・工) 2

2. 彗星および星間塵環境下での有機物の生成

笠松隆志・金子竹男・小池惇平¹・大島泰郎¹・斎藤 威²

小林憲正(横浜国大・工、東工大¹・生命、²東大・宇宙線研) 4

3. 模擬原始地球大気中で生成するアミノ酸前駆体のキャラクタリゼーション

佐藤 忠・梶嶋 茂・金子竹男・小林憲正(横浜国大・工) 6

4. アセトニトリル-水へのUV照射による生体関連有機化合物の生成について

白倉徳子・三田 肇・下山 晃(筑波大・化学系) 8

B 化学進化(2) (11:00~12:00)

司会: 原田 薫、本多 元

5. アミノ酸熱重合反応の熱的解析

今井栄一・本多 元・松野孝一郎(長岡科技大・生物) 10

6. アミノ酸熱重合物の形成する殻状構造物

杉山敏郎・桜沢 繁・本多 元・今井栄一・松野孝一郎

(長岡科技大・生物) 12

7. アミノ酸熱重合物の温度履歴現象

桜沢 繁・羽田知由・本多 元・今井栄一・松野孝一郎

(長岡科技大・生物) 14

8. マレイン酸モノアミド水溶液の加熱反応

胸組虎胤(小山高専・物質工) 16

休憩 12:00~13:00 (編集委員会)

C 化学進化(3) (13:00~14:00)

司会: 下山 晃・野田春彦

9. メタンとアンモニアからアミノアセトニトリルと2-アミノプロピオ

ニトリルの生成について

森本史郎(徳島大・名誉教授) 18

10. トリメタリン酸によるグリシルグリシンの縮合： Mg^{2+} イオンの触媒効果 山形行雄（金沢工大）・猪股勝彦（金沢大・理）	20
11. 高圧下におけるスメクタイトと共存するアラニンの重合 橋爪秀夫・中沢弘基（無機材研）	22
12. ホモキラルなペプチドの分離と光学活性の発展 胸組虎胤・横田正仁（小山高専・物質工）	24

D 化学進化（4）（14:00～14:45）

司会：石本 真

13. モンモリロナイト存在下でのアルデヒドの縮合物の検討（II） 湯浅精二（大阪大・理）	26
14. 核酸における結合特異性：核酸は何故 3'-5' 結合を持っているか？ 沢井宏明（群馬大・工）	28
15. 放射線照射されたアミノ酸・蛋白質に誘導される酵素類似活性 II 被照射ゼラチンに誘導されるアルカリフォスファターゼ類似活性 赤星光彦・河合建一・隅野照家・田中愛子 川本圭造（京大・原子炉）	30

ミニシンポジウム（A）－火星の生命探査－

（14:45～16:40）（各20分＋総合討論15分）

司会：小林憲正

S _A 1. 火星生命探査計画 斎藤 威（東大・宇宙線研）	34
S _A 2. 原始および現在の火星上での有機物の無生物的生成 小林憲正（横浜国大・工）	36
S _A 3. 火星熱水環境下での化学進化 柳川弘志・小林憲正（三菱化学生命研、横浜国大・工）	38
S _A 4. 火星の生命探査法 河崎行繁（三菱化学生命研、宇宙科学研）	40
S _A 5. 地球外環境と生命－模擬火星環境での微生物生存実験－ 小池惇平・大島泰郎・堀 輝三 ¹ ・片平幸枝 ¹ ・小池和子 ² 田中一裕 ³ ・河崎行繁 ⁴ ・小林憲正 ⁵ （東工大・生命理工、 ¹ 筑波大・生物、 ² 筑波大・医学、 ³ 通産省生命工学技研、 ⁴ 三菱化学生命研、 ⁵ 横浜国大・工）	42

運営委員会（16:40～18:00）

懇親会（18:30～）

1995年3月15日(水)

E 分子進化(1) (9:30~10:30)

司会: 加藤幹男・後藤公彦

16. 好熱好酸性古細菌のアミノアシル tRNA 合成酵素の精製と
生化学的性質の解明
吉村泰一・居原 秀・石神正浩(大府大・総合科) 46
17. 高度好塩菌のアミノアシル tRNA 合成酵素の単離精製と構造解析
居原 秀・石神正浩(大府大・総合科) 48
18. トリプトファナーゼの D-トリプトファンに対する分解活性の機構
木暮ひとみ・穴戸弘子・島田秋彦(筑波大・応生) 50
19. 好気条件下および嫌気条件下で *Enterobacter* sp. が生産する細胞外多糖
島田秋彦(筑波大・応生) 52

F 分子進化(2) (10:30~11:15)

司会: 山本和彦

20. 初期分子進化におけるウイルス的戦略 II
根本直人・伏見 譲(埼玉大・工) 54
21. 糖化学における階層性と生物進化
平林 淳・笠井献一(帝京大・薬) 56
22. 原始タンパク質: 超好熱性古細菌から推理する
大島泰郎(東工大・生命理工) 58

G 分子進化(3) (11:15~11:45)

司会: 佐藤七郎

23. イントロンの起源をめぐって
郷 道子(名古屋大・理) 60
24. ミトコンドリアゲノム構造と生物界間接合からみたミトコン
ドリアの起源・進化
吉田和夫(広島大・理) 62

総会 (11:45~13:15)

G 生物進化(1) (13:15~13:45)

司会: 村山徹郎

25. 希土類元素と細胞との相互作用に関する探索
I. 細胞に対する希土類元素の作用
赤星光彦・田中愛子・高田実弥・川本圭造
河合建一(京大・原子炉) 64

26. 希土類元素と細胞との相互作用に関する探索	
II. 放射化分析による被処理細胞内での希土類元素の動態観察	
高田実弥・田中愛子・隅野照家・川本圭造	
赤星光彦（京大・原子炉）	66

H 生物進化（2）（13:45～14:15）

司会：福村 隆

27. 白亜紀-第三紀境界における地球外有機物について	
三田 肇・福永伸枝・下山 晃（筑波大・化学系）	68
28. チトクロム <i>c</i> の構造からみた独立栄養化学合成細菌の進化的位置	
山中健生・藤原健智 ¹ ・庄子和夫・福森義宏 ¹	
（日大・理工、 ¹ 東工大・生命理工）	70

I 生物進化（3）（14:15～15:00）

司会：福田育二郎

29. 老人性白内障水晶体中の α A-クリスタリンのアスパラギン酸残基の 部位特異的反転と異性化	
藤井紀子（新技術事業団）	72
30. ニワトリ肝臓のミトコンドリアに存在する D-アミノ酸	
長田洋子・藤原照久（姫路工大・理）	74
31. 細菌および古細菌の可溶性タンパク質に含まれる D-アミノ酸 ーホモキラリティ成立時期を探る試みー	
長田洋子・藤原健智 ¹ ・福森義宏 ¹ ・山中健生 ²	
（姫路工大・理、 ¹ 東工大・生命理工、 ² 日大・工）	76

ミニシンポジウム（B）ータンパク質合成系の起原ー

（15:15～16:45）（各20分＋総合討論10分）

司会者：石神正浩

S _B 1. tRNA に共通な CCA末端構造の機能	
田村浩二 ^{1, 2} ・長谷川典巳 ¹ ・朝原治一 ¹ ・行木信一 ¹ ・ 姫野依太 ³ ・清水幹夫 ¹ （ ¹ 宇宙科学研、 ² 理研、 ³ 弘前大・理）	80
S _B 2. リボソームRNA の機能構造	
遠藤弥重太（愛媛大・工）	82
S _B 3. 原始蛋白合成 RNA 装置としてのポリ tRNA 構造	
大西耕二（新潟大・理）	84
S _B 4. 原始タンパク質の起源を探る	
柳川弘志（三菱化学生科研）	86

学会運営委員長挨拶 赤星光彦

お知らせ

1. Cyril Ponnampерuma 博士を悼む	
大島泰郎（東工大・生命理工）	88
2. 宇宙科学シンポジウム	
「21世紀の宇宙サイエンス ―その新たなる飛躍に向けて―」	89
3. 「生命の起源」夏の学校'95 のお知らせ	
「生命の起源および進化学会」若手の会	90

一 般 講 演

(1~15)

1

宇宙での化学進化のエネルギー

Cosmic Ray Energy for Chemical Evolution in Space

斎藤 威(東大・宇宙線研)、小林憲正、笠松隆志(横浜国大・工)

Takeshi Saito(Institute for Cosmic Ray Reserch, University of Tokyo)

Kensei Kobayashi, Takashi Kasamatsu (Department of Physical Chemistry, Yokohama National University)

1. 宇宙線エネルギーの再評価

宇宙線はその頻度が極めて少ないので、化学進化のエネルギーとして無視できるというのが通説であった。しかしながら原始地球大気が酸化型(正確には強い還元型ではない)であったことを前提にする限り、宇宙線は最も有効な化学進化のエネルギーである。従来の常識と対立するこの結論が導かれた理由は;(1)加速器によるシミュレーション実験から、アミノ酸の生成率は、入射した荷電粒子の核種やエネルギー損失に依存せず、ガスに付与した全エネルギーにのみ依存している。即ち、宇宙線的全積分エネルギー、 $[E_T = \int I(E) \cdot E \cdot dE]$ 、ここで $I(E)$ は宇宙線の微分エネルギースペクトル]が有機分子の生成に有効である。従来は頻度が多いという理由で低いエネルギー宇宙線だけが考慮されていたが、頻度は少なくとも高いエネルギー(1~100 GeV)領域のほうが効率が良く、有効エネルギーは、従来考えられていた値よりも1桁大きくなる。

(2) $CO+N_2+H_2O$ を標的ガスとした場合、アミノ酸生成率G-値(例えばグリシン)は、荷電粒子のほうが放電よりも5桁大きい。

これらの実験事実と、自然界の種々のエネルギー流量、生成効率とを考慮に入れると、宇宙線による生体有機分子の絶対生成量は、従来最も効率的と考えられていた放電よりも3桁大きい。

一方宇宙空間ではどうか。彗星の始原物質である直径 $\sim 0.1 \mu m$ の微粒子への宇宙線照射を考える。この場合、高エネルギー宇宙線は氷微粒子を通過するので、付与するエネルギーは $\Delta E = 4\pi \int \int I(E) \cdot (dE/dX) dE dX$ [ここで、 $I(E)$ は星間空間での微分宇宙線スペクトル、 dE/dX は氷中でのエネルギー損失、積分は氷の有効直径 D]となり効率的ではない。一方、氷内で静止する低エネルギー宇宙線が付与するエネルギーは $\Delta E = 4\pi \int I(E) E \cdot dE$ であり、低エネルギー宇宙線が有効となる。原始太陽系星雲を照射した低エネルギー宇宙線の頻度は、地球近傍(1 au)で観測された宇宙線スペクトルから太陽活動の影響を除去して求めることができる。結果を表-1に示す。

2. 化学進化(化学反応)からみたエネルギー損失

ガスを標的した場合、アミノ酸の生成率は、入射粒子のエネルギー損失(dE/dX)には依存しなかった。即ち、ガスを通過する高エネルギー粒子も、ガス中で静止する低エネルギー粒子でもG-値は同じであった。しかし氷など個体では、エネルギー損失の飽和効果が予想され、低エネルギー宇宙線のG-値が低下する可能性がある。事実、 $CH_3OH-NH_3-H_2O(1:1:3$ モル比)の氷、液体、ガスに陽子ビームを照射した場合、例えば、グリシンのG-値では、

氷はガスよりも2桁小さくなった。これが、本当にエネルギー損失の飽和効果なのか、彗星氷の組成でも成り立つのか、現在検証実験中である。

3. 彗星の始原物質で生成される生体有機分子

太陽系原始雲(Dense Cloud)から現在までの太陽系形成の歴史の中で、宇宙線によって生成される彗星氷中の生体有機分子の量を考えよう。標的は、Dense Cloud段階の直径 $\sim 0.1 \mu\text{m}$ の微粒子、直径 $\sim \text{mm}$ のSolar Nebula粒子、そして直径 $1 \sim 100 \text{ Km}$ の彗星である。エネルギー流量($\text{eV}/\text{cm}^2 \cdot \text{sec}$)は、原始雲には星間空間の宇宙線、太陽系内(100 au)では、宇宙線頻度の他、太陽宇宙線、太陽風、アノマリーなども含める。直径 $1 \sim 100 \text{ Km}$ の彗星の 1 cm^3 部分が、始原微粒子段階に宇宙線から付与されたエネルギー $E_T(\text{eV}/\text{cm}^3)$ ($=\Delta E \times S \times T$)、及びこのエネルギー付与量によって生成されたであろうグリシンの量を表-1に示す。ここで、 S は 1 cm^3 彗星氷に相当する微粒子の表面積、 T はそれぞれの過程の期間である。 G -値はガスの実験値より2桁小さい値(10^{-4})を用いている。表に見るように、原始雲の微粒子段階で生成されるグリシン： $\sim 100 \text{ m mol}/\text{cm}^3$ は非常識と云えるほどの多量である。微粒子を総て氷と仮定したが、表面の氷マンツルの厚みを $1/10$ としよう。星間空間での宇宙線頻度の見積に於けるエラーは最大で1桁である。さらに彗星組成氷での G -値として、予備実験で得ている下限値 10^{-6} を用いる。それでも $1 \mu\text{mol}/\text{cm}^3$ である。彗星の黄色味がかった色は生体有機分子の色といってもよさそうである。

4. 化学進化—地球起源か彗星起源か—

原始地球に生成された或いはもたされたグリシンの量を比較してみよう。原始地球大気と宇宙線の相互作用では、1ヘクタールに100万年間に約 $3.6 \times 10^4 \text{ mol}$ ($\text{CO}:\text{N}_2=1:1$ の場合)のグリシンが生成される。 CO と N_2 の分圧(データはない)を考慮すれば、数 100 mol が妥当である。一方彗星の場合、直径 10 Km の彗星が斜入射して1000万分の1の塊が生き残ったとしても、この1回の衝突で $5 \times 10^4 \text{ mol}$ (下限値)のグリシンがもたされる。彗星起源のほうが効率的といっても過言ではない。

表-1：彗星氷でのアミノ酸生成

Phase	Time T Year	Diameter	Energy Flux $\Delta E \text{ eV}/\text{cm}^2 \cdot \text{sec}$	Total Energy $E_T \text{ eV}/\text{cm}^3$	Product mol Gly
Dense Cloud	10^7	$0.1 \mu\text{m}$	3×10^{10}	6×10^{28}	0.12
Solar Nebula	10^6	1 mm	$\sim 10^9$ 100au, T Tauri	2×10^{24}	3×10^{-6}
Planetesimal	10^9	1-100 Km	1.3×10^8	2×10^{26}	4×10^{-4}

$\Delta E = 4\pi \int \int I(E) \cdot (dE/dX) dE dX$ ：宇宙線が微粒子を通過したとき。

$\Delta E = 4\pi \int \int I(E) E \cdot dE$ ：宇宙線が微粒子中で静止したとき。

2

彗星および星間塵環境下での有機物の生成

Formation of Organic Compounds in Cometary and
Interstellar Dusts Environments

笠松隆志、金子竹男、小池淳平、大島泰郎、
斎藤 威、小林憲正 (横浜国大・工)

Takashi Kasamatsu, Takeo Kaneko, Junpei Koike, Tairo Oshima,
Takeshi Saito, and Kensei Kobayashi
(Faculty of Engineering, Yokohama National University)

1. はじめに

星間分子の観測、隕石の分析、彗星の探査などにより、地球圏外にも種々の有機物が存在することが知られている。彗星や隕石は太古からしばしば地球に接近したり、落下したりしており、これらの中有機物は地球上の生命の誕生との関連からも注目されている。今現在、ハレー彗星接近時の探査などから、彗星中にホルムアルデヒドやシアン化水素などの有機物の存在は確実視されているが、アミノ酸が存在するかどうかについてはわかっていない。一方、われわれは、模擬彗星大気（一酸化炭素、アンモニア、水蒸気の混合ガス）に宇宙線の主成分である陽子線を照射した際、その生成物の酸加水分解物中にアミノ酸が存在することを見いだした[1]。そこで、10K程度に冷却できるクライオスタットを作成し、彗星環境を模した室内実験を行い、彗星環境でアミノ酸が無生物的に生成し得るかどうかを検討した。また、同一成分において気相、液相、固相で陽子線照射を行い、それぞれの系におけるアミノ酸の生成の比較も行った。

2. 実験

(1) 模擬彗星大気への陽子線照射

一酸化炭素、アンモニア各350Torrを含む混合気体をガラス製容器(850mL)に入れ、水1mLの存在および非存在下で、東京工業大学のVan de Graaff加速器から陽子線(2.5~4.0MeV)を照射した。照射後、水の存在しないものには水を添加し、水相の生成物を酸加水分解した後、高速液体クロマトグラフ法(アミノ酸分析計)で分析した。

(2) 彗星核を模した混合アイスへの陽子線照射

ターボ分子ポンプを用いて 10^{-5} ~ 10^{-6} Torr程度に減圧したクライオスタット内部に取り付けられている金属板に、ガス混合装置(小島製作所)によって混合された一酸化炭素、アンモニア、水蒸気の混合ガスを吹き付けアイスをつくった。そのアイスに東京工業大学のVan de Graaff加速器から陽子線(2.8MeV)を照射し、その後クライオスタット内部を室温に戻して、金属板上に残った成分を水に溶かして回収した。この溶液の一部を酸加水分解した後、高速液体クロマトグラフ法(アミノ酸分析計)で分析した。

(3) 固相、液相、気相における陽子線照射でのアミノ酸の生成量の比較

メタノール、アンモニア水の混合液(モル比 1:3)をガラスチューブに入れて封じ、照射試料とした。温度を液体窒素、水浴、湯浴を使って調節することによって、固体、液体、気体(試料の量は液体状態で、それぞれ8mL、8mL、10 μ L)の状態をつくりだし、東京大

学原子核研究所のSFサイクロトロンから陽子線(35MeV)を照射した。照射後、生成物の一部を酸加水分解し、高速液体クロマトグラフ法(アミノ酸分析計)で分析した。

3. 結果・考察

模擬彗星大気実験と模擬彗星核実験におけるアミノ酸の収率を表1に、メタノール・アンモニア水の各相への照射実験によるアミノ酸の収率を表2に示す。

表1. 模擬彗星大気実験と模擬彗星核実験におけるアミノ酸の収率

	出発物質			アミノ酸の収率 (G値 $\times 10^5$)		
	CO	NH ₃	H ₂ O	Gly	Ala	β -Ala
模擬彗星核実験	48.6mL/h	37.2mL/h	28.6mL/h	0.005	0.002	0.001
	3.5mL/h	2.5mL/h	3.5mL/h	0.001	-----	-----
模擬彗星大気実験	350Torr	350Torr	-----	35.3	12.9	-----

表2. メタノール・アンモニア水混合物の陽子線照射における各相でのアミノ酸の収率

		アミノ酸の収率 (G値 $\times 10^5$)		
		Gly	Ala	β -Ala
固	相	62.1	61.3	25.3
液	相	15.3	2.70	3.16
気	相	2310	349	-----

それぞれの実験において、グリシンをはじめとするアミノ酸の生成が確認され、彗星や星間塵(『氷』の状態)でも宇宙線によりアミノ酸前駆体が生成することが示唆された。宇宙線フラックスと『氷』の衝突断面積から計算すると、分子雲中の星間塵上でのアミノ酸前駆体の生成が一番多いと考えられる[2]。

表2の結果から、気相と液相・固相の収率の差は最大二桁程度であり、これは固体中での陽子線照射生成物の分解や、固体中で陽子線が届く範囲内での出発材料の減少などが原因であると考えられる。また、模擬彗星核実験と模擬彗星大気実験(表1)においては四桁ほど差がある。これは、上記の理由の他に、10Kぐらいの温度ではCOがしっかり凍結できないことなどで模擬彗星核が均一になっていないなどが原因と考えられる。

今後は、均一な模擬彗星核を作成し、原始地球上での生命の起源における彗星の寄与に関して定量的に議論できるようにしたいと考えている。

参考文献

- [1] Kobayashi, et al., Adv. Space Res., 15, 127-130(1995).
- [2] Kobayashi, et al., Adv. Space Res., in press.

3

模擬原始地球大気中で生成するアミノ酸前駆体のキャラクタリゼーション

Characterization of Amino Acid Precursors,
Formed in Simulated Primitive Earth Atmospheres.

佐藤 忠、梶嶋 茂、金子 竹男、小林 憲正
(横浜国大・工)

Tadashi Sato, Shigeru Kajishima, Takeo Kaneko,
and Kensei Kobayashi
(Faculty of Engineering, Yokohama National University)

はじめに

原始地球大気をモデルしたものに放電、紫外線、陽子線などのエネルギーを加えてできた生成物を酸加水分解したものの中にアミノ酸などの生体関連分子が存在することは確認されている。アミノ酸の生成における中間体としてアルデヒド、シアン化水素、アンモニアなどが広く考えられている。本研究においては種々の組成の模擬原始大気をに陽子線(宇宙線主成分)エネルギーを加え、アミノ酸やその中間体の生成についての検討を行なった。さらに、陽子線の照射による生成物の酸加水分解前の物質からはアミノ酸はほとんど検出されることはなく、“アミノ酸前駆体”が生成していると考えられるがその構造については明らかになっていない。そこでアミノ酸前駆体のキャラクタリゼーションを試みた。

実験

①陽子線照射

一酸化炭素(二酸化炭素)、メタン、窒素などの混合ガス700Torrと水20mL(22°Cで蒸気圧は20Torr)をガラス製容器につめて東京工業大学のVan de graaff加速器からの陽子線(2.5~3.0MeV)を照射した。ガスの組成は表1に示す。

②照射によってできた生成物中のアミノ酸及びアミノ酸中間体の測定

照射後ガラス製容器から試料をとりだし生成物中の水溶成分の分析をおこなった。アルデヒド・・試料をジニトロフェニルヒドラジンで誘導体化し、逆相HPLCを用いて測定した。シアン化物イオン・・試料を 10^{-2} MNaOHで希釈したものにイオン強度調整剤を加えてpH13に保ち、遊離のシアン化物イオンをシアン電極を用いて測定した。アミノ酸・・試料を6M HClで110°C24時間の酸加水分解をした後、アミノ酸分析計で測定した。

③アミノ酸前駆体のキャラクタリゼーションのための前処理

試料をアミノ酸分析計を用いて保持時間により分画(A:3~15分、B:15~25分、C:25~33分、D:33~45分、E:45~55分)した(図1)。各分画を6M HClで110°C24時間の加水分解後、アミノ酸分析計で分析して各分画中のアミノ酸生成量を調べた。さらに各分画したものの逆相HPLCによる分離を試みた。

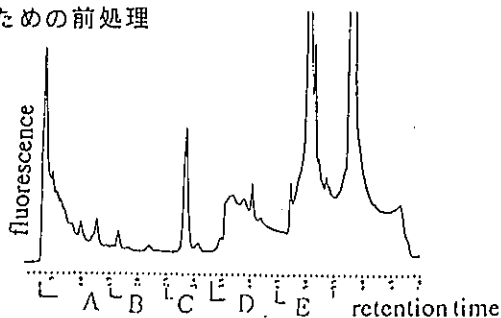


図1 アミノ酸分析計による加水分解前の陽子線照射生成物のクロマトグラム

結果・考察

ガスの組成を変化させたときのホルムアルデヒド、シアン化水素、グリシンのG値(100eVあたりの生成分子数)を表1に示す。 $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ に照射したした場合のホルムアルデヒドのG値は $\text{CO} + \text{H}_2\text{O}$ の場合より約2桁低下した。これは放電実験などで得られる結果と同じように還元型のガスの方が低分子有機化合物の生成に大きな影響を与えているといえる。 $\text{CO} + \text{N}_2 + \text{H}_2\text{O}$ の場合は $\text{CO} + \text{H}_2\text{O}$ のときよりG値(HCHO)が小さくなる。生成したアルデヒドが窒素化合物と反応しているということが考えられる。 $\text{CO}_2 + \text{N}_2 + \text{H}_2\text{O}$ の場合は $\text{CO} + \text{N}_2 + \text{H}_2\text{O}$ のときと比べて約3%のHCN、約40%のHCHOが生成する。生成量は小さくなるが、 CO_2 主体の原始大気でもHCN, HCHOが生成して海水中に溶け込んだ可能性が示唆される。

表1 各ガス組成におけるG値(100eVあたりの生成分子数)

CO_2	CO	CH_4	N_2	H_2O	HCHO	HCN	Gly
0	350	0	350	20	0.0079	0.1100	0.0560
0	467	0	233	20	0.0820	0.0830	0.0088
0	525	0	175	20	0.0300	0.0340	0.0047
0	0	350	350	20	0.0130	0.1200	0.0240
350	0	0	350	20	0.0021	0.0033	N.D.*
0	700	0	0	20	0.1300	-----	-----
700	0	0	0	20	0.0021	-----	-----

(Torr)

※Not Determined

イオン交換法により分画後、各分画を加水分解し、生成するアミノ酸を定量した結果を表2に示す。グリシンのStrecker型前駆体(アミノアセトニトリル、グリシンアミド)はE分画に含まれるはずであるが、その割合はグリシン前駆体のたかだか14%であることが分かる。加水分解前のA分画からはアミノ酸はほとんど検出されていないが、加水分解後A分画からは種々のアミノ酸が検出された。特にグリシンの全生成量のうち約70%はA分画由来である。つまりアミノ酸前駆体の多くはこの分画中に存在する高分子量分子(重合物)であり、このようなアミノ酸の重合物がアミノ酸分析計の陽イオン交換樹脂に保持されずに溶出されたものと考えられる。今後この分画中に含まれるアミノ酸前駆体を逆相HPLC法、質量分析法などによりキャラクタリゼーションする予定である。

表2 各分画の加水分解後のアミノ酸の生成割合(%)

	A	B	C	D	E
Asp	38.9	11.9	19.0	23.7	6.50
Thr	22.3	15.3	23.6	29.8	9.00
Ser	36.4	16.5	24.5	15.7	6.90
Gly	68.9	4.50	7.00	5.60	14.0
Ala	36.9	24.7	14.4	16.8	7.20

4

アセトニトリル・水へのUV照射による生体関連有機化合物の生成について

白倉 徳子・三田 肇・下山 晃

(筑波大学 化学系)

Formation of bioorganic compounds from acetonitrile solution by UV irradiation.

Noriko Shirakura, Hajime Mita and Akira Shimoyama

(Department of Chemistry, University of Tsukuba)

【緒言】簡単な有機化合物を含む系にエネルギーを与えて、生体関連の有機化合物を生成させることは、化学進化の過程を考察するうえで重要である。

アセトニトリルは、彗星核近傍¹⁾や、星間分子雲中²⁾にも観測されており、始原的な分子であると考えられる。このため、アセトニトリルと水の系に放射線を照射し、グリシン、D,L-アラニン、D,L-アスパラギン酸などのアミノ酸の生成を確認した報告がある³⁾。そこで本研究では、紫外線を利用し、アセトニトリルと水からアミノ酸およびカルボン酸が生成するか、もし生成すればどのような特徴を示すかについて調べた。

また、紫外線は有機物の生成に寄与するが、分解も起こすと考えられる。そこで、生成したアミノ酸が、紫外線によってどのように変化するかを検討するために、分解およびラセミ化についても調べた。

【実験】温度273Kで1mMアセトニトリル水溶液に、低圧水銀燈による紫外線（主に254nmおよび185nm, 3×10^{18} photon/sec.）を照射した。アミノ酸の生成を調べる実験では、照射後の溶液を乾燥後、15% iPrOH-HClで、次にTFAAで誘導化し、GC-MSで同定と定量を行なった。GCには光学活性なカラムを使用し、アミノ酸の光学分割も行なった。また、液体窒素で凍結した100mMアセトニトリル水溶液に、紫外線を照射し、同様に生成したアミノ酸について分析した。

モノカルボン酸の生成では、照射後の溶液を濃縮後、 CH_2Cl_2 で抽出した。ジカルボン酸の生成では濃縮した試料を、15% BF_3 -MeOHで誘導化し、ベンゼンで抽出した。分析はGC-MSにて行なった。

また、アミノ酸の分解とラセミ化について調べる実験では、グリシン水溶液、D-およびL-アスパラギン酸水溶液（濃度は各0.1mM）を出発物質とし、紫外線を照射した試料のアミノ酸について同様に分析した。

【結果】273Kでアセトニトリル水溶液に紫外線照射を1時間行なった試料から、 C_2 から C_6 のアミノ酸、モノカルボン酸およびジカルボン酸を検出した。アミノ酸のMFのチャートをFig.1に示した。検出したアミノ酸にはタンパク性のものと非タンパク性のものが含まれ、光学異性体のあるアミノ酸はラセミ体であった。アミノ酸もカルボン酸も、炭素数の増加とともに生成量が指数関数的に減少する傾向が見られた（Fig.2）。これらの特徴は、隕石中に検出されているこれらの有機物の傾向とよく類似している。77Kでの照射では、グリシンおよびD-,L-アラニンが生成した。

アミノ酸の分解を調べる実験では、出発物質のアミノ酸の濃度が、時間とともに減少し、紫外線によって分解することがわかった。

D-アスパラギン酸水溶液の照射では、L-アスパラギン酸が生成し、紫外線によってラセミ化が起こったと考えられる。L-体の水溶液の照射では、対掌的な結果が得られた。

以上の結果は、紫外線照射により簡単な化合物からアミノ酸やカルボン酸が容易に生成することを示しており、化学進化の研究に有用な知見を与える。また、生成したアミノ酸が必ずしも安定に存在しないことがわかり、やはり、化学進化の過程を考察するうえで、有用な情報であると考ええる。

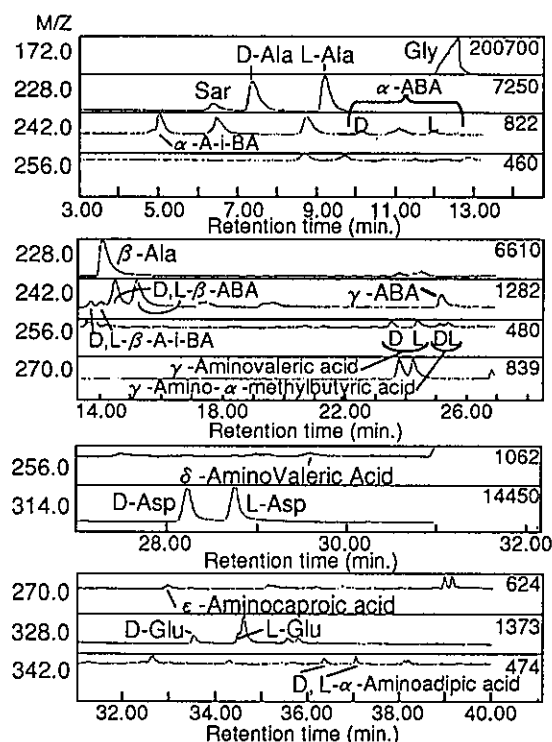


Fig.1 Mass fragmentograms of amino acids formed by 1 hour UV irradiation of 1mM acetonitrile solution at 273K.

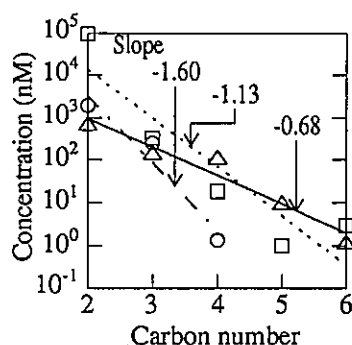


Fig.2 Concentrations of straight chain α -amino acids and straight chain mono- and dicarboxylic acid formed by 1 hour UV irradiation of acetonitrile solution at 273K.

---○--- Amino acid
---□--- Monocarboxylic acid
---△--- Dicarboxylic acid

【参考文献】

- 1) Ulich, B.L. et al. "Detection of Methyl Cyanide in Comet Kohoutek." *Nature* **248** 121 (1974)
- 2) Olmi, R.C. et al. "Ammonia and methyl cyanide in hot cores." *Astron. Astrophys.* **276** 489 (1993)
- 3) Draganic, I. et al. "Evidence of amino acids in hydrolysates of compounds formed by ionizing radiations II. Aqueous solution of CH_3CN and $\text{C}_2\text{H}_5\text{CN}$." *Origins of Life*, **8** 377-382 (1977)

5

アミノ酸熱重合反応の熱的解析

Thermal Analysis of Thermal Hetero-copolymerization of Amino Acids

今井栄一・本多 元・松野孝一郎（長岡技術科学大学・生物系）

Eiichi Imai, Hajime Honda and Koichiro Matsuno

Department of BioEngineering, Nagaoka University of Technology

1. はじめに

我々は、アミノ酸の熱重合反応の生成物が形成する微小球形構造物に関心を持って来た。この構造物形成は容易に実現出来ることが判明(1)し、原始地球においても充分起こり得たと考えられる。この球形構造物が低分子化合物を吸着(2)することが確認され、原始地球上において低分子化合物が高分子化合物へと進化する際の反応の場として機能する可能性が出て来た。

昨年の講演会において、この熱重合反応が 190℃付近で始まる吸熱反応(3)であることを示した。今回は昇温速度を変えて示差熱分析を行い、重合反応の熱的解析を行った。

2. 方法

温度測定範囲で不活性な標準物質と、アスパラギン酸・プロリン混合物からなる試料を一定の昇温速度で加熱し、標準物質と試料の温度差をK型熱電対で測定した。一連の測定における時間分解能は反応時には 15~20sec、非反応時は 1min で行った。測定試料は 0.20g とし、測定環境は通常雰囲気下および窒素雰囲気下（酸素濃度 2%）で行った。

昇温速度を 2℃/min から 10℃/min まで変化させ、DTA 曲線の最大ピークを示した温度と反応の大きさに依存するピーク面積(4)を比較した。

3. 結果

通常雰囲気下における昇温速度を変化させた時の DTA 曲線を図 1 に示す。昇温速度が大きくなるにつれて最大ピークを示す温度が高温側に移動した。また反応の大きさを示すピーク面積が増大した。窒素雰囲気下においても同様の結果を得た。

双方の雰囲気下におけるピーク温度およびピーク面積について表 1 に示す。熱的挙動に関し大きな変化は認められなかった。

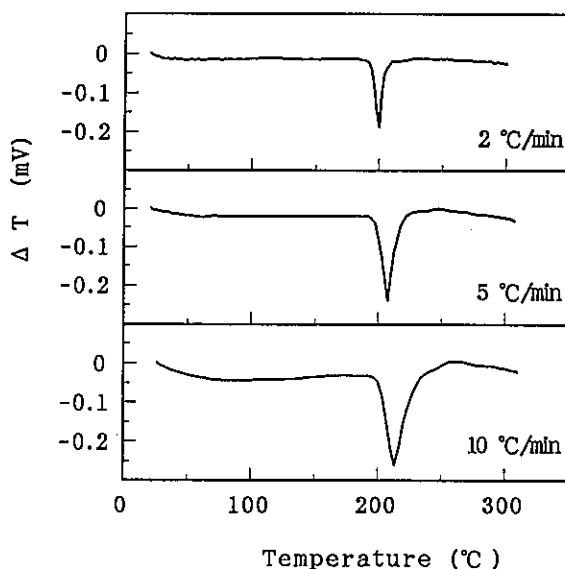


図1 アミノ酸混合物のDTA曲線

4. 考察

示差熱分析より速度論的解析を行った。昇温速度を ϕ 、ピーク温度を T_p とすると活性化エネルギー E は Kissinger(5)の方法によれば (1) 式から求められる。

$$-\frac{E}{R} = \frac{\Delta \ln(\phi/T_p^2)}{\Delta(1/T_p)} \quad \dots\dots\dots (1)$$

この Kissinger の方法では 1 次反応では厳密に、n 次反応では近似的に求めることが出来るため、縦軸に $\ln(\phi/T_p^2)$ 、横に $1/T_p$ をプロットした (図 2)。

以上より、アミノ酸熱重合反応の熱的解析に関する限り、雰囲気中の酸素濃度には大きく依存しないことが判明した。

表 1 昇温速度による反応の変化 (通常雰囲気/窒素雰囲気)

昇温速度(°C/min)	ピーク温度 (°C)	反応の大きさ(volt×deg.)
2.0	199/200	1.09/1.09
3.3	203/203	1.34/1.52
5.0	207/207	2.45/1.55
7.0	210/210	2.87/2.78
10.2	213/214	3.93/4.15

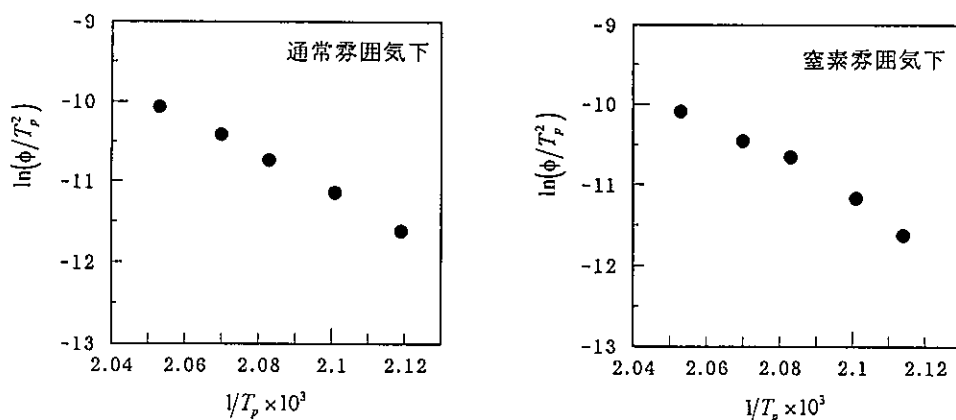


図 2 アミノ酸熱重合物の速度論的解析

5. 参考文献

1. E. Imai, J. Shirasawa, H. Honda and K. Matsuno: Origins of Life Evol. Biosphere 21, 243 (1992).
2. H. Honda et al. Viva Origino, Vol. 22, No. 1, 22-23 (1994).
3. E. Imai et al. Viva Origino, Vol. 22, No. 1, 18-19 (1994).
4. 神戸博太郎・小澤文夫、新版熱分析、講談社サイエンティフィク(1992).
5. H. E. Kissinger: J. Research Natl. Bureau Standards, 57, 41 (1957).

6

アミノ酸熱重合物の形成する殻状構造物

Shell structures made of thermal heterocomplex molecules from amino acids

杉山敏郎、櫻沢 繁、本多 元、今井栄一、松野孝一郎
(長岡技術科学大学・生物系)

Toshiro Sugiyama, Sigeru Sakurazawa, Eiichi Imai, Hajime Honda
And Koichiro Matsuno
(Department of BioEngineering, Nagaoka University of Technology)

1. はじめに

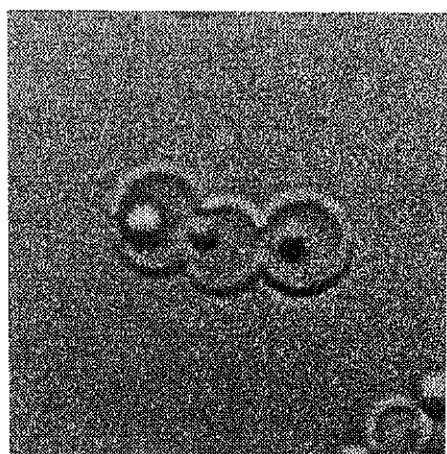
アスパラギン酸とプロリンを熱処理して得られるアミノ酸熱重合物(DP1)の水溶液は、溶解しているもの(DP1_f)と、集積して直径数 μm の微小球を形成するものとの平衡状態にあり、懸濁液として存在する(1)。懸濁液は弱酸性であり、酸性下での微小球は内部が充填されている(2)。しかし、塩基性のアミノ酸を混入した実験で、図1のような殻を持った微小球が観察された。この殻の進化的意義の有無を探索するため、まず、殻を持つ微小球がどのように生成したかを調べた。考えられる要因として、塩基性アミノ酸、pH を取り上げた。その結果、一般に、懸濁液の pH を上げると、微小球は界面部と内部に分離し、内部に形成された球形構造物は次第に小さくなっていく事がわかった。

2. 方法

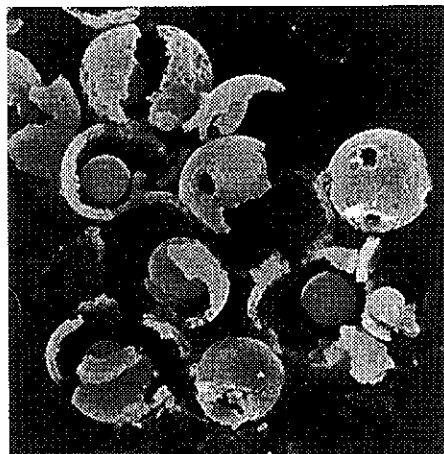
殻が形成され、内部が溶出する様子を2つの側面から調べた。第1は、殻と内部球形構造物の径の比(Diameter ratio)を指標とし、殻形成の pH 依存性について調べた。まず、広域緩衝液を用いて、懸濁液を任意の pH 環境にし、一定時間、保持した。その後、遠心分離(4000rpm, 3min)を行ない、溶媒を pH3 の緩衝液と交換した。これを顕微鏡観察し、殻と内部球状構造物の径を測定してその比を求めた。第2は、溶液中の DP1_f 濃度の時間変化を追跡した。微小球の懸濁液に広域緩衝液(pH7.6)を加えて、任意の時間毎にセルロース・アセートのメンブランフィルター(孔径 0.45 μm)で分離し、濾液の吸光度(Abs₃₀₀)から、濃度を算出した(図3)。

3. 結果と考察

懸濁液の pH を上げて微小球の内部を溶出させると、pH が高いほど溶出が速かった(図2)。一方、溶液中の DP1_f 濃度は、時間と共に増加した。その増加の様子から、分子の溶解は、最初のおよそ4分の速い反応とそれに続く遅い反応の2段階である事がわかった(図3)。これらの事は、殻状構造物を貫いて物質が移動している事を示唆している。更に、最初一様な DP1 が高い pH にさらされる事で、その構造が変化し、殻を形成するのではな



(a) 5μm



(b) 5μm

図 1. 殻状構造物の微分干渉光学顕微鏡像(a)と走査型電子顕微鏡像(b)

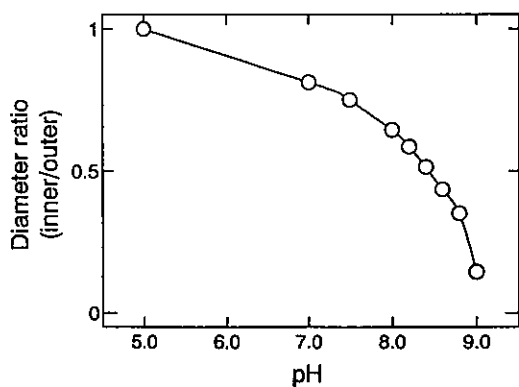


図 2. 内部溶出の pH 依存性

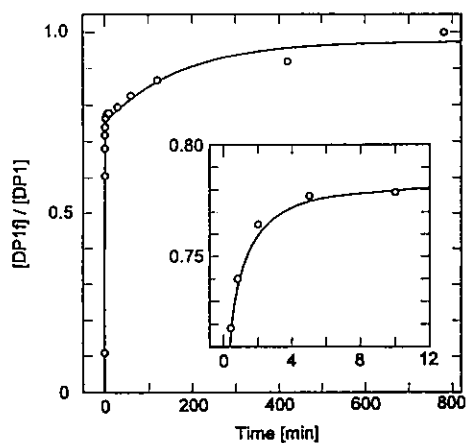


図 3. DP1_f濃度の時間変化

Reference

- (1) Honda, H.; Maezawa, M.; Imai, E.; and Matsuno, K. Origins Life Evol. Biosphere, **23**, 177-183, 1993.
- (2) Imai, E.; Sirasawa, J.; Honda, H.; and Matsuno, K. Origins Life Evol. Biosphere, **21**, 243-249, 1992.

7

アミノ酸熱重合物の温度履歴現象

A hysteresis exhibited by thermal heterocomplex molecules of amino acids

櫻沢 繁、羽田 知由、本多 元、今井 栄一、松野 孝一郎
(長岡技科大・生物)

Shigeru Sakurazawa, Tomoyuki Haneda, Hajime Honda, Eiichi Imai
and Koichiro Matsuno

(Department of BioEngineering, Nagaoka University of Technology)

1. はじめに

原始地球上でのアミノ酸熱重合物は、太陽の日周運動、熱水の対流等によって、温度がさまざまに変化する環境下にあったと考えられる。

アミノ酸熱重合物は、水中で分散状態のものと、集積して直径数 μm の球状構造物を形成するものの平衡状態にある。これまでに平衡状態における、分散しているものと、球状構造物を形成しているものの割合が、およそ $10\sim 100^\circ\text{C}$ の範囲で温度に依存して変化すること⁽¹⁾、平衡に移行する緩和時間が比較的長いことなどがわかっている⁽²⁾。これらの性質を持つアミノ酸熱重合物が、環境の温度変化を受けたときの振る舞いは複雑多様になることが予想される。

本報告では、アミノ酸熱重合物から形成される微小球に温度変化を与えたときの振る舞いを、微小球の粒径分布の変化と、懸濁液の濁度の変化に着目し、調べることにした。

2. 方法

アミノ酸熱重合物の微小球懸濁液は、アスパラギン酸とプロリンの混合物を 200°C 3時間熱処理した後、純水を加えて20分の煮沸して冷却することで微小球を生じ、それをろ過、洗浄し、純水中に懸濁させた。

温度変化は $20\sim 100^\circ\text{C}$ の範囲を、攪拌しながら一定の温度変化速度で加熱、冷却した。

濁度の測定は、温度変化を与えながら、波長 632.8nm のHe-Neレーザー光を試料懸濁液に照射し、その透過光強度を測定し濁度の変化をモニターした。

粒径分布を得るには、まず温度変化を与えながら、 10°C 毎に少量サンプリングし、液体窒素に投入して凍結させ、反応を停止させた。それを解凍し、光学顕微鏡で観察、粒径の測定を行った。

3. 結果と考察

周囲の温度が変化することによる濁度の変化はFig. 1のようになった。濃度 1.23 mg/ml の試料については、加熱時の溶解は約 30°C から始まり、 90°C を越えて完全に溶解するが、冷却時の析出は 80°C 以下にならないと始まらなかった。つまり加熱、冷却でそれぞれ異なった曲線を描き、ヒステリシスを示すことがわかった。

粒径の分布は温度とともに Fig. 2 のように変化した。濁度の測定結果と同様、加熱、冷却を比べると、溶解、析出のしかたがそれぞれ異なり、ヒステリシスを示した。また、微小球析出時の粒径分布の変化は約 50°C で不連続であり、ある程度まで成長した粒子同士が融合して成長するといった、2 次的な成長過程の存在が示唆された。そしてそれがヒステリシスの存在と何らかの関係を持つものと思われる。

ヒステリシスの存在は、一般にループの面積に比例したエネルギーが、注入、あるいは放出、または別な形に変換される可能性があることを意味する。これまでに微小球は有機低分子を吸着することがわかっている⁽³⁾ことから、ヒステリシスはそれらの重合反応エネルギーを提供しうるか否かが、新たな問題として浮かび上がってきた。

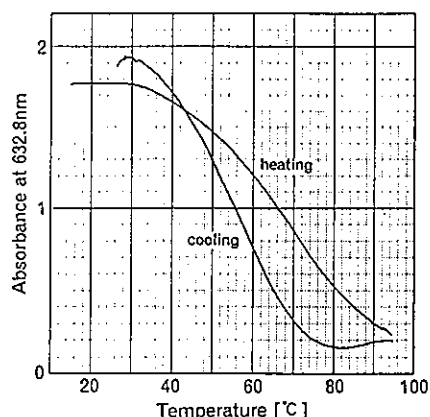


Fig. 1 Turbidity of the suspension v.s. temperature. The direction of temperature was controlled.

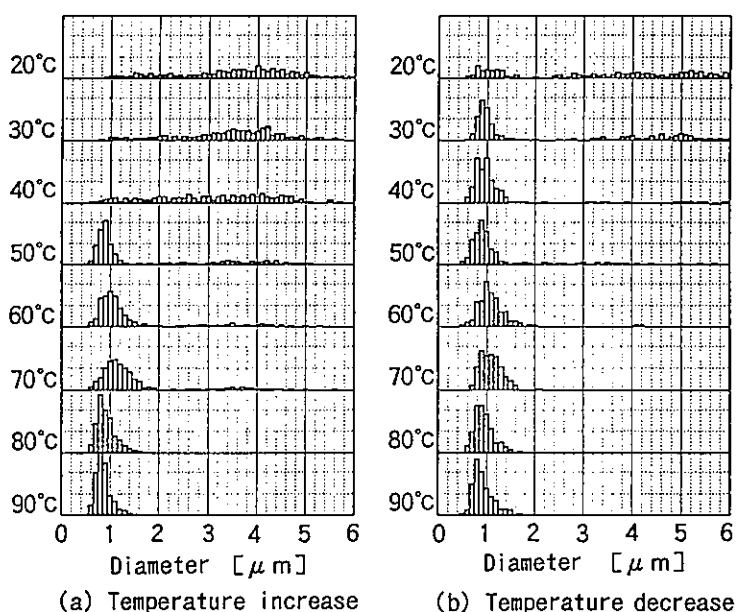


Fig. 2 The size distribution of microspherical particles v.s. temperature, in which temperature was either gradually increased or decreased. Reading of the diameters was done after cooling the specimens in liquid nitrogen.

5. 参考文献

1. H. Honda, M. Maezawa, E. Imai and K. Matsuno: *Origins of Life and Evolution of Biosphere* 23,177-183, 1993
2. H. Honda, M. Maezawa, E. Imai and K. Matsuno: *Viva Origino* 22, 71-81, 1994
3. H. Honda, H. Kimura, K. Hirata, E. Imai and K. Matsuno: *Viva Origino* 22, 22-23, 1994
4. S. Sakurazawa, H. Honda, E. Imai and K. Matsuno: *Viva Origino* 22, 71-81, 1994

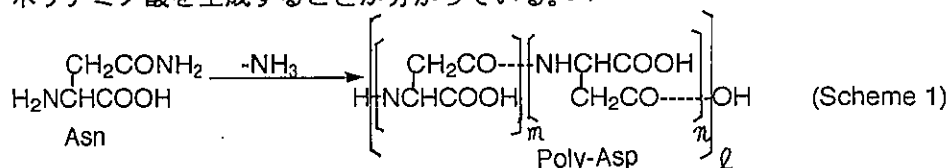
マレイン酸モノアミド水溶液の加熱反応 Hydrothermal Reaction of Maleic Monoamide

胸組虎胤 (小山高専・物質工学)

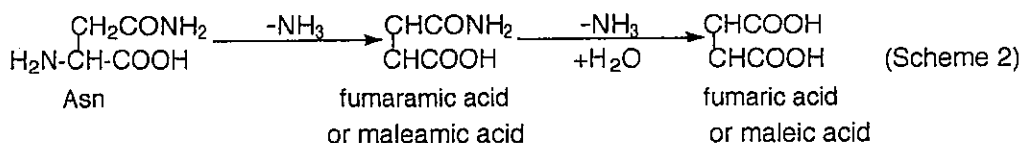
Toratane Munegumi

(Department of Materials Chemistry and Bioengineering, Oyama National College of Technology)

1. 原始地球上におけるポリペプチドの生成経路はいくつか提案されており、仮想的な原始地球条件下におけるシミュレーション実験も数多く行われてきた。1) その結果、様々な条件でポリペプチドが生成することが見出されている。1) それらの反応条件は主に乾いた (dry) 条件と湿った (wet) 条件に大別できるが、wetな条件でのアミノ酸からのペプチド生成反応は水中における水の生成を伴うため起こりにくい。wetな条件でポリペプチドの生成が起こったとすると、1) 縮合剤の作用、2) 活性脱離基をもったアミノ酸の関与、あるいは、3) アミノ酸以外で反応性の高いペプチド前駆体の生成などのどれかがなければならなかったと考えられる。20種類のタンパク質構成アミノ酸のうち水溶液を加熱することでポリペプチドを生成するアミノ酸にはグリシン (Gly) 2) および、アスパラギン (Asn) 3-4) がある。このうちアスパラギン (Asn) は加熱によって側鎖のアミド基からアンモニアを脱離して、水溶性であるポリアスパラギン酸を生成すること (Scheme 1) 5)、また、他のアミノ酸と混合して加熱することによってコポリアミノ酸を生成することが分かっている。5)



さらに昨年、1 M-アスパラギン水溶液の120°Cでの加熱反応で、アスパラギンが α -炭素に結合したアミノ基を脱離してフマル酸モノアミドやマレイン酸モノアミドを生成し、これらが加水分解されて不飽和カルボン酸を生じることについて報告した。6)



しかし、上記の不飽和カルボン酸アミドとポリペプチドの生成との関連は明らかになっていなかった。

そこで今回、不飽和カルボン酸アミドの反応の詳細を調べるためにマレイン酸モノアミドとアンモニアとの混合水溶液を120°Cで加熱したところ、ポリペプチドの生成が確認されたので報告する。

2,3, マレイン酸モノアミド1.0Mとアンモニア1.36Mを含む水溶液 (pH7.3)、1mlをガラス管に減圧下で封入し、これを120°Cで2時間から97時間加熱した。反応液を逆相HPLCで分析した結果、97時間後には反応基質であるマレイン酸モノアミドほぼ消失していた。反応液全体の210nmにおける吸光度が時間とともに減少した。これはC=C 2重結合を有する化合物の減少によるものと推測された。また、反応液のpHを測定したところ、反応時間が長いほどpHの値は高くなり、97時間の反応液では7.9になっていた。これは、塩基性化合物の増加を意味していると考えられた。

次に、反応液を分子ふるいクロマトグラフィー (Sephadex G-25F) で精製した。0.5M-酢酸で溶出させて溶出液の各フラクションの230nmにおける吸光度を測定したところ、マレイン酸モノアミドの溶出位置よりも早く溶出してくる物質が見い出された。しかし、このものの溶出位置は標品(Pro-Pro-Gly)₅ (分子量1274)より後であり、分子量は標品より小さいと考えられる。この分画を凍結乾燥して得た個体の赤外吸収を測定した結果、1670cm⁻¹ にamidel, 1560cm⁻¹ に amidell の吸収が観測された。また、この物質の水溶液 (10mg/ml) に硫酸銅のアルカリ水溶液を加え、310nmの吸光度を測定したところ (microbiulet法)、ペプチド結合と銅との錯体形成によると考えられる吸収が観測された (OD₃₁₀=4.10)。以上の結果から、マレイン酸モノアミドとアンモニアの水溶液の加熱によって、少なくとも分子量300程度 (3 量体) 以上で1300程度未満のペプチドが生成したことが明らかとなった。

さらに、講演では反応液のアミノ酸分析の結果等も使って、反応経路についても考察する。

< 文献 >

- 1) A. Brack, "Early Proteins", pp. 357-358, in *The Chemistry of Life's Origins*, ed. by J. M. Greenberg, et al., Kluwer Academic Publishers (1993).
- 2) J. Oro and C. L. Guidry, *Arch. Biochem. Biophys.*, **93**, 166 (1961).
- 3) J. Kovacs and H. Nagy, *Nature*, **190**, 531 (1961).
- 4) K. Harada, M. Matsuyama, and E. Kokufuta, *Polymer Bull.*, **1**, 177 (1978).
- 5) T. Munegumi, N. Tanikawa, H. Mita, and K. Harada, *Viva Origino*, **22**, 109 (1994).

9

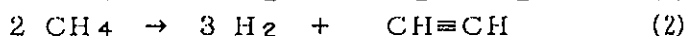
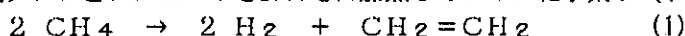
メタンとアンモニアからアミノアセトニトリルと
2-アミノプロピオニトリルの生成について。

On the formation of aminoacetonitrile and 2-amino-
propionitrile from methane and ammonia.

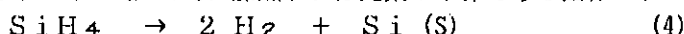
森本史郎 (徳島大・名誉教授: 〒193 東京都八王子市川町244-65)

Shiro Morimoto (Tokushima University, Professor Emeritus ;
244-65, Kawamachi, Hachiohji, Tokyo 193, JAPAN)

メタンを1000℃に加熱してエチレンが ((1)式)、2000℃に加熱してアセチレンが ((2)式)、
又メタンとアンモニアを1000℃に加熱してシアン化水素が ((3)式) 生成する。

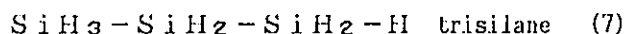
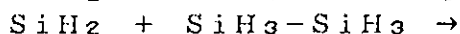
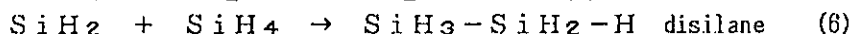
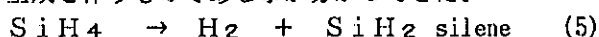


所が、シランを600℃に加熱すれば元素の単体である固体シリコンが生成する ((4)式)。

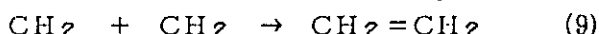


炭素単体の結晶形にはダイヤモンド格子とグラファイト格子の2種類があるが珪素単体の結晶形はダイヤモンド格子だけである。これは珪素が π 結合を作り難い事を示している。

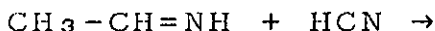
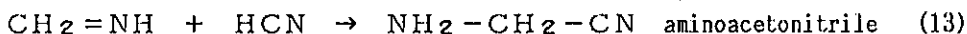
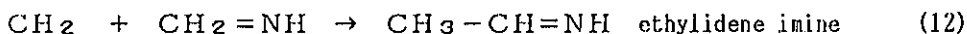
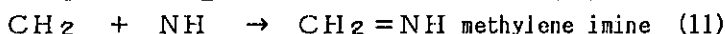
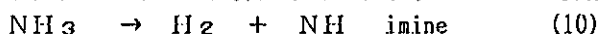
(4)式の反応は半導体級シリコン製造法に於ける固体析出反応として詳しく調べられ、その反応機構は(4)式のように簡単でなく、シレンsileneの挿入反応によってデシラン・トリシラン等の生成を伴うものである事が分かってきた。⁽¹⁾



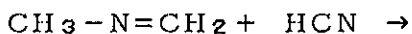
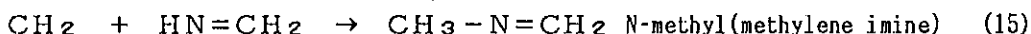
シレンは2価の珪素化合物である。同じく2価の炭素化合物であるメチレン CH_2 は(9)式のように π 結合を作り得るので結果的には(1)式の反応となる。

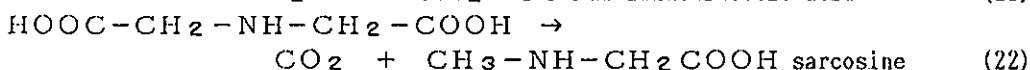
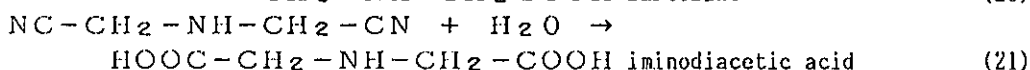
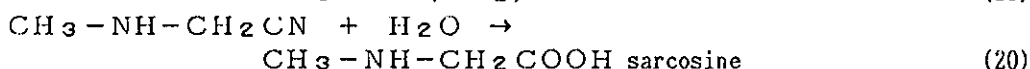
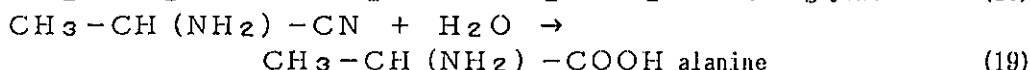
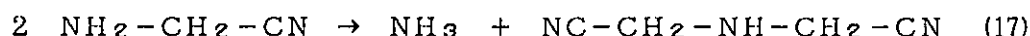


メタンとアンモニアの放電反応 (瞬間高温反応) に関する Ponnamperna の実験に於いてアミノアセトニトリルと2-アミノプロピオニトリルが生成する事⁽²⁾はメチレンがイミンと(11)式のように π 結合を作るように反応してメチレンイミンが生成し、(12)式のようにメチレンがメチレンイミンに挿入してエチリデンイミンが生成する事を意味している。

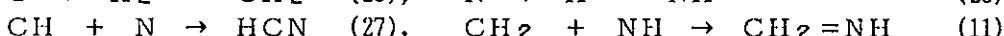
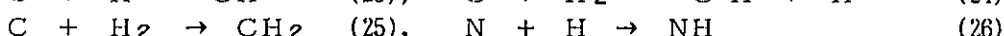
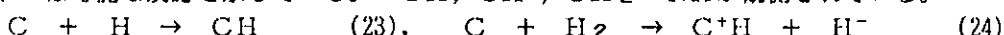


更に、メタン・アンモニア・水蒸気の放電反応 (加水分解条件) に関する Miller の実験に於いてグリシン・アラニンの他にザルコシン・イミノ酢酸が生成する事⁽³⁾はメチレンイミンのN-H結合に対するメチレンの挿入反応を支持する ((15)式)。但しザルコシンはイミノ酢酸の脱炭酸反応によっても生成する ((22)式)。



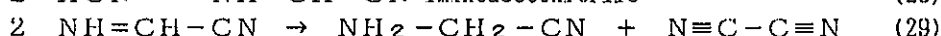
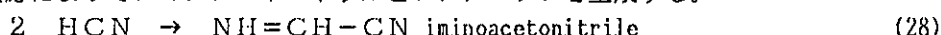


宇宙に於ける化学進化は元素の原子の状態から出発したと考えるべきであろう。星間分子表⁽⁴⁾は可能な反応を示している。CH, CH⁺, CH₂=NHが観測されている。



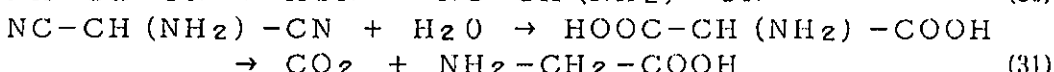
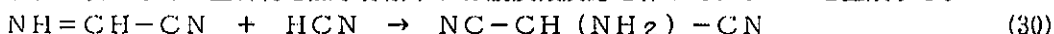
(11)~(17)反応によってアミノニトリル類を生成する事はメタン・アンモニア放電反応と共通であり、即ち放電反応が宇宙に於ける化学進化をシミュレートしている所以である。

HCNの重合物は18世紀の終わりに J.L.Proust によって作られ、Boulay の提案によって Azulmin säure と名付けられたが、HCNの二量体であるイミノアセトニトリルがC-C連鎖・環化を進めたものであると考えられている⁽⁶⁾。この他にイミノアセトニトリルは不均化反応によってアミノアセトニトリルとシアノーゲンを生成する。

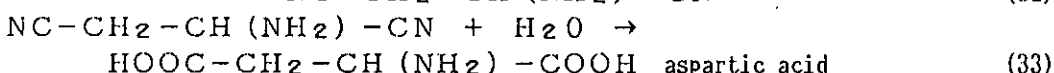
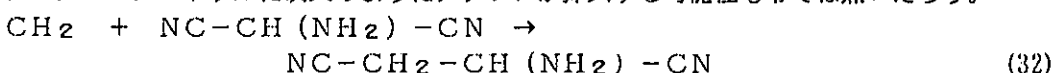


HCNの重合物の加水分解物にグリシンと硫酸が含まれている。⁽⁵⁾

イミノアセトニトリルにHCNが付加してアミノマロニトリルを生成する。アミノマロニトリル或いはその重合物を加水分解すれば脱炭酸反応を伴ってグリシンを生成する。



アミノマロニトリルに次式のようにメチレンが挿入する可能性も零では無いだろう。



Miller は Science の速報に於いて報告したアスパラギン酸を JACS の詳報に於いてイミノヂ酢酸と訂正している。イミノヂ酢酸のクロマトピークのテーリング部はアスパラギン酸かも知れないとしている。

文 献

- (1) P.A.Longway and F.W.Lamp, J.Amer.Chem.Soc., 103, p.6813~6818(1981).
- (2) C.Ponnamperuma and F.Woeller, Curr.Mod.Biol., 1, 156(1967).
- (3) S.L.Miller, Science, 117, 528(1953); J.Amer.Chem.Soc., 77, 2351(1955).
- (4) R.H.Gammon, Chem.Eng.News, 56, 20(1978); A.R.Newman, Anal.Chem., 62, 671(1990).
- (5) J.P.Ferris and W.J.Hagen, Tetrahedron, 40, 1093(1984); C.N.Matthews and R.E.Moser, Nature, 215, 1230(1930).
- (6) Th. Völker, Angew. Chem., 72, 379(1960).

トリメタリン酸による
グリシルグリシンの縮合：
 Mg^{2+} イオンの触媒効果

Condensation of Glycylglycine with Trimetaphosphate:
Catalytic Effect of Mg^{2+} Ion

山形行雄（金沢工大），猪股勝彦（金沢大・理学部）

Y. Yamagata (Kanazawa Institute of Technology)

K. Inomata (Faculty of Science, Kanazawa University)

ポリリン酸は生物の存在に必須の物質であるが、前生物的進化の段階においても重要な役割を演じた可能性が想定され、ポリリン酸によるリン酸化反応や、アミノ酸の縮合などの研究が早くから行われて来た（Rabinowitz et al., 1969; Chung et al., 1971; Yamagata et al., 1982）。ポリリン酸の原始地球上への出現の可能性は長い間不明であったが、最近火山活動を通してポリリン酸が地表に供給されることが証明された（Yamagata et al., 1991）。Chung et al. (1971) はアルカリ水溶液中でのトリメタリン酸によるグリシンの縮合のメカニズムを研究した。それによると、グリシルグリシンは効率よく生成するが、グルシルグリシン（一般にペプチド）どうしの縮合は起こらない。その後、我々は水溶液中でのトリメタリン酸（ポリリン酸のうち最も活性の高いもの）によるオリゴグリシンの縮合について研究し、中性ないし微酸性の溶液中ではカルボキシル基のリン酸化を通してペプチドどうしの縮合が進行することを実証した（Yamanaka et al., 1988）。最近、水溶液中でのトリメタリン酸によるアデノシンのリン酸化反応において、 Mg^{2+} イオンが極めて有効な触媒であることを報告した（Yamagata et al., 1993; Yamagata et al., 1994）。今回は、 Mg^{2+} イオンが前述のトリメタリン酸によるグリシルグリシンの縮合反応にも触媒として作用することを見いだしたので報告する。図にマグネシウムイオンがある場合とない場合の実験結果の比較を示す。

Chung et al.: 1971, *Tetrahedron* 27, 1205-1210.

Rabinowitz et al.: 1969, *Nature* 224, 795-796.

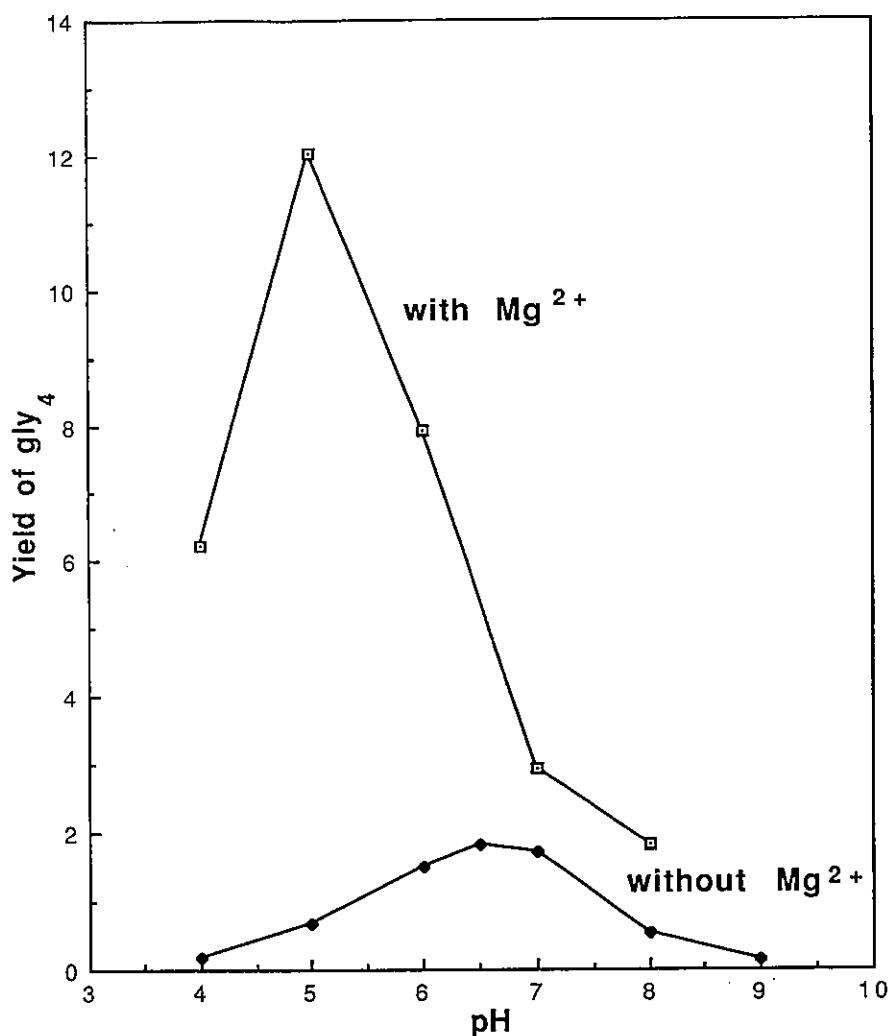
Yamagata et al.: 1982, *Origins of Life* 12, 333-337.

Yamagata et al.: 1991, *Nature* 352, 516-519.

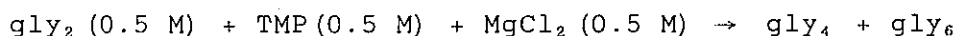
Yamagata et al.: 1993, *Viva Origino* 21, 22-23.

Yamagata et al.: 1994, *Origins of Life* 24, 101.

Yamanaka et al.: 1988, *Origins of Life* 18, 165-178.



上図は実験結果の一例を示す。



の反応を 38°C の温浴上、マグネティックスターラーで攪拌しつつ、pH 4, 5, 6, 7, 8 においてそれぞれ ± 0.2 の範囲におさまるように時々調節しながら行った。分析は陽イオン交換 HPLC 分離液のニンヒドリン反応により行った。図は 10 日間反応後の gly₂ の収率を示す（収率は gly₄ に縮合した gly₂ の出発時のそれに対するパーセント）。比較のために Mg²⁺ を含まない場合の結果を示す（Yamanaka et al. 1988 から転載）。gly₂; glycylglycine, TMP; trimetaphosphate, gly₄; tetraglycine, gly₆; hexaglycine

高圧下におけるスメクタイトと共存するアラニンの重合 Polymerization of alanine coexisting with smectite at high pressure

○橋爪秀夫、中沢弘基 (無機材研)

Hideo HASHIZUME, Hiromoto NAKAZAWA

National Institute for Research in Inorganic Materials

＜はじめに＞

スメクタイトには吸着能や、触媒能があることは良く知られている。またスメクタイトは地表のいたる所にあり、天然においては簡単に生成され、初期地球上にも存在していたと予想される。よってスメクタイトなどの粘土鉱物は生命の起源に大きく影響を与えたと考えられ、粘土鉱物と有機物（アミノ酸など）の共存下での様々な実験がなされている。しかしながら、多くの実験は水溶液中で行なわれている。低分子有機物の高分子化は脱水反応であるため、水溶液中でのこの反応は起こりにくいと考えられる。中沢ら¹⁾は初期地球上で脱水反応の起こりやすい場所として、地殻内部を考え、生命の地殻胚胎仮説を提案した。彼らの仮説によると、海洋プレートが大陸プレートの下に沈み込むことによる海洋プレートからの脱水と初期地球では頻繁に起こったであろう地殻変動が、重合体を再び地表にもたせたと述べている。

本研究では中沢らの仮説に基づき、地殻内部に相当する条件で、スメクタイトとアミノ酸を共存させて、アミノ酸がどのような変化をするかを調べたので報告する。

＜実験＞

出発試料はスメクタイトとして天然のモンモリロナイトと試薬のアラニンを重量で、1:1に混合したものを用いた。この出発試料をAuチューブに封入し、水熱合成装置により高圧処理を行なった。処理条件は、圧力が100MPa、温度は150℃で7日間保持した。また比較実験としてアラニンのみでも同様の条件で行なった。実験終了後、回収した試料は水に分散し、約3時間攪拌した後、遠心分離により固相と液相に分離し、液相を高速液体クロマトグラフ（HPLC）により分析した。分析条件は次による。カラムはODS、溶離液は0.1%TFA水溶液、検出はUV-210nmを用いて行なった。また、液相の一部を凍結乾燥しKBrと混合した後、フーリエ変換型赤外吸収光度計（FT-IR）を用いた拡散反射法（DR法）によりペプチド結合の有無を調べた。さらにクロマトグラム中のそれぞれのピークを分取し、凍結乾燥し、KBrと混合し、DR法により、ピークの同定を行なった。

＜結果および考察＞

アラニンとスメクタイトが共存した場合について示す。液相のFT-IR分析の結果を図1に示す。吸収のほとんどがアラニンの単量体であるが、その中にアラニンの重合を示すペプチド結合の吸収（アミドI、IIおよびIII）が認められた。次にHPLCで分取したそれぞれの試料についてのFT-IRによる分析の結果からアラニンの1、2量体および環状のアラニンの2量体の存在が認められた（図2）。また、環状のアラニンの4量体と思われるものも存在した。アラニンのみの場合、アラニンの重合物はほとんど生成しない。これらのことより高圧下で、スメクタイトと共存するアラニンが重合することがわかる。またアラニンが

スメクタイトと共存した場合のほうが、アラニンの重合反応が起こりやすいこともわかる。

地殻内部に相当する圧力温度条件において、アミノ酸の重合物が生成されたことは、中沢らの仮説を支持するものであり、このような高圧力下においても化学進化が起こっていた可能性を示している。

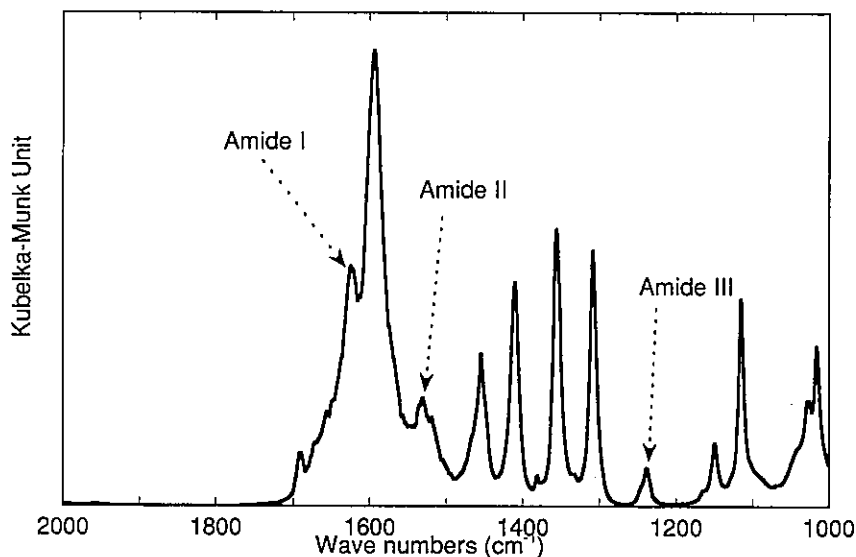


図1 FT-IR の分析結果

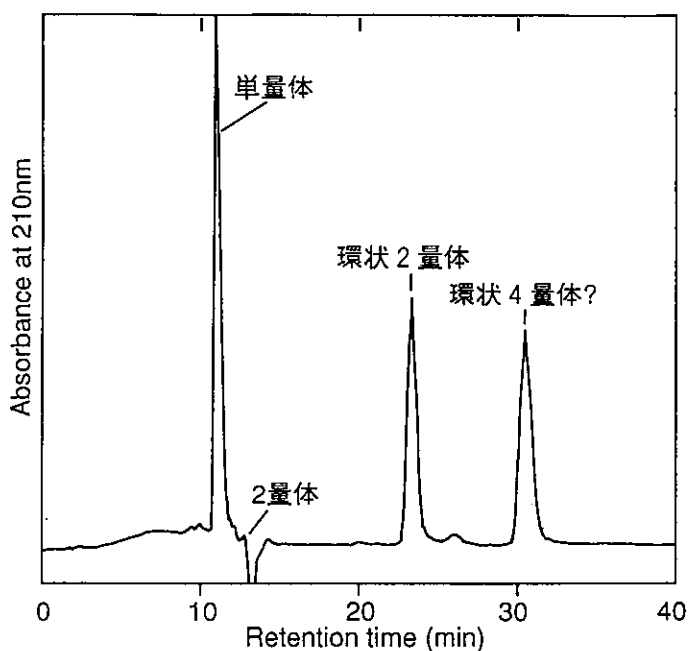


図2 HPLC の分析結果

参考文献 1) H. Nakazawa et al. , Viva Origino, 21, 213-222 (1993) .

13

モンモリロナイト存在下でのアルデヒドの縮合物の検討 (II)

Formaldehyde condensates in the presence of montmorillonite (II)

湯浅精二 (阪大・理・生物)

Seiji Yuasa (Dept. Biol., Faculty of Science, Osaka Univ.,

1-16 machikaneyama-cho, Toyonaka, Osaka 560)

モンモリロナイトのような粘土鉱物が有機化合物の前生物的合成環境下で一定の役割を演じたと考え、一連の実験をすすめてきた。モンモリロナイト存在下で HCN からプリン塩基が生成することが以前から知られており、HCHOも同様の触媒で縮合しリボースなどが生成すれば、当該条件下でヌクレオシドの生成が期待できる。われわれのすすめてきた反応条件下でのHCHOの縮合物は多様であるが、モンモリロナイトの性質にも依存するが、数回のリクロマトグラフィーにおいても充分検出され得る量が生成することが判明した。その内で、ペントース2分画を回収する操作を繰り返し行い、「リボース」と考えられる化合物の生成がクロマトグラム上で認められた。

Naイオンが陽イオン中 50~70%を占めるいわゆる Na-モンモリロナイトタイプのものが、スラリーにしたときに高い pH を与えるところから、HCHO の縮合反応の触媒として有効であることが判明した。そこで実験には、Wyoming と Tsukinuno (山形県月布)産のモンモリロナイトを用いた。イオンの保持のため水洗はおこなわず、実験直前に 80℃、24 時間の処理により揮発性塩基成分の除去のみをおこなった。従来と同じように、100 ml の 1M HCHOに上記のいずれかのモンモリロナイト 1 g を三つ口フラスコの中で混和し、40-50℃、1週間反応をさせた。反応終了後、反応生成物を遠沈の上清として回収し、5 ml まで濃縮したのち、ダブシルヒドラジンを用いて誘導化をおこなった。まず、試料をセルロースカラムにかけ未反応物質(生成物とダブシルヒドラジン)を除去し、濃縮後分離用 ODS カラムを用いて溶出をおこなった。ヘキソースとペントースの溶出位置はすでに判明しているので、ペントース相当分画を分取し(10 回溶出操作をおこなった)、濃縮した(この段階ではピークとして認められなかったので大きい分画を得た)。この方法を更に繰り返すことによりペントースの各標品と対応する位置にブロードなピークを与えるようになる。ヘキソースの溶出後、アラビノース、キシロース、リボース、デオキシリボースの順に溶出されるので、リボース相当分画を分取し濃縮をおこなった。この試料を分析用 ODS カラムにかけ、標品が溶出されるリボースの位置に対応するピークの領域を分取した。この濃縮物を更に分析して得たものが Figure である。都合4回のリクロマトグラフィーをおこなったにもかかわらず相当の汚れが認められるが、溶出位置のみからみれば標品と一致した。この物質を質量分析により同定したいと考え、目下一定量の集積と分析に必要な試料の純化を試みているところである。

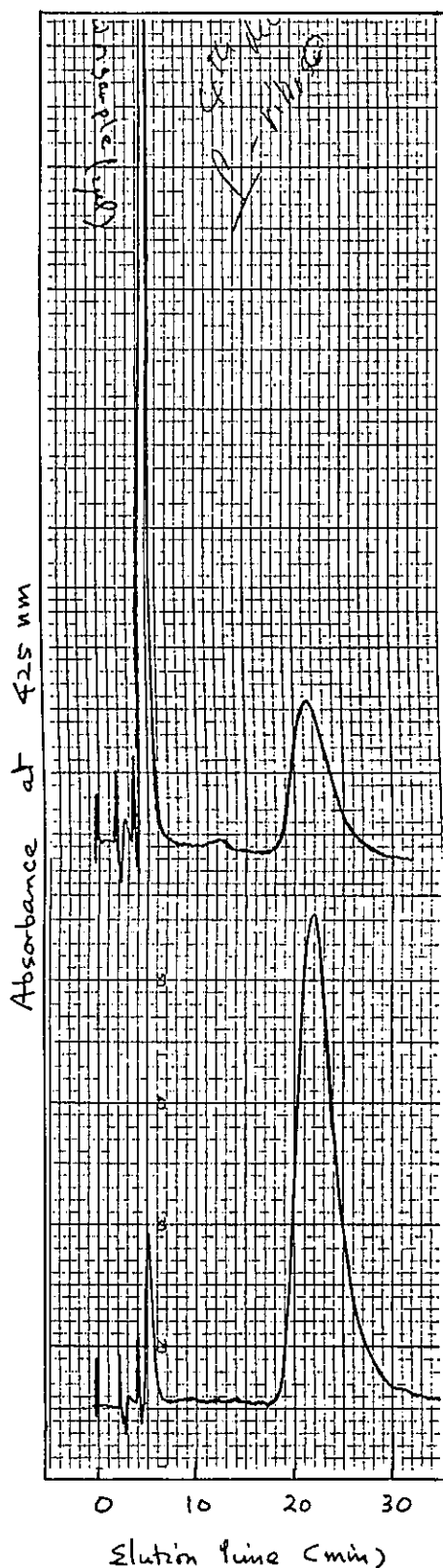
現在すすめている実験の方法はきわめて単純であるが、「リボース」分画を得るまでには相

当の労力を要するので方法の改良が必要である。
放射性同位体標識標品をマーカーにして探すのも
1つの方法かも知れない。「リボース」の同定と
ともに検討したい。また、「リボース」以外のペ
ントースの分析も興味あるところで、ヘキソース
のそれと併せてすすめたいと考えている。

Figure : Chromatographic separation of dabsyl
derivatives of reducing sugars on ODS hypersil
(3 μ m, 15cm $\times$ 0.46cm ID), mobile phase: 25% acetone
in 0.05M acetic acid; column temperature 40 $^{\circ}$ C.

Upper: Synthesized sample quadruply rechromato-
graphed as shown in text.

Lower : D-ribose (5 μ l of 0.5mM D-ribose was
derivatized with dabsyl hydrazine and 2 μ l
(ca. 100 pmoles) of the derivatized sample was
chromatographed. Optimal concentration of
sugar(s) to be derivatized would be between
0.3-0.7mM.



核酸における結合特異性：核酸は何故 3'-5' 結合を持っているか？

Specificity of Internucleotide Linkage in Nucleic Acid. Why Nucleic Acid Has 3'-5' Linkage?

澤井宏明 (群馬大・工)

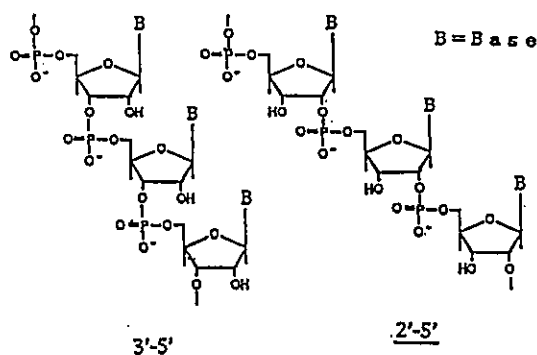
Hiroaki Sawai

(Department of Chemistry, Gunma University)

遺伝情報の保持発現を担うRNAはすべて3'-5'結合を持っている。しかし化学構造上は2'-5'結合を持ち得る。RNAの前生物的合成のモデル実験では多くの場合2'-5'結合が優先的に生成する。筆者らはヌクレオシド-5'-ホスホイミダゾリド(Imp N)が中性水溶液中、 UO_2^{2+} 、 Pb^{2+} 、 Zn^{2+} などの金属イオン触媒存在下、特異的に縮重合して、主として2'-5'結合を持つオリゴリボヌクレオチドを生成することを報告した。一方Ferrisらは最近Imp Nが粘土鉱物を触媒に用いると主として3'-5'結合を持つオリゴリボヌクレオチドが生成することを報告している。またOrgelらは非酵素的な鋳型依存縮重合反応で反応条件あるいは活性化ヌクレオチドの種類に応じて2'-5'結合あるいは3'-5'結合が選択的に生成し得ることを明らかにしている。

2'-5'結合および3'-5'結合いずれの結合も持つRNAが初めに生成し、化学進化あるいは初期生物進化の過程で3'-5'結合が自然選択され残ったと考えられる。3'-5'結合の選択の要因として(1)各結合の生成のしやすさ、(2)各結合の加水分解に対する安定性、(3)各結合を持つRNAの2重らせん(3重らせん)形成能、(4)各結合を持つRNAの構造と機能の相違が考えられる。筆者はこれまで(3)および(4)の観点から2~4量体の2'-5'結合および3'-5'結合オリゴリボヌクレオチドについて、その相違点を研究し、報告して来た。今回10量体までの2'-5'結合および3'-5'結合オリゴリボヌクレオチドについて、そのコンホメーションおよびスタッキング相互作用の相違点について主としてCDスペクトルを用いて研究した結果について述べる。さらにこの結果とRNAの3'-5'結合の自然選択との関連について述べる。

Linkage Isomers of Oligonucleotides



(結果)

CDスペクトルはオリゴヌクレオチドのグローバルなコンホーメーションあるいはスタッキング相互作用を反映すると考えられる。そこで2~10量体までの2'-5'結合および3'-5'結合オリゴアデニル酸およびオリゴウリジル酸を用い、CDスペクトルを種々の条件で測定した。その結果次のような大きな相違点があることが認められた。

a) CDの鎖長依存性

3'-5'結合オリゴリボヌクレオチドは鎖長が長くなるにつれそのCD強度は増大していくのに対し、2'-5'結合オリゴリボヌクレオチドは2量体のCD強度は強いが3量体以上ではCDバンドは2量体と殆ど同じで鎖長に依存した変化がみられない。

b) CDの温度依存性

3'-5'結合オリゴヌクレオチド0~80℃までの温度変化に対してCDは大きく変化した。低温ではスタッキング相互作用が強くなるため、CDバンドは強いが、高温になるとCD大きく減少した。一方2'-5'結合オリゴリボヌクレオチドは低温でのCD強度は対応する3'-5'結合オリゴリボヌクレオチドより弱く、かつ温度の変化によるCDの変化の割合は小さい。

c) Mg^{2+} 存在下でのCD変化

3'-5'結合オリゴリボヌクレオチドは低濃度の Mg^{2+} 存在下でもその配位により、特定の構造の形成が促進され、スタッキング相互作用が増すため、CDバンドが大きく増加した。一方2'-5'結合オリゴリボヌクレオチドは Mg^{2+} によるCDの変化は小さく高濃度の Mg^{2+} 存在下ではCDはむしろ減少した。

d) 溶媒の疎水環境の相違によるCDの変化

3'-5'結合オリゴヌクレオチドはエタノール存在下では疎水的なスタッキング相互作用が破壊されるためCDは大きく減少した。しかし2'-5'結合オリゴリボヌクレオチドはエタノール存在下でもCDの減少は非常に少なかった。

前述の結果は3'-5'結合オリゴリボヌクレオチドはスタッキング相互作用がより強い秩序だった構造をとりやすいが、温度、 Mg^{2+} などの金属イオンの存在あるいは周囲の疎水的な環境などの変化によりコンホーメーション変化が起こりやすいことを示している。このように構造的にフレキシブルでかつ Mg^{2+} 存在下あるいは低温域で特定のコンホーメーションをとりやすい性質がRNAの多様な機能(tRNA、mRNA、rRNAあるいはリボザイム)の発現にとって必要不可欠であり、3'-5'結合を持ったRNAが情報保持伝達分子として自然選択された要因の1つとして考えられる。

Induction of Enzyme-like Properties in γ -irradiated Amino Acids and Proteins

II. Alkaline Phosphatase-like Activity Induced in Gelatin Solution

赤星 光彦・河合 建一・隅野 照家・田中 愛子・川本 圭造 (京大・原子炉)

Mitsuhiko Akaboshi, Kenichi Kawai, Teruie Sumino, Yoshiko Tanaka and
Keizo Kawamoto (Research Reactor Institute, Kyoto University)

原始地球環境下で容易に形成されるポリグリシンが様々な物理的・化学的変化を経て、機能をもつ原始蛋白質に進化していく道筋を再現する事を究極の目的として実験を続けている。前回の本学会大会において、放射線照射を受けたアミノ酸および蛋白質、特にアルブミン水溶液に誘導されるアルカリホスファターゼ類似活性について報告した。本報告ではゼラチンを実験材料として行なった同様の実験結果について報告する。

ゼラチンはコラーゲンの変性したもので、骨や皮をアルカリ処理した後、熱水で抽出する事によって得られる。グリシンとプロリンを大量に含み、溶液中で条件によってはランダムコイルとなったり三重らせん構造をとったりする原始蛋白モデルとしても大変興味のある分子である。

〔材料と方法〕

「試料」：シグマ社製のゼラチン結晶 (Lot No. 63H0659) をそのまま用いた。既定量をミリポア濾過水に加えたのち、40℃の水槽にて約 10 分間加温し、溶解せしめた。

「照射」：特に断らない限り、2.5 mg/ml となる様に調製した各試料を 2.5×10^3 Gy/hr の線量率の ^{60}Co - γ 線源を用いて照射し、その 100 μL を活性の測定に供した。

「酵素活性の測定」：照射後、試料に誘導されたアルカリホスファターゼ活性をパラニトロフェニル法を用いて測定した。反応によって生じたパラニトロフェニルによる 410 nm の吸収を日本分光社製のスペクトロメーターで測定した。反応は 37℃で行なったが、試料によっては 48 時間以上もの培養を必要としたので、その様な場合には全ての取り扱いをクリーンベンチ内で無菌的に行なった。なお、酵素活性を相互に比較する際には、反応速度が基質濃度に依存しない濃度域で反応を行なわせた。

〔結果と討論〕

^{60}Co - γ 線照射されたゼラチン溶液に誘導されたアルカリホスファターゼ類似活性の線量依存性を Fig. 1 に示す。照射の線量範囲において、酵素類似活性の誘導は低線量域と高線量域との二点で起こる。何も添加しない状態では低線量域のピークが強く観測され、アミノ酸等を添加した場合には高線量域のピークが強くなる。アミノ酸だけの溶液では類似活性の誘導は起らない。このことから、低線量側 (ピーク 1) で誘導される酵素類似活性はゼラチン分子に生じた部分的な構造変化に由来するものであり、高線量側のそれ (ピーク 2) は添加物質の放射線分解産物とゼラチン分子との放射線化学反応によって新しい活性物質が生成したことに起因すると考えられる。類似活性の物理化学的性質を調べるために、両ピークを集めてそれぞれの活性の pH 依存性 (Fig. 2) と培養前の温度処理 (10 分) に対する依存性 (Fig. 3) を測定し、市販のアルカリホスファターゼのそれらと比較した。ピーク 1 の至適 pH は 10.4 に見られ、市販品のそれと一致するが、ピーク 2 のそれは 10.2 であり、僅かに酸性側にずれた。また、酵素標品と比較すると全体的に、特にピークの形がなだらかで pH に対する厳格性がゆるやかであると推測された。また、反応前の温度依存性は両者で異なることが観察さ

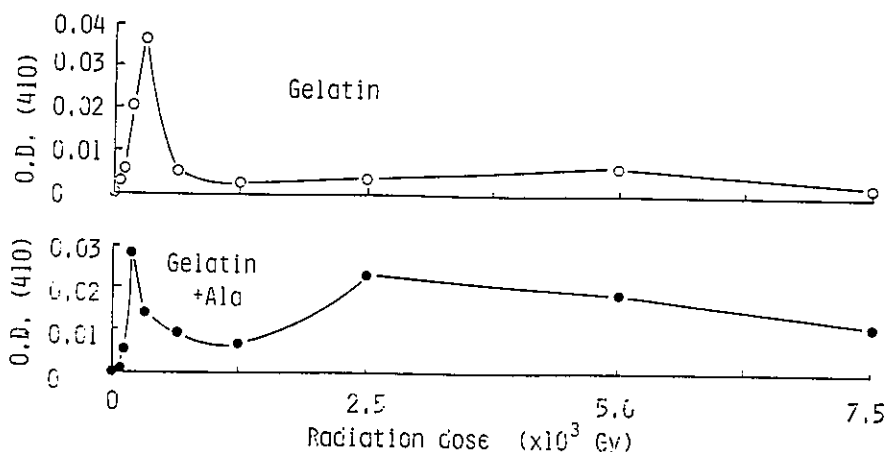


Fig.1 Dose-response curve for induction of A. P.ase-like activity in gelatin.

れた。すなわちピーク1は60℃で処理した際に最も活性が高くなり、70℃で処理されると活性は一旦低下するが、80、90℃処理によって再び活性が高くなる。一方、ピーク2の活性は50℃で処理された場合に最も高く、さらに温度を上げると失活する。即ち、ピーク1は最高の活性を得るための処理温度では市販品に近いが、それ以上の温度処理に対する反応を見ると全く違う。ピーク2は最高温度において異なるが、高温に対する反応では市販品に類似している。試料作成の際、ゼラチン溶液を調製する段階では60℃以上の高温で調製すると、その後、放射線をかけても酵素類似活性は誘導されないで、ピーク1に見られた不思議な現象は、照射によって生じた変化が熱によってさらに酵素類似活性を高める様な変化を起こしたことによるものと推測される。この様に、放射線によって蛋白質分子に引き起こされる変化は決して一様なものではないことが明らかにされた。

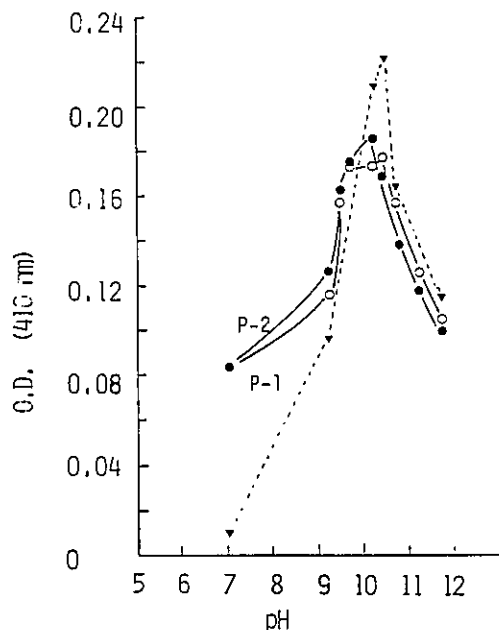


Fig.2 pH dependency of A. P.ase-like activity of irradiated gelatin.

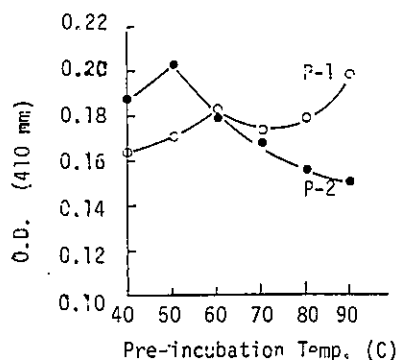


Fig.3 Effect of heat on the induced A. P.ase-like activity.

ミニシンポジウム

(A)

—火星の生命探査—

- ◎火星の生命探査計画 斎藤 威（東大・宇宙線研）
- ◎原始および現在の火星上での有機物の無生物的生成 小林憲正（横浜国大・工）
- ◎火星熱水環境下での化学進 柳川弘志・小林憲正（三菱化学生命研、横浜国大・工）
- ◎火星の生命探査法 河崎行繁（三菱化学生命研、宇宙科学研）
- ◎火星の生命探査と宇宙検疫 小池淳平（東工大・生命理工）

火星生命探査計画

Search for Bioorganic Compounds and Organisms on Mars

斎藤 威(東大・宇宙線研)

Takeshi Saito

(Institute for Cosmic Ray Research, University of Tokyo)

1. 火星生命探査計画のリアリティ

火星の谷に観測機を着陸させ、掘削して地下から試料を採取し、生体有機分子や微生物あるいは微生物の死骸を検出する。データーは火星を周回する母船へ送り、そこから地球に転送する。この計画の今世紀中の実現へ向けて日露米欧の研究者、技術者で検討を進めている。このような火星生命探査計画にリアリティはあるのだろうか。

どの国の宇宙開発でも、惑星探査には火星探査が必ずその一つとして計画リストに入っている。日本の火星探査は、火星に適当に近づくこと、10年以内に可能な技術であろう。月へなら、日本の宇宙技術レベルでも可能である。また月面基地計画は建設業界や宇宙関連企業の利権とも直接結びついており、実現への内圧も極めて高い。惑星探査と云っても、真に計画しているのは或いは実現性があるのは月面基地計画だけである。

米国では1970年代のVikingの否定的結果以来、生命探査計画は提案し難い雰囲気があり、最近のMars Observerの失敗もあり火星探査プログラムは相当遅れそうである。ロシアは生命探査機着陸計画をもつ唯一の国であるが、経済的混乱で遅延はまぬがれない。このように、火星生命探査計画めぐる客観的状況は極めて不透明である。

しかしながら、この困難な状況は、逆に問題を極めて単純化しているという利点がある。国家関係や利権関係から離れ、純粋に科学的議論が可能である。昨年(1994年)の春のモスクワで、斎藤の火星生命探査計画の提案に対して、研究者のみならず多くの宇宙技術者が全面的協力を約束してくれた。Babakin Center副所長の「生命探査の独立のミッションを考えよう」という発言は、リップサービスというより彼等自身の希望の発露なのである。Babakin Centerの所長は、まとまるのなら最も近いミッションで優先的に実現することも可能と言っている。秋のトリエステでのオパーリン生誕100周年記念国際会議で、Ponnamperumaは、日露だけでなく、NASA、ESA、NATO、World Lab.にも呼びかけようと、自らアメリカ側のまとめ役をかって出た。Return to Mars! と、口角あわを飛ばしての、70過ぎとは思えない彼との真夜中すぎまでの熱い議論を忘れない。全体のまとめ役を命ぜられたのだが、今は彼の遺言と思ってその実現へ努力したい。今年(1995年)のトリエステはPonnamperumaのメモリアルになってしまったが、ここに火星生命探査のセッションを設け、Babakin Centerの技術者も招待し、日露欧米で計画を煮詰めた。この議論を受けてモスクワでワークショップを開催する予定である。ロシアの企業が火星生命探査計画への供金を約束している!!。純粋に学問的観点からすれば、世界で幾つもの計画が競合する必要はない。世界の研究者や技術者の、火星生命探査への熱意と智慧を結集して一つ計画に結実させたい。

2. 何を測るのか

日本側が提案している検出器系(図-1)は、生体有機分子を検出する四重極質量分析器(QMS)、紫外線吸収計、バクテリアなどの微生物やその死骸、生体有機分子の塊などを検出する蛍光顕微鏡(FMS)である。ロシアグループや米国のグループの提案と突き合せ、全体で20 Kg弱の検出系を想定している。火星着陸機は重量約600 Kgで、このうち科学機器は10%の60 Kgである。これを種々の分野で分配するので、独立のミッションを考えない限り、生命関係全体としても高々5 Kgが取り分である。ロシアのMars-98も既存の計画だけで一杯で削減の議論が進んでいる。にも係わらず、the nearest missionで20 Kg計画が可能???と考えている。

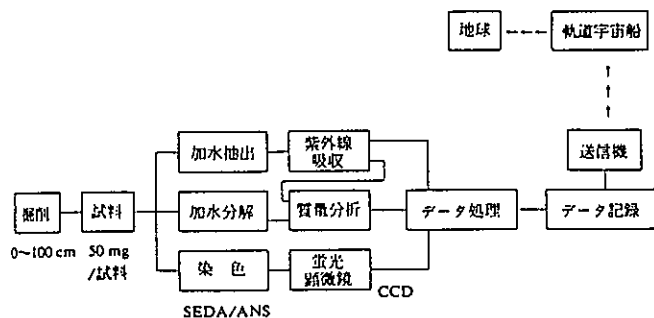
Ponnamperumaによれば、公表されなかった幻の学位論文があるとのこと。Vikingの予備のGC-MSで地球の土壌を測定したら、「地球にはアミノ酸が存在しない」という結論になったという。このGC-MSとFMS(日本)とを連動して幻の学位論文の再実験を日米共同研究として進める予定である。日本のQMSはこの予備実験過程で統一できるだろう。地下から採集した酸化されていない土壌試料であれば、Vikingで使用された試料培養系も有効であろう。米国側に提案を考えている。日本側提案の測定器もまだ確定したわけではない。別の良い方法があれば、是非提案してほしい。

3. 何処に着陸するか

宇宙線と原始地球大気($\text{CO}+\text{N}_2+\text{H}_2\text{O}$)との相互作用を模した加速器実験では、アミノ酸などの生体有機分子が効率良く生成されることが示された。その生成率(G-値)は他のエネルギー源(例えば放電)に比べてが最大であることが示された。火星も形成初期数億年は、地球と同じ地質学的歴史をもっており、火星の40億年から35億年前の地下土壌の中にはいまでも生体有機分子や微生物が眠っている可能性がある。着陸の候補地としては極冠が見られる極地方が考えられる。しかし、極への着陸は飛翔・着陸技術上容易ではない。また、極地方の表面は若い(1000万年)地層と考えられているので相当深く掘る必要がある。従って、赤道附近の古い地層の谷が着陸候補地として検討の対象にしたい。例えば、Valies Marinerisの周辺のSyria Planum、Sinai Planum、Lunae PlanumやHesperia Planumなど。しかし、より積極的な理由があれば極への着陸も可能である。何処を探すかは、生命探査が成功するかどうかの鍵といっても過言ではない。提案をお願いする。

4. 技術開発

提案している検出器は、実験室では既に確立した技術であるが、計量化(数Kg)、完全自動化、耐加速度100Gなど解決しなければならない。我々だけでなく日本の技術にとって初めての経験である。大学関係だけでなく、若い研究者・技術者の参加御協力を切望している。



SA2

原始および現在の火星上での有機物の無生物的生成 Abiotic Formation of Organic Compounds on Primitive and Present Mars

小林憲正（横浜国立大学・工学部）

Kensei Kobayashi

(Department of Physical Chemistry, Yokohama National University)

1. はじめに

地球を除く太陽系の惑星・衛星の中で火星は生命が誕生した可能性が最も高い天体と考えられている。現在の火星は二酸化炭素を主とする希薄な大気を有するが、その地表には液体の水はないと考えられている。しかし、火星は40億年くらい前までは地球と平行して進化し、その結果、豊富な液体の水と原始地球と類似した濃厚な大気を有した可能性が高い。このような環境下では、原始地球と同様な化学進化により有機物が生成し、場合によってはそのような有機物から生命が誕生した可能性が考えられる。今回は原始火星および現在の火星の模擬環境下で生体有機物が生成する可能性を模擬実験結果をもとに考察し、その検出のための問題点を指摘する。

2. 原始火星上での有機物の生成

火星は地球と同様、約46億年前に微惑星の衝突合体によって生成したと考えられている。よって、原始火星大気は原始地球大気と同様に、二酸化炭素・一酸化炭素・窒素・水蒸気を主とする還元型のもので推定される。このような大気からは放電・近紫外線・熱などでは有機物は生成しにくい、宇宙線のエネルギーなどを用いれば有機物の生成は可能である。一酸化炭素・窒素・水の混合気体に宇宙線成分の高エネルギー陽子・ヘリウムイオン・電子などを照射することによりアミノ酸前駆体やイミダゾール・ウラシルといった生体複素環化合物の生成が確認されている[1]。ただ、一酸化炭素／二酸化炭素の比率に関しては諸説があり、もしこれがほぼ0とすると、宇宙線エネルギーをもってしても有機物の生成量は極めて低くなる。この場合、有機物の主要な供給源は火星（地球）圏外に求めざるをえず、彗星中の有機物が有力候補となる[2]。いずれにしろ、原始地球上で原始大気もしくは彗星から供給された有機物が原始海洋に蓄積し、生命の誕生を準備したと考えるならば、原始火星でも同様な過程が起きた可能性は高い。

3. 現在の火星大気中での有機物の生成

現在の火星大気は二酸化炭素を主成分とする希薄なものであるが、微量成分として窒素(2.7%)・一酸化炭素(0.07%)・アルゴン(1.6%)・酸素(0.13%)・水蒸気などを含む。このような混合気体からは、宇宙線エネルギーなどにより低収率ながらもアミノ酸などの有機物の生成が可能である。ただし、現在の火星は海を持たないため、生じた有機物は火星表面に集められることになる。ヴァイキング探査により判明したように、火星の表土は極めて酸化的であり、有機物はすぐに分解されてしまう。ただ、両極地方はドライアイスもしくは水の氷からなる極冠に覆われている。この極冠中には火星大気中で生じた有機物が濃縮されている可能性がある。

4. ヴァイキングによる火星の有機物探査

1970年代、米国はヴァイキング1号、2号を火星に軟着陸させ、いくつかの有機物および生命探査実験を行った。有機物探査には熱分解ーガスクロマトグラフ質量分析(GC/MS)計が用いられ、試料をオープンで500℃で30秒間加熱した時に生じる気体をGCで分離後、MSで分析した[3]。この装置は探査機に搭載する前に地上での予備実験が行われた。試料としてマーチソン隕石を用いた場合、ナフタレンなどの芳香族化合物が検出された。しかし、実際の火星表土の分析結果は、極微量の二酸化炭素が検出されたのみで、有意量の有機物の存在は確認できなかった。

この測定にはいくつかの問題点がある。まず、試料の採取場所である。同時に行われた生命探査(代謝および光合成)実験結果の解析から、採取された試料中には超氧化物・過氧化物が多く含まれていると考えられる。つまり、もともと有機物が安定に存在しうる環境ではなかった。また、火星表土中に有機物があっても、それが炭素質コンドライト中の有機物とは性質が異なったもの、例えば地球の土壌有機物のようなものだったとしたら、500℃で加熱することにより完全に分解して二酸化炭素のみしか検出されない可能性もある。

5. 今後の火星有機物探査法

ヴァイキング計画では生命はおろか、有意量の有機物も検出されなかった。このことは火星上に生命や有機物が存在しないことを必ずしも意味しない。例えば、火星がかつて有した水の一部は、現在も地下に凍土として残っていると推定されている。このような地下凍土中には、原始火星上で無生物的に生成した有機物、あるいはもし火星上で生命が誕生したならば火星生物によって作られた有機物が保存されているかもしれない。また、極冠の氷(またはドライアイス)中には現在の火星大気から生成した有機物や惑星間塵由来の有機物が含まれている可能性がある。次期火星探査では探査試料として、これらの有機物を含む可能性がより高いものを対象にすべきである。

また、分析法は、検出すべきターゲットを絞った手法を用いることが考えられる。例えば、無生物的に生成したアミノ酸関連分子の検出を試みるならば、試料(例えば凍土)を水で処理し、抽出物をそのまま、あるいは酸加水分解してから質量分析を行う、といった方法が考えられる。この場合、質量分析計は重量の問題などから四重極型のものが検討されている[4]。

6. おわりに

生命の起源に関する化学進化仮説は、現在は主として模擬実験によって検証が進められている。これは、地球上では生物により化学進化の痕跡が消し去られてしまったからである。これに対して、火星の地下凍土や極冠中には火星上での化学進化の過程の「化石」が保存されている可能性が高い。早期の火星有機物探査が望まれる。

参考文献

- [1] K. Kobayashi, et al., *Adv. Space Res.*, **15**, 127-130 (1995); *Anal. Sci.*, **7Suppl.**, 921-924 (1991), *ibid.*, **7Suppl.**, 925-928 (1991); *Origins Life Evol. Biosphere*, **20**, 99-109 (1990).
- [2] K. Kobayashi, et al., *Adv. Space Res.*, in press; 笠松隆志ほか, *Viva Origino*, **23**(1), in press (1995).
- [3] G. A. Soffen, *Science*, **194**, 1274-1277 (1976); K. Biemann, *Origins Life*, **5**, 417-430 (1974).
- [4] D. Chernavskii, et al., *Proceedings of the Conference on the Structure and Model of the First Cell*, ed. by J. Chela-Flores, Kluwer Academic, in press.

SA3

火星熱水環境下での化学進化

Chemical evolution in Martian hydrothermal environments

○柳川弘志¹、小林憲正²

(¹三菱化学生命科学研究所、²横浜国大・工)

Hiroshi Yanagawa and Kensei Kobayashi

Mitsubishi Kasei Institute of Life Sciences and Dept. Phys. Chem.

Yokohama Natl. Univ.

生命の誕生の条件として、まず第一に、液体の水が存在することである。水は生体を構成する有機化合物や無機化合物をよく溶かす溶媒であり、その中で炭素化合物を中心とする有機化合物の一連の反応の結果、生命の分子システムが構築された。

現在の火星は冷たく、荒涼とした惑星である。表面温度は年平均で -58°C で、水がたとえ存在したとしても永久に凍ったままである。しかし、種々の地質学的証拠から、火星にはかつて暖かく濃い大気や海が存在していたと考えられている。だから、火星はその誕生からある時期、35億年ぐらい前までは、地球と同じ歴史をたどったのかもしれない。

火星で生命が生まれるとき、突然生まれたわけではない。簡単な物質から複雑な物質を合成しながら、秩序あるシステムを形成し、その機能を高めて、より生物に近いものへと進化していった。最初の生命が誕生するまでの時代が化学進化の時代だ。原始火星上での化学進化では、生命の材料は火星をおおっていた大気からもたらされた。反応を推進させるエネルギー源は太陽光、海底熱水噴出孔、宇宙線などである。

なかでも、海底の熱水噴出孔付近は生命の誕生の場として有望だ。海底の熱水噴出孔は、40億年前の火星にも存在していたと考えられる。火星がドロドロにとけていた状態から固まって地殻ができ、海ができつつある時代には、地殻が柔らかく全火星規模で熱水が噴き出していたと想像できる。

最近、地球の海底の高温の熱水環境下で生命は誕生したのではないかという可能性が注目されるようになってきた。ガラパゴス諸島付近、東太平洋海膨（深海底の隆起部）、ファン・デ・フカ、カリフォルニア湾内のワイマスベーズン、マリアナ、沖縄などの海底の地殻の裂け目から高温の熱水が噴き出していることが見出されている。なかでも、北緯21度の東太平洋海膨の水深2600メートルのところにあるブラックスモーカーと呼ばれる噴出孔は、 350°C の超高温の熱水を噴き出している。海底熱水噴出孔は、メタン、硫化水素、水素、アンモニアなどの濃度がまわりの海水に比べて異常に高く、いわゆる還元的な環境である。

海底熱水噴出孔は温度が高く、規模が大きいので化学反応を進めるためのエネルギー源が豊富である。また、鉄やマンガンや亜鉛などの金属イオンの濃度が極めて高いなどの特徴をもっている。このような海底の熱水噴出孔は40億年前の先カンブリア時代の地球上にも存在したと考えられる。その証拠としては、38億年前にできたグリーンランドのイスアの地層で、海底起源の玄武岩のなかに硫化物が堆積しているのが見つかったことなどがあげられる。地球がドロドロにとけていた状態から固まって地殻ができ、海ができつつある先カンブリア時代には、地殻が柔らかく全地球規模で熱水が噴き出していたと想像できる。

化学進化の過程において、化学反応を進めるためにはエネルギーが必要である。海底熱水噴出孔ではそのエネルギーは高温の熱である。地殻の裂け目からしみ込んだ海水がマグマの熱で急激に熱せられ、ただちにそのマグマとの接触面を離れ冷却される。煙突状の噴出孔をもつスモーカー型では、350℃以上の熱水が4℃の冷海水中に急激に噴き出される。一般に有機分子は高温で合成されやすいが、分解もされやすい。海底熱水噴出孔のシステムでは、噴出孔中の高温状態で合成された有機分子を安全な低温の状態に移すことが可能である。つまり、海底熱水噴出孔は高温から低温へ熱の勾配のついた流動反応炉である。

現在の生体系における種々の微量元素イオンの重要性は近年とみに注目されてきている。生命の起源における微量元素イオンの役割についても数多くの報告がある。海底熱水噴出孔海水は鉄、マンガン、亜鉛、銅などの濃度が普通の海水の値よりも1000倍以上も高い。それゆえ、これらの金属イオンの熱水中での有機反応への参加は十分に期待できる。

これまで私たちは、海底の熱水噴出孔のような模擬海洋環境を設定し、そのなかでの化学進化をしらべてきた。その結果、メタンからグリシンをはじめとしていろいろなアミノ酸が生成することや¹⁾、アミノ酸からペプチドや細胞様構造体の微小球が生成すること²⁻³⁾を知った。原始地球大気が酸化的であった場合、アミノ酸のような生体構成分子を原始大気から効率よくつくるには、還元的な場が必要である。海底熱水噴出孔は、そのような還元的な環境を40億年前ごろから保存してきたものと考えられる。その証拠としては、38億年前にできたグリーンランドのイスアの地層で、海底起源の玄武岩のなかに硫化物が堆積しているのがみついている。原始の海洋において熱水活動はいまよりは盛んであったであろうこと、実際の熱水噴出孔は私たちの実験系のように閉鎖系ではなく、解放系であることなどから、実際のアミノ酸などの合成の効率は私たちの実験結果よりもかなり高かったものと思われる。ここでは火星と地球の熱水環境下での化学進化について考えてみたい。

文献

- 1) H. Yanagawa and K. Kobayashi, *Origins of Life and Evolution of the Biosphere*, 22, 147-159(1992).
- 2) H. Yanagawa and K. Kojima, *J. Biochem.*, 97, 1521-1524(1985).
- 3) H. Yanagawa, Y. Ogawa, K. Kojima, and M. Ito, *Origins of Life and Evolution of the Biosphere*, 18, 179-207(1988).

Method for the Exploration of Mars Life

河崎行繁（三菱化学生命科学研究所、宇宙科学研究所）

Yukishige Kawasaki (Mitsubishikasei Institute of Life Sciences,
Institute of Space and Astronautical Sciences)

1. 背景

1975年にアメリカのヴァイキング探査によって火星の生命探査が2回行われたが、そこでは生命は検出できなかった。ヴァイキング探査では、生命活動に伴う代謝実験がおもに行われた。しかし、代謝活動というものは、適当なエネルギー源があって、いろいろな分子がある程度秩序だった関係を保ってそのエネルギーを利用できる場合に見られる高度な生命現象である。従って、生命体が死体ともいふべき状態であったり、痕跡程度にしか残っていない場合は代謝現象はほとんど見られない。また、生きた生命体がいたとしても、それにとって必要なエネルギーの形態や代謝経路が不明な場合がある。このような条件下で、生命体の検出を行う場合に、代謝実験に大きく依存するのは大変危険である。地球上の生命体を検出する場合でさえ、代謝物の測定だけでははっきりしたことがいえない場合があるのである。さらに、ヴァイキング探査の場合も問題となったが、環境条件によっては、無機的反応であってもあたかも生命活動であるかのように見える場合もある。そこで、我々は、代謝物の分析という間接的測定ではなく、とにかく、直接に生命体を眼で見てしまうという直接観察法を開発し、それを火星の生命体検出に応用することにした。

2. 原理、手法

火星に生命体がいたとしてもそれは微生物であろうし、しかも、それは土壤にまぎれこんでいるであろう。土壤中の微生物の検出は地球においても非常に困難で信頼される方法は確立していない。現在、自然界の微生物の検出を行う場合に最も普遍的に用いられている方法は平板培養法である。しかし、土壤の場合、平板培養法で検出できるのは本来存在している細胞の1/100以下ではないかといわれている。特に、胞子のような休眠細胞の検出が困難なことが多い。そうすると、火星のように、生命がいたとしても非常に数が少なく休眠状態の細胞が多いと思われる場合は、平板培養法は不適である。そこで、我々は顕微蛍光法（試料を蛍光色素で染色して、顕微鏡でその蛍光を検出する手法）によって土壤微生物を検出することを試みた。

生命の三大特徴は、1) 数居があること、2) 情報を保持していること、3) 物質、エネルギー代謝をすることである。そして、これらの機能を担当する構造や分子というのがそれぞれあるが、それらは1) 細胞膜、2) 核酸、3) 酵素である。

顕微蛍光法では生命の特徴そのものではなく、これらの構造や分子の存在を検出することになる。世の中には莫大な数の蛍光色素があるが、その中のあるものは、不均一な環境下でも先に挙げた細胞膜、核酸、酵素を特異的に染色する。しかも、これらの色素は強い光を放つので、適当な顕微鏡を用いれば、バクテリアのように直径1 μm 程度の小さい生物でもそれらの一個一個を充分観察できる。そこで、適当な色素を組み合わせで染色する

と、未知の物体の生命らしさの評価基準を作ることでもある。すなわち、細胞膜も、核酸も、酵素もあれば完全に生命といって良いだろうし、この中の二つだけがあれば生命らしい、そして一つだけならゴミかなといったことである。生命の構造を考えると、地球以外の環境下で生命が生まれたとしても、基本的原理、基本的分子構造は地球生命のそれと類似した物であろうと思われる。従って、この方法による火星生命探査は第一次的には的はずれではないと言える。

3. 結果

我々はこの方法で多くの地球の微生物を検出できるかどうかを調べたが、現在までのところ、地球微生物の中で検出不可能なものはなかった。細胞の生死の判別も可能であることも明らかとなった。また、一部の原始細胞様有機構造体もこの方法で検出できた。検出器の性能から計算すると、大腸菌の1/1000程度の大きさのもの（直径0.1 μ m程度）でも充分検出可能である。これらの実験結果に基づいて考えると、火星の生命探査においても顕微蛍光法は充分、機能を果たせるだろう。（もっとも、多くの有機物が混在しているようないわゆる”汚い環境下”で微生物を検出できるかどうかはまた別の問題点ではあるが。）火星は地球に比べて、有機物量は格段に少ないであろうから、顕微蛍光法で調べる場合バックグラウンド蛍光ははるかに小さいと思われる。もしそうだとすると、火星での生命探査は地球より容易であるということになる。地球でも砂漠土壌は測定しやすい試料の代表である。ただし、火星の生命探査の場合は、自動操縦であること、小型軽量であることが必要である。特に、顕微鏡操作は微妙な技術であるので、地球の技術を火星に応用するにはかなりの技術開発が必要である。この点が今後の課題である。多くの方の研究参加をお願いしたい。

地球土壌において微生物の垂直分布を調べてみると、地表より15cm程度下において細胞数は最大となった。これは地表では環境条件が不安定であったり、紫外線の照射があったりすることによるのではないと思われる。火星では表面は地球よりはるかに生命の生存に不適である。地球の例から考えても、火星では少なくとも数10cm以上の掘削が必要であろう。

顕微蛍光法だけでは光るものがすべて生命といえるかどうか決定的ではないこともしばしばあるが、この方法と有機物分析、代謝活性測定とを組み合わせると、生命の存在に関してヴァイキング探査よりはるかに信頼性の高い成果が得られると信じている。

この方法の重要な特徴は未知の生命の探査や人工生命を作る場合に、それが如何に生命らしいかということに対する評価基準を単一の手法でつくることができるということである。さらに顕微鏡での測定であるため非常に不均一で望みの生命（または構造物）がわずかしき出来ていない場合でもその検出が可能であるということである。従って、本方法は火星の生命探査だけでなく、地球での人工生命の合成実験にも応用できる。

参考文献

- [1] 河崎行繁 日本惑星科学会会誌 遊星人 3: 183-192 (1994)
- [2] T. Tsuji, Y. Kawasaki, S. Takeshima, T. Sekiya, and S. Tanaka Appl. Environm. Microbiol. in Press

* 小池 惇平・大島 泰郎 (東京工大・生命理工)、堀 輝三・片平幸枝 (筑波大・生物科学系)、小池和子 (筑波大・医学系)、田中一裕 (通産省生命工学工業技術研究所)、河崎行繁 (三菱化成・生命研)、小林 憲正 (横浜国大・工)

Junpei Koike, Tairo Oshima (Faculty of Bioscience and Biotechnology, Tokyo Institute of Technology), Terumitsu Hori, Yukie Katahira (Institute of Biological Science, University of Tsukuba), Kazuko A. Koike (Institute of Community Medicine, University of Tsukuba), Kazuhiro Tanaka (National Institute of Bioscience and Human-Technology), Yukishige Kawasaki ((Mitsubishi-kasei Institute of Life) and Kensei Kobayashi (Faculty of Technology, Yokohama National University)

太陽系惑星の生命探査は人類共通の目標である。今世紀末から21世紀にかけて多くの探査機が予定されている。こうした現状を鑑みて、我々は以前より模擬惑星環境を用いて地球由来生物の生存実験を検討してきた。つまり、近い将来、生命探査が行われる場合、その惑星でどのような生物の生存の可能性があり、そのためにはどのような探査法が適当であるかといった基礎的な認識を持つておくことは必要である。さらに、生命探査を行う場合、最も注意しなければいけないことは地球由来生物の汚染の問題である。この言わば“宇宙開発と宇宙汚染”といった問題は近年とみに国際的に注目を集めている。この宇宙検疫ともいえる制度は二つの重要な内容を含んでいる。つまり、宇宙開発に伴い宇宙環境での基地の設置や惑星探査の際に、地球の生物が宇宙空間や惑星表面にばらまかれることによってこうした環境が汚染を受けることはないか？もう一つの問題は、逆に宇宙から持ち帰った試料によって地球環境が汚染を受けることはないか？こうした問題に関して、現在我々はクライオスタットによる模擬惑星環境を用いて基礎的な研究を試みている。

本報告では主に模擬火星環境を用いて実験を行った。火星の200年分に相当する紫外線と加速陽子線を照射した後の生存率を測定した結果、枯草菌、黒コウジカビ、嫌気性菌の胞子やクロレラ等の藻類が高い生存率を示すことが解った。さらに、火星の極冠を模した環境で2,000年分の照射をした結果、ほとんど死滅を示さなかった。こうした結果より、我々は将来の生命探査のための安全基準について現在検討を進めている。

1984年にNASAは火星汚染の基準値をProbability of growth (Pg) $< 1 \times 10^{-7} \sim 1 \times 10^{-10}$ に設定し、さらにそれを最近軽減しようとしている。しかし、我々は上記実験結果から1978年にCOSPARが提案したProbability of contamination (Pc) $< 1 \times 10^{-3}$ を指示する。

Table 1. Comparison between laboratory and present-day martian conditions

	Laboratory	Mars
Pressure:	10mbar	5.9~15mbar
Temperature:	-60°C	-60°C
Gases: Carbon dioxide	95.46%	95.32%
Nitrogen	2.7%	2.7%
Argon	1.6%	1.6%
Oxygen	0.17%	0.13%
Carbon monooxide	0.07%	0.07%
Water vapor	0.03%	0.03%
Vacuum UV: mean wave flux	115~400nm 10^{15} quanta $\text{cm}^{-2} \text{sec}^{-1}$	200~300nm 10^8 quanta $\text{cm}^{-2} \text{sec}^{-1}$
Proton: mean energy particles	1 MeV $10^{12} \text{cm}^{-2} \text{sec}^{-1}$	1~10MeV $10^4 \text{cm}^{-2} \text{sec}^{-1} \text{ster}^{-1}$

Table 2. Survival of terrestrial microorganisms after exposed proton and UV radiation corresponding to about 200 years on Mars

Microorganisms	Viable cell number (cells/ml)		Percent survival
	Nonexposed	Exposed	
<i>Escherichia coli</i>	2.6×10^7	2.2×10^5	0.8
<i>Bacillus subtilis</i> (spores)	8.5×10^7	2.1×10^7	25
<i>Micrococcus flavus</i>	1.3×10^8	1.1×10^7	8
<i>Aspergillus niger</i> (spores)	1.3×10^5	3.2×10^4	25

Table 3. Survival of anaerobic bacterias and algae after exposed proton and UV radiation corresponding to about 200 years on Mars

Microorganisms	survival	
	Nonexposed	Exposed
Anaerobic bacteria;		
<i>Clostridium manganoti</i>	+++	+
<i>Clostridium propionicum</i>	+++	+++
<i>Clostridium roseum</i>	+	+
<i>Clostridium butyricum</i>	—	—
<i>Clostridium celatum</i>	—	—
Algae;		
<i>Apatococcus lobatus</i>	+++	+
<i>Chlorella ellipsoidea</i>	+++	+
<i>Chlorella reischii</i>	+++	+
<i>Diplosphaera chodatii</i> 338-1	+++	+
<i>Diplosphaera chodatii</i> 320K	+++	+
<i>Stichococcus bacillaris</i>	+++	+

Table 4. Survival of *Bacillus subtilis* spores after exposed proton and UV radiation corresponding to about 2,000 years on martian polar caps

Viable cell number (cells/ml)		
Nonexposed	Exposed	
	Not ice covered	Ice covered
6.6×10^6 (100%)	0	6.3×10^6 (95%)

参考文献：

1. 小池惇平：特集『地球外有機物』（2）地球外環境と微生物；日本惑星科学会誌『遊星人』 3(3), 193-202 (1994)
2. Junpei Koike: Possibility of Mars terraforming viewed from microbiology; In Space 94, Tokyo, Oct.31-Nov.1, 1994, 154-216 (1994)
3. Junpei Koike, Tairo Oshima, Kensei Kobayashi and Yukishige Kawasaki: Studies in the search for life on Mars; Advances in Space Research, 15 (3), 211-214 (1995)

一 般 講 演

(16 ~ 31)

好熱好酸性古細菌のアミノアシル tRNA 合成酵素の
精製と生化学的性質の解明

Purification and characterization of aminoacyl tRNA synthetase
from
extreme thermoacidophiles

吉村 泰一、居原 秀、石神 正浩（大阪府大、総合科学）

Taiichi Yoshimura, Hideshi Ihara and Masahiro Ishigami
(College of Integrated Arts and Sciences, University of Osaka Prefecture)

（目的）

アミノアシルtRNA合成酵素（ARS）が蛋白質合成系において果たしている役割は非常に重要である。ARSの起源、およびその進化は、蛋白質合成系の起源、およびその進化と密接に結びついていると考えられている。普遍的遺伝暗号の成立過程も、ARSの進化と深く結びついていると考えられる。ARSの研究は、真核生物、真正細菌で多くなされているが、古細菌においては未だほとんどなされていない。われわれは、古細菌のARSの構造を明らかにし、ARSの進化過程を解明することを目的としている。今回は好熱好酸性古細菌*Sulfolobus acidocaldarius*のアスパルチルtRNA合成酵素(Asp-RS)の精製と、その生化学的性質について報告する。

（方法、結果）

培養：*Sulfolobus acidocaldarius* を、硫酸を用いてpH2.5にあわせた0.02% NaCl、0.03% KH_2PO_4 、0.13% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、0.025% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、0.005% $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、0.1% Yeast extract、0.1% Pepton、0.1% Glucose培地中、摂氏78度で通気培養した。対数増殖期後期（約70時間後）の細胞を集菌した。

粗酵素溶液の調製：集菌した細胞をガラスビーズを用いて機械的に磨砕した。46600 x gで遠心した上清を硫酸アンモニウム沈殿し、pH6のリン酸緩衝液に溶解、脱塩したものをAsp-RS粗酵素溶液とした。

粗酵素溶液を用いたAsp-RSのpH、温度依存性の測定：摂氏30度から摂氏80度まで10度おきに温度を設定し、pH6で各温度での酵素活性を測定した。その結果、摂氏50度から摂氏60度においてもっとも高い活性を示した(Fig. 1)。また摂氏50度において、pH4、5、6、7、の各条件下で酵素活性を測定したところ、pH6において活性がもっとも高かった(Fig. 2)。

Asp-RSの精製：粗酵素溶液からAsp-RSを、GIGAPITE による吸着クロマトグラフィー、Superdex 200 によるゲル濾過クロマトグラフィーにより精製した。比活性は207.5倍になった。(Table 1)

現在、部分一次構造の解明のための精製を行っている。

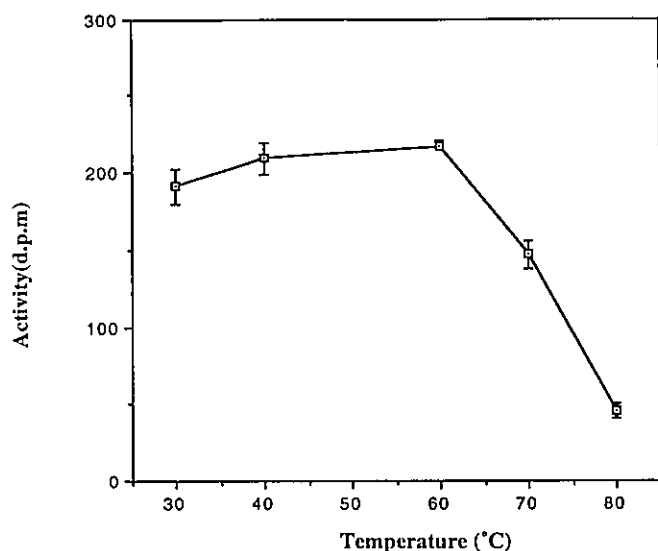


Fig.1. Temperature dependency of Enzyme activity of Asp-RS

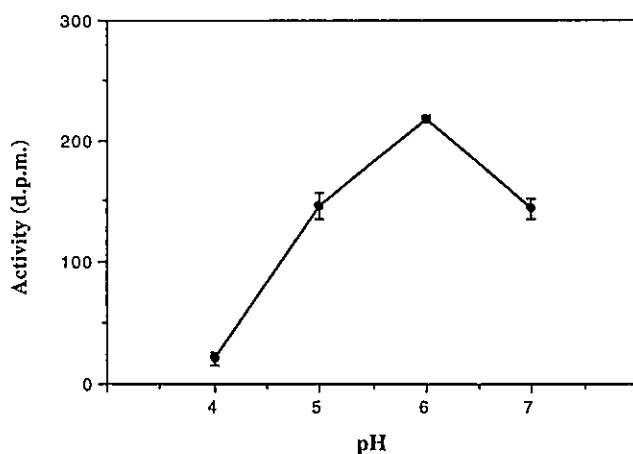


Fig.2. pH dependency of Enzyme activity of Asp-RS

Table 1. Purification of Asp-RS from *Sulforobus acidocaldarius*

	Activity (pmole/min)	Protein (mg)	Specific Activity (pmole/min/mg)	fold	Recovery (%)
Crude	0.0940	225.4	0.0004	1.0	100
GIGAPITE	0.1024	13.0	0.0079	19.7	5.77
Superdex 200	0.0772	2.5	0.0309	77.3	1.11
Superdex 200	0.0317	0.4	0.0830	207.5	0.18

17

高度好塩菌のアミノアシルtRNA合成酵素 の単離精製と構造解析

Purification and characterization of aminoacyl tRNA synthetase
from extreme halophile

居原 秀、石神正浩 (大阪府大、総合科学部)

Hideshi Ihara and Masahiro Ishigami

(College of Integrated Arts and Sciences, University of Osaka Prefecture)

(目的)

アミノアシルtRNA合成酵素(ARS)は蛋白質合成系とともに進化してきたと考えられる。進化の初期段階では現在のように20種のアミノ酸に対応するARSが存在していたのではなく数種類の祖先ARSが存在し、これらが分化してゆきアミノ酸とそれに対応するtRNAを正確に結合させるようになった。これにより遺伝コードが確立し、正確な遺伝情報の翻訳が可能となり現在の蛋白質合成系が確立していったと推測できる。各アミノ酸に対するARSの構造、認識機構がどのように保存、分化しているかは非常に興味深い問題である。これまでARSについては真正細菌と真核生物でよく研究されているが古細菌ではほとんどなされていない。我々は古細菌のARSの一次構造を解析し、ARSの分子進化の過程を解明することを目的としている。今回は高度好塩性古細菌*Halobacterium salinarum*のアスパルテイルtRNA合成酵素(AspRS)の精製およびその部分一次構造について報告する。

(方法、結果)

AspRSの精製 ; *Halobacterium salinarum*の培養を25% NaCl、2% $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、0.3% citrate.3Na、0.2% KCl、1% polypepton、0.5% yeast extractを含む培地(pH 7)中、40°Cで通気培養し対数増殖期後期の細胞を集菌した。細胞を超音波破碎し、超遠心(100,000 x g, 1 hour)上清をSepharose CL6Bによる水素結合クロマトグラフィー、Superdex200によるゲル濾過、Gigapiteによる吸着クロマトグラフィー、Superdex200による再ゲル濾過を行い比活性171.5倍に精製した(Table 1)。2度目のゲル濾過での各フラクションをSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動(SDS-PAGE)で解析した結果、分子量66000のバンドの出現パターンが活性のピークと一致していた。これまでに報告されている真核生物、真正細菌のAspRSの分子量がいずれも57000~75500であることもふまえて、この分子量66000のバンドをAspRSとみなした。

部分一次構造の決定 ; N末端配列はAspRSをSDS-PAGEで分離しPVDF膜に転写した。蛋白質染色後分子量66000のバンドを切り出し気相シーケンサー(島津 PSQ-1)でアミ

○木暮ひとみ・宍戸弘子・島田秋彦
(筑波大学・応用生物化学系)

Hitomi Kogure, Hiroko Shishido, Akihiko Shimada
(Institute of Applied Biochemistry, University of Tsukuba)

1.はじめに

トリプトファナーゼ (TPase) は通常条件下ではL・トリプトファン (L-Trp) にのみ活性を示すが、高濃度リン酸水素二アンモニウム溶液中ではD・Trpに対しても分解活性を示す。リン酸水素二アンモニウム溶液中でのL・TrpおよびD・Trpに対するTPase活性の動力学的な解析やその反応機構のモデルについては既に報告した。

今回はL・TrpとD・Trpの活性部位について検討するために、D・TrpによるL・Trp分解活性の阻害の様子と、エタノールのD・Trp分解活性とL・Trp分解活性に対する作用の差違について報告する。

2.実験方法

1) 酵素の精製

Sigma製のTPaseは、SDS-スラブ電気泳動でチェックすると15本のバンドが観察された。このため純度の良いTPaseとは言い難く精製を行う必要があった。そこで等電点電気泳動を行い酵素の精製を行った。この精製酵素を以下の実験に用いた。

2) D・TrpによるL・Trp分解活性の阻害

TPaseのL・Trp分解活性に対してD・Trpが阻害作用をもたらすか検討した。反応液組成はリン酸水素二アンモニウム飽和濃度20%、PLP $100 \mu\text{g/ml}$ 、D・Trpは0、50または $100 \mu\text{g/ml}$ 、Britton-Robinson緩衝液、精製酵素 $1.5 \times 10^4 \text{ unit/ml}$ 、L・Trpを $50 \mu\text{g/ml}$ から $200 \mu\text{g/ml}$ の範囲で調製した。反応時間は30分、37℃で振とうしながらおこなった。反応後分解して生成したインドールをブタノール抽出し、エールリッヒ試薬で呈色し570nmの吸光度を測定することにより定量した。この反応の結果をLineweaver-Burkプロットし、D・TrpのL・Trpに対する阻害効果を検討した。

3) D・およびL・Trp分解活性へのエタノールの影響

反応液組成はリン酸水素二アンモニウム20%飽和濃度、PLP $100 \mu\text{g/ml}$ 、D・またはL・Trp $200 \mu\text{g/ml}$ 、精製TPase $1.5 \times 10^4 \text{ unit/ml}$ (L・Trpが基質のとき)、または $6.0 \times 10^4 \text{ unit/ml}$ (D・Trpが基質のとき) で、全量5mlになるようにBritton-Robinson緩衝液を加えた。これに99.5%エタノールを0、20、40、80、 $100 \mu\text{l}$ を加えた。反応時間はL・Trpが基質のときは1時間、D・Trpが基質のときは4時間とし、37℃で振とうした。

3. 結果と考察

1) D-Trp による L-Trp 分解活性の阻害

L-Trp 分解活性はリン酸水素二アンモニウム 20% 飽和濃度の場合、D-Trp 濃度が高くなるに従い 20% 程度阻害された。D-Trp 濃度が $200 \mu\text{g}/\text{ml}$ で阻害は最も強くなった。一方、リン酸水素二アンモニウムを加えない場合は D-Trp による阻害は見られなかった。また Lineweaver-Burk プロットの結果から D-Trp は非拮抗阻害剤として L-Trp 分解活性を阻害することが分かった。

2) D および L-Trp 分解活性へのエタノールの影響

エタノールを添加すると、D-Trp では阻害作用を示し L-Trp では促進作用を示すという結果が得られた (Fig. 1)。

以上 1) , 2) より D-Trp と L-Trp の活性部位は異なる可能性がでてきた。

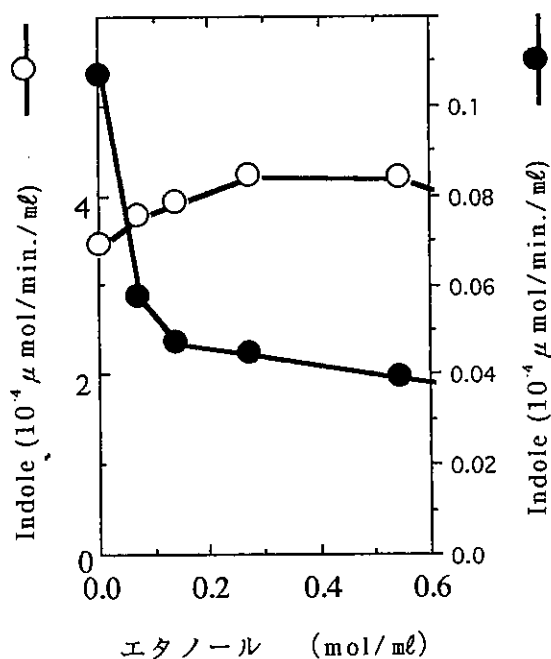


Fig. 1 D および L-Trp 分解活性へのエタノールの作用

○ ; L-Trp ● ; D-Trp

19

好気条件下及び嫌気条件下で *Enterobacter* sp. が生産する細胞外多糖

Extracellular polysaccharides which *Enterobacter* sp.
produces under anaerobic condition

島田秋彦 (筑波大学・応生)

Akihiko Shimada

(Institute of Applied Biochemistry, University of Tsukuba)

1. はじめに

微生物のうち一部の菌体は細胞外に多糖類を生産することができる。この多糖類の機能としてアメーバーなどの食菌作用に対する抵抗や耐乾燥に役立つことが考えられているが、実のところ不明である。これらの菌は偶然発見されたものも多く種類も少ないので進化的な意義は不明である。そこで、好気条件下で細胞外多糖類を生産する菌体のうち嫌気条件下でもそれを生産できる菌体を見つけだし、好気条件下で産生した多糖類と嫌気条件下で産生した多糖類を比較すればその進化的意味を見つけることができるのではないかと考えた。本研究室で分離した通性嫌気性細菌 *Enterobacter* sp. は植物葉の裏側に生息する一群のコロニーから分離した。この菌体の特徴は、好気条件下において、以下に述べるような培養条件にすると細胞外に多糖を生産することである。この菌体を嫌気条件下で生育させると約10日で約100倍 ($\sim 10^5$ colonies/ml) に増殖するが、これから細胞外多糖類を抽出することができた。今回は好気条件下で生成した多糖類の性質を中心に報告する。

表1 *Enterobacter* sp. の同定試験

Gram-stain	—	Acid from	—
Shape	rod (0.6–1.0 × 2–3 μ m)	Dulcitol	—
Motility	+	Glycerol	+
O-F test	fermentative	Inositol	—
Oxidase	—	Mannitol	—
Catalase	+	Mannose	+
Gelatinase	—	Melibiose	+
DNase	—	Methyl glucose	—
Urease	+	Raffinose	—
Methyl red reaction	—	Salisin	—
V-P reaction	+	Trehalose	—
Production of indole	—	Arabinose	+
Nitrate reduction	+	Cellobiose	+
Utilization of malonic acid	+	Lactose	—
H ₂ S generation (TSI)	—	Maltose	—
Decarboxylation of		Rhamnose	+
Arginine	—	Sucrose	—
Lysine	—	Xylose	+
Ornithine	—	Sorbitol	+
Gas from glucose	—	Sorbose	—
G+C content	63.1%	Adnitol	—

2. 実験条件

Enterobacter sp. はBergeyのマニュアルに従って同定したが、現在のところ種名まで決められなかった。左下に同定試験の結果を表1にまとめた。培養液の組成は表2にまとめた。好気条件でも嫌気条件でも糖源はスクロースで同じ培地を用いた。培養条件は、好気条件の場合は30℃でロータリーシェイカーで4日間激しく振盪したのち細胞外多糖を収穫した。一方、嫌気条件の場合、気体組成は $N_2:H_2:CO_2=80:10:10$ で、30℃で静置培養し、10日後細胞外多糖を採取した。

表2 培地組成 (1 l 当たり)

sucrose	40	g
$(NH_4)_2HPO_4$	1.5	g
KH_2PO_4	1.0	g
sodium citrate	1.0	g
$MgSO_4$	0.5	g
$FeCl_3$	10	mg
NaCl	10	mg
$CaCl_2$	10	mg
$CaCO_3$	3	g
thiamine	5	mg
biotin	5	mg

3. 実験結果

好気条件で培養すると最終的に獲得できる多糖類の量が多いが、嫌気条件の場合は培養時間も2.5倍で量も少ないので好気条件の場合の多糖の方から先に分析した。その結果この糖は分子量200万以上の酸性糖であることが分かった。一方、嫌気条件下で生産された糖の形状は水に難溶で粉っぽく前者とかなり異なる。加水分解するとフルクトースとグルコースがみられたが、この糖はスクロースで構成されているものと思われる。この糖がどのような過程で生成したのか興味のあるところだが、やっとスタートラインに着いたところなので糖生成の最適条件や性質について詳しく調べる必要があると考えている。

根本 直人, 伏見 譲 (埼玉大・工)

Naoto Nemoto and Yuzuru Husimi

(Department of Functional Materials Science, Saitama University)

ダーウィン進化する系の必要条件である「遺伝子型と表現型の対応付け」の観点から各対応付け戦略の進化速度を比較した場合、RNAワールドの末期に出現する戦略として、ウイルス型が細胞型に比べ優位であることが前回示された。今回は、RNAワールド末期において、ハイパーサイクルが形成され、その中にウイルス型戦略をとるメンバーが発生した場合、それは複製系と翻訳系をダーウィンの的に進化させ、機能分化させる可能性があることを報告する。

タンパクの初期進化モデル

ここでのタンパクは、ランダムに合成されたポリペプチドではなく、翻訳して合成されたタンパクを意味し、それが極めて原始的な形で出現した場合、次第に進化するモデルである。

〔仮定1〕RNAワールド末期において、次の3つのリボザイムの機能を考える。

a. レプリカーゼ・リボザイム (Bartel&Szostak) b. アミノアシル tRNA シンターゼ・リボザイム (Cech, Shimizu, Möller&Janssen, Illangasekare et al) c. ペプチジルトランスフェラーゼ・リボザイム (Noller et al)

〔仮定2〕ハイパーサイクルの形成。これは、限られた複製忠実度のもとでの情報蓄積機構と考えられる。ハイパーサイクルは、やがて翻訳のあるハイパーサイクルへと進化するが、この際、遺伝子型 (RNA) と表現型 (それがコードするタンパク) の対応付け戦略が問題となる。Eigenは、このハイパーサイクルが細胞の中に包まれるとしたが、我々は、仮定4で述べるように、ハイパーサイクルのメンバーがウイルス型戦略をとるとした。

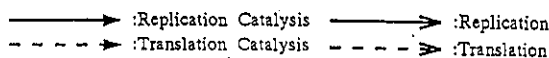
〔仮定3〕最初の翻訳されたタンパクは、レプリカーゼ・リボザイムの補因子として出現した。

〔仮定4〕翻訳産物 (レプリカーゼ補因子タンパク) は、それをコードするレプリカーゼ・リボザイムに結合して、ウイルス的戦略をとる。

〔仮定5〕全個体数一定の連続培養モデルとする。

以上の仮定をもとに考えられたハイパーサイクルモデルが図1である。ここで、ウイルス型生命体「v」のゲノムは、翻訳リボザイム「tr」と同一である。つまり、「tr」上のcoding regionの翻訳は、「tr」自身と他のメンバーであるリボザイム「A」によって触媒され、その翻訳産物は「tr」に結合し、この結合した段階で、「tr」は「v」つまりウイルス型メンバーになると考える。これらを式で表すと、次のようになる。

〔図1〕

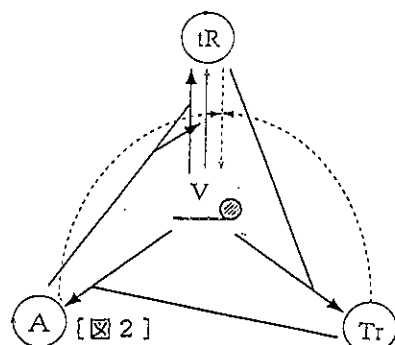


$$\frac{d x_1}{d t} = \sum_{i,j=1,2,v} k_{ij} x_i x_j + k_v x_v - k_t x_1 x_2 - x_1 D$$

$$\frac{d x_2}{d t} = \sum_{i,j=1,2,v} k_{2j} x_2 x_j - x_2 D$$

$$\frac{d x_v}{d t} = k_t x_1 x_2 - x_v D$$

$$D = \sum_{i,j=1,2,v} k_{ij} x_i x_j + k_v x_v$$



ここで x_1 , x_2 , x_v は、それぞれ t_r , A , v のモル分率である。 k_{ij} は、 x_i の複製を x_j のメンバーが触媒する際の複製速度定数であり、 k_v は v が自分自身のゲノム、つまり、 t_r を複製する複製速度定数である。 k_t は t_r と A による翻訳速度定数である。

シミュレーション結果

① k_v が他のリボザイム・メンバーの複製速度定数に比べかなり低い値を与え、また、 k_t も同様に低い活性の場合でも、ウイルス・メンバーはこのハイパーサイクルに発生し、安定して存在することが出来る。一方、翻訳産物がウイルス型メンバーを作らず、遊離したタンパク・レプリカーゼになる場合は、このレプリカーゼは、基質として優れたメンバーのみを増幅させるため、ハイパーサイクルは崩壊する。

② t_r の coding region における突然変異等により、複製速度定数が優れたウイルス・メンバーは、淘汰されてくる。同様に、翻訳速度定数をあげる変異をもった t_r をもつウイルス・メンバーも淘汰される。

③ 2 種類以上のウイルス・メンバーが複製に関し加算的に働くならば、それらは共存し、同時に、各々のウイルス・メンバーの中で最も優れたものが選ばれてくる。

④ 以上のような進化の結果 t_r は、そのより優れたレプリカーゼ・タンパクをコードする領域を進化させた「 t_R 」と翻訳機能を進化させる「 T_r 」に分化する可能性がある。このように、分化した後も安定して共存し、しかも $tRNA$ のようなアダプターの役割をするメンバーを暫時取り入れることが出来るシステムは図 2 であることがわかった。

まとめ

Eigen のハイパーサイクルは、メンバーの濃度の 2 乗からなる速度式に従うため「once-forever」の淘汰が起り、コドンの普遍性に対する理論的根拠を与えるものである。Eigen は、翻訳系がタンパクからなると考え、すみやかに細胞様の中に取り込まれて進化すると考えている。一方、我々は最近の知見から翻訳系は、RNA であるという仮定から出発した。この場合「翻訳機能を持つ RNA がいかにして進化しうるか（淘汰されるか）？」という問いに答えねばならない。今回のモデルはその一つの回答である。つまり、翻訳したタンパクが RNA 複製を触媒するもので、翻訳に関わる RNA をより複製することで、1 つの自己触媒ループを形成し、それらがウイルス型戦略をとることで、RNA ワールドのハイパーサイクルに、複製翻訳共役系のダーウィン進化が導入される。このような RNA ワールドのスープに寄生するウイルスが、RNA ワールドから RNP ワールドへの橋渡しをした可能性がある。このようなウイルス型生命体が、十分に複製・翻訳系を進化させた後に、細胞型生命体が可能となり、より多様な表現形を獲得したと考えられる。

Hierarchy in Glycochemistry and Biological Evolution

○平林 淳、笠井 献一 (帝京大・薬)

Jun Hirabayashi and Ken-ichi Kasai

(Department of Biological Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Teikyo University)

糖鎖構成成分には「グルコース→マンノース→ガラクトース」といった階層性が存在するという見方がある。本論はこの考え方に対する糖化学的基盤を与えるとともに、今まで議論されることの少なかった糖の起源について一つの仮説を提出する。

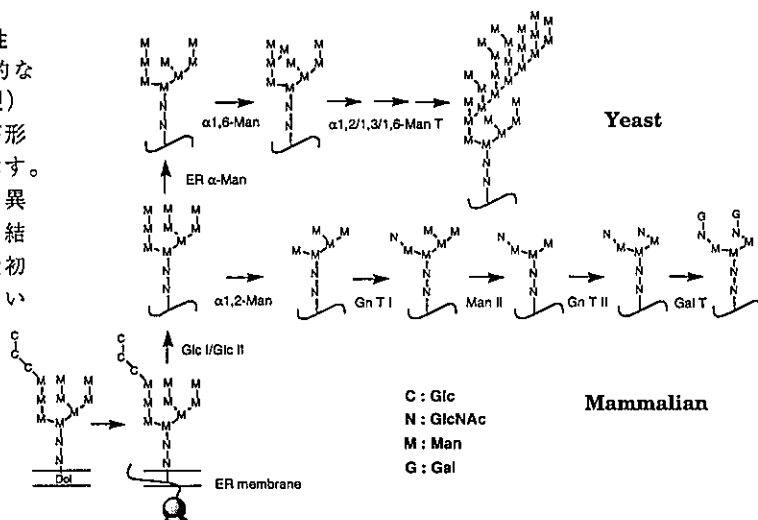
はじめに

糖はエネルギー代謝や生体構成成分として不可欠であるばかりでなく、発生・分化、炎症・免疫、微生物感染など、様々な細胞社会現象においても重大な貢献をしている。一般に、糖鎖構造については多様性のみが強調される傾向があるが、複合糖鎖を構成する糖は現実にはきわめて少ない。すなわち、最も基本的なグルコース、マンノース、ガラクトースの他に、少数糖としてL-フコース、シアル酸などがこれに含まれる。一般に微生物はグルコースやマンノースを様々な形で最大限に利用しているが("Bricolage products")、多細胞性の高等生物では対照的にガラクトースが顕著な役割を果たしている例が多い。こうした糖鎖構造について進化的な観点から議論されたことは少ないが、以下に述べるN-結合型糖鎖と呼ばれる糖蛋白糖鎖には、種を越えて保存される"統一性"が伺える。ここに、糖の起源を解く鍵が存在する。

N-結合型糖鎖における統一性

Fig. 1 に哺乳類の典型的なN-結合型糖鎖(二本鎖複合型)と酵母のマンナン糖鎖構造が形成される際の生合成経路を示す。両者の最終的な構造はかなり異なるが、ドリコールリン酸に結合した糖鎖前駆体を用いる最初の段階は両者で全く共通している点に注目したい。

Fig. 1. Biosynthesis of N-glycans in yeast and mammalian cells.

レクチンの糖特異性に見る単糖の近縁関係¹

レクチンは糖鎖構造を厳密に解読する蛋白としてきわめて有用性が高い。今まで、動・植・微生物から様々な特異性をもったレクチンが単離されているが、1986年のGoldsteinの分類によると、57例中ガラクトース特異的であったものが30例と最も多い(マンノース、及びグルコース特異的10例、N-アセチルグルコサミン特異的9例、L-フコース特異的5例、シアル酸特異的3例)。面白いことに、一般にマンノース特異的なレクチン(コンカナバリンAなど)はグルコースをも良く認識するが、ガラクトースにはまったく結合できない。一方、ガラクトース特異的レクチン(毒素リシンや動物ガレクチン)はマンノースやグルコースに結合できない。ここに、グルコース-マンノース間の近縁関係と、ガラクトースという糖の特殊性が伺える。

ガラクトース認識の化学的基盤と細胞社会^{1,2}

多くのレクチンがガラクトースを認識するのは、ガラクトースが糖鎖の非還元末端に存在し認識対象となりやすいこと、4-位という絶好の位置（コアから最も遠い）に認識されやすいアキシアル水酸基をもつことと関係している。単細胞性の真核生物では高マンノース構造が一般的であるが、高等動物がもつマンノース特異的レクチンは殆どがこのマンナン構造を認識しているらしい。これに対し、ガラクトース特異的なレクチンは脊椎動物などの多細胞性高等生物の発現するガラクトース含有糖鎖を主に認識している。哺乳類などの神経系においては、ガングリオシドと呼ばれるガラクトースとシアル酸を含んだ糖脂質が重要な働きをしている。

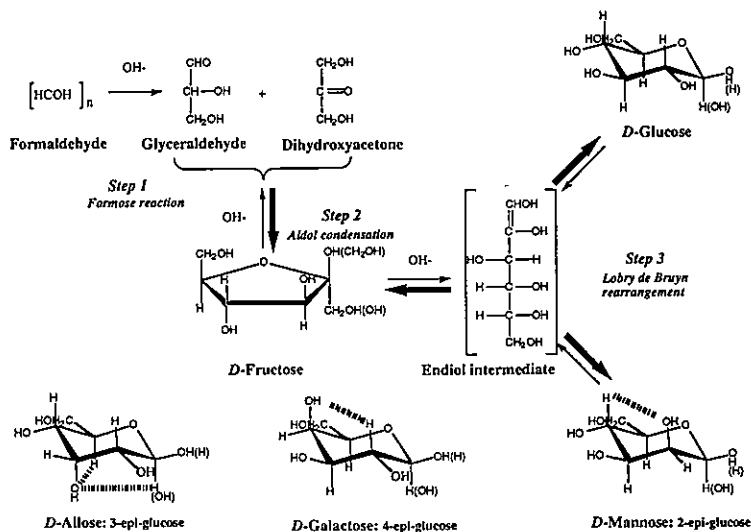
糖の起源と生物進化に関する仮説³

ホルムアルデヒドを出発物質としたヘキソースの前生物合成を Fig. 2 に示す。

ホルムアルデヒドから $\text{Ca}(\text{OH})_2$ などの弱塩基存在下で糖混合物が得られることは、ホルモース反応として知られていた。1890年、E. Fischer と J. Tafel はジヒドロキシアセトンとグリセロアルデヒドからアルドール縮合によってグルコース、マンノース、フルクトースの混合物が生成することを見た。これらの知見を総合すると、ホルモース反応によりグリセルアルデヒドとジヒドロキシアセトンが生成する (Step 1)。これらがアルドール縮合によりフルクトースが合成される (Step 2: 解糖系の逆反応、大きな負の ΔG をともなう)。さらにフルクトースから Lobry de Bruyn 転移によって、グルコース、およびマンノースの混合物が生じる。注目すべきは、これら一連の反応がすべて弱アルカリ条件下で無生物的に起こること、フルクトースからエンジオール中間体を経てマンノースやグルコースが生成するが、ガラクトースの生成には至らない点である。さらに本説では、グルコースではなくフルクトースがヘキソース生成の中心に位置づけられる。

一方、ガラクトースの生成には生物進化を想定せねばならない。現存の生物は UDP-ガラクトース-4-エピメラーゼにより、グルコースの4-ケト体を経てガラクトースを合成している。細菌などの微生物もガラクトースを利用しているが、中心的存在とは考えにくい。真核生物の多細胞化に際し、細菌由来のガラクトース合成系が巧みに利用され、細胞社会におけるコミュニケーションに一躍大抜擢されたとは考えられないだろうか。もしこの意味において本説が正しいなら、ガラクトースはフルクトース-グルコース-マンノースという“三つ子”とは出生を異にする“Late Comer”であり、多細胞化の成功に貢献した、いわば“Serendipity”とみなすことができよう²。

Fig. 2. A possible scenario on the origin of carbohydrates. The hypothesis consists of three steps (formose reaction, aldol condensation and Lobry de Bruyn rearrangement). The figure also shows 1,3 diaxial interactions occurring in allose, galactose, and mannose, which explains why allose is not found in nature.



参考文献

1. Hirabayashi, J. (1994) in *Lectins: Biology-Biochemistry Clinical Biochemistry* (Eds. Driessche et al.) Vol. 10, pp.209-320 Textop, Hellerup (Denmark)
2. Hirabayashi, J. and Kasai, K. (submitted to *Glycobiology*)

原始タンパク質：超好熱性古細菌から推理する

Primitive Protein: Speculation from Biochemistry of Hyper-thermophilic Archaeobacteria

大島 泰郎 (東工大・生命理工)

Tairo Oshima (Department of Life Science, Tokyo
Institute of Technology, Nagatsuta, Yokohama)

最近の分子系統樹は、原始生命が熱水の中から誕生したことを示唆している。すなわち、生命は大きく真正細菌と古細菌の2つのグループに分かれるが(真核細胞は両者のキメラとして理解出来る)、どちらのグループも枝の根元に近い位置には90度以上の高温でしか生活出来ない超好熱菌が占める。例えば、真正細菌では、根から近い順にAquifex属、Thermotoga属、緑色イオウ細菌、Thermus属が並ぶが、ほぼこの順に生育温度が下がってくる。私の提案は、この事実を受け入れて、化学進化など生命の起原の実験研究は高温下でやり直す必要があるのではないかというものである。

原始タンパク質の合成については、「プロテインイド」などアミノ酸の加熱重合体が研究されており、ポリペプチドが高温下に比較的安定であることが実験的に証明されている。ことに原始地球環境下のように無酸素環境では、システインなどを含め、多くのアミノ酸側鎖は安定である。しかし、現在の好熱菌のタンパク質を解析すると、立体構造を維持するためには、内部の疎水相互作用や水素結合などを増やしたり、いろいろな工夫が見られる。とくにコンパクトな構造部分はよいが、それらをつなぐループ部分を強化している。この事実と、例えば、トリプトファン合成酵素のように高等真核生物ではサブユニットが共有結合で結び付いているように、進化に伴い酵素タンパク質は巨大化している事実を考慮して、私は次のような仮説を提案する。原始タンパク質は短いコンパクトな立体構造(たとえば、 α -ヘリックス)をとりうるペプチドの断片であり、原始酵素タンパク質はこれらのペプチドの集合体であった。

最近、好熱菌酵素を中心として、酵素タンパク質の断片化、すなわち、ペプチド鎖に切れ目を入れても、活性が残る例が報告されているが、これらのニックド酵素は原始酵素のモデルとして考えられる。

イントロンの起源をめぐって

On the origin of introns

郷 通子 (名大・理)

Mitiko Gō

(Department of Biology, Faculty of Science, Nagoya University)

真核生物遺伝子の多くは、エキソンとよばれる複数の領域とそれらの間のイントロンと呼ばれる領域からできている。タンパク質のアミノ酸配列は、複数のエキソンに分かれてコードされている。遺伝子のエキソン・イントロン構造の発見(1977年)は全く予想もされない出来事であった。

イントロンはタンパク質に翻訳されない。イントロンは情報としての価値をもたないように見える。では、何のためにイントロンは存在するのだろうか? また、いつから存在しているのだろうか? イントロンの存在はエキソン混成(シャッフリング)を容易にする機構であり、これによって新しいタンパク質が進化したと考えられた。これは遺伝子のエキソン説 (the exon theory of genes) と呼ばれている。

最近、イントロンの起源をめぐって、激しい論争が Nature, Science 誌上などで繰り広げられている。イントロンの起源について2つの対立する考えがある。イントロン前生説とイントロン後生説である。前者は原核生物の出現時に、すでにイントロンが存在していたとするのに対して、後者は真核生物が出現した後にイントロンが挿入されたとする。どちらが正しいかを判定する根拠として、イントロンはランダムに存在するのか、それともイントロンの位置とタンパク質の立体構造やアミノ酸配列との間に何らかの関係が見られるのかどうか重要である。

イントロンが、タンパク質の球状ドメイン間に多く存在することから、ドメインのシャッフリングの仲介役を、担っていることは明白である。しかし、イントロンはタンパク質のドメイン境界にあるよりもずっと多く、ドメインの内部に存在している。ドメイン内部の構造単位であるモジュールの境界近くにイントロンが存在する事実を紹介する。これはタンパク質一般に成り立っている事実であり、イントロンがランダムに挿入されたとしたのでは、説明がつかない。この事実は、イントロン前生説を支持するだけでなく、始源ゲノムはアミノ酸15残基程度のモジュールをコードするエクソンを融合させてできた可能性を示している。イントロンはゲノムの初期進化にも重要であったに違いない。

24

ミトコンドリアゲノム構造と生物界間接合 からみたミトコンドリアの起源・進化

A New Hypothesis for Gene Transfer in Mitochondrion Origin

吉田 和夫 (広島大学・理・生物科学)

Kazuo Yoshida

(Department of Biological Science, Faculty of Science, Hiroshima University)

共生進化説は、ミトコンドリアや葉緑体の起源、進化に関しする仮説として最も有力なものである。しかしながら、この共生進化説では、共生後共生細菌が何故またどういう機構でその遺伝子の大部分を宿主核に移行してミトコンドリアや葉緑体に進化したかについては合理的な説明が全然ない等大きな欠陥もある。本報告では、ミトコンドリアや葉緑体の遺伝子の核移行の理由、機構ともに簡単且つ合理的に説明できる”細胞内接合伝達仮説 (Endosymbiotic Conjugation Hypothesis)”を新たな作業仮説として提案したい。これは、従来、オルガネラの起源、進化を考える上で等閑視されて来た細菌の性と極く最近になって見出された生物界間接合現象の進化的意義について考察した結果と酵母ミトコンドリアの全一次構造決定と解析結果に基づくものである。簡単に言うと、真核生物の出現以前に細菌は、既にその性、即ち一方向的遺伝子伝達性の接合系を十分進化させていて、雄細菌が細胞内に取り込まれて共生すればその接合伝達機構を使って宿主の核を雌と見なし一方向的にその遺伝子を核へ伝達する可能性は十分にあり得たという仮説である。今のところ細胞内接合の直接の証拠はまだ得られていないものの、細菌間では自然界でも広く種属を越えて遺伝子の接合伝達が可成の頻度で起こっている事や細菌と酵母、アグロバクテリアと双子葉植物の間の生物界間接合ないしはそれに類似した乱交 (Promiscuous Mating) 現象の存在がこの仮説に対して理論的、実験的根拠を与えている。これについては、我々の大腸菌や土壌細菌からの酵母への生物界間接合によるプラスミド伝達の例を示したい。この細胞内接合仮説は遺伝子の核移行についてその機構と理由を同時に説明できるだけでなく、この仮説を検証するためのいくつかの実験をも直接示唆することが可能である。また、ミトコンドリアや葉緑体の遺伝子が核にあるほうが何故進化生物学的に都合が良いのかを説明するのが我々のもう一つ想定する移行選択機構である。これは、もともとハプロイド性のオルガネラにとっては、自分自身が突然変異で直接変化するよりも核に遺伝子を移行させて、そこにおける突然変異を利用して、より機能的に進化したものを選択するほうが安全有利である。この機構によれば機能的に重要で進化しにくい遺伝子でも早く進化させることができるので、オルガネラ遺伝子の核移行の圧力を形成することになるというものである。この機構についてミトコンドリア蛋白質のサブユニット遺伝子の分布と蛋白質のミトコンドリアにおけるコンパートメンテーションを例に言及したい。

A Search for Finding Some Kind of Interaction between Rare Earth Elements and Cells

1. Biological Effect of Rare Earth Elements on Living Cells

赤星 光彦、田中 愛子、高田 実弥、川本 圭造、河合 建一 (京大・原子炉)

Mitsuhiko Akaboshi, Yoshiko Tanaka, Jitsuya Takada, Keizo Kawamoto and

Kenichi Kawai (Res. Reactor Inst., Kyoto Univ.)

各種元素の原始海水中での濃度と生物が利用する元素との間に深い関係が見られることは、故江上博士によって、既に提起されている。江上博士は生物体が生体利用できた元素の海水中濃度の下限を 1 nM としてこれを Biological Critical Concentration と定義し、各元素の海水中濃度と生物体の利用度との関係に言及した。この命題は正しく、疑う余地は全く無いが、逆は必ずしも成立しない。つまり海水中濃度の高い元素の全てが必ずしも生体に利用されているわけではない。そうした元素を濃度の高さに基づいて分類すると、第一のグループとして Br と Sr が挙げられる。この二者の海水中濃度は全ての微量必須元素のそれよりはるかに高く、生体構成元素類のそれに匹敵する。第二のグループに属するものとして Ba, In, Al, U, Ti 等がある。これら元素の海水中濃度は必須元素である P, I, Fe, Cu, As, Mn 等と較べて遜色はない。第三グループには Ce, La を含む多くの元素がある。中でも Ce は Co, Se, Cr よりもはるかに海水中濃度が高い。こうした矛盾点について、その理由を個々に明らかにすることは「化学進化・生命の起原」を論ずる上で大いに役立つであろうと考え、Ce, La 等を含む希土類元素と生物との間にどのような相互作用が見られるかを探索するための総合的研究に着手した。希土類元素は或る種の動植物体内に集積することが、幾つかの文献によって知られているが、その生理学的意義は不明である。また我々が意図するような「生命の原点」としての細胞のレベルで希土類元素との相互作用を調べた例は全くない。本報告では、哺乳動物培養細胞に対する希土類各種元素の作用に関する実験結果を報告する。

[材料と方法]

実験材料として培養 HeLa 細胞を用いた。異なる濃度の各種希土類元素で細胞を処理した後、コロニーアッセイ法によって、細胞の生残率曲線を得た。放射線照射された希土類元素水溶液に生成するであろう各種の希土類化合物の作用と、一方、放射線照射された細胞の生残率に対する希土類元素の作用についても調べた。照射は原子炉実験所の ^{60}Co - γ -線装置を用い、0.8 Gy/m の線量率で行なった。また希土類元素試薬としては和光純薬工業社製の塩化物または硝酸化物で純度が 99.9 % 以上のものを用いた。

[結果と討論]

1. 細胞に対する希土類元素の作用

濃度の異なる (0.15~7.5 mM) 各種希土類塩化物を加えた倍地で 37 °C、1 時間処理された HeLa 細胞の生残率曲線の一例を Fig. 1 に示す。高濃度域ではいずれの元素も致死作用を示すが、低濃度域では反応は様々である。結局、今回のテストにおいて試みられた 6 種類の希土類元素についてみると、低濃度から高濃度にかけて、ほぼ指数関数的に致死作用を示す Ce, Gd および低濃度処理ではむしろ高い生残率をもたらす Sm, La, Nd, Eu の 2 種類のタイプがあり、後者はさらに上昇の立ち上がりシャープな Sm よび Eu とブロードな La, Nd に分かれる。高濃度域で観察される生存率曲線の直線部分の傾きから希土類元素の殺細胞効果の強さを評価すると、Ce, Gd が効果が高く La Sm Nd は低い。また Eu は中間にくる。Sm のもつこの特異な作用が細胞分裂の一時的な促進によるのか細胞に

対する保護作用によるのかを調べるために、 γ -線照射された HeLa 細胞の生残率に対する希土類元素の作用について、次に調べた。

2. 放射線照射された細胞の生残率に対する希土類元素の作用

照射された細胞を 0.75 mM の Sm または Ce を加えた培地で 37 °C、1 時間処理し、生残率を調べた (Fig. 2)。生残率曲線はいずれも放射線量に対して指数関数的に減少するが、その傾きは処理によって異なる。すなわち、平均致死線量 D_0 は無添加の場合 1.6 Gy となったが、Sm 溶液中では 2.1 Gy と高くなり、一方 Ce 溶液中では 1.4 Gy と低くなった。この事実から、Sm は正常な状態のみならず照射された細胞の放射線傷害からの回復をも促進する作用があることが示唆される。

3. 被照射希土類溶液に誘導される生理活性

Sm と Ce を 0.15 M NH_4Cl 共存下で γ -線照射を行い、溶液中に生成するであろう各種化合物の生理活性を細胞死を指標として調べた。被照射溶液中には溶存物質によって、また濃度や線量によって複雑な反応が生じ、様々な化合物が生成していることが観察された。すなわち、実験 1 に前述された Sm と Ce による生残率曲線は照射によって多様な変化を示した。変化の特徴として

1) Sm, Ce 共に或る線量で細胞毒性が高くなった

2) 線量がさらに高くなるに従って、Sm の示した

防護効果と Ce の細胞毒性は弱くなった。

以上の如く、細胞が積極的に利用するか回避するかに拘りなく、希土類元素と培養細胞との間には相互作用が見られた。これらの現象が化学進化・生命の起源の過程にどのように関連するのか、今後とも研究を進展させた上で明らかにしたい。

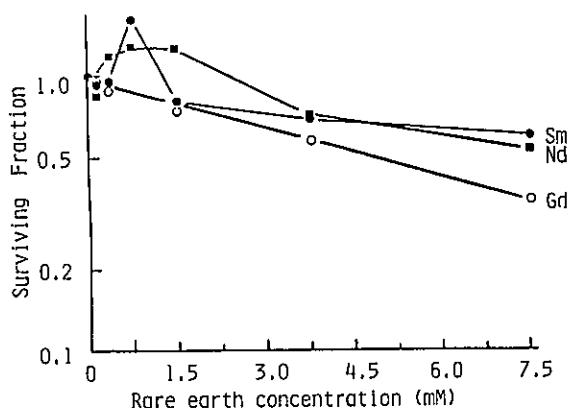


Fig. 1. Dose-survival curves of HeLa cells treated with various rare earth elements.

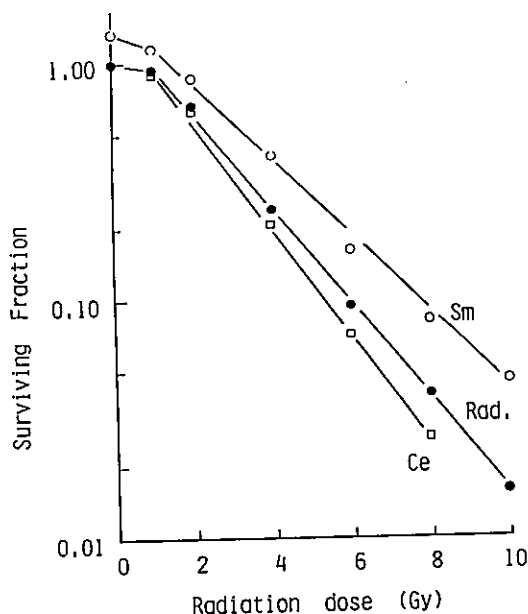


Fig. 2. Effect of rare earth elements on the response curve of γ -irradiated HeLa cells.

A Search for Finding Some kind of Interaction between Rare Earth Elements and Cells

II. Study on Bioaccumulation of Rare Earths by Using Activation Analysis

高田 実弥、田中 愛子、隅野 照家、川本 圭造、赤星 光彦 (京大・原子炉)

Jitsuya Takada, Yoshiko Tanaka, Teruie Sumino, Keizo Kawamoto and
Mitsuhiko Akaboshi (Research Reactor Institute, Kyoto University)

Ce や La を始めとする多くの希土類元素がクルミ種や哺乳動物の骨組織に集積することが古くから知られているが、その生理学的意義は不明であった。近年、中国において希土類元素を散布した地域で農作物の収量が上昇することが報ぜられ、その生理学的作用と動物体への集積や毒性に関する研究が開始されたと聞く。しかしながら、研究の歴史が未だ浅く、これらの問題点について明確な結論を提出するには至っていない。

希土類元素の多くは原子核内に熱中性子を吸収し易く、新たな放射性核を形成し易い性質を持つので、元素の定量分析にあたって放射化分析法の利用が極めて有効な元素類である。この方法はまた、誘導された γ -線のエネルギーとその半減期の決定によって、多種類の微量元素量を同時に測定できると云う利点を持っている。京大原子炉(KUR)では放射化分析法の利用の歴史が長く、経験も豊富で、如何なる試料であろうとも簡便に望む元素を定量するために改良された技術とシステムとをもっている。そこで我々は「希土類元素と細胞との相互作用」を探索するにあたって、希土類元素の分析が主要な技術となる動態観察の部分を放射化分析を利用して遂行することにした。細胞と希土類元素との相互作用に関して興味ある結果を得たので報告する。

[材料と方法]

HeLa 細胞を希土類各種元素を含む培地中で、0℃または37℃の温度で3時間処理した。また処理後、遠沈にて新鮮培地に置き換え、さらに培養を続けて細胞からの希土類元素を遊離せしめた。終了後、冷生理的食塩水にて一度洗浄し、99.9%エタノールで固定し、濾紙上で乾燥したものを放射化分析用の試料とした。また対比のため、細胞浮遊液の入った試験管を沸騰水中約10分処理することによって殺した細胞を用いて同様な試料を調製した。さらにまた、被処理細胞のDNA、RNAおよび蛋白質分画中の希土類元素を定量する際の分画にはSchneider法を用いた。試料は一試料毎にポリエチレン袋に封入し、5MW稼働中のKUR気送管を用いて1時間照射し(熱中性子束密度: $2.75 \times 10^{13} \text{ n} \cdot \text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$)、約1週間のクーリングの後、Ge(Li)-半導体検出器を装備したマルチチャンネル波高分析器を用いて誘導放射能を分析した。同様に処理された既知量のスタンダード試料に誘導された放射能との比較から、処理細胞に含まれる希土類元素量を定量した。

[結果と討論]

Fig. 1 は各種条件において処理されたHeLa細胞内の希土類元素の動態を示す。テストされた希土類元素は例外なく、処理時間とともに細胞内に速やかに取り込まれ、また新鮮培地に置き換えることによって速やかに流失する。流出曲線は新鮮培地に置換してから直後の、傾きの急激な成分と長時間処理後の緩やかな成分との二成分に分かれると見られるが、この曲線からは半減期の正確な評価は難しい。しかし、元素によって、また細胞の処理によってこれらの傾きが少しずつ異なることが伺われる。例えば、沸騰水処理によって死んだ細胞での希土類元素取込量は他の処理に較べて全ての元素で著しく高い。また0℃で培養された細胞でも同じ傾向が見られる。細胞は生きている限り、或い

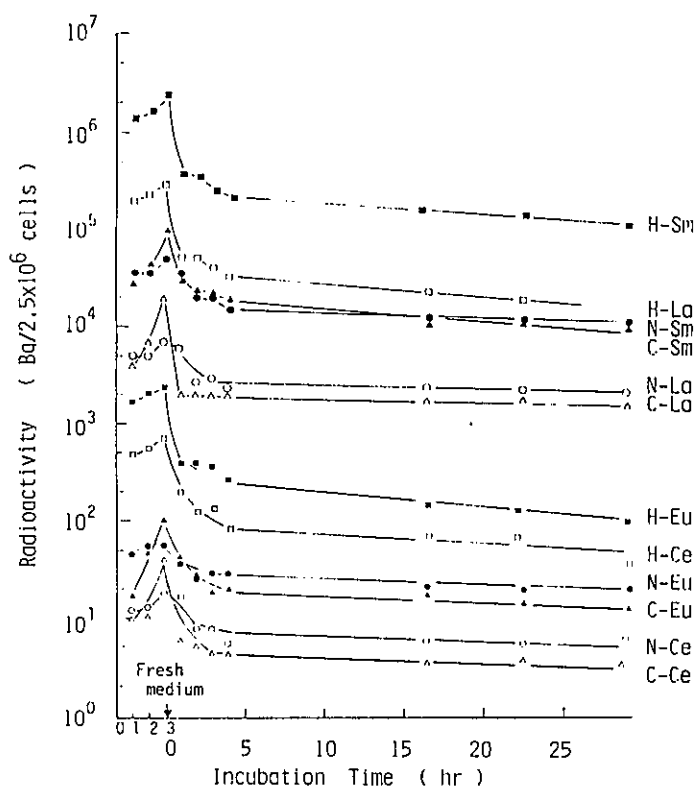


Fig. 1. Variation in rare earth content of HeLa cells after different treatments.

は正常な代謝条件においては、これら元素の細胞内への大量の侵入に抵抗していることが推測される。細胞内に取り込まれた希土類元素が細胞内のどのような分画に存在するかを明らかにするために、37℃-1 hr 処理された細胞からSchneider 法を用いて分画された各分画中の希土類元素を定量した (table 1)。本来、細胞内に存在するこれらの分画の中では蛋白質の量が最も多く、DNA および RNA の 100 倍以上にのぼる。しかしながら、蛋白分画中に存在する希土類元素量は DNA 分画中の量と同等程度であり、RNA 分画中の量よりもはるかに少ない。希土類元素は蛋白質よりも核酸と結合しやすいものと考えられる。表より、この条件において 1000 ヌクレオチド当たり約 1 個 (DNA の場合) の希土類元素が結合していると考えられる。

Table 1. Numbers of rare earth elements bound to DNA, RNA and protein molecules per cell

	content (g/cell)	La (g/cell)	Sm (g/cell)
DNA	1.90×10^{-11}	1.55×10^{-14}	2.62×10^{-14}
RNA	2.72×10^{-11}	7.51×10^{-14}	1.22×10^{-13}
protein	2.47×10^{-9}	2.00×10^{-14}	2.05×10^{-14}

○三田 肇、福永伸枝、下山 晃 (筑波大学・化学系)

MITA, Hajime; FUKUNAGA, Nobue and SHIMOYAMA, Akira

(Department of Chemistry, University of Tsukuba)

【序論】

Alvarezらは白亜紀-第三紀(K/T)境界層に地球外起源であるイリジウムが異常に濃縮されていることを見だし、恐竜の絶滅に代表されるこの時代に起こった絶滅事象が地球外物質の衝突によるものとの仮説を提案した¹⁾。現在までに、いくつかのK/T境界層について種々の元素の存在量や同位体組成比などが調べられ、地球外物質の衝突説が支持されている。有機物の分析では、ZhaoらがStevns Klint (Denmark)のK/T境界層から地球外起源と思われるアミノ酸(イソバリン、 α -アミノイソ酪酸)を見いだしている²⁾。

我々は、北海道浦幌町のK/T境界層中の有機物の分析を行っており、昨年の本会でアミノ酸の分析結果を報告した。水抽出画分を加水分解した試料から最大2 nmol/gのアミノ酸を検出した。しかし、これらはL-体からなり6500万年前に堆積したアミノ酸ではなく、地球外物質の衝突を支持するアミノ酸は検出されなかった。

ここでは、K/T境界層中のジカルボン酸の分析結果を報告し、K/T境界層の地球外有機物の存在について考察する。

【実験】

試料には、北海道浦幌町川流布のK/T境界の黒色粘土層を含む上下10mにわたる地層中から採取された堆積岩(筑波大学地球化学系梶原良道教授提供)を用いた。各堆積岩試料は、表面の汚れを除去後、粉末化した。

ジカルボン酸は、堆積岩粉末から水を溶媒とし超音波抽出し、メチルエステル化後GC-MSにより同定・定量した。また、光学純度を測定するために、(S)-2-ブタノールでジアステレオマーに誘導化後GC-MSにより同定・定量した。

また、アスパラギン酸、イソロイシン、イソバリン、 α -アミノイソ酪酸を、封管中K/T境界堆積岩粉末共存下加熱を行ない、アミノ酸分析計、GCにより定量し、熱分解速度を検討した。

【結果・考察】

ジカルボン酸の分析の結果、直鎖飽和ジカルボン酸8種、分岐鎖飽和ジカルボン酸13種が同定・定量された。直鎖飽和ジカルボン酸の深度分布を図1に示した。K/T境界層に、その上下の地層中より多量のジカルボン酸が存在した。分岐鎖飽和ジカルボン酸も同様の分布が見られた。また、光学活性中心をもつジカルボン酸は、図2に示したようにラセミ体として存在していた。このことから、これらのジカルボン酸は堆積当時から存在した可能性が示された。

各化合物の存在量の深度分布はアミノ酸とジカルボン酸は類似した傾向が見られたものの、光学異性体の存在に関しては全く異なる結果となった。ジカルボン酸は金属イオンと不溶性の錯体を形成することが予想される。一方、アミノ酸は両性イオンであるため不溶性錯体を形成しにくく、続成作用における安定性、地下水・雨水による浸潤・流出などの挙動が異なっているものと考えられた。

隕石（マーチソン、Yamato791198）³⁾と堆積岩（新庄盆地草薙層）中に検出されたジカルボン酸の比較から、アミノ酸におけるイソバリン、 α -アミノイソ酪酸のような隕石由来を示唆する指標となるジカルボン酸は存在しない。しかし、直鎖と分岐鎖飽和ジカルボン酸量を比較すると、隕石中には分岐鎖が多く存在する傾向が見られた。K/T境界層より約60cm上の試料には他の試料と異なり分岐鎖の割合が多く存在した。このことが、隕石の衝突を裏付けることにはならないが、ZhaoらのもK/T境界層の上部と下部の地層にイソバリンなどを見いだしており興味深い結果であった。

つぎに、種々のアミノ酸を堆積岩粉末共存下453Kで加熱した結果を図3に示した。アスパラギン酸、イソロイシンに比べ、 α 位がメチル化されたイソバリン、 α -アミノイソ酪酸は分解速度が10-20倍遅く安定なことが示された。しかし、アミノ酸の半減期は貝化石の研究などから1000年オーダーと考えられることから、6500万年前のアミノ酸が現存することは困難と考えられた。このため、K/T境界時に存在したアミノ酸は検出できなかったものと考えた。また、新庄盆地草薙層の堆積岩⁴⁾からも堆積当時のアミノ酸が検出されなかったことから、このことが裏付けられる。

- 1) Alvarez, L. W. et al Science, 1980, 208, 1095
- 2) Zhao, M., Bada, J. L. Nature, 1989, 339, 463
- 3) Shomoyama, A. et al Chemistry Letters, 1994, 523
- 4) 秋山雅彦 堆積岩の続成作用に関する研究 2 1982, 53

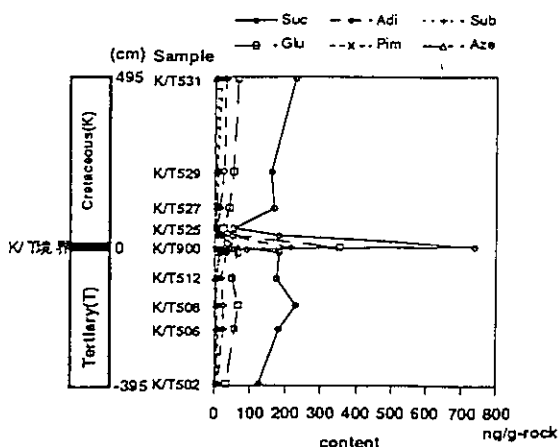


Fig1. Vertical distribution of normal dicarboxylic acids

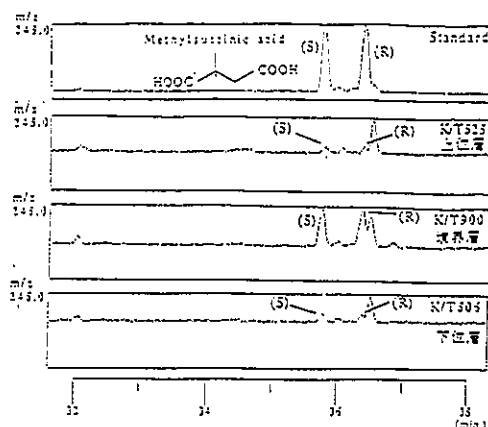


Fig2. Enantiomers of methylsuccinic acid in the K/T boundary.

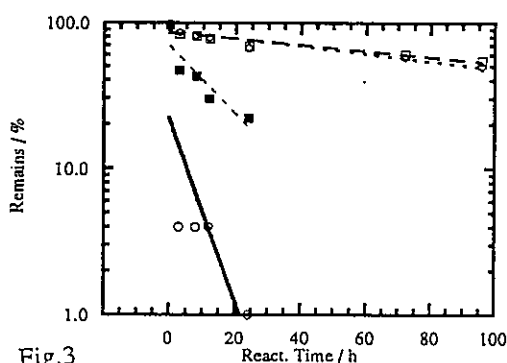


Fig.3 Amino acids decomposition with sedimentary rock at 453K

山中健生¹、藤原健智²、庄子和夫¹、福森義宏² (¹日大・理工、²東工大・生命理工)Tateo Yamanaka¹, Taketomo Fujiwara², Kazuo Shoji¹, Yoshihiro Fukumori²(¹College of Science and Technology, Nihon University and ²Faculty of
Bioscience and Biotechnology, Tokyo Institute of Technology)

我々は、これまでに、数種の独立栄養化学合成細菌のチトクロム *c* の一次構造を決定した。すなわち、*Nitrobacter winogradskyi* チトクロム *c*-550 (1)、*Thiobacillus novellus* チトクロム *c*-550 (2)、*Nitrosomonas europaea* チトクロム *c*-552 (3) の全アミノ酸配列、および *Thiobacillus ferrooxidans* チトクロム *c*-552(s) (4) のN末端から50残基までのアミノ酸配列である。このうち、*N. winogradskyi* チトクロム *c*-550 と *T. novellus* チトクロム *c*-550 の一次構造はミトコンドリアのチトクロム *c* のものに似ている。また光合成細菌のチトクロム *c*₂ のものにも似ているのでこれらのチトクロム *c* はチトクロム *c*₂ のグループに入れられがちである。しかし、種々の酸化還元酵素との反応性からすると、この2種類の細菌チトクロム *c*-550 はチトクロム *c*₂ よりはずっとミトコンドリアのチトクロム *c* に似ている。*T. ferrooxidans* チトクロム *c*-552 の一次構造もチトクロム *c*₂ のものに似ている。一方、*N. europaea* チトクロム *c*-552 の一次構造は *Pseudomonas aeruginosa* チトクロム *c*-551 や *P. fluorescens* チトクロム *c*-551 の一次構造に似ている。実際これら2種類のチトクロム *c* は *P. aeruginosa* 亜硝酸レダクターゼと速やかに反応する(5)。*P. aeruginosa* チトクロム *c*-551 がウシチトクロム *c* オキシダーゼとはTween 20の存在下でもほとんど反応しないのに対し、*N. europaea* チトクロム *c*-552 はTween 20の存在下でウシチトクロム *c* オキシダーゼとかなり速やかに反応する(6)。従って *N. europaea* チトクロム *c*-552 は *P. aeruginosa* チトクロム *c*-551 と一次構造は似ていても、ウシチトクロム *c* オキシダーゼとの反応に必要な構造がどこか違うと考えられる。*N. winogradskyi* チトクロム *c*-550 と *T. novellus* チトクロム *c*-550 が一次構造上チトクロム *c*₂ に似ていても酸化還元酵素との反応性からするとチトクロム *c*₂ にはあまり似ていないこと、*N. europaea* チトクロム *c*-552 が *P. aeruginosa* チトクロム *c*-551 と一次構造上は似ていてもこれもまた酸化還元酵素との反応性で両者に差があることを考えると、単に一次構造を比較するだけで、あるタンパク質(チトクロム *c*)の進化的関係を論じるのは危険であることを示している。

ところで、これまで調べたところでは、チトクロム *c* の一次構造からすると、独立栄養化学合成細菌には2種類あることがわかる。すなわち、*P. aeruginosa* チトクロム *c*-551 に似たチトクロム *c* をもつ *N. europaea* とミトコンドリアチトクロム *c* (あるいはチトクロム *c*₂) に似たチトクロム *c* をもつ *N. winogradskyi*、*T. novellus*、*T. ferrooxidans* である。中でも *N. europaea* チトクロム *c*-552 と *N. winogradskyi* チトクロム *c*-550 の比較は興味がある。

N. winogradskyi チトクロム *c*-550 は一次構造からすると *P. aeruginosa* チトク

ロム c-551 よりはミトコンドリアチトクロム c に似ている。一方、*N. europaea* チトクロム c-552 は一次構造からするとミトコンドリアチトクロム c より *P. aeruginosa* チトクロム c-551 に似ている。分子進化の教えるところによれば、*N. europaea* より *N. winogradskyi* が進化的には後で地球上に出現したことになる。すると、*N. europaea* が出現してアンモニアの亜硝酸への酸化が起こり、かなりの時間が経ってから *N. winogradskyi* が出現したと考えられる。つまり、*N. europaea* が出現して次に *N. winogradskyi* が出現するまでの間、地球表面は亜硝酸で汚染されていたのではないだろうか。

表1. 数種類のチトクロム c 間における同一残基数

	同一残基数					
	1	2	3	4	5	6
1. <i>N. europaea</i>	81					
2. <i>P. aeruginosa</i>	44	82				
3. <i>N. winogradskyi</i>	14	13	109			
4. <i>T. novellus</i>	10	11	50	113		
5. <i>R. rubrum</i>	15	12	40	34	112	
6. Horse	11	10	51	50	42	104

- (1) Tanaka, Y., Fukumori, Y. & Yamanaka, T. (1982) The complete amino acid sequence of *Nitrobacter agilis* cytochrome c-550. *Biochim. Biophys. Acta* **707**, 14-20
- (2) Yamanaka, T., Nagano, T., Shoji, K. & Fukumori, Y. (1991) Cytochrome c of *Nitobacter winogradskyi* and *Thiobacillus novellus*: Structure, function and evolution. *Biochim. Biophys. Acta* **1058**, 48-51
- (3) Fujiwara, T., Yamanaka, T. & Fukumori, Y. (1995) The amino acid sequence of *Nitrosomonas europaea* cytochrome c-552. *Curr. Microbiol.*, in press
- (4) Yano, T. (1991) The oxidation system of ferrous ion in *Thiobacillus ferrooxidans*. Dissertation for Ph.D degree at Tokyo Institute of Technology.
- (5) Yamanaka, T. (1975) A comparative study on the redox reaction of cytochrome c with certain enzymes. *J. Biochem.* **77**, 493-499.
- (6) Yamanaka, T. & Fukumori, Y. (1981) Functional and structural comparisons between prokaryotic and eukaryotic aa₃-type cytochrome c oxidase from an evolutionary point of view. *Plant Cell Physiol.* **22**, 1223-1230.

29

老人性白内障水晶体中の α A-クリスタリンの アスパラギン酸残基の部位特異的反転と異性化

Simultaneous Stereoinversion and Isomerization at Specific Aspartic Acid
Residues in α A-Crystallin from Human Lens

藤井紀子（新技術事業団さきがけ研究21）

Noriko Fujii

(Field and Reaction, Precursory Research for Embryonic Science and
Technology(PRESTO), Research Development Corporation of Japan (JRDC))

1. はじめに

生体を構成するタンパク質はすべてL-アミノ酸から成るが近年種々の老化組織（眼の水晶体、脳、動脈、歯など）でD-アミノ酸が検出され、その量は老化に伴って増加することが明らかになってきた。これは化学進化の過程で獲得したL-アミノ酸タンパク質が一個体の老化の過程で崩壊しているとみなすことができる。水晶体は代謝が全くないことから生涯にわたって合成されたタンパク質が保存されているという特異な器官であるため格好の老化の研究材料である。本研究ではヒトの水晶体の主要構成成分である α A-クリスタリン中の特定のアスパラギン酸(Asp)残基に反転と異性化が同時に生じていることを明らかにしたので報告する。

2. 方法

80歳及び11ヶ月令のヒトの水晶体から α A-クリスタリンを単離精製し、トリプシン処理後、各ペプチド断片をRP-HPLCによって分離、分取した。各ペプチドの同定をアミノ酸組成、アミノ酸配列、FAB-MS分析で行った。アミノ酸の光学異性体分析はペプチドを加水分解後、OPA-Boc-L-Cysで誘導化し、RP-HPLCで分析した。

3. 結果と考察

80歳のヒトの α A-クリスタリンではAsp-151, Asp-58残基がL-型からD-型へと反転していた(D/L of Asp-151=5.7, Asp-58=3.1)。反転と同時に通常の α -Aspから β -Aspへと異性化しており、Asp-151残基の50%、Asp-58残基の30%が β 型という非常に高い率で異性化が生じていた。11ヶ月令の α A-クリスタリンでもAsp-151, Asp-58残基において反転が見られ、(D/L of Asp-151=5.7, Asp-58=1.7)異性化も同時に生じていた。ただし異性化率は数%と低かった。タンパク質中でのAsp残基の反転は初めての発見であり、これらの反応が幼若期から始まり、加齢と共に蓄積することが明らかとなった。又、これらの残基では反転と同時に異性化が生じていることから5員環イミド中間体を経ることが明らかとなった。これらの反応がもたらす高次構造への影響について議論する。

長田洋子、○藤原照久（姫路工大・理）

Yoko Nagata, and Teruhisa Fujiwara

(Faculty of Science, Himeji Institute of Technology)

ミトコンドリアは、核とは独立したDNAとその複製系を持っている。また、独自のRNAポリメラーゼ、転移RNA (tRNA) およびリボソームを有し、独立したタンパク質合成系をもっている。ミトコンドリアのDNA構造は、共生説を裏付けるように、細菌型の環状でありイントロンは含まれていない。クロラムフェニコールやテトラサイクリンは、細菌のタンパク質合成を阻害する抗生物質であるが、動物細胞のミトコンドリアのタンパク質合成も阻害することが知られている。ミトコンドリアの起原は、タンパク質成分のアミノ酸配列やリボソームRNA (rRNA) の遺伝子配列から、光合成能を喪失した好気性の紅色細菌であろうと推定されている。

さて、ペプチド中のアミノ酸残基として光学異性体のD-アミノ酸が存在する例は、動物をはじめとして真核生物では希少であるが、細菌には多い。細菌が、古細菌または真核の原生動物と共生した結果ミトコンドリアになったのなら、細菌の有していたD-アミノ酸はミトコンドリアにも受け継がれているのかどうかを調べた。

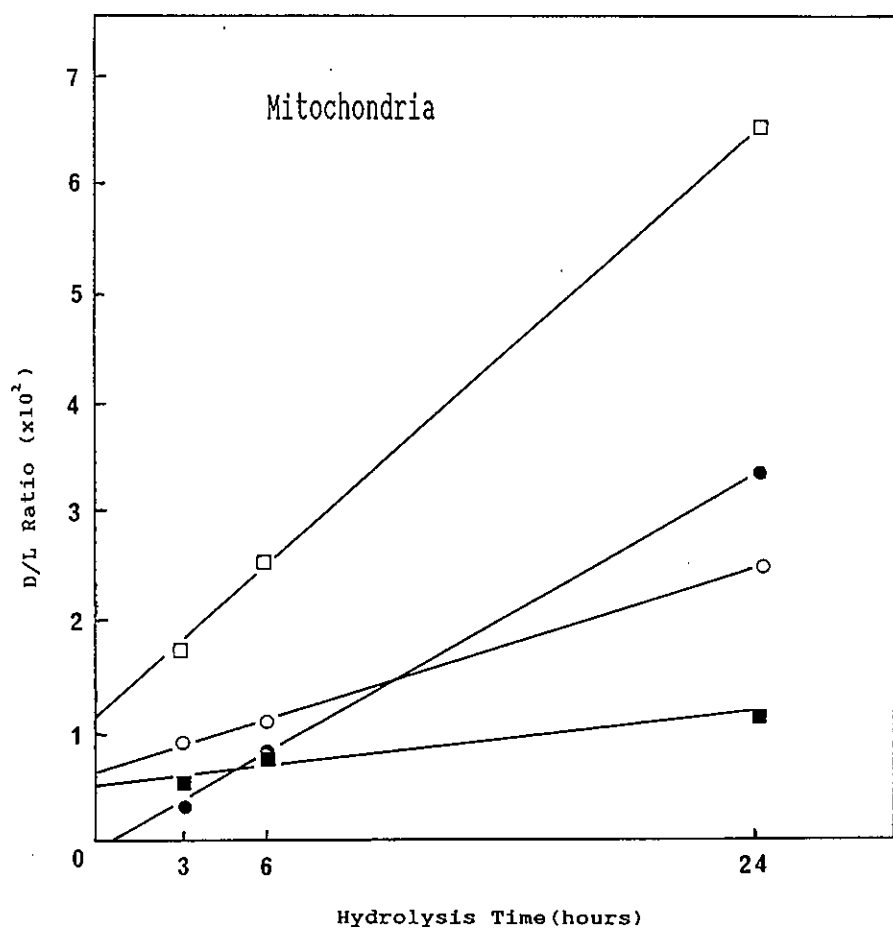
方 法

屠殺後、冷凍保存されたニワトリの肝臓を解凍、0.25 M マンニトール溶液の中で細切し、繰り返し洗浄した。これをガラスホモジナイザーですりつぶし、600 g x 12 min 4°C (以下同様) で遠心した。上清を 5,600 g x 24 min 遠心し、その沈澱をさらに2回マンニトール溶液であらったものを、ミトコンドリア画分とした。次にこのミトコンドリアに4-5 vol の 20 mM K-phosphate buffer (pH 7.5) を加え、0°C で20 min incubation 後 2,000 g x 10 min 遠心した沈澱を、内膜+マトリックス画分として用いた。上清はさらに 35,000 g x 30 min 遠心した。生じた沈澱画分を 60% 蔗糖溶液に重層し、40,000 g x 40 min 遠心により膜画分を集めアセトンで5回洗浄したものを、外膜画分とした。一方、上清画分にトリクロロ酢酸を 5% になるように加え、アセトンで3回洗浄して得られた沈澱を膜間腔画分として、以下の実験に用いた。

上記4画分をそれぞれ 6 M HCl 存在下3, 6, 24時間加水分解した。分解産物をFDAA化した後、2次元薄層クロマトグラフィーで各アミノ酸に分離し、アラニン、プロリン、グルタミン酸、アスパラギン酸をクロマトプレートより回収した。これらのアミノ酸のキラリティー分析は、逆相カラムをもちいた高速液体クロマトグラフィー (HPLC) によりおこなった。各アミノ酸についてD型とL型の比率 (D/L比) を求め、加水分解時間に対してプロットし0時間に外挿することにより、ペプチド中のD/L比を推定した。

結果と考察

ミトコンドリア（下図）、外膜、膜間腔に少量（D/L=0.012-0.015）であるがD-アスパラギン酸の存在が示唆された。内膜+マトリックス画分には有意のD-アミノ酸の存在は検出されなかった。大腸菌はミトコンドリアの祖先と考えられている紅色細菌の一種であるが、その“超音波-可溶性”画分の結合型アスパラギン酸についてもD/L比は0.012であるという興味深い分析結果が得られている（前発表）。



細菌および古細菌の可溶性タンパク質に含まれるD-アミノ酸

—ホモキラリティー成立時期を探る試み—

D-Amino acids in soluble proteins of bacteria and archaea

—A trial for search for the time of homochirality establishment—

○長田洋子¹、藤原健智²、福森義宏³、山中健生³(¹姫路工大・理、²東京工大・生命理工、³日大・工)

Yoko Nagata, Taketomo Fujiwara, Yoshihiro Fukumori, and Tateo Yamanaka
 (Fac. of Sci., Himeji Inst. of Technol.; Faculty of Biosci. and Biotech.,
 Tokyo Inst. of Technol.; and College of Sci. and Technol., Nihon Univ.)

生命が現れるまでの太古の地球上では、光学異性体のL-アミノ酸とD-アミノ酸は等量、生産され存在していたと考えられる。細菌の細胞壁を構成するペプチドグリカンにはD-アラニンとD-グルタミン酸が存在し、ある種の細菌やカビの産生するペプチド抗生物質にもD-アミノ酸の存在が知られている。しかし、高等動物をはじめとして、真核生物のペプチドにD-アミノ酸が含まれているという報告は二、三に留まっている。L-アミノ酸、D-リボースから成る生物界のホモキラリティーはいつ頃成立したのかを知る目的で、細菌と古細菌から超音波破碎によって得られた可溶性画分について、D-アミノ酸含有量を調べた結果を報告する。

材料と方法

実験に用いた生物は、*Bacillus* YN-1, *Bacillus*. PS3 (以上グラム陽性細菌)、*Escherichia coli*, *Desulfovibrio vulgaris* (以上グラム陰性細菌)、*Pyrodictum islandicum*, *Sulfolobus acidocaldarius* strain 7, *Methanosarcina barkeri* strain MS, *Halobacterium halobium* strain L-33 (以上古細菌) である。

集めた菌体を、培養液をよく洗い落とし、超音波破碎し、14,000 g x 60 min (4℃) 遠心した。上清画分をポアサイズ 3500 の透析膜に入れ純水に 48 時間透析後、凍結乾燥した。得られた画分を 6 M HCl 中、110℃で 6, 16, 24 時間加水分解した。減圧乾固した分解物に F D A A (1-fluoro-2,4-dinitrophenyl-5-L-alanine amide) を加え、アミノ酸のジアステレオマーを得た。これを二次元薄層クロマトグラフィーにより各アミノ酸に分離し、F D A A-アラニン、プロリン、セリン、グルタミン酸、アスパラギン酸を単離した。これらのアミノ酸のキラリティーの分析は、逆相カラムを用いた高速液体クロマトグラフィー (HPLC) によりおこなった。F D A A-アミノ酸を、50 mM トリエチルアミン-リン酸緩衝液 (pH 3.5) 中アセトニトリルを 45 分間で 10% から 40% に上昇させるリニアグラジェントで溶出し、340 nm の吸光度を測定した。既知量の標準D-、L-アミノ酸を上記サンプルに加え、加水分解後上記と同様に処理した内部コントロールを用いて定量した。

D-アミノ酸とL-アミノ酸の含有量の比率(D/L比)を加水分解時間に対してプロットし加水分解時間0に外挿、x軸上のD/L比の値とL-アミノ酸量からペプチド中のD-アミノ酸含有量を求めた。

結果と考察

ペプチドにあるアミノ酸の光学異性体の純度検定は、通常そのペプチドを酸加水分解することにより行われている。しかし、ある種のアミノ酸は酸加水分解自身によりラセミ化を受けるため、元のペプチド中でどのようなD/L比でそのアミノ酸が存在していたのか知ることは難しい。この点を克服するため私達は、一つの試料につき最低三つの異なる加水分解時間で処理する上記の方法を用いた。その結果、セリンとプロリンのD型異性体は検出されなかったが、下表に示すとおりアラニン、グルタミン酸、アスパラギン酸残基についてはD型異性体の含まれていることが示唆された。グラム陽性および陰性細菌にD-アラニン、D-グルタミン酸、D-アスパラギン酸が、超好熱性古細菌 *Pyrodictum islandicum* にもD-グルタミン酸とD-アスパラギン酸の存在が示唆されたが、他の三種の古細菌にはD-アミノ酸は検出されなかった。

以上の結果は、生物界のホモキラリティーが古細菌の進化と共に確立した可能性を示していると思われる。

可溶性タンパク質中のD-アミノ酸含有量(nmol/mg dry weight)とD/L比

Organism	A l a n i n e		G l u t a m a t e		A s p a r t a t e	
	D	D/L	D	D/L	D	D/L
<i>Bacillus</i> YN-1	3.5	0.074	19.0	0.292	0	0
<i>Bacillus</i> PS3	7.3	0.016	7.4	0.012	1.3	0.028
<i>E. coli</i>	1.2	0.010	2.7	0.022	2.1	0.012
<i>D. vulgaris</i>	2.1	0.010	3.2	0.015	3.1	0.014
<i>P. islandicum</i>	0	0	3.3	0.010	1.1	0.033
<i>S. acidocard.</i>	0	0	0	0	0	0
<i>M. barkeri</i>	0	0	0	0	0	0
<i>H. halobium</i>	0	0	0	0	0	0

ミニシンポジウム

(B)

—タンパク質合成系の起源—

◎t-RNA に共通な CCA末端構造の機能 田村浩二^{1, 2}・長谷川典巳¹・朝原治一¹

行木信一¹・姫野倭太³・清水幹夫¹

(¹宇宙科学研、²理研、³弘前大・理)

◎リボソーム-RNA の機能構造 遠藤弥重太 (愛媛大・工)

◎原始タンパク合成装置としてのポリt-RNA構 大西耕二 (新潟大・理)

◎原始タンパク質の起源を探る 柳川弘志 (三菱生科研)

SB1 tRNAに共通なCCA末端構造の機能

Functions of Universal CCA Terminal Structure of tRNA

田村浩二^{1、2}、○長谷川典巳¹、朝原治一¹、行木信一¹、
姫野倭太³、清水幹夫¹

(¹宇宙科学研究所、²理化学研究所、³弘前大学・理学部)

Koji Tamura, Tsunemi Hasegawa, Haruichi Asahara,

Nobukazu Nameki, Hyouta Himeno, and Mikio Shimizu

(Institute of Space and Astronautical Science, The Institute of
Physical and Chemical Research (RIKEN), Hirosaki University)

はじめに

全てのtRNAはその3'末端にCCAの共通配列が存在する。この例外の無い構造はtRNAの機能を発現する上で必須な構造に違いない。tRNAは翻訳の過程で機能している分子種である。その主たる活性は、特異的なアミノアシル-tRNA合成酵素(ARS)により認識され、対応するアミノ酸によりCCA末端のアデノシン残基中のリボース部分にアミノアシル化を受け、アンチコドン介してmRNA中のコドンを認識することによって、遺伝情報を正しくアミノ酸の配列としてタンパク質中へと取り込ませている。この一連の過程には、ARS以外にも多くのタンパク質因子やRNAが関与している。本研究ではtRNAのCCA末端の翻訳過程における役割として考え得る可能性のうち、①アミノアシル化の特異性と効率、②ミスアシル化における校正機構、③ペプチジルトランスフェラーゼ活性への寄与の3点に焦点を絞り、tRNA中に共通に存在するCCA構造の機能について研究を行った。

実験方法、結果および考察

実験に用いた大腸菌tRNAのCCA配列の構造変異体は、SampsonらのT7 RNAポリメラーゼによるin vitro転写反応の方法¹⁾を一部変更した方法を用いて調製した。

CCA末端の変異体がアミノアシル化活性に及ぼす影響については、A₇₆について10種類、C₇₅とC₇₄についてはそれぞれ7種類のアミノ酸種tRNAについて実験した。結果は、一般にいずれのtRNAについても、本来の構造(CCA)が最も高い活性を示したが、トレオニンのように、75位にどの塩基が存在しても活性に影響を与えない例や、ロイシンやメチオニンのように、CCA以外は著しい活性の減少を示す例もあった。従って、CCAのアミノアシル化に及ぼす影響は、必ずしもアミノアシル化の効率を良くするためのものではないと結論された。²⁾

バリル-*tRNA*合成酵素 (ValRS) は、バリンと類似した構造を持つトレオニンを含かなりの割合で誤って活性化する事が知られている。この系では、ブルーフリーディングと呼ばれる校正機構によって、Thr-*tRNA*^{Val}の生成が抑えられ、アミノアシル化の特異性が高く保持されている。*tRNA*^{Val}のCCA配列がこのブルーフリーディングに果たす役割を調べるために、CCA末端を他の塩基に変換し、ValRSによるVal-*tRNA*^{Val}の生成量とThr-*tRNA*^{Val}の生成量、およびそれぞれの反応時におけるAMPの生成量を測定した。その結果、CCAの5'側に隣接する識別位塩基も含めて、CCA配列のいずれの塩基もブルーフリーディングに寄与している事が明らかになった。しかしながら、寄与の程度はA₇₆が圧倒的に強く、A₇₆を他の塩基に変換すると、C₇₅、C₇₄の他の塩基への変換に比べて、いずれも大きなトレオニンのミスチャージングが観察された。これらの結果は、ValRSによるブルーフリーディングが可能になるためには、*tRNA*^{Val}の3'末端のアデノシン塩基が積極的に認識される事が極めて重要である事を示している。3)

CCA末端配列がペプチジルトランスフェラーゼ反応の過程でどのような役割を果たしているかを調べるために、*tRNA*^{Val}のCCAに、あらゆる組み合わせの塩基変換を導入した。ペプチジルトランスフェラーゼ活性は「フラグメント反応」4)を応用して調べた。その結果は、いずれの変換も活性を減少させたが、UCA、CUAおよびCCGへの変換は意味のある程度の活性を示した。A₇₆のピリミジン塩基への変換と、C₇₅、C₇₄のプリン塩基への変換は、ほとんど有意な活性を示さなかった。これらの結果から、*tRNA*のCCA配列がリボソームRNA中のおそらくはUGG配列ないしはUGGを形成するドメインと塩基対を形成してペプチジルトランスフェラーゼ反応を確かなものに行っている事が示唆された。5)

最近、*tRNA*の5'末端を特異的に切断するリボザイムであるRNase PのM1RNAがCCA配列の内C₇₄C₇₅と塩基対を形成し、正確な位置での切断活性を助けている等の報告があり6)、次第にCCA末端構造の機能が明らかにされつつある。

参考文献

- 1) Sampson, J. R. and Uhlenbeck, O. C., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85, 1033-1037 (1988)
- 2) Tamura, K. et al., in preparation
- 3) Tamura, K., Nameki, N., Hasegawa, T., Shimizu, M. and Himeno, H., *J. Biol. Chem.*, 269, 22173-22177 (1994)
- 4) Monro, R. E. and Marcker, K. A., *J. Mol. Biol.*, 25, 347-350 (1967)
- 5) Tamura, K., *FEBS Lett.*, 353, 173-176 (1994)
- 6) Kirsebom, L. A. and Svard, S. G., *EMBO J.*, 13, 4870-4876 (1994)

SB2

リボソームRNAの機能構造: Structure and Function of rRNA

遠藤弥重太 (愛媛大学工学部応用化学科)

Yaeta Endo (Department of Applied Chemistry, Faculty of Engineering,
Ehime University)

はじめに

核酸 (DNA, RNA) は遺伝情報を伝達し、タンパク質は生命を演出する基本物質である。この異質な両者、“情報”と“もの”の2系統を橋渡しするシステムが遺伝情報翻訳装置であり、生物は37億年ともいわれる時間をかけて、精巧なこのタンパク質合成システムを創りあげてきた。タンパク質生合成反応の概要は1970年ごろにはほぼ明らかになったが、その詳細な機構についてはほとんど不明である。リボソームは翻訳装置の本体で、生物種に固有の3~4種類のRNA (rRNA) と55~80種類のタンパク質 (リボソームタンパク質) から構成される巨大なRNA・タンパク質複合体 (RNP) である。リボソームの構造と機能に関する研究は中心課題であったが、巨大なRNPを解析する有効な手法が見つからなかったことから難行した。リボソーム機能の主な担い手はRNAか? タンパク質か? 当時 (1971年)、コリシンE3の作用機作が解明され、16S rRNAの3'末端側の特定のリン酸ジエステルを加水分解することによって大腸菌リボソームを不活性化することが明らかになったにもかかわらず、rRNAの機能が注目されることは無かった。“酵素はタンパク質からできている”というE. Buchnerら以来の常識からいって、リボソーム機能もまたリボソームタンパク質が主役を演じているものと信じ込まれていたからであろう。ところが、1980年代になってrRNAの機能構造に関する発表が相次ぎ、またリボザイムの発見とも相まってrRNA分子こそがリボソーム機能の中心的な役割を担っているものと確信されるようになった。

ここでは、演者らの毒素ドメインに関する研究を中心に、H. Nollerらの裸23S rRNAによるペプチド転移反応¹⁾、渡辺公綱らが発見した芳香族性3級アミンによる翻訳反応の促進現象²⁾等について紹介するとともに、RNAワールドとの関連性についても議論したい。

猛毒に学んだ rRNA の機能構造

巨大分子の構造と機能との関係を探るには抗生物質や毒素を利用するのも有効な方法である。演者らは、2種類の細胞毒素タンパク質の作用機構を解明することから、リボソームの機能構造の解析を試みた³⁾。ヒマの種子に含まれるライシン (ricin) はサリン (sarin) の1000倍以上もの毒性を有し、旧ソ連のKGBは暗殺薬として多用した。ライシンの標的がリボソームであることは知られていたもののその分子機作は不明であった。演者らは、ライシンが新規な酵素“RNA N-グリコシダーゼ”であり、rRNA中の特定部位の1個のN-グリコシドを加水分解し、リボソームを不活性化することを明らかにした。ライシンの作用部位は23S rRNAのドメインVI内の小さなステム・ループ (毒素ドメイン、図(1)) に位置し (5'末端から2660番目)、プリン塩基に富んだループ部はrRNAの1次構造上で進化的に最も保存度の高い領域である。演者は、こ

れより先にカビの産成する別種の毒素タンパク質である、アルファサルシン (alpha-sarcin) のリボソーム不活性化の分子機構を明らかにしていた。すなわち、この毒素は特異な RNA 分解酵素で、ライシンの作用部位に隣接する唯一個のリン酸ジエステルを加水分解することによってリボソームを不活性化する。ライシンやアルファサルシンの作用によってリボソームは伸長因子 (EF-Tu, EF-G) 依存性 GTP 加水分解能を消失することから、毒素ドメインがペプチド鎖伸長反応に重要な機能を果たしているものと考えられた。

両毒素を探索針として用いた実験や NMR による解析結果から、演者らは、リボソーム粒子上の毒素ドメインループ部がペプチド鎖伸長反応に伴って、4 塩基ループ (ライシン感受性型) と 15 塩基ループ (アルファサルシン感受性型) の 2 種の動的構造をとるものとする作業仮説 (図 (2)) をたてている。

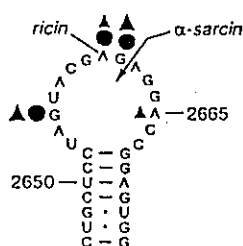
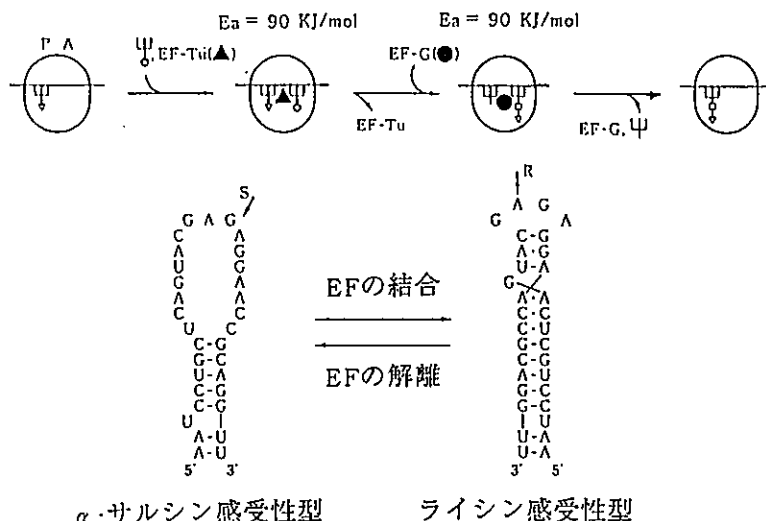


図 1、大腸菌 23S rRNA 中の毒素ドメイン

aatRNA · EF-Tu · GTP (▲)、EF-G · GTP (●)
によりフットプリントされる部位

図 2、RNA スイッチ仮説



文献

- 1) H. F. Noller, V. Hoffarth, L. Zimniak, Science, 256, 1416 · 1419 (1992)
- 2) I. Nitta, T. Ueda, K. Watanabe, J. Biochem., 115, 803 · 807 (1994)
- 3) I. G. Wool, A. Gluck, Y. Endo, TIBS, 17, 266 · 269 (1992)

原始蛋白合成RNA装置としてのポリtRNA構造

Poly-tRNA structure as an early protein-synthesizing RNA apparatus

大西 耕二 (新潟大学 理学部 生物学教室)

K. Ohnishi (Dept. of Biol., Fac. of Sci., Niigata Univ.)

「tRNAは最初の遺伝子であった」というEigenの主張は、アデニレート・キナーゼ等の基本的な酵素の内部重複単位をコードするDNA領域がtRNAに類似する配列をしばしば含んでいることや、16S、23S rRNAが、tRNAや5S rRNAの構造を含むことから、本当らしく思われる(Ohnishi, 1990)。蛋白質をコードするDNA域とtRNAとの類似性の中に、一つでも真の相同性に基づくものが含まれているとするならば、そのmRNAはtRNAに由来するものと考えざるを得ない。従って、遺伝暗号の起源は、tRNAの塩基配列がトリプレット・コドンの並びへと進化することによって成し遂げられたと言える。即ち、遺伝暗号起源論は、tRNAからmRNAへの移行過程を矛盾なく説明できるものでなければならぬ。ポリtRNA学説(Ohnishi, 1992, 1993)は、この必要条件を完全に満足する暗号起源論であり、枯草菌の*trnD* オペロンのRNA転写物が Fig. 1 の [1] に示すような(*trnD*型)原始ペプチド合成RNA分子であったことを基盤としている。原始的tRNA (Fig. 1 [4]) がポリtRNA構造のアンチコドン域とinteractする過程で、図の[3]と[4]との相補性が自然選択されてmRNAへと進化したのである。

このモデルは、遺伝暗号という記号性が、通常の立体化学的反應を経て獲得される過程で、tRNAの一次元的重複の在り方(直列型重複)が、tRNAの効率的な分業を促したという点で、記号進化学の立場から特に興味深い内容をふくんでいる。

このポリtRNAモデルを基盤とすることによって、Fig. 2 に示すようにグリニルRNA合成酵素αサブユニットやATP合成酵素αサブユニットのコード域が、*trnD*型ポリtRNA構造に直接的に由来しているのみならず、同じオペロンに含まれる16S rRNA、23S rRNAもまた、このポリtRNA構造から進化したことが明白となった。このことは、遺伝装置の起源や原初的遺伝子の起源の在り方に関して、多くの本質的な情報を提供する。23S rRNAのペプチジル・トランスフェラーゼ領域が*trnD* オペロンとの並列において、5S rRNA homologueであることもまた、原初期の蛋白合成の在り方を照らし出している。

特に、mRNAがポリtRNA構造そのものに由来するということは、エキソンやイントロンの構造が、tRNAユニットとどのような関係をもって進化したかを解析する道筋を示している。実際、レグヘモグロビンの第3、第4エキソンは、*trnD* オペロンと並列することによって、tRNAそのものに由来していることが分かり、しかもこれらのエキソンの5'末端は、tRNAの5'末端に近い位置に並列され、エキソンの構造単位が遺伝子DNA配列中のtRNA単位と密接に関連して進化してきたことを伺わせる。

また、枯草菌 *trnB* オペロンのポリtRNA構造から同様に導かれる原始mRNA(*trnB*-mRNA)はアデニレート・キナーゼの内部重複単位と相同であり、最もよく保存されている単位は、ATPとinteractする活性部位を含んでいる。*trnB*-mRNAは、グリセロールデヒド3リン酸脱水素酵素の遺伝子のもとにもなっている。

これらの観察知見は、tRNAがどのようにして原始蛋白をコードする遺伝子へと進化したかという問題や、コーディング以前の原始RNA先駆体の在り方についても示唆深いものである。

従来の遺伝暗号の起源に関する諸学説の内、ポリtRNA学説と最もよく合致するものは、清水幹夫のC4N学説であると思われる。Fig. 1のモデルにおいて、原初期において(3'末端から4番目の)識別塩基が原始アンチコドン域と立体化学的に近い位置にあって、アミノ酸特異的なポケット構造が自然選択された時期があったとすれば、ポリtRNAモデルとC4Nモデルは互いに補強できる理論となっている。重要なことは、そのような立体化学的アミノ酸特異性が進化の主要要因として働いたのは、特異性成立時期であって、一旦記号性が確立すると、記号性の最も重要な特徴である恣意性が遺伝暗号の暗号性を支配して今日に至ったものとみられる。したがって、現存tRNAが一般に清水の主張するC4N構造をとっていないとすれば、そのことこそが、遺伝暗号が立体化学的特異性の時期を通り過ぎて、典型的な記号性を完成させていることの傍証となっている可能性が極めて高いと言える。

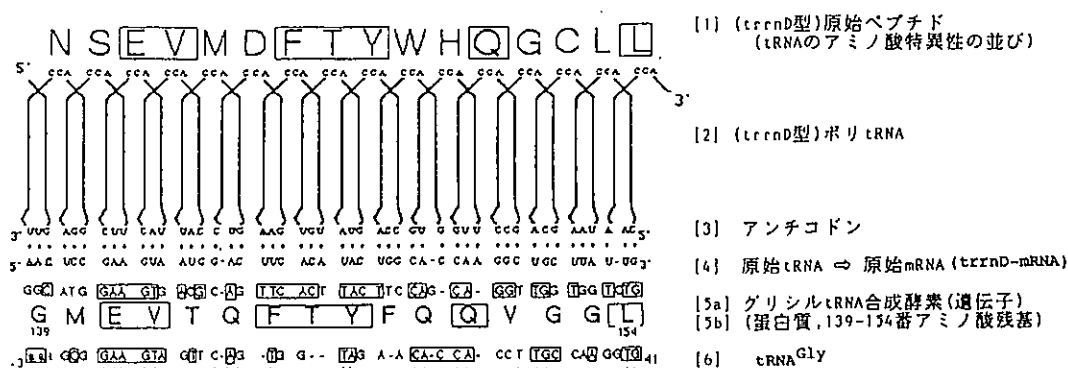


Fig. 1. mRNAと遺伝暗号の起源を矛盾なく説明するポリtRNAモデル。ポリtRNA構造 [2] (trnD オペロンのtRNAクラスター域のRNA転写物)は、もともとはそのアンチコドン域 [3]で原始tRNA [4]と相互作用してtRNAの特異性に基づいて(trnD型)原始ペプチド [1]を合成していた。そのような段階を経て、原始tRNA [4]が、トリプレット・コドンの並びとしての原始 mRNA [4] (trnD-mRNA)へと進化した。

原始mRNA [4]の痕跡は、グリシルtRNA合成酵素αサブユニット(GlyRS α)の遺伝子 [5a]やtRNA^{Gly} [6]に残されている。一方、原始ペプチド [1]の痕跡は、グリシルtRNA合成酵素αのある配列域 [5b]に残されている。

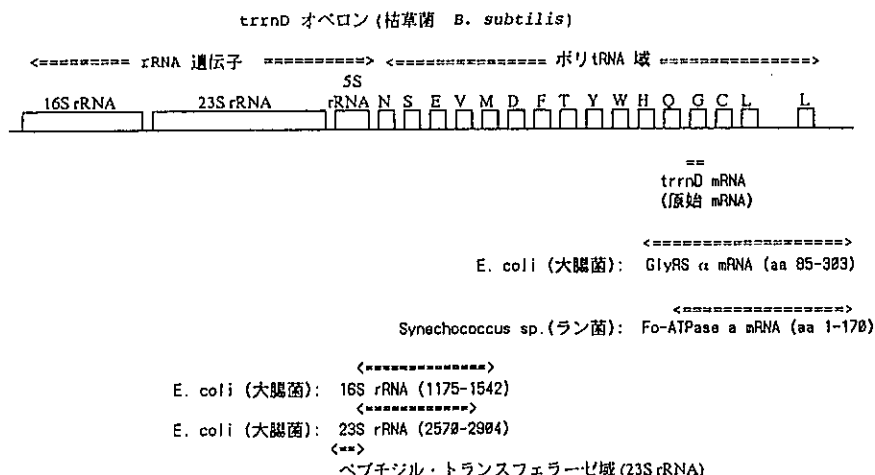


Fig. 2. 枯草菌 trnD オペロンとグリシルtRNA合成酵素(GlyRS α) mRNA, Fo-ATP合成酵素αサブユニット(Fo-ATPase α) mRNA, 及び、16S rRNA/23S rRNA との塩基の相同性を示す並列。

SB4

原始タンパク質の起源を探る

Search for origin of primitive proteins

柳川弘志

(三菱化学生命科学研究所)

Hiroshi Yanagawa

Mitsubishi Kasei Institute of Life Sciences

モジュールは球状タンパク質中で、一次構造上連続でかつ立体的にコンパクトな10-40残基のアミノ酸からなるセグメントである(1)。真核生物の遺伝子を分断しているイントロンは、モジュール構造の連結点にしばしば対応していることが知られている。モジュールは原始遺伝子上でエクソンに対応していたのかもしれない。遺伝子進化の仮説であるエクソンシャッフリング説によれば、タンパク質はエクソンのランダムな組み合わせによって進化してきたと考えられている。しかし、エクソンの構造や機能エレメントとしての意味付けは、まだ明らかでない。

モジュールは、「タンパク質を構成する基本的なペプチドであり、生物進化の初期段階において重要な素材であった」、と考えられる。エクソンとモジュールの対応関係および進化の段階は次のように考えられる。すなわち、生物進化の一番初期段階では、エクソン程度の長さのミニ遺伝子の情報に基づき、モジュール程度の長さのミニタンパク質がつくられていた。このモジュールは単独あるいは会合したりして非常に弱い触媒活性をもっていた。次の段階でいくつかのミニ遺伝子がつながった。その結果、モジュールが数個つながった程度の長さのタンパク質が出現した。この連結モジュールは単独あるいは会合したりして、短いモジュールに比べるとかなり強い触媒活性をもつことができるようになった。最終段階で、エクソンの組み合わせにより長くて多様な遺伝子ができ、その結果、モジュールは一本の鎖になり、折りたたまれて強い触媒活性をもつ現在のような多様なタンパク質が創出された。

我々はこれまで、タンパク質の構造を階層構造の観点から理解するために、モジュールというサブ構造に着目し、バルナーゼを6個のモジュール単位(M1~M6)に分割し、単独モジュール、連結モジュール、モジュール入れ換え変異体の構造と機能について調べてきた。また、その目的はタンパク質の分子進化とモジュールの関係を探ることにもある。

まず、バルナーゼのモジュールの構造と機能を調べてみた。6個のモジュールの水溶液中での二次構造形成をCDを用いて調べたところ、いずれのモジュールも単量体では水溶液中では明確な二次構造を形成しなかった。しかし、トリフルオロエタノールのような非極性溶媒中ではヘリックスやターン構造のようなネイティブタンパク質と同じ構造が安定化されることが見出された(2)。M1とM5は自己会合により高次構造体をつくり、安定なヘリックス構造とシート構造をそれぞれもっていた(3)。モジュールM2、M3、M6は、ネイティブのタンパク質に比べればかなり弱いですが、単独でRNAの切断活性をもつことがわかった(4)。モジュールの切断の特異性はネイティブとは異なっ

ていた。また、RNAの切断活性をもつM2、M3、M6は同時にRNAに対しても親和性をもつことが明らかになった。この結果は、生物進化の一番初期過程において、モジュール程度の長さのペプチド断片が、弱いながらも触媒機能をもっていたのではないかというモジュール仮説を支持している。また、バルナーゼの触媒部位は、進化の過程で単独でリボヌクレアーゼをもっていたモジュールの組み合わせと、それらを寄せ集めるための糊の役目をするモジュールの組み合わせから構築されているように推察される。

次に、バルナーゼの連結モジュールの構造と機能について調べてみた。N末端からのM12（M1とM2の連結モジュール、以下同じ）、M13、M14、M15と、C末端からのM56、M46、M26を遺伝子工学的と化学合成法により調製し、それらの水溶液中における構造形成を調べた。N末端からのモジュール連結体の二次構造形成を調べるために、遠紫外CDスペクトルを測定した。その結果、M1からM4まで順次つなげて明瞭な二次構造は形成しないことがわかった。M1からM5まで連結したM15の遠紫外と近紫外CDスペクトルを測定したところ、M15は二次構造も三次構造も形成していることがわかった。以上の結果を総合すると、バルナーゼの三次構造の形成にはM1とM5の相互作用が必須で、モジュールの遠距離間の相互作用によりフォールディングの際のコアがつくられる。連結モジュールは単独では弱いリボヌクレアーゼ活性しかもっていなかったが、組み合わせにより強い活性をもつようになった。

次に、モジュールの入れ換え変異体の構造形成について調べた。M1とM2を入れ換えたnabarseとM2とM3を入れ換えたbarsenaは、ゲルろ過法により野生型と同程度のコンパクトな構造をもっていることがわかった。タンパク質は単量体であった。nabarseとbarsenaの遠紫外CDスペクトルを調べたところ、両者ランダムコイルとも野生型バルナーゼとも異なるスペクトルを与え、二次構造の形成が示唆された。また、barsenaの近紫外CDスペクトルは三次構造の形成を示唆した。これらの結果は、部分配列だけでは特定の安定な構造を形成できないが、何らかの相互作用が存在すれば、特定の局所構造は安定化されることを示している。nabarseとbarsena共に弱いリボヌクレアーゼ活性をもっていた。

文献

- (1) M. Go., Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 80, 1964-1968(1983)
- (2) T. Ikura, N. Go, D. Kouda, F. Inagaki, H. Yanagawa, M. Kawabata, S. Kawabata, S. Iwanaga, T. Noguti, and M. Go, *Proteins*, **16**, 341-356(1993)
- (3) K. Yoshida, T. Shibata, J. Masai, K. Sato, T. Noguti, M. Go, and H. Yanagawa, *Biochemistry*, **32**, 2162-2166(1993)
- (4) H. Yanagawa, K. Yoshida, C. Torigoe, J.-S. Park, K. Sato, T. Shirai, and M. Go, *J. Biol. Chem.*, **268**, 5861-5865(1993)

Cyril Ponnampерuma博士を悼む

Obituary: Professor Cyril Ponnampерuma

大島 泰郎 (東工大・生命理工)

Tario Oshima (Dept. Life Sci., T.I.T.)

Cyril Ponnampерuma博士は昨年12月20日、メリーランド大学の自室にて心臓発作のため倒れ、ワシントン市内の病院へ運ばれたが、帰らぬ人となった。享年71歳であった。博士の業績については、本学会会員を前にして改めて述べる必要はないであろう。化学進化研究で世界をリードしてきた博士は1923年セイロン(現スリランカ)のGalleで生まれ、マドラス大学で哲学を学び、1948年に卒業したが、生前の氏の言葉によれば「食べるために」化学に転向し、ロンドンに渡った。ロンドンのBirkbeckカレッジでは高名なJ. D. バナールに師事し、改めて学士号を得た。1959年に渡米、カルフォルニア大学バークレイ校にてM. カルビンのもとで大学院を修めた。1962年に博士号を得、NASAのエームス研究センターにポスドクとして移ったが、のち正規の研究員となり、さらに化学進化研究室長に昇進した。1971年にメリーランド大学の化学科の教授となり、最後まで同大学の看板教授であり続けた。同時に、スリランカ大統領の科学政策に関する顧問を勤めたり、インド亜大陸はじめ第三世界の科学研究振興のためにも心血を注いだ。

本学会として忘れられないことは、野田春彦会長はじめ多数の会員が博士の世話になっていることである。Cyril Ponnampерuma博士はエームス研究センターの研究室長代理に就任以来、多くの日本人研究者をポスドクとして、あるいは客員研究員として迎え入れ、さらには、他の研究室に滞在している日本人学者の世話までするほどの親日家であった。在米中、博士の世話を受けた日本人学者で、本学会に無関係な人の中には永井道雄元文相が含まれる。スリランカ往復の途中などに、東京に立ち寄り「同窓会」を開くのを楽しみにするなど、日本人研究者との絆を大切にしていた。博士を囲んで食道が焼けるような辛い「本場のインドカレー」を食べる機会が失われたのは残念でならない。本学会の発展にも関心が深く、また、寄せる期待も大きかった。Cyril Ponnampерuma博士の生前の厚情に深く感謝するとともに、心からのご冥福を祈る。

宇宙科学シンポジウム

「21世紀の宇宙サイエンス ―その新たな飛躍に向けて―」

主催

日本宇宙生物科学会、日本惑星科学会、生命の起源と進化学会

後援

宇宙開発事業団、教育社ニュートン

開催主旨

H-I-I ロケットの成功によって我国もやっと本格的な宇宙サイエンスの時代を迎えました。我国独自の宇宙開発を行うには、政界、財界、科学研究界のそれぞれにおいて独自の哲学とそれに基づいた長期計画が必要です。このような状況の基で、私どもは科学研究界の立場から、「21世紀の宇宙サイエンス ―その新たな飛躍に向けて―」

と題したシンポジウムを企画致しました。

本シンポジウムは、それぞれの分野の異なる講師の方々に日本の宇宙サイエンスの将来像について話題提供をしていただくといった形式で行いたいと考えています。

会場： 東京工業大学百年記念館 フェライト記念会議室
東京都目黒区大岡山2-12-1

日時： 1995年4月8日(土) 13時～18時

参加方法： 当日 先着順に200名まで
無料

プログラム

- 13.00 佐藤温重(日本宇宙生物科学会会長、東京医科歯科大学) 挨拶
13.15 松井孝典(東京大学) なぜ惑星探査が必要か?(仮)
14.15 五代富文(宇宙開発事業団) H-I-I ロケット
宇宙への挑戦
15.15 大島泰郎(東京工業大学) 宇宙生命科学の将来像(仮)
16.45 寺門和夫(教育社ニュートン) 21世紀の宇宙サイエンスに
期待すること(仮)
17.45 中澤 清(日本惑星科学会会長 東京工業大学) 挨拶

問い合わせ先

1. 東京工業大学 生命理工学部 生命理学科 小池惇平
〒227 神奈川県横浜市長津田4259
電話 045-924-5712 ファックス 045-924-5805
2. 三菱化学生命科学研究所 河崎行繁
〒194 東京都町田市南大谷11
電話 0427-24-6289 ファックス 0427-24-6317

「生命の起源および進化学会」若手の会
「生命の起源」夏の学校 '95のお知らせ

生命の起源に関連したテーマで研究を進めている学生を中心に行っている”「生命の起源」夏の学校”も今年で3回目となりました。学会とは違った雰囲気、はじめての方でも素朴な疑問や思いつきなどを話せる場をつくっていかうと考えています。横浜周辺で開催する予定ですので、観光がてら「生命の起源や進化」について語るなんていうのもいかがでしょう。

下記のような日程で開催する予定にしています。お気軽にご参加下さい。

記

日時 1995年7月24日（月）から26日（水）（予定です）

場所 横浜周辺を予定しています。

内容 各自の研究内容についての発表や親睦会などを予定しています。

会費、申し込みなどについては、5月末までに下記にお問い合わせをお願いします。後日、案内をお送りします。

問い合わせ先

〒240 神奈川県横浜市保土ヶ谷区常盤台156

横浜国立大学 工学部 物質工学科 土屋・小林研究室

佐藤 忠・辻 融

笠松 隆志

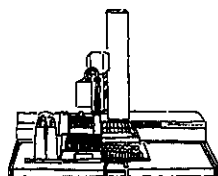
TEL 045(335)1451（内線2926）

FAX 045(338)3120

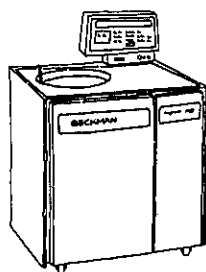
BECKMAN

Imagine the Future

ベックマンは科学機器業界をリードする
*Global Company*です。



未来の鍵をにぎるライフサイエンス、いまベックマンはその頂点にあります。つねに先端技術の集約とオリジナリティあふれる創意工夫、そしてたゆまざる努力のすべては、人類のあしたに向けて、科学技術の進歩と生命の根源にせまるあゆみをつづけていきます。



ベックマン株式会社

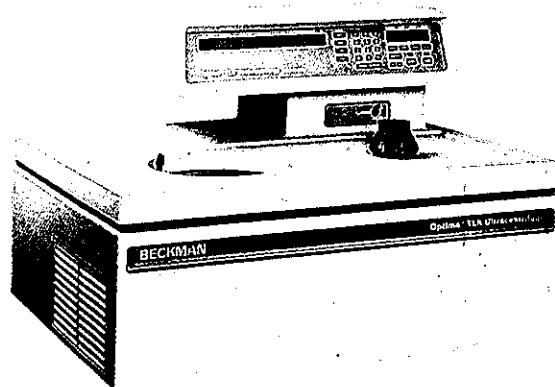
本社 〒102 東京都千代田区三番町6番地 ☎(03)3221-5831(代)

●札幌☎(011)222-5761(代) ●仙台☎(022)264-7148(代) ●つくば☎(0298)52-6640(代) ●名古屋☎(052)971-4381(代) ●大阪☎(06)203-2821(代) ●広島☎(082)241-7821(代) ●福岡☎(092)271-0962(代)

革新的な性能と環境保全

ベックマンの卓上型超遠心機

"Optima™ TLX & TLシリーズ"



- 120,000rpm、625,000gを有し、実用面において、小量サンプルの迅速分離は、業界の規準です。
- 5年間の完全ドライブ保証で生産性と信頼性が向上。
- 広範囲なアプリケーション。
- 2.5時間のDNA分離。
- 1時間のRNA分離。
- 55分間でのタンパク質のレートゾーナル分離。
- 20分以内の細胞分画。
- 1時間のウイルス分離。
- 15分の膜分離。

ベックマン株式会社

本社 〒102 東京都千代田区三番町6番地 ☎(03)3221-5831(代)

●札幌☎(011)222-5761(代) ●仙台☎(022)264-7148(代) ●つくば☎(0298)52-6640(代) ●名古屋☎(052)971-4381(代) ●大阪☎(06)203-2821(代) ●広島☎(082)241-7821(代) ●福岡☎(092)271-0962(代)

☆ 学会誌 Viva Origino 投稿規定

I. 論文の種類

投稿は、以下の区分1～3のいずれかに分類する（Ⅲ-4参照）。

1. Review：解説または総説。
2. Article：オリジナルな研究結果の報告。
3. News and Views：
 - a) 研究報告，解説，総説に対するコメント。
 - b) 研究に対するプリンシプル，アイデア，意見。
 - c) 国内外の関係学会報告。
 - d) 教育・研究体制に関する意見。
 - e) その他。

II. 論文の体裁

1. 使用言語は日本語または英語とする。
2. Review および Article については、本文が英文の場合は和文要旨を、また本文が和文の場合は英文の要旨を添える。
3. 著者名の下に所属機関の名称・所在地・郵便番号を付記する。
4. 引用文献は、引用順に肩つきの通し番号で表示し、本文末尾に引用文献表を付してまとめる。雑誌の省略表示は、Chemical Abstract 等に採用されている標準表示の様式に従う。
5. 図表および写真は下記の基準によって準備する。
 - a) 図および写真には Fig. 1, Fig. 2 等、また表には Table 1, Table 2 等の通し番号をつける。
 - b) 原図は黒インクで明確に墨入れし、そのまま写真製版できる仕上がりとする。写真はプリントした陽画とする。
6. 単位と記号は、国際的に慣用されているものを用いる。単位は CGS (MKS) 系または SI 系を原則とし、両者を混用しない。
7. 術語および略語は、IUPAC-IUB の勧告を基準とする。化合物名等で英語表記がよいと判断されるものは、英語表示とする。その他は一般に関係学会誌等で使用されているものにならう。
8. 和・英文とも原稿作成にあたっては、それぞれの手引きを参照のこと。

III. 論文の提出と受理

1. 原稿原本のほかにコピー1部を添えて Viva Origino 編集委員会事務局（以下、事務局という）に提出する。
2. 投稿受理日は、原稿が事務局に到着した日とする。ただしレフェリーの指摘による訂正などで、再提出

がいちじるしく遅れる場合には、再提出日を受理日とすることがある。

3. 採否は、事務局が依頼したレフェリーの審査を経て決定する。

4. 投稿区分はレフェリーの意見を参照の上、事務局が承諾を得て決定する。

IV. 投稿の資格

1. 著者は、生命の起原および進化学会の会員であるか、あるいは会員の紹介を経ることが望ましい。
2. 会員以外の著者に原稿を依頼することができる。

V. 校正

校正は、事務局が形式の統一等に関して校正した後、著者の責任において行う。校正段階での新たな変更等は、技術的な理由から原則として認めない。

VI. 掲載経費の負担

製版・トレース等、別途の費用が必要な場合の実費は、著者が負担する。

VII. 別刷

著者は、校正に同封した申込用紙により別刷を有料で申込むことができる。

☆ 写真製版英文原稿作成の手引き

英文原稿は原寸大の写真製版（和文要旨を除く）とするので、以下の規定による。

1. タイプの文字は elite 12ピッチ、シングル・スペースとし、鮮明に印字する。
2. 厚手のタイプ用紙を用い、横14cm×縦21cmの枠内に収める。
3. 第1ページに表題、著者名、所属機関等を、この順序に記す。
 - ア) 表題は大文字とし、9行目から始める。
 - イ) 表題のあと、4行あけて著者名を記す。
 - ウ) 著者名のあと、1行あけて著者の所属と所在地（郵便番号付記）を英文で記す。
 - エ) 所在地のあと、4行あけて ABSTRACT を記す。
 - オ) 1行あけて KEY WORDS (10語以内) を記す。
4. 原寸大の図表は所定の位置に貼る。縮尺を要する図表は別紙に記し、本文には相当する空白を設け、空白中央に図表番号を鉛筆で指示する。
5. 見出しは、区切りの大きいものから順に下記ア)～ウ)の通りとする。各見出しのゴチ指定、改行等については、既刊の実例にならう。
 - ア) ORIGIN OF LIFE・・・のごとく、全部大文字

とし、左端から記す。見出しの上を2行あけ、下を1行あける。

イ) Origin of life・・・のごとく、最初の1文字のみ大文字とする。見出しの上を1行あけ、下を1行あける。

ウ) 文節の最初に記し、文頭を下げない(インデントなし)。Origin of life.のごとくアンダーラインを引き、ピリオドを打ち、行を変えずに文章を続ける。

6. 各ページとも、タイプ枠外の右上隅に第一著者名とページを鉛筆で記す。この記入は整理のためであり、印刷されない。

7. 別に和文要旨を添える。要旨冒頭に和文表題、著者名、所属機関、その所在地(郵便番号を付記)を、この順序に記す。要旨本文の長さはなるべく400字以内とする。

☆ 写真製版和文原稿作成の手引き

和文原稿も英文原稿同様直接写真製版が可能な原稿をワープロを用いて作成することが望ましい。

1. 文字は24ドット以上の明朝体とする。

2. 厚手の用紙を用い、横17cm×縦25cmの枠内に1行40文字、40行を印字する。すべての文字および、図、表、写真は80%に縮小されて印刷される。

3. 第1ページに、表題、著者名、所属機関とその所在地(郵便番号付記)をこの順に記す。

ア) 表題は4倍角文字とし、4行目から始める。文字の大きさが変えられない場合はそのまま(全角)の文字を使う。

イ) 表題のあと、4行あけて、著者名を記す。

ウ) 著者名のあと1行あけて、著者名、所属とその所在地(郵便番号付記)を記す。

エ) 所在地のあと、4行あけて、本文を記す。

4. 見出しは、区切りの大きいものから順に下記ア)～ウ)の通りとする。

ア) 1, 2, 3, ...

イ) 1-1, 1-2, ..., 2-1, 2-2, ...

ウ) a), b), c), ...

各見出しのゴチ指定、改行等は既刊の実例にならう。

5. 図、表、写真は所定の位置に貼る。図、表、写真の番号、表題、説明は和文原稿の場合にも英文で記すことが望ましく、そのまま写真製版出来るよう図、写真の下、表の上および下に記す。

6. 和文原稿の場合には英文要旨をつける。

英文要旨冒頭には、表題、著者名、所属機関、その所在地(郵便番号付記)をこの順で記す。続いて、4行あけた後、ABSTRACT, KEY WORDS (10語以内)を記す。

7. 英文要旨は英文原稿作成の手引きを参考にして記す。

8. 英文要旨は表題から KEY WORDS まで含めて1頁以内に納める。

☆ 和文原稿作成の手引き

1. 原稿は400字詰め原稿用紙に横書きで記す。ワープロを使用の場合は、25字×16行とする。

2. 第1ページに和文表題、著者名、所属機関、その所在地(郵便番号を付記)を、この順序に記す。第2ページには英文要旨を記す。第3ページ以下に本文を記す。

3. 見出しは、区切りの大きいものから順に下記ア)～ウ)の通りとする。各見出しのゴチ指定、改行等は、既刊の実例にならう。

ア) 1, 2, 3, ...

イ) 1-1, 1-2, ..., 2-1, 2-2, ...

ウ) a), b), c), ...

4. 図、写真および表は別紙とし、原稿中にはそれぞれの挿入箇所を指定する。

5. 和文原稿の場合にも、図、写真および表の表題および説明文は英文で記すことが望ましい。

6. 英文要旨冒頭には、表題、著者名、所属機関、その所在地(郵便番号を付記)を、この順序で記す。

7. 英文要旨の後に KEY WORDS (10語以内)を記す。(日本語でのキーワードは不必要。)

生命の起原および進化学会

〈1994、1995年度役員〉

名 譽 会 長 野田 春彦
会 長 原田 馨
副 会 長 佐藤 七郎、山中 健生

〔運営委員会〕

委 員 長：赤星 光彦 会計責任者：沢井 宏明 編集責任者：湯浅 精二
委 員：秋山雅彦、石神正浩、大島泰郎、大西耕二、小林憲正、佐藤七郎、
清水幹夫、下山 晃、伏見 譲、中村 運、長野 敬、野田春彦、
松野孝一郎、長谷川政美、原田 馨、柳川弘志、山中健正

会 計 監 査 石本 真、福田育二郎

学会本部事務局 〒590-04 大阪府泉南郡熊取町野田1010
京都大学原子炉実験所内
TEL 0724-52-0901 FAX 0724-52-7364
責任者 赤星 光彦

経理部事務局 〒376 桐生市天神町1-5-1
群馬大学工学部内
TEL 0277-22-3181 FAX 0277-44-4599
責任者 沢井 宏明

編 集 事 務 局 〒560 豊中市待兼山町1-16
大阪大学理学部生物学教室内
TEL 06-850-5823 FAX 06-850-5817
責任者 湯浅 精二

編 集 顧 問 秋山 雅彦 石神 正浩 大島 泰郎 下山 晃
長野 敬 柳川 弘志 山中 健生 湯浅 精二

編 集 委 員 大西 耕二 川城 克博 川本 圭造 後藤 公彦
小林 憲正 坂田 朗 島田 秋彦 長田 洋子
長谷川典巳 藤井 紀子 本多 元 本多 泰洋
三田 肇 胸組 虎胤

Special Reporter Rafael Navarro-Gonzalez(National University of Mexico)

Viva Origino 23巻1号

1995年3月1日 印 刷

1995年3月13日 発 行

編集者	〒560	大阪府豊中市待兼山町1-16 大阪大学理学部生物学教室内 生命の起原および進化学会編集部
印刷者	〒594	大阪府和泉市池上町460-33 和泉出版印刷㈱ ☎ 0725-45-2360(代) FAX 0725-45-6398
発行者 及び 出版者	〒590	大阪府泉南郡熊取町野田 京都大学原子炉実験所内 生命の起原および進化学会事務局 責任者 赤星 光彦

Kawasaki, Y. : Method for the exploration of mars life.	40
Koike, J., Oshima, T., Hori, T., Katahira, Y., Koike, K., Tanaka, K., Kawasaki, K. and Kobayashi, K. : Life on extraterrestrial environment. -The survivalities of terrestrial microorganisms under simulated Mars conditions-	42
Yoshimura, T., Ihara, H. and Ishigami, M. : Purification and characterization of aminoacyl tRNA synthetase from extreme thermoacidophiles.	46
Ihara, H. and Ishigami, M. : Purification and characterization of aminoacyl tRNA synthetase from extreme halophile.	48
Kogure, H., Shishido, H. and Shimada, A. : Mechanism of tryptophanase activity to D-tryptophan.	50
Shimada, A. : Extracellular polysaccharides which enterobacter sp. produces under anaerobic condition.	52
Nemoto, N. and Hushimi, Y. : Virus-like strategy in early molecular evolution II.	54
Hirabayashi, J. and Kasai, K. : Hierarchy in glycochemistry and biological evolution.	56
Oshima, T. : Primitive protein: Speculation from biochemistry of hyperthermophilic archaeobacteria.	58
Go, M. : On the origin of introns.	60
Yoshida, K. : A new hypothesis for gene transfer in mitochondrion origin.	62
Akaboshi, M., Tanaka, Y., Takada, J., Kawamoto, K. and Kawai, K. : A search for finding some kind of interaction between rare earth elements and cells. I. Biological effect of rare earth elements on living cells.	64
Takada, J., Tanaka, Y., Sumino, T., Kawamoto, K. and Akaboshi, M. : A search for finding some kind of interaction between rare earth elements and cells. II. Study on bioaccumulation of rare earths by using activation analysis.	66
Mita, H., Fukunaga, N. and Shimoyama, A. : Study of extraterrestrial organic compounds at the cretaceous-tertiary boundary.	68
Yamanaka, T., Fujiwara, T., Shoji, K. and Fukumori, Y. : Evolutional position of chemoautotrophic bacteria based on the structure of cytochrome c.	70
Fujii, N. : Simultaneous stereoinversion and isomerization at specific aspartic acid residues in α A-crystallin from human lens.	72
Nagata, Y. and Fujiwara, T. : D-amino acids in mitochondria of chicken liver.	74
Nagata, Y., Fujiwara, T., Fukumori, Y. and Yamanaka, T. : D-amino acids in soluble proteins of bacteria and archaea — A trial for search for the time of homochirality establishment—	76
Tamura, K., Hasegawa, T., Asahara, H., Nameki, N., Himeno, H. and Shimizu, M. : Functions of universal CCA terminal structure of tRNA.	80
Endo, Y. : Structure and function of rRNA.	82
Ohnishi, K. : Poly-tRNA structure as an early protein-synthesizing RNA apparatus.	84
Yanagawa, H. : Search for origin of primitive proteins.	86

*The 20 th annual meeting of the SSOEL-JAPAN
at
Ehime Prefectural Culture Hall,
Matsuyama, Ehime
March 14-15, 1995*

Saito, T., Kobayashi, K. and Kasamatsu, T. : Cosmic ray energy for chemical evolution in space.	2
Kasamatsu, T., Kaneko, T., Koike, J., Oshima, T., Saito, T. and Kobayashi, K. : Formation of organic compounds in cometary and interstellar dusts environments.	4
Sato, T., Kajishima, S., Kaneko, T. and Kobayashi, K. : Characterization of amino acid precursors, formed in simulated primitive earth atmospheres.	6
Shirakura, N., Mita, H. and Shimoyama, A. : Formation of bioorganic compounds from acetonitrile solution by UV irradiation.	8
Imai, E., Honda, H. and Matsuno, K. : Thermal analysis of thermal heterocopolymerization of amino acids.	10
Sugiyama, T., Sakurazawa, S., Imai, E., Honda, H. and Matsuno, K. : Shell structures made of thermal heterocomplex molecules from amino acids.	12
Sakurazawa, S., Haneda, T., Honda, H., Imai, E. and Matsuno, K. : A hysteresis exhibited by thermal heterocomplex molecules of amino acids.	14
Munegumi, T. : Hydrothermal reaction of maleic monoamide	16
Morimoto, S. : On the formation of aminoacetonitrile and 2-aminopropionitrile from methane and ammonia.	18
Yamagata, Y. and Inomata, K. : Condensation of glycylglycine with trimetaphosphate : Catalytic effect of Mg^{2+} ion.	20
Hashizume, H. and Nakazawa, H. : Polymerization of alanine coexisting with smectite at high pressure.	22
Munegumi, T. and Yokota, M. : Separation of homochiral peptides and development of optical activity.	24
Yuasa, S. : Formaldehyde condensates in the presence of montmorillonite(II).	26
Sawai, H. : Specificity of internucleotide linkage in nucleic acid. Why nucleic acid has 3'-5' linkage?	28
Akaboshi, M., Kawai, K., Sumino, T., Tanaka, Y. and Kawamoto, K. : Induction of enzyme-like properties in γ -irradiated amino acid and proteins. II. alkaline phosphatase-like activity induced in gelatin solution.	30
Saito, T. : Search for bioorganic compounds and organisms on mars.	34
Kobayashi, K. : Abiotic formation of organic compounds on primitive and present mars.	36
Yanagawa, H. and Kobayashi, K. : Chemical evolution in martian hydrothermal environment.	38