

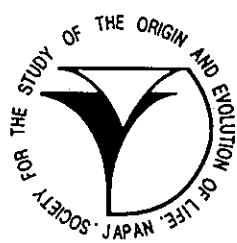
ISSN - 0910 - 4003
CODEN : VIORE 6

Viva Origino

VOL.29 (No. 1)

March 2001

第 26 回 学 術 講 演 会 講 演 要 旨 集



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

生命の起源および進化学会 会則

地球上における生命の起源を科学的に解明することと、生物進化の研究により、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、互の連携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、生命の起源および進化学会 (Society for the Study of the Origin and Evolution of Life-Japan, SSOEL-Japan) という。

第二条 本学会は、会員の生命の起源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. 其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。

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団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。

第十一條 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嘱託し、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、会員の約以上の出席の総会において約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) 生命の起源および進化学会
(口座番号) 大阪 8-3673

Viva Origino

VOL.29 (No.1)

March 2001

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

第 26 回 学 術 講 演 会 講 演 要 旨 集

目 次

- ◎生命の起原・進化学会第26回学術講演会案内及び講演要旨集
湯淺精二 (1)

論 文

- ◎ガラス体の三次元構造
児玉 亮 他 (45)

話 題

- ◎国際シンポジウム「地球科学と生命の起源」開催のお知らせ
中嶋 悟 (55)

生命の起源および進化学会 第26回大会学術講演会

期日：2001年3月15日（木）～17日（土）

会場：（〒560-0043）豊中市待兼山町1-16（大阪大学豊中キャンパス）

　　大阪大学共通教育機構B棟1F講義室（懇親会はA棟6F）

大会事務局：湯浅精二

（〒560-0043）豊中市待兼山町1-16、大阪大学大学院理学研究科内）

（Tel: 06-6850-5823, Fax: 06-6850-5817); E-mail: syuasa@bio.sci.osaka-u.ac.jp

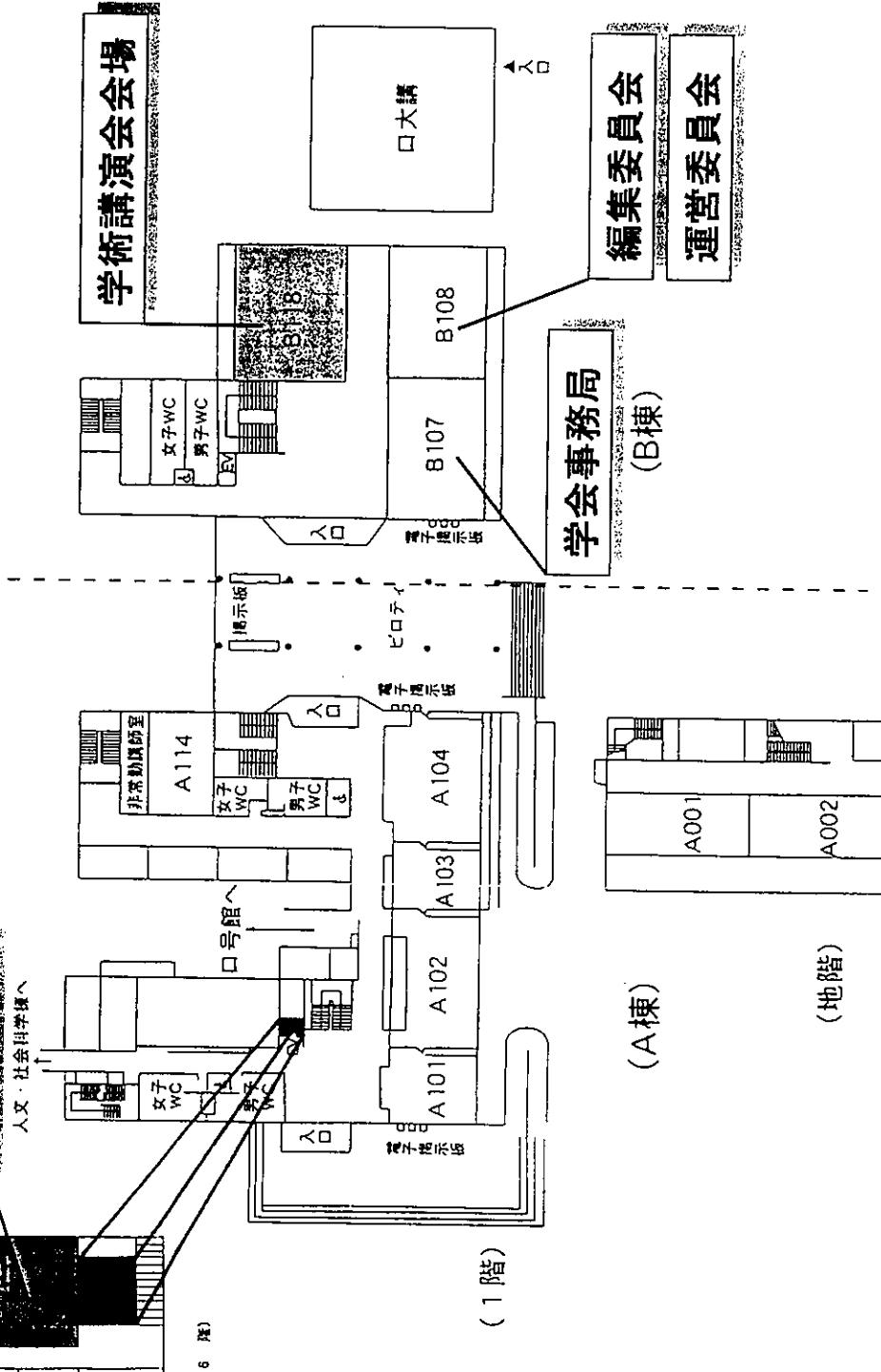
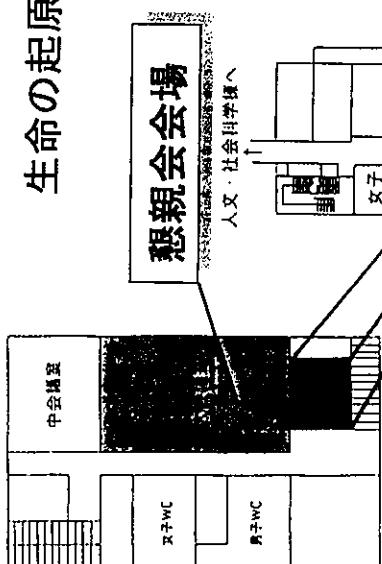
大会参加費：参加登録費

一般会員：4,000円（未会員：5,000円　ー　講演要旨代を含む）

学生会員：2,000円（未会員：3,000円　ー　講演要旨代を含む）

懇親会費（一般会員：5,000円、学生会員：3,000円）

生命の起原および進化学会 第26回学術講演会 会場案内
(大阪大学全学共通教育機構)



生命の起原および進化学会・第26回学術講演会日程表

	3/15(木)	3/16(金)	3/17(土)
9:00			
10:00	受付	L2	
11:00	L1		27) - 33)
12:00	1) - 3)	17) - 19)	
13:00	昼食・編集委員会	昼食・運営委員会	昼食
14:00	4) - 9)	総会	34) - 39)
15:00			
16:00		20) - 26)	
17:00	10) - 16)		
18:00		懇親会	
19:00			

プログラム

<一般講演の講演時間は討論を含めて20分>

3月15日(木)

<10:30-11:20>

座長：赤星光彦

L1. 特別講演：生命の起原研究をふり返って（石神正浩）

<11:20-12:20>

座長：松野孝一郎

A. 生命の起原と進化の理論

- 1) 認知的自己システムによる自己創成的能動選択：生命の起源と進化に関する統一理論の構築に向けて
○大西耕二、首藤洋（新潟大・理）
- 2) 生命の主体性からみる生命の起原（1）－生命の定義、および進化における主体性の再考－
○川村邦男（大阪府立大・院・工学研究科）
- 3) 生命の主体性からみる生命の起原（2）－情報と機能の対応付け、主体性の定義、および生命の起原について－
○川村邦男（大阪府立大・院・工学研究科）

昼食・編集委員会 <12:30-13:30>

<13:30-15:30>

座長：大西耕二・川村邦男

- 4) 軟体力学に基づく塩基の起源の解明
内藤 健（山形大・工）
- 5) 生命の起原と進化における膜系の役割
中村運
- 6) 生命の起原に関する[GADV]・蛋白質ワールド仮説
池原 健二（奈良女子大・理・化）
- 7) 先カンブリア紀理論的単細胞模型での細胞サイズ制限（II）
横尾広光（杏林大・保）
- 8) ゲノム（genome）・プロテオーム（proteome）・グライコーム（glycome）
平林淳（帝京大学薬学部）
- 9) 主座標分析法に基づく多次元階層系統樹構築論とその応用
○大西耕二、明石重男（新潟大・理）

休憩 <15:30-15:45>

<15:45-17:45>

座長：胸組虎胤・浦田秀二

B. 化学進化

[B-1 放電、熱環境]

- 10) 水溶液中で、グロー放電およびプラズマ炎によって生成する初期ラジカルの ESR による検出
○長谷博友（京大原子炉）、原田馨（神戸松蔭女子大）
- 11) 温度変動に対するアミノ酸熱重合物の長時間緩和現象
櫻沢 繁（はこだて未来大・システム情報）
- 12) Strecker-type reactions by using a supercritical water flow reactor simulating submarine hydrothermal systems
○Md. Nazrul Islam、金子竹男、小林憲正（横浜国大・工・物質工）
- 13) 水熱反応の高速追跡法を用いる 225~275°Cにおけるアラニンのラセミ化速度の測定
○川村邦男、雪岡甲（大阪府立大・院・工学研究科）
- 14) 海底熱水環境下での複数種のアミノ酸からのペプチド合成
○今井栄一、佐藤道子、本多 元、羽鳥晋由、松野孝一郎（長岡技術科学大・生物系）
- 15) 脂質の存在する熱水環境下でのオリゴペプチドの生成
○塚原英明、今井栄一、本多 元、羽鳥晋由、松野孝一郎（長岡技術科学大・生物系）
- 16) 热水環境とオリゴスクレオチド生成の反応特性
○佐藤成礼、吉田 歩、今井栄一、本多 元、羽鳥晋由、松野孝一郎（長岡技術科学大・生物系）

3月16日（金）

<10:00-10:50>

座長：小林憲正

- L2. 特別講演：円偏光シンクロトロン放射光を用いる非芳香族アミノ酸の絶対不斉合成
(阪大・工 井上佳久)

<10:50-12:30>

座長：島田秋彦

[B-2 分子不斉]

- 17) シンクロトロン放射光によるアミノ酸の不斉分解
○高野淑識、金子竹男、小林憲正、高橋淳一、S. Pizzarello、J. R. Cronin（横浜国大・工・物質工）
- 18) Heterochiral RNA の合成とその物性
○浦田秀仁、郷真貴子、清水はな、赤木昌夫（大阪薬大）
- 19) ペプチドの立体特異的縮合反応のシミュレーション
胸組虎胤（国立小山高専・物質工学）

昼食・運営委員会<12:30-13:30>

総会<13:30-14:30>

<14:30-16:50>

座長：原田和雄・澤井宏明

[B-3 ヌクレオチド]

20) ヌクレオチドの安定性と生命の起源

大島泰郎（東薬大・生命科学）

21) 2'-5' 及び 3'-5'結合を持つ短鎖長 RNA オリゴマーの非酵素的錆型依存リゲーション反応

○澤井宏明、幸田司、和田誠、尾崎広明（群馬大・工・応用化学）

22) 錆型指示オリゴグアニル酸生成反応に対する種々のアミノ酸熱重合物の影響

○長濱稔、蔵之上和博、川村邦男（大阪府立大・院・工学研究科）

23) 中温水中におけるヘキサヌクレオチドの非酵素的リン酸ジエステル結合生成反応の測定

○中原周行、岡本文敬、川村邦男（大阪府立大・院・工学研究科）

[B-4 ヌクレオチド-ペプチド相互作用]

24) RNA-ペプチド複合体における RNA とペプチドの進化

○原田 和雄、岩崎 哲哉、小林 興（東京学芸大・物質生命科学）

[B-5 原始酵素]

25) 原始地球上での生体分子および原始触媒の生成と生命の起源

○小林憲正、高野淑識、王せい、植岡昌治、大橋暁弘、山梨洋人、金子竹男、高橋淳一、斎藤威（横浜国大・工・物質工）

26) 原始タンパク質からなる自己触媒系の探索

○光澤 茂信、湯川 哲之（文部省高エネルギー加速器研究機構）

懇親会：A棟6F大会議室<17:00-19:00>

3月17日（土）

<10:00-12:20>

座長：山岸明彦・福原敏行

C. 生物進化

[C-1 分子進化]

27) 共通の祖先は超好熱菌だったか：実験的検証

宮崎淳一、中家修一、鈴木俊治、玉腰雅忠、大島泰郎、○山岸明彦（東薬大・生命科学）

28) 細菌遺伝子の起源とその進化方向

- 池原 健二、中西 真理（奈良女子大・理・化）
- 29) 植物内在性 2 本鎖 RNA レプリコンの起原と進化
○福原敏行、古賀隆一、宇田川剛、堀内秀紀（東京農工大・農）
- 30) 超好熱好気性古細菌 *Aeropyrum pernix* K1 のアミノアシル-tRNA 合成酵素の進化
○長谷川典巳¹⁾、長岡好之¹⁾、河原林裕^{2), 3)}、左子芳彦⁴⁾、小山芳典²⁾、久野敦¹⁾；¹⁾ 山形大・理、²⁾ 工技院・生命研、³⁾ 通産省・製品評価技術センター、⁴⁾ 京大・院農
- 31) 精製酵素の諸性質から見た *Thiobacillus novellus* シトクロム c オキシダーゼの進化的位置
○戸辺真一、谷川 実、庄子和夫、山中健生（日大・理工・物質応化）
- 32) DNA 塩基配列に基づく *Thiobacillus novellus* シトクロム c オキシダーゼの進化的位置
○牧口大旭、林田伸吾、高山勝行、庄子和夫、石塚盛雄*、山中健生（日大・理工・物質応化、*中央大・理工・応化）
- 33) コケ植物種による希土類元素分布パターン
○川本 圭造、高田 実弥、隅野 照家、赤星 光彦（京大・原子炉）

昼食<12：20-13：30>

<13：30-15：30>

座長：藤井紀子・川本圭造

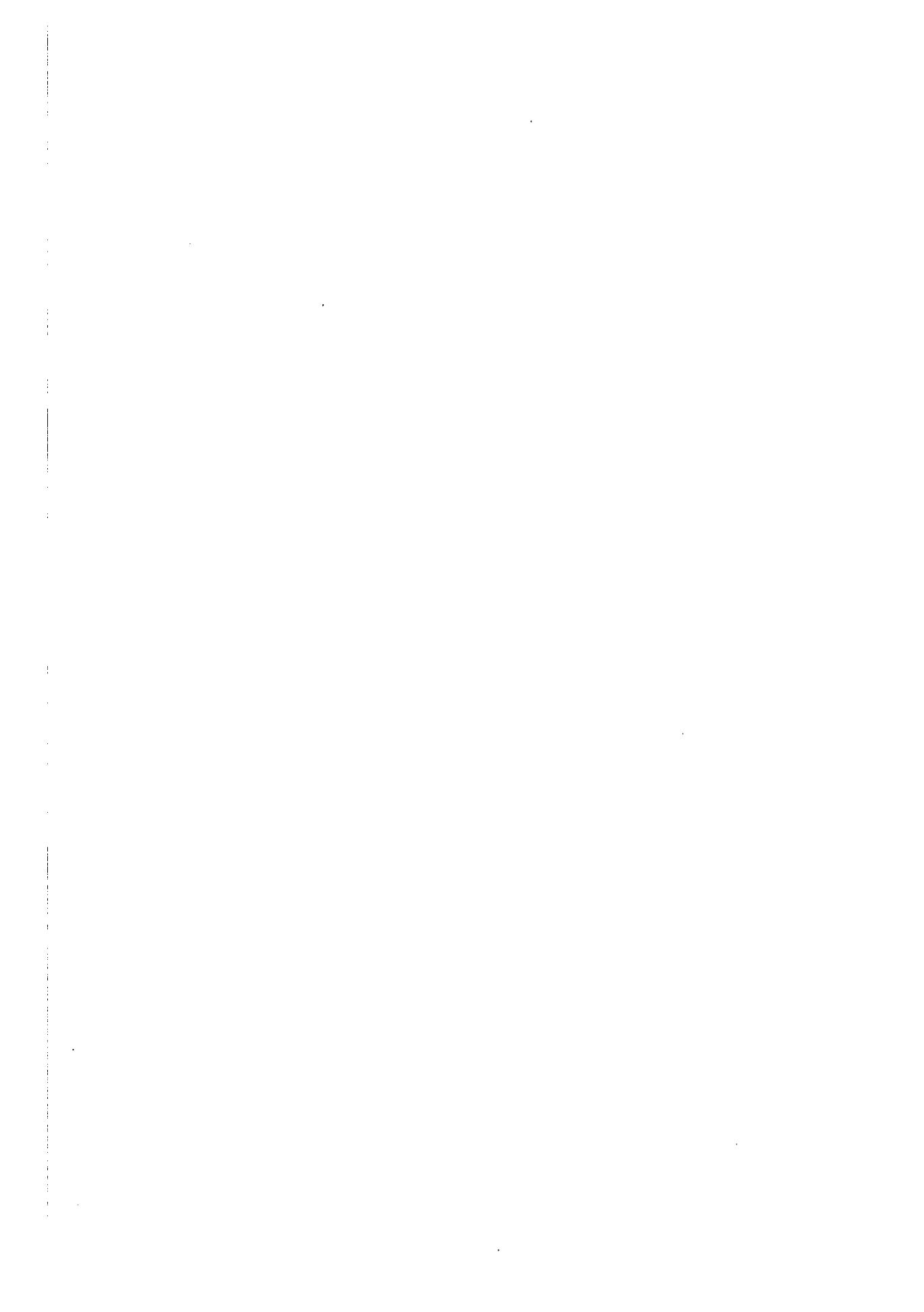
[C-2 D アミノ酸]

- 34) D トリプトファンに対する酵素活性を上昇させる方法とそのメカニズム
島田秋彦（筑波大・環境科学）
- 35) Expression of human D-beta-Asp containing protein in lens derived cell line, N/N1003A
○Dawei YANG, Noriko FUJII and Yoshiko TANAKA（京大原子炉・放射線生命部門）
- 36) 老化による水晶体中の α -Aクリスタリンの Asp-58 の反転、異性化と白内障
○松本佐和子、廣木孝典、藤井紀子（京大原子炉・放射線生命部門）

[C-3 放射線の影響]

- 37) 電離放射線照射による α -クリスタリンのシャペロン機能への影響および翻訳後修飾
○廣木孝典 松本佐和子 藤井 紀子（京大原子炉・放射線生命部門）
- 38) 紫外線照射によって増加する皮膚の D-beta-Asp 含有タンパク質の性質
○藤井紀子、多島新吾、下岡正志（京大原子炉・放射線生命部門）
- 39) 放射線耐性細菌の耐性機構
齊藤 剛（京大原子炉・放射線生命部門）

特 別 講 演



L1

生命の起源研究を振り返って Looking back on my studies on Origin of life

○石神正浩

和歌山県橋本市三石台2-2-19

Masahiro Ishigami

Mitsuishidai 2-2-19, Hashimoto, Wakayama JAPAN

1969 高周波放電実験

- 1936 オパーリン
- 1952 ミラーの放電実験
- 1953 DNA二重らせん
- 1961 非平衡の熱力学
- 1969 人、月面に立つ
(アポロ計画)
- 南極隕石発見
- 1970 隕石中のアミノ酸
- 1971 分子進化の中立説

1975 遺伝コードの起源

1976 火星の生物探査

1977 タンパク質合成系の起源

- 1977 古細菌、深海の生物
- 1979 热水噴出孔に生物
- ボイジャー木星へ
- 1980 ボイジャー土星へ
- 1982 リボザイムの発見

1982 タイタン類似大気モデルを
用いたアミノ酸合成実験

1984 tRNAにアミノ酸を化学的に
結合させる

1984 原始tRNAの自然選択による
遺伝暗号の起源(モデル)

- 1985 PCR法の開発
- 1988 太陽系外惑星の発見

1991 海底热水孔モデルの有機物合成

1997 アミノアシルtRNA合成酵素
の分子進化から遺伝暗号の起源
を推測する

- 1957 第1回 ICOL モスクワ
1963 第2回 ICOL ワクーラ・スプリングス
1969 VIVA ORIGIN 1(1)
1970 第3回 ICOL ポンタムッソーリ
1971 「放射線と進化」研究会、京大原子炉
72
73
74
1973 第1回 ISSOL 第4回 ICOL バルセロナ
1974 生命の起原出版50周年セミナー モスクワ
1975 生命の起原および進化学会発足 (SSOEL)
VIVA ORIGIN 4(1)
1977 第2回 ISSOL 第5回 ICOL 京都
1980 第3回 ISSOL 第6回 ICOL エルサレム
1983 第4回 ISSOL 第7回 ICOL マインツ
1984 カレッジパークミーティング
1986 第5回 ISSOL パークレイ
1989 第6回 ISSOL プラハ
1992 第7回 ISSOL バルセロナ
1996 第8回 ISSOL オルレアン
1999 第9回 ISSOL サン・ディエゴ
2001 第26回生命の起原および進化学会

一 般 講 演

認知的自己システムによる自己創成的能動選択：
 生命の起源と進化に関する統一理論の構築に向けて
 Autopoietic Active Selection by Cognitive Self-system:
 Towards a Theory on the Origin and Evolution of Life
 ○大西耕二、首藤洋（新潟大・理学部）

Koji Ohnishi and Hiroshi Shutou (Dept. Biol., Fac. Of Science, Niigata University)

(1)多細胞動物機械やミツバチ社会は、下位個体の階層社会が超生(super-organism)化した上位個体で、階層型自己学習 neural-network 機械(NNwM)として自己改良進化する『認知機械』である(Ohnishi et al., 2001). worker を入力層、queen を出力層とする学習機械で、体内外からの情報を入力・処理し、queen がより多くの DNA 情報を次世代に出力して、feedback 的に次世代を再構築。前世代の queen で生じた変異は、超生物の行動によって評価・選択され、変異の蓄積方向を生物が主体的・能動的に誘導する。この視点は Lamarck の用不用説に近く、器官の使用が前世代に生じた変異を選択し、進化を方向付ける。体細胞は前世代の生殖系列 queen 細胞で生じた変異を、超生物の行動により選択。現世代の体細胞変異が遺伝しないことで用不用説を過小評価するのは誤り。遺伝装置は細胞内で進化した階層的 tRNA リボ生物社会が機械化したもの。

(2)階層社会の機械化には「情報が機械的に迅速に流れる」必要があり、その必要性を介しての社会 system=上位個体としての選択圧が、記号系を創成・成熟させ、遺伝暗号系、ホルモン系、bee-dance 系等の記号系が進化。種社会は雌雄の個体を入力層とし、受精卵を出力層とする確率的階層型自己学習 NNwM として自己創成的に進化し、フェロモンや配偶 display 等の記号系成熟を伴う。森林生態系も認知的学習機械。ヒト社会は、戦時軍事体制において階層的機械化が進行し、命令系統等で記号化が顕著。記号は社会文化現象であり、遺伝暗号は階層的 tRNA リボ生物社会の蛋白機械製造記号文化である(立体化学説に対する『記号文化説』)。Vervet monkey 社会の警告音声記号(Cheney & Seyfarth, 1990)は靈長類言語の起源であろう。

(3)様々な network が認知的 NNwM として進化した可能性が高い。簡単な調和振動子的 feedback system は様々な要因で認知的 system に変換し得るだろう。代謝系の起源や進化における認知 network の在り方に关心がもたれる。生命は始まりから認知的であった可能性が高く、その能動性は NNwM の認知的能力に依存する。『能動性、主体性』=「行動が自己 system の認知的能力に基くこと」と定義。

(4)poly-tRNA-model における *tumD-peptide*, *mRN*-peptide 由来の蛋白質は広範囲の superfamily に属し、初期蛋白質の進化は mRNA の起源後の短期間に爆発的適応放散を生じた。多細胞動物のカンブリア爆発や真獸哺乳類の初期適応放散との共通論理は、(mRNA リボ生物等の)生態学的ニッチの空きの問題で、ここでも(リボ生物等の)主体的行動が進化を支配。リボ生物生活環は RNA-phase と DNA-phase から成る。

[5] Ohnishi ,K. et al.: Proc. 6th int. Symp. on Artificial Life & Robotics (ed. Sugisaka & Tanaka), 490-495, 2001., Oita.

2

生命の主体性からみる生命の起原（1） —生命の定義、および進化における主体性の再考— The Origin of Life from "the Life of Subjectivity" (1) -Definition of Life and Refocusing the Subjectivity in Evolution- 川村邦男（大阪府立大学大学院・工学研究科） KAWAMURA Kunio (Osaka Prefecture University)

1. はじめに：2000年9月にモデナ（イタリア）でGyula PALYI教授をChairmanとして、Workshop on Lifeが開催された。この学会の最初の案内は1999年8月にISSOLの会員宛に送られたが（Viva Origino, 28, 57 - 58 (2000)），生命の定義について意見を聞き生命について議論する資料を集めるものであった。これに対して私も自分の意見を回答したところ、日本の生命観をまとめるようすめられた。たいへんな仕事ではあったがせっかくのチャンスであり、生命に対する自分の考えをまとめる良い機会と考えお引き受けした。その結果、私の講演内容は日本の生命観をまとめるものにはならなかったかも知れないが、日本的な背景から生命を定義するとどうなるかについて考察した。今回はこのワークショップでの講演内容[1]に準じ、前半では私の考える生命の定義を述べ、進化において生命からの主体的な働きかけの重要性を再度考察することを主張する。

2. 生命観と生命科学：自然科学はその客觀性のために真理としての価値を持っていると考えられるが、自然科学はそれを生み出す文明の思想的な背景の影響を受けている[2]。この意味で日本的な思想の影響を受けた最も典型的な自然科学の事例を、今西錦司の研究に見ることができる。ここではこのような考え方を代表して、日本的な生命観と呼ぶ。

3. 生命の定義：私は、生命を「主体性を持つシステム」と定義する。この定義は地球型生命の持っている特徴の中でも、物理化学的あるいは分子生物学などの要素的特徴を基盤とするものではなく、いわば生命というシステムの持つ全体的あるいは機能的な特性に注目するものである。すなわち、生命の内部的な機構には依存しない、従ってこの定義によって、地球外生物や未来に創られるかも知れない人工生命など、地球型生物と異なる機構で生きているシステムも包括して定義できる。一方、還元主義信奉的な自然学者といえども人間に主体性が存在することを否定することは難しい。すなわち人間に主体性があることを認めるのは妥当であろう。日本的な生命観からは、人間と他の生物とを区別する厳密な境界はなく、人間が主体性を持っていることと同様に他の生物にも主体性を認める。すなわち、生命には環境に対する主体的な働きかけがあることを認める。

4. 進化における生物の主体性：現代の進化理論はダーウィンの進化論に基づくものであり、進化に対する生物の主体性を普通は認めない[3]。これに対して、今西錦司の進化理論の内で最も重要な点は、生物の主体性を進化に対しても認めようとしたところにある[4]。もし、生物の主体性を進化以外の生物的な働きに認めるのにもかかわらず、進化において生物側からの働きかけを認めないとすれば、その根拠は何であるのか。実際、ダーウィン自身も自然淘汰－突然変異を唯一の進化機構ではないと述べているし[5]、今西も自然淘汰の重要性を認めている。そこでダーウィンと今西の進化論の違いをながめながら、進化における生命的の主体性の重要性を再度考察する。

[1] Workshop on Life, Modena, Italy, September 3 - 8, 2000, Abstract 39p.

[2] 日本人と近代科学、村上陽一郎、新曜社、1980.

[3] 今西進化論批判試論、柴谷篤弘、朝日出版社、1981.

[4] 生物の世界、今西錦司、弘文堂、1941；主体性の進化論、今西錦司、中央公論社、1980.

[5] On the Origin of Species (second edition), C. Darwin, 1859.

生命の主体性からみる生命の起原（2）
 一情報と機能の対応付け、主体性の定義、および生命の起原について—
 The Origin of Life from "the Life of Subjectivity" (2)
 -Assignment of Information and Function,
 Definition of Subjectivity, and Origins of Life-
 川村邦男（大阪府立大学大学院・工学研究科）
 KAWAMURA Kunio (Osaka Prefecture University)

1. 地球上のシステムの分類：先の定義によると生物と無生物との区別は明確である。生物は主体性を持っているが無生物は主体性を持たない。主体性による生命の定義に基づいて、地球上のシステムを分類すると大きく3つとなる。すなわちClass 1：細胞型生物、Class 2：ウイルス、Class 3：それ以外のシステム、である。Class 1はBacteria, Archaea, Eucaryaのすべての細胞型生物を含む。一方、ウイルスはClass 1と構成する化学が似ているが、細胞なしには生活できないと考えられ、主体性が異なるレベルにある。また、これら以外の自然のシステムは、生きているように見える場合でも主体性を持っていない。

2. 情報と機能の対応付けと主体性との相関：一方、各 Class は、情報と機能の対応付けということがらにおいても異なるレベルにある。細胞型生物では、遺伝子型と表現型との対応付けは、細胞の中におさまった装置一式によって行われている。またウイルスでは単純な結合によって各々の役割を持つ分子が結びつけられているとみなすことができる[1]。また、Class 3のシステムには情報と機能との対応付けがない。そこで、この関係をもう少し細かく見るために、主体性と対応付けの方法とを縦軸と横軸にとり相関関係をみる。RNAワールドは最も単純な対応付けを持ち、ウイルス型がその次に位置する。また細胞型生物は分子レベルの対応付けでは基本的には同じだが、高次のレベルでは様々な戦略によって情報と機能との対応付けを実現している。例えば、真核生物を原核生物の共生によって理解できるならば原核生物間の情報の対応付けの機構を想定し、また多細胞生物では細胞間の情報の対応付けを想定しなければならない。また、より高次の対応付けは例えば動物をみると、本能、学習、洞察などは脳の働きによって実現されている。また最も高いレベルの対応付けの例は言語である。ここで、情報と機能との対応付けの方法は、システムを構成する要素（個体）あるいは全体（種）のどちらが保持しているとも明確には答えられない。これらの考えからは、情報と機能との対応付けとは、実はシステムにおける「文化」と言い換えることができる。一方、人間は、還元主義信奉的科学者が否定することが難しいほど高い主体性をもつ。つまり人間は最も主体的な生物であると考えられる。すなわち主体性のレベルは、無生物—ウイルス—細胞型生物—人間へと段階的に発展しており、もう一方の軸である情報と機能との対応付けとの関係との間に強い相関関係が認められるのである。

3. 主体性の定義と生命の起原：生命を主体性を持つシステムであると定義すると、生命の起原とは主体性を持つシステムの起原ということになる。ここで主体性の物理的な意味を明確にするために、主体性の定義を試みた。「主体性」および「情報と機能との対応付け」は進化に寄与する1対のパラメータであり、主体性とはその内の1つの要素であると定義する。これは進化に対する自然淘汰と突然変異との関係に類似している。こうすると、地球上に現れた最初の主体性は最も単純な対応付けをもつシステムにあったことになり、例えばRNAが持つ主体性は最も原初的な主体性とみなすことができる。これらの考え方は物質のもつ構造と機能との関係に関する知識ともうまくつながるように思われる。

[1] N. Nemoto and Y. Husimi, J. Theor. Biol. 176, 67-77 (1995); N. Nemoto, E. Miyamoto-Sato, Y. Husimi, H. Yanagawa, FEBS Lett., 414, 405-408 (1997).

4

軟体力学

内藤 健 (山形大学)

Cyto-fluid Dynamic Theory

Ken NAITOH Yamagata University

Abstract

The mesoscopic kinetic theory is proposed, which describes the deformation and atomization processes of liquid droplets, the biological cell divisions, and the unlacing processes of DNA and RNA.

液粒が分裂後の2つの粒径のサイズ比や、単細胞生物の分裂後のサイズ比や、DNA、RNAを構成する塩基のPurineとPyrimidineの大きさの比は約3:2になっている[1, 2, 4]。この比率の必然性を明らかにする。

まず、(1) 水等の流体液粒、細胞、DNA構成塩基を粒子(Parcel)と呼ぶこととし、その形状は楕円体とする。楕円体の2つの半径を、 a, b とする。これらは時間 t に依存して変化し、変形率 $\gamma = a / b$ と置く。等価半径 r_d とすると $r_d^3 = a b^2$ である。(2) この楕円体粒子(Parcel)の形状の時間変化は、内部流動性(内部運動)、表面の張力、楕円体粒子の重心の加速度によって決定されるとし、絶対座標原点からみた楕円体粒子の表面位置を X_s とする。(3) 内部運動は非圧縮性のPotential 流で記述され、表面の張力は $1/r^m$ に比例とする(r は局所的な半径)。この時、式(1)が導かれる。

[1, 2, 3, 4, 5]

$$\frac{d^2\gamma}{dt^2} = \frac{1}{3\gamma} \frac{(y^2 - 2)}{(y^2 - \frac{1}{2})} \left(\frac{dy}{dt} \right)^2 + \frac{3}{8} \frac{[2\gamma^{2m} - \frac{1}{\gamma^m} - \gamma^m]}{(y^2 - \frac{1}{2})} \gamma^{\frac{5}{3}-\frac{2}{3m}} + \frac{3\gamma^{7/3}}{(y^2 - \frac{1}{2})} \frac{d^2}{dt^2} \gamma_s, \quad \bar{t} = \sqrt{\frac{8\sigma}{\rho_L r_d^{2+m}}} t,$$

(1)

σ は表面張力係数、 ρ_L は密度である。 $\gamma_s (= X_s / r_d)$ は無次元化された表面の位置である。 X_s において、2つの楕円体粒子が自由空間で接触している時、式(1)に基づいて、その変形運動を粒子径比 ϵ を変えて解いた結果を図1に示す。どちらかの γ が最も早く変形するのは、 ϵ が $\sqrt[3]{3}$ の場合であることがわかる。よって、ほぼ2:3の比の大きさを持ったParcelの対であれば、速くほどける、あるいは、短い時間で分裂する。このため液粒は非対称な比に分裂しやすく、細胞は、約2:3の大きさの比に分裂する種が自然選択された。また、最初の生命発生以前、様々な大きさの塩基の候補の中から、2:3の大きさの比を持った塩基(A, T, G, C, U)が相対的に増加したと考えられる。[2, 5]水分子群に囲まれた塩基分子も、やわらかな連続体粒子とみなせるのである。

参考文献[1] Naitoh, K. Proceedings of COMODIA 98, (1998). [2] Naitoh, K. Japan J. of Industrial and Applied Mathematics, Vol. 18, (2001) [3] Naitoh, K., Trans. SAE Paper 962017, (1996). [4] Naitoh, K., Oil & Gas Science and Tech., (2000) [5] Naitoh, K., Proc of 6th Int. Symposium of Artificial Life And Robotics, (2001).

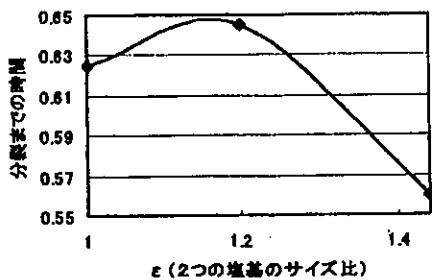


Fig.1 Parcel サイズ比と分裂までの時間

5

生命の起原と進化における膜系の役割 Significance of Biomembranes in the Origin and Evolution of the Life 中村運 Hakobu Nakamura

すべての地球生物は細胞からなり、それらの細胞は細胞膜に包まれている。例外はない。細胞において、細胞膜は生命を現出している物質系と環境の間の仕切りであるばかりでなく、物質交流のための閑門としての役割を果たしている。細胞膜の分子骨格はリン脂質2分子層である。細胞内に見られるすべての膜系は同じリン脂質2分子層の骨格からなり、これに各種のたんぱく質が挿入されて、各膜形に特有の機能を与えていている。膜系の小器官には細胞膜、核、ミトコンドリア、葉緑体（植物）、小胞体、ゴルジ体、リソソーム、液胞（植物）のほか、各種の機能を備えた小胞が含まれる。

1) Biomembrane's の骨格 リン脂質は中性脂肪（triacylglycerol）を構成する脂肪酸（疎水性）のうちの1つがホスホグリセリド（親水性）となっている。今リン脂質をクロロホルムとメタノールの混液に溶かし、水面に1滴落すと、リン脂質は水面に広がり、単分子層を形成する。その場合、リン脂質分子の親水部は水中に、また疎水部は空中に配向する。つぎに、ごく細いガラス管を用いてリン脂質溶液を水中に入れ、リン脂質分子の周囲全体を水で囲むようにすると、分子は集合して micell を形成する。さらに、その溶液を激しく振とうすると、リン脂質は2分子層をつくり球体すなわち liposome を形成する。この場合水部は水に向け、疎水部は水を避けて向き合う。実はこれが細胞の原型であり、liposome の内液やリン脂質2分子層中にさまざまなタンパク質を加えることが可能である。リン脂質2分子層は親水部—疎水部—親水部の3層構造として電子顕微鏡でとらえる事ができる。その厚さは約7.5nmである。化学進化の過程にさいしてリン脂質の構成成分であるグリセロールや脂肪酸およびホスホグリセリド類の合成はそれほど困難ではなかったと考えられる。すなわち、liposome 構造と始原生命系の複合化による始原細胞(proto-cell)の形成は、併行的に進行したことであろう。今までに示してきた化学進化研究による図式から見て、糖、炭水化物および関係分子の自然合成は可能な高かったことが示唆できる。

2) リン脂質2分子層の特性 リン脂質を構成物質としたことで、細胞は次の諸点で非常に有効な生命系をもつことができたといえる。

- (1) リン脂質2分子層はきわめて薄いので、それをタンパク質（酵素）支持体としての面積を大きく広げることができた。
- (2) リン脂質2分子層は、離合が容易であり、タンパク質を膜小胞に包むことによって、タンパク質の細胞小器官輸送を活発にすることができた。現生の細胞内のタンパク質転流はこのリン脂質小胞に依存している。とくにゴルジ体はタンパク質をはじめとする物流のセンターをなしている。
- (3) リン脂質2分子層はイオンをはじめとする荷電物質の透過を許さないので、膜の存在はプロトンダムを形成する。物質代謝において発生するプロトンはミトコンドリアや葉緑体の内外膜の間膜間腔）に貯えられ、それが膜電位を発生させるATP合成のエネルギー源は、この膜電位である。
- (4) リン脂質2分子層と酵素からなる構造体は細胞代謝の分画に役立っており、これが細胞の生命効率を著しく高めている。膜系小器官の発達は代謝の分画の効率化にある。したがって、細胞進化とともに膜系小器官は発達する。

以上の根拠をふまえて、細胞の起原と進化におけるリン脂質2分子層（膜）の意義を論証する。この中で演者の膜進化説を解説する。

生命の起源に関する[GADV]-蛋白質ワールド仮説
[GADV]-Protein World Hypothesis on the Origin of Life
池原 健二 (奈良女大・理・化)
Kenji Ikehara (Dept. Chem., Nara Women's Univ.)

[序論] RNA が情報機能と同時に触媒機能も持ち得るとの発見 [1, 2] 以来、今や RNA を中心に生命の起源を考える RNA ワールド仮説が主流となっている [3]。しかし、我々はこの RNA ワールド仮説には、以下に示すようないくつかの重大な欠陥があると考えている [4]。(1) ヌクレオチドを無生物的に合成することが困難なこと。(2) 無生物的な RNA 合成、即ち、ヌクレオチドの重合が困難なこと。(3) RNA が自己複製することは原理的に不可能と思えること。(4) 自己複製できた RNA があったとしても、それによってできた RNA が蛋白質の情報を同時に持ち得る可能性が極めて低いこと。などである。それに対して、遺伝子や遺伝暗号および蛋白質の起源の考察に基づいて、遺伝子や蛋白質のデータベースの解析を進め、生命の起源をより合理的に説明できる新たな[GADV]-蛋白質ワールド仮説に達したので報告する [4, 5]。

[コンピューターによる解析方法] 細菌ゲノムの遺伝子の塩基配列や蛋白質のアミノ酸配列のデータをコンピューターによって解析することによって蛋白質が機能を持ち得るような水溶性で球状の三次構造を取り得るかどうかについての 4 つ要件 (疎水性/親水性度、 α -ヘリックス、 β -シートおよび β -ターン (コイル) 形成能) を求めた。これによつて、どのようなアミノ酸の組み合わせなら、機能を持ち得る蛋白質として存在し得るのかを判断した。

[結果と考察] 現存する蛋白質の三次構造の形成にとって重要であると思われる 4 つの構造因子を[GADV]の 4 種のアミノ酸なら満足できることが分かった。しかも、このアミノ酸の組み合わせは 4 つの条件を満足できる最も簡単なアミノ酸の組み合わせであることも確かめることができた。この 4 種からなる単純な組成の[GADV]-蛋白質でもペプチド結合を形成する触媒活性を持ち得たとすれば、組成が単純であるが故に、複製と似た現象 (擬似複製) が起こると考えることができる。以上のような解析結果と考察に基づいて、我々は[GADV]-蛋白質ワールドから生命は誕生したと考える方が、RNA ワールドより生命が生まれたとするよりもはるかに合理的であると考えている。

[1] Kruger, et al., *Cell*, 31, 147 (1982). [2] Guerrier-Takada, et al., *Cell*, 35, 849 (1983). [3] Gilbert, *Nature*, 319, 618 (1986). [4] 池原, 生物科学, 51, 43 (1999). [5] 池原, 化学 (化学同人) 56, 14 (2000).

先カンブリア紀理論的単細胞模型での細胞サイズの制限（II）

Cell Size of Theoretical Unicellar Models on Precambrian Microfossils(II)

横尾 広光

杏林大学保健学部

Hiromitsu Yokoo

School of Health Sciences, Kyorin University, Miyashita, Hachioji, Tokyo

192-8508, Japan

yokoo@kyorin-u.ac.jp

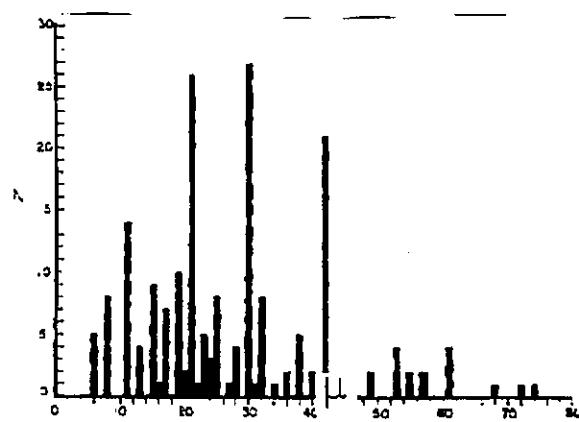
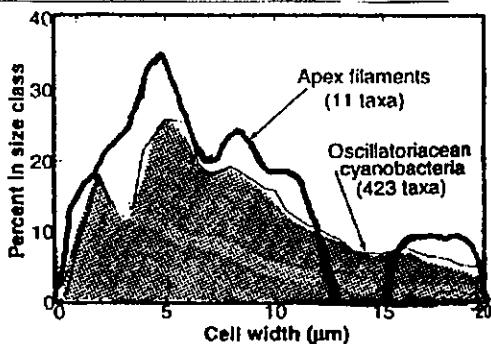
先カンブリア微化石のサイズの情報のみから、過去の生物学的放射線耐性の生化学的パラメータおよび放射線環境を知るために、理論的単細胞模型によって吟味した。この模型では細胞全体の被照射線量が許容上限値に到達しているとし、照射源として細胞内部のK40も考慮する¹⁾。K40は崩壊半減期18.2億年のため、たとえば35億年昔には今の照射量より6.8倍強くて宇宙線などの外部照射を超す。また、微量放射線は、まず細胞内溶液物質が照射によって化学的作用を受けて、それがDNAを攻撃する過程が主であるとする。

細胞体積(内部照射)の寄与と細胞表面積(外部照射)の寄与の和がある数値に固定されるようなサイズは、安定性の見地から微妙に調節されて、確定してしまい²⁾、細胞サイズの時間的変化を追える。

さらに、サイズ分布が同一種同一時期で双子の山をなす場合があることを数式的にみつけた。

理論的サイズ分布での平均サイズと双峰分布の間隔の2つを、報告された双峰型サイズ分布に適用して妥当な数値が得られるかどうか確認する。

試みに3.46Gaの微化石(1993年の報告⁴⁾)と、Nagyらによるものだが3.4Gaのものとで検討してみた。



1) 横尾広光：杏林大学研究報告 15 71～81, 1997. 2) H. Yokoo: Kyorin J. of Arts and Sciences 1655～58, 1999 (SETI会議 Sydney, 1998). 3) 横尾広光：生命の起源および進化学会、横浜国大、2000. 4) J.W.Schopf: Science 260 640～645, 1993. 5) Engel, Nagy et al: Science 161 1005～8, 1968.

8

ゲノム・プロテオーム・グライコーム

"Genome", "Proteome" and "Glycome"

○平林淳(帝京大・薬)

Jun Hirabayashi (Fac. Pharmaceut. Sci., Teikyo Univ.)

生物は遺伝子の本体としての核酸(DNA、RNA) 、実践的機能・触媒分子としてのタンパク質に加え糖鎖という情報高分子を備え、これらをあらゆる生命活動の基盤としている。このうち、遺伝子(gene) 、タンパク質(protein) については、これらを種、あるいは個体単位で束ねる概念としてゲノム(genome) 、プロテオーム(proteome) という用語が頻繁に用いられる。一方、糖鎖はその基本的解析と理解が最も遅れている情報高分子であるが、i) 生命起源との深い関わり(*Quart. Rev. Biol.* 71, 365–380, 1996) 、ii) きわめて高い潜在的多様性、iii) 細胞を基盤とする識別現象への関与などから、生命記述には不可避の要素と考えられる。最近、ヒトをはじめ、いくつかの多細胞生物のゲノム構造が解明されたが、糖鎖関連遺伝子(転移酵素、グリコシダーゼ、糖輸送体、レクチン) の寄与が大きく注目されている。この様な立場から最近糖鎖を束ねる概念としてグライコーム(Glycom) という用語が提唱された(*Trends Glycosci. Glycotechnol.*, 12, 1–5, 2000) 。グライコームは1生物種、または1個体が作る糖鎖全体と定義される。この新概念のもとで新しい生命科学研究が推進することが強く望まれるがその実施には多大な困難が伴う。第1に、糖鎖は遺伝子よって直接指定されない。第2に、糖鎖の存在形態が複雑(複合糖質=糖タンパク質、糖脂質、プロテオグリカン) で、それぞれ個別の戦略が必要。第3に、糖鎖の自動合成・配列決定機の不在等が挙げられる。本講演ではゲノム構造の解明されている多細胞モデル生物、線虫(*C. elegans*) を題材に「グライコームプロジェクト」について概説し、アフィニティクロマトグラフィーを基盤とした2つの新技術、フロンタルアフィニティクロマトグラフィー(*J. Chromatogr. A* 893, 115–122, 2000; *J. Chromatogr. A* 905, 337–343, 2001) とグライコキヤッチ法(*Proteomics, in press*) を紹介する。ゲノム科学とリンクした糖鎖の総合解析(glycomics) は、生命現象の分子レベルにおける解明、個体差の解析、創薬に不可欠な基盤データを提供するばかりでなく、生命起源・進化に関する未解決問題を解く重要な手掛かりを数多く提供すると期待される。

主座標分析法に基づく多次元醉歩系統樹構築論とその応用

Construction of Multi-dimensional Random-Walk Evolutionary Tree
based on Principal Coordinate Analysis

○大西耕二¹、明石重男²(新潟大・理・生物¹／数学²)

Koiji Ohnishi¹ and Shigeo Akashi² (Dept. Biol.¹/Math.¹, Fac. of Science, Niigata University)

[1] 主座標分析法(PCOA)は、 n 個の標本間の標本 P_i と P_j の間の与えられた距離関係 $D = (d_{ij})$ に対し、 $n - 1$ 個の直交座標軸に張る $n - 1$ 次元擬 euclid 空間に標本点 $P_k(x_{k1}, x_{k2}, \dots, x_{k,n-1})$ を mapping する理論で、 d_{ij} がこの空間における擬 euclid 距離と等しく、 $d_{ij} = [\sum_k (x_{ik} - x_{jk})^2]^{1/2}$ を満たす。 $n - 1$ 個の直交座標軸は D から得られる実対称行列 $B = (b_{ij})$ の固有ベクトルで、第 k 主座標 x_k 軸は、 B の n 個の固有値をその絶対値の大きい順に並べたときの、 k 番目の固有値に対応する固有ベクトルである。 n 個の標本の x_k 軸に関する分散は対応する固有値に比例する。負の固有値に対応する座標軸は純虚数軸となる。(2) 理論的に酷似する主成分分析法(PCA)が広く用いられるのに対し、PCOA の応用例が極端に少ないのは純虚数軸の扱い方が、数学的によく理解されていないことによるだろう。この空間での距離は、一般 Lorenz 変換に関して不变であり、幾何学としては十分確立されている(純虚数軸が一個の場合が特殊相対論における Lorenz 変換)。純虚数成分は、観測可能な距離を小さくする独立要素であり、従ってそのような成分を含む真の(進化的)距離は $d_{ij}^* = [\sum_k [\text{abs}(x_{ik} - x_{jk})]^2]^{1/2}$ で与えられる。ここに $\text{abs}()$ は () のノルム (= 絶対値) 従って、純虚数軸を含む時は、PCOA によって、二標本の直接比較では測れない距離成分が計算される。よって、このような空間における系統樹構築においては、進化的距離として、 d ではなく、 d^* を使うべきである。(3) Random な変異(amino acid 換置等)の期待回数が観測値 $\Delta = (\Delta_{ij})$ として得られるときは、 $d_{ij} = (\Delta_{ij})^{1/2}$ を採用すると PCOA の結果は、 $d_{ij}^* = \Delta_{ij}^{1/2}$ が、 P_i から P_j まで醉歩(random walk)するときの歩数の期待値となり、進化をこの擬 euclid 主座標空間における醉歩過程と見なすときの解析に適している。[4] この空間で標本点が醉歩しつつ分岐進化する多次元系統樹を再構築する問題を考える。最小経路法(Ohnishi, In: *Evolution of Protein Molecules*, ed. Matsubara & Yamanaka, pp.75-87, 1974; *Dev. Comp. Immunol.*, 5 (Suppl.1), 123-128, 1980.) を改良し、分岐点を隣接4点の作る四面体の内部に定める諸理論の長短を考察する。 P_i, P_j の分岐点 U における角 P_iUP_j を 120° とすることの妥当性と、その場合の分岐点の座標を定める理論式を導き、いくつかの応用例を試行した結果について述べる。

10

水溶液中で、グロー放電およびプラズマ炎によって生成する初期ラジカルの
ESRによる検出

ESR Detection of Primary Radicals in Aqueous Solutions Induced by Glow Discharge
and Argon Arc Plasma Flame

○長谷博友 (京大原子炉)、原田馨 (神戸松蔭女子大)

Hirotomo Hase (Res. Reactor Inst. Kyoto Univ.) and Kaoru Harada(Kobeshoin Women's Univ.)

【緒言】原田らは基質として生体関連有機化合物を含む水溶液に、いろいろのプラズマを照射した場合の反応について研究を行ってきた。これらは、原始水圈への太陽風・宇宙線の衝突や、落雷により引き起こされる反応のモデル実験である。これらの高エネルギー反応により酸化、還元、脱水素、二量化、アミノ化、カルボキシル化など種々の反応を行うことができる。これらの化学反応は総説 [1] にまとめられた。これらの集積された反応からこの種の化学反応の初期ラジカルは H, OH であると推定されてきた [2]。我々は、初期ラジカル及び反応中間体として生成する基質ラジカルを直接検出すると共に、ラジカル反応を支配するパラメータを明らかにする研究を行っている。今回は水溶液中でプラズマによって生成する H 及び OH ラジカルの検出実験の結果について報告する。

【実験】接触グロー放電反応 (CGDE) 装置は、原田ら [1] の用いたものと類似のものを製作した。スピントラップ剤を含む水溶液を放電後、溶液用 ESR セルに移して常温で ESR 測定を行った。低温ラマン測定に用いた方法 [3] で水溶液固体のディスク試料を作製し、77K に冷却した試料に Ar アークプラズマ炎を照射した。照射試料を液体窒素中で回収して、73K で ESR 測定を行った。

【結果と考察】スピントラップ剤 DMPO 1mmol を含む弱アルカリ性及び弱酸性の水溶液に CGDE を行った後に得られた ESR スペクトルを Fig.1A, B に示す。これらは、それぞれ DMPO の H 及び OH adducts と同定されるので、CGDE によって H 及び OH が生成していることの実証となる。77K で Ar アークプラズマ炎を、DMPO を含まない氷に照射したときに得られる ESR スペクトルを Fig.2 に示す。これらのスペクトルは、氷に γ 線を照射したときに得られるスペクトルと中心部が一致しており、よく知られた OH, OD ラジカルによるものである。基質を含む水溶液にプラズマ炎を照射したときに得られた ESR スペクトルが γ 線照射の場合と異なる例についても報告する。

[1] 原田馨, 有機合成会誌, 48, 522 (1990). [2] Harada, *Role of Radiation in the Origin and Evolution of Life* (Akaboshi et al. ed. Kyoto Univ. Press, 2000) 185. [3] Hase and Ishioka, *Annu. Rep. Res. Reactor Inst. Kyoto Univ.*, 23, 183 (1990).

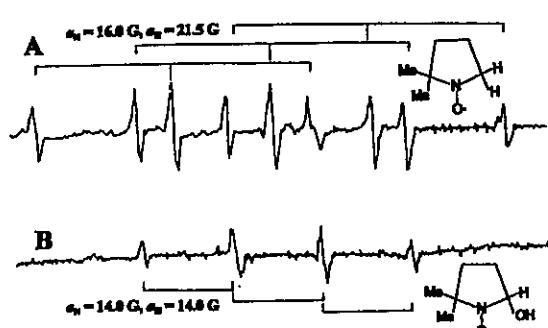


Fig.1. ESR spectra at room temperature of glow discharged aqueous solutions of DMPO containing a small amount of NaOH (A) and H₂SO₄ (B).

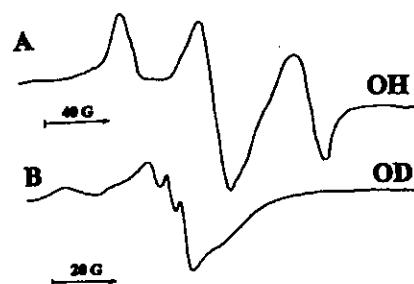


Fig.2. ESR spectra at 77 K of H₂O (A) and D₂O (B) ices which were irradiated by Ar-arc plasma flame at 77 K.

温度変動に対するアミノ酸熱重合物の長時間緩和現象

11

Long Time Relaxation Phenomenon Induced by Temperature Change of Thermal Heterocomplex Molecules of Amino Acids

櫻沢 繁 (公立はこだて未来大学・システム情報科学部・複雑系科学科)

Shigeru Sakurazawa (Dept. of Complex System Science, Future University - Hakodate)

【はじめに】

海底熱水噴出口は前生物的重合反応の場として古くから注目され、1999年、松野らはそこに実現されている局所的開放系の重要性を、フローリアクターによるシミュレーション実験によって示した[1]。実験が物語るように、開放系にある分子は我々の想像を超えた能力を発揮する可能性がある。一方、アミノ酸熱重合物は、温度変化に対して比較的長い緩和時間を持ち、ゆっくりとした温度変化を与えただけでも非平衡状態を維持する[2]。本研究では、このアミノ酸熱重合物で局所的開放系を構成し、系の分子種分布の変遷を調べ、併せて局所開放系の意義を考える。

【実験】

アミノ酸熱重合物は、Asp:Pro=1:1（モル比）の混合粉末を 200°Cで 3 時間加熱し、水を加え煮沸しサンプルとした。フローリアクターは 1mg/ml のサンプルを 500ml と 300ml に分け、500ml の方は攪拌しながら 10°Cに保ち、300ml の方は攪拌しながら還流管をつけて 100°Cに保ち、双方の溶液をペリスターポンプで毎分 15ml 程度の速度で循環させた。コントロールは 1mg/ml のサンプルを攪拌しながら還流管をつけて 100°Cに保った。分析は主に逆相 HPLC (Shodex Asahipak ODP-50) によって、分子種分布の時間的な変遷をそれぞれ比較した。

【結果と考察】

HPLC による分析では、リアクターの稼動によって、分子種分布のプロファイルに変化が現れた。フローリアクター、コントロール共に最終的に大きく増大するピークがあり、これは Asp のリテンションタイムと一致した。これはアミノ酸熱重合物が加水分解されて出てきた Asp と思われる。また Pro のリテンションタイムに顕著なピークは観察されなかったことより、Pro は熱重合過程でほぼ熱分解したと考えられる。

フローリアクターとコントロールを比較すると、その増減の傾向は互いに明らかに異なった。特にフローリアクターでは、①加水分解による Asp の増加傾向が少ない、②コントロールで激減する物質未同定のピークがフローリアクターではほとんど変化しない、③コントロールで減少する第一ピーク（極性の大きい成分）がフローリアクターでは増大する、等の違いが見られた。

どのような分子が生成、分解しているのかを調べるのは今後の課題であるが、結果からは、フローリアクターが大きな分子を分解することなく反応を進める傾向があると考えられる。

[1] Imai, E., Honda, H., Hatori, K., Brack, A. & Matsuno, K., *Science* 283, 831, 1999

[2] Sakurazawa, S., Honda, H., Imai, E., & Matsuno, K., *Viva Origino* 22, 81, 1994

12

Strecker-type reactions by using a supercritical water flow reactor simulating submarine hydrothermal systems

O'Md. Nazrul Islam, Takeo Kaneko and Kensei Kobayashi

Department of Chemistry and Biotechnology

Yokohama National University

Submarine hydrothermal vents has been regarded as models of hellish primeval ocean where chemical evolution toward the generation of life occurred to be possible sites for abiotic formation of bioorganic compounds. Strecker -type reactions were proposed as one of the major pathways of amino acid formation [1]. Here we examined Strecker-type reaction in hydrothermal fluid by using a supercritical water flow reactor (SCWFR) [2].

A mixture of KCN (0.1M), HCHO (0.1 M) and NH₄HCO₃ (0.05 M) was pumped into the SCWFR, and was heated in a Hasteroy tube at 50-400°C for 2.5 or 10 minutes. Inner pressure was maintained at 25 Mpa. The mixture was quenched at 0°C just after heated. Amino acids were determined by cation- exchange HPLC after acid hydrolysis.

At 50°C only glycine was detected. When the reaction temperature was increased, alanine (> 100 °C), sarcosine (>150 °C), β -alanine, γ -aminobutyric acid, δ -aminovaleric acid and ϵ -aminocaproic acid (>300°C) were detected. It is shown that a wide variety of organic compounds including amino acids could be formed in hydrothermal systems. Further works should be performed to test the effects of pH, red-ox potential and roles of metal ions.

This work was partly supported by Grant-In-Aid (No.11640488) from MEXT and by Special Co-ordination Funds of MEXT.

References :

1. Miller, S. L. and James E. Van Trump 1981, Origin of Life, 135-141.
2. Md. Nazrul Islam, Takeo Kaneko and Kensei Kobayashi, International chemical congress of pacific basin scientists, Honolulu, Hawaii, Dec. 14-19, 2000, Bios. 3, 458.

13

水熱反応の高速追跡法を用いる 225~275°Cにおける
アラニンのラセミ化速度の測定
Measurement of the Rate of Racemization of Alanine at 225 - 275 °C
Using the Monitoring Method for Hydrothermal Reactions
○川村邦男, 雪岡甲 (大阪府立大学大学院・工学研究科)
OKAWAMURA Kunio, YUKIOKA Masaru
(Osaka Prefecture University)

1. 緒言: 生命の热水起原説は、現存する生物の最後の共通の祖先が超好熱性細菌であったと推定されることなどによって支持されている。ところが生体物質の高温下での分解反応は化学進化にとって障害であったと考えられる。我々はこれまでに RNA の安定性を調べてきたが、同様にしてアミノ酸やタンパク質の安定性に関する情報も必要である。現存のタンパク質は L-型アミノ酸から構成されており、ホモキラリティーは生体機能の発現の必要条件であると考えられる。つまり、ラセミ化反応も他の分解反応と同様に化学進化にとって障害となつたと推定できる。今回は、我々が開発した水熱反応の高速追跡法を[1]用いてアラニンなどのラセミ化速度を実測し解析した結果について報告する。

2. 実験: アミノ酸および 0.1 M NaCl, 0.05 M MgCl₂ を含む溶液の pH を調整し、流通式反応を用いて試料を 225~275 °C の範囲で加熱し、時間 150 s までの反応曲線を得た。試料は光学分割カラム (CROWNPAK CR(+)) (ダイセル化学) を用いて HPLC で分析した。

3. 結果および考察: 0.02 ~ 0.5 M の範囲で L-アラニンからのラセミ化を追跡できた。また、ジケトピペラジンおよび他の副生成物が認められた。これらの生成量は温度および反応時間の増加に伴って増加した。また直鎖状のオリゴペプチドは検出されなかつた。一方、D-アラニンからのラセミ化を追跡した結果、同様にジケトピペラジンと副生成物が生成しその量は L-体からの反応とほぼ一致した。この反応の速度を式(1)で表すと、その速度定数は式(2)で表され、またジケトピペラジンの生成反応は式(3)で表される。



$$\ln \{ (1 + [D]/[L]) / (1 - [D]/[L]) \} = 2k_{rac} \cdot t \quad (2)$$



ここで k_{rac} はラセミ化速度定数を表す。アラニン濃度が低いとき、式(2)に従って時間 t に対して左辺をプロットした結果良好な直線関係を得た。ここでジケトピペラジンの生成速度定数 (k_{ppi}) も考慮して、アラニンの濃度 0.02~0.5 M で追跡した全データを同時に用いて SIMFIT で解析しそれぞれの速度定数を決定した。 k_{rac} は pH 4~10 の範囲ではほぼ一定であった。一方、L-alanyl-L-alanine を同様の条件下で加熱した結果、ジケトピペラジンだけが生成した。この環化速度は半減期が 2 s 程度でラセミ化と比べて速く、またアラニンからのジケトピペラジンの生成速度より十分大きい。従って、式(3)の反応では 2 分子の L-alanine から L-alanyl-L-alanine が生成する過程が律速であり、直鎖の 2 量体は速やかに環化したと推定される。一方、phenylalanine および leucine のラセミ化反応を同様に追跡した。これらの k_{rac} の温度依存性から見かけの活性化エネルギー ($E_a / \text{kJ mol}^{-1}$) 計算した結果、より低い温度で決定した値とよく整合した。まとめると、アミノ酸のラセミ化は核酸モノマーの分解速度より数千倍、オリゴヌクレオチドの加水分解速度より数十倍から数百倍遅く、その活性化エネルギーはアミノ酸のラセミ化の方が大きかった。

[1] K. Kawamura, Bul. Chem. Soc. Jpn., 73, 1805-1811 (2000).

海底熱水環境下での複数種のアミノ酸からのペプチド合成
 Hetero-copolymerization of Amino Acids in a Simulated
 Hydrothermal System.

今井栄一, 佐藤道子, 本多元, 羽鳥晋由, 松野孝一郎
 (長岡技術科学大学・生物系)

E. Imai, M. Sato, H. Honda, K. Hatori, K. Matsuno
 (Department of BioEngineering, Nagaoka University of Technology)

海底熱水噴出孔近傍の熱水環境を模倣した進化フローリアクターを使ったアミノ酸のオリゴマー生成実験において、グリシンやL-アラニンを出発反応物質としてそれらの重合物の生成が認められている。今回グリシンにL-バリンを加えた系についての結果をグリシン-L-アラニン系との比較を含めて報告する。

グリシン、L-バリンを出発反応物質としたときの反応生成物は多種に渡るが、HPLCによる溶出時間の分離能に制約があるため L-Val-Gly と Gly-L-Val に注目した。生成物の定量評価は HPLC の溶出時間とピーク面積より同定した。実験条件はフローリアクターの高温チャンバーの温度を 150°C から 250°C まで変化させ、L-Val-Gly と Gly-L-Val の生成量の比較を行った。出発反応溶液の組成は 50mM Gly と 50mM Val, pH2.5 であり、運転開始より 60 分経過後の生成量を下図に示す。その結果 L-Val-Gly の生成量が最大になるのは 175°C、Gly-L-Val は 200°C であった。生成量は Gly-L-Val は L-Val-Gly と較べて 2-10 倍多い結果が得られた。一方、グリシン-L-アラニン系では Gly-L-Ala が 220°C、L-Ala-Gly は 240°C において生成量が最大になった。また生成量も Gly-L-Ala が L-Ala-Gly に較べて 10-100 倍も多くなることが確認された。

このようにヘテロなジペプチドの生成はその反応が起りうる環境に対して選択性をもち、さまざまな温度領域に固有な生成物が存在することを示唆する。

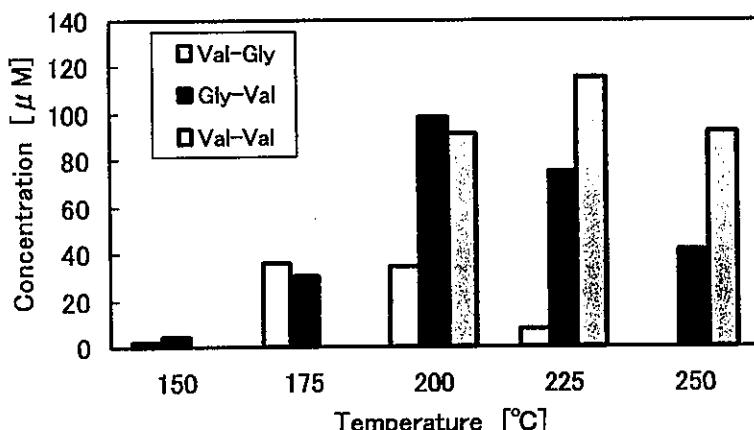


Figure Yields of the oligomers at various temperatures.

脂質の存在する熱水環境下でのオリゴペプチドの生成
 Making Oligopeptides in the Presence of Lipid Vesicles in
 Hydrothermal Environments.

塚原英明、今井栄一、羽鳥晋由、本多元、松野孝一郎
 (長岡技術科学大学・生物系)

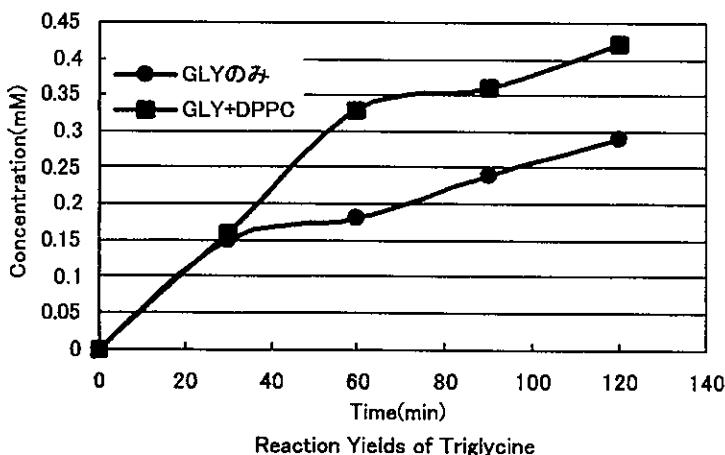
H.Tsukahara, E.Imai, H.Honda, K.Hatori, K.Matsuno
 (Department of BioEngineering, Nagaoka University of Technology)

海底熱水噴出孔近傍の熱水環境を模倣した進化フローリアクターを使ったアミノ酸重合実験において、グリシンを反応出発物質として8量体までのオリゴマーの生成が確認されている。今回、リン脂質の一種であるDPPC(Dipalmitoyl Phosphatidylcholine)を使用してグリシン溶液中でリポソームを作成し、リポソーム存在下、非存在下においてグリシン重合物の生成量比較を行った。

リポソームは球状の閉殻構造をなすため、その内部に外部と隔離された水溶媒環境が形成される。その中にアミノ酸等を封じ込めることによりリポソーム内部での重合がより促進されると仮定し実験を行った。実験条件は高温部が180°C、低温部が0°C一定で、圧力は約17MPaである。

その結果、リポソーム存在下でグリシンの重合が非存在下より促進されることが認められた。2、3量体においてリポソーム非存在下と比較して20~40%の生成量の増加が見られ、また8量体付近の生成物も確認できた。

以上の結果は、脂質から生成されるリポソームが基本的生体物質の反応の場を提供した可能性を示唆する。



热水環境とオリゴヌクレオチド生成の反応特性

Synthesis of Oligonucleotides in Hydrothermal Environments
and their Reaction Rates.

佐藤成礼、吉田歩、今井栄一、本多元、羽鳥晋由、松野孝一郎

(長岡技術科学大学・生物系)

A.Sato, A.Yoshida, E.Imai, H.Honda, H.Hatori, K.Matuno

(Department of BioEngineering, Nagaoka University of Technology)

我々は、海底熱水噴出口の環境を想定した進化フローリアクターにおいてAMPを出発物質とした時、AMPの2量体、3量体の生成をすでに確認した。本報告では、出発溶液に2量体や3量体あるいはそれ以上のオリゴマーを予め加えその濃度変化を測定した。

まず、 $20\mu M$ 3量体、 $20mM$ AMP、 $1mM$ $ZnCl_2$ 、pH3.0 (PPi) の反応溶液を用意した。高温部 $110^\circ C$ 、低温部 $0^\circ C$ 、圧力 $13MPa$ として、150分間フローリアクター運転した。

この結果、3量体が出発物質として予め存在する場合、3量体のみや3量体にAMP・ Zn^{2+} のいずれかが存在する時には3量体濃度の減少が起る。しかし、3量体に Zn^{2+} とAMPの両方が添加された場合には、3量体濃度の減少が抑制され、増加と減少が拮抗した状態に移行する。これまで、AMPから3量体の生成が確認されていることから3量体の分解が抑制されたのではなく、合成が促進されたと推測した。

また、4量体でも同様の検証を行い、定常状態における本リアクターでの与えられた運転条件において、定常状態での4量体の量が判明した。

さらに、同じフローリアクターを用いてGMPの重合実験も行った。高温部の温度を $110^\circ C$ に設定し、金属イオンとして Zn^{2+} 、 Pb^{2+} を加えた時、3量体の生成を認めた。

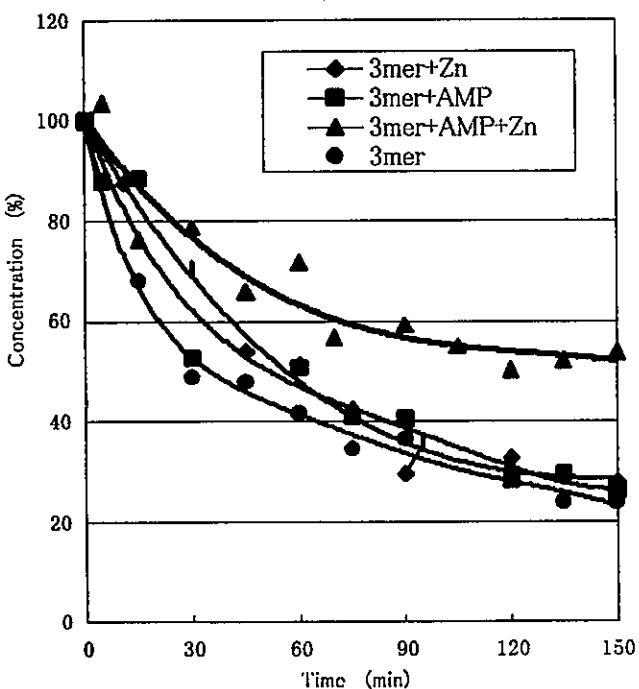


Figure Concentrations of Triadenylate and their Debolcements in the Reactor

特 別 講 演

L2

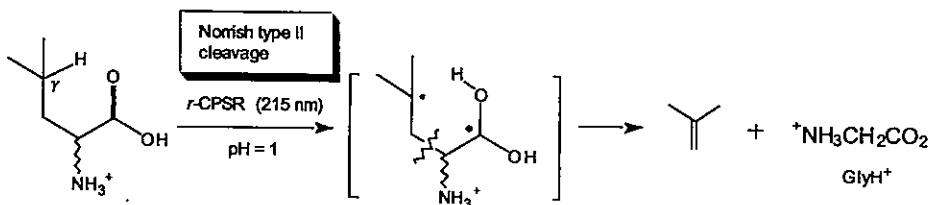
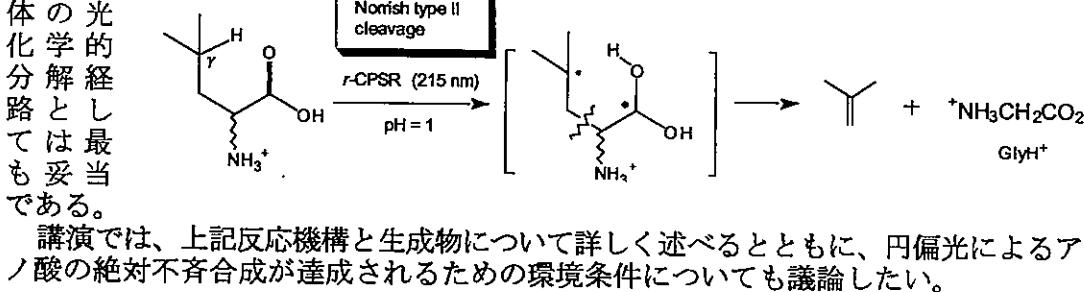
円偏光シンクロトロン放射光を用いる非芳香族アミノ酸の絶対不斉合成

Absolute Asymmetry Synthesis of Non-aromatic Amino Acids with Circularly Polarized Synchrotron Radiation

○井上佳久 (科技団・阪大院工)
Yoshihisa Inoue (ERATO, JST and Osaka Univ.)

アミノ酸や糖などの地球上の生体関連化合物におけるキラリティーの極端な偏りについては多くの仮説が提案されてきたが、オーストラリアで発見された Murchison 頓石の有機マントルに含まれていたロイシンなどの非芳香族アミノ酸がラセミではなく L-体に偏っていたことから、宇宙起源と考えられるようになってきた。宇宙におけるキラリティーの偏りを説明する 1 つの仮説として Bonner と Rubenstein は、超新星爆発の後にできる中性子星を周回する高速電子（巨大なシンクロトロンと見なせる）からの(横)円偏光した放射光によるラセミのアミノ酸のエナンチオマー選択的光分解（絶対不斉合成）機構を提案した。事実、通常のランプやレーザーを光源とする絶対不斉合成において、円偏光によってエナンチオマー選択的光分解が起き、光学活性なアミノ酸が得られることが知られている。しかしながら、実際にシンクロトロンからの短波長の円偏光を用いた非芳香族アミノ酸の選択分解については、装置的な問題からほとんど検討されてこなかった。さらに、光分解生成物や反応機構についても明らかにされている部分は非常に少ない。

我々は、最近電子技術総合研究所で開発された高純度の円偏光を発生することができるシンクロトロン挿入光源である小貫型偏光可変アンジュレータを用いて、いくつかの非芳香族アミノ酸の絶対不斉合成を試みるとともに、生成物についても同定を進めた。その結果、カルボン酸の γ -位に水素原子を有する非芳香族アミノ酸ではいずれの場合もグリシンが主生成物として得られ、それに対応する残りのフラグメントはオレフィンとして脱離することが明らかになった。さらに、この光分解は溶液の pH に大きく依存し、酸性領域でもっとも効率よく進行することが明らかになった。このような γ -位の水素の引き抜きとそれに続く 1,4-ビラジカル中間体の β -解裂に伴うオレフィンの脱離は Norrish Type II 反応としてカルボニル化合物では極めて一般的な光反応であり、カルボン酸誘導体の光学的分解経路としては最も妥当である。



講演では、上記反応機構と生成物について詳しく述べるとともに、円偏光によるアミノ酸の絶対不斉合成が達成されるための環境条件についても議論したい。

一 般 講 演

シンクロトロン放射光によるアミノ酸の不斉分解
Asymmetric Photolysis of Amino Acid by Synchrotron Radiation

○高野 淑識, 金子 竹男, 小林 憲正 (横浜国大・工)

高橋 淳一, 細川 照夫 (NTT 通信エネルギー研)

Sandra Pizzarello and John R. Cronin (Arizona State Univ.)

Yoshinori Takano, Takeo Kaneko, Kensei Kobayashi,

Jun-ichi Takahashi*, Teruo Hosokawa*, Sandra Pizzarello** and John R. Cronin**

Dept. Chemistry and Biotechnology, Yokohama National University,

**NTT Telecommunications Energy Lab.*

***Dept. Chemistry and Biochemistry, Arizona State University*

ルイ・パスツール以来、地球生命の生体分子光学活性の起源は、未だに解明されていない謎の一つである。地球生命圈に覆われてしまった現在では、前生物界の情報を引き出すことは難しい。しかし、地球圏外から飛来する隕石は、地球外有機物を明らかにするだけでなく、太陽系及び地球の始原的な情報を持つことから有機化学進化的に興味深い。1997年、Murchison隕石中からL-体優位、すなわちエナンチオ過剰を持つアミノ酸が報告¹⁾された。その後、Murray隕石からもL-体のエナンチオ過剰が見出された²⁾。このことは、生命的誕生に先駆けて化学進化の段階で何らかの物理的不斉が寄与したことを示唆するものである。なかでも、超新星爆発により生じた中性子星から放射される円偏光は不斉源として有力視されている³⁾。

我々は、これまでNTT 通信エネルギー研究所・放射光施設のシンクロトロン放射光からの光源を用いて模擬原始大気からのX線⁴⁾や紫外線⁵⁾をエネルギー源とした有機物の無生物的生成、アミノ酸水溶液の光による分解⁵⁾を検証してきた。シンクロトロン放射光は、幅広い波長域を持ちエナジエティックス解析に有用なツールであることが判明した。

また、放射光は強い指向性を持つことから左円偏光、右円偏光を連続光として取りだすことができ、生体光学活性の起源にアプローチを試みる上で重要である。そこで本研究は、炭素質隕石中から検出されたアミノ酸の一一種であるD,L-Isovalineを用い、中性水溶液で紫外線領域円偏光照射を行った。照射試料はHPLCにより、エナンチオ過剰と光分解率を評価した。左右それぞれの円偏光で不斉分解が進行した。本会では、これまでの結果とともに炭素質隕石から得られた情報と併せて考察する。

【参考文献】

- 1) J. R. Cronin and Sandra Pizzarello, *Science*, **275**, 951 (1997)
- 2) J. R. Cronin and Sandra Pizzarello, *Adv. Space Res.*, **23**, 293 (1999)
- 3) Greenberg *et al.*, *J.Biol.Phys.*, **20**, 61 (1994)
- 4) Takahashi *et al.*, *Appl.Phys.Lett.*, **74**, 877 (1999)
- 5) Takahashi *et al.*, *Viva Origino*, **28**, 5 (2000); 高橋ら, 第14回日本放射光学会, p.42 (2001)

Heterochiral RNA の合成とその物性

Synthesis and Properties of Heterochiral RNAs

浦田秀仁、郷真貴子、清水はな、赤木昌夫（大阪薬大）

Hidehito Urata, Makiko Go, Hana Shimizu, Masao Akagi
(Osaka University of Pharmaceutical Sciences)

RNA が生命の前駆物質であるとする RNA world 仮説に基づき、原始地球上で非生物的に RNA が合成されたプロセスを再現しようという試みがなされている。Orgel らは polyU や polyC を鋳型に用いて adenosine 5'-phosphorimidazolide (ImpA) や guanosine 5'-phosphorimidazolide (ImpG) がそれぞれ効率よく重合することを見出し、生命誕生以前の RNA 合成および複製機構として有力視されてきた。しかし、原始地球上で生成したヌクレオシド或いはヌクレオチドはラセミ体であったと考えられていることから、Orgel らは鋳型依存 RNA 合成反応を非天然型のキラリティーを持つ L 型モノマーの共存下で行ったところ、その効率が著しく低下することが明らかになってきた。従って、Orgel らが提唱しているような非酵素的鋳型依存 RNA 合成系が出現する以前に、L 型モノマーが淘汰されるか、或いはラセミックなモノマーでも効率良く重合する系を考える必要がある。また、後者の場合には生成する複雑なオリゴマーから D-ホモキラルな RNA の selection が必要になる。

我々は粘土鉱物である montmorillonite 存在下でラセミックな ImpA が効率良く重合することを見出したが、この反応はホモキラルなオリゴマーを優先的に与えることが明らかとなった。このホモキラル選択性が現れるためには、i) 同じキラリティーを持つモノマー同志が優先的に反応する、ii) ホモキラルなオリゴマーと比べ、ヘテロキラルなオリゴマーの伸長速度が遅い、或いは加水分解速度が速い、などの可能性が考えられる。そこでヘテロキラル RNA の物性を明らかにする目的で、ヘテロキラルな RNA ダイマーである $A_{LP}A_D$ および $A_{DP}A_L$ を合成し、その諸性質をホモキラル D-(ApA) と比較することを計画した。

ヘテロキラルダイマー $A_{LP}A_D$ 、 $A_{DP}A_L$ およびホモキラルダイマー D-(ApA) はリン酸トリエステル法により合成し、nuclease P1 および RNase T₂ による分解反応を行ったところ、D-(ApA) が対応するモノマーを与える条件下、 $A_{DP}A_L$ は同様の挙動を示したが、 $A_{LP}A_D$ はいずれの酵素によっても分解されなかった。次に、これら三種のダイマーの水溶液中での構造を比較するために CD スペクトルの測定を行った。D-(ApA) は水溶液中で二つのアデニン環が stacking 相互作用し、右巻き helix 様構造を形成していると考えられており、そのような構造を反映した CD スペクトルを示す。一方、 $A_{LP}A_D$ と $A_{DP}A_L$ はエナンチオマーの関係にあるため互いに対称的なスペクトルを示し、 $A_{LP}A_D$ が右巻き helix 様構造を、逆に $A_{DP}A_L$ は左巻き helix 様構造を形成していることが判明したが、これらの CD 強度は D-(ApA) のものと比べて小さいことから、ヘテロキラルダイマーではアデニン環の stacking 強度が低下しており、helix 様構造が不安定化していることが強く示唆された。

19 ペプチドの立体特異的縮合反応のシミュレーション

Simulation of Stereo-specific Condensation Reactions of Peptides

小山工業高等専門学校物質工学科

Oyama National College of Technology

胸組虎胤

Toratane Munegumi

【緒言】 生命体のタンパク質がL型という片手構造（ホモキラル構造）のアミノ酸で構成されている理由は十分解明されていない。今までになされたキラリティーの起源・発展に関する研究の方向性は次の2つがあった。(1) タンパク質のモノマー(アミノ酸)のL体(あるいはD体)がエネルギー的、量的に優位になることを証明しようとする方向性^{1, 2)}と、(2) ラセミやLまたはDが小過剰のアミノ酸の存在する条件で、立体特異的なホモキラルペプチド生成やラセミ化反応を調べる方向性^{3, 4)}である。これらの研究で見逃されてきたのは、オリゴペプチド段階におけるホモキラルペプチドとヘテロキラルペプチドの分離、相互変換、縮合反応等である。本研究では、このうち縮合反応について、(1) ホモキラルペプチド同士、(2) ヘテロキラルペプチド同士、(3) そして、ホモキラルペプチドとヘテロキラルペプチド間という3種類の縮合反応の進み安さがどの程度異なるかを、各々の反応で生成するはずの中間体の生成エネルギー(計算値)を比較することで推定した。

【方法】 アラニンジペプチドメチルエステルのジアステレオマー(L-Ala-L-Ala-OCH₃, D-Ala-L-Ala-OCH₃)の分子内および分子間の縮合反応について、それら以外に、中間体、生成物の生成熱を、Apple Power Mac 上で計算ソフト CAChe ワークシステムを用いて計算した。

【結果・考察】 実験的に立体特異的反応として知られている⁵⁾ L-Ala-L-Ala-OCH₃, D-Ala-L-Ala-OCH₃の分子内環化反応について、PM3 パラメーターで計算した結果を以下に示す。原料物質：L-Ala-L-Ala-OCH₃ -117.45 (kcal/mol, 298K), L-Ala-D-Ala-OCH₃ -117.98, ; 中間体：Cyclo-L-Ala-L-Ala-S-OCH₃ -119.45, Cyclo-L-Ala-L-Ala-R-OCH₃-114.61, Cyclo-L-Ala-D-Ala-S-OCH₃-110.66, Cyclo-L-Ala-D-Ala-R-OCH₃-114.65; 生成物：Cyclo-L-Ala-L-Ala-70.61, Cyclo-D-Ala-L-Ala-78.71, MeOH-51.88.

それぞれの反応基質について2種類ずつのジアステレオマー中間体が可能であった。反応基質 L-Ala-L-Ala-OCH₃ は中間体を生成するときに最大 2 kcal/mol 安定化するが、L-Ala-D-Ala-OCH₃ は中間体を生成するとき最小でも 3.3 kcal/mol 不安定化する。このことは、L-Ala-L-Ala-OCH₃ から Cyclo-L-Ala-L-Ala 生成する収率が、L-Ala-D-Ala-OCH₃ から Cyclo-D-Ala-L-Ala が生成する収率より高い理由のひとつではないかと考えられる。⁵⁾ 発表では、鎖状ペプチドの縮合反応についても述べる。

【文献】 1) G. E. Tranter, *Chem. Phys. Lett.*, 120, 93 (1985). 2) K. Soai, *Nature*, 378, 767 (1995). 3) P. Doty, *J. Am. Chem. Soc.*, 78, 4810 (1956). 4) T. Munegumi, *Chem. Lett.*, 1741 (1987). 5) H. Naraoka et al., *J. Chem. Soc., Perkin I*, 1561 (1985).

20 ヌクレオチドの安定性と生命の起原

Origins of Life and Thermal Stability of Nucleotides

大島 泰郎 (東薬大・生命科学)

Tairo Oshima (Department of Molecular Biology, Tokyo University of Pharmacy and Life Science)

[背景] RNA ワールド仮説は人気が高いが、欠陥がないわけではない。RNA はタンパク質、DNA に比べ一番熱不安定である。もし、生命の热水起源説を受け入れると、热水中で、RNA がどのように安定化されていただろうかという疑問が生じる。これを解くには、高度好熱菌の RNA を調べるとよい。好熱菌の細胞の中では、tRNA は二つの機構で安定化されている。第一は、修飾である。高度好熱菌 *Thermus thermophilus* では、T ループの中の T 残基がチオ化され、これが安定化機構の一つと同定されている。余計な反応を必要とする「修飾」を原始海水中の RNA の保護機構とは考えにくい。好熱菌では、このための余分な酵素の存在が知られている。勿論、非酵素的に起こる修飾反応も考えられないわけではないから、この機構を完全に否定することもできない。

もう一つの機構はポリアミンによる保護である。ポリアミンは、核酸類と結合して T_m をあげることが知られている。また、好熱菌は多種のポリアミンを生産する。このことも高い温度の下でポリアミンが安定化剤として働いていることを示唆している。

[実験結果] 通常の生物体にも普遍的に見られるポリアミン、スペルミジン、スペルミンはもとより好熱菌の生産する特異なポリアミンも、いずれも tRNA、DNA を安定化する。ポリアミンを加えると、 T_m が上昇するだけでなく、それに伴いエンタルピー変化も増大するので、ポリアミンとの結合によるコンフォメーションの固定の効果に加えて、ポリアミン-核酸間の電気的な結合エネルギーも安定化に寄与していると推定される。DNA では、高温下に起こる脱プリン反応も抑制された。

[提言] これまでポリアミンは化学進化研究の対象とされてこなかった。しかし、化学進化過程の核酸類の非生物的合成やそれらの原子海洋中の安定性へのポリアミン類の関与に注意すべきであろう。生体内でポリアミン類は、塩基性アミノ酸の脱炭酸反応で作られる。脱炭酸反応は非酵素的に起こりうるから、原始海洋中にポリアミンが存在していた可能性は高い。ポリアミンは安定化のほかに、核酸が関与する生体反応を活性化する。代表例は RNA ポリメラーゼや *Staphylococcal* ヌクレアーゼで、これらの酵素はポリアミンの存在を要求している。このことから類推して、リボザイムにもポリアミンは賦活剤として働く可能性が高い。化学進化におけるポリアミン類の果たした役割にもっと注目してよいのではないか。

21

2',5'-および3',5'-結合を持つ短鎖長 RNA オリゴマー の非酵素的鋳型依存リゲーション反応 Nonenzymatic template-directed ligation of short-chained 2',5'- or 3',5'-linked RNA oligomers

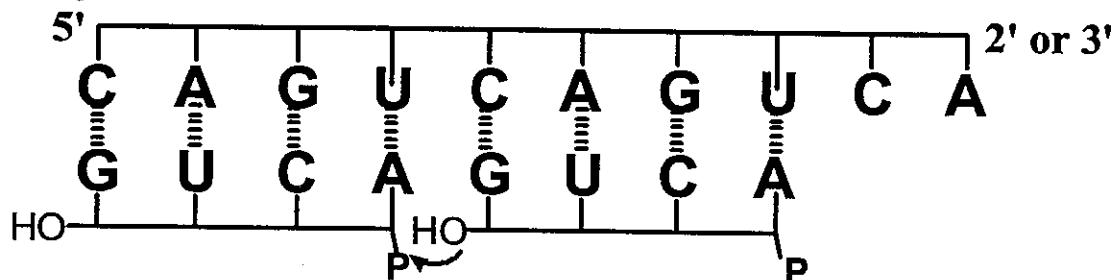
○沢井宏明、幸田司、和田誠、尾崎広明（群馬大工）

Hiroaki Sawai, Tukasa Kouda, Makoto Wada, Hiroaki Ozaki

(Faculty of Engineering, Gunma University)

【序論】RNAは生命の起源の初期過程で生成し、非酵素的な複製反を行い、遺伝情報の保持、伝達さらに触媒作用を担ったと考えられている。このRNAの非酵素な自己複製のモデル反応として、短鎖長のオリゴリボヌクレオチドどうしを連結する非酵素的リゲーション反応を試みた。反応の鋳型として2',5'-あるいは3',5'-結合を持つRNAオリゴマー10量体(5'-CAGUCAGUCA-2' or 3')を、基質として2',5'-および3',5'-結合を持つRNAオリゴマー4量体(5'-pACUG-2' or 3')を用いた。まず、これらの二重鎖形成能を確認し、核酸塩基の相補的な水素結合に基づいて進行する非酵素的な複製反応を行った。

【実験および結果】円偏光二色性(CD)スペクトルの測定により各オリゴマードウしの二重鎖形成能を調べたところ、鋳型依存反応条件下でいずれの場合も二重鎖形成が認められた。鋳型依存リゲーション反応は、鋳型にRNA10量体(5mM)、基質にRNA4量体(5mM)を用い、イミダゾール緩衝液中(PH6.0)、NaCl(0.1M)、MgCl₂(0.02M)存在下、縮合剤として水溶性カルボジイミド(0.5M)を用い、0°Cで二週間放置して行った。反応液の一部をHPLCにより分析し反応の追跡を行った。いずれの場合も鋳型存在下、基質4量体のリゲーション反応の進行による8量体(pACUGACUG)の生成が認められた。それぞれの結合どうしで縮重合の効率は大きく異なった。鋳型と基質が同一の結合様式を持つ場合はリゲーション効率が高く、8量体の生成量が多い。特に鋳型、基質いずれもが2'・5'結合を有する場合の鋳型依存縮合の効率が高い。一方、基質と鋳型の結合様式が異なる場合は8量体の収率は低い。



錫型指示オリゴグアニル酸生成反応に対する
種々のアミノ酸熱重合物の影響

Effect of thermal copolymers of amino acids
for the template-directed synthesis of oligoguanosylate

○長濱稔, 蔵之上和博, 川村邦男 (大阪府立大学・院・工学研究科)

NAGAHAMA Minoru, KURANOUE Kazuhiko, KAWAMURA Kunio
(Osaka Prefecture University)

【緒言】地球上で遺伝情報を担った最初の物質はRNAであったと考えられている。一方、現在の生体系はタンパク質なくしては成り立たない。したがって化学進化の過程でも、種々のタンパク質は互いに相互作用しながら発展したと考えるのが妥当であろう。そのモデルとして、poly(C)上で2-MeImpGからオリゴグアニル酸(oligo(G))が生成する錫型指示反応について種々のアミノ酸熱重合生成物の影響を調べた。

【実験】アミノ酸熱重合物は、Glu, Asp, Gly, Ala, Valを等モルずつ混合したもの的基本とし、さらにHis, Tyr, Trp又はPheを同モル加え、180°Cで24h反応させた。この生成物を透析した後、凍結乾燥した。Oligo(G)の生成反応は、0.025 M poly(C), 0.015 M 2-MeImpG, 1.0 M NaCl, 0.2 M MgCl₂, 0.1 M HEPES (pH = 8)を含む溶液中に種々のアミノ酸熱重合物(0.05 M ~ 0.18 M)を加えて、25°Cで7日間行った。生成物は、RNaseAでPoly(C)を加水分解し、陰イオン交換及び逆相HPLCで分析した。

【結果と考察】アミノ酸熱重合物をゲル滌過カラムで分析した結果、分子量は約10,000であった。アミノ酸熱重合物を加えない場合、錫型指示反応により10~20量体のoligo(G)が生成する。一方、アミノ酸熱重合物を濃度範囲0.05 M ~ 0.06 Mで加えると同様にoligo(G)が生成したが、高濃度(0.15 M ~ 0.18 M)加えた場合は、G^{5'}ppGの割合が増加oligo(G)の生成量は減少した。また、Hisを含むアミノ酸熱重合物を加えた場合は、2-MeImpGの加水分解が進行しoligo(G)の生成が減少した。この経時変化を調べた結果、反応初期の段階で2-MeImpGの加水分解反応によってpGが生成し、かつG^{5'}ppGの生成も速やかに進行した。また、Tyr, Trp, Pheを含むアミノ酸重合物に関しても同様に反応過程を追跡したが、これらに関しては特徴のある結果は得られなかった。

23

中温水中におけるヘキサヌクレオチドの 非酵素的リン酸ジエステル結合生成反応の測定

Measurement of the nonenzymatic
phosphodiester bond formation of hexanucleotides
in aqueous solution at elevated temperatures
中原周行, 岡本文敬, 川村邦男 (大阪府立大学・院・工学研究科)
NAKAHARA Noriyuki, OKAMOTO Fumitaka, KAWAMURA Kunio
(Osaka Prefecture University)

【緒言】 RNA は原始地球上において遺伝情報を最初に担ったと考えられている (RNA ワールド仮説)。また、生命は海底熱水噴出孔のような高温海水中で誕生したと考えられている (熱水起源説)。当研究室では、世界に先駆けて RNA ワールド仮説を熱水起源説の立場から検証してきた。本研究では高温下でのリン酸ジエステル結合が生成する反応を調べるために、水溶性カルボジイミド (WSC) 存在下でヘキサヌクレオチドの環化反応を中温水中で調べた。

【実験】 環化反応は 2 種類のヘキサヌクレオチド ($5'-p\text{GCGCGrC}-3'$, $5'-p\text{GCCCGrG}-3'$, それぞれ, oligo-6a, oligo-6b とする) を用い、 $1.0 \times 10^{-4}\text{M}$ oligo-6, 縮合剤として 0.2 M WSC および 0.2 M NaCl, 0.075 M MgCl₂, 0.1 M イミダゾール (pH = 8.0) を含む反応溶液中で、0 °C ~ 75 °C の範囲で追跡した。生成物は陰イオン交換 DNA-NPR (TOSOH, CO) を用いる HPLC で分析した。

【結果および考察】 反応による oligo-6a 及び、6 b の生成物を HPLC で分析した結果、主生成物と副生成物の 2 つのピークを確認した。oligo-6a では副生成物はごく微量であった。これらの反応は WSC あるいはイミダゾールがないと進行しなかった。この反応は 75°C でも進行した。次に、リン酸ジエステル結合の生成速度の温度依存性を知るために、原料の減少速度を測定し 0 °C ~ 75 °C の範囲でそのみかけの速度定数を一次プロットから決定した。oligo-6a 速度定数値は $5.9 \times 10^{-3}\text{ h}^{-1}$ (0 °C), $7.7 \times 10^{-2}\text{ h}^{-1}$ (25 °C), $6.2 \times 10^{-1}\text{ h}^{-1}$ (50 °C), 12.6 h^{-1} (75 °C) であり、そのアレニウスプロットを Fig. 1 に示す。このときの活性化エネルギーは 77.4 kJ mol^{-1} であった。一方、主生成物は反応時間の経過に従って一旦生成し再び減少した。これは生成物が加水分解したためと考えられる。また、生成物を RNase T₂ 及び APH で酵素処理した結果、主生成物は RNase T₂ で加水分解されたが APH では分解されなかった。したがって、主生成物は環状ヘキサヌクレオチドであると推定される。以上の結果から、リン酸ジエステル結合の生成速度は分解速度より充分速く、75°C 以上の高温下でも起こりうる可能性を示している。すなわち、適当な化学的工夫を施せば、RNA の原始的な生成反応を高温下でも実現することができると期待される。

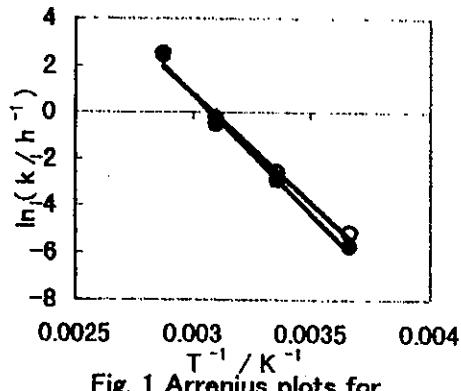


Fig. 1 Arrhenius plots for ligation reaction of oligo-6
○ oligo-6a ● oligo-6b

○原田 和雄、岩崎 哲哉、小林 興（東京学芸大学 物質生命科学）

Kazuo Harada, Tetsuya Iwazaki, Koh Kobayashi

(Dept. of Life Science, Tokyo Gakugei University)

【緒言】 RNA とタンパク質との特異的な相互作用は、リボソームやスプライソソームのような複雑な RNA-タンパク質複合体ばかりではなく、遺伝子発現制御の様々な場面において見ることが出来る。近年、RNA-タンパク質相互作用のモデルシステムの一つであるアルギニンリッチペプチドとその RNA 結合サイトの相互作用に関する生化学的・構造化学的知見が蓄積している。これにより、RNA-タンパク質相互作用に関する一般的なルールの解明が期待される。

我々は、これまでに H I V-R R E と強く結合する人工ペプチドをコンビナトリアルライブラリーから同定してきた。まず、アルギニン、セリン、グリシンをランダムにつなぎ合わせたライブラリーの中から R S G-1 ペプチドを同定した。このペプチドにさらに変異を加え、より強い R R E 結合活性を持つペプチドをスクリーニングしてきたところ、 R S G-1.2 が得られた。このペプチドは H I V R e v ペプチドよりも 6~7 倍強く R R E と結合し、RNA-ペプチド複合体の構組みの中で容易にペプチドをより強く結合するよう分子進化的に改変できることが分かった[1]。そこで、今度はこのようにして同定した RSG-1.2 とより強く結合する RRE の変異体の同定を試みた。

【結果】 R S G-1.2 に対して R R E と同等もしくはより高い結合活性を持つ R R E の変異体のスクリーニングは、我々が開発した細胞内 RNA-タンパク質相互作用検出系を用いた[2]。この検出系では、ペプチドが RNA と結合することにより、β-ガラクトシダーゼ遺伝子が発現され、X-gal を含む寒天培地上で大腸菌のコロニーが青く呈色する。まず、 R R E の R e v 結合部位を含む 24 塩基領域の各塩基に 24 % の割合で他の 3 つのヌクレオチドが入るよう DNA 合成機を用いてライブラリー-DNA を作成した。このライブラリー-DNA を p A C レポータープラスミドに導入し、次いで、このライブラリープラスミドを R S G-1.2 ペプチド発現プラスミドを含む細胞に形質転換した。得られた約 28000 コロニーの中で RNA-ペプチド相互作用を示す青いコロニーが 3 % 見られた。その中の 31 個の R R E 変異体の配列を決定した。得られた変異 R R E を野生型 R R E と比較した場合、大部分の配列においては、 R e v ペプチドとの結合に重要ではない領域にのみ変異が見られたが、興味深いことに、一部の配列においては結合に重要なヌクレオチドに変異が入っていた。このことは、 R e v と R S G-1.2 による R R E 認識のメカニズムが異なっている可能性を示すものであり、今後、生化学的解析、及び構造解析により検討する。

[1] K. Harada, S. S. Martin, R. Tan, and A. D. Frankel (1997) "Molding a Peptide into an RNA Site by In Vivo Peptide Evolution", *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 94: 11887-11892.

[2] K. Harada and A. D. Frankel (1998) "In Vivo Selection of Specific RNA-Binding Polypeptides using a Transcriptional Antitermination Reporter Assay". In *RNA-Protein Interactions :A Practical Approach* (C.W.J. Smith ed.), IRL Press, pp 217-236.

25

原始地球上での生体分子および原始触媒の生成と生命的起源 Formation of Bioorganic Molecules and Primitive Catalysts in Primitive Earth Environments Toward the Origin of Life

○小林憲正, 高野淑誠, 王せい, 植岡昌治, 大橋暁弘, 山梨洋人, 金子竹男(横浜国大工) 高橋淳一(NTT 通信エネルギー研), 斎藤威(応用科学研)
○Kensei Kobayashi, Yoshinori Takano, Wang Jing, Shoji Ueoka, Akihiro Ohashi, Hiroto Yamanashi, Takeo Kaneko (Yokohama Natl. Univ.), Jun-ichi Takahashi (NTT Telecommun. Energy Lab.), Takeshi Saito (Inst. Advanced Studies)

これまでの化学進化の仮説では、原始地球上で無生物的に生成した原始タンパク質、もしくは原始 RNA が最初の触媒分子と考えられてきた。これまでの模擬原始大気実験などにより、アミノ酸や核酸塩基の一部の生成が報告されてきた。しかし、これらから触媒活性を有するペプチドやヌクレオチドが完全に無生物的に生成するのは極めて困難と考えられる。われわれは模擬原始大気実験生成物中に触媒活性を有する分子を検索し、先にエステラーゼ活性を有する分子の検出について報告した[1]。今回はさらにホスファターゼ活性を有する分子の検索を行い、その意義について考察した。

[実験] 一酸化炭素(350 Torr), 窒素(350 Torr), 水(20 mL)を Pyrex 反応器(100 mL)に入れ、これに東工大 van de Graaff 加速器からの 3 MeV 陽子線を 2 mC 照射した。生成物(水溶液)はそのまま、あるいは加水分解後、アミノ酸、核酸塩基、全有機炭素、エステラーゼ活性(基質: 二酢酸フルオレセイン)、ホスファターゼ活性(基質: 4-メチルウンベリフェリルリン酸)などの測定を行った。触媒活性はフローインジェクション-蛍光検出法で測定した。

[結果と考察] 照射生成物はエステラーゼ活性(7.6 mU)の他、ホスファターゼ活性(0.060 mU)を有することがわかった。この生成物を 1M HCl 中で 383K, 5 分間加水分解すると若干増加したが、さらに加水分解を続けると減少し、4 時間後、消失した。

リン酸エステル結合は、通常のエステル結合よりも加水分解の活性化エネルギーが高い。このため、イミダゾールのような小分子、あるいは Ser-His のようなジペプチドなどにエステラーゼ活性を有するものは多いが、ホスファターゼ活性を持つものはあまり知られていない。陽子線照射生成物がエステラーゼ活性のみならずホスファターゼ活性を有することは、原始地球上でタンパク質や RNA の生成を待たずに種々の原始触媒が生成した可能性を強く示唆する。これらの原始触媒分子の中に自己触媒分子が含まれれば、単なる有機物から生命に向けた第一歩を踏み出すことになる。

原始大気や宇宙空間で宇宙線などにより無生物的に生成する有機物はいわゆる「複雑な有機物」であり、それが原始海洋中で加水分解されることによりアミノ酸や核酸塩基などの生体高分子の部品が生成する。原始海洋中で生じた自己触媒系がやがてこれらの部品を取り込んで RNA World や Protein World に進化した。本結果はこのようなシナリオ[2]が示唆する。

[1] 鶴田他, *Viva Origino*, 28, 19 (2000). [2] 小林, 化学と工業, 54, in press (2001).

26

原始タンパク質からなる自己触媒系の探索 Search for Autocatalytic Sets Consisting of Oligopeptides

○ 光澤茂信^{1, 3}、湯川哲之^{2, 3}

¹名古屋大学大学院、²総合研究大学院大学、³高エネルギー加速器研究機構

Shigenobu Mitsuzawa^{1, 3}, Tetsuyuki Yukawa^{2, 3}

¹Nagoya University, ²The Graduate University for Advanced Studies,

³National Laboratory for High Energy Physics

生命の起源に関わる未解明の重要な問題の一つに、アミノ酸やヌクレオチドなどのモノマー分子が脱水縮合し生命前駆体であるタンパク質やRNAなどのポリマー分子がどのようにして形成されたかという謎がある。近年、多種のポリマー分子からなる自己触媒系が形成・成長することにより、高濃度の長いポリマーが出現するという仮説が提唱された (Kauffman, 1986)。自己触媒系とは、多種のポリマーが互いの生成反応を触媒し合うことによって、それらのポリマーが高濃度で存在する触媒反応ネットワークである。しかし、この仮説はこれまで理論・数値シミュレーションによる研究は多くなされてきたが、実験では検証されていない。総研大グループ研究「新分野の開拓 (Soken/G-3) 生命の起原」小グループでは、水溶液環境でオリゴペプチドからなる自己触媒系を実際に探索することを目的とした実験を行っている。

自己触媒系の探索には、多種のペプチドの重合・加水分解反応で構成される反応ネットワークを実験で構築し、その反応系内のペプチドの濃度分布を調べて高濃度のペプチドを探したり、各反応の速度定数を測定して特異的に早い反応を探すことが必要である。これらは非平衡状態において多種のペプチドからなる反応ネットワークの挙動を調べることにより可能となる。本グループではこのような実験系を実現できる高温高圧フローリアクターをこれまでに構築した。そして、この装置を用いて反応ネットワークを調べる簡単な例として、200°C, 25 MPaにおけるグリシン(G)、グリシルグリシン(GG)、ジケトピペラジン(DKP)、グリシルグリシルグリシン(GGG)の4分子種からなる反応ネットワークについて、4分子種間を結ぶ全ての反応(合計10種類)の各速度定数を決定する実験を行った。

結果、上の小さな反応ネットワークでは触媒反応を検出できなかった。しかし、この反応ネットワークの挙動を調べることにより、i) アミノ酸の重合反応の平衡定数が高温の方が常温より大きくなること、ii) G を材料として GGG ができる際に、GG と DKP をがそれぞれ中間生成物となる2つの反応経路があることが分かった。つまり、DKP はアミノ酸のポリマー化においてバイパスの働きをすることになる。

27

共通の祖先は超好熱菌だったか：実験的検証

An experimental test: If the common ancestor of all the living organism was a hyper thermophile or not?

宮崎淳一、中家修一、鈴木俊治、玉腰雅忠、大島泰郎、○山岸明彦（東薬大生命科学）

Junichi Miyazaki, Shuichi Nakaya, Toshiharu Suzuki, Masatada Tamakoshi,
Tairo Oshima and Akihiko Yamagishi

(Department of Molecular Biology, Tokyo University of Pharmacy and Life Science)

【緒言】系統樹の根本付近に超好熱菌が多く見られることから全生物の共通の祖先は超好熱菌だったので無いかという仮説が、C. Woese, N. Pace ら何人かの研究者によって提案されている。しかし、生体関連物質が高温では不安定なことから、生命的の起源が高温であるという考えに対する反論も行われている。また、N. Galtier らは共通の祖先の rRNA 遺伝子の G+C 含量を推定し、生物の至適生育温度と G+C 含量の関係に当てはめると祖先型の生物は超好熱菌とは考えられないとしている。そこでわれわれは、タンパク質を実験材料として、祖先型の酵素の耐熱性がどの程度であったのかを検討する実験を考案し、実験による仮説の検討を行った。

【実験】実験材料として双子の酵素であるイソプロピルリンゴ酸脱水素酵素とイソクエン酸脱水素酵素を用いた。まず、真正細菌と古細菌のこれら二つの酵素の複合系統樹を作製した。系統樹に基づき、真正細菌と古細菌の分岐点のアミノ酸配列を節約法を用いて推定した。

ついで、現在までに研究が行われている中で最も高い耐熱性を持つイソプロピルリンゴ酸脱水素酵素を出発材料として、そのアミノ酸配列の一つないし 7 残基を祖先型のアミノ酸残基に変換した変異型酵素を遺伝子工学的に作製した。変異型の酵素を大腸菌内で大量発現し、精製した酵素について耐熱性及び活性の測定を行った。

【結果と考察】2種類の酵素の複合系統樹はこれら二つの酵素が分化した後に真正細菌と古細菌が分岐した事を示していた。祖先型のアミノ酸残基を持つ変異型酵素 7 種類の内、6 ないし 5 種類はその耐熱性が上昇していた。この結果は、共通の祖先が超好熱菌であったという仮説を支持している。

池原 健二、中西 真理（奈良女大・理・化）

Kenji Ikehara and Mari Nakanishi

(Dept. Chem., Nara Women's Univ.)

[序論] 細菌を初めとする生物ゲノムの解析は急速に進展している。しかし、遺伝子がどのように形成され、現在に至っているのかについてはほとんど分かっていない。それに対して、我々は細菌遺伝子は GC 含量の高い遺伝子のアンチセンス鎖に高い頻度で現れるノンストップフレーム (GC-NSF(a)) が、また、その GC-NSF(a) と類似の (SNS)n が新規な遺伝子を生み出す場として好都合であることを示してきた [1, 2]。もしも、遺伝子が我々の想定するように GC 含量の高い遺伝子として生まれ、進化したとすれば、遺伝子は基本的には AT 変異圧のみを受け、GC 含量の高い遺伝子から GC 含量の低い遺伝子へと進化したと考えられる。そのことを示すため、コンピューターによる解析を行った。

[コンピューターによる解析方法] 相同な蛋白質をそれぞれ並置させ、GC 含量の高い遺伝子が主にコードする SNS-アミノ酸 (S は G または C を、N は 4 種のアミノ酸のいずれかを示す) 含量を保存領域内および非保存領域内に分けて調べた。また、コンピューター上で遺伝子の各部位に突然変異を発生させ、それがコードする仮想的な蛋白質が、現存の蛋白質の持つ、三次構造の形成にとって重要であると思われる 6 つの構造因子 (疎水性/親水性度、 α -ヘリックス、 β -シートおよび β -ターン (コイル) 形成能および酸性アミノ酸含量、塩基性アミノ酸含量) を満足できるかによって遺伝子の進化経路をシミュレートした。

[結果と考察] ジャイレース A (GyrA) と緊縮制御関連遺伝子 (RelA/SpoT) をそれぞれ並置させ、SNS-アミノ酸含量を保存領域内および非保存領域内に分けて調べたところ、保存領域内には SNS-アミノ酸含量が常に高く、GC 含量の低い遺伝子によってコードされる蛋白質の非保存領域内では SNS アミノ酸含量が常に低いことが分かった。また、GC 含量の高い遺伝子から遺伝子の進化経路をシミュレートした場合に現存の蛋白質のコドンの塩基位置毎の塩基組成や蛋白質のアミノ酸組成を上手く説明できることが分かった。以上の結果は、我々が想定するように、遺伝子は GC 含量の高い方から低い方に向かって一方向的に進化 (変化) していることを示していると考えている。

[1] Ikehara and Okazawa, *Nucl. Acids Res.*, 21, 2193 (1993). [2] Ikehara et al., *Nucl. Acids Res.*, 24, 4249 (1996).

○福原敏行、古賀隆一、大山晋裕、宇田川剛、堀内秀紀、宮崎さおり、森山裕充
 (東京農工大学農学部)

Toshiyuki FUKUHARA, Ryuichi KOGA, Nobuhiro OHYAMA, Tsuyoshi UDAGAWA,
 Hideki Horiuchi, Saori MIYAZAKI and Hiromitsu MORIYAMA
 (Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology)

藻類から高等植物に至る広い範囲の植物界には、通常の植物ウイルスとは異なる性質を持つ内在性 2 本鎖 RNA レプリコンが存在する。この 2 本鎖 RNA レプリコンは、

(1) 宿主植物に対して明確な病徴を示さず、(2) 宿主の細胞に一定量存在し (3) 細胞外感染経路が認められておらず、種子及び花粉による垂直伝播のみが認められるといったプラスミド様の性質を示す。同様の性質を持った 2 本鎖 RNA レプリコンは、酵母や *Ustilago maydis* といった菌類、*Leishmania guyanensis* 等の原生動物や昆虫からも検出されることが報告されている。

これら 2 本鎖 RNA レプリコンの研究は非常に遅れており、塩基配列が報告されているものは多くないが、報告されているものについては、その複製酵素 (RNA 依存 RNA 合成酵素) の配列を RNA ウィルスの RNA 依存 RNA 合成酵素の配列と比較することにより、ダイコン、ニンジン等から検出される約 2 kbp の 2 本鎖 RNA を Partitiviridae として、酵母のキラー因子 (ScV-LA) 等を含む約 4-6 kbp ものは Totiviridae として RNA ウィルスの一群として分類されている。

我々は、栽培イネと野生イネより検出される高分子(約 14 kbp)内在性 2 本鎖について、遺伝様式、塩基配列を含む分子構造を詳細に解析し、その RNA 依存 RNA 合成酵素と RNA ヘリカーゼの配列を既報の RNA ウィルスと比較することにより、これらの 2 本鎖 RNA レプリコンが、アルファ様 RNA ウィルスに分類されうること、さらに大麦、ソラマメ、インゲンマメより検出される 2 本鎖 RNA を含め、これら高分子 2 本鎖 RNA レプリコンを、新たな RNA ウィルスの科 (Endoviridae)、属 (Endornavirus) に分類することを提唱した。これら高分子 2 本鎖 RNA レプリコン (Endornavirus) の塩基配列から推定される RNA 依存 RNA 合成酵素のアミノ酸配列の分子系統解析から、これらの高分子 2 本鎖 RNA レプリコンは、宿主であるイネ科植物とマメ科植物が進化的に分岐した後も、現在のウィルスのように水平伝播 (感染) 能を有していたこと、宿主植物細胞と協調して複製するようになり、水平伝播 (感染) 能を失うとともに垂直伝播 (種子伝播) 能を獲得し、現在のようにプラスミド様の生活環を獲得するに至ったことが示唆された。

参考文献

- [1] Ishihara J., Pak J-Y., Fukuhara T. and Nitta T., *Planta* **187**, 475-482 (1992).
- [2] Fukuhara T., Moriyama H., Pak J-Y., Hyakutake H. and Nitta T., *Plant Mol. Biol.* **21**, 1121-1130 (1993).
- [3] Miyazaki S., Iwabuchi K., Pak J-Y., Fukuhara T., Nitta T., *Insect Biochem. Mol. Biol.* **26**, 955-961 (1996).
- [4] Koga R. and Fukuhara T., *Viva Origino* **26**(3), 229-240 (1998).
- [5] Fukuhara T., *J. Plant Res.* **112**, 131-138 (1999).
- [6] Gibbs M.J., Koga R., Moriyama H., Pfeiffer P. and Fukuhara T., *J. Gen. Virol.* **81**, 227-233 (2000).

30 Evolution of Aminoacyl-tRNA Synthetase of Extreme Thermophilic Archaea, *Aeropyrum pernix* K1

Yoshiyuki Nagaoka¹⁾, Atsushi Kuno¹⁾, Yutaka Kawarabayashi^{2,3)}, Yoshihiko Sako⁴⁾, Yoshinori Koyama²⁾ and Tsunemi Hasegawa¹⁾

(¹) Faculty of Science, Yamagata University, ²⁾National Institute of Bioscience and Human-technology, ³⁾National Institute of Technology and Evaluation,
⁴⁾Graduate School of Agriculture, Kyoto University)

The sequences of the aminoacyl-tRNA synthetase (ARS) genes from extreme thermophilic archaea, *Aeropyrum pernix* K1 were analyzed by comparing with other archaea species. Several unique aspects were found to predict the evolutionary position of not only *A. pernix* but also another archeabacteria. Two ORFs encoding threonyl-tRNA synthetase (ThrRS) and alanyl-tRNA synthetase (AlaRS) were found by the sequence homology analyses. However, it seems likely that one of ThrRSs lacking conserved motif of class II ARS is a pseudogene. The structure of the active ThrRS is very unique in its quite compact N-terminal domain, and it is interesting to be found that the N-terminal truncated structure is similar to the mitochondrial precursors. It is more interesting that the active ThrRS is only synthetase from *A. pernix* in which sequence homology with the other archaebacteria is very poor though the rests of ARSs indicates a strong similarity to archaebacteria group. Surprisingly, results of sequence homology research showed that the organism being alike to the active ThrRS are not archaebacteria but primitive organisms, such as cyanobacteria or proteobacteria that are believed to the ancestors of organella. Because ThrRS is only synthetase which does not recognize the discriminator base of tRNA in the *Escherichia coli* system, studies on the molecular mechanism or recognition manner of ThrRS might be one of the key factor to predict the evolutionary position of the organism. As a striking feature, it was found that the shorter sequence of AlaRS lacking catalytic core existed only in archaebacteria, but not in eubacteria or eukaryote. This finding may indicate that the incomplete fragment is a trace of AlaRS in extending their polypeptide toward C-terminal in the evolutionary process of archaebacteria.

31 精製酵素の諸性質から見た *Thiobacillus novellus* シトクロム c オキシダーゼの進化的位置

The evolutional position of *Thiobacillus novellus* cytochrome c oxidase based on the various characters of the purified enzyme

戸辺真一、谷川 寛、庄子和夫、山中健生（日大・理工・物質応化）

Shin-ichi Tobe, Minoru Tanigawa, Kazuo Shoji and Tateo Yamanaka (Department of Materials and Applied Chemistry, College of Science and Technology, Nihon University)

硫黄酸化細菌 *Thiobacillus novellus* のシトクロム c オキシダーゼは、1 分子中に 2 ヘム *a* と 2~3Cu をもつミトコンドリアや他の細菌の酵素と異なり、分子質量 23kDa と 32kDa の 2 種類のサブユニット各 1 分子からなる最小構造単位中に 1 ヘム *a* と 1 Cu しか持たない。しかし、他のオキシダーゼと同様に還元型シトクロム c を酸化し、O₂ を H₂O へ還元する。ただし、プロトンポンプ活性は示さない。そしてこの単位の二量体になれば 1 分子中に 2 ヘム *a* と 2 Cu をもつことになり、他の生物の酵素のようにプロトンポンプ活性を示すようである。単量体 ⇌ 二量体の変換は ATP の存否により起きるのであるが (Fig.1)、この変換を起こさせるスクレオチドは調べた限りでは ATP のみであるのでこの活性は ATP により制御されていることになる。つまり、プロトンポンプ活性は ATP 合成に関連しているので、この酵素の ATP 合成への関与が ATP により制御されることになる。このような *T. novellus* シトクロム c オキシダーゼの分子形態と酵素活性の関係は、2 ヘム *a* と 2~3Cu をもちプロトンポンプ活性を示す完成されたシトクロム c オキシダーゼへの進化の途上にある酵素の姿ではないかと考えられる。*T. novellus* シトクロム c オキシダーゼはシトクロム c との反応において、*T. novellus* のシトクロム c との反応性はもちろん大であるが、ウマ、ウシのシトクロム c よりも酵母、マグロのシトクロム c との反応性が高い点でミトコンドリアのオキシダーゼとは異なっている。*T. novellus* に存在するシトクロム c オキシダーゼをコードする DNA は 2 種類が明らかになっている。そのどちらが精製酵素をコードするのか不明であるが、両者の塩基配列が *Bradyrhizobium japonicum* のシトクロム c オキシダーゼ (*aas* 型と *cbs* 型) をコードする DNA の塩基配列と非常によく似ている。従って、シトクロム c オキシダーゼの進化において二量体 ⇌ 単量体という変化でプロトンポンプ活性の調節が行われる酵素から、2 ヘム *a*、2~3Cu を持つ酵素、すなわち *T. novellus* の酵素の二量体が最小構造単位でプロトンポンプ活性を持つ酵素 (*aas* 型) に進化した可能性がある。

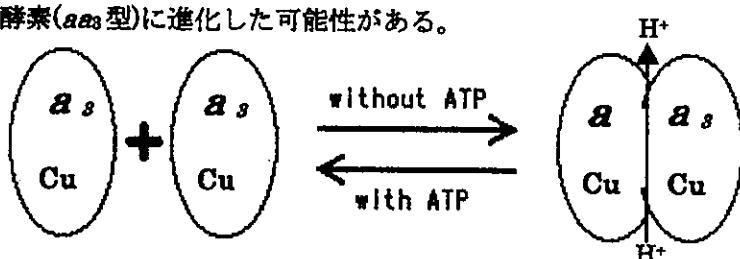


Fig. 1 *Thiobacillus novellus* シトクロム c オキシダーゼの ATP による分子形態変化

32

DNA 塩基配列に基づく *Thiobacillus novellas* シトクロム c
オキシダーゼの進化的位置

Evolutional position of *Thiobacillus novellas* cytochrome c oxidase
based on the DNA base sequence coding the enzyme

○牧口大旭, 林田伸吾, 高山勝行, 庄子和夫, 石塚盛雄*, 山中健生

(日大・理工・物質応化, *中央大・理工・応化)

Hiroki Makiguchi, Shingo Hayashida, Katsuyuki Takayama, Kazuo Shoji, Morio Ishizuka and Tateo Yamanaka
(Department of Materials and Applied Chemistry, College of Science and Technology, Nihon University,
*Department of Applied Chemistry, College of Science and Technology, Chuo University)

【緒言】 硫黄酸化細菌 *Thiobacillus novellas* は、有機物及び無機物のどちらを用いても生育に必要なエネルギーを獲得できる任意独立栄養化学合成細菌である。この細菌から精製されたシトクロム c オキシダーゼは、2種類のサブユニット各1分子からなる最小構造単位中に1ヘム a と 1 Cu しか持っていないという点で他の生物種のシトクロム c オキシダーゼとは異なる。この細菌の持つシトクロム c オキシダーゼをコードするDNAのクローニングにより、ゲノム DNA 中にはこのオキシダーゼをコードする遺伝子が少なくとも 2 つ存在していることが分かった。本研究ではこの 2 つの遺伝子のDNA 塩基配列を決定し、そこから推定されるアミノ酸配列を他の生物種のシトクロム c オキシダーゼのアミノ酸配列と比較し、この酵素の進化的位置の考察を試みた。

【実験】 まず、*T. novellas* から抽出したゲノム DNA を制限酵素によって消化し、それぞれの断片をλファージ DNA に挿入し、得られた DNA 断片をコートタンパク質で包み DNA ライブライアリとした。作成した DNA ライブライアリに PCR 法により増幅させた目的遺伝子の一部を作らせ、目的とする領域を含んだλファージを選別した。これにより約 20000 塩基の DNA 断片が挿入されたλファージを得ることができた。選別されたブラークからλファージ DNA を精製し、λファージ DNA に挿入された DNA 断片をプラスミド DNA に組み替え、得られた組み替えプラスミドの塩基配列をダイデオキシ法により決定した。

【結果と考察】 シーケンスより得られた塩基配列をアミノ酸配列に翻訳し、他の生物種のシトクロム c オキシダーゼのアミノ酸配列と比較した。その結果を Table. 1 にまとめた。特に根粒菌 *Bradyrhizobium japonicum* の 2種類のシトクロム c オキシダーゼと高い相同意性が見られた。*Paracoccus denitrificans* シトクロム c オキシダーゼがミトコンドリアのものと近い位置にあるのに対して、*T. novellas* シトクロム c オキシダーゼは、むしろ窒素固定細菌等のものと近い位置にある。これより、*T. novellas* のシトクロム c オキシダーゼは進化的に初期の様相を呈しているのではないかと推測される。

	Identity			
	EMBL1	EMBL2	FIX1	FIX2
<i>B. japonicum</i>	79%(aas)	66%(aas)	79%(bb ₃)	63%(bb ₃)
<i>R. leguminosarum</i>	75%	N/A	40%	N/A
<i>N. winogradskii</i>	74%	66%	40%	26%
<i>R. sphaeroides</i>	N/A	45%	N/A	28%(aa ₃)
<i>R. prowazekii</i>	66%(aas)	56%(aas)	41%(aas)	25%(aa ₃)
<i>P. denitrificans</i>	61%(aas)	48%(aas)	39%(aas)	27%(aa ₃)
<i>P. aeruginosa</i>	55%	37%	40%	28%
<i>Halobacterium</i>	42%	31%	27%	30%
Human	61%	N/A	38%	27%

Table. 1 *T. novellas* の 2種類のアミノ酸配列[(EMBL1, EMBL2)と(FIX1 と FIX2)](1, 2 はそれぞれサブユニット 1, 2 を表す)と他生物種のシトクロム c オキシダーゼのアミノ酸配列の比較

コケ植物種における希土類元素分布とその他元素の集積
 Distribution Pattern of Rare Earth Elements and Accumulation of Other
 Elements in Different Bryophytes

○川本圭造、高田実弥、隅野照家、赤星光彦（京大・原子炉）

Keizo Kawamoto, Jitsuya Takada, Teruie Sumino and Mitsuhiro Akaboshi
 (Research Reactor Institute, Kyoto Univ.)

【はじめに】コケ植物(苔類)は、水中緑色藻類のシャジク藻から進化した初期の陸上植物群と考えられている。コケ植物は維管束を持たず、根は仮根とよばれ固着の役割が主で、養分の摂取は体表面全体で行っている興味ある陸上生物である。コケ植物自体小さな生物で形態は単純なために形質の情報に乏しく、いまだ系統的分類は確立されたといえない。我々はコケ植物中無機元素の分析を通してコケ植物の特性を調べているが、前回の講演会ではコケ植物中希土類元素のなかで特定の元素を選択的に集積する種の存在など種による特異性に関し報告した。今回、コケ植物中の希土類元素濃度とその他の元素濃度との関連などについて検討した。

【実験】大台ヶ原をはじめ各地で採取したコケ植物の茎葉部を純水で洗浄後乾燥して秤量、放射化分析と ICP-MS 分析に供した。土壤等試料はコケ植物の仮根周辺から採取し、粉碎・乾燥して分析した。放射化分析では、各試料を短寿命核種用と中長寿命核種用に秤量し、それぞれ原子炉(KUR)で 30 秒間と 1 時間中性子照射した後、核種測定を行った。ICP-MS 分析では、各試料を高純度硝酸に溶解、純水で濃度調製した後に Yokogawa HP-4500 の分析に供した。

【結果と討論】各試料中の希土類元素濃度と生育土壤中濃度の比(濃縮係数)から得られた希土類元素分布のパターンを Fig. 1 に示す。図は蘚類の中で高い値のシノブイトゴケとコクシノハゴケ、低い値のスナゴケ、および苔類であるジャゴケの希土類元素濃度比パターンを示した。分析した 30 以上の蘚類の濃縮係数は、スナゴケの平均値(約 0.04)とシノブイトゴケの平均値(約 0.30)の範囲にほぼ収まるが、苔類のジャゴケやゼニゴケの濃縮係数は 0.02~0.04 の範囲にあり、蘚類の低い値の種よりもさらに低い値であった。コケ植物の根が未発達であることを考慮し、濃縮係数がコケ植物種の摂取能力に依存すると仮定すると、蘚類より先に発生した苔類は生育環境から元素を取り込む仮根等の能力が苔類に比較しより低いと考えられる。コケ植物の希土類以外の元素を分析したところ、Na, Al, K, Ca など約 30 元素を検出した。希土類元素の濃縮係数が 0.02~0.3 の範囲であるのに対し、K, Ca, Cu, Zn の濃縮係数は高く、多くの試料で 1.0 以上であった。これらの元素が生育土壤中濃度を超え摂取・蓄積されていることは、上記元素の必須性を裏付けている。ところで Fe も必須元素であるが濃縮係数は 0.1 程度であり、有用元素の Na, Co と同程度か低めで、コケ植物の元素選択性を示している。これらの元素間および希土類元素間の散布図から、元素間の関連性について検討する。

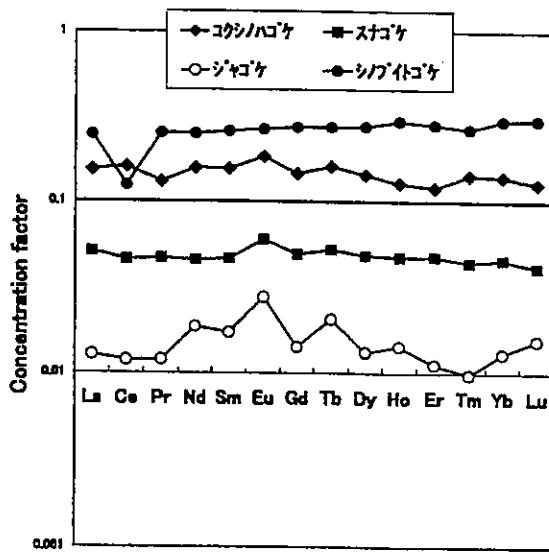


Fig. 1. Relative REE patterns in different organisms.

34

D-トリプトファンに対する酵素活性を上昇させる方法とそのメカニズム

A way that makes enzyme activity for D-tryptophan enhance, and its mechanism

○島田秋彦(筑波大・応用生物化学系)

Akihiko Shimada

(Institute of Applied Biochemistry, University of Tsukuba)

【はじめに】これまでトリプトファナーゼとD-トリプトファンの反応を通して酵素の光学異性体の選択機構について検討してきた。この機構を調べる上で、適度に高い活性を得ることが不可欠だが実際は基質がL-トリプトファンであるときと比べると、0.5%程度の低活性しか得られていない。本研究では、反応条件を再検討し活性を高める条件を探した。その結果、高温で反応させること及び γ 線で低照射されたトリプトファナーゼを用いれば酵素活性を高めることができることがわかった。

【実験】反応温度とリン酸水素2アンモニウム濃度以外は反応溶液の組成はこれまでと同じである。温度及びリン酸水素2アンモニウム濃度をいろいろ変化させ、どのような組み合わせのときに最大活性をもつのか調べた。また、このような温度・リン酸水素2アンモニウム濃度条件下でD-トリプトファンのラセミ化が起きるのかどうかも調べた。さらにトリプトファナーゼを γ 線で低照射しその酵素活性を調べた。

【結果と考察】反応温度及びリン酸水素2アンモニウム濃度について検討したところそれぞれ62°C, 40%飽和のとき最大活性が得られた。率にして今までの活性の約30倍であった。また62°Cという高温にもかかわらずD-トリプトファンはラセミ化を起こしていないかった。次に γ 線で低照射したトリプトファナーゼを実験に供したところ、さらに約10%の活性上昇が見られた。このことから、D-トリプトファンに対する活性を上昇させる要因として、温度や γ 線が非常に重要なが後者よりも前者の方がはるかに影響が大きいことがわかる。これは、おそらく酵素の立体構造変化への寄与以上にトリプトファン分子と水の相互作用がキラリティーの保持に大きく関与しているのではないかという示唆を供給する。それゆえ、今後はアミノ酸分子と水分子の関係を検討することが重要ではないかと思われる。以上から本研究の結果は、同一の反応条件で基質がL-トリプトファンとD-トリプトファンであるときのトリプトファナーゼの反応を比較することを可能にしたことを見せるものである。このことは酵素の立体選択性の仕組みの解明について貢献するものと思われる。

Expression of Human D-beta-Aspartate in Lens-Derived Cell Line

Dawei Yang, Noriko Fujii, Yoshiko Tanaka

Research Reactor Institute, Kyoto University, Kumatori,
Sennan, Osaka 590-0494, Japan.

Introduction: Alpha-crystallin is composed of α A- and α B-crystallins. α B-crystallin is one of the small heat shock proteins. We previously identified a biologically uncommon D-isomer at Asp-58 and Asp-151 in α A-crystallin, and also at Asp-36 and Asp-62 in α B-crystallin, from aged human lenses. We prepared a highly specific polyclonal antibody against D- β -Asp-151-containing α A-crystallin. In this study, we examined the expression of human-D- β -aspartate containing α A-crystallin in lens-derived cell lines by western blot analysis using the above antibody.

Materials and methods: Two lens-derived cell lines, α TN4-1 cells and N/N1003A cells, were used mainly in this study. Since these cells retain lens-specific functions in long-term culture, they provide a stable system for investigating the regulation of crystallin gene expression in lens research. Proteins were analyzed and electrophoresis was performed using SDS-PAGE. Proteins were determined by immunoblotting as an usual method. This first antibodies used in this study were 1) anti-D- β -aspartate containing protein, 2) anti- α A-crystallin, 3) anti- α B-crystallin, 4) anti-HSP27, 5) anti-HSP70.

Results and discussion: Western immunoblot analysis showed that only N/N1003A cell line expressed the human-D- β -aspartate containing protein with 50 kDa. This protein, which has mass of 50 kDa, was also stained by antibody against α A- and α B-crystallin as well as HSP70 protein. This D- β -Asp-151 containing protein may share the similar common amino acids sequence of a part of α A- and α B-crystallin as well as HSP70 protein. We are going to characterize this protein using the Protein Sequencer and Mass Spectrometry.

36

老化によるヒト水晶体中の alphaA-クリスタリンの Asp-58 残基の反転、異性化と白内障

Inversion and Isomerization of Asp-58 Residue in
alphaA-crystallin from Aged Human and Cataract Lenses

○松本佐和子、廣木孝典、藤井紀子（京都大学原子炉実験所）
Sawako Matsumoto, Kosuke Hiroki, Noriko Fujii
(Research Reactor Institute of Kyoto University)

【目的】我々は現在までに老人の水晶体から得た alphaA-クリスタリンの Asp-151 残基及び Asp-58 残基に部位特異的な反転(D-体化)と異性化(beta化)が生じている事を報告してきた。今回は60歳代の正常水晶体と同年齢の白内障の水晶体から得た alphaA-クリスタリン中の Asp-58 残基の異性体分析を行い、異性体の存在率を正常水晶体と白内障水晶体で比較したので報告する。

【方法】60歳代の正常な水晶体、白内障の水晶体(各々5例)から alphaA-クリスタリンを単離精製し、トリプシン処理後、各ペプチド断片を逆相クロマトグラフィー(RP-HPLC)によって、分離、分取し、Asp-58 残基を含む T6 ペプチドをアミノ酸組成、アミノ酸配列、質量分析で同定した。次いで、このペプチドを加水分解し、アミノ酸の光学異性体分析を行った。

【結果と考察】白内障、正常の水晶体から得た alphaA-クリスタリン中の Asp-58 残基は L-体から D-体への反転 (D/L of Asp-58 > 1.0) が見られ、同時に隣接残基との結合が alpha型から beta型へ変化する異性化反応も生じていた。白内障水晶体の Asp-58 残基は正常な水晶体と比較すると D/L 比は低くなり、beta/alpha 比は増加した事から、L-beta 化が優先していることが解った。従来の研究結果より Asp-58 残基の D-beta 化は、alphaA-クリスタリンの Asp-58 残基周辺の構造が native な高次構造を保持しているときに限って観察されていたので、本実験の結果から、白内障の alphaA-クリスタリンの Asp-58 残基の周辺構造は native な高次構造を失っていると考えられた。

37

電離放射線照射による alpha-クリスタリンのシャペロン機能 への影響および翻訳後修飾

Correlation Between Loss of Chaperone-like Activity, and Oxidation,
Isomerization and Racemization of Gamma-ray Irradiated Alpha-crystallin

○廣木孝典、松本佐和子、赤星光彦、藤井紀子（京大原子炉）
Kousuke Hiroki, Sawako Matsumoto, Mitsuhiko Akaboshi, Noriko Fujii
(Kyoto University Research Reactor Institute)

【目的】ヒトの水晶体の alphaA-Crystallin は老化と共に様々な翻訳後修飾(Asp-151, Asp-58 残基のラセミ化および異性化, Met-1 残基の酸化など)を受けていることが知られている。今回はこれらの翻訳後修飾と alpha-Crystallin の Chaperone 機能との相關関係を明らかにするために、ウシの alpha-Crystallin にガンマ線を照射し、照射後の alpha-Crystallin の Chaperone 機能の低下と翻訳後修飾、構造変化との相関について検討した。

【方法】ウシの alphaA-Crystallin にガンマ線を 0Gy, 1kGy, 2kGy, 3kGy, 4kGy 照射した。照射後の alpha-Crystallin の Chaperone 活性は beta-Crystallin の熱凝集阻害として 350nm の濁度測定によって評価した。照射後の alpha-Crystallin の 2 次構造の変化は CD で測定した。次いで、ガンマ線照射後の alpha-Crystallin を trypsin 处理し、得られた peptide 断片を RP-HPLC によって分取し、peptide mapping を行った後、Asp-151 残基のラセミ化、異性化率を測定した。また、Met-1 残基の酸化についても質量分析によって決定した。

【結果】ガンマ線照射線量の増加に伴い、alpha-Crystallin の Chaperone 活性は著しく減少した。(Figure 1) ガンマ線照射による 2 次構造の変化はなかったが、照射線量の増加に伴い、SDS-PAGE 上で alpha-Crystallin の高分子化が顕著に見られた。また、alphaA-Crystallin の Asp-151 残基の alpha 結合から beta 結合への異性化(Figure 2) 及び、Met-1 残基の酸化は線量依存的に増加した。beta-Asp-151 の D/L 比は照射線量の増加とともに減少したが alpha-Asp-151 では変化はなかった。(Figure 3)

【結論】老化水晶体と同様にガンマ線照射によつても alphaA-Crystallin の Asp-151 残基に反転と異性化が見られた。この結果は Asp-151 残基が部位特異的に立体配置上、不安定であることを示している。また、Met-1 残基の酸化は Methionine sulfone として観察された。これらの反応により、alphaA-Crystallin の立体構造に変化が生じ、Chaperone 機能の低下に関与していると考えられる。

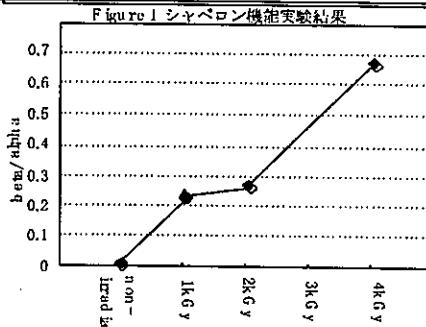
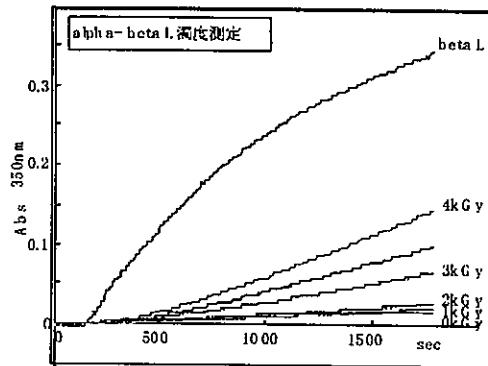


Figure 1 シャペロン機能実験結果

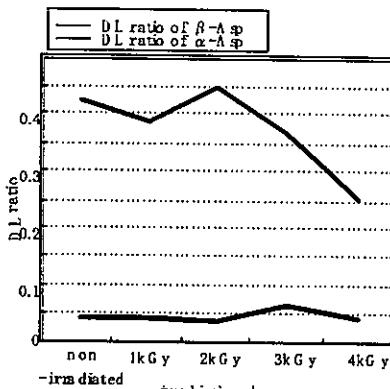


Figure 3 ウシのalpha A-クリスタリンの Asp-151のD/L比の存在比

38

紫外線照射によって増加する皮膚の D-beta-Asp 含有タンパク質の性質

Characterization of D- β -aspartate-containing protein in human skin by UV-irradiation

○藤井紀子（京大原子炉）、多島新吾（防衛医大皮膚科）、

下岡正志（旭テクノグラス）、赤星光彦（京大原子炉）

Noriko Fujii, (Res. Reactor Inst., Kyoto Univ.), Shingo Tajima (National Defense Medical College), Tadashi Shimooka, (Asahi Techno Glass Corp.) and Mitsuhiro Akaboshi (R. R. I., Kyoto Univ.)

【目的】我々は今までにヒトの水晶体から得た alpha A-クリスタリンの Asp-151 残基が部位特異的な反転と異性化 (D-beta-Asp 化) を生じ、それが老化と共に増加する事を報告してきた。昨年の本大会ではこの Asp-151 残基周辺と同一配列の D-beta-Asp 含有ペプチドを合成し、これに対する特異的な抗体を調製し、この抗体によってヒト水晶体中の D-beta-Asp 含有タンパク質の局在を明らかにした。本研究では同一抗体を用いて老人の皮膚に D-beta-Asp 含有タンパク質を見出したので、その生化学的性質と紫外線による本タンパク質の増加について報告する。

【方法】D-beta-Asp 含有タンパク質を特異的に認識する抗体はヒト alpha A-クリスタリンの 149-153 残基に相当する Gly-Leu-D- β -Asp-Ala-Thr ペプチドの 3 回繰り返しペプチド Gly-Leu-D- β -Asp-Ala-Thr-Gly-Leu-D- β -Asp-Ala-Thr-Gly-Leu-D- β -Asp-Ala-Thr を抗原として、調製した。この抗体が D- β -Asp 含有ペプチドのみに特異的に反応することは昨年報告した。本抗体を用いてヒトの皮膚の免疫組織染色、及びヒトの皮膚の GuHCl 抽出画分タンパク質の Western blotting を行い、ついで、trypsin 処理を行い、ペプチドマッピングを行った。

【結果と考察】ヒトの皮膚の免疫組織染色の結果、老人の顔の皮膚に特異的に D- β -Asp 含有タンパク質が存在し、幼児の顔の皮膚には存在しないことが明らかとなった。しかし、同じ老人の皮膚でも通常、紫外線に曝されていない腹部や胸部の皮膚では存在しなかった。次いで、老人の顔の皮膚のタンパク質の GuHCl 抽出画分を SDS-PAGE にかけ、上記抗体で Western blotting を行ったところ、分子量 50KDa に positive band を得た。また、このバンドはエラスチン抗体、ケラチン抗体の両方に染色された。しかし、エラスチン、ケラチンとも、インタクトな分子量は 50KDa 以上であるので、本タンパク質は両者の分解物と考えられた。この band を切り出し、trypsin 処理を行い、ペプチドマッピングを行ったところ、そのペプチド断片からケラチン分解物が有力と推定されたが、まだ結論には至っていない。現在詳細に検討中である。本抗体を用いることにより、水晶体だけでなく他の老化組織にも広く応用できることが示唆された。

放射線耐性細菌の赤色色素による放射線耐性機構
 The Radioresistant Mechanism of the Radioresistant Bacteria
 by the Red Pigments

齊藤 剛 (京大・原子炉)

Takeshi Saito (Research Reactor Institute, Kyoto University)

【緒言】自然界には極めて過酷な環境下でも生存可能な生物種が存在するが、そのうち放射線耐性を示す細菌の共通の特徴として赤色色素を含有していることが知られている。このことよりこれら赤色色素が放射線耐性細菌の放射線耐性能に寄与している可能性が考えられる。しかし、これら放射線耐性細菌含有赤色色素の構造はこれまで報告されてこなかった。そこで、既知の放射線耐性細菌の中で最も高い耐性度を有する *Rubrobacter radiotolerans*、および最も良く研究が行われている *Deinococcus radiodurans* の主成分赤色色素の構造解析を行った。ところで、放射線の生物に対する影響は主に水の放射線分解により始まるラジカル反応であると考えられている。そこで、これら色素のラジカルスカベンジング活性を解析し、放射線耐性細菌の含有赤色色素による放射線耐性機構について検討した。

【方法】1: 各細菌より主成分赤色色素を抽出し、逆相 HPLC 等により分離、精製を行った。このようにして得られた精製色素に対し、各種化学テストおよび可視吸収、各種 Mass、各種 NMR、CD スペクトル測定等による構造解析を行った。2: 各精製色素を [$2\text{-}^{14}\text{C}$] チミンとともに SDS によりリン酸緩衝液中にミセル化し溶解させた。この溶液に対し γ 線照射を行い、照射試料を TLC 上で 2 次元展開し、チミンの残存量をラジオクロマトスキャナーで定量することにより色素のラジカルスカベンジング活性の解析を行った。また、効率的なラジカルスカベンジャーとして知られている β -カロテンおよび L-システインについても同様の系においてラジカルスカベンジング活性の解析を行い比較検討した。

【結果と考察】*R. radiotolerans* の主成分赤色色素はこれまで好塩性古細菌に特有であるとされてきた特殊な構造を持った C_{50} -カロテノイドである bacterioruberin と同定された。また、*D. radiodurans* の主成分色素は新規カロテノイドであることが明らかとなり、その構造は $(2R)\text{-}2,1'\text{-dihydroxy-}3',4'\text{-didehydro-}1',2'\text{-dihydro-}\beta,\psi\text{-caroten-4-one}$ であると決定された。さらに、bacterioruberin および $(2R)\text{-}2,1'\text{-dihydroxy-}3',4'\text{-didehydro-}1',2'\text{-dihydro-}\beta,\psi\text{-caroten-4-one}$ は本研究の解析系においてチミンの分解を色素非存在状態と比較してそれぞれ 5.3 倍および 4.0 倍抑制した。一方、 β -カロテンおよび L-システインはどちらも 2.5 倍の抑制効果しか示さなかった。このことより放射線耐性細菌含有主成分赤色色素は高いラジカルスカベンジング活性を有することが明らかとなった。これらのことと、これら赤色色素が細胞内において細胞膜等細胞表層脂質部位に局在していることより、これら赤色色素が放射線により生成したラジカルを効果的にスカベンジングし、細胞膜等の脂質過酸化を抑制することにより放射線耐性細菌の放射線耐性能に寄与しているという生体防御機構の存在が示唆された。

3 Dimensional Meshwork Structure of Vitreous Body

Makoto Kodama^{1,2}, Masayo Ogiso¹, Yuko Momose¹, Noriko Fujii³, Shinobu Ojima⁴, Toyoaki Matsuura⁵, Yoshiaki Hara⁵, Mototsugu Saishin⁵ and Aizo Yamauchi⁵

1. National Institute for Advanced Interdisciplinary Research, Tsukuba, Ibaraki 305-8562, Japan
2. National Institute of Bioscience and Human Technology, Tsukuba, Ibaraki 305-8566, Japan
3. Research Reactor Institute, Kyoto University, Kumatori, Sennan, Ohsaka 590-0494, Japan
4. The University of Tsukuba, Tsukuba, Ibaraki 305-8577, Japan
5. Nara Medical University, Kashihara, Nara 634-8521, Japan

(Received for publication, 20 February 2001)

Abstract

It was found by light microscopic observation, using phosphomolibdenic acid hematoxylin and Alcian blue stains, that vitreous body has a three-dimensional meshwork structure and the beads are located at positions of joints in the fibrils. The HA coats the outer surface of the meshwork fibrils and the beads. The protein beads may reinforce the whole meshwork structure. One of non-collagenous protein beads is identified as α A-crystallin, which is a major component of the lens. It was suggested that vitreous liquefaction is induced by deformation of meshwork fibril structure and detachment of the non-collagenous protein beads, located at the joint of meshwork structure, resulting in the collapse of the structure to release watery liquid trapped within the meshwork.

Introduction

The vitreous body is a transparent matrix that fills the posterior cavity of the eye, occupying more than two thirds of the intraocular volume. The mammalian vitreous body is a hydrophilic gel with a water content higher than 99%. It provides ideal support for the retina and allows light to reach the retina and metabolic solutes to diffuse.

Due to the highly viscous hydrogel, the precise structure of the vitreous body has not yet been clarified, although some fibrous structures have been identified (1,2) within the vitreous body. The model proposed by

Balazs (3) shows that the vitreous body is composed of a sparse, random meshwork of collagen fibrils and that HA is dissolved in the interstices of the collagen fibrils without chemical links to the collagen. It has been thought that polymeric HA may adopt a random coil configuration and that the high viscosity of HA in solution is due to entanglement. But, a vitreous liquefaction phenomenon of phase change from gel to sol cannot be explained by this model. Recently, the vitreous body of most mammals has been shown to contain three polymeric components, namely, collagen, HA, and beaded fibrils (4,5). However, the composition and function of these beads have remained unknown. It was suggested (6) that the beads may serve to stabilize the three-dimensional structure of vitreous body.

With aging, in the human vitreous body there is a localized breakdown of the gel structure, with aggregation of the fibrils (7), which appears to be a frequent precursor to retinal detachment, resulting in liquefaction which means the phase transition from gel to sol. The liquefaction of the vitreous body is the most common degenerative change occurring in senile conditions, which sometimes cause damage to the eyesight. Interleukin 1 β (8) and light (9) may be the potent factors to induce this liquefaction.

When the vitreous body of rabbit is melted at the room temperature from the frozen state (-20°C), it is liquefied and separated into two phases, namely, more tight gel phase and aqueous phase. This is considered to be a good model to reveal about the liquefaction. We studied the structure of the vitreous body, by using this model to make clear the mechanism of liquefaction.

Methods

This experiment conformed to the ARVO Resolution on the Use of Animals in Research.

Preparation of specimen for microscopic observation

Rabbit's eyes were dissected usually within 1 hour after sacrifice by excess extracorporeal injection of pentobarbital (100 mg/kg). The specimens were first prefixed with 2 M glutaraldehyde solution for 20 min. and small incisions were made on the outer surface of the eyeball, which reached the vitreous humor near the nerve to allow entry of fixing reagents. Eyes were further fixed with 2 M glutaraldehyde solution for 5 min., and then with 10% formaldehyde in phosphate buffer (pH 7.5) for 1 day. This

method is essentially the same as Kobayashi's method (10).

The samples were stained by the following methods, phosphomolibdenic acid hematoxylin stain (11). They were examined on a Leica Microscope LMD at both visible and dark phase.

Glucosaminoglycan analysis

After digestion of the samples by actinase E and chondroichinase ABC, the aliquots were applied to HPLC with ion exchange column and each glucosaminoglycan (GAG) components were determined. GAG is analyzed by Seikagaku Industry Co.Ltd.

Amino acid analysis of gel and sol after liquefaction

The peptides were hydrolyzed with gas-phase 6 n HCl in vacuo at 108°C for 24 hrs (PicoTag Work Stations, Waters). The amino acids were derivatized by 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamate and analyzed by RP-HPLC (Schimazu LC 10AD) with an AccQ column (3.9 x 150 mm, Waters), using fluorescence detection (250 nm excitation wavelength and 395 nm emission length).

Amino acid sequence of protein beads

The sample was digested with lysyl-endoprotease (Wako Pure Chemicals) for 5 h at 35C in a 10 mM Tris-HCl buffer, pH 9.0. The resulting peptides were fractionated by reversed-phase (RP)-HPLC (Schimazu LC 10AD), and analyzed by a protein sequencer. Amino acid sequences were determined by Edman degradation on a pulsed-liquid protein sequencer, equipped with an on-line phenylthiohydantoin (PTH) amino acid analyzer (Applied Biosystems 477A/120A, Foster City, CA, U.S.A.).

Two-dimensional gel electrophoresis of the sol

The sols of vitreous humors were dissolved in .6M urea, 5%(v/v)TritonX-100, 2%(v/v), 2 mercaptoetanol. 2%(v/v) Ampholyte (pH3-10) and a small quantity of bromo-phenol blue. The immobiline DryStrips pH3-10 were rehydrated with 8M urea, 5%(v/v)TritonX-100, 10mM dithiothreitol, and 1M acetic acid at least 6h at room temperature. After the 1-st dimension run, the gels were incubated with SDS equilibration solution A (0.05M Tris-HCl, 6M urea, 30%(v/v)glycerol, 1%Sodium Dodecylsulfate and 16.2mM dithiothreitol) and SDS equilibration B (0.05M Tris-HCl, 6M urea, 30%(v/v) glycerol, 1%Sodium Dodecylsulfate, 243mM iodoacetamide, and a small quantity of bromophenol blue) for 10min at room temperature, respectively. 1-st dimensional gels were placed at the surface of the Exel Gel SDS (2-nd

dimensional gel, 8-18%gradient) catiodic side.

Results

A typical meshwork structure of a rabbit native vitreous body is shown in Fig. 1. Bead-like substances of 5-8 μm in diameter are present at most joints of the fibril meshwork (Fig. 1 arrowheads). This meshwork structure is more clearly observed by dark phase picture, rather than by phase contrast or bright phase.

When the vitreous body is melted from the frozen state (-20°C) (hereinafter this deformed vitreous body is designated as the melted vitreous body), the melted vitreous body is changed into two phases, that is, associated fibrils (arrowhead A, Fig. 2A) and amorphous aggregates (arrowhead B, Fig. 2B). Beads were not detected at the joints of the associated fibrils of the melted vitreous body in Fig. 2A. The amorphous aggregates seem to be released from the associated fibrils (Fig. 2B).



Fig. 1 Cross section of an native eye of rabbit dark phase image (bars 50 μm) by phosphomolibdenic acid hematoxylin stain.

The gel of the melted vitreous body has HA of 91.4 $\mu\text{g}/\text{ml}$, ChS of 12.4 $\mu\text{g}/\text{ml}$. HA is a major component of GAG in vitreous body. And the sol of the melted vitreous body has just HA of 18.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$. After liquefaction, most of HA still remain in gel.

The proteins released from the amorphous aggregates in Fig. 2B, which correspond to the proteins, underwent amino acid analysis. Column A of Table 1 shows that these proteins are not collagenous substances. The hydrogel of the melted vitreous body is mainly a collagenous substance, making up approximately 70% of the protein of the hydrogel, as estimated from the hydroxyproline ratio (column B, Table 1). These results indicate that collagen is the main protein of the meshwork of the vitreous body and that the beads are composed of non-collagenous proteins.

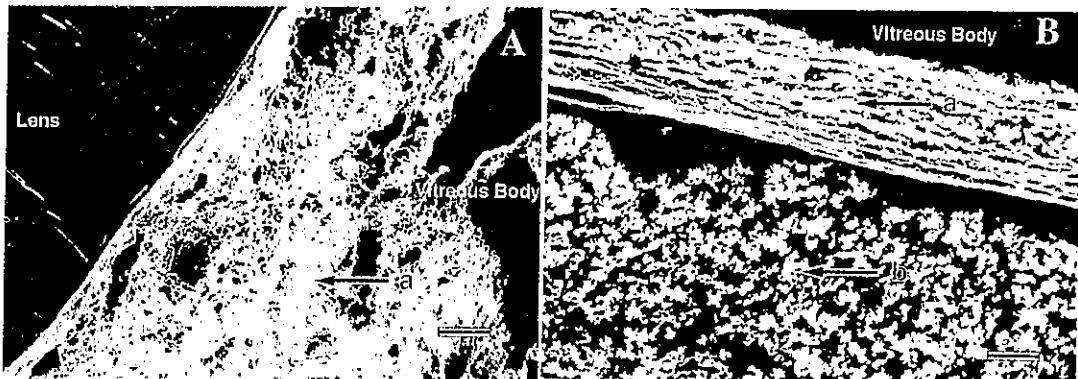


Fig. 2 Cross section of the melted vitreous body of dark phase image (bars $50\mu m$) by phosphomolibdenic acid hematoxylin stain.

(a) associated fibrous area (arrow A), (b) associate fibrous area (arrow A) and amorphous aggregates area (arrow B)

Amino Acid	A	B
Hy-Pro	0	94
Asp	88	67
Ser	52	39
Glu	182	111
Gly	71	215
His	23	9
Arg	22	33
Thr	29	21
Ala	84	78
Pro	51	76
Cys	9	0
Tyr	13	11
Val	79	48
Met	8	20
Lys	66	27
Ile	45	44
Leu	115	83
Phe	63	54
Total	1000	1000

Tabel 1 Amino Acid Analysis of Vitreous Body. Non collagenous substances (Column A) released from the melted vitreous body and collagenous substances (Column B) from associated fibrils - opaque hydrogels.

The soluble proteins obtained from the melted vitreous body (protein beads) were directly applied to the protein sequencer. However, these proteins could not be analyzed because of N-terminal blocking. After digestion by the protease, the resulting peptides were separated by HPLC. The fractions were collected, and aliquots of the samples were analyzed by a protein sequencer. One of the peaks was determined as VQSGLDAGH and according to the database

(BLSTO), the sequence was consistent with V146QSGLDAGH of the α A-crystallin fragment of lens(12). The two-dimensional gel electrophoresis patterns of the soluble proteins from native and melted vitreous bodies are presented in Fig. 3. There was little protein in the solution of the native vitreous body (Fig. 3A). On the other hand, the pattern of the melted vitreous body (Fig. 3B) clearly shows many kinds of soluble proteins, with molecular weights ranging from 20,000 to 35,000, were observed (Fig. 3B).

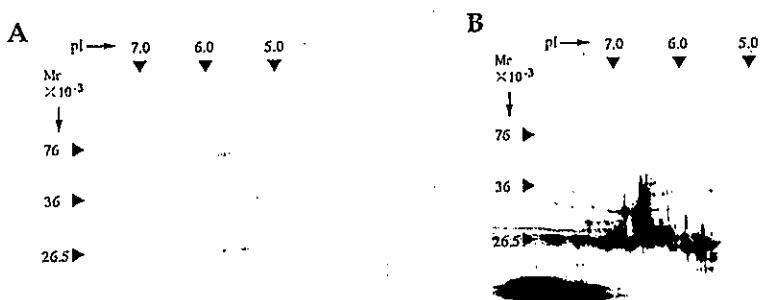


Fig. 3 Two-dimensional gel electrophoresis patterns of soluble proteins obtained from native and melted vitreous bodies. (A) soluble proteins of the native vitreous body, (B) soluble proteins of the melted vitreous body.

Discussion

A typical meshwork structure of a rabbit native vitreous body, of which the fibrils diameter are 2-4 μm , can be observed as shown in Fig. 1. This meshwork structure of vitreous body could not be detected with hematoxylene eosin stain or Azan stain. It may due to the surface chemical structure of hyaluronic acid. Bead-like substances of 4-6 μm in diameter are present at most joints of the fibril meshwork as shown by arrow in Fig. 1. It is suggested from the results of GAG analysis that HA does not exist in the vitreous body as amorphous hydrogel or as dissolved state, but as stable biding state with collagen. HA is a major (about 90%) glucosaminoglycan component of rabbit vitreous (GAG analysis). In this experiment, the role of chondroitin sulfate, which occupies about 10% of vitreous gel, is not clear. The glycosaminoglycans of the vitreous (HA and chS) aggregate with themselves and with each other in solution (13). It was found (14) that depolymerization of all vitreous hyaluronan and

of chondroitin sulfate rested in gel wet weight reduction but not gel destruction.

Many paper (14,15,16) pointed that there are collagen fibers in vitreous not binding with hyaluronic acid. But, Azan or van Gieson stain for connective tissue cannot reveal existence of collagen in native and normal vitreous. It is very clear that the connective tissues in vitreous body do not exist separately or expose to outside of fibrils.

Asakura (17) found that ruthenium red positive glycosaminoglycans exist as amorphous masses on collagen fibrils, as well as filaments interconnecting collagen fibrils and amorphous materials. It is proposed that HA binds with collagen fibrils via chondroitin sulfate.

This meshwork can hold so much watery liquid in vitreous body to form gel-like structure. After liquefaction, the structure is changed into the two phases. One phase is associated fibrils as Fig.2 (A) shows, which do not have the beads. The native meshwork fibrils are easily associated each other to release watery liquid, after detachment of the beads. Another phase is amorphous aggregates as Fig.2(C) shows, which are detached from the meshwork structure. After washing the melted vitreous body with saline, the amorphous aggregates as Fig.2(C) shows were not observed except the associated fibrils. The amorphous aggregates are water-soluble and thought to be the beads assembly.

From the results of two dimensional gel electrophoresis, it is also revealed that these soluble proteins (Fig.3B) were released from the meshwork structure after being melted. Before liquefaction, any proteins were not detected in Fig.3A. These beads proteins are different from collagen (Table 1). This result can be compared with Davidson's result (4), which also show non-collagenous substance of beads.

One of the beads proteins was identified as α A-crystallin by amino acid sequence study. α A-crystallin is one of the main components of the lens (18) and a lens-specific protein, even though it is expressed in non-ocular tissues (19). This is the first observation of the presence of α A-crystallin in the vitreous body, suggesting that there is a relationship between the lens and the vitreous body and the beads have α A-crystallin. Other type crystallins were also found in vitreous (20, 21). It was found that α B-crystallin (22) appear in the subendothelial region of Schlemm's canal and outer corneosceleral in normal eye.

What is the mechanism of liquefaction? Liquefaction is a sort of phase transition from gel phase to sol phase. If water (like aqueous humor) merely is trapped as binding waters of hyaluronic acid in vitreous body, this phase transition is not easily elucidated. If aqueous is trapped with three dimensional meshwork structure of hyaluronic acid-collagen fibrils as shown in this study, this aqueous is easily released from the meshwork after this structure is broke down. This break down trigger may be detachment of beads protein from the joint of meshwork structure. It was suggested (2) that the gel vitreous can be liquefied by removing or destroying the collagen fibrillar network. The former can be achieved by filtration or by centrifugation, the latter by homogenization or by digestion with proteases (collagenases) which destroy the fibrillar collagen. The residue after filtration or the sediment after centrifugation was called "residual protein". In this experiment, the residual protein itself must be beads proteins.

There are so many works (4,6,17) which show very small fibrils and beads by transmission electron micrograph. On the other hands, Worst (5) found a characteristic fine structure in vitreous consisting of a number of radially and concentric running wavy lines, in a fairly complex arrangement. It may be due to the difference of the structural hierarchy, namely, macroscopic revel (100~1000 micron), microscopic revel (10~100 micron), and electron microscopic revel (0.1~10 micron). It seems likely that the structure of microscopic revel is also very important to elucidate the physical changes in liquefaction. It is very clear that the connective tissues in vitreous body do not exist separately or expose to outside of fibrils. It was also revealed by the transmission electron micrographs (23) that some collagen fibrils in human vitreous appeared to be packed in a bundle of parallel fibrils to form big fibrils of diameter 10~20 μm . And the existence of amorphous beads like substance of diameter 10~40 μm were also observed. The three dimensional structure of the vitreous (2) is thought to be formed by water-insoluble collagen fibrils, of which are remarkably uniform in diameter (10 ~ 20 μm).

Our results suggest that vitreous body is not merely support hydrogel to retina, but has functional structure and some relationship with lens and other eye tissues. And furthermore, it is necessary to reveal the native vitreous body at native state.

REFERENCES

- (1) Berman, E.R. (1991). Vitreous. In *Biochemistry of the Eye* (Ed. Graymore, C.N.) 291-307. Plenum Press: New York.
- (2) Balazs, E.A. and Denlinger, J.L. (1984). The Vitreous. In *The Eye* (Ed. Davison, H.) Vol.1, 533-589. Academic Press: London.
- (3) Balazs, E.A. (1961). Molecular morphology of the vitreous body. In *The Structure of the Eye* (Ed. Smelser, G.K.) 293-310. Academic Press: New York.
- (4) Davison, P.F. and Seery, C.M. (1993). An Analysis of two fibril systems in the mammalian vitreous. *Curr. Eye Res.* 12, 107-114.
- (5) Worst J.G.F. and Los, L.I. (1999). *Cisternal Anatomy of the Vitreous*. Kugler Publications: Amsterdam & New York.
- (6) Brewton, R.G. and Mayne, R. (1992). Mammalian vitreous humor contains networks of hyaluronan molecules. *Exp. Cell Res.* 198, 237-249.
- (7) Sebag, J. and Balazs, E.A. (1985). Human vitreous fibers and vitreoretinal disease. *Trans. Ophthal. Soc. U.K.* 104, 123-127.
- (8) Hikichi, T., Ueno, N., Chakrabarti, B. and Trempe, C.L. (1996). Vitreous changes during ocular inflammation induced by interleukin 1_l. *Japanese J. Ophthalmol.* 40, 297-302.
- (9) Akiba, J., Ueno, N., Chakrabarti, B. (1994). Mechanism of photo-induced vitreous liquefaction. *Curr. Eye. Res.* 13, 505-512.
- (10) Kobayashi, A. (1992). The Preparation method for dog eye ball specimen. *Jikken Byorisosiki Gijyutu Kenkyu Kaishi* (in Japanese) 1, 98-102.
- (11) Mallory, F.B. (1938). *Pathological Technique* (Ed. Saunders, W.B.) 152-153. Philadelphia, PA.
- (12) Fujii, N., Satoh, K.H. and Ishibashi, Y. (1994). Simultaneous stereoinversion and isomerization at specific aspartic acid residues in α A-crystallin from human lens. *J. Biochem.* 116, 663-669.
- (13) Scott, J.E. (1992), *The Chemical morphology of the Vitreous*, Eye 6, 553-555.
- (14) Bishop, P.N., McLeod, D. and Ayad, S. (1992). Extraction and characterisation of the intact form of bovine vitreous type IX Collagen. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 185, 392-397.
- (15) Bishop, P.N., Crossman M.V., McLeod D. and Ayad, S. (1994). Extraction and characterization of the tissue forms of collagen types II and

- IX from bovine vitreous. *Biochem. J.* 299, 497-505.
- (16) Yada, T., Suzuki, S., Kobayashi, K., Kobayashi, M., Hoshino, T., Horie K. and Kimata K. (1990). Occurrence in chick embryo vitreous humour of a type IX collagen proteoglycan with an extraordinarily large chondroitin sulphate chain and a short polypeptide. *J. Biol. Chem.* 265, 6992-6999.
- (17) Asakura, A. (1985). Histochemistry of hyaluronic acid of the bovine vitreous body as studied by electron microscopy. *Acta Soc. Ophthalmol. Jpn.* 89, 179-191.
- (18) Pal, J., Bera, S and Ghosh, S.K. Acetylation of α -crystallin with N-acetylimidazole and its influence upon the native aggregate and subunit reassembly. *Curr. Eye Res.* 1999, 19, 358-367.
- (19) Srinivasan, A.N., Nagineni, C.N. and Bhat, S.P. (1992). α -Crystallin is expressed in non-ocular tissues. *J. Biol. Chem.* 267, 23337.
- (20) Linklater, H.A., Dzialoszynski, T., MaLeod, H.L., Sanford, S.E. and Trevithick, J.R. (1992). Modeling cortical Cataractogenesis XII: supplemental vitamin a treatment reduces gamma crystallin leakage from lenses in diabetic rats. *Lens and Eye Toxicity Research* 9 (20).115-126.
- (21) Lutjen-Drecoll, E., May, C.A., Polansky, J.R. Johnson, D.H., Bloemendal, H., Nguyen, T.D. (1998). Localization of the stress proteins β -crystallin and trabecular meshwork inducible glucocorticoid response protein in normal and glaucomatous trabecular meshwork. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 39, 517-525.
- (22) Lovicu, F. J., Chamberlain, C.G., McAvoy, J.W. (1995). Differential effects of aqueous and vitreous on fiber differentiation and extracellular matrix accumulation in lens epithelial explants. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 36, 1459-1469.
- (23) Nishikawa, S. and Tamai, M. (1996). Ultrastructure of hyaluronic acid and collagen in the human vitreous. *Curr. Eye Res.* 15, 37-43

国際シンポジウム「地球化学と生命の起源」

International symposium on “The Geochemistry and the Origin of Life”

2001年3月30日（金）13-18時

東京工業大学 大岡山キャンパス

百年記念会館 フェライト会議室

交通：東急目黒線・大井町線 大岡山駅前

東工大正門はいってすぐ右

参加：学内・学外・一般すべて自由（無料）

レセプションは有料で事前参加登録が必要。

Friday, March 30, 2001; 13-18 pm.

Ferrite Meeting Room,

Centennial Memorial Building,

Tokyo Institute of Technology.

Transport: O-okayama station,

Toky Meguro, O-imachi lines

Registration: Free entrance for the symposium

need pre-registration for the reception

プログラム Program

13:00 楽 敏明 東工大 理学研究流動機構長 挨拶

Welcoming address: Prof. Toshiaki Enoki,

Director of the Interactive Research Center of Science, TIT

13:15 Dr. Andre Brack (Centre de Biophysique Moléculaire, CNRS, France)

"Delivery of extraterrestrial organic material to the primitive Earth"

「初期地球への地球外有機物の運搬」

14:00 Prof. Marie-Christine Maurel (Institut Jacque Monod, Univ.ParisVI, France)

"Functional capabilities of bio-molecules and the beginnings of life.

RNA selectivity and adaptability"

「生体分子の機能性と生命の起源：RNAの分子選択性と適応性」

15:00 Prof. Satoru Nakashima (TIT) 中嶋 哲（東工大理工 流動機構 教授）

"Organic-inorganic interactions and the origin and evolution of life"

「有機無機相互作用と生命の起源・進化」

15:45 Prof. Yukio Isozaki (Univ.Tokyo) 磯崎行雄（東大総合文化教授、流動機構客員教官）

"Geological backgrounds of the primitive life"

「地球生命発生の地質学的場」（仮題）

16:30 Prof. Shigenori Maruyama (TIT) 丸山茂徳（東工大理工 地球惑星 教授）

"The biggest 7 events and evolution of life through geologic history"

「地球史7大事件と生命の進化」

17:30 総合討論

18:15 レセプション

<http://www.origin-life.gr.jp/>

主催 東京工業大学 大学院 理工学研究科 理学研究流動機構
Organized by: The Interactive Research Center of Science
Tokyo Institute of Technology

後援 生命の起源および進化学会

Supported by: The society for the study of
the origin and evolution of life, Japan

連絡先：中嶋 哲 e-mail: satoru@geo.titech.ac.jp

〒152-8551 目黒区大岡山2-12-1 石川台2号館

東京工業大学 理工学研究科 広域理学講座（理学研究流動機構）

TEL: 03-5734-3544,3543 FAX:03-5734-3538

<http://www.afs.titech.ac.jp/ryudo-e.html>

Contact: Satoru NAKASHIMA; e-mail: satoru@geo.titech.ac.jp

Interactive Research Center of Science, Tokyo Institute of Technology

O-okayama 2-12-1 ,Meguro,Tokyo, 152-8551,Japan

TEL:+81-3-5734-3544, 3543; FAX:+81-3-5734-3538

☆ 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、本文が英文の場合には和文要旨を、また本文が和文の場合に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考の上、事務局が承諾を得て決定する。

V. 投稿の資格

1. 著者は、生命の起源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。

VI. 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。

VII. 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。

VIII. 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. 見出しが、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、文頭を下げる（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、著者名の、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、説明文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。統いて、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要。）

生命の起原および進化学会

〈2000、2001年度役員〉

名 誉 会 長 野田 春彦

会 長 原田 鑿

副 会 長 長野 敬、中村 運、大島 泰郎

〔運営委員会〕

委 員 長：松野孝一郎 会計責任者：小林 憲正 編集責任者：藤井 紀子

委 員：赤星光彦、秋山雅彦、石神正浩、大西耕二、川村邦男、川本圭造、
澤井宏明、島田秋彦、長田洋子、長谷川典巳、原田和雄、伏見 譲、
三田 肇、胸組虎胤、山中 健生、柳川弘志、湯浅精二

会 計 監 査 山中 健生、後藤 公彦

学会本部事務局 〒940-2137 長岡市上富岡町

長岡技術科学大学生物系内

Tel : 0258-46-6000 (Ex.4518), Fax : 0258-47-9420

E-mail : kmatsuno@vos.nagaokaut.ac.jp

責任者 松野孝一郎

経理部事務局 〒240-8501 横浜市保土ヶ谷区常磐台79-5

横浜国立大学工学部物質工学科

Tel・Fax : 045-339-3938

E-mail : kkensei@ynu.ac.jp

責任者 小林 憲正

編集事務局 〒590-0494 大阪府泉南郡熊取町野田1010

京都大学原子炉実験所

Tel : 0724-51-2496, Fax : 0724-51-2630

E-mail : nfujii@HL.rri.kyoto-u.ac.jp

責任者 藤井 紀子

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 浦田 秀仁 大西 耕二 川村 邦男 川本 圭造

後藤 公彦 小林 憲正 島田 秋彦 長田 洋子

長谷川典巳 原田 和雄 本多 元 三田 肇

胸組 虎胤

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

学会ホームページ：<http://www2.prf.or.jp/ssoel/>

Viva Origino 29巻1号

2001年3月9日 印刷

2001年3月15日 発行

編集者 〒590-0494 大阪府泉南郡熊取町野田1010 京都大学原子炉実験所内
生命の起原および進化学会編集部

発行者 〒940-2137 長岡市上富岡町 長岡技術科学大学生物系内
及び
出版者 生命の起原および進化学会事務局
責任者 松野 孝一郎

印刷所 〒594-0083 大阪府和泉市池上町460-33
和泉出版印刷㈱ TEL0725-45-2360 FAX0725-45-6398

- Shimada, A.: A way hta makes enzyme activity for D-tryptophan enhance, and its mechanism.....(37)
- Yang, D., N. Fujii and Y. Tanaka: Expression of human D-beta-aspartate in lens-derived cell line.....(38)
- Matsumoto,S., K. Hiroki and N. Fujii: Inversion and isomerization of Asp-58 residue in
alphaA-crystallin from aged human and cataract lenses.....(39)
- Hiroki, K., S. Matsumoto, M. Akaboshi and N. Fujii: Correlation Between Loss of
Chaperone-like Activity, and Oxidation.....(40)
- Fujii, N., S. Tajima, T. Shimooka and M. Akaboshi: Characterization of
D-beta-aspartate-containing protein in human skin by UV-irradiation.....(41)
- Saito, T.: The radioresistant mechanism of the radioresistant bacteria by the red pigments.....(42)

- oligonucleotides in hydrothermal environments and their reaction rates.....(18)
- <Special Lectures>
- Inoue, Y.: Absolute asymmetry synthesis of non-aromatic amino acids with
circularly polarized synchrotron radiation.....(19)
- <General Contributions>
- Takano, Y., T. Kaneko, K. Kobayashi, J. Takahashi, T. Hosokawa, S. Pizzarello and
J. R. Cronin: Asymmetric Photolysis of Amino Acid by Synchrotron Radiation.....(20)
- Urata, H., M. Go., H. Shimizu and M. Akagi: Synthesis and properties of heterochiral RNAs.....(21)
- Munegumi, T.: Simulation of stereo-specific condensation reactions of peptides.....(22)
- Oshima, T.: Origins of life and thermal stability of nucleotides.....(23)
- Sawai, H., T. Kouda, M. Wada and Hiroaki Ozaki: Nonenzymatic template-directed ligation of
short-chained 2',5'- or 3',5'-linked RNA oligomers.....(24)
- Nagahama, M., K. Kurano and K. Kawamura: Effect of thermal copolymers of
amino acids for the template-directed synthesis of oligoguanosine(25)
- Nakahara, N., F. Okamoto and K. Kawamura: Measurement of the nonenzymatic phosphodiesters
bond formation of hexanucleotides in aqueous solution at elevated temperatures.....(26)
- Harada, K., T. Iwasaki and K. Kobayashi: RNA and peptide evolution within
an RNA-peptide complex.....(27)
- Kobayashi, K., Y. Takano, W. Jing, S. Ueoka, A. Ohashi, H. Yamanashi, T. Kaneko, J. Takahashi
and T. Saito: Formation of bioorganic molecules and primitive catalysts in primitive earth
environments toward the origin of life.....(28)
- Mitsuzawa, S. and T. Yukawa: Search for autocatalytic sets consisting of oligopeptides.....(29)
- Miyazaki, J., S. Nakaya, T. Suzuki, M. Tamakoshi, T. Oshima and A. Yamagishi:
An experimental test: If the common ancestor of all the living organism was a hyper
thermophile or not?.....(30)
- Ikehara, K. and M. Nakanishi: Origin of bacterial genes and their evolutionary direction.....(31)
- Fukuhara, T., R. Koga, N. Ohyama, T. Udagawa, h. Horiuchi, S. Miyazaki and H. Moriyama:
Origin and evolution of endogenous double-stranded RNA replicons in plants.....(32)
- Nagaoka, Y., A. Kuno, Y. Kawarabayasi, Y. Sako, Y. Koyama and T. Hasegawa:
Evolution of Aminoacyl-tRNA Synthetase of Extreme Thermophilic Archaea,
Aeropyrum pernix K1.....(33)
- Tobe, S., M. Tanigawa, K. Shoji and T. Ymanaka: The evolutionary position of *Thiobacillus*
novellas cytochrome c oxidase based on the various characters of the purified enzyme.....(34)
- Makiguchi, H., S. Hayashida, K. Takayama, K. Shoji, M. Ishizuka and T. Yamanaka:
Evolutionary position of *Thiobacillus novellas* cytochrome c oxidase based on the DNA base
sequence coding the enzyme.....(35)
- Kawamoto, K., J. Takata, T. Sumino and M. Akaboshi: Distribution pattern of rare earth
elements and accumulation of other elements in different Bryophytes.....(36)

*The 26th Annual Meeting of the SSOEL-Japan
(Osaka University Toyonaka Campus: March 15-17, 2001)*

Contents

<Special Lectures>

- Ishigami, M.: Approaches to the origin of life.....(01)

<General Contributions>

- Ohnishi, K and H. Shutou: Autopoietic active selection by cognitive self-system: Towards a theory on the origin and evolution of life.....(03)
- Kawamura, K.: The origin of life from "the life of subjectivity" (1) – Definition of life and refocusing the subjectivity in evolution -(04)
- Kawamura, K.: The origin of life from "the life of subjectivity" (2) – Assignment of information and function, definition of subjectivity, and origins of life -(05)
- Naito, K.: Cyto-fluid dynamics theory.....(06)
- Nakamura, H.: Significance of biomembranes in the origin and evolution of the life.....(07)
- Ikehara, K.: [GADV]-protein world hypothesis on the origin of life.....(08)
- Yokoo, H.: Cell size of theoretical unicellular models on Precambrian microfossils (II).....(09)
- Hirabayashi, J.: "Genome", "Proteome" and "Glycome"(10)
- Ohnishi, K. and S. Akashi: Construction of multi-dimensional random-walk evolutionary tree based on principal coordinate analysis.....(11)
- Hase, H. and K. Harada: ESR detection of primary radicals in aqueous solutions induced by glow discharge and argon arc plasma flame.....(12)
- Sakurazawa, S.: Long Time Relaxation Phenomenon Induced by Temperature Change of Thermal Heterocomplex Molecules of Amino Acids.....(13)
- Islam, M. N., T. Kaneko and K. Kobayashi: Strecker-type reactions by using a supercritical water flow reactor simulating submarine hydrothermal systems.....(14)
- Kawamura, K. and M. Yukioka: Measurement of the rate of racemization of alanine at 225-275°C using the monitoring method for hydrothermal reactions.....(15)
- Imai, E., M. Sato, H. Honda, K. Hatori and K. Matsuno: Hetero-copolymerization of amino acids in a simulated hydrothermal system.....(16)
- Tsukahara, H., E. Imai, H. Honda, K. Hatori and K. Matsuno: Making oligopeptides in the presence of lipid vesicles in hydrothermal environments.....(17)
- Sato, A., A. Yoshida, E. Imai, H. Honda, H. Hatori and K. Matuno: Synthesis of

Contents

- ◎ The 26th annual meeting of the SSOEL-JAPAN(Abstracts)
S. Yuasa (1)

ARTICLES

- ◎ 3 dimensional meshwork structure of vitreous body
M. Kodama *et al.* (45)

NEWS and VIEWS

- ◎ International symposium on the geochemistry and the origin of life
(Information)
S. Nakajima (55)