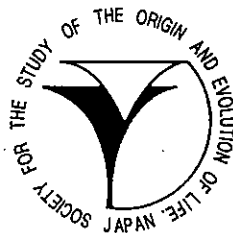


# Viva Origino

VOL.24 (No.1)

March 1996

## 第21回学術講演会 講演要旨集



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

# 生命の起原および進化学会 会則

地球上における生命の起原を科学的に解明することと、生物進化の攻究により、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、互の連繫によって新しい型の総合科学を確立・発展させることにより、上記の目的達成を期するものである。

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

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

第三条 本学会は、前条の目的達成のため次の事業をおこなう。

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

第四条 本学会は前条の事業をおこなうため事務局をおく。

第五条 本学会の会員は、正会員と賛助会員とし、入会手続きは別途定める。

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

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

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

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

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

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

第十条 会長・副会長は委員会が正会員の中から選出する。

第十一条 会長・副会長・委員・会計監査の任期は2年とする。

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

第十三条 会長は学会を代表し、学会運営は委員長が総括の任にあたる。

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

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

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

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

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

第十九条 本学会会則の改正は、会員の3/5以上の出席の総会において3/5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な事項を記入し、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) 生命の起原および進化学会  
(口座番号) 大阪 8-3673

# Viva Origino

VOL.24 (No.1)

March 1996

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

## 第21回学術講演会

期 日 1996年3月18日(月)、19日(火)、20日(水)

会 場 大阪府立大学学術交流会館

〒593 堺市学園町1-1

大会参加費 参加登録費 一般会員：4,000円(非会員：5,000円

講演要旨代を含む)

学生会員：2,000円(学生非会員：3,000円

講演要旨代を含む)

懇親会参加費 一般：6,000円(学生：5,000円)

第21回大会委員長 石神 正浩(大阪府立大学・総合科学部)

〒593 堺市学園町1-1

☎ : 0722-52-1161

Fax : 0722-55-2981

e-mail: ishigami@cias.osakafu-u.ac.jp

# プログラム

1996年3月18日(月) 9時50分

大会委員長挨拶

石神正浩(阪府大・総科)

## A 化学進化(1) (10:00~11:00)

司会: 下山 晃、斉藤 威

1. 安定同位体ラベル法による模擬原始大気実験生成物中のウラシルの同定・定量  
辻 融・小林憲正(横浜国大・工) ..... 2
2. 陽子線照射および火花放電による模擬惑星大気からのシアン化物・アルデヒドの生成  
佐藤 忠・金子竹男・小林憲正(横浜国大・工) ..... 4
3. 彗星および星間塵環境下での有機物の生成 II  
笠松隆志・金子竹男・小林憲正  
斉藤 威\*(横浜国大・工、東京大・宇宙線研) ..... 6
4. 宇宙での化学進化のエネルギーIII  
斉藤 威、小林憲正\*(東大・宇宙線研、横浜国大\*・工) ..... 8

## B 化学進化(2) (11:00~12:00)

司会: 清水幹夫、三田 肇

5. UV照射によるアミン水溶液からのnon  $\alpha$ -体アミノ酸の生成  
横山裕文、下山晃(筑波大・化学系) ..... 10
6. 地球外起源物質の指標とされているイソバリン、 $\alpha$ -アミノイソ酪酸の現世堆積物  
中での検出  
三田 肇、下山 晃(筑波大・化学系) ..... 12
7. 金属イオン存在下水溶液中におけるジペプチドの生成  
竹田真子、下山 晃(筑波大・化学系) ..... 14
8. 高温プラズマMPDアークジェットによる有機化合物の合成  
宮川 伸、田村 英樹、澤岡 昭、小林憲正  
(東工大・工業材料研、横浜国大・工) ..... 16

昼食 12:00~13:00

## C 化学進化(3) (13:00~14:00)

司会: 松野孝一郎、古賀理和

9.  $\alpha$ -グリコシド結合を持つRNAの前生物的合成へのアプローチ  
沢井宏明、伊藤 健、小鍛治和己、篠塚和夫(群馬大・工) ..... 18
10. Belousov-Zhabotinsky 反応と対称性の破れ  
山口智彦、嶋本結花、雨宮隆(物質工学工業技術研究所・化学システム部) ..... 20

11. 5'位のメチレン基を欠いた人工核酸(DNA類似体)の合成とその機能性  
 ---なぜDNA中にメチレン基が必要なのか---  
 古賀理和、山本昌治、羽場真一、阿部耕三、尾崎庄一郎(愛媛大・工)..... 22
12. モンモロロナイト上におけるヌクレオシド-5'-リン酸イミダゾリド重合反応の  
 速度論的研究  
 川村邦男、James P. Ferris\* (阪府大・工、Rensselaer Polytechnic  
 Institute\*) ..... 24

D 化学進化(4) (14:00~15:00)

司会: 沢井宏明、川村邦男

13. ホモキラルなペプチドとヘテロキラルなペプチドの分別  
 胸組虎胤、下山 晃\*(小山高専・物質工学、筑波大・化学系\*) ..... 26
14. アミノ酸熱重合物と加水分解  
 有川良博、今井栄一、本多 元、松野孝一郎(長岡技術科学大・生) ..... 28
15. アミノ酸熱重合物の微小殻構造の形成機構  
 櫻沢 繁、本多 元、松野孝一郎(長岡技術科学大・生) ..... 30
16. アミノ酸熱重合物の進化実験への意義  
 松野孝一郎、今井栄一、本多 元(長岡技術科学大・生) ..... 32

coffee break 15:00~15:15

E 化学進化(5) (15:15~16:15)

司会: 小林憲正、胸組虎胤

17. Oligomer world I. Specific Aminoacylation  
 清水幹夫(宇宙科学研) ..... 34
18. Oligomer world II. Peptidyl Transfer and RNA Oligomerization  
 清水幹夫(宇宙科学研) ..... 36
19. Oligomer world III. Electron and Group Transfer  
 清水幹夫(宇宙科学研) ..... 38
20. 20種のアミノ酸はなぜ選ばれたか  
 横尾広光(杏林大・保健) ..... 40

運営委員会 (16:30~17:30)

編集委員会 (17:30~18:00)

1996年3月19日(火)

シンポジウム(A)「古細菌」

(10:00~12:30) (各25分+討論5分)

オルガナイザー: 石神正浩(阪府大・総科)

SA 1. 古細菌のアミノアシル tRNA 合成酵素 居原秀(阪府大・総科) .....	44
SA 2. 古細菌の結合型D-アミノ酸 長田洋子(姫路工大・理) .....	46
SA 3. 脂質からみた古細菌の系統関係 古賀洋介(産業医大・化学) .....	48
SA 4. 古細菌の進化的位置 宮田 隆、岩部直之、隈 啓一(京大・理) .....	50
SA 5. 原始地球環境と古細菌 大島泰郎(東京薬科大・理) .....	52

総会と昼食 12:30~14:00

シンポジウム(B)「生体分子機能の創出原理: 進化実験と解析からのアプローチ」

(14:00~15:00) (各25分+討論5分)

オルガナイザー: 柳川弘志(三菱化学生命研)

Sb 6. 実験室で再現する進化のダイナミクス 四方哲也(阪大・工) .....	54
Sb 7. モジュール・シャッフリングによるタンパク質の機能の創出 柳川弘志、石坂正道、斉藤 晃、吉田賢二(三菱化学生命研) .....	56

coffee break 15:00~15:15

Sb 8. ゲノムのダイナミックな改変による新奇微生物の創製 板谷光泰(三菱化学生命研) .....	58
Sb 9. ウイルス型戦略分子とその生命の起源における意味 根本直人、伏見 譲(埼玉大・工) .....	60
Sb 10. ポリ-tRNA構造からみたタンパク質モジュール構造の起源と進化 大西耕二(新潟大・理) .....	62

懇親会 18:30~21:00

F 分子進化 (1) (10:00~11:00)

司会：根本直人、藤井紀子

21. 生命の起原と進化における糖の役割  
平林 淳 (帝京大・薬) .....66
22. 紫外線照射によって誘導される $\alpha$ A-クリスタリン中のAsp-151残基のラセミ化  
藤井紀子、百瀬祐子、竹鼻真 (工業技術院・生命研、共立薬科大) ..... 68
23. トリプトファナーゼ活性におけるDトリプトファンに対する障壁  
島田秋彦、木暮ひとみ (筑波大学・応用生物化学系) .....70
24. tRNAアイデンティティの進化  
長谷川典巳、行木信一、朝原治一、清水幹夫 (宇宙科学研) .....72

G 分子進化 (2) (11:00~11:30)

司会：島田秋彦、野田春彦

25. グループIイントロンとその関連RNAの比較解剖学  
大西耕二、田中浩和、柳川弘志 (新潟大・理) .....74
26. 脱ハロゲン化酵素遺伝子の多様性  
川崎東彦 (阪府大・農) .....76

H 生物進化 (1) (11:30~12:00)

司会：清水 晃、佐藤七郎

27. ビルビン酸酸化還元酵素の分子進化  
乾 博、山地亮一\*、宮武和孝\*、中野長久\* (鳥取大・農、阪府大・農\*) .....78
28. ビタミンB<sub>12</sub>代謝系の進化  
渡辺文雄、阿部捷男、宮武和孝\*、中野長久\*  
(高知女子大・食品、阪府大・農\*) .....80

昼食 12:00~13:00

シンポジウム (C) 「遺伝子発現系における核酸・タンパク質の構造と機能：  
その起原と進化」

(15:15~17:45) (各25分+討論5分)

オルガナイザー：加藤幹男 (阪府大・総科)

- Sc11. 真菌類に特有の翻訳伸長因子EF-3の役割、機能構造と分子進化  
宮崎正澄 (名大・理) ..... 84
- Sc12. ベントDNA構造の生物学的意義  
大山隆 (甲南大・理) ..... 86

Sc13. 高等真核生物の染色体セントロメアを構成する蛋白質とDNA; セントロメア蛋白質の保守性とサテライトDNAの多様性 杉本憲治 (阪府大・農) .....	88
---	----

coffee break 14:30~14:45

I 生物進化 (2) (14:45~15:45)

司会: 原田 馨、中村 運

29. ミトコンドリアの起原・進化 (1) 酵母ミトコンドリアゲノムの進化 北野広遵、関藤孝之、岡本浩二、石富仁志、吉田和夫 (広島大・理) .....	92
30. ミトコンドリアの起原・進化 (2) 共生進化説の問題点と細胞内伝達仮説 吉田和夫、上地克行、石富仁志、西川正信 (広島大・理) .....	94
31. シダ類に集積される希土類元素間に見られる相関性について 高田実弥、西村和雄、隅野照家、赤星光彦 (京大・原子炉、京大・農) .....	96
32. 希土類各種元素の培養細胞に対する致死作用 赤星光彦、高田実弥、田中愛子、河合建一、川本圭造 (京大・原子炉) .....	98

J 生物進化 (3) (15:45~16:45)

司会: 湯浅精二、赤星光彦

33. 細胞エネルギー代謝の進化 - 関係小器官の分化 - 中村 運 (甲南大・理) .....	100
34. ストロマトライト (化石) の形成過程 - 藍細菌皮膜の構造と生態にもとづく考察 - 清水 晃、加藤憲二* (奈良女子大・理、信州大・医技短*) .....	102
35. 進化史から見た地球温度環境の変化 大島泰郎 (東京薬科大・生命) .....	104
36. 新人 <i>Homo sapiens sapiens</i> の言語のアフリカ単一起源学説: 類別接辞を前綴する基 礎語彙の比較に基づく新たな証拠 大西耕二、水野貴之 (新潟大・理) .....	106

お知らせ

1. 第4回「生命の起源」夏の学校 .....	108
2. 8th ISSOL Meeting (1996) への参加呼びかけ .....	109



# 一 般 講 演

化学進化  
(1～20)

# 1

## 安定同位体ラベル法による模擬原始大気実験生成物中の ウラシルの同定・定量 Identification and quantification of uracil in simulated primitive atmosphere experiments by a stable isotope labeling method

辻 融・小林憲正 (横浜国大・工)

Toru Tsuji and Kensei Kobayashi

(Department of Physical Chemistry, Yokohama National University)

### I. 緒言

生命は、外界から取り入れたエネルギーによって、自己を維持し、さらに複製あるいは進化させ、より秩序高いものに向かっていく。この一連のプロセスを支えているのは、酵素であるタンパク質と、そのタンパク質をコードしている核酸である。したがってこれらが生命にとって最も基本的な物質であると考えられることから、これらの構成成分であるアミノ酸や核酸塩基などを前生物的に合成しようという試みが数多くなされてきた。模擬原始地球大気実験もその1つで、これは原始地球大気を模した混合気体になんらかのエネルギーを与え、生体関連物質を得ようというものである。

原始地球大気がどのような組成であったかは議論の分かれるところであり、正確なことは分かっていないが次の二説があり、現在のところ後者が有力である。それらは強還元型大気説(メタン、アンモニア、水)と弱還元型大気説(一酸化炭素、二酸化炭素、窒素、水)である。強還元型の模擬大気からは比較的簡単に数種類のアミノ酸が得られ、弱還元型の模擬大気の場合でも、エネルギー源として陽子線(宇宙線の主成分)を用いれば同様にアミノ酸が得られることが分かっている。

核酸塩基類の前生物的合成に関しては、プリン塩基はシアン化水素から、ピリミジン塩基はシアノアセチレンから生成するという報告がある。しかし核酸塩基が模擬大気から直接得られ、確実な同定、定量がなされたという報告はない。その理由としては次のようなことが挙げられる。

- 1) 模擬実験で得られるアミノ酸はラセミ体であり、生体由来の混入物とは容易に区別がつくが、核酸塩基については混入物との区別をつけることが困難である。
- 2) 核酸塩基類にはアミノ酸分析計のような分析システムが確立されていない。
- 3) 核酸塩基類はアミノ酸と比べ生成量が少ない。

そこで本研究では、 $^{13}\text{C}$ で標識された一酸化炭素から得られる、極めて複雑な組成の陽子線照射生成物中の核酸塩基類を同定・定量することを目的とした。

### II. 実験

弱還元型大気( $\text{CO}$ ,  $\text{N}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ )をガラス管に封入し、3.0 MeVの陽子線(東工大ヴァンデグラフ加速器)を照射した。実験環境からの混入物と陽子線照射生成物を完全に区別するため、模擬大気の一酸化炭素は $^{13}\text{C}$ (=99.3%)で同位体標識したものをを用いた。

なお、内標準法を用いた定量を行うため、 $^{13}\text{C}$ で同位体標識された生成物に、既知量の標準ウラシル( $^{12}\text{C}$ =98.9%)を10 nmol添加した。陽子線照射生成物は陽イオン交換HPLC、逆相HPLC(装置:東ソーCCPSポンプ、溶離条件はFig.2を参照)により

精製・分画し、真空乾燥後BSTFAを用いトリメチルシリル化(TMS化)し、GC/MS(装置;GC部:HP5980A、カラム;SPELCO SPBTM-1、MS部:JEOL JMS-AX500型、E1法)で同定・定量した。

### III. 結果・考察

陽子線照射試料Fを陽イオン交換HPLCに保持される分画と、保持されない分画に分けた後、保持されない分画を逆相HPLCで測定した結果がFig. 1である。このクロマトグラムから、核酸塩基の1つウラシルに相当するピークがみられた。このピークの部分をさらに分取し、脱塩した。

TMS誘導体化後、GC/MS法により測定した結果をFig.3に示す。TMS- $^{12}\text{C}$ -ウラシルの $M^+$ は $=256$ 、 $(M - \text{CH}_3)^+$ は $241$ である。またTMS- $^{13}\text{C}$ -ウラシルでは $M^+ = 260$ 、 $(M - \text{CH}_3)^+ = 245$ となっている。この差はウラシルを構成している炭素原子の個数4に対応している。また260と256の分子イオンピークの強度比から陽子線照射によって生成したウラシルの定量を行った結果、 $19 \text{ nmol}$ となった。これはG値にして $10^{-5}$ であり、この系で得られるグリシンの1000分の1に相当する。ウラシル以外の核酸塩基類、チミン、アデニン、グアニン、シトシンはそれぞれ検出限界以下の生成量であることが分かった。これはウラシル生成量の1000分の1以下である。

これまで報告されてきたウラシルの前生物的合成経路として、まずシトシンが生成し、その加水分解によってウラシルとなるといふものが多い(Robertson et al., 1995)。今回の系ではシトシンが検出されなかったことから、これまでの提案とは別のウラシルの生成経路が存在すると思われる。また本実験条件ではウラシル以外に核酸塩基は検出されなかったが、原始地球では様々なエネルギー源が考えられ、さらに局所的に還元的な環境があったかもしれない。今後は様々な条件下での核酸塩基の生成に関する検討を行っていく予定である。

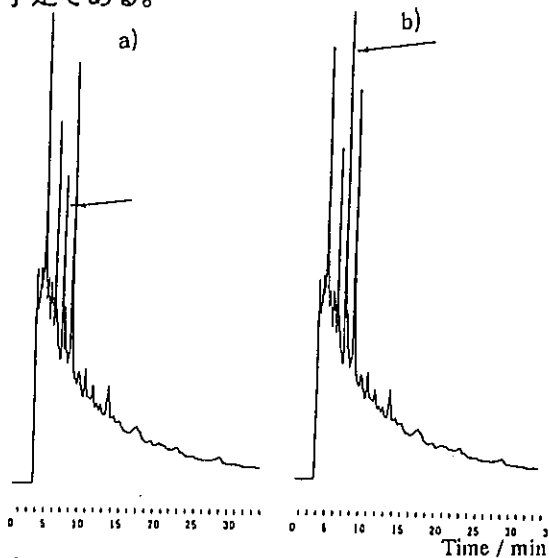


Fig. 1. Chromatograms of a proton irradiation product from  $\text{CO}$ ,  $\text{N}_2$  and  $\text{H}_2\text{O}$ .  
(a) Product only; (b) product + uracil standard.

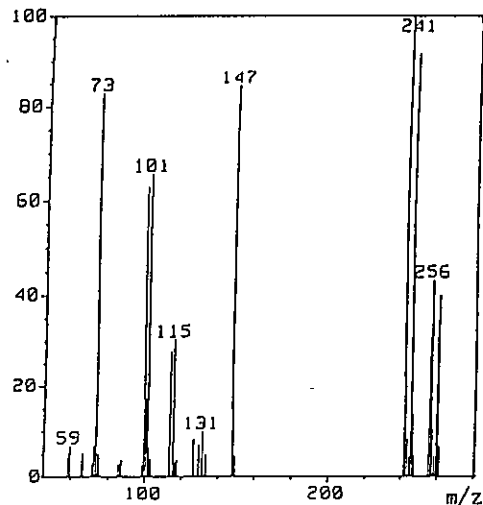


Fig. 2. Mass spectrum of TMS- $^{13}\text{C}$ -uracil formed by proton irradiation with an internal standard (TMS- $^{12}\text{C}$ -uracil).

# 2

## 陽子線照射および火花放電による模擬惑星大気からの シアン化物・アルデヒドの生成 Formation of cyanides and aldehydes from simulated planetary atmospheres by proton irradiation and spark discharge

佐藤 忠・金子竹男・小林憲正 (横浜国大・工)  
Tadashi Sato, Takco Kancko and Kensei Kobayashi  
(Department of Physical Chemistry, Yokohama National University)

### 1. はじめに

1950年代以来、数多くの原始地球のモデル実験が行なわれてきた。メタン、アンモニア、水素などを主とする極めて還元的なガスを出発材料とした場合、放電など種々のエネルギーによりアミノ酸のような有機物の生成が確認されている。近年では新しい惑星科学の知見より原始地球大気はCO, CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>Oを主体とする弱還元的な大気であっただろうと推測されているが、CO, N<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O型の弱還元型大気からでも陽子線照射によりアミノ酸[1]やウラシル[2]の生成が可能であることがわかった。これらアミノ酸や核酸塩基生成の中間体としてはHCNなどのシアン化物(ニトリル)類とアルデヒド類が重要と考えられる。本研究では種々の混合気体から、陽子線照射および火花放電によるシアン化物類とアルデヒド類の生成について検討し、原始地球上での有機物の生成機構について考察した。

### 2. 実験

a) 陽子線照射: ガラス製容器にCO, (CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>), N<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O混合ガスを詰め、東京工業大学のVan de Graaff加速器から陽子線(3MeV)を照射した。このときガスの混合比および投入エネルギー量を変化させた。系に加えられたエネルギー量は、陽子線のガス入射時のエネルギーと電気量より求めた。

b) 火花放電: テスラコイルを用いてガラス製容器内に詰めた混合ガス [CH<sub>4</sub>(CO)+N<sub>2</sub>=500Torr, H<sub>2</sub>O=20Torr] 中に挿入された一対の電極間で火花放電を行なった。放電エネルギーは文献[3]に従い、回路に組み込まれた抵抗の発する熱量をクォーツ温度計水晶発振式センサで測定して計算した。

c) 生成物の分析: 生成物中のシアン化物は試料を10<sup>-2</sup>M NaOH (pH12)または10<sup>-2</sup>M Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub> (pH 9.2)溶液で希釈し、それぞれのpHで遊離しているCN<sup>-</sup>をシアン化物イオン電極(東亜電波 CN-125B)を用いて測定した。アルデヒドは2,4-ジニトロフェニルヒドラジンで誘導体化し逆相HPLCで分離・定量した。アミノ酸は試料を酸加水分解後、陽イオン交換HPLC法、GC/MS法により測定した。

### 3. 結果と考察

Fig. 1 は種々の組成の混合気体(CH<sub>4</sub>, CO, CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O)の陽子線照射生成物中のHCN・HCHO・グリシンのG値を示した図である。なお、電極応答のpH依存性から、このHCN値にはHOCH<sub>2</sub>CNが含まれることがわかっている。N<sub>2</sub>を含まない系でのHCHOのG値は、

CO系に対してCO<sub>2</sub>系では、約2.3%となった。また、N<sub>2</sub>を加えた系でのグリシンのG値は、CO系とCH<sub>4</sub>系で同じオーダーであり、CO<sub>2</sub>系ではそれらの約3.0%程になる。火花放電ではグリシンやHCNのG値がCO系ではCH<sub>4</sub>系よりも数桁小さくなることから、同じ出発材料からでもエネルギー源の違いにより反応機構が異なることが示唆された。また、CO:N<sub>2</sub>の比率を変えた実験の結果、グリシン、HCNともにCO:N<sub>2</sub>=1:1で最大となりCOの分圧が減少するにつれて生成量も減少した。

原始大気を想定した混合ガス(CO:CO<sub>2</sub>:N<sub>2</sub>=4:4:2, 6:2:2, 7:1:2, 7.5:0.5:2, 8:0:2)にて陽子線を照射した場合のHCN・HCHO・グリシンの生成量をFig. 2に示す。CO/(CO+CO<sub>2</sub>)比を小さくしていくとHCHO生成量は大きく減少するが、GlyおよびHCNは8:0:2を除き、ほぼ一定である。これらの結果より、グリシンの生成量はCOとN<sub>2</sub>のモル分率がほぼ同一ならば同一レベルに保たれることがわかった。また、グリシン生成量はHCHOの生成量に依存せず、HCNの生成が鍵をにぎっている可能性が示唆された。

#### 4. おわりに

これまでにCO,N<sub>2</sub>,H<sub>2</sub>O型の弱還元型大気から陽子線エネルギーによりアミノ酸が高収率で得られることはわかっていた。本研究では、原始大気が二酸化炭素が主であったとしても、宇宙線の作用により副成分のCO,N<sub>2</sub>より種々の有機化合物が生成されることが示唆された。また、陽子線照射によって生成するアミノ酸の前駆体としてはシアン化水素重合物が主であることも示唆された。

陽子線照射と火花放電を比較すると、同じ出発材料を用いても生成するHCN/HCHO比や、アミノ酸収率(G値)が大きく異なることから、出発材料が同じでもエネルギーによって生成物が異なり、アミノ酸の生成機構も異なる可能性が考えられた。シアン化水素重合物が主と思われる高分子生成物のキャラクタリゼーションが今後の重要な課題である。

文献 [1] Kobayashi et al., *Origins Life Evol. Biosphere*, **20**, 99 (1990). [2] 辻・小林, *Viva Origino*, **24**, in press (1996). [3] R. Navarro-Gonzalez et al., *Viva Origino*, **19**, 10 (1991).

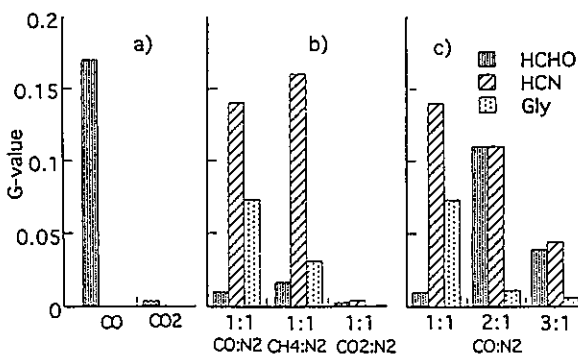


Fig. 1. G-Values of Gly, HCHO and HCN from various kinds of gas mixtures by proton irradiation.

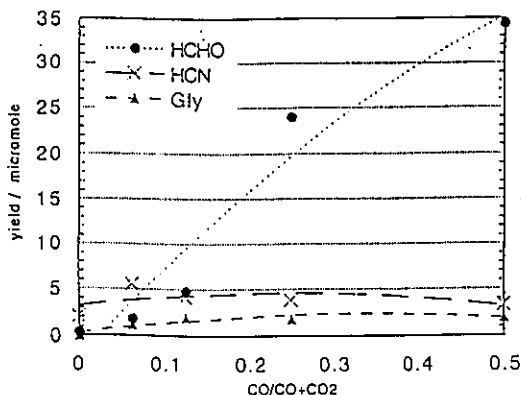


Fig. 2. Formation of Gly, HCHO and HCN from a mixture of CO<sub>2</sub>+CO (560 Torr), N<sub>2</sub> (140 Torr) and H<sub>2</sub>O (20 Torr).

# 3

## 彗星および星間塵環境下での有機物の生成 II

### Formation of Organic Compounds in Cometary and Interstellar Dusts Environments II

笠松隆志、金子竹男、小林憲正、斉藤 威\*

(横浜国立大学 工学部、東京大学 宇宙線研究所\*)

Takashi Kasamatsu, Takeo Kaneko, Kensei Kobayashi and Takeshi Saito\*

(Faculty of Engineering, Yokohama National University ; ICRR, University of Tokyo\*)

#### 1. はじめに

星間分子の観測や隕石の分析、彗星の探査などにより、地球圏外にも種々の有機物が存在することが知られており、彗星や隕石は太古からしばしば地球に接近したり、落下したりしていたことから、これらの中に存在する有機物は、地球あるいはその他の天体における生命の誕生と関連して注目されている。

そこでわれわれは 10K 程度に冷却可能なクライオスタットを作成し、彗星および星間塵環境を模した室内実験を行い、彗星および星間塵環境で重要な生体関連物質であるアミノ酸が無生物的に生成し得るかを検討している。

彗星のコマの主成分である一酸化炭素、アンモニア、水を成分とした気体および氷を作成し、宇宙線の主成分である陽子線を照射した結果、その酸加水分解物中にグリシン、アラニンをはじめとするアミノ酸の存在が確認されたが、その収率(G 値:照射エネルギー 100eVあたりの生成分子数)には気体と氷(固体)において4桁ほど開きがあった。しかし、同様の実験を炭素源をメタンにかえて行ったところ、気体と氷(固体)における G 値の開きは2桁程度であった。

そこで前回、気体、液体、固体といった状態がアミノ酸の収率に影響を与えるのかを検討するため、確実に凍結でき、かつ彗星に存在すると考えられるメタノール、アンモニア、水の気体、液体、固体試料をそれぞれ作成し、陽子線を照射した結果を報告した。しかし、この実験においては、それぞれの状態において陽子線が試料内を突き抜けたり(試料が気体の場合)、試料内で止まってしまったり(試料が液体、固体の場合)など、条件を一定にできていない部分が存在しており、それぞれの状態がアミノ酸の収率に影響を与えているのかどうかを確認するには至っていないと考えられる。そこで今回は、気体、液体、固体のどの試料でも突き抜ける電子線を照射してアミノ酸の収率の違いについて調べ、これらの環境における有機物の生成について検討を行ったので、報告する。

#### 2. 実験

##### (1)彗星および星間塵を模した氷への陽子線照射

ターボ分子ポンプを用いて  $10^{-6}$ ~ $10^{-7}$ Torr 程度に減圧したクライオスタット内部に金属板を取り付け、ガス混合装置(小島製作所製)によって混合された一酸化炭素(あるいはメタ

ン)、アンモニア、水蒸気の混合ガスを吹き付けて氷を作成した。その氷に東京工業大学の Van de Graaff 加速器から陽子線(2.8MeV)を照射し、その後クライオスタット内部を室温に戻して、金属板上に残った成分を水に溶かして回収した。この溶液の一部を酸加水分解し、高速液体クロマトグラフ法(アミノ酸分析計)で分析した。

### (2)気体、液体、固体におけるアミノ酸の収率(G 値)の比較

メタノール、アンモニア水の混合液(モル比 1:3)をガラスチューブに入れて封じ、照射試料を作成した。温度は液体窒素、水浴、湯浴を使って調節し(試料の量は液体状態で、それぞれ 9mL、9mL、10 $\mu$ L)、東京大学原子核研究所の SF サイクロトロンから陽子線(35MeV)および電子線(15MeV)を照射した。照射後、生成物の一部を酸加水分解し、高速液体クロマトグラフ法で分析した。

## 3. 結果と考察

彗星および星間塵環境を模した氷に陽子線を照射した場合、その酸加水分解物中にグリシンやアラニンといったアミノ酸が存在していることがわかったが、そのほかに揮発生成物として、数種類の炭化水素やアルコール類などの生成が示唆された。気体に照射した場合と、氷(固体)に照射した場合のグリシンの G 値の比較を図 1 に示す。さらに図 1 には、メタノール、アンモニア、水の系におけるそれぞれの状態における陽子線照射による G 値も載せてある。

図 2 にメタノール、アンモニア、水の系における電子線、陽子線の違いによるグリシンの G 値の比較を示す。両者において、G 値の違いはあまり見られず、気体、液体、固体における G 値の差の原因は、陽子線が届く範囲内での出発材料の減少ではないことがわかった。

固体中での G 値の減少は、生成物が陽子線によって再び分解されるなどの原因が考えられるが、一酸化炭素、アンモニア、水の系の場合では、10K くらいの温度で一酸化炭素がしっかり凍結できていないといったことも考えられる。

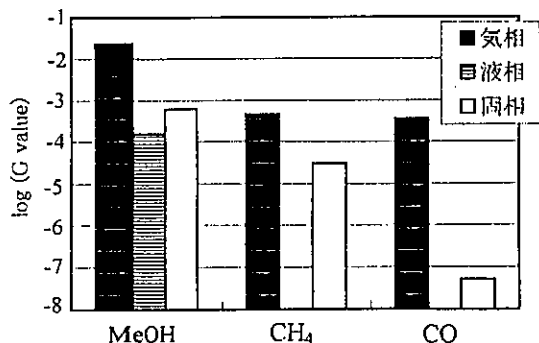


図1 気相・固相・液相におけるグリシンのG値の違い  
(各系の炭素源のみを示してある)

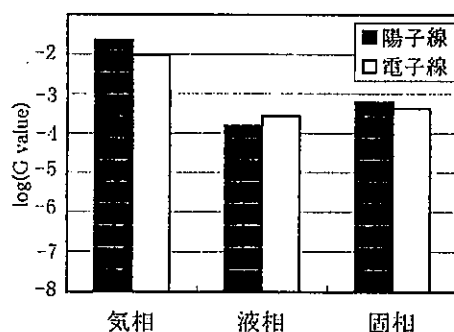


図2 陽子線、電子線照射によるグリシンのG値の違い  
(メタノール、アンモニア、水系)

# 4 宇宙での化学進化のエネルギー III

Cosmic Ray Energy for Chemical Evolution in Space

斎藤 威(東大・宇宙線研)、小林憲正(横浜国大・工)

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

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

## 1. 宇宙線エネルギーの再評価

1953年のMillerの実験以来、種々のエネルギー源を想定した実験が行われてきた。そして、生体有機分子の生成は、どのようなエネルギーを付与しても簡単に生成されることが分ってきた。即ち、どのような化学進化のシナリオでも許される。多くの支持が得られないとしても、完全に拒否されることはないという状況が続いている。

化学進化における生体有機分子の生成を議論する場合、自然界の各種エネルギーの存在量(F)だけでなく、そのエネルギーまたは波長での生成の断面積( $\sigma$ またはG値)が重要な因子である。即ち生成量 $F \times G$ でもって、化学進化のシナリオを評価する必要がある。

化学進化のエネルギーとして、エネルギー量(F)の大きな放電(雷)や太陽紫外線を考えるのが常識であって、宇宙線は頻度(F)が極めて小さいので、無視するというのが通説であった。我々は、加速器ビーム(陽子やヘリウム)を用いた模擬実験で求めた生成率(G値)と宇宙線エネルギーの見積りから、宇宙線が化学進化のエネルギーとして最も有効なものであったという結論を得た。本稿はそのまとめである。

## 2. 原始地球大気<sup>1)</sup>

酸化型(正確には強い還元型ではない)ガスに荷電粒子(宇宙線)を照射した場合の生成率(G値)は放電のそれよりも5桁大きい。一方、エネルギー量(F)は、放電の方が宇宙線より2桁大きい。従って、全体の生成量 $F \times G$ は、宇宙線の方が放電よりも3桁大きくなる。ここで、宇宙線のFは、従来値よりも1桁大きい値を用いている。これは、アミノ酸の生成には宇宙線の全エネルギーが有効であることに因る。即ち、宇宙線の積分エネルギー $[F = \int I(E) \cdot E \cdot dE]$ 、ここで $I(E)$ は宇宙線の微分エネルギースペクトル]は、低いエネルギー領域の積分値よりも高いエネルギー(1~100 GeV)領域のほうが1桁大きい値となる。

一方太陽紫外線では、 $N_2$ を光分解する波長 $\lambda \leq 110$  nmのエネルギー量は、宇宙線の20倍(0.24 cal/cm<sup>2</sup>·yr)である。しかし紫外線と $N_2$ との反応断面積は、10M barnsで大気中(主として $N_2$ 、CO、CO<sub>2</sub>)でのInteraction Mean Free Pathsは $4.7 \times 10^{-6}$  g/cm<sup>2</sup>となる。原始地球の気圧を数10気圧とすると、この波長の紫外線は、高度100 Kmまでの大気で吸収されることになる。このガス密度(分子間距離)での化学反応の効率、地球への集積効率などを考えると、紫外線の化学進化のエネルギーとしての有効性は疑問が残る。

## 3. 銀河空間での宇宙線スペクトルを巡って

彗星の始原物質である氷微粒子への宇宙線照射の場合、高エネルギー宇宙線は氷微粒子を通過するので、付与するエネルギーは $\Delta E = 4\pi \int \int I(E) \cdot (dE/dX) dEdX$  [ここで、 $I(E)$ は星間空間での微分宇宙線スペクトル、 $dE/dX$ は水中でのエネルギー損失、積分は氷の有



効直径D] となり効率的ではない。一方、氷内で静止する低エネルギー宇宙線が付与するエネルギーは  $\Delta E = 4\pi \int I(E)E \cdot dE$  となる。原始地球大気の場合と違って、低エネルギー宇宙線のほうが有効となる。

銀河空間（星間空間）の宇宙線スペクトルは、原理的には、地球近傍（1 au）で観測されたスペクトルから太陽活動の影響を除去して求めることができる。問題は、スペクトルは、低いエネルギーの何処まで伸びているかである。低いエネルギーの宇宙線は銀河空間の塵で吸収されるので、星間空間での宇宙線スペクトルを議論するときは、 $\sim$ MeV程度でカットしたスペクトルを用いるのが常道である。Greenbergも、この常識を参照して、紫外線のエネルギーのほうが宇宙線より1桁大きいと我々を批判している。しかしながら、宇宙空間（星の光の影響のない）での紫外線の生成機構は、宇宙線と宇宙塵との反応なのである。スペクトルにMeVでのカットを起こす宇宙塵は、彗星始原物質でもあることを考えれば、化学進化には、銀河空間の宇宙線スペクトルの低いエネルギー領域（ $\sim$ 100 KeV）の寄与も考慮にいれるべきである。

#### 4. 彗星の始原物質で生成される生体有機分子

原始雲から現在までの太陽系形成の歴史の中で、宇宙線によって生成される彗星氷中の生体有機分子の量は、Dense Cloud段階が他の段階（Solar Nebula粒子、Planetesimal）より効果的である。<sup>2)</sup>

生成量 M を与える各因子を検討して M の正当性を評価する。

$$M = \Delta E(E) \times S \times T \times G \times f(\sigma_p / \sigma_d) \\ = 1.2 \times 10^{-3} \text{ mol/cm}^3 \text{ (グリシン)}$$

$\Delta E(E)$  [ $3 \times 10^{10}$  eV/cm<sup>2</sup>·sec] : 宇宙線が氷微粒子へ付与するエネルギー流量で、 $\Delta E = 4\pi \int \int I(E) \cdot (dE/dX) dEdX$ 。I(E)は宇宙線の微分スペクトルで、上述したように積分領域が問題となる。通説に従って、MeVでカットすると  $\Delta E(E)$  は1桁小さくなる。

$S$  : 彗星 1 cm<sup>3</sup> に相当する微粒子 ( $\sim 0.1 \mu\text{m}$ ) の表面積。単なる幾何学計算で問題なし。

$T$  : 原始雲(Dense Cloud)段階の時間 [ $10^7$ 年]。この値もあまり変らない(ファクター-5)。

$G$  : 生成率 [ $\sim 0.0002$ ]。実験値を用いる。但し、ガスに比べて2桁小さい理由が、生成物の崩壊に因るのであれば、このG値は最小値となる。

$f(\sigma_p, \sigma_d)$  : 時間 t での生成（残存材料物質）の断面積  $\sigma_p(t)$ 、と崩壊（生成物）の断面積  $\sigma_d(t)$  との関数。簡単のため  $\sigma_p = \sigma_d$  を平衡となる時間とすると  $f(\sigma_p, \sigma_d) = 5 \times 10^{-3}$ 。

原始地球大気と宇宙線の相互作用では、1ヘクタールに100万年間に約  $3.6 \times 10^4$  mol (CO:N<sub>2</sub>=1:1の場合)のグリシンが生成される。COとN<sub>2</sub>の分圧を考慮すれば、数100 molが妥当な量である。一方彗星の場合、直径10 Kmの彗星が斜入射して10億分の1の塊が生き残ったとしても、この1回の衝突で  $6 \times 10^6$  mol (下限値)のグリシンがもたされる。絶対生成量だけでなく、その密度がその後の進化過程を考えるうえで重要である。彗星起源が最も効果的といっても過言ではない。

- 1) K.Kobayashi et al., Adv. Space Res., Vol.15, No3 127-130 (1995); Vol.16, No2, 21-26 (1995), Self-Organization of the Macromolecules of Life, 37-40 (1995).
- 2) T.Saito and K.Kobayashi, Viva Origino Vol.23, 2 (1995); Proc. 24 th ICRC, Roma (1995).

# 5

## UV照射によるアミン水溶液からの non $\alpha$ -体アミノ酸の生成 Formation of non $\alpha$ -amino acid by UV irradiation of aqueous amine solution

横山裕文、下山晃（筑波大化学系）

Hirofumi Yokoyama and Akira Shimoyama

(Department of Chemistry, University of Tsukuba)

【序論】アミノ酸の前生物的生成は初期の化学進化の過程を考察する上で興味を持たれる。これまでにアミノ酸の生成には $\text{CH}_4$ ,  $\text{CO}$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , さらには $\text{HCN}$ などの単純な化合物が使用されているが、本研究ではアミンとアミノアルコールを選んだ。メチルアミンは炭素質隕石中<sup>1)</sup>や星間中<sup>2)</sup>に検出されており、地球外に広く存在が知られている有機物である。したがって本研究では、アミン類の水溶液に紫外線を照射し、原始地球の海洋などの原始水圏でのアミノ酸の生成について考察した。

【実験】293Kに保った $10\text{mmol dm}^{-3}$ メチルアミン、エチルアミン、*n*-プロピルアミン、および $1\text{mmol dm}^{-3}$ 1-アミノエタノールに低圧水銀灯で紫外線（波長：185, 254nm, 光量： $3 \times 10^{18}$  photon/sec）を照射した。照射試料は減圧乾固した後、15%塩酸2-プロパノールでエステル化し、無水トリフルオロ酢酸でアシル化した。この誘導体を光学分割可能なカラムをつけたGC-MSで同定、定量を行い、D/L比を求めた。この他にアミノ酸分析計も用いてアミノ酸の同定、定量を行った。

【結果及び考察】Fig. 1にメチルアミン(pH=12)に12時間紫外線を照射した試料のGC-MSのチャートを示す。この試料からタンパク性アミノ酸、非タンパク性アミノ酸の両方を合計して10種類を検出し、光学異性体をもつアミノ酸はほぼラセミ体で検出した。グリシンは照射時間と共に濃度が増加し、15時間後の収率は炭素原子に換算して約0.04%であった(Fig. 2)。この系のアミノ酸の量を同じ炭素数で比較すると、 $\text{C}_3$ アミノ酸では $\beta$ -アラニン、 $\text{C}_4$ では $\gamma$ -アミノ酪酸が圧倒的に多く検出された。また、アミノ酸と共に1-アミノエタノール（収率：2%）を検出したのでこの物質を出発物質として紫外線を照射し、14種類のアミノ酸を検出した。この系のアミノ酸の組成はメチルアミンの系と非常によく一致し、 $\beta$ -アラニンや $\gamma$ -アミノ酪酸などの直鎖の $\omega$ -アミノ酸を多く検出した。また、エチルアミン水溶液の照射試料から13種類、*n*-プロピルアミン水溶液の照射試料から10種類のアミノ酸を検出した。最も多く生成したアミノ酸は、エチルアミンの系においてはアラニン、*n*-プロピルアミンの系において $\beta$ -アミノ酪酸であった。

以上の結果からアミンを出発物質としてアミノ酸が生成することが示された。生成した主なアミノ酸は $\beta$ -、 $\gamma$ -、 $\delta$ -アミノ酸であり、ストレッカー反応で生成するアミノ酸

の組成とは異なっていた。特にメチルアミンと水の系では、アミノ酸の生成経路の1つとして1-アミノエタノールを経由してアミノ酸を生成することが推定される。また、原始水圏内での化学進化におけるアミノ酸の生成について有用な情報と考えられる。

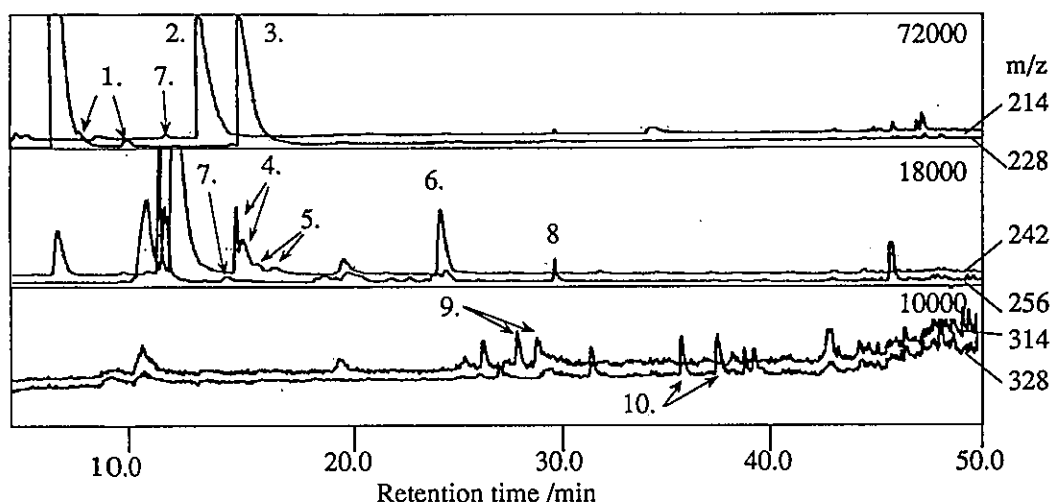


Fig.1 Mass fragmentograms of amino acids produced by 12h UV irradiation of 10mmol dm<sup>-3</sup> methylamine solution at 293K.

1. D,L-alanine, 2. glycine, 3. β-alanine, 4. D,L-β-aminoisobutyric acid, 5. D,L-β-aminobutyric acid, 6. γ-aminobutyric acid, 7. D,L-valine, 8. 5-aminovaleric acid, 9. D,L-aspartic acid, 10. D,L-glutamic acid

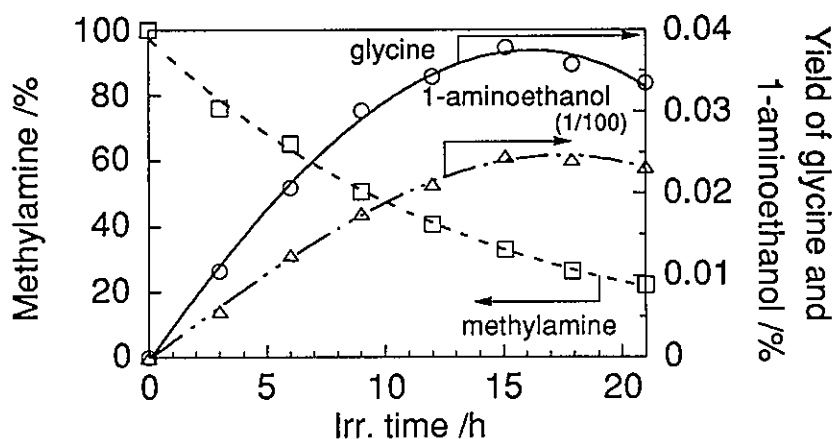


Fig. 2 Relative amount of initial methylamine recovered, and yield of glycine produced by UV irradiation of methylamine solution at 293K.

- 【参考文献】 1) Pizzarello et al., *Geochim. Cosmochim. Acta*, **58**, 5579-5587 (1994).  
2) Kaifu et. al., *Astrophys. J.*, **191**, L135-L137 (1974).

# 6

地球外起源物質の指標とされているイソバリン、 $\alpha$ -アミノイソ酪酸の現世堆積物中での検出

Presence of isovaline and  $\alpha$ -aminoisobutyric acid considered as extraterrestrial amino acids in recent sediments.

○三田 肇・下山 晃 (筑波大学・化学系)

°MITA, Hajime and SHIMOYAMA, Akira

(Department of Chemistry, University of Tsukuba)

【序論】 イソバリン、 $\alpha$ -アミノイソ酪酸は、炭素質隕石中には比較的豊富に含まれているのに対し、生体中にはほとんど含まれていない。生体中に微量に含まれているイソバリンは光学活性体であり、ラセミ化速度は他のアミノ酸に比べて遅いことが知られている。このため、ラセミ体で存在するイソバリンと $\alpha$ -アミノイソ酪酸は地球外起源のアミノ酸の指標として考えられており、Zhaoら(1989)は Stevns Klint (Denmark)のK/T境界層からこれらのアミノ酸を見だし地球外物質の落下説を支持している。

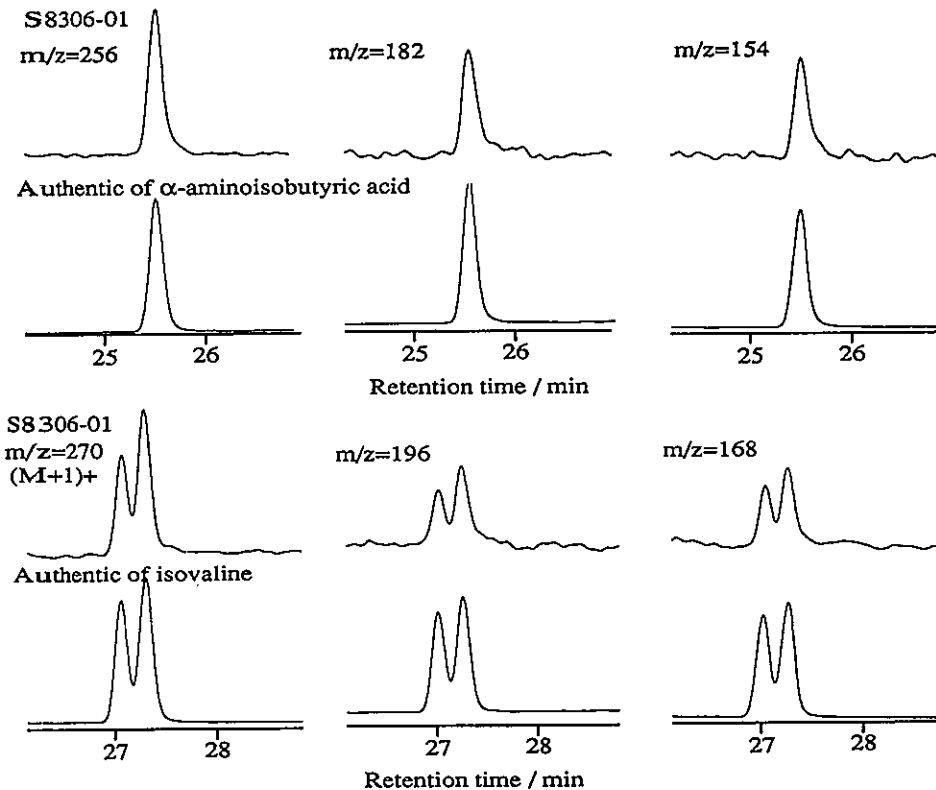
これまでに我々は、北海道浦幌町のK/T境界層中のアミノ酸分析を行ないイソバリン、 $\alpha$ -アミノイソ酪酸を検出できなかったことを報告し、Zhaoらの結果との比較についていくつかの仮説を報告している。今回は、現世堆積物中からラセミ体のイソバリンと $\alpha$ -アミノイソ酪酸を検出したので、その結果を報告し環境汚染物質としてのこれらのアミノ酸の存在について述べる。

【実験】 試料には、東京湾中の表層堆積物 S8602 (東京都立大学化学教室石渡良志教授提供)を用いた。アミノ酸は水で抽出し、トリフルオロセチルアミノ酸 $\beta$ -チルエステル誘導体としGC-MSにて同定及び光学異性体存在比を求めた。

【結果】 次頁に、最表層から検出したイソバリンと $\alpha$ -アミノイソ酪酸のマスフラグメントグラムをスタンダードとともに示した。分子イオンピークの他、フラグメントピークもスタンダードと同様な強度比で検出することができた。明らかにイソバリンと $\alpha$ -アミノイソ酪酸が含まれていることを示している。また、図のようにイソバリンはほぼラセミ体として検出された。一方、他のアミノ酸はラセミ化速度が速いとされているアスパラギン酸を含めほぼL-体のみからなっており、イソバリンが堆積後にラセミ化したものではない。検出量は、おおよそ $1 \text{ n mol g}^{-1}$ であり、アラニン、バリンなどの約1000分の1であった。

【考察】 炭素質隕石中のイソバリンと $\alpha$ -アミノイソ酪酸の前駆体には、エチルメチルヒダントイン、ジメチルヒダントインが考えられており、マーチソン隕石中からジメチルヒダントインが検出されている(Cooper and Cronin, 1995)。一方、石炭ガス化に伴う環境汚染物質中にもエチルメチルヒダントイン、ジメチルヒダントインが検出されている(Olson *et al.*, 1983)。これらは、Bucherer-Bergs反応により生成すると考えられており、加水分解によりイソバリン、 $\alpha$ -アミノイソ酪酸になる。このとき生成するイソバリンはラセミ体である。我々が東京湾表層堆積物中に検出したイソバリンと $\alpha$ -アミノイソ酪酸は、このような人間の工業活動により生成したと考えられる。

【結論】 ラセミ体であるイソバリンと $\alpha$ -アミノイソ酪酸が地球環境中に存在する事を示した。これらの起源は断定することはできないが、人間の工業活動により生成した前駆体と考えられる。以上のことから、イソバリンと $\alpha$ -アミノイソ酪酸の存在が必ずしも地球外起源物質であるとの指標にはならず、他のアミノ酸もラセミ体で存在することや炭素数の増加により存在量が指数的に減少することなどと合わせて議論する必要がある。



Mass fragmentograms of TFA-amino acid butyl esters in the Tokyo Bay sediments S8602-01

# 7

## 金属イオン存在下水溶液中におけるジペプチドの生成 Dipeptide formations by heating experiments of amino acid solutions in the presence of metal ions.

竹田 真子、下山 晃 (筑波大、化学系)

Masako Takeda and Akira Shimoyama

(Department of Chemistry, University of Tsukuba)

【序論】原始地球上での化学進化において、ポリペプチドの生成には様々な経路が考えられてきた。本研究では、海水中でアミノ酸が脱水縮重合を繰り返してポリペプチドが生成したと仮定し、水溶液中でのアミノ酸からのオリゴペプチドの生成とその化学進化的考察を目的とした。その初期段階としてジペプチドの生成を、金属イオンを含むアミノ酸水溶液の加熱により試みた。また、タンパク性と非タンパク性アミノ酸とのジペプチド生成の差について検討を行った。

【実験】3種類のタンパク性と3種類の非タンパク性アミノ酸それぞれについて、塩化銅と塩化ナトリウムを含む水溶液を80℃で200時間加熱した。試料溶液中のアミノ酸、塩化銅、塩化ナトリウムの濃度はそれぞれ0.4 mol dm<sup>-3</sup>、0.2 mol dm<sup>-3</sup>、4 mol dm<sup>-3</sup>とした。アミノ酸には全てラセミ体を使用した。加熱後、試料溶液を1.5 mol dm<sup>-3</sup>塩酸/メタノールでエステル化、および無水トリフルオロ酢酸でアシル化し、この誘導体をGC-MSで分析して生成物の同定・定量を行った。また、加熱前に溶液のUVスペクトルを測定した。

【結果】グリシン、アラニン、 $\alpha$ -アミノ酪酸、バリンの溶液の加熱によりジペプチドが生成した (Fig. 1)。これらのアミノ酸は全て $\alpha$ -体であり、炭素数の少ないものの方が高い収率を示した (Fig. 2)。しかし、 $\beta$ -アラニンや $\beta$ -アミノ酪酸の溶液からは、加熱によらずジペプチドは検出されなかった。

グリシンでは、塩化銅、塩化銅と塩化ナトリウムを含む溶液のみジペプチドを検出し、その他のマンガン、ニッケル、亜鉛などのイオンを含む溶液では検出されなかった。したがって、ジペプチド生成にはアミノ酸のほかに銅イオンが必要であることが判明した。また、加熱前のUVスペクトルから、これらの溶液中に Fig. 3 に示す銅錯体の存在を確認した。

グリシン以外の $\alpha$ -アミノ酸溶液では、UVスペクトルは Fig. 3 と同様のアミノ酸-銅錯体の存在を示唆したが、一方、 $\beta$ -アミノ酸試料溶液では、そのような錯体のUVスペクトルは見られず、アミノ酸と銅イオンの大きな相互作用は認められなかった。

したがって、本研究ではジペプチド生成にアミノ酸-銅の錯形成が必要であり、錯形成に有利な  $\alpha$ -アミノ酸がジペプチドを生成することが分かった。

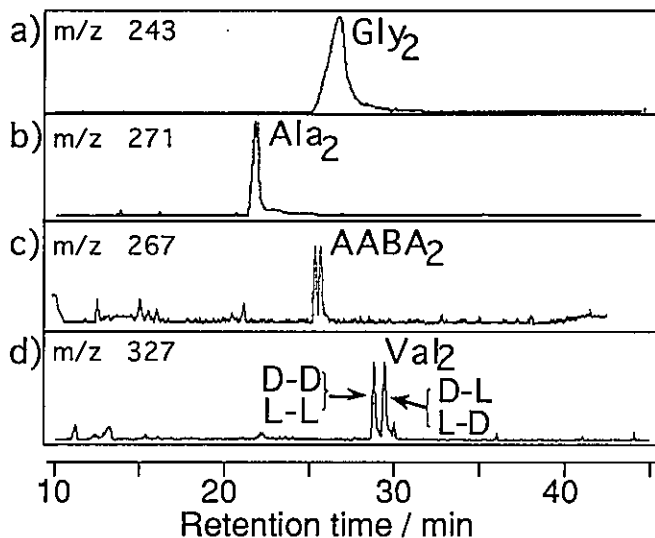


Fig.1 Mass fragmentograms of dipeptides formed in 0.4M a) Glycine (Gly), b) Alanine (Ala), c)  $\alpha$ -Aminobutyric acid (AABA) and d) Valine (Val) in the presence of 0.2M CuCl<sub>2</sub> and 4M NaCl at 80°C for 200h.

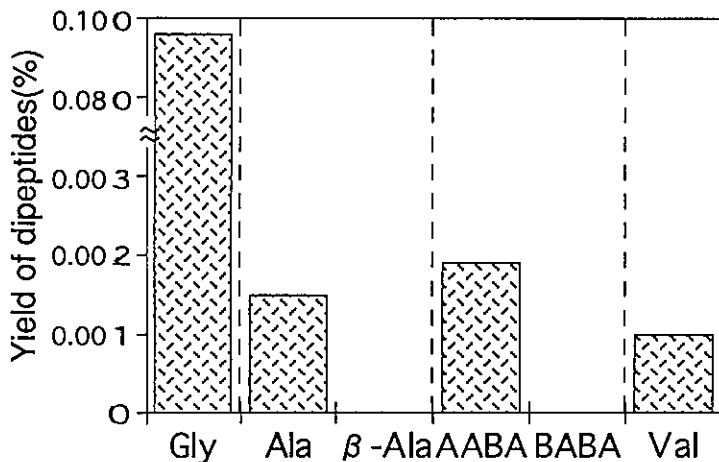


Fig.2 Dipeptides formed in 0.4M Amino acids in the presence of 0.2M CuCl<sub>2</sub> and 4M NaCl at 80°C for 200h.

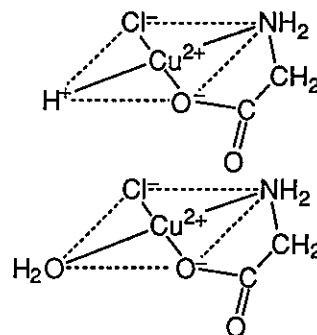


Fig.3 Major complexes in Gly solution in the presence of CuCl<sub>2</sub> and NaCl.

## 8

## 高温プラズマMPDアークジェットによる 有機化合物の合成

Synthesis of organic compounds  
with high-temperature plasma MPD arcjet

宮川 伸・田村 英樹・澤岡 昭 (東工大・工材研)

Shin Miyakawa, Hideki Tamura and Akira B. Sawaoka  
(Research Laboratory of Engineering Materials, Tokyo Institute of Technology)

小林 憲正 (横浜国大・物質工学)

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

Schlesinger and Miller (1983) によると、 $N_2$ ,  $CO$ ,  $H_2$ ,  $H_2O$  の混合ガス中でスパーク放電を行うとホルムアルデヒドがシアン化水素よりも過剰に合成され、炭素源を  $CH_4$  に変えると反対にシアン化水素がホルムアルデヒドよりも過剰に合成されることが知られている。シアン化水素はアミノ酸やプリン合成の点で重要であり(シアン化水素重合)、ホルムアルデヒドは糖合成において重要であると考えられている(ホルモース反応)。シアン化水素とホルムアルデヒドがある同一系に共存すると即座にヒドロキシアセトニトリル( $HOCH_2CN$ )に反応することより、これらの分子のどちらが多く生成したかということはその後の生体分子形成を考える上で重要となってくる。そこで、Schlesinger and Miller は次のような仮説をたてた。原始大気の炭素源が  $CH_4 \gg CO$  であるとき、シアン化水素が過剰に生成されアミノ酸やプリンが形成される。次に、時間の経過とともに  $CO \gg CH_4$  となるとホルムアルデヒドが過剰に生成され糖が形成される。いわゆる、原始大気の変遷とともに生命に必要な種々の生体分子が形成されていったと考えたのである。Chyba and Sagan (1991) は上述の実験がコールドプラズマによるものであることを示唆している。一方、ホットプラズマを用いるとシアン化水素が安定に存在することが知られている。それでは、炭素源を一酸化炭素としてホットプラズマを用いた場合、シアン化水素とホルムアルデヒドの生成量の関係はどのようなになるであろうか。

本研究では図1に示すMPDアークジェットと呼ばれるホットプラズマ発生装置を用い



シアン化水素とホルムアルデヒドの定量測定を行った。CO, N<sub>2</sub>, H<sub>2</sub> 混合ガスのホットプラズマの形成の後、コールドトラップにトラップされたシアン化水素とホルムアルデヒドは純水（ミリQ水）に溶かされた後測定された。定量に関しては Schlesinger and Miller (1983) の提案に従い次の式を用いた。

$$\text{① } \text{HCN} = (\text{HCN})_{\text{free}} + \text{hydroxyacetonitrile} + \text{other hydroxy nitriles} + \text{aminoacetonitrile} + \text{other amino nitriles}$$

$$\text{② } \text{H}_2\text{CO} = (\text{H}_2\text{CO})_{\text{free}} + \text{hydroxyacetonitrile} + \text{aminoacetonitrile}$$

アミノニトリルは加水分解によりアミノ酸にした後アミノ酸分析計で最大値として求めた。(HCN)<sub>free</sub> とヒドロキシニトリル、アミノニトリルは pH12 と pH9.3 での CN<sup>-</sup> イオンの解離度の違いを利用してシアンイオン電極法により求めた。(H<sub>2</sub>CO)<sub>free</sub> は逆相クロマトグラフィーにより求めた。

以上より、 $1.6 \times 10^{-3}$  mol のシアン化水素と  $0.5 \times 10^{-3}$  mol のホルムアルデヒドの生成が確認された。これは、炭素源が一酸化炭素のコールドプラズマからは H<sub>2</sub>CO > HCN となるという Schlesinger and Miller の報告と異なり、ホットプラズマを用いればシアン化水素がホルムアルデヒドより過剰に生成されることを示すものである。原始地球上でホットプラズマを形成する代表的な現象としては稲妻や隕石衝突における高温蒸発プレュームが考えられ、コールドプラズマはコロナ放電が考えられる。よって、大気の変遷なくとも異なったエネルギー源により同時代の同じ場所に種々の生体分子が形成された可能性が示唆された。

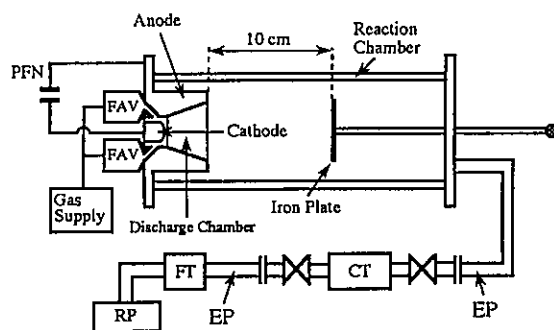


図1 MPD arcjet

Schlesinger, G. and Miller, S. L.: 1983, *J. Mol. Evol.* 19, 383.

Chyba, C. and Sagan, C.: 1991, *Origins Life Evol. Biosphere* 21, 3.

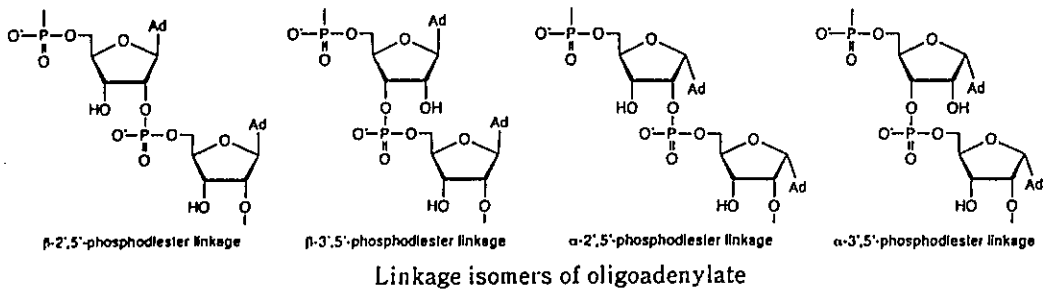
# 9

## $\alpha$ -グリコシド結合を持つRNAの前生物的合成へのアプローチ An approach to prebiotic synthesis of RNA containing $\alpha$ -glycosidic linkage

沢井宏明、伊藤 健、小鍛冶和己、篠塚和夫 (群馬大、工学部)  
Hiroaki Sawai, Takeshi Ito, Kazumi Kokaji and Kazuo Shinozuka  
(Faculty of Engineering, Gunma University)

(序)

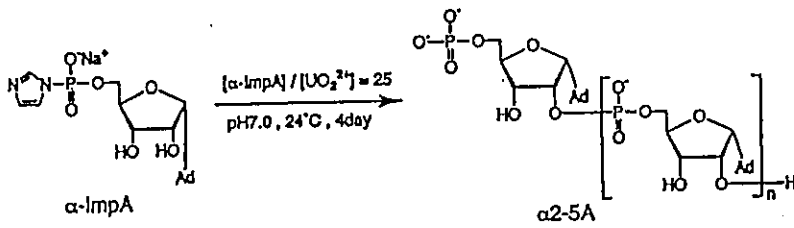
RNAが触媒作用を有することが見出されて以来、最初の原始生命体を形成した物質は複製能と触媒能の両機能を有するRNAであったというRNAワールド説が提唱されてきた。現在、RNAはその配列により特定の物質を認識して特異的に結合したり、種々の反応の触媒として作用することが明らかにされつつある。天然に存在しその機能を持つRNAはモノマー単位のヌクレオシドのグリコシド結合は $\beta$ -型であり、ヌクレオチド間結合は3'-5'間結合を有している。しかし化学構造上、 $\alpha$ -グリコシド結合あるいは2'-5'ヌクレオチド間結合を持つRNAも可能である。リボヌクレオシドの前生物的合成のモ



デル実験では $\alpha$ -型、 $\beta$ -型いずれもほぼ等しい割合で生成することが報告されている<sup>1)</sup>。また $\beta$ -型のRNAの前生物的合成のモデル実験では3'-5'結合、2'-5'結合の両者が生成することが認められている。筆者はすでに3'-5'結合RNAおよび2'-5'結合RNAについて、それぞれの1本鎖の状態でのコンホメーションの柔軟性あるいは2重ラセン形成能の点から3'-5'結合RNAが2'-5'結合RNAより有利で自然選択されてきたと考えられることを示した。今回何故 $\alpha$ -型RNAに対して $\beta$ -型RNAが自然選択されたのか、また $\alpha$ -型RNAの前生物的合成が可能であるかを調べるため、 $\alpha$ -型RNAの前生物的合成のモデル実験を行った。また得られた $\alpha$ -型RNAオリゴマーの性質について対応する $\beta$ -型RNAと比較検討した。

(実験、結果および考察)

$\alpha$ -アデノシンは1-アセチル-2,3,5-トリベンゾイルリボースとN-ベンゾイルアデニンと固相加熱熔融縮合で合成した。反応物をアンモニアメタノール溶液で処理して脱保護後、シリカゲルクロマトグラフィーで分離して $\alpha$ -アデノシンを得た。 $\alpha$ -アデノシンをオキシ塩化りんと反応し $\alpha$ -アデノシン-5'-りん酸( $\alpha$ -pA)を得た。ついで $\alpha$ -pAとイミダゾールとの反応で $\alpha$ -アデノシン-5'-ホスホイミダソリド( $\alpha$ -ImpA)



### Oligomerization of $\alpha$ -ImpA

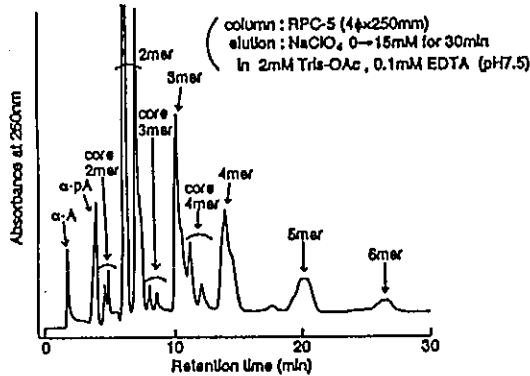


Fig. HPLC profile of products from uranyl ion catalyzed oligomerization of  $\alpha$ -ImpA

を合成した。 $\alpha$ -ImpAを中性水溶液中、触媒として微量の $\text{UO}_2^{2+}$ イオン存在下、室温4日間放置して縮重合反応を行った。反応生成物をHPLCで分析した結果の一例を図に示す。6量体までのオリゴマーの生成が認められた。しかし天然型の $\beta$ -ImpAの縮重合反応の場合と比べ $\alpha$ -ImpAは縮重合効率は低く、オリゴマーの鎖長、収率いずれも低い。また生成オリゴマーのヌクレアーゼP1による酵素分解を行ったところ、分解するオリゴマーの割合が高く、主として3'-5'結合から成っていることが認められた。 $\alpha$ -ヌクレオシドは核酸塩基と2'-あるいは3'-水酸基がリボース環の同一側に向いているため、立体障害を受け(特に2'-水酸基が)、縮重合反応が抑制されるものと考えられる。すなわちRNAの前生物的合成の観点から $\beta$ -型RNAは $\alpha$ -型RNAより有利であると考えられる。さらに $\alpha$ -型および $\beta$ -型オリゴアデニル酸の物理化学的性質および数種の核酸分解酵素に対する反応性を調べた。これらの結果と $\beta$ -グリコシド結合RNAの自然選択との関連について議論する。

#### 引用文献

- 1) W. D. Fuller, R. A. Sanchez, L. E. Orgel, J. Mol. Biol., **67**, 25-33 (1972)

# 10

## Belousov-Zhabotinsky反応と対称性の破れ

Symmetry Breaking Phenomena in the Belousov-Zhabotinsky Reaction

山口智彦、嶋本結花、雨宮隆 (物質工学工業技術研究所、化学システム部)

Tomohiko Yamaguchi, Yuka Shimamoto and Takashi Amemiya

(Dept. of Chemical Systems, Natl. Inst. of Materials and Chemical Research)

### 1. はじめに

生命の起源は対称性の破れと密接に関わっている。例えば分子レベルで考えると、現在の地球上では、アミノ酸はL体、ほとんどの糖類はD体という具合に、鏡像体の一方が生命体の構成物質として用いられている。従って生命発生以前の化学進化の段階で、すでに構成分子のhomochiralityが地球上で確立されていたはずである。Homochiralityを生み出す化学的に無理のない解釈の一つとして、自触媒反応が関与する不斉増殖反応をあげることができる<sup>1-4</sup>。自触媒反応の非線形性は光学純度のわずかなゆらぎを増幅し<sup>2</sup>、最終的には系全体がhomochiralな状態に落ちつく可能性を示唆するものである。

対称性の破れが関与する現実的な自触媒反応の一つに、Belousov-Zhabotinsky反応(BZ反応)がある。BZ反応は振動的な酸化還元反応で、分子レベルでの対称性の破れはない。しかし、薄く広げたBZ溶液中ではしばしば波長がmmオーダーの酸化還元状態の渦巻きパターンが形成される。この渦巻きには右巻きと左巻きがある。つまりマクロスケールで反応場の空間対称性が破れている。

ここでは、西尾の実験結果<sup>5</sup>を用いて、BZ反応の渦巻きパターンに由来する反応場の対称性の破れについて考察を行う。

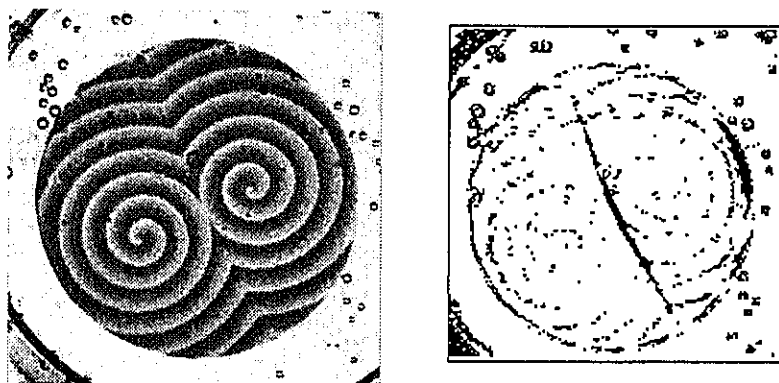


Fig. 1. A pair of spirals (twin) in the Belousov-Zhabotinsky Reaction (left) and a boundary visualized by image processing (right).

## 2. 実験および結果<sup>5)</sup>

フェロイン（鉄(III)錯体）およびRu(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>を固定化したソフト・シリカゲル中でBZ反応を行った<sup>6)</sup>。渦巻きパターンの境界の経時変化は、時空間相関法<sup>7)</sup>によった。すなわちVTRに記録した動画像から速度場ベクトルを算出し、閾値以上の速度を与えた画素をBZ反応の1周期にわたって重ねあわせ、渦巻き間の境界を可視化した（図1）<sup>8)</sup>。

## 3. 考察

一様な空間からlocalなchiralityが生じる場合には、必ずchiralなpairが生じて空間としてのtopological charge (=C) は保存されるはずである。これはBZ反応の渦巻きの場合にも当てはまる。BZ反応の基本パターンは同心円でC=0である。同心円の一部を欠き取ると2つの断点(tip)が生じ、やがてtwinと呼ばれるchiralityの異なる2つの渦巻きパターンに成長する。ここで個々の渦巻きの中心部ではtopological chargeはC=+1 or -1であるが、2つの渦巻きを包含する空間で考えるとC=0であり、元の量を保存していることに着目しよう。渦巻きが消失する場合には、対消滅すなわちtwinがannihilateして同心円パターンの源となる場合が大半を占める。

しかしtwinは必ずしも対消滅をするばかりではない。BZ反応に見られるような動的境界は、振動周波数のわずかな差<sup>9)</sup>で位置やその形状を変える。Twinであっても一方の渦巻きS<sub>H</sub>の周波数が高い場合には、渦巻き間の境界の形状は直線的なVolonoi分割から双曲線へと移行し、振動数の小さな渦巻きS<sub>L</sub>の領域が次第に減少する。つまり長い時間発展を考えた場合、1つの渦巻きによって広い反応空間がchiralに保たれる可能性が残されている。ここで主張したいことは、topological chargeはC=0のままでも実質上C=+1 (or -1) という状態にある反応空間が出現可能であるということである。またこの知見はhomochiralityの出現に要請される制約条件を緩和するものであると思われる。

## References and Notes

- 1) K.Iwamoto and M.Seno, (1979) *J.Chem.Phys.*, 70, 5858.
- 2) D.K.Kondepudi and G.W.Nelson, (1985) *Nature*, 314, 438.
- 3) K.Asakura et al., (1995) *Physica D*, 84, 72.
- 4) K.Soai et al., (1995) *Nature*, 378, 767.
- 5) 西尾麻里 修士論文(1994) (筑波大・環境科学研究科) .
- 6) T.Yamaguchi et al., (1991) *J.Phys.Chem.*, 95, 5831.
- 7) 三池秀敏、古賀和利 編著、「パソコンによる動画像処理」森北出版(1993).  
可視化の実際に当たっては橋本基・(現)宇部高専助教授の協力を得た。
- 8) 反応条件が同じであっても異なる周波数を持つ構造が共存できることは、分散関係で保証される。動的空間構造を考えることによって自由度が上がるのである。

# 11

## 5'位のメチレン基を欠いた人工核酸 (DNA類似体) の合成とその機能性

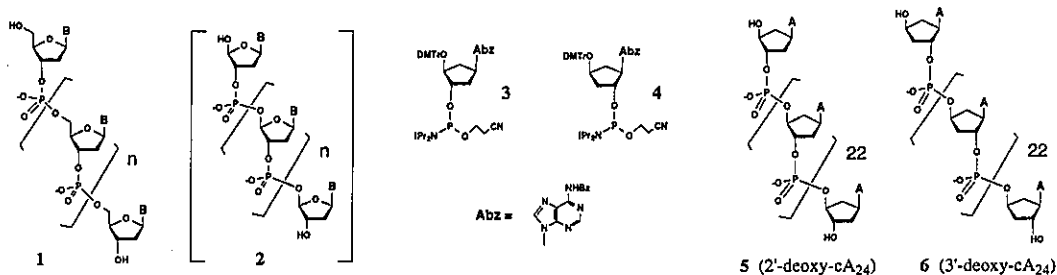
--- なぜDNA中にメチレン基が必要なのか ---

Synthesis and Properties of Artificial Nucleic Acids (DNA Analogs) lacking the 5'-methylene  
--- Why the 5'-Methylene of DNA was Necessary ? ---

古賀理和、山本昌治、羽場真一、阿部耕三、尾崎庄一郎 (愛媛大・工学部)  
Masakazu Koga, Masaharu Yamamoto, Shinichi Haba, Kohzou Abe, Shoichiro Ozaki  
(Faculty of Engineering, Ehime University)

### 1. はじめに

自然界に存在するDNA 1は、5位にメチレン基を有する 2-deoxy-D-ribose を骨格とし、遺伝情報を伝える塩基部分を支え、これを単体ユニット (nucleoside) とし、リン酸ジエステル結合により連なったものである。(図参照) その中で、私は、なぜ 2-deoxy-D-ribose がその骨格として選ばれたのかと言う疑問から、その5位のメチレン基の有意義性に着目した。DNAのそれぞれの5'位のメチレン基を欠いた化合物 2は、構造的に大変不安定な化合物であり天然には安定に存在出来ない。つまり、塩基部分と dialdehyde類に容易に分解する。そこで、そのピロール環の代わりに炭素環であるサイクロペンタン環を使用するとその骨格が安定化すると考えた。



### 2. Carbocyclic 5'-Nor-2'-deoxy- 及び 3'-deoxyadenosine オリゴヌクレオチドの合成

そこで我々は、単体として 1,2-cyclopentane-diol に各種塩基が結合した nucleoside を、立体選択的に合成し、これを carbocyclic 5'-Nor-nucleoside と命名した<sup>1</sup>。さらに、光学活性な D 型の carbocyclic 5'-Nor-2'-deoxyadenosine 誘導体を合成し<sup>2</sup>、反応上活性な phosphoramidite 誘導体 3 に変換した。また一方、こはく酸誘導体に変換し、固相担体上に誘導した。これらを用いて DNA/RNA シンセサイズ上でそのオリゴヌクレオチド 5 (2'-deoxy-cA<sub>24</sub>) を合成した<sup>3</sup>。この様にして、5'位のメチレン基を欠いたリン酸ジエステル結合を有する、おのおのの nucleoside 間が一メチレン鎖短いリン酸間結合を有するオリゴヌクレオチドを合成することが出来た。これらは、天然型 DNA に比べてより簡略化された核酸類似体で、これまでに全くないタイプの人工核酸である。また、この adenosine 誘導体の合成の際に、有用な副産物として新規な化合物である、光学活性な D 型の carbocyclic 5'-Nor-3'-deoxyadenosine が得られた<sup>2</sup>。これも同様の方法によって、4 に変換し、そのオリゴヌクレオチド 6 (3'-deoxy-cA<sub>24</sub>) を合成した<sup>3</sup>。更に、3 と天然型 2'-deoxyadenosine phosphoramidite 誘導体を用いて、同様にして、carbocyclic 5'-Nor-2'-deoxyadenosine が一つ置きに挿入されたオリゴヌクレオチド 7 (alternate) を得た<sup>3</sup>。これらは、HPLC を用いて精製後、HPLC、ポリアクリルアミノゲル電気泳動、及びキャピラリー電気泳動によって分析した。

### 3. Carbo-cyclic 5'- Nor -2'-deoxy- 及び 3'-deoxyadenosine オリゴヌクレオチドの機能性

ここに得られた 5 (2'-deoxy-cA<sub>24</sub>) および 6 (3'-deoxy-cA<sub>24</sub>) が天然型のDNA (dT<sub>24</sub>) または RNA (Poly U) に対してどのように作用しうるのかを検討するために、UVスペクトルによるMelting curve (吸光度—温度変化による曲線) を測定した<sup>3</sup>。その結果、5 は各メチレン基を欠くため相補的な結合が困難であると考えられていたが、驚くべきことに、天然型DNA (dA<sub>24</sub>) と比較して、DNAとは比較的不安定なComplex を形成するが、RNAとは特異的に安定なComplexを形成する事が判明した (Figure 1, 2)。またこの曲線から見て、約 300mer のRNA (Poly U) に対してこの化合物は少なくとも 2 箇所結合したComplexを形成したと考えられる。また、6 も同様に、DNAとは不安定なComplexを形成するのに対し、RNAとは特異的に非常に安定なComplexを形成する事が判明した (Figure 1, 2)。一般的に一本鎖RNAはDNAに比べてよりフレキシブルであり、各メチレン基を欠いたためにDNAとは安定なComplexを形成出来ないが、RNAとは安定なComplexを形成することが出来たと考えられる。

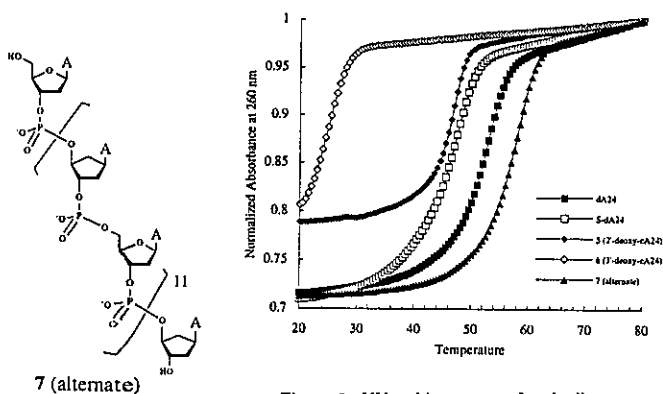


Figure 1. UV melting curves of each oligomer (2.0  $\mu$ M) with dT<sub>24</sub> (2.0  $\mu$ M) in PBS (pH 7.2, 0.15M). S-dA<sub>24</sub>: phosphorothioate dA 24 mer

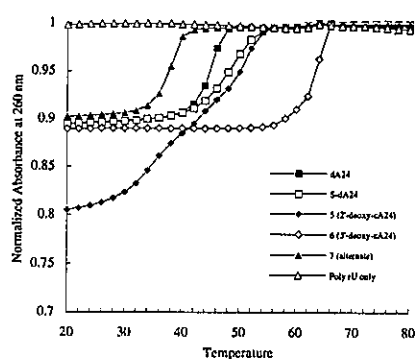


Figure 2. UV melting curves of each oligomer (0.3  $\mu$ M) with poly rU (0.3  $\mu$ M) in PBS (pH 7.2, 0.15 M). As a control, the curve of poly rU itself (0.3  $\mu$ M) is also shown. S-dA<sub>24</sub>: phosphorothioate dA 24 mer

また、これらの化合物 5, 6, 7 のリン酸ジエステル結合は、そのメチレン基を欠くために生体内に存在する核酸分解酵素の基質になり得ず、安定であると考えられ、各種ホスフォジエステラーゼ (蛇毒, 3'-exonuclease) 、及び (仔ウシ脾臓, 5'-exonuclease) を用いてこれらの安定性を検討した結果、天然型DNA (dA<sub>24</sub>) と比較して非常に安定である事が判明した。

この事実は、5, 6 が、ターゲットであるウイルスのRNAに選択的に作用でき、抗ウイルス作用を有するアンチセンスDNAとして、理想的な性質を持っていると考えられる。現在、CDスペクトルやNMRスペクトルによって、これらのComplexの詳細な構造の検討を行なっている。

### REFERENCES

- (a): Koga, M.; Schneller, S. W. *Tetrahedron Lett.* **31**, 5861, (1990)  
(b): Patil, S. D.; Koga, M.; Schneller, S. W. *J. Med. Chem.* **35**, 2191, (1992)
- Koga, M.; Schneller, S. W. *J. Org. Chem.*, **58**, 6471-6473, (1993)
- (a): Koga, M.; Schneller, S. W. *Nucleic Acids Symp. Ser.*, **29**, 63-65, (1993)  
(b): Koga, M.; Abe, K.; Ozaki, S.; Schneller, S. W. *Nucleic Acids Symp. Ser.*, **31**, 65-66, (1994)

# 12

## モンモリロナイト上におけるヌクレオシド-5'-リン酸イミダゾリド重合反応の速度論的研究

Kinetics and Mechanistic Investigations for Oligonucleotide Formation from 5'-Phosphorimidazolide of Nucleoside on Na<sup>+</sup>-Montmorillonite

川村邦男 (大阪府立大学、工学部)

Kawamura Kunio (University of Osaka Prefecture)

James P. Ferris (Rensselaer Polytechnic Institute, U.S.A.)

1. RNAは情報を保持する機能と酵素機能の両方をもつため、生命の起源において重要な役割をはたしたものと考えられている。この仮説が正しければ、RNAあるいはRNA状物質は原始地球上で自発的に生成したものと考えられる。活性化ヌクレオチドからRNAが生成する反応は鋳型の存在下あるいは非存在下で研究されてきた。またこの種の研究において速度論的な解析は強力なアプローチ法であり反応機構が研究されてきた。

一方、粘土などの鉱物が生命の出現に重要な役割をはたした可能性について、1949年にBernalによって提案された。我々は近年、モンモリロナイト粘土鉱物上でアデノシン-5'-リン酸イミダゾリド (ImpA) が重合し高い収率で3',5'-結合をもつオリゴアデニル酸を生成することを発見した [1]。本研究では、モンモリロナイトの存在下でImpAからジヌクレオチドおよびオリゴヌクレオチドが生成する反応の速度定数を決定し(pH=8, 25 °C)、反応機構を調べた [2]。

2. 試薬 : ImpAはJoyceらの方法に従って合成した。ナトリウムモンモリロナイトは滴定法によって調製した。生成物は高速液体クロマトグラフィー (HPLC) にイオン交換カラムあるいは逆相カラムを用いて分析した。粘土に対するImpAの分配係数 : ImpAを含む溶液 1 mLに対して50 mgの粘土を加え一定時間後の上澄み溶液の吸光度 (260 nm) を測定し、分配係数を決定した。ジヌクレオチドの生成速度 : 50mMのヌクレオチド (NH<sub>2</sub>pA, AppAあるいは5'-AMP) と2.5mMのImpA とを含む溶液 1 mL (pH=8) に粘土50 mgを加え反応させ、所定時間ごとにHPLCで上澄み液を分析し反応曲線を得た。生成物の構造は、リボヌクレアーゼT<sub>2</sub>およびアルカリホスファターゼによる酵素加水分解反応を用いて分析した。オリゴヌクレオチドの生成反応速度 : 1 mLのImpAを含む溶液 (pH=8) に50 mgの粘土を加え、所定時間ごとにHPLCで上澄み液を分析し反応曲線を得た。反応終了後、粘土けんだく液を遠心分離し上澄みを除去し、0.1M酢酸アンモニウム溶液を加えて1日間放置した。酢酸アンモニウムによって粘土から脱着されたオリゴヌクレオチドを分析し、オリゴヌクレオチドの粘土に対する分配係数を決定した。反応速度定数の決定には反応速度解析プログラムFITSIMおよびSIMFITを用いた [3]。

### 3. 結果

(1) オリゴヌクレオチド生成に対するモンモリロナイト種類の影響 : モンモリロナイトvolclay (Vol), Wyoming (Wy), Japanese (Jpn) およびOtay (Ot)の触媒効果およびMg<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup> およびNa<sup>+</sup>イオンの影響を検討した。Ot以外の粘土は高い触媒能をもち約10量体までのオリゴヌクレオチドが生成した。またMg<sup>2+</sup>の存在下でもっとも効率よくオリゴヌクレオチドが生成した。

(2) ImpAの吸着挙動 : ImpAの速度解析を行う際に適切なImpA初期濃度を選択するためLangmuir吸着等温曲線を測定した。その結果にもとづいて、10, 15, 20, 40 mMを反応速度測定のImpAの初期濃度として選択した。これらの濃度でのImpA吸着量はImpAの飽和吸着量に対してそれぞれ27.4, 39.1, 48.3, 72.9%であった。一方、吸着量に対する金属イオンの影響と粘土種類の影響を調べた。Mg<sup>2+</sup>の存在下では15 mMのImpAは64.1% 吸着したが、MgCl<sub>2</sub>の非存在下では9.28%しか吸着しなかった。この結果Mg<sup>2+</sup>イオンは粘土のオリゴヌクレオチド生成触媒作用とImpAの吸着の両方を促進することを知った。またWy およびJpn 粘土にはImpAはNa<sup>+</sup>-Volと同程度吸着したが、Otにはほとんど吸着しなかった。

(3) ImpAの加水分解反応 : ImpAの粘土の存在下および非存在下での加水分解反応が、ImpAに対して見かけの1次反応あるいは2次反応のどちらに従うか検討した。その結果、粘土の有無にかかわらずImpA



の加水分解反応は見かけの1次反応であった。

(4) ジヌクレオチドの生成速度：粘土上でImpAからジヌクレオチドが生成する反応は同時にオリゴヌクレオチドが生成するため、直接追跡することができない。そこでImpA (2.5mM) に対して大過剰 (50mM) のNH<sub>2</sub>pA, AppA あるいは5'-AMP (pA) を加えるImpAの擬1次反応条件下で、NH<sub>2</sub>pApA, AppApA およびpApAの生成速度定数を決定し、生成物の構造を分析した。生成物中には3',5'-結合をもつジヌクレオチドだけが検出された。またその速度定数はNH<sub>2</sub>pA<sup>3</sup>pA > AppA<sup>3</sup>pA > pA<sup>3</sup>pAの順序で減少した。

(5) オリゴヌクレオチドの生成速度：粘土上での鎖長7までのオリゴヌクレオチドの生成速度定数および水中でのジヌクレオチドとトリヌクレオチドの生成速度定数を決定した。さらに粘土上でのオリゴヌクレオチド生成速度定数の妥当性を確認するために、テトラヌクレオチドからペンタおよびヘキサヌクレオチドの生成する速度定数を決定した。テトラヌクレオチドを陰イオン交換HPLC上で単離しImpAと反応させ、生成するペンタおよびヘキサヌクレオチドの速度定数を決定した。その結果、これらの速度定数は上記のオリゴヌクレオチドの生成反応を解析した結果とよく一致した。一方、ジヌクレオチドおよびトリヌクレオチドの生成反応は、粘土上では水中の1000倍以上の速度定数をもつことを知った。オリゴヌクレオチド生成反応の速度定数値 (kn) をそのオリゴヌクレオチドの鎖長に対してプロットした結果、knはテトラヌクレオチドまで増加し、それ以上の長さのオリゴヌクレオチドでは一定となる (Figure 1)。この傾向は鋳型指示反応と類似しており、粘土上でのオリゴヌクレオチドの伸長反応が類似した機構で進行することを示唆している。反応モデルの例をFigure 2に示す。ImpAのリン酸基はMg<sup>2+</sup>イオンと錯体を形成しこの粘土表面の負電荷と静電相互作用する。またオリゴヌクレオチドの伸長反応は、まず伸長するオリゴヌクレオチドが活性化ヌクレオチドとスタッキングによって会合し、つぎにリン酸ジエステル結合が生成するものと考えられる。現在、他の塩基を有する活性化ヌクレオチドの反応を速度論的に解析し、詳しい反応機構を検討している。

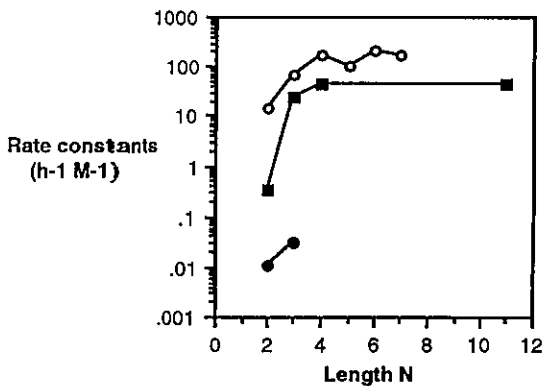


Figure 1. Relationship between logarithmic values of  $kn$  and length  $n$ : lines, ○, oligomerization of ImpA on Na<sup>+</sup>-Vol; ●, in aqueous; ■, template directed synthesis[4].

#### 参考文献

- [1] Ferris, J. P. and Ertem, G.: 1992, *Science*, 257, 1387.
- [2] Kawamura, K. and Ferris, J. P.: 1994, *J. Am. Chem. Soc.*, 116, 7564.
- [3] Terfort, A. and von Kiedrowski, G.: 1992, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 31, 654.
- [4] Kanavarioti, A. et al.: 1993, *J. Am. Chem. Soc.*, 115, 8537.

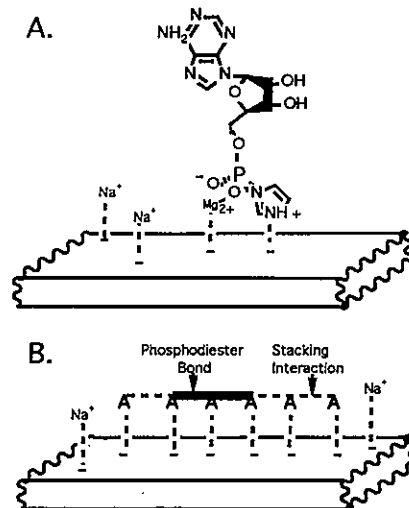


Figure 2. (A) Proposed binding of ImpA to negative sites of Na<sup>+</sup>-Vol. (B) Proposed model for elongation of (pA)<sub>3</sub>, AAA=(pA)<sub>3</sub> and A=ImpA.

胸組虎胤\*, 下山晃† (小山高専、筑波大学化学系†)

Toratane Munegumi\* and Akira Shimoyama†

(Oyama National College of Technology; Department of Chemistry, University of Tsukuba)

## 1. はじめに

生命がより効率的な反応系や遺伝情報の伝達系を獲得するためには、タンパク質を構成するアミノ酸、および、核酸を構成する糖が片手構造をもつことが必要であったと考えられる。しかし、片手構造からなるこれらの生体分子系がどのように形成されたかは依然明らかになってはいない。また、これら片手構造の生体高分子を構成するアミノ酸がD体ではなくL体であり、糖がL体でなくD体である理由も依然不明である。ただ、タンパク質の構成単位であるアミノ酸の対掌体のうち、L体の方がD体よりもエネルギー的に安定であるという報告がいくつかなされている。1、2)しかし、L体がD体よりも安定であることが証明されていても、L体のタンパク質系が形成された経路は解明されない。

我々はラセミ体のアミノ酸から片手構造のポリペプチドが生成する過程が次の3段階からなるという仮説を考えている。(1)アミノ酸の選択的縮合過程、(2)ホモキラルペプチドとヘテロキラルペプチドの分別過程、(3)D型ホモキラルペプチドとL型ホモキラルペプチドの分別過程。今まで特に、(2)のホモキラルペプチドとヘテロキラルペプチドの分別過程に着目し、様々な結合力を利用したクロマトグラフィーを用いて、どのような相互作用が片手構造ペプチドの分別に役立つかを検討した。その結果、アラニンのジペプチド、トリペプチドまでのジアステレオマー間の分別には疎水性の相互作用が重要であると推測された。3)ホモキラルなペプチドの方がヘテロキラルなペプチドよりも疎水性クロマトグラフィーでの保持時間が長く、疎水性が高いことが明らかとなった。今回、さらに多量体のペプチドのジアステレオマー間の疎水性を比較するために、ペプチドのオクタノールと水との間の分配係数 ( $P=A_o/A_w$ )の対数( $\log P$ )を分子軌道法によって計算した。4)

## 2. 実験および方法

計算の対象としたペプチドのオリゴマーは次のものである。

(1) グリシンおよびグリシンのオリゴマー: Gly, Gly<sub>2</sub>, Gly<sub>3</sub>, Gly<sub>4</sub>, Gly<sub>5</sub>, Gly<sub>6</sub>, Gly<sub>7</sub>, Gly<sub>8</sub>, Gly<sub>9</sub>.

(2) L-アラニンおよびそのオリゴマー: L-Ala, (L-Ala)<sub>2</sub>, (L-Ala)<sub>3</sub>, (L-Ala)<sub>4</sub>, (L-Ala)<sub>5</sub>, (L-Ala)<sub>6</sub>.

(3) L-アラニンとD-アラニンとのヘテロキラルペプチド: L-Ala-D-Ala, L-Ala-D-Ala-L-Ala, L-Ala-D-Ala-L-Ala-D-Ala, L-Ala-D-Ala-L-Ala-D-Ala-L-Ala, L-Ala-D-Ala-L-Ala-D-Ala-L-Ala-D-Ala.

(4) アラニンの環状ジペプチドおよびトリペプチドのジアステレオマー

また、コンピューターソフトウェアには分子軌道法プログラムバックCache System

Ver.3.7.1(ソニーテクノロジクス)を用いた。ハードウェアにはPowerMacintosh 7100 / 80を用いた。

### 3. 結果および考察

logPの計算値をペプチドを構成するアミノ酸の数に対してプロットしたものをFig.1に示す。

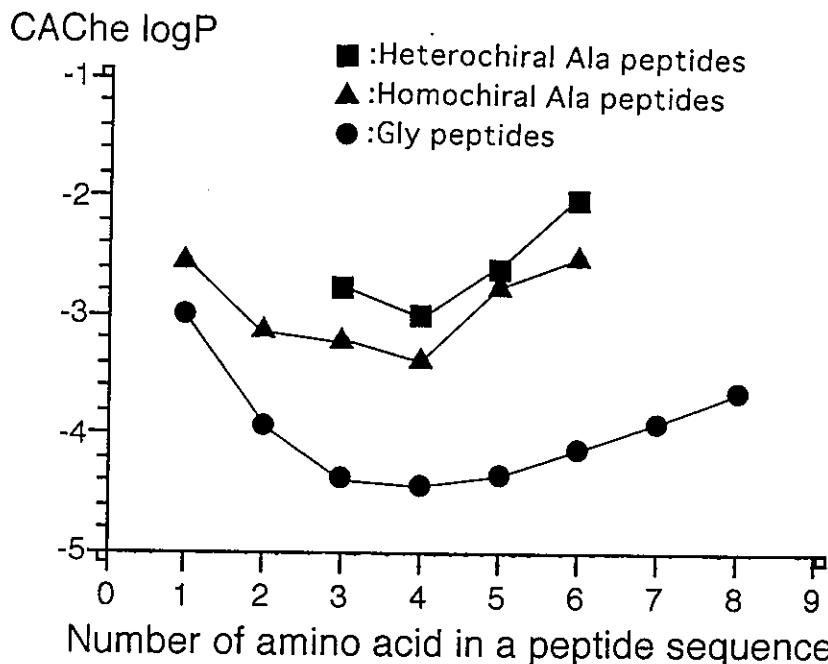


Fig.1. LogP of Gly peptides and Ala peptides

まず、どのペプチドも4量体でのlogP値が最も小さくなった。また、グリシンのペプチドはアラニンのペプチドよりもlogP値が小さく、オクタノール-水系での分配係数が小さい値となった。さらに、2量体か6量体までのオリゴアラニンで比較すると、ホモキラルな配列のものよりホモキラルな連続配列をまったくもたないものの方がlogP値が0.2~0.4程度小さいことが明らかとなった。この結果は、ヘテロキラルペプチドの方がホモキラルペプチドよりも相対的に疎水的であることを示しており、疎水性クロマトグラフィーの結果と一致する。logPの差と原始水圏における具体的な分別過程についての関係性についてはさらに考察をする必要があるが、ヘテロキラルペプチドとホモキラルペプチドとの溶解度の差が生じ、分別が起こったことも考えられる。尚、講演では環状ペプチドの計算結果についても触れる。

#### <参考文献>

- (1)G.E. Tranter, *Chem. Phys. Lett.*, **120**, 93(1985).;
- (2)菊池修, *数理科学*, No.379, 35(1995).;
- (3)T.Munegumi, M.Yokota, *Viva Origino*, **23**, 24(1995).
- (4)N.Bodor, Z. Gabanyi, and C. -K. Wong, *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, 3783(1989).

# 14

## アミノ酸熱重合と加水分解

### Thermal copolymerization of amino acids and hydrolysis of the products

有川良博、今井栄一、本多元、松野孝一郎（長岡技術科学大学・生物系）

Yoshihiro Arikawa, Eiichi Imai, Hajime Honda, Koichiro Matsuno  
(Department of BioEngineering, Nagaoka University of Technology)

#### 目的

アミノ酸を熱処理する時に起こる化学反応と、それを水中に懸濁させて加熱したときに起こる加水分解反応を調べることは、原始地球上でアミノ酸分子が果たした役割を調べる上で、特に重要であると考えられる。

#### 導入

我々は従来より、アミノ酸としてアスパラギン酸とプロリンを選択し、その熱重合物は、水中に懸濁されて一定時間加熱される過程を経ると、直径数 $\mu\text{m}$ の微小な球形構造物形成する。我々は、この微小球について研究を行ってきている。この微小球の性質が明らかになるにつれて、微小球を構成する分子がどのような化合物であるかを知ることが重要になってきた。

#### 方法

- ・ アスパラギン酸とプロリンを等モル比で混合した粉末を窒素還流下で加熱し、一定時間ごとにその重量を測定して、その変化を追う。
- ・ アミノ酸を加熱することでできた固形物に適切な溶媒を加えて、薄層クロマトグラフィー、ゲルクロマトグラフィーによって、成分に分離する。
- ・ UV、FT-IR、NMR、CD等のスペクトルを測定することで、分離された各成分の特徴を決定する。

#### 結果

- ・ アミノ酸の粉末を加熱すると、温度と時間に応じて、水分子が2から3個とれていることがわかった。（Figure 1参照）
- ・ アミノ酸の粉末に200℃、3時間の熱処理を行ったものは、蛍光をもつものと持たないもの、それぞれ数種類の成分からなる。

- ・ アミノ酸熱重合物に水を加えて煮沸すると、煮沸時間が長くなるにつれて、常温で沈殿を形成する成分が減少し、約30時間でほぼ全部溶解する。
- ・ 沈殿を形成する成分は、20%(v/v)アセトニトリル存在下のゲルクロマトグラフィーで、複数の成分に分離される。(Figure 2参照)
- ・ 煮沸する時間が異なると、ゲルクロマトグラフィーで分離される成分のそれぞれの量が、相対的に変化する。

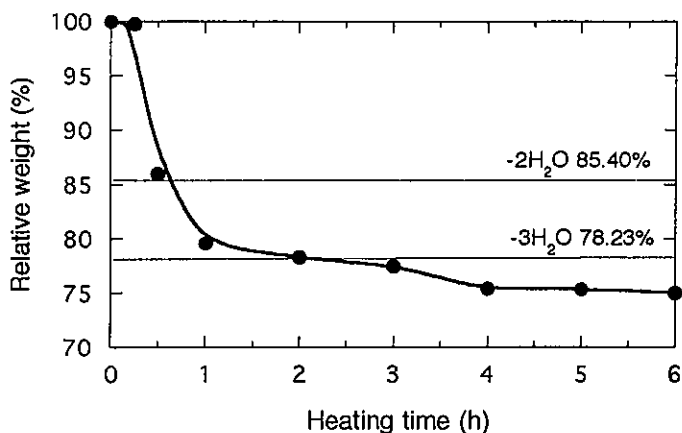


Figure 1. Weight change of the mixture of amino acids.  
Mixture of Asp and Pro were heated at 200°C.

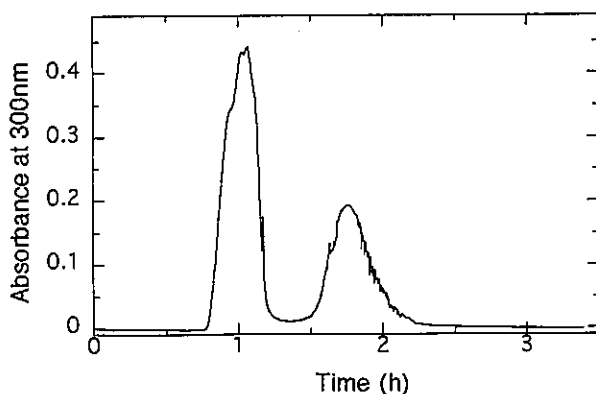


Figure 2. Fraction pattern of the thermal copolymer from Asp and Pro.  
Column: Cellulofine GCL-90-sf, Mobile phase: 20%(v/v) Acetonitrile,  
Flow rate: 0.48ml/min.

# 15

## アミノ酸熱重合物の微小殻構造の形成機構

*Formation Mechanism of Shell Structure from Thermal Heterocomplex Molecules of Amino Acids*

櫻沢 繁、本多 元、松野 孝一郎 (長岡技術科学大学・生物系)

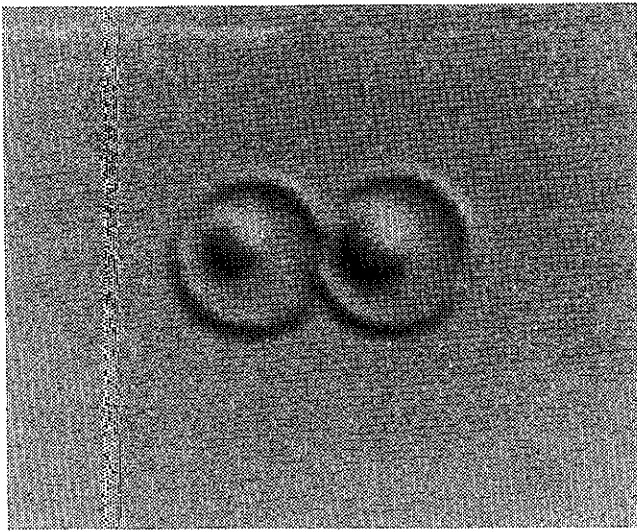
Shigeru Sakurazawa, Hajime Honda and Koichiro Matsuno  
(Department of BioEngineering, Nagaoka University of Technology)

アミノ酸の非生物的な進化を扱うモデルの一例として、アミノ酸の加熱重合実験がある<sup>1)~5)</sup>。そこで生成物が水中で形成するバルクが、外界の pH 変化に応じて形態変化すること、及びその機構について報告する。

Asp と Pro のモル比 1:1 混合物から生成した酸性のアミノ酸熱重合物は水中で直径数  $\mu\text{m}$  微小球を形成する。この微小球は pH 上昇によって溶解するが、その際、表面に殻状の構造物を形成してから溶解してゆくことが顕微鏡観察から明らかになった(Fig. 1)。この殻形成がどのようになされたかについて調べ、以下の実験事実を得た。

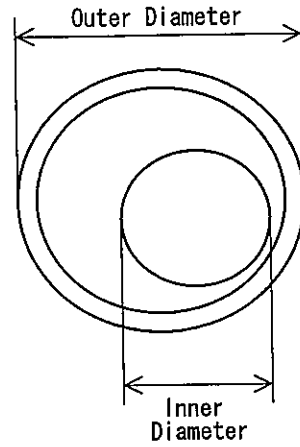
1. 微小球に塩基性の緩衝液を加え任意時間放置後、微分干渉光学顕微鏡で観察し、I/O Ratio(Fig. 2)の経時変化を調べた。pH が高い程、内部の球の縮小化が速かった。外径は一過的に減少し、その後徐々に増大した。
2. 1.における外液に溶解した熱重合物の濃度の経時変化を調べた。熱重合物の溶解反応は2段階であった。
3. スライドガラス上で塩基性の緩衝液と溶液交換し、その形態変化の様子の直接観察像を得た。
4. 熱重合物を 30%アセトニトリルで溶解し、KOH を加え UV スペクトルの変化を調べた。KOH 濃度によって 312.5nm の吸収に変化が現れた。
5. 殻形成の際、微小球に加える緩衝液にあらかじめ熱重合物を溶解しておく、形成された殻の大きさが大きくなった。(Fig. 3)

この殻構造は微小球にあらかじめ存在していたものではなく、pH 上昇による微小球の溶解に伴って形成された。微小球の溶解の初期段階で、急速な解離に伴って殻が形成され、その後のゆっくりとした溶解では殻は形成されず内部の溶出ししか起こらなかった。殻形成は、微小球表面付近での水素イオン濃度勾配と、解離してゆく熱重合物の拡散流、そこで起こる性質変化の兼ね合いで生ずるものと考えられる。



3μm

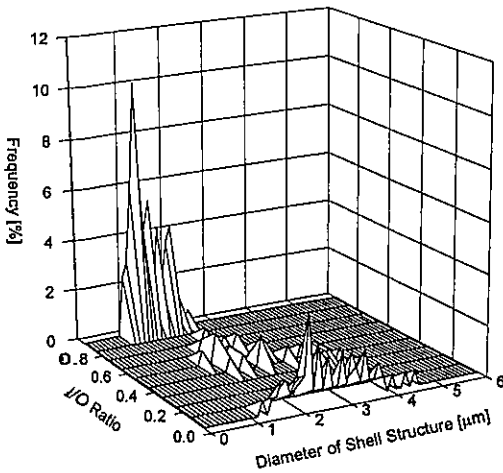
Fig. 1 アミノ酸熱重合物の形成する殻構造  
(微分干渉光学顕微鏡像)



$$I/O \text{ Ratio} = \frac{[ \text{Inner Diameter} ]}{[ \text{Outer Diameter} ]}$$

Fig. 2 I/O Ratio の定義

0 mg/ml DP<sub>1</sub>



2.71 mg/ml DP<sub>1</sub>

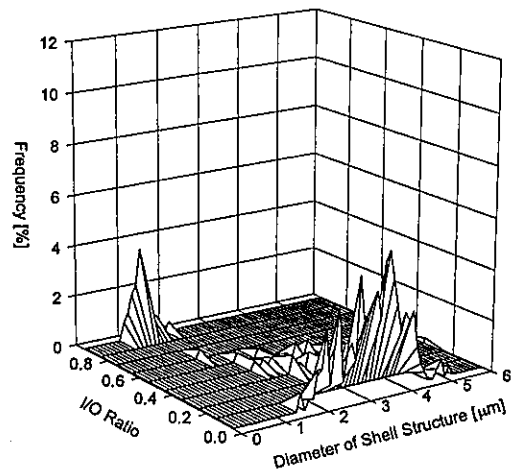


Fig. 3 アミノ酸熱重合物の KOH による吸収の変化

参考文献：

- 1) Fox, S. W. and Harada, K. :1958, *Science* 128, 1214.
- 2) Yanagawa, H., Kobayasi, Y. and Egami, F. :1980 *J. Biochem.* 87, 855.
- 3) Imai, E., Shirasawa, J., Honda, H. and Matsuno, K. :1992, *Origins Life Evol. Biosphere* 21, 243
- 4) Sakurazawa, S., Honda, H., Imai, E. and Matsuno, K. :1994, *Viva Origino* 22, 81.
- 5) Honda, H., Sakurazawa, S., Kimura, H., Imai, E. and Matsuno, K. : 1995, *Origins Life Evol. Biosphere* 25, 443

# 16

## アミノ酸熱重合物の進化実験への意義 Evolutionary Implications of Thermal Heterocomplex Molecules from Amino Acids

松野孝一郎・今井栄一・本多 元（長岡技術科学大学・生物系）  
Koichiro Matsuno, Eiichi Imai and Hajime Honda  
Department of BioEngineering, Nagaoka University of Technology

化学進化が当面する実験事実には次の課題がある。

- 1 アミノ酸の生成
- 2 アミノ酸からのオリゴペプチド生成（触媒？）
- 3 塩基の生成
- 4 燐化合物の生成
- 5 ペントースの生成
- 6 ATP, ヌクレオチドの生成
- 7 オリゴヌクレオチドの生成（鋳型？）

ここに大別した7つの課題は、原始地球環境下においてその大部分が解決され得る、とする実験条件が同定されつつある。残る問題は、ここに用意された“部品”としての各化学分子が如何にしてポリペプチド、ポリヌクレオチドの連続生成を可能とする反応系へと取り込まれて行くのか、への道筋をつけることである。

連続生成反応系を成り立たせるための条件には

- I 反応系を局所空間内に固定すること
- II 反応物質を取り込むこと
- III 生成物質を環境へ吐き出すこと
- IV 生成物を分解すること
- V 反応系を動かすためのエネルギー源の確保

がある。

必要な部品を調達すること（1～7）とそれらを連続生成反応系に取り込ませること（I～V）は互いに関連しており、個々に独立して生起したとは考え難い。一方、実験室内においてはそこでの方法上の制約からいずれかを強調したならば、他は相対的に無視せざるを得ない。

ここでは、対象となる部品（1～7）とそれの処方の仕方（I～V）の内、Vに指摘された“エネルギーの確保”を第一義的にとらえた時、それが化学進化に対してどの様な寄与を為し得るかに注目する。

空間内のある局所領域で絶えずエネルギーの蓄積が為され（自由エネルギーの高い化学分子の生成）、それが緩和して行く時、その緩和の途中において種々の新たな化学分子の生成（1～7に相当）を可能とする。このシナリオを成り立た



せるためにはエネルギー源の確保に対して次の条件が必要になる。

イ) 自由エネルギーが高い化学分子の生成

ロ) 自由エネルギーの高い化学分子の空間内局在化

ハ) 自由エネルギーが低くなった化学分子への繰り返しエネルギー励起

この三つの条件の内、進化過程にとって最も肝要なのはハ) に示されたエネルギー励起の繰り返し獲得過程となる。自由エネルギーの高い多様な化学分子（例えば ATP、またはその前駆体であるピロリン酸）を実験室で合成すること自体はさほど困難ではない。生成されたこの種の化学分子を空間内に局在化させることも同様である。しかし、エネルギー源の連続局在化にはそれを担うことの出来る分子過程を実験室内で実現する必要がある。その候補の一つにアミノ酸熱重合物とそれによって構成される球型構造物がある。

アミノ酸熱重合物にはオリゴペプチド鎖が含まれている。この熱重合物を水中で加熱するとき、オリゴペプチドは多様な構造変化を示す。この構造変化が温度の上昇、下降に対して可逆であるならば、温度の上昇時に吸収された熱が下降時に放出される。（但し、外界の示す熱緩和時間と構造の示す緩和時間は互いに異なるものとする。）一方、この構造変化が変性を伴う不可逆変化であるならば、ここで吸収された熱が再び放出されることはない。アミノ酸熱重合物に含まれるオリゴペプチドが外界の温度変化（例：日周期）に対して可逆な構造変化を示す時（但し、上昇下降時に同一の経路を通らない）、ここに蓄えられたエネルギーが他に利用される可能性がある。

アミノ酸熱重合物がプロリンとアスパラギン酸とから成る時、温度変化が 20～90°C の範囲でなされる場合、熱重合物一分子あたり  $10^{-14}$  erg 程度のエネルギーが蓄積され、放出される。

温度ヒステリシスを伴う構造変化が繰り返し為されるならば、蓄積されるエネルギーに釣り合う緩和過程は可能な限りその緩和時間を増大させる（即ち、エネルギー効率の局大化）。ここに選択過程が介在することになる。分子レベルでのダーウィン進化を持ち込む以前に、動的な分子選択の可能性がここに拓かれることになる。

清水 幹夫 (宇宙研)

Mikio Shimizu (ISAS)

今や oligoribonucleotides は合成器を用いて、また polyribonucleotides は酵素を用いて構築できるようになった。またいろいろな peptides も commercial に合成できる。一方これらの間の反応で生じた僅少の反応物も imaging analyzer といったたぐいの high sensitivity apparatus の出現で検出できるようになった。原始の栄養物に富んだ海洋やその干潟で自発的に形成する生命分子の長さは限られていて、巧妙な反応を行える polymer がぼんとできる筈はない。とすれば、そこで簡単に生じそうな何か短い oligomer の間の基本的相互作用があって、その結果、chemistry から biology への jump が起こったと考えるのが自然であろう。ここでは 10 マー程度の oligonucleotides と dipeptides の系が現在の生命分子系と生化学的に同じように振る舞えることを実験的に追う。これ迄見逃されていたのは RNA がアミノ酸を特異的に認識できるという点と、dipeptides が対応する酵素からうまく抜きだせば弱いながら特異的酵素になるという点である。

まずタンパク質合成系中で唯一のアミノ酸特異的反応であるアミノアシルーションを考える。Crick は核酸の上でアミノ酸をつなげられないことからアダプターとしての小 RNA (~10 マー) の存在を予言した。しかし実際に網にかかったのは、ポリマーワールドの中のアダプターとしての 78 マーの tRNA であった。これから frozen accident や RNA はアミノ酸を分子認識できないという話になる。しかし小 RNA だったらアンチコドンと尾につくアミノ酸とは相互作用できる。

そこでヘアピン型で 5'末端にアンチコドン、3'末端にディスクリミネーター + CCA を持つ RNA を考える。末端部には C4N ができている。現在の活性アミノ酸を使うのが自然だからアミノアシルアデニレートと作用させたが反応しない。そこで dipeptides を触媒として入れるとバリン・アスパラギン酸 (VD) のみが特異的に反応した。<sup>1)</sup> 方法は酸性ゲル (pH5) 中に反応物を流し RNA を見るときはエチジウム・

ブロマイドで染め、アミノ酸を見るときは $^{14}\text{C}$ でラベルする。

反応はアミノ酸特異的で、染色法では20種のタンパクアミノ酸すべてに対しアミノアシル化したバンドが検出された。discrimination についてはグリシン、アラニン、バリンのRNAが他のアデニレート（第二アンチコドンが同じものでも）受けつけないということで $^{14}\text{C}$ 法でチェックできる。

RNAはアミノ酸が読めないという（J. Watson: Molecular Biology of the Genes）のは、水素結合は疎水型アミノ酸の側鎖を認識できないという議論に基づいている。しかし、核酸塩基はdualitic（塩基平面は疎水的、側面から水素結合ドナー・アクセプターが出る）な性質を持っていて、アンチコドン2塩基とディスクリミナータ塩基から作る三角錐型の穴は、これも三角錐をした対応する疎水型アミノ酸の側鎖にちょうどマッチする。もし穴の形がきっちりしていれば、バリンとイソロイシンすら見分けられる。かつて我々はアンチコドン型二塩基と対応するアミノ酸の間に $1\text{ M}^{-1}$ 程度の弱いaffinityを検出したが、これは穴がグラグラしていたためである。事実tRNAとのaffinityは $200\text{ M}^{-1}$ とはね上がった。上記の系では $10^4$ くらいになる。

この原始tRNAの特異的アミノアシルーションの観測は遺伝暗号の起源の分子論的基盤を提供するだろう。

1) M. Shimizu, J. Biochem. (1995) 117 23-26

清水 幹夫 (宇宙研)

Mikio Shimizu (ISAS)

タンパク合成系で specific aminoacylation に続くもう一つの重要な過程は peptidyl transfer である。アダプターとしての tRNA 上にチャージしたアミノ酸は、単純に鑄型の上にならんでいる時と違って、もう容易に互いに近接し転移できる(アミノアシル tRNA は活性分子)。アミノ酸の condensation が比較的容易なのは、コアセルベート、ミクロスフェア、マリグラニュールの例を見れば明らかで、問題は bioinformation をいかに担えるかという鑄型現象にあったのである。

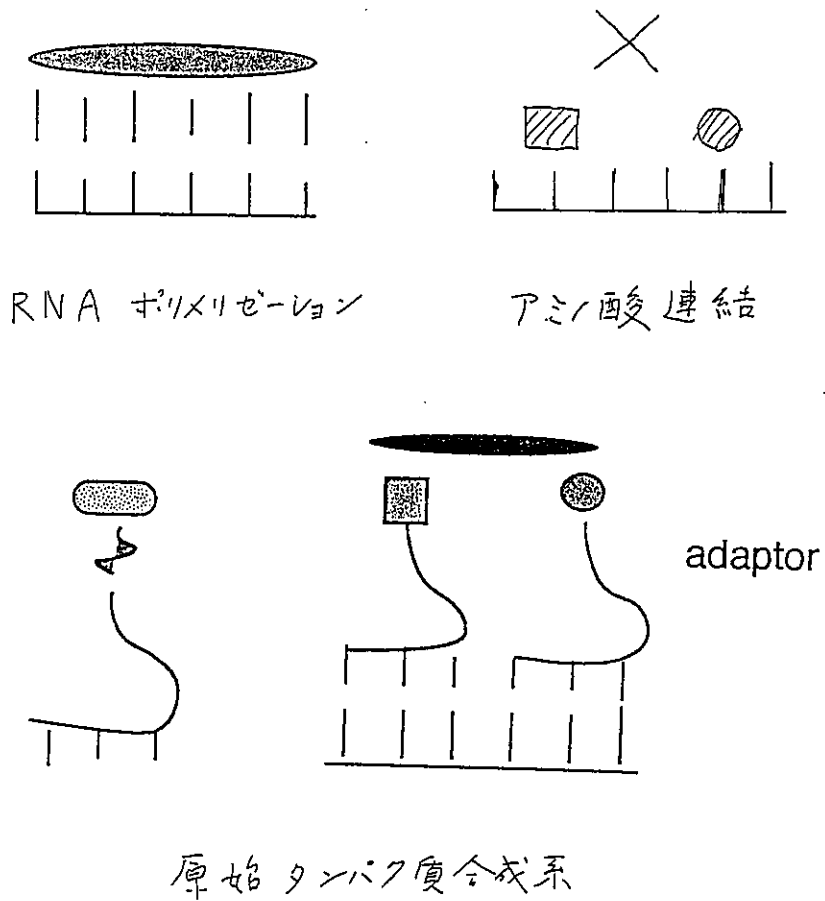
この場合もジペプチド XY が特異的触媒の役割をすることが何十種かのジペプチドのサーチで発見された。リボソーム RNA の役割が peptidyl transfer をも担える RNA 触媒 (Noller の玩具反応) か L2 のようなリボソームタンパク質の助けが居るのかは未だ不明で、XY は L2 中にあるので後者を担っているにもかも知れない。

実験的には tRNA (Phe, Lys, Pro, Gly) を ARS の助けで<sup>14</sup>C アミノ酸でチャージし、対応する homopolymer (poly U, poly A, poly C, poly G) と XY を共に混ぜ、37°C、1 h 反応後、mild alkali hydrolysis を 2 h 行い、TLC にかける。別に non-radiogenic な monomer, oligomer のアミノ酸を流し、spot の位置をニンヒドリンで決めて比べると、皆少なくとも dimer (peptidyl transfer) ができたことが検出された。鑄型効果もいろいろある。

タンパク質合成と共に RNA polymerization も重要で、ここ迄の三つの反応で、遺伝、代謝の主な役者が決まる。この場合、現在我々の用いている活性ヌクレオチド NTP を用いて鑄型なしに作る必要がある。これ迄はフォスフォロイミダゾライドが用いられたが、economy の見地からは NTP であるべきである。

この場合も原始地球上で作られ得るジペプチドが触媒であって原始地球上にありふれた条件下 (planetesimals が集積する時期で、太陽エネルギーでなく集積の重力エネルギーが源になる) で、例えば ATP から A6 くらい迄連げられることが判った。

核酸とタンパク質合成反応の逆として nuclease 活性、proteinase 活性も問題になる。この場合にもジペプチドが触媒として発見された。後者はキモトリプシン活性との関係で次の論文で議論する。



Fig<sup>1</sup> Primitive Protein Synthesis

清水 幹夫 (宇宙研)

Mikio Shimizu (ISAS)

核酸、タンパク質以外の biosubstrates にも dipeptides catalyst が存在するだろうか。またいろいろな biochemical reaction についてはどうか。これらが確立すれば総体は初めに述べたように oligomer world という言葉でくくれる。これは生命の起源に対する核酸とタンパク質の coevolution を意味する。RNA ワールドに対する批判は最後に述べる。

まず electron transfer (redox reaction)のチェックでは NADH の 340nm の吸収を利用するのがよかろう。マロン酸、クエン酸、アミノ酸、アルコールといった分子は特異的ジペプチド触媒下に NAD<sup>+</sup>を NADH 化することが、この吸収の測光で判明した。

一方 hydrolysis に関しては p フェニルアラニル化合物の分解についての 400nm の吸収がよく用いられる。アセテートは芳香族アミノ酸のところでタンパク質を切るキモトリプシン活性のチェックとして、これ迄さまざまな物質で試されて来た。カリチャルスキーのヒスチジンは著名である。この場合には BJ が良い触媒となる。糖を代表してピラノシドを substrates に用いても同じ結果が得られた。

さて oligomer world の役者達は原始地球海洋中で自発的に形成し得る。そして互いに絡み合っていける分子ばかりである。一方 RNA ワールドの立役者リボザイムは 1000 マー以上の polymer であり、RNA が連がることの難しさを考えなくともとても原始海洋中で自発的に生まれるなど考えようもない。bioinformation transfer が核酸からタンパク質一方通行ということだけで結論を出すのは非論理的である。この不等式は等号をも含み得て、共進化という筋があるからである。第二の難しさは何故タンパク質に・・受け渡したのかの分子過程が何も出ていないことにある。

もっと現実的に切り込もう。Cech が polymerase 活性と称して証明したのは IGS と cytidinyl transfer だけであり、mRNA と all bases ではない。Noller の玩具(fragment)反応は tRNA にした場合成立しないことは渡辺のグループによって結論づけられている。

リボソーム、tRNAs, templates の他にもう一つアルファが必要であり、それは dipeptides でもあり得る。Yarus の ARS は self catalyst であるから、同時に tRNA でなければならぬが、code (コドン、アンチコドン) をその上に持っていないから、遺伝暗号とは関係がなくなる。派手な RNA ワールドマーチも昨年初めにストップし、SELEX もその後うまくいっていない。intein とか DNA ザイムとか、反 RNA ワールド的現象も次々と出てきた。パラダイムは真理ではない。

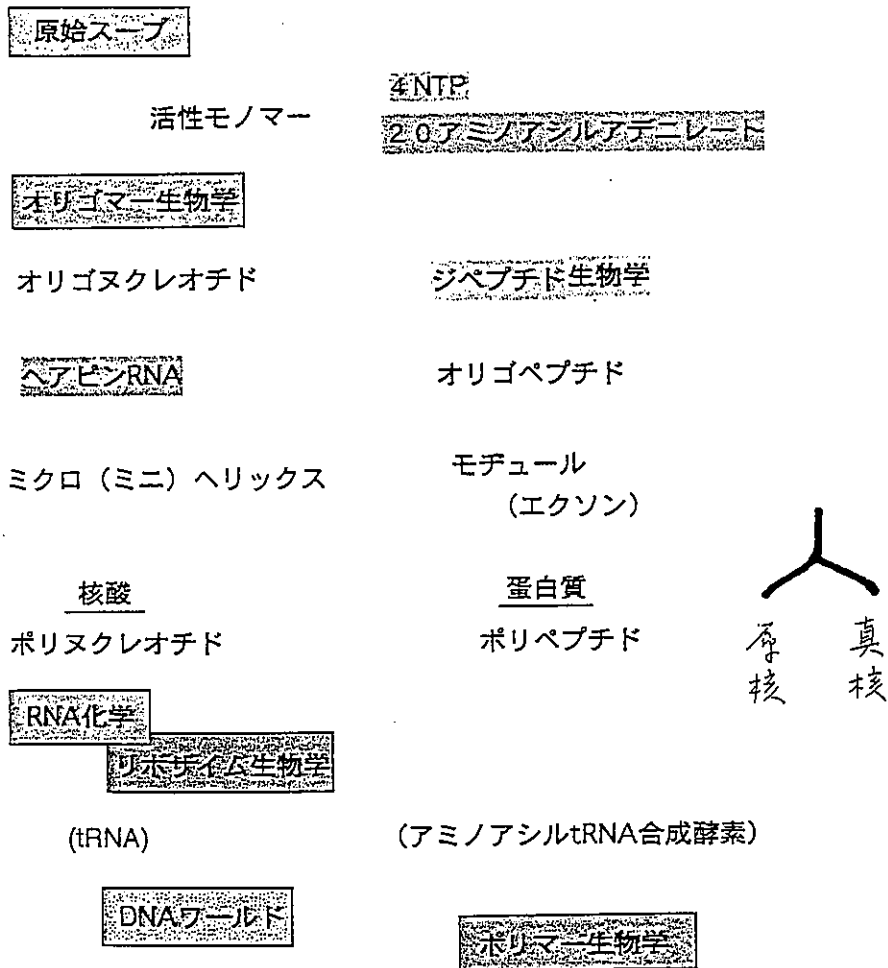


Fig. 1 Evolution of Biosystem

# 20

## 20種アミノ酸はなぜ選ばれたか

Cometary impacts on the primordial Earth and the synthesis of 20 species amino acids by thermal equilibrium processes at hot spots

横尾 広光 (杏林大学 保健学部)

Hiromitsu Yokoo (School of Health Sciences, Kyorin U.)

アミノ酸には多種類あるのに、生命が使っているのは20種類だけである。なぜそれら20種が選ばれたのか。選ばれる「性質」があったのではなく、生命発生時に「量」の多かったアミノ酸が採用されただけであると考えられる。

進化の名のもとに、簡単な分子から複雑な分子をつくるのが論じられている。しかし、昔あるところに、ありとあらゆる反応の許される「分子のパラダイス」があり、そこでは温度と組成できまる、それぞれの分子が共存した楽園があったと考えてもよい。分子生成の平衡理論である。

この楽園が突然やぶれて急冷して楽園追放された分子が自活しはじめたのが生命であろう。とすると20種アミノ酸は楽園時代の化石であり、熱平衡時代を今に記憶しているものである(1)。

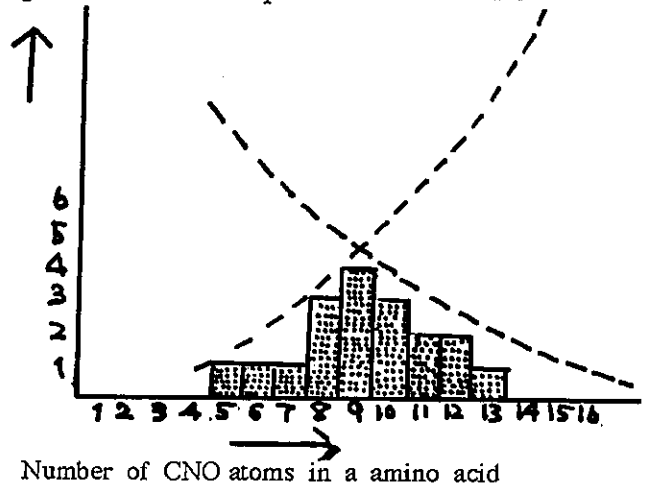
今までの平衡理論(2)は、大きい分子の種類が少ないことを説明できなかった。これは結合エネルギーより低い熱エネルギーをとったからで、熱エネルギーが大きければ、小さい分子が多くなる。つまり、原始地球の環境が高温ならよい。数千度ならよい。

炭素C、窒素N、酸素Oの組成比と温度、化石として残る最低 $\delta^{13}C$ 値とが平衡理論のパラメタである。CNOの組み合わせで考える。リンPについて以前に考察した(3)が今は別格にあつかう。CとOで糖になり、CとNとOでアミノ酸になるとする。

糖についての化石情報はない。

平衡温度を 1) CNO原子が9個のアミノ酸分子の種類がもっとも多い、2) 13原子の分子以上は無い、3) オルニチンが選ばれずアルギニンが選ばれた、4) バリンが選ばれてノルバリンとインバリンは選ばれなかった、条件から推定する。あらゆる反応チャンネルを考慮するのでなく、大胆に近似する。

Fig. 1 Scatter of 20 species of amino acids



Number of CNO atoms in a amino acid

Curves represent the possible amino acids and the population of the molecule at a given equilibrium temperature



原始地球でこのような高温状態が存在し、そののち急冷して、平衡状態が化石化して残ることがありうるだろうか。

それは天文学的には、彗星や隕石の衝突によって起きうることでありえよう。

Fig. 2 Impact of a meteorite on the solid Earth

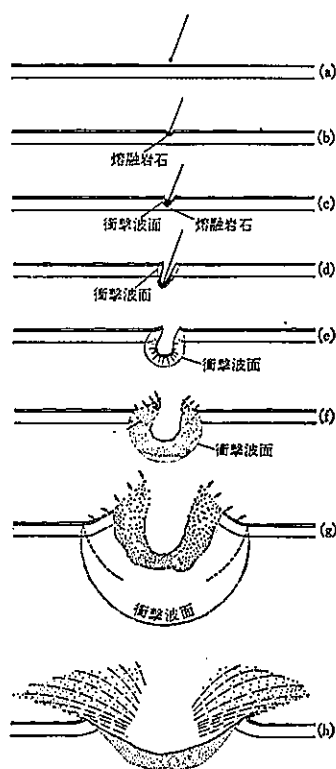


Fig. 2 A simulation calculation shows a hot melting spot by meteoritic impact on the solid surface of the Earth (Schoemaker 1963).

This spot rapidly cools down.

Cometary impacts may played similar role in the early stages of the planets.

#### 文献

- (1) 横尾広光「20種の現存アミノ酸は何故選ばれたか——できやすい分子とできにくい分子——」 鯨座通信 29 p.8-11  
1981年11月
- (2) M.D.テイホフ著成田-加藤訳「進化の生化学的基礎」共立、1975
- (3) 横尾広光「リン濃縮系のふるまい」 生命の起源および進化学会  
1980年3月



シポジウム(A)

古細菌  
(1 - 5)

シポジウム(B)

生体分子機能の創出原理：  
進化実験と解析からのアプローチ  
(6 - 10)

居原 秀 (大阪府大・総合科学部)

Hideshi Ihara

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

## 古細菌

1970年中頃まで、生物は大きく真核生物と原核生物の2つに分類されていた。1970年代の後半にWoeseらは分子生物学的手法を用いた16s rRNAの分類により、原核生物の中に真核生物とも他の原核生物(真正細菌)とも分類される”第3の生物”が存在することを示した。これらの生物にはメタン細菌、高度好塩菌、高度好熱菌が含まれ、その生育環境が原始地球に似ているという事から「古細菌 (archaeobacteria)」と名付けられた。しかし、その後の分子進化学的研究からも明らかなように「古細菌」は必ずしも「太古の細菌」を意味しているわけではない。

古細菌の生化学、分子生物学的性質には古細菌独特のものもあれば、真正細菌に似たもの、真核生物に似たものがある。当然、3つの生物群にすべて共通してみられる性質もある。3つの生物群の性質を比較し、その共通点と相違点を検討することによって、3つの生物群に分岐する以前の原始生物とその後の生命の初期進化を推定することができる。

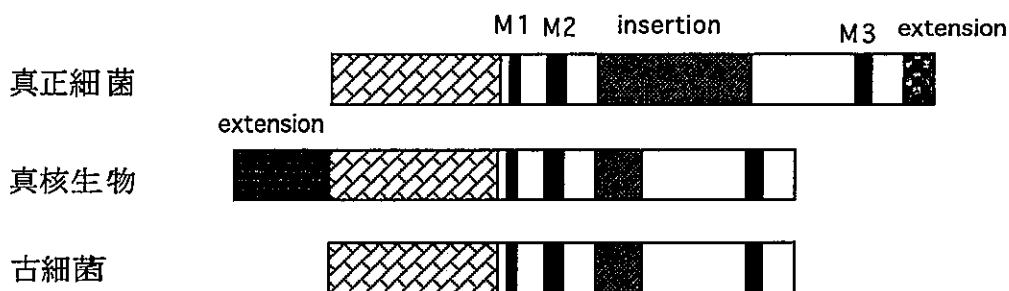
## アミノアシルtRNA合成酵素

アミノアシルtRNA合成酵素 (ARS) は、特定のアミノ酸をそれに対応するtRNAに結合させる酵素である。原始生物において、DNAの遺伝情報がタンパク質へと翻訳される機構が出現した頃の遺伝コードは、現在のものに較べて大まかなものであったと考えられる。ARSが出現し、進化するにつれてアミノ酸の識別は細分化されコドンとの対応も精緻なものとなり、現在の普遍的遺伝コードができたと考えられる。

真正細菌、真核生物においては、ARSの構造、機能はよく調べられており、大腸菌ではすでに20種のアミノ酸に対応するARSの一次構造が明らかにされている。これらは、活性部位の構造の違いから10種ずつの2つのクラスに分類されている。また、11種類のアミノ酸に対応するARS (真核生物、真正細菌由来) の立体構造が明らかにされ、立体構造からアミノ酸、ATP、tRNAの認識機構が論じられつつある。これまでに古細菌のARSはほとんど調べられておらず、一次構造はメタン細菌 (*Methanobacterium thermoautotrophicum*) のイソロイシルtRNA合成酵素 (IleRS)、超好熱菌 (*Pyrococcus* sp. KOD1) のアスパルティルtRNA合成酵素 (AspRS) の2種類が明らかにされているのみである。また、最近になって筆者らは、高度好塩菌 (*Halobacterium salinarium*) のAspRSの一次構造を明らかにした。

## 古細菌のAspRS

AspRSの構造は20種類のARSの中でもっともよく研究されている。真核生物である酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) では酵素-tRNA複合体の、また、好熱性真正細菌 (*Thermus thermophilus*) では酵素の立体構造が明らかにされており、一次構造では真核生物で4種類、真正細菌で3種類、ミトコンドリア1種類、古細菌で高度好塩菌を含めて2種類の合計10種類が明らかにされている。古細菌のAspRSは、超好熱菌、高度好塩菌のものでそれぞれ438、436アミノ酸残基からなり、真核生物AspRSよりも約60-120残基、真正細菌AspRSよりも約150残基少ない。古細菌AspRS同士のアミノ酸配列の相同性は23%で、真正細菌同士で30%以上、真核生物同士で39%以上であることを考えあわせると意外に低い。これは、超好熱菌、高度好塩菌の酵素が、高熱、高塩濃度と異なった環境へ適応していったためかもしれない。すべての生物種のAspRSの一次構造を、真核生物AspRS、真正細菌AspRSですでに機能、構造の明らかになっている部分をもとに整列させてみると、古細菌AspRSでもATP結合部位を形成するモチーフ1、2、3など機能上重要と考えられる部位はよく保存されている。また、真核生物、真正細菌ではそれぞれ特有の伸長、挿入部位があることが報告されている。すなわち、真核生物ではN末端に伸長部位があり、真正細菌ではモチーフ2と3の間に長い挿入部位が、C末端に伸長部位がある。しかし、古細菌においてはそれらに対応するような伸長、挿入部位を持たず、また古細菌特有のものもない。配列の相同性は概してN末端側では真正細菌と高く、C末端側では真核生物と高い。立体構造が明らかとなっている酵母、好熱性真正細菌のAspRSの一次構造と比較してみると、古細菌AspRSの立体構造はtRNAのアンチコドン認識するN末端ドメイン、アミノ酸の活性化およびtRNAへの結合を行う活性ドメイン、両者を連結するヒンジドメインからなるコンパクトなものであることが推測できる。



各生物群由来AspRSのアライメント模式図

# SA2

## 古細菌の結合型 D-アミノ酸

Bound D-amino acids in archaea

長田洋子<sup>1</sup>, 藤原健智<sup>2</sup>, 福森義宏<sup>2</sup>, 山中健生<sup>3</sup>

(<sup>1</sup>姫路工大・理, <sup>2</sup>東京工大・生命理工, <sup>3</sup>日大・理工)

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

生体の構成要素のタンパク質について, 高等動物のタンパク質は光学異性体の一方である L-アミノ酸でできているとされている。2, 3 の例外はあるが, 演者の分析によっても, マウスの肝臓, 腎臓, 脳組織の抽出液のタンパク質に D-アミノ酸は検出されなかった。一方, 細菌ではペプチドグリカンに D-アラニンと D-グルタミン酸が, また, テイコ酸には D-アラニンが, ペプチド抗生物質にも数種類の D-アミノ酸が含まれており, これらの D-アミノ酸を生合成するラセマーゼの存在も知られている。私達もいくつかの細菌の可溶性タンパク質に D-アラニン, D-グルタミン酸, D-アスパラギン酸が高濃度で存在することを見出した。それでは, L-アミノ酸と D-糖でできているという生物界のホモキラルティ-は進化のどの段階で確立されたのか。私達は, 細菌と真核生物の中間の位置に分類されている古細菌に着目し, そのタンパク質アミノ酸のキラルティ-について検討した。

### 材 料

1. *Pyrobaculum islandicum*
2. *Sulforobus acidocaldarius*
3. *Methanosarcina barkeri*, strain MS
4. *Halobacterium halobium*, strain L-33

### 方 法

集めた菌体を, 培養液をよく洗い落としのち超音波破碎し, 140,000 g x 60 min (4°C) 遠心した。上清画分をポアサイズ 3500 の透析膜に入れ純水に 48 時間透析後, 凍結乾燥した。得られた画分を 6 M HCl 中, 110°C で 3, 6, 16, 24 時間加水分解した。減圧乾固した分解物に FDAA (1-fluoro-2,4-dinitrophenyl-5-L-alanine amide) を加え, アミノ酸のジアステレオマーを得た。これを二次元薄層クロマトグラフィーにより各アミノ酸に分離し, FDAA-アラニン, プロリン, セリン, グルタミン酸, アスパラギン酸を単離した。これらのアミノ酸のキラリティ-の分析は, 逆相カラムを用いた高速液体クロマトグラフィー (HPLC) によりおこなった。FDAA-アミノ酸を, 50 mM トリエチルアミン-リン酸緩衝液 (pH 3.5) 中アセトニトリルを 45 分間で 10% から 40% に上昇させるリニアグラジエントで溶出し, 340 nm の吸光度を測定した。既知量の標準 D-, L-アミノ酸を上記サンプルに加え, 加水分解後上記と同様に処理した内部コントロール

を用いて定量した。

D-アミノ酸とL-アミノ酸の含有量の比率(D/L比)を加水分解時間に対してプロットし、最小二乗法を用いて加水分解時間0に外挿、y軸上のD/L比の値とL-アミノ酸量からペプチド中のD-アミノ酸含有量を求めた。

## 結果と考察

古細菌では、超好熱性の *Pyrobaculum* のアスパラギン酸とセリンが比較的多くD型であり、低比率であるが、*Pyrobaculum* のグルタミン酸と *Sulforobus* のセリンもD型であった。しかし、*Methanosarcina* や *Halobacterium* には有意のD-アミノ酸は検出されなかった。古細菌の細胞壁はD-アミノ酸を含有せず、古細菌にはD-アミノ酸は存在しないという印象が強いが、以上の結果は、古細菌にも結合型D-アミノ酸の存在することを示している。

### D-Amino acids in soluble proteins

	Ser	Ala	D/L x 100		
			Pro	Glu	Asp
<b>Gram(+)</b>					
<i>Staphylococcus</i>	0.9	13.7	0.9	3.4	2.1
<i>Streptococcus</i>	0.8	11.5	0.5	3.3	1.6
<i>Propionibacterium</i>	0.3	0.8	0.4	2.4	1.5
<i>Bacillus</i> Ps3	1.6	0.8	0.6	1.1	1.4
<i>Bacillus</i> YN-1	0.3	5.5	1.1	28.7	1.2
<b>Gram(-)</b>					
<i>E. coli</i>	0	0.6	0.5	1.9	1.5
<i>Pseudomonas</i>	0.3	0.2	0.7	0.8	1.8
<i>Paracoccus</i>	0.8	13.3	1.0	10.8	6.4
<i>Pseudomonas</i>	0.3	0.2	0.7	0.8	1.8
<i>Desulfovibrio</i>	1.9	1.2	0.4	1.9	1.5
<i>Thiobacillus</i>	2.3	0	0	8.6	0
<b>Archaea</b>					
<i>Pyrobaculum</i>	3.3	0.7	0.7	1.0	3.7
<i>Sulforobus</i>	1.1	0.4	0.3	0.4	0.3
<i>Methanosarcina</i>	0.3	0.4	0.1	0.3	0.7
<i>Halobacterium</i>	0	0.1	0.1	0.5	0

# SA3

## 脂質から見た古細菌の系統関係

### Phylogenetic Relationship of Archaea Based on Their Lipid Structures

古賀洋介 (産業医大・医・化学)

Yosuke Koga

(Dept. Chemistry, Univ. Occupational and Environmental Health)

古細菌の膜の主要部分を作る極性脂質は、グリセロールにイソプレノイド炭化水素鎖がエーテル結合した骨格にリン酸エステルあるいは短い糖鎖が結合している。古細菌には主にイオウ代謝好熱菌、高度好塩菌、メタン生成細菌（以下メタン菌と略す）がある。高度好塩菌、メタン菌の脂質はその全体像が分かりつつあるが、イオウ代謝好熱菌については一部の種類以外はあまり研究されていない。この15年間に Kates ら、Sprott ら、および我々のグループで7種のメタン菌の主要脂質の構造が決定された。現在メタン菌は3目7科20属68種に分類されているが、脂質構造の判明した7種はそのうちの5科に属しており、それらの脂質構造はそれぞれの科に特徴的であることが分かった(1)。我々はメタン菌全体の脂質の概要を簡便に知るために、いちいち完全構造を決定することをやめて、簡易分析をして、メタン菌の分類群ごとの脂質の特徴を抽出することを試みた。すなわち、菌体から抽出した脂質を分画せずに全脂質レベルで、各種分解反応に供し、脂質骨格の種類、リン酸エステル結合した極性頭部の種類、および糖脂質糖鎖の単糖の種類だけを分析した。現在までにメタン菌全種の半数以上(37種類)についてこのデータを得ることができた(2)。分析した限りの全メタン菌を通して、脂質骨格は5種類、糖は3種類、極性基は7種類あった(これらを脂質構成部品という)。その結果、脂質構成部品のメタン菌間での分布は概ねメタン菌の科、または属ごとに特徴的であり、最新の16S rRNAの sequence similarity に基づいたメタン菌の分類体系とよく一致することが判明した。脂質(の構成部品)は少なくともメタン菌の分類の表現形質として化学分類学的マーカーになるものである。我々はこのことに基づいて Boone & Whitman と共同でメタン菌の新分類体系を提案すべく準備中である。このことは脂質構造がメタン菌の系統関係を反映していること



を示している。また、文献によると、高度好塩菌も糖脂質によって属を決定できる、すなわち、糖脂質が高度好塩菌の属レベルの系統関係を反映している。

次に主要3種類の古細菌(これらもまたより高次の系統関係である)の間でも脂質構造はそれぞれに特徴的である。たとえば、リン酸エステル極性頭部はイオウ代謝好熱菌はイノシトールだけ、高度好塩菌はグリセロールだけ、メタン菌は多様で窒素を含むものが多い、というように特徴づけられる。脂質骨格もイオウ代謝好熱菌とメタン菌はテトラエーテル型とジエーテル型のいずれかまたは両方だが、メタン菌は多様で炭化水素鎖に水酸基をもつものがあるが、高度好塩菌はジエーテル型だけというように特徴づけられる。糖鎖はイオウ代謝好熱菌と高度好塩菌は複雑だが、メタン菌では比較的単純である。

最後に真正細菌と比較した古細菌の脂質の特徴を私は従来4点にまとめていた。エーテル結合、イソプレノイド鎖、テトラエーテル型の橋架け構造、そしてグリセロール骨格の鏡像異性体の関係、である。しかし、ジエーテル型脂質や橋架け構造の脂質は稀ではあるが真正細菌にも見いだされ、イソプレノイドは膜脂質ではないが、真正細菌に広く存在する。それで最近では私はこの4点の中で、最も例外なく両者を分けているのはグリセロール骨格の鏡像異性体の関係であると考えている。グリセロール骨格の鏡像異性体は膜を作るという極性脂質の物性に対しては大きな影響はないと考えられるが、これに関わる代謝系の酵素群全体はまったく異なる蛋白質系統といえるだろう。乳酸デヒドロゲナーゼやアミノ酸アミノトランスフェラーゼなどで、D型に作用する酵素とL型に作用する酵素はアミノ酸配列から高次構造まで全く異なることが報告されている。従って鏡像異性体間で相互に転換する突然変異はきわめて可能性の少ないものと考えられる。また、極性脂質は膜を作り、細胞存在のカナメになる物質であるから、脂質の相違は細胞膜(あるいは細胞)の発生の時点以来のものであろう。これらのことから、真正細菌と古細菌は鏡像関係にある脂質で膜を作って細胞として出発したときから別系統として存在してきたのではないかと考えられる。

## 文 献

1. Koga, Y. et al. Microbiol. Rev. 57, 164-182 (1993)
2. Koga, Y. et al. System. Appl. Microbiol. 16, 342-351 (1993)

# SA4

## 古細菌の進化的位置 Phylogenetic position of archaeobacteria

宮田 隆、岩部直之、隈 啓一  
Takashi Miyata, Naoyuki Iwabe and Kei-ichi Kuma  
(Department of Biophysics, Faculty of Science, Kyoto University)

1977年、ウースは16SrRNAを用いた分子進化学的解析から、原核生物は通常のバクテリアから構成される真正細菌と、異常環境に棲息する古細菌とに分類できることを発見し、現在地球上に生存する全生物は、この2つのグループに真核生物を加えて、3つの超生物界に分類できることを提唱した。しかし、3つの超生物界の間の系統関係に関して、長い間論争が続いた。その原因は、単一分子に基づく分子系統樹ではその根を決定することが不可能であることにあった。我々は、この問題を解決するために、全生物が共有する重複遺伝子を利用した複合系統樹法を考案し、古細菌は真正細菌よりも真核生物に近縁であることを明らかにした。その後、幾つかのタンパク質で推定された系統樹は古細菌-真核生物近縁関係を再現しないという報告が発表された。我々はこれらの結果を確認する目的で、117の異なるタンパク質を用いて3超生物界の系統関係を解析した。それらのほとんどは複合系統樹ではないが、推定された系統樹から、以下のことが示唆された。

- 1) 転写・翻訳系に関与するタンパク質で推定された系統樹は古細菌-真核生物近縁関係を比較的よく再現する。
- 2) 代謝系、特に解糖系に関与するタンパク質では、しばしば古細菌-真核生物近縁関係を示さず、真正細菌と真核生物の分岐時期が、1)の場合に比べて、著しく接近している。
- 3) 超生物界の間にしばしば遺伝子水平移動 (horizontal gene transfer) が観察された。  
2) のケースはミトコンドリアあるいはその起源となった真正細菌に近いグループから真核生物の核DNAへの水平移動とみなすことも可能かも知れない。

転写・翻訳系に関与するタンパク質で推定された系統樹が示す古細菌-真核生物近縁関係を基準にすると、代謝系に関与するタンパク質でしばしばみられる真正細菌-真核生物近縁関係は、真核生物の初期進化の過程で、古細菌由来の核にコードされていた遺伝子を放棄し、代わってミトコンドリア遺伝子を採用した結果かもしれない。ただし、現時点では真正細菌の系統の数が少ないので、ミトコンドリア由来と断定するまでには至っていない。現時点では、真核生物の初期進化の過程で、全てではない

にしる、かなりな数の古細菌由来の代謝系遺伝子が真正細菌由来の遺伝子に乗り取られた、とだけ述べておく方が無難であろう。

全てではないにしる、多くの場合、転写・翻訳系の遺伝子を使う限り、古細菌をアウトグループとして真核生物の有根系統樹が推定できる。現存する真核生物中、最も深い分岐を示す原生生物は、ミトコンドリアを持たないギアルディア（ランブル鞭毛虫）であるといわれている。この原生生物には核は存在するが、ミトコンドリア以外にも小胞体やゴルジ体もないといわれている。この原生生物は古細菌から分岐直後の原始的な真核生物か？この問題は、上で述べた「乗り取り仮説」との関係で興味深い。真核細胞におけるタンパク輸送の制御に関与する *rab* 遺伝子族の分子系統進化学的解析は、ギアルディアにはかつて小胞体やゴルジ体が存在していたことを示唆する。ミトコンドリアも2次的に失ったのか？現在、この問いに答える十分なデータはないが、乗り取り仮説との関連で、この点も含めて論じる。

大島 泰郎 (東薬大・生命科学)

Tairo Oshima (Tokyo Univ. of Pharmacy &amp; Life Sci.)

### 1 新2界分類法

生化学・分子生物学の立場からは、真核生物は真正細菌と古細菌のハイブリッドと見なすことが出来る。真核細胞のリボソームは古細菌に近縁であるが、ミトコンドリアやクロロプラストは真正細菌由来である。生化学的性質は、真正細菌（バクテリア）／古細菌（アーキア）／真核生物（ユーカリア）といった3界に分ける必要はなく、単に真正細菌／古細菌の2界分類で十分である。

原始生物はある時点で真正細菌と古細菌の二つの枝に分かれ始めた。この分岐を起こした細胞はそれ以後の全生物に共通の祖先であり、遺伝暗号など生物に共通の生化学はこの共通の祖先に由来する。この共通の祖先の生化学を推理することは、同時に生命の起源の研究にも結びつく。この共通の祖先はコモノートと呼んだらよい。このような全生物の共通の祖先の存在はダーウィンの進化論から当然予想されるものである（これをダーウィン進化論の第二法則というのだそうである）。

コモノートの生化学はより原始的な真正細菌（現在広く信じられている16S rRNAの配列相同性にに基づく系統樹ではThermotogaなどの超好熱真正細菌）と古細菌の中でもより原始的な種（多くは超好熱性古細菌、Pyrodictiumなど）の生化学を調べ、その比較から推定できる。

### 2 コモノートの生化学

どちらの界の超好熱菌も染色体は環状のDNAであるから、コモノートもすでに環状のDNAをクロモソームとする細胞であったといえる。もちろん、生体触媒は酵素タンパク質である。かりに原始時代、RNAワールドが存在したとしてもコモノートは、すでにDNAとタンパク質を主役とする分子機械であった。RNAワールドは存在したとしても、ごく短時間であったと思われる。遺伝暗号も真正細菌と古細菌で共通であるから、すでにコモノートの時代、トリプレットに基づく普遍暗号が成立していたと推理できる。最近、原始的な超好熱性古細菌の中にはキナーゼの基質としてATPに代わりピロリン酸やADPを利用するものが発見された。エネルギー通過としてATPのみが用いられるようになったのは、コモノートのあとの時代のことらしい。

### 3 原始地球環境

図1は主に16S rRNAに基づいて描かれた生物の系統樹のうち、超好熱菌の属する枝を太い線で表した図である。図から分かるように、原始的な細菌は真正細菌、古細菌を問わずすべて超好熱菌である。すなわち、超好熱性真正細菌のThermotogaや好熱古細菌のPyrococcus, Sulfolobusなどが始原細胞に最も近い細菌類は、いずれも90℃またはそれ以上で生育出来る超好熱菌である。だとすると、始原細胞も超好熱菌であり、その細胞内の酵素は皆熱安定であったと推察出来る。

この推論は地球科学の考えとも一致する。今からおおよそ40億年前、地球上最初の生

命が誕生しようとしている頃、地球大気は大量の二酸化炭素ガスを含み、その温室効果により地表や海は高温となっていたと思われる。その正確な温度は決められていないが、大気圧が高かったので海は100度を超えても沸騰しなかったはずである。最初の生命は超好熱菌であったと推論できる。

化学進化実験は、従来、室温で行われていることが多いが、熱湯水中で行う必要がある。これまでに化学進化実験の結果、精製が確認されたとされている化合物のうち、高温下では不安定で再検討を要すると思われる化合物がいくつか思いつく。例えば、ATPに比べピロリン酸はより安定であり、かつ高エネルギー結合を含むので化学進化実験ではATPを検出しようとする代わりにピロリン酸を探したらよい。

この点でヌクレオチドは問題である。高温下ではDNAでは脱プリン反応が、RNAではリン酸結合の加水分解が起こりやすい。高温下で不安定なRNAを主役とするRNAワールド説は再検討を迫られるのではないか？生命の起源の研究には、好熱菌、特に高度好熱菌や超好熱菌の研究が重要である。

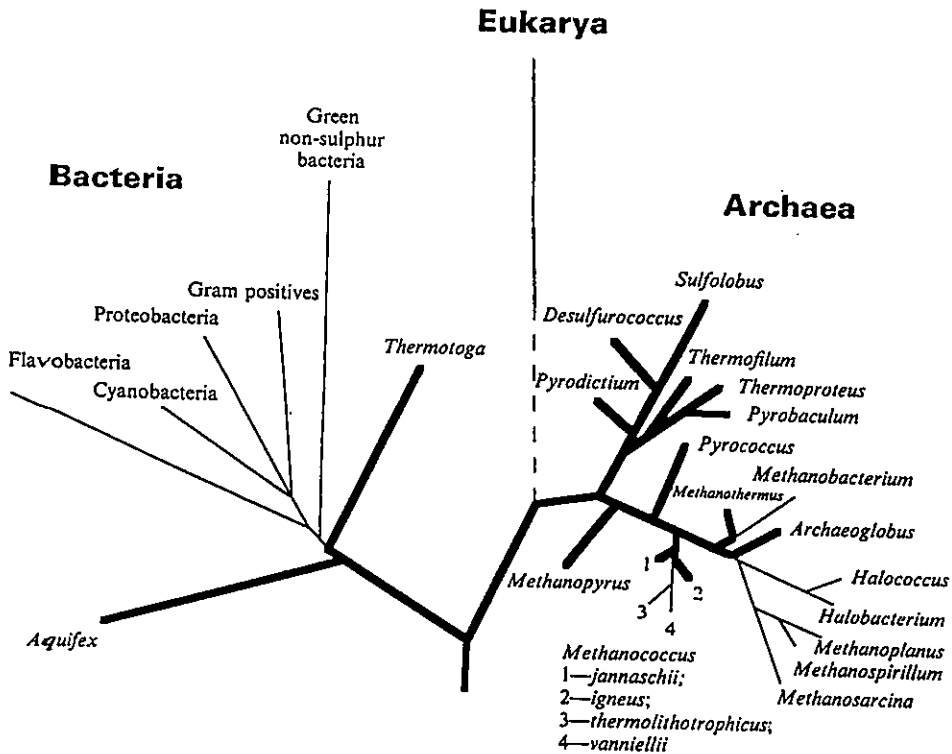


図1 分子系統樹の上に超好熱菌の位置を太線で示した。

四方哲也 (大阪大学工学部応用生物工学科)

Tetsuya Yomo (Dept. of Biotech., Faculty of Eng., Osaka Univ.)

進化は非常に複雑なプロセスである。どのようにして多様な生物が現われてくるのかについて、現在の自然の観察とその解析のみで想像の域を超えた研究をするのは難しい。そこで、より単純化したモデル実験系を研究室に持ち込み、解析を行っている。ここでは適者生存が成立しない複雑な進化のダイナミクスについて紹介する。

生物の多様化が始まる第一のステップは変異である。現われた変異体はその元の生物との競争にさらされる。この舞台を模倣するため、大腸菌のケモスタットによる競争実験を行った。遺伝子操作によって、グルタミン合成酵素の活性にのみ差のある大腸菌変異株を多数用意した。これらのうち、いくつかの株を選び、対にして、グルタミン供給無しに連続培養を行った。8種の条件のうち、6種の条件で、二種の変異株の共存が観察された。集団中の変異株の比は定常になる場合と振動する場合とがあった。以上より、独立に測定すると異なる増殖速度（または適応度）を持つ変異株のうちいくつかは適者生存に従わないことがわかる。

定常な共存比を示した条件についてさらに調べると、その比は培養前の二株の混合比によらず決定論的にある値に収束することがわかった。しかしながら、共存後、摂動を加えると共存しなくなった。また、一方の株を先に培養してからもう一方を侵入させると共存には達しなかった。このことから、細胞がその性質を培養中に変化させていることが示唆された。この示唆は、異なった培養歴を持つ株を混合し培養しても共存しないことで確認された。一方、共存していた二株を改めて混合すると再び共存に到達した。以上より、大腸菌のこの二株は、互いの存在に影響されながら、それぞれの性質を変化していることがわかる。しかも、その性質の変化は確率的でなく決定論的に起こる。

以上、我々の進化実験系のダイナミクスにおいて現われる複雑な様相を紹介した。この場合、細胞がほかの細胞と相互作用し、その性質を変化させている。このため、適者生存が成立せず、歴史依存性を示す共存状態が現われると考えている。



# S<sub>B</sub>7

モジュール・シャッフリングによるタンパク質の機能の創出

Reengineering the function of proteins by module shuffling

柳川弘志、石坂正道、佐藤晃、吉田賢二（三菱化学生命研）

Hiroshi Yanagawa, Masamichi Ishizaka, Akira Sato, and Kenji Yoshida

(Mitsubishi Kasei Institute of Life Sciences)

生体高分子の機能を高次生命現象の素過程とむすびつけて理解するには、タンパク質分子の構造・機能相関を解明する必要がある。ここに述べる我々の考えは、「人知を尽くす」ばかりでなく「自然の知恵」を借りるものである。従来のタンパク質工学の困難を克服し、人間の望むままに機能性生体高分子を設計・作出して行くには、この両者を駆使し得る能力を身に付けねばならないと考えたからである。新しい機能、活性を持つタンパク質を設計するのにこの古典的な方法を転用すれば、部位特異的変異によるタンパク質設計の難しさを回避できる場合がある。「自然の知恵を借りる」と言っても良い。この方法の欠点は、新しい機能、活性を持つ変異体をスクリーニングするのが難しいことであるが、最近脚光を浴びているRNA触媒は、この困難さをクリアしている。10<sup>13</sup>種類のランダム配列のRNAを合成し、その中から特定の性質を持つ10<sup>3</sup>個のRNAを選び出した研究は、PCRを使って上記スクリーニングの過程を迅速化した点で注目されて良い。これは進化分子工学の典型例の一つである。

進化分子工学とは、実験室内で生体高分子の配列空間の適応歩行のしくみを調べ、それを最適化することによって目的とする生体高分子の機能設計を行おうとする学問分野である（1、2）。言い換えれば、進化分子工学は自然界で起きているダーウィン進化のしくみを利用して、RNAやタンパク質などの生体分子を試験管内で有用物質に進化させようとする試みである。進化分子工学の第一目標は、従来のタンパク質工学ではまったく考えられないほど広大な配列空間の探索をし、その中から最適配列を選び出すことである。この時、「人知を尽くして」スクリーニングの系を工夫すれば、最適配列の周辺に多数の準最適配列を発見でき、「配列-機能」を研究するための実験系が構築できる。

進化分子工学は生命の起源や分子進化の研究への物理化学的基盤を提供する。生物の進化の過程ではエクソン・シャッフリングによって、モジュールの組換えが行なわれ、タンパク質の高度な機能が誕生した。この仮説に基づく進化分子工学の戦略は、モジュールの組み換えを自然淘汰という長大な時間スケールでのスクリーニングに任せるのではなく、積極的に人の手で行うことである。またその目的は、アミノ酸レベルの改変でタンパク質を設計する従来のタンパク質工学と異なり、エクソン=モジュールを単位とし、その組み合わせで新機能性タンパク質を設計するための原理を解明することである。分子進化の単なる模倣ではなく、進化の過程で実現されることがなかつ



た機能性分子の設計をも包含する。

これまで我々は、モジュール構造と機能の相関解析に基づくタンパク質設計について研究してきた。本研究はエクソン＝モジュールを単位とするタンパク質の設計原理を解明し、進化分子工学の確立を目指すものである。その第一歩として、リボヌクレアーゼの一種のバルナーゼ（110アミノ酸残基）を取り上げ、その6個のモジュール（M1～M6）の構造と機能について研究した。構造形成に重要な役割をしているモジュール（M1とM5）は水溶液中で自己集合し、ヘリックスやシート構造を形成することがわかった（3、4）。活性部位を構成するモジュール（M2、M3、M6）はリボヌクレアーゼ活性をもっていた（5）。その結果、バルナーゼは、進化の過程で単独でリボヌクレアーゼ活性をもっていた機能モジュールの組み合わせと、それらを寄せ集めるための「糊」の役目をする構造モジュールの組み合わせから構築されていることがわかった。

次に、モジュールの入れ換え変異体の作製とその特徴づけについて検討した。マルチリコンビナントPCR法を開発し、バルナーゼの23種のモジュール入れ換え変異体の作製に成功した。入れ換え変異体の中でも特に、M1とM2の入れ換え変異体（nabarse）とM2とM3の入れ換え変異体（barsena）の特徴づけを詳しく行った。その結果、nabarseとbarsenaのモジュール入れ換え変異体の立体構造は野生型のバルナーゼのモルテングロビュール状態に近いことがわかった。このモジュール入れ換え変異体にランダム変異を導入し、構造の安定化と機能の向上を試みた。モジュール入れ換え変異体の性質と機能進化について述べる

- (1) 柳川弘志: RNAのニューエイジ, 羊土社, (1993).
- (2) 柳川弘志: までりあ(Materia Japan), 34, 1261-1268(1995).
- (3) T. Ikura, N. Go, N. Khoda, F. Inagaki, H. Yanagawa, M. Kawabata, S. Kawabata, S. Iwanaga, T. Noguti, and M. Go: *Proteins*, 16, 341-356 (1993).
- (4) K. Yoshida, T. Shibata, J. Masai, K. Sato, T. Noguti, M. Go, and H. Yanagawa: *Biochemistry*, 32, 2162-2166 (1993).
- (5) H. Yanagawa, K. Yoshida, C. Torigoe, J.-S. Park, K. Sato, T. Shirai, and M. Go: *J. Biol. Chem.*, 268, 5861-5865 (1993).

板谷光泰 (三菱化学生命研)

Mitsuhiro Itaya (Mitsubishi Kasei Institute of Life Sciences)

細菌はその生存環境の多様性が特徴である。既存の細菌は、長期間に及ぶ生存環境の変化に伴う淘汰を受け入れて、形態・代謝生理・分化等の点でそれぞれのニッチに適応したと考えられている。細菌は一般的には単細胞で環境との応答は遺伝情報の発現を介して速やかに行われる。遺伝情報はゲノムに納められており、近年のゲノム解析の手法の著しい発展を受けて、細菌ゲノムに関する新しい知見が得られている。それらは細菌ゲノムの全塩基配列決定に象徴的に示されるようなデジタルな側面と、遺伝子の並び方や遺伝子ネットワークに支配された表現型というアナログな側面とがある。

我々は好気性土壌細菌の枯草菌 (*Bacillus subtilis*) を材料に用いて細菌ゲノムのアナログな面を実験的に検証・追求できる系の構築を行ってきた。具体的な実験は枯草菌のゲノム構造を人為的に改変して枯草菌の表現型 (生死) を判断するのを基本として行う。枯草菌 (ゲノムサイズは 4188 kb) は通常の培養条件ではゲノムの構造は極めて安定に保持され、この理由の一つとして枯草菌ゲノム上にはリボゾームオペロン以外に REP や IS の様な有意な反復配列が存在しない為と考えられている。この特徴はゲノム不安定性研究モデルとして最適であり、枯草菌ゲノム改変操作を行なう時、対象の領域以外のゲノム部分での rearrangement は最小限に抑えられ、枯草菌ゲノムをベースにしたゲノム工学の展開にも好都合と考えた (1)。

本シンポジウムでは、枯草菌ゲノムを分断したり、ゲノム上の特定領域を逆転或いは重複させたりする操作を通じて枯草菌ゲノムがいかに可塑的 (柔軟) であるかを示し、他の細菌ゲノムの性状と比較を試みる。そしてこのような改変操作の行く先に、ゲノムを改変を通じた新奇微生物を創製する可能性について論じる (2)。

(1) 板谷「枯草菌ゲノム工学の確立に向けた基礎的研究」、日本農芸化学会誌、vol.68, 1545-1550 (1994)

(2) 板谷「地球型最小ゲノム生物の創製」 *Viva Origino* 23, 95-108 (1995).



# S<sub>B</sub>9

## ウイルス型戦略分子とその生命の起源における意味

### A Virus-like Molecule and Its Implication in the Origin of Life

○根本 直人、伏見 譲 (埼玉大、工)

Naoto Nemoto and Yuzuru Husimi

(Faculty of Engineering, Saitama University)

#### はじめに

進化分子工学による成果は、進化における表現型（機能）とそれをコードする遺伝子型（情報）の対応付け戦略の重要性と非エンベロープ型ウイルスがその戦略の一つを採用していることを明確にした。

対応付け戦略は、表現型と遺伝子型を同一分子上に載せたりボザイム型、表現型と遺伝子型を単純に結合させたウイルス型、表現型と遺伝子型を1つの袋に入れた細胞型の3つに分類される。進化分子工学の進展に伴い明らかになったことは、進化の『効率』の問題である。つまり、細胞型はウイルス型に比べて効率の悪い方式であることがわかってきた。そこで我々は、この新たなウイルスの定義に基づき、単に表現型（タンパク）と遺伝子型（RNA）を単純に結合させた分子を「ウイルス型戦略分子」と名付け、RNAワールド末期にこのような「ウイルス型」生命体が細胞型生命体より先に出現したとする仮説を提案する。

また、ウイルス型戦略分子は進化分子工学そのものにおいても極めて有効な手段を提供すると期待される。現在、これを試験管内で創製する実験を試みている。

#### 細胞が先か、ウイルスが先か

一般的には、ウイルスは宿主細胞の破片であるとか、退化したものであるという見解が支配的である。万が一、それが細胞起源でない生命体であったとしても、細胞なくして増殖できないことから、ウイルスは進化的には細胞より後に登場したのではないかと考えられている。ウイルスの寄生する属性の具体的内容は、ウイルスはそれがコードする遺伝子を翻訳する場合に必ず宿主細胞のリボゾームを利用し、ウイルス自身は翻訳系をもたないということである。これこそが、ウイルスが同じ濾過性病原体であるリケッチアやマイコプラズマなどの寄生性生物と明確に区別される理由であった。ところが、翻訳系の起源自体が問題とされる生命の起源においては、もっとも初期のコアセルベートのような単に膜構造をもった前原始細胞は始めから翻訳系をもつことは想定されていない。このことは、翻訳系を持つことが“細胞”の条件であるならば、膜をもった細胞様構造体は細胞ではないことを意味する。このような細胞以前の原始生命世界における構造体を現在の細胞やウイルスの必ずしも本質的でない属性によって定義することは不適切である。

1981年のCechによるリボザイムの発見の生命の起源論における重要性は、従来の生命の起源論が自己複製単位として「細胞」のみを念頭に置いたために抱えていた核酸（情報）と蛋白質（機能）のどちらが先に生じたかというニワトリとタマゴのジレンマ

を、両者を1つの分子に乗せることで解消する視点を与えたことである。

われわれはすでに述べた対応付け戦略の進化的な観点<sup>1)</sup>から、RNAワールドの自己複製するリボザイムの後に出現する自己複製単位として細胞型戦略より構造的に簡単なウイルス型戦略の方が有利であることを示した<sup>2)</sup>。つまり、RNAワールドはRNAよりなる自己複製リボザイムが主役をなした世界であり、RNPワールドとはRNAとそれがコードするタンパクが単純に結合したウイルス型の自己複製単位が進化した世界であると提案したい。

### RNAワールドにおけるウイルス

翻訳系がないRNAワールドから、どのように翻訳系が成立したのだろうか？DaiらはRNAの切断活性を高めたリボザイムがアミド結合をも切断することを示した<sup>3)</sup>。そこで、逆反応として複製リボザイムが複製効率を高め、翻訳の活性を獲得した翻訳-複製リボザイム（原始リボゾーム）を想像することができる。この翻訳-複製リボザイムにより翻訳された最初のタンパクがその翻訳-複製リボザイムの複製を助ける補酵素として働いたとすれば、ここに複製・翻訳共進化系が成立する。あとはこのリボザイムと補酵素の対応付け戦略の問題である。Eigenはこのような複製・翻訳共進化系（翻訳をともなったハイパーサイクル）が細胞型戦略を採用すると仮定した。これに対し、われわれはRNAのみからなるハイパーサイクルに翻訳-複製リボザイムと複製補酵素タンパクが単純に結合したウイルス型分子が発生した場合、このウイルス型分子が複製・翻訳系を漸進的にハイパーサイクル内で共進化させることを見出した<sup>4)</sup>。細胞型戦略をとったハイパーサイクルの場合、複製・翻訳系の漸進的進化は極めて困難であることがわかっている。

したがってRNAワールドに「寄生」した「ウイルス」は、その複製・翻訳系を速やかに共進化させながら来るべきRNPワールドを準備した、いわば「母なる分子 (mother molecule)」とは言えないだろうか。おそらくこのウイルスは、現在のウイルスがビリオン形成の際に必須な細胞「膜」を必要としなかったに違いない。

### 試験管の中のウイルス型戦略分子

現在われわれは三菱化学生命研の柳川らと共同で、このような細胞に依存しないウイルス型戦略分子を無細胞翻訳系を利用して試験管内で発生させる試みをしている。これは、初期のRNPワールドの複製・翻訳系の化石を探し出す試みであると同時に、「細胞」の都合に合わせずにウイルスが様々なタンパクの配列を探索し、その可能性を試すことができた世界を現代に蘇らす試みでもある。

#### [参考文献]

- 1) 伏見譲、鈴木美穂、根本直人 (1993) *Viva Origino* 21(No.1), 28-29.
- 2) 根本直人、鈴木美穂、伏見譲 (1993) *Viva Origino* 21(No.1), 30-31.
- 3) Dai, X., Mesmaeker, A. D. & Joyce, G. F. (1995). *Science* 267, 237-240.
- 4) Nemoto, N. and Husimi, Y. (1995) *J. theor. Biol.* 176, 67-77

# S<sub>B</sub>10

## ポリ-tRNA構造からみたタンパク質モジュール構造の起源と進化

Origin and evolution of protein module,  
as viewed from the "poly-tRNA theory"

大西耕二 (新潟大・理・生物, 〒950-21新潟市五十嵐2の町8050)

Koji Ohnishi (Dept. Biol., Fac. of Science, Niigata University)

蛋白質のモジュール構造とその遺伝子の exon-intron 構造との関連については、1 exon-1 module の対応関係がグロビン系遺伝子等で知られている (Go & Mizutani, 1992)。ポリ tRNA 学説 (Ohnishi, 1993, 1994, 1995) から導かれるように、mRNA が tRNA の直列型連結構造 (poly-tRNA構造) をもつ RNA 分子に由来するならば、pre-mRNA の exon-intron 構造が、mRNA の (tRNA-unit 構造に基づく) モジュール構造と関連して進化した可能性に関心がもたれる。本研究では、poly-tRNA 学説の立場からこの可能性を解析した結果の現状について報告する。

### [ I ] TIMとL-PKのexon-intron 構造の相同関係:

ニワトリのトリオースリン酸イソメラーゼ (TIM) 遺伝子とラットのL-ピルビン酸キナーゼ (L-PK) 遺伝子のそれぞれのexonをその両側のflanking regionを含む形で並列した結果、TIM exon 1, 3, 4, 5, 6, 7 はそれぞれ L-PK exon 2, 3, 8, 9, 10, 11と塩基レベルでの有意な相同性を示した (53.7%-62.2% 塩基一致、10-26 < Pnuc < 10-13)。TIM exon 2 (aa's 38-79) は glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) (yeast) の aa's 267-315域と相同 (51.3% 塩基一致、Pnuc < 10-9) であり、Bacillus subtilis trrnD オペロンのtRNA<sup>Ser</sup>-spacer-tRNA<sup>Glu</sup> 域に由来することが分かった (Ohnishi & Yanagawa, in prep.)。

### [ II ] グロビン遺伝子のエキソン構造の起源

ダイズのレグヘモグロビン (LHb) 遺伝子の exon 3 と exon 4 の間には塩基レベル (50% 塩基一致、Pnuc =  $0.14 \times 10^{-8}$ ) およびアミノ酸配列レベルでの弱い相同性が見られる (Ohnishi, 1992, 1995)。これらの exon とその5'側 flanking region をグリシル tRNA 合成酵素  $\alpha$  サブユニット (GlyRS $\alpha$ ) のアミノ酸残基85-149番領域と並列した。さらにGlyRS $\alpha$  遺伝子のこの領域と相同な B. subtilis trrnD オペロンの tRNA<sup>Gln</sup>-spacer-tRNA<sup>Gly</sup> 域と並列した。GlyRS $\alpha$  は exon 4 域と55.7% (Pnuc (64, 115) =  $0.25 \times 10^{-11}$ ) の塩基一致を示した。従ってLHb exon 3, exon 4 は GlyRS $\alpha$  遺伝子のこの領域と相同である。さらに、GlyRS $\alpha$  遺伝子とtrrnDオペロンのポリtRNA域との並列 (Ohnishi, 1993, 1995) とを重ね合わせると、LHb exon 4 とその5'-flank

は、tRNA<sup>His</sup>-spacer-tRNA<sup>Gln</sup>-spacer-tRNA<sup>Gly</sup> 域と塩基配列上の極めて弱い相同性を認めることができる ( $P_{\text{nuc}}(40, 115) = 0.012$ )。この並列において、LHb exon 4 および exon 5 の5'末端が trrD-poly-tRNA構造の5'末端と1塩基のずれで一致することと、この exon 域が trrD の tRNA<sup>Gln</sup>-spacer 域とほぼ一致することは、これらの exon 構造が、pre-mRNA の tRNA-unit 構造と関連して進化したことを強く示唆する。

#### [III] 免疫グロブリンV-gene J-exon の起源

免疫グロブリン可変部のJ-segment は、trrD-peptide とのaa配列の相同性が高く、J-segment をコードする J-exon は、trrD operon のpoly-tRNA 構造の中の tRNA<sup>Gly</sup>域と相同であると考えられる。

#### [IV] Exon-Intron junction 域の起源の在り方について

*Tetrahymena cosmopolitanis* の 26S rRNA 遺伝子における group I intron (407 bases) の 3'-end と、その下流のexonとのjunction 域は、tRNA-homologue としての、3'-末端近傍に対応する (Ohnishi, Tanaka & Yanagawa, *These Proceedings*)。このことは、(poly-tRNA 構造等の複数の tRNA-element を含む領域において) tRNA のstem 構造がしばしば exon-intron junction 域の起源として進化した歴史の痕跡であると考えられる。

#### [V] その他の例

以上から、poly-tRNA 構造は、exon-intron の起源と、それに伴う蛋白質coding域の exon 単位と対応する蛋白質構築単位としてのmoduleの起源に深く関わってきたといえる。





# 一 般 講 演

分子進化  
(21～26)

生物進化  
(27～28)

# 21

## 生命の起原と進化における糖の役割

Roles of saccharides in the origin and evolution of life

平林淳 (帝京大、薬)

Jun Hirabayashi

(Faculty of Pharmaceutical Sciences, Teikyo University)

生命の起原と進化に関するシナリオでは、現在 RNAワールドを主体とした仮説が有力視されている。RNAがタンパク質にも似た触媒活性を有することやレトロウイルスの存在は、この説と見事に符合している。しかし、RNA分子の中心的構成要素であるリボースの生成機構に関しては万人が納得するようなシナリオが提出されておらず、この点が RNAワールド説の最大の弱点の一つとされている。

リボース (五炭糖) は一見単純そうに見えるが、一連の模擬進化実験では十分量の生成が確認されていない。タンパク質の構成要素であるアミノ酸、核酸の他の構成要素である塩基に関する無生物的合成例は多いが、糖のそれについての実験例、および議論はきわめて少ない。今回は、リボースの生成機構を問題の中心とし、そのうえで生命の起源と進化における糖鎖の果たす役割について考察する。

### 糖の単純性と多様性

糖はタンパク質や核酸と異なり、炭素、酸素、水素という3つの基本的な元素からなる。糖は今まで、単にエネルギー代謝や各種生物のハードウェアの一部、といった程度にしかとらえられていなかった。しかし、すべての細胞が糖鎖で覆われているという事実と、多くの生物化学的証拠は、糖鎖を介したコミュニケーションが、単細胞であれ多細胞であれ、生命の進化上重要な役割をはたしてきたことを示唆している (現在の糖鎖生物学は糖鎖を「認識」といった立場からとらえている)。その理由の一つに、糖鎖にはきわめて大きな多様性がある、という点がある。最近、糖の構造的多様性に対し、はじめて本格的試算がなされたが、6個のユニット (単糖) が連結する場合、分岐糖鎖も含めると糖には  $1 \times 10^{12}$  もの可能性があるという。これに対し、ヘキサヌクレオチドでは  $4^6 \approx 4.1 \times 10^3$ 、ヘキサペプチドでは  $20^6 \approx 6.4 \times 10^7$  である。しかし、「糖には何でもありか」というと決してそうではない。例えば、アルドヘキソースであるアルドース、アルトロース、イドース、グロースは殆ど天然には見いだされない。これらヘキソースに関しては、椅子型コンフォメーションの安定性によって、ある程度の議論が可能であることをすでに述べた<sup>1,3</sup>。

### 糖の前生物的合成としてのフォルモース反応、アルドール縮合、Lobry de Bruyn 転移

糖は基本的に単純ではあるが、アルデヒド、またはケトン基の存在により、ある程度の反応性がある。従って比較的穏やかな条件でも様々な連鎖反応が起こりうる。

単糖の前生物的合成としては、フォルモース反応が有力である。これは、シアン化水素の加水などによって生ずるホルムアルデヒドが、弱塩基性条件下で自己縮合を順次繰り返して、高分子化していく複雑な反応系で、六単糖までの生成が確認されている。この反応の重要な中間物質としては、最小の単糖であるグリセルアルデヒドやジヒドロキシアセトンが挙げられる。歴史的には、1890年、フィッシャーとターフェルが、グリセルアルデヒドとその誘導体からグルコース、フルクトース、マンノース ( $\alpha$  アクロース)、およびソルボース ( $\beta$  アクロース) の合成に成功している。この反応機構は、グリセルアルデヒドとジヒドロキシアセトン間のアルドール縮合 (塩基触媒下で進行) で説明できるが、これは実は現在の生物が利用している解糖系の逆反応に他ならない。この反応では理論的に最初

ケトースのみが生じるが、塩基性条件下では引き続き古典的な糖化学反応であるLobry de Bruyn転移が起こり、二種のアルドースが生成しうる。フルクトースからは安定椅子型構造をとるグルコースとマンノースが生成するが、ソルボースからは不安定なグロースとイドースしか生じない。現世生物が安定なヘキソースしか利用していないのは、このような糖化学上の理由に基づくものと考えられる<sup>1,3</sup>。

### 糖の生合成機構

現在の生物が利用している単糖のうち、フルクトース、グルコース、マンノースに関しては上述の機構による説明が可能であるが、他の糖（ガラクトースやリボース、その他特殊な糖）に関しては、後生的にこれらを修飾してできた「プリコラージュ産物」とみなした方が説明しやすい。たとえば、前三者がイソメラーゼの働きで比較的簡単に相互変換するのに対し、ガラクトースはNAD<sup>+</sup>を介した酸化還元反応（UDP-ガラクトース-4-エピメラーゼにより触媒）によりグルコースから生成する。リボースはペントースリン酸回路の前段階（非可逆的の反応）で、グルコースのグルコン酸への酸化とNADP<sup>+</sup>による酸化的脱炭酸により合成される。このように複雑な反応が非生物的に効率よく進行したと考えられるだろうか。また、リボースはペントースの中ではもっとも安定な構造をとれる糖ではない。

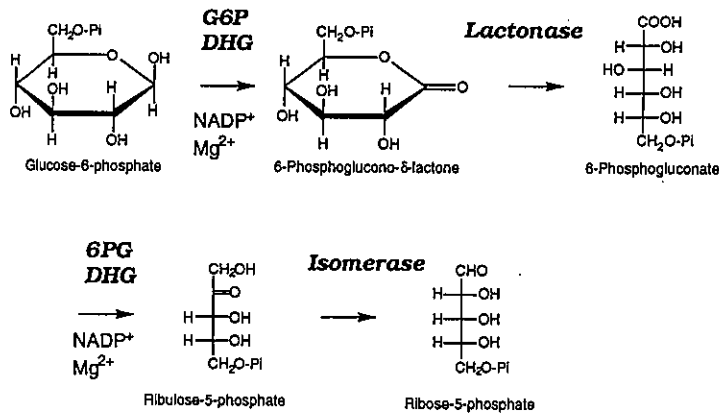


Fig. 1. Bio-synthetic Mechanism of Ribose in Pentose-phosphate Pathway. Ribose is biosynthesized as its phosphate form, through i) 1-oxidation of glucose-6-phosphate by the action of NADP<sup>+</sup>, ii) hydrolysis of the derived unstable 6-phosphoglucono- $\delta$ -lactone, iii) oxidative decarboxylation to form a ketopentose, ribulose-5-phosphate, and iv) keto-enol tautomerism to generate ribose-5-phosphate. In the last step, an epimer, D-arabinose, can also be generated, but this saccharide has only rarely been utilized in nature.

### 結論

ガラクトースがおそらくそうであったように<sup>1,3</sup>、リボースが酵素や触媒装置の存在なしに（生命の存在なしに）、能率良く生成した可能性は低い（少なくともフルクトース-グルコース-マンノースといった第一世代とは区別すべきである）。生命の起源に暗躍した遺伝物質の正体は不明であるが、リボースが最初からあったとはきわめて考えづらく、この点をRNAワールド説は見直しをはかるべきではないだろうか。

- 1 Hirabayashi, J. (1995) *Viva Origino* 23, 56-57 "Hierarchy in glycochemistry and biological evolution"
- 2 Hirabayashi, J. and Kasai, K. (1995) XVIIth Japanese Carbohydrate Symposium, Abstract 71-72. Glycochemical basis of "hierarchy" found in component saccharides of glycoconjugates, and biological evolution.
- 3 Hirabayashi, J. (1996) *Q. Rev. Biol.* (in press) "Origin of saccharides: possible scenario on the birth of elementary hexoses"

# 22

## 紫外線照射によって誘導される $\alpha$ A-クリスタリン中の Asp-151残基のラセミ化

### The racemization of the Asp-151 residue in $\alpha$ A-crystallin is induced by ultraviolet irradiation

<sup>1</sup>藤井紀子, <sup>1</sup>百瀬祐子、<sup>2</sup>竹鼻真 ( <sup>1</sup>新技術事業団さきがけ研究21、  
<sup>2</sup>共立薬科大学)

Noriko Fujii, Yuko Momose and Makoto Takehana

(<sup>1</sup>Group of Field and Reaction, Precursory Research for Embryonic Science and Technology(PRESTO), Research Development Corporation of Japan (JRDC), <sup>2</sup>Kyoritsu College of Pharmacy)

#### 目的：

我々は現在までに老化した $\alpha$ A-クリスタリン中のAsp-151残基がヒト、ウシ、ウマと種を問わずラセミ化及び反転する事を見いだしてきた。今回は水晶体の紫外線照射が上記残基のラセミ化を促進するのではないかと考え、ラセミ化の生じていない6週令ラット正常水晶体に紫外線照射しAsp-151残基ラセミ化の有無を調べた。

#### 方法：

6週令ラットから正常水晶体を摘出後16時間培養し、紫外線A波(UVA),B波(UVB)を5J/cm<sup>2</sup>照射し、72時間DMEM中で培養した。非照射及び照射水晶体から $\alpha$ A-クリスタリンを単離精製し、トリプシン処理後、各ペプチド断片を逆相クロマトグラフィー(RP-HPLC)によって、分離、分取した。各ペプチドの同定をアミノ酸組成、アミノ酸配列、FAB-MS分析で行った。アミノ酸の光学異性体分析はペプチドを加水分解後、OPA-Boc-L-Cysで誘導化し、RP-HPLCで分析した。

#### 結果と考察：

UVB照射の水晶体にのみ、種々の変化が観察された。非照射及びUVA照射水晶体では透明性を維持していたが、UVB照射水晶体では白濁が観察された。また、UVB照射水晶体では加齢と共に増加する高分子量タンパク質(HMW)画分(MW>1x10<sup>6</sup>)が増加した。非照射、UVA,UVB照射の各水晶体から、単離精製した $\alpha$ A-クリスタリンのTryptic peptideの分析を行った。 $\alpha$ A-クリスタリン中にはAsp残基が14残基、Asn残基が2残基存在するが、表に示すようにUVB照射水晶体中のT18 peptide中のAsp-151残基にのみ、ラセミ化と異性化が見られ、他のAsp残基に変化はなかった。又、コントロール及びUVA照射水晶体ではこのような変化は全く見られなかった。従来の研究結果から $\alpha$ A-クリスタリンのAsp-151残基はラセミ化の起こりやすい残基であることを示してきたが、UVB照射は水晶体中の $\alpha$ A-クリスタリンのAsp-151残基にラセミ化、異性化を誘導することが明らかとなった。又、このラセミ化反応は異性化反応を伴うことから

5員環イミドを経由してD-Asp,  $\beta$ -Aspが生成されることがわかった。これらのことからUVB照射が $\alpha$ A-クリスタリンAsp-151残基のラセミ化反応の一つの引き金となり、水晶体では代謝がないので寿命の長い動物では体外に出されることがなく蓄積されたものと考えられた。

Characterization of T18 peptide (Val-Gln-Ser-Gly-Leu-Asp<sup>151</sup>-Ala-Gly-His-Ser-Glu-Arg) of  $\alpha$ A-crystallin from normal, UVA and UVB irradiated rat lens

Lens	Peptide	Linkage of Asp	$\beta/\alpha$	D/L of Asp
UV B	T18 (1)	$\beta$	0.2	0.21
	T18 (2)	$\alpha$		0.02
UV A	T18 (1)	$\alpha$	/	ND
control	T18 (1)	$\alpha$	/	ND

# 23 トリプトファナーゼ活性におけるD-トリプトファンに対する障壁

Barrier for D-tryptophan in tryptophanase activity

島田秋彦、木暮ひとみ (筑波大・応用生物化学系)

Akihiko Shimada and Hitomi Kogure

(Institute of Applied Biochemistry, University of Tsukuba)

## 1. 目的

トリプトファナーゼ(TPase)はリン酸水素2アンモニウム(AP)溶液中でD-トリプトファン(D-Trp)にも活性を示すようになるが、この反応を動力学的に解析して反応モデルを構築した。また、D-TrpはL-トリプトファン(L-Trp)分解反応を阻害するので、この阻害作用の動力学を行った。これらの結果に基づいて、TPaseのD体に対するの反応の障壁について検討した。

## 2. 方法

### 2-1 AP存在下におけるD-Trp分解反応の動力学

AP飽和溶液を100%とし、Britton-Robinson広域緩衝液でAP濃度を20, 30, 40, 50, 60, 70%飽和濃度に希釈した。各溶液にTPaseを $6.0 \times 10^{-4}$  unit/ml、ピリドキサル5'-リン酸(PLP)を0.38mM加えた。次に基質としてD-Trpを98, 108, 118, 128, 137, 147, 167, 196, 225, 245, 294, 343, 392, 490, 686, 980  $\mu$ Mを加え動力学をした。反応は37°C、4時間行い反応初速度 $v$ と基質濃度 $s$ の関係をLineweaver-Burk plotにとった。この結果より、TPaseとD-Trpの反応に及ぼすAPの作用について反応モデルを構築した。

### 2-2 L-Trp分解反応に対するD-Trpの阻害作用

0.38mM PLP、 $1.5 \times 10^{-4}$  unit/ml TPaseを含む反応溶液にL-Trpをそれぞれ98, 108, 118, 128, 137, 147, 167, 196, 225, 245, 294, 343, 392, 490, 686, 980  $\mu$ Mを加えBritton-Robinson緩衝液で10mlに調製した。阻害剤としてのD-Trpは9.8mMまたは19.6mMとL-Trpの10倍から200倍濃度を加え、37°C、30min反応させた。反応初速度は0, 10, 20, 30%のAP濃度のそれぞれについて測定した。反応初速度と基質濃度の関係を $1/v-1/s$  plotにとり、D-Trpの阻害作用について検討した。

## 3. 結果

### 3-1 D-Trp分解反応のモデル

D-Trpを基質としてAP溶液中でTPaseに対し動力学をした結果、AP濃度が20~50%と50~70%で2通りの結果が得られた。APが20%から50%に増加するに従い反応初速度も大きくな

り、Lineweaver-Burk plotは横軸上で一点に交わった。このことからAPは20%から50%では activatorとして作用すると考えた。また、APがさらに50%から70%に増加すると反応初速度は低下しLineweaver-Burk plotはAPが非競争阻害作用をすることを示す。この結果から、Fig. 1のような反応モデル式を構築した。TPaseにD-Trp、APの両方がランダムに結合し、次にTPase・D-Trp・APの三者複合体を経てD-Trpはindoleに分解すると考えられる。ここでKmはミハエリス定数、Ksを基質定数、Ki, Ki'は阻害定数を表す。

### 3-2 D-Trpの阻害反応の動力学

Fig. 1でAPが存在しないときTPase・D-Trp複合体を仮定した。しかし、これは酵素とD体アミノ酸が結合可能だということを示すもので疑問の余地がある。そこで、実験的にTPase・D-Trp複合体の存在を証明するために、APが0%のときのL-Trpに対するD-Trpの阻害反応の動力学を試みた。阻害効果をはっきりさせるために高濃度のD-Trpを添加した。その結果、D-TrpはL-Trpに対して競争阻害作用を示した。すなわち、D-TrpはL-Trpと同様にTPaseの結合部位に結合できることがわかった。また、AP存在下ではD-Trpが混合型阻害を示すplotになった。以上より、D-TrpはL-Trp分解に対してFig. 2のように阻害すると考えた。

TPaseはD体は結合できるが分解できないことから、光学異性体の反応を考える場合には基質の結合と分解の間には何らかのbarrierがあると考えられる。このbarrierを崩すものは例えばTPaseの場合のようなAPであろう。他の阻害剤も利用してこのbarrierがどのようなものであるか現在のところ検討している。

Fig. 1 Reaction model for D-Trp as substrate of TPase

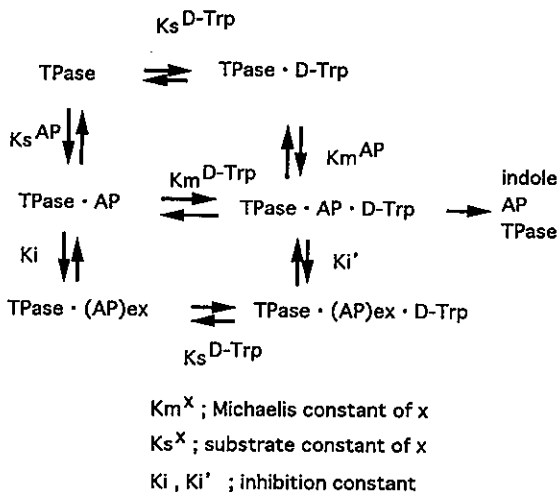
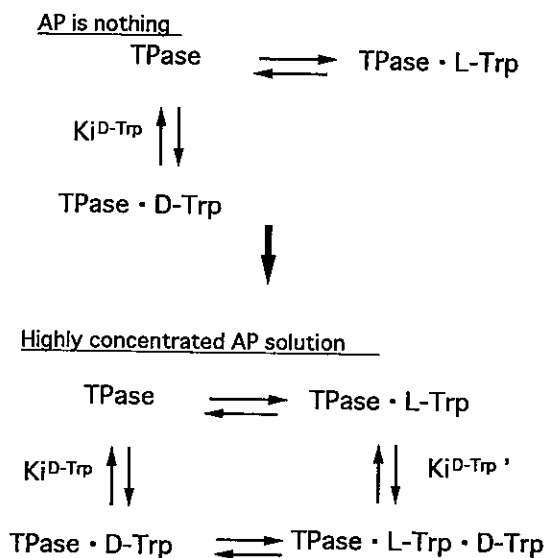


Fig. 2 Inhibition model of D-Trp for L-Trp degradation reaction



# 24

## tRNAアイデンティティの進化

### Evolution of tRNA identity

○長谷川典巳、行木信一、朝原治一、清水幹夫  
(宇宙科学研究所)

Tsunemi Hasegawa Nobukazu Nameki, Haruichi Asahara  
and Mikio Shimizu  
(Institute of Space and Astronautical Science)

アミノアシル-tRNA合成酵素によるtRNAの分子認識については、最近大腸菌の系で20種全てのアミノ酸種tRNAについて、解析の程度はさまざまではあるが何らかの知見が得られるようになった。その結果、アンチコドンと識別位塩基についてはほとんどのアミノ酸種について認識部位となっていた。その中で、セリンとトレオニンtRNAについては識別位塩基が認識部位とはなっていないかった。セリンtRNAの場合は直接の認識部位ではないが、負のデターミナントとして機能しており、ヒトのセリンtRNAでは、直接認識にかかわっていることが明らかにされている。トレオニンtRNAの場合、いままで大腸菌でしか認識部位が明らかにされておらず、識別位塩基の役割については唯一不明である。そこで我々はほかの生物種のトレオニンtRNAでも識別位塩基が認識にかかわっていないかどうか、またアンチコドンやアクセプターステムの認識が大腸とどのように共通性があるか、あるいは異なっているかを、高度好熱菌、酵母およびウシ肝からのトレオニル-tRNA合成酵素を用いて、これらの酵素がトレオニンtRNAをどのように認識しているかを明らかにすることを目的に研究した。方法はT7RNAポリメラーゼ転写物を用いて、種々の未修飾変異体を作成し、トレオニン受容活性を*in vitro*で反応速度論的に測定した。その結果、アンチコドン部位とアクセプターステムの1番目の塩基対は4生物種について認識部位として保存されていたが、識別位塩基を含むアクセプターステムの他の塩基対の認識が種により異なっており、進化的に分岐してきたことを推測することができた。





# 25

## Comparative anatomy of group I introns and thereto related RNAs

Koji Ohnishi, ○Hirokazu Tanaka, and \*Hiroshi Yanagawa (Fac. of Science, Niigata Univ., Niigata, 950-21; \*Mitsubishi-Kasei Institute of Life Science, Machida, Tokyo)

Group I intron is a typical class of ribozyme, whose structure and functions have been extensively studied. This type of intron is widely distributed through eukaryotes, cyanobacteria and chloroplasts, and T4 phage. The origin of group I introns is, however, unknown.

The 407-base-long group I intron in the *Tetrahymena cosmopolitans* 26S rRNA gene (GenBank Locus TCRRN) was compared with those RNAs compiled in Genbank Database. RNAs and RNA genes possibly homologous to group I introns were searched for from GenBank DNA Database by employing Genetyx Software for homology search (Lipman and Pearson's method).

Based on the regions found to be possibly homologous to tRNAs and 5S rRNAs, the 407-base intron was roughly divided into four domains: domain I (bases 1- 108), domain II (bases 110-225), and domain III (approximately 238-351), and domain IV (bases 352-407). The domain I is homologous to tRNA<sup>Thr</sup>. This region is also homologous to the bases 406-519 of *Methylococcus luteus* 16S rRNA. U1 snRNA and rat (Novikoff hepatoma) 7-3 RNA were found to be homologous to this region of the intron (Fig. 1 [A]). The domain II (bases 110-238) is found to be a homologue of 5S rRNA (120 bases), and the bases 149-224 is a homologue of the *E. coli* tRNA<sup>Thr</sup>, meaning that 5S rRNA evolved from tRNA element(s). The bases 110-239 is highly homologous to the bases 793-924 of *Pseudomonas mendocina* 16S rRNA. The DNA region upstream to the *Drosophila melanogaster* U6-2 snRNA gene is highly homologous to this domain (Fig. 1 [B]). The domain III (bases 238- 351) seemed to contain 5S rRNA homologue (Fig. 2) and/or tRNA homologue. Domain IV is a tRNA homologue.

Homology of group I intron to U1 snRNA and the 5'-upstream region of *Drosophila* U6-2 snRNA suggests that snRNA genes (U1, U6) and their adjacent DNA region would have evolved from group I-like ribozyme(s). Mammalian DNA segments possibly homologous to group I intron will be discussed.

Fig.2. A tentative alignment of *Tetrahymena* group I intron (domain III) against 5S rRNA.

		<u>P6b'</u>	<u>P6a'</u>	<u>P6'</u>	<u>P7</u>	<u>P3'</u>	<u>P8</u>	<u>P8'</u>
(1) Anabaena intron	157	/TTCAAAATT-	CCGGGAAGGTGCA-	GAGACTCGACGGGAGCTACCCTAACGTA---	AAGCCGAGGG			
vs Tetrahym. (*)		*	**	*	** ** *	*****	* * *	* ** * *
vs 5S rRNA (=)		=	=	=	=	=	=	=
(2) Tetrahym. intron	238	/GGTGTGATA-TGGATGCA	GTTTCA-	CAGACTAAATGTCGGT	CGGGGAAGATAGGTATCTCTCA			
vs 5S rRNA		++ +	+++	++	++* ** *	**	** * ** *	* * ** *
(3) B.alba 5S rRNA	1	TTCTTGCGACCATAGCAAATAGGA	ACCACCCGACCCATCCCGAACTCGGTAGT	GAAACTGTTCTGCGCC				
-----								
		<u>P7'</u>	<u>P9</u>	<u>P9.1</u>	<u>P9.1'</u>	<u>P9.1a</u>		
Anabaena intron		TAAAGGGAGAGTCC-	AATTCTCAAAGCCTGAAGTTGCTGAAGCAA/	261				
vs Tetrahym. (*)		*** * *	*****	*	*****	* * *	* * *	* * *
vs 5S rRNA (=)		=	=	=	=	=	=	=
Tetrahym. intron	301	TAA-GATATAGTCGGACCTCTCCTTAATGGGAGCTGGCGGATGAAGTGGTGC/	351					
vs 5S rRNA		* ****	** *	*****	* ** *	**>	++	+ ++
B.alba 5S rRNA	72	GAT-GATAGTGTGGATACTCTCCATG-TGAAAGTAGGTT-ATCCCAAGAGC	118					

Data are from: (1) = Anabaena azollae (Cyanobacteria) group I intron in tRNA-Leu gene (GenBank Locus ANATGL), (2) = Tetrahymena cosmopolitans group I intron (TCRRN261), (3) = Beggiatoa alba (eubacteria) 5S rRNA (BEGRR55). See legend of Fig. 1 for "\*" and "+".

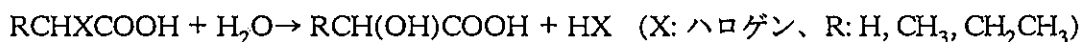


川崎東彦 (大阪府大、農学部)

Haruhiko Kawasaki

(Dept. Applied Biochemistry, Osaka Prefecture University)

今日、自然環境中には様々な有機ハロゲン化合物が存在するが、その大部分は xenobiotics であり、土壌微生物にとっては分解し難いものである。その中で、ハロ脂肪酸は比較的分解されやすく、汚染土壌から分解菌が多数分離されている。これらの分解菌には、次の反応を触媒するハロ脂肪酸デハロゲナーゼが認められる。



この酵素は短鎖脂肪酸の2位に付くハロゲンにのみ作用する比較的基質域の狭い酵素であるが、分子的には多様である。近年になって洪水のように環境に放出された有毒なハロゲン化合物が強力な選択圧となって出現した分子進化酵素ではないかと考えられる。よく似た2つのデハロゲナーゼを持つ分解菌が少なからずある。酵素進化は元の酵素遺伝子が重複コピーされ、それに変異が集積してゆく過程で起きるとされているが、このような過程にある細菌では、よく似た2つの酵素が共存することもあるであろう。特にプラスミドに乗っている遺伝子では、変異の蓄積が許容され、分子進化が起りやすいと思われる。今回は、デハロゲナーゼ遺伝子の比較から、本酵素の多様性を探ってみる。

### 1. ハロ脂肪酸デハロゲナーゼの多様性と分類

現在、国際生化学連合の酵素分類では、ハロ脂肪酸デハロゲナーゼは基質の炭素鎖長により haloacetate dehalogenase (EC3.8.1.3) と 2-haloacid dehalogenase (EC3.8.1.2) に大別されている。しかし同グループの酵素でも、ハロゲン特異性や立体特異性の異なるものがある。そこで、基質特異性により図1に示すようなA~Fのグループに分類した。脱フッ素活性を持つのは haloacetate dehalogenase の中の1部の酵素だけであり、この活性の有無でAとBに分ける。2-haloacid dehalogenase は立体特異性により4グループに分ける。多くの酵素は立体反転を伴う脱ハロゲン反応を行うが、DL特異性のない酵素の中に、立体反転を伴わない酵素がある。これをグループEとする。このように分けたグループ間のホモロジーの有無を調べてみた。現在、遺伝子がクローン化され、塩基配列が明らかにさ

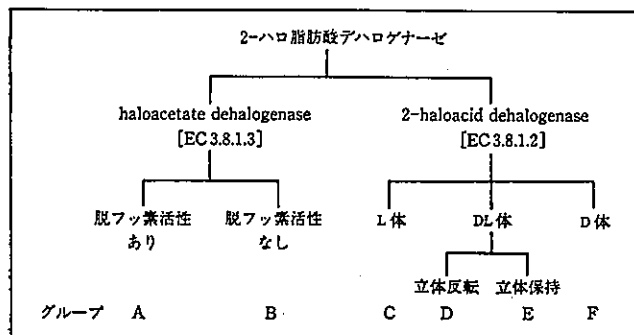


図1 ■ ハロ脂肪酸デハロゲナーゼの分類

れている酵素は、グループA,B,Fに属するものが各1つ、Cに属するものが7つある。グループCの7つの酵素は互いに高いホモロジーを示し、共通祖先を持つ酵素であることが分かった。グループBの酵素はグループCの7つの酵素と高いホモロジーを示したが、他のグループの酵素とはホモロジーは無かった。グループAおよびFの酵素は他のいずれの酵素ともホモロジーを示さず、分子的にも異なる酵素族であることが示唆された。グループDとEの酵素遺伝子がまだクローン化されていないので議論の余地はあるが、ハロ脂肪酸デハロゲナーゼはA,C,D,E,Fの5つのグループに分類するのが妥当ではないかと考える。

## 2. L-2-Haloacid dehalogenase(グループC) の多様性

自然界にはL体の特異的な酵素(グループC)が最も多いが、同じグループであっても、酵素によりハロ脂肪酸種に対する活性のスペクトルは異なる。酵素分子の類似性にも大きな幅が認められる。このグループの8つの酵素のアミノ酸配列を比較した(表1)。これらは同族酵素であり、相互にホモロジーはあるが、意外に低い。最も高いもので70%、低いものでは37%である。このことは、60%近くものアミノ酸残基が異なっても、同じ様なデハロゲナーゼ機能を発現しう得ることを示している。8酵素間で共通性の高いアミノ酸を選んで仮想コンセンサス配列を作成し、これと各酵素を比較したところ、相同性は71%から52%の間にあった。仮想コンセンサス配列が共通祖先に近いものだとすると、そのアミノ酸の約30~50%が変異により別のアミノ酸に変わったものが、今あるデハロゲナーゼである。この仮想コンセンサス配列に該当する蛋白質をデータベースSWISS-PROTに検索したが、有意なホモロジーを示すものは見当たらなかった。

8酵素のペプチド鎖長は224~257アミノ酸残基と比較的似ているが、C末端部には全く類似性はない。8酵素の間で完全に保存されているアミノ酸残基は約5分の1に当たる44残基で、この中に触媒残基があると考えられる。部位特異的変異導入により、Arg-41およびTyr-157が活性に関与していることが示唆されている。

## 3. 脱ハロゲン能プラスミドの柔軟性

プラスミドpUO1には2つのデハロゲナーゼH-1(グループA)とH-2(グループB)が並んでコードされている。両者に分子進化的関連が予想されたが、両遺伝子にホモロジーはなかった。H-2遺伝子の両側には挿入配列IS1071があり、トランスポゾン様構造を成していた。この部分は頻繁に欠失し、pUO1から種々の欠失プラスミドが生じた。また、pUO1は同居する他のプラスミドと種々の組み換えを起こすことが認められた。

ハロ脂肪酸デハロゲナーゼ遺伝子やそのプラスミドが示すように、分解系の遺伝子やプラスミドは環境に応じてダイナミックに変動しており、これが分子進化をもたらし、生物の適応につながるのであろう。

表 1 L-2-ハロ脂肪酸デハロゲナーゼのアミノ酸配列のホモロジー

酵素	DehYL	HadL	H-109	C-II	H-2	Dh1B	C-I	Hd1 IV a
DehYL								
HadL	59.5							
H-109	59.5	69.9						
C-II	53.7	51.4	50.9					
H-2	53.2	50.5	51.4	50.0				
Dh1B	47.7	45.6	48.2	44.0	46.6			
C-I	39.5	39.0	39.3	37.8	37.2	41.2		
Hd1 IV a	39.3	36.7	36.8	37.4	37.9	45.1	68.3	
コンセンサス配列	70.8	71.0	70.5	62.4	60.3	37.0	54.1	51.8

ホモロジーは%で示す。

ピルビン酸酸化酵素の分子進化  
Molecular Evolution of Pyruvate Dehydrogenase

乾 博, 山地亮一\*, 宮武和孝\*, 中野長久\*  
(鳥取大・農, 大府大・農)

Hiroshi Inui, Ryoichi Yamaji\*, Kazutaka Miyatake\* and Yoshihisa Nakano\*  
(Department of Agricultural Biochemistry and Biotechnology, Tottori University,  
and \*Department of Applied Biochemistry, University of Osaka Prefecture)

【目的】 ピルビン酸のCoAに依存した酸化的脱炭酸反応には高等動植物においてはNAD<sup>+</sup>を電子受容体としピルビン酸デヒドロゲナーゼ複合体(PDC)が機能する。PDCはthiamin pyrophosphate (TPP)を補欠分子族として含むpyruvate dehydrogenase, lipoic acidを有するdihydrolipoyl transacetylaseおよびFADを持つdihydrolipoyl dehydrogenaseから構成されている。一方古細菌, 嫌気性細菌, 嫌気性原生動物には同様の反応を触媒する酵素としてTPPとiron-sulfur cluster ([Fe-S])を補欠分子族とするpyruvate:ferredoxin oxidoreductaseが存在する。本酵素はPDCと異なり逆反応によるacetyl-CoAからのpyruvate合成にも機能し, 一般にpyruvate synthaseとよばれる。

演者らは, 動物と植物の双方の性質を合わせ持つ真核単細胞生物, *Euglena gracilis*のミトコンドリアにNADP<sup>+</sup>を電子受容体としピルビン酸のCoAに依存した酸化的脱炭酸反応を触媒する新規酵素, pyruvate:NADP<sup>+</sup> oxidoreductase (PNOR)を見いだした。本研究ではPNORの諸性質を明らかにするとともに, 本酵素の分子進化について考察することを目的とした。

【結果および考察】 PNORは分子量166 kDaの同一サブユニットから成る2量体であり, 補欠分子族としてTPP, [Fe-S], FAD, FMNを含んでいた。NADP<sup>+</sup>以外にmethyl viologen (MV)やFAD等を電子受容体として利用した。逆反応によるacetyl-CoAからのpyruvate合成活性も認められた。さらにNADPH: MV transhydrogenase活性も見いだされた。本酵素をトリプシンで限定分解すると, 220 kDaと55 kDaの2つの断片が得られた。220 kDaの断片にはTPPと[Fe-S]が含まれており, MVを電子受容体としたpyruvate dehydrogenase活性が保持されていた。これらの性質は本断片がpyruvate synthaseに類似した構造を持つことを示すものである(しかし, ferredoxinは電子受容体とはならない)。一方, 55 kDaの断片にはFADとFMNが含まれており, NADPH: MV transhydrogenase活性が存在した。なお, 220 kDaの断片は2量体構造を保持していたが, 55 kDaの断片は単量体であった。以上の結果から, PNORはpyruvate synthaseにNADP<sup>+</sup>の結合部位を持つflavoproteinが結合することにより進化したものと推定される。



渡辺文雄、阿部捷男、宮武和孝\*、中野長久\*  
(高知女子大、家政学部、\*大阪府大、農学部)

Fumio Watanabe, Katuo Abe, Kazutaka Miyatake\* and Yoshihisa Nakano\*

(Department of Foods and Nutrition, Kochi Women's University, and \*Department of Applied Biological Chemistry, University of Osaka Prefecture)

(目的)

ビタミンB<sub>12</sub> (B<sub>12</sub>) は分子量 1355.5 (CN-B<sub>12</sub>) の真紅の水溶性化合物であり、テトラピロール様構造を有するコリン核の中心にコバルト原子を配位したユニークな構造をしている (Fig.1)。B<sub>12</sub> は細菌においてのみ合成され、高等動植物にはその生合成能はなく、特に植物ではB<sub>12</sub> 関与の代謝系も存在しないと考えられている。

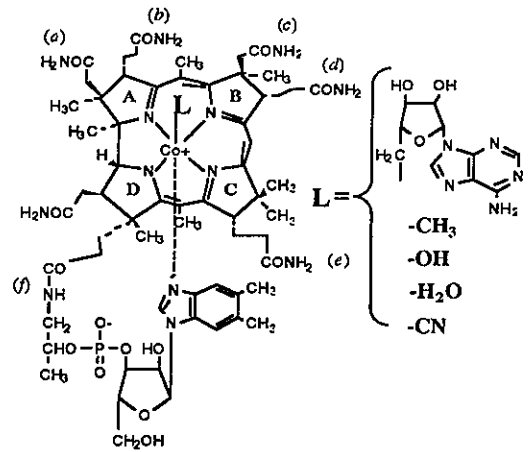


Fig. 1 Structural formula of vitamin B<sub>12</sub> analogues

B<sub>12</sub> は上方配位子の相違する数種の同族体が存在し、AdoB<sub>12</sub> と MeB<sub>12</sub> は生体内で補酵素として機能している。高等動物では AdoB<sub>12</sub> はアミノ酸やプロピオン酸の代謝に関与するメチルマロニルCoAムターゼの補酵素として、また MeB<sub>12</sub> はメチオニンの合成に関与するメチオニン合成酵素の補酵素として機能している。その他、数種のB<sub>12</sub> 酵素の存在が細菌において報告されている。

*Euglena* は単細胞真核生物であり、進化上動物と植物の中間に位置するユニークな生物である。*Euglena* は高等動植物に匹敵するほど発達したオルガネラを有し、B<sub>12</sub> を活発に細胞内に取り込み蓄積する。*Euglena* におけるB<sub>12</sub> の生理機能や代謝系を解明し、高等動植物や細菌の代謝系と比較検討することは、生物進化の観点からB<sub>12</sub> の代謝・生理機能を理解し、解明するために有効な手段であると考えられる。そこで、我々は原生動物の*Euglena*、緑藻の*Chlamydomons* および*Chlorella*、哺乳動物のラットを用いてB<sub>12</sub> の細胞内輸送系とB<sub>12</sub> 補酵素の合成系に着目し研究を行ってきた。その結果、*Euglena* は細



胞内の各オルガネラに独自の $B_{12}$ 結合タンパク質が存在し、 $B_{12}$ の輸送や蓄積に機能していた[1-8]。この様なシステムは高等動物や細菌のものとはまったく異なっていた。また、 $B_{12}$ 結合タンパク質の $B_{12}$ の構造認識部位も、これら生物間で大きく異なっていた[9]。

$B_{12}$ 補酵素の合成に関与するアクアコバラミンレダクターゼにおいて、*Euglena*の酵素は電子供与体としてNADPHに特異的なミトコンドリアに局在するフラビン酵素であった[10,11]。細菌の酵素はNADHに特異的であったが、哺乳動物の肝臓の酵素はNADH型とNADPH型の酵素がミトコンドリアとミクロソームにそれぞれ存在していた[12-17]。また、これら生物間で本酵素タンパク質の性質は非常に異なっていた。

これまで、 $B_{12}$ の代謝系がまったく存在しないと考えられていた緑藻の*Chlamydomonas*や*Chlorella*にも $B_{12}$ の取り込み系、補酵素合成系ならびに $B_{12}$ 依存性酵素の存在が明らかとなった[18]。以上の結果から生物間での $B_{12}$ 代謝系の多様性が示され、 $B_{12}$ に依る各種生物の適応、進化に興味をもたれる。

## 文献

- [1] F. Watanabe *et al.*, *Biochem. J.*, **247**, 679-685 (1987); [2] F. Watanabe *et al.*, *Arch. Microbiol.*, **149**, 30-35 (1987); [3] Y. Isegawa *et al.*, *Plant Physiol.*, **76**, 814-818 (1984); [4] F. Watanabe *et al.*, *J. Gen. Microbiol.*, **134**, 67-74 (1988); [5] F. Watanabe *et al.*, *J. Gen. Microbiol.*, **134**, 1385-1389 (1988); [6] F. Watanabe *et al.*, *Comp. Biochem. Physiol.*, **94B**, 797-800 (1989); [7] F. Watanabe *et al.*, *J. Gen. Microbiol.*, **138**, 1807-1813 (1992); [8] F. Watanabe *et al.*, *J. Biochem.*, **113**, 97-100 (1993); [9] F. Watanabe *et al.*, *J. Biochem.*, **114**, 793-799 (1993); [10] F. Watanabe *et al.*, *J. Biol. Chem.*, **262**, 11514-11518 (1987); [11] F. Watanabe *et al.*, *Arch. Biochem. Biophys.*, **305**, 421-427 (1993); [12] F. Watanabe *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **165**, 675-679 (1989); [13] F. Watanabe *et al.*, *J. Nutr.*, **121**, 1948-1954 (1991); [14] F. Watanabe *et al.*, *Biochim. Biophys. Acta*, **1119**, 175-177 (1992); [15] F. Watanabe *et al.*, *J. Nutr.*, **122**, 940-944 (1992); [16] H. Saido *et al.*, *J. Nutr.*, **123**, 1868-1874 (1993); [17] H. Saido *et al.*, *J. Nutr.*, **124**, 1037-1040 (1994); [18] F. Watanabe *et al.*, *Biochim. Biophys. Acta*, **1075**, 36-41 (1991).



シポジウム(C)

遺伝子発現系における核酸・

タンパク質の構造と機能：その起原と進化

(11－13)

宮崎 正澄 (名大・理・分子生物)

Masazumi Miyazaki

(Department of Molecular Biology, Nagoya University)

従来、翻訳におけるペプチド伸長反応は、主として2つの相補的可溶性因子（原核生物ではEF-TuとEF-G, 真核生物ではそれぞれEF-1 $\alpha$ とEF-2に対応）によって駆動され、また、この伸長反応サイクルを回転させるには、EF-Tu (EF-1 $\alpha$ ) によるアミノアシル-tRNA のmRNAコドンへの結合反応（遺伝情報の解読反応）と、ペプチド結合形成後EF-G(EF-2) によってpromoteされる転座反応の2つの反応段階でGTP水解が必須と考えられてきた。1976年にはSkogersonらによって、酵母リボソームを用いたin vitro伸長反応系には、第3の可溶性因子が必要でEF-3と命名された。Chakraburtttyらとわれわれのグループは、この因子を単一標品に精製し125 kDaの高分子量のモノマー・タンパク質で、酵母リボソームに依存した強いATPase/GTPase活性を持つことを示した。McLaughlinらは酵母ts変異株からEF-3のts変異体を調製した他、EF-3遺伝子をクローニングしてこの遺伝子が酵母の生育に必須であることを示した。

われわれは、充分洗条したリボソームと単一バンドに精製した3種の伸長因子EF-1 $\alpha$ , EF-2, EF-3 からなるin vitro再構成系を構築し、酵母伸長反応におけるEF-3の機能を解析した。poly(U)依存のpoly(phe)合成系では、EF-3は必須の因子で、従来考

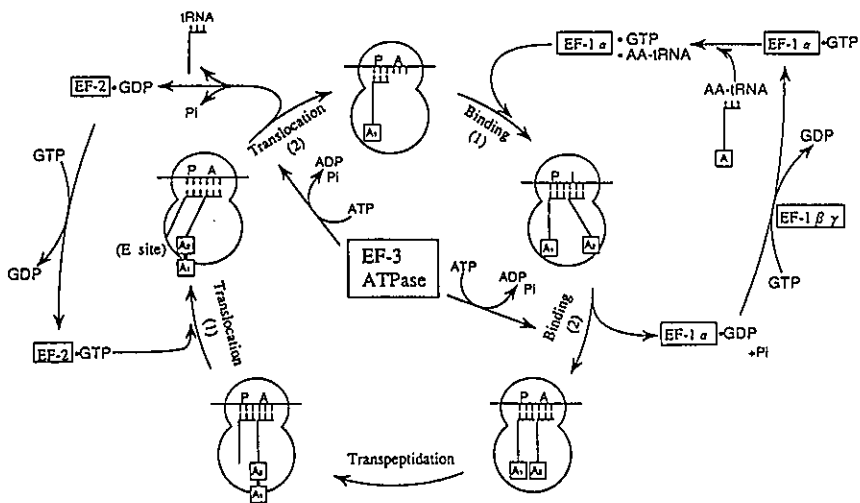


Fig. 1. A proposed yeast peptide elongation cycle

えられていたEF-1 $\alpha$ とEF-2の夫々によるGTP水解反応の他、EF-3の強いリボソーム依存的ATPase活性によるATP水解反応が不可欠であることが明らかとなった。一方、伸長反応サイクルを構成する3つの素反応：1) AA-tRNA結合反応（コドン解読反応）、2) ペプチド結合形成反応及び3) 転座反応、を個別に解析した結果、ペプチド結合形成反応に対するEF-3/ATPの効果はなかった。他方、EF-1 $\alpha$ /GTPによるAA-tRNA結合反応とEF-2/GTPによる転座反応ではEF-3/ATPが促進的に働き、両素反応においてEF-3/ATPの存否によるAA-tRNAの結合状態に明らかな相異がみられ、コドンに対するnon-cognateとcognateのAA-tRNAを明確に読み分け、高い翻訳精度の維持にはATPの水解エネルギーが必要であることを示した。これらの結果に基づいてわれわれは、AA-tRNA結合反応と転座反応が2段階で進行するFig.1のような酵母伸長反応サイクルのモデルを提唱した。

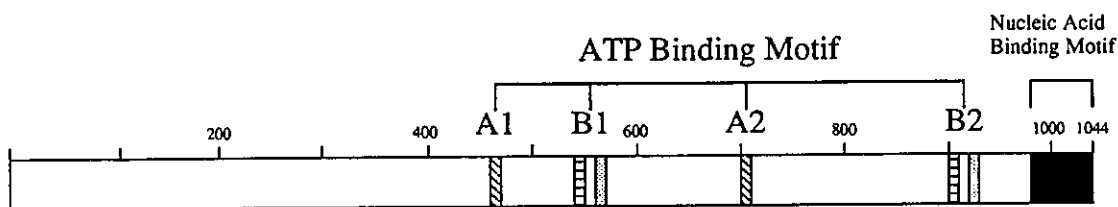


Fig. 2. A schematic structure of EF-3

125kDaの高分子量を示すEF-3は、配列決定された遺伝子のコード領域から1,044アミノ酸残基からなるタンパクで、いくつかの機能モチーフ相当する配列がホモロジー検索から推測されている (Fig.2)。われわれは、これらの配列に基づいたEF-3欠損変異体と点変異体を作成しその機能を解析した。A,B 2つのtypeの2回繰り返し構造を持つATP結合モチーフは、いずれか一方ではEF-3の機能を充分発揮できないこと、C端に存在する3つのLys-クラスターを含むチャージ・アミノ酸含量の高い(77%)特徴的な配列がEF-3のリボソームへの特異的な結合に重要な働きをしていることを明らかにした。

*Saccharomyces cerevisiae* で発見されたEF-3は各種の酵母の他、*Neurospora*, *Aspergillus*, *Mucor* 等真菌類に広く存在し、それらの分子量はいずれも120~135kDaの範囲にあって、*S.cerevisiae* リボソーム上でPoly(phe)合成活性を表わしEF-3抗体と交差反応をした。他方、下等真核生物の*Tetrahymena*、*Chlamydomonas* や高等動物・植物のリボソームはそのPoly(phe)合成反応系にEF-3相当因子を必要とせず、リボソーム自身に強いATPase/GTPase活性をもつ。また、ATPがPoly(phe)合成活性に促進効果を示す。これらの生物ではEF-3相当因子がリボソーム成分として組み込まれていると考えられる。翻訳精度におけるEF-3の重要性を考えると、このようなEF-3の存在状態の変化は翻訳系の分子進化の1つの興味ある視点と思われる。

大山 隆 (甲南大・理・生物)

Takashi Ohyama

(Department of Biology, Konan University)

DNA二重らせんのらせん軸の軌道は外から力を加えない限り直線であると長い間考えられていた。しかし、1980年代に入ると、特定の塩基配列が原因となって軌道が曲がる場合があることが知られるようになった。以来、このような構造をとったDNAはベント (bent) DNAとよばれている。これまでの研究でベントDNAの多くは、原核生物・真核生物の区別なく、DNAの複製開始領域や転写制御領域、それに特異的組換え部位など、DNA上の比較的限られた、しかも機能的に重要な領域に存在していることが明らかになってきた<sup>1, 2)</sup>。また、この構造が遺伝情報の転写やDNA複製の過程で実際に重要な役割を果たしていることを示唆する例もいくつか報告されている。しかし、ベントDNAの機能発現のメカニズムについてはこれまで不明であった。筆者らは最近、ベントDNAは転写調節エレメントの一つであることを明らかにした<sup>3)</sup>。ここでは、筆者らが得た知見を紹介し、このような構造が存在することの生物学的意義について考察したい。

大腸菌プラスミドpUC19の持つ $\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子のプロモーター上流域にはベントDNAが存在する。ベントDNAにもさまざまな立体構造があるが(図1)、このベントDNAは、右巻きスーパーコイルの一部分のような、三次元的に曲がった構造をとっている。筆者らの実験では、この領域を右向きのsuperhelical writhe (超らせん的ねじれ)を持つ人工合成したベントDNA断片で置換すると、直線状のらせん軸軌道を持つ“正常”な断片で置換した場合に比べ、*in vivo*においてプロモーターの活性が上昇することが明らかになった。一方、左向きのねじれを持つ断片で置換すると逆に活性が低下した。その分子メカニズムを解析した結果、らせん軸のねじれの向きが、(i)RNAポリメラーゼのプロモーターに対する結合親和性と、(ii)開鎖複合体の形成されやすさに影響を及ぼすために、プロモーター活性が変化することが明らかになった。(ii)に関しては、Traversの仮説を支持する実験結果である。上流にあるsuperhelical writheの効果は他の原核細胞プロモーターでも確認できた。こ

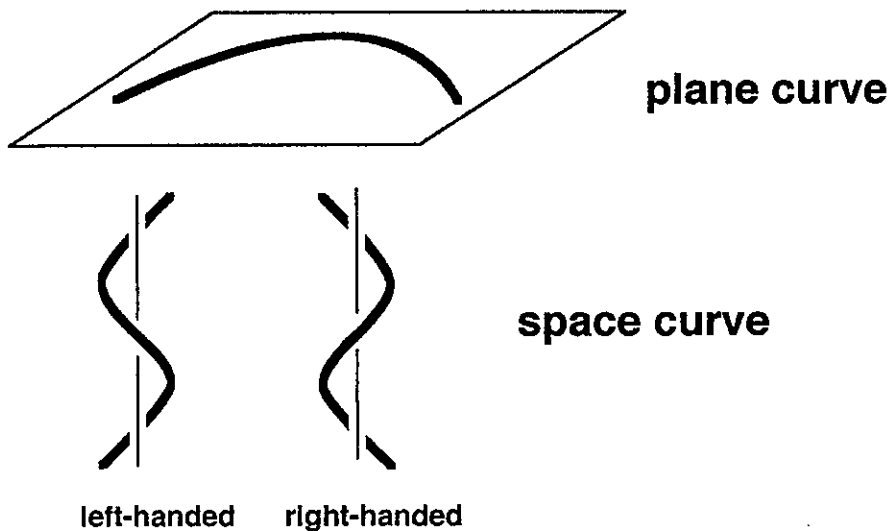


図1 ベントDNAは平面的曲がり (plane curve) と三次元的曲がり (space curve) に大別される。

のことから、得られた結果には普遍性があるものと考えられる。ベントDNAは、分子間相互作用 (DNA-タンパク質、タンパク質-タンパク質) の“足場”として、また、プロモーターの融解 (melting) レベルを調節するための構造として機能しているものと考えられる。進化の過程でベントDNAはコアプロモーターの活性を微調節する役割を獲得したものと推察される。

1. Ohyama, T. and Hashimoto, S. (1989) *Nucl. Acids Res.* 17, 3845-3853.
2. Ohyama, T., et al. (1992) *Nucl. Acids Res.* 20, 1617-1622.
3. Hirota, Y. and Ohyama, T. (1995) *J. Mol. Biol.* 254, 579-594.

# Sc13

高等真核生物の染色体セントロメアを構成する蛋白質とDNA；  
セントロメア蛋白質の保守性とサテライトDNAの多様性

Centromere proteins and satellite DNA of higher eukaryote chromosomes;  
Conservativeness of centromere proteins and variety of satellite DNAs

大阪府立大学 農 応生化、先端研 ハイブリッド 杉本憲治

Kenji Sugimoto, Department of Applied Biochemistry & Research Institute  
for Advanced Science and Technology, University of Osaka Prefecture

細胞分裂における染色体の安定分配は、その種固有の「遺伝物質 (DNA)」を子孫に正確に伝えていくための重要な過程である。DNAは、静止期には核内で長く伸びたヌクレオソーム構造をしているが、分裂期が近づくにつれ次第に折りたたまれていき、やがて核膜が崩壊した後、分裂中期には、いわゆる「染色体」として光学顕微鏡で観察できるまでに凝縮する。この後、染色体は紡錘系に捕らえられ両極に移動・分配されていくが、この紡錘系の付着する染色体上の領域--多くの場合、染色体のくびれ (一次狭窄) の部分に相当する--はセントロメア (厳密には、動原体) と呼ばれている。セントロメアは単に染色体に付着した構造物ではなく、その分配のために特殊化した染色体の一部であり、他の染色体の部分と同様、DNAと蛋白質から構成されていると考えられる。この分裂期の染色体分配の機構は、下等真核生物である酵母から高等真核生物であるヒトに至るまで、いくらかの違いはあるものの基本的な仕組みは普遍であると考えられている。ここでは、その分子構造がもっともよく解析されている出芽酵母のセントロメアの構造を復習した後、現在、比較的解析が進んできたヒトのセントロメアについて概要し、最後に最近のデータを基にこれらの構成成分を相互に比較してみたい。

## 1. 出芽酵母のセントロメアについて

酵母においては染色体の分配は核膜が存在したままの状態で行われる。出芽酵母の染色体は非常に小さく、225kb から 1.9Mb の大きさであり、原核生物である大腸菌のゲノム (5 から 6Mb) よりも小さい。既に、有糸分裂、並びに、減数分裂を通して遺伝子の安定分配に必須なDNA配列として、僅か120塩基対の「機能するセントロメアDNA」の配列が単離・同定され、その一次構造も明らかにされている。もう一つの構成成分である「セントロメア蛋白質」については、二つのアプローチにより解析が行われてきた。一つは生化学的なアプローチであり、先のセントロメアDNAに結合する蛋白質CEP1や蛋白質複合体CBF3の構成ポリペプチドとして、今一つは遺伝学的なアプローチであり、染色体の安定分配を損なう突然変異体を単離しその遺伝子産物として同定された。さらに、部分精製されたセントロメアDNA・蛋白質複合体の試験管内でのATP依存的な運動も観察されており、出芽酵母ではセントロメアの再構成系の確立も時間の問題となっている。

## 2. ヒト染色体セントロメアの構造について

ヒトを含め多くの高等真核生物においては、染色体の分配に先立って核膜の崩壊が起こる。これら生物の染色体は非常に大きく、ヒトで50Mbから250Mbの大きさで、最も小さい染色体でも大腸菌のゲノムの10倍近くもある。したがって、哺乳動



物のセントロメアは先の酵母に比べ桁違いに大きいのは勿論のこと、電子顕微鏡による観察から、形態学的にもさらに複雑な構造をしていることが明らかにされている。セントロメアDNAの候補としては、かろうじて、*in situ* ハイブリダイゼーション法により光学顕微鏡レベルで「セントロメア領域に局在する」幾つかの繰り返し配列（サテライトDNA）が単離・同定されているものの、酵母と異なり、「染色体の安定分配に機能する」という意味でのセントロメアDNAの単離には成功していない。一方、ある種の自己免疫疾患患者、特に強皮症患者の作り出す自己抗体（抗セントロメア抗体）と、染色体骨格（Scaffold）を抗原として得られた抗セントロメアモノクローナル抗体を利用して、いわゆる「動原体」を含めて、セントロメア領域を構成している幾つかの蛋白質が同定され、その遺伝子もクローン化されている。現在までに少なくとも三つのセントロメア蛋白質にDNA結合活性が見いだされており、その内最も解析が進んでいるCENP-Bについては「アルホイド」と呼ばれるサテライトDNAと直接相互作用することが示された。また、染色体の移動のためのモーター活性を担っていると考えられる蛋白質も明らかにされている。

### 3. セントロメア蛋白質とサテライトDNAの構造比較

セントロメア蛋白質は、「染色体の分配に関わる」という共通の機能ゆえに、酵母からヒトに至るまで、少なくとも幾つかの蛋白質においてある程度のアミノ酸配列の相同性を示してもよさそうである。例えば、酵母とヒトの幾つかの細胞周期に関わる蛋白質や house keeping 酵素を比べたとき、機能領域においてアミノ酸配列が保存されていることが知られており、逆に、機能的に酵母の特定の変異を抑制する遺伝子として積極的にヒトのホモログが単離されている例もある。実際、哺乳類の間ではセントロメア蛋白質の幾つかはよく保存されていることが分かってきた。しかしながら、ヒトと酵母のセントロメア蛋白質間においては、未だ、対応関係の存在すら明らかではない。一つには、まだ両者において全てのセントロメア蛋白質が出揃っているわけではないこと、もう一つには、種の存続を維持するためにセントロメアは独自の多様性を獲得してきた可能性があることも考えられる。後者の可能性は、セントロメアDNAの比較においてはより顕著である。例えば、出芽酵母と分裂酵母--もっとも、進化的にはかなり隔たっているが--において機能するセントロメアDNAが単離されているが、その大きさ、塩基配列において全く異なる様相を示している。また、ヒトセントロメア蛋白質のホモログを持つことが明らかにされている哺乳動物の間ですら、セントロメア領域に存在するサテライト配列についての明確な相同性は見いだされていなかった。しかしながら、最近になって、一見相同性のないと思われていたヒトのアルホイドDNAとマウスのマイナーサテライトDNAとの間にCENP-B結合配列が存在すること、さらに、新たに見つかった酵母の染色体分配を制御する蛋白質の中には、ヒトCENP-Cあるいはヘテロクロマチン蛋白質（HP1）と部分的にはあるが相同性を持つものが見いだされ、セントロメア構成成分のいくつかの「機能部位」は酵母からヒトに至るまで共通に保存されている可能性が示唆されている。最後に、これらの例に触れながらこの問題について考えてみたい。



# 一般講演

生物進化  
(29～36)

# 29

## ミトコンドリアの起源進化(1) 酵母ミトコンドリアゲノムの進化

### The Origin and Evolution of Mitochondrion 1. The Evolution of Yeast Mitochondrial Genomes.

北野広道、関藤孝之、岡本浩二、石富仁志、吉田和夫(広島大学・理・生物科学)  
Hiromichi Kitano, Takayuki Sekito, Kozi Okamoto, Hitoshi Ishitomi and Kazuo Yoshida  
(Department of Biological Science, Faculty of Science, Hiroshima University)

細胞内小器官であるミトコンドリアは独自のゲノムを持っており、そこには、ミトコンドリア内で機能する遺伝子がコードされている。1981年、ヒトのミトコンドリアゲノムで全塩基配列が決定されて以来、様々な生物種についてミトコンドリアゲノムの解析が行われ、ミトコンドリアゲノム中には限られた種類の遺伝子が保存されていることが分かった。しかしながら、ミトコンドリアで機能する遺伝子がどのようにして核の遺伝子で賄うようになったのかは不明であり、ミトコンドリア遺伝子の核への移行に関する報告もほとんどない。一方、菌類のミトコンドリアは、そのゲノムサイズ、構造ともにきわめて多様であるので、ミトコンドリアの進化の研究には適した材料といえる。その中でも酵母、特にパン酵母 *Saccharomyces cerevisiae* は真核生物のモデル生物として分子遺伝学、分子細胞学的研究が進んでいる。ミトコンドリアの遺伝学的研究においても先導的役割を果たしてきたが、そのゲノムの高変異性のためにミトコンドリアDNAの全一次構造決定には至っていない。NADH脱水素酵素のサブユニット遺伝子 (*ND gene*) は、様々な生物種のミトコンドリアゲノムに保存されている遺伝子の一つであることが知られている。しかし、酵母のミトコンドリアゲノムの解析に先導役の、パン酵母 や分裂酵母 *Schizosaccharomyces pombe* のミトコンドリアゲノムには、*ND gene* がコードされていないことが分かり、酵母においては *ND gene* が存在しないのがその特徴と考えられていた。しかしながら、我々の出芽酵母 *Hansenula wingei* のミトコンドリアゲノムのノザン解析と酵母で最初のミトコンドリアDNAの全塩基配列決定の結果、他の生物種と同じように *ND gene* がコードされていることが明確に示され、酵母においては、*ND gene* を持つグループと持たないグループがあることが分かった。これらの現象は、酵母のミトコンドリアゲノムの進化の過程における、*ND gene* の平行消失や核移行を予測させるものである。そこで、我々は、サザン解析の手法を用い、他の酵母ミトコンドリアDNAにおける *ND gene* の検索とミトコンドリアゲノムに *ND gene* を持たない酵母の核ゲノムからの *ND gene* の検出を検討した。

まず、出芽酵母 *H. wingei* の *ND gene* をプローブに用いることによって、他の酵母の *ND gene* を検出することを試みた(Table 1)。その結果、検出を試みた酵母において、*Saccharomyces* 属以外の酵母にはいづれもシグナルを検出でき、そのうち、*Pichia membranaefaciens* については、シークエンスによって確認を行う(Figure 1B)と同時に、塩基配列、アミノ酸配列のホモロジー解析により *ND gene* プローブの有効性について検討した。更に、*P. membranaefaciens* のミトコンドリアゲノムの、制限酵素地図と物理地図を作成し(Figure 1A)、酵母では報告例の少ない *ND gene* を含めたミトコンドリア遺伝子の gene order について検討した。最後に、現在解析中のパン酵母のゲノミックライブラリーからの *ND gene* の検索結果について報告する。

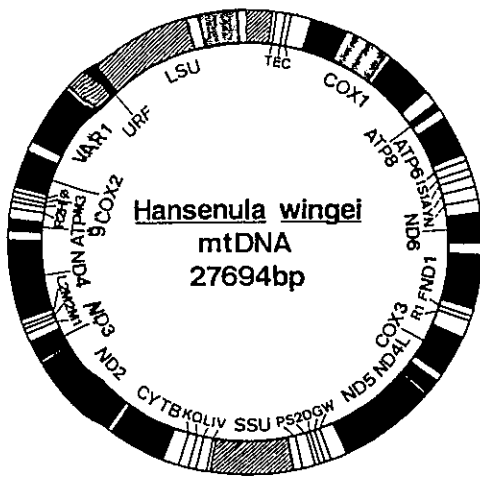


Figure 1 出芽酵母 *H. wingei* のミトコンドリアDNAの全塩基配列決定により明らかになった遺伝子構造 (Curr. Genet. (1995) 28 : 39-53)

Table 1 *H. wingei* の ND gene をプローブに用いた酵母のミトコンドリアDNAのサザンハイブリダイゼーションの結果

Hybri. condition	40°C						60°C	
	Light			Heavy			Light	Heavy
Wash condition								
NDgene probe	5	1	2	5	1	2	5	5
mtDNA SOURCE								
* <i>S. cerevisiae</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
* <i>H. wingei</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>S. cerevisiae</i>	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. kluyveri</i>	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. exiguus</i>	+	-	-	-	-	-	-	-
<i>P. membranaefaciens</i>	+	+	?	+	+	?	+	-
<i>Y. lipolytica</i>	+	+	+	+	+	+	?	ND
<i>C. maltosa</i>	+	+	-	+	-	-	+	ND

Light と Heavy は、サザン解析の際の洗い条件にそれぞれ室温(25°C前後)と60°Cを用いたことを示す。(+, detected; -, not detected; ?, unclear; ND, Not Done; \*, presence or absence of ND genes confirmed by sequencing) (Nuc. Acids. Symp. (1995) No.34 : 23-24)

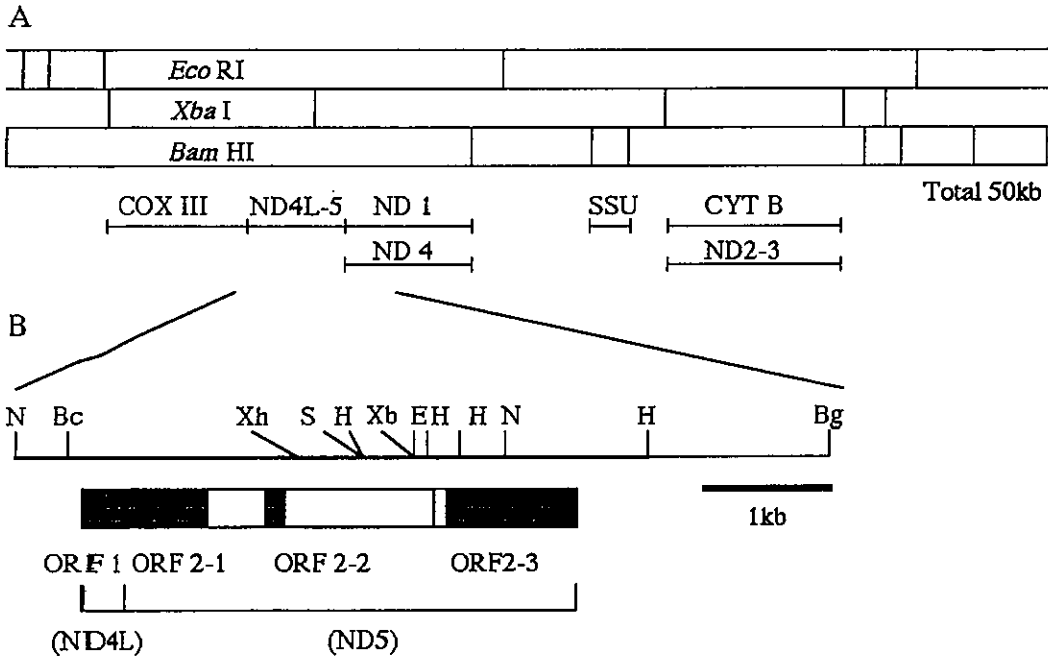


Figure 2 (A) *P. membranaefaciens* のミトコンドリアDNA (環状50kb) の制限酵素地図と物理地図 (B) 塩基配列決定に基づく *P. membranaefaciens* の ND4L-5 の遺伝子構造と制限酵素部位 (N, *Nsi* I; Bc, *Bcl* II; Xh, *Xho* I; S, *Spe* I; H, *Hin* dIII; Bg, *Bgl* II)

**The Origin and Evolution of Mitochondrion 2. The Missing Mechanisms  
of Genes from Organelle Ancestor during Evolution**

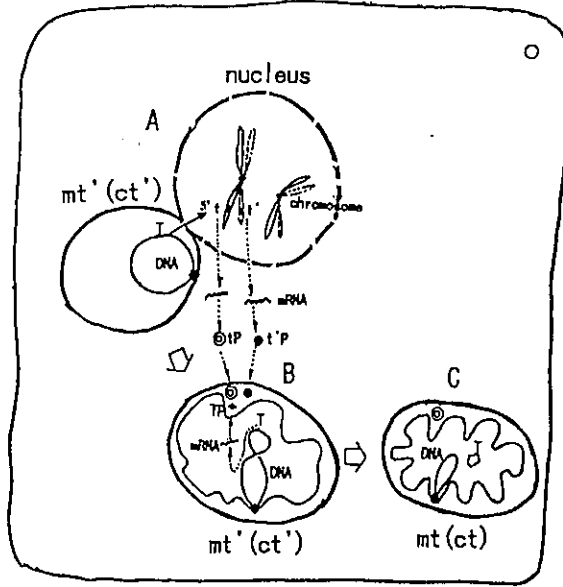
吉田和夫、上地克行、石富仁志、西川正信 (広島大学・理・生物科学)

Kazuo Yoshida, Katuyuki Kamiji, Hiroshi Ishitomi and Masanobu Nishikawa

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

嫌気性前真核細胞に好気性細菌やラン藻が細胞内に共生して進化したとする共生進化説は、ミトコンドリアや葉緑体の起源・進化に関する仮説として最も有力なものである。しかしながら、この仮説では、1) 共生後進化の過程でオルガネラの祖先の共生細菌が何故またどういう機構でその遺伝子の大部分を消失は或は宿主核へ移行させたのか。その明確な説明が全然ない。2) 嫌気性前真核細胞の候補がハッキリしていない。等々の大きな欠陥もある。我々は、1) については、細胞内接合伝達仮説を新たな作業仮説として昨年度の本大会でも発表した(1-3)。図1に示すように、これは一方向的遺伝子伝達性の接合(性)を進化させた雄(♂)細菌が前真核生物細胞宿主内に取り込まれて共生すればその接合伝達能により宿主の核を雌(♀)と見なして一方向的にその遺伝子を核へ伝達移行させたというものである。また、ミトコンドリアや葉緑体の大部分の遺伝子が核にあるほうが何故進化生物学的に都合が良いのかを説明するのがもう一つの核移行選択仮説で、もともとハプロイド性のオルガネラにとっては、自分自身が突然変異で直接変化するよりも核に遺伝子を移行させて、そこにおける突然変異を利用して、より機能的に進化したものを選択するほうが安全有利である。この機構によれば機能的に重要で進化しにくい蛋白質(遺伝子)でも早く進化させることができるので、オルガネラ遺伝子の核移行の圧力を形成することになるというものである。図2に示すのは、先ず、2セットのゲノムが共生或は不等分裂等で前真核細胞に生じ、次いでオルガネラへ進化する方が遺伝子をどんどん消失して行き、核となる方がそれを相補するように進化して行ったとする重複ゲノム選択消失仮説である。図1と図2のどちらの仮説が妥当か、また、2) についての実験的アプローチのアイデアについて議論したい。

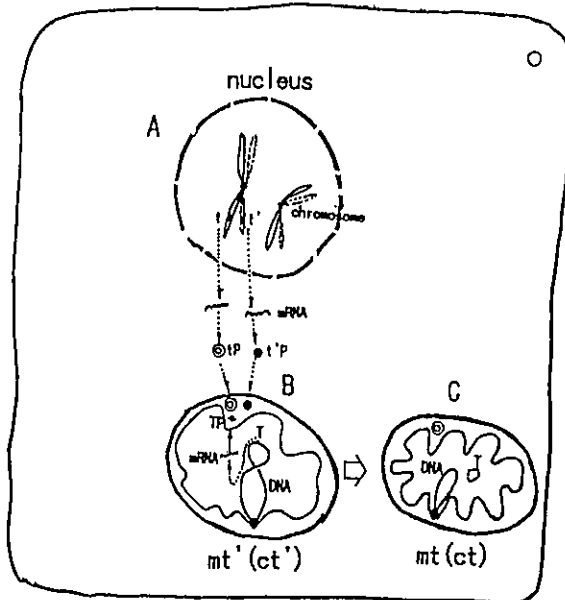
1. K. Yoshida et al.: *Viva Origino*, 23:62-63(1995)2. K. Yoshida et al.: *Viva Origino*, 23:121-140(1995)3. K. Yoshida et al.: *Endocytobiology VI*, Tübingen Univ. Press, in press.



Evolving Cell

図1. 細胞内接合伝送仮説と核移行選択仮説。

A、嫌気性前真核生物へオルガネラの祖先細菌の $mt'$  ( $ct'$ ) が共生する。 $mt'$  ( $ct'$ ) は核と接合して染色体へその遺伝子Tを伝達する。そのTは染色体内で変異して $t$ や $t'$ となる。B、遺伝子 $t$ 、 $t'$ 、Tの産物 $t_p$ 、 $t'_p$ 、 $T_p$ が $mt'$  ( $ct'$ ) 内で競合して効率の良いのが選択される。この場合は $t_p$ 。C、その結果、 $mt'$  ( $ct'$ ) の遺伝子Tが失われて $mt$  ( $ct$ ) へと進化して行った。



Evolving Eukaryotic Cell

図2. 重複ゲノム選択消失仮説。

A、B、前真核生物細胞で核と $mt'$  ( $ct'$ ) の重複ゲノムが存在する。 $mt'$  ( $ct'$ ) は不等分裂による多核あるいは共生により生じたと考える。C、 $mt'$  ( $ct'$ ) の方が進化速度が早く遺伝子を選択的に消失して行き $mt$  ( $ct$ ) となり、それを核の遺伝子が補うよう平行進化した。記号名は図1に同じ。

# 31

## シダ類に集積される希土類元素間にみられる相関について Correlations between Lanthanide Concentrations in Fern Leaves

高田実弥<sup>1</sup>、西村和雄<sup>2</sup>、隅野照家<sup>1</sup>、赤星光彦<sup>1</sup> ( <sup>1</sup>京都大・原子炉、<sup>2</sup>京都大・農学部 )  
Jitsuya Takada<sup>1</sup>, Kazuo Nishimura<sup>2</sup>, Teruie Sumino<sup>1</sup>, Mitsuhiro Akaboshi<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>Res. Reactor Inst. and <sup>2</sup>Facul. Agr. Kyoto Univ.)

我々は Ce, La を含む希土類各種元素が、比較的高い海水中濃度を示すにもかかわらず、何故、必須元素として生物に利用されていないのかと云う観点から、希土類元素と生物との関わりについての総合的研究に着手した。昨年度の本大会では、哺乳動物の培養細胞を材料として用いた実験から処理された細胞への希土類元素の集積特性とそれら元素の細胞に対する作用等について論じた。本大会では希土類元素の集積植物として知られるシダ類各種植物葉中に集積される希土類元素間の相関性について明らかにする。

動物組織において、希土類元素はCaイオンと、一部、互換性をもつことが知られている。そうした場合には組織または細胞中のCaと希土類元素の濃度には負の相関が見られるかもしれない。一方、元素濃度間において正の相関が見られる場合には、元素の土壌中の濃度や植物の固有の性質等がそこに反映している事が推察される。この様に、異なる元素間の相関性を調べることは、それら元素の生物との関係や役割に関する貴重な情報を与える筈である。我々はこの様にして得られた植物体内の希土類元素濃度の相関性が、これら元素の生物に対する必須性(非必須性)を推測する上で重要であると考え、従来より、演者らが保有する日本各地から採集した膨大な植物の葉中に含まれる元素分布に関するデータから、主として希土類濃度に着目して整理し、それらの相関性に言及する。

材料と方法： 1981 年から沖縄をはじめとする日本全国各地において採集された700種 2000個体の植物の葉を既定の方法で処理し、放射化分析法を用いて、Al, Ca, Sc, Ce, La, 等々約50種類の元素含量を測定した。放射化分析には KUR 各種気送管とGe-半導体検出器を備えたマルチチャンネル波高分析器を用いた。

結果と討論： ある種の動物組織において、希土類元素が Ca-イオンとの間で一部、互換性をもつことが報告されているので、本研究の糸口をまずは Ca との関連を調べる事から始めた。Fig. 1 には、分析出来た全てのシダ植物の La とCaの含量について散布図を描いた。図から明らかな様に、分析したシダ植物の種類や採集地点に関係なく、Ca 含量はほぼ同じ値を示した。これは Ca が必須元素であり、植物は土壌から必要量を積極的に吸収するために、土壌中のCa

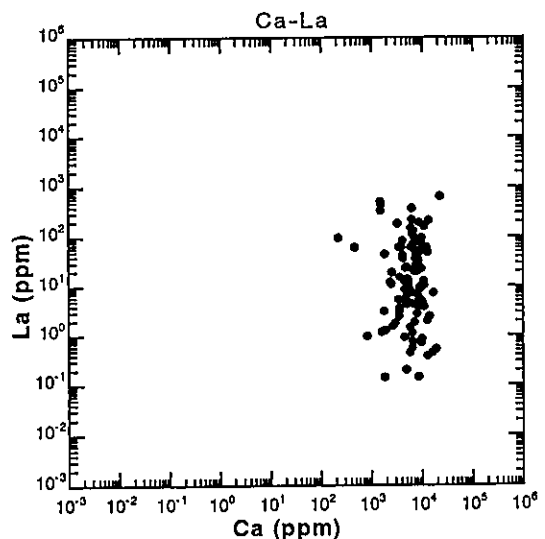


Fig. 1 Correlation between Ca and La concentrations in fern leaves.



含量とは無関係に、常に一定量の Ca を必要とすることによるものと考えられる。一方、La 含量は試料による変動が非常に大きく、Ca との間には相関は全く認められないことが明らかとなった。La 以外の希土類元素、例えば、Sm, Ce, Nd 等についても Ca との間に相関性を認めることは出来なかった。次に希土類元素相互間の相関について検討した。例えば、La と Ce の間ではどのような関係があるのだろうか？ Fig. 2 にそれを示す。ここではシダ植物中の La 含量と Ce 含量との間には高い正の相関があることが判る。二種類の元素間で正の相関が見られる事は両元素の吸収に際して植物側からの選択的な吸収機能が働いてはいない事を示唆し、むしろ土壌中の両者の濃度や植物固有の性質がここに反映する可能性を示す。その他多くの希土類元素間の関係も Fig. 2 同様、基本的には正の相関を示すことが明らかになった。しかしながら、その他の全ての希土類元素相互間の相関性を調べてみると、必ずしもその様な関係ばかりではない。Fig. 3 は Sm と Eu の場合を示す。Fig. 2 とは違って、正の相関の非常に強い 2 種類のグループに分かれることが明らかである。Eu が入ると多くの場合、散布図はこの様に二つに分かれる。Eu だけでなく、Tb が関与した場合にもそうなることが多い。ところが、Eu と Tb との相関は二つには分かれず、一本の線で表される強い正の相関を示すだけである。相関がこの様に二つに分かれることは、一体、何を意味しているのであろうか。Fig. 3 に示された Eu と Sm との関係を更に詳細に検討するために、シダ植物の採集地点や植物種に着目してプロットしてみたところ、植物種ではなく採集地点の違いによって二つの群が大別されることが判った。何故、Eu と Tb が特異な挙動を示すのかは判らないが、この結果は植物中の元素含量からその成育環境を推定することが可能であることを示唆する。

希土類元素が生物に必須である事を裏付ける根拠は、今のところ、本観測からは得られていない。

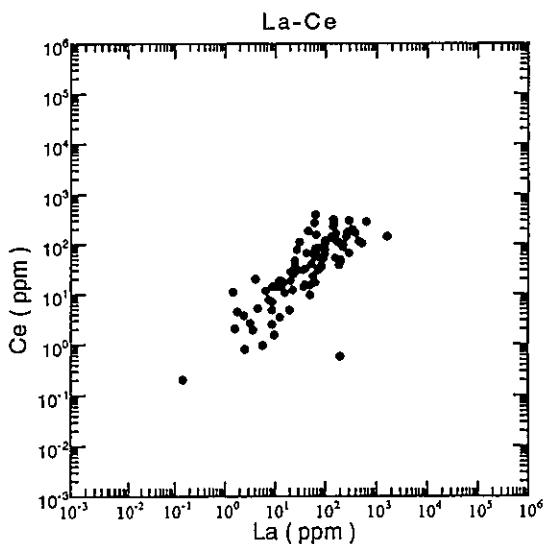


Fig. 2 Correlation between La and Ce concentrations in fern leaves.

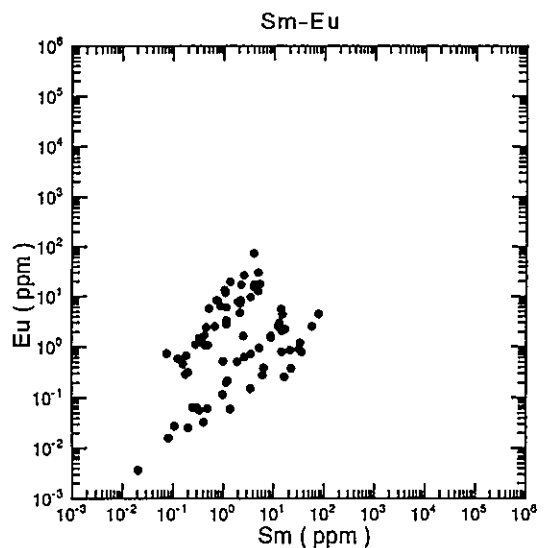


Fig. 3 Correlation between Sm and Eu concentrations in fern leaves.

# 32

## 希土類各種元素の培養細胞に対する致死作用

### Lethal effect of several rare earth elements on cultured HeLa cells

赤星光彦、高田実弥、田中愛子、河合建一、川本圭造 (京都大・原子炉)

Mitsuhiko Akaboshi, Jitsuya Takada, Yoshiko Tanaka, Kenichi Kawai and Keizo Kawamoto  
(Res. Reactor Inst., Kyoto university)

昨年度の本大会において、培養ヒラ細胞が各種の希土類元素による処理に対して、多様な反応を示すことを報告した。すなわち、この反応には大別して二タイプがあり、Ce, Gdでは処理濃度に対して指数関数的な生存率曲線が得られるが、Sm, La, Nd, Eu 等による処理では低濃度域(1 mM以下)において生存率は100%を超え、以後、指数関数的に減少する。この原因は試験管内での希土類元素による処理(37°C-1時間)に際して、一時的に細胞分裂が促進されたか、又は、細胞の定植率が向上したことによると考えられる。原因がいずれにせよ、生存率曲線の最高値を0-dose に対して内挿することにより、近似値として平均致死濃度(D<sub>0</sub>)を求めることが可能と考えられる。

今回はヒラ細胞の各種希土類元素によるD<sub>0</sub>を決定すると共に、その濃度において細胞内各種重要分子と結合した希土類元素数を放射化分析により定量し、両者の関係から致死作用の機構を類推する。

材料と方法：実験材料として培養ヒラ細胞を用いた。1 mlの細胞浮遊液(10<sup>7</sup>/ml)を0.15~4.5 mMの各種希土類元素(Sc, La, Ce, Sm, Eu, Gd)を用いて37°C-1 hr 処理し、その0.01 mlを採ってコロニーアッセイ法による生存率の測定に供した。一方、残りの処理細胞はシュナイダー法によりDNA, RNA および蛋白分画に分離した。抽出液は定量的に濾紙上に乾燥させた後、機器放射化分析による希土類元素の定量に供した。放射化分析には京大原子炉の各種気送管を、また測定にはGe-半導体検出器とマルチチャンネル波高分析器を用いた。

#### 結果と討論：

Fig.1 に各種希土類元素によって処理されたヒラ細胞の生存率曲線の例を示す。生存率曲線の傾きはいずれもゆるやかで、希土類元素の細胞毒性が軽度であることが明らかである。個々の元素について見ると、生存率曲線が低濃度から高濃度にかけて、ほぼ指数関数的に減少するタイプ(Sc, Ce, Gd)と低濃度域でむしろ高い生存率を示すタイプがあることが判る。後者はさらに、上昇の立ち上がりがシャープなもの(Sm, Eu)とブロードなもの(La, Nd)とに分かれる。この現象は1時間の試験管内処理によって、一時的に細胞分裂が促進したこと、または、何らかの細胞の定着率が向上したことによると考えられる。いずれにせよ、生存率曲線の最高値を0-dose に対して内挿することによって、近似値として平

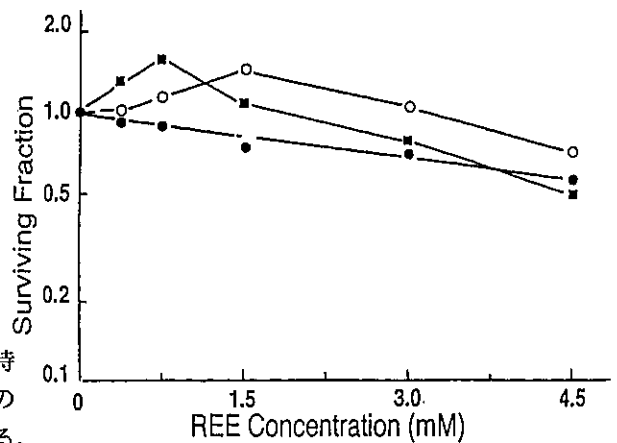


Fig. 1. Dose-survival curves of HeLa cells treated with several REEs  
● : Ce, ○ : La and ■ : Sm.

均致死濃度(D<sub>0</sub>)を求めることが出来る。グラフ上の直線部分の傾きから、各希土類元素処理によるD<sub>0</sub>は5.9 (Sm), 6.8 (Ce), 7.4 (Gd), 7.9 (La), 8.4 (Eu), 9.9 (Sc) mMと決定された。これらの濃度の希土類元素によって処理された細胞内で生起する何らかの事象が原因となって、細胞死が起きることになる。次に、その事象が何であるかをこれらの元素の細胞内重要分子との結合数を調べる事により類推する。そのために、まず処理後、DNA, RNA, 蛋白質等の各分画に結合した希土類元素量を放射化分析により定量し、処理量に対する%として表す。Table 1には各元素の各分画への結合比を%-REEとして示す。最上行に示されたD<sub>0</sub>(mM)にこれらの値とアボガドロ数を乗じ、細胞数(10<sup>7</sup>)で除することによって、1細胞中の各分画に結合した希土類元素数を求めることが出来る。ヒラ細胞に含まれる各重要分子の量をそれらの構成要素数で表した値を、こうして求めた結合数で除すことによって、標的量を求める。これは各重要分子が細胞死の標的となると仮定した時に、構成要素当たりどれだけの希土類元素が結合することによって細胞が死ぬかを表現する重要な指標である。DNA分子を標的と仮定した場合、数個から数十個のヌクレオチド当たり1分子の希土類元素の結合が細胞致死に必要となることが判る。この致死効率はPtやPdの化合物のそれに較べて非常に低い。一方、蛋白質の場合には、平均致死濃度において10<sup>4</sup>アミノ酸当たり約1個の希土類元素が結合していることになる。蛋白質分子は、通常、10<sup>2</sup>~10<sup>3</sup>個のアミノ酸によって構成されるので、この値は10~100蛋白質分子当たり1希土類元素が結合することを意味する。つまり、1~10%の蛋白質分子しか結合していないことになる。結合していない(intactなままの)蛋白質が90~99%も残された状態で細胞が死ぬかどうかは大いに議論のあるところである。

本報告では、「生物と希土類元素の係わりの探索」と云う基本命題の中で、細胞毒性の強さとその機構を類推する上での幾許かのデータを得ることはできたが、生物に対する必須性・非必須性を議論するまでには至らない。希土類元素が生物にとって必須な元素であるにせよ、必須性は本報告で扱うレベルよりも遥かに低い濃度域において発現されているに違いない。従って、今後の研究の方向として、或る希土類元素に対するdeficientな状態の生物を実験的に作り、それを材料として集積や排出および生理・生化学的作用に関する研究を進めることが必要となるであろう。

Table 1. D<sub>0</sub>, %- and No. of rare earth elements and target volume

	Sm	Ce(III)	Gd	La	Eu	Sc
D <sub>0</sub> (mM)	5.9	6.8	7.4	7.9	8.4	9.9
DNA fraction						
%-REE	0.32	0.84	17.2	0.149	1.89	1.10
No. of REE/cell (x10 <sup>8</sup> )	11.13	34.27	763.7	7.063	95.26	65.34
Target volume (base)	31.1	10.2	0.45	49.0	3.84	5.29
RNA fraction						
%-REE	1.03	0.239	3.56	0.926	1.78	0.12
No. of REE/cell (x10 <sup>8</sup> )	36.33	9.75	158.1	43.89	89.71	7.128
Target volume (base)	13.52	50.7	3.11	11.2	5.47	68.9
Protein fraction						
%-REE	0.021	0.141	0.20	0.176	0.16	0.62
No. of REE/cell (x10 <sup>8</sup> )	0.742	5.75	8.88	8.34	8.06	36.83
Target Volume (10 <sup>4</sup> a. a.)	1.68	2.14	1.38	1.47	1.53	0.33

# 33

## 細胞エネルギー代謝の進化

### — 関係小器官の分化 —

Evolution of energy metabolisms in the cells

— Differentiation of the related organelles —

中村 運 (甲南大、理学部)

Hakobu nakamura

(Faculty of science, Konan University)

ミトコンドリアと葉緑体はATPやNAD(P)Hを合成し、細胞生命を支えている真核細胞の小器官である。一方、ペルオキシソームはミトコンドリアや葉緑体とは形態・機能について、多くの点で異なっているが、ある種の酸化酵素類を高濃度で含んでおり、ミトコンドリアの痕跡ではないかとも言われている。いずれにしても細胞内の酸化還元代謝に関してミトコンドリア、葉緑体およびペルオキシソームの3小器官は密接な代謝連合をつくり上げている。

始原細胞は化学進化の結果として40億年前原始の海で発生したと考えられている。その細胞は、おそらく原始スープの中からATPなど高エネルギー(リン酸化)化合物を吸収し、生命体を維持していたはずである。現生生物界においてもっとも原始的なエネルギー生産代謝は、発酵(EM)経路中のグリセルアルデヒドリン酸からピルビン酸に至る、演者が原始発酵系と名付けている小代謝である(拙著、微生物からみた生物進化学、培風館、1983参照)。この代謝の中にはすべてのATP合成反応が集まっている。

発酵生物の増殖によって、原始の海から有機物が枯渇しつつあるとき、太陽の光をエネルギー源として有機物を自ら合成する、いわゆる光合成生物が進化してきた。現存するもっとも原始的な光合成生物は紅色イオウ細菌および緑色イオウ細菌である。さらに進化したのが紅色無イオウ細菌である。これはともに硫化水素を水素源として嫌氣的な光合成しかできないが、再後者は酸素を最終電子受

容体として酸素呼吸をすることができる。ラン藻は水を水素源として利用するとともに酸素呼吸も行うことができ、これらの代謝系は高等植物と同じである。

光合成細菌、ラン藻および葉緑体、およびミトコンドリアは共通にユビキノーン-シトクロム *b*-シトクロム *c* 電子伝達系を含んでいる。ここでシトクロム *b*-*c* 複合体はともに相同なタンパク質より構成されているだけでなく、電子伝達にともなうエネルギー放出を通して膜中のプロトンポンプを稼働させてプロトン勾配を作り、そのプロトンをATPシンターゼ中に流してATPを合成するという共通の機構をもち、遺伝されている。本講演会ではATP合成機構の起原と分化を通して、ミトコンドリア、葉緑体およびペルオキシソームの形成過程を論ずる。

ストロマトライト（化石）の形成過程  
 — 藍細菌被膜の構造と生態にもとづく考察 —

Possible Process of Lithification during the Formation of Stromatolites:  
 A Consideration based on Examinations of Cyanobacterial Mats from Hot Springs

清水晃<sup>1)</sup>・加藤憲二<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup> 奈良女子大学・理学部、<sup>2)</sup> 信州大学・医療技術短大部)

Akira SHIMIZU<sup>1)</sup> and Kenji KATO<sup>2)</sup>

(<sup>1)</sup> Faculty of Science, Nara Women's University.

<sup>2)</sup> School of Allied Medical Sciences, Shinshu University)

堆積鉱物の一つで、内部に縞縞構造（ラミナ構造）をもつものはストロマトライトとよばれる。M. R. Walter ed. (1976) の『Stromatolites』<sup>1)</sup> の Introduction には、1974年に Awramik, S. M. & L. Margulis が与えたというストロマトライトの「定義」説明がある。

Stromatolites are organosedimentary structures produced by sediment trapping, binding and/or precipitation as a result of the growth and metabolic activity of micro-organisms, principally cyanophytes. [Presented by S. M. Awramik and L. Margulis in the 2nd Stromatolite Newsletter, February 1974, p. 5, (unpublished)]

微生物世界にこのような organosedimentary structures を探してみると、微生物の集合体（aggregates）である微生物被膜（microbial mats）に容易にたどり着く。T. D. Brock (1974, 1978)<sup>2)</sup> や F. E. Round (1981)<sup>3)</sup> の著した微生物生態学分野の基礎的教科書では、ストロマトライトは微生物世界に普通にみられる群集（コミュニティ）の一典型として扱われる。藻類生態学者である F. E. Round (1981) は、ストロマトライトを広い意味での藻類群集の一つ、底生の藻類群集（フィトベントス Phytobenthos）として生態を説明する。

Stromatolites are aggregations of sediments, often formed into rock-hard structures by algal secretion of mucus and the resultant binding of sand particles; the algal species involved are basically epipelagic but the particular environmental conditions allow the formation of the stromatolites. . . . .

Algal stromatolites are laminated rock-like structures formed by the trapping, precipitation and binding of sand, silt and clay and algae.

と説明し、modern stromatolites（微生物被膜、バイオマットなどとして扱われているもの）の最初の報告は、M. Black (1933)<sup>4)</sup> の Andros Island, Great Bahama Bank における観察であることを記している。M. Black は、潮間帯では Schizothrix 属の藍藻（藍細菌）が弾性のあるマット（rubbery mat）をつくり、汽水域や淡水域では Scytonema 属のものがクッション様の構造をつくっていることを発見した。ストロマトライトの形成様式に関

1) Walter, M. R. (1976): Developments in Sedimentology 20: "Stromatolites"  
 (Walter, M. R. ed. Elsevier, Amsterdam, 1976), 1-3

2) Brock, T. D. (1974): "Biology of Microorganisms" 2nd ed. Prentice-Hall

Brock, T. D. (1978): "Thermophilic Microorganisms and Life at High  
 Temperatures" Springer-Verlag

して、F. E. Round は、C. D. Gebelein(1969, J. Sedim. Petrol., 39, 49-69) や Walter, M. R. 等 (1972, Science, 184, 1083-1085)の研究などを紹介している。

1970年代後半から、欧米では微生物被膜の生態生理学的研究、被膜内部におこる鉱物化や石質化に関する地質科学的研究は著しい進展をみた。本邦では地球科学分野と微生物生態学分野の接触が疎であったが、最近ようやく動きが急となった感がある<sup>5)</sup>。

私共は、温泉水中の微生物生態系(原始共生系モデル)の研究の中で、ストロマトライトとされる微生物被膜(特に藍細菌被膜 Cyanobacterial Mats, Blue-Green Algal Mats)を扱っており、その微細構造の構築様式や金属イオンの蓄積をみている。得ている知見をもとにして、化石ストロマトライトにみられる縞縞構造(ラミナ構造)や、生きている部分が鉱物化ないし石質化する(lithification)過程を、本大会で考察してみたい。

温泉微生物被膜に生息する(被膜を構成する)微生物相(微生物群集)はふつう単純であるので、微生物どうしの関係をみたり、それぞれの被膜構造との係わり方をみるのには、一定の水環境(温泉高温水域など)に繁茂している藍細菌被膜は格好の材料である。温泉流水域に形成される被膜は表面の滑らかなS型である(止水域のものは表面に凹凸のあるR型である)。S型被膜の内部には多数のラミナ構造があるが、これは、被膜表面下(表層最上部)に生息する運動性の糸状藍細菌が、光誘発的に表面の外側へ移動する(新しい表面をつくる)さい、もとの位置(表層最上部)に止まる光運動反応不活性のものによってつくられる構造である(新しい表層部はこの位置への光透過を妨げるので、たとえ運動能力をもつとしても、この位置の藍細菌では光運動反応がおこりにくいばかりか、光栄養による生産活動は不十分であろうと考えられる)。被膜の中・下層部では消費・分解活性が大きい、ラミナ構造は破壊されずに残っている。ここに生きる藍細菌は、他栄養的にしかも嫌氣的に生活している可能性があり、他の他栄養細菌類とともに、ラミナ構造よりは被膜礎質(マトリックス)を消費・分解しているのであろう(下層底部は完全な分解層であり、粘性の原因であったマトリックスや、ラミナの骨格である糸状藍細菌の細胞壁は消失し、嫌氣的で、ここには生きた藍細菌はいない)。下層部では、被膜外部の水環境に含まれる元素の蓄積ないしは濃縮が顕著である。微生物被膜の生長は新しい表層部を被膜の外側につくっていくことであり、被膜の中層部はかつての表層部、下層部はかつての中層部であるから、表層部で合成されたり取り込まれたものが分解活性の強い下層部に移行していき、ここで、分解性・可溶性の物質は除かれて、結果として、非分解性・不溶性の物質が蓄積・濃縮されることは容易に考えられることである。代謝活性の高い細胞の細胞壁や集合体の細胞間隙(マトリックス)で calcification や silication のおこる例は、微生物世界ではよく知られていることである。硫黄芝(sulfur-turf)とよぶ硫黄細菌被膜では、細菌集合体のマトリックスに硫黄結晶が蓄積する<sup>5)</sup>(『地球』199号)。私共は、被膜表層部が巨大な無機物質を容易に取り込み、被膜内部へ運ぶことを実験によって見いだした。S型の藍細菌被膜には内部を鉱物化・石質化できる条件のあることを示したい。

3) Round, F. E. (1981): "The Ecology of Algae" Cambridge University Press

4) Black, M. (1933): "The precipitation of calcium carbonate on the Great Bahama Bank." Geol. Mag. 70 455-466

5) 月刊『地球』193号(1995,7月号, "生命と地球の共進化"), 同 199号(1996,1月号, "生命がつくる地球") など

# 35

## 進化史から見た地球温度環境の変化

History of Surface Temperature of the Earth

Speculated from Fossil Records

大島 泰郎 (東京薬科大学・生命科学部)

Tairo Oshima (Tokyo Univ. of Pharmacy & Life Sci.)

### 生命の熱水起源説

図1は主に16S rRNAに基づいて描かれた生物の系統樹のうち、超好熱菌の属する枝を太い線で表した図である。図から分かるように、原始的な細菌は真正細菌、古細菌を問わずすべて超好熱菌である。

すなわち、超好熱性真正細菌の*Thermotoga*や好熱古細菌の*Pyrococcus*, *Sulfolobus*などが始原細胞に最も近い細菌類は、いずれも90℃またはそれ以上で生育出来る超好熱菌である。だとすると、始原細胞も超好熱菌であり、その細胞内の酵素は皆熱安定であったと推察出来る。

この推論は地球科学の考えとも一致する。今からおおよそ40億年前、地球上最初の生命が誕生しようとしている頃、地球大気は大量の二酸化炭素ガスを含み、その温室効果により地表や海は高温となっていたと思われる。その正確な温度は決められていないが、大気圧が高かったので海は100度を超えても沸騰しなかったはずである。最初の生命は超好熱菌であったと推論できる。

### 高温下生命科学

原始生命の細胞内のタンパク質は、超好熱菌のタンパク質のように熱耐性なものであったろう。タンパク質の研究の課題の一つに、タンパク質の高温存在限界は何度かという問題があるが、この研究はタンパク質とは何か、ひいては生命とは何かに直結した課題である。おそらくは、高温限界のタンパク質こそ本来のタンパク質なのであろう。今日の熱に弱いタンパク質は、40億年にわたる進化の歴史の中で変質し、劣化してきた傷だらけの高分子ではないのか？生化学者たち、分子生物学者たちは、まだ「本物のタンパク質」を研究したことはないのである。

化学進化実験は、従来、室温で行われていることが多いが、熱湯水中で行う必要があろう。高温下ではRNAなどは不安定であるので、RNAワールド説は再検討を迫られるのではないかと？生命の起源の研究には、好熱菌、特に高度好熱菌や超好熱菌の研究が重要である。



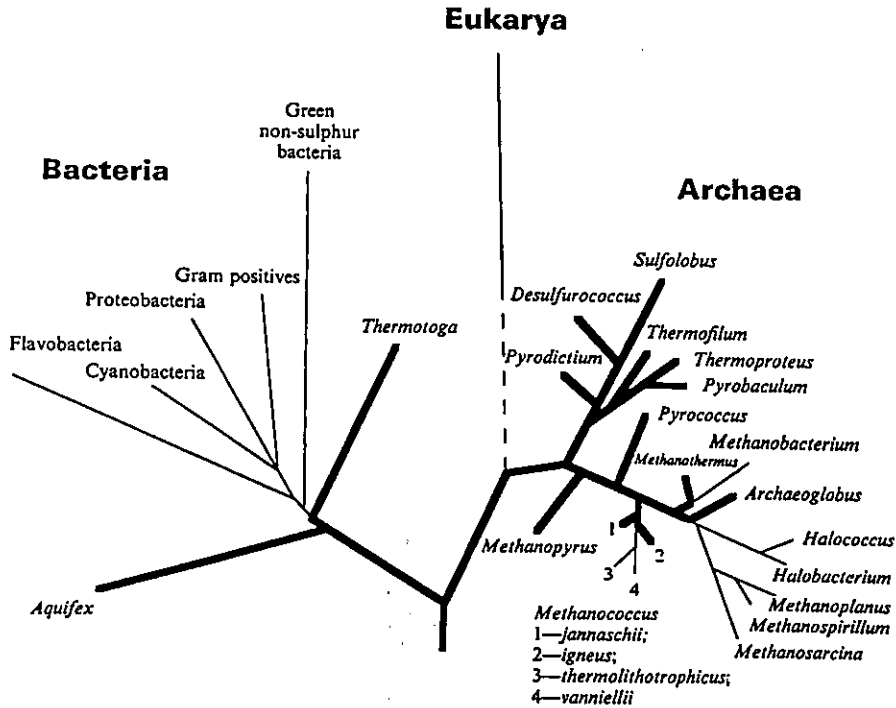


図1 分子系統樹の上に超好熱菌の位置を太線で示した。

### 原始地球環境

生命の起源を論じるに当たって、最初の生命が生まれたころ、海の温度が何度だったか、そのときの二酸化炭素の気圧がどれくらいであった等原始地球環境を知る必要がある。しかし、地球科学はまだ、この問いに答えられないでいる。そこで、生物学から考えてみることにした。すなわち、化石から読みとった歴史に照らあわせて、ある種の生物が出現したとき、そのグループの生物が一番高い温度で生きられる温度まで地球の表面温度が下がってきたと仮定し、地球表面温度の変遷を推理する。

おそらく、40億年ほど前に最初の生命が生まれた時、海の温度は100℃ほどであった。原始的な細菌の仲間が90℃とか105℃でも生存できることから、40億年ほど前に、生物の祖先が生まれたとき、地球表面は100℃まで下がってきたと考えられる。

34億年前のラン藻（＝シアノバクテリア）と思われる化石が発見されているので、また、温泉のなかに生息しているシアノバクテリアが知られているが、75℃以上で育つシアノバクテリアはいないので、34億年前には地球の表面温度は75℃まで下がってきたのであろう。

20億年前くらいに、下等な真核生物が出現する。真核生物のなかで一番高い生存温度が60℃である。すなわち、20億年前ほどに、地球の表面温度はやっと60℃ほどに下がってきた。

多細胞生物が出てくるのは、約7億年前。多細胞生物で45℃以上で生存できる生物はいない。地球は、いまから7億年前には45℃ほどまで下がってきたと考えられる。

Monophyletic African origin of  
Homo sapiens sapiens languages:  
New evidences based on comparing  
classifier-prefixed basic words

Koji Ohnishi and Takayuki Mizuno (Dept. of Biol., Fac. of Science,  
Niigata University, Ikarashi-2, Niigata 950-21, Japan)

新人 *Homo sapiens sapiens* の言語のアフリカ単一起源学説:  
類別接辞を前綴する基礎語彙の比較に基づく新たな証拠

○大西耕二・水野貴之(新潟大学理学部生物学教室;950-21 新潟市五十嵐2の町8050)

African languages excepting Khoisan are characteristic in that nouns are prefixed with a classifier. For example, Swahili nouns are classified into 12 classes, of which six are singular, and five are plural. Each of these 12 classes has its own specific classifier prefix; *m-tu* "person(singular)", *wa-tu* "person-s(plural)". Possible African origin of modern human languages (Ruhlen, 1994) was studied from an evolutionary aspect of Bantu and Niger-Congo-type prefixes of noun-classifiers. Basic words from Non-African languages were compared with those from Bantu/Niger-Congo language families.

Numerous extra-African basic words were found to be true cognates (reflects) of African classifier-prefixed words and/or non-prefixed words. For typical examples in Table 1, see #PERSON (or MAN) = [(Bantu) Congo] *mu-ntu* (pl. *a-ntu*) / [(Trans-New Guinea Phylum) Warenbori] *ma-ndo* / (Indo-European) [Danish] *ma-nd*, [Sanskrit] *mā-nuṣaḥ*, [Greek] *a-ndr-* / [Proto-Uralic] \**mā-ńce* (where underlines indicate classifier prefix), and further, #EAR, #ANIMAL, #NIGHT, #WOMAN, #WIFE, &c. On the other hand, Khoisan family shares many basic words not only with Bantu/Niger-Congo families, but also with extra-African language families. However, Khoisan family languages do not possess classifier prefixes of Bantu/Niger-Congo type, as typically exemplified by; #BONE = [(Khoisan) Kham] *!kwa* / [Proto-Bantu] \**li-kupa* / [(Trans-New Guinea Language Phylum) Meningo] *i-kofa* "bone", and #EYE = [(Khoisan) Tati] *čai* / [(Bantu) Swahili] *j-icw* (pl. *ma-cw*) / [(Niger-Congo) Gure] *nə-izi* (pl. *izi*) / [(Austronesian) Paiwan] *ma-ca* / [Written Mongolian]: *n-idü* "eye".

It is, therefore, clearly concluded that all extra-African languages of living humans have derived from Bantu/Niger-Congo/Afro-Asian type African language(s) whose nouns had classifier-prefixes, and that these languages had emerged from a more ancestral language without classifier, which belonged to Khoisan family. This conclusion well coincides with recently proposed evolutionary tree of living humans based on comparing mitochondrial DNA sequences, and strongly substantiates Ruhlen's monogenesis theory of human languages.

Table 1: Evolutionary co-ancestry of African and extra-African words.

ABREVIATIONS: AN = Austronesian, AusAs = Austro-Asiatic, DRAV = Dravidian, IE = Indo-European, MONGc = Mongolic, NHal = North Halmahera, NiCon = Niger-Congo, pl. = plural, STb = Sino-Tibetan, URA = Uralic, Wr. = Written.

Data are from; T. Kamei & al. (eds.): *Gengogaku Dai-Jiten*, Sanseido/H. H. Johnston: *A Comparative Study of Bantu & Semi-Bantu Studies*, Clarendon Press, 1922/D. T. Tyrone: *Comparative Austronesian Dictionary*, Mouton de Gruyter, 1995/Y. Wada: *Kokuritsu-Minzokugaku-Hakubutsukan Hookoku 7: 423-471*, 1982/M. Ruhlen, 1994/B. Yasumoto & M. Honda: *Nihongo no Tanjou, Taishukan-shoten/The American Heritage Dictionary of the English Language*, 1969/Ohnishi, '95, '96 and other references.

#ANIMAL//Bantu: [Swahili] *m-nyama* (pl. *wa-nyama*) "animal"/NiCon: [Guta] *bə-nama* (pl. *i-*), [Boki d.c. (Osokom)] *e-njam* "animal", [Guta] *i-nama* "meat"// Indo-European (IE): [Latin] *a-nimus* "animal", *a-nima* "life", [Proto-IE] \**anə-*

"to breathe" (prefixed form: anə-mo-) /// Non-prefixed; NiCon: [Tsam] nam  
 "meat"/Austronesian(AN): [Kwamera] nauŋa "meat"/Sino-Tibetan(STb): [Thai]  
 ny'a "meat"

#BONE//Bantu: [Uru-nyorɔ] i-gufa (pl. ama-), [Olu-Konjɔ] eri-kuha (pl. ama-)  
 [Lomwe] li-kuwa/[Proto-Bantu] \*li-kupa/NiCon(Kwa group): [Avatime] li-xwa,  
 [Akpafu] e-kui, [Lefana] u-kubi//East Bird's Head: [Meninggo] i-kofa///  
Non-prefixed form; Khoisan: [//Kham(S1)] !kwa, [//Khau-//'e(N1)] !kú: /  
 NiCon: (Voltanic) [Mossi] [Grushi] kobe(-re)/Niger-Saharan: (E.Sudanic)  
 [Nandi] kowet//North Halmahera (NHal): [Proto-NHal] \*kobo(ngo), [Galela]  
 kobo, [Loloda] kobongo/AN: [Maori] koiwi "bone"; [Rapanui] kava-kava "rib"/  
 STb: [Old Chinese] \*kwət/Austro-Asiatic (AusAs): [Mon] cùt

#EAR//Bantu: [Luba] kú-twi (pl. má-twi)/NiCon: [Gure] ku-to, [Guta] ù-tuto (pl.  
 tù-), [(Chai group)Kurama] ɔ-to (pl. a-to)//AusAs: [Mon] (k)a?-to "ear"  
 /[Japanese] o-to "sound"/IE: [Greek] o-tos "sound", ou-s (stem ɔ-t-) "ear"

#EYE//Bantu: [Swahili] j-icho (pl. ma-cho); [Swahili(= Ki-Hadimu)] j-icɔ  
 (pl. ma-cɔ), [Ki-mvita] j-itɔ (pl. ma-yɔ)//NiCon: [Guta] rī-zhī (pl. à-),  
 [Boki d.c.] e-tʃi (pl. a-), [Gure-Kahugu] (Gure) nə-izi (pl. izi)//[Tsam] -yis  
 (pl. à-yis), [Yoruba] o-jú/Afro-Asiatic: [Hausa] i-dō (pl. i-dānu)//Mayan:  
 [\*Maya] w-ich, y-ich, ich "eye"/AN: [Paiwan] ma-ca, [Malay] ma-ta/STb: [Tibe-  
 -tan] m-t'ou(-ba)/Mongolic(MONGc): [Written Mongolian (Wr.Mong)] n-idü///  
Non-prefixed; Khoisan: [//Khegwi(S3)] tsāī, tsāin "eyes", [Tati(C1)] čai  
 //STb: [Thai] ta "eye". ///

These further cognate with;

#to SEE//NHal: [Ternate] n-yodi/AN: [Atayal] m-ita, [Tagalog] k-īta-, [Mekeo]  
 e-ita/Trans-New Guinea: [Marind] idih/[Gilyak(Chirwund, Nuyvo)] idud/  
 Chukchee-Kamchatkan: [Koryak] g-ita, [West Kamchadal] q-tanz/Nahuan(Middle  
 America): [+Nahuatl] itta, ithuba "to see"/MONGc: [Wr.Mong] ūje- "to see"

#NIGHT//NiCon: [Osokom] bù-tʃjú (pl. bà-)//[Proto-NHal] \*pu-tu/AN: [Sarangani  
 Blaan] bu-taŋ, [Balinese] bə-təŋ/AusAs: [Mon] ha?-təm/Coahuiltecan (North  
 America): [Comecrudo] patotiau/[Proto-N.Caucasian] \*bASA "night"/Tungus:  
 [Manchu-Tungus] bu-tu "dark"///Non-prefixed; Uralic(URA): [Proto-URA] \*tuma/  
 IE: [Proto-IE] \*temə-.

#PERSON//Bantu: [Congo] mu-ntu(pl. a-ntu), [Swahili] m-tu//Trans-NewGuinea:  
 [Warenbori] ma-ndo "man"/URA: [Proto-URA] \*mā-níce "man" (Ruhlen, 1994, p.311)/  
 IE: [Proto-IE] \*ma-nu(s)-, \*ma-nw(s)- "man" (> [Sanskrit] mā-nuṣaḥ "human",  
 [Danish] ma-nd (< > [Congo] mu-ntu "person"); [Hittite] a-ntuḫša "man",  
 [Greek] a-nd-r- "man" (< \*a-nd-er- > [Greek] a-nēr-/[Proto-IE] \*ner- "man")  
 (< > [Congo] a-ntu "person-s")/AN: [Javanese] ma-ntu "Schwiegersohn"

#RIVER//Bantu: [Swahili] m-to//STb: [Tibetan] m-ts'o "lake"/[Japanese] mi-dzu ?  
 "water"///Non-prefixed; STb: [Tibetan] ts'o "lake"/[Ainu] to "lake/URA: [Hun-  
 garian] tó "lake"/[Gilyak] toł "river"/MONGc: [Wr.Mong] dalai ? "sea"

#TREE//Bantu: [Swahili] m-ti (pl. mi-ti)/NiCon: [Yombe] n-ti (pl. min-ti)  
 "tree"//South Caucasian: [Georgian] m-ta "mountain"/[Basque] men-di "moun-  
 tain"/MONGc: [Wr.Mong.] mo-du-n "tree"///Non-prefixed; [Ainu] tai "woods"

#WOMAN//NiCon: [Kuda] ma-dai "woman"//IE: [Hindi] mā-tā "mother"/Dravidian  
 (DRA): [Tamil] mā-thā/[Ainu] ma-t- "female"/AusAs: [Khmer] m-da:y "mother"/  
 Hokan(North America) [Marikopa] n-taj (< \*m-taj) "woman"/Chukchee-Kamchatkan  
 : [Koryak] ma-ta "to take for a wife"///Non-prefixed; DRAV: [Kannada] tāyi  
 "mother"/Coahuiltecan (North America): [Coahuilteco] tai "mother"

#WIFE,WOMAN//Bantu: [Seŋwe] mu-kate, [Cɔpi] nsi-kati "wife"///Non-prefixed;  
 DRAV: [Tamil] kāt-ali "wife"/NHal: [Proto-NHal] \*pede-kata "wife, woman" (>  
 [Galela] pedeka "wife", [Tobelo] hekata "wife", [Ternate] foheka, [Tidore]  
 (fo)fayā "wife, woman", which cognates with AN: [Ami] vavaheyan "woman" (<  
 \*va-vahey-an), [Paiwan] va-vay-an "woman")/[Middle Korean] kas "wife"/  
 Turkic: [Uighur] kuci "wife", [Turkish] kadın "woman"

REFERENCES: Ohnishi, K. (1995): Seibutsu-Kagaku (Biological Science) (Tokyo), 47  
 : 75-89.// Ohnishi, K. (1996): In: "The Evolution of Human Language", ed. by  
 J. R. Hurford et al. (in preparation) // Ruhlen, M. (1994): "On the Origin of  
 Languages", Stanford University Press, Stanford.



ISSOL '96 8th ISSOL Meeting (11th ICOL) に参加しましょう!!

表記の会議が今年7月7日から12日まで、France, Orleans で開催されます。これに参加される方のグループフライトを企画したいと思います。成田空港または関西空港からパリ往復で昨年実績で12万円 (SQ) から13万円 (KE) 程度です。予定では下記のように考えていますが、下記にお申し込み下さい。ご意見、ご希望をお聞かせ下さい。4月10日必着でお願いします。

--記--

- 1) 出発：7月5日または6日
- 2) 帰国：7月14日または15日 (希望によって延長ができる)
- 3) 航空機 SQ または KE
- 4) 申込み先  
〒560 豊中市待兼山町1-16  
大阪大学理学部生物学科 湯浅精二  
FAX: 06-850-5817  
e-mail: syuasa@bio.sci.osaka-u.ac.jp  
電話はご遠慮下さい。
- 5) 申込みの時必要なこと
  1. 氏名、年齢、性別
  2. 住所 (〒) 切符を送付しますので正確に書いてください。
  3. e-mail, FAX or TEL.
  4. 希望事項
    - イ. 復路の日程
    - ロ. SQ or KE
    - ハ. その他

第四回

# 「生命の起原」夏の学校

「生命の起原」夏の学校が始まって今年で4回目となります。昨年は原田馨先生に講師としてお話をいただき、参加者全員の今後の実験に大変役立ちました。今年も、例年の通りなんでも有りの会にしていきたいと思います。妙高高原の涼しい夏、飲んで騒いで、いったいみんな何を考えて研究をしているんだ？なーんて語り合ってみてはどうでしょう。

今年も、長岡技大が幹事を勤めます。下記のように開催致しますので、奮ってご参加ください。

本多 元

日時 1996年7月22日(月)から24日(水)

場所 KKR白樺荘

〒949-21 新潟県中頸城郡妙高高原町関川 2275

電話 0255-86-2113

内容 研究内容や、近況などの発表報告、親睦会を予定しております。

会費 ¥15000 (宿泊費、食事代を含む)

講師 交渉中

問い合わせ先

〒940-21

新潟県長岡市上富岡町

長岡技術科学大学 生物系 松野研究室

今井栄一・桜沢 繁

TEL 0258(46)6000 (内線)4567

FAX 0258(46)8163

E-mail imai@voscc.nagaokaut.ac.jp

ssakura@voscc.nagaokaut.ac.jp

5月中旬までにご連絡下されれば詳しい案内をお送り致します。

## ☆ 学会誌 Viva Origino 投稿規定

### I. 論文の種類

投稿は、以下の区分1~3のいずれかに分類する(Ⅲ-4参照)。

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

### II. 論文の体裁

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

### III. 論文の提出と受理

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

がいちじるしく遅れる場合には、再提出日を受理日とすることがある。

3. 採否は、事務局が依頼したレフェリーの審査を経て決定する。

4. 投稿区分はレフェリーの意見を参照の上、事務局が承諾を得て決定する。

### IV. 投稿の資格

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

### V. 校正

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

### VI. 掲載経費の負担

製版・トレース等、別途の費用が必要な場合の実費は、著者が負担する。

### VII. 別刷

著者は、校正に同封した申込用紙により別刷を有料で申込むことができる。

## ☆ 写真製版英文原稿作成の手引き

英文原稿は原寸大の写真製版(和文要旨を除く)とするので、以下の規定による。

1. タイプの文字は elite 12ピッチ、シングル・スペースとし、鮮明に印字する。
2. 厚手のタイプ用紙を用い、横14cm×縦21cmの枠内に収める。
3. 第1ページに表題、著者名、所属機関等を、この順序に記す。
  - ア) 表題は大文字とし、9行目から始める。
  - イ) 表題のあと、4行あけて著者名を記す。
  - ウ) 著者名のあと、1行あけて著者の所属と所在地(郵便番号付記)を英文で記す。
  - エ) 所在地のあと、4行あけて ABSTRACT を記す。
  - オ) 1行あけて KEY WORDS (10語以内)を記す。
4. 原寸大の図表は所定の位置に貼る。縮尺を要する図表は別紙に記し、本文には相当する空白を設け、空白中央に図表番号を鉛筆で指示する。
5. 見出しは、区切りの大きいものから順に下記7)~9)の通りとする。各見出しのゴチ指定、改行等については、既刊の実例にならう。
  - ア) ORIGIN OF LIFE . . . のごとく、全部大文字

とし、左端から記す。見出しの上を2行あけ、下を1行あける。

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

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

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

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

#### ☆ 写真製版和文原稿作成の手引き

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

1. 文字は24ドット以上の明朝体とする。

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

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

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

イ) 表題のあと、4行あけて、著者名を記す。

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

エ) 所在地のあと、4行あけて、本文を記す。

4. 見出しは、区切りの大きいものから順に下記ア)～ウ)の通りとする。

ア) 1, 2, 3, . . .

イ) 1-1, 1-2, . . ., 2-1, 2-2, . . .

ウ) a), b), c), . . .

各見出しのゴチ指定、改行等は既刊の実例にならう。

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

6. 和文原稿の場合には英文要旨をつける。

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

7. 英文要旨は英文原稿作成の手引きを参考にして記す。

8. 英文要旨は表題から KEY WORDS まで含めて1頁以内に納める。

#### ☆ 和文原稿作成の手引き

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

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

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

ア) 1, 2, 3, . . .

イ) 1-1, 1-2, . . ., 2-1, 2-1, . . .

ウ) a), b), c), . . .

4. 図、写真および表は別紙とし、原稿中にはそれぞれの挿入箇所を指定する。

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

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

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

# 生命の起原および進化学会

## <1994、1995年度役員>

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

### 〔運営委員会〕

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

会 計 監 査 石本 真、福田育二郎

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

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

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

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

編 集 委 員 居原 秀 大西 耕二 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  
藤井 紀子 本多 元 三田 肇 胸組 虎胤

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

Viva Origino 24巻1号

1996年3月1日 印 刷  
1996年3月13日 発 行

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





Ohnishi, K., Tanaka, H. and Yanagawa, H. : Comparative anatomy of group I introns and thereto related RNAs. ....	74
Kawasaki, H. : Diversity of microbial dehalogenase genes. ....	76
Inui, H., Yamaji, R., Miyatake, K. and Nakano, Y. : Molecular evolution of pyruvate dehydrogenase. ....	78
Watanabe, F., Abe, K., Miyatake, K. and Nakano, Y. : Evolution of vitamin B <sub>12</sub> metabolism. ....	80
Miyazaki, M. : Studies on the role, functional and molecular evolution of translation elongation factor 3 (EF-3) specific for fungi. ....	84
Ohyama, T. : Biological significance of curved DNA structure. ....	86
Sugimoto, K. : Centromere proteins and satellite DNA of Higher eukaryote chromosomes ; Conservativeness of centromere proteins and variety of satellite DNAs. ....	88
Kitano, H. , Sekito, T., Okamoto, K., Ishitomi, H. and Yoshida, K. : The origin and evolution of mitochondrion 1 . The evolution of yeast mitochondrial genomes. ....	92
Yoshida, K., Kamiji, K., Ishitomi, H. and Nishikawa, M. : The origin and evolution of mitochondrion 2. The missing machanisms of Genes from organelle ancestor during evolution. ....	94
Takada, J., Nishimura, K., Sumino, T. and Akaboshi, M. : Correlations between lanthanide concentrations in fern leaves. ....	96
Akaboshi, M., Takada, J., Tanaka, Y., Kawai, K. and Kawamoto, K. : Lethal effect of several rare earth elements on cultured Hela cells. ....	98
Nakamura, H. : Evolution of energy metabolisms in the cells. –Differentiation of the related organelles – ....	100
Shimizu, A. and Kato, K. : Possible process of lithification during the formation of stromatolites:A consideration based on examinations of cyanobacterial mats from hot springs. ....	102
Oshima, T. : History of surface temperature of the earth speculated from fossil records. ....	104
Ohnishi, K. and Mizuno, T. : Monophyletic african origin of <i>Homo sapiens sapiens</i> languages:new evidences based on comparing classifier-prefixed basic words. ....	106

## Infomation

1. 4th Summer School for young people .....	108
2. Joining plan for 8th ISSOL Meeting (1996) .....	109

Sakurazawa, S., Honda, H. and Matsuno, K. : Formation mechanism of shell structure from thermal heterocomplex molecules of amino acids. ....	30
Matuno, K., Imai, E. and Honda, H. : Evolutionary implications of thermal heterocomplex molecules from amino acids. ....	32
Shimizu, M. : Oligomer world I. specific aminoacylation. ....	34
Shimizu, M. : Oligomer world II. peptidyl transfer and RNA oligomerization. ....	36
Shimizu, M. : Oligomer world III. electron and group transfer. ....	38
Yokoo, H. : Cometary impacts on the primordial Earth and the synthesis of 20 species amino acids by thermal equilibrium processes at hot spots. ....	40
Ihara, H. : Aminoacyl tRNA synthetases of archaebacteria. ....	44
Nagata, Y., Fujiwara, T., Fukumori, Y. and Yamanaka, T. : Bound D-amino acids in archaea. ....	46
Koga, Y. : Phylogenetic relationship of archaea based on their lipid structures. ....	48
Miyata, T., Iwabe, N. and Kuma, K. : Phylogenetic position of archaebacteria. ....	50
Oshima, T. : Primitive earth conditions and archaebacteria. ....	52
Yomo, T. : Dynamics of the evolution in laboratory. ....	54
Yanagawa, H., Ishizaka, M., Sato, A. and Yoshida, K. : Reengineering the function of proteins by module shuffling. ....	56
Itaya, M. : Creation of novel microbes by substantial alteration of the genome structure. ....	58
Nemoto, N. and Hushimi, Y. : A virus-like molecule and its implication in the origin of life. ....	60
Ohnishi, K. : Origin and evolution of protein module, as viewed from the "poly-tRNA theory" . ....	62
Hirabayashi, J. : Roles of saccharides in the origin and evolution of life. ....	66
Fujii, N., Monose, Y. and Takehana, M. : The racemization of the Asp-151 residue in $\alpha$ -crystallin is induced by ultraviolet irradiation. ....	68
Shimada, A. and Kogure, H. : Barrier for D-tryptophan in tryptophanase activity. ....	70
Hasegawa, T., Nameki, N., Asahara, H. and Shimizu, M. : Evolution of tRNA identity. ....	72

The 21th annual meeting of the SSOEL-JAPAN  
 at  
 Osaka Prefecture University  
 Sakai, Osaka, JAPAN  
 March 18-20, 1996

Tsuji, T. and Kobayashi, K. : Identification and quantification of uracil in simulated primitive atmosphere experiments by a stable isotope labeling method. ....	2
Sato, T., Kaneko, T. and Kobayashi, K. : Formation of cyanides and aldehydes from simulated planetary atmospheres by proton irradiation and spark discharge. ....	4
Kasamatu, T., Kaneko, T., Kobayashi, K. and Saito, T. : Formation of organic compounds in cometary and interstellar dusts environments II .....	6
Saito, T. and Kobayashi, K. : Cosmic ray energy for chemical evolution in space. ....	8
Yokoyama, H. and Shimoyama, A. : Formation of non $\alpha$ -amino acid by UV irradiation of aqueous amine solution. ....	10
Mita, H. and Shimoyama, A. : Presence of isovaline and $\alpha$ -aminoisobutyric acid considered as extraterrestrial amino acids in recent sediments. ....	12
Takeda, M. and Shimoyama, A. : Dipeptide formations by heating experiments of amino acid solutions in the presence of metal ions. ....	14
Miyakawa, S., Tamura, H., Sawaoka, A. and Kobayashi, K. : Synthesis of organic compounds with high-temperature plasma MPD arcjet. ....	16
Sawai, H., Ito, T., Kokaji, K. and Shinozuka, K. : An approach to prebiotic synthesis of RNA containing $\alpha$ -glycosidic linkage. ....	18
Yamaguchi, T., Shimamoto, Y. and Amemiya, T. : Symmetry breaking phenomena in the Belousov-Zhabotinsky reaction. ....	20
Koga, M., Yamamoto, M., Haba, S., Abe, K. and Ozaki, S. : Synthesis and properties of artificial nucleic acids (DNA analogs) lacking the 5'-methylene. - - - Why the 5'-methylene of DNA was necessary ? - - - .....	22
Kawamura, K. and Ferris, J.P. : Kinetic and mechanistic investigations for oligonucleotide formation from 5'-phosphorimidazolide of nucleoside on $\text{Na}^+$ -montmorillonite. ....	24
Munegumi, T. and Shimoyama, A. : Resolution of homochiral peptides from heterochiral peptides. ....	26
Arikawa, Y., Imai, E., Honda, Hajime and Matsuno, K. : Thermal copolymerization of amino acids and hydrolysis of the products. ....	28