

Viva Origino

VOL.25 (No.1)

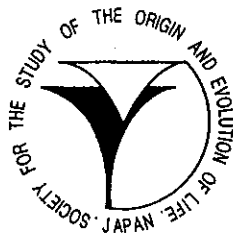
March 1997

第22回学術講演会

講演要旨集

および

特集「古細菌」について



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

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

第十九条 本学会会則の改正は、会員の3/5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事項を記入し、常任委員会へ提出のうえ会員資格の承認をうける。
2. 会員としての資格を承認されたものは、すみやかに所定の入会金、会費(1年分)、学会誌購読料(1年分)を事務局へ納入する。
3. 上記費用の納入されたものについて、常任委員会は入会手続きをとり、会員として登録する。
4. 本学会の入会は推薦によりおこない、委員会で承認する。

会費その他に関する付則

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

Viva Origino

VOL.25 (No.1)

March 1997

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

目 次

第22回学術講演会講演要旨集	(1)
特集「古細菌について」.....	(59)
論 文	
◎ 特集「古細菌」について	
石神正浩.....	(59)
◎ 生物界におけるD-アミノ酸の分布と古細菌	
長田洋子.....	(61)
◎ アスパルチルtRNA合成酵素の進化から見た 遺伝暗号系の成立過程と超生物界の分岐	
石神正浩、居原 秀、篠田洋幸.....	(73)
◎ 古細菌のエボリューション：好塩菌研究者の見方	
亀倉正博、モーリス ケイツ.....	(87)
◎ 脂質から見た古細菌の系統関係	
古賀洋介.....	(99)
◎ 原始地球環境と古細菌	
大島泰郎.....	(109)

プログラム

1997年3月16日(日) 12時50分

大会委員長挨拶

松野孝一郎(長岡技術科学大・生物系)

A 物質進化(1) (13:00~14:00)

司会: 下山 晃

1. 原始地球および火星上の有機物とその検出法
小林憲正, 梶嶋 茂, 金子竹男, 石川洋二*, 河崎行繁[†], 斉藤 威[†]
(横浜国立大・工, 大林組*, 三菱化学生命研[†], 東京大学宇宙線研[†]) 2
2. 陽子線照射による模擬惑星大気からの核酸塩基の前生物的合成
村澤賢一, 辻 融, 小林憲正(横浜国立大・工) 3
3. 彗星および星間塵環境下での有機物の生成Ⅲ. アミノ酸前駆体生成率の推定
笠松隆志, 金子竹男, 小林憲正, 斉藤 威*
(横浜国立大・工, 東京大学宇宙線研*) 4
4. 原始水圏中におけるDNAの紫外線による分解について
浅野義浩, 三田 肇, 下山 晃(筑波大・化学系) 5

B 物質進化(2) (14:00~15:00)

司会: 小林憲正

5. 77Kでの紫外線照射によるアミン-水系でのアミノ酸生成
横山裕文, 三田 肇, 下山 晃(筑波大・化学系) 6
6. 大古代堆積岩からのクロロフィル関連化合物の探索
善養寺一也, 下山 晃(筑波大・化学系) 7
7. 白亜紀-第三紀境界堆積岩中の炭化水素の解析
三田 肇, 下山 晃(筑波大・化学系) 8
8. アミノ酸水溶液の加熱によるジペプチドの生成とそのラセミ化について
竹田真子, 下山 晃(筑波大・化学系) 9

coffee break 15:00~15:15

C 物質進化(3) (15:15~16:15)

司会: 清水幹夫

9. 放電合成法における新しいアミノ酸生成機構の提案
宮川 伸, 田村英樹, 小林憲正*, 澤岡 昭
(東京工業大・応用セラミックス研, 横浜国立大・工*) 10
10. モンモリロナイト上におけるアデノシン, ウリジン, およびイノシン-5'-リン酸
イミダゾリドの重合反応の速度論的研究
川村邦男, J. P. フェリス* (大阪府立大・工, レンセラ-工科大*) 11
11. アロフェンによるアミノ酸の光学異性体分離の可能性
橋爪秀夫, Benny K. G. Theng* (無機材質研, Landcare Research*) 12
12. 粘土コアセルベート, 生命鉱物起源説の一考察
中沢弘基(無機材質研) 13

D 物質進化(4) (16:15~17:15)

司会：藤井紀子

13. ホモキラルなジペプチドとヘテロキラルなジペプチドの疎水性の差とホモキラリティーの濃縮
胸組虎胤, 下山 晃* (小山工専・物質工学, 筑波大・化学系*) 14
14. チオールエステル誘導体からのポリペプチドの前生物的生成の可能性について
胸組虎胤 (小山工専・物質工学) 15
15. アミノ酸熱重合物の析出とそのpH依存性
土澤健一, 石森綱行, 櫻沢 繁, 今井栄一, 本多 元, 松野孝一郎
(長岡技術科学大・生物系) 16
16. 金属イオン存在下でのアミノ酸熱重合物のふるまい
若村和彦, 今井栄一, 本多 元, 松野孝一郎 (長岡技術科学大・生物系) 17

E 物質進化(5) (17:15~18:00)

司会：胸組虎胤

17. 2'-5'結合及び3'-5'結合RNAの2重鎖及び3重鎖形成能. RNAにおける結合異性体の自然選択の1要因
澤井宏明, 関 淳一, 尾崎広明 (群馬大学・工) 18
18. Monomer World...Origin of Metabolism
清水幹夫 (宇宙科学研) 19
19. Dimer World...Origin of Bioinformation
清水幹夫 (宇宙科学研) 20

運営委員会 18:00~

3月17日(月)

シンポジウム(A)「進化過程の表現」

(9:00~11:00) (各発表20分+討論10分)

オルガナイザー：松野孝一郎

- SA1. 遺伝子解析への情報理論的アプローチ
大矢雅則 (東京理科大・情報科学) 22
- SA2. 再構成系で作る進化物語
四方哲也 (大阪大・工) 23
- SA3. 進化分子工学における進化の表現法
伏見 譲 (埼玉大・工) 24
- SA4. 進化の観測志向型モデル：無限と有限の相互作用
郡司ベギオ幸夫 (神戸大・理) 25

総会 11:15~

昼食 ~13:15

F 分子進化(1) (13:15~14:15)

司会：伏見 譲

20. 糖認識の多様性と生命の歴史
平林 淳(帝京大・薬) 28
21. 水晶体タンパク質中の反転、異性化反応とその機構
藤井紀子, 百瀬祐子, 石井則行*, 松村壽公*
(科学技術振興事業団「さきがけ研究21」, 工業技術院生命研*) 29
22. ロイシル化活性を持つtRNAの試験管内選別
長谷川典巳・朝原治一*(山形大学・理, 宇宙科学研*) 30
23. D-トリプトファンに活性なトリプトファンナーゼの活性部位の検討
島田秋彦・中村以正*(筑波大・応用生物化学系, 相模女子大・食物*) 31

G 起原と進化の物理(1) (14:15~15:00)

司会：野田春彦

24. アミノ酸熱重合物の長時間緩和と非平衡下での局所パターン形成
櫻沢 繁, 本多 元, 松野孝一郎(長岡技術科学大・生物系) 32
25. 蛋白質-アミノ酸関係に力学系構造はあるか?
海野和三郎(近畿大・生物理工) 33
26. 大進化の駆動力について
山元皓二(長岡技術科学大・生物系) 34

coffee break 15:00~15:15

H 起原と進化の物理(2) (15:15~16:00)

司会：長谷川政美

27. 進化分子工学におけるウイルス型対応付け分子の構築
根本直人(三菱化成・生命科学研) 35
28. エントロピー進化率によるHIV変化過程の解析
佐藤圭子, 大矢雅則, 宮崎 智(東京理科大・情報科学) 36
29. HIVの符号構造の情報論的解析
橘 秀樹, 大矢雅則(東京理科大・情報科学科) 37

I 生物進化(1) (16:00~17:00)

司会：石田政弘

30. Genetic Basis of Evolution
中村 運(甲南大・理) 38
31. 真核生物の起原と初期進化
長谷川政美(統計数理研) 39
32. サーマプラズマと真核細胞
山岸明彦, 大島泰郎(東京薬科大・生命科学) 40
33. ミトコンドリアに存在するD-アミノ酸
長田洋子, 堺 正樹, 飯田晃仁, 長田久美子*
(姫路工業大・理, 兵庫医大・細菌*) 41

編集委員会 17:15~18:15

懇親会 18:30~21:00

3月18日(火)

シンポジウム(B)「進化フローリアクター」
(9:00~11:30) (各発表20分+討論10分)

オルガナイザー:柳川弘志, 松野孝一郎

Sb1	海底熱水噴出孔環境下における有機物の生成 小林憲正(横浜国立大・工)	44
Sb2	高温水溶液中における核酸の分解および生成反応の速度論的研究 川村邦男, 吉田晶子, 松本 修, 梅原雅俊(大阪府立大・工)	45
Sb3	自己複製分子と光学活性 湯浅精二(大阪大・理院)	46
Sb4	原始地球の高温熱水環境と進化フローリアクター 柳川弘志(三菱化学・生命研)	47
Sb5	進化フローリアクターの設計指針 松野孝一郎(長岡技術科学大・生物系)	48

昼食 11:30~13:00

J 生物進化(2) (13:00~13:45)

司会:赤星光彦

34.	高度好塩性古細菌 <i>Haloferax volcanii</i> のアスパルチル tRNA 合成酵素 篠田洋幸, 山地亮一, 中野長久(大阪府立大学・農学部) 居原 秀*, 石神正浩*(大阪府立大学・総合科学部*)	50
35.	高度好塩性古細菌 <i>Haloferax volcanii</i> のグリシル tRNA 合成酵素 宅間弘樹, 篠田洋幸*, 居原 秀, 石神正浩 (大阪府立大・総合科学, 大阪府立大・農*)	51
36.	高度好塩性古細菌 <i>Haloferax volcanii</i> のアラニル tRNA 合成酵素 上垣内文規, 篠田洋幸*, 居原 秀, 石神正浩 (大阪府立大・総合科学, 大阪府立大・農*)	52

K 生物進化(3) (13:45~14:30)

司会:佐藤七郎

37.	高度好熱性古細菌 <i>Pyrococcus friosus</i> のアスパルティル tRNA 合成酵素 中村 実, 篠田洋幸*, 居原 秀, 石神正浩 (大阪府立大・総合科学, 大阪府立大・農*)	53
38.	シダ植物への希土類元素の集積性について—Tbに見られる特異性— 高田実弥, 川本圭造, 隅野照家, 河合建一, 赤星光彦(京都大・原子炉)	54
39.	ICP-MSによる藻類中希土類元素の分析 川本圭造, 高田実弥, 隅野照家, 河合建一, 赤星光彦(京都大・原子炉)	55

L 生物進化(4) (14:30~15:15)

司会:石神正浩

40.	Tb イオンとDNAとの特異的な相互作用について—培養細胞系での検証— 赤星光彦, 高田実弥, 隅野照家, 川本圭造, 河合建一(京都大・原子炉)	56
41.	大腸菌と細胞性粘菌を用いた共生系の構築を目指して 等々力政彦, 四方哲也, 卜部 格(大阪大学・工)	57
42.	細胞への放射線の外部照射と内部照射—カンブリア爆発と火星生命細胞の大きさ— 横尾広光(杏林大・保健)	58

第22回学術講演会

期 日 1997年3月16日(日), 17日(月), 18日(火)

会 場 長岡グランドホテル

〒940 長岡市東坂之上町1-2-1

大会参加費 参加登録費 一般会員：4,000円(非会員：5,000円
講演要旨代含む)
学生会員：2,000円(非会員：3,000円
講演要旨代含む)

懇親会参加費 一般：6,000円(学生：4,000円)

第22回大会委員長 松野孝一郎(長岡技術科学大学・生物系)
〒940-21 長岡市上富岡町1603-1
TEL : 0258-46-6000(内線4518)
FAX : 0258-46-8163
E-mail : kmatsuno@voscc.nagaokaut.ac.jp

一般講演

物質進化 (1-19)

1

原始地球および火星上の有機物とその検出法

Organic Compounds on Primitive Earth and Mars and Detection Methods for Them

小林憲正¹・梶嶋茂¹・金子竹男¹・石川洋二²・河崎行繁³・斉藤威⁴

(横浜国立大学工学部¹・大林組²・三菱化学生命研³・東京大学宇宙線研⁴)

Kensei Kobayashi¹, Shigeru Kajishima¹, Takeo Kaneko¹,

Yoji Ishikawa², Yukishige Kawasaki³ and Takeshi Saito⁴

(Department of Physical Chemistry, Yokohama National University¹; Obayashi Corporation²;

Mitsubishi-Kasei Institute of Life Sciences³; ICRR, University of Tokyo⁴)

1996年、McKayらは、火星隕石ALH 84001の分析結果より、約36億年前の火星上に微生物が存在したとの報告を行ったが、その評価・確認のためには、新たな火星の生命および有機物探査が必要である。火星の有機物探査を行うためには、そのターゲットとなる有機物の種類および探査地点が極めて重要になる。火星上には1-4のような有機物の存在が考えられる。

1. 原始大気中で生成した有機物： 原始地球・火星大気は微惑星の衝突脱ガスにより生じたものとする。二酸化炭素・一酸化炭素・窒素・水蒸気の混合気体と考えられる。このような混合気体に加速器からの粒子線を照射すると「アミノ酸前駆体」が生成した。このアミノ酸前駆体は、分子量数百程度で、加水分解によりアミノニトリルを経て、アミノ酸に変化する。この結果は、原始火星においてある程度の一酸化炭素・窒素があったならば、宇宙線などの作用によりアミノ酸前駆体が生成しうることを示唆する。

2. 惑星圏外有機物： 一酸化炭素・アンモニア・水の混合物に10 Kでの陽子線を照射すると、生成物の加水分解物中にグリシンなどが検出され、星間塵環境下で宇宙線の作用により「アミノ酸前駆体」が生成することが示唆された。このようなアミノ酸前駆体は、彗星もしくは彗星から生じた惑星間塵により原始惑星に供給されたと考えられる。

3. 「火星生物」由来の有機物： 火星大気中で生成した有機物や、彗星などの火星圏外起源の有機物が原始火星海洋に溶け込んで「原始スープ」を作った可能性は極めて高い。この原始スープから生命が誕生したかどうかはまだ確証はないが、可能性は十分にある。もし火星上で生命が誕生した場合、火星生物由来の有機物が探査のターゲットとなる。

4. 現火星大気中での有機物の生成： 現在の火星大気は二酸化炭素を主とする希薄なものであるが、一酸化炭素・窒素・水蒸気を微量ながら含むため、宇宙線の作用によるシアン化物・アルデヒドやアミノ酸前駆体の生成は可能である。これらのアミノ酸前駆体・シアン化物・アルデヒドなどの有機物は極冠の氷中に蓄積・濃縮されていると考えられる。

1-3の有機物が地球の地下や隕石環境中と同様な変成を受けた場合、多環芳香族炭化水素(PAH)のような分子しか検出されない可能性がある。これまで火星試料に用いられたPY-GC/MS法やL²MS法はPAH等の分析には有用である。しかし、三十数億年前に火星の地表から水が消失した後も、水の一部は地下凍土として遺っていると考えられ、その中に有機物が低温保存されているとすると、PAHよりも生体分子の骨格を保持した有機物の存在が期待できる。その場合、有機物を水で抽出後、ソフトなイオン化法による質量分析法で分析する方法、あるいは酸加水分解してアミノ酸分析する方法などが候補となる。模擬試料による各手法の評価と、生体分子の低温環境下での安定性の研究が必要である。

2

陽子線照射による模擬惑星大気からの核酸塩基の前生物的合成

Abiotic Synthesis of Nucleic Acid Bases

from Simulated Planetary Atmospheres by Proton Irradiation

村澤賢一, 辻 融, 小林憲正 (横浜国立大学工学部)

Ken-ichi Murasawa, Toru Tsuji, Kensei Kobayashi

(Faculty of Engineering, Yokohama National University)

1950年代以降、原始地球環境を模した実験により生体有機物を合成する試みが数多くなされてきた。模擬原始大気からのアミノ酸の生成は多数報告されているが、核酸構成分子の合成例の報告は極めて少ない。われわれは先に、弱還元型模擬原始地球大気として一酸化炭素・窒素・水の混合気体を用い、これに宇宙線成分である陽子線を照射することによりウラシルが生成することを報告した [1]。しかし、同じ生成物中にウラシル以外の4種の核酸塩基は検出されなかった。そこで、ウラシル以外の塩基の前生物的生成条件を調べるため、種々の模擬惑星大気への陽子線照射を行い、その生成物中の核酸塩基をHPLC法およびGC/MS法により分析した。

実験 模擬惑星大気としてはCO, N₂, H₂O (原始地球大気型) およびCO, NH₃ (彗星型)の混合気体を用い、これに東京工業大学のVan de Graaff 加速器からの高エネルギー陽子線 (3 MeV) を照射した。照射生成物はまず、陽イオン交換HPLC法により各塩基の溶出位置の画分を分取した。次に各画分を逆相HPLC法により再度分取し、さらに溶離液を1%メタノール水として逆相HPLC法で脱塩した。この試料を、BSTFAでTMS化し、GC/MS (Finnigan GCQ; カラム: J&W DB-5, 30 m) により同定を行った。

結果と考察 CO, NH₃ の1 : 1混合気体の陽子線照射生成物の逆相クロマトグラムに、シトシンの溶離時間に相当する位置にピークが認められた。これをさらに分離、脱塩し、誘導体化後、GC/MS で分析した。Fig. 1にその質量スペクトルを示す。シトシンの標準試料の誘導体と同様な、*m/z* 254, 255 ((M-11)⁺, M⁺に相当) などのピークが得られ、シトシンの無生物的生成が確認された。しかし、CO, N₂, H₂O混合気体への陽子線照射生成物中に認められたウラシルは検出されなかった。また、CO, NH₃ 混合気体に液体の水を加え、陽子線照射を行った場合、シトシンは検出されなかった。これは水を加えたために気相中のアンモニアのモル分率が低下したためと考えられる。

アミノ酸の場合、炭素源や窒素源を様々に変化させても、グリシン・アラニンなどが常に多く生成する。これに対し、核酸塩基の生成は出発材料によって大きく左右されることが示された。また、シトシンの生成には気相中のアンモニアが重要であることがわかった。このことは原始地球型惑星上でのシトシンの生成が非常に難しいこと、つまり地球外起源有機物の寄与の可能性を示唆するものである。

[1] Tsuji and Kobayashi, *Origins Life Evol. Biosphere*, 26, 347 (1996).

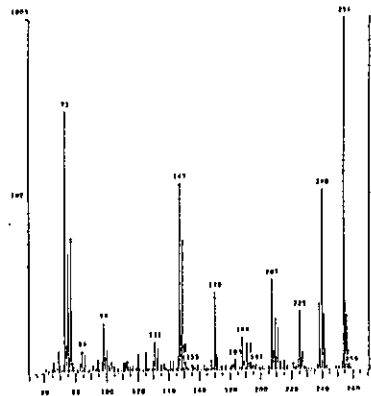


Fig.1. Mass Spectrum of Cytosine Formed from CO and NH₃ (TMS derivative)

3

彗星および星間塵環境下での有機物の生成 III.

アミノ酸前駆体生成率の推定

Formation of Organic Compounds in Cometary and Interstellar Dust Environments III.

Estimation of the Formation Rate of Amino Acid Precursors

笠松隆志¹, 金子竹男¹, 小林憲正¹, 斉藤 威²

(横浜国立大学工学部¹, 東京大学宇宙線研²)

Takashi Kasamatsu¹, Takeo Kaneko¹, Kensei Kobayashi¹, Takeshi Saito²

(Faculty of Engineering, Yokohama National University¹, ICRR, University of Tokyo²)

彗星によって地球に供給された有機物は生命の起源に重要な役割を果たした可能性が提唱されている。このため、彗星、あるいはその前駆体である星間塵を模した有機物生成実験も行われてきた。しかし、これまで生体有機物の生成に関する定量的な議論はなされなかった。本研究では、彗星中の有機物を形成する場と考えられる星間塵環境において、生体関連有機物として重要なアミノ酸の生成を定量的に検討することを試みた。

実験 (i) $\text{CO} \cdot \text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ の混合物に10 K(固相)/297K,335K(気相)でVan de Graaff加速器(東工大)からの2.8 MeV陽子線を照射した。(ii) CH_3OH と25% NH_3 水を5:7.1の割合で混ぜたものに77K(固相)/293K(液相)/353K(気相)でSFサイクロトロン(東大)からの35 MeV陽子線又は線形加速器(東大)からの15 MeVの電子線を照射した。(iii) 同様な混合物に ^{60}Co 線源(東大)からの γ 線を室温(液相)または353K(気相)で照射した。生成物は酸加水分解後、イオン交換HPLC法(島津LC-6A)によりアミノ酸分析を行った。

結果と考察 いずれの照射生成物の酸加水分解物中にもグリシンなどのアミノ酸が検出された。ただし、 $\text{CO} \cdot \text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ の固相混合物に陽子線を照射した場合のグリシンのG値は極めて低く、定量的議論に向かないため、以下のようにして、星間塵環境でのアミノ酸の生成について定量的に検討することにした。

(i) CH_3OH を炭素源とした時の陽子線照射によるグリシンのG値は、気体では 10^{-2} 程度、液体と固体では 10^{-4} 程度となり、固体でのG値は気体でのG値の約1/40であった。

(ii) 電子線照射の場合も陽子線照射とほぼ同様な結果であった。

(iii) ガンマ線照射の場合、気体・液体におけるG値はともに 10^{-4} オーダーとなった。

(iv) 実際の星間塵を模した $\text{CO} \cdot \text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ の10:1:100混合気体に陽子線を照射した場合、グリシンのG値は 2.3×10^{-4} であった。

(i)-(iii)の結果は、生成物が拡散しやすい気体試料の場合、あとの電子線・陽子線ビームによる破壊を免れるが、 γ 線の場合は試料全体に照射されるため、気体の場合でも破壊の効果が加わるためと考えられる。固体における陽子線照射によるグリシンのG値を気体の1/40とすると、星間塵環境におけるグリシンのG値は 6×10^{-6} となる。分子雲中の星間塵(径0.1 μm)が、 10^7 年間宇宙線に曝露され、これがそのまま集まって彗星になったとする[1]と、彗星中に20 nmol/cm³のグリシン前駆体が存在することになる[2]。今後、種々のモデルにより彗星もしくは彗星起源の惑星間塵により原始地球に供給される有機物量と、原始地球大気から生じる有機物量との比較を行っていく予定である。

文献 [1] Kobayashi et al., *Adv. Space Res.*, 16, 21 (1995).

[2] 笠松ほか, *地球化学*, 投稿中.

4

原始水圏中における DNA の紫外線による分解について

Decomposition of DNA by UV irradiation under simulated

primitive earth hydrosphere

浅野義浩・三田 肇・下山 晃 (筑波大・化学系)

Yoshihiro Asano, Hajime Mita and Akira Shimiyama (Depart. of Chem., Univ. of Tsukuba)

【序論】DNAは生命体に不可欠な生体高分子であり、化学進化の仮説ではDNAは生命発生の直前や初期には原始水圏中に存在したと考えられる。原始大気では遊離酸素分子不在のため紫外線は地表まで到達したと考えられ、それは化学進化のエネルギー源として利用されると同時に生体高分子を分解する方向にも作用したであろう。よってDNAの紫外線に対する安定性は、生命の起源を考える上で重要なポイントとなる。このため本研究ではDNAの水溶液に紫外線を照射し、分子量変化・分解生成物及びその安定性について化学進化的考察を行った。

【実験】大腸菌 (JA221) をLB培地にて培養し、それを集菌しアルカリ溶菌法によりプラスミドpBR322 (4362 bps, 2.84×10^6 Da) を単離・精製した。そのDNA水溶液 ($100 \mu\text{g ml}^{-1}$) に紫外線照射を行った。紫外線源は低圧水銀灯: 185 nm, 254 nm (光量: 1.04 mW cm^{-2}) を用いた。照射試料は、サイズ排除液体クロマトグラフィーを用いて分子量分布の測定を、逆相液体クロマトグラフィーを用いて分解生成物の同定・定量を行った。

【結果と考察】紫外線によりDNAは分解し、その減少率の近似式から、出発物質であるpBR322の半減期が照射光量にして 3.8 J cm^{-2} と計算された。また生成したDNAフラグメントの数平均分子量は、照射光量 7.5 J cm^{-2} でほぼ $1/20$ まで指数関数的に減少した (Fig.1)。分解生成物として核酸塩基五種類 (シトシン、アデニン、チミン、ウラシル、ヒポキサンチン) とヌクレオシド三種類 (デオキシシチジン、デオキシアデノシン、チミジン) が検出された。DNAに含まれないウラシル・ヒポキサンチンが検出されたのはそれぞれシトシン・アデニンが加水分解されたことによると思われる。検出された核酸塩基類四種の経時変化をFig. 2に示す。照射光量 3.7 J cm^{-2} で遊離塩基の収率は $21.8\text{--}25.9\%$ のピークを示した後、自身も分解され減少したと思われる。収率ピーク時までの光量は原始地球上での太陽からの紫外線放射の13.7時間に相当する。

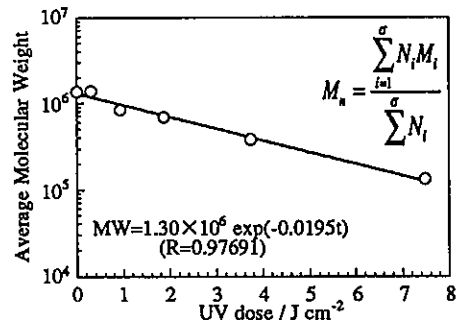


Fig.1 Number-average molecular weight of DNA fragments produced by UV irradiation.

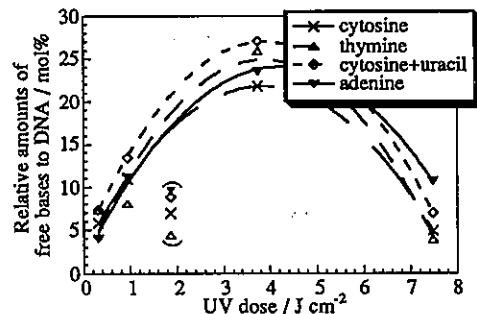


Fig.2 Relative amounts of free nucleic acid bases produced by UV irradiation.

5

77Kでの紫外線照射によるアミン-水系でのアミノ酸生成

Formation of amino acids from amine-water system by UV irradiation at 77K.

横山裕文・三田 肇・下山 晃 (筑波大学化学系)

Hirofumi Yokoyama, Hajime Mita, and Akira Shimoyama

(Department of Chemistry, University of Tsukuba)

【序論】アミノ酸は太陽系の始原物質である炭素質隕石中にも存在しており、同様に彗星などその他の地球外物質にも存在が推定されている。本研究では出発物質としてアミンを選び、アミノ酸の非生物的生成について考察しているが、前回は185nm, 254nmでのアミノ酸の生成について報告した。今回は293Kの室温と77Kの低温でメチルアミン-水系に172nmの紫外線を照射し、生成するアミノ酸について考察した。

【実験】293Kに保った $1\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ メチルアミン水溶液にXe*エキシマランプ（波長：172nm, 光量： $5\times 10^{-4}\text{J}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ）の紫外線を照射した。採取した溶液の一部は誘導化し、GC-MSで同定・定量を行った。特にアミノ酸の濃度変化はアミノ酸分析計を用いて定量した。低温での実験は $1\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ メチルアミン水溶液をHeガスで置換しながら液体窒素で冷却してメチルアミン-水混合物の氷を作り紫外線を照射した。照射後氷は室温で解かし、室温での実験と同様に分析した。

【結果】293Kでの実験では、照射試料よりグリシン、 β -アラニン、N-メチルグリシンの3種類を検出した。グリシンとN-メチルグリシンは30時間照射で炭素原子に換算して約0.1%生成し、最大収率を示した。また、 β -アラニンはN-メチルグリシンの約1/50であった。一方、77Kでの4時間の紫外線照射でも常温の実験と同様にグリシン、 β -アラニン、N-メチルグリシンの3種類を検出した(Fig. 1)。

本実験の紫外線照射は、原始地球上の数日、星間で数百年の紫外線照射に相当する。この結果は隕石に存在するnon- α -体アミノ酸の起源や、彗星にアミノ酸が存在する可能性について知見を与える。

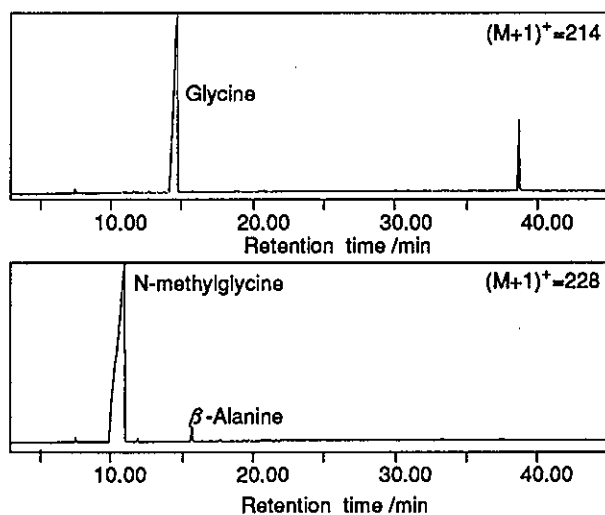


Fig. 1 Mass chromatograms of amino acids produced from methylamine-water ice mixture by UV irradiation at 77K.

6

大古代堆積岩からのクロロフィル関連化合物の探索
 Search for chlorophyll related compounds
 in Precambrian sedimentary rocks

善養寺一也・下山 晃 (筑波大学・化学系)

ZENYOUJI, Kazuya and SHIMOYAMA, Akira

(Department of Chemistry, University of Tsukuba)

【序論】 クロロフィルは堆積後の初期にポルフィリンへと変化することが知られている。ポルフィリン化合物はニッケルやヴァナジウム等の金属と結合して非常に安定に存在する。そのため大古代の堆積岩中にも存在している可能性がある。そこで本研究では堆積岩中のポルフィリン化合物及びその関連化合物について調べた。

【実験】 試料として新庄 (800万年前)、Thule (6億年前)、Great Slave (19億年前)、Isua (38億年前) の堆積岩を用いた。新庄堆積岩はベンゼン-メタノールで抽出し、シリカゲルカラムで分離後、HPLCで分析した。他の試料は岩石を1cm大に砕き、0.1M HCl、ベンゼン-メタノールの洗浄を行った。この過程を岩石が粉末となるまで行い、更に有機物が完全にHPLCで検出できなくなるまでベンゼン-メタノールで抽出した。ここに6M HClを加えて無機塩を溶解させた。酸溶液と残渣はそれぞれベンゼン、ベンゼン-メタノールで抽出した。抽出物はHPLCとGC-MS (Great SlaveとIsuaのみ) で分析した。

【結果と考察】 新庄堆積岩から全ての深度でニッケルポルフィリンとヴァナジルポルフィリンを検出した。その深度分布は石油生成帯付近で急激に変化していた。また先カンブリア時代堆積岩の6M HCl 処理残渣の有機溶媒抽出物から表面の汚染ではない有機物のピークがHPLCで検出された。またThuleとGreat Slave 試料には可視部に吸収を持つピークが存在した。しかしポルフィリン化合物はどの試料からも検出できなかった(Fig. 1)。ThuleとGreat Slave 試料からは光合成を行ったシアノバクテリアが形成するストロマトライト状の構造が認められている。そのためポルフィリン化合物が検出できなかったのは堆積物中で不溶物となっているか、ポルフィリン化合物が他の化合物へと変化した可能性がある。

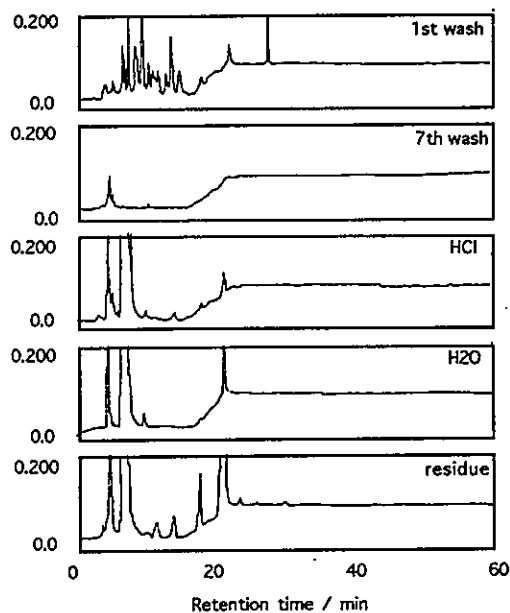


Fig. 1. HPLC chromatograms of soluble organic compounds in Isua 206-5.

7

白亜紀-第三紀境界堆積岩中の炭化水素の解析
 Analysis of hydrocarbons in the Cretaceous/Tertiary
 boundary sedimentary rocks at Kwaruppu, Hokkaido, Japan.

三田 肇・下山 晃 (筑波大学・化学系)

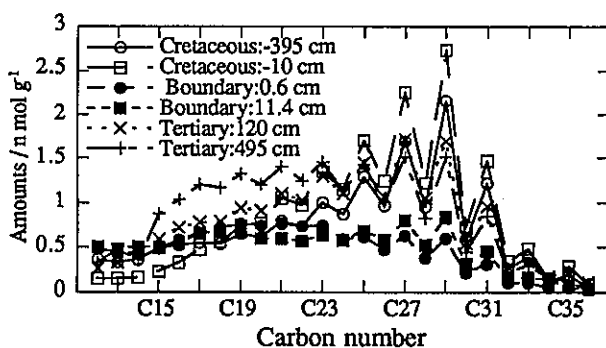
Mita, Hajime and Shimoyama, Akira

(Department of Chemistry, University of Tsukuba)

【目的】 これまでに、我々は地球外有機物を検索するとの観点から北海道川流布の白亜紀-第三紀 (K/T) 境界堆積岩中のアミノ酸、ジカルボン酸について分析を行い考察を進めてきた。ここでは、この時代の環境変動に考察することを主たる目的としてK/T境界の炭化水素の分析を行い、そららの特徴と欧米地域での結果と比較検討した。

【実験】 K/T境界粘土岩層 14 cm を含むその上下 5 m から得られた堆積岩試料を分析に用いた。粉末試料からベンゼン-メタノール(4:1)溶液で超音波抽出し、シリカゲルカラムにより脂肪族、芳香族炭化水素画分に分離し、ガスクロマトグラフ-質量分析計を用いて同定定量した。

【結果と考察】 C_{12} から C_{36} までの直鎖脂肪族炭化水素を同定定量した。その合計は、K/T境界層中で $2-11 \text{ n mol g}^{-1}$ と、その上下の地層の $>15 \text{ n mol g}^{-1}$ に比べ少なかった。図では、直鎖脂肪酸の炭素数毎の検出量を、境界層とその上下層と比較した。これから、境界層において陸棲起源とされる C_{30} 前後の炭化水素含量が減少していることが示された。一方、いくつかのアルキル置換体を含めナフタレンからコロネンまでの26種の芳香族炭化水素を同定定量した。その合計量は 60 n mol g^{-1} 程度と、脂肪族炭化水素に比べ多く存在した。また、合計量やメチルナフタレン、ジメチルナフタレン、フェナントレン/アントラセンなどの異性体存在比などに、境界層とその上下層との明確な変化は見られなかった。



粘土鉱物の解析よりこの時代の浸食活動などは活発であったことが示唆されており、K/T境界において陸上からの物質移動量そのものが減少したのではなく、脂肪族炭化水素の形での移動が減少したあるいは脂肪族炭化水素の供給源が減少したと考えられる。一方、芳香族炭化水素分析では、Stevens Klint など欧州地域のK/T境界で観察された大規模森林火災を示唆する結果(Venkatesan *et al.* 1989)は得られなかった。この時代の環境変動が全地球規模で均一なものではなかったと考えられる。

アミノ酸水溶液の加熱による ジペプチドの生成とそのラセミ化について

Formation and racemization of dipeptides from amino acid solutions.

竹田 真子・下山 晃 (筑波大学化学系)

Masako Takeda and Akira Shimoyama

(Department of Chemistry, University of Tsukuba)

【序論】 原始地球上の化学進化におけるアミノ酸からのペプチド生成過程の中でも、アミノ酸の選択と光学活性の起源および発展は興味深い問題である。そこで本研究では、金属イオンを含むタンパク性と非タンパク性アミノ酸水溶液の加熱を行い、ジペプチド生成について考察した。今回はこのジペプチド生成では錯形成に有利で、 α -炭素に水素を持つアミノ酸が選択されることを報告した。今回は生成物のジアステレオマー比についても調べたので、こちらを中心に報告する。

【実験】 L-体とD-体を等量含む8種類の $0.4\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ アミノ酸について、 $0.2\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ CuCl_2 と $4\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ NaCl を含む水溶液を封管中 80°C で加熱した。アラニンについてはこの他にL-体あるいはD-体のみ、L-体とD-体を8:2あるいは2:8の割合で混合したものについても同様に加熱した。生成物は誘導体とし、GC-MSを用いて光学分割および同定・定量した。また、加熱前に溶液のUVスペクトルを測定した。

【結果】 L-体とD-体を等量含むアラニンの加熱では、アラニルアラニンの可能な4種のジアステレオマーが等量ずつ生成した。また、アラニンのD/Lを変えた加熱では、それぞれの生成物のジアステレオマー比は対掌的な結果を示した(右図)。

しかし、この比はラセミ混合物の加熱の結果から予想される値とは異なり、L-体だけの加熱では、DL-体がLL-体よりも多く生成していた。加熱後に検出したアラニンのD/Lはアミノ酸のラセミ化がジアステレオマー比を大きく変えるほど進行していないことを示した。この比較から、生成したジペプチド中でN-末端アミノ酸がC-末端よりも速くラセミ化していることが判明した。このことはジペプチド生成後も続く加熱によってアラニンのD/Lが変化することを示しており、光学活性起源の発展という面での基礎的な知見を与える。

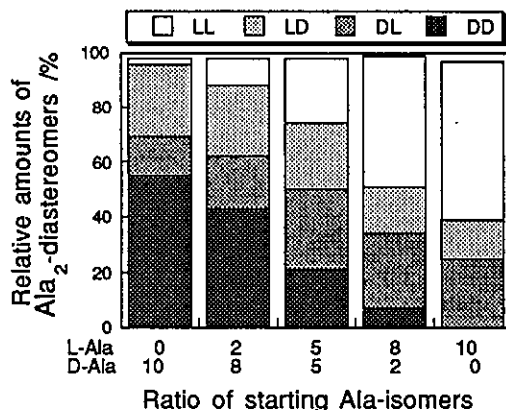


Fig. Relative amounts of Ala₂-diastereomers formed in 0.4M Ala, 0.4M CuCl₂ and 4M NaCl at 80°C for 720h.

9

放電合成法における 新しいアミノ酸生成機構の提案

A New Mechanism of Amino Acid Formation by Electric Discharge

宮川 伸・田村英樹・小林憲正*・澤岡 昭

Shin Miyakawa, Hideki Tamura, Kensei Kobayashi,* and Akira B. Sawaoka
(東工大・応セラ研) (Materials and Structures Laboratory, Tokyo Institute of Technology)

* (横国大・物質) (Department of Physical Chemistry, Yokohama National University)

放電を用いたアミノ酸合成は今まで数多く行われてきたが、その反応メカニズムやアミノ酸前駆体の形状は明確にわかっていない。一方、水溶液中でのアミノ酸合成法としては、シアン化水素・ホルムアルデヒド・アンモニアの反応であるストレッカー反応法と、シアン化水素重合法がよく知られている。このため、放電によるアミノ酸合成に関してもシアン化水素などが大きく寄与しているのではないかと考えられ、気相・液相成分中のシアン化水素などの定量測定が数多く行われている。しかし、放電により反応容器に付いた蒸着膜を加水分解するとアミノ酸が検出されることや同一系内にシアン化水素とホルムアルデヒドが存在するとヒドロキシアセトニトリルになることなどを考えると、放電法においてはストレッカー反応やシアン化水素重合が主なアミノ酸生成機構とは考え難い。むしろ、プラズマの本質を考えると、原子重合のように多種類のプラズマ種がランダムに反応・重合してアミノ酸前駆体を形成すると考えたほうが妥当と思われる。そこで本実験では、シアン化水素などが生成しないように水素原子を除いたCO+N₂混合ガスを高温プラズマ化することでCNOアモルファス膜を合成し、これに水を作用させてアミノ酸を合成することを試みた。また、この仮説が正しいことを証明するために同位体元素を含む重水と¹³COを用いた実験も行った。

CO+N₂混合ガスを高温プラズマ化するために高エネルギーパルスプラズマ発生装置であるMPDアークジェットを用いた。5000回のパルス放電の後、バイレックス製の反応管に蒸着した黒色薄膜を削り取った。この黒色粉末は水やアルコールに不溶であったため、高度に架橋されたアモルファス構造を持つと推測される。アミノ酸の定性・定量分析は加水分解後にGC/MSとHPLCで行われた。GC/MS測定の結果、グリシンとアスパラギン酸が生成していることを見出した。その生成量は原料ガスをCO+N₂+H₂混合ガスにした場合の70%とほぼ同量であった。

以上より、CO+N₂混合ガスの高温プラズマより合成されたCNOアモルファス膜に水を作用させることで、原料ガスに水素が入っている場合とほぼ同量のアミノ酸が生成することが分かった。これは、放電によるアミノ酸合成においてはきれいな化学反応であるストレッカー反応やシアン化水素重合が主な反応メカニズムではなく、複数のプラズマ種がランダムに反応・重合することが主体であることを示している。また、今まで不明であった加水分解前のアミノ酸前駆体がCNOHアモルファス物質であることを見出した。

モンモリロナイト上におけるアデノシン、ウリジン、および
イノシン-5-リン酸イミダゾリドの重合反応の速度論的研究

Kinetics and Mechanistic Investigations for the Formation of Oligonucleotides from
5-Phosphorimidazolide of Adenosine, Uridine and Inosine on Na⁺-Montmorillonite

川村邦男, J. P. フェリス (大阪府立大学工学部, レンセラー工科大学)

Kawamura Kunio, James P. Ferris (Osaka Prefecture University, 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、生命の起原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は原始地球上で自発的に生成したものと考えられる。ヌクレオシド-5-リン酸イミダゾリド(活性化ヌクレオチド(ImpN))はモンモリロナイト触媒の存在下で重合し、鎖長10程度のオリゴヌクレオチドを生成する[1]。今回はアデノシン、ウリジンおよびイノシンの5-リン酸イミダゾリドについて速度論的な解析を行ない、核酸塩基の種類の影響を調べた。

2. ImpA, ImpUおよびImpIおよびモンモリロナイトは既存の方法に従って調製した。粘土存在下でのオリゴヌクレオチド生成反応は、所定時間ごとに試料溶液を採取しHPLCで分析して追跡した。また粘土に対する活性化ヌクレオチドおよびオリゴヌクレオチドの分配係数を測定した。反応速度の解析には速度解析プログラムSIMFITを用いた[2]。

3. 結果および考察

(1) オリゴヌクレオチドの生成量に対する活性化ヌクレオチド種類の影響: ImpA, ImpU, ImpG, および ImpIを粘土共存下で反応させた結果、鎖長10程度までのオリゴヌクレオチドが生成し、ImpAで最も効率よくオリゴマーが生成した。またこれらの反応はマグネシウムイオンによって促進された。(2) 活性化ヌクレオチドの吸着挙動: 活性化ヌクレオチドの粘土に対する分配係数を決定した結果、ImpUは他の活性化ヌクレオチドに比べて5-9倍吸着能が小さかった。また吸着能はMgCl₂の存在下で増加した。ImpIとImpUの吸着能の違いから、プリンを塩基としてもつ活性化ヌクレオチドでは、プリン塩基と粘土表面との疎水性相互作用が吸着に寄与していることを知った。ImpUは粘土に対する吸着能は小さいがオリゴマーの生成効率も他の塩基と大差なかった。(3) 生成物の構造解析: ImpUとImpIの反応生成物について、イオン交換HPLC上に現れる2-merおよび3-mer成分を分画し構造解析した結果、多量の環状3-merが2-merフラクション中に含まれていることを知った。2-merフラクション中に含まれる環状3-merの割合は、それぞれImpU(60%)、ImpI(88%)でありImpA(13%)の場合と比べて著しく大きかった。またImpIとImpAでは3,5-結合の割合が大きく、ImpUおよびImpCでは2,5-結合の割合が高かった[3,4]。これはプリンおよびピリミジンをそれぞれ塩基としてもつ活性化ヌクレオチドで、生成するオリゴヌクレオチドの位置選択性が異なることを示唆している。(4) オリゴヌクレオチドの生成速度: 既報の方法[5]に準じて反応速度を測定し、粘土相における各過程の速度定数値(k)を計算した。kは、894h⁻¹M⁻¹(ImpU), 18(ImpI), 104(ImpA)と、ImpUで最大であった。これはImpUおよびoligo(U)の分配係数がアデノシンあるいはイノシンヌクレオチドの場合と比べて著しく小さいことに由来している。k値をオリゴヌクレオチドの鎖長に対してプロットした結果、ImpUおよびImpIの反応でもImpAの場合と同様に、k値は鎖長が4になるまで増加しそれ以上で一定となった。前回、ImpAの結果をもとに、伸長するoligo(A)にImpAがスタッキングによって会合し、この会合体からリン酸ジエステル結合が生成するモデルを提案した。oligo(U)の伸長においてはスタッキングの効果が小さいと考えられるので、現在その点について検討している。

参考文献

- [1] Ferris, J. P. and Ertem, G.: 1992, *Science* 257, 1387.
- [2] Terfort, A. and von Kiedrowski, G.: 1992, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 31, 654.
- [3] Ertem, G. and Ferris, J. P.: 1996, *Nature* 379, 238.
- [4] Ding, P. Z., Kawamura, K., and Ferris, J. P.: 1996, *Origins Life Evol. Biosphere* 26, 151.
- [5] Kawamura, K. and Ferris, J. P.: 1994, *J. Am. Chem. Soc.* 116, 7564.

アロフェンによるアミノ酸の光学異性体分離の可能性 Possibility of separation of optical isomers of amino-acid by allophane

橋爪秀夫・Benny K.G.Theng (無機材質研究所・Landcare Research)

Hideo Hashizume and Benny K.G.Theng

(National Institute for Research in Inorganic Materials・Manaaki Whenua-Landcare Research)

粘土鉱物には不斉な場が知られていないことから、光学異性体の選択的吸着能はほとんどないと言われている。しかし、カオリナイトのような四-八面体構造をとる層状鉱物では、エッジ部に不斉な場を持つ可能性があり、そのエッジ部で光学異性体の選択的吸着が行われるかもしれないと言われている。

アロフェンは主に火山放出物由来の土壤中に多く産するAl-Si-O-Hよりなる物質である。アロフェンの形態は直径は約4~6nmの球殻状で、Al/Si比は1.0~2.0の範囲で変化する。またその構造は、外壁がAl-O,OHの八面体構造、内壁がSi,Al-O,OHの四面体構造である。最も特徴的なことはアロフェンには直径約0.3nmの孔がいくつかあることである。我々は孔壁部がカオリナイトのエッジ部で予測されているような不斉な場の性質を示すのではないかと考えた。また、アロフェンの孔の形状はAl/Si比により変化するという説があり、その孔の形状に依存してアミノ酸のD、L体を選択的に吸着するのではないかと考えた。今回は土壤中に存在する天然のアロフェンを用いてアラニンのD、L体の吸着量を比較したので報告する。

実験では、4種類の産地の異なるアロフェン質土壌(鹿沼、北上(日本産)、Te Kuiti, One tree point(New Zealand産))より分離した天然のアロフェンを用いた。土壌からのアロフェンの分離は、脱イオン水にアロフェン質土壌を分散し、0.1MのHClとNaOHによりpH3.5~4に調節した。2 μ m以下の粒径のものを水ひすることにより、アロフェンを得た。アロフェンを含む水溶液をpH6.5から7に再調節し、1MのNaClを加えることによりアロフェンを凝縮させ、NaClが除去されるまで、透析を行った。約50°Cで乾燥、または凍結乾燥したものを出発試料とした。それぞれのアロフェンのAl/Si比を表1に示した。

吸着実験は0.004MNaClの電解質を加えたD-またはL-アラニンの数種類の異なる濃度の水溶液5または10mlにアロフェンを100または200mg加え、pH6に調節し、約65時間攪拌した。その後、遠心分離を行い、上澄み液の炭素量を全有機炭素計(TOC)により分析した。その結果から、上澄み液のアラニンの濃度を求め、D-またはL-アラニンのアロフェンに対する吸着量を見積もった。

D-またはL-アラニンのアロフェンに対する吸着量の例を表1に示す。アロフェンのAl/Si比とD-とL-アラニンの吸着量比にはほとんど関係がなかった。鹿沼やTe KuitiアロフェンへのD-とL-アラニンの吸着量比がほとんど1であった。しかし北上やOne Tree PointアロフェンへのD-とL-アラニンの吸着量には差が現れた。特にOne Tree PointアロフェンではL-アラニンがD-アラニンより約2倍多く吸着した。

鹿沼やTe KuitiアロフェンではD-とL-アラニンの吸着量はほとんど同じことから、これらのアロフェンはD-とL-アラニンに対する選択的吸着能がないことがわかる。しかし、北上とOne Tree Pointアロフェンではアラニンの光学異性体を選択的に吸着する可能性があることがわかった。今後の課題として、(1)北上やOne Tree Pointアロフェンのどのような構造(孔の形状など)が光学異性体の選択的吸着に寄与しているのか。(2)天然からアロフェンを分離したため、不純物の混入は避けられない。その不純物がD-やL-アラニンの吸着に影響を与えているか。(3)間接的に求めた吸着量は誤差が大きいと言われているため、アロフェンに吸着したアラニンを脱離させることにより吸着量を求め、D-とL-アラニンの吸着量の違いを調べる。さらにラセミ体を用いてのD-、L-アラニンの吸着量の比較を行うなどを検討する必要がある。

Table 1 Al/Si ratio, adsorption of D- and L-alanine and D/L ratio of four allophanes.

Allophane	Kamuna	Kitakami	Te Kuiti	One Tree Poin
Al/Si	1.4	1.5	1.6	2.0
D	0.0725	0.0699	0.0814	0.0396
L	0.0733	0.0896	0.0887	0.0711
D/L	0.989	0.780	0.918	0.557

中沢弘基 (無機材質研究所)

Hiromoto Nakazawa

(National Institute for Research in Inorganic Materials)

はじめに

原始地球の表層は珪酸塩鉱物の世界であった。マグマの海があってもなくても、地球表層に水が存在できる程度に低温になれば、珪酸塩鉱物は風化して粘土鉱物を生ずる。粘土鉱物は水中に分散し、無機巨大分子として振る舞い、有機分子ともはなはだ親和性が高い。いわば無機の蛋白質である。

無機界から有機界に橋をかける”無機の蛋白質”は、かつてJ.D.バナールが指摘していたように、生命の前駆体として生命機能の中でも最も原始的な機能を果たしていても不思議はない。例えば膨潤性、有機吸着能、包接能、触媒能等々、既知の”蛋白質的”性質以外に、もっと直接、生命機能にかかわる性質があるはずである。

粘土コアセルベートの合成実験

アロフェンと呼ばれる火山灰起源の粘土鉱物を精製して、希薄な分散液を造り、その水溶液に有機溶媒を徐々に加えるか、濃度を上げると、膜状、繊維状および球胞状の組織体が出現した。球胞の径は数十～百マイクロン。いわば”無機の蛋白質”の凝集体、粘土コアセルベートである。

希薄な溶液からの微小な析出物を取り扱っているので、塵埃や混入不純物の影響を受けて、誤った結論も導かれかねない。したがって、この実験結果の再現性や確実性を入念に調べなければ結論を得られないが、アロフェンなど特定の粘土コロイドが何等かの組織体をつくることは確かである。

個体の成立と生命の鉱物起源仮説

最も原始的な生命機能の一部とは何であろうか。バナールを引き継いだケアンズミスは生命の鉱物起源仮説を唱え、遺伝機能であると主張した。呼吸やエネルギー代謝を挙げる人もいよう。諸説ありそうである。必ずしも各機能が順番に進化したものではなく、それぞれが独立に進化した後、逐次融合された可能性も否定できない。とすれば、何よりも先に生死が定義できる「個体」が成立しなければならぬのではなからうか。粘土コアセルベートは、原始地球の無機界にあって”無機の蛋白質”が組織化した「個体」である。生死は球胞の発生と分解に相当する。生命の鉱物起源説の空虚性を一つ埋める存在ではないであろうか。

13

ホモキラルなジペプチドとヘテロキラルなジペプチドの疎水性の差とホモキラリティーの濃縮

Hydrophobicity Difference between Homochiral and Heterochiral Peptides and Concentration of Homochirality

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

タンパク質構成アミノ酸がなぜL型であるかという問題は、タンパク質中のアミノ酸がなぜD型でなくL型であるのか、そして、なぜDLの混合でなく片手構造であるのかという二つの問題に分けて考えることができる。発表者らは、最近、後者の問題に一つの解答を与えるかもしれない仮説を提案した。1) つまり、DL型のアミノ酸から片手構造をもつペプチドやタンパク質が生成する過程が、(1)アミノ酸の立体特異的縮合過程、(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の3段階からなると考えた。前回の報告では、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注目して、オリゴアラニン(2量体~6量体)のホモキラルペプチド(L-Ala-L-Ala, L-Ala-L-Ala-L-Alaなど)の疎水性がヘテロキラルペプチド(L-Ala-D-Ala, L-Ala-D-Ala-L-Alaなど)に比べて小さいことを、疎水性クロマトグラフィーとLogP値(オクタノール-水系の分配係数の対数)の計算から明らかにした。今回は、Gly, Ala, Val, Aspから成る環状および鎖状ジペプチドのLogP値の計算を行い、比較を行った。

2. 方法

コンピューターソフトとしてC-Ache System 3.8 とC-Ache LogPとを用いた。ハードウェアにはPower Mac 7100を用いた。また、LogP値の計算は、各ペプチドの力場計算の結果、最も安定なコンフォメーションと思われるものについて行った。

3. 結果・考察

いくつかのジペプチドについての計算結果をTable 1に示す。

Dipeptide	C-Ache LogP (25°C, 1atm)
L-Ala-L-Ala	-3.408
L-Ala-D-Ala	-3.114
cyclo-(L-Ala-L-Ala)	-0.894
cyclo-(L-Ala-D-Ala)	-0.879
cyclo-(L-Val-L-Val)	0.088
cyclo-(L-Val-D-Val)	0.223
L-Asp- α -L-Ala	-3.760
L-Asp- α -D-Ala	-3.504

同種のアミノ酸配列をもつジペプチドで比

較すると、環状および鎖状ともにヘテロキラルなものの方がホモキラルのものよりも疎水性が高いという結果が得られた。これは疎水性の違いがヘテロキラルなペプチドとホモキラルなペプチドの分別に関係していたことを示唆している。尚、発表では他のGly, Ala, Val, Aspから成る環状および鎖状ジペプチドのLogP値の計算結果についても示す。

(Reference) (1)T.Munegumi and A.Shimoyama, *Viva Origino*, 24, 26(1996).

14

チオールエステル誘導体からのポリペプチドの前生物的生成の可能性について

Possibility of Prebiotic Polypeptide Formation from Thiol Ester Derivatives

胸組虎胤 (小山高専・物質工学)

Toratane Munegumi

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

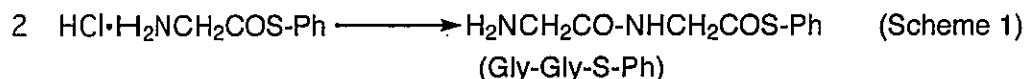
1. はじめに

水中で化学進化的にペプチド結合が生成する経路として、アミノ酸に脱水縮合剤が作用したり、C-末端に脱離基のついたアミノ酸が出発物質になった等の経路が考えられている。一方、近年、ペプチド合成の分野ではタンパク質の合成のために、合成ペプチドセグメントのC-末端をチオールエステル化し、このチオールエステルに対して、もう一方のペプチドセグメントのN-末端のアミノ基を求核攻撃させて、タンパク質を得る手法が取られるようになった¹⁾。この反応は水溶液中でペプチド結合を形成できる方法であり、自己複製するペプチドの研究にも使われるなど²⁾、化学進化的反応としても考慮に値すると考えられる。本発表では、チオールエステルに関する過去の文献から、その化学進化的生成、それを用いる化学進化的ペプチド合成反応の可能性について考察する。

2. チオールエステルの化学進化的生成反応とペプチド合成反応の可能性

チオールエステルの有機合成には、(1) エチレンスルフィドにアシルハライドを作用させる、(2) 酸無水物やカルボン酸のアリールエステルに硫化水素を作用させる、(3) カルボン酸とチオールにDCC (dicyclohexylcarbodiimide) を作用させる、(4) ケテンにメルカプタンを作用させるなどの方法が知られている。また、N-保護アミノ酸のチオフェニルエステルやチオグリコール酸のエステルが合成され、活性チオールエステルとしてペプチド合成に利用された(Scheme 1)³⁾。

base



化学進化的には乳酸のチオールエステル等が報告されているが、アミノ酸のチオエステルの合成や反応については、詳しく研究されていないようである。Scheme 1の反応はポリペプチドの合成に関連して、さらに研究されてもよいように考える。還元的な環境では、チオエステルを活性中間体と考えてもよいが、酸化が起こりやすい条件では、 α -ケトアルキルスルホキシド ($\text{H}_2\text{NCH}_2\text{COS(O)-Ph}$) を考えてもよいかもしれない。また、先に述べたペプチドのセグメント同士が縮合する反応については、ペプチドの活性チオールエステルの合成が化学進化的な反応で行えるのかどうか検証する必要がある。

(References)

- (1) H. Hojo, S. Yoshimura, M. Go, and S. Aimoto, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **68**, 330 (1995).
- (2) D.H. Lee, J.R. Granja, J.A. Martinez, K. Severin, and M.R. Ghadiri, *Nature*, **382**, 525 (1996).
- (3) T. Wieland and W. Schafer, *Ann. Chem.*, **576**, 104 (1952).

アミノ酸熱重合物の析出とそのpH依存性

pH dependent precipitation of nano-particles

from thermal hetero complex molecules of amino acids

土澤 健一・石森 綱行・櫻沢 繁・今井 栄一・本多 元・松野 孝一郎

(長岡技術科学大学・生物系)

Ken-ichi Tsuchizawa, Tsunayuki Ishimori, Shigeru Sakurazawa, Eiichi Imai Hajime Honda and Koichiro Matsuno

(Department of Bioengineering, Nagaoka University of Technology)

L-AspとL-Proを原料にしたアミノ酸熱重合物は、水中での「加熱-冷却過程」を経ることで球状構造物を形成する。ここでの球状構造物とは直径が数 μm のアミノ酸熱重合物の集積体である。近年、この球状構造物に類似した形態を有する集積体が、「pH変化」過程から生成することが報告されている¹⁾。本研究では、アミノ酸熱重合物の球状構造物がpH変化過程で溶解-析出する現象を調べていく過程で、その析出物が直径約100nmの集積体「ナノ粒子」を形成することを見いだした。

実験試料には、L-AspとL-Pro (モル比1:1) 混合物を加熱(200 $^{\circ}\text{C}$ ・3hour)して生成するアミノ酸熱重合物 (DP1)を水中で加熱-冷却して得られた球状構造物(DP1ms)を用いた。

(1) アルカリ溶液中のDP1msとナノ粒子析出濃度およびpH依存性

DP1濃度が0~10mg/mlのDP1アルカリ溶液 (0.1M, 0.07M, 0.05M KOH溶液) を調製した。この溶液 (1ml) にHCl [1M, 0.5M, 0.1M] (1ml) を加えて攪拌し、懸濁した溶液の吸光度 (波長600nm) を測定した。

(2) pH変化過程でのDP1msの溶解とナノ粒子析出

DP1msを純水に分散させ吸光度 (波長600nm) 0.95とした。このDP1ms懸濁液(80ml)を攪拌しながら2MKOH(5 μl)を徐々に加えていき、一定の塩基性pH(pH9.0, 10, 11, 12)に到達するまでの吸光度を測定した。つぎに各塩基性pHに到達した溶液に、2N HCl(5 μl)を徐々に加えていき酸性 (pH1.0)に到達するまでの吸光度を測定した。(Fig1)

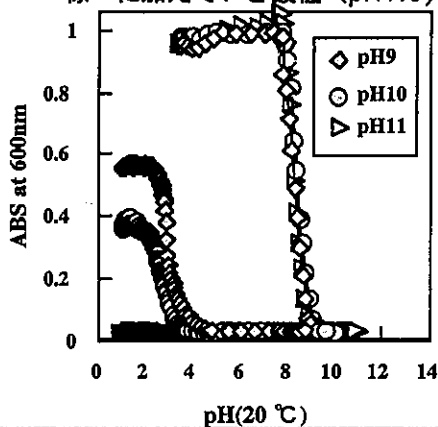


Fig1. DP1msの溶解-ナノ粒子析出のpH依存性 (白抜→塩基性側へのpH変化, 黒塗→酸性側へのpH変化)

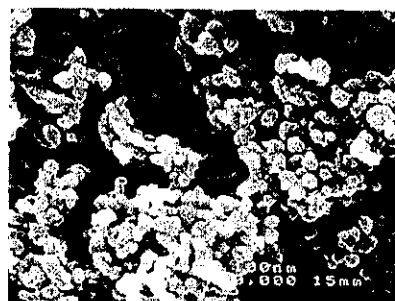


Fig2. ナノ粒子の電子顕微鏡像

1) Raymond J. Bergeron, Otto Phanstiel IV, Guo Wei Yao, Sam Milstein, and William R. Weimar. *J. Am. Chem. Soc.* 1994, 116, 8479-8484

16

金属イオン存在下でのアミノ酸熱重合物のふるまい Behaviors of Thermal Heterocomplex Molecules of Amino Acids in the Presense of Metal Ions

若村 和彦・今井 栄一・本多 元・松野 孝一郎 (長岡技術大学・生物系)
Kazuhiko Wakamura, Eiichi Imai, Hajime Honda, Koichiro Matsuno
(Department of BioEngineering, Nagaoka University of Technology)

背景・意義)

生命の起源を考える上で、生命誕生までの前段階として、生命のない物質から組織化された物質へ、どのように進んでいったのか化学進化の立場から解明することは重要な問題であると思われる。今回は、その第一段階としてアミノ酸およびオリゴペプチドに焦点を絞った。

原始地球環境下においてアミノ酸の生成を裏付ける実験条件が同定されつつある。では原始地球上において生成したアミノ酸は、いったいどのようなプロセスを経て自己組織化を行いタンパク質などの高度な機能をもった物質へと変化して言ったのであろうか。我々は、その答えを出す”鍵”を握る物質としてアミノ酸熱重合体というタンパク様物質に着目した。その理由には以下の事柄があげられる。

- 1 アミノ酸熱重合体のようなタンパク様物質は細胞や酵素を伴わずして原始地球環境化で容易に生成する。
- 2 アミノ酸熱重合体は自己集積能を持つ。
- 3 アミノ酸熱重合体は種々のアミノ酸・核酸分子を吸着する。このことは、アミノ酸熱重合体があることで、低分子濃縮の場を提供することを示唆する。
- 4 アミノ酸熱重合体は温度ヒステリシスを伴う。このことは、アミノ酸熱重合体のエネルギー蓄積能の可能性を示唆する。

方法)

アスパラギン酸とプロリンを200℃で3時間加熱した後、水中で煮沸させ、これを氷上で冷却すると、直径約数 μm の球状構造物が得られる。ここで得られたアミノ酸熱重合体にアミノ酸単分子を加え、さらにアミノ酸活性化剤としてイミダゾール・ATP・マグネシウム・亜鉛イオンを添加する。この様にして得られた試料溶液をデシケーター中で蒸発乾固させ80℃で2時間加熱後、再び水中に溶解させ、ビウレット反応およびニンヒドリン反応による定性試験、逆相HPLCによる定量試験および試料の同定を行う。

結果)

ビウレット反応・ニンヒドリン反応による定量試験においては、16種類のアミノ酸中15種類のアミノ酸において、アミノ酸熱重合体によるペプチド結合促進作用が確認された。

2' - 5' 結合及び3' - 5' 結合RNAの2重鎖及び
3重鎖形成能. RNAにおける結合異性体の自然選択の1要因
**Double and Triple Helix Formation of 2'-5' and 3'-5'
Linked Oligoribonucleotides. A Factor for Selective
Advantage of Linkage Isomers of RNA**

澤井宏明・関淳一・尾崎広明 (群馬大学工学部)

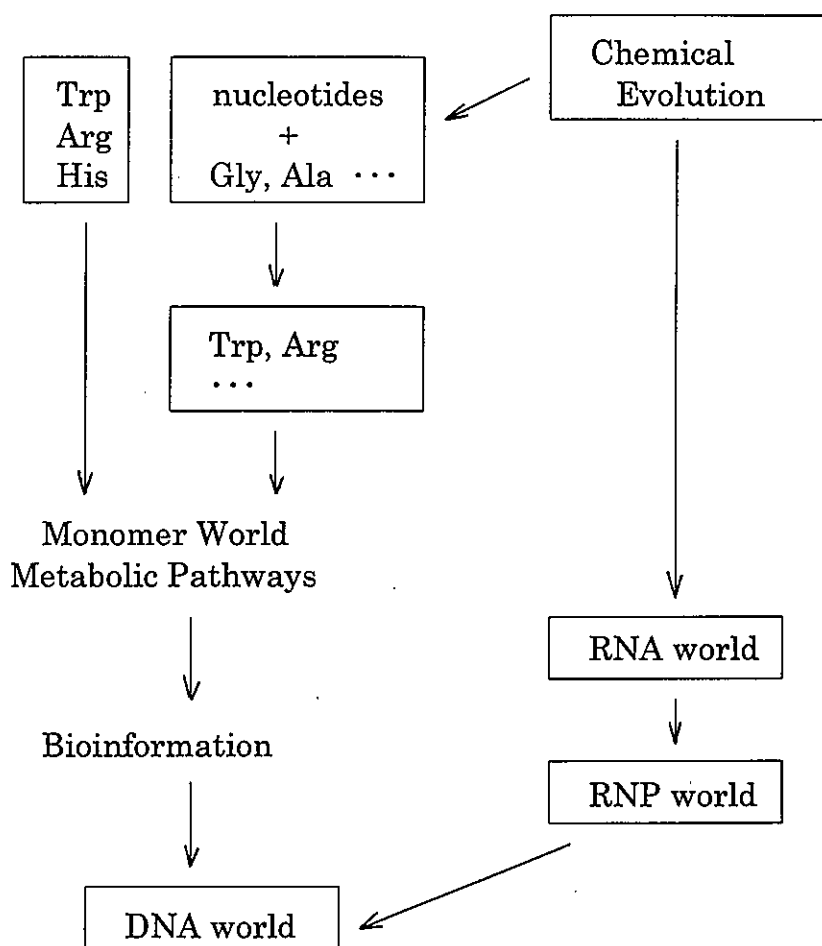
Hiroaki Sawai, Junichi Seki and Hiroaki Ozaki

(Department of Chemistry, Faculty of Engineering, Gunma University)

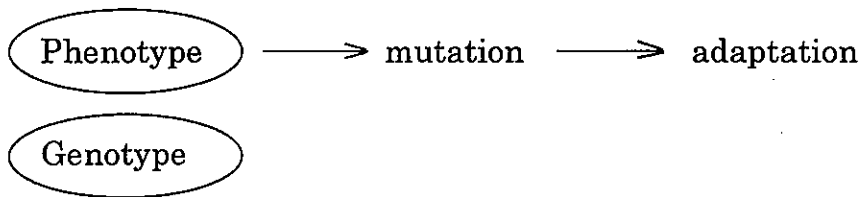
遺伝情報の保持発現をになうRNAは全て3' - 5' 結合を持っている。しかし化学構造上は2' - 5' 結合を持ち得るし、RNAの前生物的合成のモデル実験では多くの場合2' - 5' 結合が優先的に生成する。2' - 5' 結合及び3' - 5' 結合いずれの結合も持つRNAが初めに生成し、化学進化あるいは初期生物進化の過程で3' - 5' 結合が自然選択され、残ったと考えられる。このような観点から、筆者らはこれまで種々の鎖長の2' - 5' 結合及び3' - 5' 結合オリゴリボヌクレオチドについて、それらの性質、反応性などを調べ、RNAが何故3' - 5' 結合のみからなるに至ったかの自然選択の要因について研究し、報告してきた。今回7量体及び10量体の2' - 5' 結合及び3' - 5' 結合を持ったオリゴアデニル酸 (Oligo(rA))及びオリゴウリヂル酸(Oligo(rU))を用い、それらの2重鎖及び3重鎖形成能をCDスペクトルで研究した結果について述べる。更にこれらの結果とRNAの3' - 5' 結合の自然選択との関連について述べる。

Oligo(rA)とOligo(rU)のヘリックス形成能はそれらの結合様式の相違、鎖長、濃度、相対的なモル比、温度及び共存塩濃度に依存する。Oligo(rA)とOligo(rU)のどの結合異性体の組み合わせでも1:1のモル比では0.1M NaCl存在下で、2重鎖ヘリックスを形成する。2重鎖の安定性は結合様式の相違により大きく異なり、[3'-5']Oligo(rA):[3'-5']Oligo(rU) > [2'-5']Oligo(rA):[3'-5']Oligo(rU) > [3'-5']Oligo(rA):[2'-5']Oligo(rU) > [2'-5']Oligo(rA):[2'-5']Oligo(rU)の順であった。高い塩濃度、0.5M塩化マグネシウム存在下、ではヘリックス形成能は向上した。また、Oligo(rA)とOligo(rU)のモル比あるいは結合様式により2重鎖あるいは3重鎖が形成されることが認められた。3重鎖形成能は[3'-5']Oligo(rA):2[3'-5']Oligo(rU) > [2'-5']Oligo(rA):2[3'-5']Oligo(rU) > [2'-5']Oligo(rA):2[2'-5']Oligo(rU) > [3'-5']Oligo(rA):2[2'-5']Oligo(rU)の順であった。[2'-5']Oligo(rA)と[2'-5']Oligo(rU)からなる2重鎖あるいは3重鎖ヘリックスのCDスペクトルは対応する3' - 5' 結合体を含む2重鎖あるいは3重鎖ヘリックスのCDスペクトルと大きく異なっており、2' - 5' 結合よりなるものと3' - 5' 結合体からなるものとはコンホメーションが異なっていることが示唆される。3' - 5' 結合RNA同士の組み合わせは2重鎖形成及び3重鎖形成いずれの場合において、対応する2' - 5' 結合体同士の組み合わせあるいは両者の混在系よりも安定なヘリックスを形成することが認められた。以上の結果は3' - 5' 結合RNAが核酸にとって基本的な複製機能、2重らせん構造などの機能を果たすために有利であることを示している。また2' - 5' 結合RNAおよび3' - 5' 結合RNAで不安定ながらも2重鎖を形成する事実は両者の相互認識、相互利用が化学進化、初期生物進化の過程であり得たことを示唆する。

トリプトファンや、アルギニン、ヒスチジンと言った複雑なアミノ酸は弱い特異的な酵素様の活動性をもっている。ヌクレオチドにおいても然り。この結果、不老不死の代謝系が生まれうる。



Dipeptides 同様 Dinucleotides も酵素活性をもっている。それは stereochemical theory of the genetic code からいってアミノ酸酵素の codon である。複製から変異、伝播、適応から蛋白合成系に至る Bioinformation の流れはここにはじまる。



dinucleotide

minimum unit of replication



Protein Synthetic System



Origomer World

DNA world

Polymer World

シンポジウム

(A)

進化過程の表現

- ◎遺伝子解析への情報理論的アプローチ 大矢雅則 (東京理科大・情報科学)
- ◎再構成系で作る進化物語 四方哲也 (大阪大・工)
- ◎進化分子工学における進化の表現法 伏見 譲 (埼玉大・工)
- ◎進化の観測志向型モデル：無限と有限の相互作用 郡司ペギオ幸夫 (神戸大・理)

SA1

遺伝子解析への情報理論的アプローチ -Information Theoretic Approach to Genome Sequences-

東京理科大学情報科学科
大矢雅則

遺伝情報という言葉がこの頃よく使われているが、遺伝子の研究の場でコンピュータが必要であるというごく当然のこと以外”遺伝情報”の意味することは何等はっきりしていない。遺伝子が情報を担っていて、その発現として生命があることは事実であろうが、そういう言葉をただ使っているだけでは、生命を20世紀の科学（例えば、物理学）のレベルで扱うことなど出来る相談ではない。我々が生命について知りたいことは、（1）現在観測できる生命の在り様、（2）生命（体）の情報の処理と伝達のからくり、（3）生命の変化の力学、等であり、それらの解明を通じて（4）生命発現の謎や（5）生命進化の原理を知ることである。ここでは、こうしたことを念頭に置いて、シャノンやフォン・ノイマンの研究に端を発した情報理論（量子情報理論も含めて）が遺伝子の研究にいかに関わってくるかを考える。特に、アライメント、遺伝行列、系統樹作成法、遺伝子の符号構造などを情報科学の観点から論ずる。

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。多くの原因が絡み合って結果を作りだしてくる。そのダイナミクスを因果律で説明しようとする、一度に多くのことを調べなければならない。しかも、進化は変化の歴史なので、その因果は無限に遡ってしまう。よって、解析的に理解しようとしても、我々には無理があるように思える。いったい、どうしたら分かった気になれるのであろうか。

このような疑問に悩みながら、我々は、より単純化したモデル実験系を研究室に持ち込み、そこで、進化のプロセスを再現しようとしている。もちろん、単純化してあるとはいえ、そのダイナミクスの簡単な説明はない。可能なのはそのプロセスを繰り返し、「この様にしたら、こうなって、こうなる」と物語として理解することである。多くの場合、「どうしてこうなったか」という因果の問いには答えられない。または、答えてもきりが無いと言うべきかもしてない。

進化の中で色々な生物が現れてくることを「納得」するために大腸菌を用いてモデル競争実験を行った。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きびしい競争にさらされる。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。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、ある値に収束することがわかった。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、適者生存に従わず、競争的共存状態に決定論的になると考えられる。

さらに、得られた遺伝的にヘテロな大腸菌集団に突然変異を人工的に加え続けて、競争実験を行った。すると、遺伝的多様性は、選択と変異のバランスではなく、競争的共存の結果として保たれた。以上より、遺伝的に近縁の生物間でも、淘汰排除則は必ずしも成り立たず、競争的共存によって多様性が保たれることが分かった。

1. 第一の単純化・第一のコーディング：進化分子工学では、実験者が進化分子系の環境を設定し、かつ、構成要素間の相互作用を可能な限りはぎ取るという理想化単純化を行うので、進化の表現を、配列空間上の適応度の地形(Fitness Landscape)の問題に落とし込むことができる(1)。環境と生体高分子の種類が決まれば、その物性として、適応度の地形が決まる。ここでの進化とは、この地形上の突然変異体集団の適応歩行としてダーウィンのように表現できることになる。別の観点から見ると、この単純化は、機能(その評価関数が適応度)を文字列(生体高分子の一次構造)にコーディングしていることになる。

しかし、天然の進化では、環境は生物と共に進化しているし、構成要素間には網目のような相互作用がある。これは極めて複雑な系であり、それをモデル化し解析しうる進化実験系ができれば、進化システム工学と呼ぶにふさわしい。この立場からすれば、進化分子工学の立場は単純化しすぎて複雑系の示す興味ある現象を捨象しているのかも知れない。しかしながら、重要な点は、複雑な進化過程をエッセンスを保持したまま単純化する切り口を示したと言うことである。エッセンスとは、高分子が自動的に高速進化するという点である。更に言えば、単純化したと言っても未だ十分複雑である。すなわち、タンパク質分子1分子構造のフォールディングの問題が既に、正面突破しようとする、十分複雑であるのとちょうど同じように、タンパク質分子1機能の適応度の地形の問題も、正面突破しようとする、NKモデルのような複雑性を生むことになる。

2. 第二の単純化：この後者の複雑性を回避するために我々は第2の単純化理想化を行う。適応度の地形の理想化である(2)。理想地形とは、配列空間の任意の点から、点突然変異のみを重ねて登るのみで適応度最大点に至る経路が存在するような地形である。この場合は、配列空間の点の数に相当する、配列長の指数関数に比例するランダム試行回数(適応歩行の歩数)ではなく、長さのそのものに比例するランダム試行回数で最適点に達することができる。これは既定の物性量に対する大胆な近似であるが、実験的検証が可能であるので作業仮説として導入してよい。この作業仮説は、Sexual PCRの成功をはじめ、ある範囲の進化分子工学実験によって支持されている。この作業仮説を後押しするのは、生命が出現しそれが進化したという事実そのものである。

3. 第二のコーディング：進化分子工学は、その進化分子系の枠組み自体の進化も表現している。それは、遺伝子型・表現型対応付けの進化である。あるいは、広義には、コーディングの進化である。1. で述べたコーディング機構はRNAワールドのモデルや進化RNA工学では完全なものだが、現在の生命世界は、少なくとももう一つ、塩基配列とアミノ酸配列間の第二のコーディング機構を持つ。進化タンパク質工学では、この第二の機構のどれかを使うわけである。経験によれば、核酸と蛋白を結合させて対応づけるというウイルス型戦略が最も効率がよい。我々はこの戦略が、RNAワールドから翻訳系が出現する場面でも働いたとするモデルを作ることができた(3)。進化分子工学は、この対応付け(ないし、コーディング)の進化が、地球上で、RNA型生命体→ウイルス型生命体→細胞型生命体→知的生命体、の順序に進化したことを示唆する。

文献

- (1) Y.Husimi, Adv.Biophys. 25, 1-41 (1989); Y.Husimi, K.Nishigaki, Y.Kinoshita & T.Tanaka, Rev. Sci. Instrum. 53, 517-522 (1982)
- (2) T.Aita & Y.Husimi, J.Theor.Biol. 182, 469-485 (1996)
- (3) N.Nemoto & Y.Husimi, J.Theor.Biol. 176, 67-77 (1995)

SA4

進化の観測志向型モデル：無限と有限の相互作用

A Measurement-oriented Model of Evolutionary Process: An Interaction between infinite and finite domains (神戸大・理学部・郡司ベギオ幸夫)

(Department of Earth & Planetary Sciences, Faculty of Science, Kobe University)

あまねくシステムの内・間相互作用は、徹底して局所的である。徹底して局所的であるとは、他の場所での相互作用を一切検知し得ないということだ。しかし同時に、相互作用担体がシステムを構成するという定義から、徹底した局所的相互作用は、先行的全体性の機制を否定しながら無根拠な全体性への言及を含意する。これこそが、観察者をして進化を見いださせる。

このような徹底した局所性を議論することは、容易なことではない。例えば、ある細胞でのタンパク質の同定が、ひとたび特定の構造、機能の同定として定義されるなら、それは他の任意の場所での同じ構造、機能を有する何者かをも指定し得る意味論を含意する。ある場所での同定が、任意の場所での可能的同定と共にある。観察者がある局所で何らかの同定をするとき、他の局所でも同一の意味論が実在する根拠はない。あるのは、意味論実在に関する信念のみである。

一般にこの信念は、局所のモデルに明示されず、モデルをみる観察者の行為に肩代わりされるがゆえ、ことなきを得る。ここでは、逆に、局所に、この信念を構成するモデルを構成する。実在しない意味論に関する信念が、局所の観測者の同定装置（特定の形式体系）を一般化する極限として構成されるため、矛盾は不動点という形式で出現する。この不動点は、方程式として読まれ、その解が、引き続く新たな同定装置として採用される。この操作が、繰り返されるをもって、逆に、徹底した局所的相互作用のモデルが構成される。

このモデルの一般的定義と具体例が示され、モデルと創発概念の縮退と関わる進化的過程との関係が議論される。

一 般 講 演

分子進化 (20-23)

起原と進化の物理 (24-29)

生物進化 (30-33)

平林淳 (帝京大、薬学部)

(Faculty of Pharmaceutical Sciences, Teikyo University)

糖はホルムアルデヒドとアルカリの関与するFormose反応によって容易に生成することから、原始地球環境においても比較的豊富に存在したと思われる。糖鎖は核酸・タンパク質をはるかに凌ぐ大きな多様性を有することから、初期の情報分子としての可能性も考えられる。しかし取り扱いの難しさなどから、糖鎖は従来エネルギー源や不溶性組織化物質（セルロースなど）といった観点以外からまじめに議論されることはほとんどなかった。本論では糖がどのように生命の誕生と進化に関わってきたかを、糖化学、生合成、糖鎖認識などの立場から考察する。今回は、マンノース認識とガラクトース認識の基本的差異について議論したい。糖鎖構成糖である主要ヘキソースの起原に関する仮説、「フルクトース・グルコース・マンノース同一起原・ガラクトース後生説」についてはすでに詳述した¹。

生命を構成する糖

糖には多様性の要素（水酸基の配向、コンフォメーション、結合様式、分岐様式）がきわめて多いことから、オリゴマーにおける構造上の潜在的可能性ではタンパク質・核酸をはるかに圧倒する（ヘキサマーで 1×10^{12} !）。にもかかわらず、現実はこの数字がほとんど机上のものとしか考えられないのは、構造形成上、看過しがたい多くの（立体）化学的制約があるからだ。アルドヘキソースについてみれば、8つの可能な異性体のうち、最安定なコンフォメーション（C1椅子型）をとったときのエネルギー順位のより低い

（アキシアル水酸基の数が最少）グルコース、マンノース、ガラクトースのみが天然に存在していることに気づく。グルコースはアキシアル水酸基をもたず、マンノースでは2位のみが、またガラクトースでは4位のみがアキシアル配向性となる（それぞれ、グルコースに対し2位、および4位のエピマー）。マンノースはグルコースを弱アルカリ処理すればフルクトースと同時に生成し（Lobry de Bruyn転移）、これら3者間には化学的性質を基盤とした共通性がある。一方、ガラクトースにはこういった共通性が見られない。

糖結合性タンパク質におけるマンノースとガラクトース認識のちがひ：対称性の崩壊

アキシアル水酸基が存在することはレクチンや抗体などの糖結合タンパク質にとってはきわめて重要な意味をもつと思われる。ガラクトース特異的レクチンでは例外なく4位水酸基が重要な認識の標的となっているからだ。これに対しマンノース特異的レクチンの多くでは2位水酸基は認識に関わっていない。マンノース結合性レクチンMBP-A（動物C-型レクチンの一種）はマンノースによく結合するがグルコース（N-アセチルグルコサミン）やL-フコースにも結合する（注、純粋なグルコース特異的レクチンは存在しない）。DrickmerらはMBP-Aに一連のアミノ酸変異を導入することで天然のレクチンに匹敵する完全なガラクトース特異的レクチンを作成した²。天然型（マンノース特異的）、改変型（ガラクトース特異的）MBP-Aと各種単糖との結合様式をX-先結晶解析で調べたところ、いずれの場合も糖は3位と4位（ガラクトースの場合アキシアル）の水酸基を認識していた（水素結合と配位結合）。おもしろいことにMBP-Aと類似したイソレクチンMBP-Cの結晶構造を調べたところ、マンノース分子は先に解析されたMBP-Aの場合と逆向きに（3位と4位が入れ替わった格好）レクチン分子と結合しており、ある条件ではマンノースの向きを入れ替えることも可能であることが示された。一方、ガラクトースに強く結合するには水素結合だけでは不十分で、ガラクトース4,5,6位の疎水面（裏側）とTrp残基に代表される疎水性基との接触が不可欠であった。

C-型レクチンの単糖認識に関する実験結果から、マンノースにはグルコースになかった2位アキシアル水酸基が生じたものの、立体障害によってこの水酸基が有効利用されることは稀である。C-型レクチンの糖認識は3位,4位という2つの水酸基を介して行われるが、マンノースの3,4位は共にエクソトリアル配向であることから環が逆向きに入ることも可能で、いわば「対称性」が保たれている。これに対しガラクトースは4位にアキシアル水酸基をもったことで識別には有利となった（ガラクトース結合性レクチンは決してマンノースに結合しない。逆も真）。この反面、対称性の崩壊による結合力の低下を補強する新たな措置として、疎水面の有効利用（Trpの導入）が進化の段階で導入されたと考えられる。

生命の歴史において、安定で対称性の高い糖から対称を崩した複雑な糖が次第に生じ（フルクトース・グルコース・マンノース・ガラクトース・シアル酸の順）、その都度これらに対応した生物達によってうまく利用されていったと想像される（ガラクトース、シアル酸はもっぱら高等生物で利用されている）。これらの観察・議論から、糖鎖を構成する主要単糖における「階層性（Hierarchy）」という概念が導き出される。

¹ Hirabayashi, J. (1996) *Quart. Rev. Biol.* 71, 365

² Jobst and Drickamer (1994) *J. Biol. Chem.* 269, 15512

水晶体タンパク質中の反転、異性化反応とその機構
 The Mechanism of Simultaneous Stereoinversion and
 Isomerization in the Native Lens Protein.

藤井紀子^{a)}、百瀬祐子^{a)}、石井則行^{b)}、植村壽公^{b)}

(科学技術振興事業団「さきがけ研究21」^{a)}、工業技術院生命研^{b)})

Noriko Fujii^{a)}, Yuko Momose^{a)}, Noriyuki Ishii^{b)}
 and Toshimasa Uemura^{b)}

(Precursory Research for Embryonic Science and Technology
 (PRESTO), Japan Science and Technology Corporation (JST)^{a)}
 National Institute of Bioscience and Human-technology^{b)})

目的：我々は現在までにヒトの水晶体主要タンパク質である α A-クリスタリンのAsp-151残基に部位特異的な反転と異性化が生じている事を報告してきた。これまでの実験結果から、これらのAsp残基の反転は α A-クリスタリンのNativeな高次構造がこの反転を誘導していると考えられた。そこで、今回は老化したヒト α A-クリスタリンを種々の条件で変性し、変性前後のAsp-151残基の反転率の変化を調べた。

方法：老化したヒトクリスタリンを単離精製し、1) 熱変性(70°C, 10分)、2) 還元、3) 還元、アルキル化後熱変性など、条件を変えて変性させた。これらのサンプルをトリプシン処理し、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。得られたTryptic peptideの同定はアミノ酸組成、アミノ酸配列、FAB-MS分析で行った。次いで α A-クリスタリン中のすべてのAsp残基のD/L比を求めるため、Asp含有ペプチドを加水分解し、OPA-Boc-L-Cysで誘導化したのち、RP-HPLCで分析した。

結果と考察：熱変性した α A-クリスタリンは室温に戻しても、巻き戻りがなく、変性状態が保持されていることをCD-スペクトルで確認した。

Nativeなヒト α A-クリスタリン中のAsp-151残基のD/L比は3.1と反転していたが、1)の熱変性した α A-クリスタリン中のAsp-151残基のD/L比は0.7に減少した。又、この条件では、他のAsp残基のD/L比に変化はなかった。一方、2-3)の条件ではAsp-151残基は反転を保持しており、他のAsp残基のD/L比にも変化はなかった。 α A-クリスタリンは2-3)の条件ではモノマーであり、1)の条件の時は高分子会合体を形成している。1)の条件の時のみ、反転率に変化があったということは、Nativeな状態では α A-crystallinのAsp-151残基の周辺に反転を誘導する反応場があり、それは α A-crystallinのsupermolecular構造が構築しているものと考えられた。タンパク質中でのアミノ酸の反転は本タンパク質が初めての報告例である。

ロイシル化活性を持つtRNAの試験管内選別 in vitro Selection of tRNAs Having Leucylation Activity

¹長谷川典已、²朝原治一

(¹山形大学・理学部、²宇宙科学研究所・惑星研究系)

¹Tsunemi Hasegawa and ²Haruichi Asahara

(¹Yamagata University, ²Institute of Space and Astronautical Science)

遺伝情報であるDNAの塩基配列がタンパク質のアミノ酸配列に正確に翻訳されるためには、tRNAが対応するアミノアシル-tRNA合成酵素 (aaRS) によって正しく認識され、アミノアシル化されなくてはならない。この反応において、各々のtRNAが1種類のaaRSだけに認識されるために持っている特徴は”tRNAアイデンティティー”と呼ばれている。

我々はこれまで大腸菌tRNA^{Leu}のアイデンティティーの研究を行い、識別位塩基A₇₃に加えて、tRNA^{Leu}に特徴的な立体構造が重要なアイデンティティー要素であることを示した¹⁾。しかしながら、どのような立体構造がtRNA^{Leu}のアイデンティティーにとって重要な要素なのかを詳しく調べるためには、tRNA^{Leu}内の立体相互作用に関与している複数の塩基の様々な組み合わせとロイシン受容活性との相関について調べる必要がある。

近年、逆転写酵素とPCR増幅とを組み合わせ、ランダムな配列のRNAプールの中から特定の構造や機能を持つRNAを選別する方法 (in vitro selection法) が試みられている。そこで、tRNA^{Leu}の立体構造の形成に重要と考えられる塩基 (D-ループ、可変アーム、T-ループ) をランダムに変換したtRNA^{Leu}プールを調製し、この方法を用いてロイシル-tRNA合成酵素 (LeuRS) によってのみロイシル化される一群のRNAを選別し、LeuRSによる認識に必要なtRNA^{Leu}の構造を解析する研究を行った。ロイシル化RNAをナフトキシアセチル化することで、逆相HPLCを用いて、ロイシル化したRNAとしなかったRNAを分離することができた。

選び出されてきたRNAの特徴として、(1)ほとんどのRNAでD-ループにG18 G19が見られ、その位置は $\alpha=2$ 、 $\beta=2$ であった。(2)A15・U48の存在が共通していた。(3)D-ループの20Aの位置の塩基はほとんどのRNAでAであった。(4)T-ループにR59U60が共通していた。(5)可変アームに3あるいは4塩基対のステム構造の存在が推定されたが、ステムの5'側と3'側の組み方は一定していなかった。これらのうち(1)から(4)はtRNA^{Leu}のアイソアクセプター間で共通する特徴と一致しており、すでに我々が発表したtRNA^{Leu}のアイデンティティー要素の研究の正しさを裏付けるものである¹⁾。

1) Asahara, H. Himeno, H. Tamura, K. Hasegawa, T. Watanabe, K and Shimizu, M. *J. Mol. Biol.*, 231, 219-229 (1993)

1. はじめに 原始の海に溶けていたアミノ酸は希少でしかもラセミ体であったと思われる。そのような環境下にあった原始酵素は希少資源の有効利用の観点から、アミノ酸のL体とD体の両異性体に活性であったとしても不思議ではない。しかし、現在の酵素のほとんどはL体しか活性を有しないが、これは初期代謝の過程で何らかの必要が生じてD体が排除されL体だけが選択された結果だと考えられる。この原因を明らかにするためには、L体に特異的な現在の酵素上でD体に活性な反応系を構築しその活性部位の詳細を明らかにすることが必要である。tryptophanのL体に特異的なtryptophanaseは、高濃度のdiammoniumhydrogen phosphate溶液中でD体にも活性を示すことは既に報告した。今回は、D体に対する活性部位の性質について検討した。

2. 方法と材料 tryptophanase上でD-tryptophanに対するの活性部位とL-tryptophanに対する活性部位は競合するのか独立的なのか検討するために、L-tryptophan分解反応の阻害剤としてD-tryptophanを用い、L-tryptophan分解反応においてD-tryptophanがどのように阻害するのか調べた。次に、L-tryptophan及びD-tryptophanの分解反応の阻害剤としてpotassium pyruvateを用い、diammoniumhydrogen phosphate存在下でtryptophanaseの活性部位に対するpyruvateの結合可能性を調べた。その結果に基づいて、indole, potassium pyruvate及び $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ を基質として、diammoniumhydrogen phosphate存在下でのindole + pyruvate + $\text{NH}_3 \rightarrow$ tryptophanの合成反応の可能性を検討した。さらに、合成されたtryptophanの異性体型を調べた。

3. 結果 L-tryptophan分解時のD-tryptophanの阻害反応は、diammoniumhydrogen phosphate濃度の上昇と共に競争阻害→非競争阻害に変化する。このことはD-tryptophanに対するtryptophanaseの活性部位は、diammoniumhydrogen phosphateの濃度が50%飽和のときL-tryptophanの活性部位に対して独立的に作用することを示す。一方、potassium pyruvateはdiammoniumhydrogen phosphate存在下でもL-tryptophan及びD-tryptophan分解反応に対して競争的に働いたので、pyruvateはtryptophanaseの活性部位に結合することがわかる。そこで、diammoniumhydrogen phosphate存在下でtryptophanaseはtryptophanを合成することができるかどうか検討した結果、可能であることがわかった。indoleやpyruvateのような不斉炭素を持たない基質から合成されるtryptophanの異性体型はL体なのかD体なのか興味のあるところであるが、合成されたtryptophanはL体のみでD体は合成されなかった。このことからdiammoniumhydrogen phosphate存在下におけるtryptophanaseはD-tryptophan → indoleの分解方向では異性体認識能を低下させるが、pyruvate → tryptophanの合成方向では異性体認識能を保持することがわかった。

24 アミノ酸熱重合物の長時間緩和と非平衡下での局所パターン形成

Long-Time Relaxation of Thermal Heterocomplex Molecules and Their Local Pattern Formation in a Non-Equilibrium System

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)

物質進化や化学進化の模擬実験において、「初期条件の設定」は重要な問題である。特に多数の要素が相互作用する系では、初期条件の僅かな差が結果を大きく変えてしまう可能性を持つ。タンパク質、核酸のような高分子電解質は、解離性官能基を持ち、自由度が大きく多様な構造を持つ。そのため分子間相互作用は複雑で、その動的振る舞いを定量的に測定する事は困難である。分子生物学や生化学は物質を単離純化する事でその複雑さを克服し、分子レベルでの議論を可能とした。しかし物質の単離純化は物質単体の性質を同定する上で有効であるが、同時に物質間の相互作用による物理現象の多様性を制限する。

我々は「人為的初期条件の設定」を可能な限り排除することを目指した。分子レベルの議論の可能性を犠牲とし、アミノ酸熱重合物を単一分子種まで分類する事なく複合物として取扱い、巨視的な集積物の可視形態のレベルまで観察対象を粗視化した。特に濁度計、光学顕微鏡及び走査型電子顕微鏡を用いて、変化の動的過程にある非平衡下の物質の集積、及び空間に局在した形態を定量した。その結果、アミノ酸熱重合物の長時間緩和を明らかにし、エネルギーを取り込み、マイクロカプセル及び濃度パターンの形成を明らかにした。これを基に非平衡下での物質の特異な振る舞いを紹介する。

実験

1. アミノ酸熱重合物の温度変化に対する溶解析出を濁度及び顕微鏡による観察で調べた。析出量は温度履歴を伴って変化した。
2. 塩基性溶液に溶解したアミノ酸熱重合物に局所濃度変化を与えるとその緩和過程で濃度パターンを生成した。
3. 塩基性溶液に微小球が溶解する過程で溶解速度等の条件が整合すると、微小球表面にカプセルを形成した。そのカプセルの厚さは溶解速度に依存した。カプセルは100nm程度の微粒子(ナノ粒子)の再析出と凝集によって形成された(図1)。

参考文献

1. S. Sakurazawa, H. Honda, E. Imai and K. Matsuno: *Viva Origino* 22, 81(1994)
2. S. Sakurazawa, H. Honda, E. Imai and K. Matsuno: *Colloid and Polymer Science* 274, 899(1996)
3. S. Sakurazawa, T. Ishimori, H. Honda and K. Matsuno: *Colloid and Polymer Science*, in Press

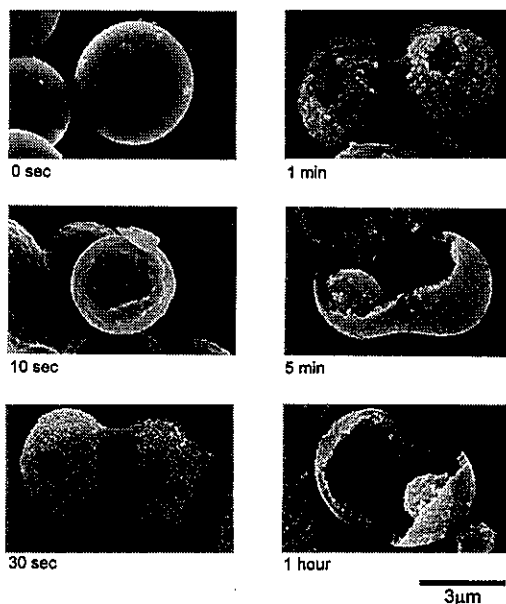


図1 ナノ粒子の付着によるマイクロカプセルの形成

蛋白質—アミノ酸関係に力学系構造はあるか？
 Any Dynamical System Relations Underlying
 in Protein-Aminoacid System ?

海野和三郎（近畿大）,
 Wasaburo Unno (Kinki Univ.)

データが十分にあれば力学系を経験的に構築できる。データが若干不足であると、その分が不確定性として量的に評価できる。一次データは、時間 t_i , 位置 s_j をアドレスとして、測定量 Q_k の表として通常与えられる。各アドレス毎に、時間や位置の離散的にずれたいくつかのアドレスに対する測定量およびそれらの適当な非線型の組み合わせをセットとしてそのアドレスに対する多次元ベクトルとして、多次元空間に埋め込んだものが力学系を作るための二次データである。アドレスの数だけ多次元空間に点がプロットされる。プロットされた点の分布を主成分解析すると、系の静的な記述となる。手持ちの蛋白質—アミノ酸システムの表では、26種の蛋白質について20種のアミノ酸の相対量があたえられている。時間の代わりに蛋白質中の Glutamic Acid の相対量（G-インデックス）を用い、場所の代わりに Ovalbumin 中のアミノ酸比量（O-インデックス）を用いる。アドレスの数は520である。一次データは、アミノ酸相対量 $Q(G_i, O_j)$ である。

520個の点の埋め込みには9次元程度の空間が適当である。従って、一次データから9個ほどの量を組み立てて、これらを成分とするベクトルを520個の各点に付与する。これが二次データで、これで準備的主成分解析を行う。何をベクトルの成分として採用するかは主観が入るが、アドレスの Q と共に一つ前 (G_{i-1}) や隣 (O_{j+1}) の Q 或はそれらの積などをとるのが普通である。試行錯誤が有効である。準備的主成分解析の結果得られる固有値によって対応する固有ベクトルが系の決定に与る度合いが分かるので、これで系の静的な記述ができたことになる。固有ベクトルという役者の性格も同時に分かるからである。

元素の周期率表のようなものが蛋白質—アミノ酸系の主成分分析で見られるかどうかであるが、第一主成分が離散的な値をとる傾向がみられたが、例えば不自然な変数の選びかたによるものかどうかはまだはっきりしない。

動的な性格を見るには、拡大主成分分析をする。それには準備的主成分分析で得られた主成分に加えて関心のある変動量の変化率とを変数とする主成分分析を行う。標準的な力学系の微分方程式とその信頼度が評価できる。その力学系の微分方程式を解いて解の性質を論ずるのが最終目的であるが、今回は、準備的主成分分析の結果に拡大主成分分析を試行するに止まる。

26

大進化の駆動力について

On the Driving Force of Macroevolution

山元皓二（長岡技術科学大学・生物系）

Koji Yamamoto

(Department of BioEngineering, Nagaoka University of Technology)

Darwin 以来、生物の進化は種に内在する変異に働きかける自然選択によってもたらされると考えられてきた。すなわち、種内に発生する変異は偶発的でしかも方向性を持たないとされており、このランダムな変異を素材にして自然選択が長い年月を賭けて編み上げてきた結果が、現在地球上に存在している多様な構造と機能を持つ生物であると説明される。進化の駆動力は自然選択ということになる。しかし、近年、この考え方に色々な側面から、とくに大進化を考える立場から疑問が投げ掛けられている。たとえば個体発生という複雑なシステムの発展過程は、それ自身の変化に制限を加える拘束をもつと考えられている。本報告では、生物を階層構造と捉えることにより、その構造の中にこそ生物が時間とともに変化していく駆動力が秘められているという考えを提案する。

生物は細胞を構造と機能の単位としている。単細胞の生物も存在するが、細胞を要素としてさらに大きな機能と構造の統一体である個体をつくりあげた多細胞生物も存在している。さらに個体が要素となり種というまとまりをもち、個体は寿命を持ち必ず消滅するものでありながら、種として持続していく生物も存在している。本報告で注目する生物の大進化とは、このような入れ子型の階層構造が生まれ、その構造と機能が多様化する過程を指している。

生物の入れ子型階層構造の特徴は、要素内にあって一つのまとまりを実現しているもろもろの関係と、要素間を繋ぎ留め一つのまとまりをもたらしめている関係との間に恣意性、飛躍があるということである。たとえば細胞内の低分子や高分子の働き合いのメカニズムと、それらの総合的な結果として現象してくる細胞の増殖や、情報の授受ということとは全く別のこととして考えることができる。それゆえ細胞という存在を否定しない低分子や高分子の変化は、自由に許されることになる。

このように、単位となる構造（1つのレベル）が集合して更に大きな構造（新しいレベル）をつくる時、単位となる構造はその大きな構造の要素に成長するとともに、大きな構造は新たに創出した構造と機能でもって他との関係をもつことができるようになり、さらに大きな構造をつくる。この過程は際限なく続くことが可能であるが、生物では個体は死に、次世代の個体が生殖によって細胞という単位から再発生する必要がある。このことにより生物の階層構造は閉じることになる。種としての存在が必然である。

生物は新たなレベルを創出するとともに、そのレベルの内部を分化させ複雑なシステムをつくりだす能力を備えており、変化の駆動力を他に必要とはしていないと言える。

我々はタンパク質の新しい進化分子工学系の構築に向けてウイルス型対応付け分子を試験管内で無細胞タンパク質合成系を利用して創製する試みをしている。ウイルス型対応付け分子とは、遺伝子型と表現型を一つの結合体とするものである。無細胞タンパク質合成系の利点は、合成されるタンパク質の配列が宿主細胞によって制限されないため、莫大な配列空間を探索できることにある。

ウイルス型対応付け分子のデザインの基本構想は、まず、(1) 10¹³-14のRNAの配列プールを用意する。次に(2) RNAの3'末端に遺伝子型と表現型を連結するためのリンカーをつなげる。(3) 無細胞タンパク質合成系を利用してmRNA(遺伝子型)とそれに対応するタンパク質(表現型)とをリボソーム上で連結する。(4) 遺伝子型と表現型が連結したウイルス型対応付け分子の中から目的の機能をもったタンパク質を選択する。(5) 選択したタンパク質に付いているRNAの情報を逆転写してDNAとし、Error-prone PCRにより変異、増幅させ、RNAに転写する。このサイクルを繰り返すことにより目的の機能をもつタンパク質を得る。

無細胞タンパク質合成系のリボソーム上で、遺伝子型と表現型を連結させるためにはリンカーが必要である。我々はリンカーとして、2'-デオキシシチジル(3'-5')ピューロマイシン(dCpPur)を用いることにし、これを合成した。ピューロマイシンをリン酸化して、リン酸化ピューロマイシンを合成し、3'-アミノ基と2'-水酸基をアセチル基で保護し、2'-デオキシシチジンとカップリングさせることによりdCpPurを合成した。

次に、リンカーのdCpPurの無細胞タンパク質合成系での性質を調べた。リボソームに取り込まれ、ペプチド転移反応の基質となる活性をもつことを、タンパク質合成阻害効果とタンパク質との連結により確認した。タンパク質合成阻害効果については、ピューロマイシン単独とdCpPurではその阻害様式が著しく異なった。ピューロマイシン単独ではランダムな阻害効果であるのに対して、dCpPurでは使用頻度の稀なコドンの部位で特異的に阻害した。dCpPurとタンパク質の連結に関しては、dCpPurがタンパク質合成を阻害しない濃度では、成熟タンパク質と連結できた。

以上述べたように、ウイルス型対応付け分子のリンカーの合成法が確立でき、このリンカーを用いてリボソーム上で核酸とタンパク質を連結できた。

28

エントロピー進化率によるHIV変化過程の解析

Analysis of change of HIV by entropy evolution rate

佐藤圭子・大矢雅則・宮崎智（東京理科大学情報科学科）

Keiko Sato, Masanori Ohya and Satoshi Miyazaki Masanori Ohya

(Department of Information Sciences, Science University of Tokyo)

本論文は、ウイルスの変化，とくにHIVの変化を情報理論をベースとして導入されたエントロピー進化率，相互エントロピーなどの情報尺度を用いて解析する．こうした解析を通して，HIVに感染した後，患者のCD4値，免疫等の変化の過程を遺伝子レベルから把握する指標を見いだすことが本論文の主たる目的である．

本論文を説明すると，2節では，この論文の解析的基礎となる遺伝子のアライメントと，エントロピー進化率について説明する．3節では，解析する患者のHIV遺伝子のデータについて述べ，4節でそのデータを第2節で説明した解析方法に適用する．5節では，解析結果をグラフ化して示し，6節で得られた結果を次の観点から考察する．

- (1) エントロピー進化率等の情動的尺度の変化と患者のCD4値の変化との関連．
- (2) 情動的尺度の変化と患者の発病との関わり．

HIV の符号構造の情報論的解析

Information theoretic analysis of coding structure of HIV

橋秀樹・大矢雅則（東京理科大学情報科学科）

Hideki Tachibana, Masanori Ohya

(Department of Information Sciences, Science University of Tokyo)

遺伝子が符号構造を有しているという観点から、情報理論をベースにして導入されたエントロピー進化率を基に導き出した指標から、HIVのDNAと人工的な符号との類縁度を測り、HIVの遺伝子の特徴やその変化について考察する。

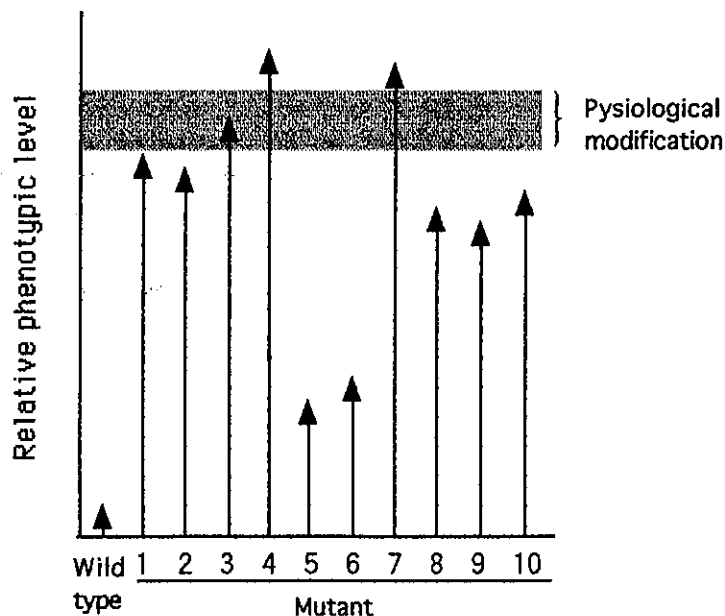
1. HIVを形成する上で重要な逆転写酵素、エンベロップ、ギャグタンパク質の遺伝子をデータとして用いてそれぞれの符号構造について考察する。
2. 1人の患者から検出されたHIVの遺伝子の変化と符号構造の変化を、発病との関わりなどから比較、検討する。

Hakobu Nakamura
 Biological Institute, Faculty of Science
 Konan University, kobe 658, Japan

We examined the relationship between physiological modification and genetic adaptation, both of which are processes necessary for survival, when the environmental conditions changed. Darwin (1856) did not consider the relationship of these survival processes. We have concluded that the first process to occur in response to environmental change is physiological modification, and that genetic adaptation as the second process is a result of random mutation. Some of these mutations which can reach to the physiological modification level will survive, as shown in the figure, and it is at this point that the natural selection occurs.

The figure is a conceptual model showing the relationship between physiological modification and genetic adaptation. The physiological modification is non-genetic and temporal. The genetic adaptation is mutational and is of significance in biological evolution. Mutants 3, 4, and 7 reach to the significant level that is at or above the physiological modification level whereas mutants 1, 2, 5, 6, 8, 9, and 10 do not. The former could therefore be preferential by selected in the new environment. However, it is clear that there was some important steps in evolution before the individuality of an organisms is established.

According to our studies (1964, 1965, 1987, 1979, 1989), drug resistant mutants of microbes occur spontaneously and are independent of the presence of drugs. Such spontaneous mutations have been accumulated in the genomes and thus the mutants have increased resistance levels with time even in the drug-free media. Therefore, we can isolate the mutants without contacts of the drugs through the so-called sib-selection.



真核生物の起原と初期進化
Origin and Early Evolution of Eukaryotes

長谷川政美 (統計数理研究所)
Masami Hasegawa (Institute of Statistical Mathematics)

原生生物のなかには、真核生物でありながらミトコンドリアなどのオルガネラをもたないものが存在する。ミトコンドリアをもたない原生生物のうちで、真核生物の進化の初期の段階でほかの系統から分かれたものが見つければ、それが、ミトコンドリアが共生する以前の真核生物の祖先型生物である可能性がある。Cavalier-Smithは、このような祖先型真核生物を、アーケゾアと呼んだ[1]。彼は、*Giardia*などのディプロモナス類、*Nosema*などの微孢子虫類、*Trichomonas*などのトリコモナス類をアーケゾアの候補として挙げている。われわれは、これらの中間の原生生物が真核生物のなかでどのような系統的位を占めるかについて、ペプチド鎖伸長因子など保存的な蛋白質を用いて、分子系統学的な解析を行ってきた[3][4][5][6][7][8][10]。その結果、ミトコンドリアを持たないこれらの原生生物が、真核生物の進化の極く初期の段階でほかの系統から分かれた可能性が高いことが分かってきた。ところが、最近トリコモナス類がかつてミトコンドリアを持っていた可能性が指摘されている[2][9]。本報告では、アーケゾアが本当に存在するかどうかの問題について議論する。

参考文献

- [1] CAVALIER-SMITH, T. (1987). Eukaryotes with no mitochondria. *Nature*, **326**:332-333.
- [2] GERMOT, A., PHILIPPE, H. and GUYADER, H. (1996). Presence of a mitochondrial-type 70-kDa heat shock protein in *Trichomonas vaginalis* suggests a very early mitochondrial endosymbiosis in eukaryotes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **93**:14614-14617.
- [3] HASHIMOTO, T. and HASEGAWA, M. (1996). Origin and early evolution of eukaryotes inferred from the amino acid sequences of translation elongation factors 1 α /Tu and 2/G. *Adv. Biophys.*, **32**:73-120.
- [4] HASHIMOTO, T., NAKAMURA, Y., KAMAISHI, T. and HASEGAWA, M. (1997). Early evolution of eukaryotes inferred from protein phylogenies of translation elongation factors 1 α and 2. *Archiv für Protistenkunde*, in press.
- [5] HASHIMOTO, T., NAKAMURA, Y., KAMAISHI, T., NAKAMURA, F., ADACHI, J., OKAMOTO, K. and HASEGAWA, M. (1995). Phylogenetic place of a mitochondrion-lacking protozoan, *Giardia lamblia*, inferred from amino acid sequences of elongation factor 2. *Mol. Biol. Evol.*, **12**:782-793.
- [6] HASHIMOTO, T., NAKAMURA, Y., NAKAMURA, F., SHIRAKURA, T., ADACHI, J., GOTO, N., OKAMOTO, K. and HASEGAWA, M. (1994). Protein phylogeny gives a robust estimation for early divergences of eukaryotes: phylogenetic place of a mitochondria-lacking protozoan, *Giardia lamblia*. *Mol. Biol. Evol.*, **11**:65-71.
- [7] KAMAISHI, T., HASHIMOTO, T., NAKAMURA, Y., MASUDA, Y., NAKAMURA, F., OKAMOTO, K., SHIMIZU, M. and HASEGAWA, M. (1996). Complete nucleotide sequences of the genes encoding translation elongation factors 1 α and 2 from a microsporidian parasite, *Glugea plecoglossi*: implications for the deepest branching of eukaryotes. *J. Biochem.*, **120**:1095-1103.
- [8] KAMAISHI, T., HASHIMOTO, T., NAKAMURA, Y., NAKAMURA, F., MURATA, S., OKADA, N., OKAMOTO, K., SHIMIZU, M. and HASEGAWA, M. (1996). Protein phylogeny of EF-1 α suggests microsporidians are extremely ancient eukaryotes. *J. Mol. Evol.*, **42**:257-263.
- [9] ROGER, A., CLARK, C. and DOOLITTLE, W. (1996). A possible mitochondrial gene in the early-branching amitochondriate protist *Trichomonas vaginalis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **93**:14618-14622.
- [10] YAMAMOTO, A., HASHIMOTO, T., ASAGA, E., HASEGAWA, M. and GOTO, N. (1996). Phylogenetic position of mitochondrion-lacking protozoan, *Trichomonas tenax*, based on amino acid sequences of elongation factors 1 α and 2. *J. Mol. Evol.*, in press.

32

サーモプラズマと真核細胞

Thermoplasma and Eukaryotic Cells.

山岸明彦・大島泰郎（東京薬科大学・生命科学部）

Akihiko Yamagishi and Tairo Oshima

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

リソソームRNAや蛋白質合成の伸長因子などいくつかの遺伝子の一次構造の分子進化学的解析から、生命の初期進化に関する様々な情報が得られるようになってきている。それらの結果から、現在知られている全ての生物は共通の祖先（Commonote）に由来していること、共通の祖先から生物は二つのグループに分かれその一方は真正細菌に、他方はその後さらに古細菌と真核生物に分かれたこと、等が明らかになりつつある。

また、真核生物のオルガネラのうちミトコンドリアは好気性細菌（プロテオバクテリア）に由来し、葉緑体はシアノバクテリアに由来していること、いずれもそれらの真正細菌の細胞内共生から派生してきた構造体であることが明らかになってきている。

真核生物の細胞質はおそらく古細菌の祖先に由来していると考えられているが、その詳細は不明である。とりわけ、真核生物の細胞はその大きさやゲノムサイズがこれまで知られている真正細菌や古細菌に比べてはるかに大きく、古細菌様の生物がそのまま葉緑体やミトコンドリアの細胞内共生の宿主になるとは考えにくい。また真核細胞の内部には、葉緑体やミトコンドリアなどの2枚の膜構造を持つオルガネラの他にも小胞体やゴルジ体、リソソーム等の1枚の膜からなる構造体が多く見られる。原核生物ではこうした細胞内の膜構造はほとんど発達していない。

我々は、好酸好熱の古細菌サーモプラズマの研究から原始真核細胞形成過程を示唆するようないくつかの結果を得ているのでそれについて紹介する。

我々は、箱根付近の温泉から新たに十数株のサーモプラズマを単離した。これらは、細菌学的な性質、16S rRNAの塩基配列から*Thermoplasma acidophilum*と同定された。しかし電子顕微鏡による観察を行うと、株により大きな形態の差を示した。中でもそのうちの一株は、相互に細胞が融合して巨大な多核の構造を示した。また、サーモプラズマは細胞外に細胞壁を持たないが、原子間力顕微鏡による観察を行うと細胞内に骨格様構造が観察された。我々は、サーモプラズマ様の細胞の細胞融合が原始真核細胞形成過程で起こったのでは無いかと推定している。

ミトコンドリアに存在する D-アミノ酸

D-Amino Acids in Mitochondria

長田 洋子¹、堺 正樹¹、飯田 晃仁¹、長田久美子²(¹姫路工大・理・生命、²兵庫医大・細菌)

Yoko Nagata, Masaki Sakai, Teruhito Iida and Kumiko Kawaguchi-Nagata

(Department of Life Science, Himeji Institute of Technology;

Department of Bacteriology, Hyogo College of Medicine)

ミトコンドリアは、細菌が古細菌または単細胞原生動物と共生し進化した結果、現在のような細胞内小器官になったと考えられている。その根拠として挙げられる事実には、1)ミトコンドリアは核とは独立した DNA とその複製系を持ち、タンパク質合成をおこなっている、2)ミトコンドリアの DNA 構造は細菌型の環状でありイントロンを含まない、3)細菌には効くが動物細胞には効かない抗生物質が、ミトコンドリアに効く、などがある。16SrRNA の塩基配列の比較にもとづいた研究によると、好気性の紅色細菌がもっとも近い祖先であるらしい。

そこで、D-アミノ酸含有量の観点からミトコンドリア共生説を裏付ける目的で本研究をおこなった。D-アミノ酸は、一般的に、細菌には多く存在するが真核生物(単細胞原生動物から高等動物・植物を含む)には少ない。好気性の紅色細菌として大腸菌とパラコッカスを用い、ミトコンドリアとの間で D-アミノ酸組成を比較した。また、大腸菌については好気培養したものと嫌気培養したものを比較することによって、電子伝達系の諸タンパク質と D-アミノ酸の関係を探る試みをした。

方 法

ミトコンドリアはラットの肝臓細胞から蔗糖液を用いて定法に従って調整した。低張液中で破碎したミトコンドリアと、培養後、集菌・超音波破碎した大腸菌 (*Escherichia coli*) およびパラコッカス (*Paracoccus denitrificans*) は、140 000 *g*・30 min 遠心した。上清にトリクロロ酢酸を5%になるように加え、生じた沈殿画分は結合型アミノ酸の分析に、上清画分は Dowex50 カラムによる精製の遊離アミノ酸の分析に用いた。一方、低張液中で破碎したミトコンドリアから内膜+マトリックス画分と外膜画分も調整した。この両画分については結合型アミノ酸の分析をおこなった。

結合型アミノ酸の分析のために沈殿画分を減圧乾燥し、6 M HCl 中 3, 6, 16, 24 h 110±0.5°C で加水分解した。D- L-アミノ酸の同定・定量のために、加水分解産物や遊離アミノ酸を FDAA(1-fluoro-2,4-dinitrophenyl-5-L-alanine amide)化し、2次元薄層クロマトグラフィーにより各 FDAA-アミノ酸に分離、抽出した。これを逆相カラムを用いた HPLC につけ 340 nm の吸光度でモニターした。

結 果

結合型アミノ酸についてはミトコンドリアと大腸菌・パラコッカスの D-アミノ酸分布に類似性が認められた。

シンポジウム

(B)

進化フローリアクター

- ◎海底熱水噴出孔環境下における有機物の生成 小林憲正 (横浜国立大・工)
- ◎高温水溶液中における核酸の分解および生成反応の速度論的研究 川村邦男, 吉田晶子,
松本 修, 梅原雅俊
(大阪府立大・工)
- ◎自己複製分子と光学活性 湯浅精二 (大阪大・理院)
- ◎原始地球の高温熱水環境と進化フローリアクター 柳川弘志 (三菱化学・生命研)
- ◎進化フローリアクターの設計指針 松野孝一郎 (長岡技術科学大・生物系)

SB1

海底熱水噴出孔環境下における有機物の生成

Formation of Organic Compounds in Submarine Hydrothermal Vent Environments

小林憲正 (横浜国立大学工学部)

Kensei Kobayashi (Faculty of Engineering, Yokohama National University)

1970年代末、ガラパゴス拡大軸や東太平洋海膨などで海底から300℃以上の熱水が湧きだしているのが発見された。このような「海底熱水噴出孔」はその後、世界各地で続々と発見され、海洋化学、地球物理学、生態学、資源科学など種々の観点から関心を集めているが、生命の起源の立場からも極めて興味深い存在である。その理由としては、次のようなものがあげられる。

(1) 還元的な環境： 海底熱水噴出孔海水のメタン、水素、硫化水素、アンモニアなどのいわゆる還元性ガスの濃度は一般の海水中濃度よりもはるかに高いが、このような「還元的な環境」は、有機物を無生物的に生成する際に非常に有利であることが知られている。

(2) エネルギーの供給とquench効果 メタン、二酸化炭素、アンモニアなどの単純な化合物からアミノ酸などの生体分子の生成にはエネルギーが必要である。海底熱水噴出孔においては、マグマを熱源に用いることが可能である。地殻の裂け目からしみこんだ海水はマグマの熱により急激に約600℃に加熱されるが、軽くなって上昇し、接触面を離れ、冷海水中に噴き出され、急冷(quench)される。つまり、海底熱水噴出孔の場合、いったん生成した有機物がquench効果により熱分解を免れることが期待される。この場合、海底熱水噴出孔は熱勾配のついたフローリアクターとみなすことができる。

(3) 重金属イオンによる触媒効果 海底熱水噴出孔海水中は弱酸性であり、また通常の海水と較べて種々の金属イオン濃度が異常に高いことが知られている。特に、鉄、マンガン、亜鉛といった遷移金属は通常の海水の100000倍以上の高濃度であることが報告されている。これら遷移金属イオンは生化学的触媒作用を示すことが知られている。

このような環境下での有機物の無生物的生成は紅海海底熱水噴出孔海水中的のアミノ酸濃度異常などから推測されてきた。また、海底熱水噴出孔環境下でのアミノ酸の生成の可能性は、いくつかの模擬実験によっても確認されている。例えば、海底熱水噴出孔海水を模した溶液(アンモニウム、鉄(II)、亜鉛、マンガン(II)、銅(II)などのイオンを加えた水溶液)をパイレックス製のチューブに入れ、オートクレーブ内で窒素・メタン・二酸化炭素の混合ガスで加圧・加熱(約300℃・約200気圧)後、酸加水分解すると、グリシン、アラニンなどのアミノ酸が生成物中に検出された。この反応には、器壁から溶出したシリカが必須であることも示唆された[1,2]。アミノ酸の収率は極めて低い。これは生成したアミノ酸のかなりの部分がさらに加熱されることにより分解してしまうためと思われる。

実際の熱水系では、高温高圧環境下での有機物の生成の後、生成物が急冷されて分解を免れる機構が考えられるが、このような機構を実験的に確かめるためには高温部と低温部を有するフローリアクターの使用が不可欠である。また、実際の海底熱水系をフローリアクターに用いる可能性も考えられる。

[1] H. Yanagawa and K. Kobayashi, *Origins Life Evol. Biosphere*, 22, 147 (1992).

[2] K. Kobayashi et al., "Biogeochemical Process and Ocean Flux in the Western Pacific," eds. by H. Sakai and Y. Nozaki, Terra Scientific, Tokyo (1995), pp. 523-535.

高温水溶液中における核酸の分解および生成反応の速度論的研究
Kinetic Analysis for the Degradation and Formation of Nucleic Acids
in Aqueous Solutions at High Temperatures

川村邦男, 吉田晶子, 松本 修, 梅原雅俊 (大阪府立大学, 工学部)
Kawamura Kunio, Yosida Akiko, Matumoto Osamu, Umehara Masatoshi
(Osaka Prefecture University)

1. RNAは情報を保持する機能と酵素機能の両方を持つため、地球上に生命が出現した過程で重要な役割を果たしたものと考えられる。一方、高温領域(373~647K)の水も生命の出現に重要な役割を果たしたものと考えられる。例えば、熱水中で生育する高度好熱性細菌は、地球型生命の共通の祖先に近い特徴を持っている可能性が指摘されている[1]。しかしこれら2つの仮説(RNAワールド仮説と生命の熱水起原説)を同時に考慮して行なった研究はなかった。すなわちRNAは高温水中では不安定であるため情報を保持することは難しいと考えられているが、RNAが安定に存在できなければ、RNAワールド仮説と熱水起原説は互いに矛盾する。著者はこのような観点から、RNAが高温水中(373~647K)でどのような化学的な機能を持ち、RNAワールド仮説が熱水起原説とどのような関係にあるのかを調べる研究に着手した。今回はアデノシン5'-三リン酸(ATP)を用い、第1にATPからオリゴアデニル酸が生成するかどうか、第2にATPの加水分解の速度を測定してその反応挙動を調べた。

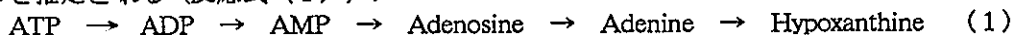
2. 実験

ATP 0.05 M, NaCl 0.1 M, MgCl₂ 0.1 M, pH緩衝剤としてイミダゾール0.1 Mおよびリン酸(pH=7)を含む溶液を調製し、ガラス封管あるいはプラスチック製バイアルに仕込み、加熱炉にいれ所定時間反応させた。試料の分析は、逆相HPLCおよびイオン交換HPLCを用いた。反応速度の解析には速度解析プログラムSIMFITを用いた。

3. 結果および考察

(1) イミダゾールの効果とオリゴマーの生成: ATPは一定の湿度条件下でイミダゾールと反応して、ヌクレオチド5'-リン酸イミダゾリドを生成することが知られている。このイミダゾリドは鋳型指示反応、あるいは金属イオンや粘土鉱物の触媒作用によってオリゴヌクレオチドを生成する。そこで、高温水中でRNAが生成するかどうかを調べるために、高温水中でATPとイミダゾールからイミダゾリドが生成し、オリゴアデニル酸が生成する可能性を調べた。今回の実験条件では、イミダゾリドおよびオリゴアデニル酸は形成されなかった。すなわちATPは加水分解された。そこで以下この加水分解反応について調べた。

(2) 373-523 Kにおける加水分解反応: 各温度条件下で反応時間を5分間あるいは30分間としたときの生成物をHPLCで分析した。標準物質と生成物の保持時間を比較して生成物を同定した。その結果、加熱によってADP, AMP, アデノシン, アデニン, ヒポキサンチンが生成することが確認された。これらの生成物はATPの逐次加水分解反応によって生成したものと推定される(反応式(1))。



(3) 反応速度の測定: この反応を速度論的に解析するために373, 398, 423 Kで、反応速度を測定し速度定数を決定した。各加水分解過程の速度定数はATP > ADP > AMP > アデノシンの順序で減少した。この速度定数値の温度依存性から523 Kにおける各成分の加水分解反応に対する半減期を推定した結果、1.3秒(ATP), 1.6秒(ADP), 0.95秒(AMP), 4.0秒(アデノシン)であり、きわめて速い反応であることが定量的に推定された。

本研究によって、ATPの加水分解速度は高温中ではきわめて大きく、RNAが定常的に存在するためには、RNAの生成速度が大きくなければならないことを知った。現在、オリゴヌクレオチドの分解反応および生成反応の速度を高温水中で測定している。この結果も紹介したい。

[1] 大島泰郎, :1996, *Viva Origino* 24, 52-53.

自己複製分子と光学活性 Self-replicative molecule and its chirality

湯浅精二 (大阪大学大学院理学研究科生物科学専攻)

Seiji YUASA

(Department of Biology, Graduate School of Science, Osaka University)

フローシステムのモデルとして、1つの管の中で反応がおこりその生成物が移動すると考えると、管の途中での冷却、加熱、照射などにより生成物の移動速度の変化と、その結果の急激な物質の濃縮を期待することができる。初めに、炭素と窒素をベースにしたアズルミン酸のような化合物の生成が期待できる。この物質は自ら多様化するとともに、通過する物質を吸着することができる。分子種は加速度的に多様化し、分子クロマトグラフィーがおこることが期待できる。そこで分子選択が進み、分子の新しい機能と構造が生まれる。それぞれの時間的な問題を無視するれば分子の多様化はこのような図式になるであろう。自己複製分子も例外ではない。その分子の質を決めるのが光学活性の問題である。

われわれは核酸の存在下で、Lアミノ酸がDアミノ酸よりも圧倒的に強い親和力を核酸との間で形成することをカラムクロマトグラフィーのシステムを用いて示した。a priori に核酸が存在したとすれば、今日の核酸とタンパク質という情報分子の組み合わせが生じることを示唆した。この a priori なる存在が理論的、実験的に否定できるのであるだろうか？もしできなければ、今日の分子の存在様式は不可避的な本質ということになる。

核酸が情報分子であり且つ自己複製分子であるための決め手は C4' の chirality である。anomer と epimer の問題は、今日見られる分子構造が保障されないことから対象外と考える。今日の見られる分子とその形は、歴史的な反映であり最も合理的な存在様式であると考えからである。

DNA がヘリックス構造をとったとき、糖の面は回転軸に対して垂直であり、塩基面に対して90度回転させて直角になっている。この構造を決めているのが、C4' の chirality と C2' endo である。つまり、ヘリックスは糖の構造に基づいている。分子間の最大の水素結合を得るために糖の面の角度が変化し、それを蝶番役のリン酸が固定する仕組みである。情報分子になるための基礎がここにある。

最近まで achiral な分子を用いた研究があるが、acyclic 糖や PNA に見られるように塩基の立体的な位置関係が保持されれば、支持体が糖であれペプチドであれ問題なく情報伝達が可能であることが判明した。PNA のように DNA との間で情報分子としては機能を果たすが、次に互いの水素結合を切って離れることが相対的に困難であるのは、自己複製分子としての機能が極めて劣ることになる。

これらの実験は chirality の問題から一時避難のものである。「塩基の位置関係を正確に保持した糖とリン酸による支持体をもった今日の核酸が情報分子として最も適当である」ことの歴史過程を異なる観点から取り組むことも面白いであろう。この核酸の chirality は、先にも述べたように、他の分子の chirality の選択にも強く関係している可能性が考えられるから、その起原と発展が特に注目される。

前生物的合成の律速段階はヌクレオチドである。しかし、その合成も困難であり、またコンピュータシミュレーションによって予想される分子モデルを提示するには余りにも情報が多いことから、自己複製分子の進化の設計をすることが極めて困難である。今回は、DNA をモデルにして分子の chirality と機能分子の構造と機能について論考したい。

最近、海底の高温の熱水環境下で生命は誕生したのではないかという可能性が注目されるようになってきた。ガラパゴス諸島付近、東太平洋海膨（深海底の隆起部）、ファン・デ・フカ、カリフォルニア湾内のワイマスベズン、マリアナ、沖縄などの海底の地殻の裂け目から高温の熱水が噴き出していることが見出されている。なかでも、北緯21°の東太平洋海膨の水深2600メートルのところにあるブラックスモーカーと呼ばれる噴出孔は、350℃の超高温の熱水を噴き出している。海底熱水噴出孔は、メタン、硫化水素、水素、アンモニアなどの濃度がまわりの海水に比べて異常に高く、いわゆる還元的な環境である。海底熱水噴出孔は温度が高く、規模が大きいため化学反応を進めるためのエネルギー源が豊富である。また、鉄やマンガンや亜鉛などの金属イオンの濃度が極めて高いなどの特徴も持っている。

このような高温の熱水環境下で有機物が無生物的に合成されるであろうか。私たちは海底熱水噴出孔海水とおなじ組成の模擬熱水噴出孔海水をつくり、そのなかでメタンを加圧、加熱し、アミノ酸など生体構成分子が生成するかどうかしらべてみた。模擬熱水噴出孔海水をガラス管に入れ、これを加圧釜に入れて設置した後、メタンを40気圧、窒素を40気圧張り込み、325℃で6時間加熱した。圧力は最終的には200気圧に達する。その結果、グリシンやアラニンなどのタンパク質アミノ酸やβ-アラニンやγ-アミノ酪酸などの生体のタンパク質を構成していないアミノ酸も生成することがわかった^{1,2)}。

さらに、高温の熱水環境下でアミノ酸からペプチドや細胞様構造が形成されるかどうかをしらべてみた。グリシン、アラニン、バリン、アスパラギン酸をふくむ水溶液をガラス管中に入れ、250℃、134気圧で6時間加熱すると、直径1.5-2.5ミクロンの膜構造をもつ微小球が生成することを見出した³⁾。この微小球は300℃あるいは350℃の反応でも形成されるが、200℃ではほとんどできなかった。

海底熱水噴出孔環境下で化学反応を進めるためのエネルギーは高温の熱である。地殻の裂け目からしみ込んだ海水がマグマの熱で急激に熱せられ、ただちにそのマグマとの接触面を離れ冷却される。煙突状の噴出孔をもつスモーカー型では、350℃以上の熱水が4℃の冷海水中に急激に噴き出される。一般に有機分子は高温で合成されやすいが、分解もされやすい。海底熱水噴出孔のシステムでは、噴出孔中の高温状態で合成された有機分子を安全な低温の状態に移すことが可能である。つまり、海底熱水噴出孔は高温から低温へ熱の勾配のついたフローリアクターである。しかし、上述した私たちの実験系は閉鎖系、静止系である。閉鎖系での実験の大きな問題点は合成されたものが分解されやすいことである。この問題点を克服するためには、解放系であるフローリアクターを用いて高温の熱水実験を行う必要がある。フローリアクターを設計する上での問題点は、気体、液体、固体の三者の混合系でどのようにして高温、高圧の状態を調節、維持するのか、硫化水素のような腐食性の強い物質に対してどのような材質を用いるのか、などである。フローリアクターを用いた初期地球の化学進化実験の可能性について考えてみたい。

1) Kobayashi, K., Kohara, M., Gamo, T., and Yanagawa, H., *Origins of Life Evol. Biosphere*, **24**, 324(1994); 2) Kobayashi, Kohara, M., Gamo, T., and Yanagawa, H., *Biogeochemical Processes and Ocean Flux in the Western Pacific*(Eds. Sakai, H. and Nozaki, Y.), pp. 523, Terra Scientific Publishing Company, Tokyo, 1995; 3) Yanagawa, H. and Kobayashi, K. *Origins Life Evol. Biosphere*, **22**, 147(1992).

進化フローリアクターの設計指針

松野孝一郎 (長岡技術科学大学・生物系)

1) 目的

原始地球上の熱水環境下で進行したと想定される、自己複製分子出現に至る化学進化を模擬的に実現する。このことを実現可能とするリアクターの設計と、運転を行う。

2) 計画する進化フローリアクターの特徴

原始地球上での熱水環境下の特徴は巨視的な熱力学勾配が随所で発生していた点にあると想定される。特に海底から熱水が噴出する近傍では海水の温度勾配と圧力勾配が常時発生する。この熱力学勾配が周囲環境に向かって緩和して行く途中において、その勾配の高いところから低いところへ向かってエネルギー流が発生する。このエネルギー流がアミノ酸分子などの単量体の重合反応のためのエネルギー源として使われた可能性がある。

熱力学勾配に沿って発生するエネルギー流を分子重合のためのエネルギー源として利用する際の特徴は次の三点にある。

{1} 熱力学勾配を低下、解消させる分子過程が随所で発生する。

{2} 分子の重合反応は熱力学勾配を低下させる典型的な分子過程である。(空間的に緩和して行くエネルギーの一部を分子間の結合エネルギーに変換させることにより、エネルギー緩和を局所的に完遂させ、しかも分子重合が結果として得られる。)

{3} 熱平衡系での重合反応に固有な制約を受けない。(重合反応のためにエネルギー障壁を越える際、そのためのエネルギーは平衡系での熱揺らぎではなく、熱力学勾配を解消させる過程から獲得する。)

この三点を可能とする熱力学勾配を実験室内で実現することが本研究計画の主要点である。

3) 進化フローリアクター設計のための指針

{1} 高温、高圧の熱水を低温、低圧の水環境に連続的に放出する。高温、高圧としては水の三重点までを含める。

{2} 放出する熱水に化学進化、分子進化に係わる各種分子を混入させる。

{3} 成生物はリアクターを運転しながら、常時取り出す。

{4} 成生物として期待するのはオリゴペプチド、オリゴヌクレチドである。

一般講演

生物進化 (34-42)

34

高度好塩性古細菌 *Haloferax volcanii* のアスパルチルtRNA合成酵素 Aspartyl tRNA synthetase of high level halophilic archaeobacterium *Haloferax volcanii*

篠田洋幸・山地亮一・中野長久 (大阪府立大学・農学部)
居原秀*・石神正浩* (大阪府立大学・総合科学部*)

Hiroyuki Shinoda, Ryouichi Yamaji, Yoshihisa Nakano (Department of Applied Biological Chemistry, Osaka prefecture University),
Hidesi Ihara* and Masahiro Ishigami* (College of Integrated Arts and Sciences, Osaka prefecture University*)

◆序論

アミノアシルtRNA合成酵素 (ARS) は蛋白質合成系に関与する酵素であり、アミノ酸をtRNAと結合させる働きを持っている。

ARSは、核酸の遺伝情報に基づいて蛋白質の合成が可能となったセントラルドグマの成立に不可欠であり、セントラルドグマと共に共進化した可能性を持ち、現在の蛋白質合成系における普遍的遺伝コードの確立に、重要な役割を果たしたと推測される。

ARSは20種の酵素のファミリーを形成し、それぞれが特異的アミノ酸を識別し、対応するtRNAのエステル化反応を行う。

現在、真核生物および真正細菌においてのARSについては、多くの研究がなされている。しかし、真核生物、真正細菌に並ぶ第三の生物界、古細菌のARSの構造と機能についての研究は、あまり行われていない。

◆目的

本研究では、古細菌の中の高度好塩菌、*Haloferax volcanii*の20の合成酵素の中の、グルタミルtRNA合成酵素 (GluRS) とアスパルチルtRNA合成酵素 (AspRS) に注目して研究を進めた。

GluRSは、グルタミニルtRNA合成酵素 (GlnRS) と類似した構造を持っており、それはGluRSとGlnRSが共通の祖先から進化したことを示している。GlnRSは、多くの原核生物ではタンパク質合成に必ずしも必要ではないことが知られており、特定の生物種の中のGluRSはグルタミン酸のtRNAとグルタミンのtRNAをグルタミン酸でアミノアシル化し、グルタミン酸をグルタミンのtRNAにミスアシレーションしたものはアミド基転移によってグルタミンへと変換している。

当研究室で以前好酸好熱性古細菌の *Sulfolobus acidocaldarius* を使って数種類のARSの精製を試みたところ、GluRSは数本のカラムでAspRSと全く同じ溶出パターンを示した。

GluRSはclass IのARSであり、AspRSはclass IIのARSであることから、両者は全く別の祖先から進化したと考えられているが、ここでは古細菌のGluRSとAspRSが同一タンパク質で触媒されている可能性が示唆された。

本研究では高度好塩性古細菌の *Haloferax volcanii* のAspRSとGluRSの関係、及びその構造と機能を明らかにし、その分子進化的な位置づけを明らかにして、GluRSの起源・進化について考察しようと試みた。

◆方法

培養した *Haloferax volcanii* を超音波破碎し、超遠心によって不溶性物質を除去したものを粗酵素溶液とした。各種クロマトグラフィーでGluRS活性とAspRS活性を持つ酵素を精製し、リシルエンドペプチターゼ処理後、各ペプチド断片を逆相クロマトグラフィーによって分離、分取した。各ペプチドのアミノ酸配列を分析した。

◆結果と考察

Haloferax volcanii のGluRSは種々のクロマトグラフィーにおいて、AspRSと分離できない。GluRS、AspRSの双方の活性の極大値を示すフラクションの中のタンパク質の一次構造を解析した所、既知のAspRSと高いホモロジーを示した。

Haloferax volcanii においてGluRSとAspRSは単一の酵素である可能性もあると考えている。

高度好塩性古細菌 *Haloferax volcanii* のグリシルtRNA合成酵素
Glycyl tRNA synthetase of high level halophilic
archaeobacterium *Haloferax volcanii*

宅間弘樹 (大阪府立大学・総合科学部)、篠田洋幸 (大阪府立大学・農学部)、居原秀、石神正浩 (大阪府立大学・総合科学部)

Takuma Hiroki (College of Integrated Arts and Sciences, Osaka prefecture University), Hiroyuki Shinoda (Department of Applied Biological Chemistry, Osaka prefecture University),
Hideshi Ihara and Masahiro Ishigami (College of Integrated Arts and Sciences, Osaka prefecture University)

<序論>

アミノアシルtRNA合成酵素 (ARS) とはtRNAとそれに対応するアミノ酸を特異的に認識し、特定のアミノ酸を特定のアンチコドンに対応させるタンパク質合成系にとって重要な役割を担っている酵素である。ARSはタンパク質合成系と共に進化し、ARSの進化がタンパク質合成系の進化に大きく関与したと考えられている。

現在、真核生物、真正細菌においてARSはかなり研究がなされているが、古細菌においてはARSの構造、機能については殆ど研究がなされていない。

<目的>

グリシルtRNA合成酵素 (GlyRS) は、アミノ酸をtRNAの3'OH基に結合させ活性中心に共通なmotif 1、2、3を持つclass II ARSに属する。

class II ARSは殆どが α_2 の二量体を形成しているが、GlyRSの場合、真核生物と好熱性真正細菌では α_2 の二量体で、大腸菌とインフルエンザ菌では $\alpha_2\beta_2$ の四量体の構造を持つ。このようにGlyRSは、超生物界を越えて多様に進化したようである。古細菌ではGlyRSの1次、2次、3次構造は殆ど解明されていない。

本研究では高度好塩性古細菌である *Haloferax volcanii* のGlyRSに注目し、GlyRSの多様な分子進化の過程を明らかにし、タンパク質合成系の進化過程を明らかにすることを目的としている。

<方法と結果>

細胞を破壊し、超音波破碎、超遠心、により粗酵素の調製を行い、各種クロマトグラフィーによりGlyRSの精製を行った。SDS-PAGEによってGlyRSと予想されるバンドを特定し、そのN末端配列を解析した。

36

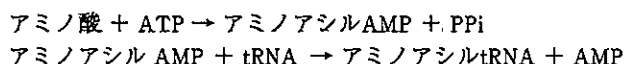
高度好塩性古細菌 *Haloflex volcanii* のアラニル tRNA 合成酵素 Alanyl tRNA synthetase of high level halophilic archaeobacterium *Haloflex volcanii*

上垣内文規・篠田洋幸・居原秀・石神正浩
(大阪府立大学・農学部・総合科学部)

Fuminori Kamigakiuti, Hiroyuki Shinoda*, Hideshi Ihara
and Masahiro Ishigami

(College of Integrated Arts and Sciences, Department of Applied Biological
Chemistry*, Osaka prefecture University)

アミノアシル tRNA 合成酵素 (ARS) は、mRNA の塩基配列が蛋白質のアミノ酸配列に翻訳される際に、tRNA とその tRNA に対応する特定のアミノ酸を正確に結合させる触媒機能を持つ酵素である。その反応を以下に示す。



ARS は、真核生物はもちろん、原核生物も共通でもっており、よってこれら共通の先祖の生物も持っていると考えられる。また大腸菌などで、その tRNA に対する認識機構が詳しく解析されている。

中でも、class II に属するアラニル tRNA 合成酵素は、真正細菌や真核生物においては、tRNA のアクセプターステムの G3-U70 の部分が主な認識部位で、ARS の中では、単純な部類にはいる。しかしながらサブユニット構造において、大腸菌では、4量体を形成しているのに対し、ヒト、カイコでは、単量体である。また一次構造においては、モチーフ 1、2、3 といわれる活性部位は、極端に N 末端側に集まっており、いわば、すべての機能が N 末側に圧縮されている形になっている。このような構造は、他のアミノ酸に対応する ARS には見られない構造である。

これらの事は、真正細菌や真核生物では明らかになっているが、古細菌においては、ほとんど調べられていない。

本研究では、高度好塩性古細菌 *Haloflex volcanii* のアラニル tRNA 合成酵素の精製を行いその一次構造を明らかにし、他の生物群のそれと比較することにより、アラニル tRNA 合成酵素の起源、進化を考える。

方法

高度好塩性古細菌 *Haloflex volcanii* の培養を行い、菌体を超音波破碎を行った後、遠心し不溶物を除去し種々のカラムを用いてアラニル tRNA 合成酵素の精製を行った。また SDS-PAGE により、アラニル tRNA 合成酵素のものと思われるバンドを特定し、その N 末端アミノ酸シーケンスを行った。

結果

SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動の結果から *Haloflex volcanii* のアラニル tRNA 合成酵素のものと思われるバンドを特定し、その N 末端アミノ酸シーケンスの結果と他の生物のそれとのホモロジー検索を行った。古細菌同士でホモロジーが高く、真正細菌や、真核生物とのホモロジーは低かった。現在は、内部配列を決定しているところである。

高度好熱性古細菌 *Pyrococcus furiosus* の
アスパルテイル tRNA 合成酵素

Aspartyl tRNA synthetase of high level thermophilus archaeobacterium,
Pyrococcus furiosus

中村実 (大阪府立大学・総合科学部)・篠田洋幸 (大阪府立大学・農学部)・

居原秀・石神正浩 (大阪府立大学・総合科学部)

Minoru Nakamura (College of Integrated Arts and Sciences, Osaka prefecture University)

Hiroyuki shinoda* (Department of Applied Biological Chemistry, Osaka

prefecture University*), Hidesi Ihara and Masahiro Ishigami (College of Integrated Arts

and Sciences, Osaka prefecture University)

遺伝情報の正確な翻訳には、tRNAに結合するアミノ酸の正しい選択という重要な認識過程が必要となる。アミノアシルtRNA合成酵素 (ARS) は、各アミノ酸に対応するtRNAに対して、特定のアミノ酸を選択的に結合させる役割を持つ酵素である。20種のアミノ酸に対する異なった酵素は、クラスI、IIに大別され、各々のクラスは異なった祖先から進化してきたと考えられている。

そのARSの一つであるアスパルテイルtRNA合成酵素 (AspRS) は現在、真正細菌 *Thermus thermophilus* 真核生物 YeastのAspRSで、立体構造が解っており、クラスIIのARSで、二量体構造をとっている。また、今までに真正細菌3種・真核生物3種及びYeastのミトコンドリアでアミノ酸配列が明らかにされている。M. Delaloueら (1994) は *T. thermophilus* と YeastのAspRSの立体構造を対応させそれらのアミノ酸配列を比較した。すると、モチーフ1・2・3を含むアクティブサイト、マグネシウム結合部位、tRNAのアクセプターシステム結合部位など機能上重要な領域で、AspRSのアミノ酸配列は、高いホモロジーを示すということがわかった。しかし、一方で、超生物界特異的ドメインのあることが示されている。すなわち、真核生物のAspRSは、N末端に約100残基の伸張がある。真正細菌はC末端に約25残基の伸張があり、モチーフ2と3の間に約75残基の挿入ドメインがある。また、モチーフ2では、真核生物のAspRSと比較して、真正細菌のAspRSではアミノ酸1個の欠失がある。真正細菌のモチーフ3で保存されているGLDR配列は、真核生物ではGLER配列になっているなど、真核生物と真正細菌による違いがある。

当研究室では、古細菌 *Halobacterium salinarium* のAspRS遺伝子の塩基配列を決定した。この場合、真正細菌や真核生物に見られるようなC末端伸長やN末端伸長は見られず短いシンプルな構造を取っていた。しかし、一般的に機能上重要な領域は高いホモロジーを示した。

私は現在までに、*P. furiosus*の培養を行い、ゲノムDNAを抽出し、クロススピーシーズPCRを行った。そしてそのPCR増幅産物をクローニングし、塩基配列を決定した。現在、PCR法に基づいたスクリーニングを行い、AspRS遺伝子の塩基配列決定を試みている。そして、決定した塩基配列からアミノ酸配列を推定し、その配列と、既知のAspRSと比較検討することによりAspRSの進化と起源を探ってみたい。また、今中らが決定した *Pyrococcus sp. KOD1* のAspRSと比較検討する事により、この酵素の特に変異しやすい部分を明らかにし耐熱機構なども探れないかと考えている。

現在までにわかっている *P. furiosus* AspRSの一次構造は、*Pyrococcus sp. KOD1* と非常に高いホモロジーを示している。

M. Delaloue, et al., (1994) *EMBO J.* 13:3219-3229

シダ植物への希土類元素の集積性について — Tb に見られる特異性 —

Correlation between Terbium and Other Rare Earth Elements in Fern Leaves.

高田 實彌・川本 圭造・隅野 照家・河合 建一・赤星 光彦 (京大・原子炉)
Jitsuya TAKADA, Keizo KAWAMOTO, Teruie SIUMINO, Kenichi KAWAI
and Mitsuhiko AKABOSHI (Research Reactor Institute, Kyoto University)

我々はシダ植物が希土類元素を集積することを見だし、その意義を明確にすることによって、希土類元素と生物との関連に迫りたいと考えている。そのために一つの手段として、シダ葉中の各種希土類元素濃度の相関を調べ、各元素の集積性を明らかにする必要性がある。昨年の本大会において、Eu と Tb とが他の希土類元素と全く異なる特性を示すことを明らかにし、Eu に関する詳しい検討を行った。今回は Tb と他元素との相関に関して詳しく検討する。

〔方法〕日本各地(9地点)から採集した142個体のシダ植物葉を規定の方法で処理し、放射化分析法を用いて希土類元素を含む約50種類の元素を定量した。任意の2種類の希土類元素について得られた測定値を対数散布図上にプロットし、その関数の傾き(相関係数)と切片を相関に関する情報として解析した。

〔結果と討論〕異なる二種類の希土類元素間の散布図は多くの場合、一本の直線で表すことが出来る正の相関を示す。しかしながら、Eu または Tb が一方に関与した場合には、両者の関係は相関関係が等しく切片が異なる二本以上の直線に分かれる。一例として、Sm と Tb の相関を採集地点に着目してプロットした。一方、採集地点に基づいて整理した図からは、葉中の Sm と Tb との相対比が採集地点によって決定されていることが明らかである。ここで全シダ植物は Sm / Tb比が最も高い(8.87)滋賀、六甲山、大阪、鹿児島産のものと、最も低い(0.1743)岡山、沖縄産および中間(0.4963)の京都、玄武洞産のものに分けられる。それではこれら採集地点の成育土壌中のSm/Tb比はどうか。それについて分析を行ったが、上の結果に対応するような結果を得ることは出来なかった。上記の現象はEuの場合と全く同一であり、希土類元素の中でもEuとTbだけが何故この様な共通した特別な行動をとるのか、今後も検討を続けたい。

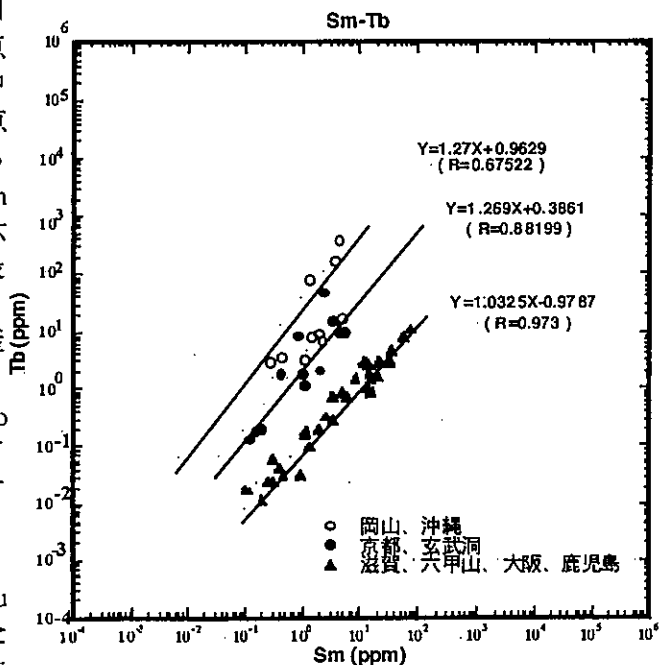


Fig. 1 Relationship between the Sm and Tb concentrations characterized with respect to sampling site.

ICP-MSによる藻類中希土類元素の分析

Determination of rare earth elements in Algae

川本圭造・高田実弥・隅野照家・河合建一・赤星光彦（京都大学・原子炉実験所）
 Keizo Kawamoto, Jitsuya Takada, Teruie Sumino, Kenichi Kawai, Mitsuhiro Akaboshi
 (Research Reactor Institute, Kyoto University)

我々は、希土類元素と生物との関わりを明らかにする目的で、これまでに培養細胞と希土類元素の相互作用や多数の地域から採取したシダ植物中の希土類元素間にどのような相関があるか等について調べ本大会で報告してきた。こうした希土類元素の検出には従来放射化分析法 (INAA) を用いてきたが、今回は、INAAとともに高周波誘導結合プラズマ質量分析計 (ICP-MS) を用いて元素分析を行い、試料としては水中生物である藻類について希土類元素濃度および必須元素等との関連について検討したので報告する。

材料と方法：試料に供した藻類は、国際原子力委員会から供給された3種類の藻類、1) IAEA-391 (クリーンルーム内で重金属汚染を避けて培養された *Chlorella Vulg. Bohm Borns*)、2) IAEA-393 (As, Cd, Cr, Ni, Pb および Hg を添加した培養液で培養された *Chlorella*)、3) IAEA-392 (戸外で特別な条件なしで培養された *Scenedesmus obliquus 208*) である。INAA法では、乾燥した各試料を京大原子炉内で照射した後、Ge-半導体検出器を備えたマルチチャンネル波高分析器で元素分析を行なった。ICP-MSでは、各試料を高純度硝酸を用いマイクロウェーブ溶解装置で溶解し、その後クリーンドラフト内で蒸発-超純水希釈を繰り返す、およそ5%硝酸溶液として測定に供した。

結果と討論：図1にICP-MSによる希土類元素の測定結果をNorth American Shale Composite (NASC) で規格化して示す。INAA法による分析では、試料中のリンによるβ線が妨害して希土類元素は定量できなかった。図には、報告されたシダ、クルミ、タバコの測定値についてもNASCで規格化して示した。IAEA-391, 392, 393それぞれにおいてEuが若干高くなっていることを除き、REE Patternの変動幅は少ない。絶対量は違うがクルミ、タバコも同様の傾向を示している。変動幅の少ないことは、植物によるREEの吸収に積極的な選別がないことを示唆している。水中の藻類は陸上植物に比べて $10^{-2} \sim 10^{-4}$ 以上REEは低い、なお周辺から摂取し濃縮していることが分かる。今後多様な試料を調べることにより、生命とREEとの関わりを探索したい。

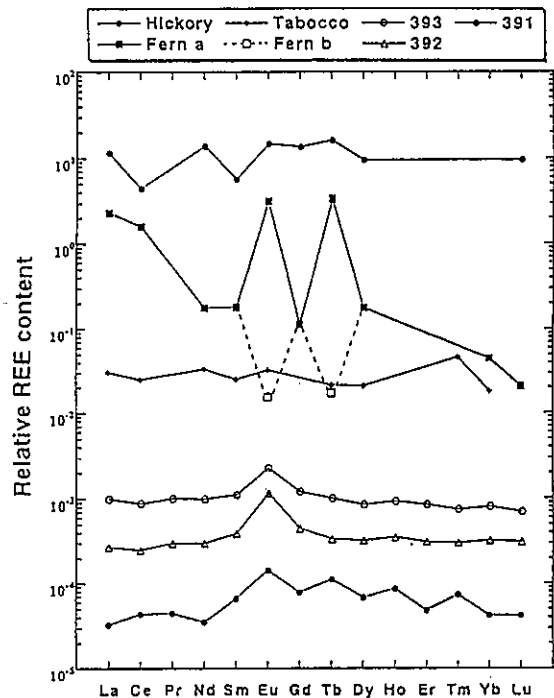


Fig.1. REE-patterns in the different organisms (NASC normalized).

赤星光彦、高田実弥、隅野照家、川本圭造、河合建一（京大・原子炉）

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

テルビウム (Tb) がシスプラチンで処理されたDNAと何らかの相互作用した結果、Tbからの蛍光光度が著しく増加することが見いだされ、DNAの二次構造を調べるための化学的プローブとしてTbが注目されている。これはシスプラチンによってDNAヘリックスが開かれ、Tbが入り込んでグアニン塩基と相互作用するものと説明されている。ヌクレオシドやヌクレオチドのレベルでは蛍光の増加は見られず、poly(dG·dC)では見られる。一方、放射線やトランスプラチンで処理されたDNAでは観察されない。TbはDNA分子上に生じた傷を認識し、区別するのである。本報告ではDNA分子上で観察されたTbの相互作用が培養細胞レベルでも起きるかどうか、また、起きるとするならば、それはどのような効果をもたらすかについて検討した。

[実験]

HeLa細胞をTbCl₃存在下に、放射線またはシスプラチンを始めとする各種白金化合物で処理し (37°C-1 hr)、コロニーアッセイ法によって生存率を調べた。また細胞内各種分画に取り込まれたTb量は放射化分析法により定量した。

[結果と討論]

シスプラチンで処理された細胞の生存率曲線を図に示す。シスプラチン単独処理の場合、平均致死量 D₀は 8.3 μMであったが、Tbを同時に作用させた場合の D₀は 3.2 μMとなり、シスプラチンの殺細胞効果は約 2.6倍高められた。上記相互作用は何らかの機構によりシスプラチンの作用を増感させる方向で作用することが確かめられた。放射線で照射された細胞ではこの様な増感は見られず、また白金化合物の中でもK₂Pt(Cl₄), K₂Pt(Cl₆)では観察されなかった。一方、Tb以外の各種希土類元素とシスプラチンとの相互作用は薬剤毎に異なった結果をもたらした。

Tbを始めとする希土類元素とDNAとの相互作用は細胞レベルでも生じている。シスプラチン等によって細胞内DNA上に生じた傷は各種の希土類元素によって、様々な程度に固定され、殺細胞効果の増大をもたらすものと考えられる。様々な物理的・化学的要因によって起きる傷の違いを希土類元素は様々な程度に認識するらしい。

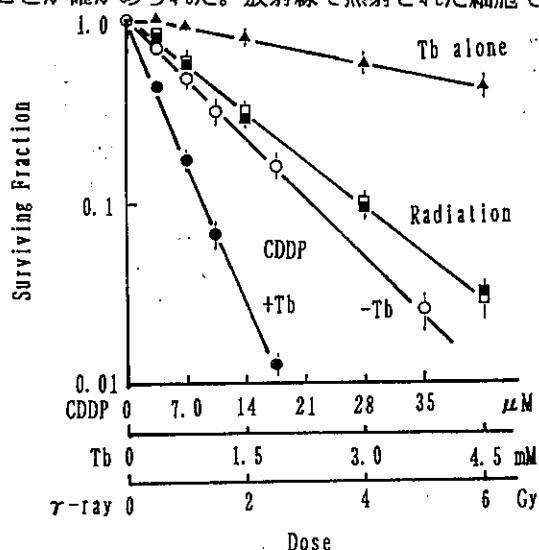


図 各種処理されたHeLa細胞の生存率曲線

41 大腸菌と細胞性粘菌を用いた共生系の構築を目指して

An Approach to Artificial Symbiosis; using *Escherichia coli* and
Dictyostelium discoideum.

等々力政彦、四方哲也、卜部格

(大阪大学大学院・工学研究科・応用生物工学科)

Masahiko TODORIKI, Tetsuya YOMO, Itaru URABE

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

寄生もふくめて、共生は広く生物界に認められる興味深い現象である。共生研究の進展に伴って、大規模な進化の原因が直接的または副次的に共生に由来しているという見解も広く認められてきている。現在までのところ共生を調べる材料は、共生している生物を広く自然界に求めるにとどまっている。しかしながら60年代にJeon等(1967)によって、自由生活性のアメーバに誤って感染してしまった細菌が、最終的に細胞内共生してしまうということが観察された。この共生体は両生物が互いに依存的で、再び単独で生育させることができなくなっていた。この観察は現在の環境中에서도新しい共生が起こりうることを示している。

そこで筆者達は実験的に、系統のはっきりしている生物同士の間での共生関係を構築させることができるのではないかと考え、実験を行っている。現在材料は大腸菌 (*Escherichia coli*) YMC21株と細胞性粘菌 (*Dictyostelium discoideum*) KAx3株を用いている。YMC21株はグルタミン合成系欠損株でグルタミンを含まない培地で生育することができない。それに対してKAx3株は固体培地上では餌となる大腸菌なしには生育することができない。そこで両者の要求が相補的になると考えられる最少固体培地上で両者を混合培養することにした。すると両者を単独で培養したときには見られない、透明なコロニーが出現した。コロニーは粘液よりなっていて、その中で大腸菌と細胞性粘菌が共存している事が観察された。

現在このコロニーの性質を観察したり、時間がたつにつれて不可分な共生関係に進展して行くのかなどを確認しているところである。

42 細胞への放射線の外部照射と内部照射

-カンブリア爆発と火星生命細胞の大きさ-

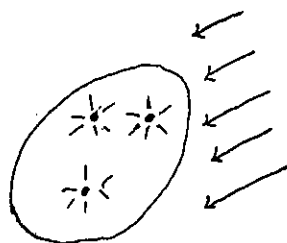
Radiation Dominant conditions in Ancient Life Cells by K^{40} and explanations of the Cambrian Burst and Small Sizes of Martian Life cells

横尾広光(杏林大学保健学部)

Hiroimitsu Yokoo (School of Health Sciences, Kyorin University)

生命は進化し、多様化しようとしているのに1. 紫外線2. 放射線がそれを抑えている。紫外線を使って生命細胞進化のストーリーが組み立てられている(1)。しかし放射線が主因であると考えてもよい(2)。現在と違って、原始地球ではカリウム40などの内部照射が強かった。外部照射は細胞の面積で効き、内部照射は体積で効く。また細胞の分裂(3)は細胞が大きくなりすぎて放射線量が限界を越すのをさけるためであると考えられる。この仮定を数式にして、細胞サイズを表す表式が得られる。

照射線量が急減したときにカンブリア爆発がおきた。また最近報告された火星生命細胞のサイズが小さい(4)ことも説明できる。



文献

1. 例えばマーグリス, セーガン: 「性の起源」 長野他訳, 青土社, 1995
2. 横尾広光: 「放射線の外部照射と内部照射-照射を最小にするように細胞の大きさが決まっている」, 1980. 4. 「鯨座通信」 No. 28
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. 3.
4. McKay et al: Search for Past Life on Mars. Science 273, 924-930, 1996

特集「古細菌について」

特集「古細菌」について 石神正浩

1996年の生命の起原および進化学会は大阪府立大学で行われたが、その際、古細菌に関するシンポジウムを行った。それを機会に特集号を出そうと考えた。Woeseらがこの特殊な一群のバクテリアを発見したのは1977年であり、その後、新しい種や、生存環境が多く見つかっている。しかし、このバクテリアが生命の起原と初期進化の段階で、何時出現し、真核生物や真正細菌とどのような関係にあるのかは、まだ、よくわかっていない。生命の初期進化の大きな謎である。この特集を出すに際して、学会員以外の方の協力得、充実したものになった。ここに深く感謝します。

ARCHAEBACTERIA AND PHYLOGENETIC DISTRIBUTION OF D-AMINO ACIDS

Yoko NAGATA

Department of Life Science, Himeji Institute of Technology, Shosha, Himeji 671-22
Japan

ABSTRACT

In search of a clue to the cause of homochirality of organisms in which peptides are composed of solely L-amino acids, phylogenetic distribution of D-enantiomers of peptide- and free-amino acids was investigated. Since it is known that D-amino acids are not rare in eubacteria, while D-amino acids are generally accepted as unnatural in higher animals, we examined contents of D-enantiomers of serine, alanine, proline, glutamate and aspartate in archaeobacteria grouped between eubacteria and eukaryotes. It has been shown that some archaeobacteria possess peptide- and free-D-amino acids. The contents were not so high as Gram-positive and some Gram-negative eubacteria, and were comparable to those of majority of Gram-negative eubacteria and eukaryotes. The present study may suggest that the homochirality progressed in archaeobacteria and eukaryotes, but it is not complete even in eukaryotes.

Key words: homochirality, D-amino acids, archaeobacteria, eubacteria,
eukaryotes.

Viva Origino 25(1997) 61-72

© 1997 by SSOEL Japan

生物界における D-アミノ酸の分布と古細菌

長田 洋子

姫路工業大学・理学部・生命科学 (〒671-22 姫路市書写 2167)

1. はじめに

地球上の生命体にアミノ酸のホモキラリティーがどのようにして生じたのか、まだ解明されていない。合成したアミノ酸や隕石に含まれるアミノ酸はラセミ体に近いのに、ヒトを含む高等動物のタンパク質はL-アミノ酸だけから構成されているという。何らかの手がかりを得るために、私たちは生物におけるD-アミノ酸の分布を系統的にを検索してきた。

進化の系統樹で下等な生物に位置する細菌には、D-アミノ酸は汎く分布しているようである。たとえば、ペプチド抗生物質¹⁾にはグルタミン酸、フェニルアラニン、アスパラギン酸、バリンなどのD-型異性体が、細胞壁のペプチドグリカン²⁾にはアラニン、グルタミン酸のD-型異性体が構成要素として不可欠である。これに対して、動物のペプチドを構成しているアミノ酸(ペプチドアミノ酸)に、D-型異性体が含まれていることが知られているのは少数である：軟体動物アフリカマイマイのアカチン³⁾(D-フェニルアラニン)とフリシン⁴⁾(D-アスパラギン)という4つのアミノ酸からなる神経ペプチド、南米のカエル(脊椎動物両生類)の皮膚から抽出された、ダーモルフィン⁵⁾という非常に強力な鎮痛作用のある7つのアミノ酸からなるペプチド、加齢とともにD-アスパラギン酸が蓄積するヒトの歯のエナメル質⁶⁾、目のレンズタンパク質⁷⁾、脳のエリニン⁸⁾など、また、D-セリンが蓄積するミエリン塩基性タンパク質⁹⁾、などである。それでは、細菌と真核生物の中間に分類される古細菌のペプチドアミノ酸についてはどうだろうか。古細菌のうちメタン産生菌については、その細胞壁はペプチドグリカンを持たずD-アミノ酸を含有しないことが報告されている¹⁰⁾。

生体には多量のペプチドアミノ酸の他に少量の、遊離アミノ酸とよばれる結合に参加せず単独に存在するアミノ酸がある。これらのアミノ酸はペプチドの分解によって生じ、次のペプチドに再構成されるまで遊離型として、細胞のアミノ酸プールや血液中に見出される。遊離アミノ酸にどの程度 D-型異性体が存在するかを検討した報告は意外に少ない。細菌に関しては Brückner¹¹⁾ が、発酵食品の製造に使われる乳酸菌や酢酸菌に D-アラニン、D-アスパラギン酸、D-グルタミン酸などが、数%~数10%含まれていることを報告している。軟体動物の汽水域に棲息するアサリ、ハマグリ、シジミなどの二枚貝¹²⁾ では、D-アラニンや D-アスパラギン酸がそれぞれの L-型異性体と同程度かそれ以上存在し、アラニンラセマーゼ活性も検出されている。節足動物昆虫カイコの蛹¹³⁾ でも D-セリンが L-セリンと等量存在するが、それらの生理的作用はまだ不明である。

私たちの研究結果によれば、遊離 D-アミノ酸は高等動物哺乳類にも結構高い割合で存在するのである。人工透析を受けている腎疾患患者の血漿¹⁴⁾ ではセリン、アラニン、プロリンの 10~20%が D-型であった (Table 1)。D-アミノ酸酸化酵素 (遊離型の中性 D-アミノ酸を分解する) を欠損している突然変異マウス¹⁵⁾ でも上記アミノ酸の 5~10%程度が D-型であった (Table 2)。また正常なマウス、ラット、ウシ¹⁶⁾、ヒト¹⁷⁾ などの大脳の遊離型セリンの 20~30%は D-型である (Table 3) ことも明らかになってきた。この D-セリンは L-グルタミン酸の神経伝達物質 (神経細胞の受容体に結合して、信号を伝達する) としての作用を増強する調整物質と推定されている¹⁸⁾。最近、ラット肝臓にも D-アスパラギン酸と D-グルタミン酸の存在すること¹⁹⁾、D-アスパラギン酸がラットの精巣に高濃度に存在し成熟に伴い増加すること²⁰⁾、が報告されている。このように遊離型アミノ酸は哺乳類にもかなり存在することが明らかになった。

このような事が明らかになってきた現在、生物は L 型アミノ酸のみで構成されているというホモキラリティーは確かな事なのだろうか。私たちは断片的な知見を補い、生体におけるアミノ酸のホモキラリティーがどういう経緯で進行してきたかを知る一助になればと、生物を系統的に選び、ペプチドアミノ酸と遊離アミノ酸の D-型異性体の含有率を調べた。

2. 材料と方法

2-1 材料の調整

用いた生物のリストを Table 4 にあげる。

細菌、古細菌、真核生物の細胞は、超音波処理などにより破砕し、140,000 g x 30 min 遠心後の上清にトリクロロ酢酸を 5%になるように加え、生じた上清は遊離アミノ酸の分析に、沈殿は可溶性タンパク質画分としてペプチドアミノ酸の分析に用いた。

2-2 カラムクロマトグラフィー

上清からトリクロロ酢酸を除去し遊離アミノ酸を精製するために、Dowex 50W-x8 のカラムに上清を通す。カラムを蒸留水で洗った後、アミノ酸を 2 M のアンモニアで溶出した。

2-3 加水分解

可溶性タンパク質画分は減圧乾燥後、6 M HCl 中 110°C で 3、6、16、24 時間加水分解し構成アミノ酸を遊離化した。

2-4 尿素処理

Table 1. Contents ($\mu\text{mol/l}$ plasma) of free neutral amino acids and the D/L ratios in human plasma. *, Normal subject; N.D., not determined; total DAA, the sum content of D-serine, D-alanine and D-proline in the plasma.

Subject	Cr (mg/dl)	Age	Sex	Scr		Ala		Pro		Total			
				L	D	D/L	L	D	D/L	L	D	D/L	DAA
1	8.3	61	m	46.4	6.25	0.1347	69.0	14.40	0.2087	53.0	1.50	0.0283	22.15
2	7.6	59	f	48.8	5.55	0.1137	68.5	4.50	0.0657	70.5	4.35	0.0617	14.40
3	6.9	73	m	31.8	3.85	0.1211	82.5	8.65	0.1048	71.0	7.00	0.0986	19.50
4	6.4	67	m	56.0	5.35	0.0956	165.0	5.80	0.0352	161.0	3.40	0.0211	14.55
5	6.4	22	m	59.5	13.40	0.2252	118.5	1.60	0.0135	77.5	0.40	0.0052	15.40
6	6.3	61	m	34.6	3.25	0.0939	108.5	3.30	0.0304	75.5	4.55	0.0603	11.10
7	5.8	57	f	27.8	6.56	0.2360	198.0	11.67	0.0589	60.6	4.59	0.0757	22.82
8	3.1	79	f	60.5	4.15	0.0686	149.5	1.45	0.0097	77.0	1.70	0.0221	7.30
9	2.9	51	f	57.0	4.45	0.0781	125.5	4.80	0.0382	66.0	2.25	0.0341	11.50
10	2.8	43	f	34.6	2.70	0.0780	121.0	1.30	0.0107	121.0	1.50	0.0124	5.50
11	1.5	75	m	58.0	1.85	0.0319	181.0	2.55	0.0141	47.3	0.40	0.0085	4.80
12*	ND	76	m	87.6	0.72	0.0082	94.2	1.11	0.0118	150.0	0.69	0.0046	2.52
13*	ND	75	f	92.4	1.76	0.0190	124.0	0.25	0.0020	41.2	0.26	0.0063	2.26
14*	ND	45	f	76.0	0.42	0.0055	208.0	0.28	0.0013	59.0	0	0	0.69
15*	ND	40	f	105.0	0.54	0.0051	211.0	0.57	0.0027	62.7	0	0	1.11
16*	ND	40	f	95.4	1.19	0.0125	207.0	0.28	0.0014	68.5	0	0	1.47
17*	ND	20	f	89.8	0.86	0.0096	195.0	0	0	104.0	0.62	0.0060	1.48
18*	ND	20	f	94.0	1.33	0.0141	168.0	1.77	0.0105	44.3	0	0	3.10

Table 2.

D/L ratio of free alanine, proline and serine in mouse kidney and serum

Values are mean \pm S.D. Number of observations are given in parentheses. In each observation a different animal was used

Mouse	D/L			
	alanine	proline	serine	
Kidney	Mutant (n = 5)	0.0345 \pm 0.0043	0.0184 \pm 0.0070	0.0306 \pm 0.0044
	Normal (n = 4)	0.0026 \pm 0.0020	0.0019 \pm 0.0014	0.0027 \pm 0.0021
	$p < 0.001$	$p < 0.01$	$p < 0.001$	
Serum	Mutant (n = 4)	0.0903 \pm 0.0410	0.0456 \pm 0.0293	0.0582 \pm 0.0151
	Normal (n = 4)	0.0034 \pm 0.0016	0.0015 \pm 0.0031	0.0101 \pm 0.0080
	$p < 0.02$	$p < 0.05$	$p < 0.01$	

Table 3
Contents of free D- and L-serine, and D/L ratios in various brain regions of several vertebrate species

Vertebrate species	Brain region	Free serine (nmol/g wet weight)			
		L	D	(D/L) ×1000	
Carp	(n = 2) Cerebrum	1170, 1160	0, 6.3	3 *	
		Optic lobe	1290, 895	6.5, 0	3 *
	Hypophysis	796, 917	3.0, 7.5	6 *	
	Medulla oblongata	1660, 1870	3.5, 5.3	2 *	
		Cerebellum	1500, 1110	4.2, 0	2 *
Infant carp	(n = 3) Cerebrum	646 ± 194	1.9 ± 1.9	2 ± 2	
Frog	(n = 3) Cerebrum	377 ± 27	1.1 ± 1.9	2 ± 3	
		Cerebellum	606	3.6	6
Chick	(n = 3) Cerebrum	733 ± 216	7.0 ± 0.7	10 ± 2	
		Midbrain	1190 ± 95	16 ± 4	14 ± 5
	Medulla oblongata	1510 ± 82	18 ± 2	12 ± 2	
		Cerebellum	1040 ± 10	11 ± 0.0	11 ± 0
		Cerebrum	1290 ± 16	520 ± 98	425 ± 69
Mouse, 8 w	(n = 3) Brain stem	1110 ± 55	127 ± 32	115 ± 34	
		Cerebellum	989 ± 123	28 ± 16	29 ± 20
Rat, 9 w	(n = 3) Cerebrum	928 ± 102	395 ± 74	425 ± 52	
Bovine	(n = 2) Cerebrum	917, 1020	355, 430	405 *	
		Cerebellum	835, 801	20, 24	27 *

Values are the means ± S.D. for the number of animals shown in parentheses, except for the cerebellum of frog where tissues from three animals were combined. * Values are calculated by using the mean values for two animals.

タンパク質のうち膜画分に水素結合で結合しているものを可溶化するために、140,000 g × 30 min 遠心後の沈殿を 4 M の尿素中、100°C で 10 分間加熱した。その後、尿素を除去するために蒸留水中でじゅうぶん透析した。

2-5 D・L-アミノ酸の分離定量²¹⁾

上記 2-2, 2-3 で得られたアミノ酸に 1-fluoro-2,4-dinitrophenyl-5-L-alanine amide (FDAA, Marfey's reagent) を加えアミノ酸の FDAA 誘導体を作る。これを 2 次元薄層クロマトグラフィー (1 次元: ブタノール/酢酸/水 = 3/1/1; 2 次元: フェノール/水 = 3/1) により、各アミノ酸に分離する。これは次の高速液体クロマトグラフィー (HPLC) による分析において、隣接するピークの影響を無くし、より正確に分離定量するためである。薄層プレートから必要とするアミノ酸 (FDAA 化しているので黄色) を抽出、減圧乾燥し、以下の HPLC に用いた。

HPLC: FDAA-アミノ酸を少量のメタノールに溶かし、C18 カラムに重層した。50 mM トリエチルアミン-リン酸緩衝液 (pH 3.5) 中、アセトニトリル濃度を直線的に増加させることにより D-型・L-型アミノ酸に分離溶出し、340nm の吸光度により定量した。加水

Table 4. List of organisms.

	Strain	Characteristics
Eubacteria, Gram (+)		
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC 14990	human skin flora
<i>Streptococcus pyogenes</i>	ATCC 12344	human pathogen
<i>Propionibacterium acnes</i>	ATCC 6919	human skin flora
<i>Bacillus</i> sp.	PS3	thermophilic (70°C)
<i>Bacillus</i> sp.	YN-1	alkaliphilic
Eubacteria, Gram (-)		
<i>Synechococcus vulcanus</i>		cyanobacterium (55°C)
<i>Escherichia coli</i>	B	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
<i>Parcoccus denitrificans</i>	DSM 65	
<i>Helicobacter pylori</i>	NCTC 11637	possible cause of peptic ulcer
<i>Desulfovibrio vulgaris</i>	Miyazaki	sulfur-reducing
<i>Thiobacillus ferrooxidans</i>		acidophilic, iron-oxidizing
Archaeobacteria		
<i>Pyrobaculum islandicum</i>	DSM 4184	hyperthermophilic(95°C)
<i>Sulforobus acidocaldarius</i>	7	thermophilic(75°C), acidophilic
<i>Methanosarcina barkeri</i>	DSM 800 ^T	methanogenic
<i>Halobacterium halobium</i>	L-33	hyperhalophilic
Eukaryotes		
<i>Physarum polycephalum</i>		slime mold
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>		yeast
spinach		
rat	Wistar	

分解の前に一定量の純正アミノ酸を可溶性タンパク質画分に加え、同様に処理したものを内部コントロールとした。

2-6 サンプル中の D-アミノ酸含有率の算出

加水分解中に生ずるラセミ化の影響を差し引くために以下のような方法を用いた。4つの異なる時間の加水分解産物について、あるアミノ酸のD/L比（HPLCにより求めたアミノ酸のD-型とL型の濃度比）を、横軸の加水分解時間に対してプロットし、最小二乗法により加水分解時間=0に外挿する。縦軸との交点は、加水分解を受けていない native なタンパク質中のそのアミノ酸のD/L比を表していると考えられる。このようにしてD-アミノ酸含有率を調べた一例としてヒト血清アルブミン（市販精製品）の結果を Fig. 1 に示す。24時間の加水分解産物にはかなりあるように見えたD-アスパラギン酸も、native なタンパク質には存在しないことが示された。Fig. 2はグラム陽性細菌の *Staphylococcus epidermidis* の例である。

Fig. 1. D/L Ratios of serine (○), alanine (●), proline (○), glutamate (△) and aspartate (▲) in 6, 16 and 24-h hydrolysates of serum albumin. Results from a typical experiment are shown.

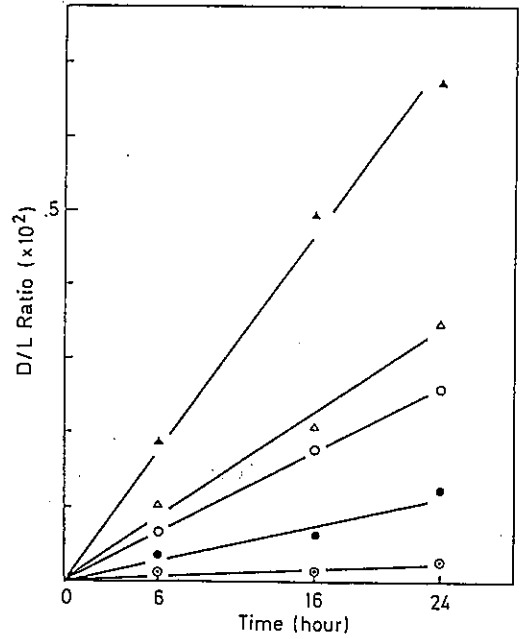
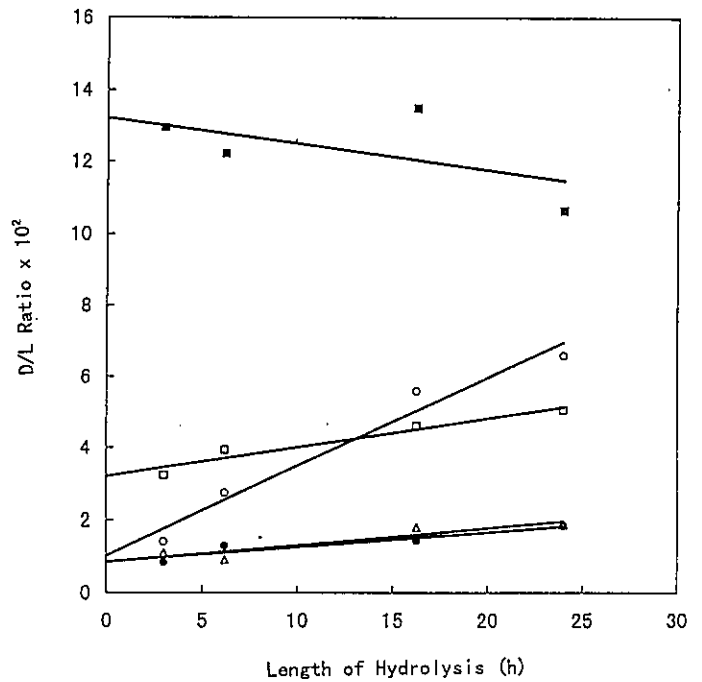


Fig. 2. D/L Ratios of serine (●), alanine (■), roline (△), glutamate (□) and aspartate (○) in 3, 6, 16 and 24-h hydrolysates of soluble fraction of *Staphylococcus epidermidis*. Linear regression lines are represented for the plots of mean values of two independent experiments.



3. 結果と考察

種々の生物の可溶性タンパク質画分におけるセリン、アラニン、プロリン、グルタミン酸（含グルタミン）、アスパラギン酸（含アスパラギン）の D/L 比を Table 5 に示す。* 印を付したのは、尿素処理を施したものである。真性細菌のうちグラム陽性菌では D-アラニンと D-グルタミン酸の含有率が非常に高いのが目立つ。グラム陰性菌では *Thiobacillus ferrooxidans* を除いて、高率に D-アミノ酸を含有しているものは見当たらない。真核生物では粘菌、パン酵母、ラット肝臓細胞などに、D-グルタミン酸と D-アスパラギン酸が少し存在する。

それでは古細菌ではどうだろうか。始原菌と考えられる超好熱菌 *Pyrobaculum islandicum* には、セリンとアスパラギン酸の D-型がやや多い。しかし、他の 3 種の古細菌では殆ど検出されなかった。そこで 140,000 g 遠心後の沈殿画分を尿素処理し、生じた可溶性画分を分析した結果、*Sulforobus acidocaldarius* と *Halobacterium halobium* でも少量だが D-グルタミン酸と D-アスパラギン酸、D-セリンが検出された。これらの値は、グラム陰性細菌の多くのもや真核生物と似た値である (Table 5)。以上より古細菌にも D-アミノ酸の存在することが示されたが、これは最近、養王田ら²²⁾ が超好熱性古細菌 *Desulfurococcus* strain SY に D-アスパラギン酸ラセマーゼの存在することを発見したことと相容れる結果である。

遊離アミノ酸についてはまだ preliminary な結果しか得ていないが Table 6 に示す。*E. coli* や *Paracoccus denitrificans* のようなグラム陰性細菌に比べると、古細菌の遊離 D-アミノ酸含有率は低い。とくに *H. halobium* では D-アミノ酸は殆ど検出されなかった。*P. islandicum* では D-アラニンと D-グルタミン酸が数%検出された。これら両アミノ酸はペプチドアミノ酸では検出されなかったのに対し、ペプチドアミノ酸に存在した D-セリンと D-アスパラギン酸が検出されなかった。この相違の原因の解明は今後の研究に待たねばならない。D-アミノ酸酸化酵素や D-アスパラギン酸酸化酵素は酵母以上の真核生物について報告されているが、古細菌や細菌にもこれらの酵素または類似の酵素が存在するのかもしれない。

4. おわりに

古細菌には、そのペプチドアミノ酸・遊離アミノ酸ともに、D-型異性体を含有しているものがある。D-アミノ酸含有率は、古細菌ではグラム陽性細菌のように多くなく、グラム陰性細菌や真核生物に近い値を示した。生物界の D-アミノ酸の分布は、ペプチドアミノ酸について見る限り、グラム陽性細菌や一部のグラム陰性細菌に高濃度で存在するが、それ以外の生物では低濃度である。しかし、通常で代謝している肝臓細胞（ラット）にも数%の D-アミノ酸が検出されたことは、哺乳類にもラセマーゼなどの D-アミノ酸を産生する酵素が存在することを示唆しているのかもしれない。生物界のホモキラリティーは完全ではないようである。

Table 5. D/L Ratios of amino-acid residues in soluble fractions of various organisms. Each specimen was hydrolyzed in 6 M HCl for 3, 6, 16, and 24 h at $110 \pm 0.5^\circ\text{C}$. The resultant amino acids were analyzed by HPLC and the D/L ratios were determined. The values for D/L ratios at 0-h hydrolysis, obtained by plotting the D/L ratios against the length of hydrolysis and extrapolating the linear regression line to 0 h (Fig. 1), are represented. Mean values of two independent experiments are shown. The range was ± 4 -30% of the mean. Some specimens denoted with * were incubated in 4 M urea for 10 min at 100°C .

Organism	D/L $\times 10^2$				
	Ser	Ala	Pro	Glu	Asp
Eubacteria, Gram (+)					
<i>Staph. epidermidis</i>	0.85	13.21	0.84	3.19	1.02
<i>Strep. pyogenes</i>	2.37	11.49	0.39	5.28	1.52
<i>P. acnes</i>	0.82	0.82	0.32	1.90	1.52
<i>Bacillus</i> PS3	1.68	0.68	0.54	1.03	1.33
<i>Bacillus</i> PS3 *	1.95	3.03	0.26	12.64	1.02
<i>Bacillus</i> YN-1	0.33	5.50	1.12	28.73	1.20
Eubacteria, Gram (-)					
<i>S. vulcanus</i>	0.02	1.13	0.24	0.68	1.70
<i>E. coli</i>	0.13	0.71	0.4	1.62	1.78
<i>P. aeruginosa</i>	0.78	0.29	0.61	0.68	1.70
<i>H. pylori</i>	0.78	0.88	0.25	1.94	1.36
<i>D. vulgaris</i>	1.85	1.15	0.35	1.90	1.50
<i>T. ferrooxidans</i>	2.21	0	0	8.65	0.01
<i>T. ferrooxidans</i> *	2.04	3.87	0.19	7.75	1.47
Archaeobacteria					
<i>P. islandicum</i>	3.00	0.67	0.65	1.26	4.11
<i>P. islandicum</i> *	2.94	0.67	0.75	1.04	3.54
<i>S. acidocaldarius</i>	1.06	0.40	0.16	0.34	0.17
<i>S. acidocaldarius</i> *	0.96	0.65	0.89	1.07	1.59
<i>M. barkeri</i>	0.22	0.45	0.29	0.63	0.75
<i>H. halobium</i>	0	0.52	0.40	1.11	1.43
<i>H. halobium</i> *	1.11	1.25	0.52	1.79	1.41
Eukaryotes					
<i>P. polycephalum</i>	0.44	0.57	0.97	2.27	2.26
<i>S. cerevisiae</i>	0	0.81	0.68	1.64	1.82
spinach (leaf)	1.01	0.91	0.63	1.61	0.72
rat (liver)	0.68	1.07	1.03	1.69	1.86

Table 6. D/L Ratios of free amino acids in organisms.

The supernatant of 5% trichloroacetic-acid treated soluble fraction was passed through a Dowex 50W column. The eluate was used for the assay. Mean values of two independent experiments are shown. The range was ± 1.5 -20% of the mean.

Organism	D/L x 10 ²				
	Ser	Ala	Pro	Glu	Asp
Eubacteria, Gram (-)					
<i>E. coli</i>	0	70.88	1.93	14.16	2.89
<i>P. denitrificans</i>	0	51.40	4.27	5.25	2.26
Archaeobacteria					
<i>P. islandicum</i>	0.54	3.65	-	2.77	0
<i>H. halobium</i>	0.66	0	0	0.26	0

謝 辞

共同研究者の藤原健智（東京工大）、川口一長田久美子（兵庫医大）、福森義宏（東京工大）、中島泰宏（東京工大）、飯田晃仁（姫路工大）、堺正樹（姫路工大）の諸氏に感謝します。本研究の一部は文部省科学研究費総合研究(A)（No. 07308048）の助成によった。材料を恵与いただいた以下の方々に深謝します（敬称略）：大島泰郎（東京工大/現・東京薬大）、大隅隆（姫路工大）、小池裕幸（姫路工大）、古賀洋介（産業医大）、樋口芳樹（姫路工大/現・京都大）、安岡則武（姫路工大）、吉田賢右（東京工大）、吉本康明（関西医大）。

文 献

1. Bodanszky, M. and Perlman, D. (1969) *Science* 163, 352-358.
2. Osborn, M.J. (1969) *Ann. Rev. Biochem.* 38, 501-538.
3. Kamatani, Y., Minakata, H., Kenny, P.T.M., Iwashita, T., Watanabe, K., Funase, K., Sun, X.P., Yongsiri, A., Kim, K.H., Novales-Li, P., Novales, E.T., Kanapi, C., Takeuchi, H. and Nomoto, K. (1989) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 160, 1015-1020.
4. Ohta, N., Kubota, I., Takao, T., Shimonishi, Y., Yasuda-Kamatani, Y., Minakata, H., Nomoto, K., Muneoka, Y. and Kobayashi, M. (1991) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 178, 486-493.
5. Montecucchi, P.C., de Castiglione, R., Piani, S., Gozzini, L. and Erspamer, V. (1981) *Int. J. Pept. Protein Res.* 17, 275-283.
6. Helfman, P.M. and Bada, J. L. (1975) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 72, 2891-2894.
7. Masters, P.M., Bada, J.L. and Zigler, J.S. (1977) *Nature* 268, 71-73.
8. Fisher, G.H., Garcia, N.M., Payan, I.L., Cadilla-Perezrios, R., Sheremata, W.A. and Man, E.H. (1986) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 135, 683-687.
9. Shapira, R. and Chou, C.H.J. (1987) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 146, 1342-1349.
10. Kandler, O. and König, H. (1978) *Arch. Microbiol.* 118, 141-152.
11. Brückner, H., Becker, D. and Lüpke, M. (1991) *Chirality* 5, 385-392.
12. Matsushima, O., Katayama, H., Yamada, K. and Kado, Y. (1984) *Mar. Biol. Lett.* 5, 217-226.
13. Corrigan, J.J. (1969) *Science* 163, 352-358.
14. Nagata, Y., Masui, R. and Akino, T. (1992) *Experientia* 48, 986-988.
15. Nagata, Y., Yamamoto, K., Shimojo, T., Konno, R., Yasumura, Y. and Akino, T. (1992). *Biochim. Biophys. Acta* 1115, 208-211.
16. Nagata, Y., Horiike, K. and Maeda, T. (1994) *Brain Res.* 634, 291-295.
17. Nagata, Y., Borghi, M., Fisher, H. and D'Aniello, A. (1995) *Brain Res. Bull.* 38, 181-183.
18. Hashimoto, A., Nishikawa, T., Oka, T. and Takahashi, K. (1993) *J. Neurochem.* 60, 783-786.
19. Kera, Y., Aoyama, H., Matsumura, H., Hasegawa, A., Nagasaki, H. and Yamada, R. (1995) *Biochim. Biophys. Acta* 1243, 282-286.
20. 酒井くみ子, 福島 健, 三田智文, 本間 浩, 今井一洋, 田代 健, 岩坪 威 (1996) 日本生化学会第 69 回大会抄録 p.620.
21. Nagata, Y., Yamamoto, K., and Shimojo, T. (1992) *J. Chromatogr.* 575, 147-152.
22. Yohda, M., Endo, T., Abe, j., Oota, T., Iida, T., Maruyama, T. and Kagawa, Y. (1996) *J. Biol. Chem.* 271, 22017-22021.

Molecular evolution of aspartyl tRNA synthetases and origin of universal genetic code and kingdoms of living things

Masahiro Ishigami, Hideshi Ihara and Hiroyuki Shinoda*
College of Arts and Sciences and * College of Agriculture
Osaka Prefecture University,
Gakuencho 1-1, Sakai, Osaka 593 JAPAN

Abstract

It is thought that living things first appeared on the primitive earth 35 hundred million years ago. At that time, a primitive protein synthesis mechanism was thought to have been established. A genetic code system evolved, and a universal genetic code system developed. Aminoacyl tRNA synthetase (ARS) must have evolved with the genetic code system. Every living things of kingdoms i.e. Archea, Bacteria and Eucaria have universal genetic code. Thus, three kingdoms were supposed to be branched off after a universal genetic code system was established. The aim of the present study is to clarify the process of the establishment of the universal genetic code system and branched off process of three kingdoms by comparing the amino acids alignments of ARSs of living things belong to three kingdoms.

Key words: archea, extreme halophiles, *Halobacterium salinarium*, aminoacyl tRNA synthetase, aspartyl tRNA synthetase, molecular evolution, universal genetic code,

アスパルチル tRNA合成酵素の進化から見た 遺伝暗号系の成立過程と超生物界の分岐

石神正浩、居原秀、篠田洋幸*、
(大阪府立大学 総合科学部、*農学部、〒593堺市学園町1-1)

1. はじめに

現在、真正細菌、古細菌、真核生物の超生物界に属する生物はいずれも普遍的遺伝暗号系 (universal genetic code) をもっている。このことは、真正細菌、古細菌、真核生物が分かれる前に遺伝暗号系が確立したことを反映している。瀧木、横山¹⁾は、真核生物とグラム陰性菌においては、GlnRSがなくGluRSがGlnRSの代わりをしていたと推測している。これは、アミノアシルtRNA合成酵素(ARS)の進化と遺伝暗号系が確立した時期の関係を表わしているように見える。原始地球の微化石の記録から、約35億年前に原核生物がまず現れ、その後、ラン藻(cyanobacteria)が出現し、真核生物は約15億年前にこれらから分岐出現したと考えられている。原始生物が出現してから真核生物が出現するまでの間を、生化学的進化の時期などと呼び、この間、RNAのみからなる遺伝子が本当にあったのか、タンパク質合成系はどのように進化して、普遍的遺伝暗号系が完成したのか、などについては、まだ何もわかっていない。当時の遺物である微化石中の有機物は変化したり、分解消失してしまっている。生命の起原の後に長く続いたと思われる、原始生物の生化学的初期進化の過程を明かにする一つの手段として、現存生物の分子進化をさかのぼる方法がある。真正細菌と古細菌の生物進化における関係も、さまざまな核酸やタンパク質の分子進化の比較により推察されているが、いまだに最終的結論が得られていない。現存生物の各種ARSの分子進化の過程を明かにすることにより、普遍的遺伝暗号系が確立した過程を推測し、古細菌と真正細菌の出現過程を明かにする目的で、この研究を行っている。

Erianiら²⁾はARSがクラスI, IIに大別できることを見出した。このことから、ARSは進化の初期に2つに分岐したと思われる。NagelとDoolittle³⁾はこれまでに明かにされたARSの一次構造の類似性の高い部分を比較して、20種のアミノ酸に対応するARSの系統樹を描いている。

われわれは超好塩性古細菌 *Halobacterium salinarium* のアスパルチルtRNA合成酵素(AspRS、SYD)の一次構造を決めたのを機会に^{4,5)}、3つの超生物界に属する生物のAspRSを比較した。また、AspRSと類似性の高いアスパラギンルtRNA合成酵素(AsnRS、SYN)やリシルtRNA合成酵素(LysRS、SYK)から、この3種のARSが分岐したと思われる年代を推測し、原始生物の生化学的進化の中で遺伝暗号系が確立した年代を推測した。

2. AspRSの構造解析

AspRSはクラスIIに属し、活性中心に共通構造、モチーフ1、2、3を持つ²⁾。AspRSは20種類のARSの中で最もよく研究されている酵素の中の一つであり、その一次構造は、真核生物で4種類⁶⁻⁹⁾、真正細菌で3種類¹⁰⁻¹²⁾、古細菌では筆者らが決定した高

Table 1. Amino acid sequence identified as Aspartyl tRNA synthetases (SYD), Asparaginyl tRNA synthetases (SYN) and Lysyl tRNA synthetases (SYK). C in SYXC indicates "cytosol" and M in SYXM indicates "mitochondria".

	(abbreviations)	(living things)	(references)
(AspRS)			
A	SYD_HALSA	<i>Halobacterium salinarium</i>	Ihara, H. (1995) ⁴⁾
	SYD_PYRO	<i>Pyrococcus</i> sp. KOD1	Imanaka, T., et al. (1995) ¹³⁾
	SYD_METHJAN*	<i>Methanococcus jannaschii</i> .	Bult, C. J. et al. (1996) ¹⁶⁾
B	SYD_THETH	<i>Thermus thermophilus</i>	Poterszman, A. et al. (1993) ¹⁰⁾
	SYD_ECOLI	<i>Escherichia coli</i>	Eriani, G. et al. (1990) ¹¹⁾
	SYD_MYCLE	<i>Mycobacterium leprae</i>	Spierings, E.H.T. and Thole, J.E.R. (1994) ¹²⁾
	SYD_HAEMOINF*	<i>Haemophilus influenzae</i> RD	Fleischman, R.D. et al. (1995) ¹⁴⁾
	SYD_MYCOGEN*	<i>Mycoplasma genitalium</i> ,	Fraser, C.M., et al. (1995) ¹⁵⁾
M	SYDM_YEAST	Mitochondria <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Baker's yeast)	Gampel, A. and Tzagoloff, A. (1989) ¹⁷⁾
E	SYD_HUMAN	<i>Homo sapiens</i> (Human)	Jacobo-Molina, A. et al. (1989) ⁶⁾
	SYD_RAT	<i>Rattus norvegicus</i> (Rat)	Mirande, M. and Waller, J.P. (1989) ⁷⁾
	SYD_CAEL*	<i>Caenorhabditis elegans</i>	Wilson, R., et al. (1994) ⁸⁾
	SYDC_YEAST	Cytoplasm <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Baker's yeast)	Amiri, I., et al. (1985) ⁹⁾
(AsnRS)			
B	SYN_ECOLI	<i>Escherichia coli</i>	Anselme, J. and Haertlein, M. (1989) ²⁴⁾
E	SYNC_YEAST	Cytoplasm <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Baker's yeast)	Oliver, S.G. et al. (1992) ²⁵⁾
	SYN_MYCOGEN*	<i>Mycoplasma genitalium</i> ,	Fraser, C.M., et al. (1995) ¹⁵⁾
(LysRS)			
B	SYK_THETH	<i>Thermus thermophilus</i>	Chen, J. et al. (1994) ²⁶⁾
	SYK_ECOLI	<i>Escherichia coli</i>	Kawakami, K. et al. (1988) ²⁷⁾
	SYK_CAMJE	<i>Campylobacter jejuni</i>	Chan, V.L. and Bingham, H. (1992) ²⁸⁾
	SYK_BACSU	<i>Bacillus subtilis</i>	Ogasawara, N. et al. (1994) ²⁹⁾
M	SYKM_YEAST	Mitochondria <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Baker's yeast)	Gatti, D. and Tzagoloff, A. (1991) ³⁰⁾
E	SYK_CRILO	<i>Cricetulus longicaudatus</i> (Long-tailed hamster, Chinese hamster)	D' Andrea, S. and Mirande, M. (1994) ³¹⁾
	SYKC_YEAST	Cytoplasm <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Mirande, M. and Waller, J.P. (1988) ³²⁾

*guessed each kind of ARS from its homology of amino acid sequence with ARSs of another species.

アスパルチル tRNA 合成酵素の進化

	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	
SYD_HALSA	1									MDL	ED
SYD_PIRO	1									MDL	SSE
SYD_MSTHJAN	1									MDL	SAD
SYD_HUMAN	1									MDL	VRDLTI
SYD_RAT	1									MDL	VRDLTV
SYD_CAEL	1									MDL	VRDLTV
SYD_YEAST	1	MSQDENIVRA	VZES	PAIV	IS	SEDGKPLS	KKAL	IKL	GG	YV	YV
SYD_TREHW	1										
SYD_HICLE	1										
SYD_ECOLI	1										
SYD_HAZHOHF	1										
SYD_MCOGEM	1										
SYD_YEAST	1										

N-terminal extension

	110	120	130	140	150	160	170	180	190	200
SYD_HALSA	101	VPPD	EL	PK	PHKL	---	---	---	---	---
SYD_PIRO	101	ITLRLN	K	QV	WVW	N	---	---	---	---
SYD_MSTHJAN	101	YFP	EL	IP	RSI	SA	---	---	---	---
SYD_HUMAN	101	K	LV	---	---	---	---	---	---	---
SYD_RAT	101	K	LV	---	---	---	---	---	---	---
SYD_CAEL	101	N	---	---	---	---	---	---	---	---
SYD_YEAST	101	N	---	---	---	---	---	---	---	---
SYD_TREHW	101	PKD	EL	---	---	---	---	---	---	---
SYD_HICLE	101	PKD	EL	---	---	---	---	---	---	---
SYD_ECOLI	101	PKD	EL	---	---	---	---	---	---	---
SYD_HAZHOHF	101	PKD	EL	---	---	---	---	---	---	---
SYD_MCOGEM	101	PKD	EL	---	---	---	---	---	---	---
SYD_YEAST	101	PKD	EL	---	---	---	---	---	---	---

anticodon domain

	210	220	230	240	250	260	270	280	290	300
SYD_HALSA	201	EL	---	---	---	---	---	---	---	---
SYD_PIRO	201	NR	---	---	---	---	---	---	---	---
SYD_MSTHJAN	201	T	---	---	---	---	---	---	---	---
SYD_HUMAN	201	VQC	YV	---	---	---	---	---	---	---
SYD_RAT	201	VQC	YV	---	---	---	---	---	---	---
SYD_CAEL	201	LAQ	QOVV	---	---	---	---	---	---	---
SYD_YEAST	201	ET	---	---	---	---	---	---	---	---
SYD_TREHW	201	TS	---	---	---	---	---	---	---	---
SYD_HICLE	201	TS	---	---	---	---	---	---	---	---
SYD_ECOLI	201	SS	---	---	---	---	---	---	---	---
SYD_HAZHOHF	201	KE	---	---	---	---	---	---	---	---
SYD_MCOGEM	201	T	---	---	---	---	---	---	---	---
SYD_YEAST	201	EDI	---	---	---	---	---	---	---	---

hinge domain

Motif 1

	310	320	330	340	350	360	370	380	390	400
SYD_HALSA	301	EDL	---	---	---	---	---	---	---	---
SYD_PIRO	301	TEL	---	---	---	---	---	---	---	---
SYD_MSTHJAN	301	TEL	---	---	---	---	---	---	---	---
SYD_HUMAN	301	---	---	---	---	---	---	---	---	---
SYD_RAT	301	---	---	---	---	---	---	---	---	---
SYD_CAEL	301	---	---	---	---	---	---	---	---	---
SYD_YEAST	301	---	---	---	---	---	---	---	---	---
SYD_TREHW	301	---	---	---	---	---	---	---	---	---
SYD_HICLE	301	---	---	---	---	---	---	---	---	---
SYD_ECOLI	301	---	---	---	---	---	---	---	---	---
SYD_HAZHOHF	301	---	---	---	---	---	---	---	---	---
SYD_MCOGEM	301	---	---	---	---	---	---	---	---	---
SYD_YEAST	301	---	---	---	---	---	---	---	---	---

activesite domain

Motif 2

	410	420	430	440	450	460	470	480	490	500
SYD_HALSA	401	EL	---	---	---	---	---	---	---	---
SYD_PIRO	401	EL	---	---	---	---	---	---	---	---
SYD_MSTHJAN	401	EL	---	---	---	---	---	---	---	---
SYD_HUMAN	401	---	---	---	---	---	---	---	---	---
SYD_RAT	401	---	---	---	---	---	---	---	---	---
SYD_CAEL	401	---	---	---	---	---	---	---	---	---
SYD_YEAST	401	---	---	---	---	---	---	---	---	---
SYD_TREHW	401	---	---	---	---	---	---	---	---	---
SYD_HICLE	401	---	---	---	---	---	---	---	---	---
SYD_ECOLI	401	---	---	---	---	---	---	---	---	---
SYD_HAZHOHF	401	---	---	---	---	---	---	---	---	---
SYD_MCOGEM	401	---	---	---	---	---	---	---	---	---
SYD_YEAST	401	---	---	---	---	---	---	---	---	---

extra domain

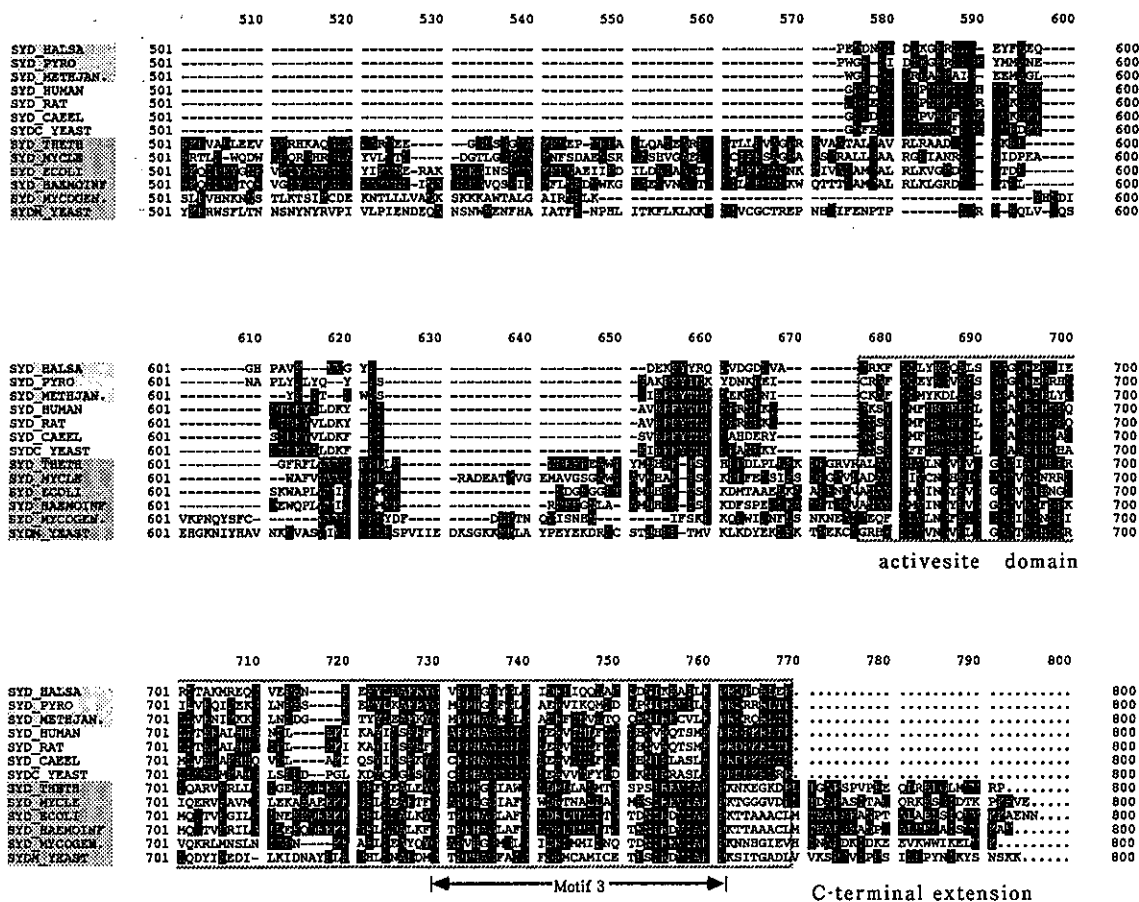


Figure1. Multi-alignment of all known amino acids sequences of asprS (SYD) from different living things in single letter code. Living things and its abbreviations are shown in Table 1. First 3 are archea, second 4 are eucaria, and last 6 are bacteria. Three motifs commonly found in Class II ARS are shown. N- and C-extension and four kinds of domain are shown. Identical amino acids are highlighted in black.

度好塩菌 (*Halobacterium salinarium*) も含めれば2種類¹³⁾で明らかにされ、ミトコンドリアも1種¹⁷⁾ 明らかになっている。さらに最近全ゲノムDNA塩基配列が明らかになった生物種も含め、塩基配列から予測されるオープンリーディングフレームが他の生物種の AspRSと高いホモロジーを示した生物種が真核生物で1種類⁸⁾、真正細菌で2種類^{14,15)} (うち、マイコプラズマ1種¹⁵⁾)、古細菌で1種類ある¹⁶⁾ (Table 1)。三次構造においては、真核生物である酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) では酵素・tRNA複合体の (Ruffら¹⁸⁾)、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いる¹⁹⁾。これまでに古細菌を除く真核生物と真正細菌の AspRSの一次構造、三次構造の解析から、真核生物型 AspRS と真正細菌型 AspRS には”超生物界特異的ドメイン”が存在することが明らかになった¹⁹⁾。つまり、両超生物界由来の AspRSに共通のN末端ドメイン、ヒンジドメイン、活性中心ドメインの他に、真核生物 AspRSはN末端伸長ドメインを持ち、真正細菌 AspRSはモチーフ2と3の間の長い挿入ドメインおよびC末端伸長ドメインを持っている。これらの結果は、各超生物界由来の AspRSが、それぞれ分岐後の初期の段階で独特の進化の道筋をたどったことを示唆している。ここでは、これまで得られている知見に、”第3の生物”である古細菌のデータを加えて解析し、古細菌 AspRSの構造的特徴について述べる。

3. 古細菌と他の生物の AspRS の構造との類似性

高度好塩菌 *Halobacterium salinarium*、超好熱菌 *Pyrococcus* sp. (strain KOD1)、メタン生成菌 *Methanococcus jannaschii* のアミノ酸配列を比較してみると、共通のアミノ酸は高度好塩菌と超好熱菌で42%、高度好塩菌とメタン生成菌で38%、超好熱菌とメタン生成菌で57%、3種類すべてに共通なアミノ酸は32%と、各古細菌が、高塩濃度、高温、高圧といった異なった極限環境に生育、適応しているにもかかわらず、その類似性は高い (Fig.1)。古細菌 AspRSの一次構造を整列させると、真核生物 AspRS、真正細菌 AspRS で機能上重要であると考えられている領域 (活性中心を形成するモチーフ1、2、3、アミノ酸結合領域、マグネシウム結合領域、tRNAのアクセプターステム結合領域、アンチコドン結合するN末端ドメイン領域など) が、古細菌 AspRSでも認められ、その領域はよく保存されている (Fig.1)。これらの結果は、古細菌 AspRSは同一の立体構造をとり、それは真核生物 AspRS、真正細菌 AspRSのものと同質的な部分で相同であることを示唆している。

4. 古細菌 AspRSの一次構造の特徴

古細菌 AspRSは436-438アミノ酸残基からなり、真核生物 AspRSよりも60-120残基、真正細菌よりも114-240残基少なく、単純に全生物の AspRSの一次構造を整列させるのは難しい。そこで、真核生物 AspRSと真正細菌 AspRSで立体構造を元に一次構造を整列させたものに、古細菌 AspRSを加え、機能上重要であると考えられている領域が整列するように並べて、各超生物界由来 AspRSを比較してみると Fig. 1, 2 のようになる。興味深いことに、古細菌 AspRSは、真核生物 AspRSで見られるN末端伸長部位 (N-terminal extension)、真正細菌 AspRSで見られるモチーフ2と3の間の挿入部位 (insertion)、C末端伸長部位 (C-terminal extension) のどれも持たない。また、この一次構造を酵母 AspRS、好熱性真正細菌 AspRSの立体構造に当てはめてみると、古細菌 AspRSの立体構造は Fig. 2 のような活性中心ドメイン、ヒンジドメイン、N末端ドメインからなる最もコンパクトなものであると

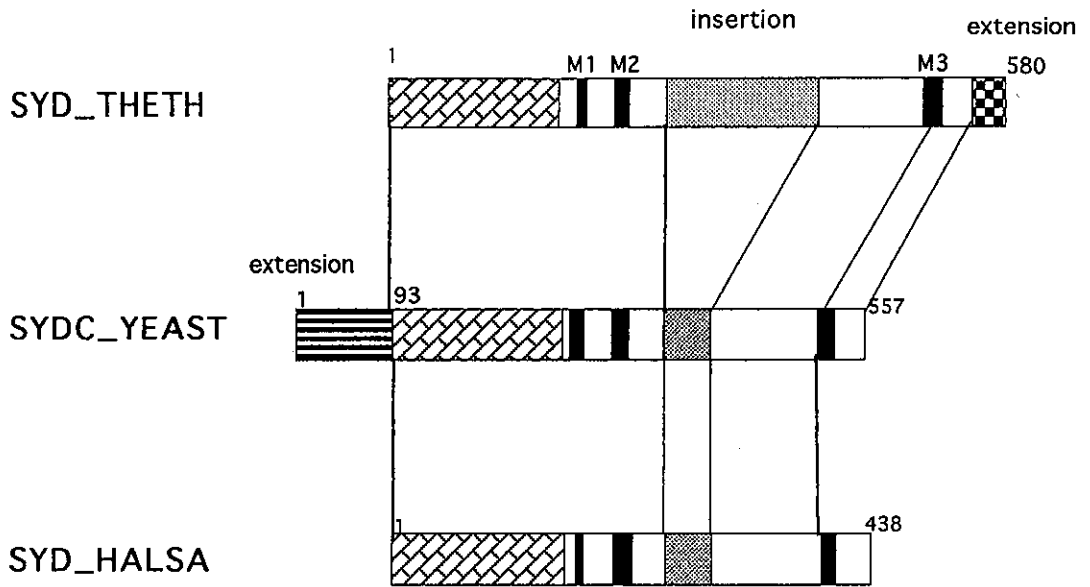


Figure 2. Linear organization of a bacterial SYD_THETH (*T. thermophilus*), an eukaryotic SYDC_YEAST (*S.cerevisiae*) and an archeal SYD_HALSA (*H. salinarium*). Diagram of SYD_HALSA was aligned with that of Delarue,M. et al. ¹⁹⁾

アスパルテイルtRNA合成酵素の進化

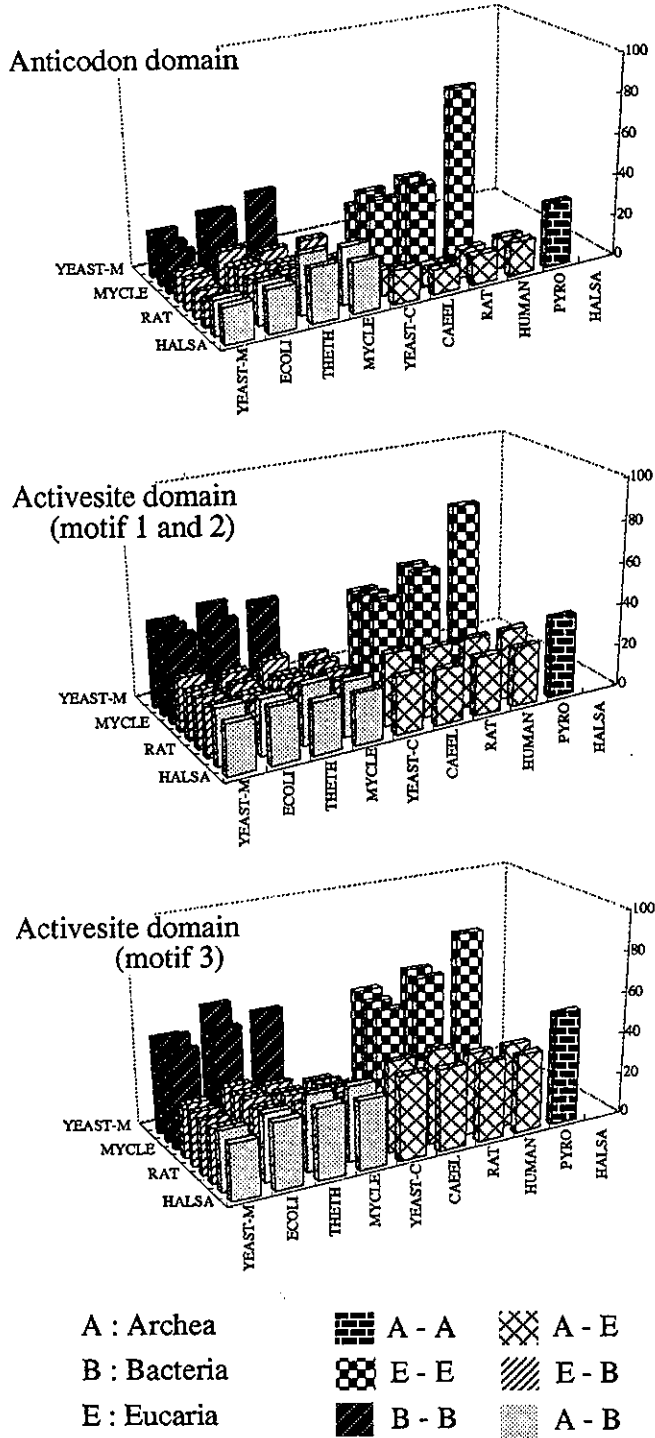


Figure 3. Homology of amino acids sequences of each domain among various kinds of living things belong to three different kingdoms.

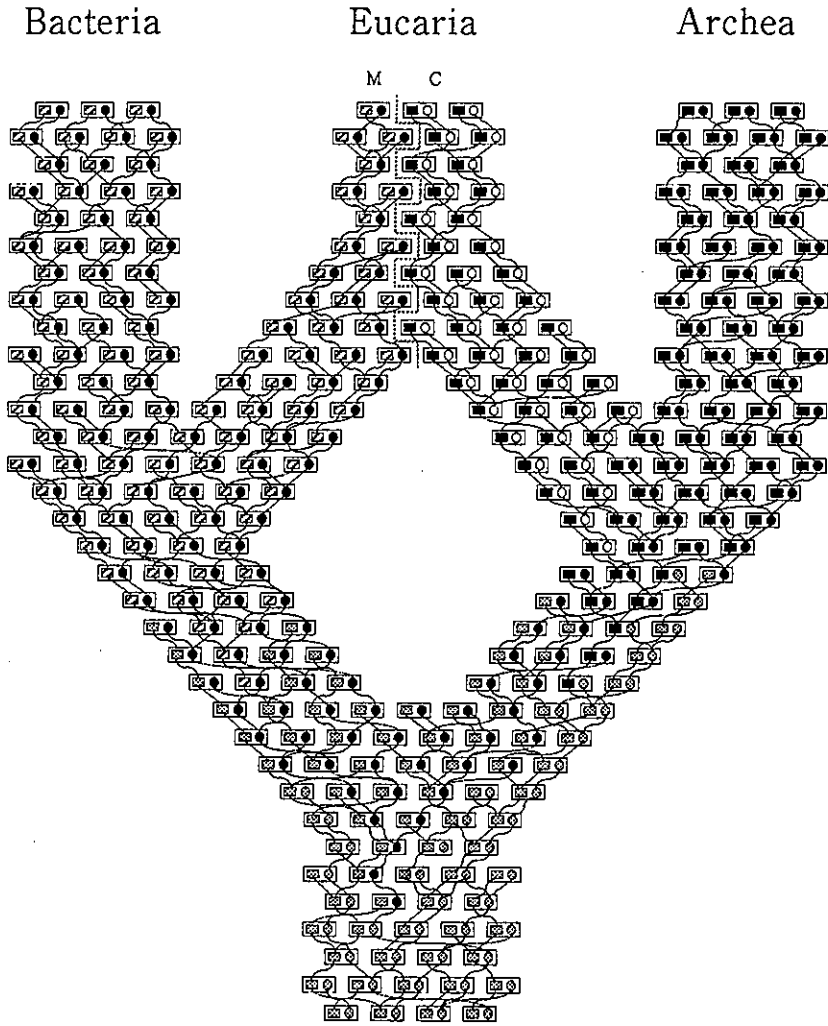


Figure 4. Phylogenetic tree of three kingdoms and two different domains (scheme). \square : shows bacteria type active site domain, \blacksquare : shows eucaria and archea type active site domain, \bullet : shows bacteria and archea type anticodon domain, \circ : shows eucaria type anticodon domain.

考えられる。

5. 活性中心ドメインとN末端ドメイン

各種生物のAspRSのアミノ酸配列を共通な部分が最大になるように配列し”分子全体”のホモロジーを求めると、古細菌は真正細菌とよりも真核生物と近縁であることがわかる (Fig.4)。活性中心ドメイン部分の配列を比較しても、古細菌と真核生物の間でホモロジーが高い。しかし、アンチコンを認識するN末端ドメインだけは古細菌と真核生物とよりも、古細菌と真正細菌の間でホモロジーが高いことがわかった (Fig.3)。これはドメイン・シャッフリングの一例であると考えられる。遺伝子の分岐と種に分岐の関係を長谷川、岸野²⁰⁾は図示しているが、この考えにもとづいてアンチコドン・ドメインと活性中心ドメインの進化と超生物界の進化を描いて見るとFig.5のようになる。他のアミノ酸に対応するARSについて、このような関係も含めて明かにすると、ARSの進化の道筋が解明されると考える。

7. 遺伝暗号系の成立とARSの進化

遺伝暗号系の成立には、タンパク質合成系の構成成分の進化が必要である。まず、化学進化で生成しなかったようなアミノ酸が、原始生物の中の代謝系の進化により、恒常的に細胞中に供給される必要がある。化学進化の中では、せいぜい10種のアミノ酸くらいが適量生成し、これらのアミノ酸を使って、最初の生命はスタートしたと考えられる。次に、代謝系の進化により供給されるようになったアミノ酸が、原始生物を自然選択において有利に立たせる場合にのみ、このアミノ酸は遺伝暗号系に新しく加えられたと考えられる^{21, 22)}。その際、このアミノ酸に対応するtRNAが出現し、これらを結合させるARSが進化する必要があっただろう。同様に、各種アミノ酸に対応するARSの分子進化は遺伝暗号系の成立過程を反映していると考えられる。これまでに明かにされている AspRS(SYD), AsnRS(SYN), LysRS(SYK)のアミノ酸配列を用いて、岩部ら²³⁾の提案した複合系統樹をUPGMA法³³⁾ (平均距離法、unweighted pair-group method)を用いて描いた (Fig.6)。この3種のアミノ酸のARSは互いに類似している³⁴⁾、遺伝暗号系の完成の直前に分岐または追加されたと考えられる。UPGMA法による系統樹は、生物種が異なっても、ARSのアミノ酸種が異なっても、進化速度は変わらないという仮定に基づいている。真核生物が出現した時期を15億年前と仮定すると、AspRSに関する系統樹から、古細菌と真正細菌が分岐したのは17億年前になり、AspRSとAsnRSが分岐したのは23億年前になる。さらに、LysRSがAspRSとAsnRSの共通祖先から分岐したのは24億年前になる。各ARSの進化速度にどの程度のばらつきがあったのか、もまだよくわかっていないし、タンパク質の中立進化は原始タンパク質で早く^{21,22)}、必ずしも一定でなかったと考えられることから、ここで得られた年代はあくまでも第一近似である。しかし、今は跡形もなく消え去ってしまった原始生命体の生化学的進化の過程を明かにし、タンパク質合成系の形成過程を明かにする一つの手段として、タンパク質合成系の構成成分の分子進化の過程を解明することが有力である。このような手段によって、その後起こったと考えられる超生物界の分岐や共生の過程も含めて明かにできると考える。

謝辞 討論に参加して下さり、研究推進を援助して下さった加藤幹男博士、および研究室の学生の皆様に深く感謝いたします。

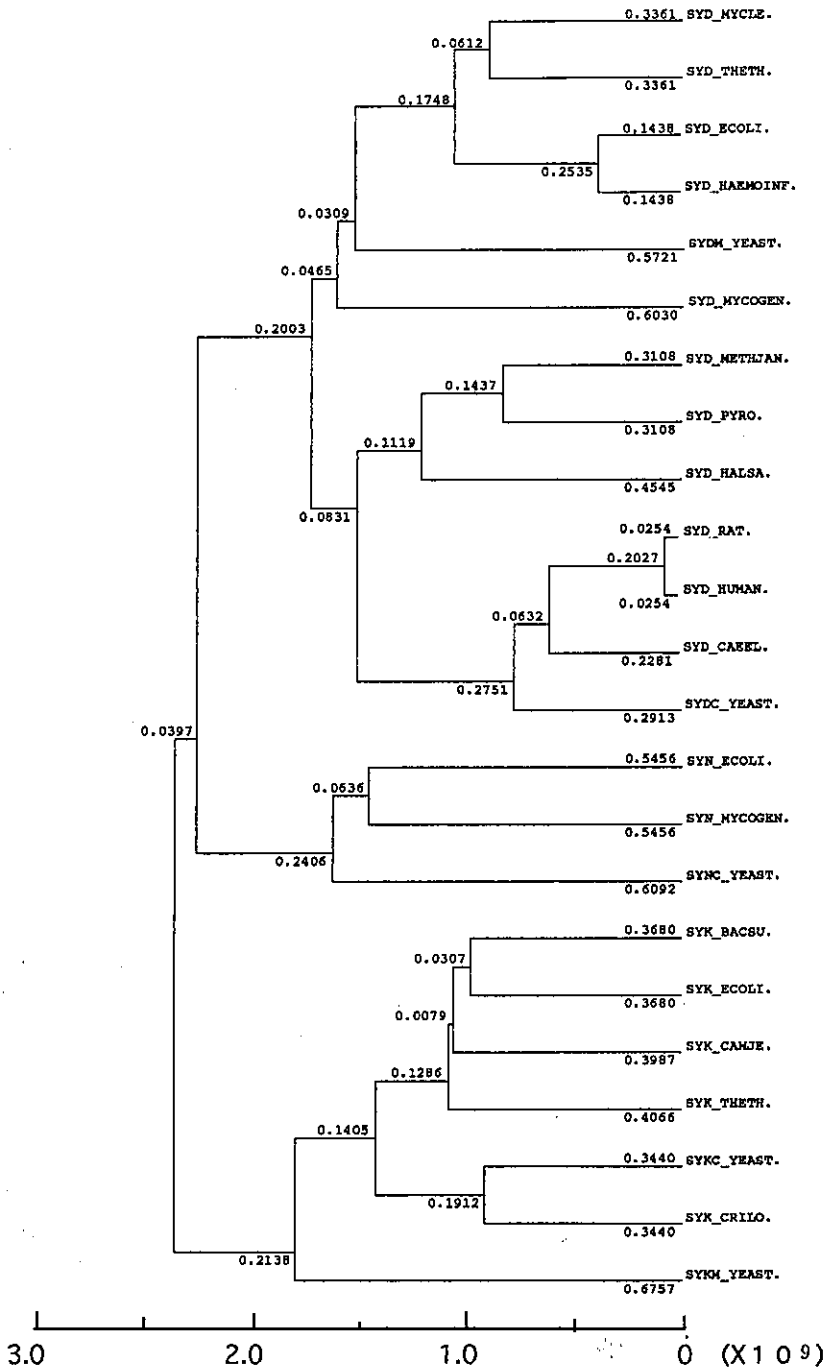


Figure 5. Composite phylogenetic tree²³⁾ of AspRS (SYD), AsnRS (SYN) and Lys RS (SYK) obtained from different living things. The horizontal axis shows the years before present. Abbreviations of A, B, E, M and C are same as shown in Table 1.

引用文献

1. 濡木理、横山茂之、トランスファー RNA の構造生物学、科学 (岩波書店) 66(8) : 548-555 (1996)
2. Eriani, G., Deraue, M., Poch, O., Gangloff, J., and Moras, D., Partition of tRNA synthetases into two classes based on mutually exclusive sets of sequence motifs. *Nature* 347: 203-206 (1990)
3. Nagel, G.M., and Doolittle, R.F. Phylogenetic analysis of the aminoacyl-tRNA synthetases. *J. Mol. Evol.* 40: 487-498 (1995)
4. Ihara, H., Submitted to EMBL/GENBANK/DDBJ data banks (1995)
5. Ishigami, M., Ihara, H., Shinoda, H. Molecular evolution of aminoacyl tRNA synthetases and origin of universal genetic code. in "Astronomical and biochemical origins and the search for life in the universe" ed. Cosmovici, C.B., Bowyer, S. and Werthimer, D. (1997) in press
6. Jacobo-Molina, A. et al. cDNA sequence, predicted primary structure, and evolving amphiphilic helix of human aspartyl-tRNA synthetase. *J. Biol. Chem.* 264: 16608-16612 (1989)
7. Mirande, M. and Waller, J.P. Molecular cloning and primary structure of cDNA encoding the catalytic domain of rat liver aspartyl-tRNA synthetase. *J. Biol. Chem.* 264: 842-847 (1989)
8. Wilson R, et al., 2.2 Mb of contiguous nucleotide sequence from chromosome III of *C. elegans*. *Nature* 368: 32-38 (1994)
9. Amiri, I. et al., The complete amino acid sequence of cytoplasmic aspartyl-tRNA synthetase from *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochimie* 67: 607-613 (1985)
10. Poterszman, A. et al. Sequence, overproduction and crystallization of aspartyl-transfer RNA synthetase from *Thermus thermophilus* - Implications for the structure of prokaryotic aspartyl-transfer RNA synthetases. *FEBS Lett.* 325: 183-186 (1993)
11. Eriani, G. et al., Aspartyl tRNA synthetase from *Escherichia coli*: cloning and characterization of the gene, homologies of its translated amino acid sequence with asparaginyl- and lysyl-tRNA synthetases. *Nucleic Acids Res.* 18: 7109-7118 (1990)
12. Spierings, E.H.T. et al. Submitted to EMBL/GENBANK/DDBJ data banks (1994)
13. Imanaka, T. et al., Aspartyl tRNA synthetase of the hyperthermophilic archeon *Pyrococcus* sp. KOD1 has a chimerical structure of eukaryotic and bacterial enzymes. *Gene*, 164: 153-156 (1995)
14. Fleischmann, R.D. et al. Whole-genome random sequencing and assembly of *Haemophilus influenzae* Rd. *Science* 269: 496-512 (1995)
15. Fraser, C.M., et al. The minimal gene complement of *Mycoplasma genitalium*, *Science* 270: 397-403 (1995)
16. Bult, C. J. et al. Complete genome sequence of the methanogenic archaeon, *Methanococcus jannaschii*. *Science* 273: 1058-1073 (1996)
17. Gampel, A. and Tzagoloff, A. Homology of aspartyl- and lysyl-tRNA synthetase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 8: 6023-6027 (1989)

1. The first part of the document discusses the importance of maintaining accurate records of all transactions and activities. It emphasizes that this is crucial for ensuring transparency and accountability in the organization's operations.

2. The second part of the document outlines the various methods and tools used to collect and analyze data. It highlights the need for consistent and reliable data collection processes to support effective decision-making.

3. The third part of the document focuses on the role of technology in data management and analysis. It discusses how modern software solutions can streamline data collection, storage, and reporting, thereby improving efficiency and accuracy.

4. The fourth part of the document addresses the challenges associated with data management, such as data quality, security, and privacy. It provides strategies to mitigate these risks and ensure that data is used responsibly and ethically.

5. The fifth part of the document discusses the importance of data governance and the role of leadership in establishing a strong data culture. It emphasizes that clear policies and standards are essential for successful data management.

6. The sixth part of the document provides a summary of the key findings and recommendations. It reiterates the importance of a data-driven approach and offers practical advice for implementing the discussed strategies.

7. The final part of the document concludes with a call to action, encouraging all stakeholders to take ownership of their data and work together to achieve the organization's goals.

古細菌のエポルーション：好塩菌研究者の見方

亀倉正博^a、モーリス ケイツ^b

(財)野田産業科学研究所、☎278 千葉県野田市野田399 ^a
オタワ大学理学部生化学科、オタワ、オンタリオ、K1N 6N5 カナダ ^b

和文要旨：

古細菌を構成する二つの界のうちユリアーキオータ (euryarchaeota) は、いろいろな表現形質を持つ菌群の集まりである。そのなかでもメタン生成菌と高度好塩菌は系統的に近いことが判ってきた。両者の代表株の脂肪酸合成酵素は塩阻害を受けるのに対し、好塩菌のメバロン酸経路は塩要求が高い。また、高度好塩性、好アルカリ性のメタン生成菌も分離されている。現時点で得られる状況証拠からは明確なことは言えないが、好塩菌を中心にして古細菌のエポルーションについての仮説を提唱する。

EVOLUTION OF ARCHAEA: A VIEW OF HALOBACTERIOLOGISTS

Masahiro Kamekura^a, and Morris Kates^b

Noda Institute for Scientific Research, 399 Noda, Noda-shi, Chiba-ken, 278
Japan^a, and
Department of Biochemistry, University of Ottawa, Ottawa, Ontario, K1N 6N5
Canada^b

ABSTRACT: The diversity of the characteristics of the members of euryarchaeota is discussed. Although it is difficult to trace back the evolution of archaea from information available at present, a few hypothetical scenarios for the evolution of methanogens and halophiles will be offered for discussion.

Key words: phylogeny, diversity, archaebacteria, methanogen, extreme halophile, halobacteria, hyperthermophile, ether lipid, glycolipid, natronobacteria

INTRODUCTION

The archaea are known to comprise prokaryotes of four quite distinct general phenotypes: the methanogens (methane producers), the extreme halophiles (requiring at least 2 M NaCl), loosely defined thermophilic sulfur dependent types, and thermophilic sulfate reducers. The existence only in archaea of quite unusual membrane lipid structures, derived from diphytanyl-glycerol diether and its dimer dibiphytanyl diglycerol tetra ether, raises questions concerning the biosynthetic pathways and membrane functions of these lipids, which have implications on evolutionary relationships within the Archaea and between Archaea, Bacteria (Eubacteria), and Eucarya¹. In this short review we would like to discuss the evolution of archaea with an emphasis on extreme halophiles.

PHYLOGENY OF ARCHAEA

The four major phenotypes of archaea, however, do not correspond to four distinct taxa of equivalent rank. Phylogenetic relationships deduced from 16S rRNA sequences among the four phenotypes suggest particular evolutionary relationships among the phenotypes. The archaeal tree comprises two main branches, Crenarchaeota and Euryarchaeota¹. The crenarchaeotes are relatively homogeneous phenotypically, i. e. they are exclusively thermophilic, most of them being anaerobic hyperthermophiles, though some are aerobic².

On the other hand, the euryarchaeotes comprise all types of archaea: five orders of methanogens (*Methanobacteriales*, *Methanomicrobiales*, *Methanococcales*, *Methanosarcinales*, and *Methanopyrales*, see ref.3), *Halobacteriales*, *Archaeoglobales*, *Thermoplasmatales*, and *Thermococcales*². It is of interest that *Methanomicrobiales*/*Methanosarcinales* lineage has spawned the extreme halophiles, the sulfate reducers, and the cell wall-less *Thermoplasma*. The relatively close relationship of *Methanomicrobiales*/*Methanosarcinales* and *Halobacteriales* has also been confirmed by analyses of 23S rRNA sequences⁴. The fact that the former are strict anaerobes, while the latter are aerobes poses a question on the nature of the precursors of these archaea during evolution (see discussion below). *Methanomicrobiales*/*Methanosarcinales* has been known to be very heterogeneous in that various sublines produce methane from a variety of substrates in addition to carbon dioxide and hydrogen, i. e. formate, isobutanol, n-propanol, isopropanol, etc. and under a variety of conditions. It is of interest that *Methanosarcinales* comprise alkaliphilic or halophilic methanogens; some are even extremely halophilic, though strictly anaerobic³. The diversity of the characteristics of the members of euryarchaeota makes it very complicated to trace back the evolution of these microbes.

DIVERSITY OF THE HALOBACTERIACEAE

At this stage we would like to review the diversity of halobacteria. These extremely halophilic, aerobic Archaea are all classified within the family *Halobacteriaceae* which currently contains nine valid genera; *Halobacterium*, *Halococcus*, *Haloarcula*, *Haloferax*, *Halorubrum*, *Halobaculum*, *Natrialba*, *Natronobacterium*, and *Natronococcus*. Over the last five years, phylogenetic tree reconstruction using 16S rRNA sequence data has become an increasingly powerful tool in halobacterial taxonomy and, with accumulating numbers of complete sequences available, the trees produced are more detailed and show an ever widening diversity of species ^{5,6,7,8}.

Alkaliphilic extreme halophiles

Another feature of major significance in the classification of halobacteria is the composition of membrane polar lipids, particularly glycolipids. These have so far been very reliable markers for phylogenetic groupings at the genus level; species of the same genus contain the same glycolipid ^{7,9}. However, difficulties may arise using polar lipid composition to distinguish members of haloalkaliphilic genera, *Natronobacterium*, and *Natronococcus*, as they may possess low amounts of glycolipids that are not readily detectable ¹⁰. The alkaliphilic members of *Halobacteriaceae* form a distinct physiological group as they not only require high NaCl concentrations, but also high pH (between 8.5-11) and low Mg²⁺ concentrations (less than 10mM) for growth. They have been isolated from a variety of alkaline, hypersaline lakes and soils. Microscopically, the initial isolates consisted of rods and cocci and were accordingly separated into two genera, *Natronobacterium* and *Natronococcus*. *Natronobacterium* currently contains four recognised species, *Nb. gregoryi*, *Nb. magadii*, *Nb. pharaonis*, and *Nb. vacuolatum*, with *Nb. gregoryi* as the type species. The present classification of these isolates was based largely on chemotaxonomic criteria, particularly phenotypic properties and lipid composition which, in their case, was the absence of glycolipids ⁵. However, in a recent study ¹⁰ a non-sulfated glycolipid was identified in haloalkaliphilic strains from India and in the type strain *Nb. gregoryi*. Thus it may be possible to utilize glycolipid composition in classification of haloalkaliphiles, but further surveys of glycolipids in these halobacteria are required.

The 16S rRNA gene of only one species, *Nb. magadii*, has been reported, and comparison to other halobacteria has clearly shown that it represents a distinct genus. However, the sequences of the other three species of *Natronobacterium* have not been published, so good phylogenetic support for their inclusion in this genus is lacking. DNA-DNA cross-hybridisation of the four species indicated

they share very little sequence homology (31-38%)¹¹ and, while this was good evidence for classification as separate species, it does not preclude their representing different genera.

A new genus of haloalkaliphile

To ascertain whether the four members of the genus *Natronobacterium* were indeed close relatives, the complete sequence of the 16S rRNA gene of three species were determined¹². It was revealed that *Natronobacterium pharaonis* was phylogenetically distinct from the other members of the same genus, and from the other recognised genera of the family *Halobacteriaceae*. The membrane phospholipid composition of *Nb. pharaonis* has also been shown to differ from that of *Nb. magadii*, *Nb. gregoryi* and *Nb. vacuolatum*¹³. On the basis of phylogenetic tree reconstructions, lipid and other phenotypic differences, we proposed a new genus, *Natronobacter*, and that *Natronobacterium pharaonis* be transferred to this genus as *Natronobacter pharaonis*¹².

DIETHER OR TETRAETHER

The archaea of the two orders, *Halobacteriales* (aerobic extreme halophiles) and *Thermococcales* (hyperthermophiles) are unique in that they are devoid of any tetraether lipids. But it is noteworthy that some mesophilic methanogens form both diether and tetraether lipids while others form only diethers, and some thermophilic methanogens, including some hyperthermophiles (e.g. *Methanopyrus kandleri*) completely lack tetraethers^{14,15,16}. Tetraethers are most likely biosynthesized by head-to-head condensation of terminal carbons of isoprenyl diether precursors, but virtually nothing is known so far about the chemical mechanism or the enzyme system involved. Although it may appear that tetraethers are formed as an adaptation to high temperatures in thermophiles, the absence of tetraethers in some thermophilic and even hyperthermophilic archaea and their presence in some mesophilic methanogens suggests that the evolution of tetraether lipids may be determined not primarily by temperature adaptation but by genetic or phylogenetic relationships^{14,15}.

FATTY ACIDS IN HALOBACTERIA

In addition to the diether lipids, a small amount of fatty acid has been detected in *Halobacterium cutirubrum*¹⁷ and *Methanobacterium thermoautotrophicum*¹⁸. Recently it was demonstrated that fatty acids of *H. cutirubrum* do not occur in lipid-bound form but largely in the form of acylated proteins in the

red membrane ¹⁸. The fatty acid synthase (FAS), however, is strongly inhibited by high salt concentrations ¹⁷, while the mevalonate enzyme system for isoprenoid biosynthesis has an absolute requirement for high salt concentrations ⁹. Other enzymes involved in fatty acid ester lipid synthesis are either not expressed or absent [glycerophosphate acyl transferase (GPAT) and lysophosphatidic acid acyl transferase (LPAT)] or present (acyl-CoA synthase) but inactivated by high salt concentration (M.Kates and T.Rana, unpublished results). This would help to explain the absence of ester phospholipids and glycolipids and the presence of acylated proteins. These facts may offer a clue to the mechanism of evolution of extreme halophiles from nonhalophilic or moderately halophilic precursors, and possibly for the evolution of methanogens and extreme thermophiles. The following hypothetical scenarios have been offered for discussion ⁹.

EVOLUTIONARY CONSIDERATIONS

Scenario 1

In scenario 1, an anaerobic precursor synthesizing acyl ester phospholipids, and perhaps also monoacylmonoalkyl ether phospholipids, as well as isoprenoid compounds, was exposed to gradually increasing salt concentrations such as in evaporating salt lakes or ponds. As the intracellular cellular salt concentration increased, progressive inhibition of the FAS, the complex acyl lipid-synthesizing enzyme, (particularly the acyl-CoA:sn-3-GP acyl transferase) and the mevalonate enzyme system occurred, resulting eventually in a near-lethal deficiency of membrane lipid. However, before this state was reached, a mutant arose, designated 'pre-archaebacterium' or 'pre-extreme halophile', in which the mevalonate enzyme system and the alkyl ether lipid synthetase, but not the FAS to the same extent, were modified for effective functioning in increasingly salty environments. The driving force here was the increased survival value afforded by the more stable isopranyl ether phospholipids and glycolipids.

As the salt concentration of the environment approached saturation, the mevalonate enzyme system and the alkyl ether lipid synthetases of the 'pre-archaebacterium' were further modified for optimal synthesis of isoprenyl/isopranyl chains and diphytanyl glycerol diether lipids, respectively, to form the 'pro-extreme halophile'. The FAS and acyl-CoA synthase, which were only slightly modified, were now largely inhibited, but still able to produce sufficient fatty acids and fatty acyl-CoA's for membrane protein acylation. Replacement of the membrane acyl lipids by the phytanyl glycerol diether lipids rectified the deficiency in acyl polar lipids and at the same time provided a membrane lipid bilayer that was more suited to a high salt environment.

Replacement of the typical eubacterial cell wall by the archaeobacterial glycosylated protein cell wall may also have happened at this stage of 'pro-extreme halophile'. Further mutation of the anaerobic 'pro-extreme halophile' occurred to produce bacteriorhodopsin and bacterioruberins, enabling the mutant to function anaerobically in the light. The aerobic system of fermentation evolved later to form the extreme halophiles known today.

The methanogens and perhaps the extreme thermophiles may have evolved from either the 'pre-archaebacterium' or the 'pro-extreme halophile' to form a 'pro-methanogen' or 'pro-thermoacidophile', a process that would have involved re-adaptation of the mevalonate enzyme system and the alkyl ether synthetases to function at lower salt concentrations. In this connection it is interesting that a few halophilic methanogens growing in 2-4 M salt have been described ¹⁵, although a halophilic thermoacidophile has not yet been isolated. At this stage, development of the novel enzyme system for head-to-head coupling of the ends of the isoprenyl chains to form tetraether lipids may have occurred in the 'pro-methanogen' and 'pro-thermoacidophile'.

Scenario 2

In scenario 2, it is argued that thermoacidophiles could have developed independently of the halophiles as a result of inhibition of the FAS in a 'pre-archaebacterium' by low pH and/or high temperature. This possibility implies that the mevalonate enzyme system and ether lipid synthetases, but not the FAS, would have been modified appropriately to function optimally at low pH and high temperature. Further, the enzyme systems for synthesis of diether and tetraether lipids would have developed first in a 'pro-thermoacidophile' and have been passed on to a 'pro-methanogen', and then to a 'pro-extreme halophile' with deletion of tetraether synthetase in the latter microbe.

Scenario 3

In scenario 3, it is presumed that the 'pre-archaebacterium' was a moderately halophilic and thermophilic methanogen, in which the FAS was inhibited by both high salt and high temperature, while the mevalonate and ether lipid enzyme systems were modified to function optimally under these conditions. These enzyme systems would then have been passed on to a 'pro-thermoacidophile', and then to a 'pro-extreme halophile'.

FATTY ACID SYNTHASES OF ARCHAEA

Recently the presence of FAS in a thermophilic methanogen, *Methanobacterium*

thermoautotrophicum, was demonstrated by Pugh and Kates ¹⁸. They showed that the activity was higher at 60°C in nitrogen than at 37°C or in oxygen at either temperature. The FAS was dependent on ACP (acyl carrier protein) but did not require NADPH or acetyl-CoA. In contrast, the *H. cutirubrum* FAS was not dependent on ACP or NADPH. Both enzyme systems are also different from that of *E. coli*.

The synthesis of fatty acids by FAS has been shown to involve seven enzymatic reactions. These reactions were first studied in cell-free extracts of *E. coli*, in which they were catalyzed by independent enzymes individually ¹⁹. In yeast, fatty acid synthases are known to be $\alpha_6\beta_6$ multifunctional enzyme complex with a molecular weight of 2.5 MD ¹⁹. Gene cloning of FAS from different branches of archaea is required to gain further insight into the evolution of archaea.

CONCLUSION

Halophilic archaeobacteria balance the external high salt concentrations of their natural hypersaline medium by accumulating within the cell inorganic ions to concentrations (almost saturated KCl and 1M NaCl) exceeding that of the medium. Therefore all the cellular components are thought to have adapted to function at these extremely high intracellular salt concentrations, and many studies have been done to elucidate the mechanism of halophilicity of halophilic proteins, e.g. malate dehydrogenase from *Haloarcula marismortui* ²⁰, halolysin 172P1 from *Natrialba asiatica* strain 172P1 ²¹, and halolysin R4 from *Haloferax mediterranei* strain R4 ²². FAS and acyl-CoA synthase of *Halobacterium cutirubrum* are exceptional intracellular enzymes which are inhibited by high salt concentration as in *E. coli*, and this fact may have been an important factor in the evolution of the archaea.

As mentioned above, some extremely halophilic methanogens have been isolated from hypersaline environments ²³, *Methanohalophilus mahii*, *Mh. halophilus*, *Methanohalobium vestigatum* etc. Sequences of 16S and 23S RNA encoding genes of these isolates are required to gain fine insight into the evolutionary relationship between extreme halophiles and methanogens.

Further studies on more proteins including FAS of halophilic methanogens and acidothermophiles would also be of great importance to shed light on the evolution of microorganisms.

REFERENCES

1. Olsen, G. J., C. R. Woese, and R. Overbeek. 1994. The winds of (evolutionary) change: Breathing new life into microbiology. *J. Bacteriol.* 176:1-6.
2. Stetter, K. O. 1996. Hyperthermophilic prokaryotes. *FEMS Microbiol. Rev.* 18:

- 149-158.
3. Boone, D.R., W.B. Whitman, and P. Rouviere 1993. Diversity of and taxonomy of methanogens. In *Methanogenesis - Ecology, Physiology, Biochemistry & Genetics*, Ed. Ferry, J.G., Chapman & Hall, New York, pp.35-80.
 4. De Rijk, P., Y. Van der Peer, I. Van der Broeck, and R. De Wachter. 1995. Evolution according to large ribosomal subunit RNA. *J. Mol. Evol.* 41:366-375.
 5. Grant, W.D., and H. Larsen. 1989. Group III. Extremely halophilic archaeobacteria. *Bergey's Manual Syst. Bacteriol.* Vol.3. Williams and Wilkins, Baltimore, pp.2216-2233.
 6. McGenity, T.J., and W.D. Grant. 1995. Transfer of *Halobacterium saccharovorum*, *Halobacterium sodomense*, *Halobacterium trapanicum* NRC34021 and *Halobacterium lacusprofundi* to the genus *Halorubrum* gen. nov., as *Halorubrum saccharovorum* comb. nov., *Halorubrum sodomense* comb. nov., *Halorubrum trapanicum* comb. nov., and *Halorubrum lacusprofundi* comb. nov. *Syst. Appl. Microbiol.* 18:237-243.
 7. Kamekura, M., and M.L. Dyll-Smith. 1995. Taxonomy of the family *Halobacteriaceae* and the description of two new genera *Halorubrobacterium* and *Natrialba*. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 41:333-350.
 8. Oren, A., P. Gurevich, R.T. Gemmell, and A. Teske. 1995. *Halobaculum gomorrhense* gen. nov., sp. nov., a novel extremely halophilic archaeon from the Dead Sea. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 45:747-754.
 9. Kates, M. 1993 Membrane lipids of extreme halophiles: biosynthesis, function and evolutionary significance, *Experientia* 49:1027-1036
 10. Upasani, V.N., S.G. Desai, N. Moldoveanu, and M. Kates. 1994. Lipids of extremely halophilic archaeobacteria from saline environments in India: a novel glycolipid in *Natronobacterium* strains. *Microbiology* 140:1959-1966.
 11. Mwatha, W.E., and W.D. Grant. 1993. *Natronobacterium vacuolatum* sp. nov., a haloalkaliphilic archaeon isolated from Lake Magadi, Kenya. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 43:401-404.
 12. Kamekura, M., M.L. Dyll-Smith, V. Upasani, and M. Kates. 1996. Submitted to *Int. J. Syst. Bacteriol.*
 13. Morth, S., and B.J. Tindall. 1985. Variation of polar lipid composition within haloalkaliphilic archaeobacteria. *Syst. Appl. Microbiol.* 6:247-250.
 14. Sprott, G.D. 1992. Structures of archaeobacterial membrane lipids. *J. Bioenerg. Biomembr.* 24:555-566.
 15. Koga, Y., M. Akagawa-Matsushita, M. Ohga, and M. Nishihara. 1993. Taxonomic significance of the distribution of component parts of polar ether lipids in methanogens. *System. Appl. Microbiol.* 16:342-351.
 16. Koga, Y., M. Nishihara, H. Morii, and M. Akagawa-Matsushita. 1993. Ether polar lipids of methanogenic bacteria: structures, comparative aspects, and biosynthesis. *Microbiol. Rev.* 57:164-182.
 17. Pugh, E.L., M.K. Wassef, and M. Kates. 1971. Inhibition of fatty acid synthesis in *Halobacterium cutirubrum* and *Escherichia coli* by high salt concentration.

Can. J. Biochem. 49:953-958.

18. Pugh, E.L., and M. Kates. 1994. Acylation of proteins of the archaeobacteria *Halobacterium cutirubrum* and *Methanobacterium thermoautotrophicum*. *Biochim. Biophys. Acta* 1196:38-44.
19. Vogelos, P.R. 1974. Biosynthesis of sulfated fatty acids. In *Biochemistry of lipids*, Ed. T.W. Goodwin, University Park Press, Baltimore.
20. Dym, O., M. Mevarech, and J.L. Sussman. 1995. Structural features that stabilize halophilic malate dehydrogenase from an archaeobacterium. *Science* 267:1344-1346.
21. Kamekura, M., Y. Seno, M.L. Holmes, and M.L. Dyall-Smith. 1992. Molecular cloning and sequencing of the gene for a halophilic alkaline protease (halolysin) from an unidentified halophilic archaea strain (172P1) and expression of the gene in *Haloferax volcanii*. *J. Bacteriol.* 174:736-742.
22. Kamekura, M., Y. Seno, and M.L. Dyall-Smith. 1996. Halolysin R4, a serine proteinase from the halophilic archaeon *Haloferax mediterranei*; gene cloning, expression and structural studies. *Biochim. Biophys. Acta* 1294: 159-167.
23. Boone, D.R., I.M. Mathrani, Y. Liu, J.A.G.F. Menaia, R.A. Mah, and J.E. Boone. 1993. Isolation and characterization of *Methanohalophilus portucalensis* sp. nov. and DNA reassociation study of the genus *Methanohalophilus*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 43:430-437.

Phylogenetic Relationship of Archaea Based on Their Lipid Structures

Yosuke Koga

Department of Chemistry, University Occupational and Environmental Health
Kitakyushu 807, Japan

ABSTRACT

The characteristic glycerol ether polar lipids are one of the most remarkable features that distinguish members of the domain *Archaea* from those of the domain *Bacteria*. We analyzed lipid component parts from 37 species, and found that the distribution of lipid component parts were paralleled with the phylogentic classification of methanogens based on the homology of 16S rRNA sequences. These facts suggest that lipid structures of *Archaea* and their variety among taxonomic groups reflect phylogenetic relationship.

The enantiomeric configuration of glycerophosphate backbone of phospholipids seems to be the most exclusive fundamental difference between *Archaea* and *Bacteria*. We found an enzyme which was responsible to form archaeal *sn*-glycerol-1-phosphate structure from *Methanobacterium thermoautotrophicum*, and the deduced amino acid sequence of the gene encoding the enzyme was compared with that of the corresponding enzyme (*sn*-glycerol-3-phosphate-forming enzyme) from *Escherichia coli*. The significance of stereo isomers of glycerophosphate of membrane lipids and the enzymes for their formation were discussed in relation to the differentiation of *Archaea* and *Bacteria* at the stage of the first cell appearance.

KEY WORDS: ether lipid, lipid component part, *sn*-glycerol-1-phosphate dehydrogenase, *Methanobacterium thermoautotrophicum*.

Viva Origino 25(1997) 99–108

© 1997 by SSOEL Japan

脂質から見た古細菌の系統関係

古賀洋介

産業医科大学・医学部・生体物質化学教室
〒807 北九州市八幡西区医生ヶ丘 1-1

1.はじめに

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および超好熱菌、高度好塩菌、メタン生成細菌（以下メタン菌と略す）がある。高度好塩菌の脂質は Kates らの 1960 年代からの先駆的研究などによりほぼ全容がわかっている。それによ

ると C20 のイソプレノイドをもつジエーテル型だけで、リン酸含有極性基はグリセロリン酸とその誘導体だけであるが、糖脂質の糖鎖は多様である。好アルカリ性のものには一部 C25 炭化水素鎖がある。

イオウ代謝好熱菌および超好熱菌からは C40 の炭化水素鎖をもつテトラエーテル型脂質骨格をもつ

ものが発見されたので、この種の脂質が好熱性に関係しているかのように考えられているが、それは必

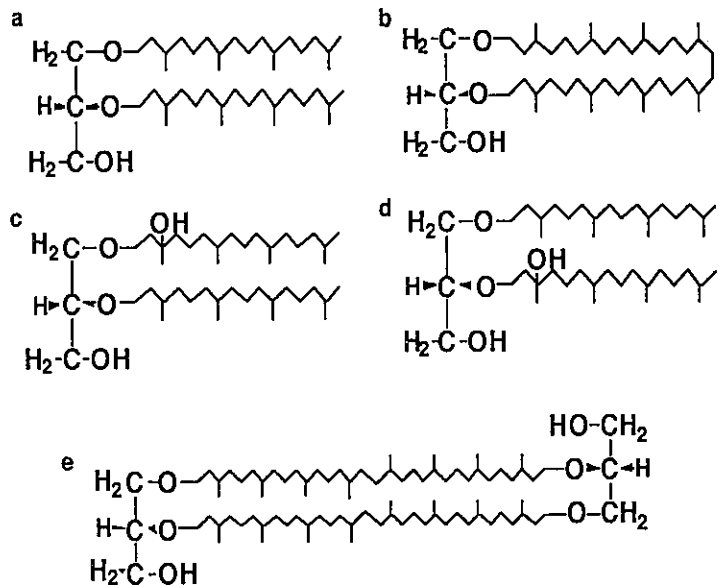


Fig. 1 Core lipids of methanogens. a, archaeol. b, macrocyclic archaeol. c, α -hydroxyarchaeol. d, β -hydroxyarchaeol. e, caldarchaeol.

ずはも正しくない。好熱菌の中には C20 のジエーテル型脂質骨格だけをもつと報告されているものもある。イオウ代謝好熱菌および超好熱菌の脂質のリン酸含有極性基はイノシトールリン酸だけで、糖脂質の糖鎖は複雑である。

メタン菌の脂質については、この 15 年間に Kates ら¹、Sprott ら²⁻⁶、および我々のグループ⁷⁻¹²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。このような古細菌と真正細菌の脂質の相違(エーテル型かエステル型か)、古細菌 3 種類の中での脂質の特徴、メタン菌の種類別の脂質の特徴的構造の分布などから、我々は「少なくとも古細菌においては脂質構造はその菌の系統関係を反映している」と考えるようになった。この点をさらに確かめるために、我々は簡易分析により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。その分析の副産物として、菌の好熱性と脂質構造の関係は一義的に定まらないことも見出した。本総説ではこれらについて既発表論文をまとめて概略紹介する。さらに古細菌と真正細菌の最も根本的な相違が脂質のグリセロリン酸骨格構造の鏡像異性体の相違にあり、それらの生合成に関与する酵素およびその遺伝子がこれら両系統の分化に果たした役割を考察する。

2. エーテル脂質の構成部品のメタン菌の種類における分布

分類学的又は系統学的目的のために多くの種類のメタン菌の脂質の構造的情報を得ようとするとき、脂質の完全構造決定をいちいち行うのは時間と手間からみて現実的ではない。古細菌のエーテル型グリセロ脂質は、イソプレノイドグリセロールエーテルの脂質骨格部分、リン酸含有極性頭部、糖鎖の 3 部分からなっていることはこれまでの完全構造決定の研究から明らかである。したがって、これら 3 つの部分の構造を知れば、完全構造を決定しなくてもその菌の脂質の概略は把握することができるはずである。そこで次のような簡易分析法を開発した。これを脂質の構成部品分析という。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についてこのデータを得た¹³。分析した限りの全メタン菌を通して、脂質骨格は 5 種類(Fig. 1)、糖は 3 種類(グルコース、ガラクトース、マンノース)、極性基は 7 種類(イノシトール、エタノールアミン、セリン、グリセロール、アミノペンタンテトロール=Fig. 2、グルコサミニルイノシトール、N-アセチルグルコサミ

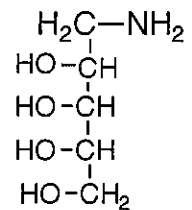


Fig. 2
Aminopentane-
tetrol

ン)あった。これらを脂質構成部品という。個々のメタン菌の種における脂質構成部品の存否の一覧表は原報にゆずるが、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る(Table 1)。ジエーテル型の脂質骨格である archaeol とグルコースはすべてのメタン菌に共通に存在しているので、分類的には意味を持たない(以下の記述では省略する)。

Methanobacteriaceae 科のメタン菌は、テトラエーテル型の脂質骨格である caldarchaeol をもち、糖はグルコースだけで、極性基はセリン、イノシトールを共通にもっている。特にグルコース2残基とイノシトールリン酸をもつテトラエーテル型のリン糖脂質はこの科のメタン菌のマーカーになる特異的な脂質であることが判明した。この他にエタノールアミンは *Methanobacterium* 属と *Methanobrevibacter* 属を識別するマーカーになる。

Methanococcaceae 科のメタン菌は脂質部品の分布が均一ではなく、生育温度によって、中温菌、中等度好熱菌、超好熱菌と分類すると、そのグループ内では均一な脂質構成

Table 1 Family-specific distribution of lipid components in methanogens.

Archaeol as a core and glucose as a lipid-sugar were omitted in this table because methanogens of all families contained them.

Abbreviations: PHG, polar head group. C, caldarchaeol. H, hydroxyarchaeol. M, macrocyclic archaeol. Ga, galactose. Ma, mannose. I, myo- inositol. E, ethanolamine. S, serine. G, glycerol. A, aminopentane-tetrols. +, present. -, absent. ±, present in not all genera of a family.

Family	Core			Sugar		PHG				
	C	H	M	Ga	Ma	I	E	S	G	A
<i>Methanobacteriaceae</i>	+	-	-	-	-	+	±	+	-	-
<i>Methanothermaceae</i>	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
<i>Methanococcaceae</i>	±	+	-	-	-	-	+	+	-	-
<i>Methanocaldococcaceae</i>	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-
<i>Methanomicrobiaceae</i>	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+
<i>Methanocorpusculaceae</i>	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+
<i>Methanospirillaceae</i>	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+
<i>Methanosarcinaceae</i>	±	+	-	±	-	+	+	±	+	-
<i>Methanosaetaceae</i>	±	+	-	+	+	+	+	+	-	-
<i>Methanopyraceae</i>	-	-	-	+	+					

をもっていた。この相違は主に脂質骨格にみられ、中温菌には caldarchaeol が無く、ヒドロキシル基をもつジエーテル型骨格である hydroxyarchaeol がある。中等度好熱 *Methanococcus* では hydroxyarchaeol と caldarchaeol があり (archaeol も含めて 3 種類の脂質骨格をもつ)、超好熱性の *Methanococcus* (新しく *Methanocaldococcaceae* 科とした) には hydroxyarchaeol がなく、caldarchaeol と、このグループのメタン菌に特異的な環状ジエーテル型脂質骨格である macrocyclic archaeol が存在していた。

Methanomicrobiales 目の *Methanomicrobiaceae* 科、*Methanocorpusculaceae* 科、*Methanospirillaceae* 科のメタン菌は糖としてグルコースの他にガラクトースがあること、アミノペンタンテトロールのメチル誘導体とグリセロールだけがリン酸含有極性基であることによって特徴づけられた。

同じ目の *Methanosarcinaceae* 科のメタン菌は一部に例外もあるが、概ね hydroxyarchaeol と archaeol という骨格、エタノールアミン、セリン、イノシトール、グリセロールの 4 種の極性基、糖はグルコースのみとして特徴づけられた。

Methanomicrobiaceae 科以下 3 科と *Methanosarcinaceae* 科は従来同じ目である *Methanomicrobiales* 目に属していたが、上記のように脂質部品分布が全く異なっていた。これは *Methanobacteriales* 目と *Methanococcus* 目の相違にも匹敵する大きな相違であり、この 2 つの科は別の目として分類すべきと考えられた。また、*Methanococcaceae* 科の生育温度の異なる 3 つのグループのメタン菌は新しい科または属として再分類すべきであると考えられた。このメタン菌の再分類の考え方は Boone & Whitman によって行われていた最新の 16S rRNA の相同性に基づいたメタン菌の再分類体系¹⁴ とよく一致することが判明した。すなわち、*Methanosarcinaceae* 科は *Methanosarcinales* 目とし、中等度好熱性の *Methanococcus* は *Methanothermococcus* 属として独立させ、超好熱性の *Methanococcus* は *Methanocaldococcaceae* 科とすることになった。この他にも細かい再分類が脂質分析と 16S rRNA 分析の両方から、あるいは一方から提起されている。

このように脂質(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ことが明らかになった。16S rRNA の相同性が生物の系統関係をよく反映しているのも、16S rRNA とよく一致する脂質構造もメタン菌の系統関係を反映しているといえる。また、文献¹⁵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。さらに主要 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ことは上述の通りである。

3. 脂質構造は好熱性と直接関係していない

好熱好酸性の *Sulfolobus* や *Thermoplasma* で最初に発見されたためか、テトラエーテル型の脂質は好熱性や好酸性など極限環境条件に適応したために存在する、という考え方が一般にみられる。構造面からもエーテル結合は化学的に安定であるし、脂質二重層を共有結合で結合して単分子膜にするテトラエーテル型は丈夫な、あるいは rigid な膜を作るように見える(事実丈夫なのかもしれない)。しかし、テトラエーテル型脂質は好熱菌、好酸菌にだけ存在するものではない。メタン菌の脂質部品分析の結果を脂質骨格だけ抜き出し、菌の生育温度順に並べたのが Table 2 である。生育温度 85°C の *Methanocaldococcus jannaschii* から 23°C の *Methanomicrobium cariaci* まで超好熱菌、中等度好熱菌、中温菌、古細菌としては最も生育温度の低い菌まで等しくテトラエーテル型脂質をもっている。逆に超好熱性の *Methanopyrus kandleri*¹⁶ や

Table 2 Core lipid composition and growth temperature of methanogens.

Abbreviations: T, optimum growth temperature. A, archaeol. C, caldarchaeol. H, hydroxyarchaeol. M, macrocyclic archaeol. Composition is expressed in % or simply as present (+) or absent (-).

Methanogen	T (°C)	Core lipid			
		A	C	H	M
<i>Methanocaldococcus jannaschii</i>	85	+	+	-	+
<i>Methanothermus fervidus</i>	83	74	10	-	-
<i>Methanobacterium thermoautotrophicum</i>	65	20	80	-	-
<i>Methanothermococcus thermolithotrophicus</i>	65	+	+	+	-
<i>Methanosaeta thermophila</i>	55	+	+	-	-
<i>Methanosalsus zhilinae</i>	45	79	21	-	-
<i>Methanococcus oldenburgensis</i>	42	+	+	-	-
<i>Methanobacterium formicicum</i>	37	+	+	-	-
<i>Methanobrevibacter arboriphilus</i>	37	10	90	-	-
<i>Methanomicrobium mobile</i>	37	+	+	-	-
<i>Methanolacinia paynteri</i>	37	+	+	-	-
<i>Methanospirillum hungatei</i>	37	+	+	-	-
<i>Methanogenium cariaci</i>	23	+	+	-	-

*Thermococcus celer*¹⁷ の古細菌はジエーテル型脂質しかもっていない。

また、好熱性の真正細菌はエステル型脂質をもっている(*Thermotoga maritima*¹⁸、*Thermus aquaticus*¹⁹)。従ってエーテル結合が好熱性に必須というわけでもない。好熱性の *Bacillus acidocaldarius*²⁰ で発見されたシクロヘキサン環を持つ脂肪酸は中温性の *Curtobacterium pusillum*²¹ にも見いだされた。*Thermotoga* 属細菌の C32 ジカルボン酸である diabolic acid¹⁸ は中温菌である *Butyrivibrio* sp.²² にも存在する。これらの事実は古細菌、真正細菌を通して特定の脂質構造が高温環境に適応するために出現し、好熱菌に存在しているというわけではないことを示している。

ではなぜこのように多様な脂質が存在するのだろうか。脂質は膜を作るという機能を果たすために、2本の炭化水素鎖(イソプレノイドでも脂肪酸でもよい)と1個の極性頭部を持てば、相当広範囲の構造の可能性が許容される、と考えるのもいいのであろう。エステルでもエーテルでも、またスフィンゴ脂質のようにアミド結合の可能性もある。つまり、化学進化の時代に膜を作り得る脂質性の化合物は非常に多様であった。それらのなかの一部が極限環境に隔離された微生物のなかで遺伝的に継承されて存在している、と考えられる。したがって、脂質は環境ではなく、系統によって決まっているという結論が導かれる。

4. グリセロリン酸骨格の鏡像異性体の生合成と古細菌の起源

真正細菌と比較した古細菌の脂質の特徴を私は4点にまとめていた。1) エーテル結合、2) イソプレノイド鎖、3) グリセロリン酸骨格の鏡像異性体の関係、そして4) テトラエーテル型の橋架け構造、である。しかし、ジエーテル型脂質(*Thermodesulfobacterium commune*²³、*Aquifex pyrophilus*²⁴、*Ammonifex degensii*²⁵)や橋架け構造の脂質(*Thermotoga*¹⁸、*Butyrivibrio* sp.²⁶)は真正細菌にも存在することが近年明らかになり、イソプレノイドはリン脂質構成成分ではないが、真正細菌、真核生物に広く存在する。こう見てくると、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リン酸骨格の鏡像異性体の関係である。グリセロリン酸骨格の鏡像異性体(*sn*-glycerol-1-phosphate(G-1-P, 古細菌型)と *sn*-glycerol-3-phosphate(G-3-P, 真正細菌型)を生成する酵素を比較することによってこれら鏡像異性体の由来を遡ることを試みた。

まず、古細菌の1種である *Methanobacterium thermoautotrophicum* の無細胞抽出液中にジヒドロキシアセトンリン酸(DHAP)から G-1-P を生成する酵素の活性(G-1-P デヒドロゲナーゼ)を見だし²⁷、均一になるまで精製した(未発表)。この酵素の立体特異性は厳密で DHAP から G-1-P のみをつくり、逆反応では G-1-P だけにしか作用せず、G-3-P には全く反応しなかった。また、DHAP 対する Km は G-1-P に対する Km よりは

るかに小さくこの酵素の細胞内での役割は間違いなく G-1-P の生成である、と考えられた。

ついでこの酵素の構造遺伝子をクローン化し、塩基配列を決定した(未発表)。この遺伝子の塩基配列は、*Escherichia coli* の G-3-P をつくる G-3-P デヒドロゲナーゼのそれとはほとんど相同性が無く、同じ菌のグリセロールデヒドロゲナーゼとは弱い有意の相同性を示し、NAD 関与のアルコールデヒドロゲナーゼファミリーに属していた。乳酸デヒドロゲナーゼ²⁸ やアミノ酸アミノトランスフェラーゼ²⁹ 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、また、D 型特異的酵素と L 型特異的酵素は祖先酵素を異にする異なる酵素ファミリーに属するものと思われる。

グリセロリン酸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。また、極性脂質は膜を作り、細胞存在のかなめになる物質であるから、脂質の相違は細胞膜(すなわち細胞)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、との仮説を抱いている。これはすなわち古細菌と真正細菌の起源がグリセロリン酸の2種類の鏡像異性体を基礎にするリン脂質の膜で囲まれた細胞の出現の時点まで遡れること、グリセロリン酸が生物の二大ドメインを分けた、ということの意味する。

文 献

1. Kushwaha, S.C., et al. *Biochim. Biophys. Acta* 664, 156-173 (1981).
2. Ferrante, G., Ekiel, I. & Sprott, G.D. *J. Biol. Chem.* 261, 17062-17066 (1986).
3. Ferrante, G., Ekiel, I. & Sprott, G.D. *Biochim. Biophys. Acta* 921, 281-291 (1987).
4. Ferrante, G., et al. *Biochim. Biophys. Acta* 963, 162-172 (1988).
5. Ferrante, G., et al. *Biochim. Biophys. Acta* 963, 173-182 (1988).
6. Ferrante, G., Richards, J.C. & Sprott, G.D. *Biochem. Cell Biol.* 68, 274-283 (1990).
7. Morii, H., Nishihara, M. & Koga, Y. *Agr. Biol. Chem.* 52, 3149-3156 (1988).
8. Nishihara, M., Morii, H. & Koga, Y. *Biochemistry* 28, 95-102 (1989).

9. Nishihara, M. & Koga, Y. *Biochem. Cell Biol.* 68, 91-95 (1990).
10. Nishihara, M. & Koga, Y. *Biochim. Biophys. Acta* 1082, 211-217 (1991).
11. Nishihara, M., et al. *J. Biol. Chem.* 267, 12432-12435 (1992).
12. Nishihara, M. & Koga, Y. *Biochim. Biophys. Acta* 1254, 155-160 (1995).
13. Koga, Y., et al. *System. Appl. Microbiol.* 16, 342-351 (1993).
14. Boone, D.R., Whitman, W.B. & Rouviere, P. in *Methanogenesis. Ecology, Physiology, Biochemistry & Genetics* (ed. Ferry, J.G.) pp.35 - 80 (Chapman & Hall, New York, 1993).
15. Torreblanca, M., et al. *System. Appl. Microbiol.* 8, 89-99 (1986).
16. Hafenbradl, D., Keller, M. & Stetter, K.O. *FEMS Microbiology Letters* 136, 199-202 (1996).
17. De Rosa, M., et al. *System. Appl. Microbiol.* 9, 1-5 (1987).
18. Huber, R., et al. *Arch. Microbiol.* 144, 324 - 333 (1986).
19. Ray, P.H., White, D.C. & Brock, T.D. *J. Bacteriol.* 106, 25-30 (1971).
20. De Rosa, M., Gambacorta, A. & Minale, L. *Chemical Communications* 1971, 1334 (1971).
21. Suzuki, K., et al. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 27, 261-266 (1981).
22. Klein, R.A., et al. *Biochem. J.* 183, 691-700 (1979).
23. Langworthy, T.A., et al. *Syst. Appl. Microbiol.* 4, 1 - 17 (1983).
24. Huber, R., et al. *Syst. Appl. Microbiol.* 15, 340-351 (1992).
25. Huber, R., et al. *Syst. Appl. Microbiol.* 19, 40-49 (1996).
26. Clark, N.G., Hazlewood, G.P. & Dawson, R.M.C. *Biochem. J.* 191, 561-569 (1980).
27. Nishihara, M. & Koga, Y. *J. Biochem.* 117, 933-935 (1995).
28. Taguchi, H. & Ohta, T. *J. Biol. Chem.* 266, 12588-12594 (1991).
29. Sugio, S., et al. *Biochemistry* 34, 9661-9669 (1995).

Primitive Earth Conditions and Arcaebacteria

Tairo Oshima

Tokyo Uninersity of Pharmacy and Life Science
(Horinouchi 1432-1, Hachiouji, Tokyo 192-03 Japan)

According to the recent phylogenetic tree constructed based on ribosome small subunit RNA sequence data, in the early history of life the primitive cell diverged into two lines; eubacterial(Bacteria) and archaebacterial(Archaea) lines. The nature of this common ancestor is key for the study of origins and early history of life. We proposed the name "commonote" for the primitive cell from which every contemporary organism has originated. The biochemistry and molecular biology of commonote can be speculated by comparing molecular biology of eubacteria and archaebacteria, especially those located in the deep branch of the phylogenetic tree. The deepest organisms of the both lineage are hyperthermophiles, suggesting that the primitive cell was a hyperthermophile. The thermal history of the primitive ocean can be speculated from the data of growth temperature ranges of the deepest organisms.

原始地球環境と古細菌

大島泰郎

東京薬科大学 生命科学

(〒192-03 東京都八王子市堀之内1432-1)

1 分子進化学と分子系統樹

木村資生博士の中立説⁽¹⁾は、タンパク質や核酸などの生体高分子の一次配列上の変化(置換)が時間にもみ比例することを証明し、これに基づいて時間、すなわち生物種間の定量的な系統関係を論ずることを可能にした⁽²⁾。こうして、化石の証拠の乏しい細菌類の種間の類縁関係を描くことができるようになり、先カンブリア代の生命史を研究することができるようになった。生体高分子の一次配列データから描かれた系統樹は、分子系統樹と呼ばれる。この研究分野の最近の進歩として、「古細菌の提唱」そして「有根系統樹」の2点を挙げるができる。

2 古細菌の提案

WoeseとFoxによる古細菌の提案⁽³⁾は16SrRNAの塩基配列の相同性の比較に基づく。Woese一派の主張するリボソーム小サブユニットRNA(原核生物では16SrRNA、真核生物では18SrRNA)に基づいて生物を分類しようという考えは、一般的に支持されるようになり、分子系統樹はリボソーム小サブユニットRNA(ssrRNA)を用いて描かれるのが「常識」となった。これによると、生物界は真核生物(またはユーカリア)、真正細菌(またはバクテリア)、それに古細菌(またはアーキア)の3界(または3領域)に分類されるという⁽⁴⁾。古細菌の提案から約10年を経て、その間の研究データの蓄積から、この分類は一般的に受け入れられるようになった。

3 有根系統樹

分子系統樹には根、すなわち原始生命の位置が決められず樹の形で描いた系統樹は根本の幹のない枝葉だけの樹しか書けなかった。ところが、上記の3界に分かれる以前に単一の遺伝子からその重複によって生まれたと推定される相同な一対の酵素(双子型酵素)を用いると根がつくという、簡単なコロンプスの卵式の発想から有根系統樹が描かれることになった^(5,6)。先に、中立説に基づく分子進化学の成立によって「先カンブリア代の進化史が研究できるようになった」と述べたが、これは完全には正しくない。有根系統樹の完成により初めて、先カンブリア代の進化が推論できるようになったのである。

4 古細菌の進化的位置

リボソーム小サブユニットのRNAの塩基配列相同性を中心として、これに双子型酵素の配列データを加味して作られた有根系統樹は図1に示した。この系統樹は、真核生物が古細菌から進化してきたことを示している。おそらく、真核細胞の成立の起原となった細胞共生の宿主は古細菌(ミトコンドリアの起原は好気性の真正細菌、そしてクロロプラストの起原となったシアノバクテリアも真正細菌に属する)であったのであろう。真核生物の古細菌起原は、古細菌の蛋白合成系がジフテリア毒素で阻害されることや翻訳の開始にフォルミル化が必要でないこと、遺伝子にイントロンが存在すること等々、古細菌の遺伝子

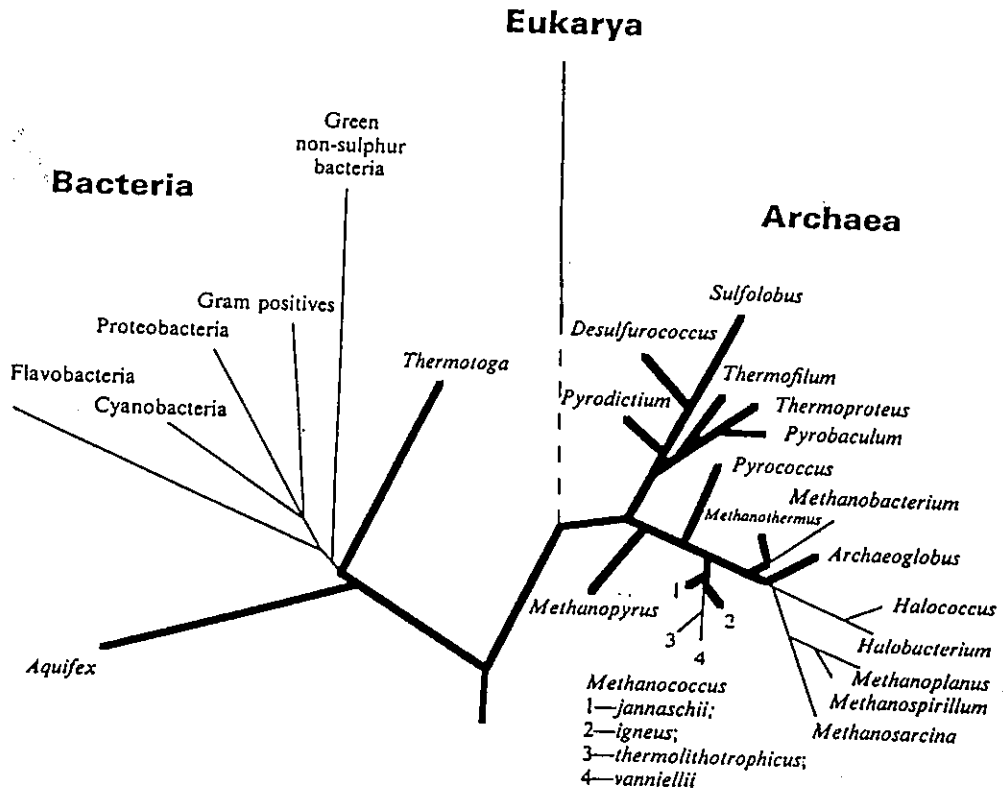


Figure 1. Phylogenetic tree of three kingdoms. Hyperthermophiles are drawn in thick line.

や遺伝情報発現機構の中に従来、真核生物に固有とされていた生化学的・分子生物学的性質が見られることから支持される。

5 新二界法

図1のような系統樹を、膜に結合しプロトン勾配に依存してATP合成を行う酵素、プロトン輸送性ATPアーゼ（実体はATP合成酵素）を用いて描いたらどうなるであろうか。真核生物のATPアーゼは真正細菌の共生に由来しているから、今度は真核生物は真正細菌から分化してきたような系統樹が描けるはずである。すなわち、真核生物はその細胞構成成分を古細菌と真正細菌からまぜこぜにもらい受けてできた「混成細胞」からなる生物といえる。言い換えると、分子の進化や細胞の基本構造を論じている限り、真核生物という分類は必要がない。生物界は古細菌と真正細菌の2界に分ければよく、たとへば、高等動物のリボソームは古細菌に属し、ミトコンドリア膜に存在するプロトン輸送型ATPアーゼは真正細菌に属するといえよのである。

この考えにたつと、生命史の上で最も重要な出来事は、原始生命が2つの系統（古細菌と真正細菌）に分かれたことである。この分化を起こした細胞は、今日の全生物の共通の祖先であるから、コモノートCommonoteと呼ぼうというのが我々の提案である(7)。

6 原始生命の好熱性

図1の太い線は超好熱菌（90度以上の高温下に生育可能な細菌を総称していう）の位置を示している。この図を見れば、直感的に分かるようにコモノートは超好熱菌である。この考えは、原始地球の生成理論からも支持される。CO₂に富んだ大気に包まれていた原始地球は高温の世界であったはずである。

一部の学者（例えばGogarten）はこの考えに反対して、原始生命が誕生した以後、大きな隕石が衝突し海が沸騰したという複雑なシナリオを考え出しているが、この「仮説」は仮定が多すぎるからオカムのかみそりの原則に照らして落第である。

原始生命が超好熱菌であるという仮説を受け入れるなら、生命の起原研究にも大きな影響がある。従来、一部を除いて多くの化学進化実験は常温で行われているが、これはもっと高温下にやり直す必要がある。RNAワールドは人気の仮説であるが、RNAは高温下に不安定な高分子（タンパク質と比べて）であることを考慮に入れる必要がある。

文献（基本的なものに限定した）

1. Kimura, M. (1968) Nature 217, 624-626
2. Dayhoff, M.O. (1972) Atlas of Protein Sequence and Structure, National Biomedical Research Foundation, Washington, D.C.
3. Woese, C.R. and Fox, G.E. (1977) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 74, 5088-5090
4. Woese, C.R., Kandler, O., and Wheels, M.L. (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87, 4576-4579
5. Iwabe, N., et al. (1989) proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86, 9355-9359
6. Gogarten, J.P., et al. (1989) Z. Naturforsch., 44c, 641-650
7. Yamagishi, A. and Oshima, T. (1995) in "Chemical Evolution: Self-Organization of the Macromolecules of Life", pp.155-158, A.Deepak Publishing, Virginia, USA

訂正

Viva Origino Vol. 24 No. 13 の杉本憲治氏の論文において、以下の記載が欠落しておりましたのでお知らせいたします。

Viva Origino 24 211-224 (1996)

DNA-Protein Interaction Involved in Centromere Heterochromatin Organization of
Human Chromosome

染色体セントロメアを構成する蛋白質とゲノムDNAとの接点

Kenji Sugimoto

杉本憲治

図 2 (p215)

Reproduced from "Molecular Biology of the Cell", (1995, Vol. 6, pages 793-807)
with permission of the American Society for Cell Biology.

図 8 (p220)

Reproduced from "Chromosoma", (1986, Vol. 93, pages 515-520) with permission of
Springer-Verlag.

☆ 学会誌 Viva Origino 投稿規定

I. 論文の種類

投稿は、以下の区分1~3のいずれかに分類する(Ⅲ-4参照)。

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

II. 論文の体裁

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

III. 論文の提出と受理

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

がいちじるしく遅れる場合には、再提出日を受理日とすることがある。

3. 採否は、事務局が依頼したレフェリーの審査を経て決定する。
4. 投稿区分はレフェリーの意見を参照の上、事務局が承諾を得て決定する。

IV. 投稿の資格

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

V. 校正

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

VI. 掲載経費の負担

製版・トレース等、別途の費用が必要な場合の実費は、著者が負担する。

VII. 別刷

著者は、校正に同封した申込用紙により別刷を有料で申込むことができる。

☆ 写真製版英文原稿作成の手引き

英文原稿は原寸大の写真製版(和文要旨を除く)とするので、以下の規定による。

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

エ) 所在地のあと、4行あけて、本文を記す。

4. 見出しは、区切りの大きいものから順に下記ア)～ウ)の通りとする。

ア) 1, 2, 3, …

イ) 1-1, 1-2, …, 2-1, 2-2, …

ウ) a), b), c), …

各見出しのゴチ指定、改行等は既刊の実例にならう。

5. 図、表、写真は所定の位置に貼る。図、表、写真の番号、表題、説明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

<1996、1997年度役員>

名誉会長 野田 春彦
会長 原田 馨
副会長 長野 敬、中村 運、大島 泰郎

〔運営委員会〕

委員長：湯浅 精二 会計責任者：松野孝一郎 編集責任者：赤星 光彦
委員：秋山雅彦、石神正浩、大西耕二、小林憲正、佐藤七郎、島田秋彦、
清水幹夫、下山 晃、長谷川政美、藤井紀子、伏見 譲、松野孝一郎、
胸組 虎胤、柳川弘志、山中健正

会計監査 佐藤 七郎、山中 健生

学会本部事務局 〒560 豊中市待兼山町1-16
大阪大学大学院理学研究科生物科学専攻内
Tel: 06-850-5823(call-in), Fax: 06-850-5817
E-mail: syuasa@bio.sci.osaka-u.ac.jp
責任者 湯浅 精二

経理部事務局 〒940-21 長岡市上富岡町
長岡技術科学大学生物系
Tel: 0258-46-6000(Ex.4518), Fax: 0258-46-8163
E-mail: kmatsuno@voscc.nagaokaut.ac.jp
責任者 松野孝一郎

編集事務局 〒590-04 大阪府泉南郡熊取町野田1010
京都大学原子炉実験所
Tel: 0724-51-2491, Fax: 0724-52-2630
E-mail: akaboshi@rri.kyoto-u.ac.jp
責任者 赤星 光彦

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 25巻1号

1997年3月1日 印刷
1997年3月13日 発行

編集者	〒590 大阪府泉南郡熊取町野田1010 京都大学原子炉実験所内 生命の起原および進化学会編集部
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	〒560 豊中市待兼山町1-16 大阪大学大学院理学研究科生物科学専攻内 生命の起原および進化学会事務局 責任者 湯浅 精二

Kawamura K., Yoshida A., Matsumoto O. and Umehara M. : Kinetic analysis for the degradation and formation of nucleic acids in aqueous solutions at high temperatures.	45
Yuasa S. : Self-replicative molecule and its chirality.	46
Yanagawa H. : Hydrothermal environment on the primitive earth and evolutionary flow reactor.	47
Matsuno K. : Design principle of a flow reactor for prebiotic evolution.	48
Shinoda H., Ihara H. and Ishigami M. : Aspartyl tRNA synthetase of high level halophilic archaeobacterium <i>Haloferax volcani</i>	50
Takuma H., Shinoda H., Ihara H. and Ishigami M. : Glycyl tRNA synthetase of high level halophilic archaeobacterium <i>haloferax volcani</i>	51
Kamigakiuti F., Shinoda H., Ihara H. and Ishigami M. : Alanyl tRNA synthetase of high level halophilic archaeobacterium <i>Haloferax volcani</i>	52
Nakamura M., Shinoda H., Ihara H. and Ishigami M. : Aspartyl tRNA synthetase of high level thermophilic archaeobacterium, <i>Pyrococcus furiosus</i>	53
Takada J., Kawamoto K., Sumino T., Kawai K. and Akaboshi M. : Correlation between Terbium and other rare earth elements in fern leaves.	54
Kawamoto k., Takada J., Sumino T., Kawai K. and Akaboshi M. : Determination of rare earth element in algae.	55
Akaboshi M., Takada J., Sumino T., Kawamoto K. and Kawai K. : Specific interaction between Tb ions and DNA molecules in HeLa cells.	56
Todoriki M., Yomo T. and Urabe I. : An approach to artificial symbiosis; using <i>Escherichia coli</i> and <i>Dictyostelium discoideum</i>	57
Yokoo H. : Radiation dominant conditions in ancient life cells by K ⁴⁰ and explanations of the cambrian burst and small sizes of martian life cells.	58

Wakamura K., Imai E., Honda H. and Matsuno K. : Behaviors of thermal heterocomplex molecules of amino acids in the presense of metal ions.	17
Sawai H., Seki J. and Ozaki H. : Double and triple helix formation of 2'-5' and 3'-5' linked oligoribonucleotides. A factor for selective advantage of linkage isomers of RNA.	18
Shimizu M. : Monomer world · · · origin of metabolism.	19
Shimizu M. : Dimer world · · · origin of bioinformation.	20
Ohya M. : Information theoretic approach to genome sequences.	22
Yome T. : A constructive approach to biological evolution.	23
Husimi Y. : Representation of evolution process in evolutionary molecular engineering.	24
Gunji P. Y. : A measurement-orineted model of evolutionary process: an interaction between infinite and finite domains.	25
Hirabayashi J. : Diversity of saccharide recognition and history of life.	28
Fujii N., Momose Y., Ishii N. and Uemura T. : The mechanism of simultaneous stereoinversion and isomerization in the native lens protein.	29
Hasegawa T. and Asahara H : In vitro selection of tRNAs having leucylation activity.	30
Shimada A. and Nakamura I. : Investigation on the active site of tryptophanase active to D-tryptophan.	31
Sakurazawa S. Honda H. and Matsuno K. : Long-time relaxation of thermal heterocomplex molecules and their local pattern formation in a non-equilibrium system.	32
Unno W. : Any dynamical system relations underlying in protein-aminoacid system?	33
Yamamoto K. : On the driving force of macroevolution.	34
Miyamoto E., Nemoto N., Hushimi Y., Kobayashi K. and Yanagawa H. : Construction of virus-type molecules in evolutionary molecular engineering.	35
Sato K., Ohya M. and Miyazaki S. : Analysis of change of HIV by entropy evolution rate.	36
Tachibana H. and Ohya M. : Information theoretic analysis of coding structure of HIV.	37
Nakamura H. : Genetic basis of evolution.	38
Hasegawa M. : Origin and early evolution of eukaryotes.	39
Yamagishi A. and Oshima T. : <i>Thermoplasma</i> and eukaryotic cells.	40
Nagata Y., Sakai M., Iida T. and Kawaguchi-Nagata K. : D-amino acids in mitochondria.	41
Kobayashi K. : Formation of organic compounds in submarine hydrothermal vent environments.	44

The 22th annual meeting of the SSOEL-JAPAN
at
NAGAOKA GRAND HOTEL
Nagaoka, Niigata, JAPAN
March 16-18, 1997

Kobayashi K., Kajishima S., Kaneko T., Ishikawa Y., Kawasaki Y. and Saito T. : Organic compounds on primitive earth and mars and detection methods for them.	2
Murasawa K., Tsuji T. and Kobayashi K. : Abiotic synthesis of nucleic acid bases from simulated planetary atmospheres by proton irradiation.	3
Kasamatsu T., Kaneko T., Kobayashi K. and Saito T. : Formation of organic compounds in cometary and interstellar dust environments III. Estimation of the formation rate of amino acid precursors.	4
Asano Y., Mita H. and Shimoyama A. : Decomposition of DNA by UV irradiation under simulated primitive earth hydrosphere.	5
Yokoyama H., Mita H. and Shimoyama A. : Formation of amino acids from amine-water system by UV irradiation at 77K.	6
Zenyouji K. and Shimoyama A. : Search for chlorophyll related compounds in precambrian sedimentary rocks.	7
Mita H. and Shimoyama A. : Analysis of hydrocarbons in the cretaceous/tertiary boundary sedimentary rocks at Kawaruppu, Hokkaido, Japan.	8
Takeda M. and Shimoyama A. : Formation and racemization of dipeptides from amino acid solutions.	9
Miyakawa S., Tamura H., Kobayashi K. and Sawaoka A. B. : A new mechanism of amino acid formation by electric discharge.	10
Kawamura K. and J. P. Ferris : Kinetics and Mechanistic investigations for the formation of oligonucleotides from 5'-phosphorimidazolidine of adenosine, uridine and inosine on Na ⁺ -montmorillonite.	11
Hashizume H. and B. K. G. Theng : Possibility of separation of optical isomers of amino-acid by allophane.	12
Nakazawa H. : Clay coacervate, a probable key for the mineral origin of life ?	13
Munegumi T. and Shimoyama A. : Hydrophobicity difference between homochiral and heterochiral peptides and concentration of homochirality.	14
Munegumi T. : Possibility of prebiotic polypeptide formation from thiol ester derivatives.	15
Tsuchizawa K., Ishimori T., Sakurazawa S., Imai E., Honda H. and Matsuno K. : pH dependent precipitation of nano-particles from thermal hetero complex molecules of amino acids.	16

Contents

The 22nd annual meeting of the SSOEL-JAPAN	(1)
Special issue "Archaeobacteria"	(59)

ARTICLES

◎ Preface to the special issue on "Archaeobacteria" M. Ishigami	(59)
◎ Archaeobacteria and phylogenetic distribution of D-amino acids Y. Nagata	(61)
◎ Molecular evolution of aspartyl tRNA synthetases and origin of universal genetic code and urkingdoms of living things M. Ishigami, H. Ihara and H. Shinoda	(73)
◎ Evolution of archaea: A view of halobacteriologists M. Kamekura and M. Kates	(87)
◎ Phylogenetic relationship of archae based on their lipid structures Y. Koga	(99)
◎ Primitive earth conditions and archaeobacteria T. Oshima	(109)