

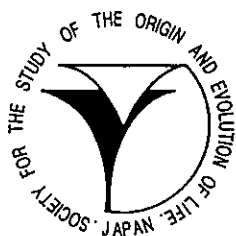
Viva Origino

VOL. 25 (No. 3)

September 1997

Special Issue:

“Returning to chemical evolution in the context of evolutionary processes”



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、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である。

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である。

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

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

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

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

第十条 会長・副会長は委員会が正会員の中から選出する。

第十一条 会長・副会長・委員・会計監査の任期は2年とする。

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

第十三条 会長は学会を代表し、学会運営は委員長が総括の任にあたる。

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

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

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

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

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

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

学会入会手続きに関する付則

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

会費その他に関する付則

1. 入会金(正会員のみ) 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. 3)

September 1997

特集 “化学進化実験の再検討と進化過程”

目 次

- ◎ “化学進化実験の再検討と進化過程”の特集にあたって
松野孝一郎…………… (165)

論 文

- ◎ 模擬海底熱噴出孔環境下におけるアミノ酸の生成と安定性
小林憲正、小原雅典、土器屋正之、柳川弘志…………… (167)
- ◎ 高温水溶液中におけるアデノシン5'-三リン酸の加水分解反応の
速度論的研究：RNAの化学進化における考察
川村邦男、吉田晶子、松本 修…………… (177)
- ◎ 前生物進化のためのフローリアクターとその設計指針
松野孝一郎…………… (191)
- ◎ 境界の起源とその理論化
郡司ペキオ幸夫、伊藤 源…………… (205)
- ◎ 遺伝子解析への情報理論的アプローチ
大矢雅則…………… (223)

話 題

- ◎ ディスカッション・グループ開設のお知らせ
松野孝一郎…………… (247)
- ◎ 1998年4月～2000年3月 学会運営委員選挙人名簿…………… (248)

“化学進化実験の再検討と進化過程” 特集

化学進化の実験はミラー、ユーリーの還元性大気からのアミノ酸合成に始まり、既に半世紀を過ぎようとしている。この実験は非常に産出力に富むものであるものであって、それ以後の多くの実験の範型を提供することとなった。しかし、この実験系の利点、特徴が順次判明するに連れ、その限界も次第に明らかになって来た。意図される実験が精巧、巧妙になればなるほど、それは対象となる原始地球上の状況から、かけ離れてくる。原始地球上において、精巧な実験を意図する実験家を想定することは困難である。それにも拘らず始源生命に至る化学進化がそこで可能であったとするならば、化学進化実験に対する今一度の見直しが必要となる。

本特集号では各寄稿者に、化学進化実験、および進化過程に対する現況を踏まえて、何が問題であり、それを克服するために何が可能であるか、を具体事例に基づき明らかにすることを依頼した。問題そのものは極めて大きく、かつ深刻である。具体事例は其中の一部でしかない。しかし、この具体的な試みを通じてのみ、大きな問題への解決策が次第に明らかになって来るものと信ずる。

松野孝一郎

FORMATION AND STABILITY OF AMINO ACIDS IN SIMULATED SUBMARINE HYDROTHERMAL VENT ENVIRONMENTS

Kensei KOBAYASHI¹, MASANORI KOHARA¹,
Masayuki DOKIYA² and Hiroshi YANAGAWA³

¹Department of Physical Chemistry, Yokohama National University
79-5 Tokiwadai, Hodogaya-ku, Yokohama 240, Japan

²Institute of Environmental Science and Technology, Yokohama National University
79-7 Tokiwadai, Hodogaya-ku, Yokohama 240, Japan

³Mitsubishi Kasei Institute of Life Sciences
Machida, Tokyo 194, Japan

ABSTRACT

Submarine hydrothermal vents are considered to be ideal sites for abiogenic synthesis of organic compounds preserved on present days and a possible environment for chemical evolution toward origins of life in Archean ocean for the following reasons. Formation and reactions of amino acids and their related compounds in simulated submarine hydrothermal vent environments were examined. Amino acids such as glycine and sarcosine were abiotically formed under simulated hydrothermal vent conditions (260-325°C) from methane, water and ammonium ion. When an aqueous solution of amino acids was heated, amount of remaining amino acids was decreased, but increased after acid hydrolysis, particularly in the case of glutamic acid. It is suggested that the decrease in the concentration of amino acids was caused not only by decomposition, but also by formation of heat-resistant compounds. The decomposition rate was much slower in high hydrogen fugacity environments like the submarine hydrothermal vent systems than in usual laboratory conditions. In our experiments, an aqueous solution of amino acids was pressurized and heated in a closed autoclave. The actual hydrothermal system is, however, considered as "a flow reactor" where quenching of the heated fluid by cold seawater occurs. Further simulation experiments using the flow system will help clarify the extent to which the present results reflect what can happen in natural system.

Key words: Submarine hydrothermal vents, chemical evolution, amino acids, hydrogen fugacity, flow reactor, origins of life.

模擬海底熱水噴出孔環境下における アミノ酸の生成と安定性

小林憲正¹, 小原雅典¹, 土器屋正之², 柳川弘志³

¹横浜国立大学工学部物質工学科
(〒240 横浜市保土ヶ谷区常盤台79-5)

²横浜国立大学環境科学研究センター
(〒240 横浜市保土ヶ谷区常盤台79-7)

³三菱化学生命科学研究所
(〒194 町田市南大谷11)

1. はじめに

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℃以上の熱水が湧き出しているのが発見された[1]。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[2,3]。その理由としては、次のことがあげられる。(1) 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[4]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[5]。(2) メタン、二酸化炭素、アンモニアなどの単純な化合物からの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、マグマの熱をエネルギー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) 海底熱水噴出孔海水中は弱酸性で、通常海水と比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、亜鉛のような遷移金属は通常海水の100000倍以上の高濃度である[6,7]。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[8]。

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付近の海水中にグリシンの濃度が通常海水よりも異常に高いこと[9]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。われわれは後述するように、種々の金属イオンを高濃度に含む「模擬海底熱水噴出孔海水」をメタン・窒素で加圧し、約300℃に加熱した時、種々のアミノ酸が生成することを見出した[10]。この他、種々の活性分子種からアミノ酸の生成が可能であることを示唆する実験例もある。例えば、Hennerら[11]はKCN, NH₄Cl, HCHOなどの水溶液を種々の鉱物の存在下、二酸化炭素・水素の混合ガスで加圧後、150℃に加熱し、アミノ酸

の生成を確認した。また、Marshall[12]は CaC_2 , NH_4HCO_3 などを含む水溶液を水素などで加圧後、210-225°Cで加熱し、生成物中にアミノ酸を検出した。

一方、MillerとBada[13]は、高温環境下での有機物、特にアミノ酸の分解を調べた。例えば、ロイシンを中性の水溶液中、265気圧で250°Cに保った場合、15-20分で半減する。このようなことから、彼らは海底熱水噴出孔が生命の起源の場としてふさわしくないことを主張した。しかし、この結果に対して、かれらの実験が高温環境下でのpHや水素や酸素のフガシティーを考慮していないことがShockにより指摘されている。Shockの計算によれば海底熱水噴出孔のような還元的な（水素フガシティーの高い）環境では有機物は通常より安定なはずである[14]。また、柳川らはアミノ酸水溶液を加圧後、加熱することによりペプチド様の高分子や原始細胞様の構造体を形成することを見いだした[10,15]。このことはアミノ酸は加熱することにより分解するのみではなく、重合反応も起こすことを示している。

本論文においては模擬海底熱水噴出孔環境下において、海底熱水中に存在が確認されているメタン、アンモニア、窒素および種々の金属イオンからのアミノ酸の生成についてまず述べた。また、同様な環境下においてアミノ酸およびアミノ酸関連分子の安定性や反応について調べた結果、及び今後の模擬海底熱水噴出孔実験の課題について述べた。

2. 実験

2-1. 加圧加熱実験によるアミノ酸の合成[4,10]

海底熱水噴出孔を模した加圧加熱実験の装置をFig. 1に、また、出発材料をTable 1に示す。修飾海底熱水噴出孔海水(MHVM)は、海底熱水噴出孔海水中の金属イオン濃度の報告値[6,7]を参考に、硫酸鉄(II)アンモニウム(2 mM)、塩化マンガン(0.6 mM)、塩化亜鉛(0.1 mM)、塩化銅(II)(0.1 mM)、塩化カルシウム(20 mM)、塩化バリウム(0.1 mM)を50 mM塩化アンモニウム-塩酸水溶液(pH 3.6)に溶かしたものである。30-50 mLの純水またはMHVMをPyrex製のチューブに入れ、これを内容積100 mLのオートクレーブに入れる。次に、オートクレーブ内部に窒素ガス(80気圧)を入れ、これを1気圧になるまで捨てる、という操作を5回繰り返す、内部の空気を除いた。その後、Table 1に示す加圧用ガス(窒素+メタンなど)を張り込んだ後に密閉し、ヒーターで260-325°Cで1.5-12時間加熱した。容器を室温まで冷却後、生成物(水溶液)を取り出し、6 M塩酸を加え110°Cで24時間加水分解後、アミノ酸分析に供した。ブランクとしてはすべての材料を用いて、加熱以外のすべての操作を加えたもの(Blank 1)および炭素源を除き、加圧加熱実験を行ったもの(Blank 2)を用いた。

2-2. 加圧加熱実験によるアミノ酸およびアミノ酸アミド水溶液の反応

2-1と同様な装置を用いて、アミノ酸の水溶液の高温高圧下での反応について調べた。用いた試料は(i) 500 mM グリシン水溶液、(ii) 500 mM グルタミン酸水溶液、(iii)各50 mMのグリシン・アラニン・β-アラニン・α-アミノ酪酸・α-アミノイソ酪酸・バリン・ロイシン・セリン・アスパラギン酸・グルタミン酸の混合水溶液(以後、アミノ酸混合溶液と呼ぶ)。

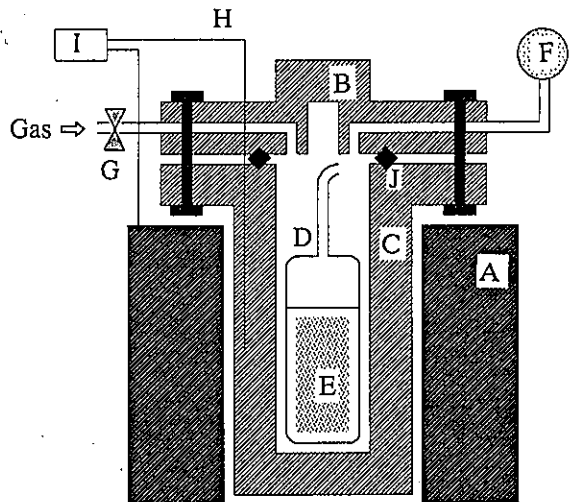


Fig. 1. Apparatus for hydrothermal reactions.

A: Electric furnace, B: lid, C: reaction chamber, D: Pyrex tube, E: aqueous medium, F: pressure gauge, G: gas inlet valve, H: thermocouple, I: recorder, J: delta packing.

Table 1. Formation of Amino Acids in Hydrothermal Experiments.

Reaction conditions	Reaction System					
	Blank 1	Blank 2	Run 1	Run 2	Run 3	Run 4
Medium	MHVM*	MHVM*	H ₂ O	MHVM*	H ₂ O	MHVM*
Volume (mL)	40	40	50	50	50	30
CH ₄ (kg/cm ²)	40	0	40	40	40	40
N ₂ (kg/cm ²)	40	80	40	40	40	20
CO ₂ (kg/cm ²)	0	0	0	0	0	12
Temperature (°C)	25	325	325	325	325	260
Pressure (kg/cm ²)**	80	200	200	200	200	140
Time (h)	12	3	12	1.5	12	6
Major amino acid produced (pmol/mL)						
Glycine	54	47	57	1190	2080	2400
Alanine	29	21	trace	600	980	630
Sarcosine	0	0	trace	640	1960	***

* Modified hydrothermal vent medium.

** Total pressure at the reaction temperature.

*** Not separated from a large peak of glutamic acid.

(iv) 各50 mMのグリシンアミド、アラニンアミド、バリンアミド、ロイシンアミド、イソロイシンアミド、セリンアミド、アスパラギンアミド、グルタミン酸アミドの混合水溶液（以後、アミノ酸アミド混合溶液と呼ぶ）である。いずれの溶液も50 mM塩化アンモニウム-塩酸溶液を用いてpHを3.6に調整した。アミノ酸アミドを用いたのは、火花放電などによるアミノ酸の無生物的合成の中間体であり、原始海洋中に存在した可能性が考えられるからである。加圧用ガスには純窒素ガスの他、海底熱水環境下での水素フガシティーを考慮して、1%(v/v)の水素を添加した窒素ガスも使い、比較を行った。加熱後、生成物（水溶液）を取り出し、そのまま、もしくは6M塩酸を加え110°Cで24時間加水分解後、アミノ酸分析等を行った。

2-3. 生成物の分析 アミノ酸の分析は陽イオン交換HPLC法（装置：医理化自動アミノ酸分析計A-5500、または島津LC-6Aアミノ酸分析システム）、ガスクロマトグラフ法（装置：島津ガスクロマトグラフGC-9A）、ガスクロマトグラフ質量分析(GC/MS)法（装置：島津GCMS-QP1000）で行った。生成物のキャラクタリゼーションには陽イオン交換HPLC法（装置：島津LC-6Aアミノ酸分析システム）、逆相HPLC法（装置：ジューエルサイエンスAPUS-5、カラム：YMC-Pack AM-322 ODS, 10 mm i.d. × 150 mm）、GC/MS法（GC：Hewlett-Packard HP-5890 Series II, MS：JEOL JMS AX-500、カラム：Spelco SPB-1, 0.25 mm i.d. × 30 m）、液体イオン化質量分析(LI-MS)法（装置：島津QP-300を改変[16]）を用いた。

3. 結果と考察

3-1. 模擬海底熱水噴出孔実験によるアミノ酸の生成

MHTVをメタン・窒素混合ガスで加圧後、325°Cで1.5時間加熱した時の生成物(Run 2)およびブランク(Blank 1)中のアミノ酸(加水分解後)の液体クロマトグラムをFig. 2(a)に示す。グリシン、アラニン、サルコシンはGC/MS法により同定された。また、光学活性なカラム(Chirasil-D-Val)を用いたGC分析によりアラニンはラセミ体であることがわかった。

Table 2. Thermodynamic Calculations for the Reactions of a Gaseous Mixture Containing Methane, Nitrogen and Water at 300 °C and 200 kg cm⁻².

Compounds	phase*	Initial concentration / M	Final concentration / M
CH ₄	g	1.60×10^{-1}	1.59×10^{-1}
N ₂	g	1.40×10^{-1}	1.38×10^{-1}
H ₂ O	l	2.00	1.86
	g		1.39×10^{-1}
H ₂	g		2.31×10^{-3}
CO ₂	g		1.09×10^{-3}
NH ₃	g		1.37×10^{-3}
HCHO	g		3.79×10^{-13}
HCN	g		1.31×10^{-13}
C ₂ H ₆	g		3.44×10^{-6}

*g: gas, l: liquid

ブランク中には痕跡量しかアミノ酸は検出されなかった。サルコシンの他にも、 α -アミノ酪酸・ γ -アミノ酪酸・ β -アラニンといった非タンパク質アミノ酸も検出された。以上の点より、本模擬実験によりアミノ酸が無生物的に生成したことが確認された[4,10]。

Table 1に本実験生成物中のアミノ酸濃度を記す。MHTVの代わりに純水を用いた場合には痕跡量のアミノ酸しか検出されなかった (Fig. 2(b))。また、アミノ酸生成量が加熱時間には比例しない。反応後の生成物中には容器から溶出したシリカが見られた。アミノ酸の生成には金属イオンが不可欠であるが、溶出したシリカも重要な役割を持つ可能性が考えられる [4,10]。

Table 2は200気圧、300°Cのメタン・窒素・水蒸気から生じる物質を熱力学的平衡を仮定して計算したものである。ホルムアルデヒドやシアン化水素といったアミノ酸生成の中間体となりうるような化合物は極めて微量にしか生成しない。本実験におけるアミノ酸前駆体の生成は平衡反応によるものでないことが強く示唆される。

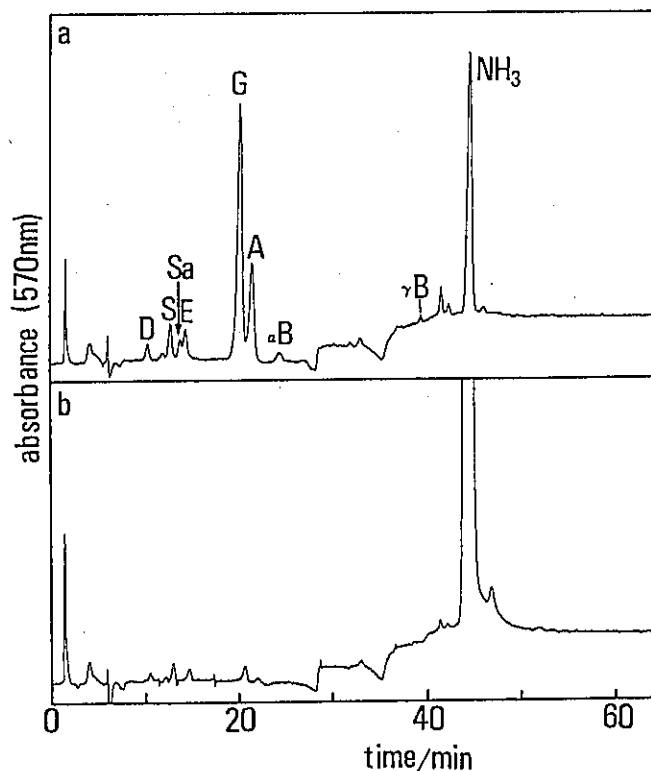


Fig. 2. Ion exchange chromatograms of the products of the simulated hydrothermal vent experiments.

(a) Run 2, (b) Blank 1. Instrument: Irika A-5500, detection: absorbance at 570 nm after derivatization with ninhydrine reagent. Abbreviations. D: Aspartic acid, S: serine, Sa: sarcosine, E: glutamic acid, G: glycine, A: alanine, B: aminobutyric acid.

Table 3. Recovery Ratio (%) of Amino Acids When Amino Acids or Amino Acid Amides* Were Heated at 200 kg/cm², 300 °C for 2 h.

Starting material Initial concentration Gas phase Acid-hydrolysis	Mixture of amino acids 50 μM each				Mixture of amino acid amides 50 μM each			
	N ₂		(99:1) N ₂ /H ₂		N ₂		(99:1) N ₂ /H ₂	
	Before	After	Before	After	Before	After	Before	After
Aspartic acid	0.06	0.12	0.38	0.44	0.21	N.D.	N.D.	N.D.
Serine	0.16	0.22	N.D.	N.D.	0.045	N.D.	0.30	N.D.
Glutamic acid	0.30	39	0.55	65	0.47	39	0.22	43
Glycine	0.75	1.4	70	81	31	48	63	72
Alanine	0.77	1.5	45	51	25	37	43	38
Valine	N.D.	N.D.	8.2	7.4	5.7	8.3	10	12
Leucine	N.D.	N.D.	4.6	3.4	1.5	3.7	6.6	6.2

* Ratio of amino acid concentration in the product to initial amino acid amide concentration.

3-2. アミノ酸・アミノ酸アミド水溶液の加圧加熱実験による安定性

Table 3はアミノ酸およびアミノ酸アミドの混合水溶液を200気圧、300°Cで2時間加熱後、各アミノ酸の回収率を示したものである。アミノ酸水溶液を純窒素加圧下で加熱した場合、いずれのアミノ酸も最初のアミノ酸濃度の1%未満に減少する。しかし、加水分解によりアミノ酸濃度が増大し、特にグルタミン酸は最初の濃度の43%にまで回復した。このことは、アミノ酸が分解する以外に重合物などを生じることを示唆する。また、純窒素の代わりに水素を1%添加した窒素を用いた場合(300°Cでの水素フガシティーは約1.6気圧)、アミノ酸回収率は大幅に増加した。海底熱水噴出孔環境下では種々の鉱物の緩衝(Mineral assemblage buffer)効果により、水素フガシティーは1気圧前後と考えられる[14]ので、水素を添加した場合の還元状態は実際の海底熱水噴出孔環境に近く、そのような場合はより酸化的な場合よりもアミノ酸が安定に存在しうることが実験的に示された[17]。

アミノ酸アミドの混合水溶液を加圧加熱した場合、加水分解前でも加熱前の各アミド濃度の数十%のグリシン・アラニンが検出された。このことはアミノ酸アミドが加熱により徐々に加水分解されてアミノ酸になるため、アミノ酸からの分解から一時免れるためと考えられる。原始スープ中にはアミノ酸は遊離の形以外のもの(前駆体・重合物)がむしろ多いと考えられる[18]ので、そのようなアミノ酸の形態は安定性に大きな影響を及ぼすと考えられる。

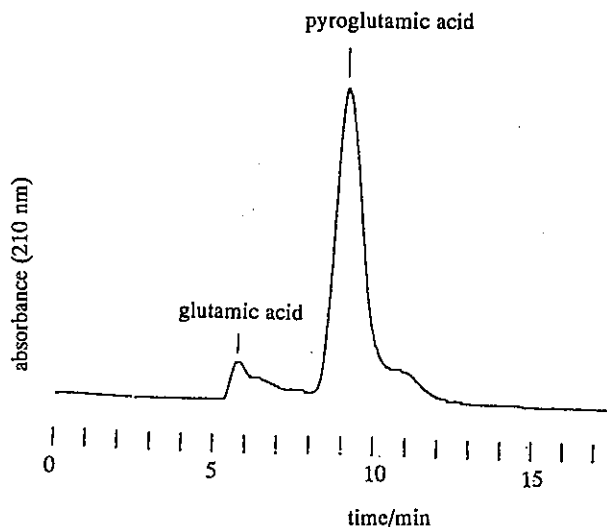


Fig. 3. Reversed-phase chromatogram of the product when aqueous solution of glutamic acid was heated at 200 kg/cm², 300 °C for 2 h.

Instrument: GL Science APUS-5, column: YMC-Pack AM-322 ODS, 10 mm i.d. × 150 mm, eluent: 25 mM phosphate buffer, pH 3.0, flow rate: 0.5 mL min⁻¹, detector: UV detector (210 nm).

3-3. 加圧加熱生成物のキャラクターゼーション[17]

前節において、加水分解によりアミノ酸濃度が増加するという事は、加圧加熱によりアミノ酸の重合物の生成を示唆する。そこで、加水分解により回収率の最も増大するグルタミン酸、および加水分解後の回収率の最も高いグリシンを用いて、加圧加熱実験により生じた生成物のキャラクターゼーションを行った。

Fig. 3は500 mM グルタミン酸水溶液を純窒素で加圧後、300°Cで2時間加熱した時の生成物の逆相クロマトグラムである。5分過ぎの小さいピークは未反応のグルタミン酸である。9分あたりの大きいピークの画分のマススペクトルをFig. 4に示す。保持時間およびこのマススペクトルからこのピークはピログルタミン酸と同定された。ピログルタミン酸はグルタミン酸の分子内縮合物で、高温下で極めて安定であり、これを酸加水分解するとグルタミン酸に戻ることから、グルタミン酸の酸加水分解後の回収率の高さが説明できた。

Fig. 5(a)は500 mM グリシン水溶液の加圧(純窒素)・加熱(300°C)生成物のイオン交換クロマトグラムである。溶出液を図に示したようにFrac. 1, 2, 3に分取し、各画分を加水分解後、再度アミノ酸分析を行った。Frac. 2のアミノ酸量はほとんど変化しなかったが、ピークの見られないFrac. 1からも全体の約1/3のグリシンが生成した(Fig. 5(b))。また、塩基性画分のFrac. 3からも微量ではあるが、グリシンが検出された。Frac. 1に溶出するグリシンの重合物としては無水グリシン(ジケトピペラジン)が候補に上げられるが、トリメチルシリル(TMS)化の後にGC/MS分析したところ、これは検出されなかった。このことは、さらに重合度の高いグリシン重合物の生成を示唆する[17]。

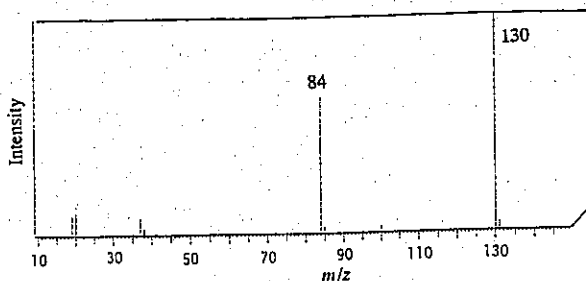


Fig. 4. LI-Mass spectrum of pyroglutamic acid(PG) produced from aqueous solution of glutamic acid by hydrothermal reaction.

$m/z=130$: MH^+ of PG, $m/z = 84$: $(MH - CO_2)^+$.

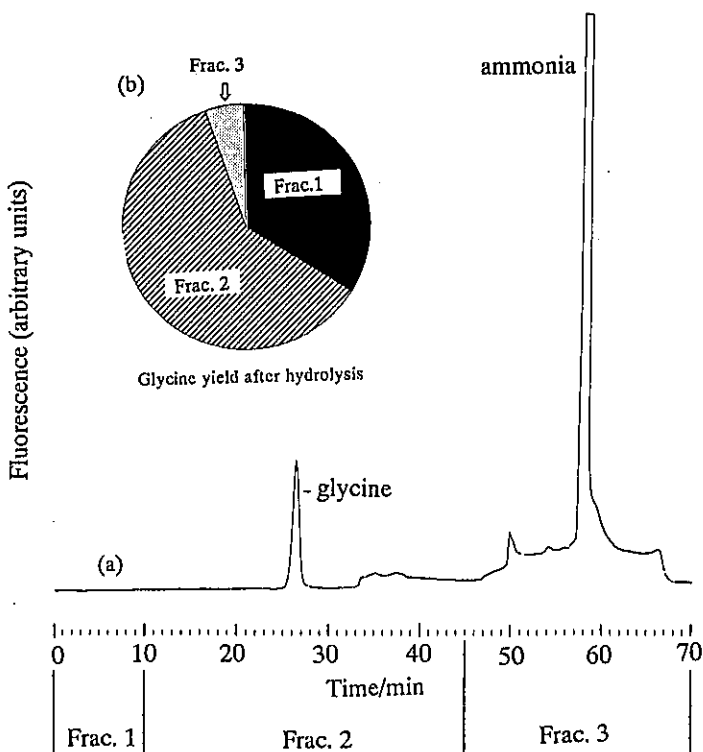


Fig. 5. (a) Ion-exchange chromatogram of the product when aqueous solution of glycine was heated at 200 kg/cm², 300 °C for 2 h.

Instrument: Shimadzu LC-6A, column: Shimpack ISC-07/S1504, elution: gradient elution with citrate buffers (pH 3.2 and pH 10.0), flow rate: 0.3 mL min⁻¹, detector: fluorometric detector (post-column with o-phthalaldehyde reagents).

(b) Relative yield of glycine after acid-hydrolysis of the fractions of 1, 2 and 3 in (a).

4. まとめ

閉鎖型のオートクレーブを用い、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・メタンの混合ガスで加圧・加熱（約300°C・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。高温下での有機物の生成は用いた化学種間の高温での平衡のみからは期待できない。また、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。ただし、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。このことを確認するためにアミノ酸水溶液を同様なオートクレーブを用いて300°Cで2時間加圧加熱すると、アミノ酸濃度は加熱前の1%未満にまで減少した。しかし、加水分解することによりグルタミン酸濃度は加熱前の43%にまで回復した。これはグルタミン酸が高温下で安定なピログルタミン酸となったためである。他のアミノ酸も加水分解により濃度が増加した。グリシンの場合、陽イオン交換樹脂に保持されないような分子量の大きい重合物の生成が示唆された。また、アミノ酸の前生物的生成の前駆体と考えられるアミノ酸アミドの水溶液を同様に300°Cで2時間加圧加熱した場合、アミノ酸とは異なった挙動を示した。このことは熱水環境下でのアミノ酸の安定性を論じる場合、それが遊離のアミノ酸か、他の形態かが極めて需要であることを示す。また、加圧用ガスに水素を添加し、系中の水素分圧を高めることによりアミノ酸の回収率が改善されることもわかった。

原始地球上では後期隕石重爆撃期[19]の終了後、安定な海洋が形成されたがそれは現在の海底熱水噴出孔に似た原始熱水系であった可能性が高いと考えられる。その後、弱還元型の原始大気から宇宙線などにより生成した有機物[20,21]や彗星[22,23]や隕石[24]により地球外から供給された有機物がこの熱水系に溶け込み、熱水系由来の有機物とともにさらなる反応を起こし、38億年前までには生命の誕生をみた[25]というシナリオが描ける。つまり、熱水系への有機物の蓄積から生命の発生までに要した時間は高々1億年以下と推定される。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、今回用いた閉鎖型オートクレーブを用いた場合、このような機構を実験的に確かめることができない。今後、熱水系における有機物の生成やその安定性を調べ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。

謝辞

本研究を行うにあたり、蒲生俊敬博士（東京大学海洋研究所）、金子竹男氏（横浜国立大学工学部）・土屋正彦博士（横浜国立大学・現ジオクト）・上村知嗣氏（横浜国立大学・現NTT）の助力を得たので、ここに感謝する。本研究の一部は文部省科学研究費(No.04232209)の援助によって行われたものである。

文献

- [1] J. B. Corliss, J. Dymond, L. I. Gordon, J. M. Edmond, R. P. Von Herzen, R. D. Ballard, K. Green, D. Williams, A. Brainbridge, K. Crance and T. H. Van Andel, *Science*, **203**, 1073 (1979).
- [2] J. B. Corliss, J. A. Baross and S. E. Hoffman, *Oceanol. Acta*, N° SP, 59 (1981).
- [3] J. A. Baross and S. E. Hoffman, *Origins Life Evol. Biosphere*, **15**, 327 (1985).
- [4] 柳川弘志, 小林憲正, *地球化学*, **22**, 96 (1988).
- [5] G. Schlesinger and S. L. Miller, *J. Mol. Evol.*, **19**, 376 (1983).
- [6] J. M. Edmond, K. L. Von Damm, R. E. McDuff and C. I. Measures, *Nature*, **297**, 187 (1982).
- [7] K. L. Von Damm, B. Grant and J. M. Edmond, In "Hydrothermal Processes at Seafloor

- Spreading Centers," NATO Conference Series, Ser. IV. Marine Sciences, Vol. 12, ed. By P. A. Rona, K. Bostrom, L. Laubier and K. L. Smith, Jr., Plenum, New York (1983), pp. 391-409.
- [8] K. Kobayashi and C. Ponnampertuma, *Origins of Life*, **16**, 41 (1985).
- [9] D. E. Ingmanson and M. J. Dowler, *Nature*, **286**, 51 (1980).
- [10] H. Yanagawa and K. Kobayashi, *Origins Life Evol. Biosphere*, **22**, 147 (1992).
- [11] R. J.-C. Hennet, N. G. Holm and M. H. Engel, *Naturwissenschaften*, **79**, 361 (1992).
- [12] W. L. Marshall, *Geochim. Cosmochim. Acta*, **58**, 2099 (1994).
- [13] S. L. Miller and J.L. Bada, *Nature*, **334**, 609 (1988).
- [14] E. L. Shock, *Origins of Life and Evolution of the Biosphere*, **22**, 67 (1992).
- [15] H. Yanagawa and K. Kojima, *J. Biochem.*, **97**, 1521 (1985).
- [16] M. Tsuchiya and H. Kuwabara, *Anal. Chem.*, **56**, 14 (1984).
- [17] M. Kohara, T. Gamo, H. Yanagawa and K. Kobayashi, *Chem. Lett.*, submitted.
- [18] K. Kobayashi, T. Sato, S. Kajishima, T. Kaneko, Y. Ishikawa and T. Saito, *Adv. Space Res.*, **19**, 1067 (1997).
- [19] 杉田精司, 遊星人 (日本惑星科学会誌), **1**, 105 (1992).
- [20] K. Kobayashi and T. Tsuji, *Chem. Lett.*, **1997**, in press.
- [21] K. Kobayashi, T. Kaneko, T. Saito and T. Oshima, *Origins Life Evol. Biosphere*, in press.
- [22] T. Kasamatsu, T. Kaneko, T. Saito and K. Kobayashi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **70**, 1021 (1997).
- [23] 笠松隆志, 金子竹男, 斉藤威, 小林憲正, *地球化学*, **31**, in press (1997).
- [24] 下山晃, *Viva Origino*, **21**, 157 (1993).
- [25] S. J. Mojzsis, G. Arrhenius, K. D. McKeegan, T. M. Harrison, A. P. Nutman and C. R. L. Friend, *Nature*, **384**, 55-59.

Kinetic Investigations for the Hydrolysis of Adenosine 5'-triphosphate at Elevated Temperatures : Prospects for the Chemical Evolution of RNA

KAWAMURA Kunio*, YOSIDA Akiko, MATUMOTO Osamu

Department of Applied Chemistry
Osaka Prefecture University
Sakai, Osaka 599-8531, Japan

ABSTRACT

The reaction kinetics for the degradation of adenosine 5'-triphosphate (ATP) have been studied in pH 7 aqueous solution containing 0.1 M NaCl and 0.1 M MgCl₂ at elevated temperatures 373 - 523 K. The reaction products were analyzed by HPLC and consecutive hydrolysis of ATP to form ADP, AMP, adenosine, adenine, and hypoxanthine has been observed. The rate constants were determined using the computer program SIMFIT and the magnitudes of the rate constants decreased in the order ATP ≈ ADP > AMP > adenosine > adenine at 373 - 423 K. The activation energy was determined from the Arrhenius plot where the magnitudes increased in the order ATP (49.9 kJ mol⁻¹) < ADP (81.3) < AMP (119.1) < adenosine (129.8). The half-lives that were estimated from the Arrhenius plot are 13.1 s (ATP), 1.6 s (ADP), 0.95 s (AMP), and 4.0 s (adenosine) at 523 K. Basing on the kinetic analysis the plausibility of the RNA world hypothesis at elevated temperature has been discussed.

Key words : adenosine 5'-triphosphate, kinetics, hydrolysis, elevated temperature, RNA world, aqueous solution, nucleotide.

高温水溶液中におけるアデノシン5'-三リン酸の 加水分解反応の速度論的研究 ：RNAの化学進化における考察

川村邦男*, 吉田晶子, 松本修

大阪府立大学・工学部・応用化学科
(〒599-8531 大阪府堺市学園町1-1)

1. 緒言

リボ核酸 (RNA) は情報を保持する機能だけでなく酵素機能を持つことが発見されたため化学進化の過程でRNAワールドと呼ばれる化学反応系を形成し、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¹⁻⁴⁾。この仮説が正しければ、RNAは原始地球環境下で自発的に生成し複製されたはずである。そのような過程をシミュレーションするモデル反応として、縮合剤を用いてヌクレオチドモノマーからオリゴヌクレオチドを生成する反応、あるいはヌクレオチドのリン酸基をイミダゾールで活性化した活性化ヌクレオチドからオリゴヌクレオチドを生成あるいは複製する反応について一連の研究がなされてきた⁵⁻²⁶⁾。

一方、生命は高温の海水中で誕生したとする仮説が考えられてきた。例えば、熱水鉱床をモデルとした高温高圧の模擬海水中ではアミノ酸が重合し、タンパク質状の微小球が生成することが見いだされている^{27,28)}。また、高温水中で生育する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ことが示唆されてきた^{28,29)}。これらの知見は生命が高温水中で出現した可能性を支持している。

ところが、これらのRNAワールド仮説と生命の熱水起原説とを同時に考慮して行った系統的な研究はなかった。すなわち、RNAの化学進化過程の場が高温の海水中であったのかどうかについては、本格的に考察されたことはなかった。例えばRNAは高温水中では一般に不安定であると考えられているが、そうであればRNAワールドが成立した環境として高温の原始地球海水は適していなかったかもしれない。しかし、この種の仮説を考察するために必要な基礎情報として、RNAあるいはそれを構成するヌクレオチド、ヌクレオシドおよび核酸塩基の高温水中における熱安定性、すなわちその分解速度について定量的に調べた研究はほとんどない^{31,32)}。さらにRNAが自発的に生成する過程あるいは複製する過程が高温水中で起こりうるのかどうかについても調べ直さなければならない。このような背景にもとづいて著者らは、高温水溶液中におけるRNAの反応挙動を調べる研究の一環として、RNAの分解反応および生成反応を調べる研究に着手した。

本研究では、生体中においてRNAを生成する原料モノマーでありかつ高エネルギーリン酸化合物である、アデノシン5'-三リン酸 (ATP) について以下の事項について検討した。第1に、ATPからオリゴアデニル酸が高温水中で生成するかどうか調べた。またこのとき、アデノシン5'-モノリン酸イミダゾリドが生成するか追跡した。第2にATPの加水

分解反応挙動を373 ~523 Kの範囲で調べた。この結果、ATPは逐次加水分解してアデノシン5'- ニリン酸 (ADP) , アデノシン5'- ーリン酸 (AMP) , アデノシン (Ade) , アデニン (A) , ヒポキサンチン (Hyp) を生成することを知った。第3にATPの加水分解速度を373 ~423 Kの範囲で測定し速度定数を決定した。以上の知見にもとづいて高温水溶液中でRNAが化学進化した可能性について考察する。

2. 実験

2-1 試薬

アデノシン5'-モノリン酸イミダゾリド (ImpA) はJoyceらの方法にしたがって合成した^{26,27)}。ATPは生化学工業製を用いた。その他の試薬は市販特級品を用いた。各試薬類の略記号を以下に示す。3',5'-cAMP : アデノシン3',5'-サイクリックーリン酸, A^{5'}ppA : P₁, P₂-ジアデノシン5',5'-ピロリン酸。

2-2 装置

高速液体クロマトグラフィー (HPLC) は、送液ユニット (島津製作所製, LC-10AT 100V GLP), 紫外可視吸光分光検出器 (島津製作所製, SPD-10A 100V GLP), システムコントローラー (島津製作所製, SCL-10A 100V GLP), サンプルループインジェクター (Rheodine, L.P., 20 μ L) からなるシステムに、記録計としてクロマトパック (C-R6A 100V GLP) をつけて用いた。逆相分配カラムはG Lサイエンス社製Inertsil ODS-2を用いた。pHの測定はpHメーター (pH- 8D型, 柳本製作所製) を用いた。反応容器を加熱するためにブロックヒーターに温度調節器 (井内盛栄堂社製, TX-400-A) をつけて用いた。

2-3 反応操作

ATPを含む水溶液にNaCl, MgCl₂, イミダゾールおよびpH緩衝剤としてリン酸二水素ナトリウムあるいはホウ砂を含む溶液を加え, 0.2 M NaOH水溶液でpHを7.0に調整し最終的に1 mLの反応溶液とした。この溶液の一部を, 一端を封じた内径2 mm, 外径7 mmのパイレックスガラス管に注入し, 封管した。これをあらかじめ所定の温度に設定したブロックヒーターを用いて種々の温度で5分間~250時間反応させた。反応後急冷したのち溶液を取り出して, この溶液を100 ~1000倍希釈してHPLCに20 μ L注入し分析した。

2-4 HPLCによる分析方法と反応速度定数の決定

分析法1 : 溶離液A (0.005 M NaH₂PO₄水溶液, pH=3.5) および溶離液B (0.01 M NaH₂PO₄, 40%メタノール水溶液, pH=4.0) を用い, 溶離液Bの割合を0% (t = 0 min) から40% (30 min), 60% (35 min) となるようにシステムコントローラー上のカーブ番号2の曲線グラジエントで分析した。

分析法2 : 溶離液A (20 mM NH₄H₂PO₄, 5 mM(C₄H₉)₄NBr水溶液, pH=3.5) および溶離液B (20 mM NH₄H₂PO₄, 5 mM(C₄H₉)₄NBr水溶液, 60%メタノール水溶液, pH=3.5) を用い, 溶離液Bの割合が45% (t = 0 min) から55% (t = 10 min), 55% (t = 30 min) となる直線グラジエントで分析した。

HPLCによる分析はカラムオープンを用いて30ないし35°Cにカラム温度を保ち, 検出は260 nmで行った。上記の2つの方法を組み合わせて生成物を同定および分析した。

速度定数の決定には速度解析プログラムSIMFIT²³⁾を用いた。

3. 結果および考察

3-1 高温水中におけるATPの反応挙動

0.05 M ATP, 0.1 M NaCl, 0.1 M MgCl₂, 0.1 M イミダゾールを含む溶液をNaH₂PO₄あるいはホウ砂緩衝溶液でpH 7.0 に調整し, 温度423 ~ 523 Kの範囲で反応時間5分間および30分間反応させた。これらの反応ではオリゴヌクレオチドあるいは活性化ヌクレオチドが生成する可能性を考慮して, ATPは高濃度としかつイミダゾールを添加した³⁶⁾。標準試薬と反応試料とをHPLCに同時に注入することによって, 保持時間を比較して生成物を同定した。種々の温度における生成物の収率を Table 1a~1g および Figure 1 に示す。この反応によって, ATP からADP, AMP, アデノシン, アデニンおよびヒポキサンチンが順次生成することを確認した。また生成物の量論関係は, ATP から直接 AMP などが生成する反応は起こらなかったことを示している。353 KでATPの加水分解反応を調べた研究では, ATPは加水分解して本研究と同様に逐次加水分解されてアデノシンまで生成することが報告されている³⁷⁾。以上のことから, 523 Kの高温でもATPは加水分解してヒポキサンチンまでを生成したと考えられる。

一方, オリゴヌクレオチドや活性化ヌクレオチドは生成しなかった。また498 ~ 523Kで反応させたときには, 帰属できないピークが副生成物としてHPLC上に認められた。これらの副生成物のHPLCにおける保持時間をImpA, 3', 5'-c AMP, およびA^{5'} ppA の保持時間と比較し, この副生成物はこれらの物質でないことが分かった。また, 緩衝溶液の種類の違いは生成物の種類と量に対してあまり影響しなかった。一方, 反応に伴って白色の沈殿が生成したが, これは緩衝剤として添加したリン酸イオンまたはATPの加水分解によって放出されたリン酸イオンがマグネシウムイオンと反応し, 難溶性のMg₃(PO₄)₂を形成したためであると推定される。また反応の進行に伴って試料が黄色から茶褐色に着色したが, これはリボースの分解によるものと推定される。

一方, これらの反応が加水分解反応であって酸化・還元などによる分解反応でないことを確かめるために, 反応系に還元剤をくわえて反応を行った (Table 1d ~ 1g)。その結果, 生成物の種類と量は還元剤の有無にと種類にほとんど依存しなかった。従って, これらの反応は単純な加水分解反応であると考えられる。

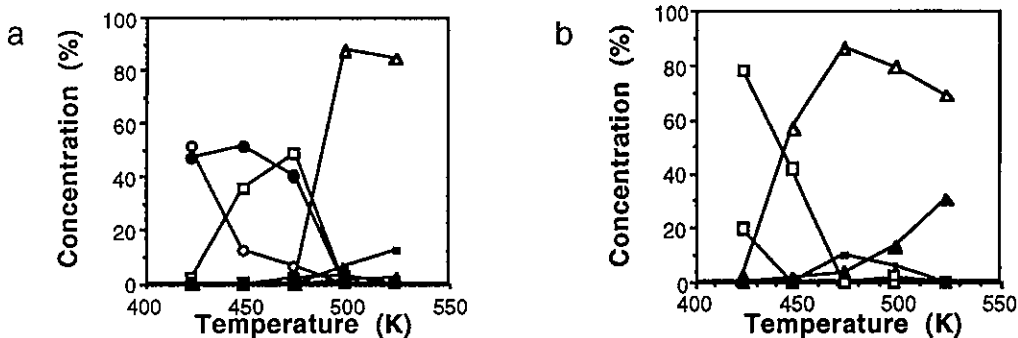


Figure 1. Degradation products of ATP at elevated temperatures. Reaction time, a: 5 min, b: 30 min. Reaction conditions are the same as given in Table 1a. Products ○: ATP, ●: ADP, □: AMP, ■: adenosine, △: adenine, ▲: hypoxanthine.

Table 1a Product yields for the reaction of ATP at elevated temperatures

Yields(%)	ATP	ADP	AMP	Ade	A	Hyp	others
5 min							
423 K	51.1	47.2	1.6	0	0	0	0
448	12.6	51.4	36.1	0	0	0	0
473	6.5	40.4	48.5	2.1	2.5	0	0
498	0	0	0	3.1	87.5	1.5	7.9
528	0	0	0	0	84.2	1.8	14.0
30 min							
423 K	0	0	19.7	77.9	2.4	0	0
448	0	0	0	41.9	56.6	1.5	0
473	0	0	0	0	86.4	3.6	10.0
498	0	0	0	1.8	79.1	13.2	5.9
528	0	0	0	0	68.6	30.5	0.9

Reaction conditions : [ATP]_{initial}=0.05 M, [NaCl] = [MgCl₂] = [imidazole] = 0.1 M, [phosphate buffer]_{initial} = 0.01 M, initial pH=7.0.

Table 1b Product yields for the reaction of ATP at elevated temperatures

Yields(%)	ATP	ADP	AMP	Ade	A	Hyp	others
5 min							
423 K	51.6	47.7	0.7	0	0	0	0
448	20.2	57.8	21.6	0.5	0	0	0
473	0	27.6	64.7	7.7	0	0	0
498	0	0	0	34.7	64.6	0.7	0
528	0	0	0	0.8	92.7	2.4	4.1
30 min							
423 K	0	0	13.3	85.5	1.2	0	0
448	0	0	0	72.6	27.1	0.3	0
473	0	0	0	0	95.8	3.2	0
498	0	0	0	1.0	87.7	11.5	0
528	0	0	0	0	75.9	24.1	0

Reaction conditions : [ATP]_{initial}=0.05 M, [NaCl] = [MgCl₂] = [imidazole] = 0.1 M, [phosphate buffer]_{initial} = 0.1 M, initial pH=7.0.

Table 1c Product yields for the reaction of ATP at elevated temperatures

Yields(%)	ATP	ADP	AMP	Ade	A	Hyp	others
5 min							
423 K	52.7	46.4	0.9	0	0	0	0
448	11.4	66.4	22.1	0	0	0	0
473	0	34.1	62.6	3.2	0	0	0
498	0	0	0	15.3	84.7	0	0
528	0	0	0	0	88.6	1.7	9.7
30 min							
423 K	0	0	12.5	86.0	1.5	0	0
448	0	0	0	59.8	39.9	0.3	0
473	0	0	0	0	90.7	2.4	6.9
498	0	0	0	0	81.9	10.6	7.5
528	0	0	0	0	67.9	32.1	0

Reaction conditions : [ATP]_{initial}=0.05 M, [NaCl] = [MgCl₂] = [imidazole] = 0.1 M, [borate buffer]_{initial} = 0.01 M, initial pH=7.0.

Table 1d Product yields for the reaction of ATP at elevated temperatures

Yields(%)	ATP	ADP	AMP	Ade	A	Hyp	others
5 min							
423 K	66.5	32.3	1.1	0	0	0	0
448	0	8.9	62.1	9.9	19.2	0	0
473	0	5.1	62.7	18.2	14.1	0	0
498	0	0	0	24.5	74.7	0.8	0
528	0	0	0	5.6	86.2	1.4	6.8
30 min							
423 K	0	0	15.7	81.9	2.4	0	0
448	0	0	0	44.2	55.2	0.6	0
473	0	0	0	0	88.3	3.4	8.3
498	0	0	0	0	80.6	12.6	6.8
528	0	0	0	0	70.6	29.1	0.3

Reaction conditions : [ATP]_{initial}=0.05 M, [NaCl] = [MgCl₂] = [Imidazole] = 0.1 M, [L-ascorbic acid] = 0.1 M, [phosphate buffer]_{initial} = 0.01 M, initial pH=7.0.

Table 1e Product yields for the reaction of ATP at elevated temperatures

Yields(%)	ATP	ADP	AMP	Ade	A	Hyp	others
5 min							
423 K	78.8	20.8	0.5	0	0	0	0
448	0	25.8	69.5	4.7	0	0	0
473	0	1.8	62.1	35.5	0.7	0	0
498	0	0	0	6.2	85.3	1.2	7.3
528	0	0	0	0	92.7	1.6	5.7
30 min							
423 K	0	0.9	18.3	78.6	2.2	0	0
448	0	0	0	42.0	57.4	0.6	0
473	0	0	0	0	96.8	3.2	0
498	0	0	0	0	85.9	11.8	2.3
528	0	0	0	0	70.9	29.1	0

Reaction conditions : [ATP]_{initial}=0.05 M, [NaCl] = [MgCl₂] = [Imidazole] = 0.1 M, [Na₂S₂O₃] = 0.1 M, [phosphate buffer]_{initial} = 0.01 M, initial pH=7.0.

Table 1f Product yields for the reaction of ATP at elevated temperatures

Yields(%)	ATP	ADP	AMP	Ade	A	Hyp	others
5 min							
423 K	66.0	33.1	0.9	0	0	0	0
448	0	31.2	64.8	4.0	0	0	0
473	0	0	56.6	40.6	2.8	0	0
498	0	0	0	38.6	60.7	0.7	0
528	0	0	0	0	87.0	1.4	11.6
30 min							
423 K	0	0	13.3	84.8	2.0	0	0
448	0	0	0	53.4	46.2	0	0.4
473	0	0	0	0	96.8	3.2	0
498	0	0	0	0	80.3	11.9	7.8
528	0	0	0	0	70.3	29.7	0

Reaction conditions : [ATP]_{initial}=0.05 M, [NaCl] = [MgCl₂] = [Imidazole] = 0.1 M, [L-ascorbic acid] = 0.1 M, [borate buffer] = 0.01 M, initial pH=7.0.

Table 1g Product yields for the reaction of ATP at elevated temperatures

Yields(%)	ATP	ADP	AMP	A	Ade	Hyp	others
5 min							
423 K	66.7	32.3	1.0	0	0	0	0
448	0	41.3	56.3	2.3	0	0	0
473	0	0	0	30.0	70.0	0	0
498	0	0	0	38.6	60.7	0.7	0
528	0	0	0	0	98.5	1.5	0
30 min							
423 K	0	0	14.7	83.5	1.9	0	0
448	0	0	0	52.1	47.3	0.5	0
473	0	0	0	0	97.2	2.8	0
498	0	0	0	0	89.8	10.2	0
528	0	0	0	0	73.7	26.3	0

Reaction conditions : [ATP]_{initial}=0.05 M, [NaCl] = [MgCl₂] = [Imidazole] = 0.1 M, [Na₂S₂O₃] = 0.1 M, [borate buffer] = 0.01 M, initial pH=7.0.

Table 2 Rate constants (min⁻¹) of the hydrolysis of ATP to hypoxanthine at 423 K

reaction conditions	ATP	ADP	AMP	adenosine	adenine
373 K ^a no imidazole	(3.16 ± 0.13) E-2	(1.26 ± 0.05) E-2	(7.09 ± 0.22) E-4	(6.59 ± 0.27) E-5	ND ^e
373 K ^b 0.1 M imidazole	(3.32 ± 0.15) E-2	(1.06 ± 0.04) E-2	(7.53 ± 0.26) E-4	(4.53 ± 0.24) E-5	ND
398 K ^a no imidazole	(8.62 ± 0.63) E-2	(9.58 ± 1.00) E-2	(8.68 ± 0.65) E-3	(8.17 ± 0.52) E-4	ND
398 K ^b 0.1 M imidazole	(9.47 ± 0.75) E-2	(1.12 ± 0.13) E-1	(9.57 ± 0.69) E-3	(5.29 ± 0.38) E-4	ND
423 K ^a no imidazole	(2.11 ± 0.32) E-1	(2.74 ± 0.46) E-1	(6.57 ± 0.68) E-2	(9.30 ± 0.86) E-3	1.03 E-4
423 K ^b 0.1 M imidazole	(2.26 ± 0.39) E-1	(2.56 ± 0.49) E-1	(7.24 ± 0.88) E-2	(5.07 ± 0.60) E-3	1.83 E-5
423 K ^c 0.1 M phosphate	(2.04 ± 0.32) E-1	(2.26 ± 0.36) E-1	(8.06 ± 0.81) E-2	(1.42 ± 0.36) E-3	5.82 E-6
423 K ^d 0.01 M borate	(2.22 ± 0.41) E-1	(2.69 ± 0.58) E-1	(8.46 ± 1.10) E-2	(3.26 ± 0.50) E-3	2.69 E-5

Reaction conditions : [ATP]_{initial}=0.05 M, [NaCl] = [MgCl₂] = 0.1 M, [phosphate buffer] = 0.01 M, initial pH=7.0.

^a Imidazole is not added, ^b [Imidazole] = 0.1 M,

^c [phosphate buffer] = 0.1 M, ^d [borate buffer] = 0.01 M,

^e ND : not determined.

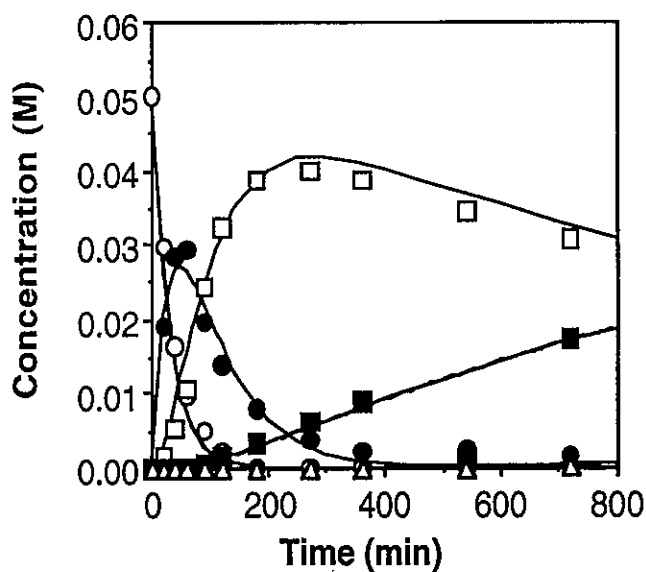


Figure 2. Reaction curves of the ATP hydrolysis at 373 K.
 [ATP]=0.05M, [NaCl]=[MgCl₂]=0.1 M,
 [phosphate buffer] = 0.01 M, initial pH=7.0,
 ○ : ATP, ● : ADP, □ : AMP, ■ : adenosine, △ : adenine

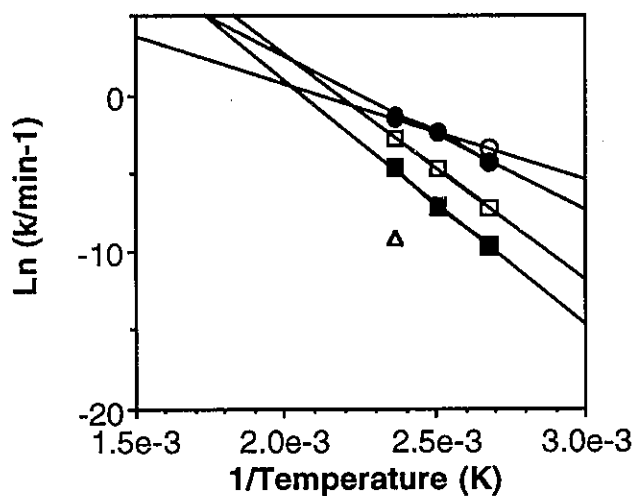
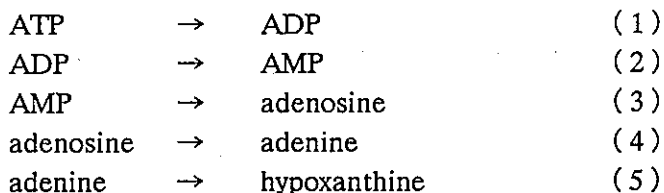


Figure 3. Arrhenius plot of the ATP hydrolysis.
 [ATP]=0.05M, [NaCl]=[MgCl₂]=0.1 M,
 [phosphate buffer]=0.01 M, initial pH=7.0,
 ○ : ATP, ● : ADP, □ : AMP, ■ : adenosine, △ : adenine

3-2 ATPの加水分解速度定数の決定

以上の結果によって、ATPは逐次加水分解してADP、AMP、アデノシン、アデニン、ヒポキサンチンを生成することが示された。これらの過程の速度定数を決定するために反応速度を373, 398, および423 Kで測定した。反応曲線を Figure 2 に示す。この反応曲線にもとづいて、以下の反応式で示される反応モデルにしたがって反応速度定数を SIMFIT²³⁾で決定した。Figure 2 中の点は実験値を、曲線は速度定数から計算した回帰曲線を示す。両者はよく一致しこの反応モデルが正しいことを示している。



得られた速度定数値を Table 2 に示す。423 Kにおける速度定数から計算した各反応の半減期は、3.3 min (ATP), 2.5 min (ADP), 10.5 min (AMP), 74.6 min (アデノシン), 6740 min (アデニン)であった。423 Kにおいて種々の緩衝溶液中での加水分解速度定数を調べたが、緩衝溶液の種類による影響は少なかった。各過程の 373 ~ 423 K での加水分解速度定数は、ATP ~ ADP > AMP > アデノシン > アデニンの序列で減少した。

Table 3 Activation energy of the hydrolysis of ATP to adenine

reaction	activation energy (kJ mol ⁻¹)
<u>No Imidazole^a</u>	
ATP → ADP	49.9
ADP → AMP	81.3
AMP → adenosine	119.1
adenosine → adenine	129.8
<u>Imidazole 0.1 M^b</u>	
ATP → ADP	50.4
ADP → AMP	84.4
AMP → adenosine	120.0
adenosine → adenine	123.8

Reaction conditions : [ATP]_{initial} = 0.05 M, [NaCl] = [MgCl₂] = 0.1 M, [phosphate buffer] = 0.01 M, initial pH = 7.0.

^a Imidazole not added, ^b [Imidazole] = 0.1.

Table 4 Rate constants for the hydrolysis of ATP at 523 K^a

reaction	k (min ⁻¹)	$\tau_{1/2}$ (s) ^b
ATP → ADP	3.2	13.1
ADP → AMP	26.1	1.59
AMP → adenosine	43.8	0.95
adenosine → adenine	10.3	4.03

^a The rate constants at 523 K were estimated from the Arrhenius plot of the ATP hydrolysis in the presence of imidazole, ^b $\tau_{1/2}$: half life.

一方、各過程の速度定数は温度の上昇に伴って増加した。また各過程の速度定数の序列はこの範囲ではほぼ一定であった。各速度定数はイミダゾールの有無にほとんど依存しなかった。各過程の速度定数をアレニウスプロットし(Figure 3)、活性化エネルギーを計算した(Table 3)。活性化エネルギーは、ATP < ADP < AMP < アデノシンの序列で増加した。従って速度定数の序列は高温領域では低温とは異なることが推定される。アレニウスプロットの関係式から523 Kにおける各過程の速度定数を推定した結果、各速度定数の序列はATP < ADP < AMP > アデノシンとなった(Table 4)。またこれらの反応の半減期は数秒間程度であり、通常のバッチ法では測定できないほど速度が大きいことを示している。523 Kにおける各過程の速度は373 Kと比べて、ATP (101 倍)、ADP (2070 倍)、AMP (61800 倍)、アデノシン (156000 倍) 増加すると予測される。

一方、本実験では室温 (298 K) でpH7.0に調整したのち高温で反応を行った。したがって高温下でのpHは7.0と異なる。高温条件下でのpHを実測することは難しいが、リン酸の酸解離平衡関係を用いれば各温度でのpHを計算できる³⁸⁾。その結果、各温度での実際の初期 pHは7.16 (373 K)、7.29 (398 K)、7.44 (423 K) でありほぼ中性条件である。また反応後の試料のpHを測定した結果、反応時間の増加に伴ってpHが減少し、pH=5.64 (373 K, 54 ~ 98 h)、pH=5.98 (398 K, 10 ~ 17 h) となった。

本反応ではATPの加水分解反応の進行に伴って溶液は着色し、淡黄色 (373 K, 98 h)、黄色 (373 K, 168 h)、濃黄色 (373 K, 241 h) へと変化した。この着色が起こる反応時間はアデニンの生成反応時間と対応しているので、この着色はリボースの分解に基づくものと推定される。その理由は以下の通りである。アデノシンに結合したリボースが分解したと仮定すると、副生成物がHPLC上に検出されるはずであるが、この温度範囲では副生成物はほとんど生成しなかった。またリボースの分解速度はリボースのアルデヒド型化学種の存在率に相関する例が報告されている³²⁾。したがってアデノシン中のリボース基は、遊離のリボースより安定であると考えられる。以上の考察から、この着色はリボースの分解生成物によるものであり、かつこのリボースの分解はアデノシンのグリコシド結合が加水分解した後起こったものと推定される。

3-3 酵素反応との比較

本研究で決定したATPからヒポキサンチンまでの加水分解反応速度 (酵素によらない反応なのでバックグラウンド反応とよぶ) と、酵素による同種の反応 (酵素反応) とを比較する。第1に、バックグラウンド反応においてATPがヒポキサンチンまでに加水分解される経路は、酵素反応によるATPの代謝経路と異なっている。すなわち酵素反応では、AMPはイノシン酸に分解されイノシンを経由してヒポキサンチンを生成する。したがって化学進化あるいは生物進化の過程でこの経路が獲得されたものと考えられる。

第2に、反応速度の大きさについて酵素反応と比較した。バックグラウンド反応は373 ~ 423 Kでは数分間から数日間の半減期をもつ。一方、同様の過程に相当する酵素反応による速度(k_{cat})を調査した(Figure 4)。AMPヌクレオシダーゼによってAMP中のグリコシド結合を切断してアデニンを生成する反応は($k_{cat} = 60 \text{ s}^{-1}$)³⁹⁾、アデノシンからアデニンが脱離する過程に類似している。その他には本研究で得た速度定数に相当する k_{cat} は見あたらなかった。そこで他の酵素反応の速度定数を以下の方法で推定した。一般に、酵素による反応の速度をMichaelis定数で割った値 (k_{cat}/K_m)は、酵素および反応の種類にあま

り依存しないことが知られている
40). 従って, K_m 値が既知であれば k_{cat} を推定できる. 反応式 (1) ~ (5) に対応する酵素反応の K_m 値はミオシンATPase (10^{-6} M), ADPase (3.3×10^{-3} M), 5'-nucleotidase (1.5×10^{-6} M), adenosine nucleosidase (2.4×10^{-3} M), および adenine deaminase (10^{-5} M)⁴¹⁾ である. また (k_{cat}/K_m) 値として $5 \times 10^5 \sim 5 \times 10^8 \text{ s}^{-1} \text{ M}^{-1}$ ⁴⁰⁾ を用いて k_{cat} を計算すると, 各 k_{cat} はほぼ $10^0 \sim 10^6$ の範囲におさまった (Figure 4 中点線の範囲). これらの速度定数は, 373 ~ 423 K におけるだけでなく 523 K のバックグラウンド反応より充分大きい. この結果, ATP の加水分解反応は高温では速やかに起こるが, 酵素反応と比べると格段に遅いと結論づけられる.

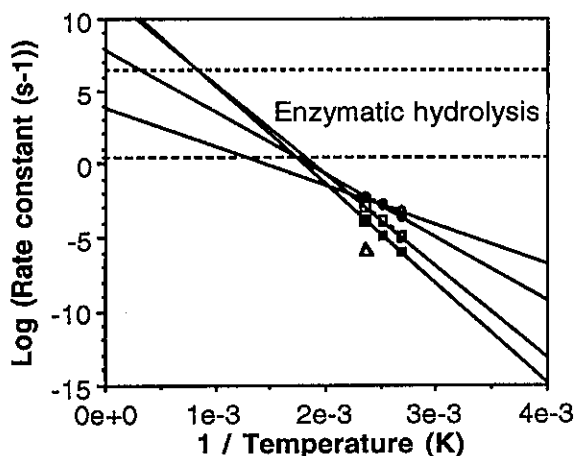


Figure 4. Comparison between the rate constants of the ATP hydrolysis shown in Figure 3 and the corresponding enzymatic hydrolysis. The rate constants at elevated temperatures were determined in this study. The rate constant for the enzymatic hydrolysis were estimated basing on ref (39).

3-4 RNAの化学進化とATPの加水分解速度との関係

ATPは原始地球上においても, RNAの原料モノマーとして用いられた可能性を持つ. 従って, その分解速度が大きければATPがモノマーとして利用されたときに障害となつたかも知れないので, RNAワールド仮説の信憑性についても考察し直さなければならない. 本研究によって, ATPの加水分解反応は523 Kでは数秒間程度の半減期を持つことが確かめられた. この速度は常温より大きいが酵素反応と比べると小さい. 一方, 原始地球環境下でATPが定常的に存在した量を考察するためには, ATPの生成速度と分解速度の両方を考慮しなければならない. すなわち, ATPの生成反応およびATPからRNAが生成する反応がそれらの分解反応より充分速ければ, ATPはRNAの原料モノマーとして利用できたものと考えられる. 従って, 本実験結果が示したATPの加水分解速度の大きさは相対的に評価されるべきであり, その絶対値を指標としてRNAワールド仮説を否定することは現段階ではできない. 今後, RNAが生成する速度を高温で調べ, 高温水中でRNAワールドが成立した可能性を検証したい.

3-5 原始地球環境において酵素反応が成立した温度の推定

以上の結果にもとづいて, 酵素反応が成立したであろう温度条件について考察する. 酵素が化学反応を促進することが可能となる条件の一つとして, 酵素反応の速度がバックグラウンド反応の速度より大きいことが必要である. すなわち原始地球環境下においても生命が出現した過程では, 酵素反応に相当する原始的な触媒反応(原始酵素反応)の速度がバックグラウンド反応の速度より大きくなる条件が必要であったはずである. したがってバックグラウンド反応あるいは酵素反応の速度を変えうる条件は, 酵素を出現させた制約

因子であったと推定される。本実験結果は、その重要な因子の一つが温度であったことを示している。すなわち、バックグラウンド反応と原始酵素反応の速度の温度依存性がわかれば、両者の速度の関係から原始酵素反応が成立した温度条件を推定できる。

本研究によってATPの加水分解反応についてバックグラウンド反応の速度の温度依存性を推定できた。一方、原始酵素反応の速度の温度依存性に関する情報はまだない。そこで第1近似として、原始酵素反応の速度が現在の酵素の速度とあまり違わなかったと仮定すると、原始酵素反応が可能であった温度の上限を推定できる。すなわち第1近似からは、酵素が成立するための条件として、高温でのバックグラウンド反応の速度と現在の酵素反応の速度が匹敵する温度より低温であることが必要であったとすることができる。その温度はおおよそ臨界点より低いとすることができる。

この議論を可能にするためには以下の3点について検討しなければならない。第1に、本研究で調べたのと同様に、生命の起原に重要であったと考えられる種々の反応（バックグラウンド反応）の温度依存性を速度論的に測定する。第2に、そのバックグラウンド反応に対応する原始酵素反応の速度を推定する方法論を確立する。第3に、酵素反応がバックグラウンド反応に対してどの程度大きければ、酵素反応として成り立つのかを推定あるいは実証する。今後この方法論を確立するためにさらに研究を進めていきたい。

4. まとめ

本研究は、RNAを構成する原料モノマーの1種であるアデノシン5'-三リン酸が、高温水中において自発的に重合する反応および加水分解する反応について373～523 Kの範囲で速度論的に調べたものである。その結果、ATPは加水分解してADP、AMP、アデノシン、アデニンおよびヒポキサンチンを逐次生成することを知った。またこの過程でオリゴアデニル酸や活性化ヌクレオチドは生成しなかった。各過程の速度定数を373～423 Kの範囲で決定し、高温ではこれらの分解反応は速やかに進行することが確かめられた。また、その速度定数の大きさは常温の酵素反応と比較して格段に小さい。また経路においても生体内でATPが代謝される経路とは異なっていた。

これらの結果は、RNAワールドが高温水中で成立した可能性を否定するものではない。また本研究によって、最初の酵素機能が出現した温度が非常に高温であった可能性が示唆された。

5. 謝辞

Günter von Kiedrovski 博士には反応速度解析プログラムSIMFITを提供していただきました。高速液体クロマトグラフィーは中原武利教授に使用させていただきました。なおこの研究の一部は文部省科学研究費補助金（奨励研究A、08750945）によって支援されました。深く謝意を表します。

6. 引用文献

- 1) Been, M. D.; Cech, T. R.; *Science* **1988**, *239*, 1412.
- 2) Guerrier-Takada, C.; Gardiner, K.; Marsh, T.; Pace, N.; Altman, S.; *Cell* **1983**, *35*, 849.
- 3) Joyce, G. F.; Schwartz, A. W.; Miller, S. L.; Orgel, L. E.; *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1987**, *84*, 4398.

- 4) Cech, T. R.; *Sci. Am.* **1986**, 235(6), 64.
- 5) Inoue, T.; Orgel, L. E.; *J. Mol. Biol.* **1982**, 162, 201.
- 6) Inoue, T.; Orgel, L. E.; *Science* **1983**, 219, 859.
- 7) Orgel, L. E.; *J. Theor. Biol.* **1986**, 123, 127.
- 8) Schwartz, A. W.; Orgel, L. E.; *J. Mol. Evol.* **1985**, 21, 299.
- 9) Schwartz, A. W.; *Origins Life. Evol. Biosphere* **1986**, 16, 44.
- 10) Sawai, H.; Kuroda, K.; Hojo, H.; *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1986**, 62, 2018.
- 11) Sawai, H.; Higa, K.; Kuroda, K.; *J. Chem. Soc., Perkin Trans* **1992**, 505.
- 12) Sawai, H.; Shibusawa, T.; Kuroda, K.; *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1990**, 63, 1776.
- 13) Sawai, H.; Sibata, T.; Ohno, M.; *Tetrahedron* **1981**, 37, 481.
- 14) Kanavarioti, A.; bernasconi, C. F.; Alberas, D. J.; Baird, E. E.; *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 8637.
- 15) Wu, T. Orgel, L. E.; *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 317.
- 16) Wu, T. Orgel, L. E.; *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 5496.
- 17) Wu, T. Orgel, L. E.; *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, 114, 7963.
- 18) Ferris, J. P.; Ertem, G.; *Science* **1992**, 257, 1387.
- 19) Ferris, J. P.; Ertem, G.; *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 12270.
- 20) Kawamura, K.; Ferris, J. P.; *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 7564.
- 21) Ertem, G.; Ferris, J. P.; *Nature* **1996**, 379, 238.
- 22) Prabahar, K. J.; Ferris, J. P.; *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 4330.
- 23) Terfort, A.; von Kiedrowski, G.; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, 31, 654.
- 24) Sievers, D.; von Kiedrowski, G.; *Nature* **1994**, 369, 221.
- 25) Ferris, J. P. Ertem, G.; *Origins Life Evol. Biosphere* **1992**, 22, 369.
- 26) Joyce, G. F.; Inoue, T.; Orgel, L. E.; *J. Mol. Biol.* **1984**, 176, 279.
- 27) Yanagawa, H.; Kojima, K.; *J. Biochem.* **1985**, 97, 1521.
- 28) Yanagawa, H.; Egami, F.; *Proc. Japan Acad.* **1978**, 54, Ser. B, 10.
- 29) Oshima, T.; *Viva Origino* **1997**, 25, 109.
- 30) Oshima, T.; *Viva Origino* **1996**, 24, 52.
- 31) White, R. H.; *Nature* **1984**, 310, 430.
- 32) Larralde, R.; Robertson, M. P.; Miller, S. L.; *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1995**, 92, 8158.
- 33) Nanninga, L. B.; *J. Phys. Chem.* **1957**, 61, 1144.
- 34) Sigel, H.; Hofstetter, Martin, R. B.; Milburn, R. M.; Scheller-Krattiger, V.; Scheller, k. H.; *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, 106, 7935.
- 35) Sigel, H.; *Inorganica Chimica Acta* **1992**, 198-200, 1.
- 36) Lohrmann, R.; *J. Mol. Evol.* **1977**, 10, 137.
- 37) Leibrock, E.; Bayer, P.; Ludemann, H. -D.; *Biophysical Chemistry* **1995**, 54, 175.
- 38) Helgeson, H. C.; *J. Phys. Chem.* **1967**, 71, 3121.
- 39) Dewolf, W. E., Jr.; Fullin, F. A.; Schramm, V. L.; *J. Biol. Chem.* **1979**, 254, 10868.
- 40) Radzicka, A.; Wolfenden, R.; *Science* **1995**, 267, 90.
- 41) 田宮信雄, 丸尾文治監修, 「酵素ハンドブック」, 朝倉書店, **1982**

前生物進化のためのフローリアクターとその設計指針

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)

要旨

原始地球上で前生物進化に連なる単量体、多量体分子の生成を可能とする場所の最有力候補の一つとしての海底熱水鉱床を模擬化することを試みる。それを実現するフローリアクターの設計指針をここに提案する。海底熱水鉱床は絶えず熱力学勾配をその周囲に及ぼすことにより、その近傍にある化学分子相互にそれらの重合を可能とするエネルギーを提供する。これを基本的な設計指針とする。それを実現するフローリアクターにおいては、高温の熱水が低温の水に向けて噴出する状況を作る。高温の噴出水と直角になる方向には、その温度差により熱力学勾配が発生する。この設計指針を検証するため、フローリアクターの一つのプロトタイプを実際に製作し、運転した。出発の単量体としてグリシンを選んだ時、このフローリアクターはグリシンの二量体、三量体の生成を可能とした。

A Design Principle of a Flow Reactor Simulating Prebiotic Evolution

Koichiro Matsuno

Department of BioEngineering
Nagaoka University of Technology
Nagaoka 940-21, Japan

ABSTRACT

We propose a design principle for constructing a flow reactor intended for simulating submarine hydrothermal vents that could have been thought to be most likely locales for continuously synthesizing monomers and polymers of prebiotic significance on the primitive earth. The design is based upon the observation that submarine hydrothermal vents could provide constant thermal gradients that could constantly drive various chemical syntheses out of reactants available in the neighborhood. The constant thermal gradient we simulate in the intended flow reactor actualizes in the radial direction perpendicular to the direction along which a hot spring is ejected into the water whose temperature is maintained much lower than that of the spring. We demonstrated that when the initial reactant is glycine, the flow reactor can synthesize di- and tr-glycine. This demonstration manifests a feasibility of the flow reactor simulating submarine hydrothermal vents as a possible candidate for chemical evolution for pre- and proto-biological significance.

1. INTRODUCTION

One of the key factors for sustaining prebiotic evolution on the primitive earth could be continuous energy supply for sustaining chemical syntheses that could

proceed there. Although cosmic rays carried with themselves an enormous amount of energy and served as an energy source for making small organic molecules, their supply could at most be sporadic. Lightning and volcanism on the primitive earth could also be intermittent. On the other hand, the sun light as a continuous energy source for continuously synthesizing organic molecules on the earth does require a complicated electron transfer mechanism that would already have been available. Unless the photosynthesis machinery is available, the sun light would either immediately be reflected towards outer space or soon reach a thermodynamic equilibrium with the black body radiation specified by the temperature of the surface of the earth.

One more candidate for continuous energy supply on the surface of the primitive earth and even of the contemporary one is through geothermal heat (Shock, 1996). Although it serves as an energy source for various thermal syntheses (Yanagawa & Kojima, 1985), geothermal heat would soon come up with a thermal equilibrium with its surroundings by losing its thermal gradients unless constrained otherwise. There is however an exception. A submarine hydrothermal vent could provide constant thermal gradient in the radial direction perpendicular to the direction along which a hot spring is ejected (Corliss et al, 1978; Edmond et al, 1982). If the linear dimension of the generated thermal gradient is greater than the linear range over which chemical syntheses of various monomers and polymers would take place, such a submarine thermal vent could provide most likely locales for synthesizing molecules of prebiotic significance (Russell et al, 1988). We shall examine a possibility of submarine hydrothermal vents serving as constant energy supplier for prebiotic evolution. For this purpose, we shall construct a flow reactor simulating a submarine hydrothermal vent.

2. SIMULATING A SUBMARINE HYDROTHERMAL VENT

The Archaean ocean was formed (Kändler, 1993) when the temperature became lower than the critical point of water, 374°C. Submarine hydrothermal vents formed thereafter could provide energy for exothermic reactions if reactants could be available in their neighborhood⁵. Since the surrounding seawater served as a heat sink, some of the reaction products, which were readily formed at a higher temperature region near a vent but could not easily be dissociated in a lower temperature due to their relatively high activation energy for dissociation, could remain rather stable when they were soon transferred into the lower temper-

ature region. They could survive there without suffering their dissociation expected in a thermal equilibrium at the high temperature at which they were initially formed. Furthermore, hydrothermal circulation of seawater around the vent could constantly convert the preceding products into possible further reactants. This observation suggests to us a likelihood of constructing in the laboratory a flow reactor simulating a submarine hydrothermal system for synthesizing monomers and polymers of prebiotic significance. Choice of initial reactants for an experimental study would depend upon which stage of prebiotic synthesis we concern ourselves with.

A principal feature of the flow reactor we constructed was that a high-temperature, high-pressure fluid is injected into a low-temperature chamber maintaining the same high pressure while the whole fluid is circulated in a closed manner in the system with a fixed turnover rate. The high-temperature, high-pressure fluid was actualized by preparing a pressurized and heated portion somewhere in a closed circuit of the fluid, whereas the low-temperature chamber was maintained by attaching to it a cooling apparatus externally. The high-temperature, high pressure fluid jet from a nozzle into the low-temperature chamber was intended to simulate a submarine hydrothermal vent. At the same time, the fluid flown out of the low-temperature chamber was first depressurized down to normal atmospheric pressure to sample a very small amount of specimen for the purpose of measurement at a given time interval and then followed by the conversion back again into the high-temperature, high-pressure fluid. Chemical reactants, such as amino acids, of a given concentration were dissolved into the circulating fluid consisting of pure water initially. Heating of a small portion of the closed circuit of the fluid was started after dissolving glycine while pressurizing that portion at the same time.

3. DESIGNING AN ACTUAL FLOW REACTOR

The flow reactor we constructed was so designed as to circulate the fluid in the unidirectional manner; from the high-temperature, high-pressure chamber through a nozzle into the low-temperature, high-pressure chamber connected further downward to a long needle pipe for depressurization down to normal atmospheric pressure for sampling the specimen, then through a pump for pressurization with the pressurized fluid back again into the high-temperature, high-pressure chamber through a pipe. A sketch depicting a major aspect of the present

design is presented in Fig. 1.

All the materials for the chambers and pipes were made of stainless steel SUS316, that is for anti-corrosion. Heating of the high-temperature, high-pressure chamber was furnished by a nichrome-wired electric heater attached to its outer surface, and the temperature was monitored by a thermocouple. The volume of that chamber was changeable between two choices, 15ml and 50 μ l, depending upon the type of the experiment intended. The pipe connecting the high-temperature, high-pressure chamber to the low-temperature, high-pressure one was 50mm long with its diameter 100 μ m. The 250mm-long low-temperature, high-pressure chamber with its diameter 20mm was immersed in a water bath of

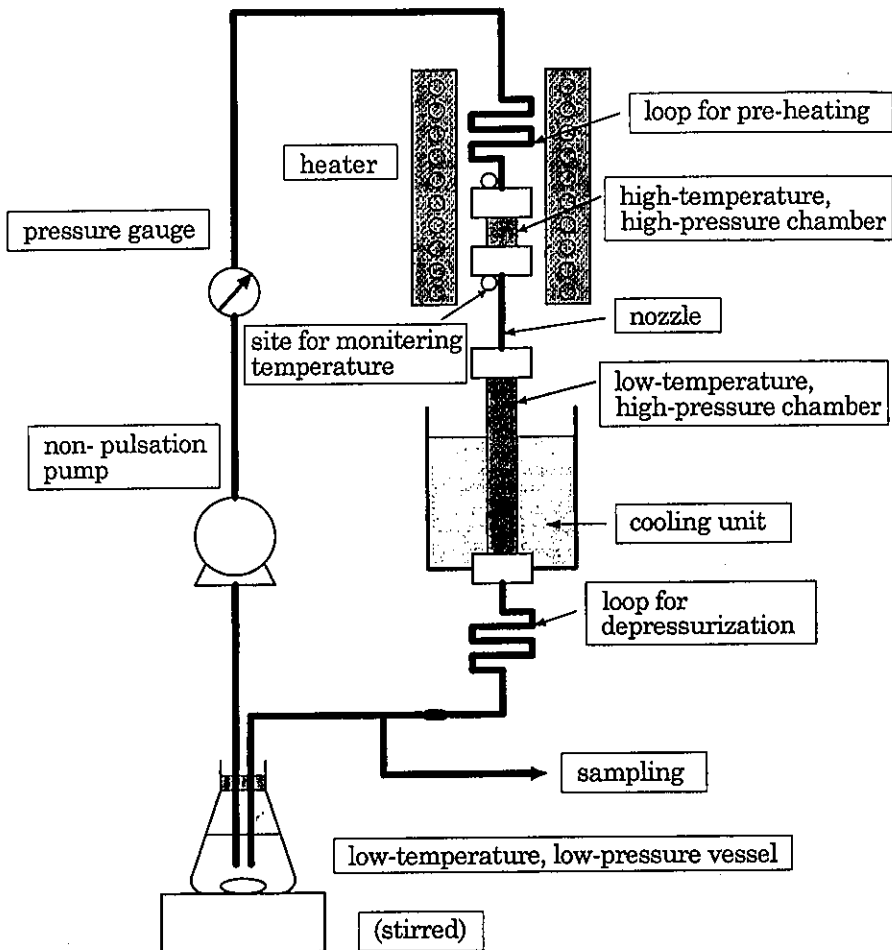


Fig. 1 A schematic representation of a flow reactor simulating a submarine hydrothermal system.

volume 10l contacting a cooling pipe carrying coolant at -20°C . The water in the bath was constantly stirred, and the cooling system was controlled so as to maintain the temperature of the outer surface of the chamber at the downstream end at 0°C . The fluid flown out of the low-temperature, high pressure chamber was connected to a 1m-long pipe of its diameter $100\mu\text{m}$ through which the fluid loses its pressure down to normal atmospheric pressure. Sampling of the specimen was accomplished there at every fixed time interval. The fluid stored in the depressurized vessel was followed by non-pulsation pump PUS-16 and pressure gauge LSG-350 (both, GL Sciences, Tokyo) through a connecting pipe of diameter $800\mu\text{m}$. The flow rate of the fluid in the closed circuit was realized somewhere between $8\sim 12\text{ml}/\text{min}$ so as to maintain the pressure of the high-temperature, high-pressure chamber at 23.0MPa .

4. EXPERIMENTATION WITH A FLOW REACTOR

We have taken amino acid, glycine, as initial reactant simply because of its supposed ubiquity on the primitive earth (Dose, 1983). As a matter of fact, amino acid molecules could have been thought abundant in the Archaean ocean on the earth supposedly conveyed through extraterrestrial means even if the primitive atmosphere was not reducing (Snyder, 1997; Whittet, 1997). In addition, although it is not an appropriate candidate for oligomerization in aqueous milieu because of its low solubility into water, our choice of glycine was done simply to examine how a flow reactor simulating a submarine hydrothermal system could work. Oligomerization of glycine was employed as a marker demonstrating the functional capability of the intended flow reactor.

We prepared 100mM L-glycine solution dissolved into pure water and maintained the total volume of the circulating fluid on the level of 500ml . Since it has been our objective to examine the basic functional capability of the flow reactor designed for prebiotic evolution, we did not add any of templates, condensing agents nor metallic ions to the solution. Even its pH value was not controlled. The pressure of the high-temperature, high-pressure chamber, whose volume was chosen out of either 15ml or $50\mu\text{l}$ depending upon a type of experiment, was set to be 23.0MPa (Mega Pascal) that is only slightly above the pressure of the critical point of water, 22.1MPa . The choice of that pressure was done to maintain the water in that chamber in liquid phase. The temperature of the high-temperature chamber was controlled so as to be at an arbitrary one set between $110^{\circ}\sim 350^{\circ}\text{C}$.

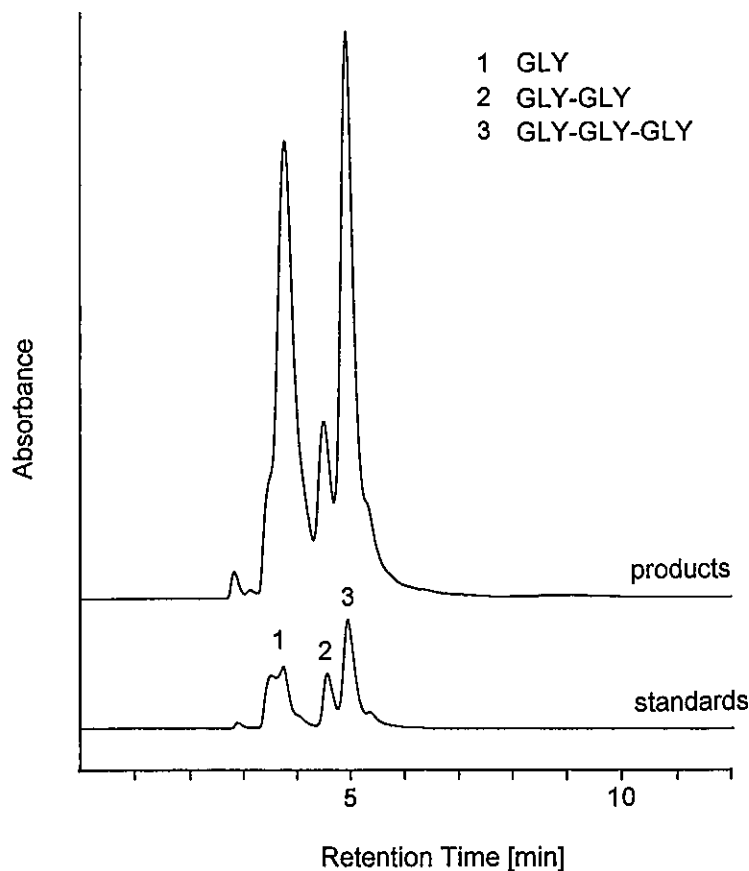


Fig. 2. A HPLC profile of the products after two hours operation, in which the profile of standard references of Gly, (Gly)₂ and (Gly)₃ are also presented. The concentration of glycine initially prepared was 100mM. The volume of the high-temperature, high-pressure chamber was chosen to be 15ml, and the temperature was set at 250°C. All samples were analyzed by a Hitachi (L-6300, L-4200 and D-2500) HPLC apparatus with the use of a Shodex Asahipak (ODP-50 5 μ m/4.6mm x 150mm) column. The mobile phase consisted of 50mM KH₂PO₄ and 7.2mM C₆H₁₃SO₃Na, and its pH was maintained at 2.5 by adjusting the amount of H₃PO₄ to be added. The flow rate of mobile phase was 0.5ml/min. Detection was done by measuring the absorbance at 195nm. L-glycine, and standard references of (Gly)₂ and (Gly)₃ were purchased from Sigma-Aldrich Fine Chemicals.

The initial build-up of the temperature up to the designated one while starting from room temperature took about 20 minutes. The diameter of the nozzle from which a jet stream of high-temperature, high-pressure fluid was injected into the low-temperature chamber with its flow rate of 8~12ml/min was 100 μ m, while the temperature of that chamber of its fluid volume 78.5ml was maintained constantly at 0°C at least on the outer surface of the chamber of its diameter of 20mm made

of stainless steel. The flow rate of the jet stream was adjusted so as to maintain the pressure of the low-temperature chamber at that fixed level of 23.0MPa. Accordingly, the turnover time of the circulating fluid was found within the range between 1.0~1.3h. A specimen of its volume of 5 μ l for measurement was sampled from the downstream flowing out of the low-temperature chamber and pouring into the depressurized vessel at every fixed time interval. The connection between the low-temperature, high pressure chamber and the depressurized vessel was accomplished by implementing a 1m-long stainless-steel pipe of its diameter of 100 μ m in between.

When the temperature of the injecting jet stream from the nozzle connected to the high-temperature, high-pressure chamber of its volume 15ml was set at 250°C, a high performance liquid chromatography (HPLC) profile of the products after two hours operation of the flow reactor is presented in Fig. 2. We have identified at least two different oligomers; dimer and trimer of glycine. Retention time of each corresponding peak was confirmed by referring to standard references of (Gly)₂ and (Gly)₃ prepared and provided independently. Estimate of the amount of each product was done by measuring the area of the corresponding HPLC peak. The linearity between the area and the amount of the corresponding product was confirmed by consulting the HPLC peak area of the standard reference of a given concentration. The result on the time course of the products is displayed in Fig. 3a, in which only the cases for di-glycine and tri-glycine are presented. When the volume of the high-temperature, high-pressure chamber was 15ml, the amounts of both dimer and trimer would reach their plateau after about one hour operation. In contrast, when the high-temperature, high-pressure chamber was replaced to a much smaller one with its volume 50 μ l, the amounts of both the products remained far short of reaching their plateau even if the same amount of time elapsed. This fact demonstrates that the oligomerization of glycine took place in the high-temperature, high pressure chamber.

A similar time course of the products for the glycine solution of 10mM, instead of 100mM, with all the other conditions remaining the same, is displayed in Fig.3b, in which the volume of the high-temperature, high-pressure chamber was chosen to be 15ml. The decrease in the amount of the initial reactant exhibited the appreciable yield of only tri-glycine with a trace amount of di-glycine.

Furthermore, when the temperature of the high-temperature, high-pressure chamber of its volume 15ml making the jet stream pouring into the low-temperature, high-pressure chamber was chosen to be 200°C with other conditions remaining the same, the result on the time course of the products is displayed in

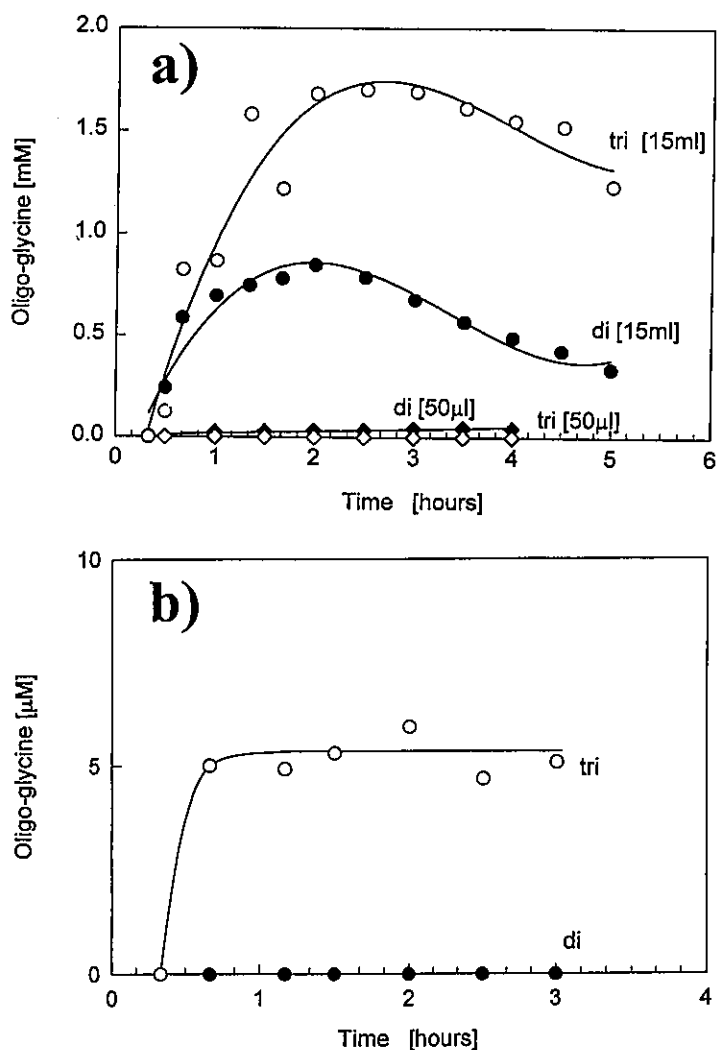


Fig. 3. Time course of the yields of di-glycine and tri-glycine. Estimate of the yield was done by consulting the area of each corresponding HPLC peak of standard reference of a given concentration. The linearity between the area and the concentration was confirmed. The temperature of the high-temperature, high-pressure chamber was set at 250°C. a is for time courses for the volumes of the high-temperature, high-pressure chamber 15ml and 50µl (shown within the parenthesis) with the initial glycine concentration 100mM, and b for the volume 15ml with the initial concentration 10mM.

Fig. 4. Although oligomerization proceeded even at such a low temperature as 200°C, di-glycine was found to be more abundant than tri-glycine compared to the case at 250°C.

The flow reactor we constructed as a simulated submarine hydrothermal sys-

tem operated as contacting two temperature regions, hot and cool, while circulating the whole fluid carrying reactants in a closed manner. Those reactants undergoing various associative reactions in the high temperature region ($\sim 250^{\circ}\text{C}$) suddenly suffered a significant temperature drop (down to $\sim 0^{\circ}\text{C}$) when they were injected into the low-temperature chamber. The sudden temperature drop would come to prevent unstable products from surviving. Those reactions yielding such unstable products, that would require for their synthesis the activation energy available only to the high temperature region but for their dissociation much less activation energy, fail in their survival in the low temperature region. Such a temperature drop serves as a selective sieve preserving only those relatively stable products having the decay time, that measures the extent of their dissociative reactions including hydrolysis, greater than the time over which they would remain in the low temperature region. The surviving products in the low temperature cham-

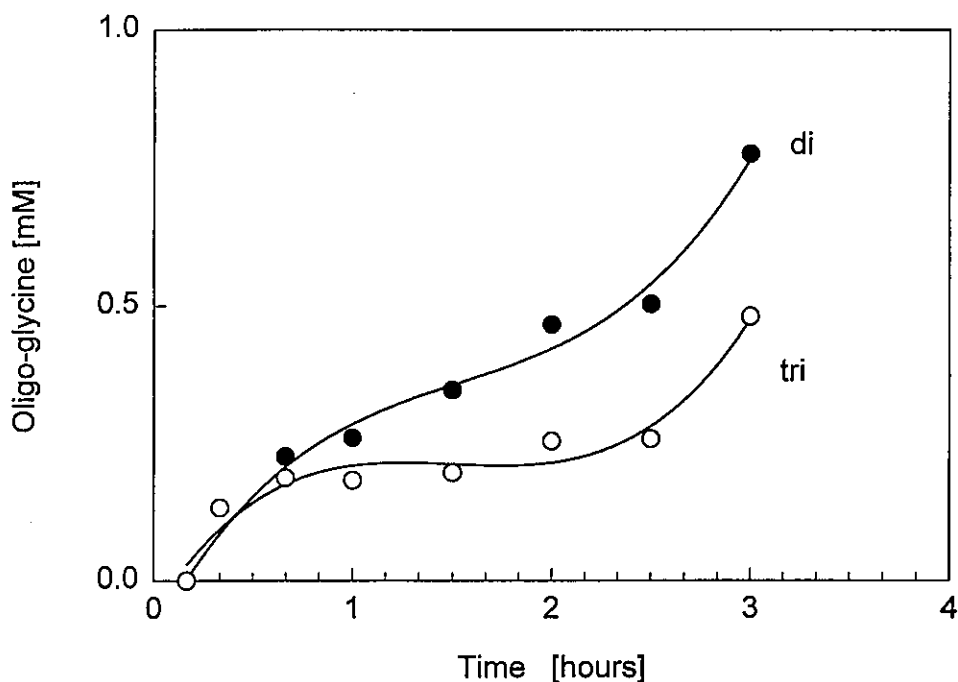


Fig. 4. Time course of the yields of di-glycine and tri-glycine. The temperature of the high-temperature, high-pressure chamber with its volume 15ml was set at 200°C . The concentration of glycine initially prepared was 100mM.

ber could again turn into further reactants when they were fed into the high-temperature chamber in a cyclical manner. This cycle of activating preceding products by means of applying heat energy, enhancing associative reactions among themselves, and quenching the products through extracting the heat energy comes to provide itself with the capacity of making variations and their selective retention (Matsuno, 1989). The present study suggests that submarine hydrothermal systems could just happen to be locales for realizing constant selective retention of those chemical products spontaneously synthesized, even in the Archaean ocean on the primitive earth.

Oligomerization and polymerization of monomers in a flow reactor simulating a submarine hydrothermal system are of course not limited to glycine. Our present choice of glycine has been done simply to demonstrate the functional capability of the flow reactor for prebiotic evolution in an analytically concise manner.

5. CONCLUDING REMARKS

Submarine hydrothermal vents on the primitive earth have been proposed as most likely locales for synthesizing various monomers and polymers of prebiotic and protobiological significance among others. A rationale for this scenario rests upon the ease with which the systems could make available the activation energy for synthesizing those monomers and polymers prebiotically while continuously preventing themselves from approaching a thermal equilibrium (Prigogine & Defay, 1954; Helgeson, 1968). In this regard, we constructed a flow reactor simulating a submarine hydrothermal system and observed formation of oligopeptides from glycine alone without recourse to any of templates, condensing agents and metallic ions. Forming oligopeptides in the presence of metallic ions (Rode & Schwendinger, 1990; Bujdak, 1995; Flegmann & Scholefied, 1978) and polypeptides even up to 55 monomers long with the aid of mineral surfaces (Ferris et al, 1996) has already been established. Our present observation of oligomer synthesis from glycine in a flow reactor serves as further enriching the repertoire of prebiotic peptide synthesis in the laboratory. Flow reactors simulating submarine hydrothermal systems may open a new vista for experimental studies on pre- and protobiological evolution. That oligomerization of glycine proceeded in such a flow reactor without recourse to any of templates, condensing agents, metallic ions and even pH-control may provide us with a new perspective towards prebiotic evolution in a much wider context.

Acknowledgments

Ei-ichi Imai was responsible for constructing the flow reactor and for performing experiments. We wish to thank Masataka Shirakashi for helpful discussion on the mechanical design of the flow reactor reported in this article. Hajime Honda and Kuniyuki Hatori participated in discussion in various phases of the present study.

REFERENCES

- Bujdak, J., Faybikova, K., Eder, A., Yongyai, Y. & Rode, B. M. Peptide chain elongation: A possible role of montmorillonite in prebiotic synthesis of protein precursors. *Origins Life Evol. Biosphere* **25**, 431-441 (1995).
- Corliss, J. B., Dymond, J., Gordon, L. I., Edmond, J. M., von Herzen, R. P., Ballard, R. D., Green, K. K., Williams, D., Bainbridge, A., Crane, K. & van Andel, T. H. Submarine thermal springs on the Galapagos rift. *Science* **203**, 1073-1083 (1979).
- Dose, K. Prebiotic polypeptides and the origin of biological information. *Naturwiss.* **70**, 378-383 (1983).
- Edmond, J. M., Von Damm, K. L., McDuff, R. E. & Measures, C. I. Chemistry of hot springs on the East Pacific rise and their effluent dispersal. *Nature* **297**, 187-191 (1982).
- Ferris, J. P., Hill Jr., A. R., Liu, R. & Orgel, L. E. Synthesis of long prebiotic oligomers on mineral surfaces. *Nature* **381**, 59-61 (1996).
- Flegmann, A. W. & Scholefield, D. Thermodynamics of peptide bond formation at clay mineral surfaces. *J. Mol. Evol.* **12**, 101-112 (1978)
- Helgeson, H. C. Evaluation of irreversible reactions in geochemical processes involving minerals and aqueous solution. I. Thermodynamic relations. *Geochim. Cosmchim. Acta* **32**, 853-877 (1968).
- Kändler, O. The early diversification of life. In: *Early Life on Earth* (Bergtson, S. ed.) Nobel Symposium **84**, Columbia University Press, New York, pp. 152-160 (1993).
- Matsuno, K. *Protobiology: Physical Basis of Biology*, CRC Press, Boca Raton Florida (1989).
- Prigogine, I. & Defay, R. *Chemical Thermodynamics*, Jarrold & Sons, London (1954).
- Rode, B. M. & Schwendinger, G. Cooper-catalyzed amino acid condensation in

- water - a simple possible way of prebiotic peptide formation. *Origins Life Evol. Biosphere* **20**, 401-410 (1990).
- Russell, M. J., Hall, A. J. Cairns-Smith, A. G. & Braterman, P.S. Submarine hot springs and the origin of life. *Nature* **336**, 117 (1988).
- Shock, E. L. Hydrothermal systems as environments for the emergence of life. *Ciba Foundation Symposium* **202**, 40-60 (1996).
- Snyder, L. The search for interstellar glycine. *Origins Life Evol. Biosphere* **27**, 115-133 (1997).
- Whittet, D. C. B. Is extraterrestrial organic matter relevant to the origin of life on earth? *Origin Life Evol. Biosphere* **27**, 249-262 (1997).
- Yanagawa, H. & Kojima, K. Thermophilic microspheres of peptide-like polymers and silicates at 250°C. *J. Biochem.* **97**, 1521-1524 (1985).

境界の起源とその理論化

郡司ペギオ幸夫*、伊藤源**

*神戸大学理学部地球惑星科学教室

**神戸大学工学部大学院

(〒654 神戸市灘区六甲台町1-1)

要旨

通常、生物を形式的に構成する際、オペランドとオペレータは分離独立に扱われる。しかし両者を一致させれば問題が解決するわけでもない。むしろ生物系は、両者の分離独立から両者の一致を記号として導出し、その記号を更にオペランドかオペレータどちらか一方として用いることで新たな階層を構成していくようにも思える。オペレーショナルな自らの振る舞いに言及してこれを記号化する、更に両者の文節が現われ、これが際限なく続く。しかしこの過程自身を無矛盾に構成することは本来出来ない。逆に、極限において現われる、オペランドとオペレータの一致した構造を、無矛盾に使う様相を構成してしまうことで、我々がアプリアリだと信じるような論理は結果として構成される。このように、外部を一括して扱う否定操作の起源を考えることで、我々は境界概念の起源を考える。それは、創発的境界の起源を考えることに他ならない。

TOWARD A THEORY OF THE ORIGIN OF BOUNDARY

Yukio-Pegio Gunji^{*}, ^{**} and Genta Ito^{**}

^{*} Department of Earth and Planetary Sciences,
Faculty of Science, Kobe University

^{**} Graduate School of Science and Technology,
Kobe University, Nada Kobe 657 JAPAN

ABSTRACT

The notion of internal measurement can be expressed as the alternation of reducing the limit as the frontier of the logic served by an external observer sitting inside and addressing the limit as the boundary of the logic served by an external observer outside. The origin of symmetry such as the operation of constructing the boundary between the inside and outside or that of Negation can be expressed as the reduction of the lattice with the operation of Negation derived from the degeneracy of internal measurement process. We here formalize the process of degeneracy as the operation addressing the perpetual alternating process of degeneracy of the frontier and that of the boundary. This operation can be expressed as the interface between the limit as infinity and the symbol can be addressed finitely. As a result we obtain the orthocomplemented lattice that is relevant to the logic with Negation. It can suggest the origin of boundary in material processes.

1. INTRODUCTION

If one focuses on the process of evolution or the faculty of modification adaptable to arbitrary environments, one can take into consideration the material's own capacity of detection and measurement ^[1-4]. It leads to the notion of decision making towards outside that cannot be manifested till making decision is not done yet, and to the notion of inconsistent process or incomplete identification of an object without the notion of symmetry. Rather, the symmetrical structure can be considered as something rest upon the degeneracy derived from inconsistent process^[5]. It is, for example, concordant with Rosen's idea that asymmetry is more a basic concept than symmetry^[6].

In this perspective, the origin of symmetry can be addressed as something derived from the process carrying the detection and measurement. Especially the origin of quantum theory and/or orthogonality of time and space can be understood as something derived from inconsistent measurement process. It is identical to the problem of the origin of global synchronous time in materialistic process carrying internal measurement ^[2]. The origin of complemented orthomodular lattice relevant to quantum logic is approached by many researchers, however they are based on a consistent broad lattice and they attempt to find the constraint under which the complemented orthomodular lattice is obtained by the reduction from a general lattice ^[7, 8].

In this paper, first we manifest the aspect of internal measurement consisting of the perpetual choices by the altering process of inducing the limit from the inside and addressing it from the outside, and suggest that it can give rise to the degeneracy of symmetric structure. Second, we express the process of degeneracy by formalizing the operation of addressing the limit from the outside, while it cannot be expressed in the perspective of internal agent proceeding internal choice. We here focus on the origin of orthocomplemented lattice or the origin of Negation, and suggest the origin of boundary in biological and material universe.

2. MEASUREMENT: PERPETUAL CHANGE OF DISTINCTION AND INDISTINCTION

2-1. Choice without foundation: all true or all nonsense

Observers can pragmatically designate the form of interaction of a material and can say that it is the property of a material. Therefore, the property of a material can be a rule that the material follows. Imagine some biochemical substrate whose set of possible states is expressed as A . The property of this substrate is expressed as a map $f: A \rightarrow A$, while all possible properties constitutes a set from A to A and is designated by A^A . Observers observe at most finite subset of $R \subseteq A \times A$, $S \subseteq R$, while they can ideally designate the relation $R = \{(x, y) \mid y = f(x), (x, y) \in A \times A\}$. Therefore, they cannot uniquely determine a map f satisfying S .

For example, let $A = \{0, 1\}$ and $S = \{(0, 0)\}$. There are two possible maps $f: A \rightarrow A$ satisfying $0 = f(0)$ in the form of S , namely f_0 with $f_0(0) = f_0(1) = 0$ and f_1 with $f_1(0) = 0$ and $f_1(1) = 1$. Because observers do not observe the value of $f(0)$, both f_0 and f_1 can be proved true and can be a candidate for the rule that the object follows. Despite this situation observers pragmatically choose either f_0 or f_1 as the property of given substrate. One can consider that one chooses either f_0 or f_1 without foundation. We call this kind of notion of the choice that is the choice from all true rules, the external choice.

However, our ubiquitous choice or measurement is much more severe. In the perspective that both f_0 and f_1 satisfy a given condition S , both f_0 and f_1 are true and the choice of f_0 and f_1 is realized from all possible true rules. Measurement always requires the choice of a rule that a substrate follows, and then observers have to determine a unique rule in the definition of rule-following^[9]. According to the definition of rule-following, both f_0 and f_1 do not implies rules that a substrate follows, while they are rules free from registered data. Because they do not satisfy the condition that a rule satisfying S has to be uniquely determined, both of them are not true. In other words, the notion of a rule in the context of rule-following is no longer well-defined. The requirement of measurement replaced with the question "what is a rule that a substrate follows?" is ill-defined, and the measurement is always completed and finished despite this ill-defined question. Whether one chooses

f_0 or f_1 , the choice is nonsense. However the choice is called adequate as far as the chosen rule is performative and useful a posterior. This is a measurement process that ubiquitously proceeds. We call the notion of this kind of choice that is the choice from all nonsense rules, the internal choice.

The agency of internal choice can derive the notion of evolution and the origin of life. In other words, the agency of internal choice can have the capacity of detecting its environment (i.e., attempting to enclose its own space) and can degenerate adaptive materialized form as a result (i.e., form to be addressed from the outside). It requires manifestation of this ambiguous aspect of internal choice as the process enhancing evolution.

2-2. Formal expression of measurement

We first introduce the following natural assumption; if one determines a rule that a substrate follows as a map $f: A \rightarrow A$, one can constitute a map $g: A \times A \rightarrow A$ such that $f(a) = g(a, a)$ and can designate $\phi: A \rightarrow A^A$ such that for any $(a, b) \in A \times A$, $g(a, b) = \phi(a)(b)$. Therefore, if a rule that a substrate follows is uniquely determined, ϕ is also uniquely determined. We call $\phi(a)$ for any $a \in A$ the meaning of a .

The process of measurement mentioned in the above section is initiated from the skepticism of the choice of unique $f: A \rightarrow A$. It is replaced with the skepticism of unique choice of $\phi: A \rightarrow A^A$. This skepticism is expressed as the question; why can one determine $\phi(a) \in A^A$ for any $a \in A$? If this question is considered in the notion of external choice, the choice of $f: A \rightarrow A$ that has no foundation in its own right provides the context of the choice of $\phi: A \rightarrow A^A$. Then, as far as one satisfies this context, this question is not worth while considering. If this question is considered in the notion of internal choice, one has to consider ill-definedness of this question and it gives rise to the question regarding the choice of the domain of ϕ, A . One has to consider $B \rightarrow B^B$ where $B^B = A$, namely regarding the meaning of meaning.

The question of the choice of the domain of ϕ can give rise to infinite sequence of $A_1 \rightarrow A_2 \rightarrow \dots \rightarrow A_n \rightarrow A_{n+1} \rightarrow \dots$ where $A_{n+1} = A_n^{A_n}$. The operation from A_n to A_{n+1} for any n is the same functor F with $F(A_n) = A_n^{A_n}$, and then we obtain $F(\lim A_n) \cong \lim A_n$ where A_1 is the initial or the least element in terms of the relation \rightarrow . This expression of $F(X) \cong X$ can be a formal expression of the question

regarding internal choice that requires the inference of an operator from an operand. By the definition of F , $F(X)$ implies a set of operator if X implies a set of operand. Hereafter, $F(X) \cong X$ might be a paradox because it looks as if only an empty satisfies this equation. It implies that neither X of operands nor X of operators can be a solution of $F(X) \cong X$. Then it formally realizes the ill-definedness of the question.

On the contrary, if a solution of $F(X) \cong X$ is obtained as a non-empty set Y such that $F(Y) \cong Y$, Y might be used as an answer of the question when Y is used as an operator. However, this kind of answer is relevant to the notion of the skeptic solution against skepticism^[9]. By the definition Y with $F(Y) \cong Y$ can be proved both operand and operator on one hand, and Y has to be used as an operator since it is used as an answer against the skeptic question on the other hand. Operand and operator cannot be distinguished from each other in the form of $F(Y) \cong Y$ and they are distinguished if Y is used as an operator, and that entails to a paradox. However, this situation can manifest the notion of internal choice; anything chosen not yet can be nonsense, while a chosen thing can be adequate as a result of choice.

We call an observer with the basis upon Cartesian cut an external observer, whether he sits inside or outside of an object. An external observer can place his own measurement process outside of the universe he observes, and that measurement process is not manifested in any description by an external observer. It is clear that those who distinguish operand from operator are external observers. The ambiguity of distinction and indistinction between operand and operator rests upon the basis of external observation. The one external observer sitting inside of an object attempts to enclose the universe that he observes, and to designate the fundamental basis of his observation. It can lead to the notion of limit such that $F(Y) \cong Y$. He finally has to accept the universe in which operand cannot be distinguished from operator, while this notion of the property that is proved both operand and operator is addressed with the status of object in the external perspective. It inevitably allows the next other external observer sitting outside of an object, and he can access the closed universe that the external observer inside derives, as an object. So far as it is, the external observer outside legitimately evokes the distinction of operand and operator.

A paradox resulting from the notion of thinking myself illustrates this kind of conflict between an external observer inside and outside, because thinking "I" is not

an external but an internal observer acting internal choice. Separate internal observer consisting of an external observer inside reducing $F(Y) \cong Y$ and an external observer outside addressing $F(Y) \cong Y$ from the outside can be used as an expression of the agency of internal choice.

The next question arises whether we can intervene the conflict between external observers inside and outside. In the context discussed above, this question is replaced by the question whether the operation addressing $F(Y) \cong Y$ can be consistently formalized in the posit of $\{A_1, A_2, \dots, A_n, A_{n+1}, \dots\}$. Scott ^[10] considering about infinite chain of $A_1 \subseteq A_2 \subseteq \dots \subseteq A_n \subseteq A_{n+1} \subseteq \dots \subseteq Y$, defines the relation $A_n \subseteq A_{n+1}$ such that $\psi_n(\phi_n(a)) = a$ for $a \in A_n$ and $\phi_n(\psi_n(f)) \leq f$ for $f \in A_{n+1}$ where $\phi_n: A_n \rightarrow A_{n+1}$ and $\psi_n: A_{n+1} \rightarrow A_n$ are defined to satisfy this condition. Finally he defines $\phi_{n\infty}: A_n \rightarrow Y$ and $\psi_{n\infty}: Y \rightarrow A^n$ to satisfy $A_n \subseteq Y$. Hereafter it looks as if the operation addressing Y was expressed as $\psi_{n\infty}$ because it brings us from the universe of Y in which operand cannot be separated from operator to the universe of A_n in which operand and operator can be separated in the form of A_n and A_{n+1} . The operation addressing $F(Y) \cong Y$ must be addressed outside of the infinite chain, however, this operation $\psi_{n\infty}$ is defined inside and satisfies $\phi_n = \psi_{n\infty}(\phi_{n\infty})$. The initial skepticism is regarding the fundamental basis of ϕ_n , and gives rise to $F(Y) \cong Y$. It implies that the choice of an operation from A_n to A_{n+1} is possible although there is no positive answer for this skepticism and no fundamental basis. On the contrary, $\psi_{n\infty}$ such that $\phi_n = \psi_{n\infty}(\phi_{n\infty})$ provides positive fundamental basis.

We have to consider the operation addressing $F(Y) \cong Y$ not inside but outside. Using $F(Y) \cong Y$ either as an operator or an operand is different from using ϕ_n founded by $\psi_{n\infty}(\phi_{n\infty})$ via Y . We already propose the model in which $F(Y) \cong Y$ is used as a dynamical system ^[11-13]. Assume the transition rule $f: A \rightarrow A$ expressed as $f(a^{t-1}) = a^t$ and then $\phi: A \rightarrow A^A$. Initiated from the skepticism of the fundamental basis of the choice of ϕ at the t -th step for a given (a^{t-1}, a^t) , we obtain the formal expression of this skepticism of $A \cong A^A$, and $R \subseteq A \times A$ such that $R \cong 2^R$ ^[14]. This R represents nowhere differentiable attractor and shows self-similar pattern in Poincare section ^[15, 16]. After that $R(a^t) = a^{t+1}$ is obtained and at the $(t+1)$ th step skepticism is initiated again for (a^t, a^{t+1}) .

In this scheme, at each step there is alternating changes of indistinction and distinction between operand and operator. Process perpetually proceeds comprising

ambiguity of distinction and indistinction. However, due to this ambiguity, process have the ability of degeneracy of the form comprising distinction, and that comprising indistinction. The former degeneracy can let us take the notion of Cartesian cut, and the latter one can let us take the notion of self-similar universe. These processes of degeneracy can be expressed as external description of internal choice. In the process of internal choice distinction or indistinction is the other side of the same coin. However, this ambiguity cannot comprise consistent form, and then an external observer has to prepare different logical status for distinction and indistinction in order to intervene this logical conflict. Adequate introduction of logical intervention can encompass the origin of Cartesian cut or the origin of distinction in the external perspective, while it is just one side of the process of internal choice.

3. ORIGIN OF BOUNDARY

3-1 Frontier and boundary

In order to manifest how to talk about the origin of distinction, we first introduce the notion of frontier and boundary. We express frontier and boundary, terms as the following; (1) the frontier is constituted as the limit of infinite procedure, and then the other side of the frontier cannot be defined. For example, given an initial value x and an initial point (x_0, y_0) in two dimensional space, and $f^n(x) = \Sigma(x/2^k)$ with $k=1, \dots, n$, a circle can be constructed with $n \rightarrow \infty$ where its center is the initial point and the radii is $f^\infty(x)$. We call any point at which the distance from the center is $f^\infty(x)$ the frontier. (2) the boundary is defined as the border between domains. If the one side is called inside, the other side is called outside. In other words, given the inside, one can uniquely designate its outside, and that can constitute complementarily.

Since frontier has no outside, it has to be constructed only from the inside. On the contrary, boundary always appears based on the antagonistic outside. It looks that the appearance of boundary is destined to be passive while the appearance of frontier is active. However, these two features are too idealistic and are far from materialistic image, because any material behaves at a local site without long range

propagating information and simultaneously interacts with its environment. Local behavior evokes closed active behavior relevant to the notion of frontier, and interaction evokes the notion of boundary. However, an internal observer sitting at a material has to detect or observe outside open, and it implies that an internal observer cannot take an extensive view of outside but attempts to enclose outside.

Clearly the notion of frontier and boundary can be compared to the degeneracy of limit like $F(Y) \cong Y$ and the limit that can be addressed from outside, respectively. The process of internal choice cannot be proved either of them, while it can be proved both of them by an external observer. As mentioned in the section 2-2, this ambiguity can enhance the capacity of the degeneracy of either frontier or boundary. From this analogy, the process of internal choice is perpetual process of alternating degeneracy of frontier and boundary. The previous frontier is addressed as the boundary and vice versa. That is why we can encompass the origin of boundary by expressing the operation of addressing the limit (frontier, $F(Y) \cong Y$) from outside.

Boundary can be recognized from the one side at which an observer sits. He cannot see the other side of the boundary, however he can recognize it not as frontier but as boundary as far as he assumes the other side or the outside. In this sense the outside of the site that he recognizes can be grasped in a bulk. Hereafter, when the outside of A is expressed as $F(A)$, $A \cup F(A) = U$ and $A \cap F(A) = \phi$ where U is a whole universe and ϕ is empty. Therefore, the origin of the boundary can be depicted by the origin of Negation. In the next section, addressing the limit as $F(Y) \cong Y$ from outside is expressed as the particular operation and we discuss that it can give rise to the logic comprising the operation of Negation.

3-2. The boundary (Negation) derived through a fixed point

Given the infinite sequence of $A_1 \rightarrow A_2 \rightarrow \dots \rightarrow A_n \rightarrow A_{n+1} \rightarrow \dots \rightarrow A_\infty$ with $A_{n+1} = C(A_n, A_n)$ discussed in the section 2-2, where $\phi_n: A_n \rightarrow A_{n+1}$ and $\psi_n: A_{n+1} \rightarrow A_n$ such that for any $a \in A_n$, $\psi_n(\phi_n(a)) = a$ and for any $f \in A_{n+1}$ $\phi_n(\psi_n(f)) \leq f$, one can define partial order of $A_n \subseteq A_{n+1}$. When Scott^[10] defines A_n as a complete partial order, $f: A_n \rightarrow A_n$ as a continuous function and $C(A_n, A_n) = \{f: A_n \rightarrow A_n\}$, he obtains $A_\infty \cong C(A_\infty, A_\infty)$. In the reflexive domain, A_∞ , one cannot distinguish operand

from operator. However we focus on the mode of which one can use A_∞ either as an operator or as an operand. This mode can be expressed as construction of a virtual super-observer who can access A_∞ as $G(A_\infty)$ such that $Y \subseteq C(Y, Y)$ with $Y = G(A_\infty)$. Then, the construction of this super-observer is replaced by the construction of G with $p : Y \rightarrow C(Y, Y)$ and $q : C(Y, Y) \rightarrow Y$ comprising the partial order relation, \subseteq .

A complete partial order set is defined as a posit with the least element (bottom) and as to be closed with respect to the greatest lower bound (glb), $\cap S$, of any subset S . In other words, bottom is the position of an observer who can designate glb for any subset. Because a super-observer can designate the bottom of A_∞ itself, Y has another bottom except for the bottom of A_∞ . We name this new bottom \perp . Therefore Y is defined as a complete posit such that $\cap Y^+ \neq \perp$ with $Y^+ = Y - \{\perp\} = A_\infty$.

We define $p : Y \rightarrow C(Y, Y)$ by $p(\xi) = f_\xi \in C(Y, Y)$ for any $\xi \in Y$, where $f_\xi(\perp) = \perp$ and $f_\xi(\eta) = \xi$ for any $\eta \in Y$ with $\eta \neq \perp$. Also, $q : C(Y, Y) \rightarrow Y$ is defined by $q(g) = g(\cap Y^+)$ for any $g \in C(Y, Y)$. Therefore we obtain that $q(p(\xi)) = q(f_\xi) = f_\xi(\cap Y^+) = \xi$ and $p(q(g)) = p(g(\cap Y^+)) = f_{g(\cap Y^+)}$. Because g is a monotonous function, $f_{g(\cap Y^+)}(\eta) = g(\cap Y^+) \leq g(\eta)$ for any $\eta \in Y$ with $\eta \neq \perp$ and $f_{g(\cap Y^+)}(\perp) = \perp \leq g(\perp)$. Finally for any $\lambda \in Y$ $f_{g(\cap Y^+)}(\lambda) \leq g(\lambda)$ and then $p(q(g)) = f_{g(\cap Y^+)} \leq g$. Then, we can define $Y \subseteq C(Y, Y)$ by a pair of (p, q) . Both p and q can be proved continuous function. This Y is a complete posit of a virtual super-observer.

Our interest is the logic reduced from Y . Now we can define a set $M(X)$ for any non-empty subset $X \subseteq Y$ by

$$M(X) = \{\xi \mid \xi \in Y, p(\xi)(\eta) = \perp \quad \forall \eta \in X\}.$$

Also, we define $L(Y) = \{X \mid X = M(M(X)), X \subseteq Y\}$. In this $L(X)$, we obtain

$$\begin{aligned} M(M(X)) &= X, \\ X \cap M(X) &= \phi, X \cap M(X) = L(Y), \\ M(X \cap X') &= M(X) \cup M(X'), M(X \cup X') = M(X) \cap M(X'). \end{aligned}$$

Therefore, the operation of M satisfies the definition of Negation and $L(Y)$ is a complete ortho-complemented lattice ^[17].

Finally we construct the operation of addressing the limit of A_∞ in the form of Y with $p : Y \rightarrow C(Y, Y)$ and $q : C(Y, Y) \rightarrow Y$, and show that it can derive the lattice in which the operation of Negation can be defined. Needless to say, this lattice is a model of the logic suitable for an external observer outside who can address the frontier. As mentioned in the section 2-2 (or 3-1), the process of internal choice perpetually proceeds alternately changing distinction (boundary) to indistinction (frontier) and vice versa. This aspect shows the faculty of the process to degenerate temporary boundary and frontier, while this process of internal choice itself is destined to be inconsistent in its own right. Despite this inconsistency in principle, we can show the origin of boundary if we can formalize an external observer outside addressing the frontier.

There can be two different approaches to address the inconsistent process of internal choice. If one focuses upon the external observer outside, one can define the lattice of the external observer inside, $(S_I, \cup_I, \cap_I, F_I)$, leading to a fixed point (i.e., $F_I(X_I^\infty) \cong X_I^\infty, X_I^\infty \in S_I$) in the limit and can construct the lattice of the external observer outside, $(S_O, \cup_O, \cap_O, F_O)$, in which $G(X_I^\infty) = X_O^1, F_O(X_O^1) = X_O^2$ and this operation F_O can construct new partial order relation of \subseteq_O as $X_O^1 \subseteq_O X_O^2$, while it does not reduce a fixed point. In this section we discuss this kind of approach and show that F_O can constitute the lattice with Negation. We call this approach "Distinction outside".

The other one approach exchanges the role of the external observer inside with that of outside. First one can define the lattice of external observer inside similarly, while the infinite chain of $F_I(X_I^n) \cong X_I^{n+1}$ cannot derive a fixed point. Second, one can define the lattice of the external observer outside as well as the first approach, in which $G(X_I^n) = X_O^n$ and for any n , a fixed point $F_O(X_O^n) = X_O^n$ holds. As well as the first approach, when we constitute sublattice of the lattice of the external observer outside, and can estimate its structure. We call this approach "Distinction inside". It is expected that the logic derived from Distinction outside is different from that derived from Distinction inside, and that there might be logical complementarily such as the relationship between quantum and intuitive logic.

Our proposing model of Distinction outside is very trivial, however the origin

of complemented orthomodular lattice might be proved in a similar manner. If so, we can talk about the origin of orthogonality of time and space. Our model is based on the inconsistent process of internal choice proceeding with mixing up distinction and indistinction between operand and operator. There is no logical distinction and symmetrical structure. If an observer attempts to formalize this process consistently, he has to introduce the difference of level; at the one level distinction holds and at the other level it does not hold. As a result, he obtains logical structure exhibiting the beauty of symmetry. Degeneracy of Negation is one of this topic, where A and $\neg A$ constitutes symmetrical structure.

Of course, we do not stress only cognitive process between phenomena and observers. Phenomena cannot be phenomena till they are not observed ^[18]. The notion of internal choice or internal measurement is based upon this kind of framework ^[2], and then any material cannot be recognized without our observation and measurement. Therefore material that we call cannot be separated from measurement, detection, and as a result we observers can find that any material has its own capacity of detecting or measuring its outside. This kind of faculty carried by the agency called material can give rise to the internal choice and the degeneracy of order, symmetrical and logical structure. However, as discussed in this paper, the process of internal choice is destined to be logically inconsistent and then we cannot directly approach the degeneracy of symmetry. Our proposing two approaches of Distinction inside and Distinction outside are detour to approach the origin of order, while the origin of order can be realized inconsistently in natural materialistic systems. This detour is understood as the measurement device toward the origin of order.

Finally we illustrate that the inconsistent process of internal choice can degenerate two kinds of order that can be proved by Distinction inside and Distinction outside in the biological context. Schooling and territorial behaviors of fishes are generally considered as resting upon different genetic nature of fishes, and they are independently separated to one another ^[19]. Some species can exhibit schooling behaviors and some one can exhibit territorial behaviors, while the feature mixing them up can be observed even in a single species ^[20]. It looks as if schooling rests upon the interaction of affinity on one hand and territorial behavior rests upon the repulsion force on the other hand. Many territorial fishes can exhibit schooling at

early stage of ontology, while it is explained that affinity and repulsion are independently separated and repulsion is hidden at early stage, and that repulsion is triggered by the competition of resources and it gives rise to territorial behavior.

Affinity and repulsion are ambiguous nature of the process of internal choice. These characters are metaphorically analogous to the notion of frontier and boundary. If an agent carrying the capacity of detection doubts the distinction between itself and others, it can give rise to the frontier that can embody the notion of affinity. Also, because this affinity can be addressed outside, distinction between an individual and its others can reappear, and that can embody repulsion force. Therefore, if the nature of affinity or frontier is degenerated as if it was stable, then individuals can exhibit schooling behaviors. On the contrary, if the nature of boundary is degenerated, then an individual can exhibit territorial behaviors. Ambiguity of schooling and territorial behaviors can rest upon the inconsistent process of internal choice.

In this framework, the operation of Distinction outside can derive the logic of territorial behaviors because it can correspond to the notion of boundary. On the contrary the operation of Distinction inside can derive the logic of schooling behaviors because it can correspond the notion of unity. In this framework, we can understand that the territorial behaviors and schooling behaviors that sounds antagonistic concept to one another can be understood as the notion of degeneracy of inconsistent process of the internal choice.

4. CONCLUSION

If one focuses on the evolution of materials, one has to find the material's own faculty of detection and/or measurement. It sounds as if one invented vitalistic power in material, however, finding the capacity of detection carried in material is nothing but taking into consideration observer's own measuring process toward material. Skepticism on complete identification of material can give rise to the notion of alternation of previous identification, and can lead to the notion of evolution.

Our cognitive process cannot be independently separated from the process of

material in its own right. That is why we call the materialistic process proto-cognition^[4] or internal measurement. Therefore, by the analogy between our own detection and the material's own capacity of detection, we can investigate various kinds of degeneracy of measurement apparatus, tools, and symbols. Elizur suggested that degeneracy of measuring instrument is the origin of symmetry because the measuring instrument's structure must be symmetric in relation to all irrelevant variables^[21].

Our own measuring process itself has to be manifested so as to investigate the aspect of the origin beyond metaphorical analogy. In modern biological context, detection and measurement in the process of natural selection or learning is destined to be expressed as the estimation in which any measured object is possibly measured before the interaction between a measured object and measuring agency. On the contrary we have to manifest the detection in which any estimation is impossible before detection. It can give rise to the notion of choice without objective foundation.

In this paper to evoke the mode of the choice of a rule without foundation, we distinguish the choice from all true rules from the choice from all nonsense rules. The latter form gives rise to the notion of perpetual alternation of distinction and indistinction between an operand and an operator, and is called the process of internal choice. This process of the internal choice has the faculty to degenerate the symmetric order, especially the frontier or the boundary, while the process of degeneracy can be expressed till the operation of addressing the mode of indistinction is formalized from outside. We introduce two kinds of the operation of addressing the limit, called Distinction inside and Distinction outside and it leads to the consistent form by introducing the different levels; at the one level indistinction holds and at the other level distinction holds. Especially we constitute the operation of addressing the limit that can derive the lattice in which the operation of Negation can be defined, and that it suggests the origin of the boundary. It can provide the new perspective in which we can talk about the origin of symmetrical order based upon inconsistent process.

REFERENCES

1. Matsuno, K. (1989) *Protobiology: Physical Basis of Biology*, CRC Press, Boca Raton, MI.
2. Matsuno, K. (1997) The role of asynchronous time in the origin and evolution of life, *J. BioSciences* (to appear).
3. Gunji, Y-P. (1994) Autonomous life as the proof of incompleteness and Lawverer's theorem of fixed point, *Appl. Math. Comput.* **61**, 231-267.
4. Elitzur, A.C. (1994) Let there be life: Thermodynamic reflections on biogenesis and evolution, *J. Theor. Biol.* **168**, 429-459.
5. Gunji, Y-P., Migita, M. & Toyoda, S. (1997) From state- to measurement-oriented theory: Degeneracy of a proper noun, *Rev. Biologia* (submitted).
6. Rosen, J. (1995) *Symmetry in Science: An introduction to the general theory*, Springer, New York.
7. Zapartin, R.R. (1994) Quantum logic without negation, *Helv. Phys. Acta* **67**, 188-199.
8. Svozil, K. (1994) Extrinsic-intrinsic concept and complementarity, In: *Inside Versus Outside* (H.Atomanspacher & G.J.Dalenoort, eds.), Springer, Berlin.
9. Kripke, S. (1982) *Wittgenstein, on Rules and Private Language*, Basil (Blackwell), New York.
10. Scott, D. (1971) *The lattice of flow diagrams, Lecture Notes in Mathematics* 188, Springer, New York.
11. Gunji, Y-P., Toyoda, S. & Migita, M. (1996) Tree and loop as moments for measurement, *BioSyst.* **38**, 127-133.
12. Gunji, Y-P. & Toyoda, S. (1997) Dynamically changing interface as a model of measurement in complex systems, *Physica D* **101**, 27- 54.
13. Gunji, Y-P. & Kusunoki, Y. (1997) A model of incomplete identification illustrating schooling behavior, *Chaos, Solitons & Fractals* (in press).
14. Gunji, Y-P. Ito, K. & Kusunoki, Y. (1997) Formal model of internal measurement: alternate changing between recursive definition and domain equation, *Physica D* (in press).
15. Rossler, O.E. (1995) Nowhere differentiable attractors, *Int. J. Intel. Syst.* **10**, 15-23.

16. Tsuda, I. (1997) On the complexity and logic-dynamics in brain. In: *Complexity and Diversity* (K. Kudo, O. Yamakawa & Y. Tamagawa eds.), Springer, Tokyo.
17. Maeda, S. (1980) *Lattice Theory and Quantum Logic*, Maki-Shoten Ltd. Co., Tokyo.
18. Wheeler, J.A. (1983) Law without law, In: *Quantum Theory and Measurement* (Wheeler, J.A. & Zurek, W.H. eds.), Princeton Univ. Press, New York.
19. Caron, J. & Beaugrand, J.P. (1988) Social and spatial structure in block chars (*Salvelinus fontinalis*) under competition for food and shelter/shade, *Behavioral Processes* **16**, 173-191.
20. Clifton, K.E. (1989) Territory sharing by the Caribbean striped parrotfish *Scarus iserti*: pattern of resource abundance, group size and behaviour, *Anim. Behav.* **37**, 90-103.
21. Elitzur, A.C. (1997) Constancy, uniformity and symmetry of living systems: the computational functions of morphological invariance, *BioSyst.* **43**, 41-53.

INFORMATION THEORETIC APPROACH FOR THE ANALYSIS OF GENOME SEQUENCES

Masanori Ohya

Department of Information Sciences, Science University of Tokyo,
Noda City, Chiba 278, JAPAN, FAX:0471-24-1532

ABSTRACT

After Shannon, there exists a useful theory, called information theory, which tells us how to proceed and how to communicate the messages. Genome sequences is considered to carry information, and the information is stored in genome or amino acid sequences so that it originates the life itself. Here we present how information theory is used to investigate the “information” stored in DNA. In particular, we shall discuss the uses of several informations (entropies) and the artificial codes.

In information theory, the concept of information has two aspects, one of which expresses the amount of complexity of a whole system like a sequence itself and another does the structure of the system (or message) such as the rule stored in the order of sequence. The information of a whole system has been expressed by the entropy and the structure of the system is studied in the field named “coding theory”.

In this paper, we shall explain fundamentals of the information and coding theory and show how we can use them for the study of molecular evolution and the analysis of species such as HIV.

遺伝子解析への情報理論的アプローチ

大矢雅則

東京理科大学情報科学科
(〒278 野田市山崎東亀山 2641)

はじめに

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。情報遺伝学は、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や量子情報理論との関わりで遺伝子の研究を数学的にできる限り厳密に行う学問であるといえる。

DNAの情報理論的解析は1969年のSmithによる研究[1]から始まったとあってよいであろう。Smithは、アミノ酸分布のエントロピーを最大にすることによって、脊椎動物におけるDNAのGとCの含量に関する実験結果を理論的に説明した。この研究の後、数は少ないが、以下のようにDNAの情報論的研究が行われてきている。

(1)1970年NeedlemanとWunschは二つのアミノ酸配列の類似性を調べた（⇒コンピュータライメント（整列化）に発展）

(2)1971年GatlinはDNA列を冗長度により解析し、生物の分類を試みた[2]、

(3)1972年Hasagawa, Yano等はDNAの塩基列に定常二重マルコフ性を仮定してスミスの理論をより精密なものにした[3]、

(4)1972年Dayhoffはアミノ酸の置換数をもとにした進化系統樹を作成した。

(5)現在、ヒトゲノム計画のもとで、塩基配列を決定し、データベースを構築することが行われている。

こうした状況の下に、遺伝情報という名ばかりではなく、遺伝子の解析に本格的に情報理論を取り入れるにはどうしたらよいかを問うて、私の研究室ではここ10数年の間次のような研究を行なってきた。

(6)統計力学的エントロピーを使って、脊椎動物以外の生物にも適応できるGC含量推定法を考えた。

(7)2つ以上のアミノ酸配列を比較するため、エントロピー進化率概念を導入し、生物の分類と進化の系統樹を作成した。

(8)パターン認識で使われる動的計画法の手法を用いて2つのアミノ酸配列の整列化（二つな配列を比較しやすいように並べ換えること）を試みた。

(9)n個のアミノ酸配列を一度に整列化するために、最適化法の一つであるア

ニーリングを用いる方法を考案した。現在このアルゴリズムを量子アルゴリズムの方法で書くことを試みている。

(10) 遺伝子は生命にとって必要な情報を塩基列という符号列にして蓄えていると言われているが、その遺伝子の符号構造がどのようなものかを通信のために考案されてきた人工的な符号と比較することによって調べた。

本論文では私の研究室で行ったこうした研究の一部を解説する。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。

§ 1 アライメント法

生物の系統関係を推定するには、対象とする生物種間の類縁度を調べなければならない。この類縁度の定量化は、現在では主に、生物のアミノ酸配列、あるいは塩基配列の相違に着目して生物を比較することによって行われている。といっても、生物のアミノ酸配列や塩基配列全体を比較するのはほとんど不可能だから、相同タンパク質などの生命現象に特別な役割を果たす部分を比較することが一般には行われている。そのために、まず、2種の生物の塩基配列、あるいはアミノ酸配列をコンピュータにより比較しやすいように並べ換える（アライメント（整列化）という）ことが必要になる。

例えば、2種の生物 X, Y の同じタンパク質を表すアミノ酸配列（これも X, Y で表す）が

X : m p q r s t v w p y t

Y : m n p q y s t w q y t

であったとすると、このままでは、2つの列の類似性は何も見えてこない。すなわち、同じタンパク質であるにもかかわらず、XとYは全く違うもののように見える。そこで、XとYが長い年月の間にある共通の祖先から変化してできたものと考え、その共通祖先のアミノ酸(あるいは塩基)のあるものが変化したり、欠落したり、新たなアミノ酸がつけ加わったりしてXとYが現われたとするのはごく自然なことである。こうした置換・欠落・挿入を考慮してアミノ酸配列を書き直してみれば、XとYの類似が見えてくると思える。実際、欠落・挿入が起こったと思える箇所に"*"(ギャップ)を入れて、列X, Yを並べ換えると、

X : m * p q r s t v w p y t

Y : m n p q y s t * w q y t

となり、XとYの類似性がかなりよく見えてくる。つまり、この処理により、Xのrと2番目のpがYではy, qに置き換わったことがわかり、Yにおいてはnが挿入され、vが欠落していることがわかるのである。このような整列化をコンピュータを用いて行う方法はいくつか開発されている。例えば、セラーズ Sellers [4] はアミノ酸の有限配列に無限個の*を付け加えた無限配列の集合を考え、有限個のアミノ酸の順序が同じ列は同等（値）であるとし、同等なものは同じと見なして列の集合を類に分け、異なる類の列の間の距離を以下に述べる仕方で定め、アミノ酸配列の整列化法を考案した。その他にも、NeedlemanとWunschの方法 [5], Smith, Watermann, Fitch [6] の方法, OhyaとUesakaの方法 [7] などがある。これらはどれもその効率も含めてほぼ同じ

結果を与えるものである。

ここでは、文献 [8] により動的計画法を下にして考案されたアライメント法について説明する。次の二つの配列 A_1, A_2 に対して、

$$\begin{aligned} A_1 &: a_{11} a_{12} \cdots a_{1m} \\ A_2 &: a_{21} a_{22} \cdots a_{2n} \end{aligned} \quad (a_{ij} \text{ はアミノ酸あるいは塩基})$$

それぞれの先頭にギャップ記号を挿入し、それらを新たに A_1, A_2 とおく。

$$\begin{aligned} A_1 &: a_{10} a_{11} a_{12} \cdots a_{1m} \\ A_2 &: a_{20} a_{21} a_{22} \cdots a_{2n} \end{aligned} \quad (a_{10}, a_{20} \text{ は } *)$$

次に塩基配列 A_1 を x 軸， A_2 を y 軸に対応させた格子グラフを作成する。

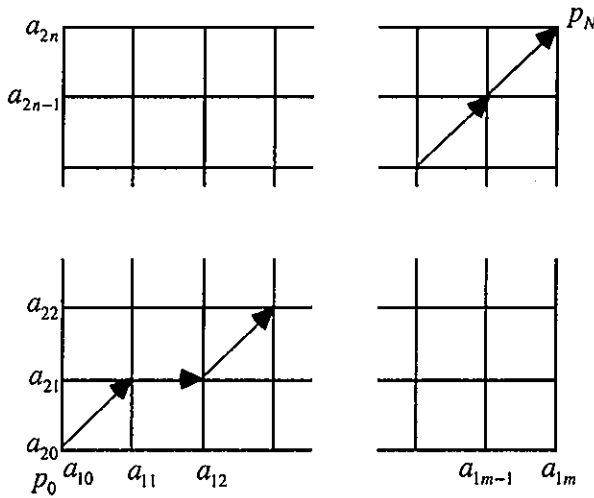


図1.1：格子グラフ

この格子グラフ上の $p_0 = (0,0)$ から $p_N = (m,n)$ までのパス（経路）は、配列 A_1, A_2 の要素 a_{1i}, a_{2j} 及びギャップ $*$ の対応をいかに取るかを示している。アライメントとは、このパスの集合の中で A_1 と A_2 間の以下に定める距離を最小にするパスを見つけるということである。この距離は次の式で定義されている。

$$D(A_1, A_2) \equiv \min \left\{ \sum_{k=0}^N d(a_{1i_k}, a_{2j_k}); P = (p_0, p_1, \dots, p_N) \in \mathcal{P}(p_N) \right\}$$

ただし、

$$d(a_{1i}, a_{2j}) = \begin{cases} 0 & (a_{1i} = a_{2j}) \\ 1 & (a_{1i} \neq a_{2j} \text{ and } a_{1i} \neq * \text{ and } a_{2j} \neq *) \\ w & (a_{1i} \neq a_{2j} \text{ and } (a_{1i} = * \text{ or } a_{2j} = *)) \end{cases}$$

$\mathcal{P}(p_N)$ は、 $p_0 = (0,0)$ から $p_N = (m,n)$ までのパスの集合であり、 $P = (p_0, p_1, \dots, p_N)$ は最適なパス、 a_{1i}, a_{2j} は最適パスを構成する格子点 $p_k = (i, j)$ に対応したアミノ酸（塩基）またはギャップである。また w は、ギャップの入りやすさを決定する重みで、その値はギャップの入りやすさに応じて $0.5 \leq w \leq 2.0$ の値をとる考える。 $p_k = (i, j)$ のときの $d(a_{1i}, a_{2j})$ を $d(p_k)$ と置くと、 A_1 と A_2 との距離 $D(A_1, A_2)$ は次の漸化式を解くことによって求められる。

$$\begin{aligned} D(p_k) &= \min\{d(p_0) + d(p_1) + \dots + d(p_{k-1}); (p_0, \dots, p_{k-1})\} + d(p_k) \\ &= \min\{D(p_{k-1}); P(p_{k-1})\} + d(p_k) \\ &= \min \left\{ \begin{array}{l} D(p_{k-1} = (i_k - 1, j_k)) \\ D(p_{k-1} = (i_k - 1, j_k - 1)) \\ D(p_{k-1} = (i_k, j_k - 1)) \end{array} \right\} + d(p_k) \end{aligned}$$

最小値を与えるパスが決まることは元の配列のどこに*を入れれば良いかが決まることであり、すなわち、アライメントが完成することである。つまり、求められた格子点に対して、求められたパスを p_N から p_0 に向かって辿れば、 a_{1i} と a_{2j} の対応が付き、アライメント結果が得られることになる。

以上は2本のアミノ酸配列の整列化の方法であるが、実のところ、 n 種の生物の相同タンパク質を一度に比較し整列化する事が望ましい。これを多重整列化という。この多重整列化をコンピュータを用いて行うことは列がかなり長いので、効率も含めてなかなかうまくいかない。私の研究室では最適値問題の解法の手法の一つであるアニーリングなどを用いて多重整列化を試みているが、かなりやっかいな話になるので、ここでは省略する [9,10]。なお、この多重整列化を高速で行うために量子アルゴリズムが役立つと私は考えている [11]。

総じて、コンピュータ整列化は遺伝子レベルで生物を比較するために欠かせないものではあるが、まだ解かなければならない本質的な問題が幾つかある。例えば、(1)同じ $D(\quad, \quad)$ を与える整列化は1つとは限らず、アミノ酸配列の長さによっては、数十万に及ぶこともあり、その中から一つを選ぶ仕方は確定してはいないこと、(2)アミノ酸配列の3倍の長さがあり、しかも*も含めて事象の数が5と少ない塩基配列の整列化はかなり難しいこと、(3)アミノ酸配列に塩基(コドン)の影響やタンパク質の立体構造などを考慮して整列化を行う試みは幾つかあるが、まだ決定打はないこと、などが挙げられる。こうした問題にも情報量が役に立つが、その詳細は割愛する。

整列化が何等かの仕方で成功すれば、その整列化されたアミノ酸配列に対して、生物種間の差異を測り、進化の系統樹を作成することが可能になる。なお、

現在、私の研究室では、整列化をしないで遺伝子配列を比較する方法を考えているが、これもまだ完全なものにはなっていない。

§ 2 遺伝行列と進化系統樹

生物の進化を考えるには、対象とするいくつかの生物の差異を計量化しておくことがまず必要になる。こうした生物の差異は、従来は形態等の生物学的な特徴によって論じられてきたが、現在では遺伝子レベルからとらえられている。この節では、遺伝的差異とそれを基にした系統樹作成について述べる。

2.1. 遺伝子列における完全事象系と進化の尺度

アミノ酸配列の差異を数値に表す尺度(これを遺伝的差異、または、進化の尺度と呼ぶ)について考える。この尺度の求め方にはいろいろとあるが、ここでは、エントロピーを用いたエントロピー進化率、アミノ酸の変化の割合に着目した置換率と整列化における重みを考慮した重み付き置換率について述べる。

まず、遺伝子列(DNAの塩基配列、アミノ酸配列)を情報科学のまな板に乗せるために、遺伝子列における完全事象系を設定しなければならない。

DNAの塩基配列"X"において塩基"k"が出現する確率を $p(k)$ とすると、この塩基配列の完全事象系は次のようになる。

$$\begin{pmatrix} X \\ p \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} A & G & T & C \\ p(A) & p(G) & p(T) & p(C) \end{pmatrix}$$

一方、アミノ酸には、アラニン、システイン、など20種類のものがあるが、ここではこれらをコドン表に従って、小文字のアルファベットを使い a, b, \dots, w などで表すことにする。あるアミノ酸配列Xにおいてアミノ酸 α が出現する確率を $p(\alpha)$ とすると、このアミノ酸列の完全事象系は次のように書ける。

$$\begin{pmatrix} X \\ p \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} a & b & \dots & w \\ p(a) & p(b) & \dots & p(w) \end{pmatrix}$$

さて、生物の進化や分類を遺伝子列から見る場合、前述したように2つの遺伝子列を扱わなければならない。すなわち、複合完全事象系を定めなければならないことになる。そのために整列化した2つのアミノ酸配列X, Yを考えることが必要になるが、アミノ酸配列Xにおいてアミノ酸 a, b, c, \dots, w が出現する確率をそれぞれ p_1, p_2, \dots, p_{20} とし、ギャップ"*"の出現確率を p_0 、アミノ酸列Yにおいても、同様に*, アミノ酸 a, b, \dots, w の出現確率をそれぞれ q_0, q_1, \dots, q_{20} とする。整列化された2つのアミノ酸配列X, Yに対して完全事象系 $(X, p), (Y, q)$ が与えられたとき、整列化によって対応づけられたXの元とYの元との同時確率分布を $r = (r_{ij})$ とすると、XとYの完全複合事象系は

$$\begin{pmatrix} X \times Y \\ r \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} (*, *) & (*, a) & \dots & (w, w) \\ r_{00} & r_{01} & \dots & r_{2020} \end{pmatrix}$$

と表すことができる。なお、塩基配列における"*"を考慮した事象系もアミノ酸配列のそれと同様にして構成することができることは容易にわかるであろう。ただし、塩基列においては $i, j = 0, 1, 2, 3, 4$ である。

<1> エントロピー進化率

各生体の遺伝子列に対する事象系と複合事象系が設定されると、アミノ酸配列（塩基配列）のエントロピーと相互エントロピーは次のように計算できることになる。

$$S(X) = -\sum_i p_i \log p_i$$

$$I(X, Y) = \sum_{ij} r_{ij} \log \frac{r_{ij}}{p_i q_j}$$

ここで和はアミノ酸では $i, j = 0, 1, \dots, 20$ 、塩基では $i, j = 0, 1, 2, 3, 4$ に対して取る。

エントロピー $S(X)$ は生物種 X が持つ情報量を示しており、相互エントロピー $I(X, Y)$ は X と Y との間での情報のやりとりの精度を表すものである。そこで、この相互エントロピーを使って生物間の類縁度を測ることができる。それが次に定める対称エントロピー比 $r(X, Y)$ である：

$$r(X, Y) = \frac{r(X|Y) + r(Y|X)}{2},$$

$$r(Y|X) = \frac{I(X, Y)}{S(X)}.$$

この $r(Y|X)$ エントロピー比と呼ばれ、 X がもつ情報量と X から Y へ伝達された情報量の比であり、これは、情報伝達の立場から見ると、 X に対する Y の類似度を表す尺度であると考えられる。一方、 $r(X, Y)$ は、文字通り、 X と Y との類似度を示しているといえるものである。これらの値はともに $0 \leq r(Y|X) \leq 1$ 、 $0 \leq r(X, Y) \leq 1$ であり、 X と Y の間の類似性が大きくなるとそれらの値は大きくなるのである。

この対称エントロピー比をベースとして、 X と Y との進化の程度（差異）を表す量（以下エントロピー進化率と呼ぶ） $\rho(X, Y)$ が

$$\rho(X, Y) = 1 - r(X, Y)$$

で定められる [12]。この進化率は、生物間の一種の差異を表すものであり、進化・分類を考えるため基本量の一つになるものである。

なお、エントロピーと相互エントロピーを用いたもう一つのエントロピー進化率が次のように定められる。

$$r'(X, Y) = \frac{I(X, Y)}{S(X) + S(Y) - I(X, Y)},$$

$$\rho'(X, Y) = 1 - r'(X, Y)$$

ただ、この進化率は、前の $\rho(X, Y)$ に比べ、情報伝送の見地からの意味づけはしづらいものである。

<2> 置換率

重み $w = 1$ で整列化されたアミノ酸配列の * も含めた全体の長さを t 、アミノ酸が一致している箇所の個数を e 、異なっている箇所の個数を a 、挿入、欠落が起こっているところの個数を d とするとき置換率は

$$\theta(X, Y) = \frac{a}{t - d}$$

と定義される [13]。この置換率は挿入、欠落を無視して置換のみを考慮に入れ

たときの遺伝的差異である。変化したアミノ酸の個数を数え、それによって生体の差を考えるといった最もナイーブなものである。この置換率を基に、アミノ酸の置換が数回起こって元のアミノ酸にもどる多重置換を考慮した時の距離も考えられているが、こうした多重置換を中立説の立場もふまえて考察をするためには始めから確率的方法を採ることが必要である。

<3>重み付き置換率

重み w で整列化されたアミノ酸配列について、<2>の置換率と同様に t , e , a , d を求めたとき、重み付き置換率は

$$\sigma(X, Y) = \frac{a \times 1 + d \times w}{t - d + d \times w}$$

で与えられる[14]。この重み付き置換率は置換率と違い、アミノ酸の挿入、欠落に対し重みをおいて遺伝的差異を求める方法である。

こうして求められる尺度 ρ , θ , σ を要素とする行列 D を遺伝行列という。

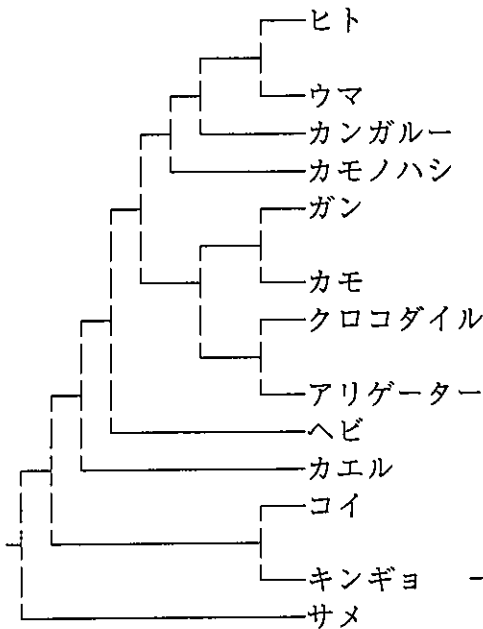
2.2. 進化の系統樹

進化系統樹とは、生物種の進化の過程を樹の形に表したものであり、生物種の分岐の仕方や、分岐時間を推定する手段として用いられる。この節では2.1節で定めた遺伝的差異を用いて進化系統樹を作成する方法について説明する。進化系統樹の作成の方法は大きく分けて2つの方法がある。ひとつは有根系統樹とよばれるもので最終的な目標である根を持った樹系図を直接求める方法であり、もう一つは無根系統樹とよばれるもので根を持たない樹系図から、有根系統樹を作成する方法である。そうした系統樹作成法は今のところUPG (Unweighed Pair Group clustering)法, MF (Modified Farris)法, NJ (Neighbor Joining)法, 遺伝子配列から直接系統樹を作成する最尤法, 最大節約法などが知られていて、最近ではNJ法と最尤法がよく用いられているが、決定打といえる方法はまだないといわざるを得ない。これらの系統樹作成に関する議論は文献[13,15,16,17,18,19]などを参照してほしい。

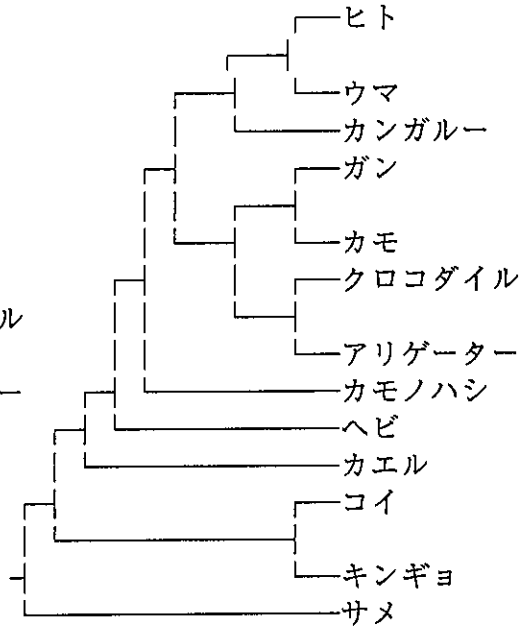
今の所、最も簡単なUPG法あるいはNJ法、最尤法に依って系統樹を作成するのが化石によって作られる系統樹に近い結果が得られることが多いが、より数理的にも生物学的にも理にかなった系統樹作成法が考案されることが望まれる。ただ、系統樹作成法はいかにうまくできていても、それを実験的に検証することが非常に難しいことも事実である。ここで、最近よく使われるNJ法と最尤法の長所と欠点を考えておこう。NJ法は最尤法に比べて、実効速度が速いという大きな利点があるが、再現性(コンピュータ・シミュレーションであらかじめ決めておいた系統樹を一度壊してそれを再現すること)があいまいであるという欠点がある。最尤法は実効速度が莫大であることと同様に基本的に塩基の置換が起こっている所のデータしか用いていないので、使えるデータに制限があり、それゆえ、複雑な生体の進化を処するには限界がある。なお、NJ法は、ほとんどの場合、単純な置換率による遺伝行列を用いて系統樹の作成がなされていたため、アミノ酸の置換の多重性を考慮しにくく、再現性にも問題が生じてくる。こうしたそれぞれの方法における欠点は情報量に基づいた差異を用いることによってある程度解決できることが最近分かってきた

[20]. こうしたところにも情報理論の有用性の一端があるといえる.

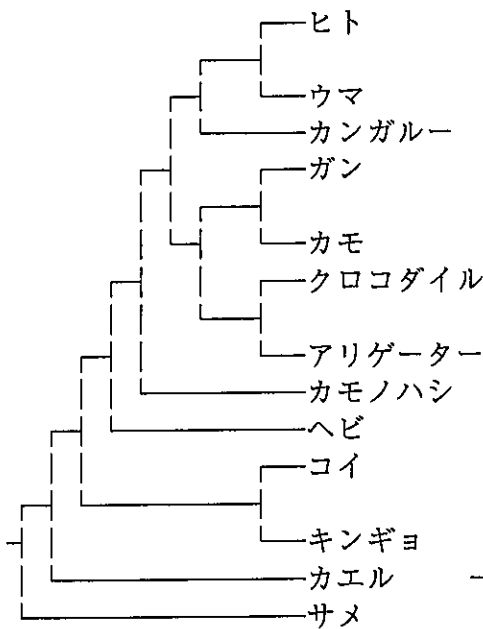
ここで、ヘモプロビン α を用い、エントロピー進化率+UPG法(図2.1)と置換率+UPG法(図2.2), エントロピー進化率+NJ法(図2.3), 置換率+NJ法(図2.4)により作成した系統樹の例を示しておこう.



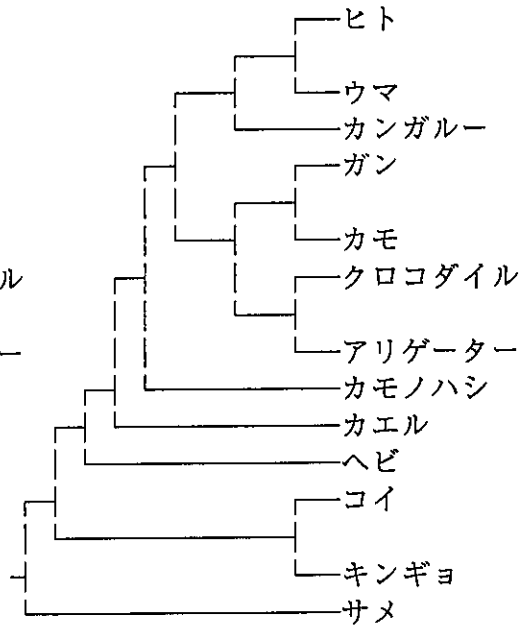
(図2.1)



(図2.2)



(図2.3)



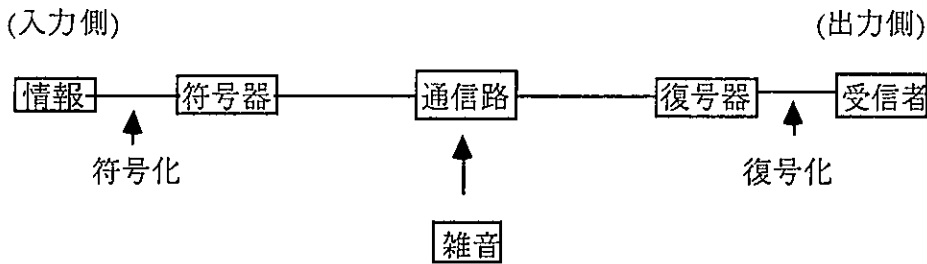
(図2.4)

§ 3 遺伝子の符号構造

塩基配列が生命の在り方を符号として蓄えていることが事実ならば、それはどのような構造を持っているのであろうか、そしてその符号は如何に伝えられ、発現されるのであろうか。こうした研究の第一歩として、我々は各種の遺伝子と様々な人工的な符号との類似を調べることから始めた。その方法の概略を紹介する [21,22,33]。

3.1. 通信理論における符号

もう少し詳しく通信工学における符号理論の考えを説明しよう [23,24]。我々が伝えたい事柄(情報)を文章にして送るとき、ある程度文字が間違ったり抜け落ちたりしていても、文章を受け取った人は、その誤りを直し正確な情報を手にすることができる。それは、私たちの使う自然言語にはある程度の冗長性があり、文字に多少の誤りが生じても前後の文脈や、一般的な知識からそれらを訂正することができることによる。こうした情報の伝送機構を工学的に実現するのが通信工学であり、その数理の一つが符号理論である。つまり、下図3.1のような通信系において、通信路上で発生する誤りを検出し、訂正できる機能を持たせるために、送ろうとする情報をどのような符号で表すか、またどれほどの冗長度を加えるかを考えるのが情報の符号化である。



(図 3.1) 通信系

送りたい情報の列 (例えば、文字列) を $\mathbf{i} = (i_1, i_2, \dots, i_k, \dots)$ とする。これを符号器において、符号系列 $\mathbf{x} = (x_1, x_2, \dots, x_k, \dots)$ に変換(符号化)する。この各記号 i_k, x_k は符号アルファベットと呼ばれるある特定の有限集合の元であり、その有限集合の元の個数が q であるとき、この符号化を q 元符号化といっている。符号系列は通信路 (チャネル) を通して送られ、受信者の復号器に受信系列 $\mathbf{y} = (y_1, y_2, \dots, y_k, \dots)$ として入力され、通信路において発生した誤りをできるだけ正しく検出・訂正して、受信者はその訂正された復号系列 $\mathbf{i}' = (i'_1, i'_2, \dots, i'_k, \dots)$ を受け取る。

符号器では情報系列を一定長の部分 (ブロック) に分割して、各ブロック毎

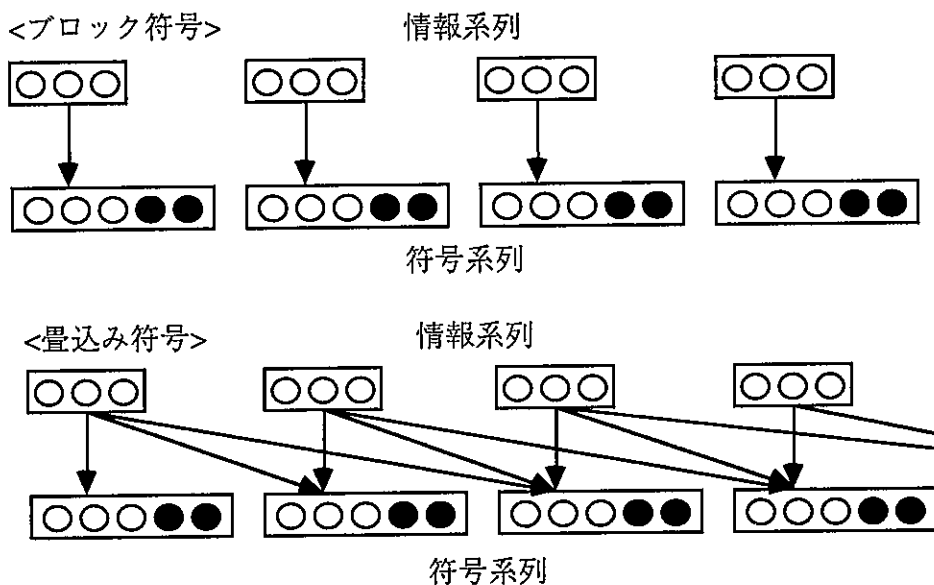
に符号器において符号化を行う。このとき、各情報ブロックの各記号(情報記号)に誤りを検出・訂正するための冗長な部分である検査記号を付加して符号化を行う。こうしてできた符号を組織符号といい、その符号ブロックの長さ(記号の個数)を符号長という。

したがって、ある情報を符号器にかけて作った符号が

$$\mathbf{x} = (i_1, i_2, \dots, i_k, p_1, p_2, \dots, p_{n-k})$$

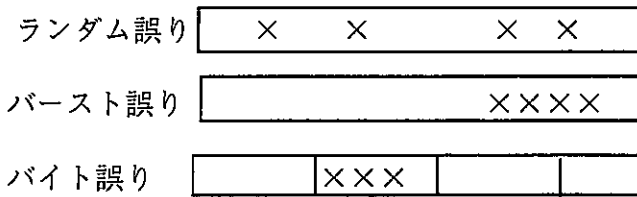
であるとき、 n を符号長、情報 i の部分の記号の個数 k を情報記号数、符号 \mathbf{x} における冗長な部分 p_1, p_2, \dots, p_{n-k} の記号の個数 $n-k$ を検査記号数という。特に2元符号の場合、それぞれ情報ビット数、検査ビット数という。また、このような符号長 n 、情報記号数 k 、検査記号数 $n-k$ の組織符号を情報速度 $R=k/n$ の符号とか、 (n, k) 符号という。そこで、誤りを訂正し、情報の信頼度を高める冗長記号をどのように付加すれば最も効率のよい誤り訂正方法を見いだすことができるかが問題となる。

ところで、符号は情報記号と検査記号の関係が線形か否かによって線形符号と非線形符号に分けられる。さらに、符号の構成方法によって、図3.2のようにブロック符号と畳込み符号に分けることができる。ブロック符号とは情報系列の各ブロックで独立に符号化を行い、畳込み符号は過去のブロックも現在のブロックに影響し、逐次的に構成される符号である。ここで符号系列の各ブロックを符号語と呼び、符号語の集合を符号という。



(図 3.2) ブロック符号と畳込み符号

通信路において発生する誤りには図3.3のように、個々の誤りが他とは独立に発生するランダム誤り、集中して誤りが発生するバースト誤り、符号ブロックを更に一定長で分割した小ブロック単位に誤りが発生するバイト誤りの3種類がある。



(図 3.3) 誤りの種類

従って、符号も、それが訂正できる誤りの種類によって、ランダム誤り訂正符号、バースト誤り訂正符号、バイト誤り訂正符号に分けられる。一般に同じ個数の誤りを訂正するには、ランダム、バースト、バイトの順で多くの冗長度が必要になる。

こうした符号理論の数学的基礎となるのは、天才ガロアの発見したガロア体(Galois Field)という概念である。ガロア体とは、加法 $+$ と乗法 \cdot が定義されている有限集合 F で、加法に対して群をなし、 F から零元を除いた集合に対して乗法群になっているものをいう。ガロア体 F の元の個数が q のとき、これを $GF(q)$ で表す。

3.2. 遺伝子の符号解析

DNAは4つの塩基 A, T, C, Gから構成されており、一種の記号列(符号)と考えられるから、我々が現在持っている人工的な誤り訂正符号とDNAの塩基列の類似を調べ、遺伝子が人工的な符号によってどこまで表現できるかを見ることが遺伝子の符号論的解析の目的である。塩基の3つの組(これをコドンという)が1つのアミノ酸に対応し、3つの塩基が1つのアミノ酸を指定する。そのアミノ酸の数は $4^3=64$ 個と考えられるが、実際には遺伝暗号表からわかるようにアミノ酸の総数は20個しかない。しかも、コドンの第3番目の塩基は、多くの場合、アミノ酸の指定に大した役割を果たしていないと思われる。これはDNAがある程度の誤りを正すことができるように冗長性をもっていること、つまり、誤り訂正符号と似たような構造を持っていることを示している。この誤り訂正符号とDNAの類似性に着目して、DNAの符号構造を調べるために、各生物の遺伝子のある部位を取り上げ、その塩基配列に対して、次の仮説を満足する訂正符号をまず選び、その中で、どの符号構造が対象としている生物(あるいは、種)の塩基配列を最もよく特徴付けているかを調べるのである。そこで、その取り上げた部位に対し、それに適する誤り訂正符号の系列を作成しなければならない。そのために、次の仮説(1)または(2)の下で、塩基配列の符号を選択する。

(1) DNAの塩基配列のコドンが一つのアミノ酸を指定し、しかも、コドンの3番目の塩基はアミノ酸の決定にあまり役だっていないと考えられることから、第3コドンは誤り訂正符号の検査ビットと同様な役割を演じていると仮定する。すなわち、”誤り訂正符号はコドン単位を崩さない符号長を持ち、コドンの3番目の塩基のみ変化させる符号を選ぶ。

(2) 遺伝子のある部位のどの部分が情報ビットに対応し、他の部分が検査ビットに対応しているかを考え、それらの部位を崩さない誤り訂正符号を選ぶ。仮説(1)の方が簡単なので、ここでは、この仮説の下で、どこまで遺伝子の符号構造が調べられるか考えてみよう。まず、次のように各塩基をガロア体 GF(4)の元は、代数方程式 $x^2+x+1=0$ の解の一つを α とすると、 $0, 1, \alpha, \alpha^2$ と書けるから、4つの塩基は次のように表すことができる。

$$A \rightarrow 0 \quad T \rightarrow 1 \quad C \rightarrow \alpha \quad G \rightarrow \alpha^2$$

そこで、着目している遺伝子のある部位をこの4つの元を用いて書き換え、その誤り訂正符号を、仮説(1)を満たす符号長が3の倍数、情報符号長が2の倍数である符号を用いて作るのである。

こうして、作られた様々な符号を用いて、生物の遺伝子(の一部)を符号化すると、次に必要となるのはどの生物がどの符号に近い構造を持つかを調べるための指標である。この指標はを以下のように構成される。各生物ごとに、アミノ酸配列 X に対応する塩基配列 X^b を符号 C によって符号化した塩基配列 X^b' を作り、その符号化された塩基配列から符号化されたアミノ酸配列 X' を作る。ある特定のグループに属する n 個の生物から二つの生物 j と k を選んだとき、これらのアミノ酸配列をそれぞれ X_j, X_k とし、それらを符号 C によって符号化して得られる符号化したアミノ酸配列を上と同様 X_j', X_k' で表す。このとき、注目しているグループの平均的な符号構造を推測するための指標は、エントロピー進化率を用いて次のように定められる。

$$D_C(X) = \frac{\sum_{jk} |\rho(X_j, X_k) - \rho_C(X_j', X_k')|}{n C_2}$$

なお、 $n C_2$ は n この中から2個を取り出す仕方の総数である。様々な符号化法 C に対して指標 D_C を求め、その値により、各グループにおける遺伝子の塩基配列と用いた符号との類似性調べるのである。 D_C の値が小さいほど、その生物のグループは人工符号 C に近い構造を持つといえ、それ故、そのグループに属する生物は符号 C が有する性質を持つと推察できることになる。

以下、私の研究室で行った実験結果の一部を記しておこう。つまり、リボソームの構成成分であるリボソームRNA(rRNA)の1つである5SrRNAを用いて幾つかの生物を調べたものと、pol, env, gagと呼ばれるタンパク質を用いてオンコウイルス亜科とレンチウイルス亜科に属するエイズウイルスについて調べたものである。

5SrRNAは真核生物にも原核生物にもみられるもので、よく用いられるものである。対象とする生物は、次表3.1に挙げる28種類を選んだ。

- | | |
|----------------|-----------------|
| (1) ヒト、ネズミ、イルカ | (15) アサクサノリ |
| (2) 南アフリカヒキガエル | (16) マイコバクテリアム |
| (3) にわとり | (17) シダのクロロプラスト |
| (4) イソギンチャク | (18) ロドスピリウム |
| (5) クラゲ | (19) クロストリジウム |

(6) アブラムシ	(20) バチルス
(7) アラメ	(21) 連鎖球菌
(8) ハラタケ	(22) 乳酸菌
(9) プラストクラデリア	(23) ハロバクテリウム
(10) ほうれん草	(24) マイコプラズマ
(11) ゴウリムシ	(25) 小麦のミトコンドリア
(12) ミドリムシ	(26) ミクロコッカス
(13) アカパンカビ	(27) シュウドモナス
(14) コウボ菌	(28) フォトバクテリウ

(表3.1) 対象とする生物(5S rRNA)

5 S r RNAの符号構造をグループごとに見るために、対象とする生物を動物界(脊椎, 無脊椎動物), 植物界, 菌界(真核, 原核菌類)の5つに分類し, それぞれの生物の5 S r RNAを用いて, D_C を各類毎に求めた。

その結果次のような結論が得られた。

- (1) 5 S r RNA全体の平均から見ると, 畳込み符号では, バースト誤り訂正符号の D_C の値がランダム誤り訂正符号より小さく, 巡回符号では, ランダム誤り訂正符号は D_C の値が大きいが, その他のバースト誤り訂正・検出符号の D_C の値は畳込み符号と併せて考えても比較的小さい。従って, バースト誤り訂正符号が他の符号に比べて5 S r RNA自体の符号構造により近いことを示している。更に, バースト誤り訂正畳込み符号において拘束長が長くなるにしたがって D_C の値が小さくなる傾向があることがわかる。またバースト誤り訂正巡回符号においても符号長の長い符号が比較的好い値をだしている。このことから, 5 S r RNAにおいては, 1つの塩基がある程度広い範囲でその前後の塩基に影響を及ぼしているものと考えられる。
- (2) 各類毎に見てみよう。脊椎動物においてはバースト誤り訂正畳込み符号とバースト誤り訂正・検出巡回符号の値がよい。無脊椎動物, 植物, 真核菌類においては, どの符号化法もあまり差はないが, 植物は岩垂符号や自己直交符号に近い傾向が見え, 原核菌類では自己直交符号, 自己直交拡散符号のほうがよいと思える。また, 脊椎動物では拘束長が大きくなるにつれて D_C の値が小さくなっていく傾向があり, 無脊椎動物, 植物へとその傾向がなくなり, 逆に原核菌類では拘束長が大きくなるにつれて D_C の値が大きくなっていく。これは, 高等生物ほど1つの塩基が他の塩基に及ぼす影響が大きく, DNAが複雑な構造をしていることを示している。
- (3) 符号の拘束長との関わりから一般的に, DNAは, ある程度の広い範囲で列の前後に1つの塩基の影響が及んでいるといえる。このことは, DNAが大きな連続した誤り, つまり突然変異などが固まって生じるのを防衛するような構造であると考えられる。特に高等生物ほど広範囲に1つの塩基が他に影響し, またその結果誤り訂正能力に優れ突然変異が起こりにくい構造であることを示している。
- (4) オンコウイルス亜科は, 実験に使ったどのタンパク質も符号構造が似通っていて, 特にバースト訂正能力が8位の巡回符号や訂正能力が6位の岩垂符号,

訂正能力 1 の直交符号に近いように思える。従って、誤り訂正能力は余り高くないことが分かる。

(5) エイズウイルスは env と gag は非常に似た符号構造を持っているが、逆転写を司る pol は全く違う構造を持っていることが分かる。env と gag は符号長が短く、誤り訂正能力が、1 から 3 と低い畳み込み符号に近く、pol は類似する符号が確定できず、非常に変化しやすい構造を持っていることが推察される。総じて、エイズウイルスは訂正能力の低い、言い換えれば、塩基の置換が非常に起こりやすいウイルスであることが伺える。

さらに、遺伝子の符号構造の解析では、塩基の配列の仕方自体に符号理論と情報力学 [25] の複雑性さの数理を適応するなど、様々な試みが可能である。

§ 4. エントロピー進化率による HIV の解析

この節では最近行ったエントロピー進化率を用いた HIV ウイルスの変化の解析の結果を述べておこう [26]。HIV の変化をエントロピー進化率とを用いて解析と、HIV に感染した患者の CD4 値、免疫等の変化の過程の特徴を捉えることができるのである。

特に、次のことがエントロピー進化率から見る事ができる。

- (1) エントロピー進化率の変化と患者の AIDS 発症との関わり。
- (2) エントロピー進化率の情動的尺度の変化と患者の CD4 値の変化との関連。

4.1. HIV データ

この解析で用いたデータは、文献 [27,28,29] で報告されている 6 人の患者から採取された HIV の遺伝子配列である。私たちの解析では、この 6 人の患者を、それぞれ患者 A, B, C, D, E, F と呼ぶ。

配列データはいずれも、HIV の中でも特に変異率の高い env 領域の外皮糖蛋白 gp120 の一部分を用いている [30,31]。HIV 感染は免疫応答として gp120 を中和する抗体を作り出すが、ウイルスの変異のために特定のウイルスに効く抗体が役に立たなくなってしまう。この gp120 の抗原性のある領域は、gp120 の 296 番目と 330 番目の 2 つのシステイン(c)に囲まれた V3 領域である。中和抗体はこの V3 領域に結合する。この解析で用いたすべてのデータには V3 領域が含まれている(図 4.1)。

```

IVIRSDNITDNAKTIIVQLKEAVQIN CTRPNNNTRKSIHIGPGKAFYATGEIIGDIRQAHC
NLSRVDWEDTLKQIAEKLREQFRNKTIIVFNQ
IVIRSDNITDNSKTIIVQLKEAVQIN CTRPNNNTRKSIHIGPGKAFYATGEIIGDIRQAHC
NLSRVDWEDTLKQIAEKLREQFRNKTIIVFNQ
IVVRSNITDNAKTIIVQLKKAQVQIN CIRPNNNTRKSIHIGPGKAFYATGETIGDIRQAHC
NLSGGDWENTLKQIAEKLREQFRNKTIIVFNQ

```

図 4.1 sequence data collected from patient A in early (0) stage of infection.

V3 region is the underlined part.

報告されている6人の患者の状態については、表4.1 に要約した[26,32]. 表からもわかるように、患者Bは初期感染から5年目にAIDSと診断されている。また、患者Aは血清中のp24抗原が感染後3年目に再び現れている。血中のp24抗原量はウイルス量を反映し、AIDSを発症する頃から再び検出されるので、HIV感染者の病態を知る一手段として用いられる。

医師などや多くの研究者たちは、AIDS発症を知る手段としてCD4値を目安に使っている。そのCD4値は、患者Dだけが変動し、他の5人の患者は徐々に減少している。このCD4値はHIVが感染する免疫細胞の個数を表す。免疫細胞の個数は普通の人では、血液マイクロリットル中800から1300程度である。感染者ではこれが徐々に減り200を切ると様々な感染症にかかりやすくなり、AIDSに発病するといわれている。CDC（米国・国立防疫センタ）の診断基準によると、200に満たない場合には、かりにAIDSの症状がなくてもAIDS患者と認定されることになっている。CD4リンパ球数が正確に示されているのは、患者D,E,Fだけである。患者Dは、初期には470、2年目には826、3年目には273、4年目には515とCD4値が変動している。患者Eの採取した年のCD4値は、徐々に1225, 756, 368と減少しており、患者Fも、943, 575と減少し、感染から4年半経って187と低い値になっている。

表4.1. Data used for our analysis

Designation in our analysis	patient A	patientB	patientC	patientD	patientE	patientF
Designation in the original paper	patient1	patient495	patient82	s1	s2	s4
Presumed transmission mode	homosexual contact	homosexual contact	a single batch of factor VIII	no information	no information	no information
Clinical status	p24 antigenemia (1988)	AIDS (1989)	asymptomatic	no information	no information	no information
CD4 counts during the study	decreasing	decreasing	decreasing	fluctuating	decreasing	decreasing
Antiviral therapy	None	AZT (1989)	None	None	None	None
Term for the study	1985~ (about 5years period)	1985~ (about 5years period)	1984~1991 (7years period)	1985.11~89.5 (4.5years period)	1985.5~87.10 (2.5years period)	1985.1~89.6 (4.5years period)
Length	183~276nt	183~276nt	234nt	332~335nt	332~335nt	332~335nt
Tissue	serum	serum	plasma	peripheral blood leucocyte	peripheral blood leucocyte	peripheral blood leucocyte
Molecular type	RNA	RNA	RNA	DNA	DNA	DNA

4.2 解析方法

6人の患者から、それぞれ初期感染時から何年間かにわたり採取した配列のデータ数を表4.2にまとめると、次のようになる。

表4. 2. The number of sequences used in this paper

患者A	0年目	1年目	2年目	3年目	4年目	5年目
GenBankから得たデータ数	8	7	9	9	9	8
解析で使ったデータ数	6	7	7	5	6	7
患者B	0年目	1年目	2年目	3年目	4年目	5年目
GenBankから得たデータ数	11	6	6	6	7	8
解析で使ったデータ数	7	3	4	4	4	4
患者C	0年目	3年目	4年目	5年目	6年目	7年目
GenBankから得たデータ数	1	15	11	23	15	13
解析で使ったデータ数	1	15	11	23	15	13
患者D	0年目	2年目	3年目	4年目		
GenBankから得たデータ数	5	2	4	3		
解析で使ったデータ数	5	2	4	3		
患者E	0年目	2年目	2.5年目			
GenBankから得たデータ数	5	5	6			
解析で使ったデータ数	5	5	6			
患者F	0年目	4年目	4.5年目			
GenBankから得たデータ数	5	6	6			
解析で使ったデータ数	5	6	6			

患者各々において、塩基配列の長さが極端に異なるものは除いて考えている。例えば患者Aの0年目では、8個のデータ中、長さが極端に違う塩基の個数が183のものは除いて276のものを使っているので6種になる。なお、患者から取り出したHIVの塩基配列をアミノ酸配列に翻訳してから、次の2つの場合(I), (II)について解析を行う。

(I)HIVの遺伝子配列が前回の年に対してどの程度変化が現れたかを比較するために、採取した年のデータと前回採取した年のデータとのエントロピー進化率を計算した。これを各年毎のエントロピー進化率と呼ぶ)。そして、この各年毎のエントロピー進化率の平均と標準偏差の変異率を調べる。

(II)初期感染の頃に比べてどの程度変化したかを調べるために、0年目を基準にしてエントロピー進化率を計算した。これを初期感染に対するエントロピー進化率と呼ぶ。(I)と同様に、平均と標準偏差の変異率を調べる。

具体的に患者Aにおいて説明をしてみる. 表4.2からもわかるように, 患者Aは, 初期に6つの異なる配列データが得られ, 1年後には7つ, 2年後には7つ, 3年後には5つ, 4年後には6つ, 5年後には6つが採取された.

解析(I)では, アライメントを行った配列に対して, すべての組み合わせのエントロピー進化率を計算する. 例えば, 感染から2年後の配列 A_i^2 と3年後の配列 A_j^3 のエントロピー進化率 $\rho(A_i^2, A_j^3)$ ($i=1, \dots, 7, j=1, \dots, 5$) は, 35通り求められる. したがって, それらの平均値は次のように与えられる.

$$\bar{\rho}(A^2, A^3) \equiv \frac{\sum_{i=1}^7 \sum_{j=1}^5 \rho(A_i^2, A_j^3)}{35}$$

同様な方法で, $\bar{\rho}(A^0, A^1), \bar{\rho}(A^1, A^2), \bar{\rho}(A^2, A^3), \bar{\rho}(A^3, A^4), \bar{\rho}(A^4, A^5)$ を計算する. これらは, HIVの変化を調べることができる. また2年目と3年目のエントロピー進化率の標準偏差は, 次のように, 定義される.

$$\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^7 \sum_{j=1}^5 \{\rho(A_i^2, A_j^3) - \bar{\rho}(A^2, A^3)\}^2}{35}}$$

解析(II)では, 0年目を基準にしたエントロピー進化率の平均を考える. 例えば, 感染初期 A_i^0 と4年後の配列 A_j^4 のエントロピー進化率の平均は,

$$\bar{\rho}(A^0, A^4) \equiv \frac{\sum_{i=1}^6 \sum_{j=1}^6 \rho(A_i^0, A_j^4)}{36}$$

となる. 同様に $\bar{\rho}(A^0, A^1), \bar{\rho}(A^0, A^2), \bar{\rho}(A^0, A^3), \bar{\rho}(A^0, A^4), \bar{\rho}(A^0, A^5)$ を計算する.

前回の採取時との比較, それから初期感染時とその後の各採取時との比較をこの解析方法を用いて, 6人の患者A,B,C,D,E,Fすべてに行っている. この結果を次の節でグラフにまとめた.

4.3. 結果

下図のグラフは, 解析(I)(図4.2)と解析(II)(図4.3)の結果である.

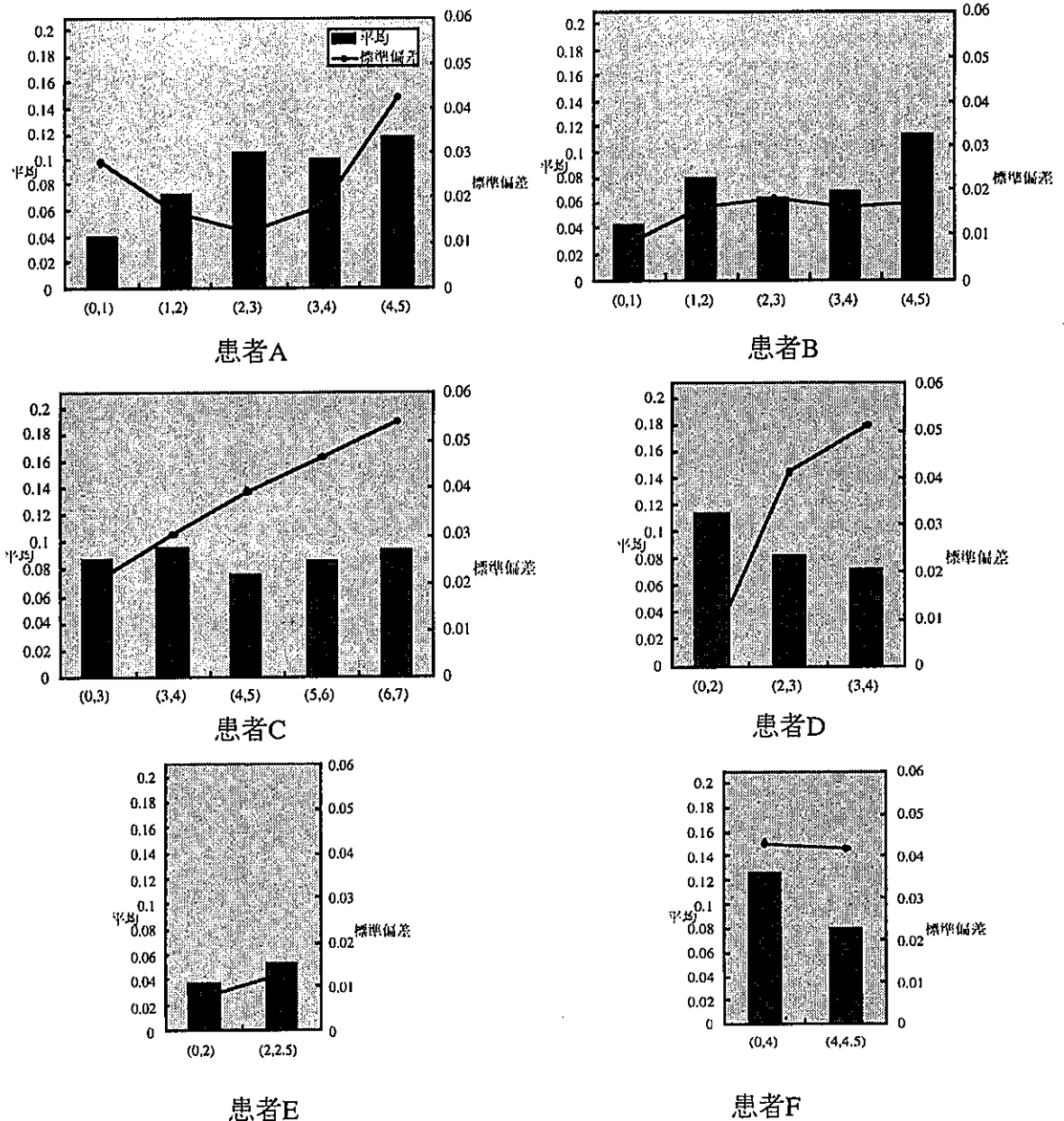
患者Bは感染初期から約5年目にAIDSと診断されているが, 解析(I)の平均値の結果(図4.2)から, それは患者Bのグラフが2度目の極端な増加が起こったときであることがわかる. この値の変化は, AIDS発症の基本的パターンと考えることができる. このパターンをもとに, 他の患者に対して次のことが推察される. 患者Aは2度目のエントロピー進化率の値の増加が起こり始めているので, 2,3年後にAIDSと診断されるだろう. 同様に, 患者Cも患者Aと同じことが言える. また, 患者D,E,Fはデータ数が非常に少ないので, はっきりしたことが言えないが, おそらく, 患者Dは, その後, エントロピー進化率の値が増加するものと思われる. 患者Eは, AIDS発症には, まだ時間がかかると思える. 患者Fは最初の2,3年のデータが採取できなかったので, HIVの変化を調べることは難しい.

解析(II)の平均値の結果(図4.3)によると, 患者D以外の患者のエントロピー進化率の平均値の変化は, 徐々に増加している. この結果は, 患者D以外の患者のCD4値が徐々に減少しているという報告と符合する. すなわち, CD4値が徐々に減少すると, エントロピー進化率の値が徐々に増加する. さらに, 患者Dの

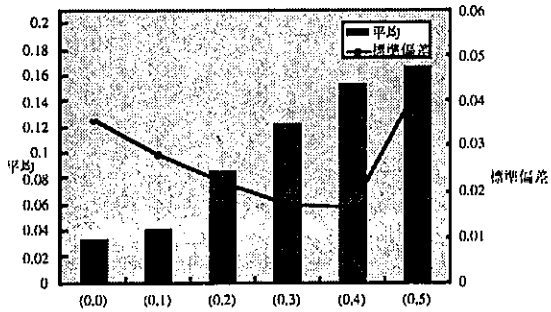
CD4値が変動すると、エントロピー進化率の値も変動している。この結果は、初期感染を基準にしたエントロピー進化率の平均値とCD4値は正の相関があることを示している。

以上のことから、エントロピー進化率がHIVの変化を調べる一つの指標になることがわかる。なお、HIVの符号構造を調べる [22] ことによってもほぼ同様の結果が得られることを報告しておく。

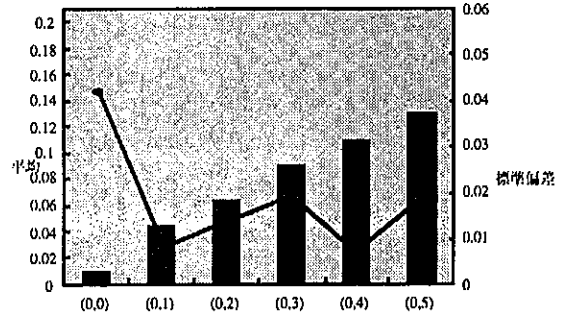
(図4.2)



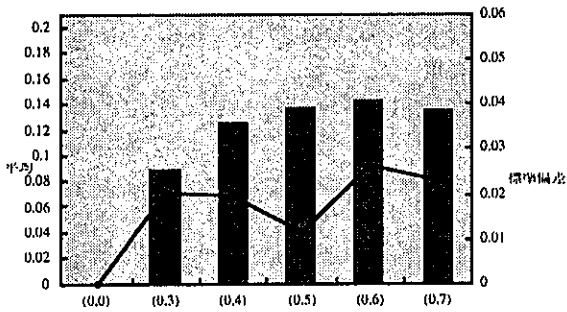
(図4.3)



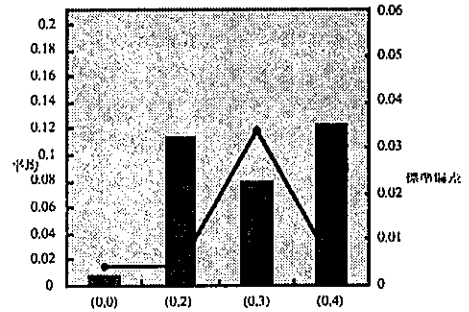
患者A



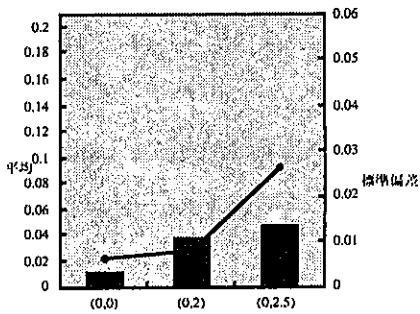
患者B



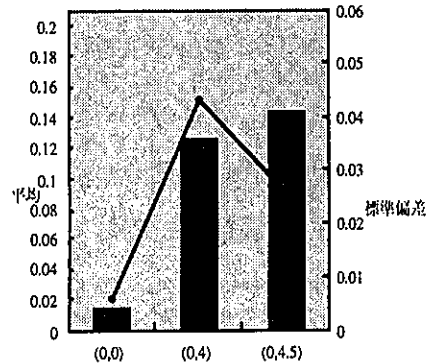
患者C



患者D



患者E



患者F

参考文献

- [1]T.F.Smith; The genetic code, information density and evolution, *Math. Biosci.*, 4, pp179-187,(1969)
- [2]L.L.Gatlin; " Information Theory and The living System" , Columbia Univ. Press, (1972)
- [3]M.Hasegawa and T.Yano; The genetic code and the entropy of protein, *Math. Biosci.*, 24, pp169-182(1975)
- [4]P.H.Sellers; On the theory and computation of evolutionary distance, *SIAM J. Appl. Math.*, 26, No.4, pp.787-793(1974)
- [5] S.B.Needleman and C.D.Wunsch; A general method applicable to search for similarities in the amino acid sequence of two proteins, *J.Mol.Biol.*, 48, pp.443-453 (1970)
- [6]T.F.Smith, M.S.Waterman and W.M.Fitch; Comparative Biosequence Metrics, *J.Mol.Evol.*, 18, pp38-46(1981)
- [7] M.Ohya and Y.Uesaka, Amino acid sequences and DP matching: A new method for alignment, *Information Sciences*, 63, pp.139-151 (1992)
- [8]M.Ohya, S.Miyazaki and Y.Ohsima; A new method of alignment of amino acid sequences, *Viva Origino*, 17, pp139-151(1989)
- [9]M.Ohya, S.Miyazaki and K.Ogata; On mutiple alignment of genome sequences, *IEICE Trans. Commun.*, Vol.E75-B, No.6, pp.453-457, (1992)
- [10]大矢雅則, 緒方浩二; 動的計画法を応用したマルチプルアライメントとその改良, *電子情報通信学会誌 A*, Vol.J-80A, No.4, pp684-691(1997)
- [11]大矢雅則; 量子情報理論と量子コンピュータの基礎, 丸善出版, 近刊
- [12] M.Ohya; Information theoretical treatment of genes, *The Trans. of The IEICE*, Vol. E 72, No.5, pp.556-560 (1989)
- [13]根井正利 (五条堀他訳) ; "分子進化遺伝学", 培風館 (1990)
- [14]大矢雅則, 井ノ口育美; 情報量を用いた進化系統樹作成の新技术法, *生物物理*, Vol.17, No.2, pp.30-38(1990)
- [15]P.H.A.Sneath and R.R.Sokal; "Numerical Taxonomy", W.H.Freeman San Francisco (1973)
- [16]N.Saitou and M.Nei ; The neighbor - joining method; A new method for reconstructing phylogenetic trees, *Mol.Biol.Evol.*, 24 pp.189-204 (1987)
- [17]Felsenstein J ; "Evolutionary trees from DNA sequences : a maximum likelihood approach." *J Mol Evol* 17, pp.367-376 (1981)
- [18]H.Kishino and M.Hasegawa ; Evaluation of the Maximum Likelihood Estimate of the Evolutionary Tree Topologies from DNA Sequence Data, and the Branching Order in Hominoidea, *J. Mol Evol* 29: pp.170-179 (1989)
- [19]M.Hasega, H.Kishino and N.Saitou ; On the Maximum Likelihood Method in Molecular Phylogenetics, *J. Mol Evol* 32: pp.443-445 (1991)
- [20]S.Miyazaki, H.Sugawara and M.Ohya; The efficiency of entropy evolution rate for construction of phyligenetic trees, *Genes Genet. Syst.*,71, pp.323-327 (1996)
- [21]M.Ohya and S.Matunaga ; Coding and genes, *Trans. IEICE-A*, Vol.J74, No.7, pp1075-1084(1991)

- [22]H.Tachibana, K.Sato and M.Ohya ; On code structure of HIV, SUT preprint.
- [23]梅垣寿春, 大矢雅則 ; “確率論的エントロピー”, 共立出版 (1983)
- [24]宮川洋, 原島博, 今井秀樹 ; "情報と符号の理論", 岩波講座, 情報科学-4 (1982)
- [25]R.S.Ingarden, A.Kossakowski and M.Ohya; " Information Dynamics and Open Systems" , Kluwer Acad. Publ. (1997)
- [26]K.Sato, S.Miyazaki and M.Ohya ; Analysis of HIV by entropy evolution rate, SUT preprint.
- [27]T.W. Wolfs, G.Zwart, M.Bakker, M.Valk,C.Kuiken, and J.Goudsmit ; Naturally occurring mutations within HIV-1 V3 genomic RNA lead to antigenic variation dependent on a single amino acid substitution, *Virology* 185, pp.195-205 (1991)
- [28]E.C. Holmes, L.Q.Zhang, P.Simmonds, C.A. Ludlam, and A.J. L.Brown ; Convergent and divergent sequence evolution in the surface envelope glycoprotein of human immunodeficiency virus type 1 within a single infected patient, *Evolution*, Vol. 89, pp.4835-4839 (1992)
- [29]T.McNearney, Z.Hornickova, R.Markham, A.Birdwell, M.Arens, A.Saah, and L.Ratner ; Relationship of human immunodeficiency virus type 1 sequence heterogeneity to stage of disease, *Medical Sciences*, Vol. 89, pp.10247-10251 (1992)
- [30]J.D.Watson, M.Gilman, J.Witkowski, and M.Zoller ; *Recombinant DNA Second Edition*, Scientific American Books, W.H.Freeman and Company N.Y. (1993)
- [31]J.J.de Jong, J.Goudsmit, W.Keulen, B.Klaver, W.Krone, M.Tersmette, and A.de Ronde ; Human immunodeficiency virus type 1 clones chimeric for the envelope V3 domain differ in syncytium formation and replication capacity, *Journal of Virology*, 66, pp.757-765 (1992)
- [32]Y.Yamaguti and T.Gojobori; Evolutionary mechanisms and population dynamics of the third variable envelope region of HIV within single hosts, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol.94, pp1264-1269(1997)
- [33]大矢雅則 ; "思いを刻む遺伝子—情報進化論へ向けて—", 岩波書店, 近刊

ディスカッション・グループ開設のお知らせ

このたび、「生命の起原および進化学会」の会員である飯田一浩氏より、本学会が関心を持つ事柄につき自由に議論を交換できる場をインターネット上に作ってみては、とのご提案がありました。更に、このディスカッション・グループのネット上での技術上の管理、運営を引き受けて頂けるとお申し出も頂きました。私は、これを得難いお申し出であると思い、広く関心のある皆様方にお伝えするに至りました。

もちろん、インターネット上のディスカッション・グループの運営には種々の問題があることは周知のとおりであります。当分の間、飯田一浩氏にネット管理の“moderator”をお願いし、それを実験的に試行することは意義のあることと思います。ご賛同頂ける方の積極的なご参加を期待いたします。

松野孝一郎
長岡技術科学大学生物系
電話 & Fax 0258-47-9420
kmatsuno@vos.nagaokaut.ac.jp

★☆☆☆☆☆ メーリングリスト開設のお知らせ ★☆☆☆☆☆

生命の起原と進化に関する研究者が利用する目的でメーリングリスト“LIFE”を開設いたしました。地理的に離れた研究者どうしの意見交換や情報交換、基礎的な情報の共有などにご活用下さい。参考文献一覧、FAQなども順次作成の予定です。参加ご希望の方は、life@paloma.exp.cl.nec.co.jpまで、Subject:に続けてsubscribe lifeと書いたメールをお送り下さい。

例. UNIX mailコマンドの場合

To: life@paloma.exp.cl.nec.co.jp
Subject: subscribe life

例. 日本語メールソフトの場合

宛先 life@paloma.exp.cl.nec.co.jp
件名 subscribe life

受付られると、利用の手引きがメールされます。

脱退も自由です。脱退を希望される方はSubject:に続けて unsubscribe lifeと書いたメールをlife@paloma.exp.cl.nec.co.jpまでお送り下さい。

なお、このメーリングリストは生命の起原および進化学会（SSOEL）会員によって運営されておりますが、学会とは独立な任意組織です。会員外の方も参加できます。

生命の起原および進化学会については、<http://www2.prf.or.jp/ssoel/default.html>をご覧ください。

生命の起原と進化に関するメーリングリスト

投稿先アドレス：life@paloma.exp.cl.nec.co.jp

コーディネータ：松野孝一郎
kmatsuno@voscc.nagaokaut.ac.jp
長岡技術科学大学

運営（問い合わせ先）：飯田一浩 iida@exp.cl.nec.co.jp
〒305つくば市御幸が丘34番地
NEC基礎研究所
電話 0298-50-1142, FAX 0298-56-6136.

1998～2000年度

「生命の起原・進化学会」

運営委員選挙人名簿

: 名前 : 勤務先

-
- | | | |
|----|-------|-----------------------|
| 1 | 相原惇一 | 静岡大学 理学部 化学科 |
| 2 | 赤星光彦 | 京都大学原子炉実験所 |
| 3 | 秋山雅彦 | 信州大学 理学部 地質 |
| 4 | 朝倉浩一 | 慶應義塾大学 理工学部 応用化学科 |
| 5 | 天野 洋 | 慶応大学 医学部 中検臨床免疫 |
| 6 | 荒川久雄 | |
| 7 | 有川良博 | 長岡技術科学大学 生物系 松野研究室 |
| 8 | 飯田一浩 | NEC基礎研究所 探索研究部 |
| 9 | 猪狩俊一郎 | 地質調査所 地球化学課 |
| 10 | 池田浩一 | 日本化薬(株) 高崎研究所 |
| 11 | 石神正浩 | 大阪府立大学 総合科学部 生命科学 |
| 12 | 石川洋二 | 大林組東京本社宇宙開発プロジェクト部 |
| 13 | 石田政弘 | |
| 14 | 石本 真 | |
| 15 | 磯山正治 | 蛋白質研究奨励会 資料室 |
| 16 | 板谷光泰 | 三菱化学生命科学研究所 |
| 17 | 伊藤雅彦 | 名古屋大学 太陽地球環境研究所 東山分室 |
| 18 | 糸島由起子 | 鹿児島大学 教養部 |
| 19 | 井上長三 | 昭和電工(株) 総合研究所 有機材料研究部 |
| 20 | 猪飼 篤 | 東京工大 理学部 生体機構 |
| 21 | 猪股勝彦 | 金沢大学 理学部 化学 |
| 22 | 居原 秀 | 大阪府立大学 総合科学部 |
| 23 | 今井栄一 | 長岡技術科学大学 生物系 |
| 24 | 上野陽里 | |
| 25 | 梅本公子 | 国際基督教大学 理学部 化学 |
| 26 | 浦田秀仁 | 大阪薬科大学 第2薬品製造学教室 |
| 27 | 海野和三郎 | |
| 28 | 遠藤 忠 | 青山学院大学 理工 化学 |
| 29 | 大内将吉 | 東京農工大学 工学部 物質生物工学科 |
| 30 | 大島泰郎 | 東京薬科大学 生命科学部 細胞機能学研究室 |
| 31 | 大西耕二 | 新潟大学 理学部 生物 |
| 32 | 大浜宏文 | 東京田辺製薬株式会社 研究開発本部 |
| 33 | 大矢雅則 | 東京理科大 理工学部 |
| 34 | 小笠原京子 | 大阪大学蛋白質研究所 |
| 35 | 小川洋子 | 三菱化学生命科学研究所 |
| 36 | 小沢幸重 | 日本大学 松戸歯学部 第2解剖 |

： 名前 ： 勤務先

37	笠松隆志	横浜国立大学大学院 工学研究科
38	加藤憲二	信州大学 医療技術短期大学
39	加藤隆幸	足利工業大学 共通課程化学研究室
40	加藤幹男	大坂府立大学 総合科学部 生命科学
41	上垣内文規	大坂府立大学 総合科学部
42	河合建一	京都大学原子炉実験所
43	川久保良治	埼玉県立鳩ヶ谷高等学校
44	川城克博	徳島大学 工学部 化工
45	川村邦男	大阪府立大学 工学部 応用化学科
46	川本圭造	京都大学原子炉実験所
47	菊池忠寿	
48	北崎茂樹	大坂府立寝屋川養護学校
49	寄藤高光	信州大学 農学部 農化
50	木野世紀	熊本県庁
51	木村真子	
52	金城政孝	北海道大学応用電気研究所 生理
53	久米啓子	徳島県庁
54	黒田 稔	
55	郷 通子	名古屋大学 理 生物
56	古賀理和	愛媛大学 工学部 応用化学科
57	古賀洋介	産業医科大学 医学部 化学教室
58	木暮ひとみ	
59	小島清嗣	オリンパス光学工業(株)
60	児島高和	日本曹達(株)小田原研究所 S C 研
61	後藤仁敏	鶴見大学 歯学部 解剖
62	後藤公彦	ヤマザキ学園 日本動物学院
63	小林邦彦	名古屋大学医療技術短期大学 理学療法学科
64	小林憲正	横浜国立大学工学部 物質工学
65	小宮弘之	名古屋女子文化短期大学
66	古宮正利	通産省工業技術院地質調査所 燃料資源部
67	斉藤 威	東京大学 宇宙線研究所
68	酒井鉄博	
69	坂本正義	(株) ジャルデー研究所
70	桜井邦朋	神奈川大学 工学部 物理
71	櫻沢 繁	長岡技術科学大学 生物系 松野研
72	佐藤圭子	東京理科大学 大学院

： 名前 ： 勤務先

73	佐藤七郎	岐阜経済大学 経済学部
74	佐藤哲也	東京農工大学 大学院
75	沢井宏明	群馬大学 工 高分子化学
76	重政好弘	鳥取大学 工学部 工化
77	穴戸弘子	
78	篠田洋幸	大阪府立大学 大学院 農学研究科
79	篠原久典	名古屋大学 理学部 化学科
80	芝 清隆	癌研究所 細胞生物部
81	島田秋彦	筑波大学 環境科学研
82	清水 晃	奈良女子大学 理学部 生物学教室
83	清水幹夫	宇宙科学研究所
84	下山 晃	筑波大学 化学系
85	寿岳 潤	
86	白井浩子	岡山大学 理学部附属臨海実験所
87	白倉徳子	筑波大学大学院 理工学研究科
88	杉原富人	新田ゼラチン中央研究所
89	鈴木範男	北海道大学大学院理学研究科 生態情報分子学講座
90	隅野照家	京都大学原子炉実験所
91	諏訪牧子	東京農工大学 工学部 物質生物工学科
92	高田実弥	京都大学原子炉実験所
93	高橋 詢	
94	多賀谷真	鹿児島大学 理学部 生物学科
95	田川邦夫	大阪大学医学部 分子生理化学
96	田口一雄	
97	宅間弘樹	大阪府立大学 総合科学部
98	武田哲男	
99	竹田真子	(株)住化分析センター筑波研究所
100	橘 秀樹	東京理科大学 大学院
101	田中亜希子	慶應義塾大学 理工学部 応用化学科
102	田中幹衛	大阪大学 教養部 生物
103	田中航二	大阪商業大学 一般教養
104	田中正寛	大阪医科大学 教養学部 物理
105	谷口茂彦	愛知学院大学 歯学部 生化学教室
106	為我井秀行	東京工業大学 理学部 化学科
107	樽谷 修	東京理科大学 基礎工学部
108	千浦 博	国際基督教大学 理学部 生物学教室

: 名前 : 勤務先

109	次田 皓	東京理科大学
110	辻 融	横浜国立大学大学院 工学研究科
111	土澤健一	長岡技術科学大学 大学院
112	都留信也	(社)環境情報科学センター
113	遠山 鴻	愛媛大学 理学部 生物学教室
114	等々力政彦	大阪大学 大学院
115	中川直哉	
116	中沢弘基	無機材質研究所
117	中嶋マサ江	東京純心女子高等学校
118	永田 宏	オリンパス光学工業(株)
119	長田洋子	姫路工業大学 生物
120	長野 敬	
121	中野長久	大阪府立大学農学部
122	中村和夫	宇都宮大学 教養生物
123	中村 運	甲南大学 理学部 生物学
124	中村 実	大阪府立大学 総合科学部
125	梨本正之	日本たばこ産業株式会社 生命科学研究所
126	奈良岡浩	東京都立大学 理学部 化学
127	西垣功一	埼玉大学工学部 環境科学工学
128	西 信之	九州大学 理学部 化学教室
129	二宮淳一郎	別府大学 生物
130	根平邦人	広島大学 総合科学部 生物
131	根本直人	三菱化学生命科学研究所 先端研究部門グループB
132	野田浩司	筑波大学 地球科学系
133	野田昭三	大阪学院大学 生物研究室
134	野田春彦	創価大学工学部 生物工学科
135	萩原正義	筑波大大学院 理工学研究科
136	橋爪秀夫	無機材質研究所
137	長谷 篤	大阪環境科学研究所
138	長谷川典巳	宇宙科学研究所
139	長谷川政美	統計数理研究所
140	早川 明	
141	原田 馨	松蔭女子短期大学
142	半田暢彦	名古屋大学 大気水圏研究所
143	日野精一	
144	平野聡伺	オロナイトジャパン

名前 : 勤務先

145	平林憲次	
146	平林 淳	帝京大学 薬学部 生物化学教室
147	福田育二郎	
148	福田俊一	
149	福原敏行	東京農業工業大 一般教養 生物
150	福村 隆	大阪市立大学 理学部 生物学
151	藤井紀子	工業技術院 生命工学工業技術研究所 生体情報部 神経情報研究室
152	藤谷英男	麻布大学 獣医学部 分子生物
153	伏見 謙	埼玉大学 工学部 環境
154	古澤 力	東京大学 大学院 総合文化研究科
155	古田弘幸	大分大学 工学部 一般教育
156	朴 真淑	三菱化学生命科学研究所
157	星野嘉恵子	新潟大学 医学部 第2解剖
158	法橋 登	先事館新潟研究所
159	本多 元	長岡技術科学大学 生物系
160	本多泰洋	鳴門教育大学
161	本波康由	東京電力(株) エネルギー環境研究所
162	牧野 純	(有)地質技術研究所
163	牧野良子	(有)地質技術研究所
164	松浦輝男	
165	松野孝一郎	長岡技術科学大学 生物系
166	松久明生	扶桑薬品(株)開発センター
167	真野勝友	筑波大学 学校教育部
168	水谷 広	石巻専修大学 理工学部 基礎理学科
169	水本博二	扶桑化学工業 開発部
170	三田 肇	筑波大学 化学系
171	宮川 伸	東京工業大学 工業材料研究所
172	宮崎正澄	名古屋大学 理学部 分子生物
173	宮田 隆	京都大学 理学部 生物物理学教室
174	宮田真人	大阪市大 理学部 生物学
175	宮本悦子	横浜国立大学大学院 工学研究科
176	三義英一	
177	胸組虎胤	小山工業高等専門学校物質工学科
178	村澤賢一	横浜国立大学 工学部 物質工学科
179	村田義夫	

： 名前 ： 勤務先

180	村山徹郎	愛媛大学 理学部 生物
181	桃谷好英	
182	森下日出旗	大阪生物環境科学研究所
183	森本史郎	
184	屋代彰子	
185	柳川弘志	三菱化成生命科学研究所
186	柳下 剛	
187	矢野隆明	昭和大学教養学部
188	山形行雄	金沢工業大学
189	山岸明彦	東京薬科大学 生命科学部 細胞機能学研究室
190	山岸皓彦	北海道大学 理学部 高分子化学科
191	山口智彦	通商産業省工業技術院 物質工学工業技術研究所 化学システム部
192	山腰信明	K. K. 帝国臓器製薬 化学研究部
193	弥益輝文	
194	山中健生	日本大学 理工学部 工業化学科
195	山中淳平	新技術事業団 橋本プロジェクト
196	山根 剛	
197	山元皓二	
198	山本和彦	
199	山本哲生	北海道大学理学部 地球惑星科学教室
200	湯浅精二	大阪大学 理学部 生物学教室
201	横尾広光	杏林大学 保健学部
202	横村英一	
203	横山裕文	北越製紙(株)新瀉工場
204	与座範政	九州大学 理学部 化学教室
205	吉岡秀佳	東京都立大学 理学部 化学科
206	吉田和夫	広島大学 理学部 生物化学教室
207	吉野大資	帝塚山学院大学
208	吉羽興一	
209	吉松広延	
210	吉村泰一	大阪府立大学 総合科学部大学院
211	四方哲也	大阪大学 工 応用生物学
212	和田敬四郎	金沢大学 理学部 生物
213	和田節子	電気通信大学
214	和田善信	マツスイ・マリンフード(株)

： 名前 ： 勤務先

215 若村和彦 長岡技術科学大学 生物
216 藁科宗博 大阪市立環境科学研究所

☆ 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>

名譽会長 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@HL.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3号

1997年9月20日 印刷
1997年9月25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 和泉出版印刷株式会社 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

Contents

- © Preface to the special issue on "Returning to chemical evolution in the context of evolutionary processes".
K. Matsuno (165)

ARTICLES

- © Formation and stability of amino acids in simulated submarine hydrothermal vent environments.
K. Kobayashi, M. Kohara, M. Dokiya and H. Yanagawa (167)
- © Kinetic investigations for the hydrolysis of adenosine 5'-triphosphate at elevated temperatures: Prospects for the chemical evolution of RNA
K. Kawamura, A. Yoshida and O. Matumoto (177)
- © A design principle of a flow reactor simulating prebiotic evolution.
K. Matsuno (191)
- © Toward a theory of the origin of boundary.
Y. P. Gunji and Ito (205)
- © Information theoretic approach for the analysis of genome sequences.
M. Ohya (223)

NEWS and VIEWS

- © Opening a discussion group on the internet.
K. Matsuno (247)
- © Membership list of the "SSOEL" Japan (1997). (248)