3PD017

無細胞自己複製系の自己維持能に及ぼす DNA 分子数の影響
○渋谷典広、山口宗義、松浦友亮、四方哲也、卜部格
(阪大、工、応用生物)

通常、生命は1分子あるいは数分子の遺伝情報をもとにライフサイクルを始める。この様な現象は生命活動を維持していくうえで果たして重要なことなのだろうか？ このことを理解するために、より単純化した系を用いることは有効である。我々は自己の遺伝情報に基づき複製するという特徴を持った無細胞自己複製系の構築を行ってきた。今回、この無細胞自己複製系を用いて、自己維持能に及ぼす DNA 分子数の影響を実験的に検証し、生命が成立し得るためのルールを探ることを試みた。

この系では、耐熱性酵素 Tth DNA ポリメラーゼ遺伝子から、*in vitro* 転写翻訳により、DNA ポリメラーゼができる。ここで複製された DNA 分子にはポリメラーゼによる複製ミスにより変異が入り、複製能の異なる自己複製体が現れる。

今回、我々はこの系を用いて試験管内分子進化を行い、進化的な動態を観察した。具体的には1分子と 10^2 分子に希釈したDNA溶液を10サンプルずつ用意し、それぞれを第一世代とする。このDNA溶液について自己複製反応を行い、反応後、各サンプルの溶液を混合し、再度1分子と 10^2 分子に希釈したDNA溶液を10サンプルずつ用意し、これらを次二世代とする。この操作を繰り返した結果、DNAを1分子に希釈した場合、自己複製系は酵素活性の多様性を高く維持しつつ、少なくとも10世代にわたって維持可能であった。一方、DNAを 10^2 分子に希釈した場合は、酵素活性の多様性は低く、系の維持は3世代目までにとどまった。

以上の実験結果は、自己複製系が維持され、かつ分子進化が起こるには1分子あるいは少なくとも数分子にまで情報分子が区画されることが不可欠であることを示しており、生命の起源に関する重要な概念を与えるものと考えられる。

N. Shibuya, M. Yamaguchi, T. Matsuura, T. Yomo, I. Urabe
Effect of DNA molecule numbers on sustainability of self-replicating system.

3PD019

海底熱水環境下でのオリゴアデニル酸の生成

○吉田 歩、今井栄一、羽鳥晋由、
本多 元、松野孝一郎
(長岡技術科学大学・生物系)

近年、化学進化における重要な場と考えられている海底熱水噴出孔の環境を実験室で再現したものが、進化フローリアクターである。進化フローリアクターは、高温・高圧環境と低温・高圧環境がノズルを介して接続された非平衡な反応システムである。この反応系は、高温・高圧部で起こった合成反応による生成物、低温・高圧部に噴出させることにより急激に冷却させ、分解を抑制することを可能としている。

この進化フローリアクターを用いて、アデニル酸の重合を試みた。生成物の分析はHPLCを使用した。反応出発物質として、アデニル酸(AMP)とピロリン酸の混合溶液を用いており、それ以外の鋳型、縮合剤は使用していない。高温・高圧部は 110°C ・24MPa、低温・高圧部は 0°C ・24MPaでそれぞれ一定とし、連続的に2時間行った。

採取された試料のHPLCによる分析では、二量体標準物質のRetention timeに相当する部分でピークが認められた。酵素処理による生成物の確認も行っており、アデニル酸の二量体が生成していると考えられる。現在、生成物の同定および定量を行っている。

A. Yoshida, E. Imai, K. Hatori, H. Honda, K. Matsuno :
Synthesis of oligo-adeninates in a simulated submarine hydrothermal system.

3PD018

海底熱水噴出孔を模倣した環境下での
オリゴペプチドの選択的合成

○尾形嘉昭、今井栄一、本多元、羽鳥晋由、松野孝一郎
(長岡技術科学大学・生物系)

進化フローリアクターは高温・高圧チャンバーと低温・高圧チャンバーとからなり、熱水を低温環境下に噴出させることで海底熱水孔の環境を実験室内に実現したシステムである。

既に我々は100mM Glyに10mM CuCl_2 を加えpH2.5に調整したものを原料にGlyの6量体までの生成を確認した。(高温・高圧チャンバーの温度 250°C 、低温・高圧チャンバーの温度 0°C 、圧力24MPa)

今回は異なった種類のアミノ酸のペプチド合成を目指し、実験を行った。原料は10mM Gly, 40mM L-Ala, 500mM NaCl, 10mM CuCl_2 として、リアクターの運転条件は、高温・高圧チャンバーの温度 250°C 、低温・高圧チャンバーの温度 0°C 、圧力24MPaとした、その結果L-Alaの3量体の生成が認められた。

L-Alaの3量体はL-Alaのみで進化フローリアクターを運転した場合には生成が確認できなかった。これはGlyを加えることによって何らかの触媒作用が働いたものと示唆される。

Y. Ogata, E. Imai, H. Honda, K. Hatori, K. Matsuno : Selective Synthesis of Oligopeptides in a Simulated Submarine Hydrothermal System

3PD020

海底熱水噴出孔を模倣した
進化フローリアクターの動作特性

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

海底熱水噴出孔は、アミノ酸などが重合しオリゴペプチドに変化してゆく際の重合反応エネルギー源として有力視される。そして、この海底熱水噴出孔の環境を模倣した進化フローリアクターが作成された。この装置は高温・高圧部と低温・高圧部が接続され、無脈流ポンプで出発物質であるグリシンを循環させることにより、オリゴグリシンが生成することが既に確認された。(引用文献①)

本報告では、進化フローリアクターの、運転制御条件と生成される重合物との関係に着目し、特に反応物質のサイクルタイム(フローリアクター内を一循環するに要する時間)を考慮すべき可変パラメーターに選んだ。今回は、出発物質はグリシンのみを用いて、高温・高圧部を 225°C ・24MPa、低温部を 0.1°C として行った。生成物としてジグリシンに着目し、サイクルタイムを変えると次のことが判明した。

- 1) サイクルタイムが小さくなるに連れ、生成物の自己増殖率が大きくなる。
- 2) サイクルタイムが大きくなるに連れ、生成される重合物の量は減少する。

①E. Imai et al. 1999. Elongation of Oligopeptides In a Simulated Submarine Hydrothermal System. Science 283, 831-833

M. Sato, E. Imai, H. Honda, K. Hatori, K. Matsuno : An Evolutionary Flow Reactor Simulating the Hydrothermal Environments on the Sea Floor