B725

熱水環境下での酢酸と蟻酸からの高次なカルボン酸の合成

○根本 淳史、池谷 良介、今井 栄一、羽鳥 晋由、本多 元、松野 孝一郎（長岡技大・生物）

酢酸と蟻酸は、水蒸気と二酸化炭素の混合気体を酸化銅と酸化亜鉛存在下で 1000 °C の高温で接触させると生成することが報告されている [1]。そこで本研究では、酢酸と蟻酸から二次もしくは三次のカルボン酸を得ることを目的として実験を行った。実験は、海底熱水噴出口の環境を実験室レベルで再現したフローリアクターを用いて行った。反応出発物質及び生成物の分析はすべて HPLC で行った。まず初めに、酢酸と蟻酸のみを純水に溶解させた溶液を 25 MPa の圧力下で 200 °C に加熱しノズルを介して 0 °C の環境に噴出させる実験を行った。しかし反応後の HPLC 分析では酢酸と蟻酸以外のピークは確認することができなかった。次に、5 mM の塩化銅とメタノールを加えて同条件の実験を行った。その結果、HPLC プロファイル (図) に未確認のピーク a, b が現れた。また、蟻酸が反応時間と共に減少していることが分かった (図)。そこで、5 mM の酢酸銅とメタノールを加えて同条件で実験を行ったが、酢酸と蟻酸以外のピークは確認することができなかった。しかし、蟻酸の減少は確認された。これらの結果は、熱水環境下で蟻酸や酢酸から高次なカルボン酸が合成された可能性を示すものである。[1] R.Terada et al, (1999) Viva Origino 27, 197-208

図. HPLCプロファイルと反応曲線

A. Nemoto, R. Ikeya, E. Imai, K. Hatori, H. Honda and K. Matsuno : A Pathway to Di- or Tri-carboxylic Acids from Acetic and Formic Acid under Hydro-thermal Environments.

B727

熱水環境におけるアラニンのラセミ化 — 金属イオンの影響

○堀江 美奈子、根本 淳史、今井 栄一、本多 元、羽鳥 晋由、松野 孝一郎（長岡技科大・生物系）

現在の生物体を構成しているアミノ酸は全て L-体である。L 体を選択するという不斉合成機構の存在が必要であると考えられる。そこで、海底熱水噴出口を模したリアクターを用いてアラニンのラセミ化を行った。アラニン溶液は、23 MPa の圧力下で、230 °C の高温にさらされた後、ノズルを介して 0 °C にまで急冷され、反応溶液は繰り返し高温・低温を循環させた。L-, D-アラニンそれぞれに異なる濃度の塩化ナトリウムを加える事により、溶液中のイオン強度によって異性体間に生じるラセミ化反応には差が生じることが判明した (図を参照)。アラニンのラセミ化反応には共存イオンが影響を与えると考えられる。そこで、L-アラニンおよび D-に数種の金属イオンを添加して同様の実験を行った。リアクター運転から 120 分後の L-アラニンのエナンチオマー過剰率は、金属イオンによって異なっていた。これは、金属イオンが豊富に溶け込んでいる海底熱水噴出口においては、その金属イオンの種類によって、アラニンのラセミ化に差が生じ易いことを示す。海底熱水噴出口を循環することにより、L-, D-アミノ酸のラセミ化における差が蓄積、増大していったと考えられる。

Figure. 100 mM Alanine with 50 mM Sodium Chloride

M.Horie, A.Nemoto, E.Imai, H.Honda, K.Hatori and K.Matsuno : Racemization of Alanine in Hydrothermal Systems - Contribution of Metallic Ions.

B726

細胞モデルとしてのリボソーム：遺伝子発現の促進効果

○濱田 勉¹、野村 M. 慎一郎²、湊元 幹太³ (¹京大院・理、²東京医歯大・生材研、³三重大・工)

近年、細胞サイズのリボソームを用いた細胞モデルに関する研究として、その内部への生体高分子や生化学反応系の封入が数多く試みられているが、DNA→RNA→タンパク質という一連の遺伝子発現プロセスの封入は、現実の生物により近い細胞モデルの構築をめざす上で必要であろう。我々は in vitro 転写翻訳反応溶液を用いた静置水和法により細胞サイズのリボソームを形成し、Green Fluorescence Protein (GFP) 合成反応の観測を行った。蛍光顕微鏡観察の結果より、反応開始数時間後ではリボソーム内部の GFP 蛍光強度が外部のバルク溶液中に比べて高い事を発見した (図)。またレーザー共焦点顕微鏡を用いた測定から、リボソーム内部の GFP 濃度は外部バルク溶液中の濃度の約 10 倍になることが見積もられた。これは、リボソーム内部の細胞模倣空間でタンパク質合成反応が促進されていることを示しており、膜で区画された微小空間の特異性を示唆する興味深い結果である。本発表では、この実験結果の報告と反応促進効果の原因についての議論を行う予定である。

図: (上) 反応開始から3時間後におけるリボソーム内外で合成された GFP の蛍光 (fluorescence) 顕微鏡像と暗視野 (dark-field) 顕微鏡像。 (下) 上面像の点線部分の断面での光強度分布。リボソーム内部の GFP 蛍光強度が外部バルク溶液中よりも高い事から、膜内部の GFP 合成反応が促進されていることが分かる。

T. Hamada, S.-i. M. Nomura and K. Tsumoto : Gene Expression within Cell-Sized Liposomes

B728

アミノ酸重合における脂肪酸と小胞構造の役割

○古内 亮、今井 栄一、本多 元、羽鳥 晋由、松野 孝一郎（長岡技大・生物系）

我々は原始地球上においてアミノ酸の重合の場として海底熱水噴出口に注目し、その環境を模倣した進化フローリアクターを用いてアミノ酸重合実験を行ってきた。その反応系の中でより局所的な反応の場としてリン脂質が自己形成した脂質二分子膜ベシクルに注目し、ベシクル存在下では非存在下に比べグリシンオリゴマーの生成が増加することを確認してきた。本実験ではより原始的な条件を考え、リン脂質の構成要素であり、前生物学的合成が容易な脂肪酸を用いグリシンの重合実験を行うことにした。実験には飽和脂肪酸のデカン酸、不飽和脂肪酸のオレイン酸を用いた。実験は脂肪酸ベシクルを含むグリシン溶液、脂肪酸を含まないグリシン溶液、界面活性剤を用い脂肪酸ベシクルを壊したグリシン溶液をそれぞれ、高温 200 °C、低温 25, 40 °C、圧力 22 MPa の条件下で 2 時間反応させた。反応生成物の生成量を比較すると、脂肪酸ベシクル存在下の方が脂肪酸非存在下に比べ、オリゴマー生成量が多いことが確認された。また、ベシクルを壊した時よりもベシクル存在下の方がオリゴマー生成量が多いことがわかった。この結果は脂肪酸ベシクル内部がグリシンの重合に有意に働くことを示唆する。

Fig1. The yields of diglycine in the presence and absence of oleic acid vesicles

R.Furuuchi, E.Imai, H.Honda, K.Hatori and K.Matuno : Role of fatty acid and its vesicle structure in oligomerization of amino acids