綜 説

原始タンパク質模型

東京大学 農学部 大 島 泰 郎*

生命の起源

地球上における生命の起源について、今日、Oparin,¹⁾ Haldane²⁾ によって40年ほど前に提唱された自然発生の仮説が支持されている。すなわち、原始地球を包んでいた大気を構成する物質が相互に反応し合って、簡単な有機化合物——原始有機物を作り、次第に複雑な化合物、高分子物質、それらの複合体の形成へと進み、やがて地球上の最初の生きた細胞を作りあげていったと考えている。この生命の発生にいたる化学的過程は、最初の生物以後ヒトにいたる進化の過程に対応して、化学的進化 (chemical evolution) と呼んでいる。化学的進化の過程を実験的に証明し、その機構を解明しようとする試みは、Calvin たちが最初であった。数年のちに、原始大気圏模型の中で放電を行なって、有機酸やアミノ酸が生成することを示した Urey-Miller^{4,5)} の実験は深い関心呼びおこし、以来、最近の15年間に化学的進化の諸過程を実験的に証明し、解析しようとする研究が増えている。特に近年、宇宙開発と関連して、他天体上の生命の発見の可能性を考える上からも深い関心が寄せられている。また、すでに Bernal⁶⁾ も指摘しているように、この問題が、生物学、生化学、化学、物理学、地球物理学、地質学、古生物学などの各分野の密接な協力を必要とする典型的な境界領域のテーマであって、原始地球環境、古い岩石、いん石中の有機物についての知見、分子レベルでの遺伝、調節機構の解明など各分野での最近の進展が相互に刺激し合って、この問題にとり組む研究者を増加させている。

地球の誕生した時期は今から約45億年前⁷⁾、一般に信じられている最新値は、 4.75×10^9 年である。最初の生物の出現の時期も正確には分からないが、 2.5×10^9 年

以前の岩石にも生物の存在した証拠があり、よく調べられている 2×10^9 年前の岩石中の化石は、藍藻類に属するものと思われ、すでに相当に高等なので、最近では生命の出現を30億年以前、おそらくは、今から35億年前ごろと考えるようになった。⁸⁾ そして、すぐに32億年前の古い岩石中に単細胞生物の化石らしいものがみつかり、この推定は一般に信じられるようになっていく。⁹⁾ したがって化学的進化の時代は、地球が生まれてから最初の12億年間と考えられ、従来の推論よりずっと短かくなってしまった。

新生地球の大気を形づくっていた簡単な気体分子から生物学的に有意の化合物を合成する反応は、実験室で容易に再現できる。この生命に向かっての、地球上での化学反応の第一歩の部分には、実験研究者が集中していて、現在までに、原始地球模型に各種のエネルギーを与えて、多種の糖、有機酸、アミノ酸、炭化水素、塩基、ヌクレオシド、ヌクレオチド、ポリフィリンなどの合成が多数報告され、実験的に Oparin—Haldane^{11,12)} の仮説が基本的には正しいであろうことが示された。原始大気の由来と組成については現在でも論争があり、これらの実験には検討を要する点もあるが、生命の発生を考える上では、“生命を構成する素材として必須と考えられるすべての有機化合物の合成が、原始地球のどこかで、極めて簡単にかつ短時間のうちに起こっていた”と結論して差し支えない。

こうして、実験の対称も、構成素材の合成から、高分子による複合体形成と調節機構の出現を再現しようと試みるのが中心となりつつある。この過程がどのようなものであったかについては、多くの仮説があるが、そのうち、偶然説、自己複製に必要な酵素を作りだせるような情報をもった DNA 分子と、合成に必要な酵素分子の複合体が、全くの偶然によって生じたとする考え方は、¹³⁾ 実験の対象になり得ないし、その確率もあまりに低いので一般に受け入れられていない。基

Primitive Protein Models;

* Tairo OSHIMA: Department of Agricultural Chemistry, The University of Tokyo.

本的には、原始有機物から高分子による複合体形成、調節機構の出現、そして最終的には生きている細胞に至る過程には、偶然という要素は不必要で、連続した必然的な過程であった。したがって、実験室において各過程を再現することが可能であるとの考えに立ちたい。また、今日の細胞の中で重要な役割を果たしている物質、またはその近縁の物質が、化学的進化の出発物質であり、生命の発生に向かっての過程のなかでも、細胞内と似た機能を果たしてきたと考える“生化学的相似の原則”にたつてよいであろう。そうすると10億年にわたった化学的進化の時代の主役は、今日の生化学からの知識からいって、タンパク質と核酸の2つの高分子物質であったとしてよい。この2つの高分子の出合いが、多くの仮説で最も苦しい点であるが、これを比較的あとに起こったこととして、それ以前に原始スープの中でポリペプチドが触媒として、あるいはミセルを作って、特異性をもった反応の場を与え、その反応を通じて、次第に化学的にも空間的にも秩序を獲得していったとする考え方が多い。そのような立場から、原始タンパク質に関する最近の研究を紹介したい。

原始タンパク質の生成

原始タンパク質がどのようにして生成したかについて現在のところ定説はない。一般には、上述の原始アミノ酸が、特定の環境下で重合したものと考えられている。地球上の最初のポリペプチドの合成には、今日の生物体が行なっているような活性化の機構、すなわち、アミノ酸のアシル化を経るような系は考えにくく、もっと簡単でなければならない。同様に、人工合成法のほとんどが、反応が複雑な上に非水溶媒を用いているので、そのような機構は考えられない。原始地球模型を作って、放電したり照射したりした実験で、生成物中にポリペプチドを検出している報告も少なくない¹²⁾が、アミノ酸から出発したものの中で、一番簡単な系は、次項で紹介する熱縮合反応であろう。同じような考え方としては、原始地球上に存在していたと思われる縮合剤を利用することで、たとえば、ポリリン酸の存在下、アミノ酸の水溶液を加温したり¹¹⁾、シアナムドの存在下 uv 照射¹⁵⁾して、ペプチドの合成が観察されている。このような系から合成される分子は当然 α -ペプチド結合以外の結合を含んでいたり、 α -アミノ酸以外の化合物も、反応液中に存在すれば、生成物にとりこまれてしまう。こうしてできた化学的に特異性の低い原始ポリペプチドが触媒となって、発エルゴ

ン反応とアミノ酸の会合反応が共進し、もっと特異性の高い第2次原始タンパク質が合成される機構を想像することもできるが、それより第1次原始タンパク質そのものに、始めから化学構造上のある程度の秩序があったと考えられないであろうか。このような立場からは、原始タンパク質は、アミノ酸から生成したのではなく、Urey-Miller 型実験などで、アミノ酸の合成に至る途中に存在している中間活性体の重合で、直接ポリペプチド鎖ができて、これに多種の置換反応で、各アミノ酸残基が側鎖として導入されたという考え方がある。この考えは、最初赤堀により、15年も昔に提案¹⁶⁾されている。下式に従い、アミノニトリルからポリグリシンの合成を行なっているが、収量の点で問題

があった。¹⁷⁾また、ポリグリシンへの側鎖の導入も、実験的に証明された。¹⁸⁾Oro¹⁸⁾も、同じ考えで、シアンから中間活性体を経てポリグリシンが合成されることを証明した。²¹⁾その重合度、収量は悪くないが、反応がアンモニア・アルカリ液である点、原始環境としては一般的でない⁴⁹⁾ので問題がある。この考えに基づく実験は最近も行なわれている。¹⁹⁾同様な実験としては、活性中間体の1つであるアミノシアノメチレンの重合反応からのポリグリシンの合成が提案され²⁰⁾(次式)実験が行なわれている。

この種の反応を原始ポリペプチド合成の機構とすると、主鎖が α -ペプチド結合のくり返しになるだけでなく、1分子のなかでは側鎖の configuration すなわち各アミノ酸残基の光学活性を同じにする機構が考えられるので、生成するポリペプチドの化学構造上の特異性は高く、今日のタンパク質と区別のつかないものが得られる可能性がある。この可能性は赤堀によって指摘されている¹⁶⁾し、上記アミノシアノメチレンの重合反応でも、中間の重合体が α -ヘリックスを形成し、

この段階で側鎖の導入がおこると、1本の鎖を通して、側鎖はすべて外側から附加して同じ光学活性となる。この場合、右巻きのヘリックスからはL型のアミノ酸が生ずる。残念ながら現在まで、この方法から多量のポリマーを実験室で得るに至っていないので、こうして生じたポリペプチドの性質や構造は調べられていない。

プロテノイド

現在、原始タンパク質模型としてよく用いられているのは、アミノ酸の加熱縮合体である。通常、単一のアミノ酸を加熱していても、分解反応がおこってタール状の物質を残すのみで重合反応は起こらない。しかし、各アミノ酸の混合物を、無酸素下で150°Cから200°Cに加熱すると高分子物質を生ずる。特に、グルタミン酸やアスパラギン酸を多く加えておくと、分子内脱水反応をおこして、たとえばグルタミン酸は、焦性グルタミン酸に変わり、融点が低くなり(m.p.=162°C)このため液化した所へ他のアミノ酸がとけこみ、会合反応は能率よく、系も均一となって都合がよい。この結果生じたアミノ酸の重合体は、主にポリペプチドから成っていて、化学構造の上からは、タンパク質に類似の物質といえるので、これをプロテノイド Proteinoid と呼んでいる。プロテノイドの生成条件は簡単で、その生成条件は火山の周辺などを考えれば原始地球の上で得られるので、少なくとも、プロテノイドが生成する機会があったと考えられる。さらに、プロテノイドを作るのに、水の沸点以上に高い温度にしなくとも適当な脱水剤の存在下、低い温度で同じ化学反応をおこすことができる。事実、原始大洋の中に相当量の存在が予想されているポリリン酸の存在下では、アミノ酸の混合液を100°C以下に加熱するだけで、プロテノイドが得られている¹¹⁾。プロテノイド生成の反応が、原始タンパク質生成の主たる機構であり、原始タンパク質の大部分がアミノ酸の加熱縮合体であったという主張には批判もあり、現状ではどちらとも判定できないが、地球の若い時代の海の中に、ある程度の量プロテノイドに似た化合物が存在していたことは否定できない。

プロテノイドの化学構造を調べていると、予期に反して、アミノ酸はそれほどランダムに並んでいるのではなくある程度規則性があるらしいことが分かった。たとえば、図1は、プロテノイドの試料をDEAEのカラムで分画した例で、プロテノイドはブロードな分

図1. プロテノイドの分画²⁵⁾

表1. プロテノイド分画物の比較^{a)}

	アミノ酸組成 Glu:Asp:その他 ^{b)}	分子量
未分画, 原材料プロ テノイド	6:29:13	—
ピーク 3 ^{c)}	6:28:14	4070
4	5:28:13	5160
5	6:50:16	5800

a) Fox らの実験による²⁵⁾.

b) 重量比。

c) 図1の3, 4, 5に相当。

布を示さずいくつかのピークに分けられた。各ピークのアミノ酸組成を表1にまとめたが、それぞれはまた分子の大きさも均一になっていて表1中に示したような値となった²⁵⁾。さらに、これら3つのフラクションを、部分水解した所、3者に共通したペプチドが存在することも分かり、これらの結果を総合して、ある一定のアミノ配列はとり易く、またプロテノイドは、その結果、全くヘテロな分子の集りではないことが考えられる。事実、プロテノイドの末端にくるアミノ酸もまた、ランダムに分布していなかった²⁶⁾。

このような規則性がどのような機構によって生ずるのか分かっていないが、モノマーとしてのアミノ酸の物理化学的な性質や相互の立体的な関係に由来する普遍的なものと考え、プロテノイドの反応に固有のものでないとなると、原始タンパク質がどのような機構から生じたものであっても、その化学構造は、プロテノイドによって代表させてよいと考えられる。そこで、原始タンパク質生成の機構とは別に、いったん生成した原始タンパク質の原始スープの中での役割を調べるには、実験室で高重合度のものが、短時間にしかも大

表2. プロテノイドのアミノ酸組成

	プロテノイドの種類			
	a) 27)	a) 27)	b) 28)	b) 28)
	1:1:1	1:1:10	2:2:1	2:2:4
Asp	69.1% ^{c)}	26.5	69.2	42.1
Thr	trace	0.9	—	—
Ser	trace	0.5	—	—
Glu	16.0	18.6	13.9	12.6
Gly	0.7	8.3	1.2	3.8
Ala	1.3	7.4	2.3	4.3
Val	0.9	4.3	0.8	1.7
Cys	trace	0.2	1.2	2.7
Met	0.7	4.0	0.9	2.7
Ile	0.8	5.1	0.9	2.1
Leu	1.1	3.8	0.8	2.0
Tyr	0.6	3.6	0.5	2.2
Phe	0.8	9.5	1.1	4.0
Lys	4.2	0.3	1.9	6.2
Ais	1.1	0.7	0.9	2.4
Arg	1.2	0.3	0.8	2.4
X ^{d)}	1.5	4.3	—	—

- a) 1:1:1, 1:1:10 はそれぞれ合成の出発材料中のアミノ酸の比で (L-Glu: L-Asp: その他の16種のL-アミノ酸の等モル混合物) の重量比を表わす。高分子部分は部分的に精製してある²⁷⁾。
 b) 出発材料中のアミノ酸の混合比で表わし方は a) と同じ。部分的精製は a) と異なる方法²⁸⁾。
 c) 全アミノ酸に対する重量比で示した。Pro. と Try. は分析していない。
 d) アミノ酸分析機のグラフ上に表われたニンヒドリン陽性・未同定物質三種の全量をロイシン相当で示した。

量に得られるプロテノイドを原始タンパク質模型として用いて実験をすすめていってよいと考えられる。もっとも、現在は、プロテノイドが実際に原始タンパク質の主たるものであったと考えている人も多い。

プロテノイドのアミノ酸組成は、加熱する材料のアミノ酸混合物中の量比に左右される。したがって、ある程度まで、アミノ酸組成を自由に調節できる。この点は、原始タンパク質模型として用いる時、都合のよい点で、こうしてたとえば、リシンの多いプロテノイドを作って、ポリヌクレオチドとの相互作用を見ることができ。タンパク質を構成している18種のアミノ酸 (Gln, Asn は Glu, Asp と同じに数えて) の混合物を出発材料とすると、とりこまれる量に差はあるが、すべてがポリマーの構成成分となる。出発材料を変えると表2に示したように、アミノ酸組成が変化する。

プロテノイドは、 α -ペプチドのみでなく、Asp のようなアミノ酸では β -カルボキシル基も反応に加わっているし、リシンでは ϵ -アミノ基から分岐している²⁹⁾。

しかし、いろいろなプロテアーゼの作用をうけるので、非天然型の結合は、それほど多くはないらしい。また、 β -アラニンのような、今日のタンパク質の構成成分でないアミノ酸もとりこんでしまうから、このような非天然型の結合や β -アミノ酸を排除する機構を考えないと、プロテノイドを原始タンパク質の主たるものであったとすることができない。出発材料に、光学活性のアミノ酸を用いると、とりこまれたアミノ酸は必ずしもラセミ化しないで、光学的性質を保っている。また、表2に示したように、プロテノイドを作るのには、Glu. と Asp. を多く加えておく反応の能率がいいので、その結果、これら両酸性アミノ酸の存在量が異常に多い。また、表中第2列のように、18種のアミノ酸の混合比を平均に近づけても、酸性アミノ酸のとりこみは多い。Fox は今日のタンパク質の構成アミノ酸を比較すると、やはり Glu. と Asp. が最も多い構成アミノ酸で、このことは、今なおプロテノイド時代の性質の反映であり、逆にプロテノイドが、今日のタンパク質の直接の祖先である証拠だとしている²⁵⁾。

プロテノイドの分子量は、合成の条件により左右されるが、一般に3,000から9,000程度、加熱時間を短くすると(約90分)、18種のアミノ酸をほぼ平均に混合した材料からは、3,000程度である。文献のうちで、最大のものは100,000である³³⁾。前に DEAE カラムによる分画の例を示したが、プロテノイドはタンパク質³²⁾と同じように挙動するので、塩析により分画できる外、TCA やリンモリブデン酸などで沈澱するなどがみられている。

ミクロスフェア

プロテノイドの性質について概要を記したが、原始タンパク質模型の立場からは、さらに2つ興味深い性質がある。その1つは self assembly である。プロテノイドは加温した水にはよくとけるが、冷却すると一部が沈澱になって析出する。その沈澱は、径が2 μ 程の大きさの粒子で、プロテノイド・ミクロスフェアと呼んでいる。プロテノイド・ミクロスフェアは、かつて Oparin の提唱したコアセルベートにも似ているが、より境界膜をはっきりして、図2に示すように細菌の細胞に似ている。その外膜を電子顕微鏡で調べると二重膜構造をとっていると報告されている。その数も、Fox の計算では1gのプロテノイドから10⁸個にもなるといわれている。この現象は、生成の条件が簡単で、原始海洋や湖の中で容易に起こったと考えら

図2. プロテノイド・ミクロスフェア
(Fox による^{23,30,34})

れる。ミクロスフェアは遠心して集められるし、集めた沈でん部分を再び温水にとかして冷却すると同じようなミクロスフェアがとれるので、こうして、ミクロスフェアを作りやすいプロテノイド分子を部分的に精製することができる。少し外液のpHを上げると、ミクロスフェアはその中にとりこんでいたプロテノイド分子を放出し紫外ケンビ鏡下に、その内部が透明化する。その外、ミクロスフェアは、コアセルベートと同様に外界の条件に対応して、いろいろな物質をとりこんだり放出したりする。³⁶⁾ Zn をとりこませたプロテノイドからミクロスフェアを作り、遠心してミクロスフェア部分を集めると、ATPase 様の活性があった。^{11,32)} ミクロスフェアを作るプロテノイド部分に、リビドを与えて膜模型が作れるかどうかという問題はまだ報告がない。

ミクロスフェアは、増殖に似た現象を示す。プロテノイド・ミクロスフェアが、プロテノイド溶液中で数の増加があることが報告されている。³⁷⁾ また、ミクロスフェアを放置していると発芽に似た現象があり、次第に成長してのち分裂する現象が見られる。(図2. 下段は分裂直前の写真である。) この芽を分離して別のプロテノイド飽和溶液に移して、これが成長して、普通の

大きさのミクロスフェアになることも観察されている。³⁸⁾ この見かけの generation time は約1週間である。このような現象は、コアセルベートにおいてもみられている。^{1,39)} プロテノイドが、ある程度の homogeneity から成っていて、その結果 self-assembly の現象がミクロスフェア形成の原因とすれば、その成長は結晶の熟成と同じ現象であろう。“増殖”も結晶の種を植えた場合と同じ現象として理解できる。

触媒作用

プロテノイドの触媒としての活性については、この2～3年いくつかの研究室からの報告が相次いでいる。⁴⁰⁾ 現在までに報告された活性は、グルクロン酸の脱炭酸、⁴¹⁾ オキザロ酢酸の脱炭酸、^{42,43)} ビルビン酸の脱炭酸といった脱炭酸反応、⁴⁴⁾ グルコースのグルクロン酸への酸化反応、^{45,46,47)} アミノ基の転位反応、それに、p-ニトロフェニル酢酸を基質とするエステラーゼ様活性、^{11,32)} ATP や p-ニトロフェニルリン酸を基質とするフォスファターゼ様活性といった加水分解反応などがある。ここでは、リン酸エステルに対する水解反応の触媒活性を中心に、その触媒化学的性質を述べる。

リン酸エステルとして、フォスファターゼ測定に用いられる基質 p-ニトロフェニルリン酸を用いて、プロテノイドに加水分解の触媒活性があるかどうかみてみると図3のようになる。プロテノイドは、自然分解に比べて著しく反応を促進する。

図3. リン酸エステルの加水分解速度

—○— は 3.3ml の $3 \times 10^{-2}M$ トリス緩衝液中に p-ニトロフェニルリン酸 $3.3 \mu mole$ 、プロテノイド (平均分子量 3,000) 0.9mg を含む。
—●— はプロテノイドなしのコントロール

プロテノイドの代りに相当する量のアミノ酸の混合物やプロテノイド自体の酸水解物を与えても、この触媒活性はみられない*。反応速度は、与えたプロテノイドの量に対し比例している。また、時間を長くしていると、与えたプロテノイドのなかのアミノ酸残基のモル数以上のリン酸エステル結合が分解されているので、少くとも反応が化学量論的におこっているのではなく、プロテノイドが触媒として作用していると結論できる。

このようなプロテノイドの触媒活性は、反応機構の上からみて今日の酵素の触媒とどのような関係があるであろうか。表3は、金属イオンの影響をみたものである。

表3. 2価金属イオンの触媒に対する影響

	プロテノイド	アルカリ・フォスファターゼ ⁽⁴⁸⁾
Mg ⁺⁺ の至適濃度	10 ⁻⁵ M	10 ⁻² M
Zn ⁺⁺ の至適濃度	10 ⁻⁶ M	10 ⁻⁵ M
Zn ⁺⁺ 10 ⁻⁴ M の影響	阻 害	阻 害
Ca ⁺⁺ の至適濃度	10 ⁻³ M	10 ⁻⁵ M
Cu ⁺⁺ 10 ⁻³ M の影響	失 活	失 活
EDTA 処 理	失 活	失 活

代表的なフォスファターゼである牛乳中のアルカリ・フォスファターゼと比較してあるが、プロテノイドが同じように、Zn⁺⁺, Mg⁺⁺ など2価金属イオンの適当な濃度で賦活化され、高濃度では阻害をうけている。E. coli のフォスファターゼは、Zn⁺⁺ を含むタンパク質であり、Zn⁺⁺ の除去で失活することが知られていることともよく一致している。また特異性の高いフォスファターゼである ATPase が、2価金属イオンを必要とすることとも一致し、さらにプロテノイドの ATPase 様活性、すなわち、ATP を基質としたリン酸エステルの加水分解に対する触媒活性は Zn⁺⁺ イオンを必須としている⁽³²⁾。阻害剤に対する影響は表4に示した。プロテノイドの触媒活性は、フォスファターゼ一般に強く阻害的に働く無機リン酸イオンやヒ酸イオンによって完全に失活する。同様に、アルカリ・フォスファターゼの阻害剤であるシステイン、CN⁻イオンや、やはり代表的なフォスファターゼであるセツ護

表4. 酵素阻害剤のプロテノイド触媒におよぼす影響

阻 害 剤	濃 度	活 性
リン酸ナトリウム	1×10 ⁻² M	10%
ヒ 酸 ナ ト リ ウ ム	1×10 ⁻²	0
NaF	1×10 ⁻²	25
KCN	1×10 ⁻²	63
シ ス テ イ ン	1×10 ⁻²	10
エ タ ノ ー ル	1×10 ⁻²	80
NaN ₃	1×10 ⁻²	92
ヨ ー ド 酢 酸	1×10 ⁻³	87
p-CMB	1×10 ⁻³	87

腺のフォスファターゼの阻害剤である F⁻イオンにより強い阻害をうけている。一方、これらフォスファターゼを阻害しないアザイドやヨード酢酸ではあまり強い阻害をうけていない⁽⁴⁸⁾。これらの金属イオンや酵素阻害剤による活性化や失活は、代表的なフォスファターゼのそれとよく一致しており、このことからプロテノイドのなかには今日のフォスファターゼの活性中心部位とよく似た構造をもった分子が存在していて、それらの分子が触媒活性の発現に寄与していると推論できる。逆にいえば、アミノ酸が熱重合する時、できやすいアミノ酸配列の中には、フォスファターゼの活性中心付近に似たものがあるであろうという推測である。プロテノイドの p-ニトロフェニル酢酸を基質とするエステラーゼ様活性においては、一般のエステラーゼの活性中心にある Ser の修飾剤 DFP により、強い阻害をうけ、ニトロソアセトンなどによって活性化された⁽⁴⁷⁾。この結果は、プロテノイドの触媒活性の発現が酵素の活性中心部位と似たペプチド構造に由来するという上の推論を支持している。図4は、フォスファターゼ様活性の pH に対する依存性を示したものであるが、この図から、まず、プロテノイドの触媒活性がアミノ酸残基の解離状態に依存していることが推論される。また図4にはアルカリ側に肩がみられ、用いたプロテノイドが、pH 6.5 附近を至適 pH とするものと、8.0 附近のものと少なくとも2種の触媒活性をもった分子種の混合物であることを示唆している。ミクロスフェアの ATPase 様活性は pH 5.8、ピルビン酸の脱炭酸反応は pH 8.3 をそれぞれ至適条件としている。プロテノイドの触媒活性が中性付近で至適なことは、中性で比較的安定な物質の「淘汰」が原始スー⁽⁴⁹⁾プ (pH 8.0 前後と推定されている) の中に触媒活性をもったポリペプチドが出現した時から始まったと考え

* 厳密には、グリシンなどアミノ酸やさらに一般には NH₂基をもった化合物は僅かながらリン酸エステルを加水分解する触媒作用があるが、図3に示した実験条件のもとでは計算上15日位後にならないと自然分解と区別できないほどである。

図 4. プロテノイド触媒活性の pH 依存性
用いた緩衝液は

- が酢酸
がヒスチジン、
がトリス
がグリシンである。

表 5. プロテノイドの調整法による触媒活性の変動

分子量による分画	重合反応に用いたアミノ酸の混合比		
	1 : 1 : 1 ^{a)}	1 : 1 : 10 ^{a)}	2 : 2 : 2 : 1 ^{b)}
1,500—2,500	380 ^{c)}	705	320
2,500—4,000	330	2590	800
4,000 以上	—	2820	700

- a) L-Asp:L-Glu: その他の16種の L-アミノ酸の等量混合物の重量比
b) L-Asp:L-Glu: その他の16種:L-His の重量比
c) 活性は $\text{m}\mu\text{ moles/day/mg}$ で示した。

ることができる。

プロテノイド中の触媒活性分子を精製することが考えられるが、この点はあまり試みられていない。プロテノイドが全くランダムな分子の集りではないといっても、相当にヘテロな系であって、活性分子の精製は困難である。フォスファターゼ活性の場合は、表5のように縮合反応に用いるアミノ酸の混合比を変えるとできてくるプロテノイドの比活性が上げられる。これは、活性分子の増加によるものであろうから、こうして初めに濃縮して出発すれば、ある程度の成功は期待できる。同様な現象は、他の触媒活性の場合も観察されているが、特にアミノ基転移反応では、活性の高い Lys. を多く含んだプロテノイドを CMC カラムで分画して、9つの画分に分けた。このうち、アミノ基転移活性は3つの画分にしか存在しなかった。⁴⁴⁾

表 6. 基質との親和性の比較^{27,44)}

触 媒	基 質	Km (M)
プロテノイド・フォス ファターゼ ^{a)}	p-ニトロフェ ニルリン酸	1.4×10^{-4}
アルカリ・フォス ファターゼ (<i>E. coli</i>)	p-ニトロフェ ニルリン酸	1.2×10^{-5}
酸性フォス ファターゼ (セツ護腺)	p-ニトロフェ ニルリン酸	3.4×10^{-5}
プロテノイド・トランス アミナーゼ ^{b)}	α -ケトグルタ ル酸	2.9×10^{-4}
Glu, オキサロ酢酸 トランスアミナーゼ	α -ケトグルタ ル酸	1.0×10^{-4}

- a) 部分精製標品, 分子量 2,500—4,000
b) リシンのみからなるプロテノイド, すなわちリシン加熱重合体, アミノ基供与体は尿素

プロテノイドの触媒活性の各性質のうち、特異性は化学的進化を考える上で、特に興味深い。しかし、プロテノイドの触媒としての活性は、酵素よりずっと低いので鋭敏な検出法のある活性測定法しか使えず、基質も限定されてしまう。この為、特異性に関する研究は少ないが、フォスファターゼ活性については、メチルフルオレッセインリン酸も基質となり、ニトロフェニルリン酸と比べて $\frac{1}{6}$ の速度で加水分解された。フォスファターゼ様活性を示す場合の p-ニトロフェニルリン酸に対する親和性を酵素のそれと比較するために、表 6 に Km を示した。フォスファターゼ様活性では、Km にして 1 ケタほどプロテノイドの方が親和性が低い。リシンを多く含んだプロテノイドは、アミノ基の転移反応を触媒するが（特に、リシンの加熱重合体が一番活性が高い）アミノ基供与体、受容体共に特異的でなく、 α -ケト酸から生成した Glu. はラセミ体であった。⁴⁴⁾

化学的進化

原始タンパク質が従来考えられていたようなヘテロな分子の集りでなく、アミノ酸配列の上で一定の規則性があることは、調節機構の出現の上で手掛りを与えたことになろう。原始スープの中の化学反応に秩序を与えること、すなわち、広い意味での調節の出現を考えることは、一種のニワトリとタマゴの問題であって、最初から、何か秩序ある構造をもった物質の存在、または、秩序ある構造を生みだすような秩序ある反応が必要となる。この意味で、主鎖の結合様式が、 α -ペプチドに限定され、その上、すべてのアミノ酸残基の光学活性が同じになるペプチドの非生物的合成が考えられただけでなく、さらにその中でのアミノ酸残基の並

びに規則がある可能性がでてきたことは、一定の空間構造の上での特異的な反応の存在を予想させる。このアミノ酸配列の規則性はモノマー同志、できかかっているペプチド鎖とそれに附加しようとするアミノ酸モノマーとの間、それにのびつつあるペプチド鎖同志の複雑な相互作用の結果であろうが、どのようなものかよく分かっていない。このような規則性の存在を予想させる結果はかなり古くからあり、たとえば、Dotyらはアミノ酸がペプチド鎖の末端に附加して鎖が順次のびる時に、すでにできているペプチド鎖の長さによって附加の速度が異なってくることを観察しているが、合成ポリペプチドの一次構造の規則性にまでは手をのばしていない。一次構造の規則性を調べて、その結果から原始タンパク質の構造を考えようと実験したのは、Steinmanが行なっていて、その結果、たとえば Glyの次には、Gly:Ala:Leuの順で続きやすく、その反応速度の比は10:5:3.5であった。また、LeuはGly-Glyの次に続いて附加・重合する方が、Gly-Leuの次につくより速く反応がすすみ、その比は14:10⁵¹⁾であった。こうして、一次構造の上での一定の傾向が、一定の空間的構造をとりやすくし、一方ではミクロスフェアの形成、また一方では触媒活性の発現になって表われてくるのであろう。現在、タンパク質の4次以上の高次構造についての知識、たとえば、サブユニットの配列や生物体の形態の由来についての理解が十分でないので、ミクロスフェアの実験に対して、適確な解釈をするのは困難のように思われるが、少なくとも、一部で主張されているように、現象面からのみみて、ミクロスフェアを今日の細胞の直接の祖先であると考えるのは不適当であろう。もちろん、この現象は、化学的進化の過程において特定の化合物が高濃度に集められるといったように、都合のよい環境を考えたりする上で無視できないものである。ミクロスフェアに関連して、原始タンパク質模型として、生物の作った天然の酵素タンパク質を用いた実験であるが、内部に一定の代謝系を含んだコアセルバートは、より単純なコアセルバートより早く成長し、一定時間後には、複雑な系が常に多く生きのこるという Oparinの³⁹⁾報告は興味深い。結核は、リシンを多く含んだ塩基性のプロテノイドは撰択的にポリビリミジヌクレオチドと、アルギニンの多いものはポリプリンヌクレオチドと撰択的に複合体を作り、それぞれの複合体が、ミクロスフェア⁵²⁾を作るとを観察し、複合体形成の特異性の解析を試みている。この系は、第2次原始高分子合成の場

となるかどうかという点からも興味がある。

プロテノイドに、リン酸エステルの加水分解反応といった今日の細胞の中での重要な化学反応に対する触媒活性があるということは、生きている細胞が、原始ポリペプチドがとりやすい一定の一次構造のペプチドが触媒しう反応の積み重ねででき上っているということであろうか？プロテノイドのこのフォスファターゼ様活性を、細菌や組織の中に含まれているフォスファターゼ活性と比較すると、表7のようになる。

表7. 触媒活性の比較

触 媒 源	p-ニトロフェニルリン酸の加水分解速度
プロテノイド ^{a)}	3μmoles/day/mg at 30°C
<i>B. subtilis</i> ^{b)}	0.1μmoles/day/10 ⁷ cells
<i>B. subtilis</i> ^{b)}	24μmoles/day/mg-protein at 37°C
<i>E. coli</i> ^{b)}	<1.5μmoles/day/10 ⁷ cells at 37°C
ヒト血清 ^{b)}	340-860μmoles/day/mg-paotein at 37°C
ウシ乳 ^{b)}	15-31μmoles/day/mg protein at 37°C

a) 部分精製した分子量分布 2,500—4,000 の標品。活性は数回の実験中の最高値を示した。

b) プロテノイド以外の活性値は多くの文献より算出した。

プロテノイドの1mgが、*B. subtilis*の 3×10^8 匹のもっているフォスファターゼに相当する。いいかえると、プロテノイド1mgが、 3×10^8 個のミクロスフェア中に分散しても、リン酸エステルの加水分解については、ミクロスフェアの1つが、今日の細菌1びきと同じ程度の活性を示すことになる。プロテノイドのリン酸エステルの加水分解に対する触媒作用はみつかったが、適当な条件下でリン酸基を転移するかどうかは直接証明がない。しかし、酵素の場合は、加水分解、すなわちリン酸基を水に転移するだけでなく、ある条件下では、糖などに転移することが知られている⁴⁸⁾。プロテノイドの場合も、リン酸基の受容体が水分子であっても、他の有機物であっても同じように触媒すると考えてよい。すなわち、転移反応も触媒すると考えられる。こうして、原始スープの中で、有機リン酸エステル——たとえば、ATPなどは、少なくとも光化学反応で生成する条件が原始地球上にあったと考えてよい⁵³⁾——のリン酸基は活発に加水分解されたり、他の有機化合物に転移して、その化合物を活性化したに違いない。仮に、ある原始地球の湖に、表7に示したような活性のプロテノイドがいつも58存在していたと仮定すると、有機リン酸エステルの平均分子量を200

として、百万年の間——化学的進化の立場からはほんの短い期間に、1000トンに達する有機リン酸エステルを分解したり、他の有機物にリン酸基を移して、活性化し、新しい化学反応の出発材料にすることができたという計算が成りたつ。⁵⁴⁾

現在までのプロテノイドを中心とする実験は、まだ化学的進化に対する指導的な仮説を生み出すに至っていない。研究の多くが、現象面を追うことが多く、解析的でないという欠陥もあるが、実験を通して手掛りは次第に増えてきている。生命の起源を考えることは、生命現象の基本的理解へのアプローチの一つとして、今後いろいろな分野からの実験的成果や理論的提案が積み上げられて、急速な発展をとげるものと期待される。

文 献

- 1) A. I. Oparin: in *The Origin of Life*, Macmillan, New York (1938) 3rd edition, Oliver & Boyd, Edinburgh (1957)
- 2) J. B. S. Haldane: in *Science and Life*, Harper, New York (1933)
- 3) W. M. Garrison, D. C. Morrison, J. G. Hamilton, A. A. Benson, M. Calvin: *Science*, **114**, 416 (1951)
- 4) S. L. Miller: *J. Am. Chem. Soc.*, **77**, 2351 (1955)
- 5) S. L. Miller, H. C. Urey: *Science*, **130**, 245 (1959)
- 6) J. D. Bernal: in *The Physical Basis of Life*, Routledge Kegan Paul, London (1951)
- 7) G. R. Tilton, R. H. Steiger: *Science* **150**, 1807 (1965)
- 8) T. Belsky et al: *Nature* **206**, 446 (1965)
- 9) A. G. Fisher: *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, **53**, 1205 (1965)
- 10) E. S. Barghoorn, J. W. Schopf: *Science*, **152**, 758 (1966)
- 11) S. W. Fox: in *The Origins of Prebiological Systems and of Their Molecular Matrices*, Academic Press, New York (1965)
- 12) H. H. Pattee: *Advan. Enzymol.*, **27**, 381 (1965)
- 13) W. M. Stanley: in *The Origin of Life on the Earth*, Macmillan, New York (1959)
- 14) 野田春彦: *生物物理*, **3**, 2 (1963)
- 15) C. Ponnamperna, E. Peterson: *Science*, **147**, 1572 (1965)
- 16) 走堀四郎: *科学*, **25**, 54 (1955)
- 17) H. Hanafusa, S. Akabori: *Bull. Chem. Soc. Japan*, **32**, 626 (1959)
- 18) S. Akabori, K. Okawa, M. Sato: *Bull. Chem. Soc. Japan* **29**, 608 (1956)
- 19) J. H. Reuter: *The 3rd Intl. Meeting on Org. Geochem.*, London (1966)
- 20) C. N. Matthews, R. E. Moser: *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, **56**, 1087 (1966)
- 21) J. Oró, C. L. Guidry: *Arch. Biochem. Biophys.*, **93**, 166 (1961)
- 22) S. W. Fox, K. Harada: *J. Am. Chem. Soc.*, **82**, 3745 (1960)
- 23) S. W. Fox: in *Evolving in Genes and Proteins*, (ed. V. Bryson and H. J. Vogel) p. 359, Academic Press, New York (1965)
- 24) N. H. Horowitz, S. L. Miller: *Fortschr. Chemie Organischer Naturstoffe*, **20**, 423 (1962)
- 25) S. W. Fox, T. Nakashima: *Biochim. Biophys. Acta* **140**, 155 (1967)
- 26) K. Harada, S. W. Fox: *Arch. Biochem. Biophys.*, **109**, 49 (1965)
- 27) T. Oshima: *Arch. Biochem. Biophys.*, **126**, 478 (1968)
- 28) S. W. Fox, K. Harada, K. R. Woods, C. R. Windsor: *Arch. Biochem. Biophys.* **102**, 439 (1963)
- 29) A. Vegotsky, K. Harada, S. W. Fox: *J. Am. Chem. Soc.*, **80**, 3361 (1958)
- 30) S. W. Fox: *Science*, **132**, 200 (1960)
- 31) S. W. Fox, R. Harada, D. L. Rohlfsing: in *Polyamino acids, Polypeptides and Proteins*, (ed. M. Stahmann) p. 47, Univ. of Wisc. Press, Madison (1962)
- 32) G. Krampitz: *Naturwissenschaften*, **46**, 558 (1959)
- 33) S. W. Fox: *Nature*, **205**, 328 (1965)
- 34) S. W. Fox, S. Yuyama: *J. Bacteriol.*, **85**, 279 (1963)
- 35) S. W. Fox, S. Fukushima: in *Problems of Evolutionary and Technological Biochemistry*, (ed. the Academy of Sciences, U.S.S.R.) p. 93, U.S.S.R. Publishing House, Moscow (1964)
- 36) S. W. Fox, R. J. McCauley, T. Fukushima, C. R. Windsor: *Federation Proc.*, **26**, 749 (1967)
- 37) K. Bahadur: *Vijnana Parishad Anusandham Patika*, **6**, 94 (1964)
- 38) S. W. Fox, S. Yuyama: *Comp. Biochem. Physiol.*, **11**, 317 (1964)
- 39) A. I. Oparin: *Advan. Enzymol.*, **37**, 347 (1965)
- 40) S. W. Fox, G. Krampitz: *Nature*, **203**, 1362 (1964)
- 41) D. L. Rohlfsing: *Arch. Biochem. Biophys.*, **118**, 468 (1967)
- 42) G. Krampitz, H. Hardebeck: *Naturwiss.*, **53**, 81 (1966)
- 43) D. H. Durant, S. W. Fox: *Federation Proc.*, **25**, 342 (1966)
- 44) G. Krampitz, S. Diehl, W. Haas, T. Nakashima: *Experimentia*, **24**, 140 (1968), J. C. S. Meeting, Atlantic City (1968)
- 45) D. L. Rohlfsing, S. W. Fox: *Arch. Biochem. Biophys.*, **118**, 122 (1967)
- 46) J. Noguchi, T. Saito: in *Polyamino Acids, Polypeptides and Proteins*, (ed. M. A. Stahmann), p. 313, Univ. of Wisc. Press, Madison (1962)
- 47) V. R. Usdin, M. A. Mitz: *Arch. Biochem. Biophys.*, **122**, 258 (1967)
- 48) R. K. Morton: in *Methods in Enzymology*, (eds. S. P. Colowick, N. O. Kaplan) **2**, p. 533, Academic Press, New York (1955)
- 49) P. H. Abelson: *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, **55**, 1365 (1966)
- 50) R. D. Lundberg, P. Doty: *J. Am. Chem. Soc.*, **79**, 3961 (1957)
- 51) G. Steinman: *Arch. Biochem. Biophys.*, **119**, 76 (1967)
- 52) 結城悌: 私信
- 53) C. Ponnamperna, C. Sagan, R. Mariner: *Nature*, **199**, 222 (1963)
- 54) T. Oshima: *Federation Proc.*, **26**, 451 (1967)