

高温・高圧環境下における核酸塩基の化学進化に関する研究

蒲生 啓司・三並 裕紀
(教育学部理科教育講座化学)

Chemical Evolution of Nucleic Acid Bases under High Temperature and High Pressure
Environments

Keiji GAMOH and Hiroki MINAMI
Chemistry Division, Faculty of Education

Abstract: Hydrothermal hot-pressing environments could be simulated as possible environments for chemical evolution toward condensation of nucleic acid bases and ribose because the environments could possess high pressure and high temperature conditions, resulting from the dynamics of plate tectonics. We attempted the dehydration condensation of nucleic acid bases and ribose under hydrothermal hot-pressing environments. A solid mixture of the starting materials, nucleic acid bases, ribose and inorganic materials, was sealed in an autoclave tube, and then treated under hydrothermal hot-pressing conditions. The pressure was 450 kg/cm² and the temperature increased by 10 °C/min from room temperature to 200 °C: the duration times were 1 to 40 hours. After the reaction, the product was granulated and dispersed in acetate buffer (pH 4.5) by ultrasonification, and then centrifuged. The analysis of the aqueous extract was proceeded by high performance liquid chromatography (HPLC) and liquid chromatography/mass spectrometry (LC/MS). Condensation products in the aqueous parts from starting adenine and ribose mixture in the presence of silica gel and/or kaolinite were observed by the liquid chromatographic method. Their yields were approximately from 0.5 to 1.8 %. Under these experimentals hydrothermal hot-pressing environments could be considered to be ideal sites for the abiogenic dehydration condensation of nucleic acid bases and ribose. Also the coexistence of some inorganic materials would be essential for the dehydration condensation of them.

キーワード：化学進化，RNA，リボース，核酸塩基，水熱ホットプレス，プレートテクトニクス，高速液体クロマトグラフィー，LC/MS

緒 言

化学進化とは、核酸塩基やアミノ酸等の生命体を構成する有機基本分子が生成する過程と、それらの縮重合によるポリヌクレオチドやポリペプチド等の生体高分子が生成する過程、更にはそれら高分子が組織化され機能を獲得していく過程を指すが、それらがどのような環境の場で繰返されてきたのかについての解明は、今なお多くの科学者が研究課題としているところである。アミノ酸等の有機分子の発生実験は、これまでも数多く報告されてきたが、最近では海底熱水噴出孔が生命起源の場として考えられてきた。更に、アミノ酸等のモノマーの縮重合のプロセスについては、今なお様々な提言と模擬実験が行われている。例えば柳川らの実験では、アミノ酸水溶液を加圧・加熱

することにより、ペプチド様高分子や、原始細胞様構造体を形成することを報告している。^{1,2)} いずれも海底熱水噴出孔環境下を想定しての実験であり、大陸内部の環境を反映したものではない。最近のプレートテクトニクスの研究成果からは、生命を準備した分子進化は、必ずしも海中で進行したと考える必要はなく、むしろ地球進化に伴って有機物自体に進化を要求した、動的な地殻も大きく関与したのではないかと考えられる。一方、RNA ワールド仮説の登場以来、RNA 分子の自己複製能への関心が高まり、原始 RNA がどのような化学分子であったのか、或いは RNA が前生物的に合成が可能であったのか等に関する研究に注目されてきた。³⁾

水熱ホットプレス法は、粉末に添加された水が、高温・高圧の条件下で粒子を連結させ、更に粒子間に残存する水が除去されることによって気孔等を形成する、主に無機材料合成の分野で開発された手法である。⁴⁾ 高温・高圧の水の関与する現象の化学を水熱化学(Hydrothermal Chemistry)と呼んでいるが、水を媒介とする常温での反応は、すべて水熱反応に拡大される。水熱反応にまで条件を広げる意味は、常温において熱力学的には生じてよい反応が速度論的に進行しない場合、水熱条件、すなわち液相のまま高温にすると反応速度は加速度的に増大する点にある。水熱反応の特徴は、イオン反応が加速されることと、加水分解作用が活発となることである。水を伸介とし、さらに密閉容器中で沸点以上に加熱されるとイオン反応速度が増大する。したがって水熱反応では、常温で水に溶けない鉱物あるいは有機物質の反応においてもイオン反応が誘発され、かつ促進される。加水分解の作用が増大する理由は、温度上昇に伴う水の電離定数の増大によるものとして説明される。鉱物の分解や合成を水熱条件下で行い、鉱物中の元素抽出、宝石類や電子材料の合成等、⁵⁾ 無機工業化学的な応用がなされている方法である。本研究ではこの方法を採用し、地球内部の高温・高圧条件を作り出すことで、生命の起源に迫ろうとするものである。水熱ホットプレス法は温度と圧力に関しては条件を自由に決定することができ、地球内部の高温・高圧条件を実験室で再現するのに適した方法だといえる。著者らは既に、水熱ホットプレス法による模擬的地球内部環境下で、無機材料中でアミノ酸モノマーから重合体が生成することを初めて明らかにした。⁶⁾

本研究は、地球内部の高温・高圧環境が生命起源分子の化学進化の場であったのではないかと仮定し、無機的な高温・高圧環境を作り出すことのできる水熱ホットプレス法を用いて、生命の構成単位である核酸塩基(プリン塩基とピリミジン塩基)の化学進化過程を解明することを目的として、リボースの共存下で水熱ホットプレス法によって得られる反応生成物の解析を行った。4種の核酸塩基とリボース、及びその脱水縮合によって生成するヌクレオシドを以下の図に示した(図1。)

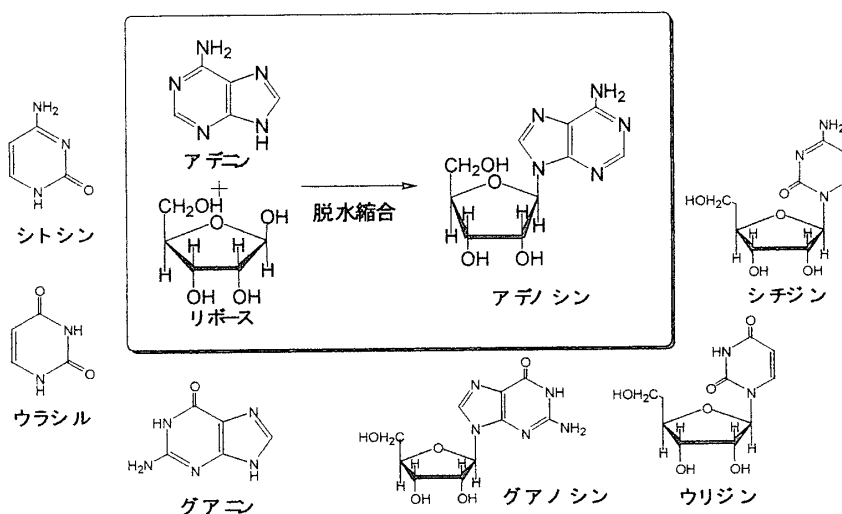


図1. 核酸塩基とリボース、及びその脱水縮合によって生成するヌクレオシド

地球の地殻物質の化学組成を調べてみると、大陸上部の地殻物質では、花崗岩的な化学組成をもつ物質によって構成されている。大陸下部の地殻物質の化学組成については、議論の余地が残されているが、一般的には花崗岩から玄武岩的な組成からなると考えられている。また、海洋の地殻について述べると、海洋地殻は大陸地殻に比べて薄く、主に中央海嶺で形成された玄武岩からできていると考えられている。さらに、上部マントルの化学組成は、全体的には輝石とかんらん石で構成されているパイロライトか、あるいは、若干のスピネルとカンラン石及び輝石からなるスピネルレーゾライト的な物質が上部マントルを構成していると考えられている。花崗岩や、玄武岩の化学組成を比べてみると、花崗岩では SiO_2 が 66% であり、玄武岩では SiO_2 は 50.4% と、どちらも半分以上を占めている。マントルの化学組成でも SiO_2 は 44.5% と半分には満たないが化学組成中一番大きい量を占める。また、鉱物表面が生命前駆物質ほりまーの合成を促進するのに友好であることが指摘されている。Ferris らは、核酸やタンパクのモノマー単位であるヌクレオシドやアミノ酸等を活性化して、鉱物表面で反応させ生命前駆対ポリマーの伸長を行うことにより、ポリマー合成のモデルシステムを報告している。⁶⁾ 本研究では、水熱ホットプレス反応に使用する無機材料として、シリカゲル、炭酸カルシウム、カオリナイト、及びヒドロキシアパタイトを選んだ。

実験方法

1. 試薬及び試料の調製

核酸塩基及びヌクレオシドとして、アデニン、アデノシン、グアニン、グアノシン、ウラシル、ウリジン、シトシン、シチジンをうい、酢酸、メタノール（以上和光純薬工業製特級）、酢酸アンモニウム（ナカライテクス製特級）、水は蒸留水をミリ Q (Waters 社製) で精製したものを使用した。無機材料として、シリカゲル（破碎状, 40~60 μm , 和光純薬製）、炭酸カルシウム（白石工業製）、ヒドロキシアパタイト（高流速タイプ, 和光純薬工業製）、及びカオリナイト（球状, 200 μm , 東洋電化工業製）をういた。核酸塩基及びリボースを秤量し、これを無機材料 5 g 中に加えて混合したものを反応試料とした。核酸塩基及びリボースはそれぞれ 1 mmol/g の濃度となるように秤量した。

2. 測定機器及び測定条件

2.1 実験に用いる装置

水熱ホットプレス用装置として、理研製油圧式ポンプ、架台、オートクレーブ (RIKEN POWER TYPE D1-150) をうい、超音波処理装置として、卓上超音波洗浄機 (和研薬製, UW-5) をういた。液体クロマトグラフィー (LC/UV) として、送液ポンプ (日本分光製 PU-2080Plus), カラムオープン (日本分光製 CO-1565), グラジエントミキサー (日本分光製 MX-2080-32), 紫外可視吸光光度計検出器 (日本分光製 UV-2070Plus), およびデータ処理装置 (島津製, C-R7A), 分離カラムとして Shim-pack CLC-ODS (4.6mmi. d. x 250mmL.) をういた。液体クロマトグラフィー/質量分析計 (LC/MS) として Quattro II (Micromass 製) をうい、分離カラムとして Capcell-Pack UG120-C18 (2.0mmi. d. x 250mmL.) をういた。

2.2 水熱ホットプレス反応

実験で使用した水熱ホットプレス反応用装置とオートクレーブの断面図を図 2. に示した。オートクレーブは、水熱ホットプレス用装置の温度制御機につながった電気炉中に入れ、圧力制御を受けるラムが、押し棒を押すことにより加圧される。試料が収縮し、加わる圧力が変化すると自動的

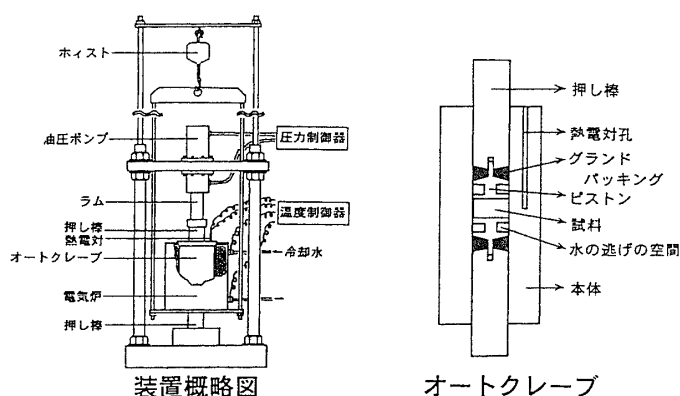


図2. 水熱ホットプレス反应用装置及びオートクレーブの断面図

に圧力制御され、常に一定圧力で加圧し続けることができる。また、電気炉の周囲には少量の水が流れている。オートクレーブ本体は、鉄製の内径20mmの円筒であり、試料を直接オートクレーブ内に充填し、上下のピストンにより一軸加圧することができる。ピストンには、ホットプレスを実施している間、試料から出る水が移行するための空間（上下総容量1.4cm³）を設けた。ピストンと押棒との間には、テフロン製のグラッドパッキングを置き、上下からの加圧によりパッキングが押し広げられることで、オートクレーブ内部の気密を保った。

秤量した試料をオートクレーブ内に充填してから、室温で所定の圧力で加圧した。室温での試料の収縮が終了したことを確認した後、圧力を保持したまま毎分10℃の速度で目的の温度まで加熱し、圧力と温度を一定時間保持する。本研究では、三つのパラメータである圧力、温度及び反応時間を種々設定し、反応を追跡した。例えばシリカゲルを用いた場合、シリカゲル5gに核酸塩基とリボースを加え、水熱ホットプレス反応を行った。同様にシリカゲル5gに核酸塩基のみを加えて、水熱ホットプレス反応を行ってブランクサンプルとした。他の無機材料を用いた場合も、同様の操作で試料を調製した。反応後、ペレット状になったホットプレスの試料表面に付着したカーボンを、紙ヤスリで取り除き、固化体を乳鉢でパウダー状になるまですり潰した。試料1gを秤量し、酢酸緩衝液5ml加え、10分間超音波処理した後、吸引ろ過を行った。ろ液を分析用試料とし、HPLC/UV法で原料の消費量を追跡した。また反応生成物の追跡には、HPLC/UV法及びLC/MS法を用いた。

2.3 分析条件と定量操作

HPLC用分離カラムとしてShim-Pack CLC-ODS (6.0mmi.d. × 150mmL.) をカラム温度50℃で用い、移動相は、酢酸アンモニウム20mmol/lに酢酸を加えてpH4.5の緩衝液を作りこれをA液とし、更に緩衝液とメタノールを2:8の割合で混合してこれをB液として調製し、グラジエント溶離法により送液した。グラジエント勾配(A液:B液)は、0~20分=99:1, 20分~25分=99:1→50:50, 25分~30分=50:50→0:100, 30分~35分=0:100, 35分~50分=99:1に設定した。流量は1.0ml/minに、検出波長を254nmに設定した。反応後の試料をマイクロシリンジにてカラムに注入し、クロマトグラム上のピーク面積値をインテグレータにより算出した。

LC/MS法では、カラムとしてCapcell-Pack UG120-C18 (2.0mmi.d. × 250mmL.) をカラム温度50℃で用いた。移動相は、HPLC分析時と同じものを流量0.2ml/minで用い、先と同様のプログラムでグラジエント溶離法により送液した。コーン電圧を30V、キャピラリ電圧を3.2kV、及びイオン源温度を80℃に設定した。

結果及び考察

1. 核酸塩基及びヌクレオシドの HPLC 分析

水熱ホットプレス反応で得られた反応生成物を追跡していくためには、予め標準試料の核酸塩基及びヌクレオシドを分析しておく必要がある。今回分析に用いた方法は、HPLC の移動相グラジエント溶離法によるものである。この際、分析試料を分析する前にグラジエントブランクをスキャンしておき、生成物由来のシグナルと区別しておく必要がある。また未知反応生成物の同定には、HPLC と質量分析計を連結した LC/MS を用いた。ここでは、極性が高く熱的に不安定な化合物や、タンパク質などの生体高分子のイオン化に有効なエレクトロスプレーイオン化法（ESI 法）を使用した。ESI では、噴霧部に高電圧をかけ霧状の多量に荷電したドロップレットが大気圧下で蒸発する際に、イオン蒸発の原理によってイオンがはじき出されると考えられており、核酸塩基やヌクレオシドの検出に適しているものと考えられる。いずれも市販の核酸塩基とヌクレオシドを標準試料として用いて分析を行った。

HPLC による 4 種の各核酸塩基及びヌクレオシド標準試料の分析の結果、以下の図に示すクロマトグラムが得られた。図 3 (B) にアデニン（保持時間 t_R : 10.07）とアデノシン（ t_R : 26.03）、図 4 (B) にグアニン（ t_R : 5.65）とのグアノシン（ t_R : 11.4）、図 5 (B) にシトシン（ t_R : 3.81）とシチジン（ t_R : 5.24）、更

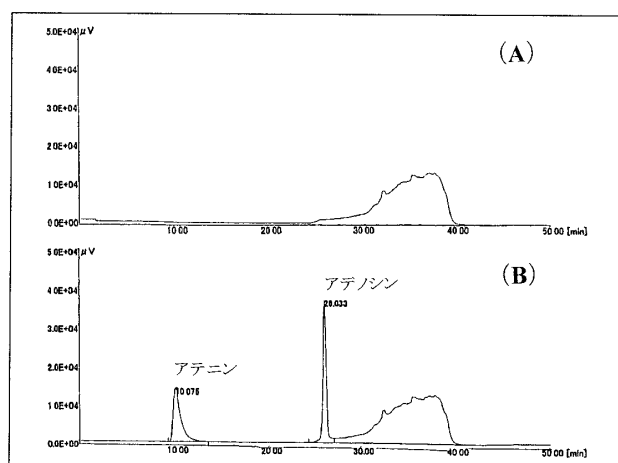


図 3. (A) グラジエントブランク, (B) アデニン及びアデノシン標準試料の液体クロマトグラム

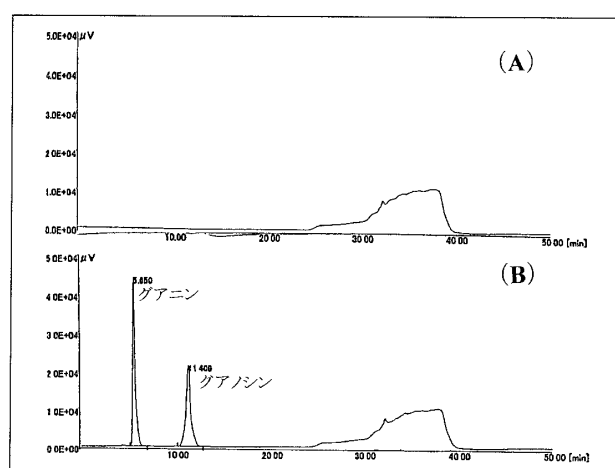


図 4. (A) グラジエントブランク, (B) グアニン及びグアノシン標準試料の液体クロマトグラム

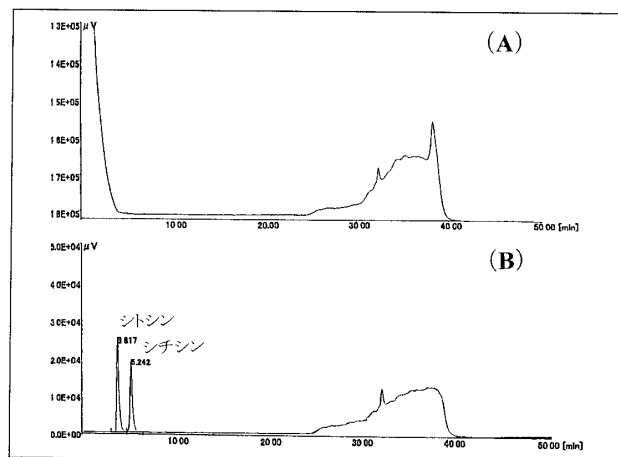


図 5. (A) グラジエントブランク, (B) シトシン及びシチジン標準試料の液体クロマトグラム

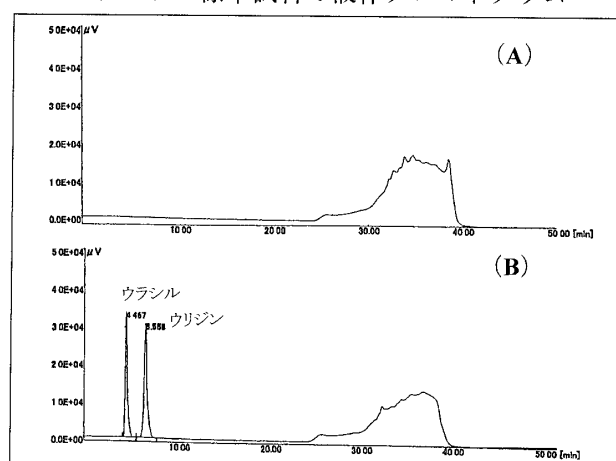


図 6. (A) グラジエントブランク, (B) ウラシル及びウリジン標準試料の液体クロマトグラム

に図6(B)にウラシル(t_R :4.46)とウリジン(t_R :6.55)の溶出パターンを示した.それぞれ標準試料のクロマトグラムに対応して,グラジエントブランクのクロマトグラム[図3(A),4(A),5(A),6(A).]を併記してあるが,試料によってはグラジエントブランクのクロマトグラムの形状が異なっている.また,4種の核酸塩基とヌクレオシドを分析した結果,全て核酸塩基の方がヌクレオシドよりも保持時間が短かった.核酸塩基の方が質量数が小さいばかりでなく,移動相を酢酸緩衝液としてpHを下げていることもあり,いずれの核酸塩基もヌクレオシドに比べると極性が大きいことがわかる.

またアデニン及びアデノシンのLC/MSによる分析の結果を,マスペクトルとして図7.に示した.図7(A).がアデニン,図7(B).がアデノシンのマスペクトルを示しており,いずれも水素イオン付加分子イオン $[M+H]^+$ として検出されている.即ち, $m/z136$ がアデニンの $[M+H]^+$, $m/z267$ がアデノシンの $[M+H]^+$ である.

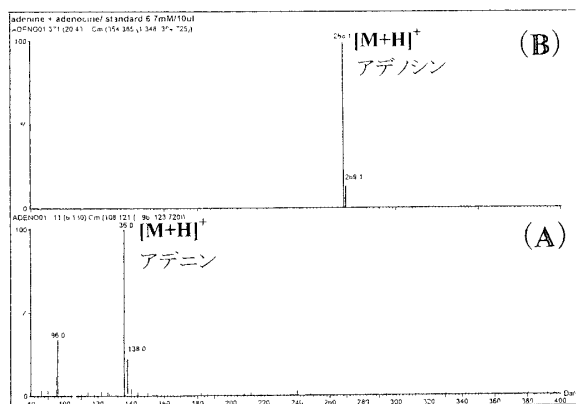


図7. アデニン及びアデノシンのLC/MS分析から得られたマスペクトル:(A)アデニン, (B)アデノシン

2. シリカゲル中でのアデニンとリボースの水熱ホットプレス反応

水熱ホットプレス反応は,温度,圧力,時間の三つのパラメータを変化させて行い,それぞれの条件における反応生成物を分析した.ここでは無機材料としてシリカゲルを用い,核酸塩基としてアデニン,及び単糖としてリボースを用いた時の,反応条件を次表(表1.)にまとめると共に,その時の分析結果について述べる.

表1. シリカゲル中アデニンとリボースの水熱ホットプレス反応における設定条件

| 試料 | 温度 ($^{\circ}\text{C}$) | 圧力 (kg/cm^2) | 反応時間 (h) |
|-------|------------------------------|-----------------------------------|-------------|
| シリカゲル | 50 | 450 | 20 |
| | 100 | 450 | 20 |
| | 200 | 450 | 20 |
| アデニン | 50 | 225 | 20 |
| | 50 | 675 | 20 |
| | 50 | 450 | 1 |
| リボース | 50 | 450 | 5 |
| | 50 | 450 | 10 |
| | 50 | 450 | 40 |

2.1 反応時間をパラメータとした場合

水熱ホットプレスの反応条件を,温度 50°C 及び圧力 $450\text{kg}/\text{cm}^2$ とした時の,反応時間による生成物の分離パターンを追跡した.図8.に,20時間で反応させた時のクロマトグラムを示した. Peak ②が原料のアデニンのシグナル, Peak ①, ③及び④が反応によって出現したシグナルであり,反応生成物と考えられる.これらの生成物に対する反応時間の影響について,反応後のアデニンの残存量と共に図9(A).及び図9(B).に示した.図9(A).で,アデニンプラ

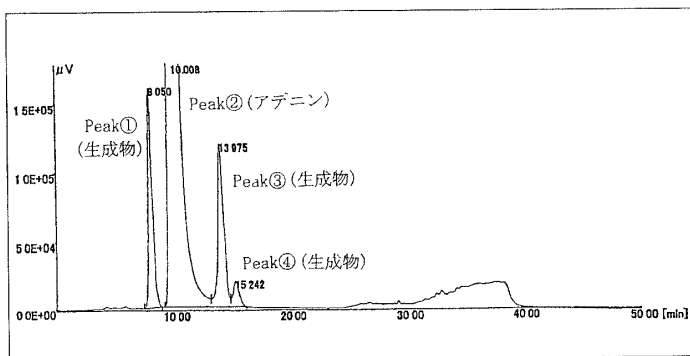


図8. シリカゲル中アデニンとリボースの水熱ホットプレス反応によって得られた反応物の液体クロマトグラム

ンクとは、リボースを加えないで水熱ホットプレス反応を行った後のアデニンの残存量を示している。同じく Peak ②が反応後のアデニンの残存量を示しているが、残存量が圧倒的に多いため、クロマトグラム上では、アデニンの反応による変化量は極微量にしか観察されていない。一方図 9 (B). から明らかなように、3 種の生成物は、Peak ③が20時間を過ぎてやや横ばいになっているが、反応時間に比例するように生成量を増加させて

いることがわかった。アデノシンの保持時間付近には、生成物を確認することはできなかった。

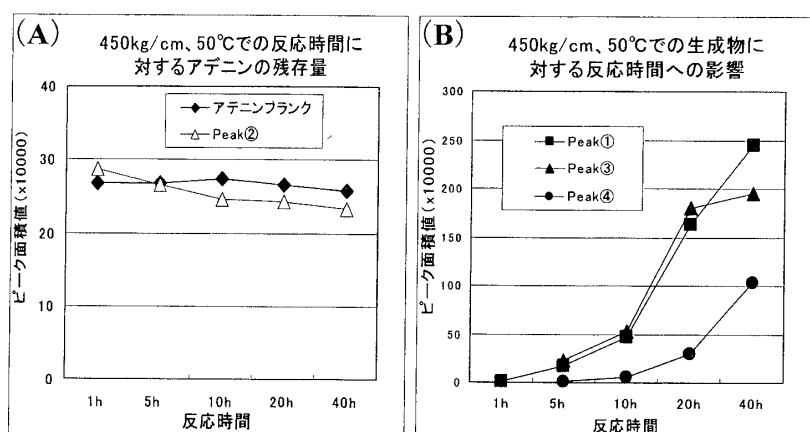


図9. シリカゲル中アデニンとリボースの水熱ホットプレス反応によって得られる生成物の反応時間毎の生成量の変化: (A) アデニン残存量, (B) 反応生成物

2.2 圧力をパラメータとした場合

水熱ホットプレスの反応条件を、温度50°C及び反応時間20時間とした時の、圧力による生成物の分離パターンを追跡した。ここでは、反応生成物に対する圧力の影響について、先と同様に反応後のアデニンの残存量と共に図10(A). 及び図10(B). に示した。図10(A). で、同じく Peak ②が反応後のアデニンの残存量を示しているが、残存量が圧倒的に多いものの、圧力の上昇と共にアデニンの反応による減少量が大きくなっていることが観察された。一方図10(B). から明らかなように、3 種の生成物は、Peak ③がやや横ばいになっているが、圧力の増加に比例するように生成量を増加させていることがわかった。装置と機材の制限上、圧力は最大675kg/cm²までしか上げていないが、これ以上の圧力で更に生成物の収率が增加するのか、逆に生成物の分解が進行してしまうのか、今後の検討課題としたい。この場合も、アデノシンの保持時間付近には、生成物を確認することはできなかった。

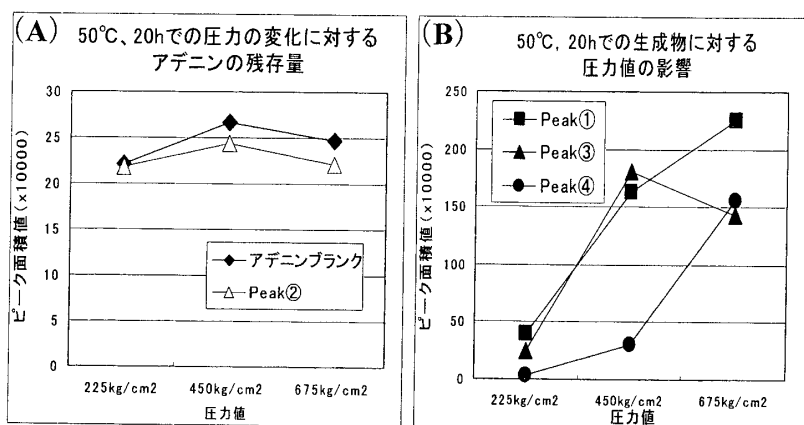


図10. シリカゲル中アデニンとリボースの水熱ホットプレス反応によって得られる生成物の圧力値毎の生成量の変化: (A) アデニン残存量, (B) 反応生成物

2.3 温度をパラメータとした場合

水熱ホットプレスの反応条件を、圧力450kg/cm²及び反応時間20時間とした時の、温度による生成物の分離パターンを追跡した。ここでは、反応生成物に対する温度の影響について、先と同様に反応後のアデニンの残存量と共に図11(A). 及び図11(B). に示した。図11(A). で、同じく Peak ②が反応後のアデニンの残存量を示しているが、100°Cを超えるとアデニンの減少が著しく大きくなった。一方図11(B). から明らかなように、3 種の生成物についても、少なくとも100°Cを超えると、系内に生

成物が存続しないことがわかり、高温下でのアデニン及び生成物の不安定性が観察された。このことは、50℃付近で生成されたピークが100℃まで温度を上げることによって分解が促進され、50℃で反応したときに見られた生成物とは異なった生成物が生成したのではないかと考えられる。200℃まで温度を上げるとアデニンはほとんど存在しないが、これはアデニンがリボースと反応して消費されてしま

ったか、それとも単純に分解しただけなのかが考えられるが、HPLCの分析結果からは、アデニンが減少した分、生成物の新たなシグナルが観察されているわけではないため、高温による分解の可能性が高い。またこの場合も、アデノシンの保持時間付近には、生成物を確認することはできなかった。

HPLCでの分析の結果は、シリカゲル中の種々の水熱ホットプレス条件下で、アデニンと糖を加えて水熱ホットプレス反応を行なってもアデノシンの生成を確認することができなかった。しかしながら、50℃付近で反応を行なった時に生成した生成物が何であるのかを同定すべく、LC/MSを用いて分析を行った。

2.4 反応生成物のLC/MS分析

先に得られたPeak ①、③及び④について、LC/MSによって分析した結果、3つの生成物のスペクトルデータから、全て m/z 268のシグナルを検出した(図12.)。これはアデノシンの $[M+H]^+$ と同じ質量数であり、極性は異なるが、この3つの生成物はアデノシンとよく似た構造を有するのではないかと考えられる。即ち、アデノシンはアデニンとリボースが脱水縮合したものであることを考えれば、3つの生成物は、アデニンがリボースの他の水酸基、アデノシンが縮合する場所とは異なる水酸基、で反応したのではないかと考えられる。更にこの3つの生成物は、全てアデノシンよりも保持時間が短いため、アデノシンよりも極性の強い物質であると考えられる。これ以上の情報を持ち合わせていないので、生成物の構造決定には至らないが、今後他の機器データの収集によって構造を突きとめたい。

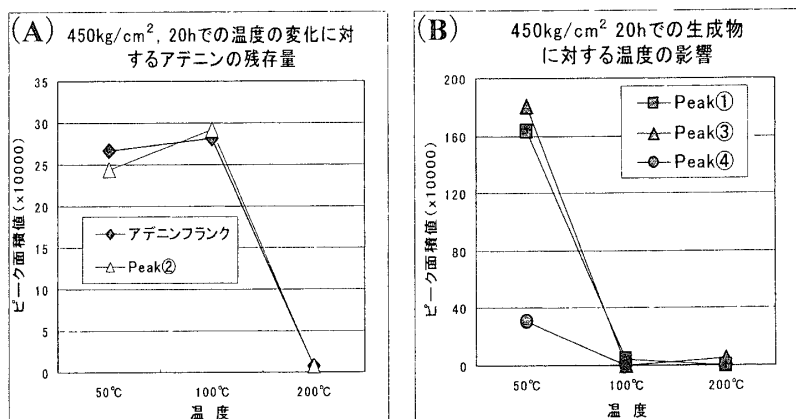


図11. シリカゲル中アデニンとリボースの水熱ホットプレス反応によって得られる生成物の反応温度毎の生成量の変化: (A) アデニン残存量, (B) 反応生成物

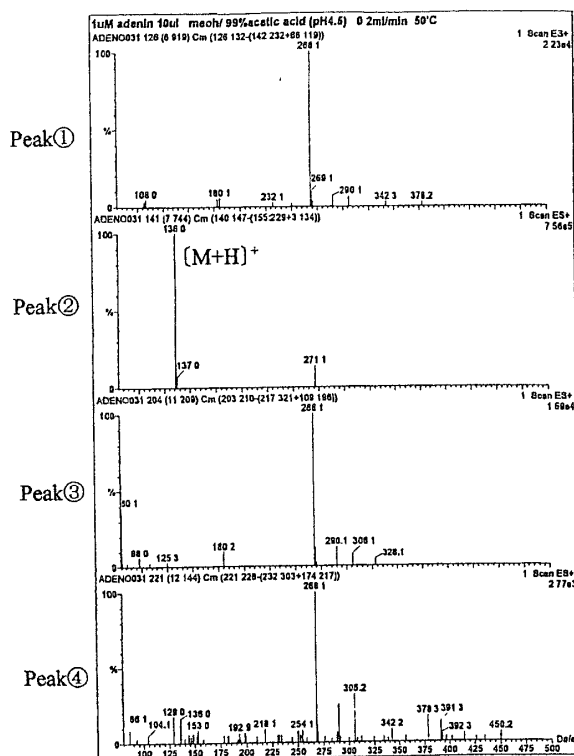


図12. シリカゲル中アデニンとリボースの水熱ホットプレス反応によって得られた反応物(Peak ①～④)のLC/MS分析から得られたマスペクトル

3. アデニン以外の核酸塩基とリボースの水熱ホットプレス反応

シリカゲル中で、アデニン以外の核酸塩基を用いた時の、リボースとの水熱ホットプレス反応を行った結果について述べる。即ち、水熱ホットプレスの反応条件を、温度50℃、圧力450kg/cm²、及び反応時間20 h に設定し、核酸塩基としてグアニン、シトシン及びウラシルを用いた時の反応生成物を HPLC により分析した。図13(A). にグアニン、図13(B). にウリジン、及び図13(C). にシトシンを用いた時の反応生成物のクロマトグラムを示した。

図13(A). の約5.3分に出現しているシグナルがグアニンであり、約2.8分のシグナルは溶媒ブランクである。4.4分のシグナルが反応による生成物と考えられるが、生成量としては極めて少ない。またグアノシンの保持時間付近には、生成物を確認することはできなかった。図13(B)の約3.7分に出現しているシグナルがシトシンである。シトシンのシグナルの前後に生成物らしきものが見えるが、生成量としては極めて少ない。またシチジンの保持時間付近には、生成物を確認することはできなかった。図13(C). の約4.4分に出現しているピークはウラシル自身のピークである。ウラシルのシグナルの直後に生成物らしきものが見えるが、生成量としては極めて少ない。またウリジンの保持時間付近には、生成物を確認することはできなかった。

3種類の核酸塩基による反応生成物を分析した結果、アデニンの場合に比べて顕著なシグナルは観察できなかった。先のアデニンとリボースの反応による3種のシグナルが、リボースの他の水酸基と反応してできた縮合生成物であると仮定すると、この反応条件で、この3種の核酸塩基についても同様に縮合生成物由来のシグナルが検出されるだろうと予測していたために、この結果からは、むしろアデニンだけが全く特異的に反応生成物を与えたのではないかという可能性が湧き出した。しかしながらアデニン以外の核酸塩基を用いた場合、反応生成物が全く見られないというわけではないため、反応条件や無機材料を変化させれば生成物の存在や量が増加する可能性は否定できない。今後反応条件を変えて実験を進める必要がある。

4. シリカゲル以外の無機材料を用いた時のアデニンとリボースの水熱ホットプレス反応

シリカゲル以外の無機材料を用いた時の、アデニンとリボースの水熱ホットプレス反応を行った結果について述べる。即ち、水熱ホットプレスの反応条件を、温度50℃、圧力450kg/cm²、及び反応時間20 h として、無機材料として炭酸カルシウム、カオリナイト及びヒドロキシアパタイトを用いた時の反応生成物を HPLC により分析した。図14(A). に炭酸カルシウム、図14(B). にカオリナイト及び図14(C). にヒドロキシアパタイトを用いた時の反応生成物のクロマトグラムを示した。

図14(A). は、無機材料に炭酸カルシウムを用いて反応を行なったものだが、この場合、生成物由来のシグナルはほとんど観察されず、反応が進行している形跡は見られなかった。図14(B). は、無機

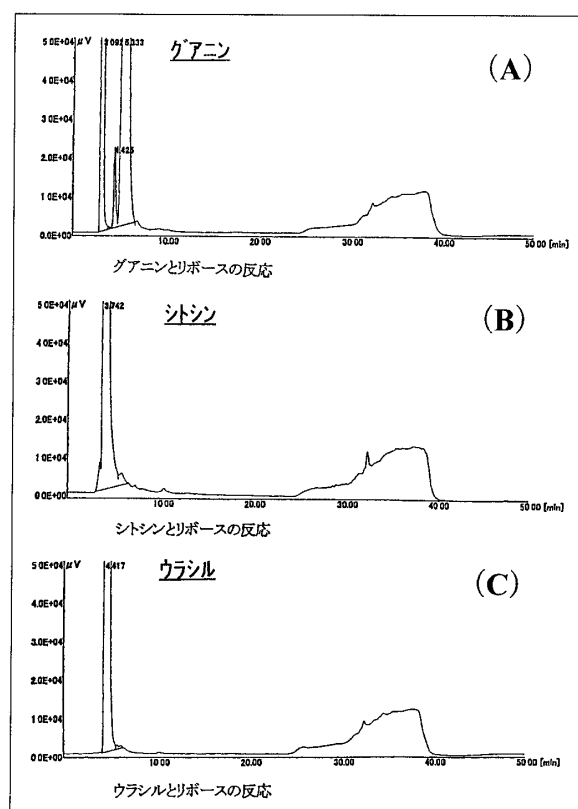


図13. アデニン以外の核酸塩基とリボースのシリカゲル中での水熱ホットプレス反応によって得られた反応物の液体クロマトグラム：(A) グアニン, (B) シトシン, (C) ウラシル

材料にカオリナイトを用いて反応を行なったものである。シリカゲルを用いた時と同じ保持時間に3本のシグナルが検出されたが、それ以外に明らかに生成物由来のシグナルが検出された。また、アデノシンの保持時間近傍には、何らかの生成物が微量に出現していることがわかった。図14(C)は、無機材料にヒドロキシアパタイトを用いて反応を行なったものである。シリカゲルやカオリナイトの時とは明らかに異なった時間、特に保持時間の短い位置にシグナルが検出された。また25分過ぎにも生成物由来のシグナルが検出された。

4種類の無機材料を使用してアデニンとリボースの水熱ホットプレス反応を行なったが、用いた無機材料によって反応生成物のシグナルのパターンが異なっていた。炭酸カルシウムを使用した場合には、生成物の検出には至らなかった。カオリナイトを使用した場合には、シリカゲルを使用した時以上の生成物が検出された。ヒドロキシアパタイトを使用した場合には、シリカゲルやカオリナイトを使用した時と比べて保持時間の小さい生成物が出現した。またカオリナイトとヒドロキシアパタイトを使用した時には、アデノシン近傍の溶出位置に生成物の存在が確認されたが、同定するには至っていない。いずれにしても、シリカゲル以外の無機材料に於いても水熱ホットプレス反応による生成物が検出されたことは極めて興味深い結果である。

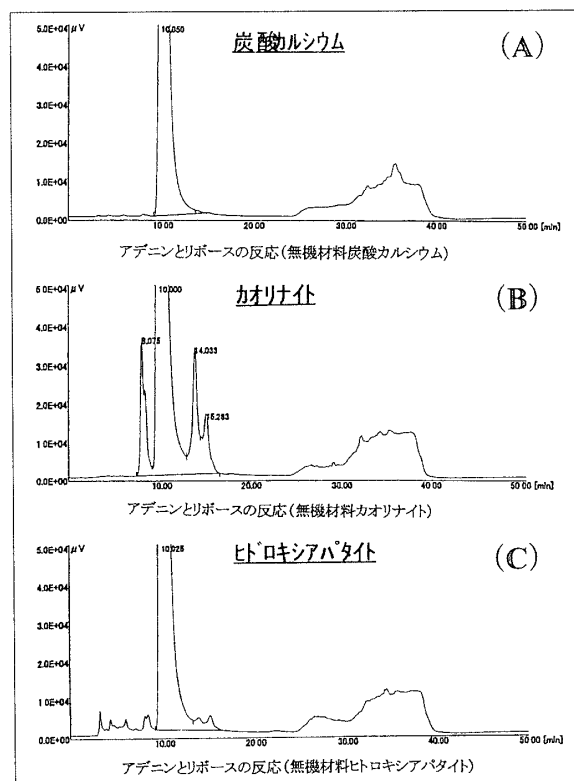


図14. シリカゲル以外の無機材料中でのアデニンとリボースの水熱ホットプレス反応によって得られた反応物の液体クロマトグラム: (A)炭酸カルシウム, (B)カオリナイト, (C)ヒドロキシアパタイト

結 言

本研究は化学進化の場を地球内部に仮定した上で行っており、そのため実験材料には核酸塩基と五炭糖（リボース）を用いることとし、これらを無機材料中水熱ホットプレス条件下で反応させて、ヌクレオシド生成の有無を追跡した。4種類の核酸塩基とリボースを用いた水熱ホットプレス反応の結果からは、相当するヌクレオシドの生成を確認することはできなかった。しかしながら、リボースの存在無しにアデニンだけの水熱ホットプレス反応は進行しないこと、更にアデニンとリボースとの反応で観察されたように、保持時間は異なるが質量数に於いてアデノシンと同一の質量数 (m/z 268) を示す生成物が検出され、これが生成物の $[M + H]^+$ イオンとするならば、アデニンとリボースの縮合反応が何等かの形で進行した可能性を強く示唆するものである。3種の生成物の同定には未だ至っていないので、早急に生成物を特定しなければならないが、水熱ホットプレス法がヌクレオシドを合成する反応条件を満たしている可能性を有していると考えられる。本研究では限られた反応条件しか行なっておらず、更なる反応条件の検討によりヌクレオシドの合成が可能であるかもしれない。反応時間に関しても同じことが言える。生命の誕生までには多くの時間が必要とされているのに、僅か何十時間の間に合成を試みようとしているのだから、この時間軸をどの

ように考えていくか、今後の課題である。

以上本研究は、核酸塩基とリボースの無生物的縮合反応に着目した仮想実験として、無機材料の存在下で核酸塩基とリボースを水熱ホットプレス環境下に置き、長時間反応させた時の反応物の解析を行なった結果から、縮合生成物の可能性を示唆した。

謝 辞

本研究の一部は、平成13～14年度高知大学学長裁量経費により行われた。ここに深謝の意を表する。また本研究の内容の一部を、日本分析化学会第51年会（2002年9月19～21日、北海道大学）に於いて発表した。

文 献

- 1) YANAGAWA, H., KOBAYASHI, K.: An experimental approach to chemical evolution in submarine hydrothermal systems, *Origins Life Evol. Biosphere*, 22, 147-159 (1992).
- 2) KOHARA, M., GAMO, T., YANAGAWA, H., KOBAYASHI, K.: Stability of aminoacids in simulated hydrothermal vent environments, *Chem. Lett.*, 1053-1054 (1997).
- 3) 小林憲正, 吉田弘幸, 柳川弘志: 生命の起源を解く鍵 RNA ワールド, *蛋白質 核酸 酵素*, 34, 124-137 (1989). 柳川弘志: 生命の起源を解く鍵 RNA ワールド(続), *蛋白質 核酸 酵素*, 34, 337-350 (1989).
- 4) YANAGISAWA, K., YAMASAKI, N., NISHIOKA, M., KANAHARA, S.: A Hydrothermal hot-pressing method: apparatus and application, *J. Mater. Sci. Lett.*, 5, 355-356 (1986).
- 5) 蒲生啓司, 山崎伸道: 水熱ホットプレス環境下でのアミノ酸の脱水縮合, *分析化学*, 47, 303 (1998). GAMOH, K., YANAGISAWA, K., YAMASAKI, N.: Hydrothermal hot-pressing condensation of free amino acids, *The 6th International Symposium on Hydrothermal Reactions and The 4th International Conference on Solvo-Thermal Reactions*, p. 214 (2P-74) (2000).
- 6) FERRIS, J.P., A.R. HILL Jr, A.R., LIU, R., ORGEL, L.E.: Synthesis of long prebiotic oligomers on mineral surfaces, *Nature*, 381, 59-61 (1996).

平成14(2002)年10月4日受理

平成14(2002)年12月25日発行