

シンクロトロン放射による生命起源の研究

中川 和道

神戸大学発達科学部*

Study of Origin of Life using Synchrotron Radiation

Kazumichi NAKAGAWA

Faculty of Human Development, Kobe University

Since absorption bands of amino acids are in the region of VUV, synchrotron radiation is a powerful tool for studying chemical evolution prior to the origin of life. We report here the first data of absorption spectra of amino acids in the VUV region, CD spectra in VUV region and photochemical reactions induced by VUV radiation. Preliminary results with circularly polarized radiation using the polarizing undulator developed at the Electrotechnical Laboratory.

1. はじめに

生命の起源、これこそは現代科学に課せられたもっとも重要な問のひとつであろう。生命の起源に先立つ化学的な物質進化の段階を化学進化と呼ぶが、この研究分野では、近年2つの大きな進歩があった。まず、隕石からアミノ酸が発見され、その分析が画期的に進んだ^{1,2)}。つぎに、火星・タイタン・木星など、太陽系の各種天体の大気（厳密には模擬大気）や、宇宙塵表面（約10 K と低温である）に吸着した簡単な分子種を太陽放射線（陽子）で照射すると、アミノ酸の前駆体が生成することが次々と明らかになった³⁾。これらの結果が意味することは、生命体の「材料」となるアミノ酸は、どうやら太陽系のそこらじゅうに有為な量で存在するらしい、すなわち、アミノ酸に関しては、宇宙起源であっても一向にかまわない、ということである。これらの実験で検出されたアミノ酸は、わずかの例外²⁾を除いて、L-体とD-体の1:1混合物（ラセミ体）であった。実験室における通常の化学合成ではアミノ酸はラセミ体で生成するから、上記の実験で検出されたアミノ酸は、実験室における通常の化学合成と同じように対称な反応場で生成したことを示す。ところが、よく知られているように、地球上の生命体は、アミノ酸のL-体のみと（核酸では）糖のD-体のみを用いて自らを形成している。生命体では分子のキラリティーの対称性が破れているわけで、この性質（ホモキラリティー）こそが、驚くべき巧妙

な酵素活性や、きわめて高精度な自己複製をはじめとする生命活動の基盤となっている。

このように、アミノ酸という生命の「材料」の宇宙的存在はほぼ証明されつつある。この現状をふまえて考えるとき、生命の起源研究の現代的課題は何であろう。我々は、[1]アミノ酸がどのようにしてタンパク質へと化学進化したか、[2]ホモキラリティーの起源は何か、を明らかにすることであると考えた。実験の前提として我々が設定した化学進化の段階は、(1)アミノ酸はすでに生成されている、(2)アミノ酸のD-体とL-体とは等しい量で存在している、(3)アミノ酸はまだ重合体を作っておらず、単体で存在している、という段階である。この段階からL-体アミノ酸のみからなるタンパク質ができるためには、(A)材料のアミノ酸がまずL-体のみになり、結果としてL-体アミノ酸のみが連なったタンパク質ができる、(B)L-体、D-体アミノ酸の混合状態からいろいろな過程をへてL-体アミノ酸のみが連なったタンパク質ができるあるいは生き残る、などといった進化のストーリーがいろいろ考えられる⁴⁾ (Fig. 1)。我々はその原動力や時間経過などを再現する研究を行う必要がある。

アミノ酸の光吸収の振動子強度分布はその主要な部分が真空紫外域にある。我々が着目したのは、アミノ酸の電子状態を励起し化学反応を起こし得る光、とくに真空紫外線から軟X線の作用である。また、L-体、D-体アミノ酸は

* 神戸大学発達科学部自然環境論講座 〒657-8501 神戸市灘区鶴甲 3-11
TEL 078-803-7750 FAX 078-803-7761 e-mail nakagawa@kobe-u.ac.jp

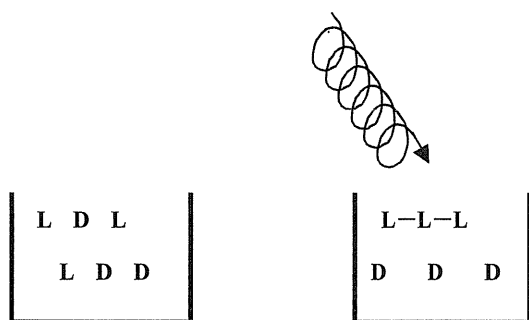


Figure 1. Circularly polarized light can produce L-L...L-L polymers?

右回り円偏光と左回り円偏光に対して吸収の強さが異なるという光学活性をもつ(円二色性を示す)ので、我々の実験には、通常(非偏光)の真空紫外線や軟X線光源の他に、円偏光真空紫外線や円偏光軟X線の光源が必要である。こういう光源として、シンクロトロン放射はまさしく最適である。とくに円偏光アンジュレーターの近年の発展はめざましく、まさしく成熟の域に達しており、この武器を使わない手はない。

さて研究の対象としたアミノ酸の存在状態であるが、アミノ酸の固相系と、アミノ酸の酸性水溶液系とを準備した。前者のアミノ酸の固相系は、アミノ酸が原始地球の干潟で固化したり、宇宙塵や彗星表面に凝固したものを想定しており、これらのアミノ酸固相に非偏光紫外線や円偏光紫外線が照射されるという状況をモデル化したものである。一方、アミノ酸の酸性水溶液系は、かつて地球の海がつよい酸性を呈していたところに非偏光紫外線や円偏光が照射されるという状況のモデル化に対応する。原始地球における(非偏光)紫外線のソースはいうまでもなく太陽である。酸素大気形成の以前には、強烈な真空紫外線が地上や海洋に降り注いでいたはずである。太陽系規模で考えても、真空紫外線はどこにでも存在するエネルギー源である。一方、自然界における円偏光紫外線ないし円偏光軟X線の光源としては、現時点では、太陽を想定することは難しい。太陽系から遠く離れた中性子星の、強烈な磁力線に巻きついて運動する荷電粒子からのシンクロトロン放射⁶⁾やサブミクロンからnm程度の直径の微粒子が磁場などによって整列した領域におけるMie散乱によって生じる円偏光が⁷⁾想定されている。とくに後者については最近オリオン座OMC-1星生成領域からの赤外円偏光が観測され、紫外線領域でも同じ機構で円偏光が発生し得るとの計算⁷⁾が報告されて話題を呼んでいる。宇宙塵の表面がこの円偏光照射を受け、生じたキラルな分子がギャラクシー間を移動して地球まで達したかどうか、というのである。

さて我々の具体的な検討課題は、(a)このようなアミノ酸の集合体に非偏光紫外線や円偏光紫外線が照射されると、不斉分解反応や不斉重合反応がどの程度の効率で起こり得

るか、(b)そのさい非偏光紫外線や円偏光紫外線がどのような役割を果たしたか、とくに、円偏光真空紫外線がキラリティーの起源となり得るか、を明らかにすることである(Fig. 1参照)。

円偏光真空紫外線照射には電子技術総合研究所小貫英雄博士によって開発された偏光可変アンジュレーター⁷⁾からの放射光(波長50~250 nm)を使わせていただき、同じく電総研山田享博士の全面的な支援のもとに研究を展開している。

我々は不斉分解反応や不斉重合反応そのものの検出にはまだ成功し得ていないが、その途上で、いくつかの興味ある事実を見出してきた⁸⁾。本稿では、我々の研究の現状と将来への展望を述べる。

2. アミノ酸の光吸収スペクトルと円二色性スペクトルの絶対値測定

この実験をはじめまでは、アミノ酸はすでによく研究しつくされ、その物性が何でも分かっている「標準物質」であると思っていた。ところがいざ調べてみると、まるでデータがない。固体の吸収スペクトルは縦軸が相対値のもの⁹⁾が主で、唯一見つけた絶対値のスペクトル¹⁰⁾は、蒸着膜ではなく滴下乾燥膜を用いた測定結果なので精度が悪い。アミノ酸固相に関しては円二色性(CD)スペクトルもない。そこで、まずアミノ酸の蒸着膜を膜厚制御して作成する技術を半年かけて開発した⁸⁾。水晶振動子膜厚計で膜厚を測るにはアミノ酸の密度が必要であるが、何と、今度は密度が分からない。密度が測られているアミノ酸はごく少数である。結局我々は、いろいろな密度の有機溶媒にアミノ酸粉末を浮かべ、浮かか沈むかで密度を決定し、その値をもとに蒸着膜の厚さを制御した。あたかも新物質創製の時期のような、何をやっても新しい、という結構な話である。

とにかくこうしてLiF基盤上に蒸着膜をつくり、それを用いて吸収スペクトルとCDスペクトルとを初めて絶対値で測定した⁸⁾。吸収スペクトルについては中川研の大学院生、田中真人君、古結俊行君の健闘によって最近さらに進歩があり、これまでの測定の最短波長記録110 nmを大幅に更新して40 nmまでの測定に成功した。Fig. 2にアスパラギン酸とフェニルアラニン蒸着膜の吸収スペクトルを、Fig. 3にCDスペクトルの測定例を示す。Fig. 2, 3の結果を用いると、照射実験の方針を立てることができる。すなわち、不斉反応を起こすのもっとも都合がよい波長にはFig. 3のCDが最大となる波長を選ぶ。次にFig. 2でその波長の縦軸の値を読み、その波長の光が90%程度吸収されるように蒸着の膜厚を設定するのである。

3. アミノ酸のスペクトル研究の現状

アミノ酸のスペクトルが精力的に研究されたのは1970

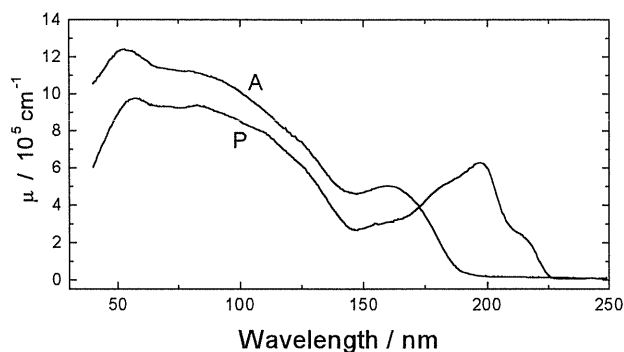


Figure 2. VUV absorption spectra of L-aspartic acid (A) and L-phenylalanine (P).

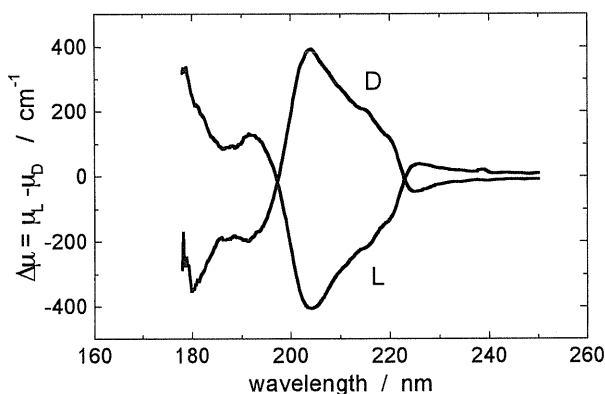


Figure 3. CD spectra of L-phenylalanine (L) and D-phenylalanine (D).

年代はじめ頃で、分子生物学の怒濤のような発展の時期であった。T. Inagaki⁹⁾はグリシン、アラニン、バリン、ロイシンなど8種のアミノ酸の蒸着膜を(膜厚は不明ではあったが)LiF上に作成し、固相の吸収スペクトルを真空紫外域($115 < \lambda < 220$ nm)で測定した先駆者である(1973年)。彼によれば、200–240 nm帯はカルボキシル基($-\text{COO}^-$)の $n \rightarrow \pi^*$ 遷移、グリシンで160 nmアラニンで170 nm付近の吸収帯は帯は $-\text{COO}^-$ 基の $\pi \rightarrow \pi^*$ 遷移で、他の吸収帯は同定が充分でないという。W. C. Johnsonのグループ¹¹⁾は1973年に、アラニン、バリン、ロイシン、プロリンの6フッ化イソプロパノール溶液の真空紫外円二色性スペクトル($160 < \lambda < 240$ nm)を測定した。彼らは上記の $n \rightarrow \pi^*$ 遷移(E1禁制, M1許容)と $\pi \rightarrow \pi^*$ 遷移(E1許容, M1禁制)とについて、J. G. Kirkwood¹²⁾が提唱しI. Tinoco¹³⁾が定式化した励起子理論(または独立系モデル?)の理論にもとづく解析を行った。この頃の理論では、CDはE1遷移とM1遷移との積の形であらわされていた。1971年にL. D. Barron¹⁴⁾がコバルト錯体の結晶のCDをE1遷移とE2遷移との干渉項によって説明して以来、最近ではESRFのJ. Goulonのグループ¹⁵⁾などが結晶のXNCDをこの効果によって説明してきている。

K. Sekiら¹⁶⁾が光電子分光によって調べた結果では、ア

ミノ酸は、気相では中性分子である。ところがアミノ酸は固相では $-\text{COOH}$ 基は $-\text{COO}^-$ として、 $-\text{NH}_2$ 基は $-\text{NH}_3^+$ として存在する両性イオンで、固相の光電子分光は両性イオンのスペクトルを示し(R. W. Bigelow¹⁷⁾)、酸素や窒素の内殻のXAFSも見事にそのことを示す(P. Loefgrenら¹⁸⁾)。水溶液中のアミノ酸はpHによってそのイオン性を変え、酸性下では上記の2つの置換基は($-\text{COOH}$, $-\text{NH}_3^+$)として、中性下では($-\text{COO}^-$, $-\text{NH}_3^+$)として、塩基性水溶液中では($-\text{COO}^-$, $-\text{NH}_2$)として存在する。いろいろなpHの水溶液中でのCDはよく研究されており、文献¹⁹⁾にまとめられている。

近年の興味のひとつは、アミノ酸の酸素や酸素内殻のNEXAFSやXNCDである。1997年にC. Jacobsen²⁰⁾のグループがグリシンなど6種のアミノ酸のNEXAFSを発表して以来、H. AgrenのグループがNEXAFSの理論計算²¹⁾と、XNCDの理論計算²²⁾を発表し、この世界が急に賑やかになってきた。ESRFではJ. Goulonのグループ¹⁵⁾が円偏光アンジュレーターを駆使してXNCDを盛んに測定しており、日本でもSpring-8でXNCD測定をめざして活発な活動が展開されている。この分野での進展が望まれるところである。

4. 非偏光紫外線によるアミノ酸の光分解量子効率の絶対値測定

真空紫外域で質のよい円偏光を得るには、加速器を動かす、円偏光アンジュレーターという大がかりな装置を用いなければならない。その前に実験室でまず非偏光の光を使って、アミノ酸はどの波長の光でどの程度分解あるいは重合するかという実験をしておくことが重要である。

我々はまずL-アスパラギン酸の水溶液(pH=1, 3, 8)をKrClエキシマーランプ光(222 nm)で照射し、HPLCで分析した。その結果、アスパラギン酸の2つのカルボキシル基($-\text{COOH}$)が2つとも $-\text{COO}^-$ の状態にあるpH=1での光分解量子効率が最も高く、ついでカルボキシル基がひとつだけ $-\text{COO}^-$ になっているpH=3ではpH=1よりも緩やかな分解が観測され、カルボキシル基が2つとも $-\text{COO}^-$ になっているpH=8では分解はかろうじて観測される程度であった。pH=1でのアスパラギン酸の濃度を照射光量に対してプロットしたところリニアに減少することが分かった。減少の勾配から222 nm光照射によるアスパラギン酸の光分解量子効率の絶対値を求め、0.48との値を得た。また、照射後の水溶液のクロマトグラムにはL-アラニンのスペクトルが認められたので、その生成量を照射光量に対してプロットしたところ、リニアに増加することが分かった。増加の傾きから、222 nm光照射によるL-アラニンの光生成量子効率の絶対値を0.13と決定した。この結果を模式的にFig. 4に示す。

次にL-アスパラギン酸の蒸着膜を222 nm光で照射して同様の実験を行ない、分解の量子効率を0.024、L-アラニ

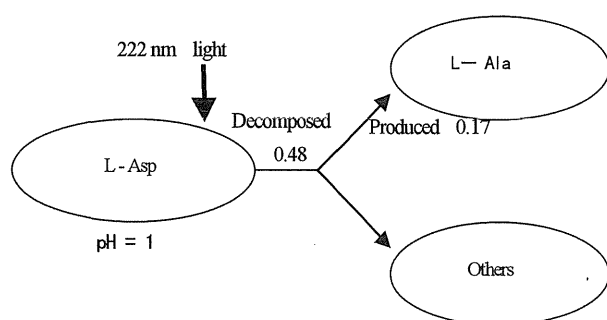


Figure 4. Photodissociation of L-aspartic acid. Numbers show values of quantum yield.

ンの生成量子効率を0.018と決定した。これらの値が水溶液に比べて一桁小さい理由は、固相中では「かご効果」が優位であるためではないかと考えている。

さらに、非偏光のキセノンランプ（分光していない）からの紫外線照射による分解反応のさい、L-アスパラギン酸→D-アラニンのような「キラル反転」が起きるかどうかを調べた。その結果、L-アスパラギン酸からはL-アラニンのみが、D-アスパラギン酸からはD-アラニンのみが生成し、キラル反転はおきないことが分かった。

5. 円偏光照射による不斉反応探索の予備的な試み

以上のデータをもとに我々は、まずフェニルアラニンの蒸着膜と水溶液を対象に、円偏光照射による不斉分解反応、不斉重合反応の可能性を探る予備的な実験を行った。照射波長はCDが最大となる波長（蒸着膜：205 nm、酸性水溶液：187 nm）に設定した。蒸着膜の厚さは光が95%吸収されるように50 nmとした。D-体とL-体の1:1混合物（ラセミ体）を試料とし、円偏光アンジュレーターを用いてCDが最大となる波長の右あるいは左円偏光を試料に照射した。蒸着膜の試料は水溶液として回収し、高圧液体クロマトグラフィー HPLC（島津製作所 LC-10A）によって生成物分析を行い、親分子および生成物の偏りを調べた。

その結果、親分子が20%程度に減少するまで照射を続けてD-体とL-体の分解量の違いを検討したが、HPLC分析の検出限界0.3%を超える有為な偏りは蒸着膜、水溶液ともついに検出できなかった。また、複数の分解生成物が検出され、その収量は照射光量に比例したので、収量が円偏光に依存するかどうかを検討した。しかし、右あるいは左円偏光照射によって、HPLC分析の検出限界0.3%を超える有為な収量の偏りが生じた証拠は見出せなかった。現在、生成物を計数する方法での精度向上や、アミノ酸が生成する時点での偏りの実験を検討している。

6. 円偏光による不斉反応の実験の状況と生命起源の研究との関連

ここで他の研究者達による円偏光を用いた不斉反応の研究の状況について述べておく。アミノ酸を使った実験としてよく引用されるものは W. A. Bonner のグループ²³⁾による1977年の論文である。彼らは Nd/YAG レーザーの5倍波（212.8 nm）から約2 mWの円偏光を得て、ロイシンのR-体S-体等量混合物の水溶液（0.1 N HCl）に照射した。ロイシンの60-80%が分解する程度にまで照射した試料を分析し、右円偏光を照射したときはR-体がよく分解され（R-体は右円偏光をよく吸収する）、左円偏光を照射したときはS-体がよく分解されることを見出した。最終的なエナンチオ過剰率は右円偏光で59%の反応率のときに1.98%、左円偏光で75%の反応率のときに2.50%とされている。同様の実験が井上佳久氏のグループ²⁴⁾によって、我々と同じ電総研の可変偏光アンジュレーターを用いて最近行われ、ロイシンの水溶液（0.1 N HCl）に214 nmの円偏光紫外線を照射して約1.2%の光学純度の増大が検出された。我々もこれらの先駆的な例に習って不斉反応の検出をめざしている。

さてこれらの研究で得られたキラル対称性の破れは2.5%程度の小さいものである。一方、生命体の分子の非対称性は、本稿の最初に述べたように実質的に100%であるから、こういう小さな非対称性が増幅される機構が必要である^{5,25)}。直接的な答えはまだ見出されていないが、ヒントとなるものに、Soaiのグループ²⁶⁾による不斉自己触媒反応の研究がある。最初はわずか2%のエナンチオ過剰率しかもたないピリミジンアルコールを出発物質として自己触媒反応を起こさせると、最終的なエナンチオ過剰率は88%にも達するという特異な反応系の構築に彼らは成功したのである。アミノ酸に関してこのような反応系が可能かどうか直ちに自明ではないが、化学進化の研究にとって、大きな期待となる研究である。

7. 真空紫外線照射による無触媒重合反応

最後に、アミノ酸が連なってタンパク質ができる過程について述べる。本稿の最初に述べたようにアミノ酸はわりと普遍的に存在するらしいのだが、それらが連なって次第に高分子となり生体高分子にまで成長しないと酵素活性や情報伝達機能が獲得できないのだから、アミノ酸の重合反応がどのようにおきるかは根本的な重要課題である。

よく引用されるのは C. Ponnamperna²⁷⁾の仕事で、グリシン、ロイシン水溶液に紫外線を照射し、さらに脱水縮合剤としてシアナミドを添加することによって初めて4量体や5量体の生成を確認した。最近注目を浴びているのは海底の熱水噴出口付近の環境を模した Matsuno グループの研究²⁸⁾である。彼らは523 K, 24 MPaの条件で熱水をノズルで噴出させながら循環させ、グリシンの2, 4, 6量体の生成を確認した。この実験では無触媒での重合が

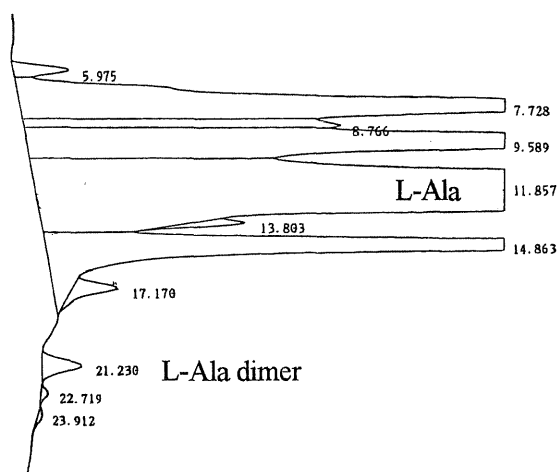


Figure 5. HPLC signal showing L-L dimer formation.

確認されたので、その意義は大きい。

我々も最近、アラニンの無触媒重合を確認することに成功した。すなわち、L-アラニン蒸着膜を50, 170, 200 nmの真空紫外円偏光で、水溶液は200 nmの円偏光で照射し、アラニン2量体の生成を調べた。その結果、固相（蒸着膜）では上記いずれの波長でも2量体の生成を検出することに初めて成功した（Fig. 5参照）。生成量子効率率は 3×10^{-3} （分子/光子）程度であった。一方、水溶液では2量体は生成しないことが分かった。残念ながら左円偏光と右円偏光との差はまだ見出すことができなかったものの、この成果は「無触媒でのアラニン光重合反応の発見」として生命起源の研究に有用な知見をもたらすものと考えられる。

8. おわりに

アミノ酸の吸収スペクトルはその主体が真空紫外域にある。それゆえに、放射光なくしてはアミノ酸の研究は不可能である。本稿をつうじて、アミノ酸からタンパク質ができる段階における真空紫外線の重要性、放射光の役割の重要性を認識していただければ幸いである。

本研究は電子技術総合研究所と神戸大学発達科学部の共同研究契約に基づいてなされました。研究の遂行にあたり、小貫英雄博士、山田亨博士、三角智久博士はじめ電線研量子放射部の皆様と、神戸大学の上地眞一教授、かつての大学院生持田武志君、西條佐智子さん、現在の大学院生

田中真人君、古結俊行君に深く感謝いたします。本研究の一部はまた、分子科学研究所共同研究506(I)によってなされました。UVSOR スタッフの皆様に深く感謝いたします。

参考文献

- 1) A. Shimoyama et al.: Chem. Lett. (1994) 523.
- 2) J. R. Cronin and S. Pizzarello: Science **275**, 951 (1997).
- 3) K. Kobayashi et al.: Origins Life Evol. Biosphere **28**, 155 (1998).
- 4) V. A. Avetisov et al.: Physics Today, July 1991, 33-41.
- 5) A. Salam: J. Mol. Evolution **33**, 105 (1991).
- 6) W. Bonner: Origins Life Evol. Biosphere **21**, 407 (1992).
- 7) 小貫英雄, 放射光 **7**, 3 (1994)およびその引用文献.
- 8) 西條佐智子他: 神戸大学発達科学部研究紀要 **5**, 709 (1998). K. Nakagawa et al.: in "The role of radiation in the origin and evolution of life" ed. by M. Akaboshi et al., Kyoto University Press (in press).
- 9) T. Inagaki: BIOPOLYMERS **12**, 1353 (1973).
- 10) J. W. Preiss and R. Setlow: J. Chem. Phys. **25**, 138 (1956).
- 11) P. A. Snyder, P. M. Vipond and W. C. Johnson: BIOPOLYMERS **12**, 975 (1973).
- 12) J. G. Kirkwood: J. Chem. Phys. **5**, 479 (1937).
- 13) I. Tinoco JR: Advan. Chem. Phys. **4**, 113 (1962).
- 14) L. D. Barron: Molec. Phys. **21**, 241 (1971).
- 15) J. Goulon, C. Goulon-Ginet, A. Rogalev and V. Gotte: J. Synchrotron Rad. **6**, 673 (1999).
- 16) K. Seki and H. Inokuchi: Chem. Phys. Lett. **65**, 158 (1979).
- 17) R. W. Bigelow and W. R. Salaneck: Chem. Phys. Lett. **89**, 430 (1982).
- 18) P. Loefgren, A. Krozer, J. Lausmaa and B. Kasemo: Surface Science **370**, 277 (1997).
- 19) 浜口浩三, 武貞啓子:「蛋白質の旋光性」, 学会出版センター, 1988年.
- 20) J. Boese, A. Osanna, C. Jacobsen and J. Kirz: J. Electron Spectrosc. Relat. Phenom. **85**, 9 (1997).
- 21) V. Carravetta, O. Plashkevych and H. Agren: J. Chem. Phys. **109**, 1456 (1998).
- 22) O. Plashkevych, V. Carravetta, O. Vahtras and H. Agren: Chem. Phys. **232**, 49 (1998).
- 23) J. J. Flores, W. A. Bonner and G. A. Massey: J. Am. Chem. Soc. **99**, 3622 (1977).
- 24) 西野英雄, 井上佳久: 日本化学会第76春季年会, 1999年3月28-31日, 神奈川.
- 25) A. Salam: J. Mol. Evolution **33**, 105 (1991).
- 26) K. Soai, T. Shibata, H. Morioka and K. Choji: Nature **378**, 767 (1995).
- 27) C. Ponnampuruma and E. Peterson: Science **147**, 1572 (1965).
- 28) E. Imai, H. Honda, K. Hatori, A. Brack and K. Matsuno: Science **283**, 831 (1999).