# 硫化水素による細胞様高分子の非生物的合成

紀　本　岳　志*・藤　永　太一郎**

中海（島根県，北緯35°30′，東経133°10′）での海底（水深6m）観測結果から，硫化水素が発生している貧酸素水塊において急激な減少と，それに伴う懸濁ペプチド含有物質の増加現象を発見した[1]。硫化水素は，最近発見された熱水噴出口や火山噴泉などでの主要還元物質であり，そこに生息する硫化水素を利用する硫黄細菌（*Sulfolobus* など）がリボゾームRNAの塩基配列測定による系統分類法の発達により，始原生物に近い古細菌であることが分かってきた[2),3)]。また，先カンブリア時代始生代（25億年以上前）における堆積岩として，原始海洋の組成を推定する上で重要な証拠とされているアルゴマ型の縞状鉄鉱層には，顕著な硫化物相が存在しており，多量の黄鉄鉱（Pyrite；$FeS_2$）や磁硫鉄鉱（Pyrrhotite $Fe_{0.86}S$ 〜$Fe_{0.9}S$）を含んでいる[4]。

この様な観点から，硫化水素は，現代の沿岸海底・熱水噴出口・火山噴泉などのキャラクタリーゼーションのための主要化学成分のみならず，生命の起原に対しても重要な役割を担っている可能性があると考え，モデル合成実験を行った。

実験は，各種の濃度の反応試薬混合物（反応液）a).ギ酸，ホルムアルデヒト，アンモニア，塩化マグネシウム；b).ギ酸，アセトアルデヒト，アンモニア，塩化マグネシウム；c).ホルムアルデヒト，ヒドロキシルアミン，塩化マグネシウム；d).ホルムアルデヒト，シアン化カリウム，アンモニア，塩化マグネシウム の4種類の組み合せについて行った。また，反応を促進する目的で，各々$10^{-4}$Mの，鉄(Ⅱ)イオン，マンガン(Ⅱ)イオン，銅(Ⅱ)イオン，モリブデン酸イオン，コバルト(Ⅱ)イオン，亜鉛(Ⅱ)イオンの遷移金属イオン混合液を加えた。

調整した反応液（400ml）を，0.2μmヌクレオポアーフィルターにて濾過し，500mlの丸型フラスコに移して，テフロン製スターラーで撹拌しながら，1％硫化水素ガス／窒素バランスのガスを50ml/minの流速で通気し，反応させた。反応は室温（20℃付近）で行った。通気時間は，いずれも24時間とした。（硫化水素の総通気量として，約0.03mol）

硫化水素ガス通気のかわりに，0.01—0.1molの硫化ナトリウム（9水和物）を結晶のまま反応液に加え，15分間窒素ガスにより脱気ののち反応させると，硫化水素濃度が反応開始時に高濃度であるため，ガス通気の場合より反応は促進される。（約1時間）。

反応開始後，数時間以内に，それまで透明であった反応液中に，突然，白色の沈殿が生成する。（反応促進触媒として，銅(Ⅱ)イオン，モリブデン酸イオン，亜鉛(Ⅱ)イオンのいずれか，もしくは全部を加えた場合には，褐色の沈殿が生成する。鉄(Ⅱ)イオン，マンガン(Ⅱ)イオン，コバルト(Ⅱ)イオンの場合は，白色沈殿）

この沈殿の光学顕微鏡写真（一例）を，図1に示す。

* 紀本電子工業㈱　** 奈良教育大学

沈殿を，0.2 $\mu$m ヌクレオポアーフィルターにて濾過し，乾燥後，重量測定，元素分析，加水分解後（試料1 mgr に5.7N塩酸1 ml を加え，真空脱気後封入し105℃24時間加熱）アミノ酸分析を行った。

また，沈殿を空気中450℃にて1時間加熱すれば，黒色の灰分状となり，その残査重量化は，沈殿重量の8～19%であった。この残査には，金属イオンや炭化物が含まれているものと推定される。

表1に，合成および分析の手順を，表2に，各種反応液にて合成した際の沈殿収量（Products weight，mgr），元素分析結果による沈殿中の窒素／炭素含有比（N/C ratio，モル比），沈殿中のアミノ酸含有量（Amino acid，$\mu$gr/mgr）をまとめたものを示す。尚，表2中アミノ酸含有量の中で，試料番号91601Aおよび91701については，グリシリンのみが大量に生成しているため，グリシンのみの重量を記載した。また，アミノ酸分析については，Moore－Stein法[5]によるアミノ酸自動分析計，および，オルトフタルアルデヒト（OPTA）とN－アセチル－L－システイン（AcCys）を反応試薬とした，高速液体クロマトグラフィー蛍光検出法により測定した[6),7)]。尚，反応温度を90℃に上げ，表2の条件にて合成を行った場合，いずれも反応液がただちに暗褐色となり沈殿の生成は認められなかった。

## マグネシウムイオンの効果

反応液にマグネシウムイオンが含まれていない場合でも，反応に要する時間は増加するが，含まれている場合と同様に沈殿が生じる。しかし，その中に含まれるアミノ酸濃度は，著しく減少する。表3に，5Mギ酸アンモニウム，0.1ホルムアルデヒト，0.1M塩化マグネシウムの反応液（表2

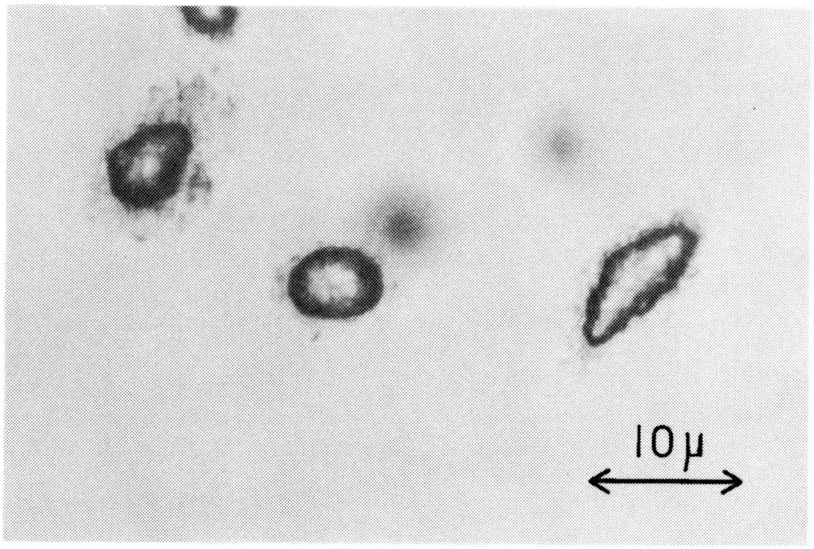



**図1　細胞様有機高分子**

## 表1　合成手順

反応液（A)を調整（400ml）→ PH測定

↓

0.2$\mu$m　フィルターで濾過

↓

反応器に移しテフロン製スターラーにて攪拌しながら　1％　H2S／N2を50ml／minでバブリング（室温）もしくは，適当な濃度の硫化ナトリウムを加える

↓

沈殿生成

↓

濾過・乾燥 → 濾液　PH測定

↓

重量測定

↓

元素分析　　加水分解

5.7N　HCl，24HR

↓

アミノ酸分析

A）反応液

1．ホルムアルデヒト，アンモニア
　ギ酸，塩化マグネシウム

2．アセトアルデヒト，アンモニア
　ギ酸，塩化マグネシウム

3．ホルムアルデヒト，ヒドロキシルアミン，　塩化マグネシウム

4．ホルムアルデヒト，シアン化水素
　アンモニア，塩化マグネシウム

B）還元剤

1．1％硫化水素ガス

2．硫化ナトリウム

C）触媒（$10^{-4}$M程度）

鉄（Ⅱ）イオン

マンガン（Ⅱ）イオン

銅（Ⅱ）イオン

モリブデン酸イオン

コバルト（Ⅱ）イオン

亜鉛（Ⅱ）イオン

などの遷移金属イオン

### 表2　硫化水素を用いた合成実験結果

| SAMPLE NUMBER | CONCENTRATION OF THE REACTANTS a) | PRODUCTS WEIGHT ( mg ) | N/C RATIO (mol/mol) | AMINO ACID b) (μg/mg) |
|---|---|---|---|---|
| 30302 | 0.01M $H_2CO$, 0.01M $NH_4Cl$, 0.01M HCOOH, 0.5 M NaCl, 0.05M $MgCl_2$, pH 2.3 | 65 | 0.0089 | 0.06 |
| 40301 | 0.1M $H_2CO$, 1M $NH_4Cl$, 1M HCOOH, 0.5M $MgCl_2$, pH1.8 | 492 | 0.217 | 0.31 |
| 83101 | 0.001M $H_2CO$, 0.01M $HCOONH_4$, 0.5 M NaCl, 0.5M $MgCl_2$, pH5.3 | 10 | 0.112 | 0.38 |
| 32401 | 0.08M $H_2CO$, 1.6M $NH_4Cl$, 1.6M HCOOH, 1.6M $MgCl_2$, pH1.7 | 58 | 0.178 | 0.52 |
| 62301 | 0.1M $H_2CO$, 5M $HCOONH_4$, 0.1M $MgCl_2$, pH 4.8 | 717 | 0.275 | 0.89 |
| 62302 | 0.1M $CH_3CHO$, 5M $HCOONH_4$, 0.1M $MgCl_2$, pH4.8 | 876 | 0.051 | 1.14 |
| 40201 | 0.1M $CH_3CHO$, 1M $NH_4Cl$, 1M HCOOH, 0.5M $MgCl_2$, pH1.8 | 334 | 0.191 | 0.24 |
| 91601 | 0.1M $H_2CO$, 0.1M $NH_2OH$, 0.5M NaCl, 0.5M MgCl, pH1.8 | 83 | 0.199 | 3.48 c) |
| 91601A | 0.2M $H_2CO$, 0.1M $NH_2OH$, 0.5M NaCl, 0.5M $MgCl_2$, pH 1.0 | 540 | 0.210 | 0.79 c) (Gly) |
| 91701 | 0.2M $H_2CO$, 0.1M KCN, 0.1M $NH_4Cl$, 0.5M NaCl, 0.5M $MgCl_2$, pH8.5 | 652 | 0.360 | 16.8 c) (Gly) |

a). 400ml reaction volume, room temperature, 1% $H_2S/N_2$ gas bubbling
b). Moore-Stein method ( Ninhydrin mehtod )
c). OPTA/AcCys pre-column reaction and reversed-phase liquied chromtography for separation of the enantimers

中，試料番号62301）で合成した沈殿中のアミノ酸分析結果と，塩化マグネシウムを除いて合成した場合のものとを示す。

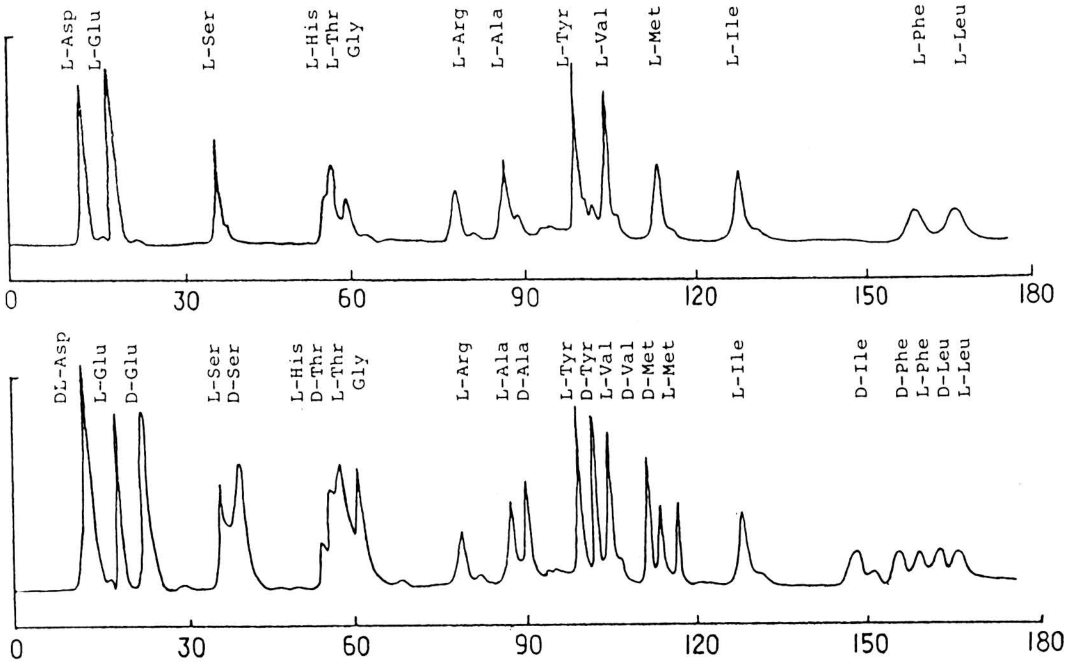
## 遷移金属イオンの効果

江上らは，原子海洋における化学進化は，現在の原核生物を含めた生物一般に用いられている6種の遷移元素（Mo, Zn, Fe, Mn, Co, Cu）により促進されたとの仮説のもとに研究を行っているが[8),9),10)]，本モデル合成実験においても，上記の元素を加えることにより（いずれも$10^{-4}$M），反応は著しく促進される。反応系に，鉄(Ⅱ)イオン，マンガン(Ⅱ)イオン，コバルト(Ⅱ)イオンのいずれか，もしくは全部を加え，pH 4以下の条件で反応させた場合には，加えない場合と同様の白色沈殿を生成する。一方，モリブデン酸イオン，銅(Ⅱ)イオン，亜鉛(Ⅱ)イオンのいずれか，もしくは全部を加えた場合には，褐色の沈殿となる。この事は，後者の金属イオンでは，硫化物沈殿が安定である事と関係するのではないかと推定される。

表3　アミノ酸収量に対するマグネシウムイオンの効果

| Amino Acid (ngr/mgr) | Total | Asp | Thr | Ser | Glu | Gly | Ala | Cys | Val | Ile | Leu | Lys |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| with $Mg^{2+}$ | 888 | 92 | 33 | 114 | 152 | 223 | 20 | 37 | 47 | 33 | 75 | 62 |
| without $Mg^{2+}$ | 121 | — | — | 10 | 58 | 53 | — | — | — | — | — | — |

Synthesis condition ; 5M $HCOONH_4$, 0.1M$H_2CO$, 1% $H_2S/N_2$ bubbling at 24 hours with or without 0.1M $MgCl_2$ at room temperature, pH ; 4.8. Amino acid composition were analysed by moore-Stein Method automatic amino acid analyser detected by ninhydrin method after hydrolysis of the samples.




Liquid chromatogram of OPTA/AcCys derivatives of standard amino acid enantiomers. Mobile phase,50mM ammonium acetate and acetonitrile, Gradient from 0% of acetonitrile to 30% during 180 min. Each 1 nmol of amino acid were injected。 Column, Develosil-ODS-5(20cm x 6mm I.D.)

図2　OPTA／AcCys法によるアミノ酸の光学異性体の液体クロマトグラフ

## 液体クロマトグラフィーによる生成アミノ酸の光学異性体の分析

前述したOPTA/AcCysを反応試薬として用いた液体クロマトグラフィーによるアミノ酸分析法[6),7)]ではアミノ酸の光学異性体の分析が可能である。この方法を参考にして，生成沈殿を加水分解後，そのアミノ酸の光学異性について検討を行った。まず，D.L体アミノ酸または，L体アミノ酸を各々$10^{-4}$M含む標準溶液を作成し，OPTA/AcCysと反応後，アミノ酸注入量として各々1nmolになる量を注入した時の液体クロマトグラフィーのパターンを図2に示す。この条件では，アスパラギン酸（Asp）はD,L分離せず，また，ヒスチジン(His)，トレオニン(Thr)，については，かなり分離能が悪く，リジン(Lys）についてはピークが出て来ない。以上の点については，今後の分析法の改良が必要であるが，他のアミノ酸については，光学異性体の分析が可能であり，図2に示した条件で分析を行った。図3に，各種の条件で生成した沈殿のアミノ酸分析の代表的なクロマトグラムを示す。

図3中，ブランク(Blank）は，試料を加えずに，同様の手順（加水分解後，アミノ酸分析）で行ったものであり，また，コンタミネーションテスト(Contamination test）は，アンモニウムイオンを含まない反応液により合成を行い，生成した沈殿を20mgr取り，同様の手順で分析したクロマトグラフである。試料番号83101は，アミノ酸濃度が低いため，試料20mgrを加水分解した。また，試料番号91601は，2mgrを加水分解し分析した。

いずれの試料についても，グルタミン酸，セリン，アラニンについて，L体濃度が，D体に比べかなり大きい事を示すピークが得られている。また，その他にアミン類であると推定される，アミノ酸以外のピークが得られている。

この分析結果については，クロマトグラフによる保持時間のみの測定であるため，今後，物質の単離・同定，施光度測定などにより光学収率の定量的な確認が必要であり，また，一連の合成・分析手順中での微生物などの汚染についての厳密な検討を必要とするが，この新しく発見した硫化水素による合成反応が，生命の起原におけるアミノ酸の左施性についての疑問を解く可能性を示唆している。

## 生命の起原について

以上，本合成法について述べてきたが，生命起源との関連について，推論をまじえて述べてみたい。

オパーリンの先駆的研究[11)](1927年)以来，ミラー・ユーレイの還元型大気からのアミノ酸合成[12),13)](1953年）など数多くの化学進化（原始無生物環境から生物への進化）の仮説・実験がなされているが[14),15)]，が現在，その種々の仮説に対して，以下の様な疑問点が掲げられている[16),17)]。

1）ミラー・ユーレイの実験ではメタン・アンモニア・水などの還元型大気において，大気中でアミノ酸が合成されたとされているが，最近の地球物理学の理論では原始大気は，二酸化炭素・窒素・水などよりなる酸化型の大気であったのではないかと推定されている。

2）還元原始大気中で生成したアミノ酸が，海洋中で重合し細胞様高分子となるためには，高温・高圧下の様な大きなエネルギーを必要とする事が実証されている。従って，海洋の様な緩やかな条件下で生命が誕生するためには，上記と異なる機構を経る必要がある。

3）また，従来のモデル実験では，生成したアミノ酸や糖はすべてラセミ体(光学活性を持たない)であるとされている。(生物を構成する

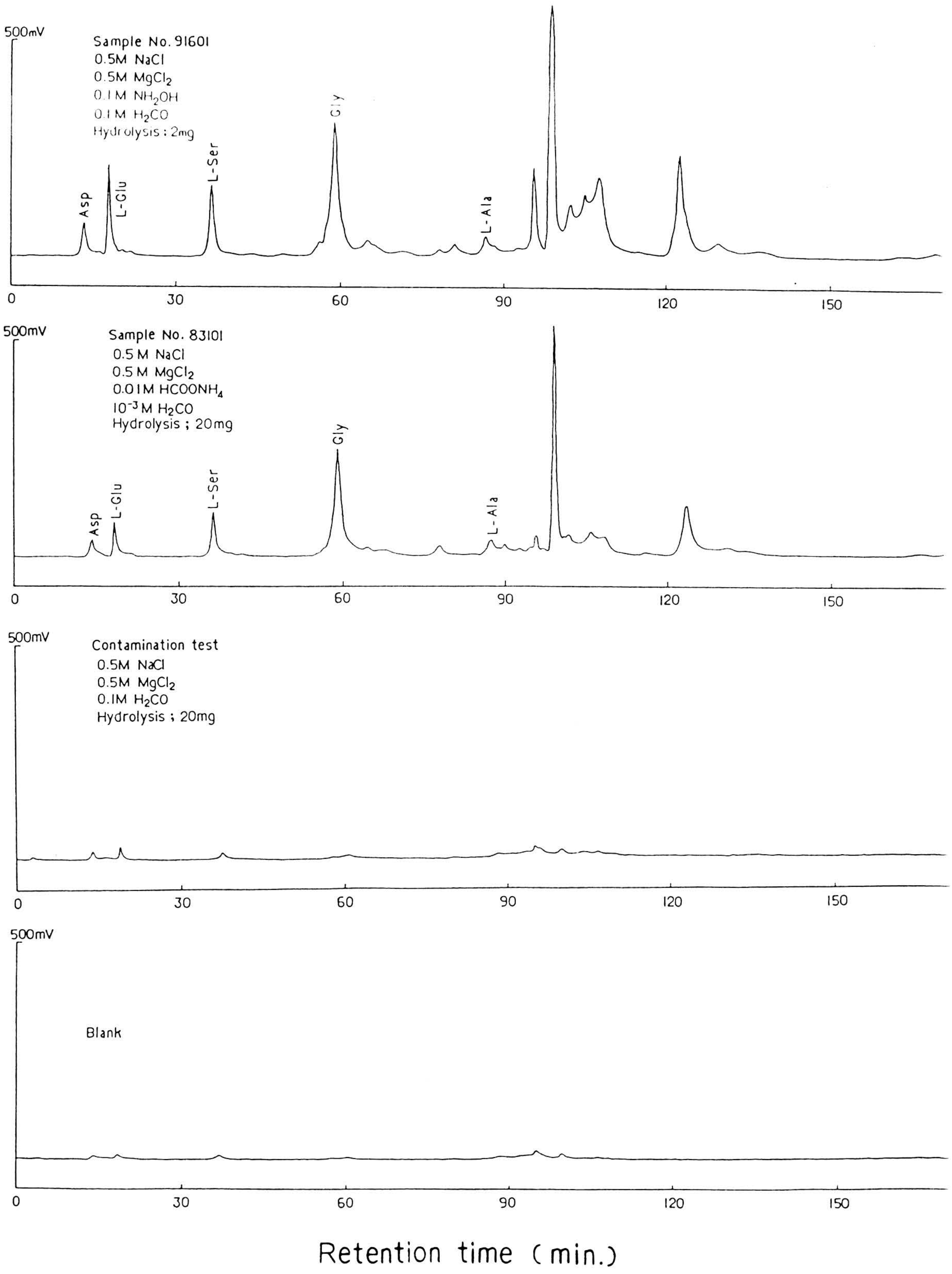



**図 3　OPTA／AcCys 法による光学異性体の分析**

アミノ酸や糖は光学活性(アミノ酸：L体，糖：D体)を持っている。)

4）従来行なわれてきたモデル実験や模擬細胞による実験の反応機構は，実際の生物とはかけはなれすぎている。初期反応は，今も原始的なバクテリアの中で行なわれていると思われる。

この様な疑問に対し，本合成法では，以下の推定化学反応式にまとめられる様に，海洋で普通に存在するギ酸(HCOOH)，ホルムアルデヒト($H_2CO$)，アンモニア($NH_3$)，硫化水素($H_2S$) マグネシウムイオン($Mg^{2+}$) などから普通の条件 (20℃，1気圧) で，細胞様高分子 (有機高分子) が大量に合成される。

**推定化学反応式**

A). $$HCOOH + 2H_2CO + NH_3 + H_2S \xrightarrow[Mg^{2+},\ \text{遷移金属}]{\text{常温・常圧}} \xrightarrow{\text{酸化還元反応}} \underset{\text{ポリペプチド}}{-\!\!(CO-\underset{\displaystyle CH_3}{\underset{|}{CH}}-NH)\!\!-} + \underset{\text{イオウ}}{S} + 3H_2O$$

B). $$HCOOH + 2H_2CO + NH_3 \underset{\text{還元}}{-\,O} \underset{\text{脱水}}{-\,2H_2O} \longrightarrow -\!\!(CO-\underset{\displaystyle CH_3}{\underset{|}{CH}}-NH)\!\!-$$

$$H_2S + 4O \longrightarrow H_2SO_4$$

従って，従来の研究に比べて，次のような特徴を持っている。

1). 現代の沿岸海洋においてごく普通に見られる様な常温 (20℃付近)，常圧 (1 atm) の自然環境下で，細胞様高分子の合成を行っている。その生成物は，すべての有機高分子であり，その内に0.1～2％重量比のポリペプチドを含んでいる。

2). 生成物を加水分解し，アミノ酸分析を行ったところ，グリシン，アスパラギン酸，グルタミン酸，セリン，トレオニン，アラリン，バリン，イソロイシン，ロイシン，リジンなどのアミノ酸を同定。その他は，アミン類，糖，脂肪酸などと推定される。

3). この合成のエネルギー源としては，硫化物イオン(硫化水素) が働いており，従来法に見られる，一般環境からみれば特殊な条件でしか存在しない様なエネルギー (火花放電，紫外線，放射線，高温加熱) は必要としない。

4). 従来の多くの考え方では，原始地球環境では，まずアミノ酸が合成され，そのアミノ酸が重合し細胞様高分子 (ポリペプチド) が出来たとされているが，この考えでは，重合に大きなエネルギーを必要とする。しかし，本合成法では，反応経路中にアミノ酸の生成を経ず，直接高分子を合成しているため，重合に要する特別なエネルギーを必要としない。(赤堀らのいわゆる「ポリグリシン説」ではアミノアセトニトリルより，ポリペプチドを合成している[18])

5). 本合成法において反応はすみやかに進行し，ほぼ数時間以内に終了する。また，触媒として$Fe^{2+}$，$Mn^{2+}$，$MoO_4^{2-}$，$Cu^{2+}$，$Co^{2+}$，$Zn^{2+}$などを少量 ($10^{-4}$M程度) 加えることにより，反応がきわめて早くなる。(1時間以内)

6). ミラー・ユーレイの実験に代表される様に，従来のアミノ酸合成では，反応初期条件の原始大気として，メタン，アンモニア，水よりなる還元大気を想定しているが，今日では，原始大気は還元型ではなく二酸化炭素，窒素，水よりなる酸化型の大気であったと言われている[19),20)]。この様な酸化型の大気では，紫外線による光化学反応などにより，ギ酸，ホルムアルデヒト，アンモニアなどしか生成しない。本合成法では，酸化型の大気より生成するとされている上記の物質から細胞様高分子が生成する。

7). 38億年前の最古の推積岩であると言われているグリーンランド イスア地帯の岩石中に多量の硫化鉄鉱床が発見されている事からも[4]，原始海洋には，大量の硫化物イオン（硫化水素）や鉄，マンガン，モリブデンなどの遷移金属が存在していたものと推定される。

8). 現在でも海底の熱水噴出口や火山地帯の噴泉付近では，硫化水素をエネルギー源として生体有機成分を化学合成している *Sulfolobus* 属などの硫黄細菌が生存している。これらのバクテリアは，現在，原始地球で誕生した地球上最も古いバクテリアの仲間であると言われており[2),3)]，その視点からも化学進化の初期過程において，硫化水素が重要な役割を果たしていたのではないかと推定される。

9). 液体クロマトグラフ分析法によるアミノ酸の光学異性体の分析結果から，生成したポリペプチドを構成するアミノ酸は，L体である可能性が強い。この事は，現在までの生物すべてがL体のアミノ酸でできていることを証明するものであるかも知れない。今後の綿密な検討を要する。

中海の連続観測結果にヒントを得て見出したこの合成反応は，以上の様な理由で，原始海洋における化学反応や，現在の自然環境で起っている硫化水素還元雰囲気環境のメカニズムを解くための重要な役割を担っていると思われる。今後，より詳細に研究を進めて行きたい。

終りにあたり，御助言下さった，京都大学化学研究所　左右田健次教授，島根大学理学部　橋谷博教授，京都大学理学部機器分析センター　中山英一郎博士，アミノ酸分析を行って下さった，同センター山本文子博士，元素分析を行って下さった同志社大学　原正教授，実験を手伝っていただいた 茂村直樹氏に厚く御礼申し上げます。

## 引 用 文 献


1）紀本岳志，橋谷博，藤永太一郎，海洋化学研究第2巻，第2号，102－107,（1987）

2）C.R. Woese, Microbiol. Rev., **51**, 221 (1987)

3）大島泰郎，化学，**42**，772－773（1987）

4）梶原良道「先カンブリア縞状鉄鉱層」立見辰雄編「現代鉱康学の基礎」p215－228，東京大学出版会（1977）

5）S. Moore, D.H. Spackman and W.H. Stein, Anal. Chem., **30**, 1185－1189 (1985)

6）R.H. Buck and K. Krummen, J. Chromatogr., **315**, 279－285 (1984)

7）N. Nimura and T. Kinoshita, J. Chromatogr., **352**, 169－178 (1986)

8）H. Hatanaka and F. Egami, Bull. Chem. Soc. Jpn., **50**, 1147 (1977)

9）Kamalnddin, H. Yanagawa and F. Egami, J. Biochem., **85**, 1503 (1979)

10）H. Yanagawa, Y. Kobayashi and F. Egami, J. Biochem., **87**, 359 (1980)

11）A. I. Oparin, The Origin of Life (1924); 邦訳「生命の起原－生命の生成と初期の発展」（岩波書店）

12）S.L. Miller, Science, **117**, 528－529 (1953)

13）S.L. Miller, J. Am. Chem. Soc., **77**, 2351－2361 (1955)

14）S.L. Miller and L.E. Orgel, "The Origins of Life on the Earth", Printice Hall, Inc., (1974); 邦訳「生命の起原」培風館（1975）

15）A.I. Oparin, 邦訳「物質→生命→理性」岩波書店（1979）

16）日本化学会編，化学総説「物質の進化」No.30，学会出版センター（1980）

17）A.I. Oparin, C. Ponnamperma，今堀宏三，

「生命の起原への挑戦」講談社（1977）
18) H. Hanafusa and S. Akabori, Bull. Chem. Soc. Japan, **32**, 626−630（1959）
19) T. Matsui and Y. Abe, Nature, **319**, 303−305（1986）
20) T. Matsui and Y. Abe, Nature, **322**, 526−528（1986）