

令和 6 年 6 月 24 日現在

機関番号：35404

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2023

課題番号：19H02017

研究課題名(和文)冥王代のプラズマ過程と鉱物熱水環境を多段シミュレーションする化学進化研究

研究課題名(英文) Study on chemical evolution by simulation experiments regarding the plasma processes and hydrothermal conditions with minerals under the Hadean Earth environments

研究代表者

川村 邦男 (Kawamura, Kunio)

広島修道大学・人間環境学部・教授

研究者番号：50204772

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,800,000円

研究成果の概要(和文)：原始地球において生命出現に至った化学進化過程は、様々なシミュレーション実験によって研究されてきた。しかし、それらの過程が広大な地球でどのようにつながったかを、調べる手立てはなかった。本研究では、「鉱物熱水系」と「ラジカル反応系」の実験手法を結合し、これらの化学進化実験法を確立することをめざす。また、これらの実験手法を用いて、ペプチドおよびRNAの化学進化過程を解析し、リアルな化学進化過程を描く。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ラジカル反応は放射線・放電・隕石衝突などに由来し、化学進化の重要であるが、良い研究手法がなかった。本研究では、ナノパルス放電と超音波をプラズマ発生源とする新しい手法を確立し、タンパク質とRNAの化学進化に対するラジカル反応の役割を明らかにする。また、個別の模擬環境で行われた化学進化実験を組み合わせ、原始地球環境や水の存在する天体環境と整合性のある化学進化過程の一般的な道筋を、明らかにする。

研究成果の概要(英文)：Chemical evolution processes on the primitive Earth have been investigated by different types of simulation experiments. However, there were no suitable research techniques for identifying how different chemical evolution processes had linked on the vast Earth. In the present study, two experimental systems, the hydrothermal-mineral system and the radical reaction system, are merged to develop a new type of simulation method for chemical evolution. By using the method, we analyze the chemical evolution of RNA and peptides drawing a realistic chemical evolution scenario.

研究分野：生命の起源

キーワード：生命の起源 プラズマ 熱水反応 RNA ペプチド

1. 研究開始当初の背景

原始地球において生命出現に至った化学進化過程は、様々な模擬環境下でのシミュレーション実験によって研究されてきた。例えば、①原始大気からのアミノ酸・核酸塩基の生成、②アミノ酸からのペプチド生成、③ホルモース反応による糖類の生成、④糖類・核酸塩基・リン酸からのヌクレオチドの生成、⑤ヌクレオチドからの RNA の生成、⑥機能を持つタンパク質や RNA の生成、などの化学進化過程の一端が明らかにされた。しかし、(1) これらの過程が広大な原始地球でどのようにつながったか、(2) これらの化学進化を起こす妥当な反応場が存在し得たのか、(3) 水の存在する天体での化学進化シナリオの一般則は何か、については明確な答えはない。また一方で、放射線・放電・隕石衝突などに由来するラジカル過程は高エネルギー供給源として重要であるが、系統的に調べる良い研究手法はなかった。このため、ラジカルが寄与する化学進化研究は断片的であり、特にモノマーから生体高分子(タンパク質や RNA) がラジカル過程によって生成する反応はほとんど着目されていなかった。

一方、RNA およびタンパク質の化学進化はこの 50 年間に盛んに研究されてきた。これらの化学進化シナリオは、その当時の原始地球環境と矛盾しないものでなければならない。そこで代表者は、原始地球(高温高圧など)の過酷な環境を模擬するために、一連の熱水フローリアクター(次ページ図参照)を世界に先駆けて開発し、タンパク質および RNA の化学進化を行ってきた(Int. J. Astrobiol. 2004; Anal. Sci. 2011; Biochimie 2012; Life, 2017)。これらの研究成果によって以下の課題が明確になった。

(1) タンパク質状物質および RNA の個々の化学進化は研究されてきたが、広大な原始地球でそれらの過程がどのようにつながるかには、全く焦点があてられなかった。

(2) 放射線・放電・隕石衝突などの高エネルギー源ではヒドロキシラジカルの生成がカギである。従って、ヒドロキシラジカルを伴う化学進化を系統的に研究する手法を、熱水フローリアクターと結合すれば、化学進化研究は飛躍的に発展する。

具体的には、「鉱物熱水系」と「ラジカル反応系」の 2 つの化学進化過程を連続的かつ循環的に調べられる新しい研究手法を構築し、化学進化を総合的に研究すれば、これらの課題の解決につながるものと着想した。

2. 研究の目的

本研究では、①広大な地球での化学進化過程をよりリアルに再現するための新しい実験ツール(多段化学進化装置、下の概念図)を開発し、②タンパク質と RNA の化学進化に対するラジカル反応および鉱物・熱水の役割を明確にする。これらに基づいて、③個々の過程のつながりに矛盾がなく、原始地球環境や水の存在する天体環境と整合性のある化学進化過程の一般的な道筋を、明らかにすることを目的とする。具体的には、①A) アミノ酸原料→アミノ酸→タンパク質、および、B) リボース・塩基・リン酸源→ヌクレオチド→RNA、に焦点をあて、②申請者らが開発してきた鉱物熱水系およびラジカル反応系を結合し、世界に例のない化学進化実験法を構築する。さらに、③単純な分子から原始タンパク質および原始 RNA が生成する過程を解析し、④原始タンパク質および RNA が最初に獲得した生体機能を分析する。

3. 研究の方法

A~E の項目を設定し国内外の種々の分野の専門家からなる体制を構築し、研究を進める。

A: 新しい化学進化実験ツール(多段化学進化装置 Multi-HF)の開発

B: アミノ酸原料からタンパク質までの化学進化の解析

C: 塩基・糖・リン供給源から RNA までの化学進化の解析

D: 原始タンパク質と原始 RNA の機能解析

E: 計算化学による評価

A) 装置の製作・評価(川村・佐々木): 既に確立した「鉱物熱水リアクター」に「プラズマ発生源」を結合した新型リアクター(多段化学進化装置 Multi-HF)を製作する。

B) アミノ酸原料からタンパク質(川村・佐々木・大学院生)

B-1(プラズマ反応+鉱物熱水系によるアミノ酸生成過程)およびB-2(プラズマによるアミノ酸からのオリゴペプチド生成過程)を速度論的に解析する。生成物は HPLC、LC-MS、および MALDI-MS を用いて分析する。

C) 塩基・糖・リン供給源から RNA(川村・Maurel・小川・小長谷・大学院生)

C-1(塩基・糖およびリン酸源からのヌクレオチド生成過程)およびC-2(プラズマによるオリゴヌクレオチド生成)ヌクレオチドからのオリゴヌクレオチドの生成におけるプラズマ照射(ラジカル反応)の効果を Multi-HF を用い追跡・解析する。

D) 原始タンパク質・RNA の機能解析(川村・Maurel・小川・小長谷・大学院生)を酵素速論的反応解析を行う。

E) 計算化学による評価(Saitta・ポストク・川村): 量子化学計算により高温下および鉱物存在

下でのヌクレオチドおよびアミノ酸の生成エネルギー・生成過程のトラジェクトリーを計算し化学進化実験結果を検証する。

初年度年度は項目Aを確立し、B・Cの項目に多段化学進化装置 (Multi-HF) を応用する。次年度以降はさらにB・Cを引き続き検討し、Dを開始する。また、Eとして計算化学による検証・支援を行う。研究体制は、代表者・川村 (化学進化・熱水化学)、研究分担者・熊本大学・佐々木満准教授 (プラズマ化学・熱水化学)、研究協力者・安田女子大学・小川麻里准教授 (分子生物学)、安田女子大学・小長谷紀子准教授 (生化学)、M.-C. Maurel 教授・パリ第6大学-ソルボンヌ大学 (生命の起源・分子生物学)、A. M. Saitta 教授・パリ第6大学-ソルボンヌ大学 (計算化学)、および大学院生・ポスドク・研究補助員によって遂行する。

4. 研究成果

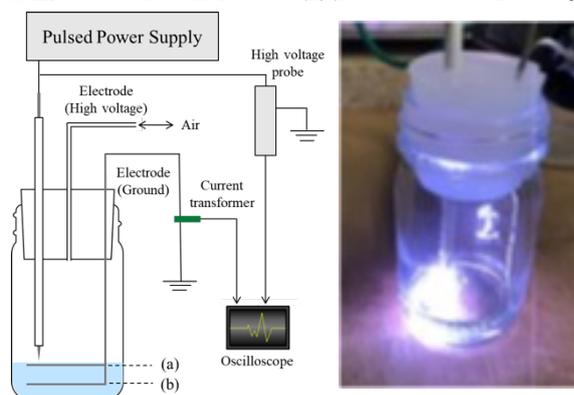
4.1. プラズマ過程と熱水過程の接続の検討 (A:MultiHF 製作)

当初はナノパルス放電プラズマおよび超音波プラズマの反応研究に加えて、プラズマ照射実験と熱水実験のそれぞれの装置をフロー系で接続する技術的研究を行う予定であった。この研究期間に COVID-19 による感染症が世界中に蔓延したため、本研究の活動は研究補助員を手配することができなくなる、共同研究者との対面での共同実験ができなくなるなどの影響を受けた。このため、全体をつなぐ研究に先立って、プラズマ照射実験を確立するところを先に進めることとした。後述する通り、その後プラズマ照射実験のノウハウが蓄積され、接続は十分に可能である見通しを得た。また研究代表者が海外での研究に派遣されたため、2021 年度の中頃から2022 年度の中頃までの間に、研究を中断した。ただし研究派遣先は研究協力者の研究室でありD:機能解析に関連するので、本研究成果として説明する。

4.2. プラズマ照射実験法の構築 (B:アミノ酸からタンパク質)

予備研究で、アミノ酸を含む水溶液にナノパルス放電プラズマを照射するとアラニンからペプチドが生成することを、報告した (Nagafuchi et al., *Chemical Engineering and Science*, 1, 41-45, 2013)。一方で熱水系では、アラニン 4 量体から長鎖長のペプチドが自発的に生成する反応と、グルタミン酸およびアスパラギン酸を原料とすると長鎖長のペプチドがワンポットで生成する反応を発見した。このために、反応系の設定、超音波照射方法を含む実験手法の確立、生成物の分析法の確立を行った。本研究では、熱水系とプラズマ系を結合するため、ナノパルス放電プラズマによる反応を詳細に研究するとともに、超音波によって発生する局所プラズマを用いて、同様にペプチドが生成するかどうかを調べた。

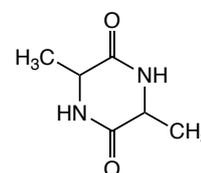
ナノパルス放電プラズマ照射の実験手法はこれまでの研究によっておおむね確立された。プラズマ発生電源と反応容器からなる装置の概要と、プラズマ発生中の反応容器を右図に示す。ガラス容器に 10 mL の反応溶液を入れ、タングステン製アノード電極とステンレス鋼製カソード電極からなる。カソード電極は、水相-気相界面にほぼ近いところ (右図の a)、または水中約 10 mm の地点 (右図の b) に置いた。アノード電極先端から水面までの距離は 1~2 mm とした。界面上にカソードがある場合には熱プラズマが発生し (右写真はそのときの放電状態)、水中にある場合には非熱プラズマが発生する。予備研究によってナノパルス放電プラズマ発生は、アノード電極の先端形状、アノードとカソード間距離、カソードと界面との距離によって鋭敏に影響することが研究の過程で分かった。すなわち、本実験系での放電プラズマ発生を制御することが課題となる可能性があった。一方、超音波発生によって局所的にプラズマが発生することが知られている。従って、プラズマ発生方法の手法として超音波を利用することとした。



4.3. ナノパルス放電プラズマによるペプチド生成反応 (B:アミノ酸からタンパク質)

上述の予備研究でアラニン(モノマー)を原料としてペプチドが生成するかどうかを検討した。ペプチド生成がみられたが生成物の量と同定は十分ではなかった。一方、本研究グループでは熱水を用いると 4 鎖長のアラニンペプチドが伸長することが見出された (Kawamura et al., *JACS* 2005)。この研究でアラニンモノマーはジペプチドを生成しさらに環化してジケトピペラジン (DKP: 構造式) を生成することを確認した。本研究ではプラズマを照射するため、ペプチド生成だけでなくペプチド分解も同時に起こる可能性があるかと期待される。ただしこの種の研究は全く行われていないので、広く原料を探索することを視野に入れて、プラズマ照射実験を試行錯誤した。この過程で、DKP からペプチドが生成する反応を発見した。

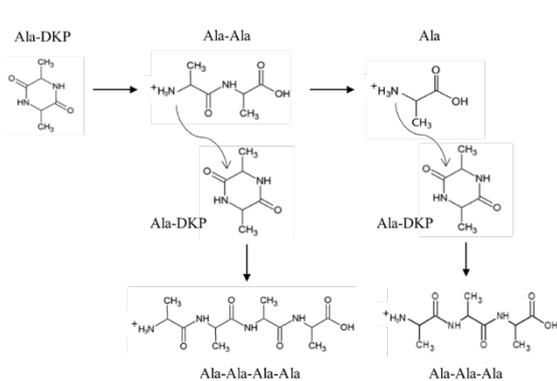
ジケトピペラジンを含む水溶液にナノパルス放電を照射した。放電装置として MPC3000C (榊末松電子製作所) を用い、放電周波数は 50 pps (毎秒 50



回照射)を基準とし、放電時間は3~20 minの範囲とした。アース側電極の位置が界面近くの場合には熱プラズマが発生し、界面から10 mm程度に調整したときには非熱プラズマが発生したものと推定された。放電に伴う電流と電圧の経時変化を観測した結果も、熱プラズマが発生したことを反映している。また熱プラズマが発生する条件下では、種々のペプチド生成が起こることが分かった。HPLC分析によって、3量体(Ala-Ala-Ala)および4量体(Ala-Ala-Ala-Ala)の生成が観察された。LC-MS分析では6量体、8量体、9量体のオリゴペプチドの生成を反映するm/z値をもつ物質、あるいは、オリゴペプチドから脱アミノ、脱メチル、脱炭酸したペプチドに相当するm/z値を持つ物質が観測された。オリゴペプチドの生成量はパルス放電照射回数および照射時間の増加とともに増加した。一方、非熱プラズマが発生する条件下では、オリゴペプチドは生成しなかった。一般に、プラズマ照射による反応では、熱プラズマはエネルギーが大きく、有機物の生成反応は起こりにくいと考えられてきた。一方、本研究では熱プラズマが有機物の合成反応を促進する点で、ユニークである。

以上によって、本研究ではDKPを出発物質としてオリゴペプチドが生成することを見出した。熱水中でオリゴペプチドは分解していくが、最終的にDKPとなる。一方、低温でオリゴペプチドをモノマーから生成する際にもDKPが生成するとオリゴペプチドの伸長反応は停止する。従って、我々が発見した反応系は、原始地球環境下でのペプチドの化学進化という視点からみると、DKPが生成するとオリゴペプチド伸長反応は停止するという問題を解決する新しい反応経路とみることができる。また、水中でのオリゴペプチド合成という視点で見ると、ペプチド合成において厄介な生成物であったDKPは、放電プラズマ照射下では原料になるという画期的な反応である。

一方、これらの反応挙動と生成物の分析結果をもとにして、反応経路とオリゴペプチド生成機構を推定した。反応経路を右図に示す。DKPはナノパルス放電プラズマ照射によって2量体へと開裂する。一方、開裂して生成した2量体と残存するDKPが反応し、4量体を生成する。またモノマーが2量体の分解によって生成し、このモノマーとDKPが反応して3量体を生成すると考えられる。また、プラズマ照射下で種々のラジカル化学種が観測され、このオリゴペプチド伸長反応はラジカル種を経由していることが推定された。以上の成果はNaturwissenschaften 2022に掲載された。



4.4. 超音波照射によるペプチド生成反応 (B:アミノ酸からタンパク質)

超音波による化学反応は古くから研究されており、近年では有害有機物の分解等に用いる研究などがある。超音波を照射すると局所的に5000°C程度の高圧高温条件が発生し、一部はプラズマ条件となる。ナノパルス放電はプラズマ発生の良い手法であるが、水相に電流が流れるとプラズマの発生が抑制される。つまり、原始海洋中などを模擬する環境のような電解質を多量に含む系ではプラズマを発生させることは難しい。一方、超音波に伴うプラズマ発生は発生機構が異なり、電解質共存下でもプラズマ発生することが期待される。超音波発生装置としてQUAVA miniリアクター(株式会社イジョー製)に30110型発振器をつけて用いた。発振器周波数は、200 kHz, 430 kHz, 950 kHz, および1.6 MHzを用いた。内部観察できるガラス窓付きの反応容器を用いた。超音波出力は25 W, 50 W, および95 Wとした。また、反応槽内の温度を制御するため冷却水循環装置LTC-450A(アズワン株式会社)をつけて20°Cに調整した。右図は超音波実験の写真である。一方、反応系を以下のように選んだ。第1に、ナノパルス放電プラズマ照射下でDKPからオリゴペプチドが生成することが見出されたので、DKPを原料とする反応を検討した。第2に、我々の過去の研究から熱水中でグルタミン酸およびアスパラギン酸を主成分とするアミノ酸混合物から長鎖ペプチドが生成することが見出されたので、この系についても検討することとした。生成物の分析は、これまでにこれらの系について得たノウハウに基づいて行った。



様々な条件下でスクリーニングを行い、第1に生成物を吸光光度法で調べた。これらの原料からペプチドが生成すると、ペプチド結合によって紫外領域での吸収スペクトルが変化する。このスクリーニングによって、DKPおよびアミノ酸混合物からなんらかの反応が進行していると推定された。また、このスクリーニングによって、超音波照射の実験では水相のどの位置に、どのようにサンプルをセットするかによって反応が変化することが推定された。以上のスクリーニングおよび実験手法の基礎的検討を踏まえて実験手法を概ね決定した。この方法に基づいて、主にDKP、アラニンモノマー、アラニン2量体、アラニン4量体を原料として反応を行い、生成物を分析した。これらの結果をまとめて、論文を準備中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Sasaki Mitsuru, Miyagawa Yuji, Nonaka Kouki, Miyanomae Ryota, Quitain Armando T., Kida Tetsuya, Goto Motonobu, Honma Tetsuo, Furusato Tomohiro, Kawamura Kunio	4. 巻 109
2. 論文標題 Nano-pulsed discharge plasma-induced abiotic oligopeptide formation from diketopiperazine	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Science of Nature	6. 最初と最後の頁 33 ~ 33
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00114-022-01803-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kawamura Kunio, Ogawa Mari, Konagaya Noriko, Maruoka Yoshimi, Lambert Jean-Francois, Ter-Ovanessian Louis M. P., Vergne Jacques, Herve Guy, Maurel Marie-Christine	4. 巻 12
2. 論文標題 A High-Pressure, High-Temperature Flow Reactor Simulating the Hadean Earth Environment, with Application to the Pressure Dependence of the Cleavage of Avocado Viroid Hammerhead Ribozyme	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Life	6. 最初と最後の頁 1224 ~ 1224
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/life12081224	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Kawamura Kunio, Lambert Jean-Francois, Ter-Ovanessian Louis M. P., Vergne Jacques, Herve Guy, Maurel Marie-Christine	4. 巻 12
2. 論文標題 Life on Minerals: Binding Behaviors of Oligonucleotides on Zirconium Silicate and Its Inhibitory Activity for the Self-Cleavage of Hammerhead Ribozyme	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Life	6. 最初と最後の頁 1689 ~ 1689
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/life12111689	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 川村邦男	4. 巻 -
2. 論文標題 生命起源を展望する：生命システムの時間発展モデルと2遺伝子仮説	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Viva Origino	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kunio Kawamura, Yoshimi Maruoka	4. 巻 87
2. 論文標題 HPLC retention behavior of oligonucleotides on an anion-exchange HPLC with a high concentration of urea	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Chromatographia	6. 最初と最後の頁 17-25
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10337-023-04291-y	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 野中 洗希・キタイン アルマンド・木田 徹也・佐々木 満・川村 邦男・古里 友宏・本間 哲雄,
2. 発表標題 パルス放電を用いたDKPからの直鎖状オリゴペプチド合成における種々のパラメータの影響
3. 学会等名 化学工学会 第51回秋季大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kunio Kawamura
2. 発表標題 Chemical evolution of RNA and proteins compatible with the primitive Earth environments and the two-gene hypothesis on the origin-of-life
3. 学会等名 ELSI Seminar (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kunio Kawamura
2. 発表標題 Chemical evolution of RNA and protein-like molecules compatible with the primitive Earth environments and the two-gene hypothesis for initiation of life-like system
3. 学会等名 "Origins of Life Chemistries & Evolution" Workshop organized by J.-F. Lambert and M.-C. Maurel, Sorbonne University, Museum National D' Histoire Naturelle (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kunio Kawamura, Yoshimi Maruoka, Noriko Konagaya
2. 発表標題 Chemical evolution of RNA and proteins to the primitive life-like system on the basis of the two-gene hypothesis of origin-of-life
3. 学会等名 Goldschmidt 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Koki Nonaka, Mitsuru Sasaki, Kunio Kawamura
2. 発表標題 The selective conversion of diketopiperazine to linear oligopeptide using pulsed arc discharge
3. 学会等名 The 14th International Student Conference on Advanced Science and Technology (ICAST) (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 Kunio Kawamura (Ed. by Pierre Pontarotti)	4. 発行年 2019年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 330
3. 書名 Evolution, Origin of Life, Concepts and Methods (A Non-paradoxical Pathway for the Chemical Evolution toward the Most Primitive RNA-based Life-like System)	

1. 著者名 Kunio Kawamura (Ed. by Ernesto Di Mauro)	4. 発行年 2024年
2. 出版社 Wiley	5. 総ページ数 272
3. 書名 The First Steps of Life (Chapter 8, Hydrothermalism for the Chemical Evolution Toward the Simplest Life-Like System on the Hadean Earth)	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	佐々木 満 (Sasaki Mitsuru) (40363519)	熊本大学・産業ナノマテリアル研究所・准教授 (17401)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	モレル マリー・クリスティーヌ (Maurel Marie-Christine)	Sorbonne Universite, Museum National d'Histoire Naturelle・Professor	
研究協力者	ランパート ジョン・フランソア (Lambert Jean-Francois)	Sorbonne Universite・Professor	
研究協力者	小川 麻里 (Ogawa Mari)	Yasuda Women's University・Associate Professor	
研究協力者	小長谷 紀子 (Konagaya Noriko)	Yasuda Women's University・Associate Professor	
研究協力者	エルベ ギー (Guy Herve)	Sorbonne Universite・Professor	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関

フランス	Sorbonne Universite;	Museum National d ' Histoire Naturelle		
------	----------------------	---	--	--