

THE KANTO CHEMICAL CO., INC. CHEMICAL TIMES

2006 No.3 (通巻201号)

ISSN 0285-2446

ミルクオリゴ糖(乳中少糖)の比較生化学(X) —化学構造的特徴とその利用性—	齋藤 忠夫 浦島 匡	2
新しいフッ素化合物合成技術	岡添 隆	6
2-Chloro-4-nitrophenyl-4-galactopyranosylmaltoside(Gal-G2-CNP)を基質とした新しいアミラーゼ および隣型アミラーゼ測定法 —シカリキッド-N AMYおよびシカリキッド-N p-AMYの基本性能評価—	高笠 信之	9
新・私の古生物誌(2) —ハイギョの進化古生物学—	福田 芳生	12
ドイツの切手に現れた科学者、技術者達(14) ヨハン・カルル・フリードリッヒ・ガウス	原田 馨	22
編集後記		24



ミルクオリゴ糖(乳中少糖)の比較生化学(X)

Comparative Biochemistry of Milk Oligosaccharides (X)

—化学構造的特徴とその利用性—

— Characteristics on the Chemical Structure and Their Application —

国立大学法人 東北大学大学院農学研究科 教授 農学博士 齋藤 忠夫

TADAO SAITO Dr. Agric.
Graduate School of Agricultural Science, TOHOKU University

国立大学法人 帯広畜産大学大学院畜産学研究科 教授 農学博士 浦島 匡

TADASU URASHIMA Dr. Agric.
Graduate School of Food Hygiene, OBIHIRO University of Agriculture and Veterinary Medicine

1. はじめに

哺乳動物は、その名の通り仔に対して自ら乳(ミルク)を分泌して与える。泌乳初期に限定されて生合成・分泌される乳は、とくに「初乳(colostrum)」と呼ばれ、常乳(normal milk)とは区別される。初乳は常乳と比較して成分的に大きく異なり、多量の免疫抗体(immunoglobulin, Ig)に加えて、ラクトース(乳糖)以外に多種多様な「ミルクオリゴ糖(milk oligosaccharides, MO)」と呼ばれる特殊な糖質(炭水化物)が含まれている。

これまでに著者らは、ヒト¹⁾、ウシ²⁾、ウマ^{3),8)}、ヒツジ^{3),5)}、ヤギ⁴⁾、イヌ⁶⁾、カモノハシ⁷⁾およびツキノワグマ⁹⁾の乳に含まれるミルクオリゴ糖の化学構造解析を行い、乳中での存在意義について比較考察してきた。人乳(ヒトミルク)には、これまでに100種類以上のミルクオリゴ糖が全泌乳期に亘って存在することが知られている¹⁾。しかし、ウシなど幾つかの哺乳動物種においては、泌乳初期の非常に短い期間に分泌される初乳に限定されて含まれるミルクオリゴ糖は、その生物の初期成長に特別に必要な成分であることが考えられる。ミルクオリゴ糖には、乳仔腸管内の有用細菌であるビフィズス菌に対する特異的増殖活性(ビフィズス因子)、有害微生物の排除や毒素の中和作用などの感染防御活性(感染防御因子)などの機能が推定されているが、その存在意義を巡る全貌はいまだ解明されていない。

ヒトや各種の哺乳動物のミルクオリゴ糖には、動物組織の上皮、内皮、神経などの細胞表層に存在するスフィンゴ糖脂質に結合している糖鎖と化学構造的に同一のものが存在している。従来報告されてきたミルクオリゴ糖は、還

元末端にN-アセチラクトサミンを含むものを除いては、ラクト系列かネオラクト系列の糖脂質糖鎖構造に分類されていた。ところが、最近Uemuraらによりバンドウイルカ初乳に発見されたミルクオリゴ糖の化学構造は、ヒトなどでは脳神経系に局在するガングリオ系列スフィンゴ糖脂質のGM2の糖鎖構造と同一であるという大きな知見が含まれていた¹⁰⁾。本稿では、その構造決定にあたって威力を発揮したHSQCによる二次元核磁気共鳴スペクトル法(NMR)の解釈を中心に、イルカという陸棲動物とは異なった海獣類の乳中に存在するミルクオリゴ糖の存在意義と重要性について考察してみたい。

2. バンドウイルカミルクオリゴ糖の分離精製

バンドウイルカ(*Tursiops truncatus*)の初乳は、神戸市の須磨水族館で1999年6月に出産した個体より分娩後2日目に得られた。その15 mLを常法に従い、4倍量のクロロホルム/メタノール混液(2:1, v/v)で振とう抽出し、メタノール可溶性画分をBio Gel P-2によるゲルろ過、DEAE-Sephadex A-50による陰イオン交換クロマトグラフィーでの脱塩の後、TSK-gel Amido-80カラムによる順相高速液体クロマトグラフィー(HPLC、移動相:50%および80%アセトニトリル/15 mMリン酸緩衝液を用い、80%から50%までのアセトニトリルの直線濃度勾配溶出)によって各オリゴ糖を分離・精製した。

バンドウイルカ初乳より抽出した糖質画分のBio Gel P-2クロマトグラムを図1に示した。peak 1およびpeak2を合わせた画分のDEAE-Sephadex A-50による陰イオン交換クロマトグラフィーとBio Gel P-2によるゲルろ過によりTt1およ

びTt2を得た。その後Amido-80によるHPLCによりTt1-4、Tt2-2、2-3、2-4を調製した。また、Tt3からはAmido-80HPLC(移動相:50%および80%アセトニトリル/イオン交換水、80%から50%までのアセトニトリルの直線濃度勾配溶出)によりTt3-8を単離精製することができた。

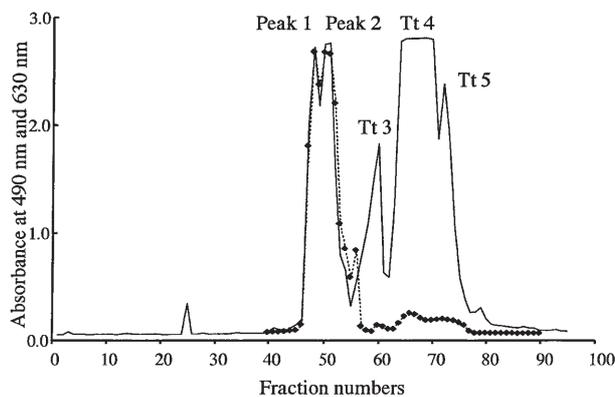


図1 バンドウイルカ初乳より抽出した糖質画分のゲルろ過溶出曲線
全糖質画分のゲルろ過は、以下の条件で行った。
充填剤: Bio Gel P-2 (Extra Fine)
カラム: 2.6 X 100 cm
移動層: 蒸留水(流速は15 mL/h)
分画: 5mL/本
検出: 中性糖はフェノール-硫酸法(-)
シアル酸は過ヨウ素酸-レゾルシノール法(◆)

3. ¹H-NMRおよび¹H-¹³C HSQCによるミルクオリゴ糖Tt1-4の構造決定

HPLCによって分離されたミルクオリゴ糖:Tt1-4のプロトン(¹H)-NMR解析により得られたスペクトラムを図2に示した。オリゴ糖還元末端のグルコース(D-Glc)のC-1に結合するα-およびβ-アノマープロトン(δ 5.219, δ 4.665)が観察された。また、N-アセチルノイラミン酸(Neu5Ac)がガラクトース単位に結合した酸性3糖である3'-シアリルラクトース[Neu5Ac(α2-3)Gal(β1-4)Glc, 3'-SL]のGalβ4H-1アノマープロトンと同様のδ 4.529のシグナルが観察された。またδ4.151のダブルレットダブルレットの特徴的なシグナルの存在は、3位が置換を受けたGalβ4残基のH-3シグナルに由来するものと考えられた。以上より、このミルクオリゴ糖は置換を受けた3'-SLユニットを含んでいることが強く示唆された。

しかしながら、Galβ4残基のH-3シグナルであるδ4.151の化学シフト値は、3'-SLの同残基の化学シフト値(δ4.115)よりもかなり低磁場(左側)にシフトしており、Galβ4の周辺位置がさらに他の糖質により置換を受けている可能性を示唆していた。

また、化学シフト値δ1.927、δ2.657およびδ2.030には、Neu5AcのH-3アクシャル、H-3エクアトリアルおよびN-アセチル基に相当するシアル酸に特徴的な3つのシグナル群が認められた。しかし、H-3アクシャルシグナルは3'-SLの同位置の化学シフト値(δ1.800)よりも著しく低磁場シフトし、一方H-3エクアトリアルシグナルは同オリゴ糖の化学シフト値(δ2.757)よりも著しく高磁場(右側)シフトしていた。N-アセチル基由来のδ2.013の化学シフトは、シアル酸以外にN-アセチルヘキソサミン残基(HexNAc)の存在を示し、アノメリックプロトン領域のδ4.732のアノマーシグナルは、この残基がβ-配向性で隣接残基に結合していることを示していた。δ4.119の化学シフトは、置換によって通常よりも低磁場シフトしたシグナルと考えられるが、2.9 Hzの結合定数(ガラクトースのH-3、H-4間の結合定数に相当する)の値から、このシグナルはGalβ4残基のH-4残基に由来し、この位置がβ-配向性のN-アセチルヘキソサミン残基によって置換を受けている可能性が示唆された。

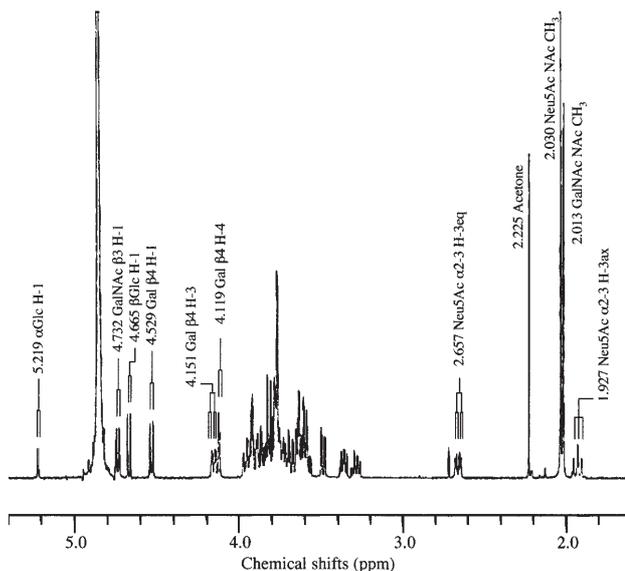


図2 バンドウイルカ初乳からのシアル酸を含む酸性ミルクオリゴ糖:Tt1-4のプロトン(¹H)-核磁気共鳴スペクトル法(NMR)で得られたスペクトラムと主要シグナルの帰属
スペクトラムはD₂Oを溶媒とし、内部標準物質にアセトンを使用した。測定は、JEOL EPC-400 FT NMRスペクトロメーターを使用して、500MHzの磁場下、室温で実施した。

同オリゴ糖の詳細な構造解析は、¹H-¹³C HSQCスペクトルの解析により行った。ミルクオリゴ糖:Tt1-4の¹H-¹³C HSQCスペクトラムを図3に示した。¹³Cシグナルの中でδ76.65はδ4.151の¹Hシグナルと相関しているので、Galβ4残基のC-3に帰属された。これは3'-SLの同位置の化学シフト値(δ78.15)よりも若干高磁場側にシフトし

ている。 $\delta 79.82$ の ^{13}C シグナルは $\delta 4.119$ の ^1H シグナルと相関しているため、Gal $\beta 4$ 残基のC-4に帰属される。このシグナルは、3'-SLの同位置の化学シフト値($\delta 70.17$)よりも大きく低磁場シフトしている。 ^{13}C -NMRにおいて、置換を受けた位置のシグナルは受けていない同位置のシグナルよりも大きく低磁場シフトし、その隣接位置のシグナルは未置換の糖の対応する位置のシグナルよりも若干高磁場シフトするというNMRの経験則がある。

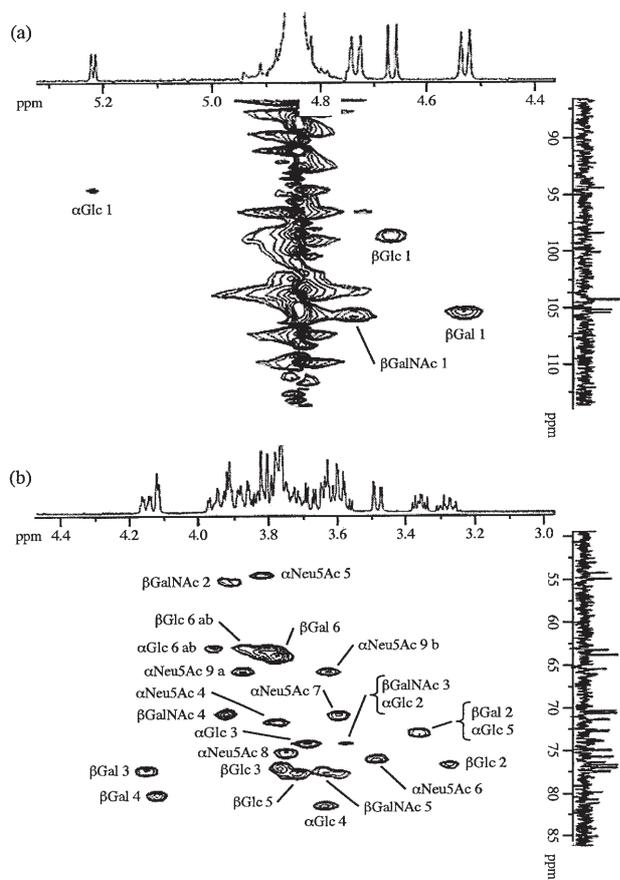


図3 ミルクオリゴ糖:Tt1-4の ^1H - ^{13}C HSQCスペクトラム
(a) アノマー領域における ^1H - ^{13}C -相関共鳴シグナル
(b) 83.0~4.4の一次元 ^1H -NMRスペクトラム領域における ^1H - ^{13}C -相関共鳴シグナル

以上の解釈により、このオリゴ糖のGal $\beta 4$ 残基の4位が β 結合HexNAcで置換を受けていることが証明された。このオリゴ糖に含まれる3'-SL単位の各シグナルは、3'-SLの同位置のシグナルとの比較から表1のように帰属された。ここで $\delta 76.65$ の ^{13}C シフトはGal $\beta 4$ 残基のC-5に帰属されるが、3'-SLの同位置のシグナル($\delta 77.84$)よりも若干高磁場シフトしており、ここでも置換位置の隣接位置についての ^{13}C -NMRの経験則に当てはまっていた。同オリゴ

糖の3'-SL単位に帰属されないシグナル($\delta 177.49, 105.41, 77.36, 73.66, 70.40, 54.97$ および 25.24)も、遊離の β -GalNAcの ^{13}C シグナルとの比較から帰属された。

この残基のC-3 ~ C-6の化学シフト値およびアセチル基(CH_3CO)の同値は、 β -GalNAcの対応する化学シフト値とよく一致している。 $\delta 105.41$ の化学シフト値はグリコシド結合のため、 β -GalNAcのC-1($\delta 98.08$)よりも低磁場シフトしているが、 $\delta 54.97$ の化学シフト値は β -GalNAcのC-2($\delta 56.42$)よりもC-1位のグリコシド結合の影響により若干高磁場シフトしている。これらの考察から、このオリゴ糖のHexNAc残基は β -結合したN-アセチルガラクトサミン(β -GalNAc)と決定された。もしこの残基が β -GlcNAcであれば、C-2シグナルはGlcNAc($\beta 1-6$)Gal($\beta 1-4$)Glcの β -GlcNAcの ^{13}C -NMRで観察された $\delta 58.20^{(11)}$ に近い位置にあらわれることが予想されるからである。

表1

^{13}C -NMR chemical shifts of Tt1-4 (A) from bottlenose dolphin colostrum and 3'-SL (B)

Reporter eroun	Chemical shifts (ppm)									
	α -Glc		β -Glc		β -Gal		Neu5Ac		GalNAc	
	A	B ^a	A	B	A	B	A	B	A	GalNAc
C-1	94.44	94.52	98.39	98.47	105.20	105.29	176.76	176.30	105.41	98.08
C-2	73.73	73.83	76.37	76.49	72.67	72.07	100.11	102.31	54.97	56.32
C-3	73.86	74.09	76.99	77.03	76.65	78.15	39.58	42.23	73.66	73.80
C-4	81.08	80.94	80.70	80.79	79.82	70.17	71.34	70.96	70.40	70.51
C-5	72.70	72.78	77.41	77.50	76.65	77.84	54.23	54.35	77.36	77.86
C-6	63.22	62.59	63.22	62.73	63.81	63.72	75.70	75.60	63.22	63.67
C-7							70.62	70.77		
C-8							74.93	74.35		
C-9							65.47	65.30		
CH ₃							24.69	24.71	25.24	24.88
CO							177.65	177.68	177.49	177.65

^a Data from reference 10

以上のような ^1H - ^{13}C HSQCの解析により、同糖の完全化学構造は、GalNAcが3'-SLのGal部位に結合したGalNAc($\beta 1-4$) [Neu5Ac($\alpha 2-3$)]Gal($\beta 1-4$)Glc(GM₂糖)と決定された。またMALDI-TOF/MSによる質量分析では、 m/z 875.31のピークが検出され、これはM+K⁺イオンの質量値と良く一致していた。

これは、構造決定に ^1H -NMRならびに ^1H - ^{13}C HSQCのシグナル解析が見事に実施されたモデルケースと考えられる。その他のミルクオリゴ糖のTt2-2、Tt2-3およびTt3-8は、標準糖との ^1H -NMRのシグナルパターン的一致から、それぞれ3'-SL、Neu5Ac($\alpha 2-6$)Gal($\beta 1-4$)Glc(6'-SL)およびGal($\alpha 1-4$)Gal($\beta 1-4$)Glc(グロボトリオース、Gb₃糖)と同定された。

4. GM₂4糖および Gb₃3糖発見の意義

構造決定されたオリゴ糖の中で、GM₂4糖とグロボトリオースはとくに注目される。GM₂4糖と同一の構造をもつ糖鎖を結合したスフィンゴ糖脂質GM₂は、ヒトやラットでは主に脳神経系に局在するGM₁ {Gal(β1-3)GalNAc(β1-4)[Neu5Ac(α2-3)]Gal(β1-4)Glc-Cer}の合成中間産物である。GM₁やGM₂は、ガングリオ系列の糖脂質として分類されている。同4糖が遊離のオリゴ糖として、哺乳動物の乳中に発見されたのは本研究が初めてである。

前述したように多くのミルクオリゴ糖は、ラクト-N-テトラオース(Gal(β1-3)GlcNAc(β1-3)Gal(β1-4)Glc)、ラクト-N-ネオテトラオース(Gal(β1-4)GlcNAc(β1-3)Gal(β1-4)Glc)、ラクト-N-ヘキサオース(Gal(β1-3)GlcNAc(β1-3)[Gal(β1-4)GlcNAc(β1-6)]Gal(β1-4)Glc)あるいはラクト-N-ネオヘキサオース(Gal(β1-4)GlcNAc(β1-3)[Gal(β1-4)GlcNAc(β1-6)]Gal(β1-4)Glc)をコア骨格としており¹⁾、哺乳動物細胞表層に存在するラクト系列、ネオラクト系列のスフィンゴ糖脂質糖鎖と構造的に近い。ラクト系列やネオラクト系列の糖脂質は、上皮系や内皮系の細胞表層にあることから、一般的にはミルクオリゴ糖は上皮や内皮の糖鎖合成系と同一の生合成系によって合成されると考えられる。それに対しガングリオ系列の糖脂質は神経系に多い。バンドウイルカの初乳にGM₂4糖が発見されたことは、バンドウイルカのミルクオリゴ糖生合成系は、ラットやヒトにおける神経系の糖鎖合成系に類似していることが示唆される。すでに、クマのミルクオリゴ糖にはヒトのABO式血液型抗原に類似しているものが含まれることを示したが⁹⁾、ミルクオリゴ糖は哺乳動物種により極めて固有の生合成系を反映することが再確認された。

また、グロボトリオースが遊離ミルクオリゴ糖として発見されたのも意義深い。これまで、ウシ、ヤギ、ヒツジ、クマ、ハナグマなどの広範囲な種にGal(α1-3)Gal(β1-4)Glc(イソグロボトリオース)は発見されているが^{2),3),4),9)}、グロボトリオースは見出されなかった。グロボトリオースを結合したスフィンゴ糖脂質(Gb₃)は上皮系細胞表層にあり、その糖鎖部分は病原性大腸菌O-157H7の生産するベロ毒素のレセプターである¹²⁾。バンドウイルカの初乳に遊離のグロボトリオースが発見されたことは、同毒素が乳仔腸管の上皮に付着するのを防ぐ可溶性レセプターアナログとして機能している可能性を示唆するものである。これらの発見に

よって、ミルクオリゴ糖には種による多様性が予想以上に広がっていることが再確認された。

これまでの著者らの一連の研究では、ヒツジ初乳中に抗ウイルス活性の期待される3'-シアリルラクトースラク톤の発見や⁵⁾、イヌ乳中に網膜や脳の発達に重要な無機硫酸基の供与体としての硫酸化ラクトース(ラクトース-3'-O-硫酸)の発見⁶⁾、ウマ初乳中の新規なN-アセチルラクトサミンα1-二リン酸⁸⁾の発見およびクマ乳中にヒトには見出されないABH抗原構造を有するオリゴ糖群の発見などの例を紹介した⁹⁾。さらに、著者らのミルクオリゴ糖研究に関しては、原著論文を概説した総説があるので¹³⁾⁻²³⁾、興味のある方はさらに参考にさせていただきたい。

今後、さらに新たなミルクオリゴ糖の発見などにより、泌乳初期に限って乳中に出現するミルクオリゴ糖の存在意義が次第に明らかにされてくることが期待される。

参考文献

- 1) 齋藤忠夫, 浦島 匡, *The Chemical Times*, No. 154, 13-21 (1994).
- 2) 齋藤忠夫, 浦島 匡, *The Chemical Times*, No. 165, 15-20 (1997).
- 3) 齋藤忠夫, 浦島 匡, *The Chemical Times*, No. 167, 3-9 (1998).
- 4) 齋藤忠夫, 浦島 匡, *The Chemical Times*, No. 173, 2-8 (1999).
- 5) 齋藤忠夫, 浦島 匡, *The Chemical Times*, No. 175, 3-8 (2000).
- 6) 齋藤忠夫, 浦島 匡, *The Chemical Times*, No. 176, 18-21 (2000).
- 7) 齋藤忠夫, 浦島 匡, *The Chemical Times*, No. 177, 11-16 (2000).
- 8) 齋藤忠夫, 浦島 匡, *The Chemical Times*, No. 183, 20-24 (2002).
- 9) 齋藤忠夫, 浦島 匡, *The Chemical Times*, No. 184, 2-6 (2002).
- 10) Uemura, Y., S. Asakuma, T. Nakamura, I. Arai, M. Taki, T. Urashima, *Biochim. Biophys. Acta*, **1725**, 290-297 (2005).
- 11) Urashima, T., W.A. Bubb, T. Saito, M. Messer, Y. Tsuji, Y. Taneda., *Carbohydr. Res.*, **262**, 173-184 (1994).
- 12) Newburg, D.S., S. Ashkenazi, T.G. Cleary, *J. Infect. Dis.*, **166**, 832-836 (1992).
- 13) 浦島 匡, 齋藤忠夫, *化学と生物*, **31**, 80-82 (1993).
- 14) Messer, M., 浦島 匡, *化学と生物*, **33**, 816-824 (1995).
- 15) 浦島 匡, 中村正, 齋藤忠夫, *Milk Science*, **46**, 211-220 (1997).
- 16) 齋藤忠夫, 浦島 匡, *化学と生物*, **37**, 401-403 (1999).
- 17) 浦島 匡, 齋藤忠夫, *バイオサイエンスとインダストリー*, **57**, 619-620 (1999).
- 18) 齋藤忠夫, 浦島 匡, 中村 正, *畜産の研究*, **53**, 1155-1160 (1999).
- 19) 齋藤忠夫, *Milk Science*, **48**, 199-205 (1999).
- 20) 齋藤忠夫, 浦島 匡, 中村 正, *シーブジャパン*, **33**, 11-13 (2000).
- 21) 齋藤忠夫, 浦島 匡, *化学と生物*, **38**, 447-451 (2000).
- 22) 齋藤忠夫, *乳業技術(創立50周年記念号)*, **50**, 38-57 (2000).
- 23) 浦島 匡, 齋藤忠夫, 中村 正, 荒井威吉, *Milk Science*, **49**, 195-202 (2000).

新しいフッ素化合物合成技術

An Entirely New Methodology for Synthesizing Perfluorinated compounds

旭硝子株式会社 中央研究所 主幹 岡添 隆
TAKASHI OKAZOE

Research Center, Asahi Glass Co., Ltd.

1. はじめに

「こんな分子構造のフッ素化合物があれば合成ビルディングブロックとして使えるのに」そういったニーズはユーザーの皆さんからたびたびお聞きすることである。

分子構造中にフッ素原子を含む有機化合物は、ほかのものでは得られない材料特性や生物活性を示すことから、今日の高機能材料や医薬品などに欠かせないものとなっていることが背景としてある¹⁾。しかしながら、フッ素化合物は一般に高価で、入手できる化合物の種類も決して多くないために、ユーザーの皆さんのご要望に必ずしもお応えできていないのが現状ではなかろうか。

では、なぜ、フッ素化合物は高価で種類も多くないのであろうか？

実は、工業的に実施できるフッ素化方法が限られていることと、フッ素化したあとの化合物の反応性に制約があることに起因しているのである。とくに、ペルフルオロ化合物による骨格形成反応には、工業的に利用できる反応があまりないうえ、フッ素化合物の反応が特殊で非常に限られている。

これに対し、「今日の有機合成化学の進歩をもってすれば、安定に存在できる通常の有機化合物であればどんな化合物でも合成できるのに」と考えていた筆者らは、ここで発想を変えて、「それならいっそ、骨格合成を通常の有機合成で行った後、あとから一気に炭素-水素結合を直接フッ素化できないか」と考えた。これが、直接フッ素化を応用して筆者らが開発した新しいペルフルオロ化合物合成法「PERFECT」に繋がった。

本稿では、PERFECT法確立のきっかけとなったペルフル

ルオロモノマーの合成と、PERFECT法による新しいペルフルオロ化合物合成の原理について概観する。

2. 直接フッ素化によるペルフルオロモノマー合成

F₂を用いるフッ素化は、反応性の激しいFラジカル(F[•])が関与する反応である。この反応を制御する際に最も重要なことは、反応熱を迅速に除去することである。Lagowらはペルフルオロ化された化合物などの不活性媒体中、基質とF₂の両方のフィードを厳密に制御しながら液相で反応を実施することによりこれを可能にした²⁾。筆者らは、これを工業的に有用なフッ素樹脂モノマーの原料合成に適用しようと試みた。

まず、分子構造が比較的単純な、ペルフルオロ(プロピルビニルエーテル) [PPVE]を直接フッ素化で合成しようと考えた。PPVEは半導体工業分野での需要が急速に伸びている、耐熱性かつ耐薬品性で熱溶解成形可能なフッ素樹脂PFA (TFE/ペルフルオロアルキルビニルエーテル共重合体)のモノマーである。

しかし、PPVEに対応する炭化水素化合物、プロピルビニルエーテルの二重結合を塩素化して保護した後F₂と反応させたところ、反応基質の沸点が低いために気相での激しい分解反応が起こってしまいうまく行かなかった³⁾。

標的化合物をPPVEの前駆体である酸フルオリド(1)に変更してみた。対応する炭化水素構造はアルコール(2)である。これをまず、目的物である酸フルオリド(1)自身と反応させて半フッ素化エステル(3)としたのち、25℃でF₂と反応させたところ、高収率で全フッ素化エステル(4)が得られた(図1)³⁾。

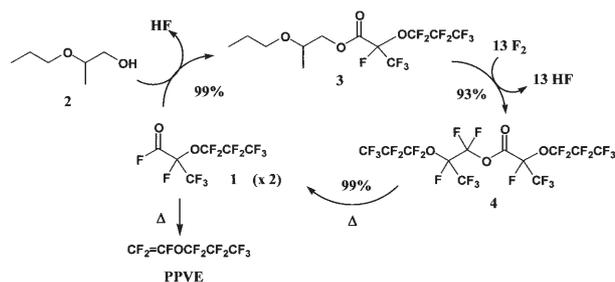


図1 PERFECT法によるPFA樹脂モノマーPPVEの合成

反応基質である炭化水素の分子をエステル化することによって大きくし、揮発性を低くしたことで気相での分解反応を抑制できたことがよい結果をもたらしたものと考えている。得られた全フッ素化エステル(4)をフッ化ナトリウム触媒の存在下に加熱すると、エステル結合が分解されて2倍モルの目的物酸フルオリド(1)が得られた。得られた酸フルオリド(1)は、最初エステル化に使用した酸フルオリド(1)の1.8倍量であったことから、理論的に、プロセスのサイクルをn回繰り返すと、酸フルオリド(1)は1.8ⁿ倍に増殖することになる。したがって、この一連のプロセスは酸フルオリド(1)の増殖プロセスであると言える。我々はこのプロセスを、PERFluorination of Esterified Compound then Thermal eliminationを略して、PERFECT法と呼んでいる。

3. 直接フッ素化による新しいフッ素化合物合成

3.1 さまざまなペルフルオロアシルフルオリドの合成

目的の酸フルオリドがあらかじめ入手可能でない場合には、目的物に対応する構造の炭化水素アルコール(I)を入手可能な酸フルオリド(II)と反応させることから出発すればよい(図2)⁴⁾。

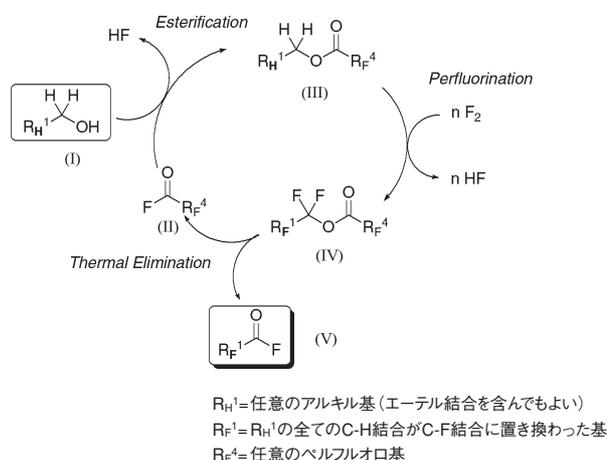


図2 PERFECT法によるペルフルオロアシルフルオリドの合成

まず、欲しいペルフルオロ化合物の骨格に対応する炭化水素構造をもつアルコール(I)を酸フルオリド(II)と反応させて、部分フッ素化エステル(III)を合成する。次に部分フッ素化エステル(III)をフッ素ガスと反応させ、全フッ素化エステル(IV)を得る。最後に全フッ素化エステル(IV)をフッ化ナトリウムまたはフッ化カリウム触媒の存在下で加熱することにより、エステル結合を分解し、目的物(V)を得る。最初に用いた酸フルオリド(II)は蒸留で分離して回収する。ひとたび目的の酸フルオリド(V)が得られれば、これを(II)として用いて図1と同様のプロセスで増殖させることができる。

このようにしてさまざまなペルフルオロアシルフルオリドが得られた⁴⁾。

ペルフルオロアシルフルオリドは、図1と同様にして二重結合を作り出すための前駆体となる。すなわち、重合するためのモノマーとすることができるので、フッ素化学においてはとりわけ重要な化合物である。

また、PERFECT法を用いて、ペルフルオロスルホン酸のような機能性構造を持った新しいペルフルオロ化合物を合成することも可能である。たとえば、図2において、 R_{H^1} にスルホニルフルオリドを有する基質を用いることにより、 R_{F^1} にスルホニルフルオリドを有するペルフルオロ化合物を合成することができた⁵⁾。

3.2 ペルフルオロケトンの合成

同様に、二級アルコールからはペルフルオロケトンが得られる(図3)⁶⁾。

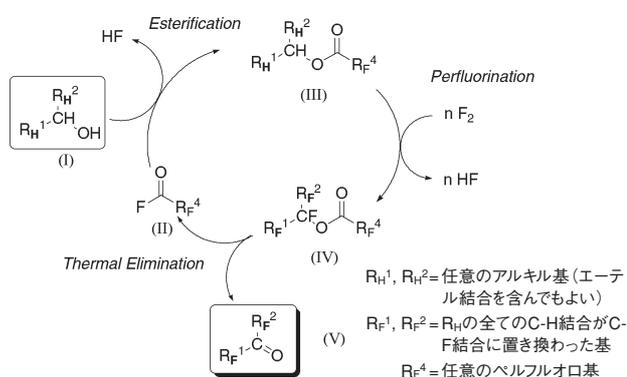


図3 PERFECT法によるペルフルオロケトンの合成

二級アルコール(I)として、合成したものを基質に用いることもできる。したがって、炭素骨格を自由にデザインしてペルフルオロケトンを作ることができる。

3.3 ペルフルオロジアシルフルオリドの合成

PERFECT法では、アシルフルオリドやケトンのような官能基を有するペルフルオロ化合物が合成されることが特徴である。このような官能基が複数ある化合物も、原料アルコールの水酸基を同じ数だけ有するようになれば合成可能である。

たとえば、一級ジオールからはペルフルオロジアシルフルオリドが得られる(図4)⁷⁾。

ペルフルオロジアシルフルオリドは、その片方のアシル基から重合基形成を行い、もう一方のアシル基はペルフルオロカルボン酸としてフッ素系イオン交換樹脂のモノマーとすることができる⁸⁾。この目的に用いるペルフルオロジアシルフルオリドの従来の合成法では、発煙硫酸を用いて含ヨウ素化合物を酸化する工程があったが、PERFECT法を用いればこの工程を経ずに合成することができる。

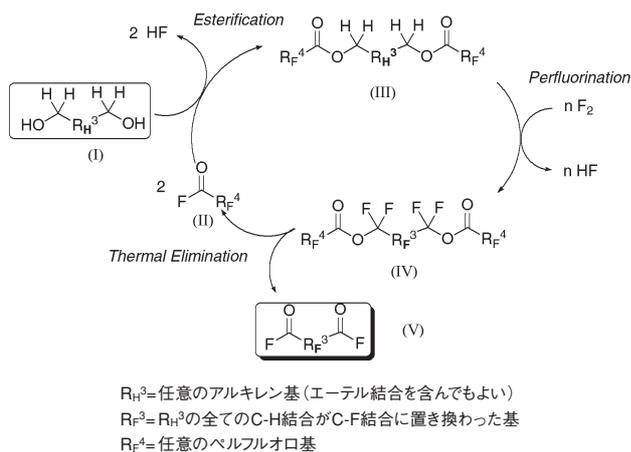


図4 PERFECT法によるペルフルオロジアシルフルオリドの合成

4. おわりに

PERFECT法の特徴をまとめると下記のようになる。

- ① 骨格形成を炭化水素化合物で行なうので、合成の自由度が飛躍的に向上し、新しい有用なフッ素化合物の創出が可能になる
- ② フッ素化合物を原料とする既存の手法に比べ、炭化水素化合物を原料とするので安価に合成することが可能になる

③ いずれの工程においても有機溶媒を使用しない(フッ素化工程においては、目的物自体を溶媒とする)ので、廃棄物が少ないプロセスである

④ 反応の副生物は本質的に水素のみ(副生フッ化水素は電気分解でフッ素と水素に変換される)、という廃棄物が少ないプロセスである

以上のように、PERFECT法によって、有機合成で得られるさまざまなアルコールから、新しいペルフルオロ酸フルオリド、ペルフルオロケトン、ペルフルオロジアシルフルオリドが得られるようになった。得られた化合物のアシル基やカルボニル基は、種々の官能基に変換することができる。また、炭素-炭素結合形成にも使える。

すなわち、これまでは入手困難であったペルフルオロ基を有する合成ビルディングブロックを作ることが可能になったのである。

現在弊社では、PERFECT法を用いて新しい機能性材料を開発検討中である。

参考文献

- 1) 日本学術振興会フッ素化学第155委員会 編、「フッ素化学入門 先端テクノロジーに果すフッ素化学の役割」、三共出版 (2004)。
- 2) T. R. Bierschenk, T. Juhlke, H. Kawa, R. J. Lagow, US Patent 5,093,432 (1992)。
- 3) T. Okazoe, K. Watanabe, M. Itoh, D. Shirakawa, H. Murofushi, H. Okamoto, S. Tatematsu, *Adv. Synth. Catal.* **343**, 215 (2001)
- 4) T. Okazoe, K. Watanabe, M. Itoh, D. Shirakawa, S. Tatematsu, *J. Fluorine Chem.* **112**, 109 (2001)。
- 5) T. Okazoe, E. Murotani, K. Watanabe, M. Itoh, D. Shirakawa, K. Kawahara, I. Kaneko, S. Tatematsu, *J. Fluorine Chem.*, **125**, 1695 (2004)。
- 6) T. Okazoe, K. Watanabe, M. Itoh, D. Shirakawa, H. Takagi, K. Kawahara, S. Tatematsu, to be published.
- 7) T. Okazoe, K. Watanabe, M. Itoh, D. Shirakawa, K. Kawahara, S. Tatematsu, *J. Fluorine Chem.*, **126**, 521-527 (2005)。
- 8) M. Yamabe, S. Munekata, I. Kaneko, H. Ukihashi, *J. Fluorine Chem.*, **94**, 65 (1999)。

2-Chloro-4-nitrophenyl-4-galactopyranosylmaltoside (Gal-G2-CNP)を基質とした新しいアミラーゼおよび膵型アミラーゼ測定法

A new assay method for measurement of total and pancreatic amylase activity with 2-Chloro-4-nitrophenyl-4-galactopyranosylmaltoside (Gal-G2-CNP) as a substrate

—シカリキッド-N AMYおよびシカリキッド-N p-AMYの基本性能評価—

— Evaluation on basic performance of CicaLiquid-N AMY and CicaLiquid-N p-AMY —

関東化学株式会社 ライフサイエンス部 高笠 信之
NOBUYUKI TAKAGASA

Life Science Dept. Kanto Chemical Co., Inc.

1. 緒言

α -アミラーゼ (AMY) (EC 3.2.1.1 α -1,4-glucan-4-glucanohydrolase) は膵臓、唾液腺に高濃度で存在するが、肝臓、肺、小腸、卵巣などにも分布しておりデンプン、グリコーゲン等の多糖類の α -1,4-グリコシド結合を加水分解し、グルコース等を生成する。ヒト体液中のAMYには膵型 (以下、P型) および唾液腺型 (以下、S型) の2種類のアイソザイムが存在する。現在、異なる合成基質を用いたいくつかの測定試薬が使用されているが、基質による反応性の違いから測定法間差が生じ、そのため基準範囲も方法により異なる等、施設間差縮小が困難となっていた。一方において、適当な検量物質があれば、現在市販の基質についてはどの方法を用いても校正が可能であるとの報告もあり、早期の勧告法制定が望まれていた。1998年、国際臨床化学連合 (IFCC) より4,6-Ethylidene-4-nitrophenyl- α -D-maltoheptaoside (Et-G7-PNP) を基質とする勧告法が公表され、2004年には日本・常用酵素標準物質 (常用ERM) Lot 004制定時において日本臨床検査標準協議会 (JCCLS) がIFCC勧告法をJCCLS-標準操作法 (SOP) として認証した¹⁾。さらに2005年10月、同基質を用いた方法が日本臨床化学会 (JSCC) より、勧告法²⁾として承認された。これにより、各合成基質を用いた方法は検量用ERM等を用いることにより校正可能となり、長年の懸案であったAMY測定における施設間差縮小の問題解決が期待される。

2-Chloro-4-nitrophenyl-4-galactopyranosylmaltoside (Gal-G2-CNP)³⁾ を基質に用いた「シカリキッド-N AMY」 (以下、T-AMY) は共役系酵素を必要とせず、AMYによ

り加水分解され、遊離した2-Chloro-4-nitrophenol (CNP) を直接計測することにより、P型およびS型の総活性 (以下、総AMY) を求めることができる。今回、本法の基本性能、検量用ERM「トレースキャリブ」によるJSCC勧告法への校正効果および抗S型AMY阻害抗体を用いた同基質のP型AMY測定試薬である「シカリキッド-N p-AMY」 (以下、P-AMY) について紹介する。

2. 測定原理

2.1 T-AMYの測定原理

T-AMYおよびP-AMYの測定原理を以下に示す。基質であるGal-G2-CNPの構造を図1に示した。

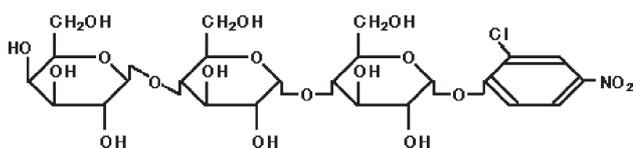


図1 基質の構造



Gal-G2-CNPは総AMYにより加水分解され、CNPを遊離する。このCNPの主波長400~415nmにおける吸光度を連続計測することにより、AMY活性を求めることができる。

2.2 P-AMYの測定原理

第一試薬中の抗S型AMY抗体により、S型AMYが阻害される。残存したP型AMYを以下の反応により、測定する。



3. 試薬組成

T-AMYおよびP-AMYの試薬組成および反応液終濃度は表1の通りである。

表1 試薬組成

T-AMY			
第一試薬	第二試薬	反応液終濃度	
50mmol/L, MES (pH 6.0, 37℃)	50mmol/L, MES (pH 6.0, 37℃)	49mmol/L	
140mmol/L, KSCN	140mmol/L, KSCN	138mmol/L	
5.0mmol/L, CaCl ₂	5.0mmol/L, CaCl ₂	4.9mmol/L	
300mmol/L, NaCl	300mmol/L, NaCl	295mmol/L	
	10.6mmol/L, Gal-G2-CNP	2.6mmol/L	
MES : 2-Morpholino ethane sulfonic acid			
P-AMY			
第一試薬	第二試薬	反応液終濃度	
50mmol/L, MES (pH 6.0, 37℃)	50mmol/L, MES (pH 6.0, 37℃)	49mmol/L	
140mmol/L, KSCN	140mmol/L, KSCN	138mmol/L	
5.0mmol/L, CaCl ₂	5.0mmol/L, CaCl ₂	4.9mmol/L	
300mmol/L, NaCl	300mmol/L, NaCl	295mmol/L	
	10.6mmol/L, Gal-G2-CNP	2.6mmol/L	
20μg/mL, 抗ヒトS型アミラーゼマウスモノクローナル抗体		15 μg/mL	

4. 基本性能試験

4.1 同時再現性

T-AMYおよびP-AMYについて、3試料のn=30繰返測定を行った結果を表2、表3に示した。

表2 T-AMYの同時再現性 (単位:U/L)

Sample	n	MEAN	MAX	MIN	R	SD	CV (%)
血清 1	30	76.1	77	75	2	0.670	0.88
血清 2	30	84.7	86	83	3	0.862	1.02
血清 3	30	202.2	209	198	11	2.362	1.17

表3 P-AMYの同時再現性 (単位:U/L)

Sample	n	MEAN	MAX	MIN	R	SD	CV (%)
血清 1	30	37.3	38	36	2	0.512	1.37
血清 2	30	43.3	44	42	2	0.512	1.18
血清 3	30	112.7	115	111	4	1.106	0.98

4.2 希釈直線性

T-AMYおよびP-AMY共に直線性は約4,500U/Lまで認められた(図2、3)。

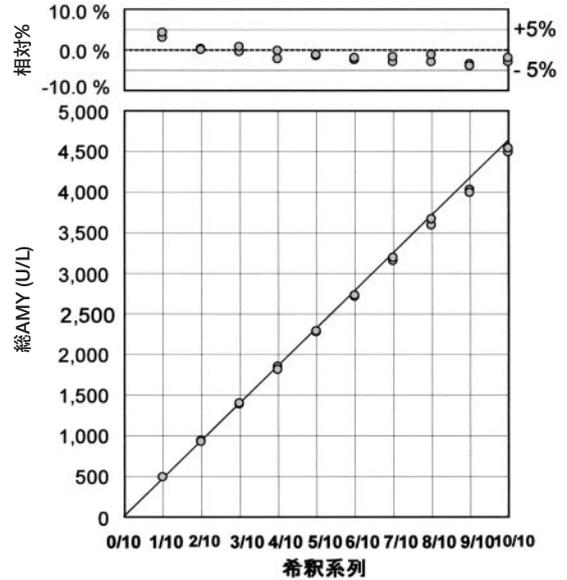


図2 T-AMYの希釈直線性

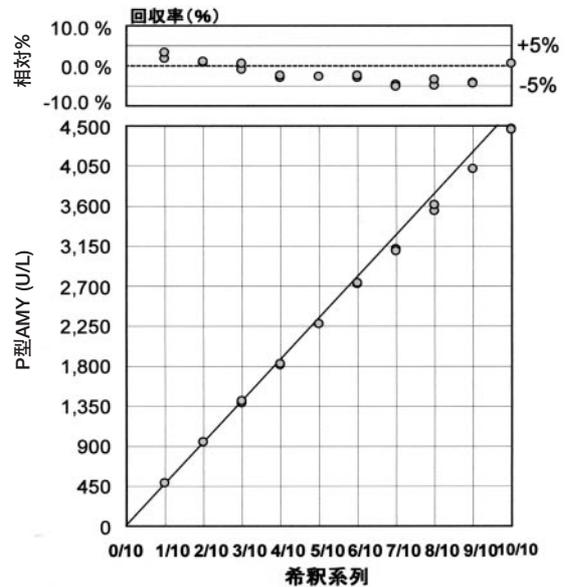


図3 P-AMYの希釈直線性

4.3 共存物質の影響

T-AMY、P-AMYについて共存物質の影響を調べた。ヒトプール血清に干渉作用の可能性のある成分を10%添加し、最大添加濃度が以下の濃度になるように調製した。ヘモグロビン500mg/dL、抱合型ビリルビン20mg/dL、遊離型ビリルビン20mg/dL、乳び2000ホルマジン濁度までの影響については、ヒト生体色素成分による測定干渉作

用確認試料である干渉チェック(シスメックス(株)製)を用い、アスコルビン酸50mg/dLまでの影響については純品(関東化学(株)特級)を用いた。その結果、いずれの影響も認められなかった。

4.4 反応タイムコース

生理食塩水、血清検体、尿検体のタイムコースを図4に示した。

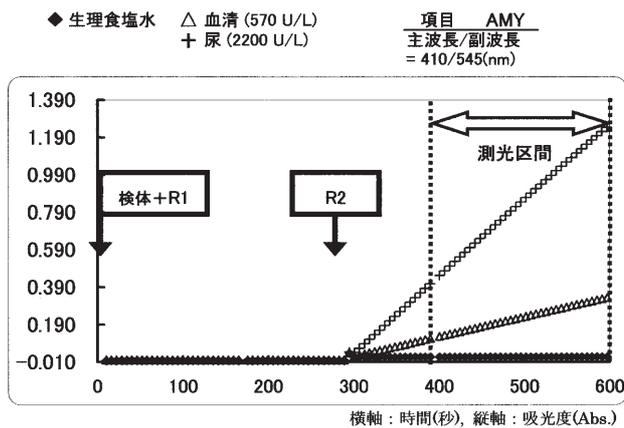


図4 反応タイムコース

4.5 抗S型AMY阻害抗体阻害能

P-AMYの抗S型AMY阻害抗体は、少なくとも7680U/LのS型AMYを98%阻害可能であることが確認された(図5)。

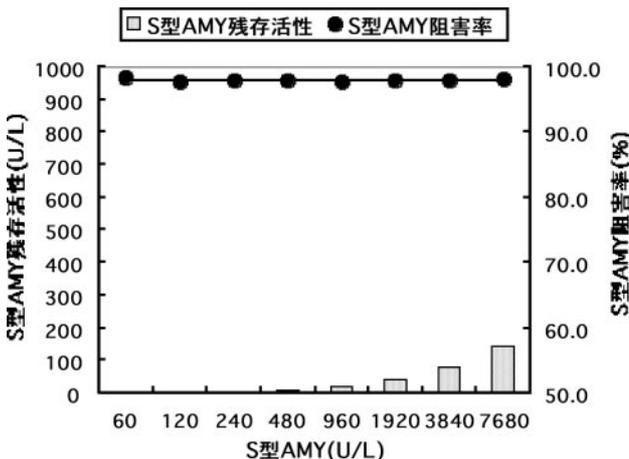


図5 抗S型AMY阻害抗体阻害能

4.6 JSCC/JCCLS-SOPとの相関

検量用ERM、トレーサキャリブにより検量したT-AMY (y) のJSCC/JCCLS-SOP (x) との相関性試験の結果は、

n=234、相関係数; $r=0.996$ 、直線回帰式; $y=0.985x + 5.5$ であった(図6)。

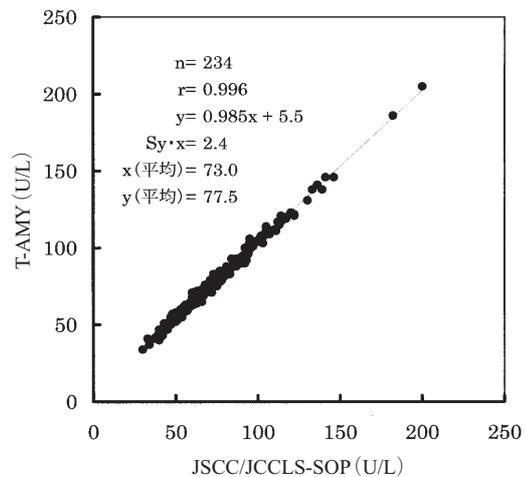


図6 T-AMYのJSCC/JCCLS-SOPとの相関

5. 結語

本法は試薬調製を必要とせず、そのまま使用可能な無調製試薬であり、測定原理は共役酵素を必要としない一次発色基質を用いたシンプルな反応系であることが特徴となっている。また、検量用ERMである「トレースキャリブ」を用いて検量すれば、上位のJSCC勧告法に校正することが可能であることが証明された。このことから、本法はJSCC標準化対応法試薬としての条件を満足する性能を有していると考えられる。したがって、学会等よりJSCC勧告法による基準範囲⁴⁾が提示されれば、それを本法に適用することが可能である。

以上のことから、本法は実用性に優れたJSCC標準化対応法試薬と位置付けることが可能と思われる。

参考文献

- 1) JCCLS 認証委員会標準物質小委員会WG:酵素標準物質(ERM) Lot004の設定概要,日本臨床検査標準協議会会誌別刷,19:34-41,2004.
- 2) 日本臨床化学会酵素・試薬専門委員会:ヒト血清中酵素活性測定の勧告法— α -アミラーゼ—,臨床化学,34:350-361,2005.
- 3) Yoshitaka Morishita, et al.: Total and pancreatic amylase measured with 2-Chloro-4-nitrophenyl-4-O- β -D-galactopyranosylmaltoside, *Clin. Chem*, 46:928-933, 2000.
- 4) 加藤隆則, 他: JCCLS 自動化法での基準範囲算出と標準化対応法のトレーサビリティの確認—その1 T-AMY—, 日本臨床検査自動化学会会誌, 28:353, 2003.

新・私の古生物誌(2)

New Series of My Paleontological Notes (2)

—ハイギョの進化古生物学—

—Evolutional Paleontology of Lungfish—

医学博士 福田 芳生
M.Dr. YOSHIO FUKUDA

1. はじめに

熱帯地方の湖や河川には、ハイギョ(ラングフィッシュ)と呼ばれる奇妙な魚が生息しています。このグループは魚本来の鰓の他に、空気呼吸用の肺を持っています。

そんなハイギョは水面への浮上が阻止されて、空気を取り込むことができなくなると、たちまち窒息死してしまいます。魚のくせに水中で窒息死するなんてと、意外な感じがします。でも、本当の話なのです。

こんなハイギョの仲間は、今から4億1千万年前の古生代デボン紀初期に初めて姿を見せました。その姿が出現当時とあまり変わっていないので、有名なシーラカンスと共に“生きている化石の代表”と目されています。今回は太古の魚の姿を留めたネオケラトダスを中心に据えて、ハイギョの身体の仕組みとその進化について述べることにします。

2. ハイギョは肉鱗類の仲間

さて、現生種のハイギョ、レピドシレン(図1a)やプロトプテルス(図1b)は左右1対の肺を備え、ネオケラトダスはど

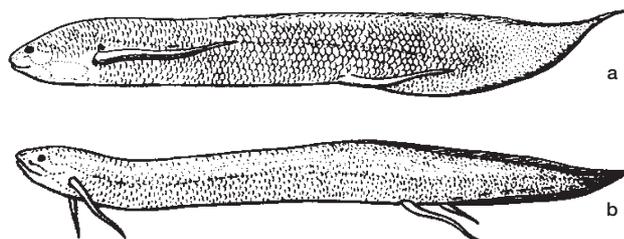


図1. 現生の2種類のハイギョ。aは南米に生息するレピドシレン、bはアフリカのプロトプテルス(P.ジャンビエールによる)

ちらか一方の肺が退化消失しています。ハイギョの中で最も有名なものは、なんと言っても前記のネオケラトダスでしょう(図2)。この魚は、東部オーストラリアのクィーンズランド州を流れるバーネット河(図3)に棲んでいます。

鈍く光る銀緑色の鱗で全身くまなく覆い尽くされ、大きなコイに似た外形をしています。でも、尾鱭は幅広のウナギのしっぽに近いと申せましょう。身体前方及び後方に、それぞれ1対のボートのオールにそっくりの鱭があります。

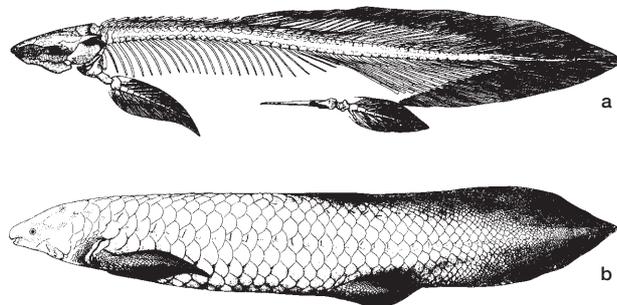


図2. 生きている化石ネオケラトダス・フォルステリイ。aは全身骨格、bは銀緑色の鱗に覆われた全形。ボートのオールに似た肉厚の4枚の鱭、幅の広いウナギ型の尾が特徴である(E.ヤーヴィックによる)



図3. ネオケラトダスの故郷。豊かな水流のあるバーネット河(A.ケンブによる)

この肉厚の鰭(図4)を持つ魚のグループを、特に肉鰭類(にくきるい)と呼び、現生のハイギョはすべて、その仲間に入られています。読者の皆さんは多分、同じハイギョでも、プロトプテルスやレピドシレンは細いムチ状の鰭なのに、同じ肉鰭類と見なすのは、変だと思うのではないでしょうか。このムチ状の鰭は、以前持っていた肉厚の鰭が退化したものなので、そのまま肉鰭類として分類されているという訳です。

さて、本題のネオケラトダスは成体で1.5メートルもの大きさになります。オーストラリアの魚類学者ケンプ博士によると、今迄に記録された最大の個体は1.7メートルもあったそうです。口内にはシカの枝角型をした独特の歯板があります。

現在、ハイギョの仲間はアフリカ、南アメリカ、オーストラリアの3大陸に分布しています。それは、かつて大陸がパンゲア(ギリシャ語で総ての陸地の意)と呼ばれる大きな塊であった証拠なのだそうです。



図4. ネオケラトダスの鰭と筋肉。図は左側しり鰭で、分厚い筋肉質の柄を持つことから、肉鰭類という名が起った(G.C.ヤング他による)

3. 生きている化石ネオケラトダスの発見

1869年春のことです。オーストラリア東部に位置するクィーンズランド州の牧場主ウィリアム・フォスター氏が所用で州都タウンズビルに出張した折、暇を見つけて当地の博物館に足を運びました。展示室には東部オーストラリア特産の動植物の標本が、所狭しと並べられています。

ところがどんなに探しても、自分の牧場近くを流れるバーネット河の魚が見当たりません。いたく気分を害したフォスター氏は「なんで俺の所の魚がないんだ」と、博物館の研究員ジェラード・クレフト博士に文句を言いました。

牧場主フォスター氏の主張する魚は体長1.5メートルほどあり、先述のように楕円形の銀緑色をした大きな鱗で全身を覆われ、ボートのオール形をした鰭が4枚もあるというものです。この魚は俗にバーネットサーモンと呼ばれ、サケに似た赤い肉は適度に脂がのっけていて、大変味が良いのだそうです。

当初クレフト博士は、田舎者が何を言うかと思っていたのですが、フォスター氏の話を知っているうちに、その魚にひどく興味を覚えました。そこで博士は「できるだけ早くバーネットサーモンを1匹送って下さい」、「フォスターさん、お宅が大発見したことを賭けてもいいですよ」と告げました。

暫くすると、重い木箱がクレフト博士の研究室に届きました。蓋を開けると、そこには3匹の大きなバーネットサーモンの塩漬けが入っていました。魚を調べてみると、確かにボートのオールに似た鰭には、明瞭な厚い肉質の柄を認めることができました。

クレフト博士は「こりゃあバーネットサーモンが水中で四足動物のように、鰭で身体を支えていると考えざるを得ませんな」ということになりました。そして、肺で空気呼吸をしていることがはっきりしました。

4. 肺から浮き袋が誕生した

ここで、肺と浮き袋の関係について少し説明しましょう。読者の皆さんは多分、学校で浮き袋が血管を有するようになり、遂に肺になったのだと教わったのではないのでしょうか。

最近の研究では、何と肺から浮き袋が誕生したと訂正されています。それは元々魚には肺があったのですが、海にくだって生活するようになると、空気呼吸を止めます。

そして、肺の内部に気体を貯留し、浮力を調整する浮き袋になったというものです。内部の気体というのは、空気に近い組成です。

ほとんど海にくだることの無かったハイギョでは、そのまま肺(図5)が残存したという訳です。このように考えると、肺はひどく原始的な器官と言えそうです。ブドウの房のような形をした肺胞は、分泌腺に似ています。発生学的にも唾液腺と同一の起源を有し、“肺は炭酸ガスの分泌器官なのだ”とする生理学者の意見は、理にかなっていると申せましょう。

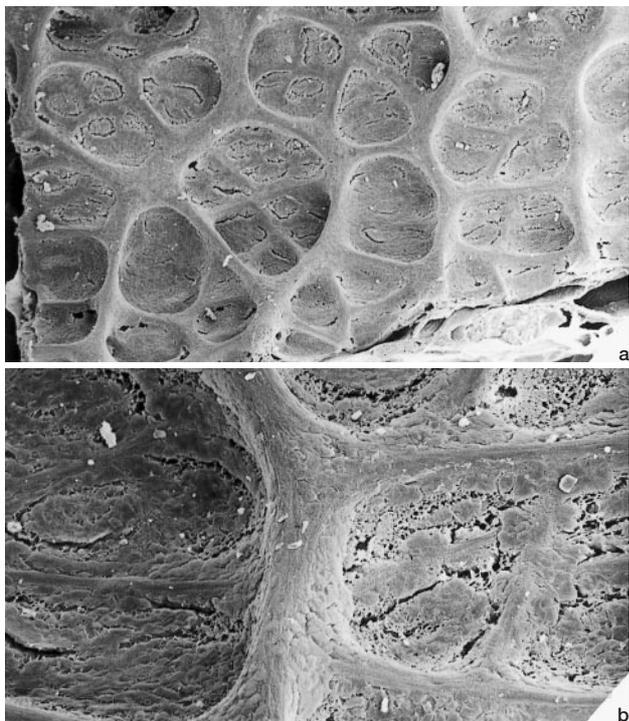


図5. ハイギョの肺。aはプロトプテルスの肺表面。網目状構造は肺の収縮に与る平滑筋の束。bは肺表面の一部拡大。

5. ハイギョの鰓と心臓

肺を主要な呼吸器官とするハイギョでは、鰓の方はどのようなになっているのでしょうか。ハイギョの鰓は鰓薄板が減少し、ひどく退化的ですが、ちゃんと存在しています(図6a~b)。魚は鰓を用いて水中でガス交換を行っています。

鰓薄板というのは、鰓の呼吸に関与する最も重要な部分で、小型の舌状突起からなっています(図6c)。突起を包む呼吸上皮の下側に毛細血管が密に分布しています。水に接する呼吸上皮の部分でガス交換を行います。鰓全体で数千枚にも達する鰓薄板がありますから、かなり精巧な呼吸装置ということになります。

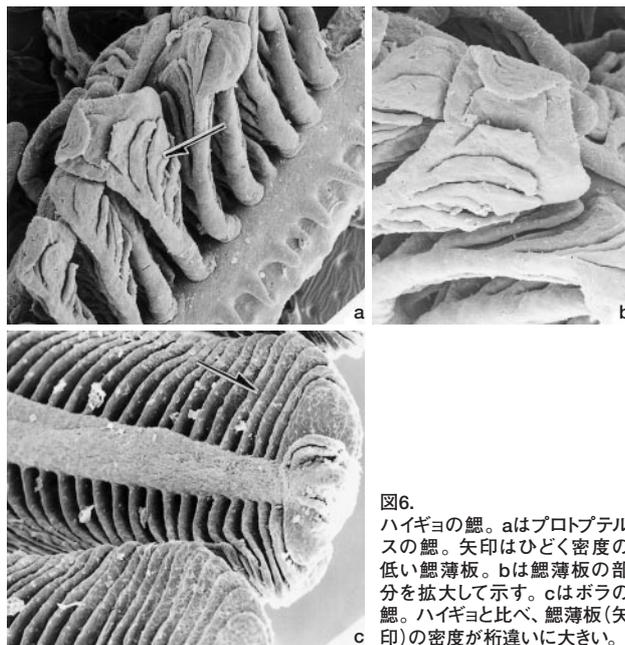


図6. ハイギョの鰓。aはプロトプテルスの鰓。矢印はひどく密度の低い鰓薄板。bは鰓薄板の部分を拡大して示す。cはボラの鰓。ハイギョと比べ、鰓薄板(矢印)の密度が桁違いに大きい。

ブラジルの約1億年前のサンタナ層から掘り出される魚の化石(図7)には、鰓(図8a)がちゃんと残っているのですから驚きです。なぜそんな事が起こったのでしょうか。その一説に、海底に沈んだ魚の遺骸に細菌が取り付き、大繁殖します。その結果、酸素がすっかり消費され、腐敗が中断したからだというのがあります。

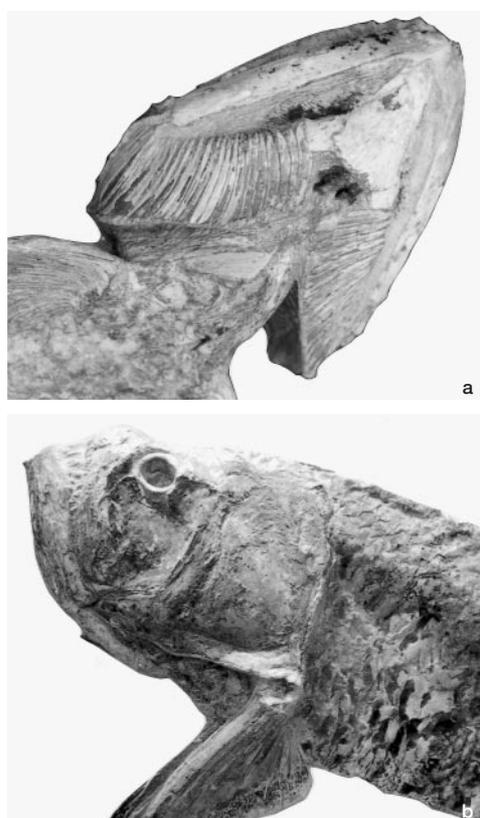


図7. ブラジル大西洋岸のサンタナ層より産出した約1億年前の魚類化石(a,b)。魚は海水魚で、いずれも立体的な形状を保っている。それらの鰓蓋の内側には、繊細な鰓が保存されている。

さて、本題のハイギョの鰓の方は、もっぱら炭酸ガスの排泄に重点が置かれ、機能の点でも通常の魚の鰓(図8b)とはかなり異なります。心臓も独特なもので、肺から来た酸素に富んだ血液と、体循環を経た血液とが混ざらないように、大きな弁で双方を遮る仕組みになっています。

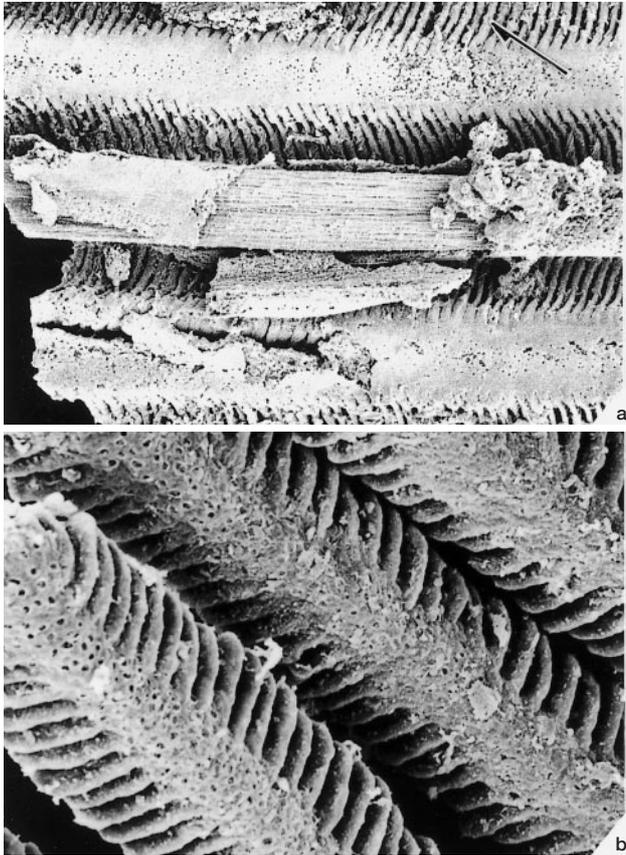


図8. 魚の鰓の化石。aは細かな鰓薄板(矢印)まで完全に保存されている鰓の化石の電子顕微鏡像。これが遙か1億年前のものとは到底思えない。bは現生のボラの鰓。この写真と比較しても、少しも見劣りしない(aはD.M.マーティルによる)

6. バーネットサーモンの正体判明する

バーネットサーモンの最も重要な点は、上下の顎に合計4枚に及ぶシカの枝角を思わせるような形の歯板が存在することです(図9)。このシカの枝角型をした歯板に

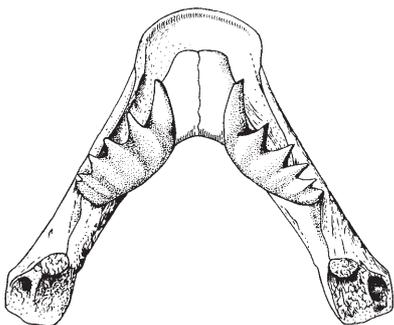


図9. ネオケラトダスの歯板。図は下顎内側(E.ヤーヴィックによる)

ついて、当時(19世紀後半)の学者は、魚類の歯であるのは確かであるにしても、その持ち主が一体どんな生活を送っていたのか、さっぱり見当がつかなかったのですから。

と言うのも、その独特な形をした歯板の所有者は、人類が出現する遙か以前に絶滅していて、現生種との繋がりが一切不明だったからです。

バーネットサーモンの口中を調べ、シカの枝角型をした歯板を初めて目にしたクロフト博士は、驚きのあまり呼吸が止まる程だったでしょう。かくして、バーネットサーモンは今から約7千万年前の中生代末に姿を消したと固く信じられていた、ケラトダス「ラテン語で角歯魚の意味」の生き残りであることがはっきりしました。

くだんのバーネットサーモンは発見者のフォスター氏の功績を称えて、1870年にネオケラトダス・フォルステリイと命名されました。それは世紀の大発見として、動物学史に不滅の名を残すことになりました。その記念すべき日は、クロフト博士が初めてバーネットサーモンを目にした、その1年後ということになります。

7. ネオケラトダスの生活史

ネオケラトダスは、水温が15から20℃、水深3から10メートルほどの、かなり水量のある河川に生息しています。日中は物陰に潜んでじっとしていますが、夜間食物を求めて活発に動き回ります。

食物は年齢によって多少異なり、若い個体では昆虫の幼生、水草などを摂取し、成体になると、甲殻類や貝類が主体になります。成熟した雌のネオケラトダスは8月から12月にかけて、直径0.5ミリメートル前後のピンポン玉のような卵を水草の根元に産み付けます。

その時、雄魚が放精し、受精卵になります。水底を掘り起こして、産卵床を造るといった特別な行動は一切ありません。産卵数は200個から時に600個というものまであり、数は一定していません。また、雌雄で卵を護ることもありません。時折、雄あるいは雌魚が産卵場所を訪れる程度です。

約30日で孵化し、その4週から6週後に腹部の卵黄は、すっかり吸収されてしまいます。この段階になって初めて、水底で餌を探し始めます。ネオケラトダスの稚魚はオタマジャクシに似た姿をしています(図10)。

そして、数年後に成体に達します。最近ネオケラトダスの人工孵化に成功したそうですから、日本各地の水族館で“生きている化石ネオケラトダス”の姿が見られるのも、そう遠い将来ではないと思います。



図10. 卵孵化後40日ほどのネオケラトダスの稚魚。体長1.5センチメートル前後ある。全体にオタマジャクシに似た姿をしている。(A.ケンプによる)

8. ハイギョの歯板

ハイギョは水底に潜む貝類や甲殻類を見つけると、シカの枝角型をした歯板を用い、グシャリと噛み潰して呑み込んでしまいます。この歯板は、沢山の歯が融合して1枚の板になったものです。

さて、ネオケラトダスの御先祖ケラトダスの歯板は、モロッコのタオツにある今から約7千万年前の白亜期末の地層から大量に産出します(図11a~b,d~e)。

化石は濃いアメ色をしています。それは化石化の過程で、地層中の鉱物質が歯板に染み込んだためです。それを除けば、現生のネオケラトダスの歯板とほとんど見分けがつかない程です(図11c)。かつてクレフト博士が、バーネットサーモンの歯板を見て驚愕したのも当然だなどという気持ちになりました。実物の持つ力というのは大変なものです。

このケラトダスの歯板は、近頃日本にもかなり輸入されていますから、入手することが可能です(図12)。

オーストラリア産の化石化したケラトダスの歯板のなかには、硬質の貝殻を噛み潰した時に、歯の方が負けて、鋭い亀裂の入ったものがあります。以前、筆者はイギリス産の石炭紀後期(約3億年前)の代表的なハイギョ、サゲ

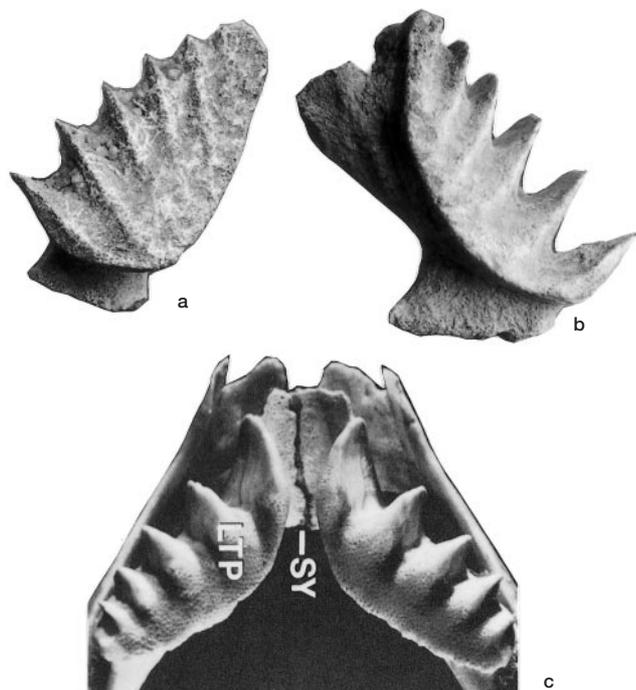


図11. ケラトダスの歯板の化石。a~bは小型のケラトダスのもの。長さ3センチメートルほど。cは現生のネオケラトダスの歯板。dは大形のケラトダスの歯板。長さ7センチメートル、厚さ1センチメートルほどある。eは歯板の裏側。化石は総てモロッコのタオツより産出した約7千万年前のもの(cはA.ケンプによる)



図12. 恐竜の歯と共に、日本で販売されているハイギョの歯板。写真中央の鋭い刻みのある三角形の化石がそれ。合計4点が認められる。

9. ハイギョの進化

ノダスの歯板(図13a)をダイヤモンドカッターで切断し、電子顕微鏡で観察したことがあります。

きっと緻密な鉱物質の結晶からなっていると予想していたのですが、電子顕微鏡の画面に現れて来たのは、なんと隙間の多い網目状の構造でした(図13c)。化石を手にした時、ひどく軽かったのは、その隙間のためだと分かりました。

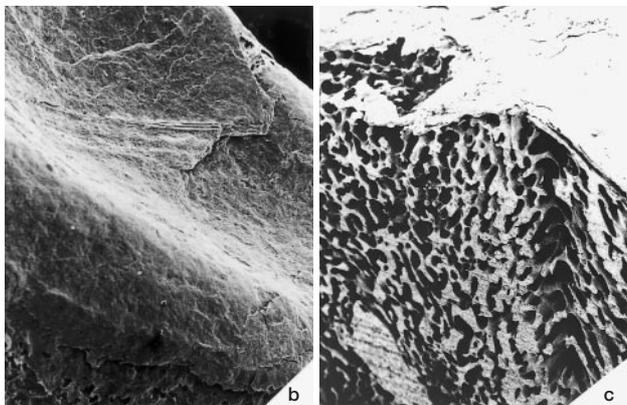
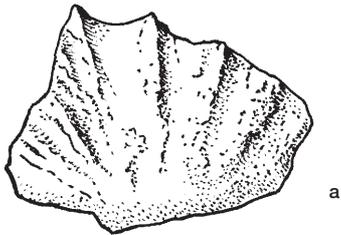


図13. 石炭紀のハイギョ、サゲノダスの歯板。aは歯板全型。長さ3センチメートルほど。表面の稜が大変低いことが特徴。b~cは電子顕微鏡像で、bは歯板表面、cは断面。写真上方が表面に当たり、全体にスポンジケーキのような構造からなっていることが分かる

このスポンジケーキのような仕組みは、サゲノダスが硬い食物を噛み砕く際、歯板に加わる大きな圧力を吸収・拡散するための優れた構造とすることができます。

私達の歯は、歯槽と呼ばれる顎骨の窪みの中に収まっています。そのため、食物を噛む時の衝撃が窪みの部分で吸収されます。もし歯槽が無ければ、物を噛むたびに脳にピンピンと衝撃が来て、ゆっくり食事を楽しむことは難しいでしょう。

サゲノダスの歯板表面を放射状に走る稜は、ケラトダスに比べてかなり低く、全体に滑らかな感じがします(図13a~b)。そんなことから、サゲノダスはおそらく水中の植物を食べていたのではないかとする意見があります。雑食性のハイギョはいても、草食性のハイギョというのはどうでしょう。将来糞化石でも見つければ、その分析から正しい答えが得られると思います。

最古のハイギョは、デボン紀の極初期(4億1千万年前)に登場したディアボレピス・スペラタスでしょう。それは1984年に中国雲南省の奥地から発見されたものです。残存する箱形の頭部は長さ3センチメートルほどで、全長10センチメートル未満の小型種です。

小さいとは言え、上下の顎の内側に明瞭な扇形の歯板を認めることができます。歯板表面には、円錐形の微小な突起が放射状に並んでいます(図14a~b)。それらの突起は、それぞれ歯の先端部に相当しています。この事実は、歯板の起源が多数の歯の融合したものであることを証明しています。

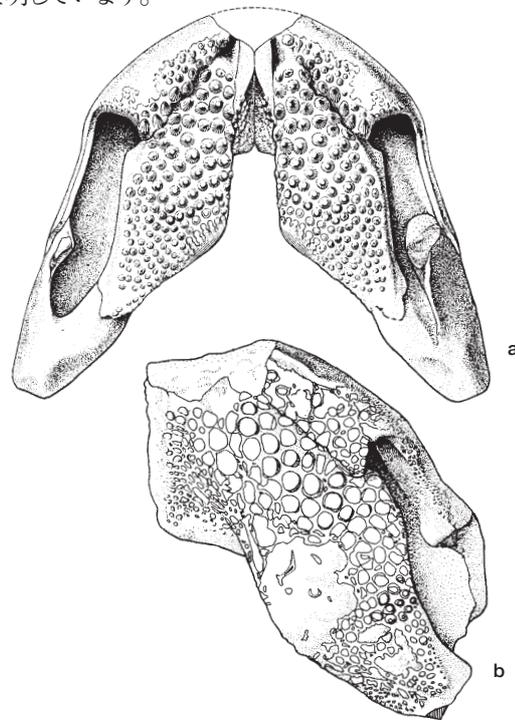


図14. 最古のハイギョ、ディアボレピスの歯板。aは下顎内側の1対の歯板、bは歯板の1つを拡大して示す。歯板の長さは2センチメートルほどある(M.M.チャングとX.B.ユウによる)

前記の放射状に並んだ突起列は、次第に稜に変化して行きます。このようなハイギョは総鱗類(そうきるい)オステオレピスの仲間から、ハイギョ型類(ディプノモルファ)を経て、デボン紀初期に誕生しました。

ラテン語のディプノとは、重複呼吸という意味です。それは肺と鰓呼吸を指しています。もともと、鰓の方はもっぱら炭酸ガスの排泄器官となっているので、訂正を要します。しかし、肺の未発達な稚魚の段階では、鰓呼吸に大きく依存しているので、ディプノという用語は部分的に正しいと申せましょう。

ハイギョ型類は分類学上、完全にハイギョの仲間という訳ではありません。総鱗類とハイギョ類の中間的なグループと理解して頂ければ結構です。総鱗類というのは、両生類に向かって進化の主流を歩み続けた魚のグループで、その仲間にはシーラカンスやユーステノプテロンがいます。ハイギョは独特の歯板を備え、骨が軟骨化するなど、特殊化が著しく、両生類への道から逸れたグループと考えられています。

ハイギョ型類のポウイキテス(図15a)やヤングレピス(図15b)では、上下の顎の前縁に鋭い円錐形の歯が生えています。それらの歯は扇形の歯板がほぼ完成の域に達したディアボレピスの段階になると、かなり小型化し、顎後方に移っています。この顎前縁の鋭い歯は、ハイギョ型類が活発に水中を泳ぎ回り、獲物を発見するや、それを追跡し捕えるといった生活を送っていたことを示しています。

ところが、機能的な歯板を獲得したハイギョ、ディアボレピスでは食性も変化したに違いありません(図15c)。積極的なプレデターとしての生活を止め、水底に潜む動きの鈍い貝類や甲殻類に栄養源を仰ぐことになったのではないのでしょうか。

このようなハイギョの仲間は、古生代デボン紀から中生代全期間を通して、当時の湖や河川で大いに繁栄しました。

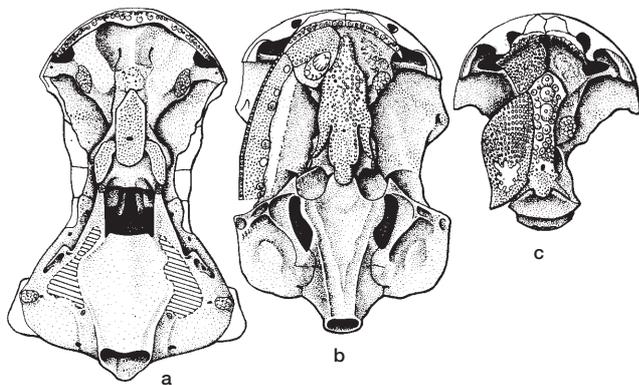


図15. ハイギョの進化。a~bはデボン紀初期のハイギョ型類。aはポウイキテス、bはヤングレピスの口蓋側。cは最古のハイギョ、ディアボレピスのもの。歯板が完成に向かうに従い、顎前方の歯が小型化し歯列も内側に後退する(P.ジャンビエールによる)

10. ハイギョ、ケラトダスの出現

ケラトダスの先祖は、カナダのデボン紀後期(約3億7千万年前)の地層から発掘されたスカウメナキアでしょう(図16)。このスカウメナキアという学名は、ケベック州のスカウメナック湾に化石層があることに由来しています。

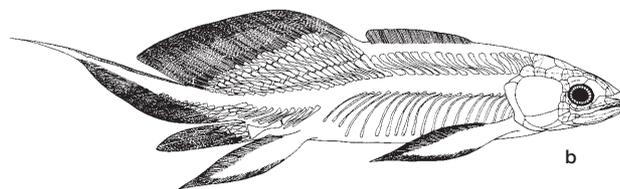
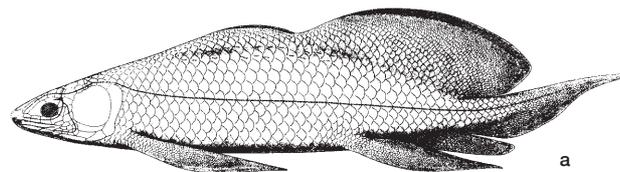


図16. ケラトダスの先祖と目されているデボン紀後期のハイギョ、スカウメナキア。aは復元されたスカウメナキア。bは全身骨格。cはスカウメナキアの化石(aはE.ヤーヴィック、bはR.クロティエールによる)

体長は大きなものでは30センチメートル近くにもなります。身体の後方に帆のような形の大きな背鱗があり、尾の部分にまで達しています。しっぽは独特な格好をしていて、上方がムチのように細長くなっています。下方は三角形の房状です。

この様に上下で形の異なるしっぽを指して、不等尾と呼びます。4本の鱗はボートのオールに似ています。スカウメナキアは、ゆっくりと水底表面を泳ぎ、獲物を探したでしょう。大きな背鱗は身体の安定と方向転換に役立ったのではないのでしょうか。このスカウメナキアの仲間から、中生代初めの三畳紀にケラトダスが誕生します(図17a, b)。それは今から約2億1千万年以前の事です。

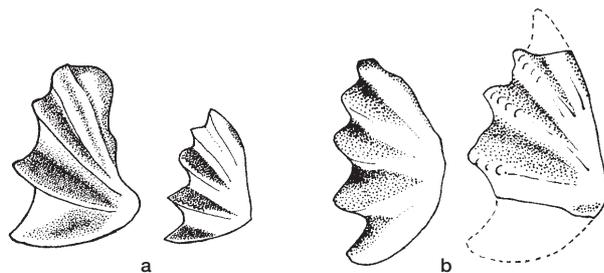


図17. ハイギョ、ケラトダスの歯板。aはタイの三畳紀産のハイギョ、ケラトダス・スゼチュアエンシスのもの。歯板の大きさは2センチメートルほどある。bはマダガスカル島の三畳紀産のハイギョ、ケラトダス・ヒスロピヤヌスのもの。歯板の大きさは5センチメートル前後ある(M.マルチンによる)

11. 現在、北米大陸にハイギョがない理由

ケラトダスは中生代に最も繁栄したハイギョのグループで、化石はヨーロッパ、アフリカ、アジア、新大陸、オーストラリアなど、世界各地から続々と発見されています(図18)。

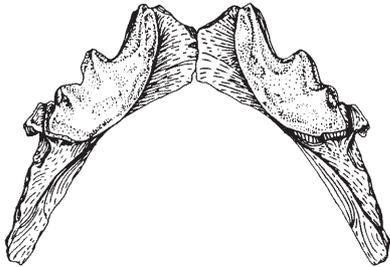


図18. 北米カンサス州の白亜紀前期の地層より産出したハイギョ、ケラトダス・フラツェリアの1対の歯板(J.I.カーランドによる)

今から約1億2千万年前の白亜紀前期に、ケラトダスの少数のグループが、遂に海に進出することに成功しました。しかし、生活場所が河口付近の鹹水域かんすいいきといった狭い場所に限られていたため、大きな勢力になり得ませんでした。

さて、新大陸南米の河川にはレピドシレンと呼ばれるハイギョが生息していますが、今日北米には全くハイギョの仲間を目にする事ができません。それは中生代白亜紀(今から1億4千5百万年前)になると、北米大陸の河川に肉食性の凶暴な硬鱗魚(アミアやオステオステウス図19の仲間)が勢力を増して来ました。



図19. ワニのような口をしたオステオステウスの化石。体長50センチメートル近くある。

そこへカメやワニが加わってハイギョを圧迫したため、今から約9千万年前の白亜紀後期(セノマニアン)に至って完全に姿を消し、それが今日まで続いているという訳です。

更にハイギョの生息し易い沼地が減少したことも、絶滅に追い打ちをかけました。このようにして見ると、オーストラリアのバーネット河にネオケラトダスが存続し得たのは、天敵がいなかったこと、生息域の環境が長期に亘って安定していたことが挙げられます。

12. ハイギョの巣穴

今日、アフリカや南米の湖や河川に生息しているハイギョ、プロトプテルスやレピドシレンは、雨季が終わって次第に日射しが強くなり、水位が下がり始めると、水底の硬い粘土層を根気よく噛み砕き、深さ1メートルほどの円筒状をした巣穴を造ります。その際、泥屑は口から水を噴出して吹き飛ばしたり、口中に含んで外に捨てられます。

巣穴に入ったハイギョは、皮膚に分布する大形の分泌腺(図20)から放出した粘液で泥の細粒を固めて、丈夫な“まゆ”を形成します(図21a)。

ハイギョは身体を丸めて頭部を上方に向け、“まゆ”の中に籠もります(図21b)。そして、再び雨季が巡って来るまで、じっと辛抱強く待ちます。この“まゆ”の上方に小さな孔が開いているので、内部の魚が窒息死することはありません。このようなハイギョの習性を、夏眠と呼びます。

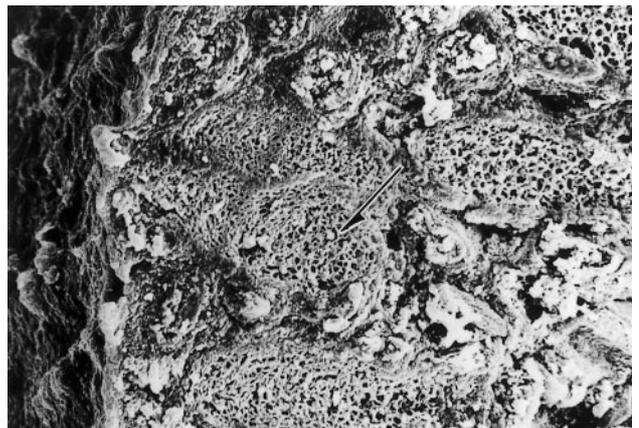


図20. アフリカ産のハイギョ、プロトプテルスの表皮断面。矢印は大形の粘液腺。写真左側が水に接する表面に当たる。

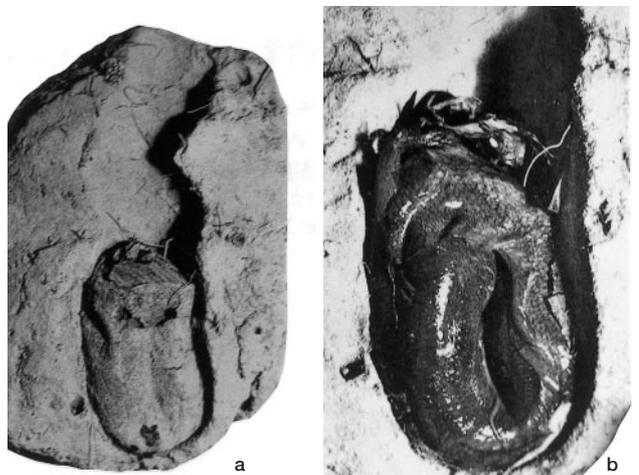


図21. 夏眠するハイギョ、プロトプテルス。aは巣穴の底にある丈夫な泥製の“まゆ”、bは“まゆ”を破壊して、内部の魚を示す(A.G.ジョーネルスとG.S.スベンソンによる)

13. 巣穴の化石

夏眠を行うハイギョは、今から約3億年前の石炭紀末頃に初めて出現します。世界的な規模で乾燥した気候の続く二畳紀になると、ハイギョの巣穴の化石はかなり増加して来ます。この巣穴の化石は、絶滅動物の古生態を示すものですから、重要な生痕化石の1つに数えられています。

化石化したハイギョの巣穴は、北米テキサス州中央部の北寄りにある、ウィルバーガー郡の二畳紀初期(約2億8千万年前)のアロヨ層では、かなり普遍的な化石となっています。それは風化した露頭の泥岩層中に顔を出している、直径10から15センチメートル、高さ30から40センチメートルに及ぶ円筒形の泥の塊です(図22a)。

この奇妙な泥柱の列がハイギョの巣穴と判明したのは、1954年のことです。北米の著名な古脊椎動物学者ローマーとオルソン両博士が、問題の泥柱を切断して細かく調べ、遂に当時のハイギョ、グナトリーザ・セラタの遺骸を発

見したからです(図22b~d)。グナトリーザは夏眠時に、プロトテリスと同様な姿勢を取っていたことが分かりました。

地層の堆積状況を丁寧に観察したローマーとオルソン両博士は、今から約2億8千万年前に、その場所が大洪水に見舞われたことを知りました。

恐らく、巣穴のグナトリーザは夏眠をむさぼっている間に、洪水により押し流されて来た大量の砂泥が巣穴の上に堆積し、生き埋めになったのでしょう。もし、泥柱の内部にグナトリーザの遺骸が保存されていなければ、正体不明の大形生痕化石として片づけられてしまい、“ハイギョの巣穴の化石”として世に出るチャンスは永久に無かったと思います。

これは本当にあった話ですが、前記の泥柱を指してかつて水辺に生えていた植物の痕跡に違いないと、本気で考えた古生物学者もいたのですから。筆者の経験からしても、植物の幹が腐って空洞になり、そこに泥が侵入して固結すれば、ハイギョの巣穴そっくりの泥柱が完成します。この例は研究者に、常に綿密な観察が大切なことを示しています。

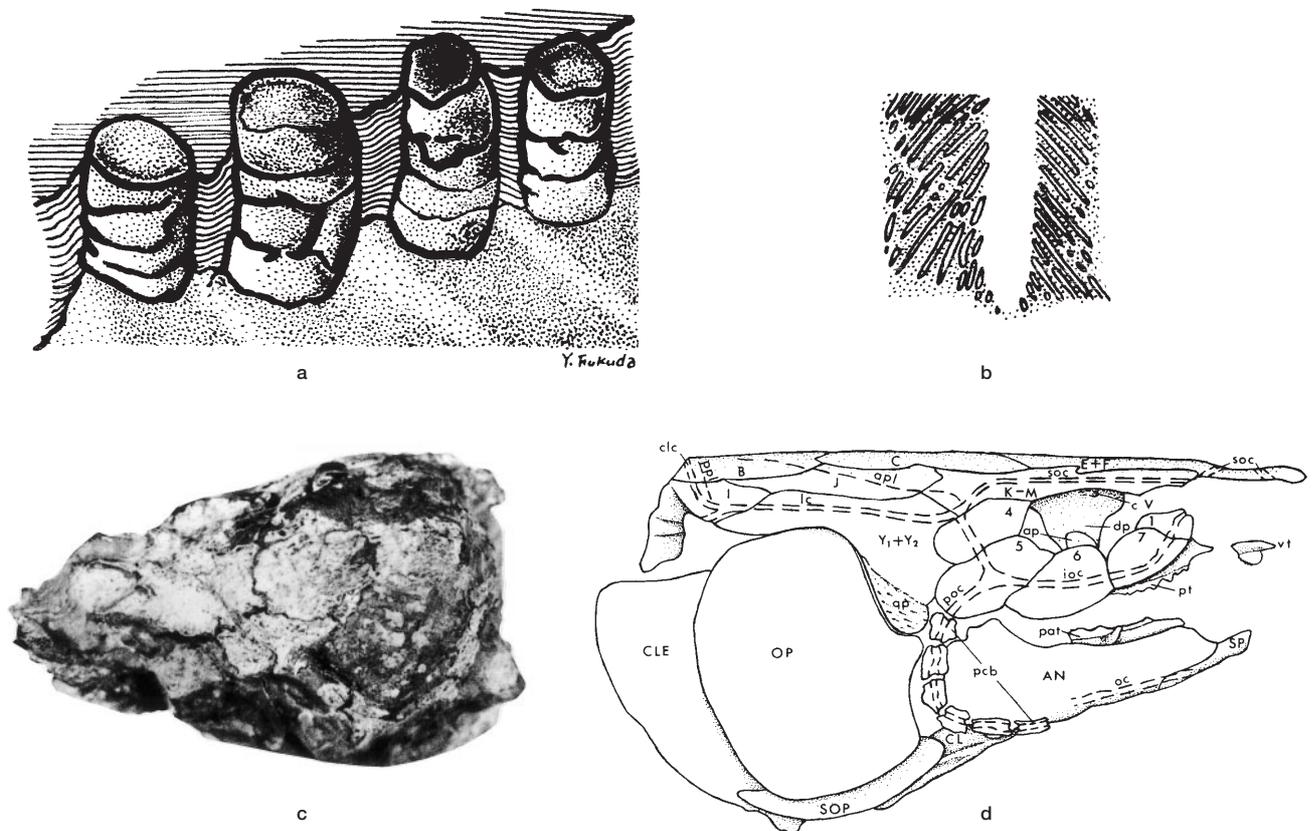


図22. 初めて学会に報告されたハイギョの巣穴の化石。aは北米テキサス州の二畳紀初期(約2億8千万年前)の地層面に顔を覗かせる泥柱。内部にハイギョ、グナトリーザの骨格が保存されていたことから、その正体が判明した。bは巣穴内部のグナトリーザの尾部。cはグナトリーザの頭骨背面。長さ10センチメートルほど。dは頭骨の復元図。側面を示す。(a)はA.S.ローマーとE.C.オルソンより作図、c~dはD.S.バーマンによる)

14. 巣穴の断面を顕微鏡で調べる

ハイギョの生痕化石に関する研究は、その後も続けられ、1989年テキサス州ミッドウェスタン大学に所属する古生物学者ダルクエスト博士らのグループは、グナトリーザの巣穴(図23a)の横断標本を作製し、顕微鏡やX線装置を用いて念入りに観察しました。

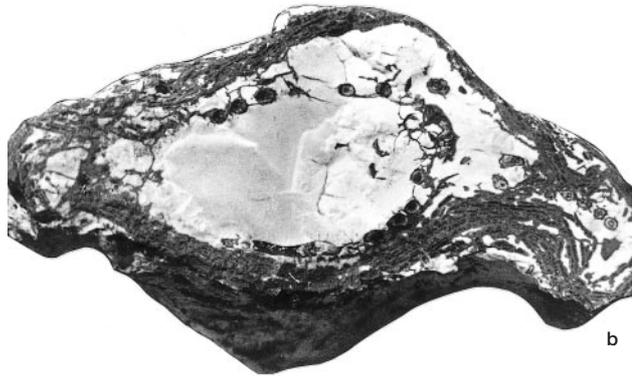
顕微鏡写真を検討したダルクエスト博士は、多数の厚手の鱗がグナトリーザの骨格をぐるりと取り巻いていることに気がきました(図23b)。

鱗は現生のレピドシレンのものによく似ています。そのことから、ダルクエスト博士はグナトリーザがレピドシレンと同様、ムチ状の鱗を持っていた可能性が高いとみなしています。このグナトリーザの歯板を詳細に調べたカリフォルニア大学のバーマン博士は、稜が鋭いブレード状になっている点に注目し、グナトリーザが恐るべき肉食魚であったと考えています。それが事実とすれば、時に他の魚を捕えて食べたのかもしれない。

ところで、ケラトダスはなぜ巣穴を造らなかったのでしょうか。それは、ケラトダスが季節に変わりなく、常に豊富な水流に恵まれた河川に生息していたので、夏眠の必要が無かったからだとする説が広く信じられています。



a



b

図23. ハイギョの巣穴の化石。aは北米テキサス州の二疊紀初期のハイギョ、グナトリーザの巣穴。激しい風化により、泥柱が地層より完全に露出している。bは巣穴の横断面。この横断面を顕微鏡やX線で調べることで、多くの情報を得ることができる。写真の巣穴は直径10センチメートルほどあり、骨格の周囲に細かな鱗が認められる(W.W.ダルクエスト他による)

ドイツの切手に現れた科学者、技術者達(14) ヨハン・カルル・フリードリッヒ・ガウス

Scientists and Engineers in German Stamps (14). Johann Carl Friedrich Gauss

筑波大学名誉教授 原田 馨
KAORU HARADA

Professor Emeritus, University of Tsukuba.



C. F. ガウス死亡100年記念切手1955年西ドイツ発行。

ヨハン・カルル・フリードリッヒ・ガウス

ヨハン・カルル・フリードリッヒ・ガウス (Johann Carl Friedrich Gauss, 1777-1855) ドイツの数学者、物理学者、天文学者。

ガウスはブラウンシュヴァイク (Braunschweig) の貧しい職人の家に生まれた。幼少の頃から神童の誉れ高く、アルキメデス、ニュートンと共に人類が生んだ3大数学者の一人とされた。子供の頃から数学と言語に非凡な才能を持っていることが認められ、ブラウンシュヴァイク公フェルディナンドから奨学金を与えられ、ギムナジウム及びゲッチンゲン大学へと勉学を続けることができた。幼少の頃、小学校で教師が1から100までの数字を順次加えると総計いくらになるかと云う算数の問題を出すと、ガウスは直ちに独特の算法を提案し、その答えは $101 \times 50 = 5050$ であると暗算で答えた話はよく知られている。

最初の数学的理学的研究は、測定に関する「最小二乗法」及び「小惑星セレスの再発見」であった。定規とコンパスによる正17角形の作図、楕円函数の二重周期性、代数学の基本定理の証明、整数論などが発表された。研究の成果は必ずしも公表されなかった。公表されなかった研究には、超幾何級数複素関数論、非ユークリッド幾何学、曲面論、ポテンシャル論などがある。ガウスは電磁気学の研究をW. E. ウエバー (Wilhelm Edward Weber, 1804-1891) と共に行い、はじめてゲッチンゲン市内での電信による実用的通信に成功した。ガウスとW. E. ウエバーの記念碑がゲッチンゲン市のニコライ通りとガイスマー通りの間の広場にある。それは座ったガウスの右後にウエバーが寄りそっている像である。ついでながらウエバーは、1837年のゲッチンゲン7教授事件で、大学を追放された7人の教授の内の一人であった。リベラルな立ち場のウエバーが新しく発布された法律に反対したが、他の6人と同じように市民

の後援があり、1849年ゲッチンゲン大学へ帰り、ガウスと共に電磁気学の研究を続けた。

ガウスの住んでいた家が市内に2軒、更に天文台を加えて計3軒あり、夫々の家に記念板が掲げられている。彼の墓は市内のアルバニ墓地にあり、立派なよく手入れされた高い墓石で、上部にガウスの右向きのプロンズの丸いレリーフがはめ込まれている。ウエバーの墓は市の中心から少し北にある市営墓地(シュタット墓地)にある。ウエバーの墓地は物理学者M. ボルンと法学者イエーリングの墓地の間にある。

ブラウンシュヴァイクのガウスの立像を訪ね、小さな丘を上がったり下ったりしていると、同じようにあたりを散歩して

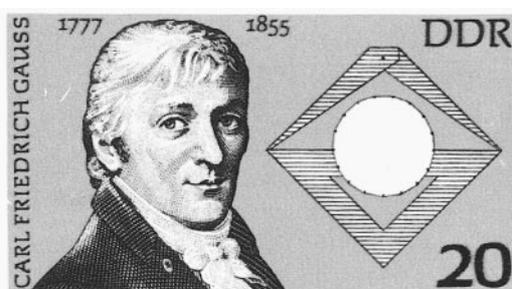
いる人がいた。話しかけると彼はアメリカの大学の数学の先生であった。アメリカからわざわざブラウンシュヴァイクまでご苦労さまと云うと、彼は「日本の化学者が数学者の記念碑を見るためにわざわざブラウンシュヴァイクに来る方が珍しいのではないか?」と云われ、互いに楽しい気分になった。この記念碑へ来る道の途中にガウスの生家の跡を示す記念板があった。

ナポレオン戦争でブラウンシュヴァイク公が死亡し、ガウスはパトロンを失ったが、アレキサンダー・フンボルトがガウスをゲッチンゲン大学の天文台長に推薦したことにより安定した研究場所を得、その後多くの研究を成し遂げることができた。
※本稿に掲載の写真は、全て著者の撮影によるものである。



ゲッチンゲン市内のアルバニ墓地にあるガウスの墓。この墓地は天文台に近い。

若きガウス像と直角定規とコンパスのみで画かれた正17角形を画いた切手。正17角形は円に内接している。1977年DDR発行。



数学者、物理学者、地球学者、天文学者であるガウスが生まれたブラウンシュヴァイクの生地には記念板が掲げられている。



ゲッチンゲン大学の天文台はガウスのための研究所となった。ハノファ出身でイギリスで活躍した天文学者ヴィルヘルム・ヘルツェルの磨いた金属製凹面望遠鏡が天文台に保存されていたが、残念ながら盗難により失われた。木製の望遠鏡の部分は残っている。

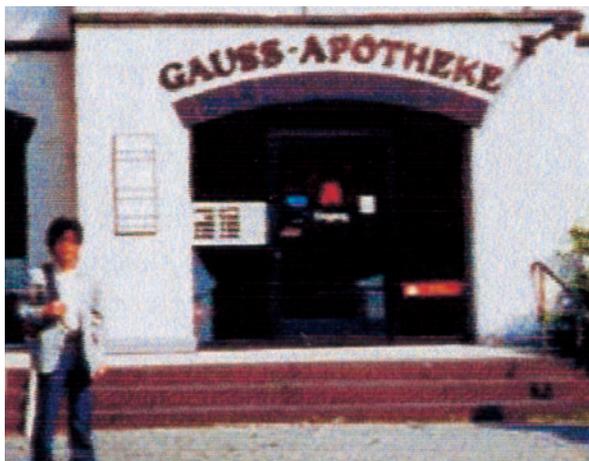


ガウスの墓から直線で15mほど離れた場所にヨハン・フリードリッヒ・グメリン(1748-1804)の墓がある。このグメリンは無機ハンドブックのレオポルト・グメリンの父であり、ゲッチンゲン大学の最初の化学教授であった。



ブラウンシュヴァイクの近くの丘の上に実験するガウスの立派なブロンズ像が建っている。この像は酸性雨による風化が甚しい。

ドイツの切手に現れた科学者、技術者達(14) ヨハン・カルル・フリードリヒ・ガウス



ゲッティンゲンに「ガウス薬局 (Gauss Apotheke)」という名の薬局がある。



ガウス薬局で「ガウス・ガイスト」を買う筆者。



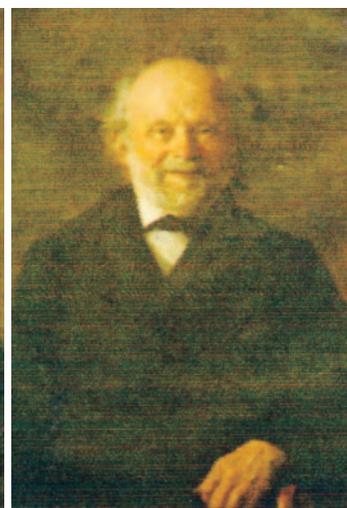
液体の胃薬「ガウス・ガイスト」の小さなビンに貼られたラベル。



ガウスの名はドイツでよく知られている。ユーロの設立により廃止されたドイツ・マルク (DM) のうち最もよく使用されたのが10M紙幣でありガウスの肖像が印刷されていた。



ゲッティンゲン大学天文台の小講義室に、ガウスとウエバーの協同研究を記念して二人を画いた美しい肖像画が、掲げられている。



ゲッティンゲン大学天文台の一階の講義室には約15号ほどのC・F・ガウス(左)とW・F・ウエバー(右)の肖像が掲げられている。室内は絵を保護するために暗く保たれている。若いガウス像は2階の小展示室にも掲げられている。

編集後記

新緑爽快であった若葉達も入梅の雨に洗われ、一際緑が深まる時節となりました。

ケミカルタイムも55年の時の流れを重ね、今年4月に200号を迎えました。化学分野にあっても、技術革新の前線から豊かに降り注ぐ雨滴を受けて、つつがなく今日を迎えることができましたことに感謝の念を深めております。編集室では、資

料整理を兼ねて最近の100号を製本して残すよう企画しておりましたが、保管や閲覧の利便性からpdfファイルにして保存することとなりました。読者の皆様には、ご要望に応じて適宜バックナンバーをご提供申し上げてまいりましたが、引き続き継続できることとなりましたのでご用命のほどお待ち申し上げます。

表紙写真

コバイケイソウ(小梅恵草) ユリ科シュロソウ属

本州中部以北の高山帯に群れるこのコバイケイソウは、1m程に育つものもある大柄な花です。緑鮮やかな草葉からそびえる白い大きなガンマイクか、ブラシを連想させるような花は、独特な形と力強さで非常に印象深いものです。また、理由は定かではありませんが、何年かの周期で大群落を作ることがあり、その最盛期の累々と続く白い群れは周囲を圧倒する豪華さです。(写真・文 北原)



関東化学株式会社

〒103-0023 東京都中央区日本橋本町3丁目2番8号
電話 (03) 3279-1751 FAX (03) 3279-5560
インターネットホームページ <http://www.kanto.co.jp>
編集責任者 古藤 薫 平成18年7月1日 発行