

# 第13号 ぶんきんニュース

2009/1/30



---

## 目 次

---

### ☆ 行事予定

- ・ 第4回 提案公募型セミナー . . . . . p. 2
- ・ 第5回 提案公募型セミナー . . . . . p. 3

### ☆ 報 告

- ・ 第2回 基礎分析化学講習 . . . . . p. 4
  - ・ 第3回 基礎分析化学講習 . . . . . p. 5
  - ・ 第3回 提案公募型セミナー . . . . . p. 7
  - ・ 第2回 支部講演会 . . . . . p. 15
-

## 行事予定

### 第4回提案公募型セミナー

『かいめんの科学「虚と実、陰と陽」』

共催 日本分析化学会近畿支部、近畿分析技術研究懇話会  
期日 平成21年1月31日(土) 13:00～2月1日(日) 12:00  
会場 京都大学白浜海の家(和歌山県西牟婁郡白浜町)

(京都大学フィールド科学教育センター附属瀬戸臨海実験所内)

<交通> JR白浜駅下車(京都から3時間15分、新大阪から2時間15分)、白浜駅から明光バス白浜バスセンター経由「臨海」下車すぐ。自動車:吹田JCTから172km  
約2時間半

プログラム

【1月31日(土)】

13:00～13:05 セミナー実行委員長 加納健司氏 あいさつ

第1部 kickoff talks 司会 前田耕治氏

1) 13:10～14:00 京都大学人間・環境学研究所 堀 智孝氏

「界面と海面:実にて虚に遊べ 虚にて実を行うべからず」

2) 14:10～15:00 京都大学人間・環境学研究所 杉山 雅人氏

「水圏の化学:バイカル湖-琵琶湖-日本の河川」

3) 臨海演習

-入浴・食事等は白浜の中心街で-

4) 20:00～

参加者全員によるショートトーク(一人10分以内)[研究の行き詰まりを語る]

【2月1日(日)】

第2部 司会 加納健司氏

5) 9:00～ 総括

参加費 無料

※参加者の皆様には大変申し訳ございませんが、交通費、宿泊費(1100円)、食事代等のご負担をお願いいたします。

申込締切日 12月26日(金)午後1時(申込は既に終了しました。)

## 第5回提案公募型セミナー

「分析化学とマイクロ波化学 NO. 5」

-マイクロ波科学-発振-磁気分光-抽出分離-の新展開-

-誰でもマスター・マイクロ波化学実習-

主 催 日本分析化学会近畿支部、近畿分析技術研究懇話会  
共 催 ミネルバライトラボ  
後 援 けいはんな新産業創出・交流センター  
期 日 平成21年2月27日（金）13:00～17:30  
会 場 関西文化学術研究都市 けいはんなプラザラボ棟4階会議室

[京都府相楽郡精華町光台1-7]

アクセス <http://www.keihanna-plaza.co.jp/10accessmap/access/index.html>

内容 「あいさつ」 (13:00～13:05)

日本分析化学会近畿支部長

=講演=(13:05～15:00)

1. 超高精度マイクロ波源とその応用 セイコーエプソン(株) 藤井 智氏
2. ESRの分析化学的展開(仮題) 青山女子短期大学教授 渡部徳子氏
3. 植物成分のマイクロ波抽出(仮題) 高温高压流体技術研究所顧問 加藤俊作氏

休憩 (15:00～15:15)

4. 実演実習 (15:15～16:30)

(1)植物成分のマイクロ波抽出(マイクロ波反応装置 Start(マイルストーン社))

実験指導:長南氏(株)マイルストーンゼネラル)

(2)リアルモニタリング精密マイクロ波反応装置

錯体迅速合成とモニタリング 松村竹子氏 [ミネルバライトラボ]

(3)簡易迅速マイクロ波反応装置 [グリーンモティーフ IB]

実験指導:増田嘉孝氏、(ミネルバライトラボ)

5. けいはんなラボコミュニティー, 企業見学(16:30～17:20)

6. 研究交流会 (17:30～18:30)

参加費 聴講:一般2,000円、学生無料(何れも資料代を含む)

研究交流会:3,000円、学生1,500円

※当日申し受けます。

申込方法 「第5回提案公募型セミナー参加」と明記のうえ、(1)氏名、(2)勤務先(所属)、(3)連絡先(TEL・FAX・E-mail)、(4)交流会参加の有無を明記のうえ、下記宛お申し込み下さい。参加証は発行しませんので、直接会場にお越し下さい。

申込先 (社)日本分析化学会近畿支部

〒550-0004 大阪市西区靱本町 1-8-4 大阪科学技術センター6階  
〔電話：06-6441-5531, FAX：06-6443-6685, E-mail：mail (atmark) bunkin.org〕  
問 合 先 (有) ミネルバライトラボ 松村竹子  
〒619-0237 京都府相楽郡精華町光台 1-7  
〔電話/Fax：0774-95-0189 E-mail：mll@gamma.ocn.ne.jp http://www.mll.jp/〕

## 報 告

### 第2回基礎分析化学実習

「電子回路の基礎の基礎-ポテンショスタット回路」

主 催：日本分析化学会近畿支部、近畿分析技術研究懇話会  
期 日：平成20年10月22日（水） 13:00～17:00  
場 所：紀本電子工業（株）[大阪市天王寺区舟橋町 3-1]

2008年10月22日大阪市紀本電子工業（株）にて、第2回基礎分析化学実習「電子回路の基礎の基礎-ポテンショスタット回路」が開催されました。昨年度はこの実習で簡易分光計を作成しましたが、本年は電気化学の基礎的な回路となるポテンショスタット回路を課題としました。参加者内訳は学生会員が10名、近分懇会員2名、一般が1名の合計13名。中には、日帰りの日程で信州大学からも学生1名が参加してくださいました。参加者の半数以上は電気化学分析法としてポテンショスタットを実際に使用した事があるとの事でしたが、電気回路の作成についてはほとんどの方が未経験者でした。

実習はまず、ポテンショスタット回路を理解するうえで最低限必要とされる受動素子（抵抗、コンデンサ、オームの法則などなど）の読み方、使い方の講義から始まり、現在電気回路のメインとなるオペアンプの代表的な使い方（I-V変換、反転増幅回路、非反転増幅回路など）の講義、実習に必要なツール（デ



ジタルマルチメータ、ハンダごてなど）の説明が行なわれました。今後大学、研究室の実験で使用する可能性が高いデジタルマルチメータの使用方法については特に詳しく説明が行なわれました。そして、本実習の主題となるオペアンプを使用したポテンショスタット回路の説明基板製作に着手していただきました。

昨年同様、初めてハンダごてを手にする受講者もおり、基板実装に非常に手間取って、実習のアシスタントと何度も実装しなおす風景も見受けられました。



実装終了後、受講者はダミーの電極を使って、自作したポテンショスタット回路がポテンショスタットとしての機能を果たすかを検証しました。最後にシャープペンシルの芯を作用電極、対極とし、銀/塩化銀電極を参照電極にした実験系を製作し、フェリシアン化カリウムの還元電流の測定を行い、実習が完了しました。本実習で製作した基板の動作については全受講者について確認でき、一応の成果を挙げる事ができたと思われまます。実習で使用したキットについては受講者持帰りとさせていただきます。

受講後、本実習についてアンケートを実施したところ、講義の前半部分については、ある程度簡単で理解が容易である反面、オペアンプが出てくる実習回路については、難しかったようでさらに時間をかけて理解できるようにとの要望が多く見られました。基板実装については大半の受講者が初めての経験にも関わらず、大変面白いとの意見が多く見られました。次年度に同様の実習を行う際には、時間の制限はあるものの、上記の意見を反映できるように実習内容を検討したいと考えています。

本実習の本来の狙いである「電子回路基礎の基礎」の理解という点では、数時間の実習では十分とはいえませんが、普段研究等で使用している分析機器の電気回路の一部を自作してみる事で、電気回路へのとっつきにくさ、難解さが少しでも取り除かれることを期待します。さらに、自ら電気回路を設計してみようとするような方が一人でも二人でも出てもらえる、そのための助けになる事を期待します。

(紀本電子工業(株) 鈴江崇彦)

### 第3回基礎分析化学実習

「ICP-MSによる微量金属分析の基礎」

日時：平成20年11月8日(木) 13:00~19:00

会場：京都大学化学研究所

講師：宗林由樹、則末和宏、南知晴(京都大学化学研究所水圏環境解析化学研究領域)他

2008年11月8日(木)、京都大学化学研究所(宇治市)において、日本分析化学会近畿支部が主催する今年度最後の基礎分析化学実習「ICP-MSによる微量金属分析の基

礎」を開催した。当初定員は12名であったが希望者が多く、16名の参加があり盛況であった。

はじめに宗林先生から「ICP-MSの特

「徴・分析上注意すべきこと・クリーン技術」の三点について全体講義を受けた後、4 班に分かれてローテーションを組み、詳細な実習に入った。

1：器具の洗浄（酸による加熱洗浄）の実習＋微量金属のカラム抽出法紹介



「汚染の少ないポリ瓶をさらに熱した酸で洗浄し、純水ですすぎます」

2：試水のろ過（クリーン技術を伴う）実習＋写真による研究航海の概要紹介（宗林先生）



「ビニールシートで囲んだクリーンボックスの中で試水をろ過します」



「深層の採水に用いるニスキン採水器と水圧で縮んだカップラーメンの容器」

（採水システムと共に降ろすようになります）

3：標準溶液の調製＋HR (High Resolution) ICP-MS の装置紹介（則末先生）

当日の測定には用いませんが、高分解能の ICP-MS について装置を運転しながら詳説していただきました。

4：ICP-MS の装置紹介と琵琶湖水の実測＋データ整理（南先生）



「琵琶湖水を装置に導入しますが、ここでも手袋とクリーンボックスを使っています」

以上の内容について順番に学習し、全内容を終了した後は全員で懇談（懇親？）会が開かれた。

各々の内容に教員、大学院生が複数配備され、時間の制約はあったものの、研究部門のほとんどの方を動員され、大変丁寧に指導していただいた。普段の実習では採水容器の取り扱いや、クリーンろ過の方法などを実際に経験することはまずないことであり、論文からだけではうかがい知ることのできない部分を実際に自分で経験できる

機会は貴重なものとなったのではないだろうか。参加された方の中で使用経験のある方は5名であったが、実習の行われる中で多くの方から質問があり、全体として活発で内容の濃い実習になったものと感じている。改めて宗林先生はじめ指導いただいた皆様に御礼申し上げます。

(滋賀県立大学 丸尾雅啓)

### 第3回提案公募型セミナー 「水圏の腐植物質研究会」

開催予定日： 2008年11月29日(土) 13時00分から18時  
開催場所： 神戸大学農学部  
共催： 日本分析化学会近畿支部、近畿分析技術研究懇話会  
企画立案者： 杉山裕子(兵庫県立大学)

講演者

1. 杉山裕子(兵庫県立大学環境人間学部), 「溶存有機物の新しいキャラクタリゼーション法」
2. 丸尾雅啓(滋賀県立大学環境科学部), 「溶存有機物が制御する金属元素の動態～琵琶湖の場合～」
3. 藤嶽暢英(神戸大学農学部), 「土壌と陸水の腐植物質の化学構造特性」
4. 山田悦(京都工芸繊維大学 環境科学センター), 「土壌由来腐植物質と藻類由来有機物の特性及び環境動態について」
5. 大田啓一(滋賀県立大学 環境共生システム研究センター), 「溶存腐植物質の起源と光化学反応性について」

参加者数： 41名

分析化学・地球化学・陸水学・水環境科学・農学などの分野で研究を進める5名の講演者が、「水圏の腐植物質」についての研究成果を交換しましたが、活発な議論が行われ、充実した会となりました。また、多彩な分野(理・工・農・環境・薬学など)・地域(関西・中部・関東・北陸・中国地区)から、多数のご参加を頂き、腐植物質への関心が高まってきていることを感じました。当日の呼びかけにより参加者を募った懇親会にも約25名の参加を得、2次会の場でさらに議論を深めることができました。講演者から頂いた要旨を掲載します。

## 溶存有機物の新しいキャラクタリゼーション法 —FT-ICR MS を用いたバイカル湖溶存有機物の分子レベルキャラクタリゼーション—

兵庫県立大学・環境人間学部 杉山裕子

天然水中に溶存している有機物 (Dissolved Organic Matter, DOM) は一般に、孔径 0.1~1.0 mm のフィルターを通過する有機物と定義されている。DOM は水圏に存在する有機炭素の主要な形態であり、バクテリアの主要なエネルギー源となり、水中への太陽光の入射を調節することにより水中での一次生産速度に影響を及ぼしたり、有害な紫外線の入射を防ぐなど、生態系を支配する重要な因子である。DOM の起源は主に生物体であり、生物体の分解生成物・分解中間物質などと、それらがさらに環境中で物理・化学・生物反応を受けてできた物質群からなる。このため DOM を構成する有機物には、当初生物体を構成していた炭水化物・たんぱく質・脂質などのように比較的容易に同定・定量できるような有機物はもはやほとんど含まれていない。しかも、DOM を構成している各有機物の濃度はきわめて低いことから分析が困難であり、1990 年代まで DOM を構成する有機物のほとんどが未同定有機炭素とされ、分子レベルでの研究は滞ってきた。

近年の質量分析器の急速な進歩は、この状況を大きく変えつつある。イオンサイクロトロン共鳴型質量分析器 (FT-ICRMS) の開発により、極めて分解能の高い質量分析が可能になったことから、この方法とエレクトロスプレーイオン化方式を組み合わせ、河川水溶存腐植物質、河川水 DOM などの天然有機物同定の試みがされるようになってきた。FT-ICRMS は、磁場中で起こる荷電粒子の回転運動 (サイクロトロン運動) の角速度が、回転している粒子の質量/電荷比の関数であることを利用した分析装置である。FT-ICRMS において分解能は磁場強度に比例し、たとえば 9.4T の超伝導磁石を用いた装置では数 10

万~100 万を超える分解能を得ることができる。この超高分解能の性能を生かし、有機地球化学の分野では FT-ICRMS を用いて未知物質の分子式を予想し、さらに分子内不飽和結合の数などから物質を分子レベルで特徴付ける試みがされている。今回の講演会においては、ロシア連邦のシベリア南東部 (N:51~56° , E:104~110° ) に位置するバイカル湖最深部の表層・深層水試料に対して FT-ICRMS 分析を試み、流入河川水との比較を行った結果について講演した。

試料としては 2005 年 8 月 4 日にバイカル湖最深部 (水深 1640m) の表層水 (Deep 5m) と深層水 (Deep 945m) および主な流入河川であるバルグジン川の下流地点 (水深 3 m) の表面水 (Barguzin) において採取し、濾過後 C<sub>18</sub> 固相抽出ディスク (Empore, 3M, USA) を用いて分離濃縮された溶存有機物試料を用いた。測定は、ネガティブイオンモードで行い、イオン化はエレクトロスプレーイオン化法を選択し、インフュージョン分析を行った。

FT-ICR 質量分析の結果、検出されたピーク数 (S/N>3) はそれぞれ、Barguzin: 3511; Deep 5m: 2862; Deep 945m: 2191 であった。エレクトロスプレーイオン化法は、最もソフトなイオン化法として知られており、フラグメントイオンがほとんど生じないため、得られたピークはほとんどが分子イオンピークであると考えられる。この仮定に基づき、得られたそれぞれの質量ピークの m/z から分子式を予想した。その結果 Barguzin, Deep 5m, Deep 945m の試料について、error<±1.0 ppm の範囲で分子式を予想できたピーク数は、それぞれ 3280, 2408, 2011 とな



り、これは総検出ピークの84~93%であった。このように、未知化合物の分子式が予測できるのが超高分解能 FT-ICR MS の有利な点である。また、予想分子式のリストから、Barguzin で検出されたピーク同定結果と Deep 5m および 945m のピーク同定結果を比較し、予想分子式が一致したピークを抽出した。その結果、Deep 5 m C<sub>18</sub>DOM では総同定ピークのうち 79.6%が、Deep 945m では 89.6%が河川水 C<sub>18</sub>DOM と同一の分子式で示

される分子で構成されていることが分かった。このことから、バイカル湖深層水に、表層から流入した河川起源有機物が保存されていることが分子レベルで示された。また、バルグジン河川水、バイカル湖水ともに C<sub>18</sub>DOM は、リグニン様物質が中心的な構成成分であって、Deep 5m ではそれに湖自生性有機物と見られる脂質やタンパク様物質が加わっていることがわかった。

### 溶存有機物が制御する金属元素の動態 ～琵琶湖の場合～

滋賀県立大環境学部 丸尾雅啓

水圏の生態系における金属の役割を知るには、溶存化学種の把握が必要であり、配位子として作用する化学種の錯化容量、濃度に基づいた化学スペシエーションが求められる。銅、鉄など微量金属の毒性、栄養としての効果は溶存態濃度ではなく、存在形態によって大きく変わる。海洋において、溶存態銅のほとんどが有機錯体であることが示されているが、琵琶湖においても同様である（一部硫化物錯体を含むことがある）と考えられ、計算上無機態や水和イオン形態で存在できるのは、全体の 0.1%にも満たない。銅の可溶性に作用する溶存有機物であるが、単純に溶存銅濃度と溶存有機炭素濃度（DOC）を比較しても関係は見られない。溶存金属はある決まった形態の有機化合物と結合して存在すると考えられる。琵琶湖流入河川のひとつである天野川水では、腐植物質濃度の目安とされる COD<sub>Mn</sub> と溶存銅濃度に有意な正の相関が見られる。今回は琵琶湖水から腐植物質を抽出し、これがどの程度銅と結合しうのかを測定して原湖水と比較した。

琵琶湖北湖の最深部付近（最大水深 85m）で 2004 年 6 月 30 日、8 月 26 日、10 月 1 日に滋賀県立大学実習調査船「はっさか」を用

いて採取した試料について、錯化容量と溶存態銅濃度を測定した。溶存態銅濃度は紫外線照射を行って有機物を分解した後、o-フェナントロリンー過酸化水素化学発光法を用いて測定した。一部試料について凍結保存し、吸着濃縮ボルタンメトリー法（ACSV：競争配位子はサリチルアルドキシム）を用いて錯化容量を求めた。この錯化容量から銅の存在形態を推定した。配位子濃度は 6 月に最も高く、混合が始まる頃には減少し、表水層と深水層ではほぼ等しくなった。表水層の配位子濃度が季節と共に減少することから、配位子の供給源は河川由来の腐植物質に加え、湖内の自生性有機物が関与している可能性がある。この配位子濃度と安定度定数を用いていわゆる銅イオン[Cu<sup>2+</sup>]を計算すると、1fmonl L<sup>-1</sup>以下の極低濃度となった。

一般に腐植物質－金属錯体の安定度定数は、ACSV 法で得られるものよりも低く見積もられており、これが本当ならば実際の錯生成にほとんど寄与しないことになる。そこで、腐植物質が有機物中で占める役割を把握するために、2007 年 11 月 8 日に琵琶湖の同一地点で採水し、国際腐植物質学会推奨法に準拠して腐植物質（フミン酸、フルボ酸混合物）

を抽出、凍結乾燥させて保存した。溶存態全銅濃度の測定に際し紫外線照射を行って湖水中有機物を分解し、サリチルアルドキシムを配位子とする ACSV 法で定量し、さらに試料の銅錯化容量を測定した。これに加え原湖水に紫外線照射を行って有機物を除去し、抽出前と同じ濃度になるように腐植物質を添加した試水を合成し、腐植物質のもつ銅錯化容量を測定した。

溶存有機炭素濃度 (DOC) は、湖底付近の試料を除いて採水深度によってあまり変化しなかった。一方、湖水の錯化容量 ( $C_L$ )、腐植物質のみの錯化容量ともに採水深度によって大きく異なった。表水層における湖水

の錯化容量はかなり高く  $150 \text{ nmol L}^{-1}$  程度であり、腐植物質の錯化容量はこの  $2/3$  程度と大部分を占めることが明らかになった。深水層にあたる深度 60m では、湖水、腐植物質いずれからも今回測定された高い安定度定数をもつ配位子が検出できなかった。DOC には表れない有機物の変質が深水層で起きている可能性が示唆された。また、深度 80m における錯化容量は湖水と腐植物質で大きな差が見られた。腐植物質のみの錯化容量は 2004 年 10 月の深度 30m の湖水とほぼ同様であることから考えると、硫化物の影響、あるいは湖底から溶出した腐植物質に分類されない有機化合物の影響が示唆された。

## 土壌と陸水の腐植物質の化学構造特性

神戸大学大学院農学研究科 藤嶽暢英

腐植物質 (フミン酸やフルボ酸) は土壌、地質堆積物、陸水 (河川・湖沼、地下水) や海水などの地球表層すべての環境中に普遍的に存在し、土壌では全炭素量の 90% 以上を、水環境中では 20-90% を占める最も主要な有機態炭素である。腐植物質の機能・作用は多様であるが、土壌や河川における鉄や栄養塩類、環境化学物質 (重金属、放射性核種、農薬など) の移動・拡散・変化に対する影響が注視されている。つまり、土壌と陸水をまたぐ「陸域生態系」での様々な物質の挙動を理解する上で欠かす事のできない因子物質として認識されるようになってきている。

腐植物質は高分子物質の混合体であり、その見かけ上の特性である「褐色-暗色」の元となっている芳香族部位と、分子サイズに大きく寄与する脂肪族部位から構成されている。いずれにも極性の低い部位と、多種多数な酸性官能基に起因する極性の高い部位が存在する。腐植物質が界面活性作用やキレート形成作用などを通じて物質の挙動を左

右するのはこうした化学構造上 (物理構造を含めた) の特性によるが、今日の分析技術で高分子混合物の化学構造を掌握することは極めて困難である。そこで、石炭化学などで開発された統計的構造解析法をもとに平均化学構造モデルが幾つか提唱されているが、そのような化合物が天然に実在するわけではなく、それらの構造式はあくまでも概念的なものでしかない。このように、腐植物質をピュアーケミストリー (純物質を対象とするという意味で) やポリマーケミストリー (unit 高分子を対象とするという意味で) の範疇で捉えることはできないのが実情だが、様々な環境から取り出した腐植物質の元素組成、官能基組成、分子サイズ分布等の構造特性値をみれば、腐植物質に特有の一定の分布範囲があり、それらの分布範囲は起源物質や生成環境等の相違によって偏りがみられる。

腐植物質の研究がその機能の理解や応用へと加速的に広がりつつある中で、各研究で

用いられている試料の特性を、多様な腐植物質の中で適切に評価（位置付け）できなければ研究成果を正当に評価する事もそれを応用展開する事もままならない。そこで、多種多様な腐植物質を分析・比較し、類型化（グルーピング）することが求められている。

本講演では様々な土壌と陸水から採取したフミン酸やフルボ酸の約140試料について、元素分析、<sup>13</sup>C NMR分析、HPSEC分析をおこなった結果を紹介した。さらに、多変量解析などの結果から、土壌フミン酸は分子サイズが

より大きく、芳香族特性が高い点で卓越し、土壌フルボ酸や水系フルボ酸は分子サイズが小さく、カルボキシル基含量がより高い特徴を示した。また、土壌フルボ酸と有色水および非有色水のフルボ酸はアルキル基含量によってグルーピングが可能であった。また、<sup>13</sup>C NMR分析のスペクトル形状を比較・観察することで土壌から河川、河川から湖沼への腐植物質の関連付けが可能であることを解説した。

## 土壌由来腐植物質と藻類由来有機物の特性及び環境動態について

京都工芸繊維大学・環境科学センター 山田 悦

腐植物質（フミン酸、フルボ酸）は、環境中の主たる有機成分であり、土壌、懸濁物質、淡水及び海水中に存在し、大気中の粒子、雨水等にも微量存在している。腐植物質は環境中での金属の存在状態や水道水中のトリハロメタン（THM）生成に影響を与え、有害な有機化合物と結合し、その残留や拡散に影響することが指摘されている。しかしながら、腐植物質は数百～数十万と広い分子量分布を有する複雑な混合分子系であるため、環境中での挙動はあまり明らかにされていなかった。また、湖沼など閉鎖的な水域では微生物に分解されない難分解性の溶存有機物質（DOM）の増加が問題になっている。しかし、増加している難分解性有機物の特性や起源については明らかではなく、腐植物質や藻類由来有機物の寄与が推測される。そこで、今回の「水圏の腐植物質研究会」では、土壌由来腐植物質及び藻類由来有機物の特性と環境動態を中心に講演を行った。

1. 腐植物質の濃度と分子量を同時に測定する方法として蛍光検出ーゲルクロマトグラフ法を開発し、琵琶湖水や淀川水系河川水中

腐植物質の動態解析を行うと共に、THM生成への影響などを明らかにしてきた。湖沼及び河川水中ではフルボ酸濃度はフミン酸濃度の約10倍であり、環境水中ではフルボ酸が腐植物質の優占種として存在する。環境水中の腐植物質濃度は温暖期に高く、寒冷期に低いという季節変化を示し、分子量も温暖期の方が高分子量のものの割合が高くなることを見出した。腐植物質濃度が高いほどTHM濃度が高く、腐植物質とTHM生成能に相関関係があること、藻類量や臭化物イオンの影響についても明らかにしてきた。

さらに、琵琶湖・淀川水系で溶存有機物質（DOM）を疎水性樹脂のDAX-8等を用いて、疎水性酸（腐植物質）、疎水性中性物質及び親水性DOMにカラム分画し、河川水では疎水性酸の割合が高く、親水性DOMは疎水性酸より少ないか同程度で、特に木津川では疎水性酸が60%以上と高い割合であることを示した。一方、琵琶湖水のDOMは親水性DOMの割合が疎水性酸より大きく、流入河川水と比較すると腐植物質よりも湖内での植物プランクトンなどによる内部生産の寄与が大きいと考えられる。琵琶湖水のDOM

とその画分の鉛直分布は、5月までは水深に関係なくほぼ均一だが、夏季6~9月には水温躍層の間で大きく変化した。表層水のDOM、親水性DOM及び疎水性酸濃度は、5~9月に増加し、水深の深い所の濃度差が大となった。これらの増加した春季から夏季にはクロロフィルの増加が見られ、腐植物質の増加に加えて内部生産による親水性DOM濃度の増加が影響していると考えられる。

2. 湖沼など閉鎖的な水域では富栄養化などによる有機汚濁が問題になっている。琵琶湖北湖でも、1985年以後、生物化学的酸素要求量(BOD)の変化は小さいのに対し、化学的酸素要求量(COD)が毎年増加しており、これは微生物に分解されない難分解性のDOMが増加しているためと考えられる。しかし、増加している難分解性有機物の特性や起源については明らかではない。琵琶湖水の難分解性有機物には、腐植物質に加えて植物プランクトンによる内部生産の寄与が大きく、COD増加は植物プランクトン種の変遷と関係があることを見出したので、難分解性有機物生成への植物プランクトンの影響を明らかにするために3種類の植物プランクトンを培養して、その一次生産物及び分解生成物について蛍光検出-ゲルクロマトグラフ法及び三次元分光蛍光光度(3-DEEM)法などを用い、その特性を評価すると共に、琵琶湖水中の難分解性有機物への寄与を解析した。

植物プランクトンとしては、アオコの原因であるミクロキスティス(*Microcystis aeruginosa*)、1985年以前の優占種としてスタウラスツルム(*Staurastrum dorcidentiferum*)、それ以後の優占種としてクリプトモナス(*Cryptomonas ovata*)を選択して培養し、その生産有機物について蛍光検出-ゲルクロマトグラフ法および三次元分光蛍光光度(3-DEEM)法などを用い、その特性を評価すると共に土壌由来腐植物質及び琵琶湖水DOMとの比較を行った。

琵琶湖水中のDOMを蛍光検出-ゲルクロマトグラフ法で測定すると、ピーク1(RT=30min)、ピーク2(RT=32min)及びピーク3(RT=35min)の主に3つのピークが検出され、これらのピークの分子量はそれぞれ5000-10000、3000-5000、3000Da以下に相当する。標準物質として用いた土壌由来フルボ酸のゲルクロマトグラムではピーク1がほとんどで、琵琶湖水のDOMでは高分子量のものに対応する。また、3種類の植物プランクトン、ミクロキスティス、スタウラスツルム及びクリプトモナスの培養時における生産有機物のゲルクロマトグラムでは主にピーク3が検出され、琵琶湖水のDOMでは分子量3000Da以下の比較的分子量のものに対応する。

3-DEEM法では、土壌由来フルボ酸はEx/Em値が320/440nm(ピークA)と240-250/430-440nm(ピークB)の2つのピークが検出され、琵琶湖水のDOMはこれら2つのフルボ酸様蛍光ピークと280/340nmのタンパク質様蛍光ピーク(ピークC)の3つのピークが検出される。ミクロキスティス、スタウラスツルム及びクリプトモナスの培養時のDOMも主に2つのフルボ酸様蛍光ピークと1つのタンパク質様蛍光ピークが検出されるが、スタウラスツルムの蛍光ピークは他の2つの藻類と比較すると小さい。藻類由来DOMは、土壌由来のフルボ酸と同様の蛍光特性をもつが、疎水性である土壌由来のフルボ酸とは異なり主に親水性であった。一方、タンパク質様蛍光物質は疎水性である。また、フルボ酸様蛍光物質は難分解性だが、タンパク質様蛍光物質は易分解性である。

3種類の植物プランクトンについて培養及び生分解時における単位体積あたりの藻類由来DOMの量を比較すると、蛍光強度(RT=35min)及びE260共に、クリプトモナス>ミクロキスティス>スタウラスツルムの順となった。単位体積あたりの藻類由来DOM量は、1985年以降の優占種であるクリプトモナスがそ

れ以前の優占種であるスタウラスツルムより大であることより、1985年以降の琵琶湖に

おける難分解性有機物の増加は植物プランクトン種の変遷による可能性が示唆された。

## 溶存腐植物質の起源と光化学反応性について

滋賀県立大学環境共生システム研究センター 大田啓一

### はじめに

湖沼や河川の水に溶けている溶存腐植物質は溶存有機物の40~70%を占める主要な構成成分であって、微生物による分解を受けにくい、いわゆる難分解性有機物の代表的な自然源化学物質として知られている。

水中の腐植物質は土壌腐植に由来するものと長い間考えられてきたが、最近になって藻類の生分解によっても生成することがわかってきた(Thurman, 1985)。さらにいろいろな試料を使って生分解実験を行ってみると、藻類のみならず水中懸濁粒子も水草も陸上植物も、さらにはグルコースもまた腐植物質を生成することが明らかになった(Nohda *et al.*, 2006)。つまりあらゆる有機物は微生物によって腐植物質へと変換されうると考えてもよさそうである。変換の場は微生物が存分に働ける場所、すなわち土壌中であつたり水中であつたりする。

琵琶湖の水中をみてみると、湖外で生成した腐植物質は大気や水に運ばれて湖水に加わり、また湖底堆積物や水中の藻類あるいは懸濁粒子から生成した腐植物質は水中に拡散して、ともに溶存腐植物質を形成する。これらはいずれもその一部が湖水中で分解・除去され、残余は水とともに流出して、全体として動的な状態をつくりだしている。

本研究は、琵琶湖における溶存腐植物質のこのようなダイナミクスを定量的に明らかにするための一環として実施したものである。

本研究においては、琵琶湖における溶存腐

植物質のソースとシンクの量的関係は(1)式で表されるとした。

$$dC/dt = (F_{riv} + F_{gw} + F_{air} + F_{pro} + F_{sed} + F_{sew}) - (F_{riv}' + F_{gw}' + F_{photo} + F_{bio})$$

(1) ここにおいて、

C: 溶存腐植物質濃度、t: 時間、 $F_{riv}$ : 河川からの流入フラックス、 $F_{gw}$ : 地下水からの流入フラックス、 $F_{air}$ : 大気からの流入フラックス、 $F_{pro}$ : 琵琶湖内部での生成フラックス、 $F_{sed}$ : 堆積物からの供給フラックス、 $F_{sew}$ : 下水処理場からの流入フラックス、 $F_{riv}'$ : 河川への流出フラックス、 $F_{gw}'$ : 地下水への流出フラックス、 $F_{photo}$ : 光分解除去フラックス、 $F_{bio}$ : 生分解除去フラックス

本研究では、これまで情報が乏しかった腐植物質のソースとして湖底堆積物と湖内生成ならびに下水処理施設に、またシンクとしては光分解に注目してフィールド観測と実験を行い、これらの特徴を明らかにした。

### 溶存腐植物質の分析法

腐植物質の定性と定量には高速サイズ排除液体クロマトグラフィー (HPSEC) を用い、方法は Yamada *et al.* (2000) によった。分離カラムには高度架橋アガロースゲルが充填されている Superose12HR 10/300 (内径 10mm、長さ 300cm、排除限界  $1 \times 10^3 \sim 3 \times 10^5$  Da、Amersham Bioscience 社製) を用いた。腐植物質は紫外線吸収と蛍光とで検出し、紫外検

出器では波長を 280nm、分光蛍光検出器では励起波長を 340nm、蛍光波長を 435nm に設定した。

試料注入量は 100  $\mu\text{L}$  とし、移動相として 0.01N 水酸化ナトリウム水溶液を 0.4 mL min<sup>-1</sup> で送液し、カラムオーブンは 30°C 恒温とした。

### 堆積物からの腐植物質の供給フラックス

湖底堆積物間隙水中には溶存腐植物質が高濃度で存在しており、琵琶湖最深部湖水の約 8 倍の濃度であった。また、湖底堆積物間隙水中の溶存腐植物質と最深部の湖水中の溶存腐植物質のクロマトグラムは互いに似ていた。

堆積物コアラーに柱状試料と湖底湖水を閉じ込め、水中の溶存腐植物質濃度を経時的に測定した結果、湖底堆積物から湖水に対して溶存腐植物質が溶出していることがわかった。そのフラックスは実験開始から 32 時間目までは、11mgCm<sup>-2</sup>d<sup>-1</sup> であった。また、実験中に溶出した溶存腐植物質のクロマトグラムは琵琶湖水中の溶存腐植物質のそれに似ていた。

### 琵琶湖懸濁粒子の生分解にともなう腐植物質の生成

琵琶湖水中の懸濁粒子 (POM) のうち、100  $\mu\text{m}$  のプランクトンネットを通過したもので 40  $\mu\text{m}$  のプランクトンネットに捕集されたもの (粒径 40~100  $\mu\text{m}$ ) を暗黒下 20°C で生分解した結果、別途実施した緑藻 (*C. reinhardi*) の生分解実験結果と似た HPSEC の変化およびピークパターンが観察された。

また生分解開始から 90 日目の生分解産物の分子量分布は、琵琶湖水中の溶存腐植物質でよくみられる分子量分布と似ていた。生分解を一次反応として解析して、生分解 (= 腐植生成) 速度定数を求めた結果、0.29 d<sup>-1</sup> であった。

### 琵琶湖周辺下水処理施設からの腐植物質の流入

琵琶湖湖岸には大型の下水処理施設 (図 1 の A-E) が存在する。採水地点 St. 2~St. 5 および下水処理施設 A で得た水試料中の DOC、UV 検出・定量した腐植物質 (HS, UV-based)、蛍光検出・定量した腐植物質 (HS, FL-based) ならびに塩化物イオンの濃度を表 1 に示した。これらの結果から、下水処理施設もまた琵琶湖への腐植物質供給源になっていて、南湖における腐植物質濃度を上昇させていることが示された (Ohta and Kozawa, 2008)。



図 1. 琵琶湖周辺の下水処理施設と採水地点

表 1. 琵琶湖南湖の濃度分布

Site	DOC (mg/L)	HS (mg/L) UVbased	HS (mg/L) FL-based	Cl <sup>-</sup> ( $\mu\text{M}$ )
St. 2	1.17	0.45	0.29	256
St. 3	1.63	0.66	0.43	310
St. 4	2.00	0.77	0.59	432
St. 5	1.69	0.76	0.58	393
Effluent (Plant A)	3.23	5.04	16.7	2280

\* Quantification standard: andosol fulvic acid

### 腐植物質の光化学反応性

溶存腐植物質の光化学反応は一次反応で進行する。北湖水深 30m 湖水中の腐植物質は、積算日射量 10MJ m<sup>-2</sup> (夏の日中約 3 時間の日

射量)までは光分解速度定数は $-0.11\text{ h}^{-1}$ で、 $30\text{MJm}^{-2}$ までは $-0.020\text{h}^{-1}$ であった。下水処理施設Aの放流水と、図2の採水地点St. 2表層水を試料として太陽光を照射した場合の光化学分解反応は一次反応で進行する。両者の半減期の比較から、下水処理施設からの腐植物質はSt. 2の表層水に比べて光反応に極めて敏感なことがわかった。

#### 文献

- Nohda, C., M. Maruo, S. Ban and K. Ohta (2006) *In situ* generation of refractory organic compounds in Lake Biwa, Japan. Proceedings of the Second Japan-Korea Joint Symposium on Limnology (2005, Osaka), 18-23.
- Ohta, K., and K. Kozawa (2008) Humic substances discharged from sewage treatment plants. Verh. Internat. Verein. Limnol. 30 (Aug. 2007, Montreal, Canada) Proceedings. (in press)
- Thurman EM (1985) Organic geochemistry of natural waters. In: Amount of humic substances in water. Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers, Dordrecht, pp 279-287.
- Yamada E, Doi K, Okano K, Fuse Y (2000) Simultaneous determinations of the concentration and molecular weight of humic substances in environmental water by gel chromatography with a fluorescence detector. Anal. Sci. 16:125-129.

## 第2回支部講演会

### 1. 「X線要素技術の動向とX線先端計測の将来」

(株) X線技術研究所 谷口 一雄 氏

### 2. 「生体情報分子の分析と医学の進化」

摂南大学薬学部 吉岡 正則 氏

主催：日本分析化学会近畿支部・近畿分析技術研究懇話会

日時：2008年12月4日(木) 15:00~17:00

2008年12月4日大阪技術センターにて、第二回の支部講演会が開催されました。(株) X線技術研究所 谷口先生には「X線要素技術の動向とX線先端計測の将来」、摂南大学薬学部 吉岡先生には、「生体情報分子の分析と医学の進化」と題してご講演いただきました。谷口、吉岡両先生からこの御講演を元に、ご寄稿いただきましたので、ここに掲載させていただきます。紙面の都合で今号では吉岡先生の講演を掲載いたします。

# 生体情報分子の分析と医学の進化

摂南大学薬学部教授 吉岡正則

## 1. ニンジン (*Daucus carota*, L) 根中のビフィズス因子の構造 (1965-1970)

1965年に、東京大学大学院薬学系修士課程に入ったとき、アメリカ留学から帰られたばかりの元気な田村善藏先生は臨床化学という学問を始めると意気込んでいた。その一環である「ビフィズス菌増殖因子の研究」というテーマを選んだ。しかし、これは難題であった。東京医科歯科大学小児科太田敬三先生らは、母乳栄養児腸管内に生息するビフィズス菌(写真1)は、生後母乳を飲むことにより増殖するが、母乳以外にもリンゴ、バナナまたは人参のジュースでも増殖することを発見した。そこで大量に入手可能な人参からこの増殖因子の分離精製を田村先生は、10年位試みたが精製できなかつたからである。ともかく微量成分であるから、もう一度大量に精製したいと大決心された。第一製薬葛西工場の協力を得て、人参1トンから3年かけて3 mgの粗精製品を得た。その時東大紛争は真最中になり1年間研究は凍結された。この粗製品をデシケーターに入れて医科歯科大学の小児科に避難した。いずれにしる微量ではもう増殖因子の同定は不可能であり、東大は閉鎖されて絶望の淵にあった。



写真1 Photomicrograph of *Bifidobacterium bifidum*

1969年春となり東大の安田講堂が解放さ

れ、大学は再開された。実験を再開した時に、小生の心は長い実存主義の戦いより学問知エピステーメへと脱皮した。微量成分の構造解析の日々から、最後はパンテテインのS-スルホン化体の部分構造を夢にまでみた。図1に示すようにそれを化学的合成により、4'-ホスホパンテテイン-S-スルホン酸と同定出来たのは博士論文提出期限ぎりぎりであった。この頃からビフィズス菌は乳児のみならず成人の健康に有用性が認識され、ビフィズス菌によるヨーグルト製造販売が始まり、今日は何百社の製品がある位普及している。また、抗生物質で微生物が欠損している患者も多いので、処方される頻度の高い薬ともなっている。[1]

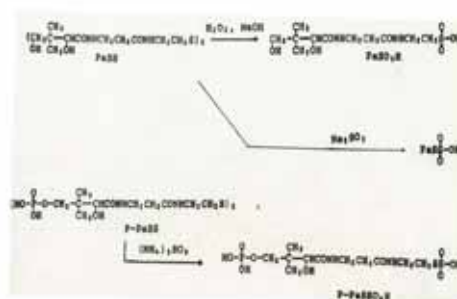


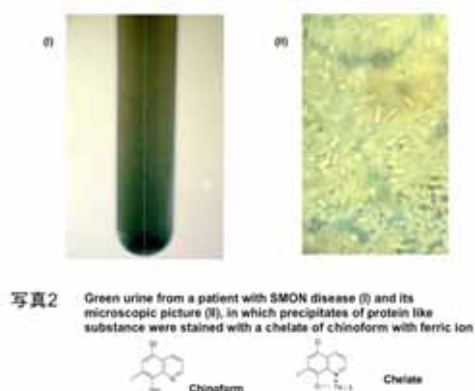
図1 Synthesis of 4'-phospho-pantetheine-S-sulfonate

## 2. スモン病患者の緑色色素の本態 (1970)

1970年4月より職員として残り、それまで奇病とおそれられていたスモン病の研究をすることになった。この患者は初期に下痢を首訴とし、次第に手足の末梢が痺れ、視覚が落ちることなどの原因不明で感染性であり、しかも治療法がないとされていた。腸内細菌の異常ではないかと以前から注目していたこともあり、東京大学医学部附属病院神経内科の井形昭弘先生から懇請された時は、もし



自分が感染したらどうなると尋ねたところ全力で直すからと言われたがそれは全くあてにはならないことでもあった。それまで健康に役立つ医学研究をするためにビフィズス菌の研究をしていたので 病気の研究は自分の気持ちに合わなかった。ところが医者はどんな患者でも全力を尽くすし、患者を見殺しにするような研究者でよいのかと詰問されて 猛省して兎も角やってみますと返事した。患者の緑色の糞便と舌苔が持ち込まれた この中の緑色の化学成分を手がかりにしたいとのことであった。しかし、ニンジン1トンから精製したときのように大量の試料でないと、色素は超微量でも濃く染まるから 100 mL 位の糞便や 10 mg の舌苔では精製しても構造決定は不可能であると考えたが ともかくできるところまでやってみることにした。しかし 精製しても乳児の糞便と違って臭いものしかとれなかった。そこでもし尿があればそちらの方がきれいだからなんとかならないかと全国に手配を頼んだ。6月になり独りの 72 歳の女性患者が緑尿を出しているとの報告がかえり、すぐにその尿を取り寄せた。(写真 2) 500 mL 緑尿からウイルスを死滅させるため 60°C で 30 分加熱した。これから有機溶媒抽出で分離したところ、予想通り緑色素はわずかであった。



ところがヘキササン抽出物に無色の結晶が出た。尿に排泄されるような非極性物質は女性ホルモンしかないので、72 歳ではありえないので手がかりになるかもと考え NMR などで構

造解析しキノホルムを同定した。(写真 2 脚中) これは薬局方にも収載されている戦前から世界中で汎用されている良薬の整腸剤であった。腸管の微生物の鉄分を結合して感染を防ぐことがその作用機構としてあった。しかし、ヒトには腸管から吸収されないと書かれていたのに この患者では吸収され尿に排泄されていた。キノホルムは分析化学の実験で用いられるオキシンの構造をもっているため 鉄と結合すれば緑色になると考え キノホルムに第二鉄イオンを加えて緑色の色素を合成した。(写真 2 脚中) この合成色素は 薄層クロマトグラフィーなどで尿、糞便および舌苔から部分精製した緑色色素と一致した性質を示した。その 1 週間後の 6 月末に厚生省のスモン病の班会議が開かれたときにオブザーバーとして招かれた。全国の錚々たる研究者の発表は主にウイルス説にまとまりかけた。最後に小生らの研究を発表したが、反響はあまりなかったが 出席者の新潟大椿教授が帰り自分の患者のカルテを見直したところ、全てキノホルムを投与して後に重症になることが分かり、1 週間後に新聞は発表した。全国から反響がでて当教室の前教授の石館守三先生が田村教授室に来られた。呼ばれて 2、3 分立ち話で研究報告をしたところ、直ぐにキノホルムは使用禁止にしなければならぬと決断したのは驚いた。それまで石館守三先生が薬事審議会会長であったのは知らなかった。石館守三先生は会議を開き、1 ヶ月もしないうちにその使用を差し止めの通達が厚生省から出させた。正式な学会にも報告していない話で決断したことは本当に英断であった。その一ヶ月後には、毎年数千人の患者が出ていたのがぱったり止まったということが、すでに 8 月の終わりにアメリカのエール大学医学部に留学していた小生に届いた。石館守三先生がビタカンファーの研究をして育てた武田薬品工業が 3 つの巨大製造会社の一つであった。しかし、武田はすぐに非を認めて巨大

な損害賠償をしたそうだ。この苦い経験から学び、国際的な大会社に発展するまでは大変であったと推察している。薬害と言う言葉がこの事件から始まった。それまでは西洋薬は本当に神様のように有効と考えられていた。戦後の日本の文明の事件としては 3 つの緑が関係するといわれる中の一つがスモン病の緑尿である。他は、碧素といわれたペニシリンと新幹線のコンピューターネットワークされた緑の窓口である。またこれにより、臨床化学の学問も大いに認められた。[2]

### 3. 免疫グロブリンの抗原決定部位の光化学的アフィニティラベル(1970-1972)

9 月から分子生物学研究室で研究することになった Konigsberg 教授は 後にノーベル賞を受賞した Edelman らと免疫グロブリンの一次構造を 1969 年に共同で決めた。この一次構造の抗原決定部位はどこにあるかを定める方法として、光化学的親和標識法の開発と部位の決定がテーマとなった。2,4-ジニトロフェニル基を認識する免疫グロブリンが見いだされたので、その基を有する 2 種の光反応性の誘導体を作ることを考えろというプロジェクトであった。1 ヶ月ほど図書館でいろいろ調べ、2,4-ジニトロフェニルアジドが簡単に合成できると考えついたので 放射性同位体の 2,4-ジニトロフルオロベンゼンから暗闇の中で合成した。これらの誘導体は特異的に抗体と結合して、光照射により抗原決定部位を標識できた。標識タンパクを部分加水分解して、標識ペプチドの決定をすることができた。抗体の N 端部位の重鎖と軽鎖に抗原決定部位があることが証明された。[3]

### 4. カテコールアミン系情報受容機構の分析 (1972-)

1972 年の 11 月にまた東大薬学部田村善藏先生のもとに帰り、研究テーマとして交感神経伝達物質やホルモンとして働いているカ

テコールアミン系情報受容機構の研究をすることになった。帰る直前にカテコールアミンの代謝系を確立してその年にノーベル賞を受賞した Axelrod の講演を聞いたばかりだったので研究の出発原理としてはやり易かった。(図 2)



図2 Metabolism of catecholamines to their acidic metabolites

まず不安定なカテコールアミンを高感度に測定する方法として、カテコールアミンのイムノアッセイを開発することにした。これは大変難しい研究となり大変な年月をかけて、各カテコールアミンと代謝物の抗体をつくりイムノアッセイすることに成功した。小児神経癌の診断のための酸性代謝物のバニルマンデル酸 (VMA) とホモバニリン酸 (HVA) のイムノアッセイをヤマサ醤油と開発したときに ブラジルの国際学会で発表した。マススクリーニングを開発した Guthrie が発表をみて、これはよいから直ぐにアメリカの病院で試験しろと勧告してくれた。数ヶ月間 3 つの施設で実施して 有効となり Food and Drug Administration から、日本から戦後初めての診断薬として認可された。このキットは国際的に市販されている。ところが癌の早期診断の会議に出ている時に、1 g のどんな癌組織からであれ分泌される物質、いわゆるバイオマーカーを血液から検出不可能と言う意見がでた。これにはショックを受けた。さらに後年カテコールアミン代謝物のマススクリーニングを国として 10 年位実施しても、小児神経癌の死亡率があまり変化していないという内外の批判がで

た。このことから迷い後で述べるエジプトの癌研究所に行くきっかけになった。[4]

また、カテコールアミンレセプターの光化学的親和標識法を開発した。カテコールアミン自身を標識体とし使う方法である。(図3)

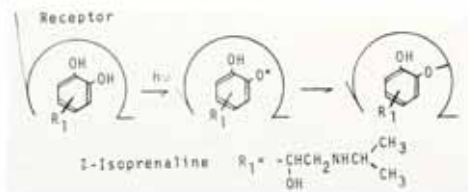


図3 Photoaffinity labeling of  $\beta$ -receptor to catecholamine

カテコールアミンは光によりセミキノラジカルを生成することを ESR で証明し、薬理学教室の高柳一成先生と共同してモルモットの盲腸紐の  $\beta$  レセプターを標識することができ、カテコールアミンレセプターにも剰余レセプターがあることを証明した。この剰余レセプターにはもっと重要な意味があることが今分かりかけている。

カテコールアミン情報受容系アデニル酸シクラーゼの測定のために ATP や cAMP などのアデニン類の高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を開発した。蛍光試薬としてプロモアセトアルデヒドを合成し、アデニン類と反応した後、発達し始めていた高速液体クロマトグラフィー (HPLC) で分離した。この方法による分析機器はあまり普及しなかったが検出器として Jasco の宮崎直社長と日曜日ごとに研究して共同で作った検出用分光蛍光計がよく売れ今日に至っている。また、日立計測と共同で開発した分離用の日立ゲルカラムも今日まで国際的に売れているようだ。[5]

## 5. アセチルコリン系情報受容機構の分析 (1980-)

交感神経系の研究しているときに、東京都

神経科学研究所の出口武夫先生が訪ねてこられて、痴呆に関与する脳内のムスカリン性アセチルコリン系情報受容体機構の内因性活性化因子の共同研究を頼まれた。(図4)

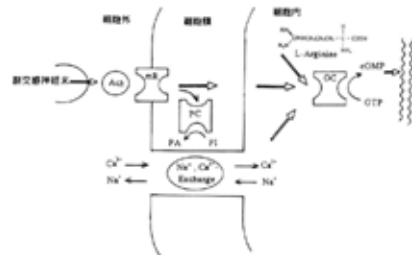


図4 Muscarinic receptor (Mr) to acetylcholine (ACh) activates soluble guanylate cyclase (GC) with phospholipase (PC) by changing of phosphatidylinositol (PI) into phosphatidic acid (PA)

アセチルコリンがレセプターに作用して、細胞内可溶性のグアニル酸シクラーゼの不安定な内因性活性化因子がラット脳内にあるが、本態が世界中で研究されているが不明であるとのことである。しかし、これも難題であったが引き受けた。ラット脳の酵素活性を加熱により止めると 予想通り安定に活性が残った。そこから精製可能と分かり、種々のクロマトグラフィーで数 mg の精製品が得られた。その当時としては日本で最高の分解能の NMR をかりて分析したところ簡単に L-アルギニンであると分かった。(図5)

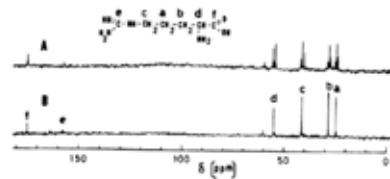


図5  $^{13}\text{C}$ -NMR Spectra of activator purified and identified as L-arginine

直ぐに米国の論文に投稿して受理された。国際的に大反響をうけ、英国の Moncada が L-アルギニンから NO が生成することを証明した。小生たちの酵素活性の測定は分単位であったので L-アルギニン自身が活性化して

いると結論していたが、それはまちがって  
いて数ミリ秒での測定で NO に変わっていたの  
であった。この NO が血管弛緩因子であるこ  
とを Furchgot, Murad および Ignaro らが決  
めて、ノーベル賞を受賞した。そして NO の  
研究は臨床的にも基礎的にも大発展したこ  
とは周知のことである。その中でもバイアグ  
ラのような薬も開発され 痴呆の研究から  
思いもよらない進化を続けている。[6]

## 6. グルタミン酸系情報受容機構の分析 (1982-)

このような構造研究に 2 匹目のドジョウ  
がいるのではと、同じ東京都神経科学研究所  
の川合述史先生が、グルタミン酸神経系の研  
究が遅れている原因は特異的レセプターの  
阻害剤がないためと考えていた。女郎蜘蛛の  
網にかかった獲物を噛んで麻痺させるもの  
があることを発見した。昆虫の運動神経系は  
グルタミン酸神経系であるので、ここに重要  
に阻害剤があると推定して、伊勢エビの伸張  
筋で興奮性神経電位の測定により確認した。  
この阻害剤は何かと訪ねてきた。前と同じ  
く阻害剤の安定性実験を重ね精製可能では  
あるが、量が少ないことが分かったので 1 万  
匹以上のクモを集めたら研究すると約束し  
た。ところが半年位して本当に集めて来た。  
1  $\mu$ L 毒腺が一匹あたり 2 個しかないのをこれ  
を取り出して集めて来たので大変な労力で  
あった。その構造決定は大変難しく、ソ連の  
研究者との激しい originality 争いになった  
ので、東大薬学部の中嶋暉躬教授との共同で  
JJSTX3 などの構造を何とか決めた。その後、  
Clavamine, Spidamine および Joramine など  
のより昆虫に有効な毒を見つけた。(図 6)  
特に Clavamine や Spidamine はドイツゴキブ  
リの歩行を停止して、見かけ状安楽死してい  
るように歩脚がやわらかかった。[7]



図6 Spider toxins identified from venoms of spiders belonging to Argiopidae

## 7. 癌の診断、予後のバイオマーカーの分析 (1979-)

癌の化学的早期診断で絶望しているとき  
東大百周年記念行事で海外派遣の募集があ  
り、エジプトへの派遣が認められた。あまり  
期待していなかったのがカイロ大学  
癌研究所の El-Merzabani 教授のところに遊  
びにいったところ、エジプト人癌患者は皆末  
期状態で膀胱癌や乳癌などから 1 kg 以上の  
巨大な癌を摘出していた。さすが 5 億人にも  
なるミイラ作りの伝統が生きてこんな大変  
難しい外科手術をするものだと驚いた。こん  
な大きな癌を摘出すれば化学療法をしてい  
ると血液中癌細胞が崩壊してだす核酸代謝  
物の変化は大きいのではないかと、中でも核  
酸代謝物で主として存在するアデニン類は絶  
好のバイオマーカーになるのではと考えた。

100 例ほどの乳癌患者の血液を集め、大学  
院生を摂南大学薬学部に派遣してもらった。  
しかし、先ほど開発したアデニン類の HPLC  
ではアデニン類以外の核酸代謝物が増えて  
いた。これを 2' -deoxyCytidine (dCyd) と同  
定した。dCyd が増えている患者は予後が悪く  
殆ど死んでいたが、正常では予後がよくなり  
化学療法が成功していた。(図 7)

dCyd のイムノアッセイキットを長い年月  
をかけて開発し、他の癌の診断に応用したと  
ころ 急性白血病、膀胱癌、肝臓癌でもよい  
バイオマーカーになることが分かった。[8]  
その細胞内での役目に関して目下検討中  
であるが、癌細胞の増殖を *in vitro* でも *in*

*vivo* 抑制傾向がある。つまり患者自身から内因性に dCyd が分泌され癌の自然治癒機構に関与していることが伺える。

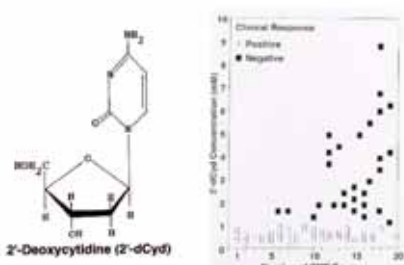


図7 2'-dCyd levels in bloods of individual breast cancer patients under chemotherapy

## 8. アミロイドーシスのタンパク沈殿機構の解明 (2000-)

病気は進化し、その解決の歴史は繰り返すようだ。最近になり三十数年振りに S-スルホン化の反応が、甲状腺ホルモンやビタミン A の輸送に関与している蛋白質トランスサイレチンに起ることを偶然に見いだした。これまで我々はトランスサイレチンのシステイン残基 (N-10) が S-スルホン化体を亜硫酸酸化酵素またはモリブデンコファクター欠損症患者の血液から HPLC-MS により見いだした。また、トランスサイレチンが緩和な条件でゆっくりと酸化して S-スルホン化体となり、分解しながら沈殿することを確認した。(図 8)

S-スルホン化体はコンゴレッド染色性となり、フィブリル化することからアミロイドーシスの重要な反応と推定した。痴呆などのアミロイドーシスの引き金は、この蛋白質のシステイン残基の S-スルホン化による沈殿であった。[9] ひょっとしてこのような沈殿開始は共食いが病因となるプリオン病などの病気にも共通の原因かもしれない思っている。なぜなら乳児は、母乳という母親の生体成分をタブーの共食いをしなければならぬ。ビフィズス菌は共食いの害を防ぐ情報因子としての働きをしているのではないかと研究している。また、1970 年に感染を危

惧しながら研究しキノホルムが病因となっていると解決したスモン病も、最近痴呆患者の治療にキノホルムが有効ということになり再検討しなければならなくなった。痴呆のアミロイドーシスと S-スルホン化が関連していたことに驚き、目下真実追求の研究をしている。

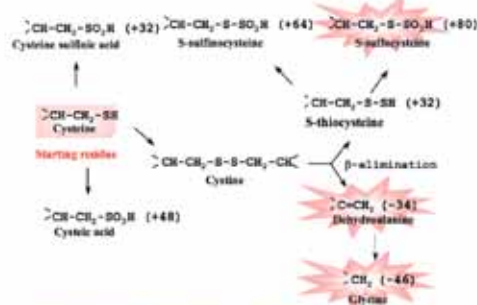


図8 Degradation pathway of cysteine residue during incubation.

以上のように、生体情報は身体という時空の中で網の目のようにつながっているようであるのが今の実感である。

## 8. 参考文献

- [1] M. Yoshioka, Z. Tamura. Bifidus factors in carrot. The structure of the factor in fraction IV. *Chem. Pharm. Bull.*, 19(1), 178-185, 1971.
- [2] 吉岡正則、田村善藏. SMON 患者の緑色色素の本態. *医学のあゆみ*, 74(7), 320-322, 1970.
- [3] M. Yoshioka, J. Lifter, C. -L. Hew, C. A. Converse, M. Y. K. Armstrong, W. H. Konigsberg, F. F. Richards. Studies on the combining region of protein 460, a mouse immunoglobulin A which binds several haptens. Binding and reactivity of two types of photoaffinity labeling reagents. *Biochemistry*, 12(23), 4679-4685, 1973.
- [4] 吉岡正則、黒田真美、横森欣司. 神経芽細胞腫の EIA 診断. *Lab. Clin. Pract.*, 12(2), 112-116, 1994.
- [5] 吉岡正則、田村善藏. カテコールアミンによる刺激伝達の化学的アプローチ. 生体

における情報受容機構 (須田正己、中川八郎編、蛋白質核酸酵素別冊)、42-51、1977.

[6] 吉岡正則. 病理学領域における NO と ROS. 臨床化学、32 (1)、67-72、2003

[7] 吉岡正則. ジョロウグモトキシンの多様性. 薬学雑誌、117(10/11)、700-714、1997.

[8] W. A. Ahmed, M. Moneer, M. M.

Abo-Shady, H. H. Mansour, N. Abd-El-Wahab,

M. Yoshioka, M. El-Merzabani.

2'-Deoxycytidine as a potential biomarker for detection of hepatocellular carcinoma. *Egypt. J. Hospital Med.*, 21, 191-201, 2005.

[9] 吉岡正則、中西豊文. トランスサイレチンの酸化的沈殿反応—アミロイドーシス解明の糸口. 臨床病理、56 (5)、425-431、2008.

\*\*\*\*\* 日本分析化学会近畿支部 \*\*\*\*\*

あとがき：今回も講演者の皆様から寄稿いただきました。お忙しい中ありがとうございました。今号で編集の任を終え、大阪教育大学の久保埜先生にバトンタッチします。今後も皆様のご協力をお願いいたします。これまで原稿をお寄せくださった皆様ありがとうございました。次号以降もさらにより紙面にするため、皆様のご意見・ご要望・ご原稿をお待ちしています。(高橋 弘樹)