
円偏光アンジュレーターと外部磁場による
アミノ酸の光不斉化反応の研究

研究課題番号 13640593

平成 13 年度～平成 14 年度 科学研究費補助金

(基盤研究(C)(2))

研究成果報告書

平成 16 年 3 月

研究代表者 平谷 篤也

(広島大学大学院理学研究科)

はしがき

地球上の生体アミノ酸はすべてL型である、すなわち左右対称性が破れていることの起源については生命の起源とも関連する謎として多くの議論がなされてきた。太陽系創生当時に形成されたマーチソン隕石にL型が数 10%過剰のアミノ酸が確認され、左右の非対称性を持つ生体分子の起源が宇宙であることを示唆された。このような、宇宙での生体分子の「左右対称性の破れ」をもたらす原因としては、電波からX線までの強力な電磁波源であるパルサーからの円偏光が有力な候補として提案されている。一方、重要な疑問点として「パルサー自転面の上方と下方では円偏光の向きは逆になるため、反対のキラリティーの不斉化反応が起き、全体としては左右対称性の破れは生じない」という空間の等方性に基づく議論と「光不斉化反応はわずかに異なるD体とL体の吸収帯のどちらか一方が励起される単色円偏光でのみ可能であり、宇宙における単色化機構の根拠がない」という批判がある。

本研究は、パルサー近傍での円偏光発生機構と不可分となっている強力な磁場環境という「軸性ベクトル空間の異方性」と宇宙空間に存在する他の分子の吸収による「単色化」を考慮に入れたアミノ酸や有機分子の不斉化反応に関する実験的な研究によって、自然界におけるアミノ酸の左右対称性の破れが宇宙の円偏光放射光によるものであることを示すことを目的とした。

本研究を進めるにあたって、光不斉化実験に用いる紫外から真空紫外領域の円偏光光源となる円偏光アンジュレーター（広島大学放射光科学研究センター）の円偏光度測定、光不斉化反応で生成する複数種類のアミノ酸をD体とL体を分離して高感度検出するためのHPLC（高速液体クロマトグラフ）装置の高性能化などを、円偏光による光異性化反応実験に先立って行なった。また、宇宙物理学において未だ詳細が知られていないパルサー近傍での円偏光放射光発生機構について、放射光科学の立場からの解明も試みた。

円偏光放射光光源を用いた光不斉化反応実験に先立って実験室光源を用いて行なった実験から、簡単な有機分子からアミノ酸が生成する過程には、紫外線照射でアミノ酸が直接生成する直接的過程と紫外線照射で高分子量のアミノ酸前駆体が生成し加水分解によってアミノ酸が生成される間接的過程が存在し、2つの過程の割合は出

発物質である有機分子の種類やアンモニアの有無に大きく依存することが明らかとなった。間接的過程で生成するアミノ酸前駆体については高分解能質量分析法による同定を試み、2つ以上のアミノ酸が結合したペプチドや含窒素複合環原子が生成していることを明らかとした。

本研究を進めるにあたっては多くの方々のご協力を得た。研究分担者をはじめ、熱心に装置の立上げや実験に取り組んでくれた研究室の学生諸君(森田正樹、白澤克年、荒武正幸、井関邦弘、玉置広和、荒野崇、岡田宗久、原田佳枝)に感謝の意を表す。また、高速液体クロマトグラフについてご指導だけでなく、その他の実験装置についてもご協力いただいた数理分子生命理学専攻の月向邦彦教授、高分解能質量分析についてご指導をいただいた数理分子生命理学専攻の泉俊輔助教授に感謝の意を表す。

研究課題

「円偏光アンジュレーターと外部磁場によるアミノ酸の光不斉化反応の研究」

課題番号

1 3 6 4 0 5 9 3

研究組織

研究代表者： 平谷 篤也 （広島大学大学院理学研究科・教授）

研究分担者： 吉田 啓晃 （広島大学大学院理学研究科・助手）

研究経費

交付決定額（配分額）

（金額単位：千円）

	直接経費	間接経費	合計
平成13年度	3,000	0	3,000
平成14年度	500	0	500
総計	3,500	0	3,500

研究発表

(1) 学会誌等

1. “HiSOR multimode undulator as a circularly polarized light source”
G.V. Rybalchenko, N.V. Smolyakov, K. Shirasawa, M. Morita, and A. Hiraya
Problems of Atomic Science and Technology, **1**(1), 96 - 101 (2001)
2. “Performance and future plan of multimode undulator at HiSOR”
G.V. Rybalchenko, K. Shirasawa, M. Morita, N.V. Smolyakov, K. Goto, T. Matsui, and A. Hiraya
Nucl. Instr. and Meth. A, **467-468**(1), 173-176, (2001)
3. “Observation of circularly polarized radiation from multimode undulator at HiSOR”
G.V. Rybalchenko, M. Morita, K. Shirasawa, N.V. Smolyakov, K. Goto, and A. Hiraya
Problems of Atomic Science and Technology, **1**(1), 102 - 106 (2001)
4. “3 m off-plane Eagle monochromator at the helical undulator beamline of HiSOR”
T. Matsui, H. Sato, K. Shimada, M. Arita, S. Senba, H. Yoshida, K. Shirasawa, M. Morita, A. Hiraya, H. Namatame, and M. Taniguchi
Nucl. Instr. and Meth. A, **467-468**, 537-540, (2001)
5. “Edge radiation as IR-UV source”
K. Shirasawa, N.V. Smolyakov, A. Hiraya, T. Muneyoshi
Nucl. Instr. and Meth. B, **199**, 526-530, (2003)
6. “Asymmetric photosynthesis and photoreaction by using helical undulator radiation”
A. Hiraya, K. Gekko, N.V. Smolyakov, H. Yoshida, G. Rybalchenko, K. Shirasawa, T. Suzuki, T. Muneyoshi, M. Morita, and M. Aratake
HiSOR Activity Report, **2000-2001**, 76-77 (2002)
7. “Application of Helical Undulator Radiation for Asymmetric Photochemistry”
M. Morita, K. Takahashi, K. Iseki, and A. Hiraya
UVSOR Activity Report, **2002**, 229 (2003)

8. "Optimization of asymmetric figure-8 undulator as circularly polarized light source"
K. Shirasawa, A. Hiraya, T. Tanaka, and H. Kitamura
Phys. Rev. ST-AB, 7(020702), 1-5, (2004)

(2) 学会発表等

- 1 . 「軟X線による有機分子の状態選択的解離過程」, 依頼講演
平谷篤也
日本化学会中国四国支部・同九州支部合同大会, 松江 (2 0 0 1)
- 2 . 「軟X線偏光制御アンジュレーター」
白澤克年, 田中隆次, 清家貴光, 北村英男
第16日本放射光学会年会・合同シンポジウム, 姫路 (2 0 0 3)
- 3 . 「有機分子水溶液への紫外線照射によるアミノ酸の生成過程」
森田正樹, 荒武正幸, 玉置広和, 井関邦弘, 平谷篤也
第19回化学反応討論会, 仙台 (2 0 0 3)
- 4 . 「有機分子水溶液への紫外線照射による生成アミノ酸の反応分子依存性」
玉置広和, 森田正樹, 荒武正幸, 井関邦弘, 平谷篤也
第19回化学反応討論会, 仙台 (2 0 0 3)

研究 成 果

1 . はじめに

炭素原子が4つの異なる原子や分子団と結合している場合、右手と左手の関係にある鏡像異性体が存在し、そのような炭素をもつ分子を不斉分子と言う。アミノ酸の多くは不斉分子であり、鏡像異性体のL体とD体が存在する。実験室でアミノ酸を合成した場合はL体とD体が等量生成するが、地球上の天然アミノ酸はすべてL体である。このようなアミノ酸のホモキラリティーをもたらした起源は生命の起源とも関連する謎として、多くの議論がなされてきた。太陽系創生当時に形成されたマーチソン隕石にL体が数10%過剰のアミノ酸が確認され、左右の非対称性を持つ生体分子の起源が宇宙であることを示唆された。このような、宇宙での生体分子の「左右対称性の破れ」をもたらす原因としては、電波からX線までの強力な電磁波源であり、既に100個近くが知られているパルサーからの円偏光が最も有力な候補として提案されている。一方、重要な疑問点として「パルサー自転の上方と下方では円偏光の向きは逆になるため、反対のキラリティーの不斉化反応が起き、全体としては左右対称性の破れは生じない」という空間の等方性に基づく議論と「光不斉化反応はわずかに異なるD体とL体の吸収帯のどちらか一方が励起される単色円偏光でのみ可能であり、宇宙における単色化機構の根拠がない」という批判がある。また、仮に宇宙に円偏光光源があったとしても、どのような過程でL体過剰のアミノ酸が生成されたのかについては、全く解明されていない。また、これまでの光照射によるアミノ酸生成に関する研究では、宇宙空間での存在量が多いという点からメタンやアンモニアなど簡単な分子を出発分子系としたものが多いが、不斉を持つ分子の形成過程において重要なステップとなると考えられる数個の炭素原子と官能基を持つ有機分子を出発分子とした研究はなされていない。

本研究の目的は、パルサー近傍での円偏光発生機構と不可分となっている強力な磁場環境という「軸性ベクトル空間の異方性」に着目し、円偏光と磁場が共存する場合の光不斉化反応に関する新たな実験的知見を得ることである。特に、宇宙空間での存在が確認されている簡単な有機分子を出発分子とする、紫外線照射によるアミノ酸の不斉合成過程に関する研究に重点を置いた。そのために、紫外線領域の波長可変の円偏光光源であるヘリカルアンジュレーターの評価実験、パルサー近傍での円偏光発生機構の理論的研究、D体とL体を分離した複数アミノ酸の同時高感度検出法の確立を行ない。紫外線照射によるアミノ酸やアミノ酸前駆体の生成過程、アミノ酸前駆体の構造、反応有機分子と生成アミノ酸の相関などに関する知見を得た。

2 . H i S O R の円偏光アンジュレーター

放射光は光速に近い速度を持つ相対論的電子が磁場によって進行方向と直角に加速される時、軌道の接線方向に放出される電磁波である。シンクロトロン電子蓄積リングの偏向電磁石部での円軌道から放出される放射光は軌道平面内では直線偏光であるが、軌道平面外の放射は楕円偏光となるため、円偏光光源として利用することができる。円軌道を与える一様な磁場ではなく、周期的な磁場を与えるアンジュレーター光源も利用されている。アンジュレーター光源は指向性の高い強力な光源であり、リニアアンジュレーターは電子を蛇行運動させることにより直線偏光を、ヘリカルアンジュレーターは電子をらせん運動させることにより円偏光を発生する。特にヘリカルアンジュレーターは磁場強度を変えることによって波長が可変の準単色光である。広島大学放射光科学研究センターにはリニアアンジュレーターとヘリカルアンジュレーターとして利用できるマルチモードアンジュレーターが設置されている。本研究では、このマルチモードアンジュレーターのヘリカルアンジュレーターモードで発生する紫外から真空紫外領域の円偏光を光不斉化反応の光源として利用するために、円偏光度と波長分布、強度の測定を行なった

測定はマルチモードアンジュレーターが設置されている B L 9 で行ない、円偏光度は分光しない場合と分光器で分光した後について行なった。いずれの場合でも、250 nm から 280 nm で 97% 以上の円偏光度が得られた。図 1 - 1 に、分光した後の円偏光度と相対強度分布を示した。強度分布のエネルギー巾は準単色のアンジュレーター 1 次光のエネルギー巾であり、波長巾としては 18 nm である。また、分光器で分光した後の光強度としては 280 nm で 2×10^{12} 光子/秒という値が得られ、分光せずに直接照射する場合には、さらに 2 桁高い強度が得られる。以上から、HiSOR のヘリカルアンジュレーターは紫外・真空紫外領域で有機分子の電子状態を分けた照射実験に必要とされる高い性能を有する光源であることを示した。

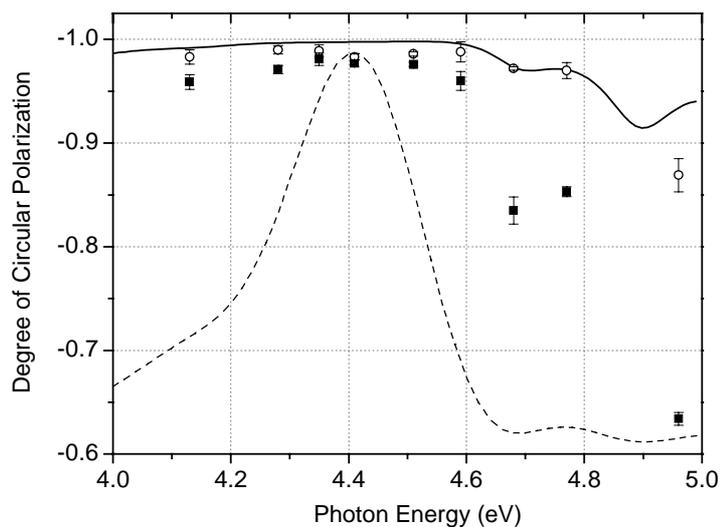


図 1 - 1 . HiSOR ヘリカルアンジュレーター光源の円偏光度。黒点：実測値、白丸：補正後実測値、実線：理論値、点線：強度分布

3 . パルサー近傍で発生する放射光の偏光特性

自然界に存在する最も強力な光源としては、電波からX線までの広いエネルギー範囲の電磁波を周期的に放出するパルサーが知られている。パルサーは強力な磁場を持ち、高速で回転する中性子星であり、観測された電磁波のエネルギー分布から、光速近くまで加速された電子が磁場によって軌道が曲げられることによって発生する放射光も含まれていることがわかっている。円軌道を描く電子から発生する放射光は軌道面内では直線偏光であるが、軌道面外では円偏光となる。このことから、パルサーの回転面内を運動する荷電粒子から発生する円偏光が生体アミノ酸のホモキラリティーの原因として提案されている。また、宇宙での放射光は宇宙物理学の立場からも数多く取り上げられている。しかし、ホモキラリティーの起源や宇宙物理学で想定されている放射光は円軌道放射のみである。一方、荷電粒子から発生する放射光としては蛇行軌道やらせん軌道から発生するアンジュレーター光があり、干渉によって準単色で指向性の高い光源となることから、最近の放射光実験施設での光源としてはアンジュレーターが主流となっている。宇宙物理学でもアンジュレーター光源からの放射光を考慮に入れた研究はなされていない。

パルサー近傍には、強力な磁場と高速で回転する磁場が誘起する強力な電場が存在する。このような強力な電場と磁場の存在下では、荷電粒子は強い磁力線に沿ったらせん軌道を描きながらほぼ光速まで加速され、高い指向性と円偏光度を持つ円偏光アンジュレーター光を放射することが予測される。

本研究では、相対論的な遅延効果を考慮に入れたパルサー近傍での磁場分布とその回転によって誘起される電場を求め、その電磁場の中で運動する荷電粒子(電子、陽電子)の軌道を計算するプログラムを作成した。得られた電子の軌道はパルサー近傍球面上の特殊な点を除き、すべてらせん軌道となることを確認した。さらに、らせん軌道の周期、ピッチ角、楕円率と荷電粒子のローレンツ因子を軌道の各点で求めることにより、放出される円偏光アンジュレーター光のエネルギーと円偏光度を決定した。典型的なパルサーの磁場強度と回転周期を用いて、パルサー磁極近傍で発生する円偏光アンジュレーター光の方向、エネルギー、円偏光度を荷電粒子の発生位置に対して求めることにより、パルサー磁極を取り巻く円周上の半円部からは外向きに指向性が高く、光子エネルギーが数keVまで達する円偏光が発生しているという結論を得た。また、N極とS極では円偏光の回転方向が逆転していること、パルサーの外に向かうアンジュレーター光については電子と陽電子から発生する円偏光の回転方向は同じであることを確認した。

4 . 実験装置

高速液体クロマトグラフ (HPLC)

光化学反応によって生成するアミノ酸の種類と生成量を決定するためのアミノ酸分析器としては、混合物を含む液体移動相を固定相カラムに通し、混合物の中から個々の成分を分離する高速液体クロマトグラフ(HPLC)を用いた。アミノ酸分析手法としては、気体を移動相とするガスクロマトグラフィー(GC)が挙げられる。しかし、GC の場合は試料を気化することが必要となるため、熱を加えるか揮発性を高めるための置換基導入が必要となる。アミノ酸の場合には熱による分解を引き起こす可能性があり、定量的な分析が困難になる。一方 HPLC は、試料を分解させることがないため定量性に優れている。

HPLC法では、移動相および固定相を変えることによって、様々な HPLC 技術(イオン交換 HPLC・逆相 HPLC など)を利用でき、試料および目的に応じた手法を選択できる。また、移動相の混合比を時間とともに変化させるグラジエント法を併用することにより、優れた分離を行なうことができる。

固定相カラムとの相互作用の違いにより、カラムからの流出時間の違いとして分離された各成分の検出には、紫外線吸収を用いるUV検出器や紫外線励起による蛍光を用いる蛍光検出器などが用いられる。いずれの検出法も、紫外領域に吸収をもつ分子にのみ適用可能な方法であるが、蛍光検出法の方が検出限界濃度が低く、敏感な検出法である。アミノ酸では、ベンゼン環など紫外部に吸収のある官能基を持つフェニルアラニンなど以外は、そのままではどちらの検出法も適用できない。そのため本研究では、アミノ酸との反応性が高く蛍光性をもつ蛍光試薬を試料に添加し、アミノ酸を蛍光修飾した上で、検出感度の高い蛍光法で検出した。

本研究では、円偏光照射によるラセミ体アミノ酸からの不斉分解やアキラルな出発分子系からの不斉合成によって生成するアミノ酸のL体とD体の比率が重要な因子である。L体とD体を分離して検出する方法としては、L体とD体で相互作用の大きさが異なるキラルな表面を持つ光学分割カラムを用いる方法が最も一般的である。光学分割カラムを用いてアミノ酸を蛍光修飾して検出する場合には、L体とD体のキラルな表面との相互作用の違いを保存したまま固定相カラムを流下させ、流出後に蛍光修飾剤と反応させるポストカラム修飾法が用いられる。本研究では、光学分割カラムとポストカラム修飾蛍光検出を組み合わせることによって、一種類のアミノ酸だけが含まれている場合の検出限界モル数は 10^{-14} molを達成し、D体とL体の比率を1%以下の誤差で定量的に求められる限界モル数としては 10^{-11} molを達成できた。しかし、光学分割カラムの異なるアミノ酸に対する

分離能は十分ではなく、特にグリシン、アラニン、バリンなど低分子量のアミノ酸の混合試料ではグリシンと L-アラニン、D-アラニンと D-バリンが重なり、分離できないことが判明した。このため、より分離能の高い逆相カラムを用いた検出手法を開発した。

逆相カラムは親水性の小さい充填剤を固定相とするもので、親水性が小さい分子ほどカラム内の保持時間が長い。逆相カラム自体には光学分割機能は無いが、D 体と L 体が混合したアミノ酸試料をカラム注入前に不斉な蛍光修飾剤と反応させるプリカラム修飾法で形成された L 蛍光剤+D アミノ酸、L 蛍光剤+L アミノ酸という 2 つのジアステレオマーが立体構造などによりカラムとの相互作用が異なることから、D 体アミノ酸と L 体アミノ酸を分離して検出することが可能となる。蛍光修飾剤を不斉化するための不斉分子をジアステレオマー誘導体という。本研究ではジアステレオマー誘導体として N-アセチル-L-システイン(NALC)、蛍光修飾剤としてオルトフタルアルデヒド(OPA)を用いた。それぞれの分子の構造およびアミノ酸と反応したジアステレオマーの構造を図 4 - 1 に示した。

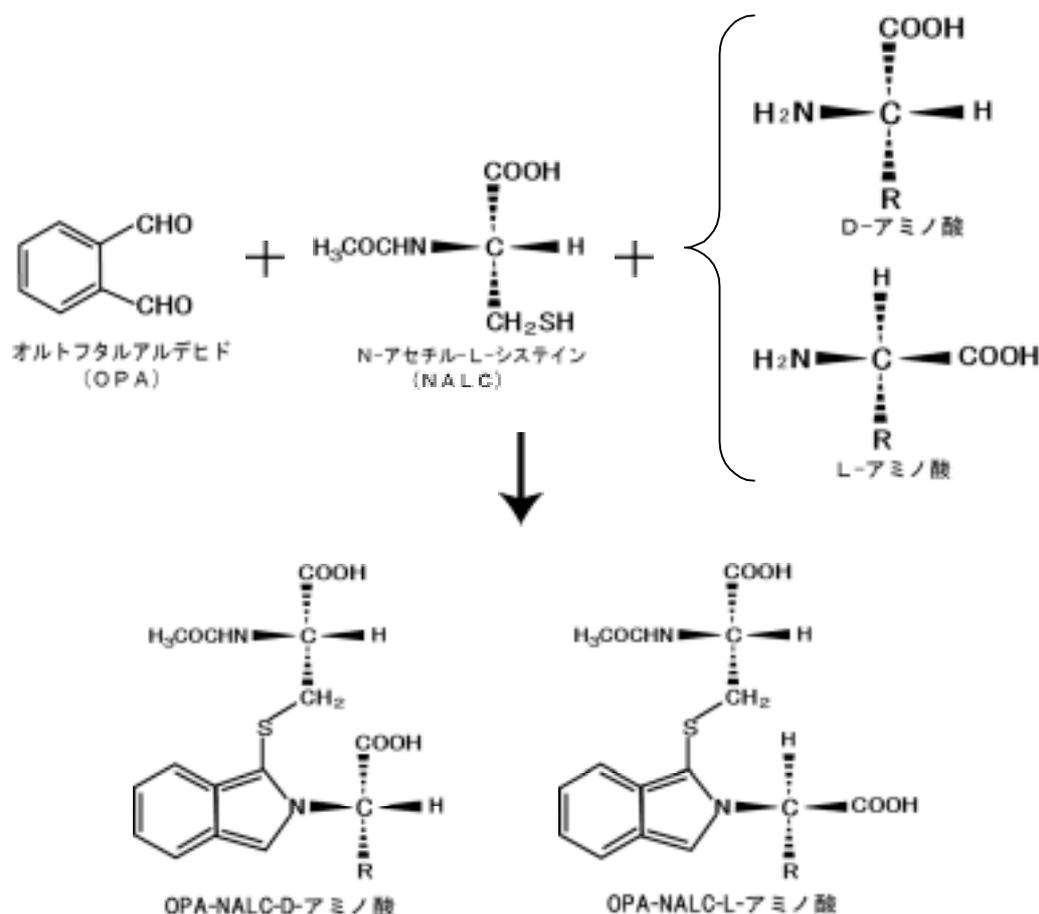


図 4 - 1 . ジアステレオマー誘導体化

L 体の蛍光誘導体(Lf)と L 体アミノ酸(La)、D 体アミノ酸(Da)の反応で生成するジアステレオマーの Lf-La 体と Lf-Da 体は立体構造が異なるため、両者の親水性にわずかな差異が生じ、光学的には不活性な逆相カラムを用いて L アミノ酸と D アミノ酸を分離することが可能となる。図 4 - 2 に本研究で使用した H P L C 装置概念図を示す。

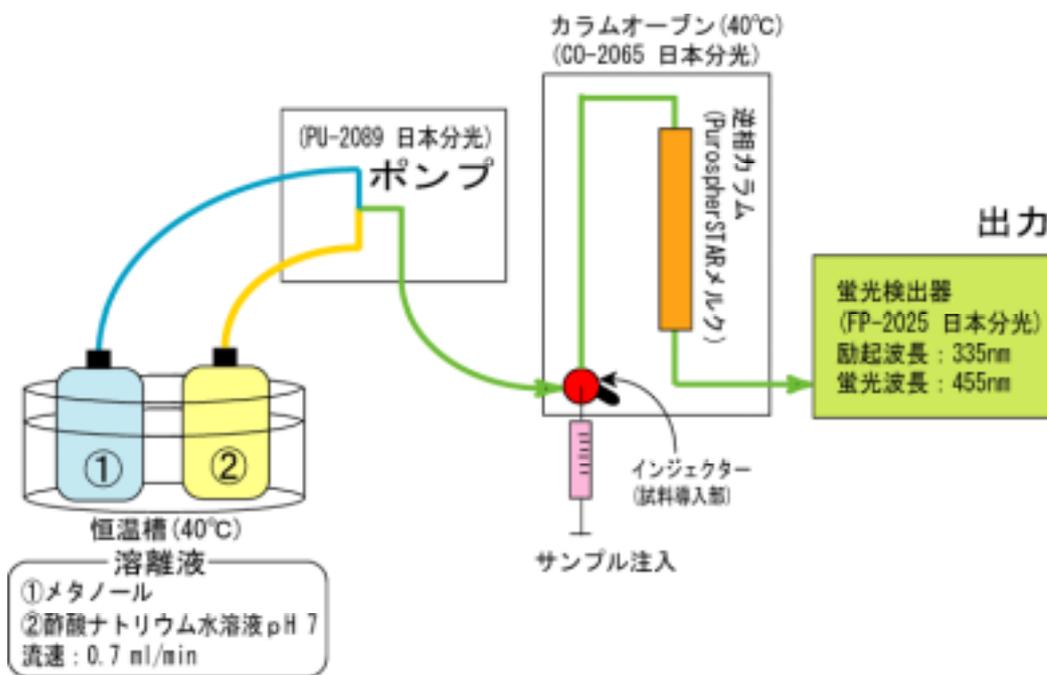


図 4 - 2 . H P L C 装置概念図

アミノ酸の混合試料をプリカラム法でジアステレオマーに誘導体化し、逆相カラムで一斉分析したクロマトグラムを図 4 - 3 に示した。溶離液の混合比を時間と共に変化させるグラディエント法を用い、溶離液の種類とグラディエント率を最適化することによって、アスパラギン酸(Asp)、グルタミン酸(Glu)、セリン(Ser)、グリシン(Gly)、βアラニン(βAla)、γアミノ酪酸(γABA)、D,L-アラニン(D,L-Ala)、D,L-βアミノ酪酸、D,L-αアミノ酪酸、D,L-バリン(D,L-Val)、D,L-ノルバリン(D,L-Nval)、D,L-イソロイシン(Ileu)、D,L-ロイシン(D,L-Leu)のすべてを分離して検出することに成功した。クロマトグラムの強度はアミノ酸の種類によって異なるが、モル数が既知の標準アミノ酸試料のピーク面積を測定し検量線を作成しておくことにより、光照射などによって生成した未知試料中のアミノ酸のモル数を直接決定できる。プリカラム法でのアミノ酸検出限界は 10^{-14} mol、D L 比を 1 % 以下の誤差で定量的に求められる限界モル数は 10^{-13} mol である。

以上のように、本研究ではラセミ体の光不斉分解反応による D L 比の微小な変化

や、不斉ではない分子からの光不斉合成によって生成する極微量のアミノ酸をL体とD体を分離して検出するため、高速液体クロマトグラフ（HPLC）を高感度・光学分割型アミノ酸分析器として整備した。これにより、 10^{-14} molの検出感度で複数のアミノ酸を一斉分析することが可能となり、 10^{-13} mol以上のアミノ酸については、D体とL体の比率を定量的に求めることが可能となった。

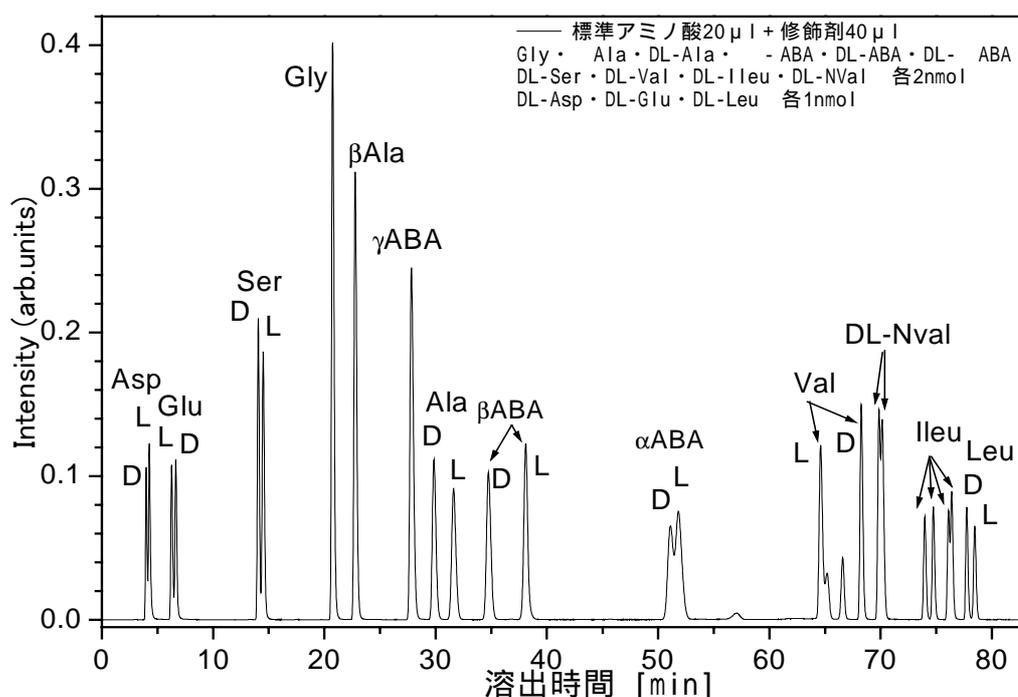


図4-3 . 混合アミノ酸標準試料のクロマトグラム

2 T 永久磁石

光不斉化反応の磁場効果を測定するための磁石としては、永久磁石を用いた。厚さ40 mmの2個の磁石を10 mm間隔で向かい合わせ、鉄板で囲み固定して磁気回路を形成することにより、中心部で2.4テスラの磁場強度を得た。磁気回路全体の大きさは、高さ140 mm、巾140 mm、厚さ110 mmであり、学内はもちろん、学外の放射光施設に持ち込んで利用することも可能なコンパクトで強力な磁石である。照射試料セル用に巾45 mm、厚さ10 mm、磁気回路の高さ方向に貫通したスロットと光導入用にスロットの巾方向と厚さ方向にそれぞれ直径5 mmの貫通穴を持っている。



図4 4 . 2テスラ磁気回路

紫外光源

紫外から真空紫外領域をカバーする波長可変の円偏光光源としては、円偏光アンジュレーターが唯一の光源であるが、その利用に先立って照射試料や条件を最適化することを目的として、紫外領域で大強度の光源であるArFエキシマーレーザー（193 nm）とKrClエキシマーランプ（222 nm）を用いた照射実験を行った。

波長193 nmのArFエキシマーレーザーでは、円偏光光源として利用するために無偏光のレーザー光を直線偏光、左右円偏光に変換する光学系を作製した。レーザー光は、ミラーにより反射した後、長焦点の集光レンズで試料セルに集光した。レーザー光路にロシヨンプリズム型直線偏光子を置き直線偏光とした。さらに1/4波長板を置き、直線偏光面と1/4波長板の光軸との角度を変えることにより左右の円偏光を得た。

各種アミノ酸の g 値が大きい波長222 nmの単色光源として、KrClエキシマーランプを用いた。エキシマーランプは発光部の体積が大きく、しかも発散角が大きい。したがって、有効径の小さいフォトダイオードで試料への照射強度を見積ることが困難であった。そのため、ランプの出射口に直径5 mmのアーチャー - を持つ金属板を設置し、その直後に試料セルを置くことによって、試料に照射される光強度を正確に求めた。

5. ラセミ体の円偏光による不斉化反応の磁場効果

ArFエキシマーレーザーを用いた円偏光光源とアミノ酸分析装置を用いて、D体とL体が等量混合したラセミ体アミノ酸について、D体とL体の不均化分解反応とその磁場効果を測定した。円偏光による不均化反応の程度は、左右の円偏光に対する吸光度の差 ϵ と吸光度 ϵ の比 ϵ/ϵ で定義される異方性因子 g 値によって決定される。ArFエキシマーレーザーの波長193 nmでの生体アミノ酸の g 値は小さいが、その中でも比較的大きな g 値を持つイソロイシンを測定試料とした。光不斉に先立って行なった直線偏光によるイソロイシンの光分解反応の結果、イソロイシンからの193 nmの光分解生成物として、グリシンと2-メチルブチルアミンが生成していることを確かめた。円偏光による不均化反応測定では、まず磁場なしで右回りと左回り円偏光照射による分解過程を測定し、理論的予測と定性的に一致するD/L比の変化を検出することができた。しかし、イソロイシンの193 nmでの g 値が小さいこともあって、定量的な一致を得るまでにはいかなかった。ま

た、右回り円偏光の光軸と外部磁場を平行、反平行にした場合のD / L比の変化は極めてわずかであり、ラセミ体イソロイシンの193 nmでの不斉分解反応速度に対する2.4テスラの磁場による変化率の上限値は 1 ± 0.002 と見積られた。

6 . 有機分子水溶液への紫外線照射によるアミノ酸生成

メタン、アンモニア、水、水素の混合気体中での放電によってアミノ酸が生成するというMillerの発見以来、各種の炭素源、窒素源、水素源に高エネルギー粒子や光子を照射することによって、種々のアミノ酸が生成することが多数報告されている。照射光源として円偏光を用いた場合、左右の非対称性を持たないアキラルな分子からキラルなアミノ酸が生成する過程としては、まずL体アミノ酸とD体アミノ酸が同じ量のラセミ体として形成され、円偏光によって不斉分解していくという過程が考えられる。しかし、これまでに報告された光や高エネルギー粒子照射によるアミノ酸生成実験では、アミノ酸が遊離した形で生成するのではなく、加水分解によってアミノ酸となる高分子のアミノ酸前駆体として生成されることが知られている。光や高エネルギー粒子との相互作用によって形成されるのはアミノ酸そのものではなく、アミノ酸前駆体であるということ自体は、アミノ酸宇宙起源説と矛盾はしない。すなわち、宇宙空間で形成されたアミノ酸前駆体が地球に飛来した後に加水分解されてアミノ酸となる過程を考慮すればよいからである。しかし、地球上の自然界のアミノ酸がL体のみであるというホモキラリティーの起源を考える場合には、パルサー近傍で発生するとされている円偏光によって形成されるアミノ酸の左右非対称性はアミノ酸前駆体の段階で形成されたと考えるのが妥当である。すなわち、円偏光紫外線照射によるメタンやアンモニアなど簡単な分子からのアミノ酸生成においても、中間体として簡単な有機分子が形成され、それらが円偏光の存在下で不斉重合した中間体とその中間体の不斉光分解反応が繰り返されることによって、最終的には加水分解によって左右非対称のアミノ酸を生成する比較的分子量の大きいアミノ酸前駆体が生成していると考えられる。

我々はこの点を確かめるために、宇宙空間にも存在することが知られているアルコール、ニトリル、アミン、アミドなど比較的簡単で左右対称な有機分子と水、アンモニアの混合物への紫外線照射によるアミノ酸生成に関する研究を行なった。

有機分子としては、アルコール(ROH)などの窒素原子を含まないものと、ニトリル(RCN)、アミン(RNH₂)、アミド(RCONH₂)など窒素原子を含むものを選び、アルコールについては、窒素源としてアンモニアを加えた。また、窒素を含む有機分

子についても、アンモニアの有無による生成アミノ酸の種類と収量の違いを研究した。

有機分子の水溶液あるいは有機分子のアンモニア水溶液は、石英製の薄型セルに入れ、ArFエキシマーレーザー(193 nm)あるいはKrClエキシマーランプ(222 nm)を照射した。光強度はレーザーについてはパワーメーターで、エキシマーランプについては絶対感度を補正したフォトダイオードで測定し、これと照射時間、透過率から試料に吸収された光子数を求めた。

光照射によって生成する化合物の分析には、高分解能質量分析装置と前述の高速液体クロマトグラフ(HPLC)を用いた。いずれの分析法も照射後の試料に含まれるアンモニアや有機分子など揮発性の成分は測定の妨害要因となるので、真空乾燥によってこれらの揮発成分を除去した。今回測定対象となるアミノ酸やアミノ酸前駆体は蒸気圧が低いため、真空乾燥によって失われることはない。

真空乾燥した試料を適当な溶媒に溶かし、質量分析によって高分子のアミノ酸前駆体の質量を求め、HPLCによって加水分解前に生成するアミノ酸の種類と量を求めた。さらに、真空乾燥した試料を高温、強塩酸条件下で加水分解し、真空乾燥によって塩酸を除去した後、生成したアミノ酸の種類と量をHPLCで決定した。図6-1に加水分解前と後のクロマトグラフの1例を示す。紫外線照射によって生成したアミノ酸の種類は標準アミノ酸試料との流出時間比較によって、また生成量は濃度既知のアミノ酸試料との面積強度との比較によって決定することができる。

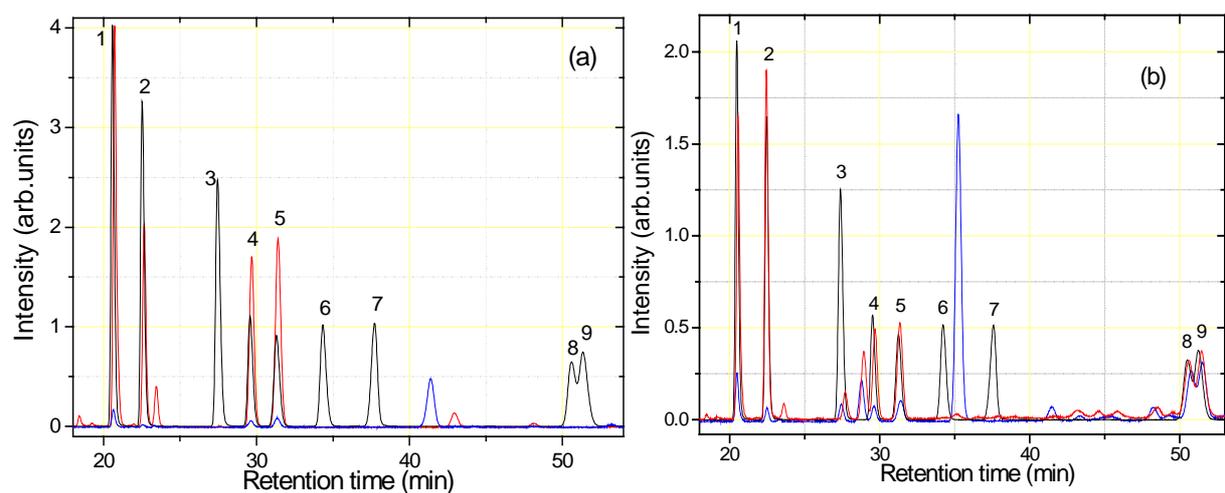


図6-1. 紫外線(=193 nm)照射後、加水分解前と後のクロマトグラム。

(a)プロパンアミド+アンモニア、(b)プロピルアミン+アンモニア。

赤：加水分解あり、青：水分解なし、黒：標準アミノ酸

1: Gly(グリシン)、2: β Ala(アラニン)、3: γ ABA(アミノ酪酸)、4: D Ala、5: L Ala

6: D β ABA、7: L β ABA、8: D-ABA、9: L ABA

図6-1から、有機分子のアンモニア水溶液への紫外線照射によって、グリシン、アラニン、アミノ酪酸など各種のアミノ酸が生成していることがわかる。生成するアミノ酸の種類とそれらの相対量は反応分子である有機分子の種類によって大きく変わることも示された。さらに、加水分解前の照射段階で生成されるアミノ酸の種類と加水分解後に生成されるアミノ酸の種類にも反応分子によって大きな差異があることが示された。プロパンアミドのアンモニア水溶液への照射では、加水分解前にはアミノ酸はほとんど生成せず、照射試料の加水分解によって遊離アミノ酸が生成している。したがって、これらのアミノ酸については、照射により高分子化したアミノ酸前駆体が合成され、それが加水分解によりアミド結合などの結合が切断され、アミノ酸になったと考えられる。一方、プロピルアミンのアンモニア水溶液への照射の場合、グリシン(1:Gly)からL-β-アミノ酪酸(7:L-β-ABS)までのアミノ酸は主に加水分解によって生成していることに比べて、D-α-アミノ酪酸(8:D-α-ABA)、L-α-アミノ酪酸(9:L-α-ABA)は、照射のみで生成され、加水分解によっては増加していない。これより、プロピルアミンの場合、α-ABAは照射により直接合成されたと考えられる。このような照射による直接的なα-ABA合成は、他の有機分子(ブチルアミン・ブチルアミド)にも見られた。ただし、紫外線照射によって直接生成するアミノ酸はアミノ酪酸類に限られており、加水分解によって生成するアミノ酸も加えた生成アミノ酸の全体量に占める比率も小さい。このことは、他の有機分子を出発物質とする場合でも成り立ち、有機分子のアンモニア水溶液への紫外線照射によるアミノ酸、特にグリシンやアラニンなどの生体アミノ酸生成の主たる機構はアミノ酸前駆体を經由したものであると結論付けられる。

図6-2にプロピルアミンのアンモニア水溶液への193nm照射と加水分解後に生成する各種アミノ酸収量の

照射時間による変化を示した。グリシンとアミノ酪酸は照射時間とともに増加しているが、アラニンは3時間で最大となる。このような振る舞いはアラニンは光分解断面積が大きい前駆体から、グリシンは光分解断面積が小さい前駆体から生成し、アミノ酪酸は紫外線照射で直接生成するというモデルで説明できる。

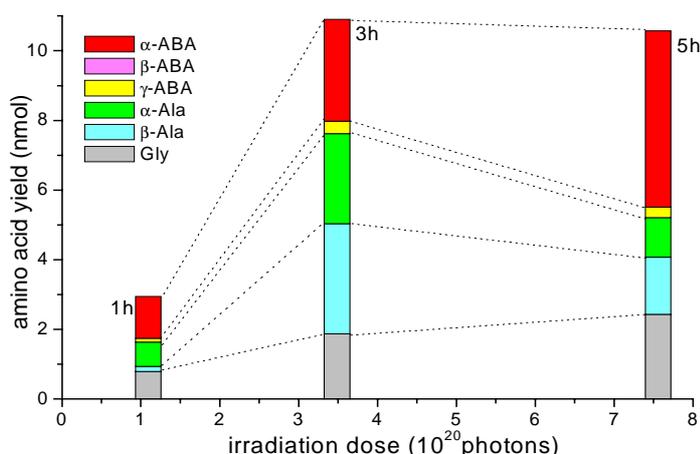


図6-2. プロピルアミンのアンモニア水溶液への紫外線(λ=193 nm)照射後、加水分解で生成したアミノ酸収量の照射時間依存性

7 . アミノ酸前駆体の質量分析

これまでの研究で、構造の簡単な有機分子から直接アミノ酸が合成されるのではなく、まず光照射によって分子量が数百程度のアミノ酸前駆体が形成され、その後の加水分解によりアミノ酸が生成されることを確認している。本研究では、光学異性でない有機物質に紫外線照射を行い、どのような構造のアミノ酸前駆体が形成されているのかを調べた。アミノ酸前駆体の構造を同定することで、生体アミノ酸のホモキラリティがどのような過程で発生したのかを解明する糸口が得られると考える。

有機分子のアンモニア水溶液に 193nm のレーザー光を照射した試料中で生成された物質(アミノ酸前駆体)の質量をエレクトロスプレーイオン化法(ESI - MS)によって測定し、特定のイオン種の衝突活性化による開裂パターンを解析することで構造を同定した。質量分析では試料成分をイオン化する必要があり、今回の実験ではエレクトロスプレーイオン化法(ESI)を使用した。ESI法は溶液中の試料に電荷を与え、直接気相状態へイオンを生成するので、試料の開裂(フラグメンテーション)が最も起こりにくいイオン化法であり、電子衝突イオン化法(EI)等と比べて物質の結合を保持した状態でのスペクトルを得やすい。今回の実験のように試料成分の全構造を開裂させずに測定したい場合に適している。その他の開裂の起こりにくいソフトなイオン化法としては、マトリックス支援レーザー脱離イオン化法(MALDI)が存在するが、この方法は低分子側にマトリックス由来のピークを生じさせてしまう。イオン化法は目的と試料成分によって選択することが重要であり、ESI法が今回の実験に最適なイオン化法である。

質量分析器としては、Biosystems社のQSTARを使用した。QSTARは四重極レンズ群とリフレクトロン型飛行時間質量分析器を備えたシステムであり、高分解能の質量分析が可能である。さらに、初段の四重極レンズを質量フィルターとして使用し、そこで質量選別した親イオンを、後段の四重極で不活性ガス(窒素ガス)とコリジョンさせることにより、特定のイオンを選択してその開裂パターンを得るタンデム型質量分析(MS/MS測定)も可能である。図7-1に標準物質として測定したロイシルロイシンのMS/MSスペクトルを示した。今回用いた質量分析器では、イオン質量を小数点2桁まで正確に求めることができる。原子質量の小数点以下の値は原子によって異なることから、得られた質量数からだけでも、窒素原子や酸素原子と水素原子の可能な組み合わせを限定することができる。観測された開裂イオン種の質量数から、ロイシルロイシンのどの結合が開裂して生成したものであるかが同定できる。今回用いた窒素ガスとの衝突で誘起される開裂は、親分子のCO基やNHやNH₂などの含窒素基と結合した部分であることが明らかとなった。

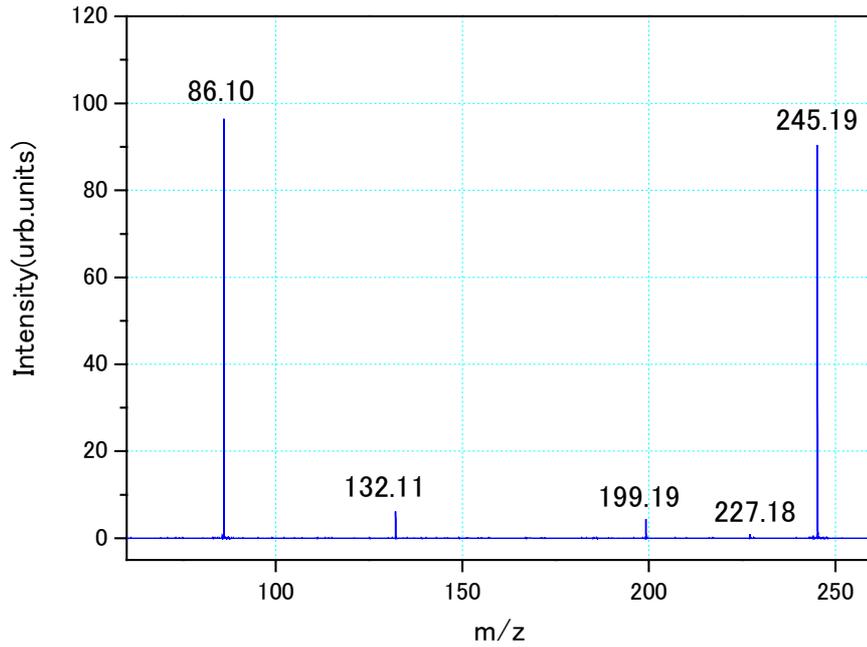


図7 - 1 . ロイシルロイシン (組成式 $C_{12}H_{24}N_2O_3$) の MSMS スペクトル

図7 - 2 にプロピルアミンのアンモニア水溶液に193 nmのレーザー光を1時間照射した試料の質量スペクトルを示した。出発物質であるプロピルアミン (質量数 59.11、真空乾燥によって除去) の数倍に達する質量数数百のイオンが検出されており、紫外光照射によってこれらの物質が生成されたことを示している。

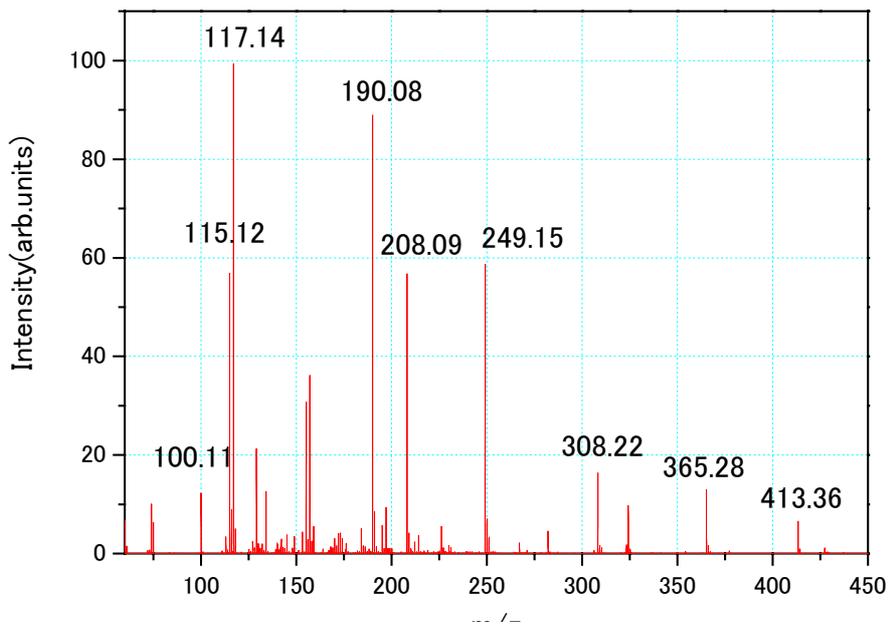


図7 - 2 . プロピルアミンとアンモニア水への紫外線照射により生成された物質の MS スペクトル

得られた質量スペクトルの各ピークからの開裂イオンを測定するMSMS測定を行なうことによって、各ピークの物質がどのような原子団から構成されているか、またそれらの原子団がどのように結合しているかを知ることができる。1例として質量数 117.14 の親イオンでのMSMSスペクトルを図7 - 3に示した。

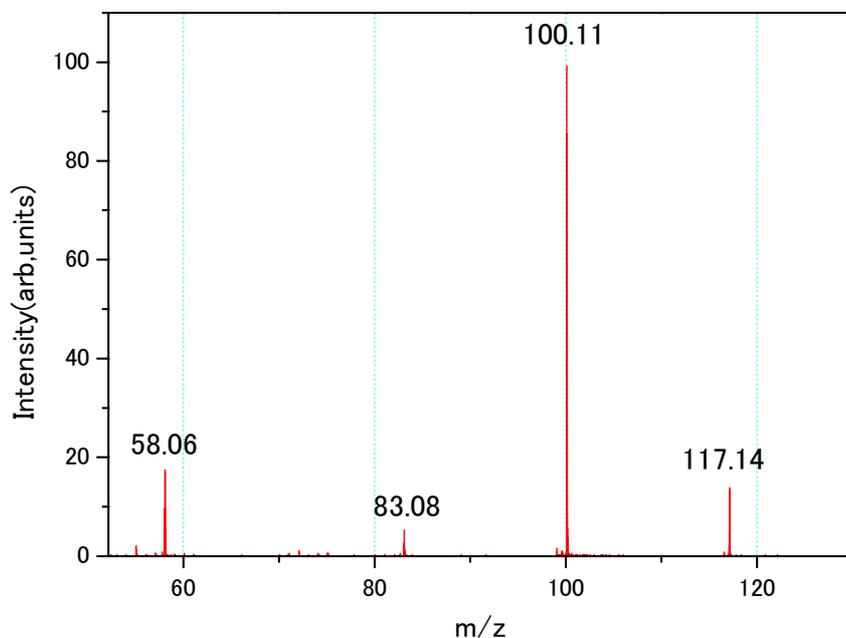
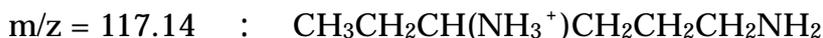


図7 - 3 . m/z=117.14 のMSMS スペクトル

得られたMSMSスペクトルから質量数 58.06、83.08、100.11 の3つのフラグメントの組成式はそれぞれ C_3H_8N 、 C_6H_{11} 、 $C_6H_{14}N$ を一義的に決定することができ、それらの値とヘテロ原子の近傍で開裂が起こることを考慮に入れ、質量数 117.14 の親分子イオンの構造式を以下のように決定した。



同様の方法で、プロピルアミンのアンモニア水溶液への193nm照射によって生成した物質の質量スペクトルで観測された親分子イオンのうち、図7 - 4に示した7つの質量数についてその構造を同定した。

これらのうち、質量数 190.08 は含窒素六員環の縮合環化合物、またこれ以上の質量数を持つ物質もすべて含窒素六員環を含んでいる構造を決定した。CN2重結合を持つ分子は加水分解によってアミノ酸を生成するため、これらの分子は紫外線照射によって生成したアミノ酸前駆体であると考えられる。

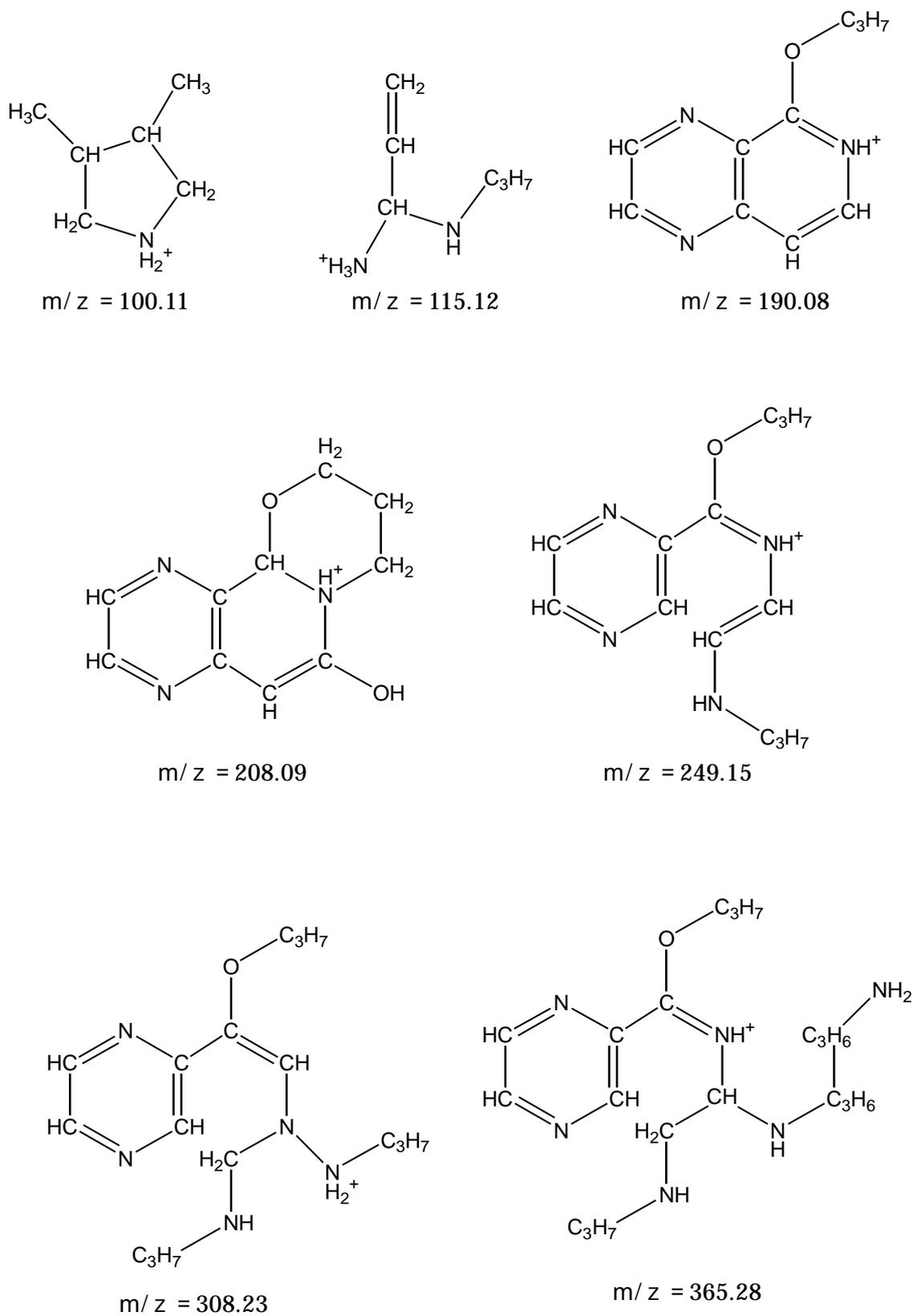


図 7 - 4 . 予想される生成物質の構造

8 . 有機分子への紫外線照射によるアミノ酸生成の反応分子依存性

これまでの研究で、メタンやアンモニアなどへの紫外線照射によって生成するアミノ酸の種類と量についての報告はあるが、炭素原子数がより多く、官能基を持つ有機分子への紫外線照射によるアミノ酸生成に関する報告はない。今回の研究では、紫外線照射によって生成するアミノ酸の種類と各アミノ酸の収量と反応分子の炭素原子数や官能基の違いに着目して、一連の測定を行なった。今回の研究で照射試料の反応分子として選んだ有機分子の分子構造および反応有機分子と同じ炭素原子数を持つ対応するアミノ酸を表1に示した。

有機分子の種類		炭素鎖(R)		
		C-C	C-C-C	C-C-C-C
官能基	-NH ₂	エチルアミン	プロピルアミン	ブチルアミン
	-(O)NH ₂	エタンアミド	プロパンアミド	ブタンアミド
アミノ酸		グリシン	アラニン	アミノ酪酸(ABA)
構造式		CH ₂ (NH ₂)COOH	CH ₃ CH(NH ₂)COOH	C ₂ H ₅ CH(NH ₂)COOH

表1 反応有機分子の炭素数と対応するアミノ酸

炭素原子数の異なるアミンについて、紫外線照射によって生成するアミノ酸の収量を加水分解前と加水分解後をまとめて図8-1に示した。照射のみで生成するアミノ酸の収量に斜線を付し、加水分解後の収量は斜線部と斜線なし部の和である。アンモニアとの混合試料への照射によって生成するアミノ酸の種類を見ると、炭素数が2のエチルアミンでは主に炭素数が2のグリシン(Gly)、炭素数が3のプロピルアミンでは主に炭素数が3のアラニン(Ala)、炭素数が4のブチルアミンでは主に炭素数が4のアミノ酪酸(ABA)が生成している。これより、アンモニアの存在下でのアミンへの紫外線照射の場合には、反応分子と同じ炭素数のアミノ酸が主に生成すると結論できる。一方、アンモニアなしのプロピルアミン水溶液への照射では、反応分子と同じ炭素原子数であるアラニンの生成が抑制されており、炭素原子数が反応分子と同じアミノ酸生成にはアンモニアの存在が必要であることを示唆している。また、炭素原子数2のエチルアミンから炭素原子数3のアラニンと炭素原子数4のアミノ酪酸が生成し、炭素原子数3のプロピルアミンからも炭素原子数4のアミノ酪酸が生成されている。これは、照射によって反応分子の重合や付加反応によって高分子量のアミノ酸前駆体が生成され、その分解反応過程で切断される場所により、炭素数が増えたアミノ酸が形成される過程が存在することを示している。

アミドについての同様の測定結果を図8-2に示した。アミドでもアミンと同様、反応分子である有機分子の炭素原子数と同じ炭素原子数のアミノ酸が主に生成するという依存性が確認された。ただし、アミンの場合にはこのような対応関係はアンモニアの存在下でのみ成り立つが、アミドではアンモニアの存在とは無関係である。アンモニアなしのプロパンアミドでは、加水分解後のアラニン生成量のほぼ半分に達するアラニンが加水分解前にも生成しており、照射で直接アラニンが生成する直接過程と照射ではアラニン前駆体が生成する間接過程という2つの過程が存在することを示した。また、直接過程はアンモニアの存在によって抑制されることを示した。

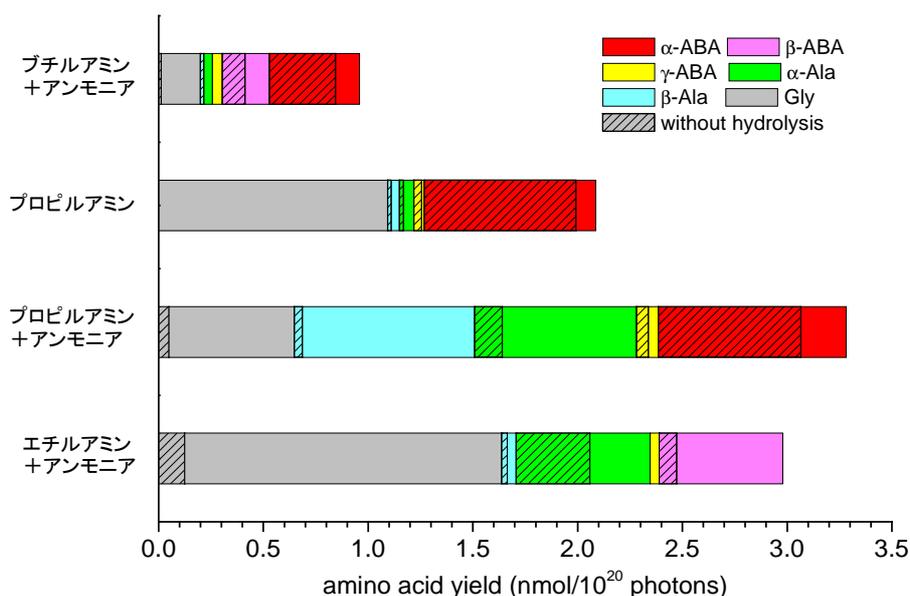


図8-1. アミンへの紫外線照射により生成したアミノ酸の収量

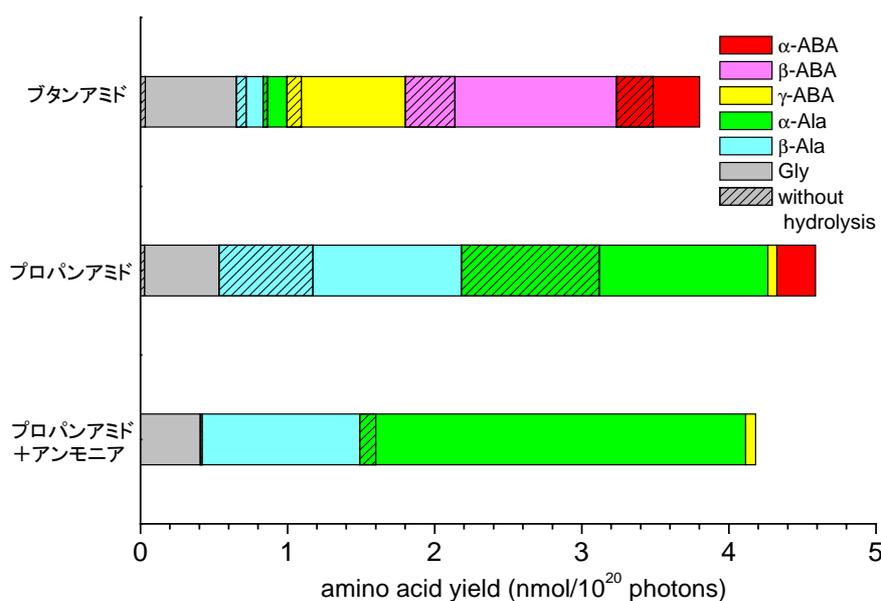


図8-2. アミドへの紫外線照射により生成したアミノ酸の収量