

令和 6 年 9 月 24 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K18643

研究課題名（和文）氷惑星内部でのアミノ酸重合と不斉増幅の可能性を探る

研究課題名（英文）ring the potential for amino acid polymerization and asymmetric amplification inside ice planets

研究代表者

鍵 裕之（KAGI, HIROYUKI）

東京大学・大学院理学系研究科（理学部）・教授

研究者番号：70233666

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000 円

研究成果の概要（和文）：アミノ酸はタンパク質を構成する基本分子である。我々はアミノ酸が室温高圧下で脱水縮合し、長鎖のペプチドが生成することを見いだした。室温付近の比較的低温条件では、ラセミ化が進行しないため、光学活性を保存した状態での重合反応が期待できる。隕石中に含まれるアミノ酸がL体過剰であることに着目し、高圧下での重合の際にL体の不斉濃縮が起こる可能性を検討した。ここではアミノ酸の2量体、3量体を構成する光学異性体の配列を厳密に決定し、不斉濃縮を定量的に評価する方法を開発した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ホモキラリティの起源を知る目的で、高圧下でのアミノ酸の重合過程における不斉濃縮の可能性を検討した。ペプチド（ただし3量体まで）のアミノ酸の配列を光学異性体を含めて解析する手法を確立することができた。これまでの結果では、アミノ酸の重合過程で有意に多く生成する三量体も見られており、何らかの不斉濃縮が起こった可能性は残されている。高圧下での重合反応は環境に負荷がかかる触媒を必要とせず、室温で進行するため光学異性体が保存されるため、医薬品の合成などに応用が可能かも知れない。

研究成果の概要（英文）：Amino acids are the basic building blocks of proteins. We have found that amino acids dehydrate and condense under high pressure at room temperature to form long-chain peptides. Under relatively low temperature conditions near room temperature, polymerisation reactions are expected to occur with preserved optical activity, as racemisation does not proceed. Noting that the amino acids in the meteorite have an excess of L-body, the possibility of asymmetric enrichment of the L-body during apolymerisation under high pressure was investigated. In this study, the sequence of optical isomers constituting the dimer and trimer of amino acids was rigorously determined and a method was developed to quantitatively assess asymmetric enrichment.

研究分野：地球内部化学

キーワード：アミノ酸 高圧

1. 研究開始当初の背景

アミノ酸は生命を形づくる最も基本的な分子である。申請者らは、代表的なアミノ酸であるアラニンの水溶液に、室温で 5~10 GPa 程度の高圧をかけることでアラニンが重合していく現象を発見した(Fujimoto et al., 2015)。アミノ酸が重合して分子量の大きいペプチドが生成する反応は脱水縮合反応であるため、水が共存する水溶液では進みにくいはずである。ところが水分子が豊富に共存するアミノ酸水溶液からペプチドへの脱水縮合反応が起こった。アミノ酸水溶液を加圧すると、高圧下で氷の高圧相である氷 VII 相が析出し、アミノ酸が氷から分離された無水の固体結晶として析出し、高圧下での凍結濃縮が起こることを見いだした(Takahashi et al., 2017)。これらの実験結果は、前生物学的な環境において、氷惑星の内部など的高圧環境でアミノ酸がより複雑なペプチドに重合していく可能性を示唆している。室温条件で重合が進むことはきわめて大きな意義がある。なぜなら高温条件ではアミノ酸はラセミ化 (L 体と D 体の存在比が 1 に近く、図 1 参照) していくが、室温条件ではラセミ化速度はきわめて低いいため重合反応に伴う不斉増幅が拡大しうる。

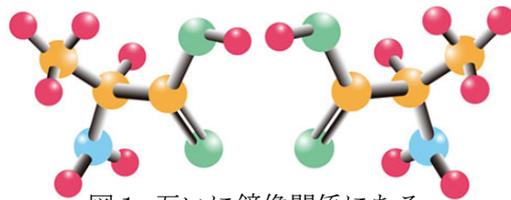


図1 互いに鏡像関係にある
L-アラニン(左)とD-アラニン(右)

ところで隕石からアミノ酸が検出されることはよく知られているが、土星の衛星エンセラダスの内部海でアミノ酸が生成する可能性も指摘されており(Khawaja et al., 2019)、宇宙にアミノ酸は普遍的に存在するといえる。生命体を形作る巨大分子であるタンパク質は、L 体アミノ酸のみで構成されるホモキラリティという性質をもつ。一方、隕石中には L 体とともに D 体のアミノ酸が含まれる。最近の研究によれば、隕石とアミノ酸の種類によっては 20%から 80%近く L 体が D 体よりも過剰に含まれることが報告されており (Elsila et al., 2016 など)、そもそも地球外の非生物学的アミノ酸はわずかながら L 体に富んでいた可能性が高い。生命が出現するまでに、どのようなプロセスで光学異性体の L 体のみが選択され、ペプチド(アミノ酸の重合体)やタンパク質などの巨大分子ができたのだろうか？

アミノ酸が高圧下で重合した長鎖のペプチドでは分子内の立体障害が強まり、三量体である $L_A \cdot L_A \cdot D_A$ と $L_A \cdot L_A \cdot L_A$ (ただし L_A は L アラニン、 D_A は D アラニン) の自由エネルギー差が拡がり、異性体の選択が起こりうると我々は考えている。したがって高圧下でのアミノ酸の重合反応では、何らかの不斉増幅が起こる可能性が高い。このような背景により、我々は高圧下でのアミノ酸の重合反応で prebiotic なアミノ酸から不斉濃縮していく可能性があるのではないかという発想に至った。

2. 研究の目的

生命の起源は最も困難かつ挑戦的な研究課題の一つである。RNA ワールドやプロテインワールドなどいくつかの仮説が提案され、生命体の基礎となる有機分子の起源を地球外に求める説もあれば、海洋底熱水活動、地表での衝突現象などに求める説もある(たとえば Ménez et al., 2018; Takeuchi et al., 2020)。本研究では氷天体内部の高圧環境でアミノ酸が重合し、不斉増幅する分子進化の可能性を探ることを目的としている。

我々は高圧下での有機物の重合反応について研究を積み重ねる中、地球生命のもつホモキラリティが、氷惑星・衛星内部の高圧環境でアミノ酸が重合する過程でもたらされた不斉増幅に起因するのではないだろうかと言う着想に到達した。高圧下ではペプチドの立体障害が増幅され、異性体間のエネルギー差が拡がることによると考えている。本計画は、この仮説を実験から証明するという挑戦的課題である。

3. 研究の方法

本研究は、高圧条件でのアミノ酸の重合実験、生成したペプチドの立体構造の解析を行いながら研究を進めていく。アミノ酸二量体には LL, LD, DL, DD の組み合わせがあり、LL と DD は鏡像異性体である。地球外のアミノ酸はわずかに L 体が過剰であるため LL は DD よりも多く存在しうる。これらの 2 量体にアミノ酸 L と D の混合物が重合する過程を観察していく。本研究の流れを以下に記す。

- (1) L 体アミノ酸が過剰に含まれる L 体と D 体の混合物を出発物質として高圧実験を行う。なお、ラセミ体のアミノ酸の L 体には重水素置換体を用い、質量分析で得られる 3 量体の異性体で分子量の違いで区別する。高圧発生には 100 mm³ 程度の試料体積を確保できる対向アンビルを東大物性研に設置されている高圧プレスに取り付けて実験を行う。

- (2) 反応生成物をLC-MS (液体クロマトグラフィ-質量分析法) を用いて解析する。得られる質量スペクトルから生成物の光学異性体の構成を明らかにする。
- (3) アミノ酸三量体の構造を光学異性体の配列まで含めて解析し、重合過程で不斉濃縮が起こる可能性を検討する。

4. 研究成果

本研究では高圧条件で得られたアミノ酸(アラニン)の重合体の異性体を区別して解析する手法の確立に時間をかけた後、高圧実験からの生成物について解析を行った。

L-アラニンの二量体および三量体は、試薬として市販されているが、D-アラニンとL-アラニンが混在した二量体、三量体は市販されていない。そのため、二量体と三量体の全ての異性体をFmoc固相ペプチド合成法を用いて合成し、分析のための標準試料とした。

高圧実験の出発物質は、エナンチオマー過剰率(enantiomer excess; 以下 ee)が ee50%となるようL-アラニン(重水素置換体: 2,3,3,3-d4)とD-アラニンを秤量して水溶液化してガラスバイアルに入れ、乾燥窒素を吹きつけて蒸発乾固し、アルミナ乳鉢で粉碎して粉末試料とした。

高圧実験はナノ多結晶ダイヤモンド製のアンビルとParis-Edinburghプレスを用いた。アンビルのキュレット径は1 mmである。ガスケットはSUS301製で厚み350 μmのものを使用し、厚み230 μm前後まで仮押しし、中心に直径500 μmの穴を開け、出発試料としてee0%、ee50%のアラニン粉末を加えた。圧力媒体には、使用するアラニンと同じエナンチオマー過剰率になるよう調製した飽和水溶液を用いた。

試料の分析にはLC-MS(LCMS-8045, 株式会社島津製作所)を使用した。LCで使用した移動相は、メタノール/H₂O=98/2(体積比)でギ酸とギ酸アンモニウム濃度が25 mmol/Lになるよう調製した。使用したカラムはCHIRALPAK ZWIX(+) 4 mmφ×250 mmで、カラム温度40 °C、移動相の流量は0.5 mL/minで分析を行った。LCから導入された液相はエレクトロスプレーイオン化法(ESI(+))によってイオン化され、四重極型の質量分離部に導入される。質量分離にはシングルイオンモニタリング(MRM)を使用した。

図2にFmoc法で合成したアラニン三量体の各異性体のクロマトグラムを示す。この図からわかるように、分子量と保持時間からこれらの異性体は完全に区別して分析できることがわかる。L体のアミノ酸を重水素でラベルすることにより、このような精密な分析が可能になった。なお、ここには示していないが、同位体ラベルを行わない試料についてはクロマトグラム上で保持時間がオーバーラップするため、2量体の異性体においても分離が難しく、ましてや3量体の異性体分析は全く不可能であった。

高圧下で保持したee50%の試料についてもLC-MSを用いた分析を行った。図3に得られた三量体のクロマトグラムを示す。図2と同様に、イオンの質量/電荷比とクロマトグラムの保持時間を併用することで、いずれの異性体も分離して分析することができた。図2で得られた標準試料のパターンを用いて、各異性体の存在度を求めた。その結果、ee50%のアラニンから確率論的に期待される三量体の存在度と比較して、一部の三量体は有意に濃縮が起こっていることがわかった。このことは高圧下での重合過程で何らかの不斉濃縮が起こったことを示唆している。今後は他のアミノ酸も含めて分析を進めていく必要がある。

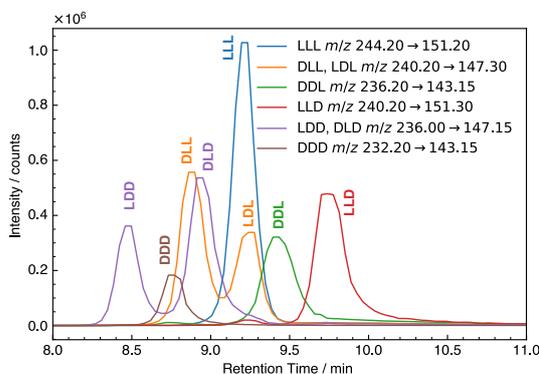


図2 固相法によって合成したアラニン三量体(同位体標識あり)の各異性体のクロマトグラム

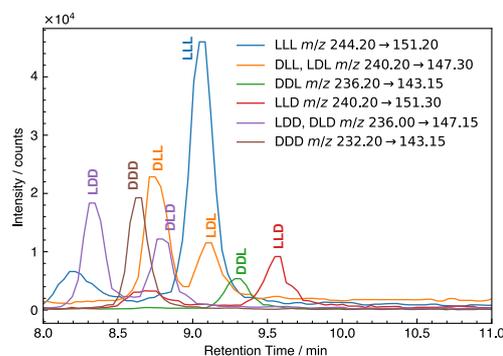


図3 ee50%の出発試料から高圧下で生成したアラニン三量体(同位体標識あり)の各異性体のクロマトグラム

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yamashita Keishiro, Komatsu Kazuki, Kagi Hiroyuki	4. 巻 78
2. 論文標題 Crystal structure of potassium chloride monohydrate: water intercalation into the B1 structure of KCl under high pressure	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Acta Crystallographica Section C Structural Chemistry	6. 最初と最後の頁 749 ~ 754
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1107/S2053229622011135	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 Yamashita Keishiro, Komatsu Kazuki, Klotz Stefan, Fabelo Oscar, Fernandez-Diaz Maria T., Abe Jun, Machida Shinichi, Hattori Takanori, Irifune Tetsuo, Shinmei Toru, Sugiyama Kazumasa, Kawamata Toru, Kagi Hiroyuki	4. 巻 119
2. 論文標題 Atomic distribution and local structure in ice VII from in situ neutron diffraction	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 e2208717119
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2208717119	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 該当する
1. 著者名 Zhai Luhan, Nara Masayuki, Otani Yuko, Ohwada Tomohiko	4. 巻 57
2. 論文標題 Unexpectedly rigid short peptide foldamers in which NH- and CH- interactions are preserved in solution	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Chemical Communications	6. 最初と最後の頁 8344 ~ 8347
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d1cc02998c	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 該当する
1. 著者名 Mimura Koichi, Okada Riku	4. 巻 322
2. 論文標題 Shock experiments with an L-alanine solution and implications for the cometary delivery of amino acids and dimers with enantiomeric excesses to the early Earth	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Geochimica et Cosmochimica Acta	6. 最初と最後の頁 58 ~ 70
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.gca.2022.01.030	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2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 秋本 篤弥、鍵 裕之、森井 尚之、奈良 雅之
2. 発表標題 キラルカラムを用いたLC-MSによるアラニン二量体、三量体の異性体分析
3. 学会等名 日本分析化学会 第71年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 秋本 篤弥、鍵 裕之、森井 尚之、奈良 雅之
2. 発表標題 D, L-アラニンの圧力誘起オリゴマー化過程での不斉増幅の検討
3. 学会等名 日本地球化学会 第69回年会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔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	三村 耕一 (Mimura Koichi) (80262848)	名古屋大学・環境学研究科・教授 (13901)	
研究分担者	奈良 雅之 (Nara Masayuki) (90301168)	東京医科歯科大学・教養部・教授 (12602)	

6. 研究組織（つづき）

	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	森井 尚之 (Morii Hisayuki) (80358176)	東京大学・理学系研究科・客員共同研究員 (12601)	

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