

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 10 月 20 日現在

機関番号：16102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25400526

研究課題名(和文)オリゴペプチドが行うホモキラリティー増殖に関する化学進化モデル

研究課題名(英文)Chemical Evolutionary Model for Homochirality Growth Conducted by Oligopeptides

研究代表者

胸組 虎胤(Munegumi, Toratane)

鳴門教育大学・大学院学校教育研究科・教授

研究者番号：00200246

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：鎖状、環状アラニンジペプチドの水溶液と結晶に、線(1-24 kGy)を照射し、キラルHPLCで反応液を分析した。鎖状L-Ala-L-Ala、D-Ala-L-Alaの1mMに線を照射した溶液では分解とエピ化が同時に進行した。pH2では両者の分解速度定数には大きな差はなかったが、L-Ala-L-Alaからのエピ化速度定数は0.017 1/kGy、D-Ala-L-Alaは0.0033 1/kGyと差があった。これはホモキラルペプチドがヘテロキラルペプチドよりエピ化しやすいが、ホモキラリティーの濃縮に適さないが、環状ジペプチドはヘテロキラルペプチドよりエピ化しやすかった。

研究成果の概要(英文)：Linear and cyclic alanine dipeptides were irradiated in solution or as solid state by gamma rays (1-24 kGy). The resulted reaction solutions were analyzed by means of HPLC equipped with achiral or chiral columns. Linear L-Ala-L-Ala epimerized faster (reaction rate constant: 0.017kGy⁻¹) than D-Ala-L-Ala (0.0033kGy⁻¹) in 1mM solutions. This suggests that such reaction conditions are not suited for accumulation of homochiral peptides. However, the results in the reactions using cyclic dipeptides showed heterochiral peptides epimerizes faster than homochiral peptides.

研究分野：アストロバイロジ

キーワード：ホモキラリティー オリゴペプチド 分別 エピ化 立体特異的縮合

1 . 研究開始当初の背景

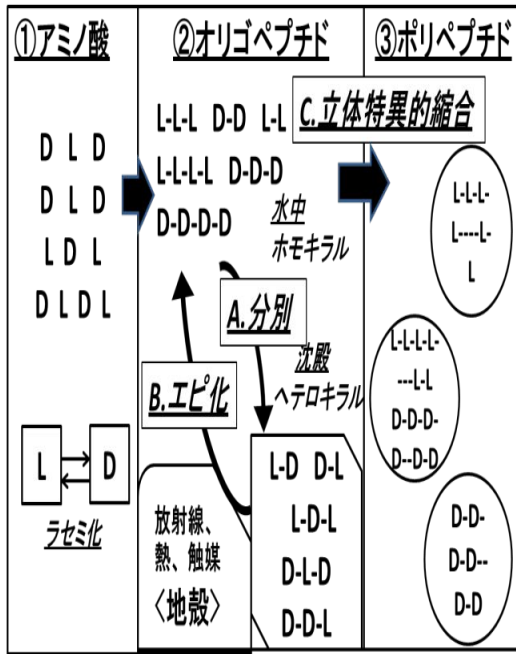
(1)ホモキラリティーの化学進化的生成の考え方

タンパク質のL-アミノ酸の片手構造(ホモキラリティー)は、生命体機能の効率化に必須であるが、化学進化的生成過程は不明であり、地球内外での生命体の起源研究に残る課題である。L-アミノ酸はD体よりエネルギー的に安定であり(Tranter Chem.Phys.Lett.1985)、キラル低分子の自己触媒的増殖が示されている(Soai et al. Nature,1995)が、ホモキラルなアミノ酸の生成は、必ずしもポリペプチド中のホモキラリティーの濃縮・保存を保証しない。アミノ酸は熱・放射線等で分解・ラセミ化するからである。

(2)作業仮説

本研究では、タンパク質のホモキラリティー生成過程をアミノ酸、**オリゴペプチド**、ポリペプチドに分けて考えた(下図)。原始水圏でのポリペプチド生成を仮定し、オリゴペプチドに関するA~Cの過程に注目した。

A.分別



高濃度水溶液中でヘテロキラルペプチド(L-D, D-L等)が沈殿、ホモキラルペプチド(L-L, D-D等)が溶解する。多くの鎖状オリゴペプチドの計算化学とHPLC分析と疎水性尺度log P(オクタノール水系の分配係数Pの対数値)から、ホモキラルペプチドはヘテロキラルより疎水性が低かった(Ala₃でその差は0.40(LLLとLDLの比較)であり、LLLがLDLに比べて約2.5倍の水溶性をもつことを意味する)(Munegumi et al.Chirality,2003;Chem.& Biodiv.2010)。

B.エピ化(L-LがL-D,D-Lに変化)

ホモキラルペプチドとヘテロキラルペ

チドの相互変換が分別を進めたと考えた。相互変換がγ線により起こることをすでに確認している。ヘテロキラルペプチドは沈殿し、地殻のγ線により(38億年前今の約10倍: Mosqueira, Origins of Life1996) **エピ化**し、ホモキラルとなって水溶性となる。これはAの過程とともに間隙流体と粘土鉱物の間での**分別とエピ化**を示唆する。

C. **立体特異的縮合**(ホモキラルオリゴペプチド同士が識別して縮合)

オリゴペプチドほどキラリティー識別能が高く(Munegumi, Chem. Lett. 1987)、LとDのホモキラルオリゴペプチドの僅かな偏りがあれば、ポリペプチド中のキラリティーが濃縮される。生命体を構成するタンパク質は翻訳直後にはL型という片手構造(ホモキラル)のアミノ酸から構成されている。

2 . 研究の目的

本研究ではアミノ酸からポリペプチドが生成する過程にあるオリゴペプチドの性質に注目した。特に、オリゴペプチドにγ線や放電などの放射線が作用したときのエピ化反応が起こり得るか、さらに、エピ化反応の速度がジペプチドの構成比にどのような影響があるかに焦点を当て研究を行った。

3 . 研究の方法

鎖状のアラニンジペプチド(Ala-Ala)の水溶液またはその結晶にγ線(1-24 kGy)を照射し、アキラルまたはキラルカラムを装着したHPLCで反応液を分析した。

環状のアラニルアラニン Cyclo-(Ala-Ala)のうち Cyclo-(D-Ala-L-Ala)を合成して反応基質として使用した。他の Cyclo-(D=Ala-D-Ala), Cyclo-(L-Ala-L-Ala)は購入した製品を用い、これらの水溶液及び、固体にγ線を照射し、反応液をHPLCで分析した。

4 . 研究成果

(1)鎖状 L-Ala-L-Ala および D-Ala-L-Ala の1mMにγ線を照射した溶液では分解とエピ化が同時に進行した。pH2の反応液を用いた場合には両者の分解速度定数には大きな違いは見られなかったが、L-Ala-L-Alaからの線量当たりのエピ化速度定数は0.017 kGy⁻¹、D-Ala-L-Alaからは0.0033 kGy⁻¹となり差が見られた。これはホモキラルペプチドの方がヘテロキラルペプチドよりエピ化しやすい条件であり、ホモキラリティーの濃縮に適さないことが示唆された。しかしながら、塩基性のpH条件ほど鎖状のホモキラルペプチドとヘテロキラルペプチドのエピ化の速度差が近くなる結果がえられた。エピ化速度のpH依存性についての研究が必要と考えられる。

(2)環状アラニンジペプチド(Ala-Ala)の水溶液またはその結晶にγ線(1-24 kGy)を

照射する実験を行うために、まず、ヘテロキラルな環状アラニルアラニン Cyclo-(D-Ala-L-Ala) の合成を行った。Boc-L-Ala-D-Ala-OMe をギ酸で脱保護した後、塩基存在下で環化させて Cyclo-(D-Ala-L-Ala) を合成した。市販のホモキラルな環状ジペプチド Cyclo-(L-Ala-L-Ala), Cyclo-(D-Ala-D-Ala), および合成した Cyclo-(D-Ala-L-Ala) のそれぞれの 1mM 酸性水溶液 (pH2) に γ 線を 2kGy 照射したところ、Cyclo-(L-Ala-L-Ala) と Cyclo-(D-Ala-D-Ala) からはエピ化した生成物 Cyclo-(D-Ala-L-Ala) が約 15% 検出された。しかし、Cyclo-(D-Ala-L-Ala) の酸性水溶液に同じ条件で γ 線を照射したところ、Cyclo-(L-Ala-L-Ala), Cyclo-(D-Ala-D-Ala) は検出されなかった。この結果は水溶液中ではホモキラルペプチドの方がヘテロキラルペプチドよりもエピ化しやすいことを示していると考えられる。ただし、環状ジペプチドは水溶液中で 4kGy 以下の γ -線照射量で分解してほぼ消失することも明らかとなった。

次に、固体状態のホモキラルペプチド Cyclo-(L-Ala-L-Ala), Cyclo-(D-Ala-D-Ala), およびヘテロキラルペプチド Cyclo-(D-Ala-L-Ala) にそれぞれ γ 線を照射する実験を行った。反応生成物を水-アセトニトリルの混合水溶液として、キラルカラムを装着した HPLC で分析したところ、ヘテロキラルペプチドからは最高 0.8% のホモキラルペプチド (LL と DD の合計) が得られたが、ホモキラルペプチドそれぞれからは最高 0.4% のヘテロキラルペプチドが生成した。この結果は、固体のヘテロキラルペプチドの方がホモキラルペプチドよりエピ化速度が大きいことを意味する。この条件はエピ化によるホモキラルペプチドの濃縮・増殖の方向性と一致する。ただし、エピ化の収率が 1% 未満であることから、このエピ化経路がホモキラルペプチドの濃縮・増殖にどのようにつながったかについては議論が必要である。

以上のように、水溶液中では鎖状および環状のアラニルアラニン (Ala-Ala) のうち、ホモキラルである方がヘテロキラルである方よりもエピ化しやすいことが明らかになった。

しかし、固体状態の環状アラニルアラニンではヘテロキラルな方がわずかにエピ化しやすいという結果が得られた。B. エピ化速度に関する本研究の結果を参考にし、オリゴペプチドが経ると考えられる A. 分別と C. 立体特異的縮合に関する研究結果を総合的にさらに考察することによって、ホモキラルペプチドが増殖するモデルが完成すると考えられる。たとえば、原始地球上の粘土状では水圏よりも高い線が発生したされることから、水溶性の低いヘテロキラルペプチドが粘土上でエピ化して水溶性

となり、ホモキラリティーが保存された可能性も考えられる。

<引用文献>

G. Tranter: The parity violating energy differences between the enantiomers of α -amino acids, *Chem. Phys. Lett.*, 120, 93–96 (1985).

K. Soai et al.: Asymmetric autocatalysis and amplification of enantiomeric excess of a chiral molecule, *Nature*, 378, 767–768 (1995).

T. Munegumi and A. Shimoyama: Development of homochiral peptides in the chemical evolutionary process: Separation of homochiral and heterochiral oligopeptides, *Chirality*, 15, S108–115 (2003).

T. Munegumi: Hydrophobicity of Peptides Containing D-Amino Acids, *Chem. & Biodiv.*, 7, 1670–1679 (2010).

T. Munegumi and K. Harada, Stereo-differentiation in the coupling reaction of Boc-DL-amino acid with poly-L (or D)-amino acids attached to polystyrene resin, *Chem. Lett.* 16, 1741–1774 (1987).

A review of conditions affecting the radiolysis due to ^{40}K on nucleic acid bases and their derivatives adsorbed on clay minerals: implications in prebiotic chemistry, Mosqueira et al.: *Origins of Life*, 26, 75–94 (1996).

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 9 件)

T. Munegumi, Epimerization of Alanine-Induced by γ -Rays Irradiation in Aqueous Solutions (*Origins of Life* 46 巻(2016)に掲載決定) 査読有
DOI: 10.1007/s11084-016-9507-0

T. Munegumi, Chemical Evolution of Amino-acetonitrile to Glycine under Discharge onto Primitive Hydrosphere: Simulation Experiments Using Glow Discharge, *Asian Journal of Chemistry*, 28, 555–561 (2015). 査読有
DOI: 10.14233/ajchem.2016.19405

T. Munegumi, Aldolase as a chirality intersection of L-amino Acids and D-sugars, *Origins of Life*, 45, 173–182 (2015). 査読有
DOI: 10.1007/s11084-015-9415-8

胸組虎胤, 気水間の放電・プラズマ、そして光によるアミノ酸生成, *Viva Origino*, 42, 45–46 (2014). 査読有

胸組虎胤, 起源、進化と生命の定義：理科教育への意義, *Viva Origino*, 42, 32–37

(2014). 査読有

T. Munegumi, Chemical evolution of simple amino acids to asparagine under discharge onto the primitive hydrosphere: simulation experiments using contact glow discharge, *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, **87**, 1208–1215 (2014). 査読有
DOI: 10.1246/bcsj.20140164

T. Munegumi, K. Akao, Y. Kawatu, T. Yamada, K. Harada, Heating Reactions of N-t-Butyloxycarbonyl-Asparagine and Related Compounds, *Asian Journal of Chemistry*, **26**, 6541–6548 (2014). 査読有
DOI:10.14233/ajchem.2014.16493

T. Munegumi, Y-Qing Meng, K. Harada, Polypeptide formation by heating N-t-butyloxy- carbonyl acidic amino acid derivatives, *Asian Journal of Chemistry*, **26**, 4716–4722 (2014). 査読有
DOI:10.14233/ajchem.2014.16185

T. Munegumi, T. Fujimoto, M. Takada, N. Nagashima, Epimerization of cyclic Alanyl-alanine in basic solutions, *Oriental Journal of Chemistry*, **30**, 23–30 (2014). 査読有
DOI: http://dx.doi.org/10.13005/ojc/300103

[学会発表](計 13 件)

胸組虎胤, Epimerization of oligopeptides induced by radiation rays, 日本地球惑星科学連合 2016 年大会 (アパホテル& リゾート東京ベイ幕張 (千葉県, 千葉市)), 2016.5.24.

胸組虎胤他, Epimerization of alanyl-alanine induced by gamma-rays irradiation, 日本化学会第 96 春季年会 (同志社大学京田辺キャンパス (京都府, 京田辺市)), 2016.3.25.

胸組虎胤, 生体物質のホモキラリティーの起原, 生命の起原および進化学会第 41 回学術講演会 (鳴門教育大学 (徳島県, 鳴門市)), 2016.3.15.

胸組虎胤, 接触グロー放電によるアミノアセトニトリルの反応: 原始水圏への気水間放電のシミュレーション, 生命の起原および進化学会第 41 回学術講演会 (鳴門教育大学 (徳島県, 鳴門市)), 2016.3.14.

胸組虎胤, Polypeptide formation from oligopeptides, 日本地球惑星科学連合 2015 年大会 (幕張メッセ (千葉県, 千葉市)), 2015.5.28.

胸組虎胤, Chemical evolutionary consideration of oxidation-reduction of aminoacetonitrile induced by gas-water discharge, 日本化学会第 95 春季年会 (日本大学船橋キャンパス (千葉県, 船橋市)), 2015.3.25.

胸組虎胤, オリゴペプチドからのポリペプチドへの化学進化, 生命の起原および進化学会第 40 学術講演会 (東京理科大学葛飾

キャンパス (東京都, 葛飾区)), 2015.3.7.
胸組虎胤, Estimation of homochirality of oligopeptides partly comprising D-amino acids, The 2nd International Conference of D-Amino Acid Research (栃木県総合文化センター (栃木県, 宇都宮市)), 2014.9.2-5.

胸組虎胤, Aldolase as a chiral intersection of amino acid and sugar, Origins 2014 (奈良県新公会堂 (奈良県, 奈良市)), 2014.7.7-14.

胸組虎胤, Development of the homochirality arising from oligopeptides, Origins 2014 (奈良県新公会堂 (奈良県, 奈良市)), 2014.7.8.

胸組虎胤, オリゴペプチドによるキラリティー増殖モデル, 生命の起原および進化学会第 39 学術講演会 (広島修道大学 (広島県, 広島市)), 2014.3.15.

胸組虎胤, 生命の定義, 起原, 進化, 認識, 生命の起原および進化学会第 39 学術講演会 (広島修道大学 (広島県, 広島市)), 2014.3.14.

胸組虎胤, A possible pathway of homochirality accumulated by oligopeptides, 日本地球惑星科学連合 2013 年大会 (幕張メッセ (千葉県, 千葉市)), 2013.5.21.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

胸組 虎胤 (MUNEGUMI, Toratane)
鳴門教育大学・大学院学校教育研究科・教授
研究者番号: 00200246