

アミノ酸が赤く光る，光らせる

((株)日本アプライドテクノロジー¹, 東農工大院BASE²) 石井 浩¹, 佐藤 親弘¹,

山田 太志², 関根 正彦², ○中田 宗隆²

【序】 これまでに，われわれは微弱な化学発光を強度ではなく，スペクトルとして観測するフーリエ変換型発光分光分析装置を開発し，過酸化水素の分解によって生じる一重項酸素が関与する発光メカニズムの解明などに応用してきた[1]. 本研究では，20種類のアミノ酸の熱ルミネッセンスを測定し，酸素中のリシン (Lys) から約 600 nm の赤い発光が最も強く観測されることを見出した. そこで，アミノ基と酸素との相互作用に着目し，Lys の塩酸塩やジシクロヘキシルアミン塩などについて同様の実験を行い，その発光メカニズムについて考察したので報告する[2].

【実験】 固体のアミノ酸を直径 20 mm のアルミ製の皿に入れ，窒素あるいは酸素雰囲気下で 180℃ に加熱した. 熱ルミネッセンススペクトルは日本アプライドテクノロジー社製の FT-CL-8310 で測定した[3]. 積算時間は約 1 分である. アミノ酸のジシクロヘキシルアミン (DCHA) 塩は DCHA のアセトン溶液とアミノ酸水溶液を混合した後に溶媒を溜去し，乾燥させて得た.

【結果と考察】 固体の Lys を試料として，窒素中で 180℃ に加熱したときには，熱ルミネッセンスはまったく観測されなかった (図 1 (a)). そこで，窒素を酸素に変えたところ，約 600 nm を最大強度とする熱ルミネッセンススペクトルが観測された (図 1 (b)). この結果より，リシンの発光には酸素が関与していることを確認できた. しかし，Lys 以外のアミノ酸では，アスパラギン (Asn) とアルギニン (Arg) がわずかに発光を示すだけで (強度は Lys の 30 分の 1 以下)，そのほかのアミノ酸はまったく発光を示さなかったことから，Lys の側鎖 (アミノ基) が発光に関与すると考えられた. そこで，Lys の塩酸塩について同様の実験を行ったところ，窒素中でも酸素中でも発光を示さないことがわかった. したがって，Lys の発光には酸素のほかに側鎖のフリーの NH₂ 基が関与していることを確認できた.

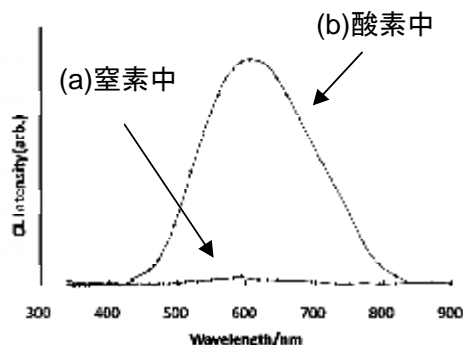
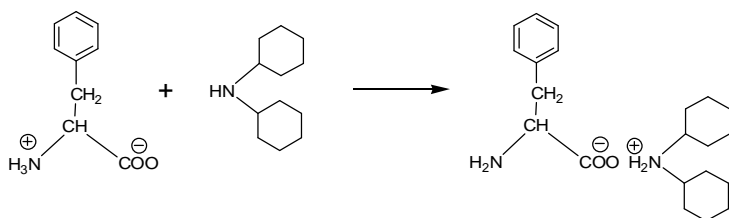


図 1 Lys の熱ルミネッセンススペクトル

以上の推論が正しければ，酸素とフリーのアミノ基があれば Lys と同様の発光を示す可能性がある. そこで，窒素中でも酸素中でも発光を示さなかったフェニルアラニン (Phe) について，以下のような考察と実験を行った. Phe は NH₂ 基と COOH 基を持っているが，固体試料中では両性イオンとなって分子間イオン結合をしているために，フリーの NH₂ 基を持っていない. そこで，Scheme 1 にしたがって，Phe の DCHA 塩を合成して熱ルミネッセンスの測定を行った.



Scheme 1

第 2 級アミンの DCHA は第 1 級アミンの Phe よりも塩基性が強いので、プロトンを奪ってイオンとなり、Phe の COO⁻基とイオン結合をするために、Phe にはフリーの NH₂ 基が生成する。実際に、Phe の DCHA 塩の熱ルミネッセンスを測定したところ、図 2 (a) のようなスペクトルを測定することができた。なお、発光の最大強度波長は Lys の場合と異なり、約 660 nm であった。

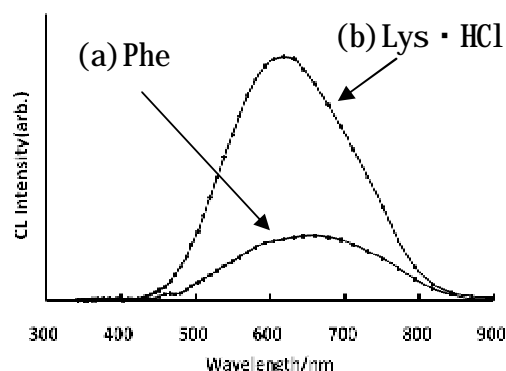
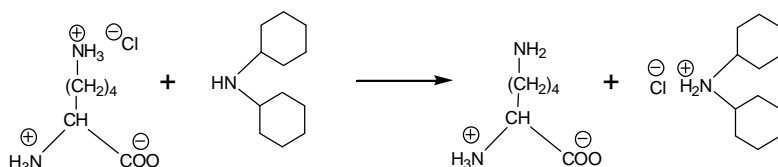


図 2 DCHA 処理後の熱ルミネッセンススペクトル

次に、窒素中でも酸素中でも発光を示さない Lys 塩酸塩の DCHA 塩の調製を試みた。Lys 塩酸塩の場合には、Phe と異なり、2 種類の NH₃⁺基がある。

しかし、HCl が強酸であり、DCHA の塩基性が Lys よりも強いので、DCHA の塩酸塩が生成する (Scheme 2)。すなわち、Lys の側鎖にフリーの NH₂ 基が生成すると考えられる。



Scheme 2

実際に、DCHA で処理したあとの Lys 塩酸塩の熱ルミネッセンスを測定すると、図 2 (b) のスペクトルが得られた。このスペクトルは 600 nm に最大強度波長をもち、Lys そのもののスペクトル (図 1 (a)) とほぼ一致した。したがって、Phe と異なり、Lys では DCHA 処理によって側鎖の NH₂ 基がフリーになったと考えられる。

側鎖に NH₂ 基を持つアミノ酸としては Asn, Arg, グルタミン (Gln) がある。上記の考察から、これらのアミノ酸も Lys と同様に酸素中で熱ルミネッセンスを示す可能性がある。実際に Asn と Arg は Lys よりも弱いけれども発光を示した。発光強度が弱くなった理由として、Asn は NH₂ 基の隣に C=O 基があり、また、Arg は NH₂ 基の隣に C=NH 基があり、フリーの NH₂ 基の孤立電子対との間でいくらかの共役系をつくり、酸素との相互作用が弱くなったためであると考えられる。また、Gln は 180°C で熱分解したために、熱ルミネッセンススペクトルを観測することができなかった。以上のように、アミノ酸を DCHA で処理すると熱ルミネッセンスが観測され、そのスペクトルが異なることがわかり、新たなアミノ酸分析法としての応用が期待できる。

[1] H. Ishii et al., *Chem. Phys. Lett.*, **474**, 285 (2009); [2] H. Ishii et al., *Chem. Phys. Lett.*, in press (2010); [3] K. Tsukino et al., *Chem. Phys. Lett.*, **457**, 444 (2008).