

ラマン分光法を用いた有機溶媒中アミノ酸濃度の定量分析手法の開発

【代表者】 石垣 美歌 島根大学 戦略的研究推進センター 助教

【共同研究者】 山本 達之 島根大学 生物資源科学部 教授
青木 薫 米子工業高等専門学校 教授

【研究の目的と内容】

化学合成に用いられるバッチ法では、各段階の合成反応停止後に適宜バッチ内の不純物を取り除き、合成物を回収する必要がある。一方フロー法では、最適化した条件下でダイレクトに合成物を取得できるため、近年新たな合成手法として注目されている。しかし、フロー法による合成手法の実用化のためには、反応をリアルタイムにモニタリングできる手法の開発が必須である。そこで、我々は合成ペプチドの反応効率を評価するため、合成物の濃度を定量評価する手法の開発を目指した。

本研究ではラマン分光法を用い、ペプチド合成反応中の生成物及び不純物由来のスペクトルパターンを把握できるか検証した。まず、アミノ酸試薬を水、または NaOH 水溶液に溶解させ、アミノ酸のラマンスペクトルデータセットを取得した。その結果、以下のように S/N の良いデータが得られ、それぞれのアミノ酸に特徴的なピークパターンにより、アミノ酸種を明確に識別できることが確認された (図 1 左)。

次に、保護基 (Boc 基) 付きのアミノ酸試料を有機溶媒 (DMSO) に溶解させてラマンスペクトルデータセットを取得した。その結果、DMSO 由来のラマンピークが非常に強く検出され、アミノ酸由来のピークを識別するためには、2 次微分スペクトルを計算する必要がある

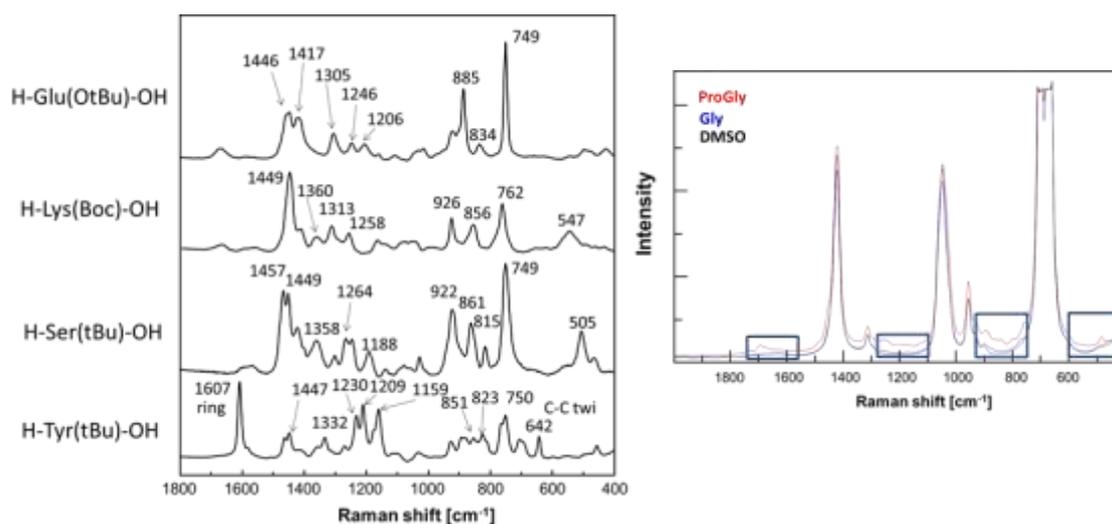


図 1 : (左) アミノ酸水溶液のラマンスペクトル. (右) Boc 基付きアミノ酸の DMSO 溶液のラマンスペクトル.

あることが分かった (図1右)。しかも、2次微分スペクトルの S/N 比が非常に悪いため、励起波長を変えて S/N 比が良くなる実験条件を検討した。532 nm 励起では、785 nm 励起に比べて S/N 比がかなり改善されたが、特に 1800-1500 cm^{-1} の指紋領域における S/N 比が悪く、アミノ酸種の識別に使用するための十分な精度を保証することが難しいことが分かった。しかし、1500-400 cm^{-1} において、アミノ酸残基に特徴的なラマンスペクトルパターンが現れることも確認できた。ペプチド鎖長の長いアミノ酸種についてもラマン測定を試みたが、上記の理由によりアミノ酸種の識別、及びペプチド合成反応系のモニタリング手法として、ラマン分光法を用いることの難しさが明らかとなった。

【研究の成果 (本研究によって得られた知見、成果、論文、学会発表、外部資金への応募見込み等)】

本研究では、ラマン分光法をペプチド合成反応のモニタリング手法として応用できるか検証したが、有機溶媒由来のラマンピーク強度が非常に強く、2次微分スペクトルを計算するなど、アミノ酸由来のピークを分離するための前処理が必要となることが分かった。しかも、溶媒中の不純物等の影響による散乱効果によってスペクトル精度が悪く、反応合成モニタリングに使用できる十分な精度を持ち合わせる事が難しいことが明らかとなった。近赤外分光法を用いて行った同様の実験を行った結果、原料、及び生成物となるアミノ酸種の識別をより簡便に実施することができることも分かった。しかし、1500-400 cm^{-1} において、アミノ酸残基に特徴的なラマンスペクトルパターンも確認できたことから、ラマン分光法、近赤外分光法の両者それぞれの強みをドッキングさせると、より精度の高いペプチド合成反応のモニタリング手法が確立できる可能性が示唆された。