

技術解説：ペプチド合成とDL分析について

ラセミ化とは

- 炭素原子には4つの結合手があるが、その4つの手に結合する原子がすべて異なる場合、その分子は**キラルティ（不斉）を持つ**という。
- キラルティを持つ分子は、右手と左手のように互いに鏡像である1対の立体異性体を持ち、これを鏡像異性体（**エナンチオマー：Enantiomer、対掌体**）と呼ぶ。対掌体は偏光面の回転方向を除けば全く同じ物理的・化学的性質を持っている。
- 立体異性体のうち、鏡像異性体でないものをジアステレオマーという。通常行われている**HPLCによる標識試薬による分析は、ジアステレオマーの分離分析**である。
- 鏡像異性体の関係にある分子は、一方をL体、もう一方をD体と呼び区別する。**アミノ酸は天然ではL体であるが化学合成ではD体もできる**。
- 化学合成の過程でL体、D体の等量混合物が生成されることを**ラセミ化**という。



**ペプチドの構成アミノ酸の一部がラセミ化すると、HPLC で完全に区別することはできない
生物学的作用は構造に依存するため、D体・L体の定量分析は重要である**



ハイペップ研究所のロゴはアミノ酸の分子が鏡に映っているところを示している。原子の並び方によって鏡像異性体ができる。図のように半透明の鏡扉に写っている分子を詳しく見るため、この扉を開き、分子認識を解明するのがハイペップ研究所の技術ノウハウである。

ペプチド含量、アミノ酸分析、エナンチオマーラベリング法

ペプチドには付着水や酸あるいはNaなどの塩が共存している場合が多く、実際のペプチドの含有量を正確に知るには、質量分析やシーケンサーでは不可能で、アミノ酸組成分析が不可欠である。エナンチオマーラベリング法（ELAB法）は、ペプチド、タンパク質中のSer, Thr, Trp, Tyrなども含めすべてのアミノ酸を正確に定量分析できる方法である。

本法は、醗酵生成物や食品の検定、加齢や疾病の解明研究のための生体組織・体液分析にも威力を発揮する。

開発から30年経って重要視されてきたDL分析の歴史

1980年頃：ドイツでDL分析法の開発が始められる。ドイツから帰国したハイペップ研究所の創業者はその後、島津製作所で自動DL分析装置を開発したが、なかなか広まらなかった

2000年頃：その後も軒原らは改良を続け、装置販売から受託分析に移行。当時盛んに行われたコンビケムで使われる非天然アミノ酸にまで、当該分析法の適応範囲を拡張した

2010年頃：当該分析法はFDAのGLP/GMP承認を得た（バリデーション確立）さらに、同一システムを用いて微量検体に残存する水分定量、有機溶媒・有機酸（残存TFA）の定量もGLP/GMP承認を得た



エナンチオマーラベリング法を用いた自動的分析システム(2000)

アミノ酸組成、エナンチオマー分析法に関する基礎的論文／過去の資料

- Frank, H, et al. Rapid gas chromatographic separation of amino acid enantiomers with a novel chiral stationary phase, J. Chromatogr. Sci., 15,174-176, 1977
- Frank, H, et al. Enantiomer labeling, a method for the quantitative analysis of amino acids J. Chromatogr., 167,187-196, 1978
- Gerhardt, J, et al. Automated Pre-Column Derivatization in Gas Chromatography Amino Acid Analysis via Enantiomer Labelling: An application of Autoderivat 100, Chromatographia, 19, 251-253, 1984
- Frank, H, et al. Quantitative Gas Chromatography Using a New Automated Derivatizer, J. High Resolution Chrom. & Chrom. Comm, 8, 411-414, 1985
- Bayer, E, et al. Capillary Gas Chromatographic Analysis of Amino Acids by Enantiomer Labelling, J. Assoc. Off. Anal. Chem., 70, 234-240, 1987
- 軒原清史他, エナンチオマーラベリング法による新規のD/Lおよび定量アミノ酸分析システム, 島津評論, 48, 247-252, 1991
- Nokihara, K, et al. Instrumentation and Applications of a Novel Amino Acid Analyzer, Frontiers and Horizons in Amino Acid Research, ed. K. Takai, Elsevier Science Publishers BV, Amsterdam, The Netherlands, 391-395, 1992
- Gerhardt, J, et al. Design and applications of a novel amino acid analyzer for D/L and quantitative analysis with the use of gas chromatography. In: Smith, JA and Rivier, JE, editors. Peptides: Chemistry, Structure and Biology. Leiden: Escom Science Publishers BV p 531-532, 1992
- Gerhardt, J and Nicholson, GJ. Unambiguous determination of the optical purity of peptides via GC-MS. In: Hodges, RS and Smith, JA, editors. Peptides: Chemistry, Structure and Biology. Leiden: Escom Science Publishers BV, p 241-243, 1994
- Schurig, V, et al. Gas-chromatographic enantiomer separation of proteinogenic amino acid derivatives: Comparison of Chirasil-Val and Chirasil-γ-Dex used as chiral stationary phases. Enantiomer, 4,297-303, 1999
- Nokihara, K., and Gerhardt, J., Development of an Improved Automated Gas-chromatographic Chiral Analysis System: Application to Non-natural Amino Acids and Natural Protein Hydrolysates, Chirality, 13, 431-434, 2001

