

アナリティカルレポート

分析化学的手法による多成分系 D-,L-アミノ酸の光学分割の
精査とその限界高野 淑識^{®1}, 丸茂 克美¹, 小林 憲正², 高橋 淳一³Separation and detection limit of chiral amino acids in multiple
components by analytical techniquesYoshinori TAKANO¹, Katsumi MARUMO¹, Kensei KOBAYASHI² and Jun-ichi TAKAHASHI³¹ Institute of Geology and Geoinformation, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), AIST Central 7, 1-1-1, Higashi, Tsukuba-shi, Ibaraki 305-8567² Department of Chemistry and Biotechnology, Yokohama National University, 79-5, Tokiwadai, Hodogaya-ku, Yokohama-shi, Kanagawa 240-8501³ NTT Microsystem Integration Laboratories, 3-1, Wakamiya, Morinosato, Atsugi-shi, Kanagawa 243-0198

(Received 14 June 2004, Accepted 22 October 2004)

The separation of hydrolyzed chiral amino acids in multiple components, such as high-molecular-weight interstellar type complex organics, was verified to compare with meteoritic amino acids. Reversed-phase high-performance liquid chromatography (RP-HPLC) gave $\pm 0.34\%$ ($n = 7$) regarding the standard deviation (σ) of enantiomeric excesses ($\%D - \%L$) of D, L-alanine in a hydrolyzed fraction of complex organics. The chiral separation of D, L-alanine by the RP-HPLC method might be more convenient than gas chromatograph combined with the mass spectrometry (GC/MS) method in asymmetric synthesis verification. Possible pathways for the asymmetric synthesis of amino acid precursors (not asymmetric photolysis of monomer amino acids) were considered in terms of the detection limit of statistically significant enantiomeric excesses.

Keywords : chiral separation; asymmetric synthesis; meteorite; complex organics.

1 緒 言

アミノ酸は、地球内外を問わずごく有りふれた生体関連分子である。アミノ酸に関する研究は、我々の日常生活に直接関係する医学や食品工学はもちろんのこと、多くの融合領域や新領域でも盛んに研究されるようになってきた。環境分析化学や有機地球化学あるいは有機宇宙化学などの分野においても、なじみ深い存在となっている。既知の地球生命のタンパク質を構成するアミノ酸の特徴は、不斉炭

素の α -位にアミノ基を持つ α -アミノ酸である。自然界には、 β -アミノ酸や γ -アミノ酸などの非タンパク性アミノ酸も存在する。また、タンパク質を構成するアミノ酸は、L-体のアミノ酸から構成される。タンパク質以外の生体中（例えばペプチドグリカンの構成要素¹⁾²⁾）には、大型生物であっても微生物であっても局所的に D-体アミノ酸が存在する³⁾⁴⁾。また、生命の老化とともに部分的にタンパク質中で D-体アミノ酸へと立体反転（ラセミ化）することもあるが⁵⁾、基本は L-体アミノ酸である。有名な Miller の実験のように無生物的に生成されるアミノ酸は、ラセミ体であるのにタンパク質を構成するアミノ酸は、L-体だけである。前生物的にラセミ体アミノ酸からはタンパク質のような高分子を形成することはできない。アミノ酸の不斉起源に関するなどは、19 世紀の Louis Pasteur による生体分

¹ 独立行政法人産業技術総合研究所：305-8567 茨城県つくば市東 1-1-1 中央第 7 事業所

² 横浜国立大学大学院工学研究院：240-8501 神奈川県横浜市保土ヶ谷区常盤台 79-5

³ NTT マイクロシステムインテグレーション研究所：243-0198 神奈川県厚木市森の里若宮 3-1

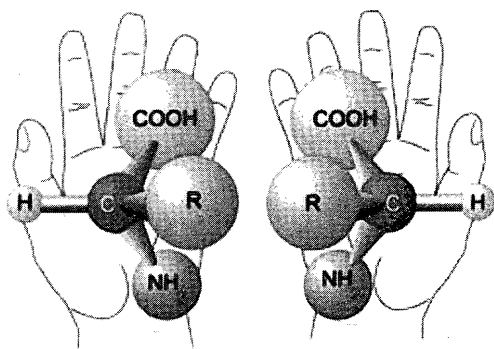


Fig. 1 D-, L-form amino acids and handedness

A "chiral" molecule is one that is not superimposable with its mirror image⁴¹⁾.

子の光学活性の発見⁶⁾以来いまだに解決されていない。そのなぞを解くかぎと背景については、Bonner (1991)⁷⁾や原田 (1980)⁸⁾の優れた総説がある。本稿では、従来議論される機会が少なかった星間塵型の高分子量複雑有機物に含まれるアミノ酸の立体化学的な観点から不斉(光学活性)の起源と絶対不斉合成プロセスの可能性を探るため、その基礎的検討を行ったので報告する。

2 アミノ酸の光学分割

炭素数2のグリシンや γ -アミノ酪酸に代表される非タンパク性アミノ酸以外のアミノ酸には、D-体とL-体の二つの立体異性体(鏡像異性体)が存在する(Fig. 1)。旋光性と呼ばれる光学的性質も正反対なので光学異性体とも呼ばれる。また、右手と左手の関係と同じことから対掌体(エナンチオマー)とも呼ばれる。無生物的な生成過程では、有機反動的な不斉分解や不斉合成を意図しない限り(例えばStrecker反応)、D-:L-=50:50のラセミ体混合物として生成される。立体認識する鑄型や触媒を用いない合成経路を特に絶対不斉合成という⁸⁾。ラセミ体を光学活性体に分割すること、つまり光学分割の技術は、飛躍的に進歩し、実用性の高い様々な方法が開発されている。それらの方法を大別すると、以下ようになる⁹⁾。

- 1) 結晶化法: 結晶化の過程で分割する方法。自然分晶法や優先晶出法なども含む。
- 2) クロマトグラフ法: カラム中の不斉中心との相互作用を利用する方法。ジアステレオマー法を含む。
- 3) 酵素的分割法: 酵素の立体特異性を利用する方法。

これらの方法は、アミノ酸の不斉起源に関する研究と密接に関係する。近年の炭素質いん石中の有機物に関する研究と並行して、アミノ酸の不斉起源に関する研究が国内外で盛んに行われている。アミノ酸の比率の表し方は、光学

異性体比(D/L比)とエナンチオ過剰率(%D-%L)がある。例えば、D-:L-=49.0:51.0の場合、光学異性比はD/L=0.96であり、エナンチオ過剰率は%D-%L=2.0%と表記する。一般にラセミ体の構成については、鏡像体どうしの相互作用の様式によって、次の3種類に分類できる¹⁰⁾。

- [1]ラセミ混合物(racemic mixture 又は conglomerate): 相互の鏡像体結晶の等モル量が単に混じり合っているもの。
- [2]ラセミ化合物(racemic compounds 又は racemate): 等モル量の鏡像体どうしが結合してそれぞれの鏡像体とは異なる一種の分子化合物を形成しているもの。
- [3]ラセミ固溶体(racemic solid solution): 鏡像体どうしが任意の割合において均一固相を形成するもの。

この定義に従うのであれば、アミノ酸の絶対不斉分解は、ラセミ混合物[1]のような出発物質を用いるスキームであり、絶対不斉合成は、ラセミ化合物[2]のような出発物質を用いるスキームであるといえよう(Fig. 2)。星間物質に含まれる化合物をモデルとした絶対不斉合成ならば、単成分ではなく多成分系の組み合わせを考慮した反応経路がふさわしいと言える。

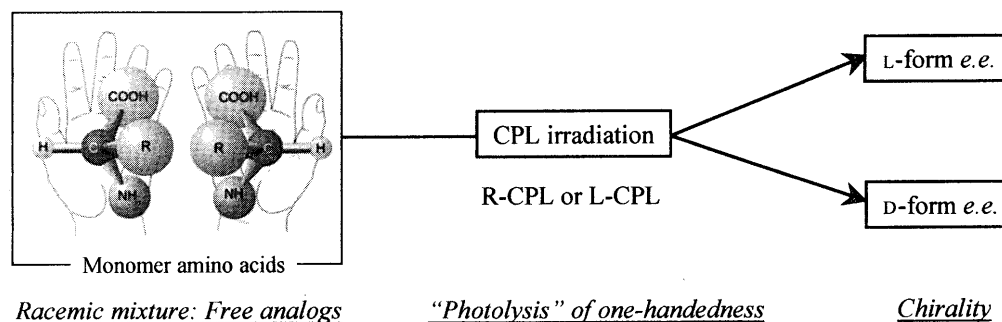
特に、不斉触媒や鑄型を用いない不斉反応経路、いわゆる絶対不斉分解や絶対不斉合成の実験生成物は、アミノ酸のD-体とL-体との差(エナンチオ過剰率)が非常に微小であり、評価が難しい。Fischerによって、初めて不斉合成なる言葉が議論されて以来¹¹⁾、厳密な意味でのアミノ酸の絶対不斉合成を報告した例はない。そこで本稿では、光学異性を有するアミノ酸のD-体とL-体の光学分割を分析化学的に精査し、その評価の限界を議論した。また、従来の高輝度円偏光を用いたモノマーアミノ酸(単成分系)の不斉分解による経路ではなく、炭素質いん石中に含まれるような高分子量の複雑有機物(多成分系)からの絶対不斉合成に到達するための予察を行った。その要点は、多成分系有機物からアミノ酸画分を確実に回収できていることの証明(すなわち、単成分系と同じ分析精度を得ること)、統計的有意を導き出すためのエナンチオ過剰率の標準偏差(σ)及び分析数(n)の提示を行うことである。

3 実験

3.1 試薬

すべての実験試薬は、試薬特級を用いた。純水は、イオン交換水をMillipore Milli-Q LaboSystemTM及びMillipore Simpli Lab-UV (Japan Millipore Ltd., Tokyo, Japan)により精製した。また、使用したPyrex製ガラス器具は、使用

(a) Scheme of asymmetric photolysis



(b) Scheme of asymmetric photosynthesis

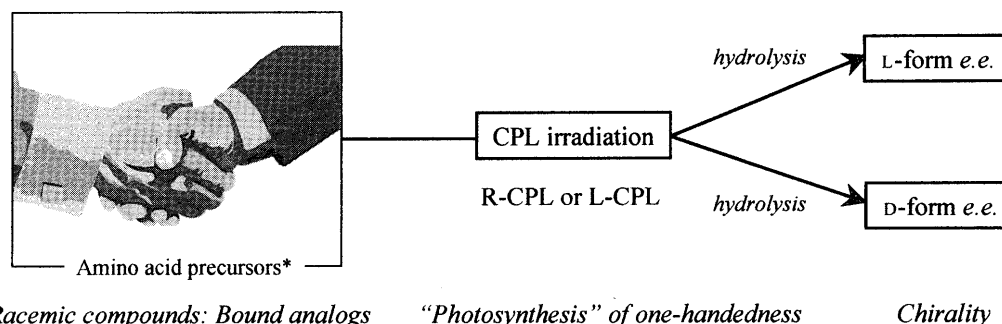


Fig. 2 Relationship between (a) asymmetric photolysis and (b) asymmetric photosynthesis regarding free- amino acid monomers and bound- amino acid precursors, respectively

* molecules that provide amino acids after hydrolysis.

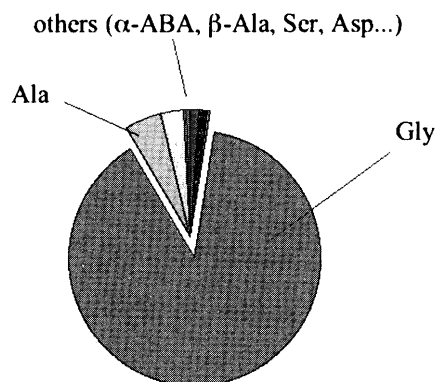


Fig. 3 Molar ratio (mole%) of abiotically synthesized amino acids from the interstellar type gas mixtures of carbon monoxide (350 Torr), ammonia (350 Torr), and water (20 Torr) by 3 MeV proton irradiation

Abbreviation of each mole%: Glycine 88.9%; Alanine, 4.73%; Serine, 1.14%; Aspartic acid, 1.13%; Valine, 0.15%; Glutamic acid, 0.06%; Threonine; 0.02%, Isolucine; trace amount; Leucine, trace amount; α-aminobutyric acid, 3.16%; β-alanine, 0.60%; α-amino-adipic acid, 0.10%; γ-aminobutyric acid, 0.03%; β-aminobutyric acid, trace amount. The synthesized amino acids appeared after acid-hydrolysis. Only trace amount of glycine were detected before acid-hydrolysis. Fundamental data is cited from Ref.12.

前に 7 M HNO₃ 中に 7 時間以上浸した。その後イオン交換水でよく洗浄してから風乾し、アルミニウム箔を巻いてからオープン中 500℃ で約 2 時間焼いて有機物を完全に除去した。

3・2 複雑有機物中にあるアミノ酸前駆体の無生物的合成

まず、D,L-アラニンを含むアミノ酸前駆体を室内模擬実験で無生物的に合成した (Fig. 3)。出発物質は、模擬星間ガスと考えられる高純度の一酸化炭素ガス (350 Torr) とアンモニアガス (350 Torr) と水蒸気 (20 Torr) を Pyrex 製ボトル (400 ml) に封入し、東京工業大学所有のヴァンデグラフ加速器からの陽子線 (3 MeV) を照射した (Fig. 4)。荷電粒子の一つである陽子線は、宇宙放射線を構成する主要成分である。照射による一次生成物は、分子量が最大で 3000 Da 程度¹²⁾で、種々のアルキルアミド化合物や多環式化合物、複素環式化合物など複雑な有機物から構成されること¹³⁾が分かっている。その複雑有機物を加水分解して初めてアミノ酸が検出されることから、照射により生成したのは遊離のモノマーアミノ酸そのものではなく、「アミノ酸前駆体」¹⁴⁾と考えられる。

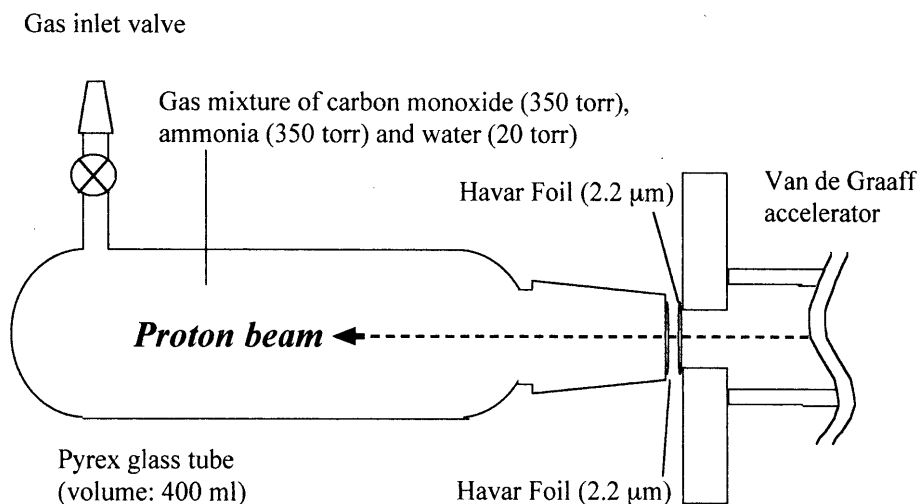


Fig. 4 Schematic view of 3 MeV proton irradiation to synthesize complex organics including amino acid precursors

P^+ beam was obtained from Van de Graaff accelerator at Tokyo institute of Technology.

3・3 多成分系にあるアミノ酸の光学分割

3・2 で生成した黄褐色の照射試料は、酸加水分解 (6 M HCl, 110°C, 24 時間) してから陽イオン交換樹脂 (Bio-Rad Co., AG50W-X8: 200~400 mesh) により 1 M HCl, 1 M NaOH, イオン交換水で前洗浄を行い, 10% アンモニア水で溶出し, アミノ酸画分を精製した。そのフラクションを乾燥し, 1 ml の 0.1 M HCl で pH 1 に定容・調整した。次に *o*-フタルアルデヒド (OPA) を 5 mg, *N*-アセチル-L-システイン (NAC) を 7 mg それぞれひょう量し, 1 ml の 0.2 M ホウ酸緩衝液 (pH 10) に溶解させた。0.2 M ホウ酸緩衝液 (200 μ l), OPA ホウ酸緩衝溶液 (100 μ l), NAC ホウ酸緩衝溶液 (100 μ l), 試料溶液 (100 μ l) を 2 : 1 : 1 : 1 の比率になるようにマイクロピペットで混ぜ合わせ, 常温でジアステレオマーへと誘導体化を行った (プレカラム誘導体化法)。そのフラクションを逆相-高速液体クロマトグラフ (ポンプ: CCPM II, TOSOH, 検出器: TOSOH FS fluorometric 8020, カラム: YMC-pack Pro C18, 4.6 mm i.d. $\times$ 250 mm) に供し, 励起波長 355 nm と吸収波長 435 nm で蛍光検出を行った¹⁵⁾。D,L-アラニンを溶離する最適条件として作成したグラジエントプログラムは, 酢酸緩衝液 (溶離液 A: 40 mM, pH 6.5) とメタノール (溶離液 B: 100%) を用いて次のように行った。

10 分 (溶離液 B: 0%) — 25 分 (溶離液 B: 10%) — 65 分 (溶離液 B: 20%) — 80 分 (溶離液 B: 20%) — 85 分 (溶離液 B: 40%) — 115 分 (溶離液 B: 60%) — 120 分 (溶離液 B: 80%) — 135 分 (溶離液 B: 0%)。

蛍光検出シグナルにより得られた D,L-アラニンのピーク面積値からエナンチオ過剰率を求め, 繰り返し測定からその標準偏差を求めた。

以上の実験結果をガスクロマトグラフ/質量分析計 (GC/MS) による炭素質いん石試料の分析結果¹⁶⁾と併せて考察した。

3・4 単成分系にあるアミノ酸の光学分割

単成分系のアミノ酸として標準試料 D,L-アラニン (純度 98.5%, 東京化成製, A0178) をイオン交換水に溶解し, 標準水溶液を作製した。この標準水溶液を 3・3 の実験手順に従い, 同様にエナンチオマーの分離を行った。逆相高速液体クロマトグラフ (RP-HPLC) システムは同一のものを使用した。クロマトグラフ法による光学分割のほか, 円二色性による評価も比較・考察した。

4 結果と考察

4・1 多成分系にある D,L-アミノ酸の光学分割とその標準偏差

Fig. 5 に RP-HPLC による代表的なクロマトグラムを示す。Table 1 にエナンチオ過剰率 (%D-%L) の標準偏差を示す。一連の実験手順で標準偏差 $\pm 0.34\%$ という極めて良好な値が得られることが分かった。すなわち, 本実験のように, 非偏光である陽子線照射から化学合成した D,L-アラニンは, ± 0.34 の範囲において理想的に D : L = 50 : 50 である。光学異性を有するアミノ酸のうち, 化学進化などを意図した模擬実験では Fig. 3 のように, 炭素数 3 の D,L-アラニンの収率が最も良い。アミノ酸を構成する炭素数の増加に伴って, それらの生成量は指数関数的に減少する¹³⁾。炭素質いん石中のアミノ酸や有機酸についても同様である¹⁷⁾¹⁸⁾。

3・3 に示したように, RP-HPLC に適合させたプレカラ

ム誘導体化法は、常温下で混合させることで誘導化が進行する。GC/MS 法でよく用いられる HCl/イソプロパノール (エステル化) とトリフルオロ酢酸 (アシル化) による加熱誘導体化により修飾されたトリフルオロアセチルイソプロピルアミノ酸誘導体の手法よりも簡便な方法である。しかし、RP-HPLC 法では GC/MS 法のように選択イオンクロマトグラム (SIM) の処理をできないという短所もある。比較として Table 1 に炭素質いん石から酸加水分解抽出された D,L-アラニンの GC/MS 法によるエナンチオ過剰率を示した。マーチソンいん石の D,L-アラニンのエナンチオ過剰率については、GC/MS で測定する前処理段階で陽イオン交換樹脂を用いてアミノ酸画分に精製した場合¹⁶⁾と精製しなかった場合¹⁹⁾、そのエナンチオ過剰率の評価に大きな差異が生じた事例である。Pizzarello ら (2000)¹⁶⁾によれば、多種多様な有機物を含む炭素質いん石のような試

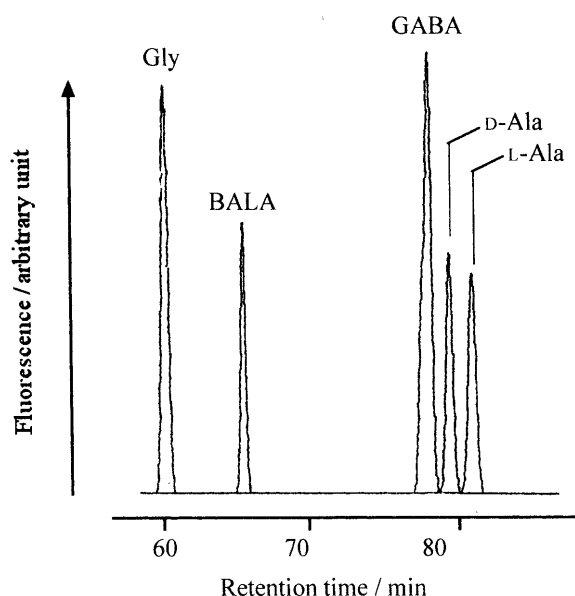


Fig. 5 Representative chromatograms of amino acid standard reagent by reversed phase (RP-) HPLC method by pre-column derivatization with *o*-phthalaldehyde and *N*-acetyl-L-cysteine

Separation of D-, L- amino acids were repeated in the same manner to determine standard deviation (σ). Abbreviations: Gly, Glycine; BALA, β -Alanine; GABA, γ -aminobutyric acid; D-Ala, D-Alanine; L-Ala, L-Alanine

料では、陽イオン交換樹脂等を用いてアミノ酸画分を精製しない場合、ある昇温プログラムで GC/MS を運転させると L-アラニンの保持時間にオーバーラップするゴーストピークが現れ²⁰⁾、それが見掛け上のエナンチオ過剰率に反映されてしまうため、正確な値を評価できない可能性を指摘している¹⁶⁾。

このため、円偏光などを利用した絶対不斉分解や絶対不斉合成の実証をより確実にするためには、一方の円偏光で一方のエナンチオ過剰を評価し、逆にもう一方の円偏光でもう一方のエナンチオ過剰を評価するような反証が必要である²¹⁾。

4.2 単成分系にある D,L-アミノ酸の光学分割とその標準偏差

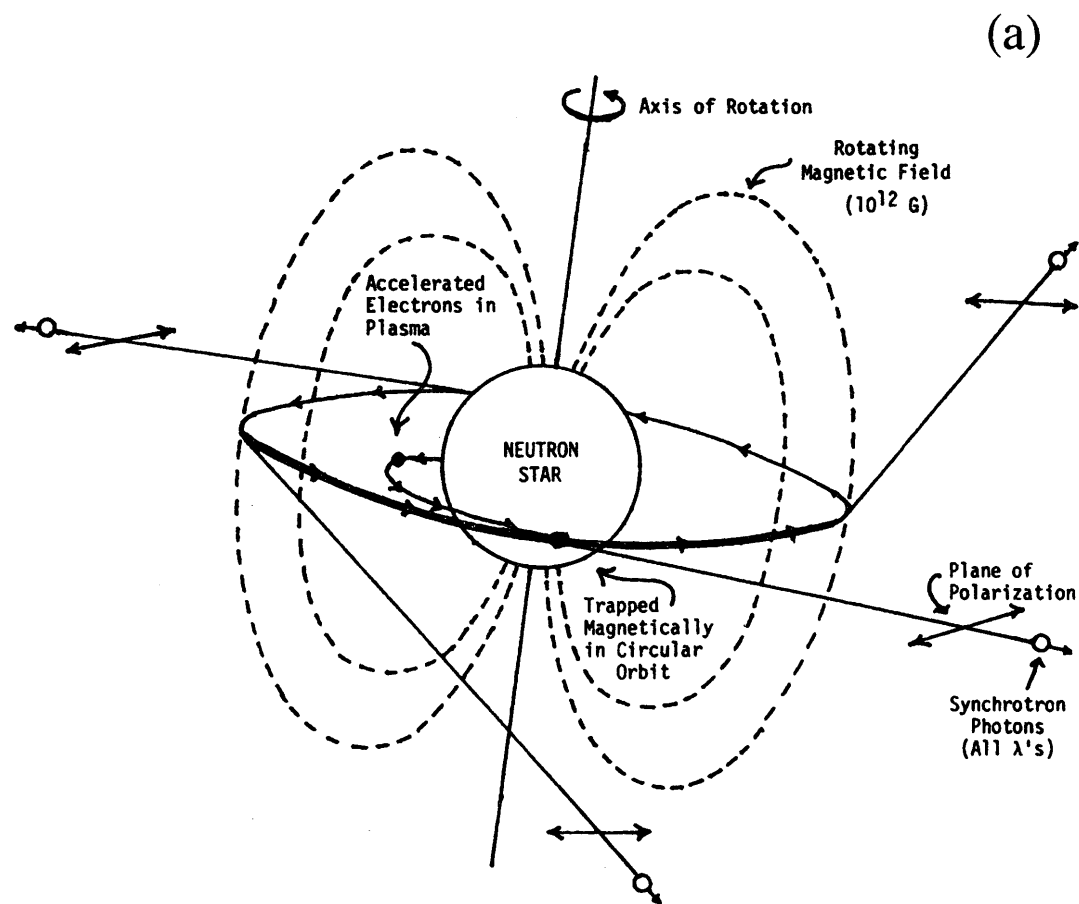
Table 1 のように、RP-HPLC による D,L-アラニン標準水溶液から得たエナンチオ過剰率の標準偏差は、 $\pm 0.33\%$ であった。このことは、4.1 の多成分系有機物からアミノ酸画分を確実に回収できていることを証明したと言える。

単成分系のアミノ酸であればエナンチオマーに誘導体化しなくとも光学活性カラムを用いることにより、短時間で簡便にエナンチオ過剰率を測ることができる²²⁾²³⁾。しかし、円偏光照射などによってアミノ酸の絶対不斉分解を意図する場合、その分解生成物などのピークのリーディングやテーリングによって、評価すべき本来の D,L-アミノ酸のエナンチオ過剰の標準偏差が変動する可能性がある。誘導化の必要のない光学活性カラムを使用する方法よりも長時間を要するものの RP-HPLC によるグラジエント溶離のほうがエナンチオ過剰率の評価は行いやすい。

単分子系でモノマーアミノ酸のラセミ体に一方の「高輝度な円偏光 (単色光)」を照射すれば、一方のアミノ酸が選択的に分解して不斉が生じることが分かっている^{21)24)~26)}。単成分系の試料であればクロマトグラフ法以外にも円二色性を評価することにより、正確なエナンチオ過剰率を評価することができる²⁴⁾。ただし、紫外線領域などの円偏光照射を行うと、脱炭酸や脱アミンという分解反応だけでなく、 γ -位に水素があるアミノ酸では、Norrish Type II という分解反応も起きる²⁴⁾。このため、ラセミ体アミノ酸から一方の円偏光照射することで不斉分解

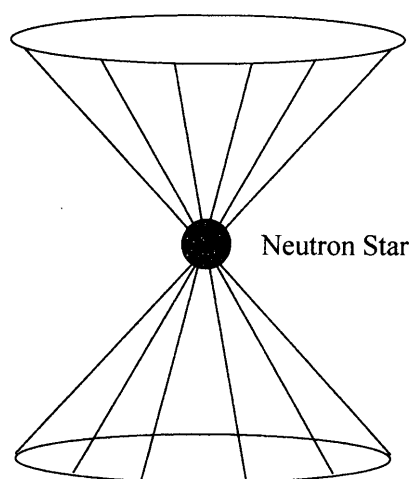
Table 1 Standard deviation (σ) of D,L-alanine enantiomers by RP-HPLC method and GC/MS method

Method	Amino acid sample	Component	SD (σ)	Number of analysis	Remarks
RP-HPLC	Standard reagent	several	± 0.33	7	this study
	Proton irradiation product	multiple	± 0.34	7	this study
GC/MS	Standard reagent	several	± 0.3	16, 27	Ref. 16
	Murchison meteorite	multiple	± 0.4	15	Ref. 16
	Murray meteorite	multiple	± 0.3	21	Ref. 16



Domain of right elliptically and circularly polarized synchrotron photons

(b)



Domain of left elliptically and circularly polarized synchrotron photons

Fig. 6 (a) Production of synchrotron radiation from supernova remnant; (b) domains of polarization of synchrotron radiation around neutron star

Modified from the Ref. 33

反応を引き起こそうとすると, 円二色性の測定を阻害する可能性のある二次生成物が混じっていることになる. 円偏光照射による絶対不斉分解を決定する要因が, 異方性因子 (g-factor) で定義される. 異方性因子と光分解率とエナンチオ過剰率の理論的な相関関係を示した Bolavaine (1973)²⁷⁾ らの報告があるが, 実際の高輝度円偏光照射実験の結果では, 出発物質のアミノ酸に固有とされる理論値と実験値との間に微小な差が生じた事例もある²¹⁾. エナンチオ過剰率の pH 依存性については, 既報²⁴⁾²⁸⁾に詳述されている. 単一波長の円偏光がある特定の極大吸収波長に作用しやすいことを示している.

4.3 本法を利用した今後の展望

本法のようなジアステレオマー法は, 光学異性体をほかの光学活性化合物と反応させることにより, ジアステレオマー誘導体にする方法である. ジアステレオマーとなった化合物は, カラムとの相互作用や蛍光強度などの物理的・化学的性質にも差が生じる. このため, ラセミ体として市販されている試料が真の意味でラセミ体である保証が皆無であるのと同様に, 室内模擬実験 (ここでは荷電粒子である陽子線照射を使用) による生成物が完全なラセミ体であるという証明を厳密に行うのは難しい. 算出された標準偏差の範囲でラセミ体であるということしかできない. また, 炭素質いん石中^{28)~30)}の検証のように, エナンチオ過剰があるか否かの微妙な判定は, 標準試料と実験試料データの 2 群比較を行い, お互いが独立したデータ群であることを検定し, その統計的有意性を示す方法がある^{28)~30)}. この場合, データの信頼度 (significance) は, エナンチオ過剰率の標準偏差 (σ) と分析数 (n) に依存する^{28)~30)}.

前述のような単色光ではない種々のスペクトルが混合している連続光 (白色光) は, 円二色性の正と負それぞれのコットン効果の積分値を相殺 (Kuhn-Condon zero sum rule) するので不斉の検証に意味がないという意見もある³¹⁾³²⁾. しかし, 宇宙をはじめ自然界に存在する光は幅広いレンジをもった連続光である. 超高密度である中性子星から放出されるシンクロトロン放射光³³⁾は, X 線領域から紫外, 可視, 赤外に及ぶ (Fig. 6). マーチソンいん石やマレーいん石中から検出されたアミノ酸 (前駆体) の不斉の起源を光化学的に探求するのであれば, 連続光を用いた上で高分子量複雑有機物のような多成分系有機物を対象として検証することが要求されよう.

そこで, Fig. 6 のようなアイデアに基づいて, 3.2 で生成した高分子量複雑有機物を用い, NTT マイクロシステム研究所所有のシンクロトロン放射光からの紫外線領域連続円偏光を照射する実験を行った. 本法の光学分割手法により, D,L-アラニンのエナンチオ過剰率を求めたところ, 左右それぞれの円偏光照射で円偏光を照射していないデー

タ群に対して統計的有意の L-アラニンと D-アラニンの双方のエナンチオ過剰率が得られた. 右円偏光と左円偏光照射のいずれの実験も D-アラニン又は L-アラニンのエナンチオ過剰率は, 1% 未満と極めて微小であったが, 従来の不斉分解実験とは本質的に異なる厳密な意味でのアミノ酸の絶対不斉合成を達成したといえる³⁴⁾³⁵⁾. 本法による多成分系有機物に含まれるアミノ酸の光学分割は, 有用であることを示した.

5 ま と め

1970 年代から炭素質いん石のアミノ酸分析が行われるようになり, 当初は検出されたアミノ酸がラセミ体であることが地球外起源有機物を示す証拠と結論付けられてきた³⁶⁾. しかし, 分析技術の進歩とともに近年になっていん石中のアミノ酸が再度精査されたところ, マーチソンいん石やマレーいん石から統計的に有意な L-体アミノ酸のエナンチオ過剰 (2.8~9.2%)¹⁶⁾²⁸⁾ や親生元素同位体比及び鉱物学的特徴³⁷⁾³⁸⁾が明らかになっている. このため, 太陽系形成後から 46 億年の現世に至る過程でなんらかの不斉要因が作用した可能性があり⁷⁾³³⁾, 最初の生命が誕生する前にアミノ酸の光学活性が発現していたことを示唆するものである.

出発物質としての微小なエナンチオ過剰が, 飛躍的に増幅され大きなエナンチオ過剰を持つ最終生成物に増幅される不斉自己増殖反応がある³⁹⁾⁴⁰⁾. この化学反応は, 生体分子光学活性の観点から物質と生命のギャップをつなぐ重要な反応経路と考えられる.

本研究を遂行するに当たって, 実験補助と建設的な意見をいただいた東京工業大学ヴァンデグラフ加速器センターの川崎克則博士, 横浜国立大学大学院工学研究院の金子竹男氏にお礼を申し上げる. また, アリゾナ州立大学化学系の John R. Cronin 名誉教授と Sandra Pizzarello 博士からは, 有用な助言をいただいた. 本研究の一部は, 科学研究費補助金 [No. 14340170], 井上科学振興財団, 文部科学省科学技術振興調整費研究課題「アーキアン・パーク」の助成を受けたので付記する.

文 献

- 1) J. Nyberg, J. Csap, A. B. Malmgren, A. Winter: *Org. Geochem.*, **32**, 623 (2001).
- 2) M. Friedman: *J. Agric. Food. Chem.*, **47**, 3457 (1999).
- 3) Y. Nagata, T. Fujiwara, K. Kawaguchi-Nagata, Y. Fukumori, T. Yamanaka: *Biochim. Biophys. Acta*, **1379**, 76 (1998).
- 4) Y. Nagata, J. Tagashira: *Viva Origino*, **26**, 321 (1998).
- 5) N. Fujii: *Origin Life Evol. Biosphere*, **32**, 103 (2002).
- 6) L. Pasteur: *Ann. Chim. Phys.*, **24**, 442 (1848).
- 7) W. A. Bonner: *Origins Life Evol. Biosphere*, **21**, 59 (1991).
- 8) 原田 馨: 化学総説 30「物質の進化」, 化学進化—光学活性の起原と進化, 145 (1980).
- 9) 山中 宏, 田代泰久: 化学総説 6「光学異性体の分離」, 光学活性体のプレパレーション, 2 (1989).

- 10) 千畑一郎, 戸井滋二, 山田茂樹: 化学総説 4「不斉反応の化学」, 光学分割とラセミ化, 233 (1974).
- 11) E. Fischer: *Chem. Ber.*, **27**, 3189 (1894).
- 12) Y. Takano, A. Ohashi, T. Kaneko, K. Kobayashi: *Appl. Phys. Lett.*, **84**, 1410 (2004).
- 13) Y. Takano, T. Tsuboi, T. Kaneko, K. Kobayashi, K. Marumo: *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **77**, 779 (2004).
- 14) K. Kobayashi, T. Kasamatsu, T. Kaneko, J. Koike, T. Oshima, T. Saito, T. Yamamoto, H. Yanagawa: *Adv. Space Res.*, **16**, 21 (1995).
- 15) 工藤潤也, 高野淑識, 金子竹男, 小林憲正: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **52**, 35 (2003).
- 16) S. Pizzarello, J. R. Cronin: *Geochim. Cosmochim. Acta*, **64**, 329 (2000).
- 17) J. R. Cronin, S. Pizzarello: *Geochim. Cosmochim. Acta*, **50**, 2419 (1986).
- 18) A. Shimoyama, R. Shigematsu: *Chem. Lett.*, **1994**, 523.
- 19) M. H. Engel, S. A. Macko: *Nature*, **389**, 265 (1997).
- 20) S. Pizzarello, J. R. Cronin: *Nature*, **394**, 236 (1998).
- 21) J. J. Flores, W. A. Bonner, G. A. Massey: *J. Am. Chem. Soc.*, **99**, 3622 (1977).
- 22) Y. Takano, T. Kaneko, K. Kobayashi, J. Takahashi, T. Hosokawa, S. Pizzarello, J. R. Cronin: *Viva Origino*, **29**, 21 (2001).
- 23) Y. Takano, T. Kaneko, K. Kobayashi, J. Takahashi: *Origins Life Evol. Biosphere*, **32**, 447 (2002).
- 24) H. Nishino, A. Kosaka, G. A. Hembury, H. Shitomi, H. Onuki, Y. Inoue: *Org. Lett.*, **3**, 921 (2001).
- 25) W. A. Bonner, B. D. Bean: *Origins Life Evol. Biosphere*, **30**, 513 (2000).
- 26) J. M. Greenberg, A. Kouchi, W. Niessen, H. Irth, J. van Paradijs, M. de Groot, W. Hermsen: *J. Biol. Phys.*, **20**, 61 (1994).
- 27) G. Balavoine, A. Moradpour, B. H. Kagan: *J. Am. Chem. Soc.*, **96**, 5152 (1974).
- 28) J. R. Cronin, S. Pizzarello: *Science*, **275**, 951 (1997).
- 29) J. R. Cronin, S. Pizzarello: *Adv. Space Res.*, **23**, 293 (1999).
- 30) S. Pizzarello, J. R. Cronin: *Geochim. Cosmochim. Acta*, **67**, 1589 (2003).
- 31) S. F. Mason: *Chem. Soc. Rev.*, **17**, 347 (1988).
- 32) S. F. Mason: *Nature*, **389**, 804 (1997).
- 33) W. Bonner, E. Rubenstein: *Biosystems*, **20**, 99 (1987).
- 34) 高野淑識, 高橋淳一, 坪井大樹, 金子竹男, 小林憲正, 丸茂克美: 第 65 回分析化学討論会要旨集, p. 35 (2004).
- 35) J. Takahashi, Y. Takano, T. Kaneko, K. Kobayashi: *Viva Origino*, **32**, 7 (2004).
- 36) K. Kvenvolden, J. Lawless, K. Pering, E. Peterson, J. Flores, C. Ponamperuma, I. R. Kaplan, C. Moore: *Nature*, **228**, 923 (1970).
- 37) S. Pizzarello, G. W. Copper: *Meteorit. Planet. Sci.*, **36**, 897 (2001).
- 38) S. Pizzarello, M. Zolensky, K. A. Turk: *Geochim. Cosmochim. Acta*, **67**, 1589 (2003).
- 39) K. Soai, T. Shibata, H. Morioka, K. Choji: *Nature*, **378**, 767 (1995).
- 40) T. Shibata, H. Morioka, T. Hayase, K. Choji, K. Soai: *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 471 (1996).
- 41) <http://web99.arc.nasa.gov/>.