

問題 37 ロダニル酸塩によるアミノ酸の分析

クロマトグラフィーや遺伝子工学のような高効率な手法により蛋白質の一次構造の解明に革命的進歩がもたらされる以前は、蛋白質の加水分解物の分析は非常に複雑であった。20種以上の化合物を含む混合物から個々のアミノ酸を選択的に沈殿させる試薬が開発され、分析に用いられていた。そのような試薬の中で多用されたものに、ロダニル錯イオン ($[\text{Cr}(\text{SCN})_4(\text{PhNH}_2)_2]^-$) を含むロダニル酸やその塩がある。本問題ではこの試薬の用法を示す。

ロダニル酸アンモニウムの調整

100 mL のフラスコ中で、5 g の硫酸カリウムクロム(III)水和物、5.8 g のチオシアン酸カリウムと 5 mL の水を混合し、80 °C の湯浴中で 10 分間加熱する。排気装置の下で 5 mL のアニリンを加え、さらに 60 分間加熱を続ける。生成物を 50 mL の水で希釈し、10 mL の氷酢酸を加える。混合液を氷水浴中で 10 分間保持する。その間、ガラス棒で時々器壁を引っかく。紫色の沈殿物を、ガラスフィルター（濾紙でも良い）による吸引濾過で分離し水で洗浄する。

フラスコ中で生成物を 20 mL のメタノールに溶解させる。溶解しない不純物は濾過により取り除く。溶液に 10 mL の濃アンモニア水と 50 mL の水を加える。沈殿物を濾過により回収し、水で洗浄し、開放したペトリ皿上で乾燥させる。

ロダニル酸アンモニウムとアミノ酸の反応

ビーカー中で 0.35 g のプロリンを 0.25 mol/L の塩酸 15 mL に溶解させる。別のビーカー中で 1.5 g のロダニル酸アンモニウムを 20 mL のメタノールに溶解させる。二つの溶液を混合する。沈殿をガラスフィルターで濾過し、10 mL の蒸留水で三回洗浄する。生成物を開放したペトリ皿上で乾燥させる。

TLC 実験

約 10 mg のアラニン、プロリン、フェニルアラニンとグルタミン酸を、それぞれ別個に 1 mL の水に溶解させる。さらに、これら 4 種の標準液を混合した試料を調整する。これらの試料溶液 0.1 mL をそれぞれ別個の試験管中で 0.1 mL のロダニル酸アンモニウム溶液(濃度 5%のメタノール溶液)と混合する。小さな漏斗を用いて、これらの溶液を濾過する。これらの溶液を、シリカプレートを用いた TLC で分析する。50%酢酸と n-ブタノールを混合して適切な溶離液を調整すること。スポットはニンヒドリン*を用いて可視化する。実験結果をまとめ、実験中に見出したことを説明せよ！

* ニンヒドリンはアミノ酸に選択的な試薬である。展開・乾燥した TLC プレートにニンヒドリンの 0.5%アセトン溶液に浸し、プレートを乾燥させ、ヒートガンで短時間加熱する。ニンヒドリン試薬を皮膚に接触させてはいけない。なぜなら、皮膚に接触すると、長時間消えない紫色のしみができるからである。ピンセットを使うこと！

		R フレーズ	S フレーズ
KCr(SO ₄) ₂ ·12H ₂ O	固体		22-24/25
KSCN	固体	20/21/22-32-52/53	13-61
アニリン†		23/24/25-40-41-43-48/23/24/25-50-68	26-27-36/37/39-45-46-61-63
L-アラニン	固体		
L-フェニルアラニン	固体		
L-プロリン	固体		22-24/25
L-グルタミン酸	固体		
メタノール	純液体	11-23/24/25-39/23/24/25	7-16-36/37-45
ニンヒドリン	0.5% (アセトン溶液)	11-22-36/37/38-66-67	9-16-26
n-ブタノール		10-22-37/38-41-67	13-26-37/39-46-7/9
NH ₃	濃厚溶液	34-50	26-36/37/39-45-61
酢酸	100%	10-35	23-26-45
酢酸	50%	34	23-26-45
塩酸	0.25 mol/dm ³	34-37	26-36/37/39-45