

スイートスポット研究： 化学進化から身近な糖鎖までをつなぐ化学と構造生物学

理化学研究所/JST, ERATO 蟹江 治

我々はどこから来てどこへ行くのだろうか。生物は地球の歴史の時々において与えられた環境下で生存圏を確保して生き続けている。周囲を良く見回してみると驚くほどの糖質が存在する事に気がつく。例えば、エネルギーの貯蔵体であるデンプン、植物や昆虫等の骨格を形成するセルロースやキチンがあり、これらの地球上の埋蔵量は膨大である。アデノシン3リン酸をはじめ、核酸はその構造中に糖を有している。また、細胞表面を覆っている糖脂質や糖タンパク質は、細胞間のコミュニケーションに関わっており、がん等の疾病制御に重要な役割を果たすことになるだろう。

このような糖質は、植物の光合成により二酸化炭素と水から酸素の形成を伴って合成されるが、生物が存在する以前にもこれら糖質の「合成」反応は進行していたと考えられている。生物は既に利用可能であった糖質を含む様々な分子を用いて構築されて行ったのだろう。糖はヒドロキシケトンの総称であり、その基本構造にカルボニル基としばしば複数の水酸基を有し、さらに、しばしば構成単位糖分子内外のアセタール構造を有している。このような糖を単純な分子から形成する鍵となる化学反応にフォルモース反応がある。この反応は、ホルムアルデヒドがアルカリ性条件下で縮合する反応であり、その後アルドール反応との組み合わせにより単糖が無生物的に形成される。このような化学反応は地球上で起こったとも考えられるが、近年宇宙空間や隕石からもグリコールアルデヒドやヒドロキシケトンといった「原始的な」糖が確認されている。

キラル選択の問題は未解明のままであるが、後に生物は高エネルギー体としての糖核酸を合成し、これから糖を更に別分子に転移する酵素を発達させた。このようにして形成される結合はアセタール（グリコシド）結合であり、酵素の反応機序により α -/ β -の二種類の結合（アノマー）が形成される可能性がある。こうして合成される分子は、現代科学における解析対象であるが、複数の水酸基を有する事に由来する結合異性体や、アノマー異性体構造があり、さらに、分岐構造を一般的な構造的特徴とする糖鎖の構造解析は困難を極める。

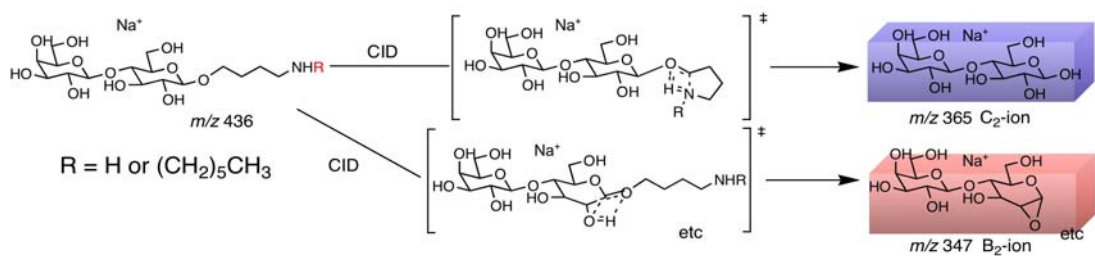
Research on "sweet spot": Accessing chemical evolution to oligosaccharide structure by chemistry and structural biology.

Osamu Kanie (RIKEN, ASI and JST, ERATO, 2-1 Hirosawa, Wako, Saitama 351-0198 Japan)

Phone: 048-485-8895, e-mail: kanie@riken.jp

Key Words: Carbohydrates, Hemiacetals, Anomerization, Configuration, Mass spectrometry, CID

Abstract: A discovery that the individual anomers of hemiacetals of carbohydrates do not anomerize in gas phase under collisionally induced dissociation conditions using mass spectrometry is presented. Such ion species are often observed in MS/MS spectra, which holds the anomeric configuration originated to the linkage before the rapture of glycoside. Thus, the sequence of carbohydrates with their anomeric configurations can be obtained. The MS-based method also allows investigation of mechanism of a glycosidase.



唐突だが、質量分析法は高真空の空間における分子由来のイオンの挙動を測定する手法であり、質量数と電荷の比によりイオンの特徴を表し、極微量（一般的にはピコモル程度）の解析に適した方法である。イオンの構造を追求する際にしばしば用いられる衝突誘起解離（CID）法は、宇宙空間における星間ガスとしてのイオンや分子の衝突反応と類似していると考えられる。質量分析法は一般的には構造異性体を判別する手法ではなく、主に質量数により「分離する」手段である。しかし、イオンの解裂過程におけるエネルギー依存性を詳しく測定、解析すると異性体の判別も可能である。[1-4]この方法を用いて、グルコースをはじめとする単糖、二糖のヘミアセタール構造が気相ではアノマー化しないことを発見した。[5]これにより私たちの体を構成する糖鎖の構造解析においてヘミアセタール性のイオンが得られれば、元々のグリコシド結合の立体配置を特定する事が可能となった。

具体的には、例えば二糖であるラクトースを用いて行った気相におけるヘミアセタールの挙動についての解析を詳しく紹介する。アミノブチルグリコシド体の α -および β -アノマー両者を合成し、CID条件下で分解するとピロリジンの脱離を伴い対応するヘミアセタールを与えた。

(Scheme) これらについてさらにCIDを行う際のエネルギー依存性を解析すると、各々のヘミアセタールが明らかに異なる結果を与えた。さらに、ヘミアセタールを一部分解し、残存するイオンについて更にCIDを行ったところ、 α -および β -由来の物質各々はアノマー化に十分と思われるエネルギーを与えてもスペクトルの変化がなかった。(Figure) これらは、各々のヘミアセタールが異なる立体配置を有し、CID条件下ではアノマー化しないことを示す結果である。こうして世界で始めて気相におけるヘミアセター

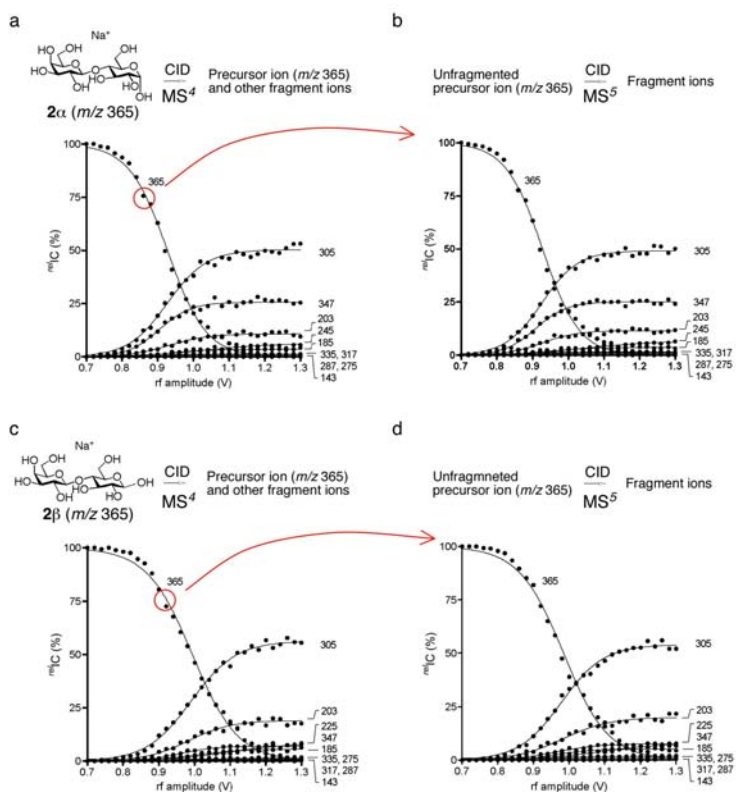


Figure. Energy-resolved mass spectrometry of α - and β -lactoses. a. Lactose obtained by CID of 4-aminobutyl α -lactoside was subjected to ERMS. b. The remaining lactose was “isolated” and further subjected to ERMS. c. Lactose from β -glycoside was analyzed. d. The ERMS of the remaining lactose.

ルの挙動に関する実験科学的データを取得した。

この結果は、質量分析法による糖鎖の構造解析について極めて大きな意味を持ち、グリコシル結合の立体配置を知り得る方法であるといえることができる。ガングリオシドの CID を行うとラクトースのヘミアセタールイオンを得ることができるが、この構造中のヘミアセタールが確かに β -配置であることを示すことができた。[6]

さらに、上記の方法を用いると加水分解反応の反応機序を推測する事も可能であった。すなわち、エンドグリコセラミダーゼを用いてラクトシルセラミドを加水分解し、この反応を経時的にサンプリングしその特徴を調べた結果、本酵素加水分解反応における初期生成物は β -アノマーでありその後アノマー化して平衡に至る事を確認することができた。[5]

以上のように、ヘミアセタールイオンの気相反応を質量分析法を用いて分解過程のエネルギー依存性の詳細を解析した結果、初めてヘミアセタールが CID 条件下で異性化しない事を示し、この結果を用いて糖鎖構造解析における立体配置解明への基礎を築き、さらに、酵素反応機構の解明にも有効である可能性を示すことができた。

19世紀、甘味料のクオリティーコントロールのための解析技術が必須であった。この歴史的事実と科学の進歩の相関を感じ取って頂ければ幸いである。人類は資源探求の大航海時代を経験し、産業主義に基づき生活圏を拡大しようとしている。これからの時代、宇宙進出が最も可能性の高い私たち種族の選択となるのではないだろうか。そのとき、我々の体を形成している分子を星間ガスとして検出し、我々の原点を知り得るようなことがあるのだろうか。また、それにより我々の行方を知る事にもなるのだろうか。

[1] Kurimoto, A. *et al.* **2006**, 78, 3461-3466.

[2] Kurimoto, A. and Kanie, O. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* **2007**, 21, 2770-2778.

[3] Daikoku, S. *et al. J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2007**, 18, 1873-1879.

[4] Daikoku, S. *et al. J. Mass Spectrom.* **2007**, 42, 714-723.

[5] Kanie, O. *et al. Proc. Jpn Acad. Ser. B*, **2009**, 85, 204-215.

[6] Suzuki, K. *et al. Anal. Chem.* **2007**, 79, 9022-9029.