

糖鎖多様性研究 蟹江 治

目指すもの

有機化学の基礎は糖化学から始まったと言っても過言でない。光学活性中心を複数有し、反応性に富むアルデヒドと複数の水酸基を分子内に有する。形成される分子内アセタール構造は糖により異なり5員環や6員環構造を形成し、それらは多くの立体配座異性体を生む。血液型物質がこのような単糖の結合物である糖鎖であることが明らかにされてから半世紀が経過し、糖鎖の広範な機能が明らかになってきた。我々の体を形成する全ての細胞は糖衣をまとっている。10程度の単糖が重合し形成される糖鎖は、極めて多様性に富んだ分子群を与えている。この物理化学的根拠は、構成単位の単糖が上述のように光学中心を伴う反応点（水酸基）を複数有することが理由の一つである。その他、1)分岐構造を一般的にとること、2)縮合反応により立体異性体を形成することが、ポリヌクレオチドやポリペプチドとの基本構造上の大きな相違点である。糖鎖はゴルジ体で合成され、脂質やポリペプチドの修飾を担う。このゴルジ体における合成過程も解明されておらず、糖鎖に関する研究は現在でも困難を極める。

例えば創薬に結びつく成果を得るためには、累積する多くの問題を解決する必要がある。本質的問題に取り組むことなく応用展開はない。我々は、1)糖鎖のコンビナトリアル化学合成法の確立とコンビナトリアルライブラリーの構築、2)コンビナトリアルライブラリーからの糖鎖の構造情報の収集、3)コンビナトリアルライブラリーからの機能性分子の発掘か

らなる大きな課題を主軸とし、総合的に糖鎖の合成、質量分析法による構造解析法の開発、また、マイクロチップによる糖鎖の再構築法の開発研究を通し、糖鎖研究のボトムアップをおこなっている。

アプローチ

ライブラリーには収集物の意味がある。しかし、化学において定義されたライブラリーはコンビナトリアルライブラリーであり、二つ以上の可変項からなる組み合わせ領域を形成するものである。我々は、このようなコンビナトリアルライブラリーこそ、糖鎖の研究分野において今必要とされていると考えている。構築法が存在しなかったためその価値の議論がなされることがなかったが、構築法の導入により状況が変わることが予想される。また、通常考えでは、スクリーニングにより有用化合物の探索が重大事であろうが、コンビナトリアルライブラリーの構築法の開発だけでも一大事であるのに、さらにスクリーニングに必要な量を求める事は非現実的と考え、かつ、微量糖鎖の構造解析技術の開発が急務であるとの認識から、コンビナトリアルライブラリー物質から質量分析法により糖鎖の構造に関する構造特徴の抽出をおこなうこととした。このアプローチは糖鎖に限らずいかなる分野においても取り組まれたことがないため、期待値は無量大といえる。

質量分析法は観測対象分子を何らかの方法でイオン化し、このイオンの質量数と電荷の比(m/z)を計測する方法である。我々は、非常に温和なエレクトロスプレーイオン化法を用い、また、質量分析法としては四重極イオントラップを用いることで多段階の衝突誘起解離による構造情報を求めることとした。さらに、通常の方法で得られる m/z のみでは糖鎖に見られる構造異性体を見極めることは困難と考え、新たな“次元”を解裂エネルギーに求めエネルギー分解質量分析法(ERMS)をおこなうこととした[1]。

これまでに行われた成果

近年の糖鎖の合成法に関する研究の展開も著しく、今後の糖鎖構造と機能に関する詳細な情報が次々に解明されることが期待される。このような中、我々も極めて高効率な合成法を開発、報告した[2-4]。我々の手法は、無攪拌固相法(SSPR)と名付けた手法、オルトゴナルグリコシル化法、さらに、固相抽出法(SPE)の3者を組み合わせる方法で、これまででない高効率合成を達成するとともに、オリゴ糖鎖のコンビナトリアルライブラリーの合成を可能とした。本法によりアノマー異性体、結合位置異性体の組み合わせからなるライブラリーを初めて達成した(プレスリリース)(図1)。我々の方法では攪拌が必要でないため、合成装置の小型化を期待できる。

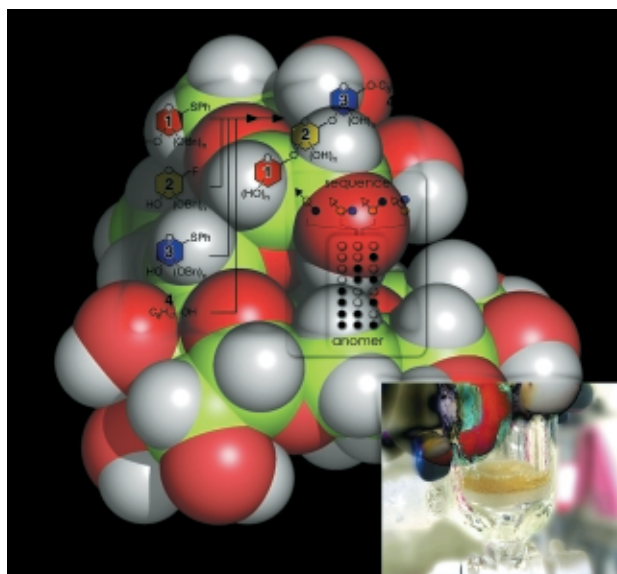


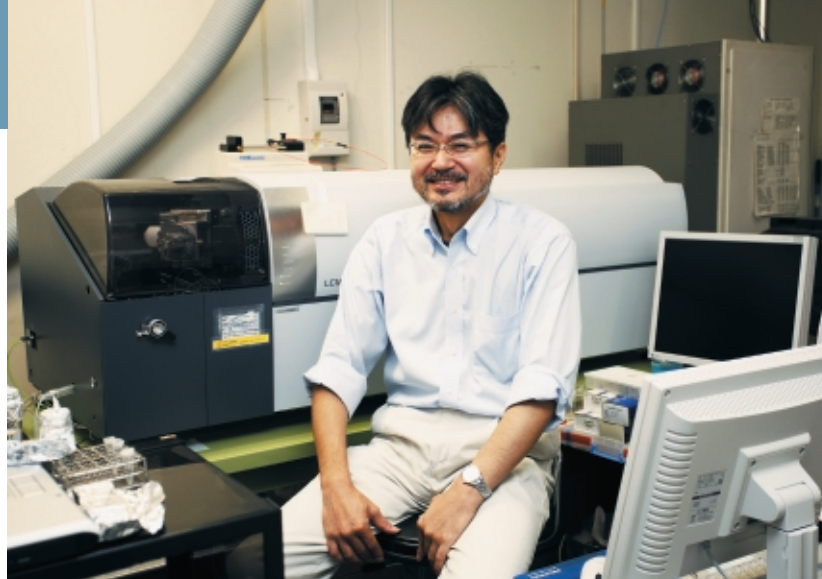
図1 典型的な三糖の立体構造、オルトゴナル合成法によるコンビナトリアルライブラリーの合成概念図、無攪拌固相合成

このようにして合成したコンビナトリアルライブラリー中の糖鎖は、ERMS法により衝突誘起解離実験をおこない、特にアノマー異性に関する一般的な構造情報を取得することが可能であることを初めて示すことに成功した[5](図2)。このERMS法は構造異性体の判別に極めて有効であり、従来見分けることができなかった天然由来の糖鎖異性体の判別にも有効であることも実証している[6]。これまでにERMS法により取得したある種の構造情報と酵素反応速度との関係について、先見的データも取得しており、今後、広範な応用展開が期待できる。

マイクロチップ上での糖鎖構築においては、酵素の連続反応を初めて達成し、これにより四糖を合成した。目指しているのは、ゴルジシミュレータである。具体的には、マイクロチップ上の流路中に複数の酵素反応場を形成し、各々の任意温度制御下、糖転移酵素の連続反応を達成した。

今後の課題

研究上の課題については自ずと道が開けるものと信じている。私が課題と考えるのは、基礎と応用の間の溝であり、いかにしてこれを埋めていくかということにつきる。どのような産業への効果が考えられるかなどについては如何様にも説明がつく。ただし、実際に起こらなければ絵に描いた餅である。餅を食すには餅つきが必要であるが、このためにはこれがかうまいことを知っていなければならない。基礎研究から何



が生まれるか、それは大きな富を与えてくれるのか。先進的な研究であればあるほど、その答えは予測不可能である。すなわち、絵に描いた餅がかうまいのかまづいのか分からないのである。我々は挑戦をしているとの認識もっている。溝を埋める作業が必要である。しかし、問題は土木事業には時間がかかることである。

- [1] Kurimoto A, *et al.* Anal Chem, 78:3461 (2006)
- [2] Kanie O, *et al.* Angew Chem Int Ed, 45:3851 (2006)
- [3] Ohtsuka I, *et al.* Carbohydr Res, 341:1476 (2006)
- [4] Ako T, *et al.* Chem Asian J, 1:798 (2006)
- [5] Daikoku S, *et al.* J Mass Spectrom, 42:714 (2007)
- [6] Kurimoto A, Kanie O. Rapid Commun Mass Spectrom, 21:2770 (2007)

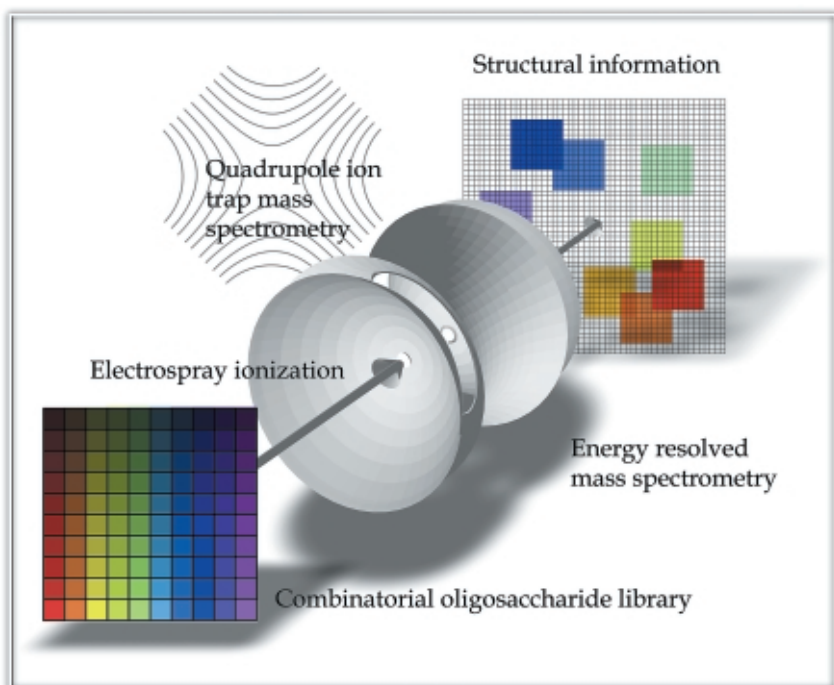


図2

コンビナトリアルライブラリーを構造情報源として用い全く新しい糖鎖の構造解析法の開発を目指す

