

ケーススタディ

グリカン（糖鎖）構造解析の進歩

ユトレヒト大学の Javier Sastre Toraño 博士との対談

イノベーションはどのようにして起こるのでしょうか？時にそれは、未知なるものへの探求から生まれると考えられます。従来とは異なるアプローチにより、予想外の並外れた成果が得られることもあります。他方で、まったく新しいものが出現するまで、徹底的な知見の収集や際限のない改善を続けることによって生まれているようにも見えます。

「探索か開発か」（と呼ばれることがある）議論では、どちらにも支持者がありますが、イノベーションへの最適な経路を実現するためには、それぞれが少しずつ必要になる場合があります。

オランダのユトレヒト大学 化学生物学および創薬学科の Javier Sastre Toraño 博士にとって、この「それぞれが少しずつ」というアプローチは、複雑な試料中のグリカン構造を迅速かつ確実に同定する手法の追求に大きく貢献しています。この困難な問題を解決するための Sastre Toraño 博士のアプローチは、常に網羅的で、時として慣例にとらわれないものであり、明らかにイノベーションといえます。

「構造/機能」パラダイムへの対応

グリカンの構造解析は、本質的に困難であり生物学的に不可欠なものです。分子量が同一のグリカンは、さまざまな構造をとる場合があり、その分岐特性によりさまざまな異性体が存在し、構造解析が困難になります。また、グリカンは生物学において多くの非常に重要な役割を果たしているため、構造解析は不可欠です。グリカンの機能の正確な特性を知ることは、その構造を知ることと直接繋がります。

グリカンの構造解析における研究では、化合物同定用の決定的なメソッドの開発に不可欠である明確に定義された標準試料が存在しないため、いっそう複雑になっています。Sastre Toraño 博士は次のように説明しています。「複雑な混合物中の未知の分子を同定するメソッドは数多くあります。これらのメソッドでは、物理的性質またはスペクトル特性を既知の性質が記載されたライブラリと比較して同定します。しかし、この種の『フィンガープリンティング』アプローチは、使用するライブラリと同じ程度のものでしかありません。」



Javier Sastre Toraño 博士

ユトレヒト大学
オランダ

確固たる基盤の構築

Sastre Toraño 博士は、分析化学における自身の経歴を活かしてこの欠点を解決するために、異性体 N-グリカンの正確な構造を同定するための強力な新しいアプローチに到達しました。このアプローチは、グリカンごとにイオンモビリティ質量分析 (IM-MS) と独自の到着時間分布 (ATD) 分析を組み合わせ、Agilent 6560 イオンモビリティ LC/Q-TOF と HRdm 2.0 ソフトウェアによる後処理によって実現しています。

「これらの生体サンプルは非常に複雑であるため、質量分析を使用する必要がありましたが、グリカンの異性体が原因で、正確な構造を同定することは非常に困難な作業でした」と博士は説明します。「現在、生体サンプルからグリカンの複雑なサンプルを作成するための多数の研究が行われていますが、これらの分子は何でしょうか？異性体でしょうか？それとも配座異性体でしょうか？これらの質問は生物学的に関連があります。」

明確な標準がないため、知るのには困難でした。博士は、続けて次のように述べています。「最初にやるべきことは、既存のグリカンライブラリの欠点に対処することでした。我々のグループは、約 100 種類の酵素を使用して天然に存在するグリカンを合成する、グリカンの化学酵素合成を先駆けて開発しました。次に、これらの化合物を使用して分析手法を開発し、未知のサンプル中に存在するグリカンの正確な構造を解明しました。」

2 つの技術

分析メソッドの選択も重要な判断材料でした。Sastre Toraño 博士は次のように語ります。「これまでに実施されてきた大部分の研究は、少なくとも 1980 年代にまで戻る形で MS/MS を使用しているため、非常に手間と時間がかかるものでした。イオンモビリティ MS を活用している研究はごく少数です。私はイオンモビリティに非常に興味を持つようになり、これらの分子のガス相分離の潜在的な利点について考えていました。複雑なグリカン混合物という私がよく知っているサンプルが 2 つあり、手元の IM-MS 機器でそれらを分析したのですが、それらの結果が非常に異なっていることに気づきました。異性体ごとにシグナルが異なっているように見えたので、これらの違いを利用して、未知化合物を同定することができました。これがきっかけで、Agilent 6560 高分解能質量分析計の導入を決定しました。」

「我々はすでに、6560 イオンモビリティ質量分析計で適切な分離が実現でき、また HRdm 2.0 を使用するとさらに良好な結果が得られることを知っていました。また、異性体を分離できるだけでなく、構造が単結合の周りの回転分だけ異なっているような複数のコンフォーマーを、実際に分離して同定できることにもすぐに気づきました。」と博士は述べています。

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンター

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

DE67564791

アジレント・テクノロジー株式会社

© Agilent Technologies, Inc. 2023

Printed in Japan, January 13, 2023

5994-5626JAJP

「このことは、我々の期待を上回るものでした。現在では、サンプル中の基本的な構造をすべて同定できる非常に詳細なフィンガープリントが得られるようになりました。さらに、この作業をすべて高いスループットで実行することができます。この点は非常に重要です。以前使用していたメソッドでは、分析に非常に長い時間を要していました。」

この手法の優れたスピードと精度はグリカン分析研究の新たな扉を開くものであり、Sastre Toraño 博士はすでに、他のグリカンラボから大きな関心が寄せられている状況を目の当たりにしています。「我々は、さまざまな研究機関から多くの質問を受けています。ほとんどの場合、それらの研究機関は、対象の生物化学的プロセスに関与している特定のグリカンに興味を示しており、例えば、同定できない場合のシアル酸の結合状態を知りたいと望んでいます。これらは、すでにライブラリに収載されている化合物である場合が多く、正確な構造を非常に短時間で同定できます。」

このアプローチの別の（また、広範囲に及ぶ可能性のある）利点は、他のラボでは独自の同定を実行するためのスタンダード試料を利用する必要がないという点です。グリカンの ATD が明確になれば、同定は簡単になります。「別の方式の機器で得られた ATD でも、このことが当てはまると考えています。これは、ラボがデータを交換して比較できるという大きな利点です」と博士は述べています。

より深い理解を得るための新しい鍵

Sastre Toraño 博士は、この新たに開発したアプローチをどのような方向に進めていく意向ですか？博士は次のように答えています。「前に述べたように、私は分析化学者です。最終的に私は、次の分析の課題に立ち向かうつもりです。ただし、この手法は、多くの興味深い生物学的問題の扉を開くものであるため、しばらくの間は生物学に少し近い分野に留まるつもりです。現在の多くの課題に対処するには、関与しているグリカンの構造を同定することがまさに必要であると考えています。」

有力候補のアプリケーションは、インフルエンザに関する研究にあります。「グリカンは認識分子であり、グリコシル化により、細胞間および細胞と病原体間の相互作用に関する免疫系機能を制御しています。」と博士は述べています。「例えば、インフルエンザウイルスは 2-6-結合型シアル酸に結合している一方で、鳥インフルエンザは 2-3-結合型シアル酸に結合しています。受容体スイッチングが認められる場合もあり、その場合は鳥ウイルスもヒト細胞に結合する可能性があります。現在では、この発生状況をより詳細に観察し始めることも可能であり、対処策は IM-MS により非常に短時間で見つかるものと考えています。」