

# 論文審査の結果の要旨

氏名 鈴木 宏明

糖鎖は発生、免疫、細胞間相互作用など多様な生体機能を担う重要な鍵物質であり、生命科学分野において核酸、タンパク質に次ぐ第3の生命鎖として精力的に研究が進められている。この一方で糖鎖構造の生体内機能解明のために必須であるその構造解析は核酸、タンパク質と異なり複雑な分枝様式を有するため、その方法論は確立されていない。この中で、生体から得られる機能性糖鎖は極微量であることが多いことにより、高感度な分析手法として質量分析法による糖鎖構造解析の研究が広く試みられているが、汎用性使用には至っていない。本論文は質量分析法の基礎的な要素であるイオン化と断片化反応に着目し、本法によるハイスループットな糖鎖構造解析法を目指した基盤的な研究、及び得られた知見について記述されており、本論1~4章から構成されている。

本論文第1章は序論であり、質量分析法による糖鎖構造解析の概略について述べられている。特に、本論文提出者が修士課程までに研究を進めたマトリックス支援レーザー脱離イオン化質量分析法(MALDI-MS)による負イオン糖鎖構造解析法、およびここでの糖鎖構造解析における断片化反応機構解析の意義について詳細に記述されており、本研究における着眼点、独創性、および糖鎖構造解析への寄与が明確になっている。

第2章では、負イオンMALDI-MSにおける糖鎖解析の欠点となっていた低イオン化効率の克服について述べられている。ここでは糖鎖のクロリドイオン付加分子 $[M+Cl]^-$ の効率的生成を目指し、一般的な負イオン生成用マトリックスとして近年報告されたハルミンにクロリド源としての塩化アンモニウムを加えて条件検討を行った結果、マトリックスに対して塩を過剰に加えることで、従来の報告に比べ30倍程度の効率的イオン化を達成した。これは、過剰な無機塩共存下においてイオン化が抑制されるという陽イオン化での従来の常識に反する現象であったためその詳細を解析したところ、塩添加によるマトリックスへの

レーザーエネルギー移行の促進によることを示した。これは負イオン MALDI-MS における低イオン化効率を解消し、糖鎖構造解析の汎用性向上に寄与するものである。

第 3 章及び第 4 章では質量分析計内における正、負イオン糖鎖の断片化反応機構について、実験及び量子化学計算を併用して解析している。第 3 章では従来研究例が少なかった負イオン糖鎖の断片化反応機構解析について、生体糖鎖であるルイス型糖鎖をモデルとして行った詳細が述べられている。ここでは断片化反応機構に関与する官能基を、これを除去した構造改変体の断片化スペクトルとの比較を行うことで特定し、この知見を基に反応機構を推定し、量子化学計算により検証している。この結果、従来考えられていたものとは異なった断片化機構の存在を提案するに至り、実験と計算化学によるアプローチが合理的な反応機構解析に有用であることを示している。

第 4 章では従来実験データの多い正イオン糖鎖、特にナトリウムイオン付加分子  $[M+Na]^+$  に注目し、種々のグリコシド結合の一般的な断片化規則の構築を目指した反応機構解析について記述されている。本章では主要な生体糖の断片化反応を網羅的に解析するため、様々なグリコシド結合を有するモデル 2 糖に関し、断片化反応を解析している。量子化学計算によって得られたモデル 2 糖のグリコシド結合の安定性は、多様な糖鎖の断片化実験によって導出されたグリコシド結合の安定性と良い一致を示しており、この解析がより複雑な糖鎖の断片化が説明可能となることを示した。本研究で導出したグリコシド結合の安定性を基に断片化スペクトルのシミュレートが可能となり、質量分析法による構造未知糖鎖の迅速な構造解析への寄与が期待される。

以上本論文の研究内容は、MALDI-MS による効率的負イオン化と正、負イオン糖鎖の断片化反応の解析を行ったものであり、いずれも質量分析法による糖鎖構造解析の汎用性向上に寄与するものと認められる。本研究課題立案の一部については橘和夫及び福井一彦（産業技術総合研究所生命情報工学研究センター）との協同によるが、研究実施計画の構築と研究結果への考察は全て論文提出者自らが行っており、研究成果の本論文への寄与については高く評価できる。よって本論文提出者である鈴木宏明は博士（理学）の学位を授与されるに値するものと認める。