

(コンボン研・学習院大理) ○外山南美樹・河野淳也

【序】 糖は主要な生体物質の一つであり、タンパク質や脂質と結合した複合体として生体内で重要な生理機能を担っている。例えば、細胞表面に存在する数～十数個の単糖からなる糖鎖は、特定のタンパク質や別の糖鎖と結合することで、他の分子や細胞との物質（情報）のやり取りをする。この現象は、細胞接着や分化、ウイルス感染、抗原抗体反応などの生理機能に深く関わっている。この糖鎖の機能は、糖鎖分子の立体構造や溶媒水分子や他の溶質分子との水素結合により発現する。しかし、タンパク質や DNA に比べて糖鎖の構造は多様で柔軟性に富むため、その立体構造や溶媒和構造を得る方法は未だ確立していない。

我々は、水溶液中の糖鎖の構造を明らかにすることを目指して、糖-水クラスターの構造を調べる実験手法の開発に取り組んでいる。水溶液試料を液体分子線として真空中に導入し、赤外レーザーを照射すると、水溶液中の溶質分子やイオンをそれらの水和クラスター（イオン）として気相中に単離できる。気相単離されたクラスターイオンは質量分析法によってサイズ選別され、水分子数や会合数を調べることができる。本研究では、水溶液中の糖水和物をクラスターイオンとして気相単離し、質量分析法により水和数を選別した。図1に示す3つのアルドヘキソースは OH 基の配座の異なる異性体であり、細胞表面の糖鎖の基本構成単糖である。配座異性体間の水和数の差の有無を調べ、その結果に基づき分子内、分子間の水素結合構造の違いを検証する。

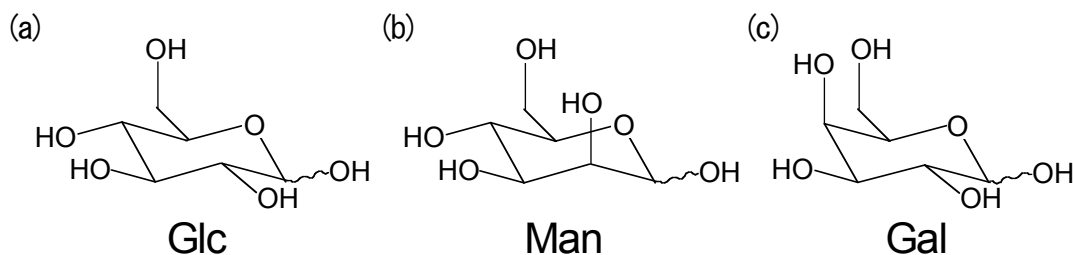


図1 アルドヘキソース配座異性体の立体配置、(a) グルコース、(b) マンノース、(c) ガラクトース。

【実験】 試料溶液として、100 mM のグルコース(Glc)、マンノース(Man)およびガラクトース(Gal)水溶液を調製した。試料溶液をノズル先端のアーチャー( $\phi 20 \mu\text{m}$ )から 0.2 ml/min で液体分子線として真空中に導入した。ノズルから 0.5-2 mm 下流にナノ秒赤外レーザー(2850 nm, 12 mJ/pulse)を照射後、気相に放出されるイオンをパルス電場で加速して飛行時間型質量分析計で分離、検出した。

【結果】 3つの糖 (M=Glc、Man および Gal)、の水溶液に赤外レーザーを照射して得られる正および負イオンの質量スペクトルを観測した。観測された正イオンは $(M+H_3O)^+(M)_m(H_2O)_n$  および  $H_3O^+(H_2O)_n$  に、負イオンは、 $(M+OH)(M)_m(H_2O)_n$ 、 $OH(H_2O)_n$  および  $HCO_3^-(H_2O)_n$  に帰属された。これらの正および負イオンの質量スペクトルの  $m/z < 360$  の領域をそれぞれ図2の (a) と (b) に示す。図2(a)の  $m/z > 180$  では糖分子 (分子量 180) 1個に  $H_3O^+$ が付加したものに 0~8 個の水分子 (分子量 18) が溶媒和したクラスターイオンが観測された。水分子数 ( $n$ ) に対するイオン強度の分布を各糖分子で比較すると、Glc の場合は  $n=0$  から単調に減少するのに対し、Man では  $n=1$  で極

大を示した。Gal は水分子数に対してイオン強度はほぼ一定となった。図 2 (b) の  $m/z > 180$  では糖分子 1 個に OH が付加したものに水分子が 0~4 個溶媒和したクラスターイオンが観測された。これら OH 付加体においては、Glc と Man は  $n=0$ 、Gal は  $n=1$  においてイオン強度が極大を示した。以上の結果から、 $(M+H_3O)^+(H_2O)_n$  および  $(M+OH)(H_2O)_n$  クラスターイオン内の水分子数は  $Glc < Man < Gal$  の順に増加する事が分かった。

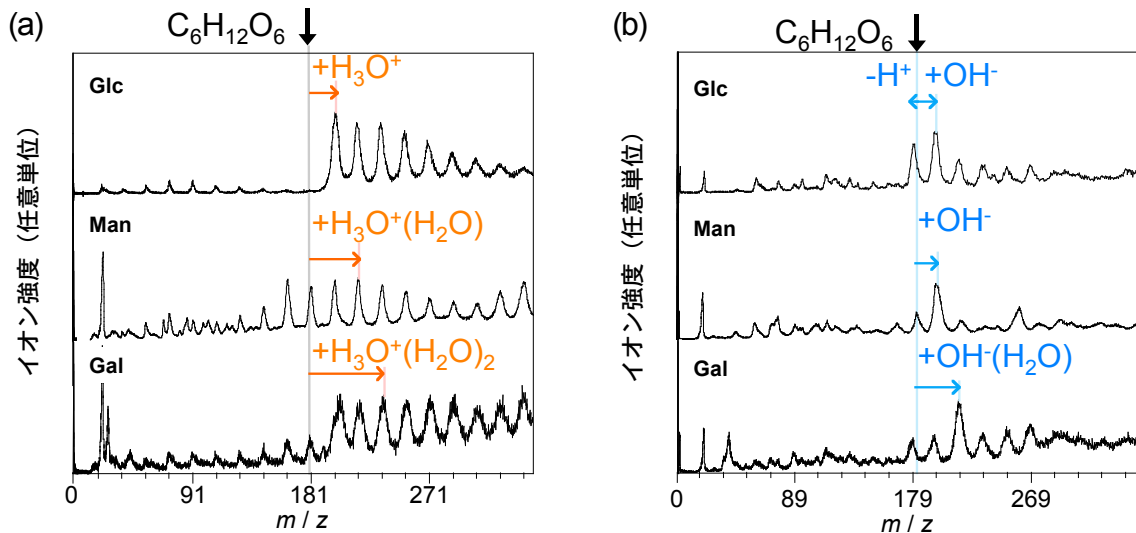
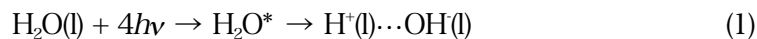


図2 糖水溶液(100 mM)の液体分子線から生成する (a) 正イオンおよび (b) 負イオンの質量スペクトル

【考察】 糖水溶液への赤外レーザー照射による溶液中のクラスターイオン生成過程は、赤外多光子励起による水分子間のプロトン移動とイオン対 ( $H_3O^+ \cdots OH$ ) の生成(式1)<sup>1</sup>、溶質糖分子(M)とイオン対の反応による  $H_3O^+$  および OH 付加体の生成 (式2、3) からなる。



その後、水分子に吸収された赤外光の余剰エネルギーにより、溶液中のイオンが液体の分散に伴って気相に放出される<sup>1</sup>。この放出過程におけるクラスターイオンからの分子の脱離は、イオン種 ( $H_3O^+$  および OH) と直接結合していない外側の溶媒和分子から起こると予想される。したがって、気相単離されたクラスターイオンの組成は、溶液中の第一溶媒和圏の組成に強く依存していると考えられる。観測されたクラスターイオン、 $(M+H_3O)^+(H_2O)_n$  および  $(M+OH)(H_2O)_n$  の水分子数は、 $Glc < Man < Gal$  の順に増加した。一方、3つのアルドヘキソースの OH 基の立体配座を比較すると、 $\beta$ 面 (図1の六員環上面) のアキシャル位の OH 基の数は Glc で1個、Man と Gal では2個である。つまり、アキシャル位の OH 基の数が多いほど、水分子数が増加する。この結果は、糖がこれらアキシャル位の OH 基、六員環内の O 原子およびアノマー位の OH 基との複数の水素結合でイオン種や水分子との水素結合ネットワークを作るモデルで説明できる。ネットワークに含まれる OH 基の数が多いほど水素結合した水分子はより安定化され、その結果クラスター内の水分子数が増加すると考えられる。

本研究では、気相単離した水和クラスターイオンの質量スペクトル測定により、糖の配座異性体を識別し水和構造の違いが観測できる事が明らかとなった。

[1] N. Toyama, J. Kohno, T. Kondow, Chem. Phys. Lett. 420 (2006) 77.