



## グリコサミノグリカンのポストカラムHPLCとともに

立命館大学薬学部の豊田英尚と申します。今年で還暦を迎えることとなり、分析化学への思いや若手研究者へのメッセージを執筆できるようになっているかと思えばそうでもなく、思うように筆が進みませんでした。幸いにも？ 前号執筆者の四宮一総先生から、“精密な糖鎖分析法を確立しながら糖鎖の生理活性解明に情熱を傾けており、どのような話が聞けるか楽しみである”と言われていきますので、私が分析化学的に付き合ってきた糖鎖の話をしたと思います。

タンパク質に結合する糖鎖は、*N*-結合型糖鎖、ムチン型糖鎖、グリコサミノグリカン (GAG) に大別されます。GAGは多糖であり、ヒアルロン酸以外は複雑に硫酸化されているので、今も昔も化学分析するのが難しい糖鎖だと言えます。GAG分析法の追究は大学院時代のテーマであり、最初の研究報告の「血漿中コンドロイチン硫酸の不飽和二糖分析」が *Anal. Sci.* に掲載されたのが1988年なので、かれこれ30年以上の長きにわたってGAGの分析に従事してきたことになり。分析手法として用いている蛍光ポストカラム高速液体クロマトグラフィー (HPLC) は、液体クロマトグラフィー質量分析 (LC-MS) が実用化されていなかった当時としては最良の選択だったと思います。今でも分析法の改善につながる発見が時折あり、四宮先生と同じく私も、“狭く深く”を実践している一人ということになるでしょうか。

世間に名前が浸透している順にGAGを並べると、ヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸、ヘパリン、デルマトン硫酸、ヘパラン硫酸 (HS)、ケラタン硫酸 (KS) の順になると思います。前述のようにコンドロイチン硫酸を皮切りに、高感度と実用性を売りにして、GAGの蛍光ポストカラムHPLCをデルマトン硫酸、ヒアルロン酸へと適用範囲を広げながら、血液や尿を中心に適用していきましたが、特に大きな評価を得ることもなく、蛍光ポストカラムHPLCはGAG分析法の一つにすぎませんでした。転機が訪れたのは、ヘパリンやHSの二糖組成分析に応用範囲が広がった1999年でした。そのころは、細胞表面のHSが様々な細胞間シグナル伝達に関与していることが解明されて大きな話題となり、さらに、発生遺伝学の研究成果として相次いで報告された *sgl*, *ttv*, *sgf* 変異体 (ショウジョウバエ) や *sqv* 変異体 (線虫) がHS関連遺伝子変異体であると予想され、HS

の研究がショウジョウバエや線虫で実施できる時代が来るのではないかと期待された時でした。そこで、件の分析法を引っさげてアメリカの発生遺伝学の研究室に留学し、幸いにもショウジョウバエと線虫にヒトと同じくHSが存在することを化学的に証明することに成功して、その構造を明らかにすることができました。当時の糖鎖生物学/発生生物学研究者が興味を持っていた、“ショウジョウバエや線虫はヒトと同じように複雑な構造をもつHSを産生しているのか？”という問いに答えを出せたことが大きな成果となり、GAGの蛍光ポストカラムHPLCは日の目を見ることになりました。

新設された立命館大学薬学部に2008年に異動して自分の研究室を構えた時、新しく何かを始めようかとも思いましたが、まだKSの分析法が満足のいくレベルになっていませんでした。ちょうどその時、ヒトiPS細胞ではKS様の糖鎖が非常に重要な役割を担っているらしいということを知り、KSの分析法に本腰を入れることにしました。KSは長年にわたり角膜や軟骨で研究が行われてきましたが、1986年に脳にも存在することが報告され、今では神経再生やアルツハイマー病との関連性が注目されているGAGです。どちらかというマイナーなGAGだったKSがヒトiPS細胞で大活躍しているらしいという情報は、GAG分析法の締めくくりとしてKSの蛍光ポストカラムHPLCを追究する大きなモチベーションになりました。KSの蛍光ポストカラムHPLCを整備してヒトiPS細胞に応用したところ、ポドカリキシンという、ヒトiPS細胞の未分化マーカーにKSが結合していることを化学的に証明することができました。本来ポドカリキシンは、腎糸球体のポドサイトで発見された165 kDa (ヒト) の複合糖質でKSは結合していません。特筆すべきことは、コアタンパク質の分子量が55 kDaであるにもかかわらず、ヒトiPS細胞のポドカリキシンは250 kDa以上の高分子であるということに頭を悩ませながら、今日もポストカラムHPLCの改良に精を出す日々を送っています。

今回のエッセイは、薬学部分析化学の糖鎖研究つながりということで、近畿大学薬学部の木下充弘先生にお願いしたいと思います。

[立命館大学薬学部 豊田英尚]