

学 会 賞

大橋 陽子 氏 [電気通信大学, 理学博士]



〔業績〕 質量分析法による糖および複合脂質等の構造解析

プロテオミクスの進展に伴い、ポスト・プロテオミクスの位置を占めると予想されるグライコミクスにおいて、マスマスペクトロメトリーの役割はますます重要になってきた。ソフトイオン化法の出現以来、複合糖質の質量分析法において世界をリードしてきたのは数人の科学者であり、大橋陽子氏もその一人である。大橋氏は東京大学理学部化学科卒業、大学院化学系研究科生物化学専攻修士課程修了後 Stanford 大学、Columbia 大学に留学した。帰国後東京大学理学部助手、お茶の水女子大学理学部助手、次いで京都大学工学部教務補佐員として天然物構造解析に関する研究に従事したが、育児に専念するために10年間研究を中断、その後1980年、Johns Hopkins 大学 Catherine Fenselau 教授の下で、初めて複合脂質類の高速原子衝撃質量分析法 (Fast Atom Bombardment Mass Spectrometry: FAB-MS) の研究に着手した。帰国後、東京大学医学部研究生として糖脂質の構造解析法において FAB イオン化を駆使し、新知見を次々と発表した。1991年、理研フロンティアに移籍後、さらにマスマスペクトロメトリーによる糖脂質の構造解析研究を進展させ、重要な生理活性物質の構造決定を行った。主な研究成果は次の4分野にまとめることができる：

(1) 中性複合脂質や酸性複合脂質における位置異性、および結合異性をマスマスペクトル上のフラグメンテーションによって解析する方法の確立

大橋氏のリン脂質の FAB マスマスペクトルにより極性基の決定のみならず位置異性体を区別しうることを示したソローペーパーはリン脂質マスマスペクトロメトリー流行の魁となった。さらに大橋氏の名前が喧伝されるようになったのはスフィンゴ脂質の FAB マスマスペクトルにおいて、セラミドの長鎖塩基部分が長鎖脂肪酸部分と区別しうることを示した Long Chain Base (LCB)⁺ イオンの発見およびこのイオンの High-Energy Collision-Induced Dissociation (CID)-MS/MS により長鎖塩基部分の詳細な構造を解明することができることを示した一連の発表である。この発見に基づき中枢神経系から得られる sulfatide の FAB-MS/MS により硫酸エステル類のフラグメンテーションを確立し、上記 LCB⁺ を適用して構造研究のプロトコルを示した。これを発展させてイカ神経から得られたリン脂質 (スフィンゴミエリン) の複雑なセラミドの長鎖塩基が、ヒト精子の糖脂質 (グルコシルセラミド) の長鎖塩基と同一構造であることを証明し、スフィンゴ脂質合成機構に重要な知見を与えた。またヒトの受精に関与する新しい硫酸化三糖の構造をも決定し、I-血液型活性を示す合成 25 糖糖鎖のエレクトロスプレーイオン化法 (Electrospray Ionization: ESI) による解析は、大分子量オリゴ糖類を測定したデータとして当時のチャンピオンデータとなった。GQ1b のように多数のシアル酸を含むガングリオシドの構造解明に対しても ESI-MS/MS が有用であり、さらに各種セレクトインの特異的リガンドである酸性ルイス型糖鎖において分枝糖における結合位置が識別できることを示した。

(2) MS/MS による糖質の立体異性体の解析

グルコサミノグリカンの構成成分である硫酸化 *N*-アセチルラクタミンとその 2'-エピマーの ESI CID-MS/MS に見られるフラグメンテーションは糖の立体配置のみならず、特異的脱離反応を起こしやすいコンホメーションにも依存することを見だし、立体異性体の区別が可能であることを示した。最近の研究で最も注目されているのはガングリオシドのアノマー解析で、合成グリセロ型ガングリオシドを用いて FAB CID-MS/MS により α -、 β -アノマーが区別できることを示し、これまで解析不可能であったアノマーの区別を質量分析法によって成功したことは特記に値する。

(3) タンパク質と糖との特異的相互作用解明に対する質量分析法の導入

コレラトキシンの B-サブユニットは消化管粘膜上皮に発現しているガングリオシド GM1 と特異的に結合し、この相互作用がコレラ発症の基礎になっているが、大橋氏らは ESI-MS により非共有結合性会合体のタンパク質：リガンドの 1:1 会合ピークを検出し、さらにこの相互作用は GM1 にほぼ特異的であることを示

した。

(4) イオン源における新しい還元反応等の発見

生体内で酸化還元反応を司るイソアロキサジン骨格が FAB およびマトリックス支援レーザー脱離イオン化 (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization: MALDI) 質量分析条件下で還元されることを示した。また一連の人工ポリフィリン類の、FAB CID-MS/MS におけるフラグメンテーションを明らかにした。最近 [1-¹³C] ラベルアミノ酸の同位体定量の新方法を確立した。これらの研究の途上で、ESI-MS の溶媒として用いられる MeOH-CHCl₃ は中性糖脂質の負イオン法 ESI-MS において +89 u の付加イオンを与えることを発見し、マススペクトルの解析上重要な知見となっている。

わが国における糖および複合脂質類のマススペクトロメトリーは、山川民夫教授らの世界に先駆けたガスクロマトグラフィー質量分析法の研究を第一世代とすれば、FAB, ESI, MALDI イオン化法の CID-MS/MS を駆使した大橋氏らの研究は第二世代にあたる。そして今や第三世代として、新しく糖タンパク質など医療、医薬分野へと展開が始まっている。この第二世代をリードし、さらに第三世代に対しても貢献している大橋氏の研究は、各種成書の執筆者としても招聘されるなど、国内外で高く評価されている。こうした大橋氏の優れた業績は日本質量分析学会賞を授与するに値するものと認められた。

授賞対象業績リスト

原著論文

- 1) C. Aaron, D. Dull, J. L. Schmiegel, D. Jaeger, Y. Ohashi, and H. S. Mosher, The resolution and configuration of α -substituted phenylacetic acids, *J. Org. Chem.*, **32**, 2797–2803 (1967).
- 2) Y. Ohashi, Structure determination of phospholipids by secondary ion mass spectrometric techniques: differentiation of isomeric esters, *Biomedical Mass Spectrom.*, **11**, 383–385 (1984).
- 3) 大橋陽子, 永井克孝, FAB MS/SI MS による糖脂質の構造解析法—スフィンゴ脂質長鎖塩基の解析法を中心に—日本化学会誌, **11**, 1683–1689 (1986).
- 4) Y. Ohashi, M. Iwamori, T. Ogawa, and Y. Nagai, Analysis of long-chain bases in sphingolipids by positive ion fast atom bombardment or matrix-assisted secondary ion mass spectrometry, *Biochemistry*, **26**, 3990–3995 (1987).
- 5) H. Hirota, A. Itoh, J. Ido, Y. Iwamoto, E. Goshima, T. Miki, K. Hasuda, and Y. Ohashi, YS-822A, A new polyene macrolide antibiotic, II. Planar structure of YS-822A, *J. Antibiotics*, **44**, 181–186 (1991).
- 6) Y. Ohashi and Y. Nagai, Fast-atom-bombardment chemistry of sulfatide (3-sulfogalactosylceramide), *Carbohydr. Res.*, **221**, 235–243 (1991).
- 7) T. Okinaga, Y. Ohashi, and M. Hoshi, A novel saccharide structure, Xyl 1→3 Gal 1→(SO₃⁻)3,4 Fuc →, is present in acrosome reaction-inducing substance of the starfish, *Asterias amurensis*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **186**, 405–410 (1992).
- 8) T. Ii, Y. Ohashi, and Y. Nagai, Observation of a novel adduct-ion in negative-ion electrospray mass spectrometry of neutral glycolipids, *Org. Mass Spectrom.*, **28**, 927–928 (1993).
- 9) T. Ii, Y. Ohashi, Y. Matsuzaki, T. Ogawa, and Y. Nagai, Electrospray mass spectrometry of pentacosasaccharides of blood group I-activity and related compounds, *Org. Mass Spectrom.*, **28**, 1340–1344 (1993).
- 10) S. Itonori, T. Shirai, Y. Kiso, Y. Ohashi, K. Shiota, and T. Ogawa, Glycosphingolipid composition of rat placenta: changes associated with stage of pregnancy, *Biochem. J.*, **307**, 399–405 (1995).
- 11) T. Ii, Y. Ohashi, and Y. Nagai, Structural elucidation of underivatized gangliosides by electrospray-ionization tandem mass spectrometry (ESIMS/MS), *Carbohydr. Res.*, **273**, 27–40 (1995).
- 12) T. Ii, Y. Ohashi, S. Nunomura, T. Ogawa, and Y. Nagai, Fast atom bombardment and electrospray ionization tandem mass spectrometry of sulfated Lewis^x trisaccharides, *J. Biochem.*, **118**, 526–533 (1995).
- 13) M. Zhao, M. Yoneda, Y. Ohashi, S. Kurono, H. Iwata, Y. Ohnuki, and K. Kimata, Evidence for the covalent binding of SHAP, heavy chains of inter- α -trypsin inhibitor, to hyaluronan, *J. Biol. Chem.*, **270**, 26657–26663 (1995).
- 14) T. Shibue, H. Kambe, H. Nishide, and Y. Ohashi, Analysis of functional groups of porphyrins by collision-induced dissociation mass spectrometry/mass spectrometry, *Anal. Sci.*, **11**, 793–796 (1995).
- 15) T. Ii, Y. Ohashi, T. Ogawa, and Y. Nagai, Negative-ion fast atom bombardment and electrospray ionization tandem mass spectrometry for characterization of sulfated and sialyl Lewis-type

- glycosphingolipids, *Glycoconjugate J.*, **13**, 273–283 (1996).
- 16) T. Ii, Y. Ohashi, T. Ogawa, and Y. Nagai, A new approach to the characterization of sulfated and sialyl Lewis^x-type glycosphingolipids using positive-ion FABMS, ESIMS, and CID-MS/MS, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **44**, 183–195 (1996).
 - 17) T. Shibue, H. Kambe, H. Nishide, S. Akashi, N. Dohmae, and Y. Ohashi, Structural characterization of “tailed picket-fence porphyrins” by high-energy fast atom bombardment collision-induced dissociation mass spectrometry/mass spectrometry, *Eur. Mass Spectrom.*, **3**, 291–299 (1997).
 - 18) T. Shibue, H. Kambe, H. Nishide, and Y. Ohashi, Comparison of electron ionization and fast atom bombardment ionization for CID-MS/MS studies of “Picket-Fence” porphyrin, *Anal. Sci.*, **13**, 845–847 (1997).
 - 19) Y. Ohashi, T. Ii, M. Kubota, S. Nunomura, H. Niwa, M. Ohashi, T. Ogawa, and Y. Nagai, FAB CID-MS/MS of in-source fragment ions as a means to differentiate linkage isomers of branched oligosaccharides: Le^a and Le^x type glycoconjugates, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **46**, 45–52 (1998).
 - 20) T. Shibue, H. Kambe, H. Nishide, E. Tsuchida, S. Akashi, and Y. Ohashi, Structural characterization of picket-fence porphyrinatoiron with ω -hydroxy-2,2-dimethylcosanoyl side-chains vs. ω -cholinephosphoryl-2,2-dimethylcosanoyl side-chains by FAB high-energy-CID MS/MS, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **46**, 250–254 (1998).
 - 21) S. Kurono, Y. Ohashi, K. Hiruma, T. Okinaga, M. Hoshi, H. Hashimoto, and Y. Nagai, Characterization of the sulfated fucose-containing trisaccharides by fast atom bombardment tandem mass spectrometry in the study of the acrosome reaction-inducing substance of the starfish, *Asterias amurensis*, *J. Mass Spectrom.*, **33**, 35–44 (1998).
 - 22) Y. Ohashi, T. Tanaka, S. Akashi, S. Morimoto, Y. Kishimoto, and Y. Nagai, Squid nerve sphingomyelin containing an unusual sphingoid base, *J. Lipid Res.*, **41**, 1118–1124 (2000).
 - 23) Y. Itoh, Y. Ohashi, T. Shibue, A. Hayashi, S. Maki, T. Hirano, and H. Niwa, Reduction in desorption mass spectrometry: multiple protonation on flavins without charge increment, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **50**, 52–57 (2002).
 - 24) Y. Ohashi and Y. Itoh, Unprecedented matrix-induced reduction of flavins observed under FAB and MALDI conditions, *Current Org. Chem.*, **7**, 1605–1611 (2003).
 - 25) Y. Ohashi, Y. Itoh, M. Kubota, K. Hamada, M. Ohashi, T. Hirano, and H. Niwa, Analysis of sugar epimers using mass spectrometry: *N*-acetylglucosamine-6,6'-disulfate and the 2'-epimer, *Eur. J. Mass Spectrom.*, **10**, 269–278 (2004).
 - 26) Y. Ohashi, H. Hatase, M. Nakamura, T. Hirano, S. Maki, and H. Niwa, Characterization of [1-¹³C]-specifically labeled amino acids using ESIMS/MS in the selected reaction monitoring mode, *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, **53**, 309–314 (2005).

総説および解説

- 1) 露木孝彦, 大橋陽子, 化学者および化学技術者のための有機化学 I, 化学と工業, **21**, 483–490 (1968).
- 2) 大橋陽子, 棚橋善昭, 化学者および化学技術者のための有機化学 II, 化学と工業, **21**, 630–637 (1968).
- 3) 大橋陽子, 生体関連物質の研究における質量分析法の進歩, 生化学, **59**, 1138–1143 (1987).
- 4) Y. Ohashi, How to obtain molecular weight information on large molecules—Multiply charged ions on electrospray ionization mass spectrometry, *Trends in Glycoscience and Glycotechnology (TIGGTM)*, **2**, 45–49 (1990).
- 5) 大橋陽子, 永井克孝, Chemistry '90, 生化学領域における質量分析, 化学, **45**, 730–731 (1990).
- 6) 大橋陽子, 質量分析における画期的方法, エレクトロスプレーイオン化法, 化学, **46**, 627–633 (1991).
- 7) 大橋陽子, MSにより糖鎖の構造を探る〈細胞膜の機能は見えるか〉, 化学増刊, **122**, 143–153 (1992).
- 8) 大橋陽子, 新しい質量分析法による複合糖質の構造解析, 有機合成化学協会誌, **51**, 529–540 (1993).
- 9) Y. Ohashi and Y. Nagai, Electrospray ionization mass spectrometry: Using biopolymers to extend the concept of heavy ions, *RIKEN Review*, **4**, 59–60 (1994).
- 10) 大橋陽子, 連載講座, 糖鎖構造解析のためのニューテクノロジー-3「質量分析法」, 化学と生物, **32**, 741–750 (1994).
- 11) Y. Ohashi, S. Kurono, and Y. Nagai, Adventures in glyco-mass-spectrometry: Seeking for a better method, *RIKEN Review*, **8**, 45–46 (1995).
- 12) 大橋陽子, エレクトロスプレーイオン化質量分析法, 生化学, **67**, 248 (1995).
- 13) 大橋陽子, 生化学領域における最近の質量分析, 生化学, **67**, 1295–1301 (1995).

著書

- 1) 飯田静夫, 楠 泰典, 大橋陽子, 永井克孝, “続生化学実験講座 第4巻 複合糖質研究法 II. 糖脂質とプロテオグリカン”, 日本生化学会編, 東京化学同人, 東京 (1986), pp. 157–180.
- 2) 大橋 守, 大橋陽子, “有機化学実験のてびき 2—構造解析—”, 後藤俊夫, 芝 哲夫, 松浦輝男監修, 化

- 学同人, 京都, (1989), 第3章, pp.180-197.
- 3) 大橋陽子 (共著), “南山堂医学大辞典 (17 版)”, 南山堂, 東京 (1990).
 - 4) 大橋陽子, “新生化学実験講座第 4 卷 脂質Ⅲ—糖脂質—”, 日本生化学学会編, 東京化学同人, 東京 (1990), pp. 180-197.
 - 5) Y. Ohashi, D. A. Gage, and C. C. Sweeley, Gangliosides and Neutral Glycosphingolipids, “Techniques in Diagnostic Human Biochemical Genetics: A Laboratory Manual,” ed. by F. Hommes, Wiley-Liss Inc., New York (1991), pp. 239-265.
 - 6) 鈴木 實, 大橋陽子, 鈴木明身, 最新の質量分析法による複合糖質の構造研究, “糖鎖工学”, 糖鎖工学編集委員会編, 産業調査会バイオテクノロジー情報センター, 東京 (1992), 第 V 章, 2, 434-451.
 - 7) 大橋陽子(共著), “分子細胞生物学辞典”, 村松正実 他編, 東京化学同人, 東京 (1997).
 - 8) Y. Ohashi, Electrospray Ionization Mass Spectrometry of Carbohydrates and Lipids, “Electrospray Ionization Mass Spectrometry: Fundamentals, Instrumentation, and Applications,” ed. by R. B. Cole, John Wiley & Sons, Inc., New York (1997), Chap. 13, pp. 459-498.
 - 9) Y. Ohashi, S. Kurono, and Y. Nagai, Analysis of Carbohydrate-Protein Interactions by Mass Spectrometry, “Techniques in Glycobiology,” ed. by R. R. Townsend and A. T. Hotchkiss, Jr., Marcel-Dekker, Inc., New York (1997), pp. 77-83.
 - 10) 大橋陽子(共著), “南山堂医学大辞典 (18 版)”, 南山堂, 東京 (1998).