

【技術資料】選択励起法を用いた糖鎖及び単糖の構造解析 ～ 選択励起 2 次元 NMR 測定 ～

概要

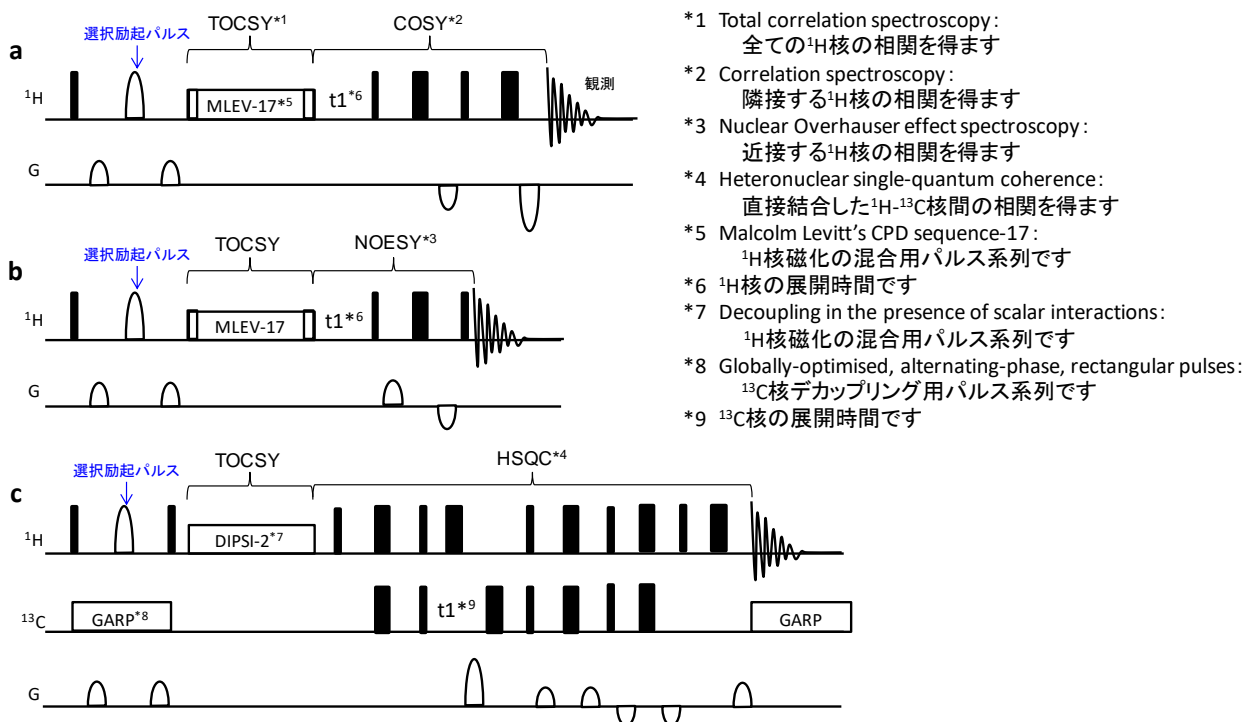
糖鎖は単糖(グルコース、ガラクトース等)が脱水縮合して形成された生体分子であり、生体内に普遍的に存在します。近年、糖鎖の構造や機能が生命活動に重要な役割を果たすことが分かり、DNA、タンパク質に次ぐ第3の生命鎖として注目されています。

弊社では糖鎖から構成単糖選択的、及び構造異性体選択的な情報を取得することが可能な選択励起 2 次元 NMR 測定手法¹⁾を保有し、構成単糖の種類やグリコシド結合、単糖構造異性体を解析することが可能です。本技術資料では、選択励起 2 次元 NMR 測定を用いた解析例として、①N-結合型糖鎖の分子構造解析と、②単糖構造異性体の特異的帰属の例をご紹介します。

分析方法・分析装置

- ・分析方法：選択励起 2 次元 TOCSY^{*1}-COSY^{*2}、TOCSY-NOESY^{*3}、TOCSY-HSQC^{*4}
- ・分析装置：700MHz NMR、500MHz NMR

以下にパルスシーケンスダイアグラムを示します。



【図 1】 選択励起 2 次元 TOCSY-COSY(a)、TOCSY-NOESY(b)、TOCSY-HSQC(c) のパルスシーケンス

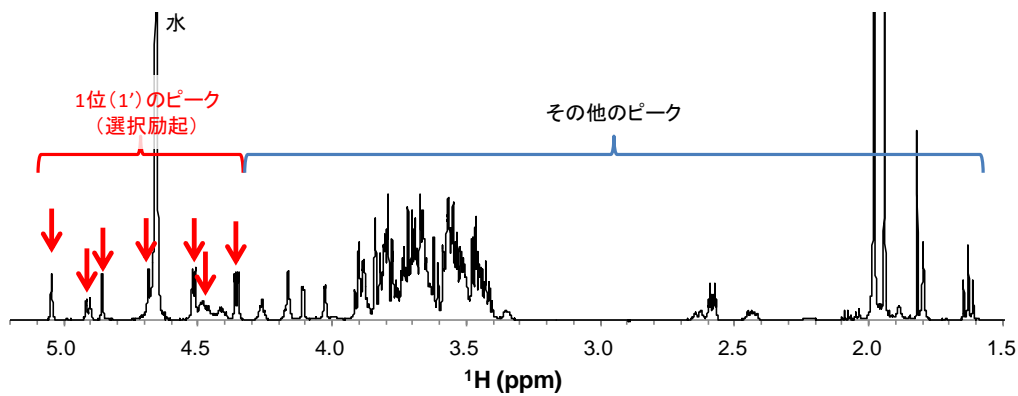
試料

N-結合型糖鎖、キシロース

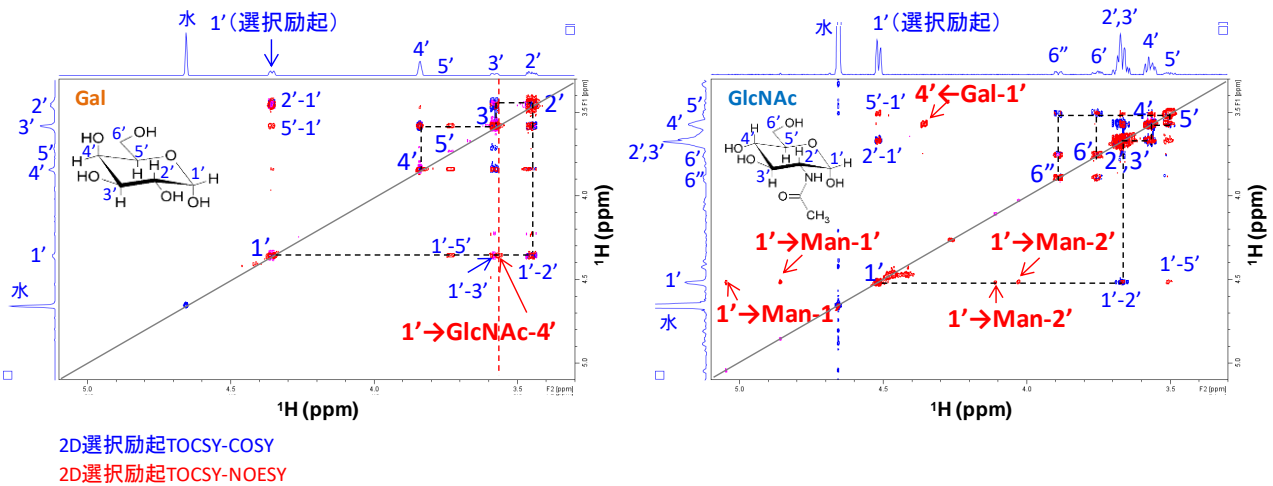
結果

① 選択励起 2次元 TOCSY-COSY、TOCSY-NOESY を用いた N-結合型糖鎖構造解析

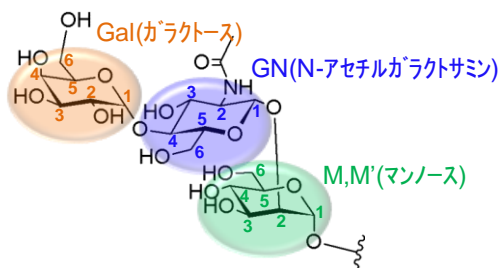
選択励起 2次元 NMR 測定は、単離している ^1H ピークを選択的に励起し(図 2)、そのピークに関連する情報を得る測定手法です。選択励起 2次元 TOCSY-COSY により単糖内 ^1H の解析、選択励起 2次元 TOCSY-NOESY により単糖間 ^1H (グリコシド結合)を解析できます(図 3)。これにより、N-結合型糖鎖の分子構造解析が可能です(図 4)。



【図 2】 選択励起 NMR 測定のイメージ



【図 3】 選択励起 2次元 TOCSY-COSY(青ピーク)と TOCSY-NOESY(赤ピーク)スペクトルによる解析例

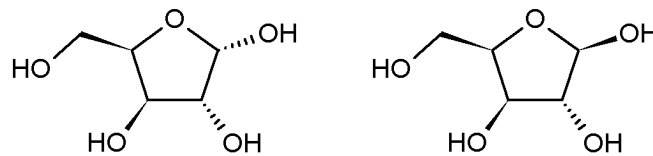


【図 4】 解析された糖鎖の部分構造

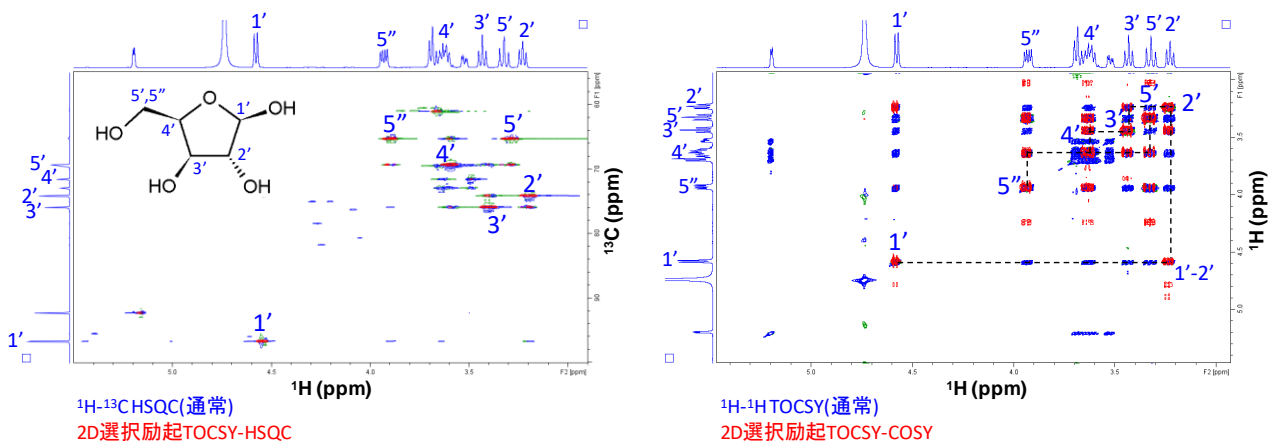
② 選択励起 2 次元 TOCSY-HSQC と TOCSY-COSY を用いた単糖構造異性体の特異的帰属

選択励起 2 次元 TOCSY-HSQC と TOCSY-COSY により、特定の構造異性体に由来する ^1H 及び ^{13}C 化学シフトの同定が可能です。

キシロース等の単糖は、構造異性体を複数有します(図 5)。通常の 2 次元 NMR 測定手法では全ての構造異性体由来のピークが同時に観測されますが(図 6 青)、選択励起 2 次元 TOCSY-HSQC 測定では β -体キシロースの ^1H 及び ^{13}C の化学シフトの解析(図 6 左、赤)、TOCSY-COSY では同じく β -体キシロースの ^1H の帰属が可能です(図 6 右、赤)。



【図 5】 キシロースの構造異性体(左: α -体、右 β -体)



【図 6】 選択励起 2 次元 TOCSY-HSQC(左)と TOCSY-COSY(右)による β -体キシロースの解析
青ピーク：通常の測定手法
赤ピーク：選択励起 2 次元 NMR

まとめ

選択励起 2 次元 NMR 測定を用いることで、糖鎖の構成単糖の同定やグリコシド結合位置、修飾位置の解析や、構造異性体混合物における特定構造の解析が可能です。 ^1H ピークの重複が激しく解析が困難になりやすい糖鎖、天然物、およびその誘導体の分子構造解析に有用です。

引用文献

- 1) Sato, H & Kajihara, Y. *Carbohydr. Res.* **340**, 469–479 (2005).

適用分野：NMR、選択励起

キーワード：糖鎖、天然物、構造異性体、分子構造解析、医薬品、化粧品、農薬