

LewisX 3糖、LewisX 5糖、非LewisX 4糖がそれぞれアミノエチル基を介してアシル鎖に連結した糖脂質を合成した。動的光散乱法により、これらのネオ糖脂質は予想通り、水溶液中で自己凝集し、クラスターを形成していることが示された。そして、LewisX 5糖が結合した糖脂質クラスターのみカルシウムイオンに依存して高次の会合体を形成することが明らかになった。

こうして創り出した糖脂質クラスターの生物活性を調べるために、分化前後の神経幹細胞の培地中にそれらを添加した。その結果、LewisX糖鎖が結合した糖脂質クラスターのみ分化前の神経幹細胞に対して選択的にアポトーシスを誘導することを見出した。また非LewisX4糖構造を有する糖脂質クラスターおよびアシル鎖部分を有さない化合物は、神経幹細胞に対してアポトーシス誘導能がないことも確認した。こうして見出されたアポトーシス誘導能は、アシル鎖の炭素数の違いにも依存

しており、炭素数18のアシル鎖が結合した化合物が最も高いアポトーシス誘導能を示した。

セラミドは生体内に必須の脂質であるが、細胞内に多量のセラミドが存在するとアポトーシスを引き起こす反応経路が存在することが知られている。こうしたことから、特定の糖鎖構造とアシル鎖部分を有するネオ糖脂質が形成するクラスター分子は分化前の神経幹細胞に特異的に認識されたのち細胞内に取り込まれ、分子内のアミド結合が切断され生じるアシル鎖がセラミドの原料となることで、結果的に細胞内のセラミド濃度を上昇させアポトーシスを誘導している可能性がある。

これらの研究から、糖脂質の糖鎖の構造および脂質部分を改変することによりクラスター状態を制御し、未分化細胞依存的なアポトーシス誘導剤を開発することができた (*Neurochem Res.* **2018**,43:212-218)。

このように、実験と理論を組み合わせることによって、糖鎖の機能を向上・高度化することに成功した。こうした研究成果は、分子科学研究所・加藤晃一教授との共同研究として、協力研究(ナノテクノロジープラットフォーム)の支援により得られました。この場を借りてお礼申し上げます。



やぎ・ひろかず

1979年香川県に生れる。2003年名古屋市立大学薬学部卒業。08年同大学院薬学研究科博士後期課程修了。その後、同研究科および自然科学研究機構生理学研究所において日本学術振興会特別研究員。09年より名古屋市立大学大学院薬学研究科助教を経て、13年より現職。核酸やタンパク質と異なり、分岐性、構造異性、不均一性といった特徴を有する糖鎖がいかにして生命現象を担っているかに興味を持ち研究を進めている。

施設だより	<h2>新装置紹介</h2> <h3>「光誘起時間分解ESR ナノ秒波長可変レーザー更新」</h3> <p>機器センター 中村 敏和 (チームリーダー)</p>
-------	--

2018年度末に機器センターの電子スピン共鳴装置 (ESR: Electron Spin Resonance) で、光誘起時間分解ESR測定を行うための光源であるナノ波長可変レーザーを更新致しました。更新前は、東北大学から譲り受けたナノ秒Nd:YAGレーザー + OPOレーザー (Spectra-Physics社製1994年導入) を使用し、2013年度より施設利用に供してきました。繰返しは10Hz、出力は当初 >350 mJ/pulse@355 nm

(3.5 W)、OPO出力で >20 mJ/pulse@500 nmでしたが、老朽化が進み250 mJ/pulse@355 nmまで落ち込みOPO出力も不安定となりました。そこで、今回同社のNd:YAG + OPOレーザーを更新しました。具体的には、Spectra-Physics製品Nd:YAGレーザー LAB-170-50-THGBU-WおよびOPOレーザー primoScan/ULD-240UVS1-Wを導入しました。測定時間短縮のため高繰返しの50Hzを

選定し、出力100 mJ/pulse@355 nm (5 W)、OPO出力は >30 mJ/pulse@430 nm、UVオプションも備え、発振波長域は250 nm ~ 2700 nmを得ることができます。UV域の代表的な出力は、>3.9 mJ@345 nm、>2 mJ@260 nmです。OPOの出力の仕方は、signal光で405 ~ 709 nm、idler光で710 ~ 2700 nmです。オプション追加で、SHS (Second Harmonics of the Signal: signalの2

倍波)で250~297 nm、1064 nmとsignalの和周波で297 nm~405 nmの領域が可能となります。Bruker社のESR分光器E680を用い、X-band (9.4GHz)、Q-band (34GHz)の光誘起時間分解測定が可能です。

電子スピン共鳴は磁気双極子遷移に基づくため、ESR信号は本来電子スピンを有する物質でしか観測出来ません。しかしながら、基底状態が一重項のもので、光励起状態から項間交差を通じて励起三重項状態になればESRでも測定可能です。非平衡状態では電子状態(軌道対称性、電荷分布)が時々刻々と変化しているため、波動関数の情報が得られる光誘起時間分解ESR測定はそうした時々刻々と変化する物質の電子状態の非平衡ダイナミクスに関する知見を与えてくれます。

近年、基礎分野では、光誘起や電場印加での電荷・スピンドイナミクス研究が注目されています。光励起状態からの電子移動・電荷分離・電荷再結合といった過渡的状態の理解は、低分子から導電性物質あるいは光化学系に関与するタンパク質などにおいても重要な鍵となります。材料科学や応用分野でも、EL (Electronic Luminescence)、太陽電池の材料などでは、発光効率や再結合までの緩和過程、緩和時間の理解が肝要です。一重項-三重項の項間交差・逆項間交差、一重項励起分裂 (SF: Singlet Fission) や三重項-三重項消失 (TTA: Triplet-Triplet AnnihilationあるいはTTF: Triplet-Triplet Fusion) 現象などに対してもスピンドイナミクスは本質的に重要であり、ESRは強力な実験手法となります。

ESR測定では、強度、 $g$ 値(共鳴磁場)、線幅、スペクトル形状が主に得られる情報です。強度から電子スピンの数や濃度を見積もることが可能で、スピン

状態(基底状態や励起状態に関する情報)や電子状態(磁性、伝導性)、化学反応状態、応用目的では半導体のキャリア濃度、材料の劣化(欠損数)を知ることが出来ます。 $g$ 値から観測しているスピン種の起源を同定することが可能となります。また、線幅や線形は電子スピンのダイナミクスを反映しており、励起スピンの遍歴性(電荷分離状態なのか束縛三重項状態なのか)など動的挙動を理解出来るユニークな物理量であり、物性物理や応用物理では貴重な情報です。さらに、パルス法では、緩和曲線・緩和時間を直接得ることが出来ます。磁気双極子相互作用を含む場合、スペクトル形状は、束縛三重項状態でのスピン間距離や分布に関する情報を含有しています。分子構造やタンパク質の構造など、合成化学や生物物理分野での応用に有効な実験手法です。

前述のように、これまでのレーザーは老朽化により安定性が悪く、出力波長領域も限られていました。また、繰り返し周波数も遅いという問題もありました。そもそも、光励起状態からの電子スピン緩和は通常の光学遷移からの失活に比べて格段に長い時間を要し

ます。加えて、光誘起時間分解ESR測定は「磁場(エネルギー)」と「時間発展」の2次元測定であるため、必要なスペクトルを得るには多くの積算と時間が必要です。数時間から場合によってはオーバーナイトの計測が必要なこともあります。計測中に分光器のチューニングがずれると信頼しうるデータが取れませんので、短時間の測定が望ましい状況にあります。また、分子研のESR利用は比較的混んでいまして、マシンタイムの軽減と同時に受け入れられる利用者の方々の増加が見込めます。

分子研のESR装置は共同利用機器として、また文部科学省「ナノテクノロジープラットフォーム」の支援設備としてオープンになっています。産官学を含めての利用が可能です。E680分光器は原則としてパワーユーザーの利用のみになっていますが、我々スタッフがサポート致しますので、まずは『どのような対象に対し、どういう測定を希望されるか』を、お問い合わせ頂ければと思います。機器センターホームページ (<http://ic.ims.ac.jp/tebiki.html>) をご参照下さい。



更新したナノ秒波長可変レーザーと電子スピン共鳴装置E680。

施設だより

## 設備ネットワーク予約課金システム更新と 公私立大の参画について

機器センター 石山 修（特任研究員）

機器センターでは、「大学連携研究設備ネットワーク事業」の主体機関・事務局としての活動を2007年度から継続して実施している。本事業は、国立大学の所有する化学系の研究設備を対象とする活動でスタートしたが、その後、物質科学分野全般の研究設備にその対象を拡大するとともに、公立・私立大学や民間企業からの利用も可能とし、設備相互利用の促進を図ってきた。事業開始からの学内利用を含めた総利用件数、ならびに学外利用件数の推移を図1に示す。発足当時から利用件数は順調に増加し、2018年度には総利用件数が約14万件/年、学外利用件数は2,400件/年に達している。本稿では、ネットワーク事業推進のための最近の取り組みについて概観する。

### 【1】大学連携研究設備ネットワーク予約・課金システムの改修

本事業を支えるインフラとして欠くことのできないのが、WEBシステムを利用した予約・課金システム（以下、「ネットワークシステム」という。）である。ネットワークシステムに登録された約2,200台の研究設備を全国一元的に確認して予約や利用実績の確認を行うことが可能であり、利用者約1万3千人程度の規模で運用されている。ユーザーにとってより利用しやすいシステムを実現するために、機能追加・更新をはじめとするシステムの改修作業を継続的に行ってきたが、事業開始から10年を経た2018年度には以下に述べる大規模の改修を行った。

①利用者増加に伴う情報の大容量化

への対応：負荷分散を考慮し、複数のサーバーでシステムを構成し、多数のユーザーが同時にネットワークシステムを利用しても対応可能なマルチタスク機能を強化した。また、今後のアクセスの増加や蓄積データ量増大について、運用開始後に容易に演算速度や容量を増強可能な環境を構築することを重視し、レンタルサーバー（外部サーバー）を採用している。

②セキュリティ機能強化の取り組み：外部機関に属する研究者の個人情報データベースとして含むことになる本システムにはネットワークセキュリティの堅牢性が必須である。サーバーを、中立機関によってセキュリティ適合が証明された堅牢なデータセンターに設置するとともに、自然科学研究機構の情報セキュリティ規定、個人情報保護法との整合性を遵守するため、所内の見識者との議論を行い、十分な時間をかけてインターフェース設計を行った。

### 【2】公・私立大学・高専等の協議会参画

2018年度までは研究設備を提供する側の機関（協議会参画機関）を本事業の開始当初からの72の国立大学と分子科学研究所に限定してきたが、2019年度より公・私立大学・高専等についても協議会参画を可能とする規約改訂を行った。これにより、スケールメリットによる利便性の向上、多様な意見の反映による運営の健全化などが期待できる。今年度4月の規約改訂以降、東京工業高等専門学校と公立千歳科学技術大学が研究設備を提供する

機関として協議会に新規参画しており、さらに複数の機関からの問い合わせ、調整が進行中である。また、これに伴い国立大学に固有で処理が複雑な利用料金の相殺システムを廃止し、利用料金の精算手続きを統一・簡便化した。

### 【3】他の設備共用システムとの連携

文部科学省は第5期科学技術基本計画等に基づき、設備共用のための政策（先端研究基盤共用促進事業等）を実施している。このような各大学における汎用設備の管理体制構築の取り組みに対する連携・支援を行うため、ネットワークシステムのプログラム及び付随するドキュメントを、希望機関へ無料配付する体制を整備した。さらに、各研究機関が独自に運用している設備共用システムと本事業のネットワークシステムとの間で、ユーザー情報や予約情報等のデータを共有/連携する機能を付加する試みを行っている。それぞれの機関固有のシステムの特徴や使い勝手の良さを維持したまま、設備を共用できることになれば、相互利用の活性化に大きく寄与することが期待される。

以上のようなネットワークシステムの整備、事業の推進活動を展開することで、一定の成果は出ていると考えられるが、大学間の相互利用が十分かと問われるとまだまだ不十分と言わざるを得ない。例えば冒頭で述べた学外利用件数は、全利用件数の2%程度にとどまっており、ほぼ横ばいとなっているのが実態である。相互利用を妨げている要因を解析し、さらなる対策を講

じる必要があると考えられる。

本ネットワーク事業は、2021年度で終了となるため、次の展開を検討する時期に入っている。文科省の種々の施策も始動期を経て、安定した体制に移行しつつあると思われる。引き続き

共同利用を通じて我が国の研究活動の推進に資することのできるよう、最適解を模索しながら活動を進めていく所存である。利用者をはじめ各所から忌憚のないご意見を頂戴したい。

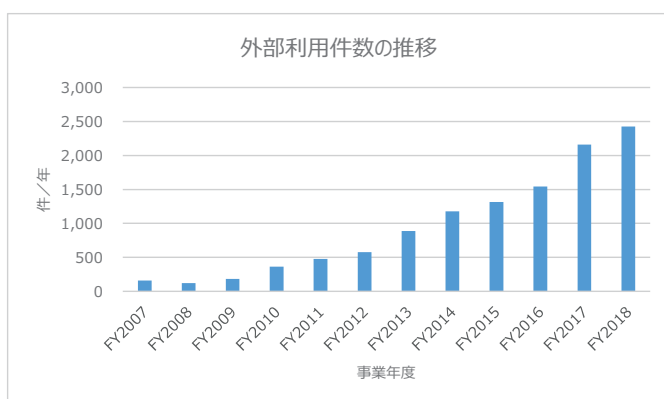
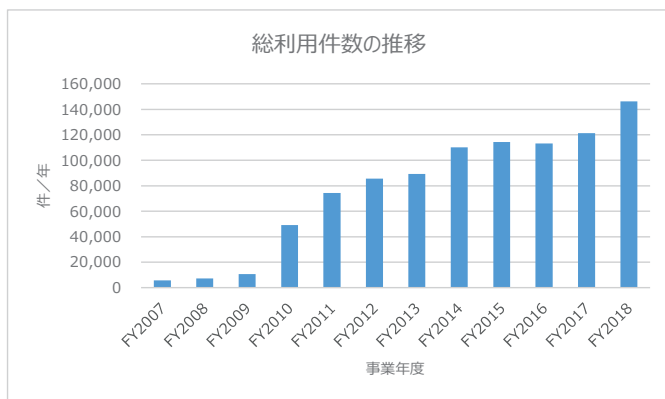


図1 ネットワーク事業における利用件数の推移。

施設だより

## MALDI-TOF-MSの更新

機器センター 水川 哲徳（技術職員）

### 1. 概要

老朽化に伴い不具合の頻発していたSciex社製: VoyagerDE-STR（1999年導入）に代わって新MALDI-TOF-MS、Bruker社製microflexが2018年に山手4号館403号室に導入されました。

ここではmicroflexの簡単な紹介をします。

### 2. 旧機種との比較

#### ①測定の迅速化

VoyagerはN<sub>2</sub>ガスレーザーを使用し最大繰返し周波数:20 Hz（通常3 Hzで運用）でしたが、microflexは60 Hzであり、大幅に測定時間が短縮されました。例えば、ピークの出にくいサンプルは1000回程度積算することも

ありますが、その場合、旧装置では測定に6分弱かかります（3 Hzの場合）が、新装置の場合20秒弱で測定が終わります。

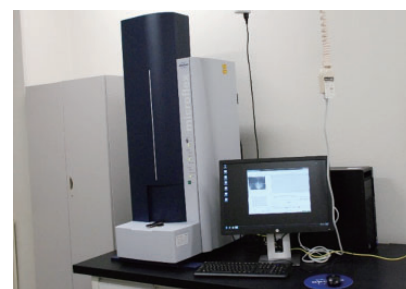
#### ②操作の簡便化

##### i) ランダムウォーク

マトリックス支援レーザー脱離イオン化法（Matrix Assisted Laser Desorption Ionization: MALDI）では、適宜レーザー照射部位を移動させながらスキャンする必要があります。Voyagerでは手動で移動させてましたが、microflexではランダムウォークモードが搭載されており装置に任せることができます。

##### ii) メソッドファイル

microflexでは、メソッドファイルの選択が容易で、パラメーターの設定も



Bruker社製microflex（2018年導入）。

簡単になっています。

#### ③感度の向上

Voyagerと比較して最大で感度が5倍に向上しています。

### 3. MALDIとは

質量分析法における試料のイオン化の方法はいくつか存在します。当センターで管理している共用装置では、イオン化部として、電子イオン化法（EI）、

化学イオン化法 (CI)、高速原子衝撃法 (FAB)、MALDI、そしてエレクトロスプレーイオン化法 (ESI) があります。

MALDIはイオン化を補助するためにサンプルにマトリックスを添加します。この混合物にレーザーを照射することによりサンプルがマトリックスとともに一瞬にして気化され、気相反応でマトリックスとの電子授受によりイオン化されます。このためソフト (穏和) な条件でサンプルがイオン化でき、分子イオンピークが容易に観測されます。ESIの方がよりソフトなイオン化ですが、分子量10万以上の高分子量のサンプルには向いていません (図2)。

#### 4. 実際の測定

MALDIでは、サンプル調整の条件探しに手間取ることがあります。マトリッ

クスの選定、混合割合、混合の仕方等は一義に決まりません。

サンプルプレートを装置にセットした後は、microflexではm/zに応じてメソッドファイルを選択し、レーザーパワーを調整するだけです。レーザーパワーが弱すぎるとノイズが目立ちサンプル由来のピークが観測されません。また、逆にレーザーパワーが強すぎるとサンプルが反応してしまい、装置内で二量体、三量体あるいは四量体を形成したり、分解物を生成したりすることになります。スペクトルの状態を見ながら適切なレーザーパワーに調整することが必要になります。

#### 5. リニアモードとリフレクターモード

この装置には、リニアモードとリフレクターモードがあります。リニアモー

ドはイオンを直線飛行させるものであり、リフレクターモードは、静電場によってイオンの飛行方向を反転させることにより分解能を向上させるものです。ただし、感度は低下します。リフレクターモードでは24000Daまで測定可能ですが、概ね3000Da以上の領域では、リフレクターモードでの測定がリニアモードに比べて分解能が顕著に向上せず、一方、感度が1/10程度に低下しますので、まずはリニアモードで測定することを推奨しています。

#### 6. 最後に

この装置は比較的簡単な操作で迅速に測定が可能ですのでお気軽にご利用ください。



図 種々のイオン化法。