Preface for the Special Issue Entitled “Multi-dimensional HPLC Mapping Method”

「多次元 HPLC マップ法」の特集にあたって

Kato, Koichi

Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Nagoya City University

The wave of genomics that arose in the final decades of the previous millennium has revolutionized every field of biology. It has promoted comprehensive analyses of expression profiles of messenger RNAs (transcriptomics), proteins (proteomics), and a variety of metabolites (metabolomics). Also, the tide of systematic high-throughput analyses has incited systematic characterizations of whole sets of protein structures (structuromics), interactions of biomacromolecules (interactomics), phenotypes (phenomics), and even animal behaviors (behavioromics). Although these *omics* approaches frequently resemble big enterprise with military-like human-wave attack with massive weapons, the real breakthroughs in these fields have been provided by innovation and development of analytical technologies, which are often achieved by enthusiastic individuals inspired by the spirit of traditional craftsman.

How is it in the field of glycomics? Recent advances in mass spectrometry enabled the rapid analyses of oligosaccharides with high sensitivity. The great achievements made by the two Nobel Laureates, Koichi Tanaka and John B. Fenn, have been widely recognized as technological advancements not only in glycomics tool but also in a wide range of other biomolecular analyses.

One should not forget, however, the multi-dimensional HPLC mapping method featured in this special issue, has been and remains to be a frontier approach in structural glycobiology. This valuable method plays important roles in the structural analyses of glycans, since it allows us to identify glycan structures reliably, distinguishing glycoisomers, and to carry out quantitative glycosylation profiling at molecular, cellular and tissue levels. Whoever is familiar with glycan structural analyses acknowledges that Dr. Noriko Takahashi, Professor Emeritus of Nagoya City University, is the *mother* of multi-dimensional HPLC mapping method. The birth of this method was brought about by an unexpected discovery of glycoamidase A from almond in 1977 by Dr. Takahashi, who stated that “It was achieved under the guidance of the

前ミレニアム末期に勃興したゲノミクスの風波は生物学のあらゆる分野に変革をもたらした。それにより、発現パターン of 包括的な分析研究を、メッセンジャー RNA (トランスクリプトミクス)、タンパク質 (プロテオミクス)、あるいは様々な代謝物 (メタボロミクス) について実施することが促されてきた。体系的にハイスループット分析を行なうという風潮はまた、ありとあらゆるタンパク質の立体構造 (ストラクチュロミクス)、生体高分子間の相互作用 (インタラクトミクス)、表現型 (フェノミクス)、さらには動物の行動 (ビヘビアロミクス) までも、系統的に調べ上げようとしている。こうした“オミクス”と総称されるアプローチは、大規模な兵器で武装した軍隊による人海戦術のような一大事業の様相をしばしば呈している。しかしながら、これらの研究領域における真のブレークスルーは、分析技術の革新と開発によってもたらされるものであり、それらは多くの場合、職人気質をもった個人の情熱によって実現されている。

グライコミクスの領域ではどうであろうか？ 近年の質量分析の進展により、糖鎖を高感度で迅速に分析することが可能となった。ノーベル賞の栄誉に輝いた田中耕一、John B. Fenn 両氏の偉業は、グライコミクスのツールとしてのみならず、広範な生体分子の分析における技術の躍進をもたらしたものと広く認識されるところである。

しかしながら、本号で特集する多次元 HPLC マップ法が、構造糖鎖生物学における先端的アプローチとしての地位を依然として保っていることを忘れてはならない。この方法を用いれば、糖鎖異性体を確実に区別しながら構造の同定を行なうことが可能であり、定量的な糖鎖プロファイリングを分子・細胞・組織のレベルで実行することもできる。そのため、多次元 HPLC マップ法は糖鎖の構造解析において重要な役割を演じている。糖鎖の構造解析に詳しい人ならばだれでも、高橋禮子博士 (名古屋市立大学名誉教授) が“多次元 HPLC マップ法の母”であることを知っている。この方法は、グリコアミダーゼ A が 1977 年に高橋博士によって期せずして見出されたことによって産み出された。発見者の高橋博士によれば、「それはサイエンスの女神によって導かれたもの」だ

Goddess of Science.” She successfully applied pyridylamination techniques developed by Dr. Sumihiro Hase and co-workers to fluorescence labeling of *N*-linked oligosaccharides liberated by using the glycoamidase A and thereby seeded the idea of 2D HPLC map. However, as is often the case with novel approaches, the HPLC mapping method had to withstand the test of time in its infancy under trying conditions. Despite her harsh environment, Dr. Takahashi has steadfastly collected HPLC data, with few, but dependable, loyal coworkers. Among these coworkers are Drs. Noboru Tomiya and Hiroaki Nakagawa, who are contributors in this issue. Over the years, through the efforts of these persistent workers, the multi-dimensional HPLC approach gradually attracted sympathetic supporters and has consequently built the basis of an *omics*.

Currently the HPLC map offers data to more than 600 different *N*-glycans and now becomes a *de facto* standard of structural analysis of *N*-linked oligosaccharides. The widespread applications of this method have covered various industrial applications including quality control of biologics, identification of active components of natural biological products, uncovering diagnostically useful biomarkers, etc. The vast array of the oligosaccharide standards constructed by the multi-dimensional HPLC method can be a useful tool for comprehensive analyses of carbohydrate structures and functions.

In view of such development, the editors of this issue have selected to highlight the multi-dimensional HPLC mapping method from historical and current aspects, and invited appropriate authors to contribute to this issue. The contributing authors are practicing glycobiologists who have aided in development of the multi-dimensional HPLC mapping method as well as have reaped maximum benefits from this method. In the first article, Professor Yuan Chuan Lee of Johns Hopkins University, the co-editor of this issue, summarizes the historical development of analytical methodologies of *N*-glycans. The second article is by Dr. Noboru Tomiya of Johns Hopkins University on the topic of humanization of recombinant glycoproteins expressed in insect cells, accentuating the usefulness of the multi-dimensional HPLC mapping method. The third article by Dr. Hiroaki Nakagawa of Hitachi High-Technologies Corporation describes the application of the 2D HPLC map to medical researches, underscoring its capability to distinguish isomeric *N*-glycan structures. In the fourth article, Dr. Hirokazu Yagi and myself from Nagoya City University, describe the current development of multi-dimensional HPLC mapping method, focusing on the structural analyses of anionic *N*-glycans. The fifth article presented by Professor Royston Jefferis of University of Birmingham

とという。高橋博士は、グリコアミダーゼ A によって切り出された *N* 型糖鎖の蛍光標識に、長谷純宏博士らによって開発されたピリジルアミノ化法を成功裡に応用することによって 2 次元 HPLC マップというアイデアの種を蒔いた。しかしながら、斬新なアプローチがしばしばそうであるように、多次元 HPLC マップ法もまた、その初期には苦しい試練の時を耐えねばならなかった。こうした厳しい状況の中でも、固い信頼で結ばれた数少ない同志とともに、高橋博士は不屈の精神で HPLC データを収集した。同志の中には本号の執筆者である富谷 昇博士ならびに中川裕章博士もいる。幾星霜を経て、これらの粘り強い研究者の努力により、多次元 HPLC マップ法は徐々にそれに共感する支持者を集め、結果的に 1 つのオミクスの基盤を築くに至った。

現在では多次元 HPLC マップ法は 600 種類を超える *N* 型糖鎖の HPLC データを提供しており、いまや *N* 結合型糖鎖の構造解析における事実上の標準方法としての地位を確立している。この方法の広範な応用は、生体由来物質を用いた製品の品質管理、天然の生体由来物質における活性成分の同定、疾患診断に有用なバイオマーカーの探索などにも及んでいる。多次元 HPLC マップ法に基づいて構築された極めて多種類の標準糖鎖は、糖鎖の構造・機能解析を広範に行なううえで有用なツールとなり得る。

こうした進展に鑑み、本号の編者らは多次元 HPLC マップ法を歴史的および今日的観点から特集することを企画し、それに相応しい方々に寄稿をお願いした。執筆者はいずれも多次元 HPLC マップ法の開発に助力するとともに、本方法の恩恵を最大限に受けてきた実践的な糖鎖生物学者である。はじめに、本特集号の共同編者である Yuan Chuan Lee 教授（ジョーンズ・ホプキンス大学）に *N* 型糖鎖の分析法の歴史的な展開についてまとめていただいた。次に、富谷 昇博士（ジョーンズ・ホプキンス大学）に、ヒト型糖鎖をもつ組換え糖タンパク質の昆虫細胞による発現に関するトピックスについて、多次元 HPLC マップ法の有用性を強調しつつご執筆いただいた。また、中川裕章博士（株式会社日立ハイテクノロジーズ）は、医学研究における多次元 HPLC マップ法の応用について、本方法が *N* 型糖鎖異性体を識別できるという点を強調しつつ解説されている。続いて、矢木宏和博士と筆者（名古屋市立大学）が酸性 *N* 型糖鎖の構造解析に焦点をあてつつ、多次元 HPLC マップ法の現在の発展について解説している。更に、Royston Jefferis 博士（バーミンガム大学）が、多次元 HPLC マップ法を応用した免疫グロブリン G の糖鎖プロファイリングについての総説をまとめ、基礎および応用免疫学の領域における本方法の有用性を述べられている。最後に、高橋禮子博士により「*N* 型糖鎖構造解析の夢に生きた私

summarizes the applications of multi-dimensional HPLC mapping method to glycosylation profiling of immunoglobulin G, emphasizing the usefulness of this method in the fields of basic and applied glycoimmunology. The last article by Dr. Noriko Takahashi, entitled “My 30 Years in the Dream of the Structural Analyses of the *N*-linked Oligosaccharides”, summarizes her long odyssey of multi-dimensional HPLC mapping method.

We hope this special issue will contribute to analytical glycoscience by promoting understanding of the efficacy of multi-dimensional HPLC mapping method. We also hope that younger scientists can learn lessons from the spirit of a pioneering researcher who has devoted herself toward sprinkling a huge number of stars in the sky to form a big galaxy.

の30年」というタイトルのもとで、多次元 HPLC マップ法にまつわる著者ご自身の長きにわたる物語をまとめていただいた。

本特集号が、多次元 HPLC マップ法の有用性に関する理解を促すことを通じて糖質分析科学の進展に寄与することを期待する。あまたの星々をちりばめて広大な銀河を創ることにひたむきに打ち込んだ先駆的な研究者の精神から、若い科学者の方々が学ばれるものがあれば編者として幸甚である。