

糖タンパク質の糖鎖解析

～抗体医薬品・基剤・細胞・血液・組織由来糖タンパク質の糖鎖解析～

横浜市立大学 生命医科学研究科 創薬再生科学研究室 教授 川崎 ナナ
同 創薬再生科学研究室 産学連携糖鎖解析ハブ 特任准教授 高倉 大輔

糖鎖ってなあに？

生体内のタンパク質やバイオ医薬品の多くは糖鎖修飾されています。糖鎖は、タンパク質の活性や細胞接着・シグナル伝達等にかかわっています。また、バイオ医薬品においては安定性、薬理作用や薬物動態、免疫原性など品質や有効性・安全性に関与することが知られています。しかし、糖鎖の構造は複雑で不均一性があるため、解析は容易ではありません。

どのような方法(流れ)で解析しますか？

液体クロマトグラフィー/質量分析(LC/MS)を使います。まず、医薬品候補となる抗体や糖タンパク質をアセトン沈殿等で精製します。トリプシン等を使ってペプチドに消化した後、糖ペプチドの濃縮を経て、LC/MS/MSデータを取得します(右上図1)。

産学連携糖鎖解析ハブでは何がわかりますか？

糖鎖修飾部位ごとの糖鎖の種類と分布がわかります。また、横浜バイオリサーチアンドサプライとの連携により、医薬品候補タンパク質の製造から糖鎖分析まで、さらに、GMP対応SOPのご提案まで可能となります(右下図2)。

他社(受託機関)とは何が違いますか？

他社は、主に遊離糖鎖を解析しています。ペプチドと糖鎖を酵素で切り離してしまいますので付加部位に関する情報は失われてしまいます。

費用・時間はどれくらいかかりますか？

お近くの担当者にお尋ねください。

糖鎖解析の実施例はありますか？

抗体医薬品(セツキシマブ)とiPS細胞培養用基剤(ヒトラミン-511)等の解析例があります(【解析実施例】①, ②)。

【糖鎖解析実施例】

① 抗体医薬品(セツキシマブ)の糖鎖解析

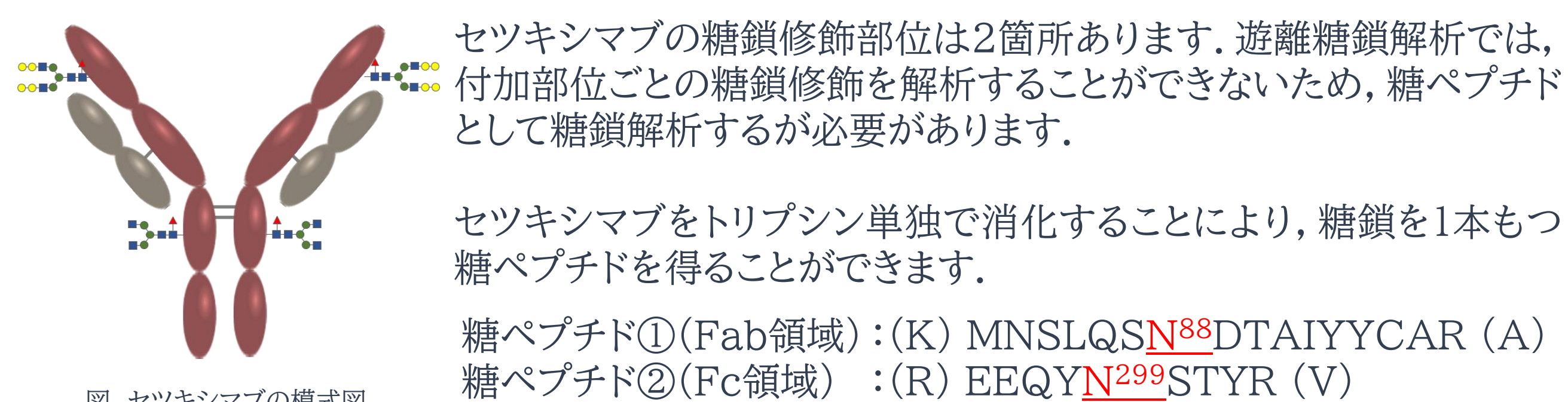
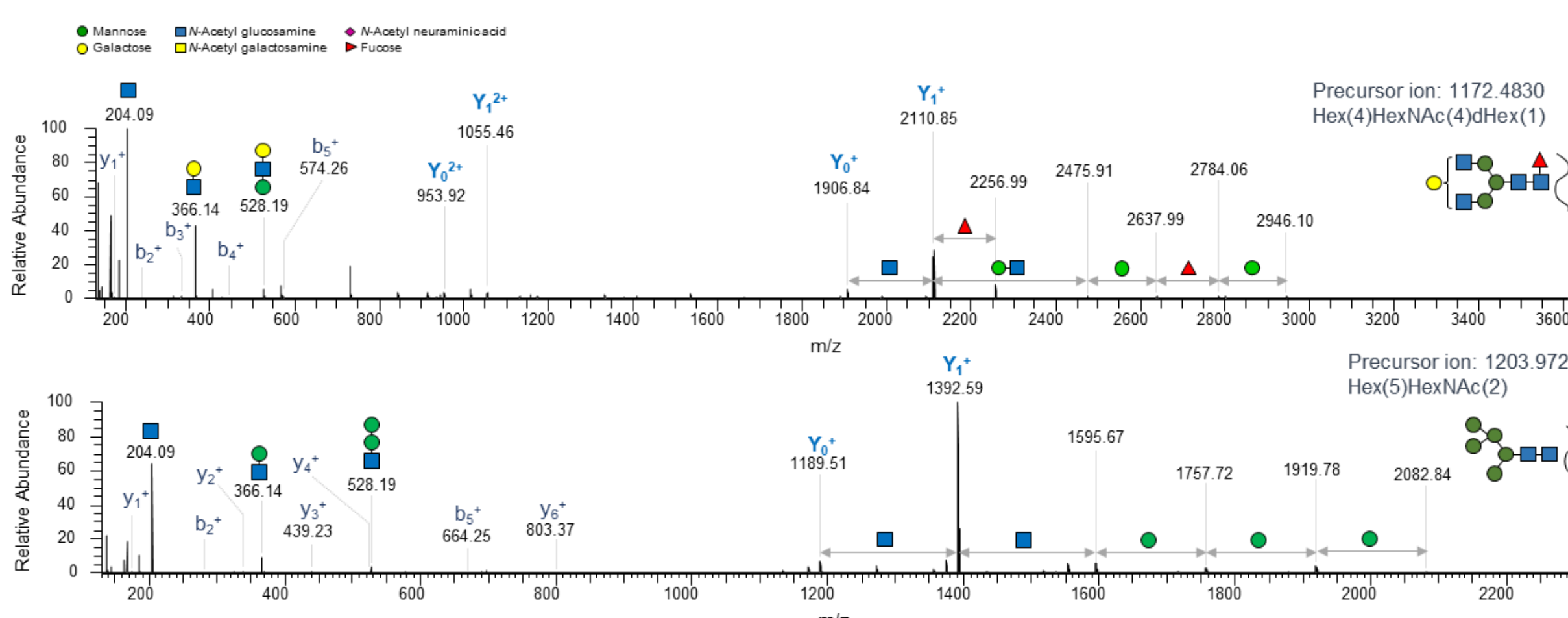


図. セツキシマブの模式図

トリプシン消化物のLC/MS/MSにより、糖ペプチド由来のプロダクトイオンスペクトルを得ることができます(上段:糖ペプチド①, 下段:糖ペプチド②)。



各グリコフォームのピーク面積値を算出することで、付加部位ごとの糖鎖プロファイルを明らかにできます。

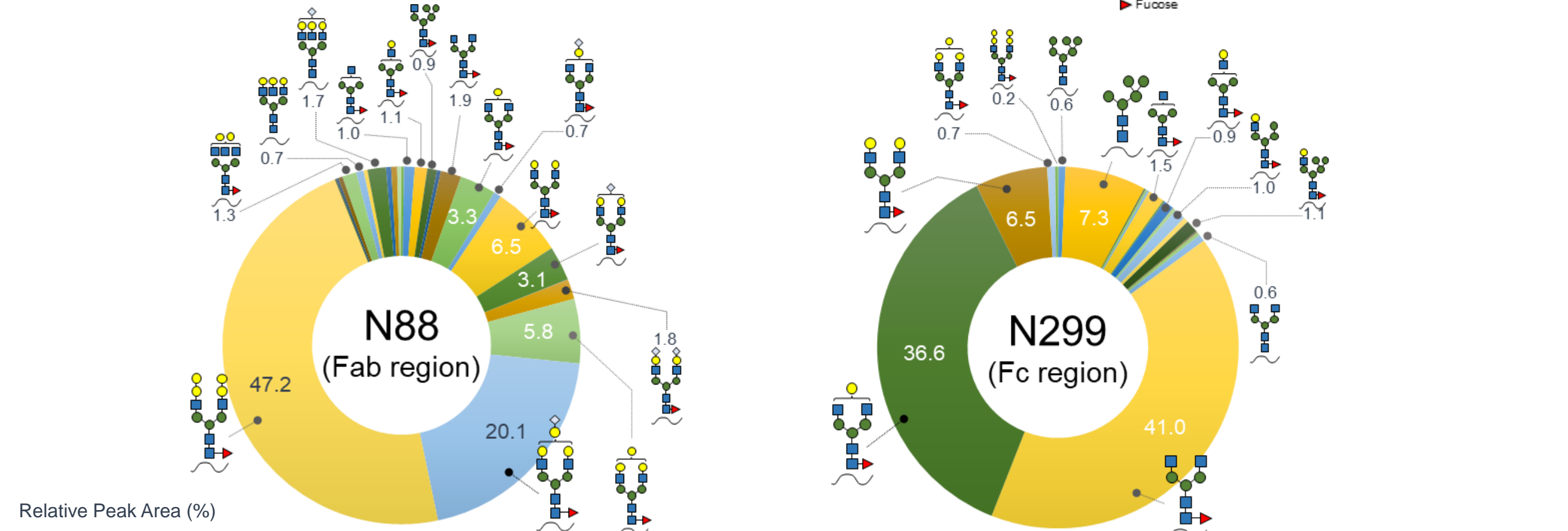


図1. 糖鎖解析の流れ

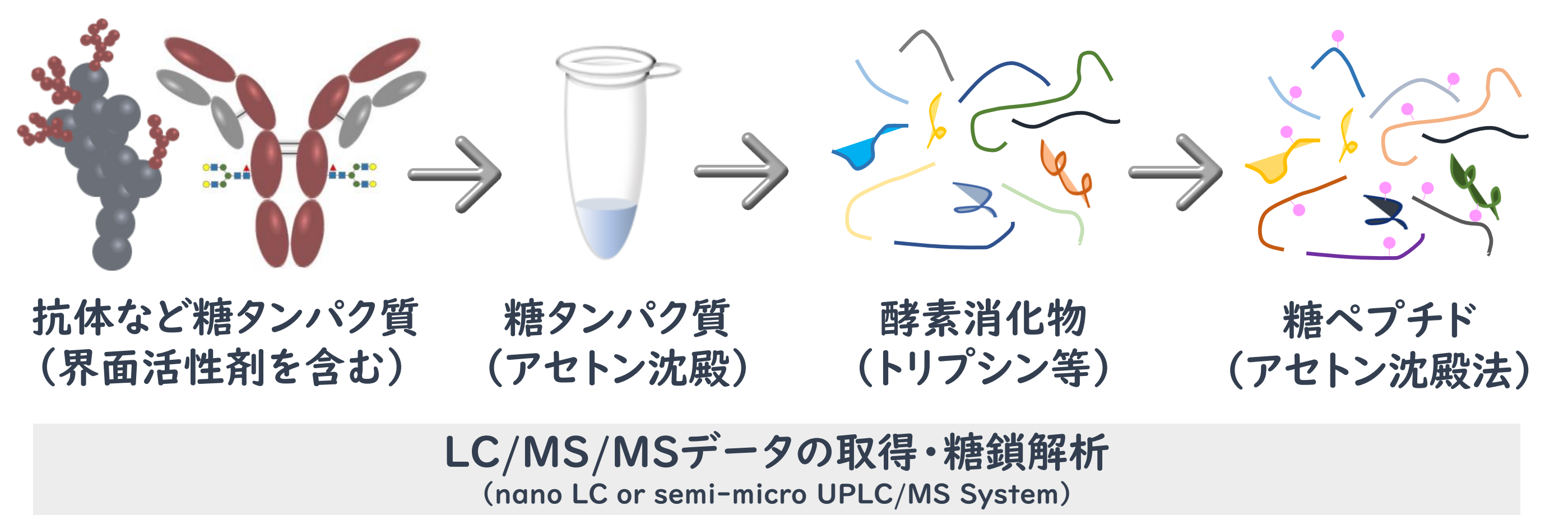


図2. 産学連携糖鎖解析ハブのコンセプトマップ

～横浜を中心とした研究の拠点化と地域研究の活性化～



② CHO-S細胞産生ヒトラミン-511 E8フラグメントの糖鎖解析

ヒトラミン-511 E8フラグメント(LM511E8)は α 鎖、 β 鎖、 γ 鎖からなり、インテグリン $\alpha 6 \beta 1$ 結合活性を有する分子断片です。CHO-S細胞で産生された組換えLM511E8は、胚性幹細胞や人工多能性幹細胞の培養基質として利用されています。

LM511E8には糖鎖修飾部位が10箇所あるため、LM511E8をリシルエンドペプチダーゼ(Lys-C)、トリプシン、グルタミルエンドペプチダーゼ(Protease V8)を単独、または組み合わせて消化することにより、付加部位ごとの糖鎖プロファイルを明らかにできます。

