

O-結合型糖鎖の構造解析 — 脱離オキシム化法による副反応の抑制 —

バイオ医薬品に結合したO-結合型糖鎖の構造を詳細に解析するには、化学分解により糖鎖を遊離させる必要があり、ヒドラジン分解法を用いてきたが、回収率などに課題があった。今回、最近開発された脱離オキシム化法^{1),2)}を糖タンパク質及びバイオ医薬品に対して適用し、ヒドラジン分解法と同等以上の回収率で、副反応物の比率が少なく、長鎖の糖鎖も分析可能となったので報告する。

1) Kameyama et al., 2019. Biochemica. Biophysica. Res. Com. Vol. 513, 186-192

2) 住友ベークライト株式会社 EZGlyco® O-Glycan Prep Kit (プロトコルを改変して使用)

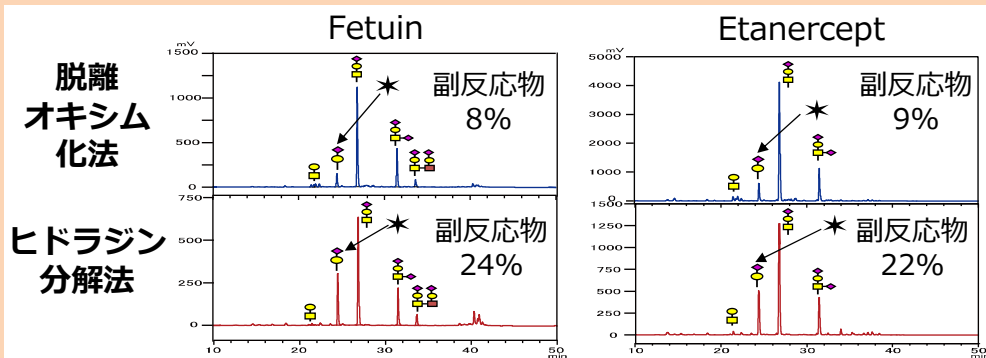
	脱離オキシム化法	ヒドラジン分解法
安全性	毒物を使用しない	毒物使用
反応時間	75分	6時間
副反応物比率	コア1型糖鎖で 8%程度	コア1型糖鎖で20%程度
回収率	高い	高い
試料	濃度1~10 mg/mL程度の溶液 (液相法)	凍結乾燥試料 (気相法)
試料の例	溶解性の高い試料向き	溶解性の低い試料 (膜タンパク質等)や 固体向き 数mg以上の 大量の試料を処理 できる

◆ 試料

試料名	結合しているO-結合型糖鎖
Fetuin, Bovine	コア1型
Etanercept	コア1型
Ulinastatin	長いグリコサミノグリカン(GAG)型

近年、一部のバイオ医薬品でGAG型のO-結合型糖鎖の意図せぬ修飾が報告され品質・安全性確保の観点から評価すべき糖鎖として注目されている

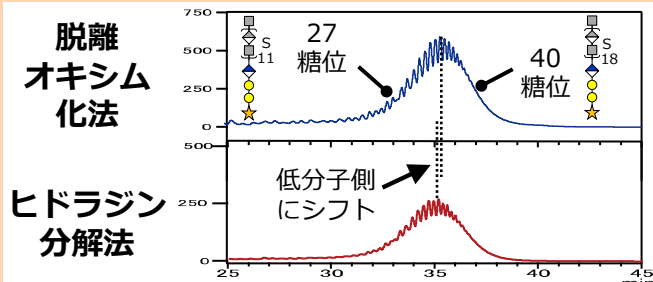
◆ コア1型糖鎖の遊離結果の比較 (遊離・蛍光標識後、HPLC分析)



★ 副反応由来のピーク

脱離オキシム化法の方が
1/2以下の**低い副反応物比率**
を示した

◆ GAG型糖鎖の遊離結果の比較 (遊離・蛍光標識後、HPLC分析)



- 質量分析により各ピークの糖鎖を帰属
 - 文献と同等の糖鎖長、硫酸基が結合したと推定される構造も検出
- ⇒分析困難な**長いGAG型糖鎖の構造を確認**

ヒドラジン分解法では低分子側にわずかにシフト
⇒脱離オキシム化法は**意図しない分解が起きにくい**

ヒドラジン分解法と脱離オキシム化法のそれぞれに利点があります
試料情報や分析目的に合わせて処理方法をご提案します