

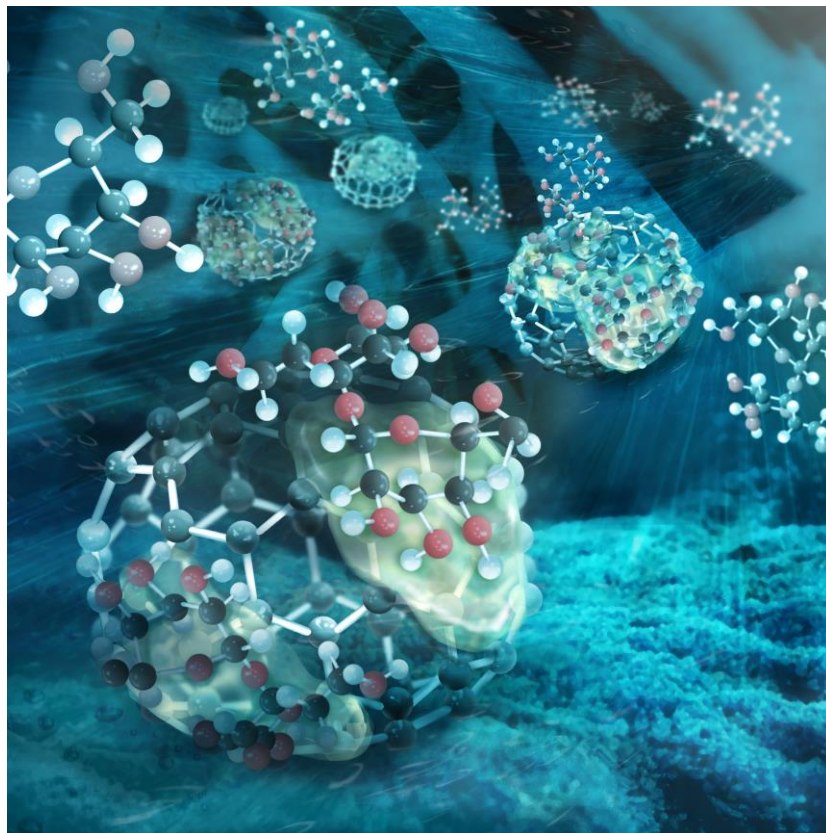
フラーレンを用いた糖鎖の分離手法を開発 —抗体等の糖タンパク質分離への応用に期待—

概要

バイオ医薬品や昨今の COVID-19 でも注目されている抗体は、我々の免疫機構を担う重要な成分です。抗体はタンパク質と糖鎖で構成されており、通常、そのタンパク質の違いのみで見分けられて分離・精製されています。しかし、抗体に含まれる糖鎖は、細胞認識や構造安定性などの重要な役割を担っているため、抗体の糖鎖の違いを見分ける技術は、次世代の抗体研究のカギとなると予想されます。

京都大学大学院工学研究科 久保拓也 准教授、大塚浩二 同教授、京都大学化学研究所 高谷光 准教授、信和化工株式会社 小林宏資 氏らの研究グループは、新たな抗体分離の基礎となる糖鎖分離の手法を開発しました。多くの過去の研究報告から、芳香環（ベンゼン環）に由来する π 電子と、糖鎖に含まれる CH、OH とは強く相互作用すると予想されていました。本研究は、 π 電子が豊富なフラーレンと糖鎖の間に働く π 相互作用の寄与を明らかにするとともに、世界で初めてフラーレンを用いた糖鎖の分離を実現しました。糖鎖構造を精密に見分ける基礎技術として、今後抗体等の糖タンパク質分離への応用が期待されます。

本研究成果は、2020 年 8 月 14 日付で英誌 Scientific Reports 電子版に掲載されました。



1. 背景

昨今の COVID-19 においても話題となっている抗体は、我々の免疫機構を担う重要な成分です。近年、抗体の機能を利用した様々な医薬品（抗体医薬品）も注目を集めています。一般的に、抗体はタンパク質と糖鎖で構成されており、通常、抗体はタンパク質の違いのみで見分けられて分離・精製されています。しかし、抗体に含まれる糖鎖は、細胞認識や構造安定性などの重要な役割を担っているため、抗体の糖鎖の違いを見分ける技術は、次世代の抗体研究のカギとなると予想されます。

現行法では、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）等によって、タンパク質の特性のみで分離が行われるため、脂溶性で高分子量のタンパク質内部の糖鎖を見分けることは不可能です。そのため、精製糖タンパク質として販売されている製品には極めて多くの糖鎖バリエーションが混在しており、糖鎖の異なる糖タンパク質の混合成分である可能性があります。糖鎖の分離において、多孔性グラファイトカーボン吸着剤を利用した分離カラムを利用した例がありますが、糖鎖とグラファイトカーボンに働く化学的な相互作用は明らかになっていません。

そこで、本研究グループはナノ炭素材料の最小単位であるフラーレンに着目し、フラーレンと糖鎖の間に働く非常に弱い化学的相互作用を理論的、実験的に明らかにし、さらに糖鎖分離の可能性を示しました。

2. 研究手法・成果

多くの過去の研究報告から、芳香環（ベンゼン環）に由来する π 電子と、糖鎖に含まれる CH、OH は強く相互作用すると予想されていました。これを基に、我々は π 電子が豊富なフラーレンは糖鎖の識別に効果的であると予想し、種々の評価を行いました。その結果、C₆₀-、C₇₀-フラーレンを固定化した分離剤において糖の一種であるグルコース（ブドウ糖）が分離されることを見出し、さらに、計算化学の結果からもフラーレンと糖鎖との間に働く π 相互作用の寄与が明らかとなりました（図 1）。本知見は、フラーレンと糖鎖の相互作用を分離に用いた世界で初めての報告です（特許出願中：特願 2017-021376、US Patent 15/891、223）。

3. 波及効果、今後の予定

オプジーボに代表される抗体医薬品や昨今の COVID-19 の抗体検査など、生体内の免疫系で最も重要な抗体は、生命を維持するために必須の成分として多面的な研究が進められています。しかし、細胞認識、接着のカギとなる抗体中の糖鎖を直接的に見分ける手法は存在せず、糖鎖を含めた抗体の構造解析、その機能の詳細な評価が進展すれば、抗体医薬品の飛躍的な薬効の向上や感染症におけるウィルスの特定など、大きな社会変革が期待できます。そこで、我々は今回の糖鎖識別機能の成果を基にして、これまで未踏であった抗体中の糖鎖構造に基づく精密分離手法の開発を進めています。

現在、抗体医薬品の世界市場は 17 兆円（年率約 15%の伸び）と推定されており、そのうち分離精製に対する市場は数兆円にも達します（参考：医薬産業政策研究所リサーチペーパー）。一方、糖タンパク質混合物を、その活性を保ったまま糖鎖構造の差異で分離する報告例はなく、本研究において実現した手法は抗体分離のゴールドスタンダードになると期待されます。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は、JST CREST（JPMJCR17H2）、向科学技術振興財団、豊田理研スカラーの支援を受けて行われました。

<用語解説>

フラーレン：多数の炭素原子のみで構成されるナノメートルサイズの球状分離の総称です。世界で最初に発見された炭素原子 60 個から構成されるフラーレンはサッカーボール状の構造を持ちます。また、フラーレンはベンゼン環が集まったような構造であるため、高電子密度に起因する特徴を有しており、医薬品、電子材料等の広い分野で応用が試みられています。

<研究者のコメント>

本研究は、フラーレンと糖鎖の相互作用を理論的、実験的に明らかにした初めての報告です。今後、この技術を活用することで抗体等の糖タンパク質の精密分離が可能となり、高機能な抗体医薬品や高精度の抗体検査キットの開発が促進されると期待しています。

<参考図表>

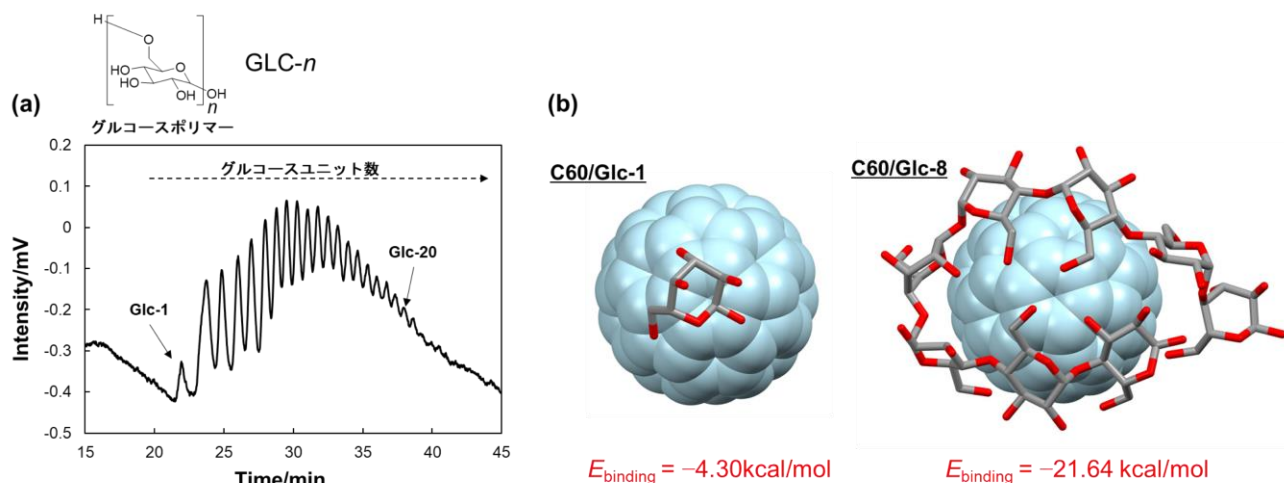


図 1. フラーレンカラム (C60) におけるグルコースポリマーの分離 (a) と水中での C60 と GLC-1 及び GLC-8 の結合エネルギー (E_{binding}) (b) ※(a)では、時間の経過とともにグルコースユニット数が多い試料が溶出していることから、グルコースユニット数の順に分離されていることが分かります。なお、この図の縦軸は試料の濃度を電気信号として取り込んだパラメーターです。(b)では、グルコース 1 と 8 それぞれと C60 フラーレンの水中での結合を理論計算で評価した結果ですが、ユニット数が多いグルコース 8 がより強い結合を示すことがわかりました。この数値は、安定化のエネルギーと考えることができるので、マイナスの数字が大きいほど安定であることを示しています。

<論文タイトルと著者>

タイトル：Separation of saccharides using fullerene-bonded silica monolithic columns via π interactions in liquid chromatography (フラーレン固定化シリカモノリスを用いた糖類の液体クロマトグラフィー分離)

著者：Hiroshi Kobayashi, Kazuya Okada, Shinnosuke Tokuda, Eisuke Kanao, Yusuke Masuda, Toyohiro Naito, Hikaru Takaya, Mingdi Yan, Takuya Kubo, Koji Otsuka

掲載誌：Scientific Reports DOI：10.1038/s41598-020-70904-3