

次世代医療・診断実現のための創薬基盤技術開発事業  
糖鎖利用による革新的創薬技術開発事業 中間評価報告書

研究開発課題名	超高効率濃縮法に基づく CE-LIF-MS 微量糖鎖分析システムの開発
代表機関名	理化学研究所
研究開発代表者名	川井隆之
全研究開発機関	平成28年度～平成32年度（予定）

### 1. 研究開発概要

がんなどの疾患組織に存在する微量病変細胞から糖タンパク質の糖鎖構造変化を検出することが糖鎖創薬の第一歩として必須である。しかし従来のプロテオーム解析は感度が低く通常一万細胞以上の大量の試料が必要であり、また十分量が確保できてもタンパク質発現量の変化ばかりが検出されてしまうことから、糖鎖構造変化を有する糖タンパク質を発見することが難しい。そこで川井が開発した超高効率試料濃縮法 large-volume dual preconcentration by isotachopheresis and stacking (LDIS) 法に注目した。この LDIS 濃縮法により糖鎖を 1000 倍以上濃縮し、キャピラリー電気泳動 (CE) によってサイズ分離した後、レーザー励起蛍光 (LIF) や質量分析 (MS) で検出することで、zmol レベルの感度で糖鎖を定量・定性するシステムを開発できる。この CE-LIF-MS システムにより、まず糖鎖をタンパク質から遊離させて網羅的に構造解析することで標的糖鎖構造を推定し、その後レクチンなどで特異的に糖タンパク質を回収・プロテオーム解析することで創薬標的を発見する。

### 2. 研究開発成果

数  $\mu\text{L}$  程度の溶液量で微量細胞を溶解・酵素処理・蛍光標識・精製などを行い、その後 LDIS 法で濃縮して CE-LIF 分析を行ったところ、100 細胞程度の微量試料であっても 30-40 程度の糖鎖ピークを検出することに成功した。糖鎖構造のオープンデータベース「GLYCOBASE」で検出時間から算出した Glucose Unit 値を検索することで、糖鎖構造を推定することが可能であった。これにより簡単に 100 細胞程度の微量試料から糖鎖構造を推定する分析システムを世界で初めて実現した (*J. Chromatogr. A*, **2018**, 1565, 138)。また CE-LIF-MS 分析用に新規に改造装置の開発を行い、LDIS 濃縮・CE 分離・高効率イオン化の全ての動作を制御できる新システムを構築し、約 30 検体/日程度のスループットで終日自動分析を行えるシステムを構築した。今後は計画通り微量グライコプロテオーム解析システムを開発するとともに、臨床検体を解析して標的探索を進めていく予定である。

### 3. 総合評価

本研究開発課題の研究開発達成状況は優れている。

新たに開発した超高効率試料濃縮法により濃縮した糖鎖をキャピラリー電気泳動で分離し、レーザー励起蛍光や質量分析で検出することで、100 細胞試料から糖鎖を定量・定性するシステムの開発に成功した。これらの研究成果は世界のトップレベルの分析技術と評価する。今後は、本システムの臨床検体への応用を期待する。