

LC-TOFMS による糖鎖修飾タンパク質の特性解析

LC-TOFMS（液体クロマトグラフ飛行時間型質量分析）法は、タンパク質の特性解析（分子量分析、ペプチドマップ、糖鎖分析など）に有用です。ここでは、LC-TOFMS 法による IgG 抗体の糖鎖（グリコフォーム・糖鎖付加位置）の事例をご紹介します。

【分析試料】 IgG 抗体

【分析方法】

LC-TOFMS 法により、IgG 抗体を分析しました。

【分析結果】

○グリコフォーム（糖鎖部分が異なるタンパク質）解析

分子量の分析により、糖タンパク質のグリコフォームを推定することができます。IgG 抗体を LC-TOFMS 測定し、分子量演算（デコンボリューション）処理により得られた MS スペクトルを図 1 に示します。その結果、この IgG 抗体には N 結合型糖鎖である G0F、G1F、G2F が 2 つずつ 5 つの組み合わせで付加した 5 種のグリコフォームがあることがわかりました。

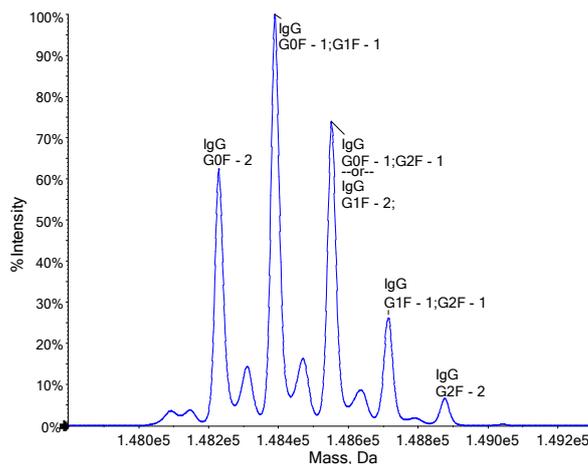


図 1 デコンボリューション後の MS スペクトル

○糖鎖結合位置解析

IgG 抗体を酵素処理により断片化し、LC-TOFMS 測定しました。測定結果について、専用のソフトウェアで解析した結果を図 2 に示します。解析の結果、アミノ酸配列 EEQFNSTFR のペプチド断片のアスパラギン（N、図 2 左表の赤枠）に N 結合型糖鎖（G0F、G1F、G2F）が付加していることがわかりました。

RT	Theoretical Mono m/z	Observed Mono m/z	Error (PPM)	Charge	XIC Area	Sequence	Modifications
11.96	868.0235	868.0241	0.6	3	4.3074e5	EEQFNSTFR	G0F@5(292)
11.92	922.0411	922.0424	1.3	3	4.0959e5	EEQFNSTFR	G1F@5(292)
11.87	976.0587	976.0586	-0.2	3	7.1241e4	EEQFNSTFR	G2F@5(292)
11.95	1301.5317	1301.5315	-0.2	2	5.0527e4	EEQFNSTFR	G0F@5(292)
11.92	1382.5581	1382.5592	0.8	2	3.0527e4	EEQFNSTFR	G1F@5(292)

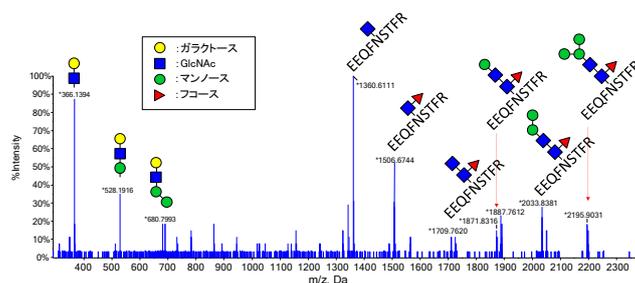


図 2 ペプチドマッピングによる糖鎖結合位置の解析結果

（左：検出された糖ペプチドリスト、右：MS/MS スペクトルおよび糖鎖構造の帰属例）

【まとめ】

LC-TOFMS 法により、バイオ医薬品など、糖鎖糖鎖修飾タンパク質の分子量、グリコフォームや糖鎖結合位置を確認できます。これらの特性を迅速・正確に分析することにより、バイオ医薬品の開発・品質確認を効率的に進めることができます。