

酵母から見いだした複合型糖鎖分解酵素

酵素による糖タンパク質合成法への展開

国際公開番号
WO2013/051608
(国際公開日: 2013.4.11)

研究ユニット:

生物プロセス研究部門

適用分野:

- 糖タンパク質の分析のための標準糖タンパク質作製
- 糖タンパク質医薬品の糖鎖構造・機能相関解析
- 非天然糖タンパク質 (ネオグリコプロテイン) の創成

目的と効果

情報伝達や細胞間のコミュニケーションに重要な役割を果たしている細胞表面の多くのタンパク質には糖鎖が共有結合しており、近年における、抗体医薬などの「バイオ医薬品」の開発においても糖鎖の機能が重要であることがわかってきました。糖鎖の機能を分析するには、糖タンパク質から糖鎖を切り出す必要があります。この発明の酵母由来エンド-β-N-アセチルグルコサミニダーゼ (ENGase) は、さまざまな糖鎖を切断するだけでなく、切断した糖鎖を適切な受容体に転移する活性をもちますので、糖鎖構造解析だけでなく、酵素により糖タンパク質などを合成する際の有用なツールとして期待できます (図1)。

技術の概要

この発明で見いだした酵母由来 ENGase は、細菌などの ENGase と比較して、二分岐複合型や一部の三分岐複合型糖鎖を切断するなど、比較的広い基質特異性をもっているため、ヒト由来の糖タンパク質の糖鎖切断にも利用可能です。

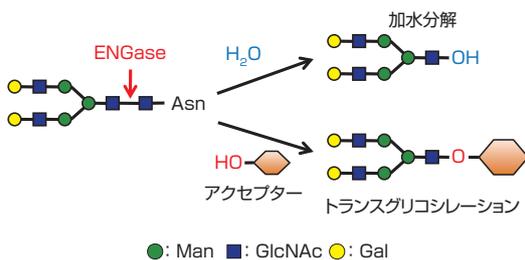


図1 エンド-β-N-アセチルグルコサミニダーゼ (ENGase) の作用様式

N-型糖鎖の根元を切断する (加水分解) だけでなく、切断した糖鎖を適当な水酸基をもつ受容体分子に転移する (トランスグリコシレーション) 活性をもつ。

特にメタノール資化性酵母 *Ogataea minuta* 由来の ENGase (Endo-Om) は、基質濃度が濃い条件下で強い分解活性を示しました。このため、糖鎖や糖タンパク質の大量調製に向いています。また反応液中に高濃度のグルコース誘導体 (pNP-Glc) を添加すると、Endo-Om は切断した糖鎖を pNP-Glc に転移しました (図2)。この活性を利用すると、N-アセチルグルコサミンをもつタンパク質に糖鎖を転移することができ、均一な糖鎖構造を有する糖タンパク質を生産することができます。

発明者からのメッセージ

この発明の Endo-Om は大腸菌、酵母を宿主として発現できることを確認しており、比較的安価に酵素を調製することができます。近年では、加水分解活性を抑制した変異 ENGase が開発されており、この技術により高効率に糖鎖を転移することができるようになりました。比活性の高い Endo-Om を利用することで、糖鎖の生理機能を活用した次世代のバイオ医薬品開発を進め、国民の健康維持に貢献できると期待しています。

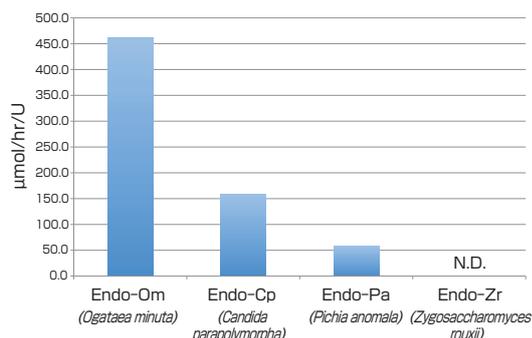


図2 さまざまな酵母由来のENGaseによるpNP-Glcへの糖転移効率

pNP-Glcへの糖鎖の転移 (トランスグリコシレーション) 量を比較したところ、酵素1ユニット分に換算するとEndo-Omが最も高かった。Endo-Zrは検出不可。括弧内は由来する酵母名。

Patent Information のページでは、産総研所有の特許で技術移転可能な案件をもとに紹介しています。産総研の保有する特許等のなかにご興味のある技術がありましたら、知的財産部技術移転室までご連絡なくご相談下さい。

知的財産部技術移転室

〒305-8568
つくば市梅園 1-1-1
つくば中央第2
TEL : 029-862-6158
FAX : 029-862-6159
E-mail : aist-tlo-ml@aist.go.jp