

# 糖鎖研究支援ツール・サービス

Ver. 201906

- ◆ 抗体医薬品のN型糖鎖糖鎖分析キット
- ◆ 抗体医薬品の糖鎖自動分析装置
- ◆ O型糖鎖サンプル調製キット
- ◆ N型糖鎖サンプル調製キット
- ◆ 糖鎖受託解析サービス
- ◆ 糖鎖分析用標準品
- ◆ 糖鎖相互作用解析システム

### ◆ 糖鎖解析、糖鎖相互作用解析の意義

糖鎖は私たちの体を構成する重要な生体高分子の一つであり、各種の糖（例えばグルコースなど）がグリコシド結合によってつながった一群の生体物質です。糖鎖はタンパク質やDNAに続く第3の鎖状高分子と言われており、その構造は多様性に富んでいます。たとえば細胞表面には様々な種類の糖鎖が存在し、細胞の性質を表す“細胞の顔”とも呼ばれています（図1）。近年では糖鎖と疾患との関係が積極的に研究されています。例えばウイルスや菌の感染、がんの転移などが糖鎖と深く関わっていることが明らかになってきており、糖鎖の構造や機能の研究が進むことで新しい薬の開発につながる事が期待されています。

また、抗体医薬品（図2）に代表されるバイオ医薬品においては、糖鎖の組成・結合量が薬効や安定性をコントロールする重要なファクターであることが知られています。特に有名な例として、抗体医薬品のFc領域に存在するN型糖鎖のコアフコース残基を除去することによって、抗体依存性細胞傷害(ADCC)活性を大幅に向上させるPOTELLIGENT®技術が挙げられます。

これらのことから、糖鎖解析、および、糖鎖とその他の生体物質との相互作用解析は学術的研究にとどまらず、創薬研究、バイオ医薬品製造におけるプロセスモニタリング、品質管理等で非常に重要な技術となっています。

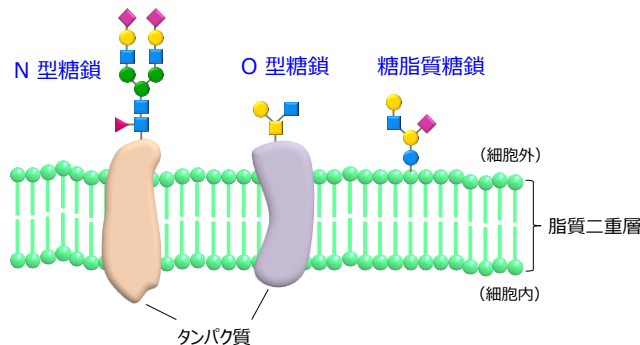


図1. 細胞表面の模式図

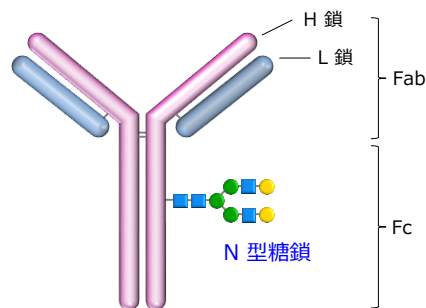


図2. 抗体医薬品の模式図

### ◆ 住友ベークライトがご提供するソリューション

お客様の糖鎖研究をサポートするため、弊社は下記の製品・サービスをご提供致します。また、製品のカスタム化、特注対応、ラインアップにない特殊な受託解析サービス、その他ご要望について、ご相談に応じます。

- 抗体医薬品のN型糖鎖分析：EZGlyco® mAb-N Kit with 2-AB
- 抗体医薬品の糖鎖自動分析：自動化装置 GlycoAutoPrep™
- 多様なサンプルのN型糖鎖解析：糖鎖精製ラベル化キットBlotGlyco®
- O型糖鎖解析：EZGlyco® N-Glycan Prep Kit (2019年5月新発売)
- 糖鎖解析のアウトソーシングサービス：糖鎖LC-MS受託測定サービス、GlycanMap® 受託測定サービス
- 糖鎖分析の標準品：2-AB ラベル化糖鎖標準品
- 糖鎖相互作用解析：レクチンアレイ、蛍光スキャナ Bio-REX Scan 300、糖鎖固定化アレイ

☆製品・サービスに関するお問合せ、ご要望、ご相談につきましては、下記までご連絡をお願いいたします。

住友ベークライト(株) ヘルスケア営業本部 バイオ事業開発部

Tel: 03-5462-4831 Fax: 03-5462-4835 E-mail: [s-bio@sumibe.co.jp](mailto:s-bio@sumibe.co.jp) URL: <http://www.sumibe.co.jp>

## 培養液から抗体精製、N型糖鎖サンプル調製を 2.5 時間で完了

抗体産生細胞の培養上清から抗体由来糖鎖を調製するには多くの時間（1~2日）を要し、その作業も煩雑です。その煩雑さに対する S-BIO のソリューションが EZGlyco™ mAb-N Kit with 2-AB です。本キットでは、抗体精製から糖鎖標識までをワンポット（1チューブ操作）で行うことができ、迅速（2.5時間）かつ簡便な標識糖鎖の調製が可能です。キットには、N型糖鎖を遊離させるグリコシダーゼ（PNGase F）およびその酵素反応を短時間で完了させる S-BIO 独自の反応促進剤、そして広く用いられている糖鎖標識である 2-アミノベンズアミドを同梱した便利なキットです。また標識反応には劇物シアン化合物を含みませんので、取扱いにも優れたキットです。

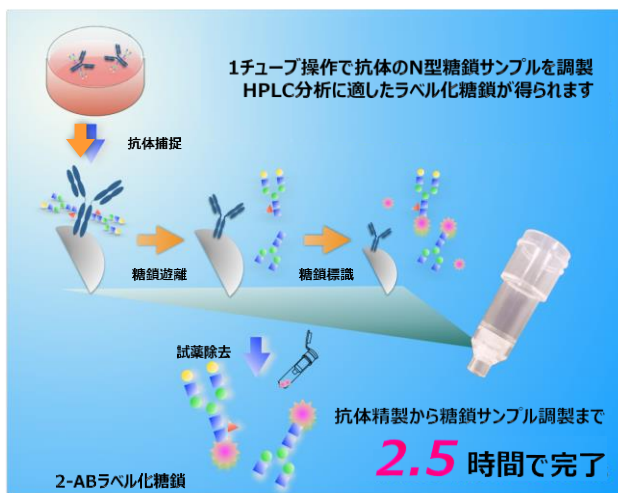
### 製品構成



1. 抗体捕捉カラム, 10本
  2. 抗体捕捉溶液, 1本
  3. 洗浄溶液, 1本
  4. PNGase F促進溶液, 1本
  - 5A. PNGase F溶液, 1本
  - 5B. 希釈用バッファー, 1本
  6. 2-Aminobenzamide, 1本
  7. 還元剤, 1本 <非毒物>
  8. 過剰試薬除去カラム, 10本
  9. プロトコル, 1冊
- お客様にご用意頂く試薬類
    - アセトニトリル
    - 酢酸
    - DMSO
  - お客様にご用意頂く消耗品
    - 2.0 mLチューブ
    - 1.5 mLチューブ
  - お客様にご用意頂く装置類
    - 遠心機
    - ヒートブロック

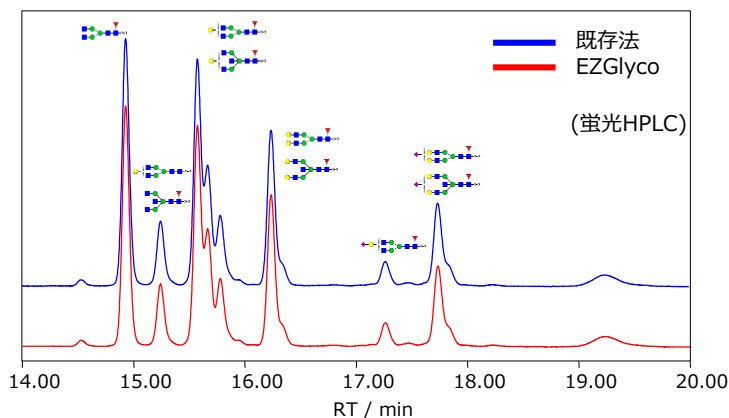
### 糖鎖サンプル調製の流れ

全ての操作を固相で行い、効率的な処理を実現



### 既存法とのデータ整合性

既存法と同等の糖鎖分析データが得られます



既存法：培養液中のIgGをProtein Aカラムで精製後、N-グリコシダーゼFでN型糖鎖を遊離、得られた糖鎖を2-AB蛍光ラベル化  
所要時間：2日間

EZGlyco：培養液をEZGlycoキットで処理し2-AB化N型糖鎖を調製  
所要時間：2時間

### ご注文情報

品番	品名	用途	内容量	参考価格(税別)
BS-X4410	EZGlyco™ mAb-N Kit with 2-AB	IgGのN型糖鎖のHPLC, LC-MS分析	10回分	¥ 85,000

## 抗体の糖鎖自動調整装置 GlycoAutoPrep™

EZGlycoキットを用いた抗体の糖鎖サンプル調製を全自動化します。最大24サンプルを4.5時間で調製することが可能です。



- ✓ 抗体糖鎖分析キット EZGlyco® 使用
- ✓ 抗体精製から 2-AB標識糖鎖調製まで完全自動化
- ✓ 培養液からスタート - 抗体精製不要
- ✓ 最大 24 サンプルの同時処理
- ✓ 所要時間 4.5 時間 ※24サンプル処理時



本装置は「次世代バイオ医薬品製造技術研究組合」(先進的品質評価技術開発)の研究成果に基づき、住友ベークライト株式会社が製品化したものです。

### ◆ 導入メリット

**糖鎖サンプル調製キャパシティ増大**  
 ・約1,000サンプル/月の処理が可能

**ヒューマンエラー排除**  
 ・イーゼーミスリスク低減  
 ・ヒューマンファクターによるバラツキを排除

**コスト低減に寄与**  
 ・実作業時間の大幅削減  
 ・自動機専用キットをご提供

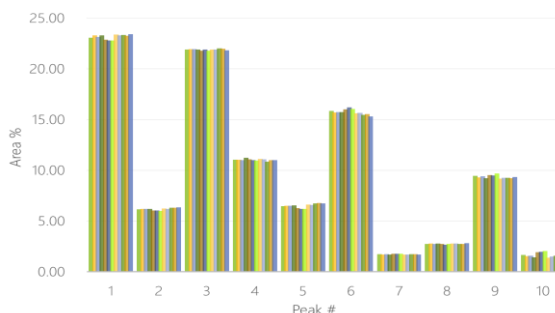
### ◆ デモ機あり サンプル持ち込みOK

- ・2拠点（川崎市、神戸市）でデモ機稼働中
- ・ご希望によりお客様サンプルの持ち込み実験にも対応  
 詳しくはお問い合わせ下さい

### ◆ 抗体開発・生産における用途

- ・抗体産生細胞株のスクリーニング
- ・培養条件最適化
- ・品質管理

### ◆ 高い再現性



品番	品名	内容	入数	参考価格(税別)
BS-X4430	GlycoAutoPrep™	抗体のN型糖鎖サンプルを全自動で調製可能。24サンプルの同時処理に対応。	1式	お問合せ下さい
BS-X4412	Auto-EZGlyco® 【装置専用キット】	抗体捕捉カラム、精製カラム、自動化装置専用チューブ、酵素・試薬類	24回分	¥ 193,800

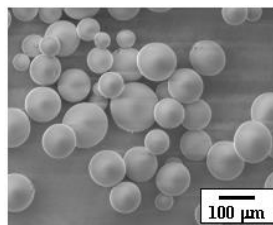
## 夾雑物の多い生体由来サンプルから糖鎖を精製可能

生体組織や天然物など夾雑物を多く含むサンプルから糖鎖精製が可能です。HPLC, LC-MS, MALDI-TOF MS などで正確な糖鎖解析を行うためには精製度の高いサンプル調製が重要です。糖鎖精製ラベル化キット BlotGlyco® はバイオ医薬品の糖鎖修飾解析のみならず、糖鎖バイオマーカー探索、ステムセルグライコミクスなどに利用できます。

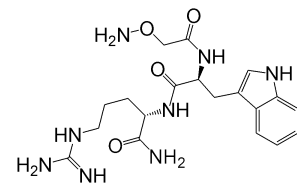
### 製品構成



- 糖鎖捕捉用ポリマービーズ
- MALDI-TOF MS 用高感度ラベル化試薬 (BS-45403~45406)
- 反応用チューブ、クリーンアップカラム、溶液回収用チューブ
- 操作プロトコル

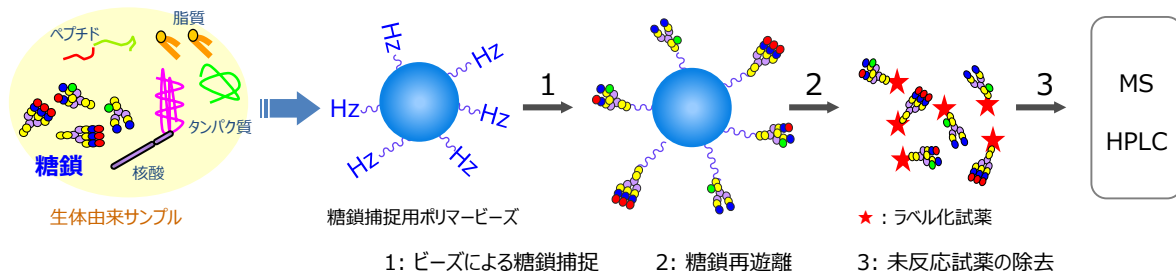


◀ 糖鎖捕捉用ポリマービーズ ▶



◀ MALDI-TOF MS用高感度ラベル化試薬 ▶

### 糖鎖精製・ラベル化の原理



### 製品の特長

- 生体組織や天然物など夾雑物を多く含むサンプルからの糖鎖精製に威力を発揮します。
- 糖鎖捕捉に化学結合を利用しているため夾雑物の除去効率が高く、精製度の高い糖鎖サンプルが得られます。
- ビーズ固相上でのメチルエステル化によりシアル酸のカルボキシル基を保護し、MALDI-TOF MS ポジティブイオンモード測定でのシアル酸残基の脱離を防止、中性糖鎖とシアリル糖鎖の同時プロファイリングが可能です。
- 2AB, 2AP蛍光ラベル化\*および独自設計の MALDI-TOF MS 高感度ラベル化に対応しています。
- 約5時間で精製・ラベル化糖鎖の調製が可能です。(所要時間はプロトコルにより異なります)
- 各種の分析法に対応した詳細な操作プロトコルをご提供します。
- 必要な機器は卓上遠心機とヒートブロックだけです。特別な装置は必要ありません。
- 1サンプルから96サンプルまで、幅広いサンプル数に対応します。
- 初回お買い上げのお客様には、ご要望により標準糖タンパク質を使った操作再現性確認を無料で行います。

\* 2AB: 2-aminobenzamide, 2AP(PA): 2-aminopyridine

### 使用例

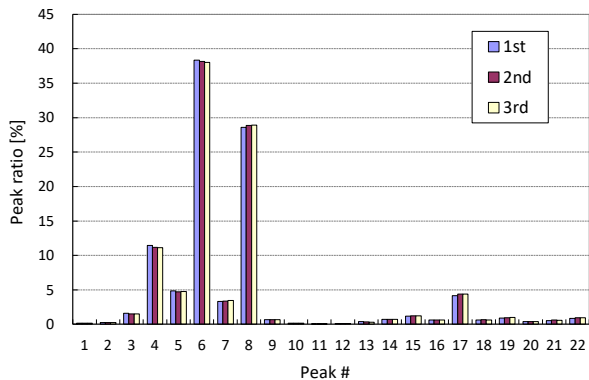
- 血清中糖タンパク質糖鎖の解析 (糖鎖バイオマーカー探索研究)
- SDS-PAGEゲルバンド中の糖鎖解析 (タンパク情報と糖鎖情報のリンク)
- 抗体医薬品の糖鎖修飾解析
- 幹細胞の糖鎖解析
- 植物組織の糖鎖解析



## BlotGlyco® 基礎データ

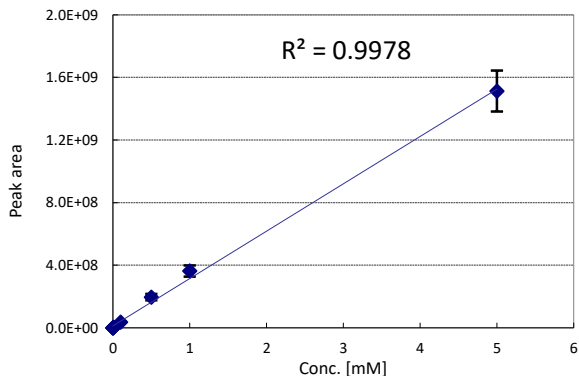
### 1. 再現性：ピークパターンの再現性：3.7% (C.V.)

BlotGlyco®を用いたN型糖鎖精製・ラベル化を3回実施し、HPLCの各糖鎖ピーク面積の相対値の再現性を確認した。  
(サンプル：IgG, N=3, 2ABラベル化, HPLC測定)



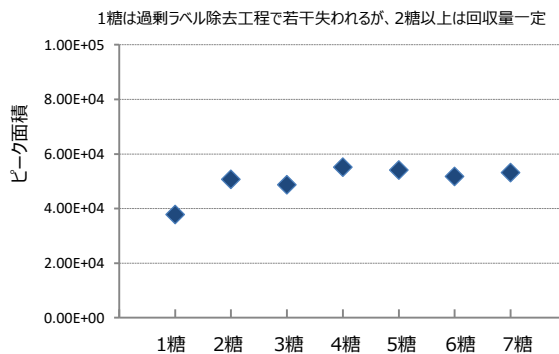
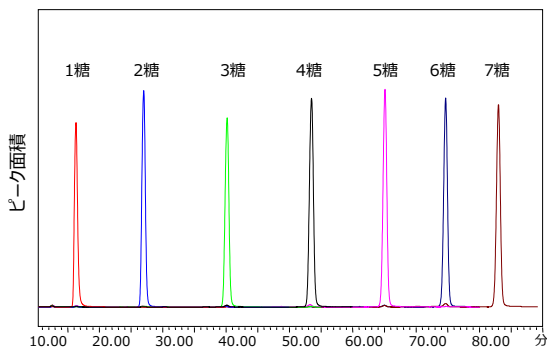
### 2. 回収率の直線性：糖鎖濃度 0.1 μM ~ 5 mM

種々の濃度の糖鎖溶液を調製し、BlotGlyco®による糖鎖精製・ラベル化を実施。糖鎖濃度とHPLCピーク面積値（～糖鎖回収量）をプロットした。  
(サンプル：Maltoheptaose, N=3, 2ABラベル化, HPLC測定)



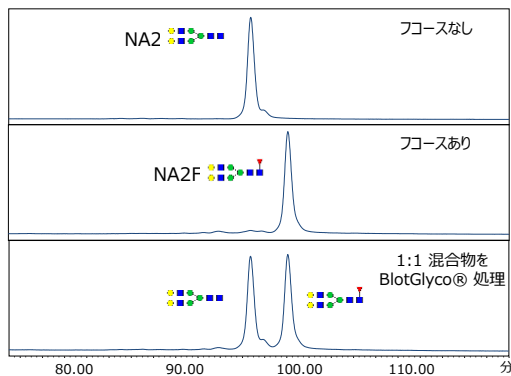
### 3. 糖鎖のサイズの影響：糖鎖のサイズ（単糖ユニット数）の影響を受けず、一定の割合で回収可能

重合度の異なるマルトオリゴ糖（1糖～7糖）をそれぞれ同一濃度で溶解し、BlotGlyco®を用いて精製・ラベル化後、HPLC測定を実施。  
(サンプル：マルトオリゴ糖, N=1, 2ABラベル化, HPLC測定)



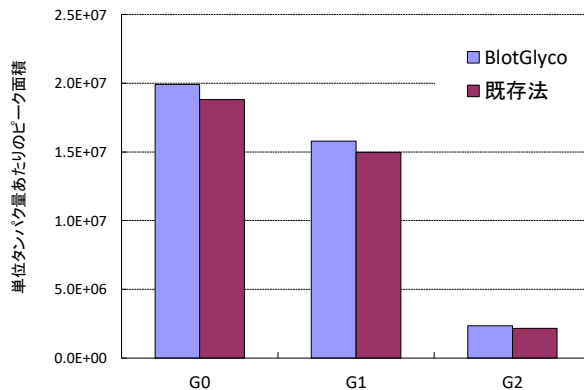
### 4. 還元末端フコースの有無：回収率に影響なし

フコース含有 / 非含有糖鎖 (NA2, NA2F) の同一濃度の溶液を調製し、1:1で混合後、BlotGlyco®を用いて精製・ラベル化、HPLC測定を実施した。  
ピーク面積よりそれぞれの糖鎖回収率を比較した。  
(サンプル：NA2, NA2F, N=1, 2ABラベル化, HPLC測定)



### 5. 既存法との整合性：同等のデータを取得可能

同ロットのヒトIgGのN型糖鎖を、①BlotGlyco®を用いて精製・ラベル化、②従来のカラムを用いた方法で精製後、ラベル化し、それぞれHPLC測定を行い各糖鎖ピーク面積値（～糖鎖回収量）を比較した。  
(サンプル：ヒトIgG, N=1, PAラベル化, HPLC測定)



※徳島大学大学院(当時) 大政健史先生ご提供データ

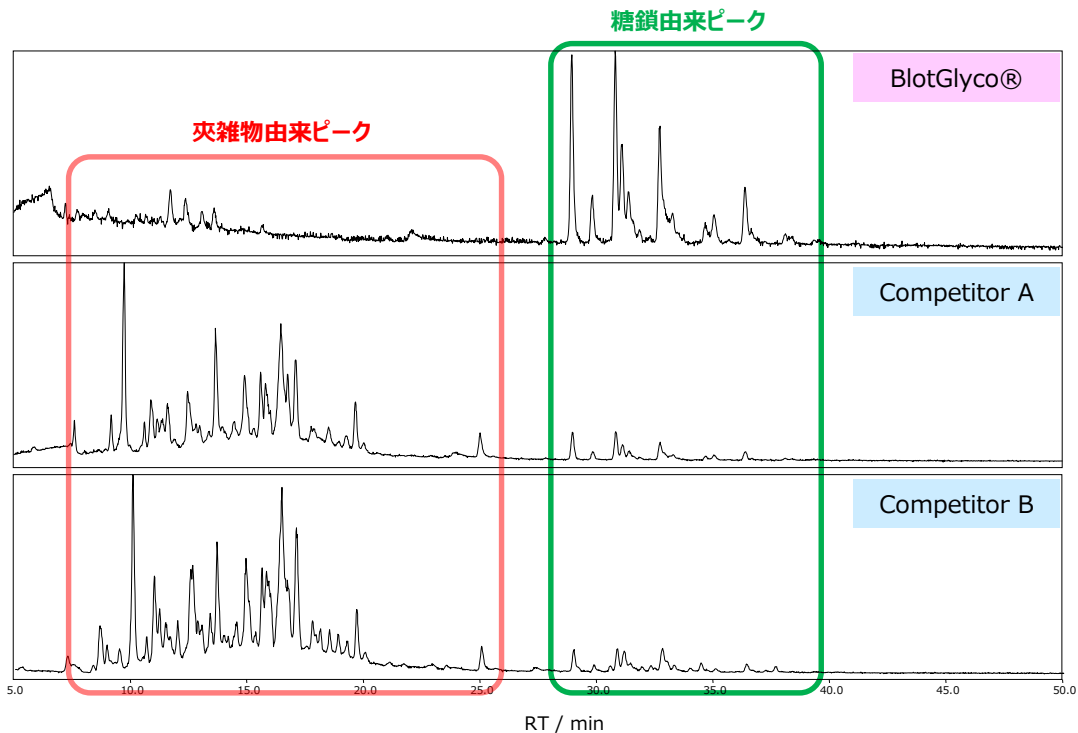
## BlotGlyco®による高度な糖鎖精製

一般的に糖鎖精製に用いられるカラム法は、糖鎖とその他の物質（夾雑物）の固相担体への吸着性の違いを利用して糖鎖を分離精製します。したがって、糖鎖と物性が類似している物質（ペプチド、界面活性剤など）と糖鎖を分離することは一般的に困難です。

一方でBlotGlyco®は、糖鎖と固相ビーズとの化学結合（Schiff塩基の形成）を利用して精製を行うため、ペプチドや界面活性剤が含まれるサンプルからも効率よく精製度の高い糖鎖サンプルを調製することができます。したがって、BlotGlyco®は、夾雑物を大量に含む生体サンプルの糖鎖解析を行う際の前処理として特に優れた性能を発揮します。

バイオ医薬品のように精製度の高いサンプルを解析する場合においても、BlotGlyco®の網羅的糖鎖回収によって、例えば、安定剤として混在するアルブミンに非特異吸着した糖タンパク質糖鎖を見逃すことがありません。従って、BlotGlyco®を糖鎖解析のプラットフォームとして活用頂くことで、サンプルの性状によって精製法を検討する手間を省略し、様々な種類のサンプルを一様に扱うことが可能となります。

### « BlotGlyco®と他社糖鎖精製キット（カラム法）の精製度比較 »



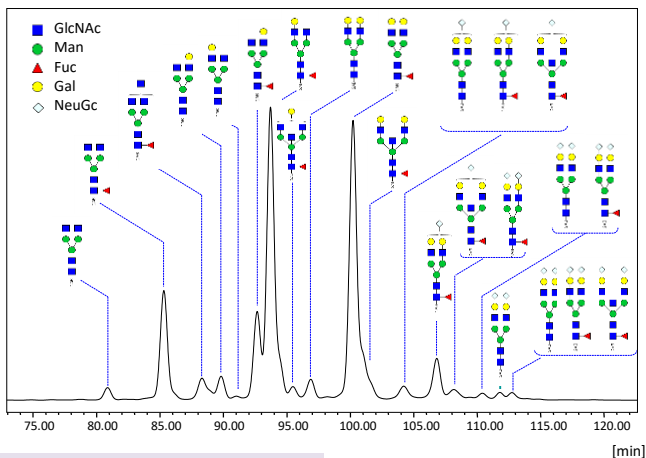
ヒトIgGトリプシン消化物のN型糖鎖をBlotGlyco®および他社製糖鎖精製キット (competitor A, B) を用いて精製、2ABラベル化後、LC-MS測定を行い、トータルイオンクロマトグラム (TIC) を比較した。他社製品A, B では夾雑物（ペプチドと推測）由来のピークが優位に観測された。一方、BlotGlyco®では夾雑物由来ピークは低く抑えられ、糖鎖由来ピークが明瞭に観測された。

## BlotGlyco® アプリケーションデータ

### 糖タンパク質医薬品の糖鎖修飾解析

#### データ例1

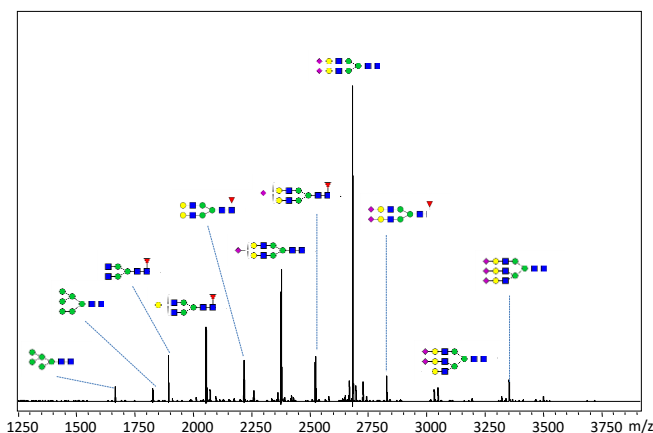
IgG (bovine) のN型糖鎖をBlotGlyco®で精製・ラベル化後、LC-MS測定。各LCピークに含まれる糖鎖構造は質量数電荷比から推定。  
(2ABラベル化, IgG 10 µg 使用)



### 糖鎖バイオマーカー探索

#### データ例2

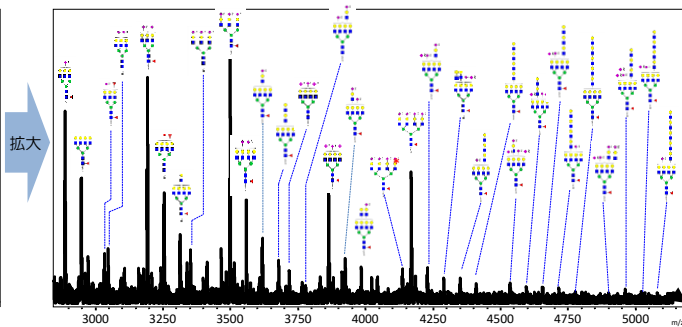
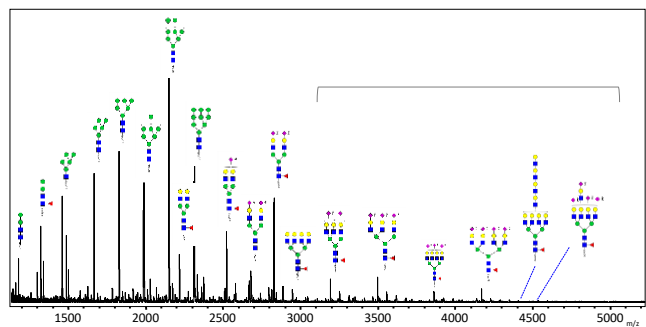
ヒト血清のN型糖鎖をBlotGlyco®で精製・ラベル化後、MALDI-TOF MS測定を実施。糖鎖構造は質量数電荷比から推定。  
(aoWRラベル化, 血清 5µL 使用)



### 細胞の糖鎖プロファイリング

#### データ例3

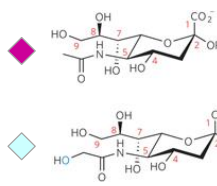
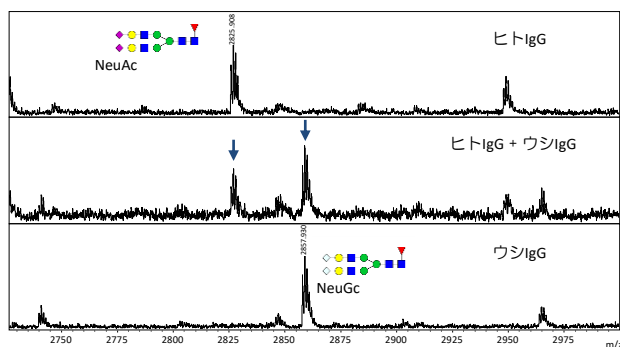
HeLa細胞に含まれるN型糖鎖をBlotGlyco®で精製・ラベル化後、MALDI-TOF MS測定。糖鎖構造は質量数電荷比から推定。  
(aoWRラベル化, HeLa細胞 1 x 10<sup>6</sup> 個使用)



### ヒト抗原性糖鎖の検出

#### データ例4

ヒト血清IgGとウシ血清IgGのN型糖鎖をBlotGlyco®で精製・ラベル化後、MALDI-TOF MS測定。ビーズ固相上でのメチルエステル化によりMALDIポジティブイオンモード測定時のシアル酸残基の脱離を防止し、NeuAcとNeuGcの識別が可能。(aoWRラベル化, IgG 10µg使用)



N-acetylneuraminic acid (NeuAc)  
ヒトに普遍的に存在する

N-glycolylneuraminic acid (NeuGc)  
ヒトに対して抗原性をもつ

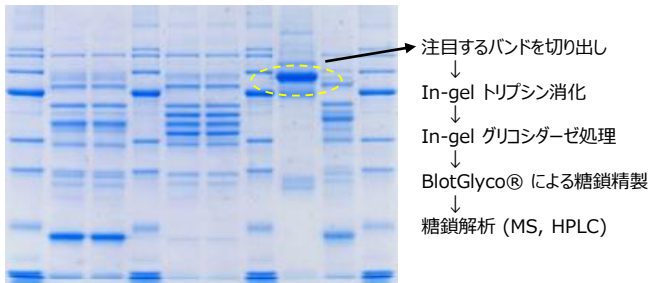


## BlotGlyco® アプリケーションデータ

### プロテオミクスとの融合

データ例5  
泳動後のゲル、メンブレン上の糖タンパク質バンドからの糖鎖解析

(イメージ図)

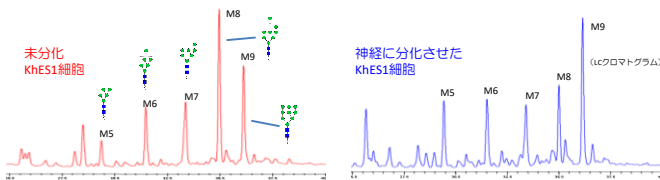


着目するバンドに含まれる糖タンパク質の糖鎖解析が可能です。

### ヒト幹細胞糖鎖分析への応用

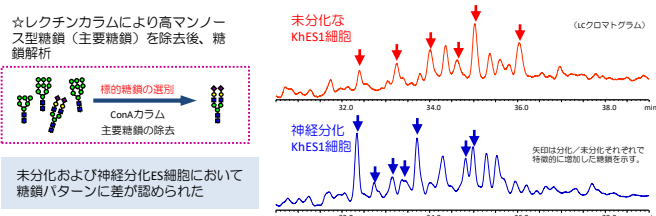
データ例6  
ヒトES細胞 (未分化/神経分化) のLC-MS糖鎖解析、プロファイル比較

1. ヒト幹細胞の網羅的な糖鎖分析



未分化ES細胞と神経分化ES細胞の高マンノース型糖鎖のパターンに差が認められた

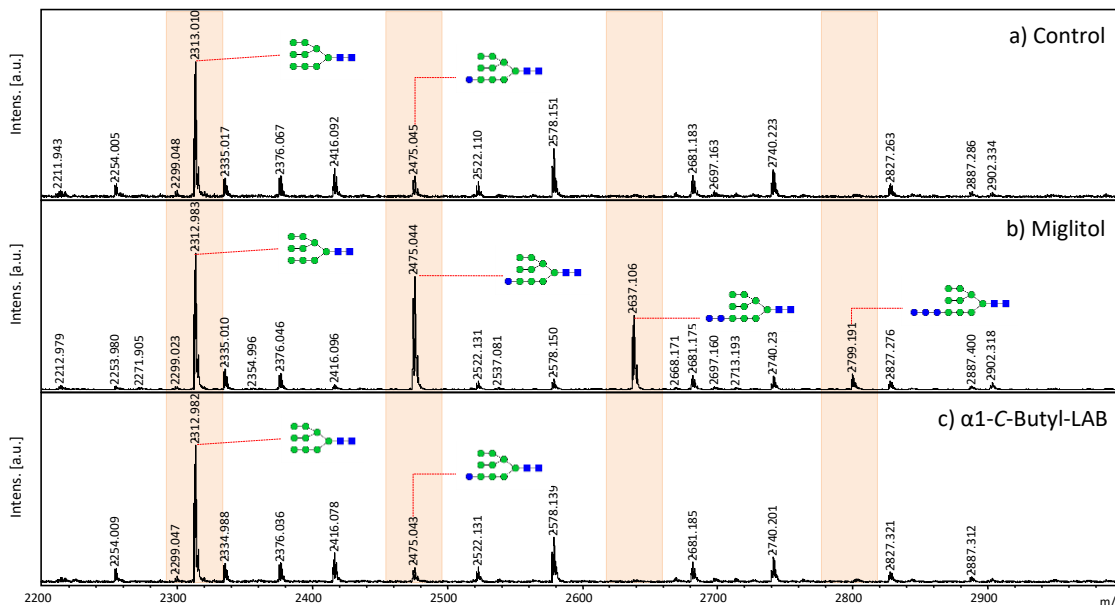
2. ヒト幹細胞の微量糖鎖にフォーカスした糖鎖分析



未分化および神経分化ES細胞において糖鎖パターンに差が認められた

### 創薬研究への応用

データ例7  
医薬品候補物質 (低分子化合物) が細胞の糖鎖発現に与える影響について調べるため、BlotGlyco® とMALDI-TOF MSを用いた糖鎖解析を実施。



糖尿病治療薬の一種であるグルコシダーゼ阻害剤の HepG2 細胞アッセイによる評価例。HepG2 細胞に既存薬 (b) を作用させた場合、未成熟な糖鎖構造: Glc3Man9GlcNAc2 ( $m/z$  2799), Glc2Man9GlcNAc2 ( $m/z$  2637), Glc1Man9GlcNAc2 ( $m/z$  2475) の有意な増大が見られた。これは、既存薬 (b) により細胞内の $\alpha$ -グルコシダーゼ活性が阻害され糖鎖異常が発生していることを示唆する。一方、薬剤候補物質 (c) では糖鎖異常はみられなかった。

※東北薬科大学 高畑廣紀先生、富山大学附属病院 加藤敦先生ご提供データ

A. Kato et al. *Journal of Medicinal Chemistry*, 55, p. 10348 (2012)

## ◆ 糖鎖精製ラベル化キットBlotGlyco® ご注文情報

品番	品名	用途 (※)	内容物				参考価格 (税別)
			糖鎖精製 ビーズ	MALDI用 ラベル化試薬	反应用 チューブ	クリーンアップ カラム	
BS-45403	BlotGlyco® 10	MALDI	10回分	10回分	10本	10本	¥ 50,000
BS-45404	BlotGlyco® 50	MALDI	50回分	50回分	50本	50本	¥ 225,000
BS-45405	BlotGlyco® 100	MALDI	100回分	100回分	100本	100本	¥ 400,000
BS-45406	BlotGlyco® 100A	特殊	100回分	100回分	—	—	¥ 376,000
BS-45407	BlotGlyco® 100B	HPLC	100回分	—	100本	100本	¥ 384,000
BS-45408	BlotGlyco® 100C	特殊	100回分	—	—	—	¥ 360,000
BS-45409	BlotGlyco® 100D	特殊	100回分	—	—	100本	¥ 376,000
BS-45410	BlotGlyco® 200C	特殊	200回分	—	—	—	¥ 720,000
BS-45411	BlotGlyco® 100E	特殊	100回分	—	100本	—	¥ 368,000
BS-45412	BlotGlyco® 200E	特殊	200回分	—	100本	—	¥ 720,000
BS-45413	BlotGlyco® 96プレートB	HPLC	96ウェル分	—	専用プレート1枚	専用プレート1枚	¥ 384,000
BS-45414	BlotGlyco® 10B	HPLC	10回分	—	10本	10本	¥ 45,000
BS-45415	BlotGlyco® 50B	HPLC	50回分	—	50本	50本	¥ 202,500

※MALDI : MALDI-TOF MS測定に対応 HPLC : HPLC, UPLC, LC-MS測定に対応 特殊 : 内容物の組み合わせが特殊な品番です。用途に応じてお選び下さい。

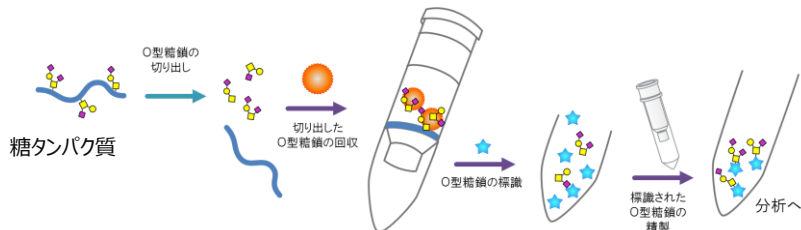
## O型糖鎖サンプル調製を短時間、簡便、安全に

「EZGlyco® O-Glycan Prep Kit」は、タンパク質のO型糖鎖分析を飛躍的に容易化します。同梱されるプロトコル（操作手順書）に従って操作することで、糖タンパク質検体からのO型糖鎖の切り出し、精製、蛍光ラベル標識までの操作を安全かつ簡便・迅速に行うことが可能で、分析対象である糖鎖試料の調製がおよそ5時間で完了します。

- ☑ 約5時間の作業でO型糖鎖の切り出し、精製、2-ABラベル化までのすべての分析準備が完了、同日中に分析スタート可能
- ☑ 切り出し時のO型糖鎖の分解（ピーリング）を低減、正確な分析に寄与
- ☑ プロトコル化された簡便な一連の操作
- ☑ 新規開発のO型糖鎖精製ビーズにより高効率で糖鎖を回収
- ☑ LC, LC-MS分析用の蛍光ラベル化（2-AB）に対応
- ☑ 専用の機器は不要（ヒートブロック、卓上遠心機のみ）
- ☑ 毒物不使用、試薬管理の手間を省略

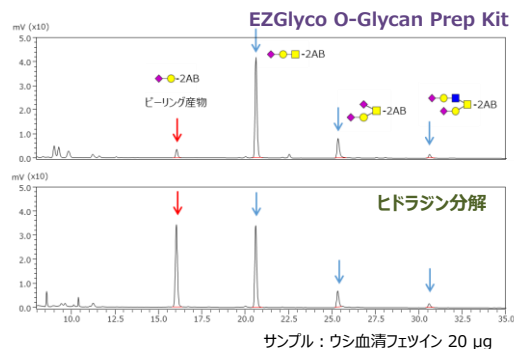


### 操作ステップ（イメージ）



EZGlyco O-Glycan Prep Kitは、幅広い試料に対応することができ、全工程 [切り出し反応、糖鎖の回収・濃縮、標識化、過剰ラベルの除去] を安全かつ簡便な操作で短時間に完了することが可能なサンプル調製キットとして、刷新的なO型糖鎖調製キットです。

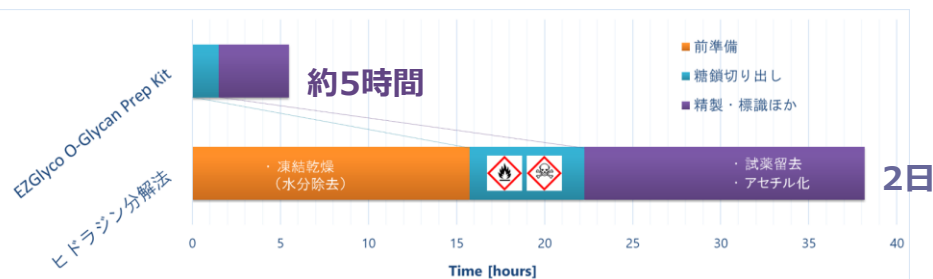
### ◆ EZGlyco® O-Glycan Prep Kit と従来法(ヒドラジン分解)のデータ比較



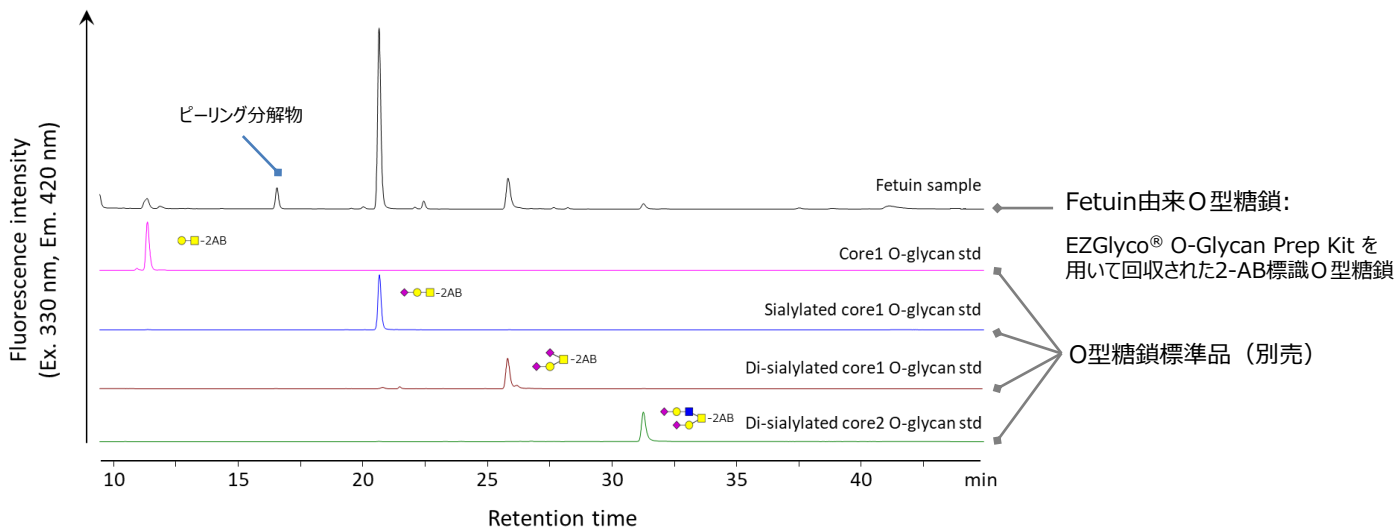
- 高い糖鎖の回収と低く抑えられたピーリングが同時に達成
- 分析前の試料準備にかかる全ステップがわずかに5時間

### ◆ EZGlyco O-Glycan Prep Kit と従来法（ヒドラジン分解）の所要時間比較

EZGlyco O-Glycan Prep Kitでは、試料水溶液が適切な濃度、pHであればそのまま実験に供することができ、切り出し反応時間はわずか75分で終了する。一方、ヒドラジン分解法(引火性毒物試薬ヒドラジンを使用)では、試料は無水である必要があり、前処理として脱水のため凍結乾燥が求められる。また、長時間の反応とその後の試薬除去など危険かつ好ましくない工程が含まれ分析試料調製の全工程には2~3日を要する。



## ◆ 実験例 ウシ胎児血清由来FetuinのO型糖鎖分析



- ウシ胎児血清由来Fetuin (20μg)を EZGlyco® O-Glycan Prep Kitを用いて処理し、得られた標識糖鎖回収液 (約50 μL)のうち 1 μLを注入してHPLC分析を行った。
- 標準糖鎖は、各1 pmol用いて分析を実施した。
- ピーリング分解物は5-7%程度に低く抑えられ、各糖鎖ピークの存在比は高い再現性で定量された。

Instrument: Nexera, Shimadzu  
 Column: ACQUITY UPLC® BEH Glycan, 1.7 μm (2.1 x 150 mm), 40°C  
 Flow rate: 0.2 ml/min  
 Injection volume: 1 μL  
 FL detection: Ex 330 nm/Em 420 nm using an RF-20Axs  
 Mobile phase A: 40% acetonitrile aq. containing 0.1% formic acid  
 Mobile phase B: 90% acetonitrile aq. containing 0.1% formic acid  
 Gradient: 0% A (0 min) → 100% A (50 min)

## ◆ ご注文情報

品番	品名	用途	内容量	参考価格 (税別)
BS-41601	EZGlyco® O-Glycan Prep Kit	糖タンパク質のO型糖鎖の切り出し、精製、ラベル化 (LC, LC-MS用)	10回分	¥ 98,000

輸送・保存条件: 冷蔵(4°C) 有効期限: 製造日より2年間

## ◆ 関連製品 O型糖鎖標準品 (2-ABラベル化)

品番	品名	構造	内容量	参考価格 (税別)
BS-47128	Core 1 O-glycan, 2AB-labeled	●-2AB	100 pmol	¥ 135,000
BS-47129	Sialylated core 1 O-glycan, 2AB-labeled	◆-●-2AB	100 pmol	¥ 135,000
BS-47131	Di-sialylated core 2 O-glycan, 2AB-labeled	◆-●-■-2AB	100 pmol	¥ 135,000
BS-47133	Di-sialylated core 1 O-glycan, 2AB-labeled	◆-◆-●-2AB	100 pmol	¥ 135,000

◆: Sialic acid ●: Galactose ■: N-acetylglucosamine ◻: N-acetylgalactosamine

本製品は、国立研究開発法人 産業技術総合研究所との共同研究成果に基づき、住友ベークライト株式会社が製品化したものです

## 糖鎖解析のアウトソーシングにより研究開発の効率化に寄与

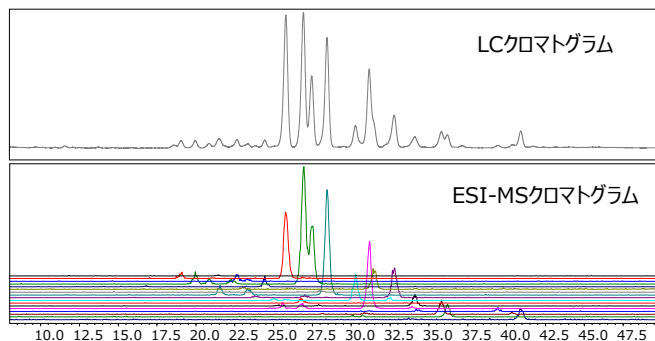
糖タンパク質、血液、細胞、組織、電気泳動バンドなど様々な生体試料の糖鎖解析を受託します。サンプルの性状、解析目的、ご予算に合わせ最適なサービスをご提案します。新たに糖鎖分析を始められるお客様の糖鎖分析の立ち上げサポートとして本サービスをご活用頂くこともできます。お気軽にご相談ください。

### 各サービスの特長

#### 糖鎖LC-MS解析サービス (BS-X4914)

- ・お客様のサンプルをご提供頂き、弊社にて糖鎖切り出し、精製、ラベル化、LC-MS測定を行いデータをご報告
- ・LCによる定量情報とESI-MSによる構造推定情報が同時に得られます
- ・LCデータおよびLC主要10ピークについての質量数、糖鎖組成推定結果を報告します

≪ データレポートの一例 ≫



peak	obsd m/z	calcd m/z	ion species	Estimated glycan composition ("GlycoMod" database)
5	790.29	790.30	[M-2H] <sup>-</sup>	(HexNAc) <sub>2</sub> (Deoxyhexose) <sub>2</sub> + (Man) <sub>3</sub> (GlcNAc) <sub>2</sub>
7	891.82	891.84	[M-2H] <sup>-</sup>	(HexNAc) <sub>2</sub> (Deoxyhexose) <sub>2</sub> + (Man) <sub>3</sub> (GlcNAc) <sub>2</sub>
10	871.31	871.33	[M-2H] <sup>-</sup>	(Hex) <sub>1</sub> (HexNAc) <sub>1</sub> (Deoxyhexose) <sub>2</sub> + (Man) <sub>3</sub> (GlcNAc) <sub>2</sub>
11	871.31	871.33	[M-2H] <sup>-</sup>	(Hex) <sub>1</sub> (HexNAc) <sub>1</sub> (Deoxyhexose) <sub>2</sub> + (Man) <sub>3</sub> (GlcNAc) <sub>2</sub>
12	972.85	972.86	[M-2H] <sup>-</sup>	(Hex) <sub>1</sub> (HexNAc) <sub>1</sub> (Deoxyhexose) <sub>2</sub> + (Man) <sub>3</sub> (GlcNAc) <sub>2</sub>
16	952.33	952.35	[M-2H] <sup>-</sup>	(Hex) <sub>1</sub> (HexNAc) <sub>1</sub> (Deoxyhexose) <sub>2</sub> + (Man) <sub>3</sub> (GlcNAc) <sub>2</sub>
17	1053.37	1053.38	[M-2H] <sup>-</sup>	(Hex) <sub>1</sub> (HexNAc) <sub>1</sub> (NeuGc) <sub>1</sub> + (Man) <sub>3</sub> (GlcNAc) <sub>2</sub>
23	1016.85	1016.87	[M-2H] <sup>-</sup>	(HexNAc) <sub>2</sub> (Deoxyhexose) <sub>2</sub> (NeuGc) <sub>1</sub> + (Man) <sub>3</sub> (GlcNAc) <sub>2</sub>
		1016.87	[M-2H] <sup>-</sup>	(Hex) <sub>1</sub> (HexNAc) <sub>1</sub> (Deoxyhexose) <sub>2</sub> (NeuAc) <sub>1</sub> + (Man) <sub>3</sub> (GlcNAc) <sub>2</sub>
27	1097.88	1097.90	[M-2H] <sup>-</sup>	(Hex) <sub>1</sub> (HexNAc) <sub>1</sub> (Deoxyhexose) <sub>2</sub> (NeuGc) <sub>1</sub> + (Man) <sub>3</sub> (GlcNAc) <sub>2</sub>
		1097.90	[M-2H] <sup>-</sup>	(Hex) <sub>1</sub> (HexNAc) <sub>1</sub> (Deoxyhexose) <sub>2</sub> (NeuAc) <sub>1</sub> + (Man) <sub>3</sub> (GlcNAc) <sub>2</sub>
28	1199.42	1199.44	[M-2H] <sup>-</sup>	(Hex) <sub>1</sub> (HexNAc) <sub>1</sub> (Deoxyhexose) <sub>2</sub> (NeuGc) <sub>1</sub> + (Man) <sub>3</sub> (GlcNAc) <sub>2</sub>
		1199.44	[M-2H] <sup>-</sup>	(Hex) <sub>1</sub> (HexNAc) <sub>1</sub> (Deoxyhexose) <sub>2</sub> (NeuAc) <sub>1</sub> + (Man) <sub>3</sub> (GlcNAc) <sub>2</sub>

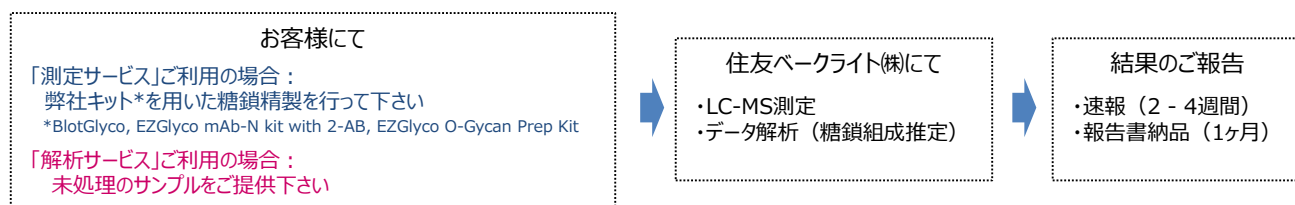
#### 糖鎖LC-MS測定サービス (BS-X4913)

- ・お客様にて糖鎖切り出し、精製、ラベル化作業を実施（弊社キット使用）していただきます
- ・調整したラベル化糖鎖を弊社にお送りいただき、弊社にてLC-MS測定を行うデータをご報告します
- ・レポート内容は BS-X4914 と同様です
- ・サンプル調製をお客様自身で行っていただくことで、費用を抑えられます

### O型糖鎖解析にも対応

- ・EZGlyco O-Glycan Prep kit (BS-41601) を用いてO型糖鎖を遊離・ラベル化し解析を行います

### 測定・解析サービスご利用の流れ



## GlycanMap® Xpress 糖鎖解析サービス

MALDI-TOF MSによる完全自動糖鎖解析プラットフォームGlycanMap®を用いて、迅速かつ高い再現性で糖鎖の定量と構造推定を行います。

多数のサンプルについて短期間にN型糖鎖解析を行いたい場合に最適なサービスです。

用途例： バイオ医薬品候補のスクリーニング、糖鎖プロファイル比較

### ≪特長≫

定量性： 既知量の内部標準に基づいた定量値としてプロファイリング結果を報告します。

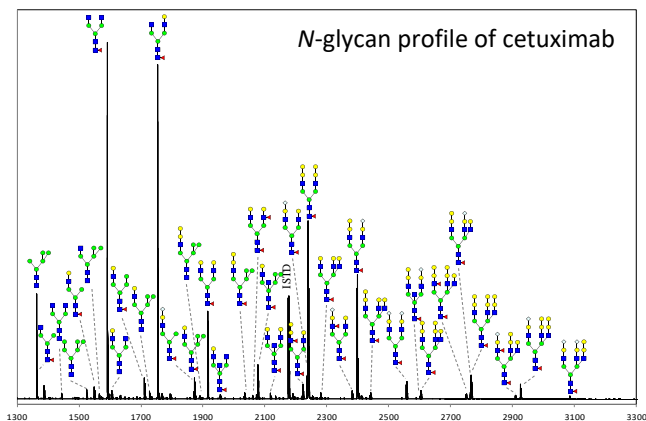
迅速性： 自動化された糖鎖調製工程と分析システムにより、多検体試料のデータ取得がわずか1日で可能です。

再現性： 高い精度で糖鎖の構造推定と定量が可能であり、良好な再現性を確保しています。

汎用性： 分子量 1,020 ~ 4,100 の糖鎖が測定可能\*です。中性糖に加えシアル酸、リン酸エステルを含む酸性糖鎖の同時測定が可能です。また、硫酸化糖鎖の測定も可能です。 \* [M+Na]<sup>+</sup> 1,020 ~ 4,100 の範囲で測定可能です。

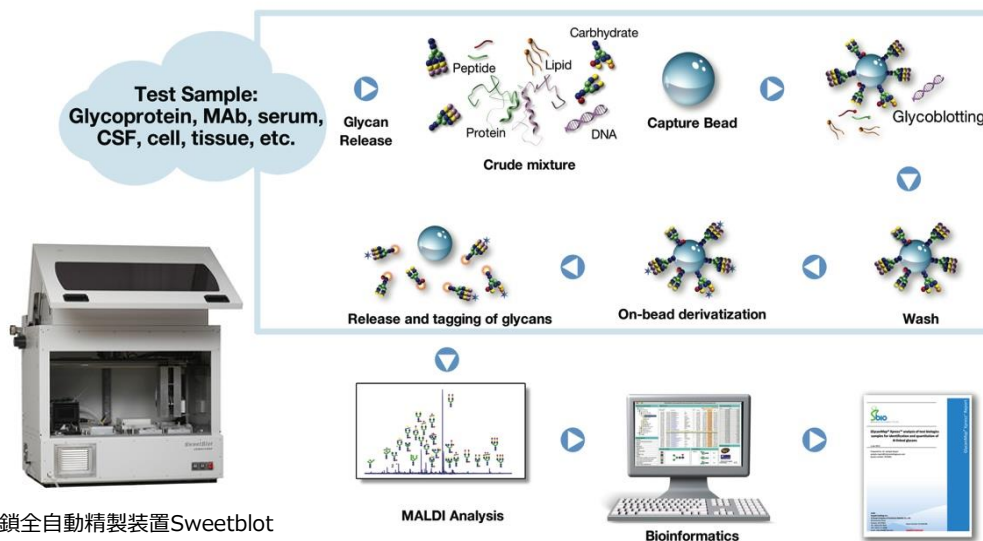
レポート： 含有量が総量比 0.5% 以上の糖鎖について分子量、組成式、推定構造、濃度を提示します。

### ≪測定・解析データの一例≫



N-linked Glycans Detected in Etanercept

m/z	Composition (Hex HexNAc Fuc Neu5Ac Neu5Gc)	Proposed Structure	Conc. (pmol/mg)
1362.53	5 2 0 0 0		881
1444.59	3 4 0 0 0		313
1590.65	3 4 1 0 0		7131
1606.65	4 4 0 0 0		243
1752.72	4 4 1 0 0		5561
1768.72	5 4 0 0 0		1230
1914.77	5 4 1 0 0		2545
2057.82	4 4 1 1 0		1158
2073.83	5 4 0 1 0		6017
2219.90	5 4 1 1 0		7967
2378.92	5 4 0 2 0		1336
2524.98	5 4 1 2 0		3044



糖鎖全自動精製装置Sweetplot

MALDI Analysis

Bioinformatics



## ◆糖鎖受託測定・解析サービス ご注文情報

品番	サービス名 (解析対象)	対応サンプル	測定手段	内容	参考価格 (税別)
BS-X4913	糖鎖LC-MS測定サービス (N型糖鎖, O型糖鎖)	精製・ラベル化済み 糖鎖 (2AB, 2AP)	LC-MS(*1)	・LC測定およびLC主要10ピーク(*3)のMS解析 ・GlycoMod Tools(*4)による糖鎖組成推定	¥ 80,000
BS-X4914	N型糖鎖LC-MS解析 サービス (N型糖鎖)	未処理サンプル	LC-MS	・PNGase FによるN型糖鎖遊離 ・キットを用いた糖鎖精製・ラベル化 ・LC測定およびLC主要10ピークのMS解析 ・GlycoMod Toolsによる糖鎖組成推定	¥ 298,000
BS-X4925	O型糖鎖LC-MS解析 サービス (O型糖鎖)	未処理サンプル	LC-MS	・O型糖鎖調製キットによる糖鎖精製・ラベル化 ・LC測定およびLC主要10ピークのMS測定 ・GlycoMod Toolsによる糖鎖組成推定	¥ 298,000
BS-X4920	糖鎖LC-MS追加データ 処理サービス	-	LC-MS	・LCの追加10ピークについてMS解析、 GlycoMod Toolsによる糖鎖組成推定 ※BS-X4913, X4914, X4925に付随するサービス	¥ 50,000
BS-49201	GlycanMap® Xpress N型糖鎖解析サービス	未処理サンプル	MALDI- TOF MS(*2)	・PNGase FによるN型糖鎖遊離 ・BlotGlycoによる糖鎖精製・ラベル化 ・MALDI-TOF MS測定 ・糖鎖組成推定(存在比0.5%以上のピーク) ・最低受注数量：2サンプル	¥ 114,000
BS-49205	GlycanMap® Xpress N型糖鎖解析サービス (サンプル前処理あり)	未処理サンプル	MALDI- TOF MS	・プロテインAカラムによるIgG抽出 ・以降はBS-49201と同様	¥ 140,000
BS-49206	GlycanMap® Xpress 遊離糖鎖解析サービス	未処理サンプル	MALDI- TOF MS	・BS-49201と同様。PNGase F処理を省略	¥ 126,000
BS-49207	GlycanMap® Xpress フコース含有糖鎖 解析サービス	未処理サンプル	MALDI- TOF MS	・BS-49201と同様。フコース含有糖鎖認識、 同定のための追加酵素処理を含む	¥ 420,000

\*1 : LCMS-IT-TOF (Shimadzu)

\*2 : Ultraflex III (Bruker)

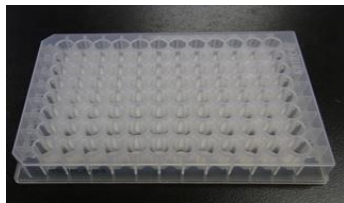
\*3 : 特にご指定のない場合、LCチャートのピーク面積の大きいものから順に10ピークについて解析を行います

\*4 : Cooper et al., GlycoMod—a software tool for determining glycosylation compositions from mass spectrometric data. *PROTEOMICS: International Edition*, 1, pp. 340-349 (2001)

上記、標準メニューのほかにも特殊なサンプル、解析のご相談を承ります。まずはお気軽にご相談ください。

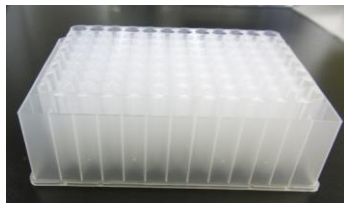
## BlotGlyco® 96ウェルキット (BS-45413)

- ◆ 「BlotGlyco® 糖鎖精製ラベル化キット」の全ての操作を96ウェルプレートフォーマットで実施可能です
- ◆ 操作は分注・加熱・吸引のみであり、特別な装置は不要です。ヒートブロックとバキュームマニフォールドが必要です。
- ◆ 2ABラベル化プロトコルに対応しています
- ◆ プレートシールを使うことで任意のウェル数づつの使用が可能です



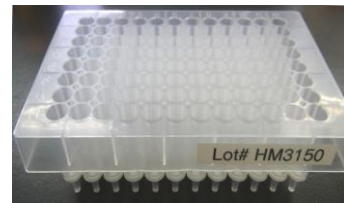
フィルタープレート

■糖鎖捕捉、ビーズ洗浄、ラベル化操作時の反応容器として使用します。



回収用ディープウェルプレート

■ラベル化糖鎖溶液をフィルタープレートから回収する際に使用します。



クリーンアッププレート

■ラベル化反応後の溶液から未反応の過剰ラベルを除去するために使用します。

## 糖鎖自動精製・ラベル化装置

糖鎖精製ラベル化キット BlotGlyco® を用いた糖鎖精製・ラベル化の自動化を支援します。自動化により、**作業の効率化とヒューマンエラーの低減**に貢献します。

### 糖鎖自動前処理装置 SweetBlot®

生体サンプルの前処理（タンパク質変性、糖鎖遊離）から BlotGlyco® を用いた糖鎖精製・ラベル化までの全操作を全自動で行います。



### BIOFELLOW®

BlotGlyco® を用いた糖鎖精製・ラベル化操作を自動で行います。

























製造元：システム・インスツルメンツ株式会社

- ・最大96サンプルを同時処理可能です（部分使用も可能）
- ・技術詳細、価格、納期等についてはお問い合わせ下さい
- ・住友ベークライト神戸研究所にて実機の見学、デモ実験も可能です。お問い合わせ下さい。

HPLC, LC-MS, MALDI-TOF MS分析などで用いられる 2-ABラベル化糖鎖標準品です。  
抗体医薬品の糖鎖修飾解析など、糖鎖分析を行う際の標品として利用可能です。

製造元：Ludger Ltd.  
保管温度：4℃  
有効期限：製造日より5年





## ◆ N-結合型糖鎖（2AB標識）

品番	品名	概略構造	内容量	参考価格（税別）
BS-47102	NA4 Glycan, 2AB Labeled		100 pmol	¥ 36,000
BS-47103	NGA4 Glycan, 2AB Labeled		100 pmol	¥ 36,000
BS-47104	A3 Glycan, 2AB Labeled		100 pmol	¥ 36,000
BS-47105	NA3 Glycan, 2AB Labeled		100 pmol	¥ 36,000
BS-47106	NGA3 Glycan, 2AB Labeled		100 pmol	¥ 36,000
BS-47107	NA2F Glycan (G2F), 2AB Labeled		100 pmol	¥ 36,000
BS-47108	A2F Glycan, 2AB Labeled		100 pmol	¥ 36,000
BS-47109	A1F Glycan, 2AB Labeled		100 pmol	¥ 36,000
BS-47110	NGA2F Glycan (G0F), 2AB Labeled		100 pmol	¥ 36,000
BS-47111	G1F Glycan, 2AB Labeled		100 pmol	¥ 42,500
BS-47112	FA2B, 2AB Labeled		100 pmol	¥ 52,500
BS-47113	FA2BG1, 2AB Labeled		100 pmol	¥ 52,500
BS-47114	A2 Glycan, 2AB Labeled		100 pmol	¥ 36,000
BS-47115	A1 Glycan, 2AB Labeled		100 pmol	¥ 36,000
BS-47116	NA2 Glycan (G2), 2AB Labeled		100 pmol	¥ 36,000
BS-47117	NGA2 Glycan (G0), 2AB Labeled		100 pmol	¥ 36,000
BS-47118	M3N2 (Man-3) Glycan, 2AB Labeled		100 pmol	¥ 36,000
BS-47119	A2G1 Glycan (G1), 2AB Labeled		100 pmol	¥ 52,500
BS-47120	Man-9 Glycan, 2AB Labeled		100 pmol	¥ 36,000
BS-47121	Man-8 Glycan, 2AB Labeled		100 pmol	¥ 36,000
BS-47122	Man-7 Glycan, 2AB Labeled		100 pmol	¥ 36,000
BS-47123	Man-6 Glycan, 2AB Labeled		100 pmol	¥ 36,000
BS-47124	Man-5 Glycan, 2AB Labeled		100 pmol	¥ 36,000

● : mannose   ● : galactose   ■ : N-acetylglucosamine   ◆ : N-acetylneuraminic acid   ▼ : fucose

# 糖鎖分析用スタンダード

## ◆ O-結合型糖鎖、その他（2AB標識）

品番	品名		内容量	参考価格（税別）
BS-47128	Core 1 O-glycan, 2AB-labeled		100 pmol	¥ 135,000
BS-47129	Sialylated core 1 O-glycan, C1S(3)1, 2AB-labeled		100 pmol	¥ 135,000
BS-47130	Sialylated core 1 O-glycan, C1S(3)1, 2AB-labeled		50 pmol	¥ 95,000
BS-47131	Di-sialylated core 2 O-glycan, C2S(3,3)2, 2AB-labeled		100 pmol	¥ 135,000
BS-47132	Di-sialylated core 2 O-glycan, C2S(3,3)2, 2AB-labeled		50 pmol	¥ 95,000
BS-47133	Di-sialylated core 1 O-glycan, C1S(3,6)2, 2AB-labeled		100 pmol	¥ 135,000
BS-47101	Gal alpha 1-3 Gal beta 1-4 GlcNAc, 2AB-labeled	-	100 pmol	¥ 52,500
BS-47126	Glucose Homopolymer Ladder, 2AB-labeled	-	100 pmol	¥ 42,500

## ◆ 糖タンパク質糖鎖ライブラリ

品番	品名	内容量	参考価格（税別）
BS-47127	IgG N glycan library, 2AB-labeled	200 pmol	¥ 88,000
BS-47134	Fetuin N-glycan library (non-labeled)	Approx. 7.5 µg	¥ 72,000
BS-47135	Fetuin O-glycan library (non-labeled)	From 30 µg fetuin	¥ 72,000
BS-47136	IgG N-glycan library (non-labeled)	25 µg	¥ 72,000

## ◆ 糖タンパク質標準品

品番	品名	内容量	参考価格（税別）
BS-47137	Fetuin glycoprotein standard	500 µg	¥ 16,800
BS-47138	Fetuin glycoprotein standard	250 µg	¥ 15,000
BS-47139	Fetuin glycoprotein standard	4 x 50 µg	¥ 30,000
BS-47140	IgG glycoprotein standard	50 µg	¥ 15,000
BS-47141	IgG glycoprotein standard	100 µg	¥ 16,800

## ◆ 定量用糖鎖、糖ペプチド標準品

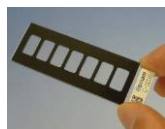
品番	品名	内容量	参考価格（税別）
BS-47142	BioQuant A2G2S2 glycopeptide standard	3.49 nmol	¥ 75,000
BS-47143	BioQuant chitotriose standard	5 nmol	¥ 75,000
BS-47144	BioQuant chitotriose standard, 2AB-labeled	100 pmol	¥ 75,000
BS-47145	BioQuant chitotriose standard, 2AA-labeled	100 pmol	¥ 75,000
BS-47146	N-acetylneuraminic acid quantitative standard	1nmol	¥ 16,800
BS-47147	N-glycolyneuraminic acid quantitative standard	1nmol	¥ 16,800
BS-47148	N-acetylneuraminic acid qualitative standard	>800pmol	¥ 25,000
BS-47149	Mix of six monosaccharide quantitative standards	-	¥ 150,000

# レクチンチップ、蛍光スキャナ

## 簡便・迅速・高感度な糖鎖プロファイリング

レクチンチップと専用蛍光スキャナにより、糖鎖をもつ生体分子に結合している糖鎖のプロファイル解析が可能です。本システムはワクチン産生細胞、幹細胞、エクソソーム、菌などの解析対象の表面糖鎖プロファイリングや、特定のレクチンとの相互作用を利用したバイオ医薬品の抗原糖鎖検出等への活用が期待されます。また、ワクチンの研究開発や診断用抗体の糖鎖認識性評価といった、新しい用途も考えられます

### ◆ 本システムの特長



#### 簡便

- ・蛍光標識したサンプルを添加、静置するだけの簡単なアッセイ
- ・スポット自動認識機能搭載、位置合わせの手間を省略

#### 高感度

- ・サンプル反応後のチップ洗浄工程は不要、洗浄操作で失われる弱い相互作用も検出可能

#### コンパクト

- ・クリーンベンチ内に設置可能、感染性サンプルの取扱いに配慮
- ・PCなしでデータを可視化、その場で考察が可能

### ◆ 想定される用途

糖鎖分野の基礎研究用途（レクチン研究等）

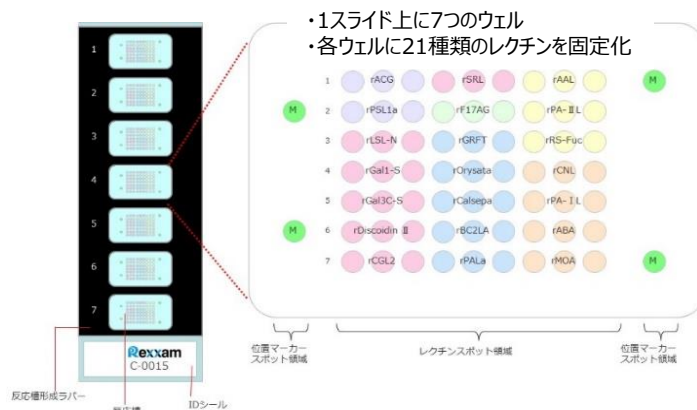
病態反映分子（バイオマーカー）の探索

病理学的悪性度の評価研究

幹細胞や分化細胞の評価・研究

バイオ医薬品に付加する糖鎖変異評価

### ◆ レクチンチップ レイアウト



### ◆ 蛍光スキャナ Bio-REX Scan 300 装置仕様

測定スライド	液相観察対応専用スライド	入力電圧	AC 100~240V (50/60Hz)
測定時間	20~200秒/枚 (露光時間設定による)	消費電力	120 VA
対応蛍光色素	Cy3 (推奨), Cy3代替色素	本体寸法	220 (巾) × 370 (奥) × 416 (高) mm
出力画像形式	TIFF形式 (16bit), BMP形式	重量	約 12 kg
付属品	金属製スライドカートリッジ (オートクレーブ可)	希望販売価格	8,900,000円 (税別)

### ◆ ご注文情報

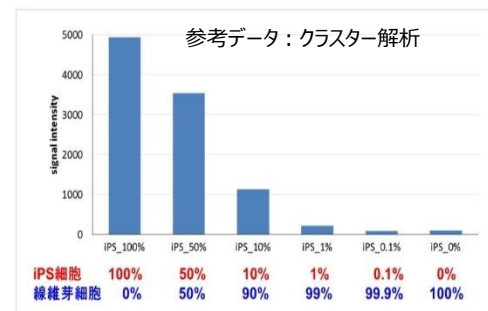
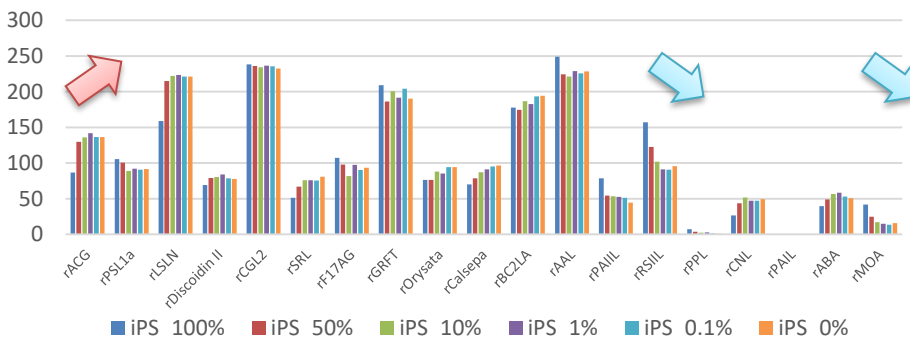
品番	品名	数量	参考価格 (税別)
BS-49901	蛍光スキャナ Bio-REX Scan 300	1 台	¥ 8,900,000
BS-45210	レクチンチップ	5 枚	¥ 225,000

## ◆ レクチンチップ 搭載レクチン表

No.	グループ	レクチン名	由来生物	認識糖鎖構造
1	Sialic Acid	rACG	<i>Agrocybe cylindracea</i>	$\alpha$ 2-3Sia
2		rPSL1a	<i>Polyporus squamosus</i>	$\alpha$ 2-6Sia
3	Lactose Complex	rLSL-N	<i>Laetiporus sulphureus</i>	LacNAc, Poly-LacNAc
4		rGal1-S	Human	branched LacNAc
5		rGal3C-S	Human	poly LacNAc
6		rDiscoidin II	<i>Dictyostelium discoideum</i>	Asialoglycans, LacNAc, Gal
7		rCGL2	<i>Coprinopsis cinerea</i>	$\beta$ Gal, GalNAc $\alpha$ 1-3Gal(Blood Group A), Gal $\alpha$ 1-3Gal(Blood Group B)
8	rSRL	<i>Sclerotium rolfsii</i>	Gal $\beta$ 1-3GalNAc (T antigen), Gal $\beta$ 1-3GlcNAc (Lacto-N-biose)	
9	Glc/GlcNAcComplex	rF17AG	<i>E. Coli</i>	GlcNAc
10	Mannose Complex	rGRFT	<i>Griffithia sp.</i>	High-mannose
11		rOryzata	<i>Oryza sativa</i>	High-mannose
12		rCalsepa	<i>Calystegia sepium</i>	High-mannose
13		rBC2L-A	<i>Burkholderia cenocepacia</i>	High-mannose
14		rPALa	<i>Phlebodium aureum</i>	High-mannose
15	Fucose Complex	rAAL	<i>Aleuria aurantia</i>	Fucose moieties
16		rPA-II L	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Fucose, Fucose containing oligosaccharides, Mannose
17		rRS-Fuc	<i>Ralstonia solanacearum</i>	Fucose
18	Gal/GalNAcComplex	rCNL	<i>Clitocybe nebularis</i>	$\alpha$ / $\beta$ GalNAc
19		rPA-I L	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gal $\alpha$ 1-3/4Gal
20		rABA	<i>Agaricus bisporus</i>	Gal $\beta$ 1-3GalNAc (T antigen), Gal $\beta$ 1-3GlcNAc (Lacto-N-biose)
21		rMOA	<i>Marasmius oreades</i>	Gal $\alpha$ 1-3[Fuca1-2]Gal $\beta$ 1-4GlcNAc [Blood Group B], Gal $\alpha$ 1-3Gal, Gal $\alpha$ 1-3Gal $\beta$ 1-4GlcNAc

## ◆ 実験例 iPS細胞と線維芽細胞の識別

比率の異なるiPS細胞と線維芽細胞の混合細胞破碎液(0.5 $\mu$ g/mL)を各ウェルに80 $\mu$ L添加し、シグナル強度を比較



iPS細胞/線維芽細胞の比率に応じてシグナルが増大/減少するレクチンを確認  
⇒ レクチンチップを用いて、iPS細胞と線維芽細胞を識別できる可能性



# 糖鎖アレイ (技術紹介)

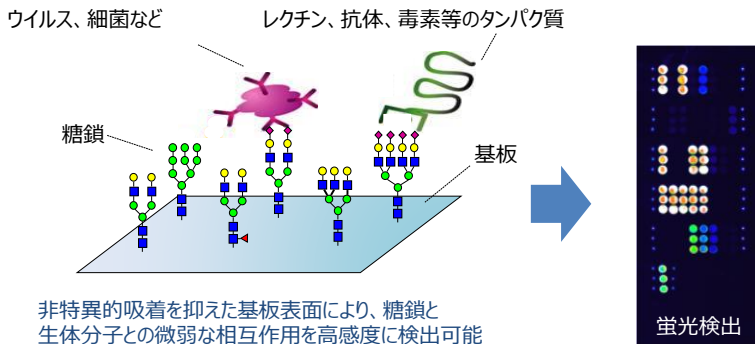
## 糖鎖と生体分子の相互作用解析ツール

非特異的吸着を抑えたプラスチック製基板表面に多種類の糖鎖を固定化したマイクロアレイ作製技術を保有しています。糖鎖と生体物質の相互作用解析のハイスループット化を実現します。

### 製品構成 (例)



### 使用イメージ



### 利用例

- ◆ 感染症の病原性発現メカニズムの研究
- ◆ 糖鎖結合タンパク質の特異性解析
- ◆ 糖鎖を認識する自己抗体の探索
- ◆ ウイルスの糖鎖認識性アッセイ、ワクチン研究

### 糖鎖アレイ 作製例

#### 1. 糖鎖固定化アレイ

28種類の糖タンパク質糖鎖を固定化

- N-glycan ... M9, NA2, A2, NA2F, NA3, A3, NA4
- O-glycan ... STn, T
- GAG ... Heparin, Desulfated heparin (4種類)
- Lewis型 ... Le<sup>a</sup>, Le<sup>x</sup>, Sle<sup>a</sup>, SLe<sup>x</sup>
- Lac<sup>ノース</sup> ... Lac, a2-3Sialyl Lac, a2-6Sialyl Lac, a2-3Sialyl LacNAc, a2-6Sialyl LacNAc, Lacto-N-tetraose, Lacto-N-neo-tetraose
- ABO型 ... A trisaccharide, B trisaccharide, O disaccharide

各糖鎖について濃度2水準で3スポットずつ糖鎖を固定化

#### 2. 糖脂質糖鎖固定化アレイ

24種類の糖脂質糖鎖を固定化

- ガングリオ系  
GM3, GD3, GT3, GM2, GD2, GT2, GM1a, GM1b, GD1a, GD1b, GT1a, GT1c, GA1 (asialo GM1), Fucosyl GM1, GA2 (asialo GM2)
- グロボ系  
Gb3 (P<sup>k</sup> antigen), Gb4 (P antigen), Gb5 (SSEA-3), Globo-H (SSEA-3), Globo-A, Globo-B, SSEA-4 tetraose, SSEA-4 hexaose, Forssman antigen

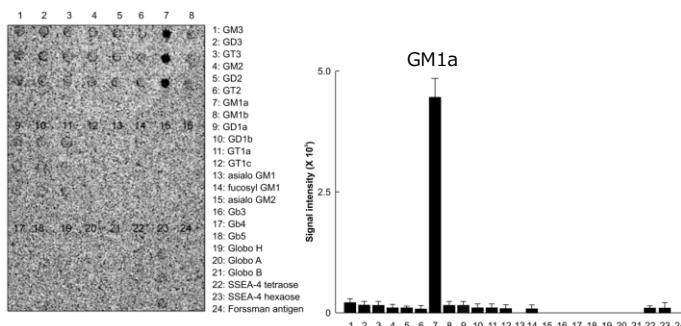
各糖鎖について、濃度2水準で3スポットずつ糖鎖を固定化

### 実験例

#### α-toxinの糖鎖認識性解析

糖脂質糖鎖固定化アレイを用いて、ウェルシュ菌が産生するα毒素の糖脂質糖鎖との結合性を調べた。その結果、α毒素がアレイ上のGM1aと特異的に結合する事が確認され、細胞膜上に発現しているGM1aがα毒素のレセプターの1つとして機能している可能性が示唆された。

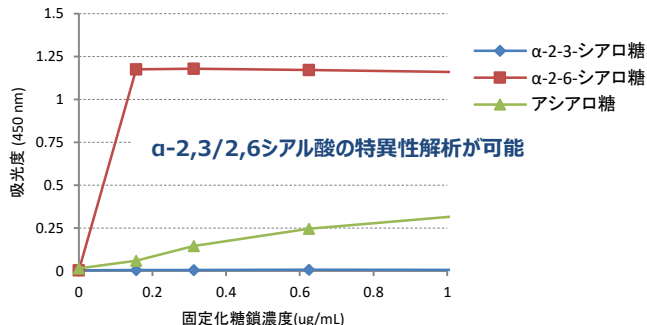
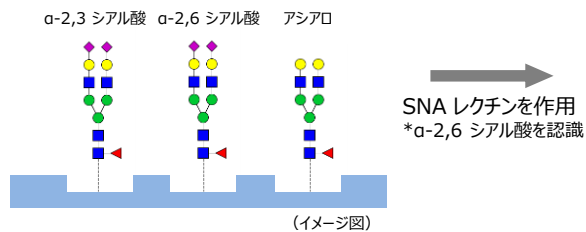
徳島文理大学薬学部微生物学教室 小田真隆先生ご提供データ  
J Biol Chem 287, 33070 (2012)



# 糖鎖アレイ (技術紹介)

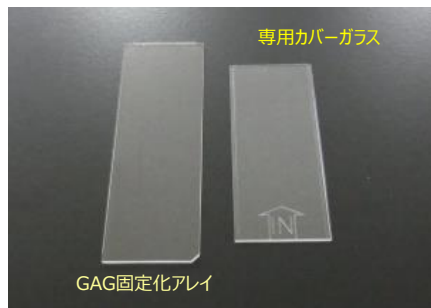
## ◆作製例：シアル酸固定化プレート

96ウェルプレートに各種シアル酸含有糖鎖を固定化  
用途例：インフルエンザウイルスのシアル酸指向性解析

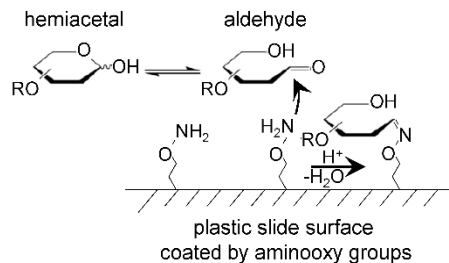


## ◆作製例：GAG固定化アレイ

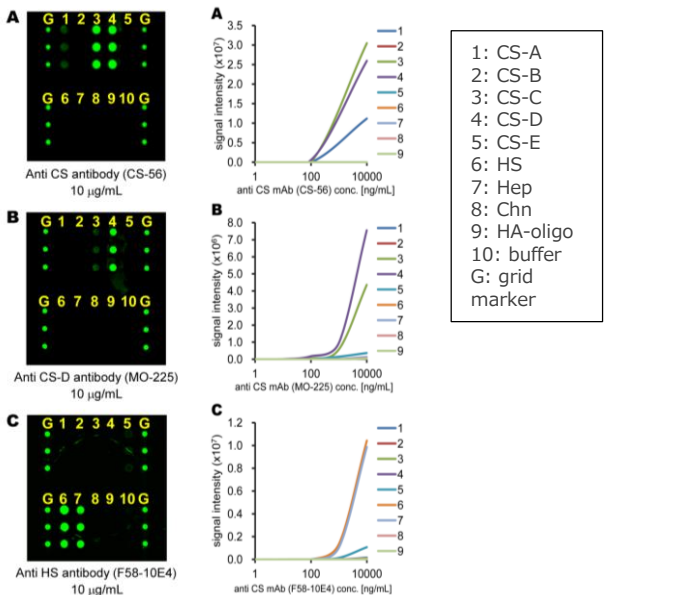
ヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸、ヘパリン、ヘパラン硫酸などのグリコサミノグリカンを基板上に固定化したマイクロアレイです。グリコサミノグリカン (GAG) は通常2糖ユニットの繰り返し構造を有する直鎖状の多糖で、あらゆる生体組織に存在し、細胞間相互作用、癌転移、ウイルス感染、神経再生など様々な生物学的プロセスに関与しています。GAGを固相基板上に固定化することで、GAGと生体分子との相互作用のハイスループット解析を可能とします。



データ例：各種抗GAG抗体の反応特異性アッセイ  
GAG固定化アレイを用いて Anti-CS mAb (clone CS-56), Anti-CS mAb (clone MO-225), Anti-HS mAb (clone F58-10E4) の認識性を確認。



GAG固定化のメカニズム  
GAGの還元末端のアルデヒド基とアレイ表面のアミノオキシ基の化学結合（オキシム）により配向的に固定化



## EZGlyco O-Glycan Prep Kit

Kameyama A., et al., "A practical method of liberating O-linked glycans from glycoproteins using hydroxylamine and an organic superbase.", *Biochem Biophys Res Commun.* 513(1), 186-192 (2019)

## BlotGlyco

Shimaoka H., et al., "One-pot solid-phase glycoblotting and probing by transoximization for high-throughput glycomics and glycoproteomics" *Chemistry--A European Journal*, 13(6), 1664-1673 (2007)

Comprehensive Approach to Structural and Functional Glycomics Based on Chemoselective Glycoblotting and Sequential Tag Conversion Furukawa, J-I., Shinohara, Y., Kuramoto, H., Miura, Y., Shimaoka, H., Kuroguchi, M., Nakano, M., & Nishimura, S-I. *Analytical Chemistry*, 80(4), 1094-1101(2008)

Abe M., et al., "A cross-linked polymer possessing a high density of hydrazide groups: high-throughput glycan purification and labeling for high-performance liquid chromatography analysis", *Polymer Journal*, 44, 269-277 (2012) ほか多数

## GlycanMap

Perkel, J.M., "At last, large-scale functional glycomics", *Anal. Chem.* , 80, 1354-1355 (2008)

Furukawa J-i., et al. "A comprehensive approach to structural and functional glycomics based on chemoselective glycoblotting and sequential tag conversion", *Anal. Chem.*, 80, 1094-1101 (2008)

Miura Y, et al. "BlotGlycoABC™: An integrated glycoblotting technique for rapid and large-scale clinical glycomics", *Mol. Cell. Proteomics*, 7, 370-377 (2008)

Nishimura S.-I. et al, " High-Throughput Protein Glycomics: Combined Use of Chemoselective Glycoblotting and MALDI-TOF/TOF Mass Spectrometry", *Angew. Chem. Int. Ed.*, 44, 91-96 (2005)

## レクチンチップ

Y. Omata, et al. "Reduced fucosylation in the distal intestinal epithelium of mice subjected to chronic social defeat stress." *Scientific Reports*, 2018, volume 8, Article number: 13199

H. Unno, et al. "Identification, Characterization, and X-ray Crystallographic Analysis of a Novel Type of Lectin AJLec from the Sea Anemone *Anthopleura japonica*." *Scientific Reports*, 2018, volume 8, Article number:11516

S. Saito, et al. "Glycome analysis of extracellular vesicles derived from human induced pluripotent stem cells using lectin microarray" *Scientific Reports*, 2018, volume 8, Article number: 3997

M. Kubota, et al. "Trisaccharide containing  $\alpha$ 2, 3-linked sialic acid is a receptor for mumps virus." *PNAS*, 2016, 113 (41) 11579-11584

S. Nakakita, et al. "Preparation of glycan arrays using pyridylaminated glycans." *Microarray Technology*, 2016, 225-235

H. Unno, et al. "Identification, characterization, and X-ray crystallographic analysis of a novel type of mannose-specific lectin CGL1 from the Pacific oyster *Crassostrea gigas*." *Scientific Reports*, 2016, volume 6, Article number: 29135

T. Imamura, et al. "Antigenic and Receptor Binding Properties of Enterovirus 68." *Journal of Virology*, 2014, Volume 88 ,Number 5 ,p. 2374-2384

M. Inagaki, et al. "Bovine  $\kappa$ -casein inhibits human rotavirus (HRV) infection  $\kappa$  via direct binding of glycans to HRV." *Journal of Dairy Science*, 2014, Volume 97, Issue 5, Pages 2653-2661

S. Yamashita, et al. "Carbohydrate recognition mechanism of HA70 from *Clostridium botulinum* deduced from X-ray structures in complexes with sialylated oligosaccharides." *FEBS Letters*, 2012, 586, 2404-2410



BRINGING GLYCOMICS TO LIFE<sup>®</sup>

## 住友ベークライト株式会社

ヘルスケア営業本部 バイオ事業開発部

〒140-0002 東京都品川区東品川2-5-8 天王洲パークサイドビル

Tel: 03-5462-4831 Fax: 03-5462-4835

E-mail: s-bio@sumibe.co.jp URL: <http://www.sumibe.co.jp>