

M蛋白血症由来 IgG-Fab グリコフォームのキャピラリー電気泳動
○久保 兼信¹, 本田 映子², 岡部 亘雄¹ (¹近畿大薬, ²近畿大医)

【はじめに】 単クローン性免疫グロブリン (M 蛋白) 血症由来の IgG 分子の糖鎖不均一性は通常、Fab 領域と Fc 領域の二つに大別できる。前者は主に S 結合型糖鎖、また後者は N 結合糖鎖のそれぞれの組成と構成によって、電荷および構造上、高度な不均一性を示す。キャピラリーゾーン電気泳動法 (CZE) はモノクローナル IgG 分子自体を標的とした直接的な IgG グリコフォーム分離にも適用可能であるが、そのグリコフォーム分離がどちらに由来しているかは判定できない。

そこで本研究では、IgG-Fab のグリコフォーム分離に適した CZE 条件と数種の IgG-Fab のプロファイリングについて報告する。

【実験】 IgG は M 蛋白血症患者血清を HiTrap Protein G HP column に適用し溶出画分に得た。これを Immobilized Papain と 37°C で 5h 反応。反応物は Protein G で Fab と Fc に分画し、濃縮後、G3000SWXL column にかけて精製・濃縮し、CZE 試料としての Fab を調製した。CZE キャピラリー (id, 75 μ m) には、直鎖アクリルアミド (7%) コートキャピラリーを、電解液には 0.1 M β -アラニン - 酢酸緩衝液, pH 4.6 を用いて、20 kV/室温 (27°C) で行った。

【結果・考察】 CZE 電解液の設定 0.1 M β -アラニン - 酢酸, pH 4.6 が IgG-Fc のグリコフォーム分離に適適用され良好な結果が得られている。そこで、この電解液を数種の IgG-Fab に援用したところ、複数の分離ピークとして数分以内に検出できた。これらのピークはシアリダーゼ処理により、単一のピークに収束された。これらの結果より、本 CZE はシアロ/アシアロ-Fab の迅速グリコフォーム分離に有用であることが判った。