



# N-glycan sialylation in a silkworm-baculovirus expression system

カイコ/バキュロウイルス発現系における  
N型糖鎖へのシアル酸付加

(JBB, Vol. 126, No. 1, 9–14, 2018)

菅沼 政俊<sup>1\*</sup>・野村 雄<sup>1</sup>・比嘉友紀子<sup>1</sup>・片岡由起子<sup>1</sup>・船隈 俊介<sup>1</sup>  
岡崎 博之<sup>1</sup>・鈴木 健夫<sup>1</sup>・藤山 和仁<sup>2</sup>・瀬筒 秀樹<sup>3</sup>・立松謙一郎<sup>3</sup>・田村 俊樹<sup>4</sup>

カイコとバキュロウイルスを用いたタンパク質発現系(以下、カイコ/バキュロウイルス発現系)は、機能タンパク質の発現成功率の高さ、昆虫個体を発現系とすることによるスループット性の高さ、スケールアップの容易さなど優れた特徴を持っており、1984年に前田進博士らがカイコの幼虫でヒトインターフェロン $\alpha$ の発現を成功させて以来、徐々に医薬品・診断薬などへの産業応用を加速させてきている。

カイコ/バキュロウイルス発現系で生産されたタンパク質には、近年、タンパク質機能および品質管理の観点で注目されるN型糖鎖も付加されるが、その糖鎖構造はヒトにおけるそれとは異なる。カイコにおけるN型糖鎖の構造は、非還元末端にマンノースが2–5個結合した少マンノース型が主体であり、ヒト血清タンパク質において一般的な、非還元末端にガラクトースとシアル酸を持つ複合型糖鎖の付加は認められない(図1)。

本研究では、カイコ/バキュロウイルス発現系において非還元末端にシアル酸を持つ複合型糖鎖を持ったタンパク質の生産に成功した。

シアル酸付加を実現するために必要な基質(CMP-シアル酸)と酵素(ガラクトース転移酵素、シアル酸転移酵素など)を、カイコ/バキュロウイルス生産系におけるタンパク質発現の主要組織であるカイコ脂肪体に十分に存在させることが必要となった。

CMP-シアル酸をカイコの中で生合成させるには複数の酵素をカイコ内に導入することが必要となる。筆者らはより簡便な方法として、CMP-シアル酸をカイコに外部から経口で、あるいは皮下に投与することを試みた。投与したCMP-シアル酸が脂肪体細胞中に入り、長時間維持されるかどうか懸念であったが、検討により投与後数日以上シアル酸/シアル酸供与体が脂肪体組織に存在することが確認され、現実的な方法であることが判明した。

また、カイコ脂肪体に複数の酵素を発現させるために、バキュロウイルス共感染による多重発現を試みた。この際難点となる各酵素の発現量のバランスは、プロモーター配列などの工夫により実現した。

この結果、CMP-シアル酸と $\beta$ 1,4-ガラクトース転移酵素、 $\alpha$ 2,6-シアル酸転移酵素を導入することによって糖鎖にシアル酸を付加させることに成功した。その構造は、糖鎖一つに対し、シアル酸が一つのみ付加されたモノシアル化複合型糖鎖であった。

筆者らはさらに、ヒト血清タンパク質において主要な糖鎖である、シアル酸が二つ付加されたジシアル化複合型糖鎖の実現を検討した。

第一に、導入する転移酵素として $\alpha$ 2,3-シアル酸転移酵素と $\alpha$ 2,6-シアル酸転移酵素を使い分けることで、カイコにおいてシアル酸結合様式を選択できることを示した。

第二に、N-アセチルグルコサミン転移酵素II(GnTII)をカイコに追加で発現させることにより、ジシアル化複合型糖鎖の付加にも成功した。LC-MSによる分析では、ジシアル糖鎖の付加率は20%以上であり、モノシアル糖鎖も含めると40%以上という高いシアル酸付加率を達成していることが確認できた。

本論文以降の研究により、ガラクトースおよびシアル酸付加率のさらなる向上も達成しており、今後も本手法により生産されたシアル糖鎖付加タンパク質の産業応用を進めていきたい。

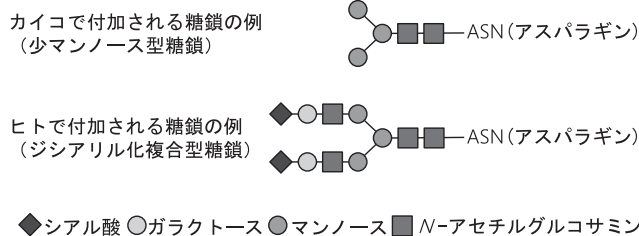


図1. カイコとヒトのN結合型糖鎖構造

著者紹介 <sup>1</sup>シスメックス株式会社 E-mail: suganuma.masatoshi@sysmex.co.jp  
<sup>2</sup>大阪大学, <sup>3</sup>農業・食品産業技術総合研究機構, <sup>4</sup>大日本蚕糸会