【公報種別】特許法第１７条の２の規定による補正の掲載
【部門区分】第６部門第１区分
【発行日】令和6年9月26日(2024.9.26)

【公開番号】特開2023-89511(P2023-89511A)
【公開日】令和5年6月28日(2023.6.28)
【年通号数】公開公報(特許)2023-120
【出願番号】特願2021-204044(P2021-204044)
【国際特許分類】
Ｇ０１Ｎ 27/62(2021.01)
Ｇ０１Ｎ 33/50(2006.01)
Ｈ０１Ｊ 49/00(2006.01)
【ＦＩ】
Ｇ０１Ｎ 27/62 V
Ｇ０１Ｎ 27/62 D
Ｇ０１Ｎ 33/50 U
Ｈ０１Ｊ 49/00 ３１０
Ｈ０１Ｊ 49/00 ３６０

【手続補正書】
【提出日】令和6年9月17日(2024.9.17)
【手続補正１】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００３１
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００３１】
また、異性体ピーククラスター検出部３３は、検出された異なる複数の同一種シアル酸結合異性体ピーククラスターに含まれるイオンピークについて、糖鎖探索条件として指定された異なる種類のシアル酸同士の糖残基質量差に相当するm/z値間隔で並んでいるか否か、を判定する。そのm/z値間隔に該当するイオンピークがそれぞれ含まれる複数の異性体ピーククラスターを、含まれるシアル酸の個数とシアル酸以外の糖鎖組成が同一であって、シアル酸の種類のみが相違する、異種シアル酸結合異性体ピーククラスターであると認定する。そして、シアル酸の個数とシアル酸以外の糖鎖組成が同一である全ての異種シアル酸結合異性体ピーククラスターに含まれるイオンピークを、異性体ピーククラスターとして認定する。
【手続補正２】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００３２
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００３２】
ここで、実験による具体例を示す。本発明者が行った実験例では、ウシ胎児の血中糖タンパク質であるフェチュイン（fetuin）を修飾するＮ型糖鎖を、糖鎖脱離酵素の一つであるPNGaseを用いて切断した上で濃縮した糖鎖混合物を試料とした。この試料に含まれるシアル酸をＳＡＬＳＡ法によりシアル酸結合様式特異的に修飾し、さらに、糖鎖の還元末端をアントラニル酸（Anthranilic acid）でラベル修飾（ＡＡラベル化）することにより、分析対象のサンプルを調製した。なお、ラベル修飾は負イオンモードでのイオン化を促進するための前処理である。こうして得られたサンプルを、マトリックス支援レーザー脱離イオン化イオントラップ飛行時間型質量分析装置（ＭＡＬＤＩ－ＩＴ－ＴＯＦＭＳ

）を用い負イオンモードにより質量分析し、マススペクトルデータを取得した。
【手続補正３】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００３４
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００３４】
上記実験例により取得されたマススペクトルの一部を図３に示す。図３に示すm/z範囲では、マススペクトルに対するステップＳ２の処理により、m/z 3038.1、m/z 3066.2、m/z 3082.2、m/z 3094.2、m/z 3110.2、及びm/z 3122.2がモノアイソトピックイオンピークとして検出された。また、それらピークが含まれるピークリストに基いて、ステップＳ４の処理、即ち、α２，６－シアル酸とα２，３－シアル酸とのm/z差28Da間隔で並ぶピーク群を検出することにより、m/z 3038.1、m/z 3066.2、m/z 3094.2、及びm/z 3122.2の４本の１価のイオンピークと、m/z 3082.2及びm/z 3110.2の２本の１価のイオンピークとをそれぞれ含む、２組の同一種シアル酸結合異性体ピーククラスターが検出された。
【手続補正４】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００３５
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００３５】
上記２組の同一種シアル酸結合異性体ピーククラスターに各々含まれる一部のピークは、糖鎖探索条件として指定された二種類のシアル酸であるＮ－アセチルノイラミン酸（Neu5Ac）とＮ－グリコリルノイラミン酸（Neu5Gc）との糖残基質量差に相当するm/z16間隔で並ぶことが確認された。そのため、上記２組の同一種シアル酸結合異性体ピーククラスターは、異種シアル酸結合異性体ピーククラスターとして検出され、これら異種シアル酸結合異性体ピーククラスターに含まれる全てのピークは、シアル酸の個数とシアル酸以外の糖鎖組成が同一である異性体ピーククラスターとして検出された。
【手続補正５】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００４０
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００４０】
糖鎖組成フィルタリング部３５による選別によって、通常、糖鎖組成候補の数はかなり減少する。糖鎖組成候補一覧表作成部３６は、ステップＳ４において検出された異性体ピーククラスターに含まれる各ピークに対応してステップＳ３において推定された糖鎖組成候補を収集し、異性体ピーククラスター中の各ピークに対応付けた糖鎖組成候補一覧表を作成する。また、糖鎖組成候補一覧表作成部３６はその糖鎖組成候補一覧表において、ステップＳ５で選別された（フィルタリングに残った）糖鎖組成候補と選別されなかった糖鎖組成候補とを視覚的に識別可能な態様で示す（ステップＳ６）。
そして、表示処理部３７は、その作成された糖鎖組成候補一覧表を、表示部５の画面上に表示する（ステップＳ７）。
【手続補正６】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００５４
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００５４】

第１項に記載のシアル酸含有糖鎖解析方法において、各工程は上記記載の順序で実施されるとは限らず、適宜にその実行順序を入れ替えることができる。例えば、異性体ピーククラスター検出工程は組成推定工程よりも先に実施することができる。その場合には、ピーク検出工程で検出されたピークのうち、ピーククラスターに含まれるピークについてのみ組成を推定すればよく、それ以降の処理には何ら支障をきたさない。