

## 新型コロナウイルス mRNA ワクチン BNT162b2 により誘導される IgG のレクチンマイクロアレイ解析

## Lectin Microarray Analysis of Antibodies to SARS-CoV-2 Elicited by COVID-19 mRNA Vaccine BNT162b2

Ozan Fidan<sup>1\*</sup>, Burcak Bilginer<sup>2</sup>, Gökhan Metan<sup>3</sup> and Meliha Cagla Sonmezer<sup>3</sup><sup>1</sup>Ideogen AG<sup>2</sup>Hacettepe University School of Medicine, Department of Neurosurgery<sup>3</sup>Hacettepe University School of Medicine, Department of Infectious Diseases and Clinical Microbiology

\*Corresponding Author

Ozan Fidan, Ideogen AG.

Submitted: 2024, Jan 02; Accepted: 2024, Jan 23; Published: 2024, Feb 01

**Citation:** Fidan, O., Bilginer, B., Metan, G., Sonmezer, M. G. (2024). Lectin Microarray Analysis of Antibodies to SARS-CoV-2 Elicited by COVID-19 mRNA Vaccine BNT162b2. *Japan J Med Sci*, 2(1), 01-11.

## 要旨

重症急性呼吸器症候群コロナウイルス-2 (SARS-CoV-2) の mRNA ワクチンが示した臨床効果は、ワクチン設計開発において新たな方向性を示したと言える。mRNA ワクチン接種により誘導される中和抗体の知見は、新型コロナウイルス感染症に限らず、より安全で効果的なワクチンおよび組換え抗体を利用した抗体医薬品の開発に不可欠である。著者らは、mRNA ワクチンにより誘導される免疫グロブリン (Ig) G の糖鎖修飾に関する理解を深めるために、BNT162b2 (Pfizer/BioNTech) ワクチンを接種したボランティアから、total IgG とともに、2 種の異なる抗原に対するワクチン誘導型 IgG を単離・精製し、レクチンマイクロアレイにて解析した。total IgG を加えた 3 種 IgG 間の比較解析では、30 ng という微量試料からでも個体間の違いを超える明瞭な糖鎖プロファイルの違いが見出された。特に IgG 群として均一なプロファイルを示した anti-RBD IgG は、total IgG に比べてフコースが増加し、シアル酸が減少するなど、既報と同様の糖鎖変化が観察された。微量成分の糖鎖構造の変化や特徴を鋭敏に検出するレクチンマイクロアレイは、今後ワクチン副作用との関連やエフェクター活性との関連を大規模に解析する際にも有用な方法になると期待される。

## Abstract

The outstanding clinical efficacy of mRNA vaccines to the Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS-CoV-2) has shown a new direction in vaccine design and development. Accumulation of knowledge on neutralizing antibodies induced by the mRNA vaccines is necessary to ensure the future development of effective and safe mRNA vaccines, not limited to Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). Here we performed lectin microarray analysis of vaccine-induced immunoglobulin (Ig) G along with total IgG derived from volunteers who were vaccinated with BNT162b2 (Pfizer/BioNTech) mRNA COVID-19 vaccine. Two types of vaccine-induced IgG to the spike and the receptor binding region (RBD) protein of the SARS-CoV-2 were isolated for comparative analysis with total IgG, revealing that distinct differences in glycan profiles that exceeded the differences among individuals, even from an extremely low amount of Ig such as 30 ng of Ig. In particular, the anti-RBD IgG, which demonstrated a uniform glycosylation pattern as the IgG group, showed an increase in fucose and a decrease in sialic acid compared to the total IgG, indicating similar glycan changes as previously reported. The lectin microarray, which can sensitively detect alternations and characteristics in glycan structures, might be used for large-scale analysis to assess the relationship between vaccine side effects and effector activity in the future.

**Keywords:** SARS-CoV-2; mRNA Vaccine; Immunoglobulin; Fc Glycan; Lectin Microarray

## 背景

新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) に対する mRNA ワクチンは、COVID-19 の感染抑制および重症化抑制に大きく貢献するとともに、今後のワクチン開発に大きな可能性を示した。ワクチンにより産生される免疫グロブリン (Ig) G は、その中和抗体活性が常に議論の中心になるが、同時にその抗体が有するエフェクター活性も、臨床的に極めて大切であることは言うまでもない (1)。IgG の crystallizable fragment (Fc) 領域には、良く保存された N 結合型糖鎖 (N 型糖鎖) 修飾部位があり、その糖鎖構造は IgG の安定性やエフェクター活性に影響することが知られており、抗体医薬品においても糖鎖構造の確認は必須項目となっている (2)。一方、体内で作られる IgG についても、糖鎖修飾の変化は自己免疫性疾患や感染、各種がん等において重要であると報告されており (3-5)、COVID-19 においても、病気の進行に伴い IgG 糖鎖がダイナミックに変動することが報告されている (6)。ワクチンで誘導される抗体の糖鎖を網羅的に調べることは、より効果的で安全なワクチン開発に大きく貢献するだけでなく、抗体医薬品開発の分野にも有益な情報となるだろう。

IgG をはじめ糖タンパク質の糖鎖構造解析は、一般的に糖鎖の切り出しを必要とする液体クロマトグラフィーや質量分析、それらの組み合わせといった確立した技術で行われるケースが多い (1-6)。一方、レクチンの糖鎖認識特異性を利用し糖鎖を切り出すことなく解析するレクチンマイクロアレイ (LMA) も、糖鎖構造の特徴を高次構造も含め簡便に抽出する技術として広く利用されており、SARS-CoV-2 のスパイクタンパク質糖鎖の解析においても複数のグループにより報告されている (7, 8)。そこで我々は、LMA を利用したワクチン誘導型抗体の大規模解析を見据え、まずは Pfizer/BioNTech 社の BNT162b2 ワクチンを 2 回ないし 3 回接種した同一施設のボランティアを対象とした小規模試験により、手法が妥当であるか、また既報と同等の糖鎖の特徴が LMA で捉えられるか予備的な試験を行ったので報告する。

## 材料と方法

### COVID-19 ワクチン接種者の血液試料の準備

SARS-CoV-2 に対する mRNA ワクチン (Pfizer/BioNTech,

BNT162b2) 接種者からの採血は、本人同意の元、トルコ Hacettepe 大学病院の倫理的規制に則り実施した (プロジェクト番号: GO 21/1428、承認番号: 16969557-2266)。本ワクチンを 2 回もしくは 3 回接種したボランティアから、18 条件の全血試料を準備した (表 1)。試料は、解析の準備が整うまで抗凝固剤 (EDTA) を含む採血チューブ内にて冷凍保管した。

### 血液試料の前処理

血液試料は溶解後、遠心分離用チューブにて 2,000×g, 15 分間遠心した。上清を回収し、PBS にて 10 倍量に希釈した後、さらに 15,000×g, 15 分間遠心した。回収した上清を 10 倍希釈試料として、以降の実験に使用した。

### ワクチン誘導型 IgG 存在量の確認 (ELISA 法)

血液試料中のワクチンに対する IgG の存在量は、既報論文に従い SARS-CoV-2 の spike S1 (Acro Biosystems, S1N-C52H3) または RBD (Acro Biosystems, SPD-C52H3) リコンビナントタンパク質をキャプチャリング抗原とした酵素結合免疫吸着測定 (Enzyme-linked Immunosorbent Assay: ELISA 法) 法にて確認した (9)。ネガティブコントロール (NC) として SARS-CoV-2 のヌクレオカプシドリコンビナントタンパク質 (Acro Biosystems, NUN-C5227) をキャプチャリング抗原とした系でも測定を行った。検体試料は、10 倍希釈試料を PBS で 5 倍量に希釈して使用し、それぞれ市販の抗 SARS-CoV-2 S1 抗体 (The Native Antigen Company, MAB12422-100)、抗 RBD 抗体 (eEnzyme, SCV2-RBD-100m) または抗 SARS-CoV-2 ヌクレオカプシド抗体 (Biosystems, NUN-S41-100 ug) をスタンダードに試料中の IgG 濃度を求めた。

### Total IgG および COVID-19 ワクチン誘導型 IgG の精製

Total IgG およびワクチン誘導型 IgG は、図 1 に示す通り二段階で精製した。初めに Protein G セファロースにより total IgG を回収し、次にビオチン化 SARS-CoV-2 抗原 (S1 または RBD リコンビナントタンパク質) を結合させたストレプトアビジン結合ビーズを用いて、total IgG から目的抗体を精製した。目的抗体のタンパク濃度および純度を確認し、Cy3 標識後に一定量を LMA に供した。





を加え、遮光下で室温 30 分以上反応させた (余剰な Cy3-SE の不活性化)。LecChip (株式会社グライコテクニカ) は Probing solution で 3 回洗浄後、Cy3 標識した精製 IgG 30 ng 相当を Probing Solution で 100  $\mu$ L に調整し、アプライした。銀染色による見積が 30 ng 以下の検体は 100  $\mu$ L 全量をアプライした。20°C、一晩反応後、GlycoStation Reader (株式会社グライコテクニカ) にて蛍光スキャンした。

#### データ解析

得られた蛍光輝度を専用の解析ソフト (GlycoStation ToolsPro) にて数値化し、バックグラウンドを差し引いた Net Intensity を解析に使用した。またダイナミックレンジを上げるため、既報 (10) に従い露光条件の異なるデータ (998 msec, 6,988 msec) を統合し、Net Intensity 1,000 以上をシグナル有効範囲として扱った。また糖鎖修飾のバランスを比較する際は、レクチンシグナル平均値で規格化した Average normalized intensity を使用した。その際のレクチンシグナル平均値は、シグナル飽和が予想された 3 レクチン (LEL, STL, UDA) を除いた 42 レクチンの値を用いた。なお Average normalized intensity は、シグナルが著しく低かった 2 検体 (陰性試料および精製 IgG 量の少なかった検体) を除く 17 検体を対象とした。次の主成分解析において

は、シグナルが低く、有効範囲以下となる検体が多数を占めるレクチンは対象から除外した。具体的には、3 種 IgG のうち 2 種以上で、17 検体平均値が 1,500 未満となる 13 レクチン (LTL, UEA\_I, MAL\_I, GSL-II, EEL, PWM, PNA, MPA, VVA, DBA, PTL\_I, GSL\_I\_A4, GSL\_I\_B4) を除外した。主成分解析は、統計解析ソフト JMP (SAS Institute Japan 株式会社) を用いて行った。

#### 結果

本研究で解析した COVID-19 ワクチン接種後の 18 検体および COVID-19 陰性市販血漿 1 検体の検体情報、ELISA 法にて測定した血液試料中の anti-S1、anti-RBD、および anti-Nucleocapsid IgG 濃度、およびアフィニティー精製により回収された anti-S1 および anti-RBD IgG 量を表 1 に示した。ELISA にて推定された血液試料中の anti-S1、anti-RBD IgG 濃度は互いに近い値が得られた。またアフィニティー精製後、銀染色により見積もられた anti-S1、anti-RBD IgG 量は、ELISA 測定による血液試料中の IgG 濃度と強く相関しており、精製法として概ね良好であることが推測された。anti-RBD IgG の回収量は anti-S1 IgG よりも全体的に少ない結果であった。ELISA 測定にて検出限界以下となった 1 検体 (#3) については、精製 IgG の銀染色においても検出限界以下であった。

サンプル番号	接種回数	年齢	性別	感染履歴	血中IgG濃度 ( $\mu$ g/mL)			精製IgG量 (ng)	
					anti-S1	anti-RBD	anti-N	anti-S1	anti-RBD
#1	2 doses	40-50	Male	No	3.45	4.22	4.01	110	88
#2	3 doses	40-50	Male	No	32.16	43.73	0.02	1,980	440
#3*	3 doses	70	Male	No	0.25	0.29	0.11	22	11
#4*	2 doses	70	Male	No	2.49	2.38	0.12	110	110
#5	3 doses	40-50	Female	Yes	10.75	11.68	2.33	660	330
#6	3 doses	40-50	Male	No	15.60	23.76	13.24	1,100	440
#7	3 doses	40-50	Male	No	5.01	5.78	0.03	220	198
#8	3 doses	40-50	Male	No	5.10	6.69	0.01	396	165
#9	3 doses	40-50	Male	Yes	12.66	14.53	0.20	440	88
#10	3 doses	40-50	Female	No	16.55	14.49	0.04	660	220
#11	3 doses	40-50	Male	No	6.33	7.91	0.29	330	88
#12	3 doses	40-50	Male	No	13.76	15.78	2.88	440	165
#13	3 doses	40-50	Male	No	6.26	6.35	3.41	176	22
#14	3 doses	40-50	Female	No	6.05	6.91	0.06	330	55
#15	3 doses	40-50	Male	No	6.47	6.30	0.31	220	55
#16	3 doses	40-50	Male	No	6.32	6.34	0.14	220	88
#17	3 doses	40-50	Female	No	15.43	12.58	0.37	396	110
#18	3 doses	40-50	Male	No	10.97	9.48	0.15	396	110
#19-NC	No	-	-	No	1.72	4.61	1.76	0	11

\*は、ワクチン接種回数が異なる同一検体であることを示す。

表 1: 検体情報および血中 IgG 濃度 (ELISA 測定値)、精製 IgG 量

精製したワクチン誘導型 IgG について LMA を行った。図 S1 に 19 検体の total, anti-S1 および anti-RBD IgG の Net Intensity (バックグラウンドを差し引いた後の蛍光輝度値) を示した。また、本研究で使用した LMA に搭載されている 45 レクチンが認識する糖鎖構造の代表例を表 S1 に示した。19 検体由来の IgG について、total, anti-S1 および anti-RBD IgG を並べると、検体間でも IgG 種間でも糖鎖プロファイルに違いが認められたが、概観としては検体および IgG 種を通じて一定の傾向があり、O-結合型糖鎖 (O 型糖鎖) 認識レクチン群のシグナルは総じて低目で N 型糖鎖

がメジャーであること、N 型糖鎖に関しては、コアフコース、シアル酸、ラクトサミン、マンノースを認識するレクチンシグナルが検出されるなど、IgG の糖鎖修飾に関する既報(11,12)と一致する傾向が認められた。また anti-S1 IgG はシグナル強度が全体的に低く、total IgG や anti-RBD IgG と比べて糖鎖修飾量が少ないことが予想された。陰性試料である#19 と、ワクチン誘導型 IgG 回収量の少なかった#3 については、anti-S1 と anti-RBD IgG のシグナルが得られない、もしくは著しく低かった。

図 2-1

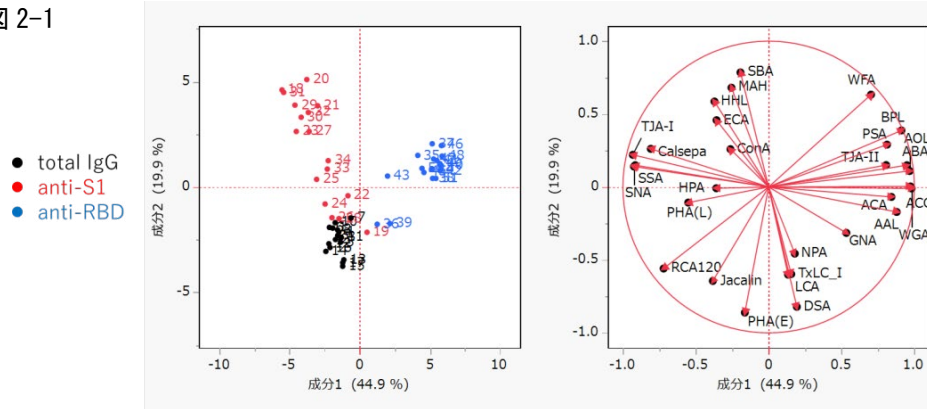


図 2-2

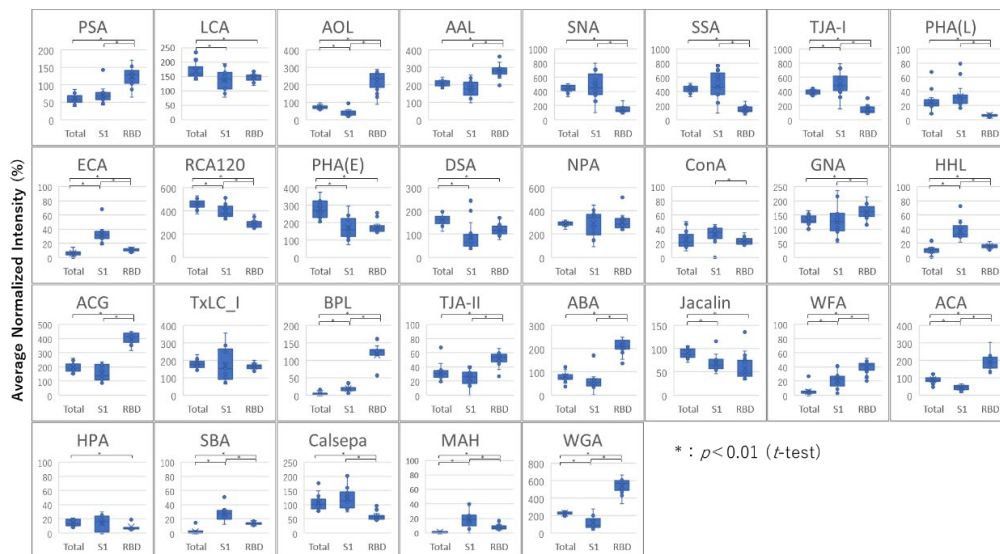


図 2: 主成分解析および 3 群 IgG の Average normalized intensity

糖鎖修飾のバランスを比較するために Average normalized intensity (42 レクチン平均値で規格化した値) で、検体間、IgG 種間の糖鎖プロファイルに何らかの傾向が捉えられるか、主成分解析を行った (図 2-1)。その結果、total IgG と anti-S1、anti-RBD IgG はそれぞれ独立したグループに分類された。これらの IgG を特徴づけている糖鎖構造としては、anti-RBD IgG のフコース修飾

(AOL、AAL、PSA)、末端 GlcNAc 構造 (WGA、ABA)、anti-S1 IgG のシアル酸 (SNA、SSA、TJA-I)、total IgG の末端ガラクトース (PHA(E)、DSA、RCA120) 等が示唆された。レクチン別に 3 種 IgG の平均値を比較すると、これらのレクチンでは IgG 群間で有意な差が認められることが確認された (図 2-2)。

次に、検体間で量的に差が見られる構造や、安定的に見られる構造に特徴がないか、規格化後のレクチンシグナルを、主に認識する糖鎖構造別に合算し色分けしたものを図3に示した。これを見ると、total IgG と anti-RBD IgG は主成分解析で示された通り 17 検体の糖鎖組成が比較的揃っ

ているが、anti-S1 IgG は検体間の変動が大きく、中でもシアル酸シグナルの割合が 10~50%程度と大きく変動していることが推測された。一方でシアル酸に比べると、フコースやラクトサミンの割合は比較的安定していることも推測された。

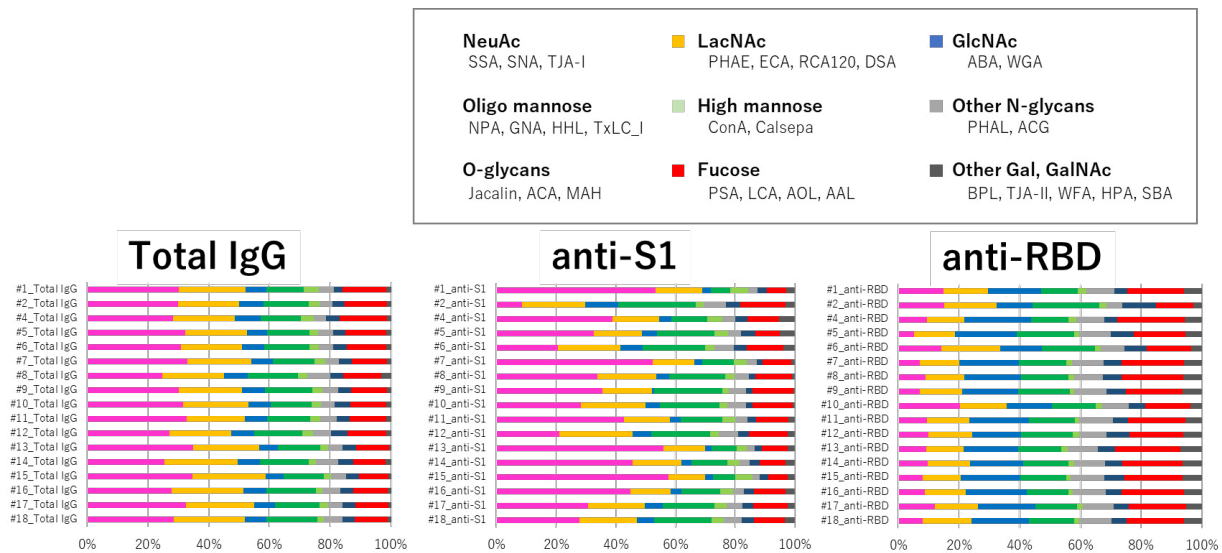


図 3: 検体別の糖鎖組成概要図

### 考察

COVID-19 ワクチンに対する IgG の糖鎖解析は、mRNA ワクチンのデザイン設計において有用な情報を与えてくれる。我々は、多検体を対象にした糖鎖解析を簡便かつ高感度に実施する方法を確立するために、微量成分の検出を得意とする LMA を利用した実験モデルをデザインした。精製されたワクチン誘導型 IgG は、期待通り 30 ng という微量試料でも、末端シアル酸修飾やコアフコース修飾をはじめとする様々な糖鎖修飾が見出された。

本研究では、2 種の抗原を用いた二通りの手法でワクチン誘導型 IgG を精製し、total IgG と合わせて糖鎖解析を行ったが、3 種 IgG 間で特徴的な違いが確認された。特に主成分解析の結果は、total IgG と anti-RBD IgG は 17 検体の特徴が極めて近いことを示している。加えて、anti-RBD IgG の糖鎖は、total IgG に比べフコース修飾が増加し、かつ N 型糖鎖の末端構造がシアル酸もしくはガラクトースから GlcNAc 構造に変化していることが示唆された。COVID-19 ワクチン誘導型 IgG の糖鎖構造については、質量分析による解析においても、total IgG に比べ anti-RBD IgG のフコースが増加することや、mRNA ワクチン接種後の spike-specific IgG でフコースが増加しシアル酸が減少すること等が報告されており、今回の LMA 解析では同様の変化が捉えられたと考えられる (13, 14)。フコースやシアル酸とともに報告の多いバイセクト糖鎖に関しては、本構造を認識するレクチン ( PHAE, Calsepa ) に同調した動きが確認されなかった。レクチンの糖鎖認識は抗体の抗原認識に比べて広く緩いという特徴を考慮すると、他の構造を合わせて見ている可能性も考えられるため、バイセクト構造の変動に

ついては慎重な解釈が必要である。

anti-S1 IgG と anti-RBD IgG は、捕捉抗原が異なるだけでどちらもワクチン誘導型 IgG と考えられるが、anti-S1 IgG は、検体を通じて糖鎖修飾量が少なく、またそのプロファイルも antiRBD IgG と異なっていた点は大変興味深い。RBD は S タンパク質の一部のため、2 種の精製 IgG は近い IgG 群が得られると予想されたが、COVID-19 anti-S と anti-RBD 中和抗体は完全にエピトープが異なるという報告もあり、今回も少し異なる IgG 群が回収された可能性は否定できない。またサブタイプとして異なる IgG が得られた可能性も考えられる (15)。

糖鎖プロファイル全体の中ではメジャーではないが、O 型糖鎖の存在も示唆された。IgG Fc 領域における糖鎖修飾は N 型であることが知られているが、F a b 領域については配列により O 型糖鎖も付加されることが知られており、これらの O 型糖鎖シグナルは、Fab 領域の糖鎖を検出したと考えられた。LMA 上のレクチンは、生体内での糖鎖認識同様、分析対象分子上のアクセスできる糖鎖を検出するため、Fc、Fab のどちらも、そして N 型糖鎖も O 型糖鎖も同時に検出できることがメリットでもあるが、両者を分けて分析したい場合は、プロテアーゼ等により抗体を断片化して解析することも有効と考えられる。

45 種のレクチンに対する結合性の違いから、抗体の種類により糖鎖構造に一定の傾向があること、また同じ種類の中でも個体間で量的な差が見られる構造と比較的安定的に見られる構造があることなどが推測された。感染またはワ



クチン接種により誘導される IgG 糖鎖はダイナミックに変化することが報告されており ( 6, 16 )、また生体内の IgG 糖鎖は疾患もしくは生理的变化に連動して変化することも報告されている ( 3-5 )。COVID-19 においてはワクチン接種により心筋炎の頻度が高まるとの報告もあるが、その関連性や機序はいまだ十分に明らかにされていない。本研究は、手法確認を目的とした予備的検証のため、精製した IgG の中和活性やエフェクター活性については調べておらず、また検体数も限られているが、今後精製抗体の中和活性試験を含めて、年齢、性別、ワクチン接種回数などを考慮した多検体を対象とした実験 デザインを組むことで、より効果的で安全なワクチン開発につながる新たな知見が得られると期待される。

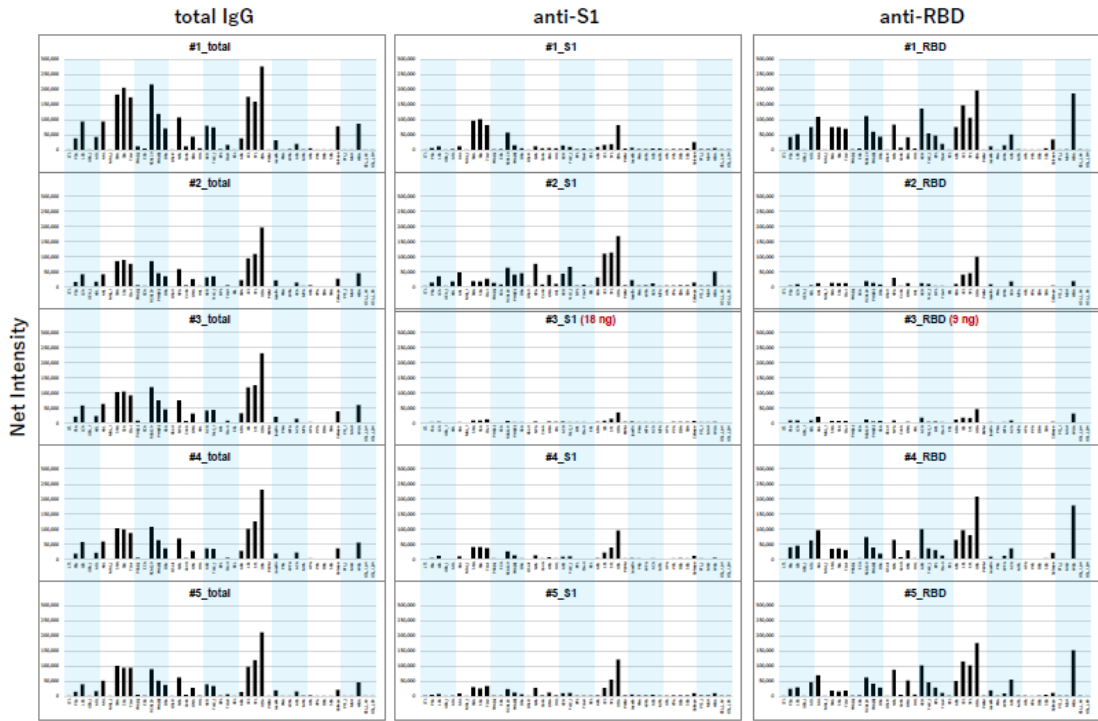
### 謝辞

本研究を行うにあたり臨床検体の提供にご協力いただいたトルコ Hacettepe 大学病院のボランティアの皆様、および研究資金の援助をいただいたトルコトラブゾン商工会議所 ( Trabzon Chamber of Commerce and Industry ) に感謝申し上げます。

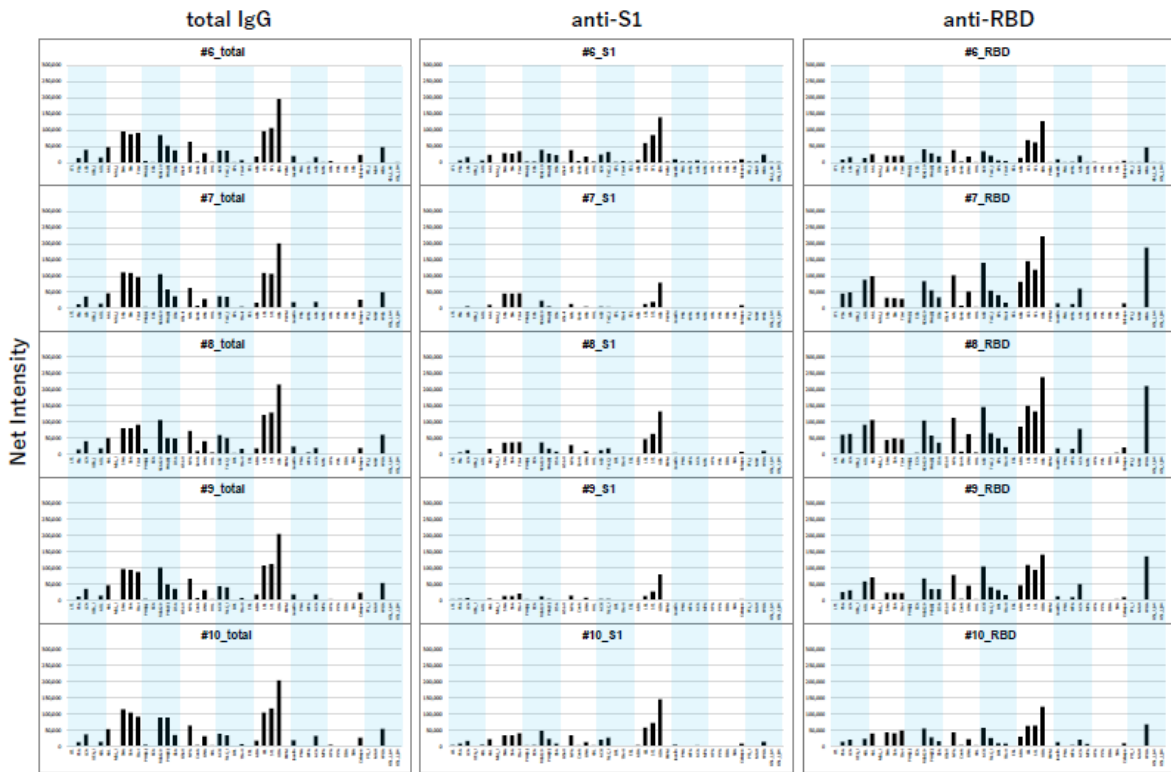
### 引用文献

1. Zhang, A., Stacey, H. D., D'Agostino, M. R., Tugg, Y., Marzok, A., & Miller, M. S. (2023). Beyond neutralization: Fc-dependent antibody effector functions in SARS-CoV-2 infection. *Nature Reviews Immunology*, 23(6), 381-396.
2. Zhang, L., Luo, S., & Zhang, B. (2016, February). Glycan analysis of therapeutic glycoproteins. In *MAbs* (Vol. 8, No. 2, pp. 205-215). Taylor & Francis.
3. Šimurina, M., de Haan, N., Vučković, F., Kennedy, N. A., Štambuk, J., Falck, D., ... & Lauc, G. (2018). Glycosylation of immunoglobulin G associates with clinical features of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology*, 154(5), 1320-1333.
4. Wang, T. T., Sewatanon, J., Memoli, M. J., Wrammert, J., Bournazos, S., Bhaumik, S. K., ... & Ravetch, J. V. (2017). IgG antibodies to dengue enhanced for FcγRIIIA binding determine disease severity. *Science*, 355(6323), 395-398.
5. Ren, S., Zhang, Z., Xu, C., Guo, L., Lu, R., Sun, Y., ... & Gu, J. (2016). Distribution of IgG galactosylation as a promising biomarker for cancer screening in multiple cancer types. *Cell research*, 26(8), 963-966.
6. Siekman, S. L., Pongracz, T., Wang, W., Nouta, J., Kremsner, P. G., da Silva-Neto, P. V., ... & ImmunoCovid Consortium. (2022). The IgG glycome of SARS-CoV-2 infected individuals reflects disease course and severity. *Frontiers in Immunology*, 13, 993354.
7. Wuo, M. G., Dugan, A. E., Halim, M., Hauser, B. M., Feldman, J., Caradonna, T. M., ... & Kiessling, L. L. (2023). Lectin Fingerprinting Distinguishes Antibody Neutralization in SARS-CoV-2. *ACS Central Science*.
8. Hiono, T., Tomioka, A., Kaji, H., Sasaki, M., Orba, Y., Sawa, H., & Kuno, A. (2021). Combinatorial approach with mass spectrometry and lectin microarray dissected glycoproteomic features of virion-derived spike protein of SARS-CoV-2. *bioRxiv*, 2021-04.
9. Wang, Z., Schmidt, F., Weisblum, Y., Muecksch, F., Barnes, C. O., Finkin, S., ... & Nussenzweig, M. C. (2021). mRNA vaccine-elicited antibodies to SARS-CoV-2 and circulating variants. *Nature*, 592(7855), 616-622.
10. Kuno, A., Itakura, Y., Toyoda, M., Takahashi, Y., Yamada, M., Umezawa, A., & Hirabayashi, J. (2008). Development of a data-mining system for differential profiling of cell glycoproteins based on lectin microarray. *J Proteomics Bioinform*, 1(2), 68-72.
11. Parekh, R. B., Dwek, R. A., Sutton, B. J., Fernandes, D. L., Leung, A., Stanworth, D., ... & Kobata, A. (1985). Association of rheumatoid arthritis and primary osteoarthritis with changes in the glycosylation pattern of total serum IgG. *Nature*, 316(6027), 452-457.
12. Zhang, L., Luo, S., & Zhang, B. (2016, April). The use of lectin microarray for assessing glycosylation of therapeutic proteins. In *MAbs* (Vol. 8, No. 3, pp. 524-535). Taylor & Francis.
13. Farkash, I., Feferman, T., Cohen-Saban, N., Avraham, Y., Morgenstern, D., Mayuni, G., ... & Dahan, R. (2021). Anti-SARS-CoV-2 antibodies elicited by COVID-19 mRNA vaccine exhibit a unique glycosylation pattern. *Cell Reports*, 37(11).
14. Van Coillie, J., Pongracz, T., Šuštić, T., Wang, W., Nouta, J., Le Gars, M., ... & Esen, M. (2023). Comparative analysis of spike-specific IgG Fc glycoprofiles elicited by adenoviral, mRNA, and protein-based SARS-CoV-2 vaccines. *Science*, 26(9).
15. Lucas, C., Klein, J., Sundaram, M. E., Liu, F., Wong, P., Silva, J., ... & Iwasaki, A. (2021). Delayed production of neutralizing antibodies correlates with fatal COVID-19. *Nature medicine*, 27(7), 1178-1186.
16. Van Coillie, J., Pongracz, T., Rahmöller, J., Chen, H. J., Geyer, C. E., van Vught, L. A., ... & Wiersinga, J. W. (2023). The BNT162b2 mRNA SARS-CoV-2 vaccine induces transient afucosylated IgG1 in naive but not in antigen-experienced vaccinees. *EBioMedicine*, 87.

☒S1

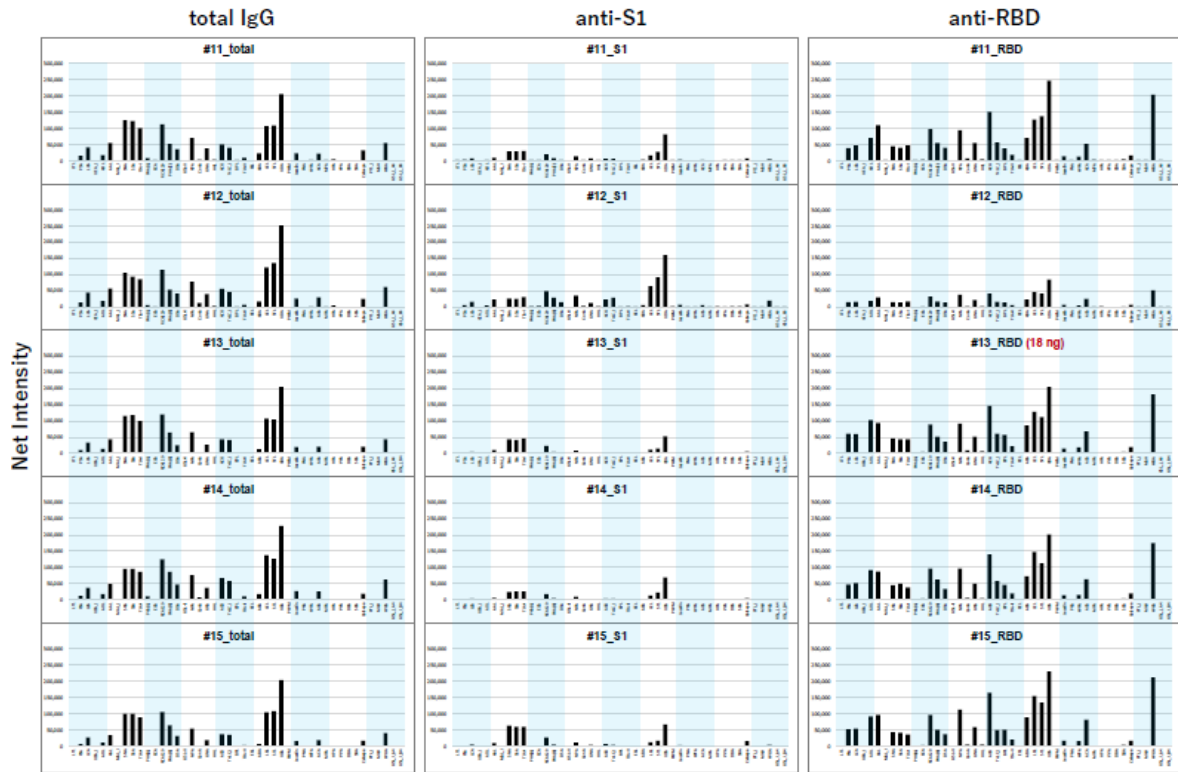


1



2





3

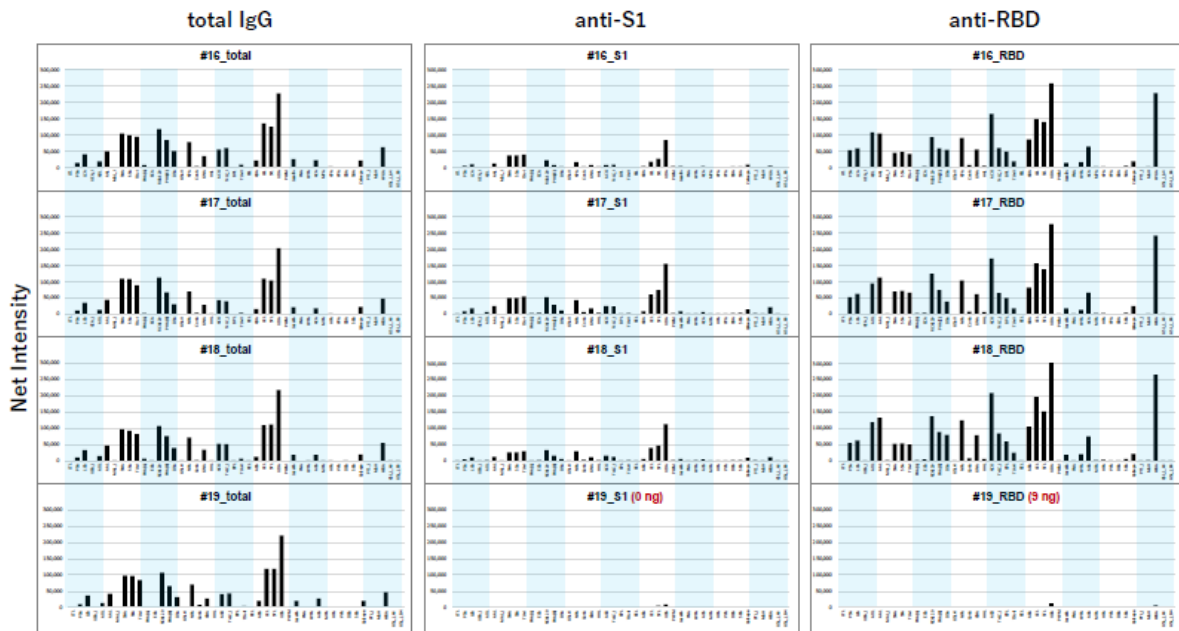


図 S1: 19 検体の total/anti-S1/anti-RBD IgG のレクチンシグナル

ワクチン接種後の 18 検体および市販血漿 1 検体由来の total IgG、anti-S1 IgG および antiRBD IgG の 45 レクチンシグナル。特別記載がないものは 30 ng/well で分析した。値はバックグラウンドを差し引いた Net Intensity、露光時間 998-6,988 msec の統合データとして示した。

No.	Lectin (origin)	Reported glycan selectivity
1	LTL (Lotus tetragonolobus)	Fuca1-3(Galβ1-4)GlcNAc (Lewis x), Fuca1-2Galβ1-4GlcNAc (H-type 2)
2	PSA (Pisum sativum)	Fuca1-6GlcNAc (Core Fuc), α-Man
3	LCA (Lens culinaris)	Fuca1-6GlcNAc (Core Fuc), α-Man
4	UEA-I (Ulex europaeus)	Fuca1-2Galβ1-4GlcNAc (H-type 2)
5	AOL (Aspergillus oryzae)	Fuca1-6GlcNAc (Core Fuc), Fuca1-2Galβ1-4GlcNAc (H-type 2)
6	AAL (Aleuria aurantia)	Fuca1-3(Galβ1-4) GlcNAc (Lewis x), Fuca1-6GlcNAc (Core Fuc)
7	MAL_I (Maackia amurensis)	Siaa2-3Galβ1-4GlcNAc
8	SNA (Sambucus nigra)	Siaa2-6Gal/GalNAc
9	SSA (Sambucus sieboldiana)	Siaa2-6Gal/GalNAc
10	TJA-I (Trichosanthes japonica)	Siaa2-6Gal/GalNAc, HSO3(-) -6Galβ1-4GlcNAc
11	PHAL (Phaseolus vulgaris)	tri/tetra-antennary complex-type N-glycan
12	ECA (Erythrina cristagalli)	Galβ1-4GlcNAc (up with increasing the number of terminal Gal), no affinity for fully sialylated N-type, fully agalactosylated N-type
13	RCA120 (Ricinus communis)	Galβ1-4GlcNAc (up with increasing the number of terminal Gal), Galβ1-3Gal (weak), no affinity for agalactosylated N-type
14	PHAE (Phaseolus vulgaris)	bi-antennary complex-type N-glycan with outer Gal and bisecting GlcNAc, no affinity for fully sialylated N-type
15	DSA (Datura stramonium)	(GlcNAcβ1-4) <sub>n</sub> (Chitin), tri/tetra-antennary N-glycan, Gal β1-4GlcNAc
16	GSL-II (Griffonia simplicifolia)	agalactosylated tri/tetra antennary glycans, GlcNAc, no affinity for fully galactosylated or sialylated N-type
17	NPA (Narcissus pseudonarcissus)	High-Mannose including Mana1-6Man
18	ConA (Canavalia ensiformis)	High-Mannose including Mana1-6(Mana1-3) Man
19	GNA (Galanthus nivalis)	High-Mannose including Mana1-3Man
20	HHL (Hippeastrum hybrid)	High-Mannose including Mana1-3Man or Mana1-6Man
21	ACG (mushroom, Agrocybe cylindracea)	Galβ1-3Gal, Siaa2-3Galβ1-4GlcNAc
22	TxLCI (Tulipa gesneriana)	Mana1-3(Mana1-6)Man, bi/tri-antennary complex-type N-glycan, GalNAc
23	BPL (Bauhinia purpurea)	Galβ1-3GalNAc (up with Lewis x, down with Core Fuc), GalNAc
24	TJA-II (Tanthes japonica)	Fuca1-2Galβ1-> or GalNAcβ1-> groups at their non-reducing terminals
25	EEL (Euonymus europaeus)	Gala1-3Galβ1-4GlcNAc, Fuca1-2Galβ1-3GlcNAc (H antigen)
26	ABA (fungus, Agaricus bisporus)	Galβ1-3GalNAc, GlcNAc
27	LEL (tomato, Lycopersicon esculentum)	(GlcNAcβ1-4) <sub>n</sub> (Chitin), (Galβ1-4GlcNAc) <sub>n</sub> (polylactosamine)
28	STL (potato, Solanum tuberosum)	(GlcNAcβ1-4) <sub>n</sub> (Chitin) oligosaccharide containing GlcNAc and MurNAc
29	UDA (Urtica dioica)	GlcNAcβ1-4GlcNAc (Chitin), High-Mannose (3 to High, up with increasing the number of Man)
30	PWM (pokeweed, Phytolacca Americana)	(GlcNAcβ1-4) <sub>n</sub> (Chitin)
31	Jacalin (Artocarpus integrifolia)	GlcNAcβ1-3GalNAc (Core3), Siaa2-3Galβ1-3GalNAc (sialyl T), Galβ1-3GalNAc (T-antigen), α-GalNAc (Tn-antigen)
32	PNA (peanut, Arachis hypogaea)	Galβ1-3GalNAc
33	WFA (Wisteria floribunda)	GalNAcβ1-4GlcNAc (LacdiNAc), Galβ1-3(-6)GalNAc

34	ACA ( <i>Amaranthus caudatus</i> )	Gal $\beta$ 1-3GalNAc (T antigen), Sia $\alpha$ 2-3Gal $\beta$ 3Gal $\beta$ 1-3GalNAc (sialyl T)
35	MPA ( <i>Maclura pomifera</i> )	$\alpha$ -GalNAc (Tn antigen), Gal-Gal $\beta$ 1-3GalNAc (T antigen)
36	HPA (snail, <i>Helix pomatia</i> )	$\alpha$ -GalNAc
37	VVA ( <i>Vicia villosa</i> )	GalNAc $\beta$ 1-4Gal, GalNAc $\beta$ 1-3Gal, $\alpha$ -GalNAc
38	DBA ( <i>Dolichos biflorus</i> )	Blood group A, GalNAc $\alpha$ 1-3GalNAc, GalNAc $\beta$ 1-4(Sia $\alpha$ 2-3)Gal $\beta$ 1-4Glc (GM2)
39	SBA (soybean, <i>Dolichos biflorus</i> )	$\alpha$ - or $\beta$ -linked GalNAc, Gal $\alpha$ 1-4Gal-Glc
40	Calsepa ( <i>Calystegia sepium</i> )	Galactosylated biantennary N-type with bisecting GlcNAc (galactose > agalactose, down with Core Fuc), High-Mannose (Man $_2$ -6)
41	PTL-I ( <i>Psophocarpus tetragonolobus</i> )	$\alpha$ -GalNAc, Gal $\alpha$ 1-3(Fuca $\alpha$ 1-2)Gal (B-antigen)
42	MAH ( <i>Maackia amurensis</i> )	Sia $\alpha$ 2-3Gal $\beta$ 1-3(Sia $\alpha$ 2-6)GalNAc (disialyl-T)
43	WGA (wheat germ, <i>Triticum aestivum</i> )	(GlcNAc $\beta$ 1-4) $_n$ (Chitin), Hybrid type N-glycan, Sia
44	GSL-I A4 ( <i>Griffonia simplicifolia</i> )	$\alpha$ -GalNAc
45	GSL-I B4 ( <i>Griffonia simplicifolia</i> )	$\alpha$ -Gal

**Table S1: Reported Glycan Selectivity of the 45 Lectins Used in This Study**

**Copyright:** ©2024 Ozan Fidan, et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.