

【緒言】我々はムチン型糖鎖の分析において律速段階であった糖鎖の遊離反応を高速化するため、インフロー方式によるムチン型糖鎖高速遊離法について検討し、糖鎖自動切断装置“Auto Glyco Cutter (AGC)”を開発中である。本研究ではAGCの基本性能の評価を行うとともに、AGCを用いて入手可能なムチン型糖タンパク質中の糖鎖分析を行った結果を報告する。

【方法】**ムチン型糖タンパク質** ウシ顎下線ムチン (BSM)、ウシフェツイン、ヒト赤血球グライコフォリン、κカゼイン糖ペプチド (CGMP) 及びブタ胃粘膜ムチン (PSM) 各 0.5~200 μg **ムチン型糖鎖の遊離 装置** Auto Glyco Cutter-1 (島津製作所); **フロー溶液** 0.5 M アルカリ溶液; **流速** 0.5 mL/分; **反応時間** 1分~5分 **糖鎖分析** AGCにより得られた糖鎖は Kakehi らの方法に従い 3 アミノ安息香酸 (3AA) により蛍光標識後、キャピラリー電気泳動、順相 HPLC 及び MALDI-TOF MS により分析した。

【結果・考察】AGCの基本性能についてBSMを用い評価を行ったところ、アルカリ溶液中、高温で短時間反応させることで効率よくムチン型糖鎖を遊離することに成功した。さらに反応後直ちに陽イオン交換カートリッジによるオンライン脱塩操作を行うことでピーリング反応による糖鎖の分解を最小限に抑えることができた。AGCは試料注入、糖鎖の遊離、脱塩ならびに回収に至る全工程を15分で完了する性能を示し、従来1日以上かかる工程を100倍以上短縮することができた。タンパク質としての適用下限はBSMとして0.5 μgであった。性能評価に基づき最適化した条件のもと、入手可能なムチン型糖タンパク質中の糖鎖構造解析を行ったところ、BSMではシアリル Tn、フェツインではシアリル T、グライコフォリン及びCGMPではジシアリル T の各糖タンパク質に特徴的な糖鎖構造を確認することができた。