

29-0314 W126-2

でんぷん誘導体を添加したマイクロチップ電気泳動法による生理活性物質の分離
行天 由香里¹, 加藤 (酒井) くみ子^{1,2}, ○加藤 大^{1,3}, 豊岡 利正¹ (1 静岡県大薬,²
武蔵野大薬,³PRESTO, 科学技術振興機構)

【目的】プラスチック製マイクロチップを用いて電気泳動を行う際に、チップ内壁への試料の吸着が問題となる。そこで我々は吸着を抑制する添加剤として、でんぷん誘導体に着目し、アミノ酸、ペプチド、タンパク質の分離検出に利用した。

【方法】マイクロチップにはポリメチルメタクリレート製マイクロチップ (*i*-chip 3DNA) を、電気泳動装置には HITACHI SV1100 形マイクロチップ電気泳動装置を用いた。試料には、NBD、FITC、BODIPY で標識化したアミノ酸、ペプチド、タンパク質を用い、泳動液はリン酸もしくはトリス緩衝液を用いた。でんぷん誘導体としてカチオン (19 種)、アニオン (4 種)、ノンイオン (3 種) を用いて検討した。始めに酸性アミノ酸 (Asp, Glu) の理論段数 (N)、分離度 (R_s) より泳動条件の最適化を行い、最適条件をペプチド、タンパク質の分析に応用した。

【結果および考察】最適な添加剤を探索した結果、2-hydroxy-3-(trimethyl ammoniopropyl ether) 誘導体化したカチオンでんぷんが最も良好な結果を示した。でんぷん誘導体を 3% 添加した 10mM リン酸緩衝液 (pH7.0) を用いた時の NBD-Asp 及び-Glu の N は 380000, 370000 (段/m)、 R_s は 1.36 であり、両者が 1 分以内に良好に分離した。同条件を応用することで酸性、中性及び塩基性アミノ酸、さらには bradykinin や trypsin inhibitor などのペプチド、タンパク質の分離検出に成功した。またタンパク質のトリプシン消化物の分離検出も可能であった。でんぷん誘導体溶液は、マイクロチップ電気泳動で汎用されているメチルセルロース溶液と比較して、アミノ酸を短時間で良好に分離し、さらに 260nm 以上の紫外吸収が少なく、水溶性に優れ、粘度も小さいことから優れた泳動液であると考えられる。

【参考文献】 Anal. Chem. 76, 6792-6796 (2004)