

27PE-am117

キャピラリー電気泳動法を利用する硫酸化多糖及びオリゴ糖の硫酸含量測定
○梶 直孝¹, 松野 裕樹¹, 木下 充弘¹, 掛樋 一見¹ (¹近畿大学薬学部)

【緒言】ヘパリンやコンドロイチン硫酸等の硫酸化糖の硫酸含量は、一般にロジゾン酸法による比色定量法やイオンクロマトグラフ法が利用されている。しかし、これらの方法は検出感度が低いため、天然由来の硫酸化糖など微量の試料の硫酸含量の測定には適していない。本研究では、キャピラリー電気泳動法 (CE) により、強い紫外部吸収を持つクロム酸を含む緩衝液を用いる間接検出法により硫酸イオンを検出する方法を検討し、種々のグリコサミノグリカン類 (GAGs) と硫酸化オリゴ糖の硫酸含量の測定へ応用した。

【方法】試料: Glucose-3-sulfate (G3S)、ヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸、ヘパリン、ヘパラン硫酸、多硫酸化オリゴ糖 加水分解: 硫酸化糖の水溶液 (1mg/100 μ L) に 1M 塩酸 100 μ L を加え、100 °C で 3 時間加水分解し、蒸留水で 100 倍希釈したものを分析試料とした。硫酸イオンの定量: 硫酸化糖の加水分解物を CE で測定し、Na₂SO₄ により求めた検量線 (31.5~500 μ g/mL) から糖鎖重量当りの硫酸イオン量を求め、各糖鎖の硫酸含量を算出した。

【結果・考察】G3S を用い、加水分解反応から CE 分析までの一連の操作における再現性を検討したところ、硝酸イオンを内部標準として用いることにより、相対標準偏差 (RSD) が 1.21% の精度で G3S の硫酸含量を定量することができた。また、本手法を各種の GAGs へ適用したところ、他の測定法による硫酸含量値に比べ 1~3% 低値を示したが、文献値と相関する結果が得られた。GAGs 由来オリゴ糖の化学的硫酸化反応の追跡と得られた多硫酸化オリゴ糖の評価に適用した結果についても報告する。