

## 28PE-am003

複合糖質中のシアル酸の簡便な蛍光定量分析法

松野 加奈絵<sup>1</sup>, ○鈴木 茂生<sup>1</sup>(<sup>1</sup>近畿大薬)

シアル酸は主に複合糖質の末端に存在し、様々な生理機能の発現や細胞間情報伝達に深く関与している。シアル酸の簡便な分析法として従来、チオバルビツール酸法などの比色分析が広く用いられてきたが、溶媒抽出などの煩雑な操作が必要な上、試料成分によっては妨害も知られている。ここでは、より簡便で特異的なシアル酸の分析法の開発を目的として、過ヨウ素酸酸化と Hantzsch 反応を用いたシアル酸の簡便で高感度な蛍光検出法を検討したので報告する。

【方法】糖タンパク質などのシアル酸含有試料(~200  $\mu\text{g}$ )に 10 mM 過ヨウ素酸ナトリウムを加え、0°C で 45 分間放置した後、50 mM チオ硫酸ナトリウム、さらに酢酸緩衝液および 100 mM acetoacetanilide<sup>1</sup> 溶液を加え、室温で 10 分放置した後の蛍光強度を測定した。

【結果・考察】過ヨウ素酸酸化後の過剰の試薬を還元するための条件を検討したところ、チオ硫酸塩が良好な結果を与えた。反応液の総量を 1 mL 程度で行ったところ、検量線はウシ血清フェツインとして少なくとも 2~180  $\mu\text{g}$  の範囲で、また、N-アセチルノイラミン酸は 0.3~27 nmol の範囲で良好な直線性を示した。また、シアル酸をもたないオバルブミンなどの糖タンパク質や中性糖は本反応に対して全く蛍光を示さなかった。様々なシアル酸含有糖タンパク質の分析に適用したところ、良好な定量性と再現性が得られた。本法は加熱や抽出操作を一切必要とせず、測定を含めて 1 時間で完了するので、シアル酸の自動分析にも適していると思われる。

Ref. (1) Li et al., *Anal. Sci.*, 23 (2007) 413.