

キャピラリー蛍光マルチセンシング法によるグルコースとガラクトースの定量  
○佐藤 雅俊<sup>1</sup>, 東海林 敦<sup>1</sup>, 菅原 正雄<sup>1</sup>(<sup>1</sup>日本大文理)

【目的】 D-Glucose (Glc) や D-Galactose (Gal) は、生体内で活発に利用されるエネルギー源であり、糖代謝異常に起因する疾病も数多い。これら疾病を診断する手法は多数開発されているが、一成分の糖を定性的に測定するものが多い。一方、多成分同時分析法として高速液体クロマトグラフィー法を用いる測定法もあるが、タンパク質の除去などの前処理が煩雑であることも多い。そこで本研究では、タンパク質の除去などの前処理なしに多成分を同時に分析することができる測定法の開発を目指した。

【方法】 石英ガラスキャピラリー内壁の異なる所定の箇所にアビジン-ビオチンサイトを結合を用い、ビオチン化グルコース酸化酵素(B-GOD)とビオチン化ガラクトース酸化酵素(B-GALOD)をそれぞれ修飾した<sup>1)</sup>。Amplex Red, 西洋わさびペルオキシダーゼ(HRP)を含有したGlc/Gal混合溶液を測定溶液とし、酵素反応とHRPのメジエーター反応により生成される蛍光物質Resorufin(ex. 563 nm, em. 587 nm)の蛍光をFluorImager 595で測定した(ex. 514 nm, em. 590 nm)。

【結果と考察】 GOD, GALOD 固定化キャピラリー内に、異なる濃度のGlc/Gal混合溶液を満たし測定を行った。その結果、0  $\mu\text{M}$  から 20  $\mu\text{M}$  の間で直線的な濃度依存性が得られた。同濃度のGlc, Galの蛍光応答を比較したところ、Glcの応答の方が大きかった。これは固定化されたGODのユニット数が大きかったためであると考えられる。またヒト血清アルブミン(HSA)含有Glc/Gal混合溶液を調製し測定を行った結果、HSAを含まないGlc/Gal混合溶液の蛍光強度と一致した。今後、実試料(血液)について測定を行う予定である。

1) 日本分析化学会第56年会要旨集, P328