

26Q-pm006

複合糖質特異的濃縮を目指した新規固相抽出法の開発

○吉年 正宏¹, 毛利 幸恵¹, 周木 千佳¹, 鈴木 茂生¹ (¹近畿大薬)

【目的】 グライコムクスやグライコプロテオミクス研究において、糖鎖はバリエーションが豊富で疎水性が低く、しかも網羅的解析で繁用される質量分析においては感度よく解析することが困難なことが多い。したがって、糖鎖情報を収集するには予め糖鎖をエンリッチするための方策が必要である。ところで、セロトニン(5HT)はシアル酸(特に *N*-アセチルノイラミン酸)と特異的な親和性を示し、また、ホウ酸はポリアルコール構造を有する糖などと配位する性質を有することが知られている。これらの性質を利用して、我々は生体試料のような複雑な試料成分からシアル酸あるいは中性糖鎖含有糖ペプチドを特異的に回収・濃縮するための、固相抽出法(SPE)を利用した糖鎖特異的な簡易回収法の開発を試みた。

【方法】 **SPE 担体の調製:** ①5HT-固定化担体:市販のシリカゲルの表面にエポキシ基を導入し、その後アルデヒド型へ変換した後、還元的アミノ化反応により5HTを化学結合させた。②ホウ酸結合型担体:市販の陰イオン交換樹脂をホウ酸で処理し、ホウ酸結合型陰イオン交換樹脂を調製した。 **糖試料:** モデル糖タンパク質として、シアル酸含有および非含有糖鎖をもつものを選んだ。これら糖タンパク質をトリブシンで徹底的に消化した糖ペプチドおよび、PNGase F で遊離糖鎖としたものを用いた。 **RPLC/MS 分析:** 検出器として LCMS-IT-TOF (Shimadzu)を用い、ポジティブ ESI モードで測定した。

【結果】 前者ではシアル酸含有糖鎖および糖ペプチドを、中性糖鎖に関しては後者のカラムを用いることで夾雑物を含む試料中から目的糖鎖をそれぞれ効率よくエンリッチすることに成功した。

本法を組み合わせることで、複雑な生体内試料に含まれる微量な複合糖質のハイスループット分析の画期的なツールとなるものと期待できる。