

26Q-pm009

レクチンを用いる構造選択的な糖鎖回収法

○小山 武裕¹, 吉年 正宏¹, 鈴木 茂生¹(¹近畿大薬)

【目的】グライコプロテオミクスにおいては LC/MS の相補的な手段として糖鎖構造を反映したプロファイリング技術の開発が求められている。ところで、レクチンは糖タンパク質糖鎖中の構成単糖、あるいは結合様式といった微妙な糖鎖構造までも認識することが知られており、このレクチンを組み合わせれば糖鎖構造の推定まで可能になると考えられる。既にレクチンアフィニティーカラムがこの目的に利用されているが、その固定化するには煩雑な操作が必要な上、安定性にも問題がある。そこで演者は、レクチンと限外ろ過膜を用いる糖鎖構造選択的な糖ペプチドの簡易精製・回収法の検討を行った。

【方法】**糖試料:** ヒト血清トランスフェリン(TRF)やウシ膵臓リボヌクレアーゼ B(RNase B)をトリプシンで消化した。**溶出標準操作:** 各種レクチン 250 μg と糖ペプチド 100 μg を氷冷化混合し、分画分子量 10,000 の限外ろ過用チューブを用いて、レクチン-糖ペプチド複合体を特異的に回収し、最終的に TFA 含有酢酸水溶液で複合体を変性させて回収させた後、減圧乾固した。

【結果・考察】各々のレクチンは糖ペプチドと予想通り特異的に結合し、試料溶液中に含まれる夾雑物は緩衝液および水で除去することが出来た。溶出条件を検討した結果、RNase B においては 0.5 M TFA 含有酢酸水溶液で Asn⁶⁰ 由来の糖ペプチドは 80~90%回収することが出来た。しかし、酸性糖ペプチドに適用する場合、シアル酸が脱離する可能性がある。そこで、種々検討した結果、レクチンの変性に TFA 含有酢酸/アセトニトリル水溶液を用いることにした。TRF に適用したところ Asn⁴³² 由来の糖ペプチドは 60%程度回収することができた。