

261-am05

HPLC マップ法による O 型糖鎖の構造解析法の開発と応用

○大野 恵里菜¹, 矢木 宏和¹, 高橋 禮子^{1,2,3}, 加藤 晃一^{1,2,3,4} (1名市大院薬, ²グライエンス, ³お茶大・糖鎖セ, ⁴岡崎統合バイオ)

【目的】糖鎖構造の異常は種々の疾患症状と密接に関与することが報告されている。例えば、IgA 腎症においては血清 IgA に結合している O 型糖鎖の発現プロファイルが変化することが報告されている。しかしながら、これまでの報告は質量分析やレクチンの特異性を用いた分析結果に基づくものであり、詳細かつ定量的な構造解析は未だに行われていない。これは、O 型糖鎖の簡便かつ高感度な構造解析法は未だ確立されていないためである。そこで、本研究では HPLC を利用した O 型糖鎖の構造解析法の開発を試みた。

【方法】IgA やムチンなどの糖タンパク質からヒドラジン分解により O 型糖鎖を遊離させ、2-aminopyridine (PA) によりその還元末端に蛍光標識を施した。この PA 化糖鎖に対して、それぞれ monoQ カラム、アミドカラム、ODS カラムに通すことにより、単離精製を行うとともに、各カラムにおける HPLC データを得た。さらに、単離精製した糖鎖に対して質量分析および種々のグリコシダーゼ処理を駆使し、それらの構造の同定を行った。

【結果および考察】糖タンパク質から遊離させた糖鎖に対して 3 種類の HPLC カラムを用いることにより、異性体も含めた 25 種類の O 型糖鎖の構造を同定し、その HPLC に対する溶出時間のデータを得ることができた。また、この HPLC データに基づいて単離精製した糖鎖に対して、硫酸基転移酵素を反応させることにより硫酸化糖鎖を調製し、HPLC マップを拡張することに成功した。さらに、本 HPLC マップを応用することで、血清 IgA の糖鎖プロファイリングに成功している。今後、本法を利用することにより、これまで困難であった O 結合型糖鎖の構造解析が可能になるものと期待される。