

# 26P-am087

生体試料中化学修飾ペプチドの分別分析を目的とした群特異的イムノアフィニティー抽出法

○小島 昌太<sup>1</sup>, 後藤 貴章<sup>1</sup>, 李 宣和<sup>1</sup>, 大江 知行<sup>1</sup>(<sup>1</sup>東北大院薬)

【目的】タンパク質や生理活性ペプチドは生体内で種々の化学修飾を受けることが知られている。更に化学修飾がこれらの構造・機能変化を惹起するとの報告もあり、化学修飾体の新規病態マーカーとしての可能性が期待される。しかし、タンパク質・ペプチドの分析に汎用される ELISA 法ではこの種の化学修飾の存在を無視している可能性があり、質量分析法に基づく感度・特異性に優れた分別分析法の確立が強く望まれている。そこで、本研究では生体試料中の化学修飾生理活性ペプチドの効率的な前処理を目的として、抗体の交差反応性を逆に活用した群特異的なイムノアフィニティー抽出法に検討を加えた。

【実験】モデルペプチドとして Angiotensin II (Ang II :DRVYIHPF)とその類縁体、更に各種化学修飾体(酸化、ニトロ化、ハロゲン化、脂質化)を調製し用いた。アフィニティー担体は、市販の抗 Ang II 抗体を活性化アガロースゲルに固定化し使用した。各種 Ang II 類縁体及び化学修飾体を添加した血清試料を固定化抗体カラムに通導し、LC-ESI-MS 分析により、これらペプチドの抽出挙動を精査した。

【結果】抗 Ang II 抗体の交差反応性により、Ang II を含め、N 末端側の Asp<sup>1</sup> あるいは Arg<sup>2</sup>、Tyr<sup>4</sup> 上の化学修飾体が効率的に抽出された。一方、His<sup>6</sup> 修飾体や C 末端部の異なる類縁体の溶出はほとんど認められなかった。

【考察】今回用いた抗体は Ang II の C 末端部の構造を認識するため、N 末端近傍の化学修飾体の前処理に有効であった。本法は N 末端部を認識する抗体との組合せにより C 末端近傍修飾体も含めた群特異的抽出が可能と考えられる。本方法論は ELISA 用抗体が入手可能な他の生理活性ペプチドへも容易に展開でき、MS/MS 法との組合せによる化学修飾のスクリーニングが可能になるとと思われる。