

8-Aminopyrene-1,3,6-trisulfonic acid 標識糖タンパク質糖鎖の部分導入アフィニティー電気泳動

八木 有紀¹, 篠原 千佳代², 福島 依里子², 奥田 星羅², 山本 佐知雄²,
島田 佳宏¹, ○鈴木 茂生²(¹協和発酵キリン,²近畿大薬)

【目的】キャピラリー電気泳動(CE)は高い分離能を有する分離分析法として、様々な試料の分離に利用されている。また、生物学的な親和性を利用したアフィニティーCE (ACE) は、分離と相互作用解析を同時に実現できる。ここでは 8-aminopyrene-1,3,6-trisulfonic acid (APTS)で標識した糖タンパク質糖鎖の ACEとして、レクチンを部分的に導入した方法(partial filling ACE) を適用し、その有用性を検討した。

【方法】試料: 糖タンパク質標品には、オバルブミン、ウシ膀胱リボヌクレアーゼ B、ヒトトランスフェリン、フェツイン、 α_1 -酸性糖タンパク質などを用いた。一方、レクチンには Concanavalin A、小麦胚芽レクチン WGA、ヒマレクチン RCA₁₂₀、インゲンマメレクチン PHA-L4、日本ニワトコレクチン SSA、イヌエンジュレクチン MAM を使用した。基礎検討にはマルトペンタオースやラクトースを用いた。糖タンパク質から PNGase F を使って糖鎖を遊離させた。酸性糖鎖についてはシアル酸の部分水解を目的として、APTS 標識化には酢酸を使い 80°C で反応させた。CE 分析条件: Beckman 社製の MDQ キャピラリー電気泳動装置に光源の Ar レーザー(488 nm)を光ファイバーで接続した。キャピラリーは GL サイエンス社製 Inert Cap 1 (50 μm i.d., 40 cm, 有効長 30 cm)、泳動液にはヒドロキシプロピルセルロースを含む Tris-酢酸緩衝液を使用し、負電荷を印加して分離した。

【結果および考察】レクチン(1 mg/mL)を 0.5 psi, 5 秒から 60 秒導入した後、APTS 化糖鎖を導入し、電気泳動を行ったところ、濃度依存的に APTS 標識糖鎖の遅延やピークの消失が観察された。オバルブミン糖鎖を例にとると Con A ではほとんどのピークが顕著に広がり、レクチンの導入量を増やすとピークが消失したが、RCA₁₂₀ では主にピークの遅延のみが観察された。Partial filling ACE の応用として、レクチンを連続導入した時の糖鎖特異的解析結果についても報告する。