

30D-am16

レクチン固定化アフィニティーマイクロチップ電気泳動法の開発

○山本 佐知雄¹, 鈴木 翔¹, 鈴木 茂生¹(¹近畿大薬)

【目的】近年のグライコミクスの進展に伴い、糖鎖を部分改変した抗体医薬品の開発が行われようとしている。この抗体医薬品の品質管理を簡便に行える分析システムを構築するために、糖鎖を構造特異的に認識するレクチンを光硬化性のアクリルアミドゲル中に封入した濃縮層を流路内に構築したアフィニティーマイクロチップ電気泳動法の開発を試みた。

【実験】マイクロチップは日立製の SV1100 用十字型 PMMA 製チップを用い、正立型蛍光顕微鏡 (オリンパス BX50WI) のステージ上に固定した。蛍光検出の光源にはアルゴンレーザーを用い、蛍光シグナルを浜松フォトンクス製 H578MOD で検出した。また光硬化性アクリルアミドゲルにレクチンを混合し、マイクロチップの流路交差部でレクチン固定化ゲル層を光硬化させた。その後、試料槽からレクチン固定化ゲル層に向かって試料が泳動されるように電圧を印加することで、試料中の糖鎖をゲル層中に固定化したレクチンへ特異的に捕捉させた。

【結果】レクチンにタチナタマメ由来 Concanavalin A を、試料として 8-Aminopyrene-1,3,6-trisulfonic acid (APTS) で標識化したマンノピオースを用いて、レクチン層での試料捕捉に伴う蛍光強度の増減を観察した。その結果、時間の経過とともに顕著に蛍光が増大し、糖鎖が特異的に捕捉されていることが判明した。電気泳動を行って、濃縮効率を算出したところピーク強度が 460 倍に上昇した。同様にウシ脾臓リボヌクレアーゼ B 由来糖鎖などに適応した結果、数十～100 倍の範囲で感度が上昇した。さらに酸性糖鎖を含む様々な糖タンパク質由来糖鎖を用い、試料精製と濃縮を同時に行える条件の検討を行った結果についても報告する。