

27PB-am001

効率的な O-GlcNAc 化ペプチド濃縮のための担体の比較

○津元 裕樹¹, 秋元 義弘², 遠藤 玉夫¹, 三浦 ゆり¹ (¹都健康長寿医セ研, ²杏林大医)

【目的】O-結合型 N-アセチルグルコサミン (O-GlcNAc) 化はタンパク質のセリン/スレオニン残基に対する翻訳後修飾の一つであり、細胞内シグナル伝達など様々な生物学的プロセスに関与し、糖尿病やがんなどの病態との関連も明らかになってきた。しかしながら、微量な O-GlcNAc 化タンパク質の網羅的解析には技術的な問題が残されている。我々は、チオール-ジスルフィド交換を利用した新規 O-GlcNAc 化ペプチド濃縮法を報告した[1]。しかしながら、組織サンプルでは非特異的吸着の多いことが問題であった。そこで本研究では、濃縮に用いる担体の検討を行い、選択性の高い O-GlcNAc 化ペプチド濃縮法の開発を目的とした。

【方法】サンプルとして O-GlcNAc 化タンパク質標準品 (alpha-crystallin) およびラット (15 週齢の Goto-Kakizaki および Wistar ラット) の腎臓及び脳から分画したミトコンドリアタンパク質を用いた。酵素消化して得られたペプチド混合物から O-GlcNAc 化ペプチドを濃縮後、LC-MS/MS を行った。チオール-ジスルフィド交換の担体として担体 1 (Thiopropyl Sepharose 6B, GE Healthcare) と担体 2 (PureCube Thiol-Activated MagBeads, Cube Biotech) を用いて比較した。

【結果と考察】alpha-Crystallin では担体 2 を用いて従来の担体 1 と同様に O-GlcNAc 化ペプチドを濃縮できた。組織では内在性の O-GlcNAc 化ペプチド相当のピークをいずれの担体でも検出することができた。一方、非 O-GlcNAc 化ペプチドは担体 1 の方が約 3 倍多く、担体 2 の方が非特異的な吸着が少ないことがわかった。以上の結果より、選択的な O-GlcNAc 化ペプチド濃縮において、担体 2 が有用である可能性が示唆された。

【参考文献】 [1] Tsumoto, H. *et al Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, *25*, 2645