

28V-am08S

シアル酸関連物質の微量分析に関する研究

○川崎 茜¹, 杉浦 春香¹, 高坂 乃々佳¹, 飯島 亮介¹, 油井 聡¹, 佐藤 元信¹, 安田 誠¹, 福内 友子¹, 山岡 法子¹, 馬渡 健一¹, 金子 希代子¹, 中込 和哉¹ (¹帝京大薬)

【目的・背景】 *N*-acetylneuraminic acid (NANA) は糖鎖の末端にあるが、遊離された NANA の生理機能はほとんど明らかにされていない。 *In vitro* において NANA は過酸化水素と反応し、4-(acetylamino)-2,4-dideoxy-D-glycero-D-galactooctonic acid (ADOA) を生成することが報告されている。生体内での ADOA の生成を確認するため、蛍光誘導体化試薬 DBD-PZ、縮合試薬 DMT-MM による NANA 及び ADOA の HPLC-同時微量蛍光検出法を開発した。

【方法】 蛍光誘導体化は NANA、ADOA、唾液試料又は血清試料 50 μ L に DMT-MM 溶液 25 μ L、DBD-PZ 溶液 50 μ L を加え、遮光して 65 $^{\circ}$ C で 60 分反応させ、 $\text{CH}_3\text{CN}/\text{HCOOH} = 100/1$ を 25 μ L 加えて反応を停止した。HPLC 条件は流速 1.5 mL/min、移動相 $\text{H}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{CN}/\text{HCOOH} = 7/93/0.35$ 、カラム COSMOSIL HILIC (4.6 mm i.d. \times 250 mm, 5 μ m, Nacal tesque) を用いて励起波長 450 nm、蛍光波長 560 nm で検出した。

【結果及び考察】 NANA-DBD-PZ 及び ADOA-DBD-PZ のピークと副反応物のピークは分離した。保持時間の長い副反応物は生成せず、測定時間が短縮された。NANA 濃度 0.5~100 μ M、ADOA 濃度 0.05~100 μ M の範囲で良好な直線性 (NANA $r=0.9998$, ADOA $r=0.9991$) を示した。感度低下の一因であった NANA 由来のピークが複数になることは防げなかったが、検出限界は NANA で 67 fmol、ADOA で 33 fmol となった。定量限界は NANA、ADOA とともに DBD-ED を用いた HPLC-同時微量蛍光検出法より 3~5 倍に向上した。

本方法を用いて唾液試料及び血清試料を測定した結果を報告する。