

シンプルウェスタンシステムを用いた硫酸化糖の分子量分画定量法の開発

○宮崎義之^{*1,2}・里山俊哉^{*1}・中野勇人^{*3}・立川大介^{*4}・松井利郎^{*1}

九州大院農^{*1}・NPO フコイダン研究所^{*2}・(株)ヴェントゥーノ^{*3}・(医法)秋水堂若宮病院^{*4}

【目的】 海藻由来の硫酸化多糖類であるフコイダンは、抗ウイルスや免疫向上などの生理機能を有する食品成分であり、広く健康食品に利用されている。しかし、原料および製品中のフコイダン含有量を測定する公定法は未だ定められていない。一般的には、酸加水分解処理後に構成糖および硫酸基の含有量を定量・合算する方法がとられているが、性状と含量を正しく評価し品質管理をするためには、分子量分布を含めてフコイダンを特異的に測定する分析手法が必要である。そこで本研究では、キャピラリーカラム内でのポリアクリルアミド電気泳動 (PAGE) 分画と定量化を測定原理とするシンプルウェスタン (Wes) システムを用いた硫酸化糖の分別定量法の構築を試みた。

【方法】 タンパク質定量を目的に開発された本システムを硫酸化糖定量に適用するため、デキストラン (分子量 40,000, Dex40) およびデキストラン硫酸 (分子量 6,500~10,000, DS-10K および 9,000~20,000, DS-20K) 標品を用いて Wes 分析条件を検討した。また、上記標品およびフコイダン標品を対象に、Wes 分析に供するための前処理条件の検討を行った。

【結果】 はじめに、Wes 分析にて初期設定されている全タンパク質検出用反応試薬および機器動作プロトコルに従って Dex40、DS-10K および DS-20K の解析を行ったが、映像像を確認することが出来なかった。そこで、荷電を有する蛍光化合物を糖鎖に導入した後、Wes による検出を確認した。また、上記多糖およびフコイダン標品を Biotin-hydrazide を用いて各糖鎖の還元末端をビオチン標識し、Avidin-HRP を介した検出を試みている。また、各糖鎖の分析条件を決定した後、混合物における分別解析を行うための前処理および機器動作条件を検討する予定である。