ポリアクリルアミドゲル電気泳動法の原理を応用した硫酸化多糖類の分画定量法の構築

○宮﨑義之[*1,2]・里山俊哉[*1]・中野勇人[*3]・立川大介[*1,2,4]・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】 褐藻類のヌメリを構成する硫酸化多糖フコイダンは、抗ウイルス作用や抗がん作用および免疫向上作用などの様々な生理学的効果を持った食品成分である。その為、広く健康食品に利用されているものの、原料素材および製品中に含まれるフコイダン量を測定する公定法は未だ定められていない。食品業界における一般的なフコイダン定量では、試料を酸加水分解処理した後に構成糖と硫酸基の含有量を定量し合算する方法が用いられているが、正確な品質管理を行うためには、分子量をはじめ多糖構造を保ったそのままの状態でフコイダン特異的に分析する手法が必要である。そこで本研究では、ポリアクリルアミドゲル電気泳動（PAGE）法による分子量分画および定量の原理を応用したシンプルウェスタン（Wes）システムによる硫酸化糖の分別定量法の構築を試みた。
【方法】 Wes システムは、タンパク質の分別定量を目的としてキャピラリーカラム内でのゲル電気泳動から固定化および検出を自動で行う研究装置である。本システムを多糖類の分画定量に適用する為、従来の SDS-PAGE 法により、検体の前処理条件と泳動条件をフコイダン食品素材および多糖試薬標品を用いて検討した。また、検討した分析条件を Wes システムに展開が可能か、実際の Wes 装置を用いて検討している。
【結果】はじめに、SDS-PAGE 法を用いてフコイダン食品素材の分画・検出を試みたところ、泳動像は観察できたものの、スメアなバンドであった。そこで、一定の分子量を有するデキストラン硫酸標品（分子量 6,500～10,000, DS-10K および 9,000～20,000, DS-20K）を用いて、検体の前処理および電気泳動条件を検討した。また、Wes 分析においては、泳動後にキャピラリーカラム壁への固定化と多糖特異的な検出の工程があるため、固定化に必要な官能基を糖鎖の還元末端に導入する方法や特異的検出のためのレクチン（糖結合タンパク質）の利用について検討をした。