

整理番号	15大-8
------	-------

育成試験の名称	糖タンパク質糖鎖の網羅的解析に必要な新技術の開発研究
実施機関及び担当者	近畿大学 薬学部 教授 掛樋 一晃
育成試験の目的	
糖タンパク質の機能を探るために必要とされる糖鎖の網羅的な解析法は 糖タンパク質の選択的捕捉、糖タンパク質からの糖鎖の切り離し、糖鎖の構造情報取得および糖鎖の生理活性研究のための糖鎖-タンパク質間相互作用の解析の3段階に分かれる。また、糖鎖の超高速分離も高スループットの糖鎖分析を実現するために重要である。本試験では糖鎖の役割を知る上で必要な重要技術を開発し、最終的には上記の～の技術をシステムとして統合化することを目標とする。	
試験方法	
試験項目	内 容
培養細胞からの複合糖質の選択的捕捉	ポリリジンを捕捉用リガンド分子として有する温度応答性ポリマーを用い、培養細胞中の複合糖質特にグリコサミノグリカン類の選択的捕捉について検討した。
-1 赤血球膜グリコフォリン0型糖鎖の切り離し	高速糖鎖切り離し装置を利用して、赤血球膜表面糖タンパク質であるグリコフォリン中0型糖鎖の切り離しとその構造解析を行った。
-2 糖タンパク質Nグリカンの高速分析	糖タンパク質N-グリカンを酵素的に遊離させ、生成する中間体を標識し、糖鎖分析を高速化する方法について検討した。
ウシおよびクマ初乳由来オリゴ糖ライブラリーの作成	ムチン型糖鎖-タンパク質間相互作用のモデル糖鎖としてウシおよびクマ初乳中オリゴ糖鎖ライブラリーの作成を行った。
糖鎖超高速分析	蛍光性第四級アンモニウムイオンを用いグリコサミノグリカン類を分離しながら発蛍光させるオンライン検出法について検討した。
予算額	200万円
試験結果	
<p>癌細胞粗抽出物からのグリコサミノグリカン類の選択的捕捉に成功し、ヒアルロン酸およびコンドロイチン硫酸類をそれぞれ同定することができた。-1 ヒトグリコフォリン中に特異的に存在するジシアルT糖鎖を同定することに成功した。-2 糖タンパク質糖鎖の遊離時に生成する中間体を蛍光標識する方法を検討し、約5分で誘導体化反応が終了し、10倍以上分析時間を短縮することができた。ムチン型糖鎖-タンパク質間相互作用のモデル糖鎖としてウシおよびクマ初乳中オリゴ糖鎖ライブラリーを構築し、種々のレクチンとの相互作用解析を行った。蛍光性第四級アンモニウムイオンを含む緩衝液を用い、6種のグリコサミノグリカンのオンライン検出に成功した。</p>	
現在の状況及び今後の展開方策	
<p>RSP 成果育成事業に採択され、細胞中に存在する核酸類やグリコサミノグリカン類などの酸性複合糖質を選択的に捕捉回収することに成功した。生体成分捕捉用リガンドとして、抗原・抗体などのタンパク質分子或いは種々の糖結合性タンパク質を機能性ポリマーへと付与し、種々の生理活性を示し複合糖質の選択的な捕捉法へと展開を図る。</p>	