

M710-N ABEE Labeling Kit

リン酸化糖・硫酸化糖 の分析

分析例

ABEE Labeling Kit は、1つの HPLC 条件で、自然界に存在する 11 種の糖 (Gal, Man, Glc, Ara, Rib, ManNAc, Xyl, GlcNAc, Fuc, Rha, GalNAc) を分析することができます。今回はこのキットを用い、表に示すリン酸化糖、硫酸化糖を分析しました。

| 糖 | 名称 | 略称 |
|-------|------------------------|----------|
| リン酸化糖 | D-グルコース-6-リン酸二ナトリウム水和物 | Glc6P |
| | D-グルコサミン-6-リン酸 | GlcN6P |
| 硫酸化糖 | D-ガラクトース-4-硫酸ナトリウム | Gal4S |
| | D-ガラクトース-6-硫酸ナトリウム | Gal6S |
| | N-アセチル-D-ガラクトサミン-6 硫酸 | GalNAc6S |



図1 ABEE 標識化の流れ

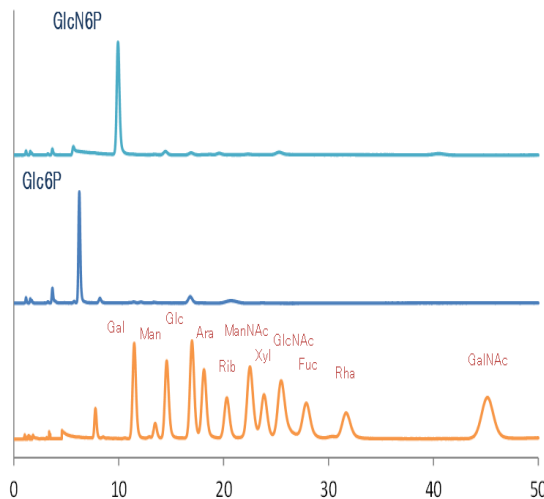


図2 リン酸化糖

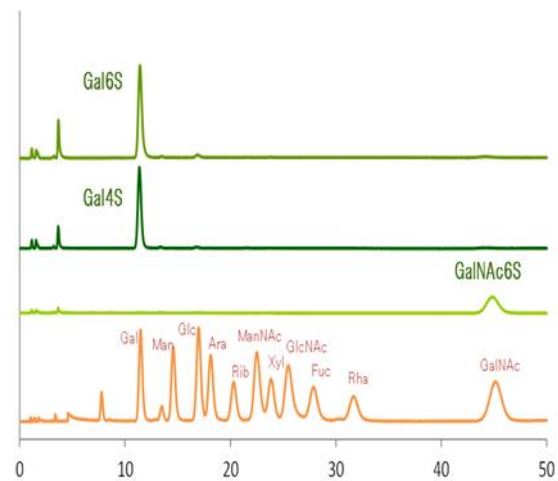


図3 硫酸化糖

カラム HonenpakC18 (4.6mm×75mm)
 移動相 A 0.2M ホウ酸カリウム/アセトニトリル(93/7) pH8.9
 移動相 B 0.02% トリフルオロ酢酸/アセトニトリル(50/50)
 プログラム 0→50min. (B Conc.0%)
 50→55min. (B Conc.100%)
 55→75min. (B Conc.0%)
 流速 1mL/min
 カラム温度 30°C
 検出 Fluorescence (Ex.305nm Em.360nm)
 注入量 10μL

Gal ガラクトース
 Man マンノース
 Glc グルコース
 Ara アラビノース
 Rib リボース
 ManNAc N-アセチルマンノサミン
 Xyl キシロース
 GlcNAc N-アセチルグルコサミン
 Fuc フコース
 Rha ラムノース

リン酸化糖は、11種の糖と異なる位置に溶出され、これらとの分離分析が可能であることがわかりました。

硫酸化糖は、硫酸基が除かれた糖（Gal4S と Gal6S は Gal、GalNAc6S は GalNAc）と同じ溶出位置でした。酸加水分解および N-アセチル化の操作を省き、ダイレクトに ABEE 標識化した硫酸化糖の溶出位置は 11 種の糖と異なっていたことから（データ未掲載）、硫酸化糖を含む糖を一斉分析する際には酸加水分解の条件検討が必要です。