

S1-26 アフィニティリガンド内包ヒドロゲル部分充填キャピラリーを用いる電気泳動分析

福島 雄大、内藤 豊裕、久保 拓也、○大塚 浩二
京大院工

【緒言】アフィニティキャピラリー電気泳動 (ACE) は、生体由来の酵素等が有する特異的相互作用 (アフィニティ) を利用して試料の選択的分離を行う分析法である。ACE 分析では、アフィニティリガンド (AL) を泳動液に添加する手法と分離キャピラリー内に固定化する手法の開発が主に進められてきた。後者の固定化手法では、AL が試料と共に移動しないため、測定毎に高価な AL を消費せず、AL による検出妨害がないなどの利点を有している。一方で、固定化の操作が煩雑であり、固定化中にアフィニティが失活する場合があるなどの欠点も指摘されている。本研究では、これらの問題を解決可能な固定化材料としてアルギン酸ヒドロゲルの利用を試み、AL をその活性を維持したままキャピラリー内に簡便な手順で固定化する AL 内包ヒドロゲル部分充填キャピラリーの調製と、それを用いたモデルタンパク質の ACE 分析について検討を行った [Fukushima, Y.ら., *Anal. Chem.* **2014**, *86*, 5977]。

【実験】ACE 分析はキャピラリー電気泳動装置 P/ACE MDQ (Beckman Coulter) を用いて行い、分離キャピラリーには内径 50 μm 、全長 40 cm、有効分離長 30 cm の内面無処理のフェーズドシリカキャピラリー (Polymicro Technologies) を使用した。泳動液には 1 mM CaCl_2 を含む緩衝液を、AL にはアビジンおよびストレ

プトアビジンを、モデル試料にはビオチンおよびイミノビオチンを用いた。

アルギン酸ナトリウムは、高い生体適合性を有し Ca^{2+} の添加によって速やかにヒドロゲルを形成することが知られている。キャピラリー内に AL を含むアルギン酸ナトリウム溶液を部分的に注入後、電気泳動によって Ca^{2+} を導入し、AL 内包アルギン酸ヒドロゲル部分充填キャピラリーを調製した。その後、試料を注入して ACE 分析を行い、レーザー励起蛍光 (ex/em, 488/520 nm) によって検出した。

【結果と考察】泳動液として 1 mM CaCl_2 / 10 mM glycine (pH 10.5) を用いてアビジンを含むヒドロゲルが部分的に充填されたキャピラリーを作製し CE 分析を行った結果、ビオチンやイミノビオチンのピークが消失した。このことから、形成されたヒドロゲルにアビジンが内包されていることと、その活性が維持されていることがそれぞれ確認された。また、フロントル解析結果から注入したアビジンが定量的に固定化されていることが明らかとなった。緩衝液を 15 mM HEPES (pH 7.0) に変更し、同様に ACE 分析を行った結果、イミノビオチンは保持されなかった。この結果に基づいて、pH スイッチングによってイミノビオチンの選択的濃縮を達成した。