

糖鎖の高感度分析を目的とした マルチカチオン性タグの開発

糖鎖は糖タンパク質や糖脂質の生理機能において重要な役割を果たしており、バイオ医薬品や臨床診断において糖鎖構造およびプロファイルの解析が重要視されている。糖鎖のプロファイル解析は、タンパク質からペプチド-N-グリコシダーゼ F (PNGaseF) などで糖鎖を切り出した後、高速液体クロマトグラフィー (LC) やキャピラリー電気泳動 (CE) による試料の分離・精製、質量分析 (MS)、データ解析を経て達成される。糖鎖は UV 吸収やフルオロフォアを持たない上、MS でのイオン化効率が低いいため、LC-MS や CE-MS ベースの高感度分析用に多くの標識試薬¹⁾²⁾が開発されている。今回、CE-レーザー誘導蛍光検出 (CE-LIF) および CE-MS のためのマルチカチオン性蛍光標識試薬を開発した Krenkova らの研究³⁾を紹介する。

CE を用いた糖鎖解析には、糖鎖の還元末端に蛍光標識試薬を導入する方法が汎用されている。8-アミノピレン-1,3,6-トリスルホン酸 (APTS) は糖鎖分析で一般的に用いられる標識試薬の一つであり、構造中の三つの硫酸基により強く負に帯電している。CE では分析対象物の電荷が多いほど分離効率が高くなる⁴⁾ため、糖鎖を APTS 標識することで CE-LIF における良好な分離と高感度検出が可能となる。一方、MS における負イオンモード検出は正イオンモードと比較して感度が低く、APTS 標識と CE-MS を組み合わせた糖鎖分析に関する報告は少ない⁵⁾。

Krenkova らは APTS の三つの硫酸基を 1-メチルピペラジン誘導体化した APTMP、ヨウ化 1,1-ジメチルピペラジニウム誘導体である APTDP をそれぞれ合成した。APTMP と APTDP はそれぞれ構造中の第 3 級アミンと第 4 級アンモニウム部分によって恒久的に帯電しており、エレクトロスプレーイオン化 (ESI)-MS においてマルチカチオン性タグとして機能すると期待される。APTMP、APTDP でそれぞれ標識されたマルトヘプタオースの励起および蛍光極大は 492 nm 前後、553 nm 前後であり、励起極大は LIF で一般的に利用されるアルゴンイオンレーザーのスペクトル線 (488 nm) とほぼ一致した。APTMP および APTDP を用いて 5 種類のオリゴ糖標準品を測定した結果、いずれも検出限界が $\text{sub-}\mu\text{mol L}^{-1}$ であった。また、ウシリボヌクレアーゼ B およびヒト免疫グロブリン G から PNGase F

で切り出した遊離糖鎖について、APTMP 標識と正イオンモードでの CE-MS によって検出が可能であった。これらのマルチカチオン性タグが、糖鎖の高感度分析のための強力なツールとなる可能性が示唆される。今後、マルチカチオン性タグの研究が進むことで、糖鎖のみならず様々な生体分子を対象としたプロファイリングにも役立つことが期待される。

- 1) H. Wilkinson, R. Saldova: *J. Proteome Res.*, **19**, 3890 (2020).
- 2) D. G. Delafield, L. Li: *Mol. Cell. Proteomics*, **20**, 100054 (2021).
- 3) J. Krenkova, M. Liskova, R. Cmelik, G. Vigh, F. Foret: *Anal. Chim. Acta*, **1095**, 226 (2020).
- 4) E. A. Savicheva, J. Seikowski, J. I. Kast, C. R. Grünig, V. N. Belov, S. W. Hell: *Angew. Chem. Int. Ed.*, **60**, 3720 (2021).
- 5) G. Jarvas, M. Szigeti, J. Chapman, A. Guttman: *Anal. Chem.*, **88**, 11364 (2016).

(東北医科薬科大学薬学部 小松祥子)

プラスチック中 POPs 様臭素系難燃剤の 迅速スクリーニングの現状

プラスチック固形廃棄物 (PSW) は再利用・リサイクルが可能であるが、残留性有機汚染物質 (POPs) に関するストックホルム条約 (POPs 条約) で指定された臭素系難燃剤 (BFR) 濃度が一定の基準を上回る場合、プラスチックのマテリアルリサイクルを行うことは不可能である。現在 POPs に指定されている臭素系難燃剤のうち、ポリ臭化ジフェニルエーテル (PBDE) は、難燃剤としてプラスチック、繊維製品、電子筐体、プリント基板に、ヘキサブロモシクロドデカン (HBCD) は、発泡ポリスチレン (EPS) や押出ポリスチレン (XPS) など建築用断熱材やカーテン等に添加される難燃剤として広く利用されていた。4-7 臭素化 PBDEs, HBCD, Deca-BDE はそれぞれ 2009 年, 2013 年, 2017 年にストックホルム条約の附属書 A に追加され、現在は製造・利用が原則禁止されているが、これまでに製造された製品中にこれら化合物が含まれているため、リサイクル可能なプラスチック製品を容易に識別するための迅速分析法が求められている。

Stubbing らは欧州における廃プラスチック中における臭素系難燃剤スクリーニングのフローとその限界について紹介している¹⁾。欧州では基準値を 1000 mg kg^{-1} と定め、複数の技術を組み合わせて廃プラスチックのスクリーニングが行われている。最も上流ではしばしば蛍光 X 線 (XRF) を用いた臭素のモニタリングが行われる。近年ではハンドヘルド型の簡便な XRF 装置が広く流通しており、臭素の検出下限値も 10 mg kg^{-1} 程度とスクリーニングに十分な性能を備えている。しかし、XRF で検出される臭素はあくまで総臭素であるため、基準値を超過している場合には質量分析計による検証が必要である。XRF による測定で、臭素濃度が 2500 mg

kg⁻¹以上であると判定された試料について、質量分析計を用いて再検証を行ったところ、20%以上の製品では POPs-BFR 濃度が 1000 mg kg⁻¹ を下回った。なお、PBDEs はガスクロマトグラフ質量分析計、HBCDs は高速液体クロマトグラフタンデム質量分析計により測定されている。これらの結果から、XRF は迅速な初期スクリーニングには有用であるものの、XRF の測定において基準を超過した試料のうち、一定以上の廃プラスチック試料については、実際の対象物質である POPs-BFR 濃度が基準を下回っていることが示唆される。このため、質量分析計による迅速スクリーニングについて

はいまだ需要があり、パイロライザによる前処理なしでの分析法や、short カラムを用いた迅速分析法が提案されている²⁾。

- 1) W. A. Stubbings, M. A.-E. Abdallah, K. Misiuta, U. Onwuamaegbu, J. Holland, L. Smith, C. Parkinson, R. McKinlay, S. Harrad: *Sci. Total Environ.*, **780**, 146543 (2021).
- 2) F. Akoueson, C. Chbib, S. Monchy, I. Paul-Pont, P. Doyen, A. Dehaut, G. Duflos: *Sci. Total Environ.*, **773**, 145073 (2021).

〔千葉大学予防医学センター 江口哲史〕



原稿募集

トピックス欄の原稿を募集しています

内容：読者の関心をひくような新しい分析化学・分析技術の研究を短くまとめたもの。

執筆上の注意：1) 1000 字以内（図は 1 枚 500 字に換算）とする。2) 新分析法の説明には簡単な原理図などを積極的に採り入れる。3) 中心となる文献は原則として 2 年以内のものとし、出所を明記する。

なお、執筆者自身の文献を主として紹介する

ことは御遠慮ください。又、二重投稿は避けてください。

◇採用の可否は編集委員会にご一任ください。原稿の送付および問い合わせは下記へお願いします。

〒141-0031 東京都品川区西五反田 1-26-2

五反田サンハイツ 304 号

(公社)日本分析化学会「ぶんせき」編集委員会

[E-mail: bunseki@jsac.or.jp]