

■ 糖タンパクの解離定数算出

糖タンパクとレクチンの解離定数算出例をご紹介します。

アシアロフェツイン（糖タンパク）をリガンドとしてセンサー上に固定化し、コンカナバリンA（レクチン）をインジェクションし、その反応速度、反応量を計測しました。NAPiCOS付属の解析ソフト“NAPiCOS Analysis”を使用し計測データから解離定数を求めます。

1. プロトコル

- センサー：30MHz ツインセンサー
- 流速：50 μ L/min
- サンプル量：100 μ L
- 送液/バッファー：PBS
- サンプル：コンカナバリンA

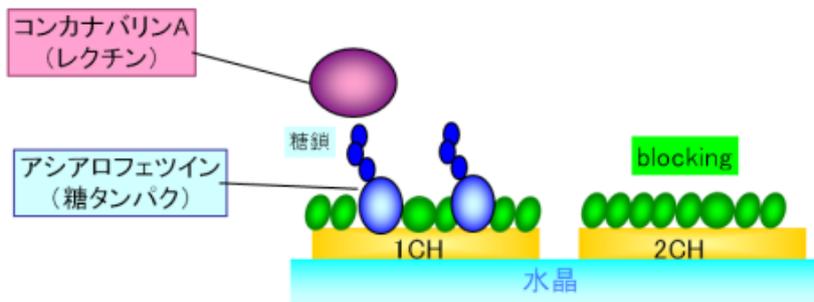


図1：模式図

2. 反応波形

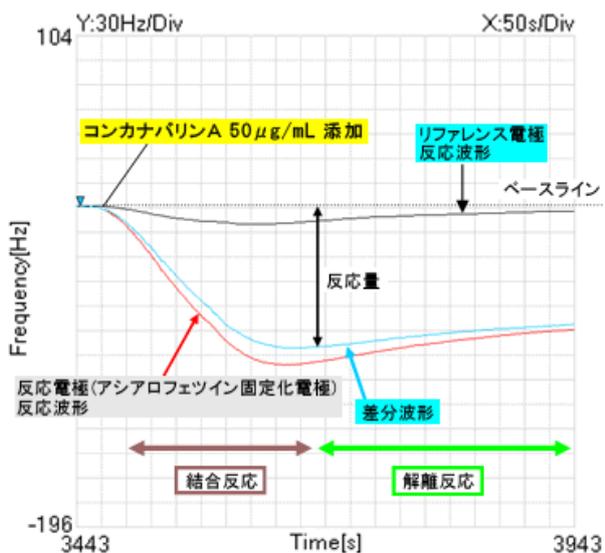


図2：結合と解離の波形

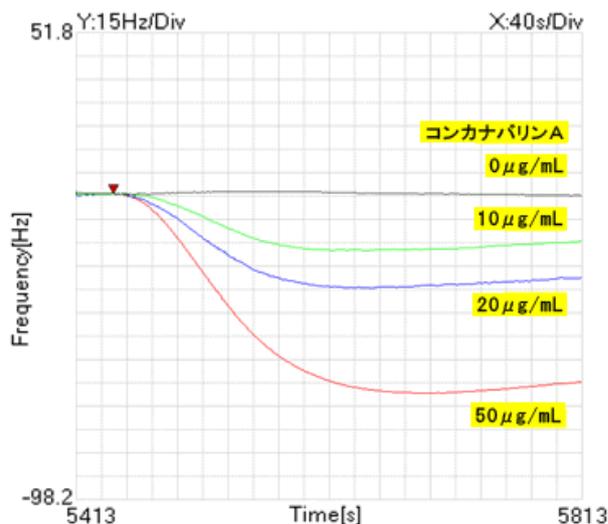


図3：コンカナバリンA添加時の差分波形

糖タンパクの解離定数算出

3. 解離定数算出

当社解析アプリケーション“NAPiCOS Analysis”を使用し、コンカナバリンA濃度 10 μ g/mL, 20 μ g/mL, 50 μ g/mLの反応量から解離定数及び反応速度定数を求めました。3種類の解析方法を用いた解離定数、反応速度定数は下表に示します。

反応速度定数はKinetics法のみ算出可能です。

	Kon	Koff	KD
解析方法	M-1sec-1	sec-1	M
Affinity法	-	-	1.06E-06
Scatchard法	-	-	1.03E-06
Kinetics法	1.38E+03	1.10E-03	7.94E-07

表1：解離定数及び反応速度定数の計算結果

4. 用語解説

アシアロフェツイン	糖タンパクの一種で、分子量は約40,000です。フェツインという糖タンパク質からシアル酸を除去したものです。
コンカナバリンA	レクチン（糖鎖結合性タンパク質）の一種です。赤血球表面の糖鎖に結合し、赤血球を凝集させる機能を持ちます。中性で4量体を形成し、分子量は約100,000です。
解離定数	化学平衡状態にある状態の、反応物質と生成物質の濃度の比です。物質間の親和性の尺度として利用されています。
反応速度定数	化学反応において、反応物質または生成物質が増減する速さのことです。