

27PE-am112

ヒト組織球性リンパ腫細胞に高発現する Polylactosamine-Carrier Protein の解析
○田中 佑樹¹, 木下 充弘¹, 掛樋 一晃¹(¹近畿大・薬)

【緒言】我々はヒト培養癌細胞表面の糖鎖を指標として癌細胞の個性解析を行う中で、ヒト組織球性リンパ腫細胞 (U937) にポリラクトサミン型糖鎖が豊富に存在することを明らかにした。本研究では U937 細胞に高発現するポリラクトサミン型糖鎖を持つタンパク質を、プロテミクス手法と当研究室で開発した糖鎖解析手法を組み合わせて解析した。

【方法】膜タンパク質調製: U937 を 0.5 M sucrose を含むリン酸緩衝液中でホモジナイズした可溶性分画を 40000 g で 30 分間遠心分離して得られた沈殿を膜タンパク質とした。膜タンパク質の分画: 膜タンパク質は DEAE-5PW を用い、NaCl の段階的濃度勾配により酸性・中性・塩基性タンパク質に分画した。糖鎖解析: 各タンパク質分画を SDS-PAGE 後、レクチンブロッキングを行うとともに、N グリカナーゼ F によるゲル内消化により得た N 型糖鎖を 2-アミノ安息香酸により蛍光標識後、キャピラリー電気泳動により分析した。

【結果・考察】陰イオン交換クロマトグラフィーにより分画された各タンパク質分画を SDS-PAGE およびレクチンブロッキングにより解析したところ、ポリラクトサミン型糖鎖は中性～酸性領域に等電点を持つ、75 kDa 以上のタンパク質に存在した。さらに、SDS-PAGE により分離されたタンパク質の糖鎖解析とレクチンプロットの結果からポリラクトサミン型糖鎖を有するタンパク質についてペプチドマスフィンガープリンティングによる同定を試みたところ、N 結合型糖鎖のポテンシャルサイトを有する 2 個の候補タンパク質が得られた。現在、これらのタンパク質の完全同定を検討中である。