

## 27PE-am114

ヒト胃癌細胞内に蓄積する遊離糖鎖の精密解析とその蓄積機構

○石塚 文<sup>1</sup>, 橋本 有樹<sup>1</sup>, 仲 亮輔<sup>1</sup>, 木下 充弘<sup>1</sup>, 船越 陽子<sup>2</sup>, 鈴木 匡<sup>2,3</sup>,  
掛樋 一晃<sup>1</sup>(<sup>1</sup>近畿大薬, <sup>2</sup>理化学研究所フロンティア研, <sup>3</sup>CREST)

【緒言】我々は低分化型胃癌細胞 MKN45 の細胞膜糖タンパク質中の糖鎖の網羅解析を進める中で、N 結合型糖鎖に由来する遊離糖鎖が細胞内に大量に蓄積することを見出した。本研究では分化度の異なる胃癌細胞中の糖鎖を詳細に解析し、遊離糖鎖が蓄積する機構を細胞内シアリダーゼとの関係から明らかにしたので報告する。

【方法】細胞糖鎖の調製：分化度の異なるヒト胃癌細胞 (MKN7 および MKN45、各  $1 \times 10^7$  cells) の可溶性分画を遊離糖鎖分画として得た。更に、ショ糖濃度勾配法により膜タンパク質分画を調製した。糖鎖分析：遊離糖鎖および膜タンパク質から得られた糖鎖をそれぞれ 2 アミノ安息香酸(2AA)により蛍光標識し順相 HPLC と MALDI-TOF MS を組み合わせて解析した。Neu1 及び Neu2 遺伝子導入株：Neu1 および Neu2 の ORF を持つ pCMV-FLAG plasmid を Lipofectamine (Invitrogen)を用いて導入し、G418 存在下培養し stable transfectant を樹立した。

【結果・考察】低分化型胃癌細胞 MKN45 および高分化型胃癌細胞 MKN7 の遊離糖鎖を解析すると、ともに複合型の N 結合型糖鎖由来と考えられる遊離糖鎖が大量に観察された。また、遊離糖鎖の細胞内局在については、リソソームと細胞質に遊離糖鎖が観察され、リソソームにおける糖鎖分解に異常が生じていると考えられた。一方、MKN45 の遊離糖鎖は細胞質シアリダーゼ(Neu2)およびリソソームシアリダーゼ(Neu1)の強制発現により、蓄積量が著しく低下した。以上の結果から、MKN45 における遊離糖鎖の蓄積は、糖鎖代謝過程のうち、脱シアル酸過程の異常が原因であると考えられ、胃癌細胞の細胞生理学的特性との関連にも興味を持たれる。