

# 30P-am004Q

培養癌細胞中のムチン型およびプロテオグリカン型糖鎖の一斉解析

○梶 直孝<sup>1</sup>, 山田 佳太<sup>1</sup>, 木下 充弘<sup>1</sup>, 早川 堯夫<sup>2</sup>, 掛樋 一晃<sup>1</sup>(<sup>1</sup>近畿大薬, <sup>2</sup>近畿大薬総研)

【緒言】糖タンパク質糖鎖のうち O 結合型糖鎖は、GalNAc を介した糖タンパク質と結合するムチン型と、Xylose を介するプロテオグリカン(PG)型に大別される。本発表では癌細胞中に存在するムチン型ならびに PG 型糖鎖を、我々が開発した O 結合型糖鎖の自動切断装置(AGC)を利用してコアタンパク質から高速で切り離し、アフィニティークロマトグラフィーにより分画後、それぞれの糖鎖を解析する方法を開発したので報告する。

【方法】10 種類の培養癌細胞( $1.0 \times 10^7$  cell)を 2 M チオ尿素/5 M 尿素溶液中でホモジナイズし、アセトン沈殿で糖タンパク質を回収し、得られた糖タンパク質画分を AGC によりコアタンパク質から切り離し蛍光標識した。得られた粗糖鎖混合物をセロトニンアフィニティークロマトグラフィーでムチン型糖鎖と PG 型糖鎖に分画し、ムチン型糖鎖は HPLC と MS を用いて構造解析し、PG 型糖鎖は CE にて 2 糖組成分析をおこなった。

【結果・考察】大腸癌細胞 HCT116 由来の O 結合型糖鎖をセロトニンアフィニティークロマトグラフィーにて分析したところ、3~16 分にムチン型糖鎖が非還元末端のシアル酸残基数に基づき分離された。一方 PG 型糖鎖はカラムに強く保持され 20 分以降に溶出された。更に、10 種類の培養癌細胞を比較解析したところ、例えば高分化型胃癌細胞では低分化型に比べてヘパラン硫酸 PG の発現量が低いなど、癌細胞の分化度や悪性度の違いにより糖鎖のプロファイルが大きく異なった。本手法はムチン型糖鎖と PG 型糖鎖を同時にかつ短時間で定量的に比較解析できる手法として有用である。