

29AB-am001

マウス膵臓β細胞由来 MIN6 細胞の産生するヘパラン硫酸の構造解析

○伊藤 ゆき乃¹, 浅井 正智¹, 松崎 南美¹, 高橋 巖², 那谷 耕司², 山田 修平¹ (¹名城大薬,
²岩手医大薬)

【目的】ヘパラン硫酸は様々な生理活性物質と相互作用することで細胞の分化や増殖等を調節している。本研究では、インスリン分泌におけるヘパラン硫酸の役割を明らかにするために、ヘテロロジニアスな細胞集団であるマウス膵臓ランゲルハンス島β細胞由来 MIN6 細胞株からサブクローンを単離選択し、各サブクローンのヘパラン硫酸の解析を行なった。

【方法】MIN6 細胞株から単離した4種のサブクローン (T3, T5, T9, T16) について、細胞をホモジェナイズした後、ヘパリナーゼおよびヘパリチナーゼで消化し、ヘパラン硫酸多糖を構成二糖単位にまで分解した。除タンパク質後、二糖の還元末端を蛍光標識試薬である 2-アミノベンズアミドを用いてラベルした。過剰な蛍光標識試薬をペーパークロマトグラフィーによって除去した後、陰イオン交換 HPLC で分析し、ヘパラン硫酸の構成二糖組成および総量を決定した。

【結果・考察】いずれのサブクローンも多様な構造のヘパラン硫酸を含んでいた。特に、硫酸化されていない二糖単位とグルコサミンの2位のアミノ基が硫酸化された二糖単位が比較的多く含まれる傾向が見られた。T3 はトリ硫酸化二糖単位の割合が幾分高いことが特徴であった。T16 は他と比べて二糖組成が異なっていた。硫酸化の程度は全体的に低く、特に T9 サブクローンが若干低い、他のサブクローンは同程度となった。タンパク質量当たりのヘパラン硫酸を定量したところ、T9 サブクローンが最も多く、次に T3 サブクローンが多く検出された。また、T5 サブクローンは最も少なく検出された。これは、抗ヘパラン硫酸抗体を用いた以前の実験結果と一致していた。このヘパラン硫酸の量と構造の違いは、インスリン分泌能等の性質と関係がある可能性がある。