

25PB-am053

ヒト iPS 細胞膜由来ポドカリキシンの Glycomics 研究 [1]

○永井 裕子¹, 中尾 広美², 小嶋 絢¹, 川寄 伸子², 川寄 敏祐², 豊田 英尚¹ (立命館大薬,²立命館大糖鎖工学研セ)

【目的】ヒト ES/iPS 細胞表面には未分化マーカーとして SSEA-3、SSEA-4、TRA-1-60 などの糖鎖エピトープが発現することが知られていたが、最近、当研究室と本学糖鎖工学研究室との共同研究により、新たに 2 種 (R-10G、R-17F) のマーカー抗体が開発され、世界的に注目されている。R-10G は低硫酸化ケラタン硫酸 (Kawabe et al., Glycobiology, 2013) を、R-17F は血液型 H タイプ 1 抗原を (Matsumoto et al., J. Biol. Chem., 2015) 認識する。私達は、既に、これら 2 種の糖鎖エピトープおよび TRA-1-60 エピトープがヒト iPS/ES 細胞膜の主要な膜貫通タンパク質であるポドカリキシンの含まれること示している (Nakao et al., Glycoconj. J, 2013)。本研究は、ヒト iPS 細胞のポドカリキシ分子上に発現するこれらエピトープの糖鎖結合部位及びその糖鎖構造を解析し、これら糖鎖の細胞表面での役割の解明を行うことを目的としている。

【実験】フィーダー細胞存在下に無血清培養した未分化状態のヒト iPS 細胞 (201B7 株) を回収した後、細胞抽出液を作製し、R-10G 抗体カラムを用いたアフィニティークロマトグラフィーにかけた。非結合画分および溶出画分についてウェスタンブロッティング (R-10G、R-17F、抗ポドカリキシ抗体) による解析を行った。

【結果・考察】R-10G エピトープはほとんど全てが溶出画分に回収された。一方、R-17F エピトープは溶出画分および非結合画分の両方にほぼ同程度検出された。また、ポドカリキシンは約 1/3 が非結合画分に約 2/3 が結合画分に検出された。以上の結果は、ヒト iPS 細胞のポドカリキシ分子の大部分は、同一分子上に R-10G および R-17F の両方のエピトープを発現しているが、一部、R-17F エピトープを含むが R-10G エピトープを含まない分子も存在することを示唆している。