

# 25PB-am056

## 組換えシアロ糖タンパク質 CD43 の作製

○山中 将敬<sup>1</sup>, 滝口 玲香<sup>1</sup>, 永井 絵里香<sup>1</sup> (<sup>1</sup>国際医福大薬)

【目的】CD43(ロイコシアリン) は血球系細胞の表面に多く発現しているシアロ糖タンパク質である。CD43 の細胞外領域は多数のセリンとトレオニンが存在するため O-結合型糖鎖修飾を受けている。さらに、CD43 は糖鎖非還元末端にシアル酸が結合しているため負電荷に覆れている。そのため、CD43 の機能としては、細胞間接着の調節に関与していると考えられている。

本研究では、基礎研究や臨床応用に使用可能な抗 CD43 抗体樹立するため、まず抗 CD43 抗体獲得に必要な抗原(組換えタンパク質)の作製を試みた。

【方法】CD43 の細胞外領域とヒト IgG1 の Fc 領域を連結した配列を組み込んだ発現用ベクターを作製し、ヒト株化細胞 HEK293T 細胞へリポフェクション法により導入した。精製する組換え CD43 タンパク質は培養上清中へ分泌されるため、プロテイン A セファロースを用いて培養上清から単離した。その後、組換え CD43 タンパク質の糖鎖修飾などの状態を解析した。

【結果・考察】本方法では培養上清 100 mL から組換え CD43 タンパク質 16 µg を精製回収した。SDS-PAGE 法により解析すると、120-200 kDa 付近にムチン型糖タンパク質の特徴である幅広いバンドを検出した。また、シアル酸結合へ特異的に反応するイヌエンジュレクチン MAM とニホンニワトコレクチン SSA を用いたレクチンプロット法によりバンドを確認した。さらに、シアリダーゼ処理により糖鎖非還元末端のシアル酸を切断するとほぼ単一のバンドとして検出された。

従って、本方法によってシアル酸を含む糖鎖修飾を受けた組換え CD43 タンパク質の精製方法を構築できたと考えられる。