



### 細胞の種々のクラスの複合糖質のプロファイリング法の開発に相次いで成功 —「細胞の顔」を記述するユニークな情報を提供

#### 研究成果のポイント

- ・「細胞の顔」として注目されながらも、従来解析が困難であった3種類の複合糖質（糖脂質、グリコサミノグリカン、O-結合型糖タンパク質）の糖鎖において、新たな解析法の実現に相次いで成功。
- ・モデル細胞を用いた検証試験の結果、これら複合糖質糖鎖の発現情報は、細胞を評価するための新規かつユニークな細胞の構造を表現するマーカー（細胞記述子）として有用であることを実証。
- ・これらの技術は、今後、再生医療や創薬研究においてますます重要となる細胞の、精密な記述や評価法として大きく貢献することが期待される。

#### 研究成果の概要

細胞表面には様々なクラスの複合糖質群が巧妙に配置されていて、複合糖質糖鎖はしばしば細胞の顔に例えられます。しかし、細胞表面に存在する複合糖質糖鎖の全容的な定性、定量情報は限られており、特に異なるクラスの複合糖質糖鎖の相対的な比較に関する研究例はほとんどありません。本研究では、従来、複合糖質の中でも特に解析が困難であった糖脂質、グリコサミノグリカン、O-結合型糖鎖の解析技術を開発しました。胚性腫瘍細胞などのモデル細胞を用いた検証試験の結果、これらの方法が細胞の複合糖質の構成を詳細に明らかにすることを実証するとともに、細胞の有する固有の複合糖質プロファイルが高度に細胞特異的であることがわかりました。本研究結果は、今後、再生医療や創薬研究においてますます重要となる細胞の、精密な記述や評価法として大きく貢献することが期待されます。

なお、本研究は文部科学省先端融合領域イノベーション創出拠点形成プログラム「未来創薬・医療イノベーション拠点形成」（北海道大学）の一環として行われました。

#### 論文発表の概要

① 研究論文名：Qualitative and Quantitative Cellular Glycomics of Glycosphingolipids Based on Rhodococcal EGCCase-Assisted Glycan Cleavage, Glycoblotting-Assisted Sample Preparation and MALDI-TOF/TOF MS Analysis (Rhodococcal EGCCase とグライコブロット法に基づく細胞のスフィンゴ糖脂質の定性・定量解析法)

著者：氏名（所属）藤谷直樹，武川泰啓，荒木香代，古川潤一，光武進，五十嵐靖之，篠原康郎（北海道大学），石橋洋平，伊東信（九州大学）

公表雑誌：The Journal of Biological Chemistry（米国生化学分子生物学会）

公表日：米国東部時間 2011 年 9 月 30 日

② 研究論文名：A Versatile Method for the Analysis of Serine/Threonine Posttranslational

Modifications by  $\beta$ -Elimination in the Presence of Pyrazolone Analogues (ピラゾロン誘導体存在下の $\beta$ 脱離反応によるセリン/スレオニンの多様な翻訳後修飾の解析法)

著者：氏名(所属) 古川潤一, 藤谷直樹, 荒木香代, 武川泰啓, 児玉耕太, 篠原康郎(北海道大学)

公表雑誌：Analytical Chemistry (米国化学会)

公表日：米国東部時間 2011年10月13日

③ 研究論文名：Simultaneous Analysis of Heparan Sulfate, Chondroitin/Dermatan Sulfates and Hyaluronan Disaccharides by Glycoblotting-Assisted Sample Preparation Followed by Single-Step ZIC-HILIC Chromatography (グライコブロット法とZIC-HILICクロマトグラフィーによるヘパラン硫酸, コンドロイチン硫酸, ヒアルロン酸の一斉解析)

著者：氏名(所属) 武川泰啓, 荒木香代, 藤谷直樹, 古川潤一, 篠原康郎(北海道大学), 杉山洋章, 坂井秀昭(株式会社セルシード)

公表雑誌：Analytical Chemistry (米国化学会)

公表日：米国東部時間 2011年11月1日

## 研究成果の概要

### (背景)

細胞の優れた識別マーカーは、その多くが複合糖質(糖脂質, グリコサミノグリカン, 糖タンパク質等)であることが経験的に知られています。しかし、複合糖質の解析は一般に難しいため、積極的に複合糖質のマーカーを探すアプローチをとることは困難です。近年、N-結合型糖鎖と呼ばれる糖タンパク質糖鎖は比較的容易に解析できるようになってきましたが、それ以外のクラスの複合糖質の糖鎖の解析は依然困難な状態です。

### (研究手法)

細胞表層の複合糖質の分析法として、抗体を用いる方法論が広く用いられてきましたが、これらの方法では、詳細な分子構造が不明なことも多く、汎用性や定量性にも問題が残ります。そこで、私たちは、質量分析法による精密な解析法の構築を目指し、独自に開発してきた糖鎖の精製技術や新たな標識法などを駆使して、従来解析が困難であった糖脂質, グリコサミノグリカン, 糖タンパク質のO-結合型糖鎖の解析技術の構築を進めました。さらに、確立した方法論を胚性腫瘍細胞などのモデル細胞に適用し、細胞の主要な複合糖質糖鎖プロファイリングの有用性を検証しました。

### (研究成果)

複雑な混合物中からの糖鎖を選択的に精製する独自の技術、高感度検出を実現する独自の標識技術などを駆使して、既に開発済のN-結合型糖鎖の解析法に加えて、糖脂質, グリコサミノグリカンの糖鎖の細胞や組織における発現動態を高感度に絶対定量することが可能になりました。胚性腫瘍細胞などのモデル細胞を用いた有用性の評価を検証した結果、これらの方法が細胞の複合糖質の構成を詳細に明らかにすることを実証するとともに、細胞の有する固有の複合糖質プロファイルが高度に細胞特異的であることがわかりました。このことは複合糖質プロファイリングが優れた細胞記述子となることを示しています。また、従来は困難であった異なるクラス間の複合糖質糖鎖の発現量の相互比較が可能になったため、「細胞の顔」というべき細胞の複合糖質の構成が定性・定量的にもより明確に見えるようになりました。また、O-結合型糖鎖は、構造の多様性と不安定性から特に解析が困難でしたが、タンパク質からO-結合型糖鎖を化学的に切り出すのと同時に、糖鎖とタンパク質の糖結合位置を同時かつ安定的に、分析に有利なようにラベルする新たな方法を確立しました。これらの技術は、従

来解析が困難であった複合糖質群の糖鎖解析を大きく改善するものであり、今後、再生医療や創薬研究においてますます重要となる細胞の、精密な記述や評価法として大きく貢献することが期待されます。

#### お問い合わせ先

所属・職・氏名：北海道大学大学院先端生命科学研究院附属次世代ポストゲノム研究センター

特任教授 篠原 康郎（しのはら やすろう）

TEL: 011-706-9091 FAX: 011-706-9087 E-mail: yshinohara@sci.hokudai.ac.jp

ホームページ： <http://www.hucc.hokudai.ac.jp/~e20694/index.html#>

<http://www.cris.hokudai.ac.jp/cris/innovahome/index.html>