



ES細胞やiPS細胞における複合糖質糖鎖の発現プロファイルの全貌を俯瞰し、新規なバイオマーカー候補を発見

研究成果のポイント

- ・糖タンパク質、糖脂質、プロテオグリカン、遊離オリゴ糖などの主要な複合糖質糖鎖¹⁾の絶対定量²⁾に基づいて細胞を記述・特徴づけするという概念（総合グライコミクス）を提唱し、それを具現化するための複合糖質糖鎖を網羅的に解析する悉皆解析法^{しつぱい}を確立した。
- ・本解析法により、胚性幹細胞（ES細胞）や人工多能性幹細胞（iPS細胞）を含む18種類のヒト細胞の総合的な複合糖質糖鎖の発現プロファイルを初めて解明した結果、複合糖質糖鎖プロファイルは細胞毎に大きく異なることを明らかにした。
- ・本解析法により、既知の複合糖質の未分化細胞マーカー（SSEA-3/4/5 や Tra-1³⁾ など）を予備知識なしに一斉同定できることを実証し、さらに幹細胞に特異的に発現する新たな未分化細胞マーカー候補の同定に成功した。

研究成果の概要

細胞表面には糖タンパク質、糖脂質、プロテオグリカンなど様々なクラスの複合糖質群が巧妙に配置されており、細胞—細胞間のコミュニケーションやシグナル伝達において重要な役割を担っています。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でした。そこで私たちは、この課題に取り組み、様々なクラスの複合糖質糖鎖の解析法を確立してきましたが*、今回、N-結合型糖鎖、O-結合型糖鎖、スフィンゴ糖脂質、プロテオグリカン、遊離オリゴ糖からなる5つのクラスの複合糖質糖鎖を系統的に定量解析する手法を確立し、細胞の有する主要な全ての複合糖質糖鎖の発現プロファイルをクラス横断的に俯瞰できるようになりました。また、胚性幹細胞（ES細胞）や人工多能性幹細胞（iPS細胞）を含む18種類のヒト細胞の複合糖質糖鎖プロファイルを解析し、本解析法により SSEA-3/4/5 や Tra-1 などの既知の複合糖質の未分化細胞マーカーを予備知識なしに一斉同定できることを実証し、さらに幹細胞に特異的に発現する新たな未分化細胞マーカー候補の同定に成功しました。

本解析法は細胞を記述する新しい手法を提供し、細胞の分類や特徴づけを行うことができます。今後、再生医療や創薬研究においてますます重要となる iPS 細胞等の品質評価や規格化ならびに疾患バイオマーカー⁴⁾の探索に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。

*参考資料) 2011年11月7日付 プレスリリース

http://www.hokudai.ac.jp/bureau/topics/press_release/111107_pr_lfsci.pdf

論文発表の概要

研究論文名: Total cellular glycomics allows characterizing cells and streamlining the discovery process for cellular biomarkers (総合的な細胞のグライコム解析により細胞は特徴づけが可能であり、細胞のバイオマーカー探索が加速される)

著者: 藤谷直樹, 古川潤一, 荒木香代, 武川泰啓, 朴錦花, 篠原康郎 (北海道大学大学院先端生命科学研究所 複合糖質機能化学グループ); 藤岡剛, 中村幸夫 (理化学研究所バイオリソースセンター); 西岡大樹, 田村具博 (産業技術総合研究所生物プロセス研究部門); 二階堂敏雄 (富山大学大学院医学薬学研究部); 伊東信 (九州大学大学院農学研究院)

公表雑誌: 米国科学アカデミー紀要

(Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America)

公表日: 米国東部時間 2013年1月23日

研究成果の概要

(背景)

疾患マーカーや未分化細胞マーカーに代表されるバイオマーカーの多くが複合糖質であることが知られていますが、複合糖質全般を標的にして糖鎖関連バイオマーカーを探索することは技術的な制約のために困難でした。また、細胞表面には糖タンパク質、糖脂質、プロテオグリカンなどの様々なクラスの複合糖質群が巧妙に配置されており、細胞—細胞間のコミュニケーションやシグナル伝達において重要な役割を担っていますが、これらの異なるクラスの複合糖質糖鎖の全容的な定性・定量情報を得ることは従来困難でした。そこで私たちはこの課題に取り組み、様々なクラスの複合糖質糖鎖の解析法の確立を進めてきました。

(研究手法)

質量分析法⁵⁾による細胞の複合糖質糖鎖の精密な解析法の構築を目指し、糖タンパク質の N-結合型糖鎖、O-結合型糖鎖、スフィンゴ糖脂質、グリコサミノグリカン⁶⁾ (ヘパラン硫酸、コンドロイチン硫酸/デルマトン硫酸、ヒアルロン酸) および遊離オリゴ糖からなる5つのクラスの複合糖質糖鎖を、独自に開発してきた糖鎖の精製法・標識法と質量分析法を駆使して、系統的に定性・定量解析する手法を構築しました。本解析法により、ES細胞やiPS細胞を含む18種類のヒト細胞の複合糖質糖鎖プロファイルを取得し、種々の多変量解析法を用いて細胞の機能や分類に有効な糖鎖を探索しました。

(研究成果)

本研究では上記5つのクラスの複合糖質糖鎖の統合的な解析法を確立し、各クラス合計で約200種類におよぶ細胞の複合糖質糖鎖の定量・定性解析を初めて実現しました。本解析法によりES細胞やiPS細胞を含む18種類のヒト細胞の複合糖質糖鎖の発現プロファイルを詳らかにし、個々の細胞の複合糖質糖鎖プロファイルが高度に細胞特異的であり、細胞の記述、分類、特徴づけに有用であることを明らかにしました。

また、本解析法により、既知の複合糖質の未分化細胞マーカー (SSEA-3/4/5 や Tra-1 など) を予備知識なしに一斉同定できることを実証し、さらに幹細胞に特異的に発現する新たな未分化細胞マーカー候補の同定に成功しました。

(今後への期待)

本研究により、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・定量的に明確に見えるようになり、総合的な複合糖質プロファイリングが優れた細胞の記述子となることが示されました。これらの技術は iPS 細胞等を再生医療に応用するうえで、品質の管理や癌化の恐れのある細胞集団の検出や分離への応用など、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貢献することが期待されます。今回の研究で提案された未分化細胞マーカーの有用性の評価を進めていくのと同時に、疾患モデル細胞や臨床試料を用いて疾患関連バイオマーカーや創薬標的分子の同定に展開していきたいと考えています。

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 複合糖質機能化学グループ
特任教授 篠原 康郎（しのはら やすろう）、特任助教 藤谷直樹・古川潤一
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>

用語解説

1) 複合糖質：

糖質を含む生体分子の総称で、広く動植物の組織、細胞あるいは体液中などに存在する。複合糖質は①糖タンパク質、②糖脂質、③プロテオグリカンに大別することができる。

2) 絶対定量：

「絶対定量」とは測定結果を量または濃度として得ることを目的とする定量方法を指す。

3) SSEA-3/4/5 と Tra-1：

発生段階特異的胎児性抗原と腫瘍拒絶抗原。いずれも糖鎖抗原で、未分化性を有する細胞に特徴的に検出されることから、幹細胞マーカーとして汎用されている。

4) バイオマーカー：

通常の生物学的過程、病理学的過程、もしくは治療的介入に対する薬理学的応答を反映し、客観的な評価や診断のために測定される指標。

5) 質量分析法：

試料分子をイオン化して気相イオンにした後、質量／電荷比に従って電磁的に分離して各イオンの存在度を測定する方法。分子構造解析、定性・定量分析などに用いられる。

6) グリコサミノグリカン：

プロテオグリカンの糖部分はグリコサミノグリカンと呼ばれ、二糖の単位の繰り返し構造を持ち、ヒアルロン酸、コンドロイチン硫酸類、デルマタン硫酸、ケラタン硫酸、ヘパラン硫酸、ヘパリンなどが代表的なものである。