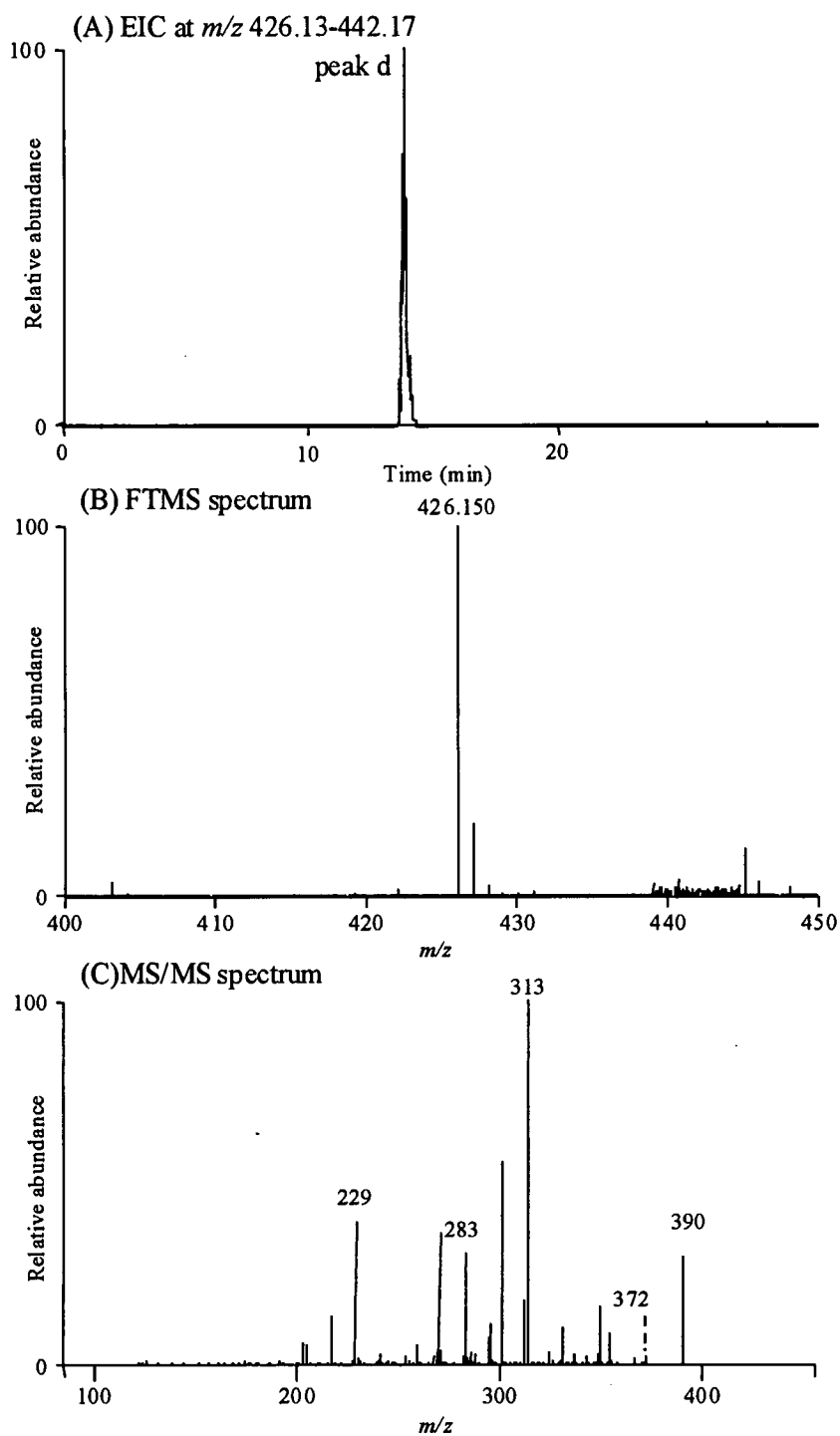
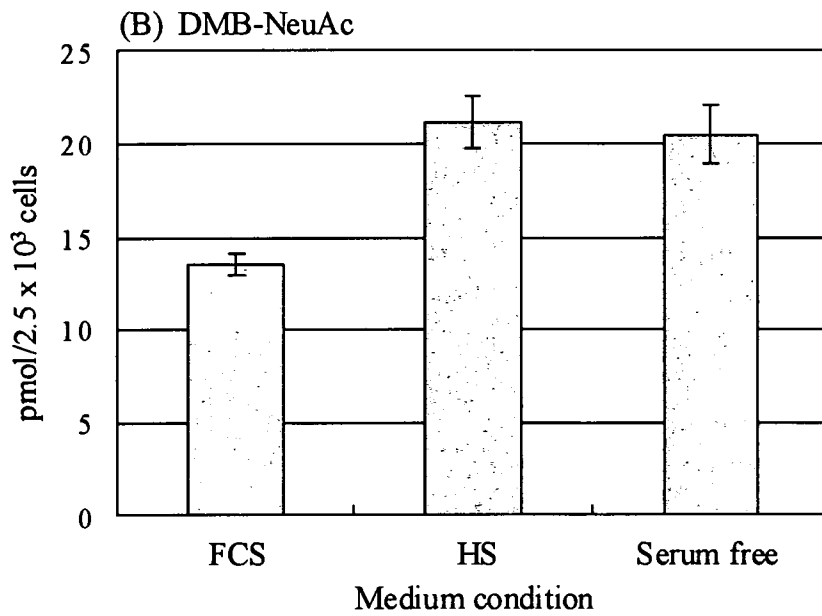
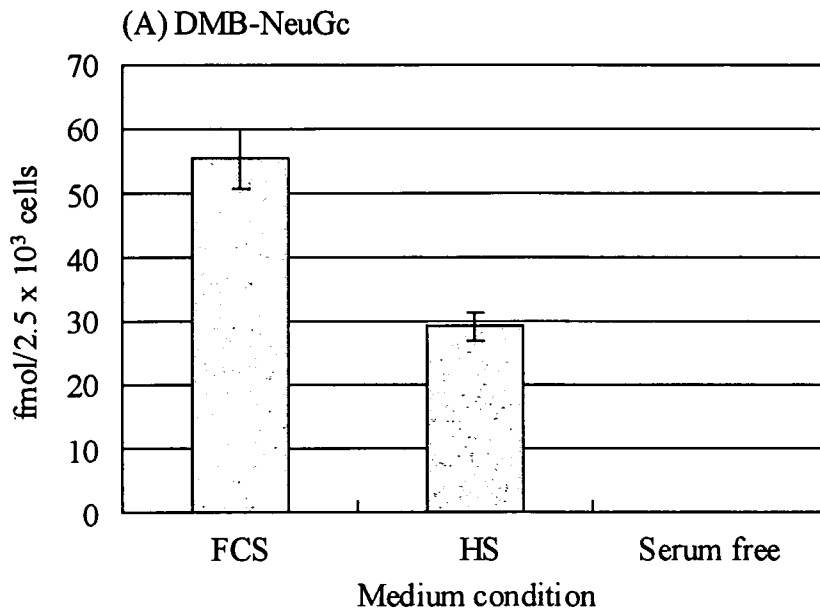


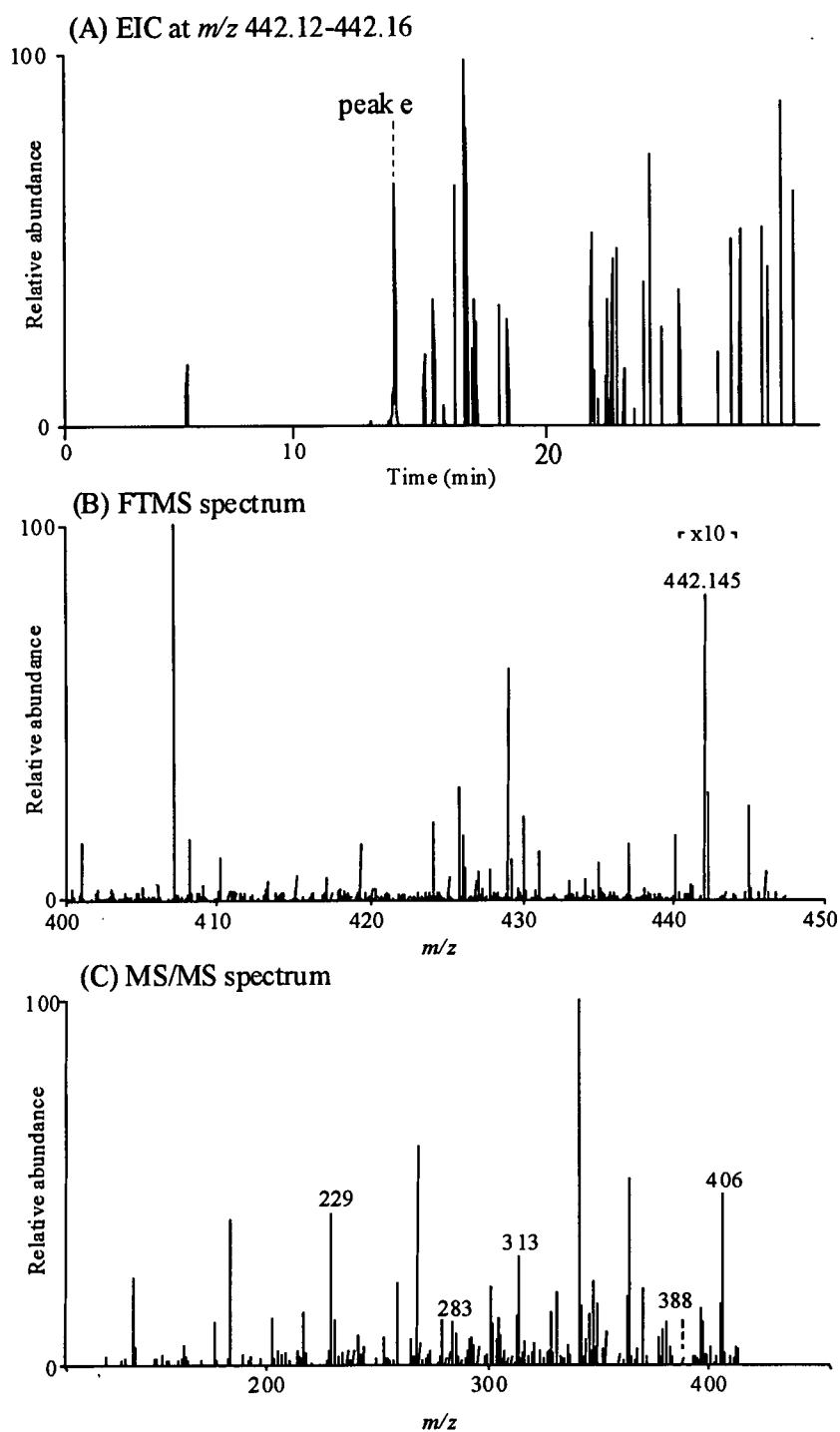
**Fig.48** 4 10% FCS 添加培地で培養したHL-60 細胞 ( $2.5 \times 10^3$ ) 膜画分由来DMB-NeuGcの検出. (A) SIM によって得られたEIC ( $m/z$  442.12-442.16). (B) peak c のマススペクトル, (C) peak c で検出された  $[M+H]^+$  ( $m/z$  442.145) のMS/MS スペクトル.



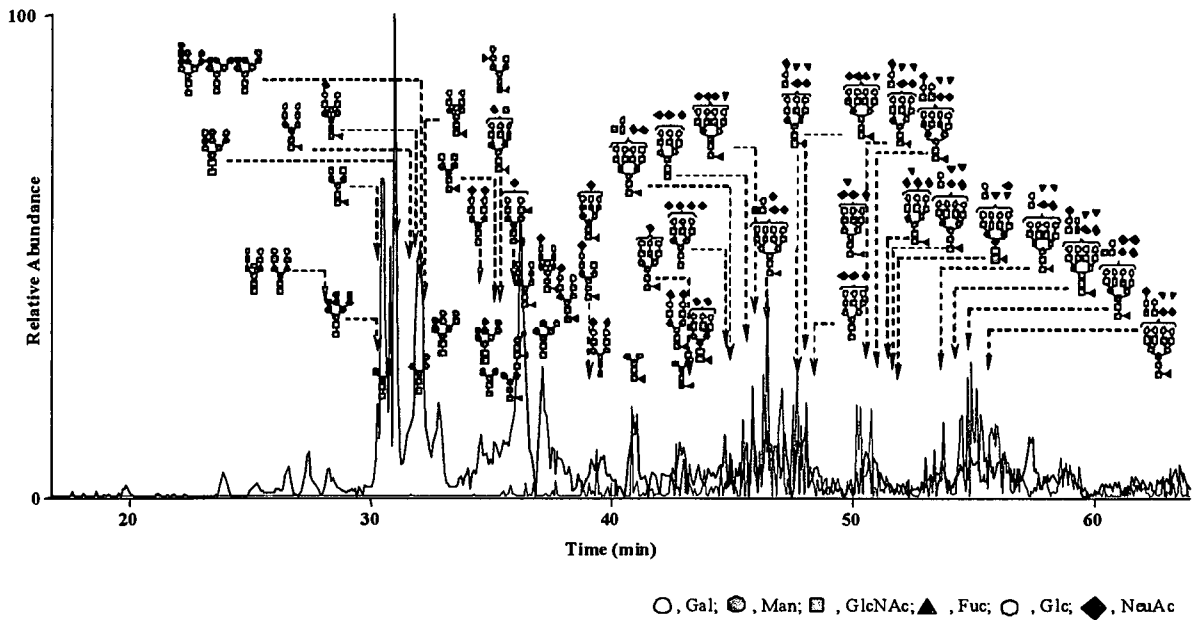
**Fig.49** 10% FCS 添加培地で培養したHL-60 細胞 ( $2.5 \times 10^3$ ) 膜面分由来DMB-NeuAcの検出. (A) SIM によって得られたEIC ( $m/z$  426.13-426.17). (B) peak d のマススペクトル, (C) peak d で検出された  $[M + H]^+$  ( $m/z$  426.150) のMS/MS スペクトル.



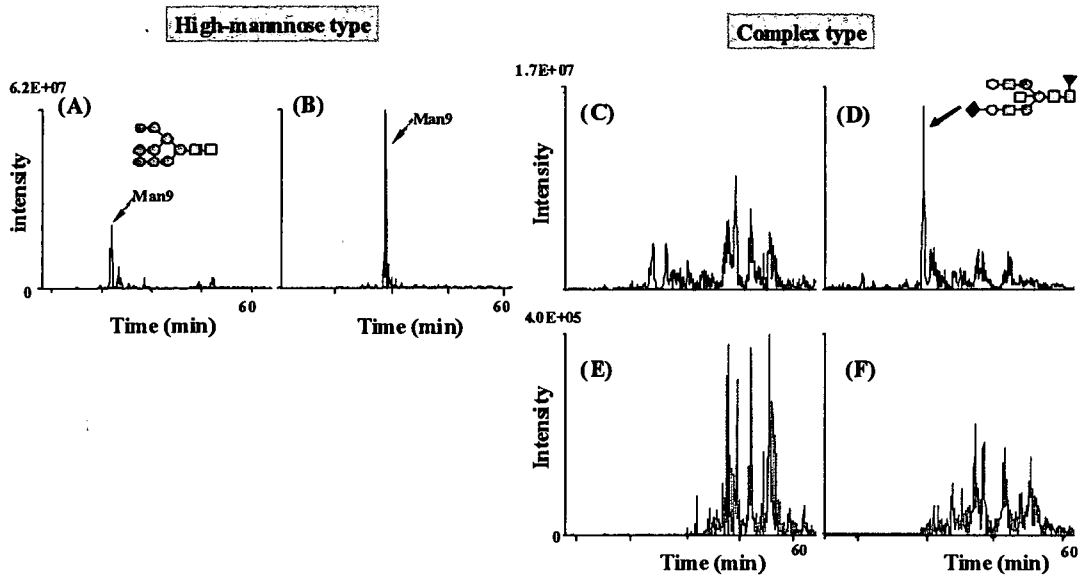
**Fig.50** 10% FCS, 10% ヒト血清 (HS) 及び 無血清培地で培養した HL-60 細胞 ( $2.5 \times 10^3$ ) 膜面分由来 (A) NeuGc 及び (B) NeuAc の定量. 数値は平均値  $\pm$  S.D. として示す (n=3).



**Fig.51** 10% ヒト血清 添加培地で培養したHL-60 細胞 ( $2.5 \times 10^3$ ) 膜  
 画分由来DMB-NeuGcの検出. (A) SIMによって得られたEIC ( $m/z$   
 442.12-442.16). (B) peak e のマスペクトル, (C) peak e で検出され  
 た  $[M+H]^+$  ( $m/z$  442.145) のMS/MS スペクトル



**Fig.52** FCS添加培地で培養したHL-60細胞の糖鎖プロファイルと糖鎖推定構造. 青: ポジティブイオンモード; 赤: ネガティブイオンモード



**Fig.53** ヒト血清 (HS) 添加培地及び無血清培地で培養した HL-60 細胞の糖鎖プロファイル. (A) HS 添加培地で培養した細胞の高マンノース糖鎖プロファイル. (B) 無血清培地で培養した細胞の高マンノース糖鎖プロファイル. (C) HS 添加培地で培養した細胞の複合型糖鎖プロファイル(ポジティブイオン測定). (D) 無血清培地で培養した細胞の複合型糖鎖プロファイル(ポジティブイオン測定). (E) HS 添加培地で培養した細胞の複合型糖鎖プロファイル(ネガティブイオン測定). (F) 無血清培地で培養した細胞の複合型糖鎖プロファイル(ネガティブイオン測定).

**Table 12** マウス腎臓に存在する主な糖鎖の糖組成及び推定構造

Sugar No.	Composition <sup>a</sup>	Deduced structure	Lewis type
a	dHex <sub>3</sub> Hex <sub>5</sub> HexNAC <sub>5</sub>		Le <sup>x</sup>
b	dHex <sub>2</sub> Hex <sub>5</sub> HexNAC <sub>5</sub>		Le <sup>x</sup>
c	Hex <sub>8</sub> HexNAC <sub>2</sub>		
d	Hex <sub>9</sub> HexNAC <sub>2</sub>		
e	dHexHex <sub>4</sub> HexNAC <sub>5</sub>		Le <sup>x</sup>
f	dHex <sub>3</sub> Hex <sub>5</sub> HexNAC <sub>5</sub>		Le <sup>x</sup>
g	Hex <sub>6</sub> HexNAC <sub>2</sub>		
h	dHex <sub>2</sub> Hex <sub>4</sub> HexNAC <sub>5</sub>		Le <sup>x</sup>
i	Hex <sub>7</sub> HexNAC <sub>2</sub>		
j	Hex <sub>5</sub> HexNAC <sub>2</sub>		

<sup>a</sup> dHex, deoxyhexose; Hex, hexose; HexNAC, *N*-acetylhexosamine  
 △, Fuc; ●, Gal; ○, Man; □, GlcNAc

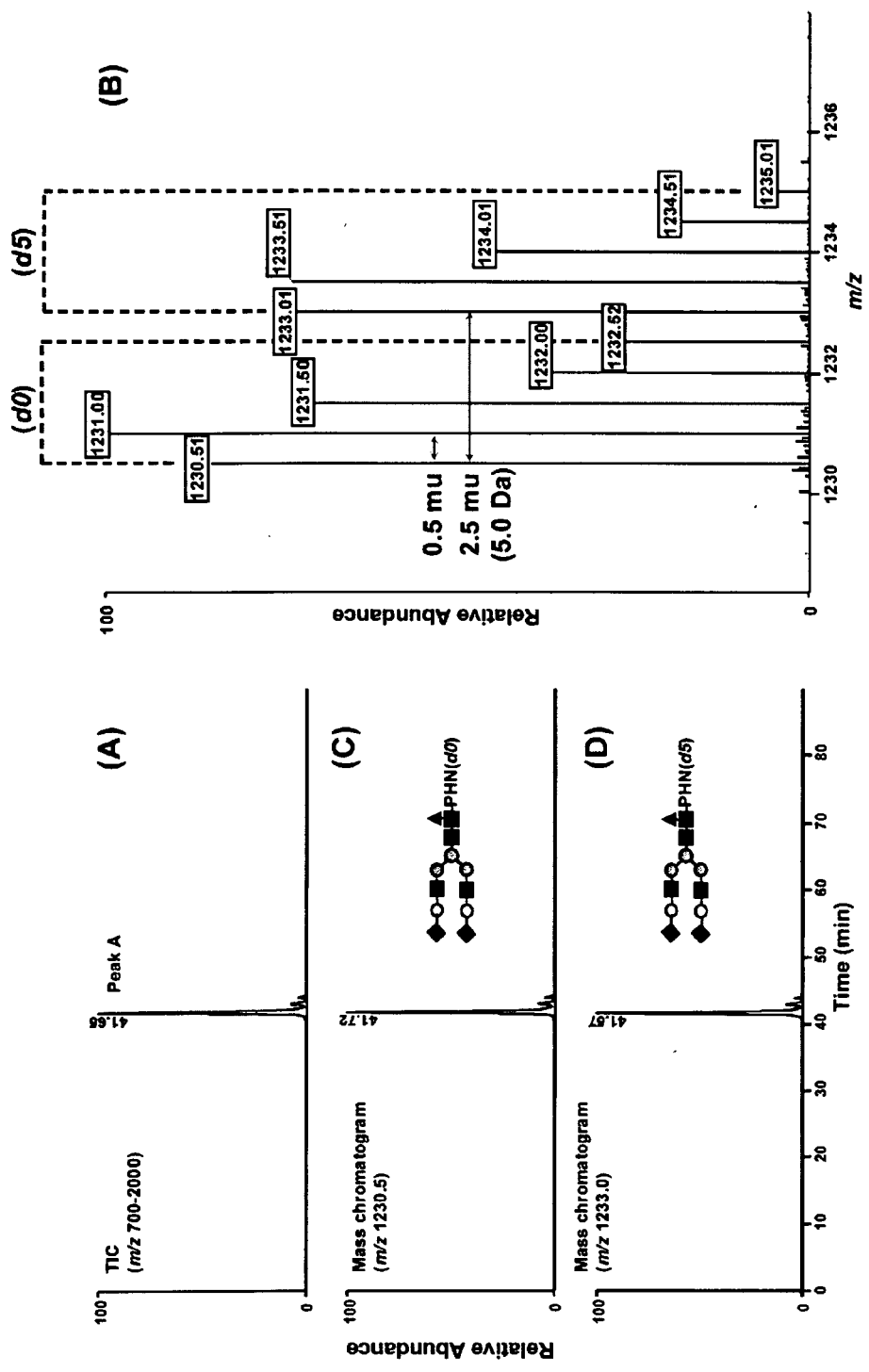


Fig.54  $d_0$  及び  $d_5$ -PHN 糖鎖の LC/FTMS. (A)  $d_0$  及び  $d_5$ -PHN 糖鎖の標準ジシアリル2本鎖糖鎖混合物の LC/MS により得られた TIC; (B) Peak A のマススペクトル; (C)  $d_0$ -PHN 糖鎖のマス chromatogram; (D)  $d_5$ -PHN 糖鎖のマス chromatogram.

LC: Instrument, NanoFrontier nLC (Hitachi); Column, Hypercarb (0.075 x 150 mm); Trap cartridge, Graphitized carbon cartridge (0.3 x 5 mm). (Flow rate, 200 nL/min; A buffer, 2 %  $\text{CH}_3\text{CN}/5$  mM ammonium acetate (pH 9.6); B buffer, 80 %  $\text{CH}_3\text{CN}/5$  mM ammonium acetate (pH 9.6); Gradient, 2 - 90 % of B in 60 min; MS: Instrument, LTQ-FT (ThermoFisher Scientific); Ion mode, positive ion.  
 ◆, N-アセチルノイラミン酸; ○, ガラク トース; ■, N-アセチルグルコサミン; ●, マンノース; ▲, フェロース; PHN, フェニルヒ ドラジン.

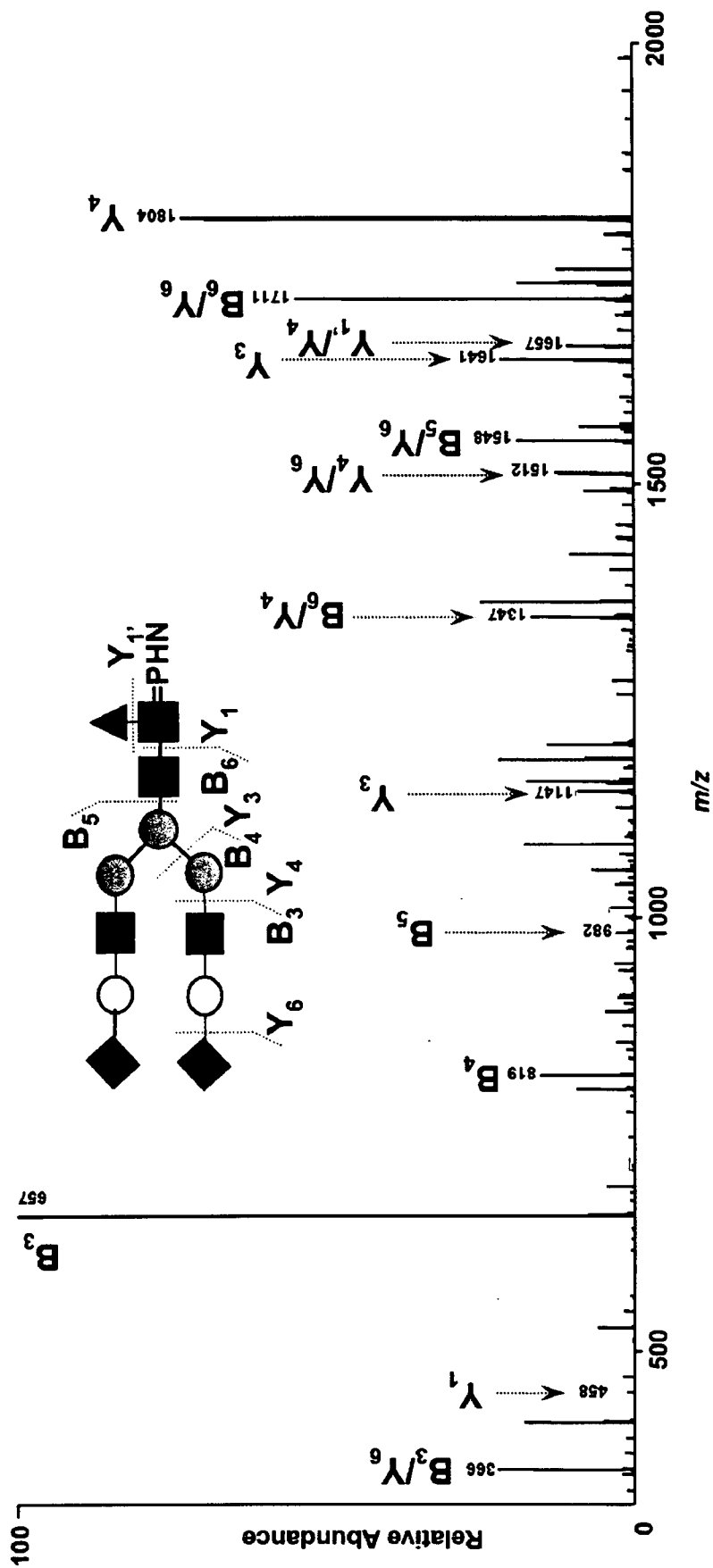


Fig.55 d<sub>0</sub>-PHN糖鎖-のMS/MSスペクトル

◆, N-アセチルノイラミン酸; ○, ガラクトース; ■, N-アセチルグルコサミン; ●, マンノース; ▲, フコース; PHZ, フェニルヒドラジン.



モデル細胞: rapid growth HL-60 細胞

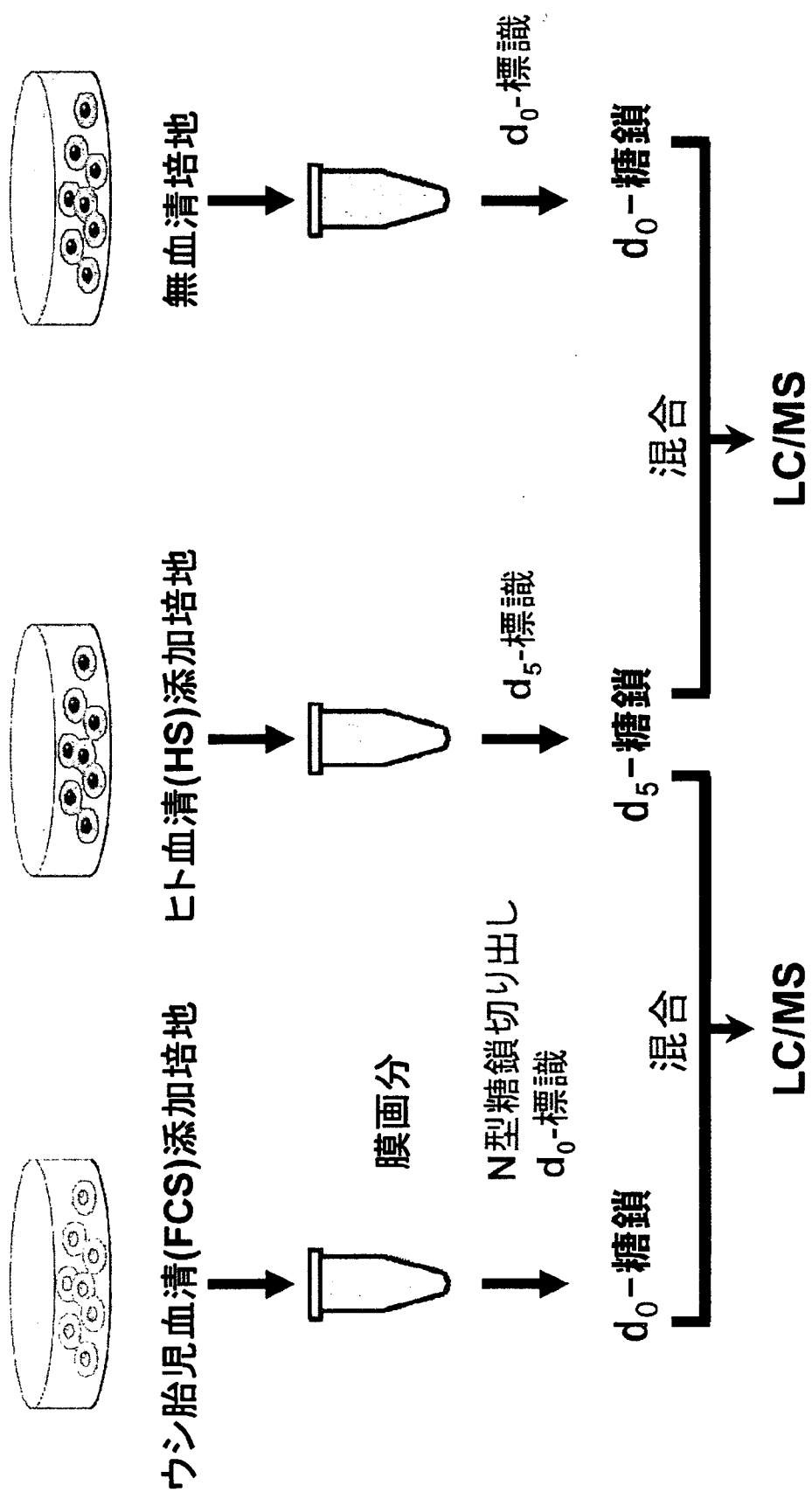


Fig.56 異なる培養条件で培養した細胞の膜画分由来糖鎖の差異解析

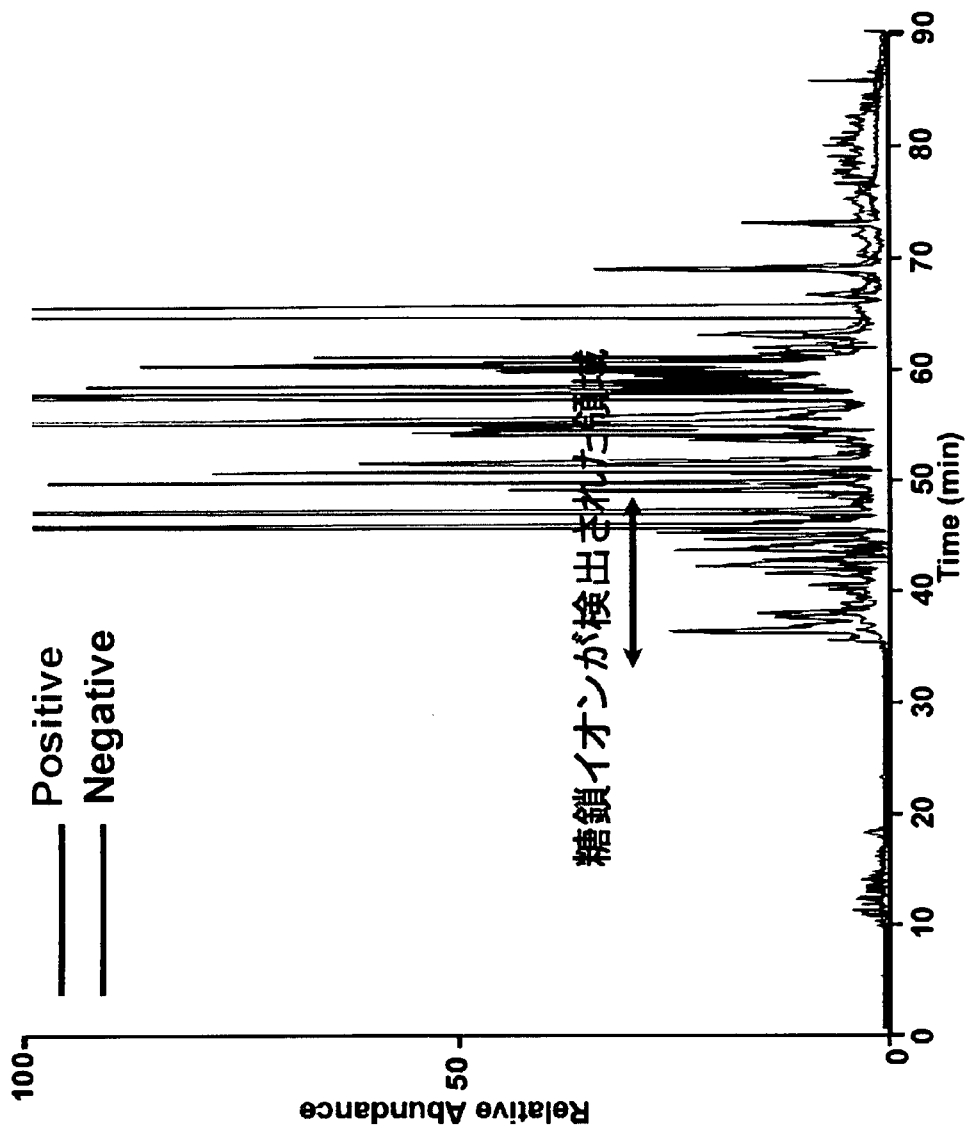


Fig.57 FCS及びHS添加地で培養した細胞から調製した $d_0$ -PHN糖鎖及び $d_5$ -PHN-HS糖鎖混合試料のLC/MSにより得られたトータルイオンクロマトグラム (TIC)

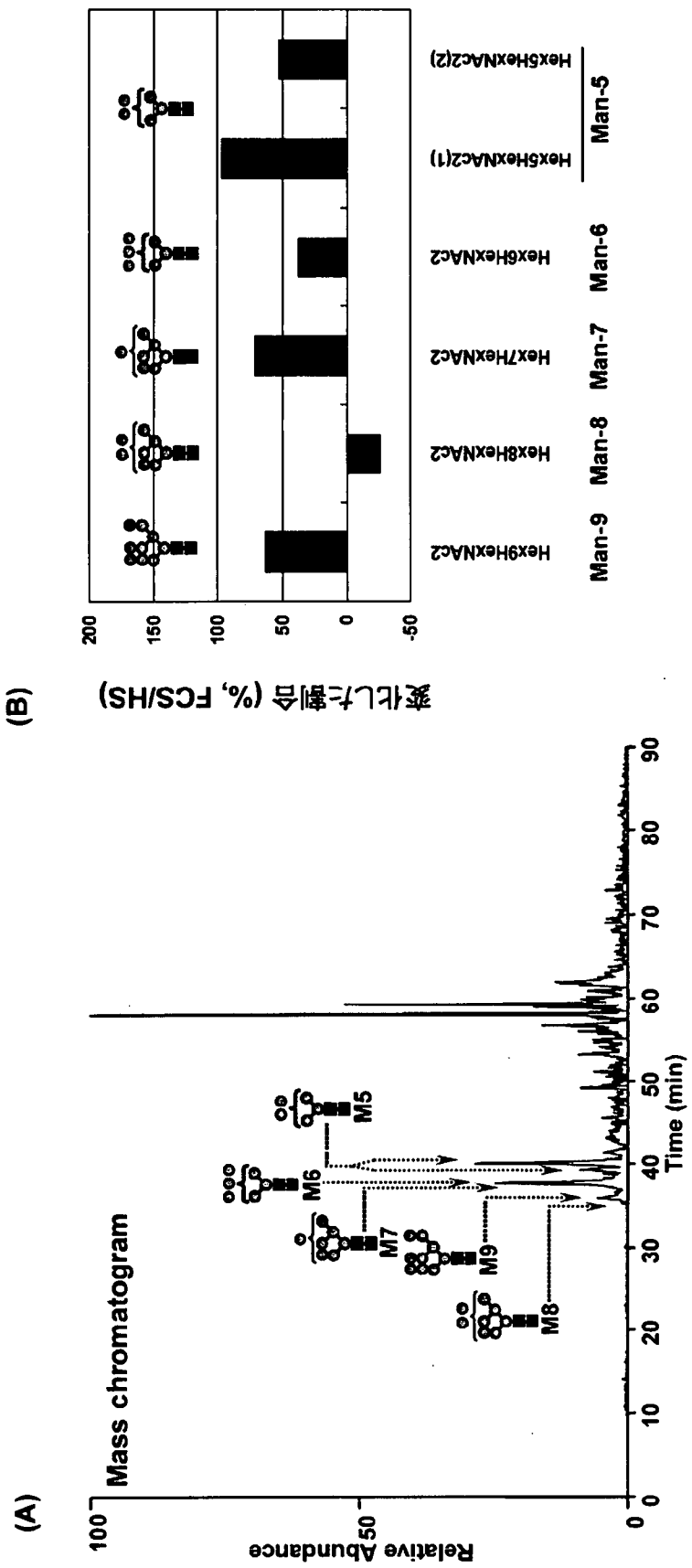
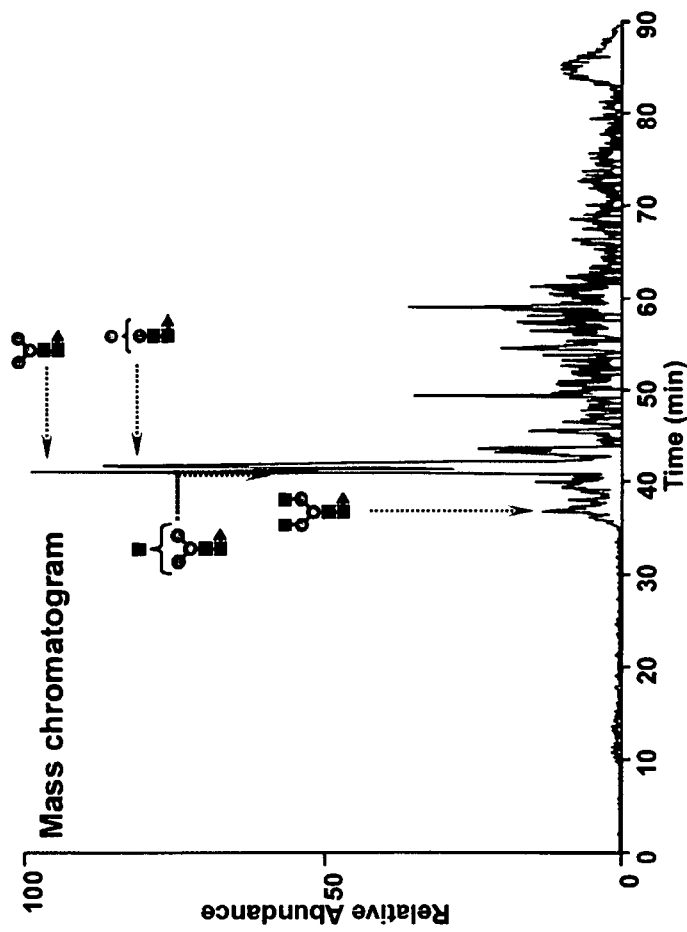


Fig.58 高マンノース型糖鎖の比較定量解析 (FCS vs HS)

(A)



(B)

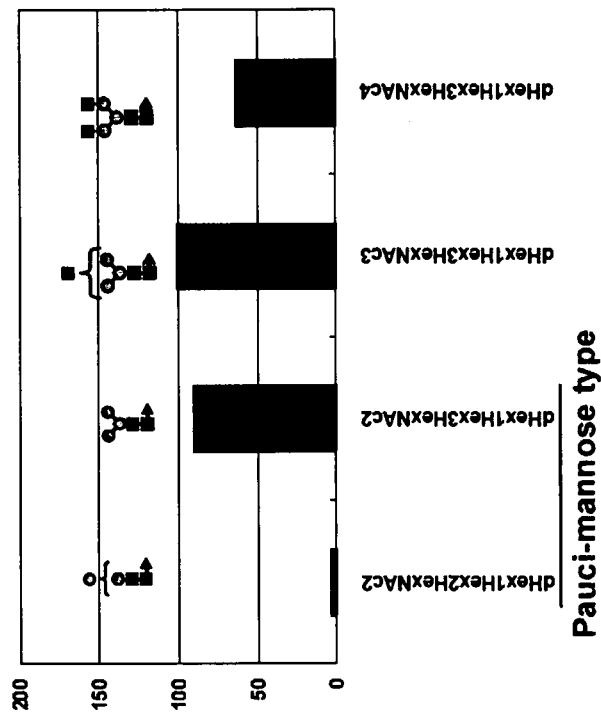
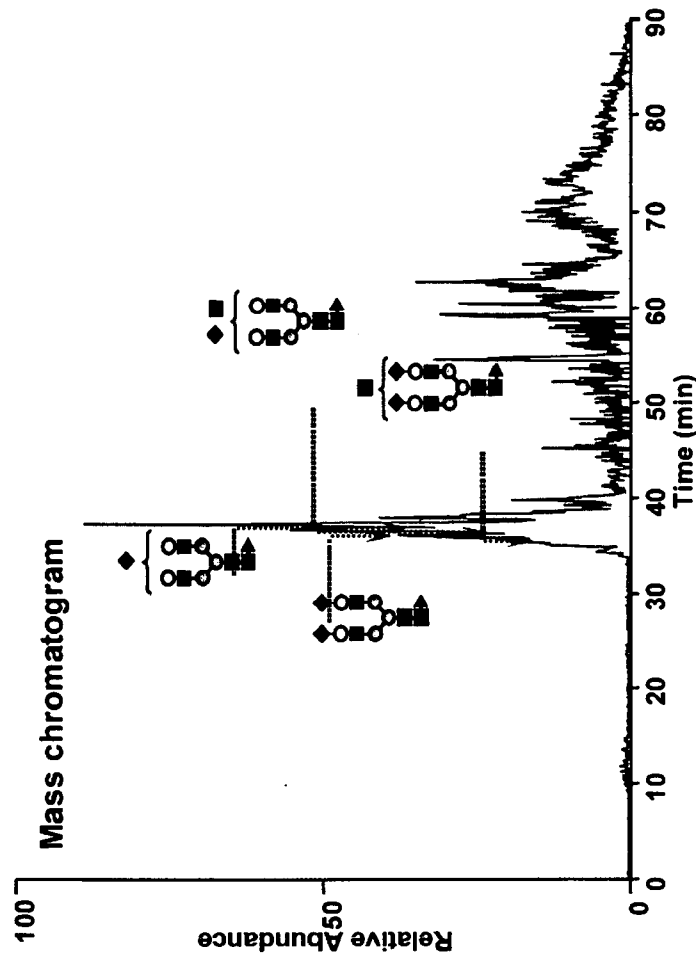


Fig.59 低分子量糖鎖の比較定量解析 (FCS vs HS)

(A)



(B)

変化した割合 (% , FCS/HS)

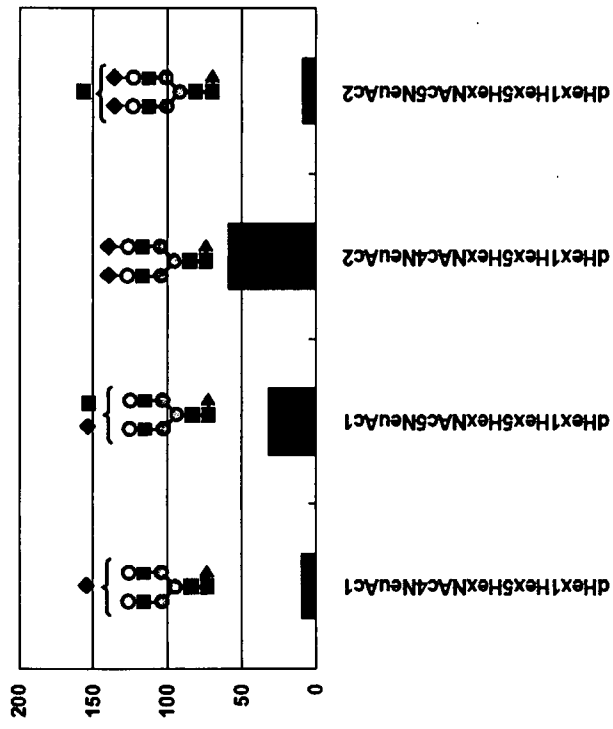
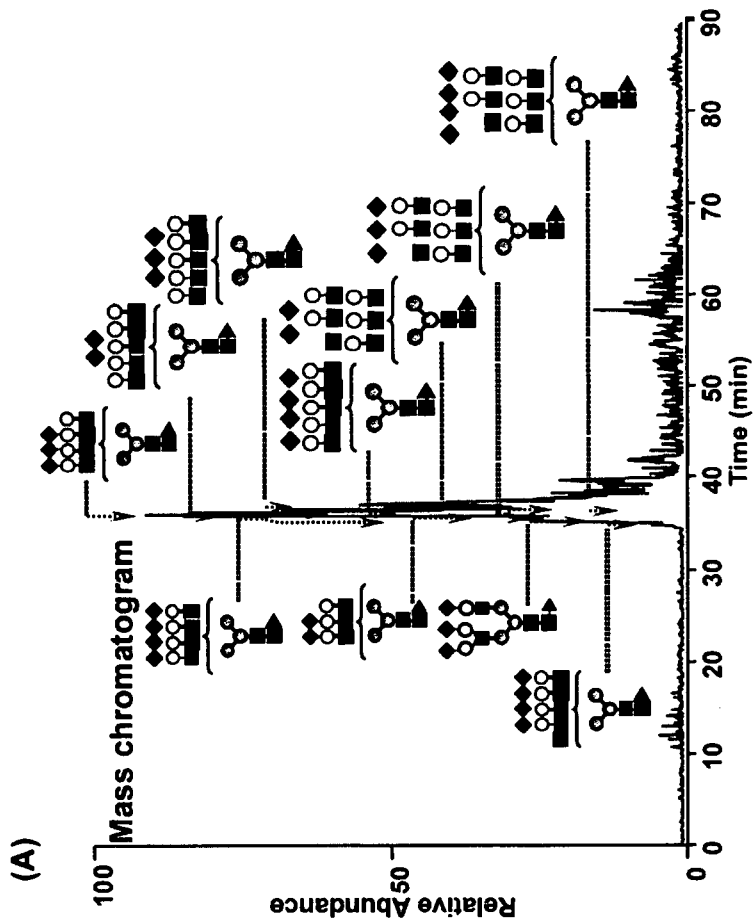


Fig.60 2本鎖糖鎖の比較定量解析 (FCS vs HS)



(B) 変化した割合 (% , FCS/HS)

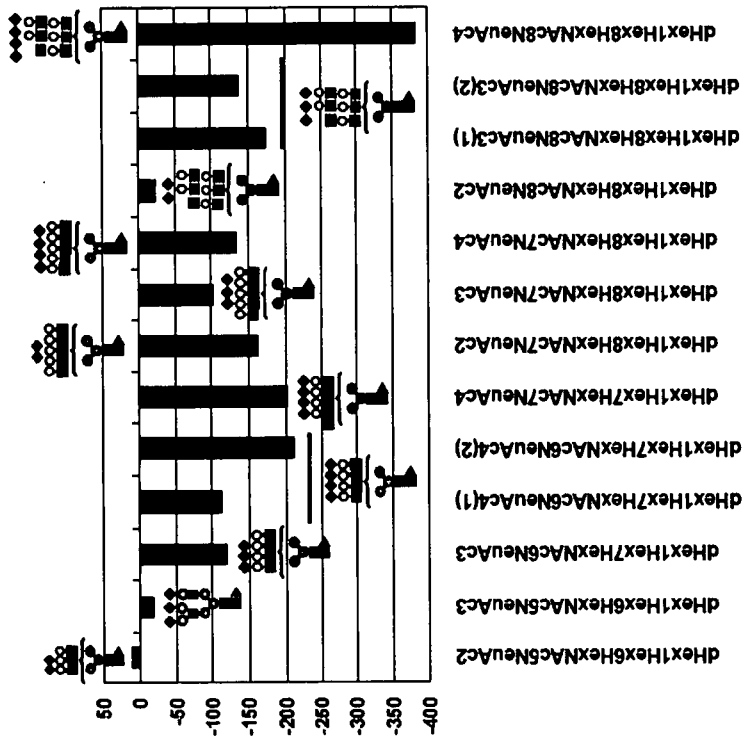


Fig.61 3及び4本鎖糖鎖の比較定量解析 (FCS vs HS)

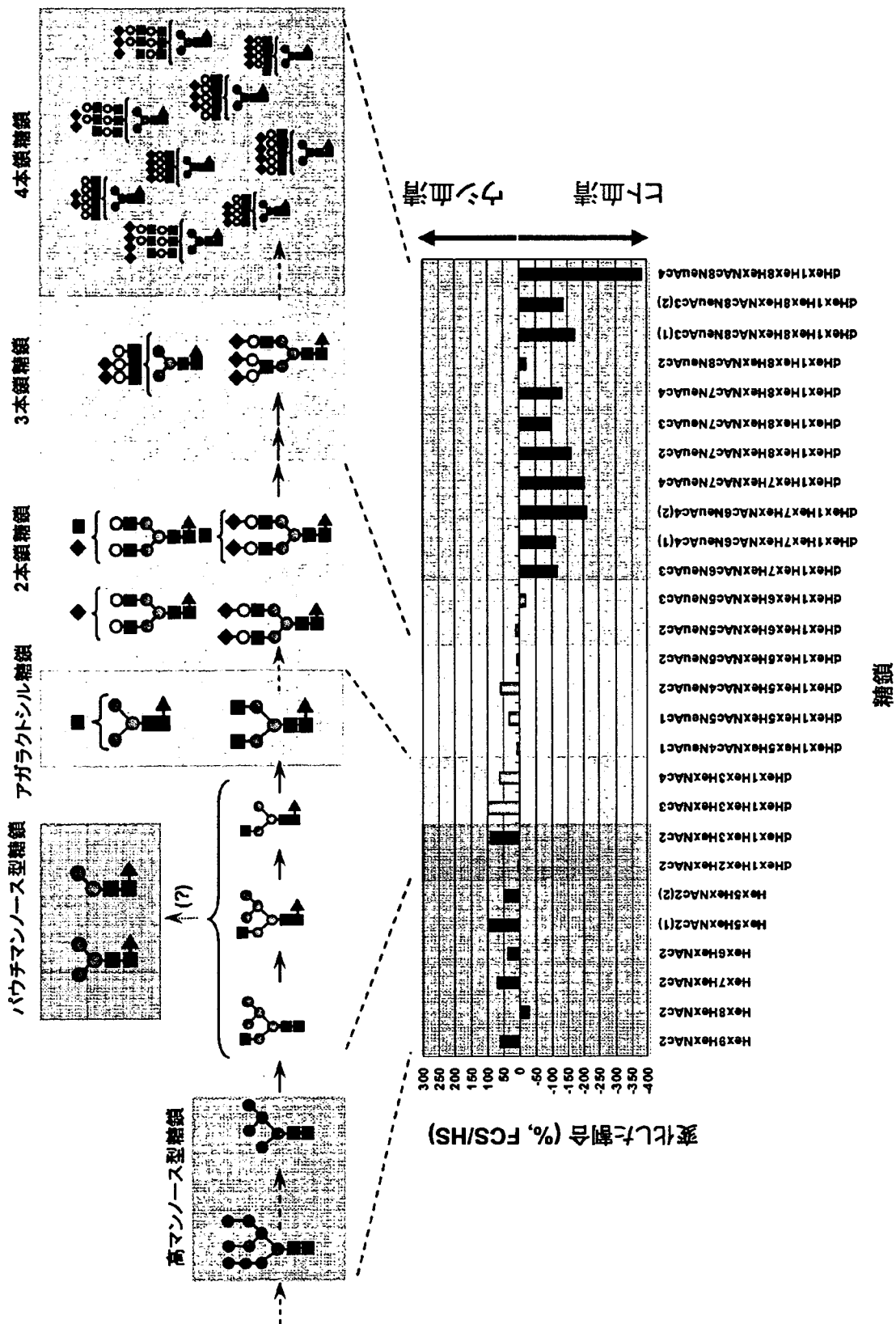


Fig.62 N結合型糖鎖生合成経路とFCS及びHS添加培地で培養したHL60RG膜画分から糖鎖の比較定量解析

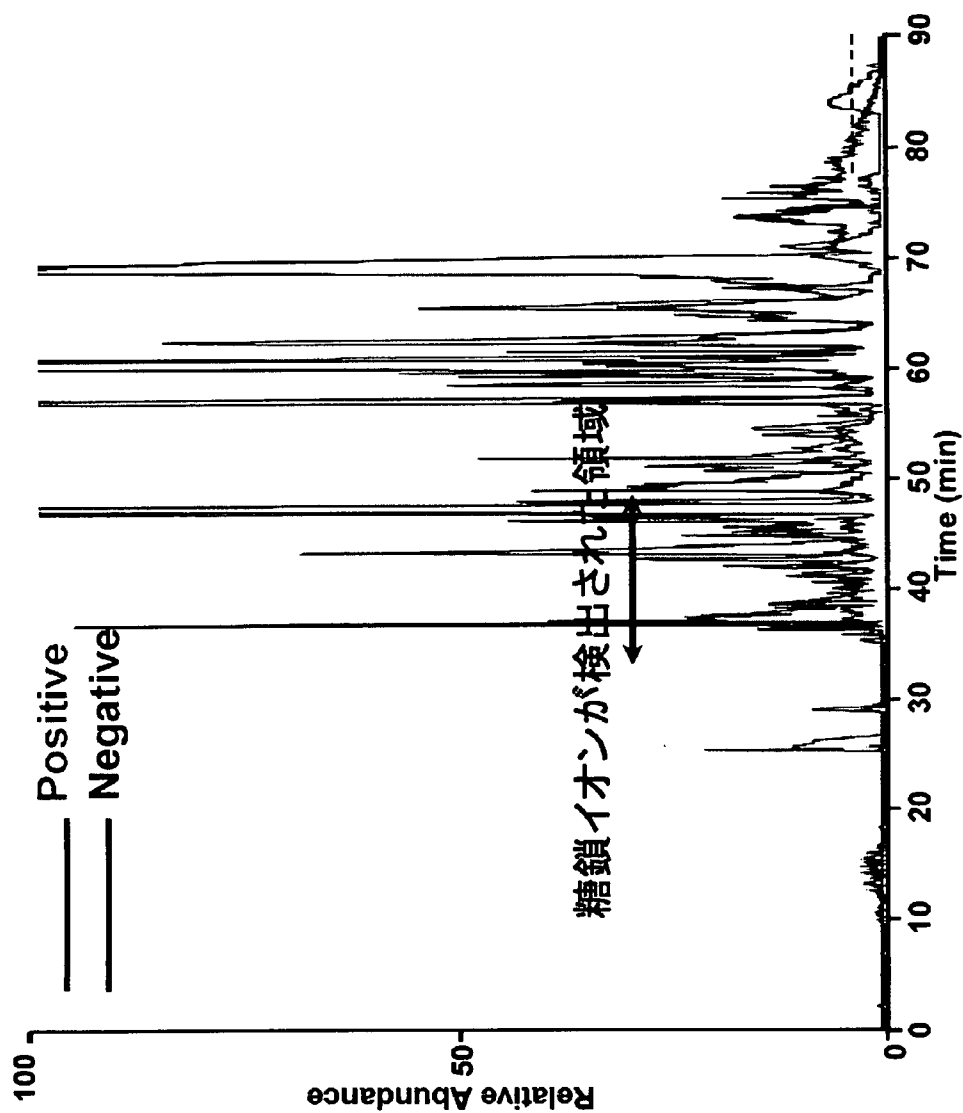
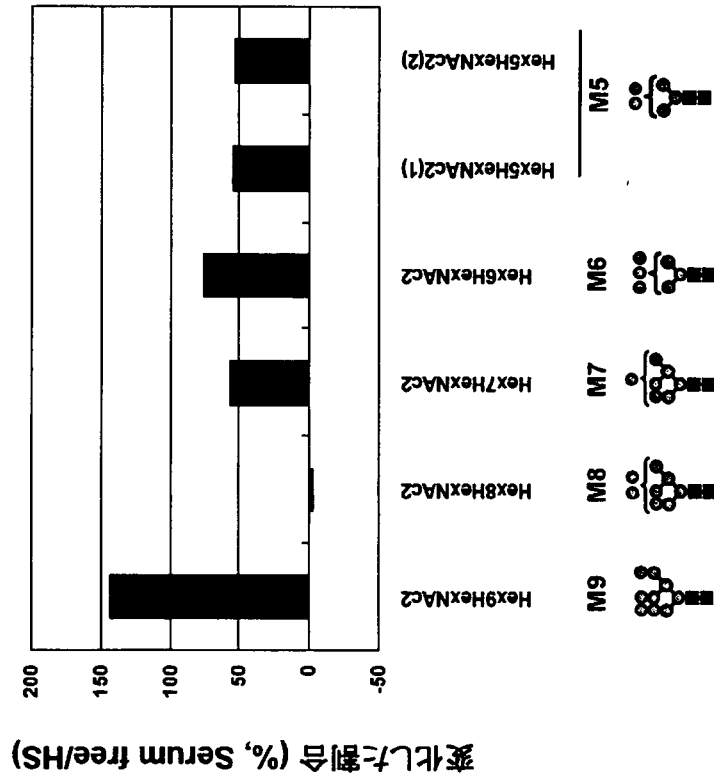


Fig. 63 無血清培地及びHS添加培地で培養した細胞から調製した $d_0$ -PHN糖鎖及び $d_5$ -PHN-HS糖鎖混合試料のLC/MSにより得られたトータルイオンクロマトグラム (TIC)



(B)



(A)

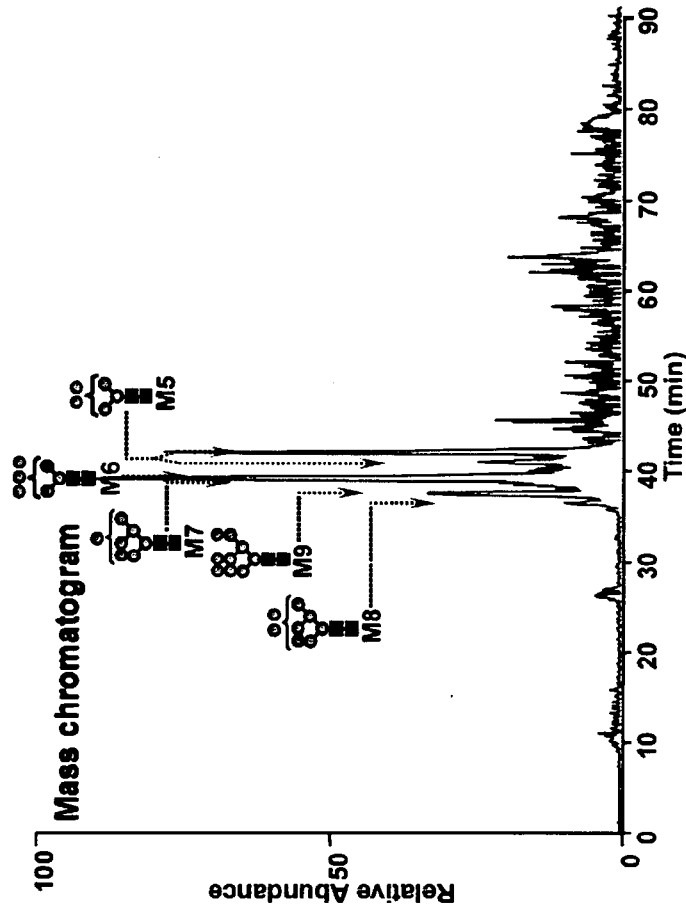
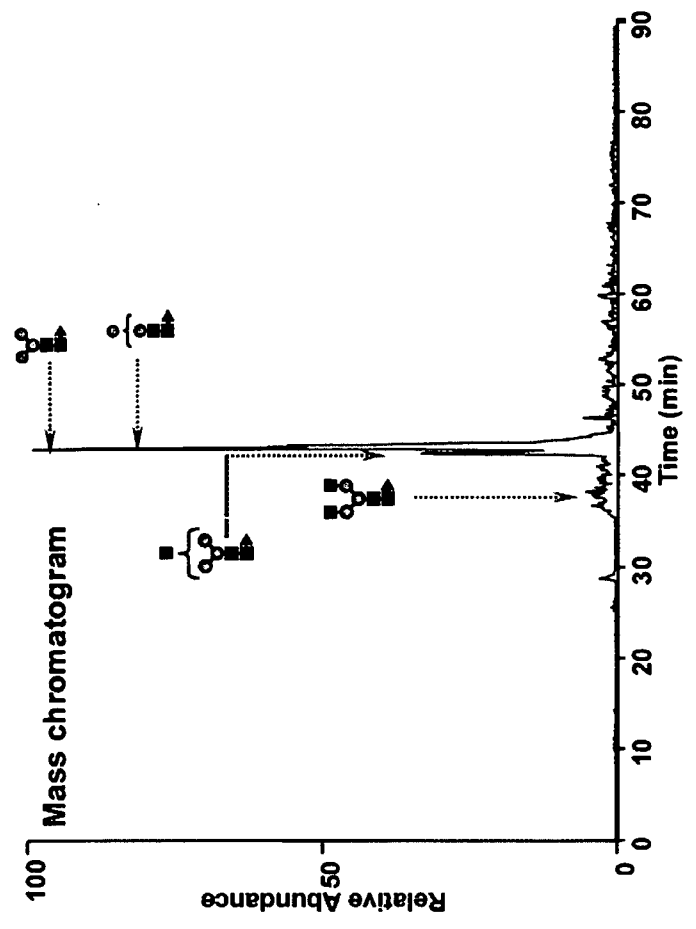


Fig.64 高マンノース型糖鎖の比較定量解析 (serum free vs HS)

(A)



(B)

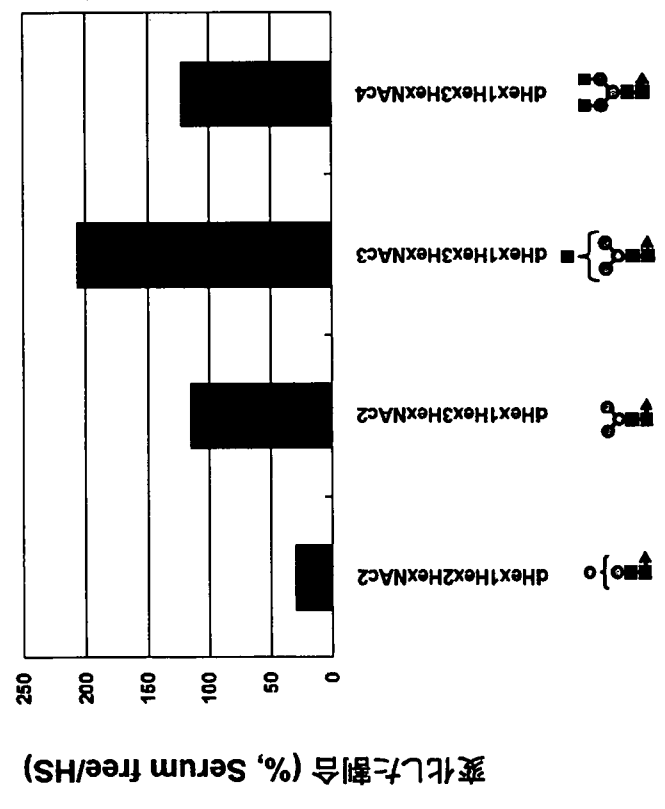


Fig.65 低分子量糖鎖の比較定量解析 (serum free vs HS)

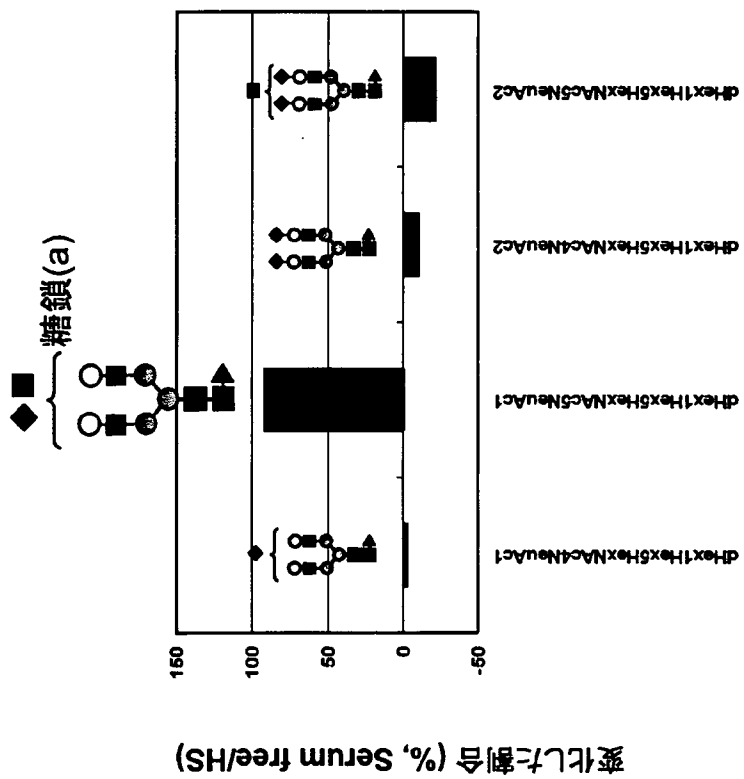
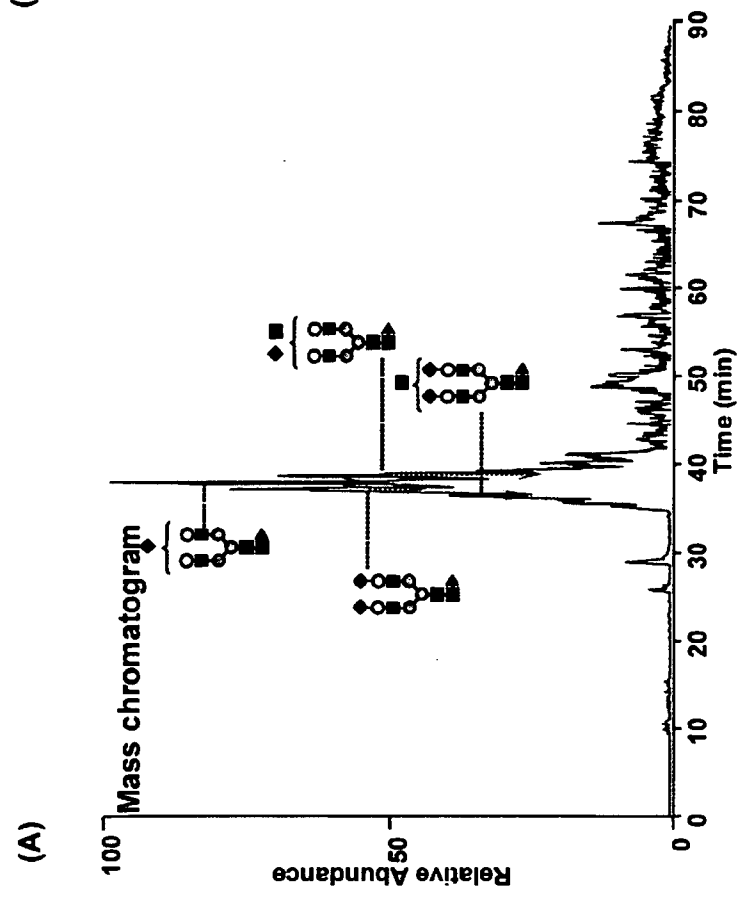


Fig.66 2本鎖糖鎖の比較定量解析 (serum free vs HS)

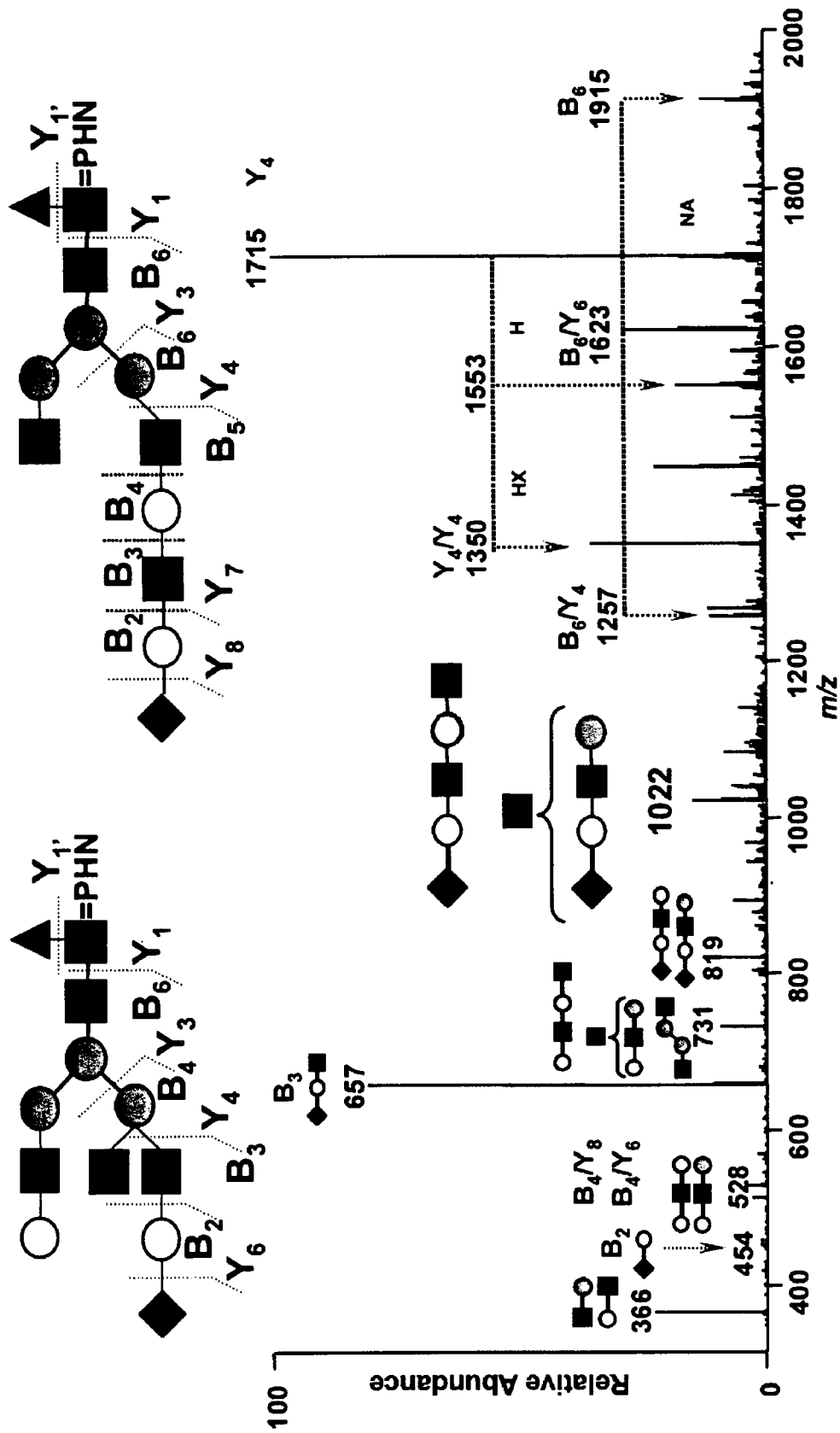


Fig.67 糖鎖(a)のMS/MSスペクトル