

Fig. 15 10% FCS 添加培地で培養したHL-60 細胞 (2.5×10^3) 膜画分由来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.

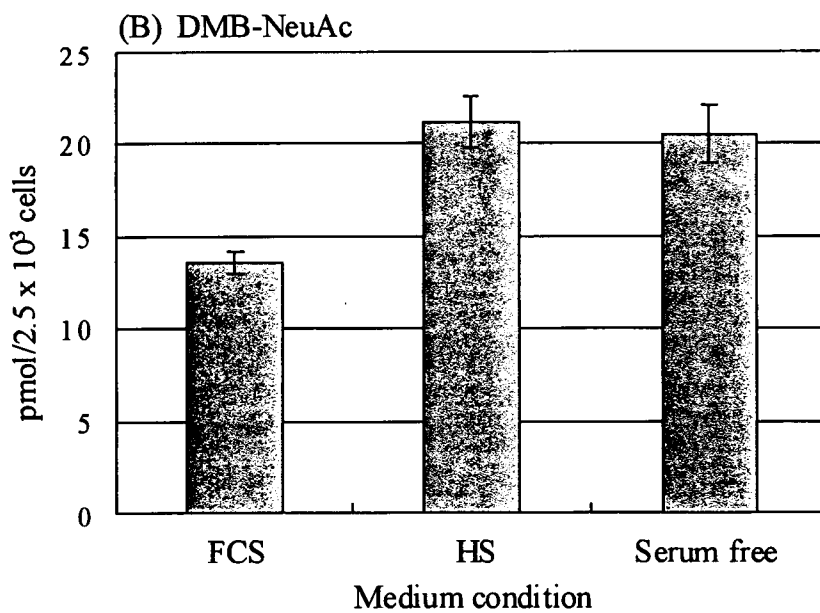
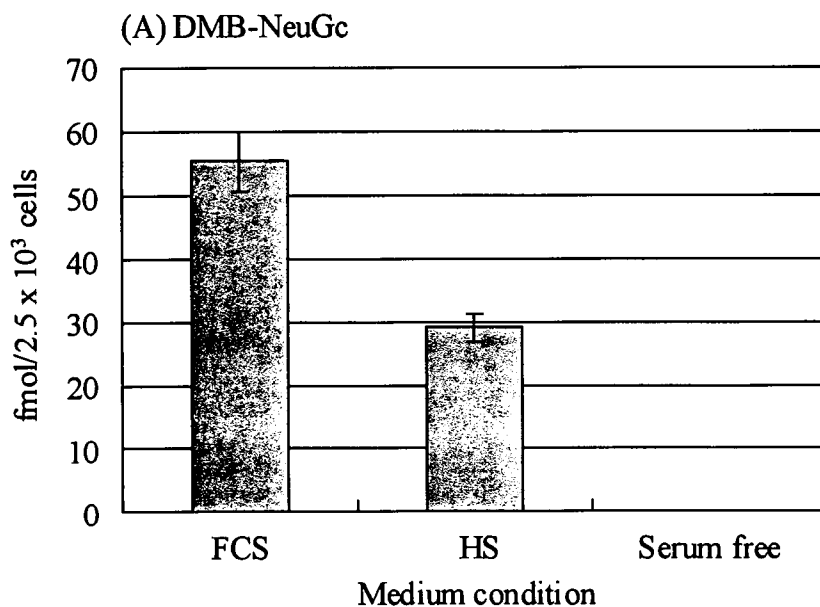


Fig. 16 10% FCS, 10% ヒト血清 (HS) 及び無血清培地で培養した HL-60 細胞 (2.5×10^3) 膜画分由来 (A) NeuGc 及び (B) NeuAc の定量. 数値は平均値 \pm S.D. として示す ($n=3$).

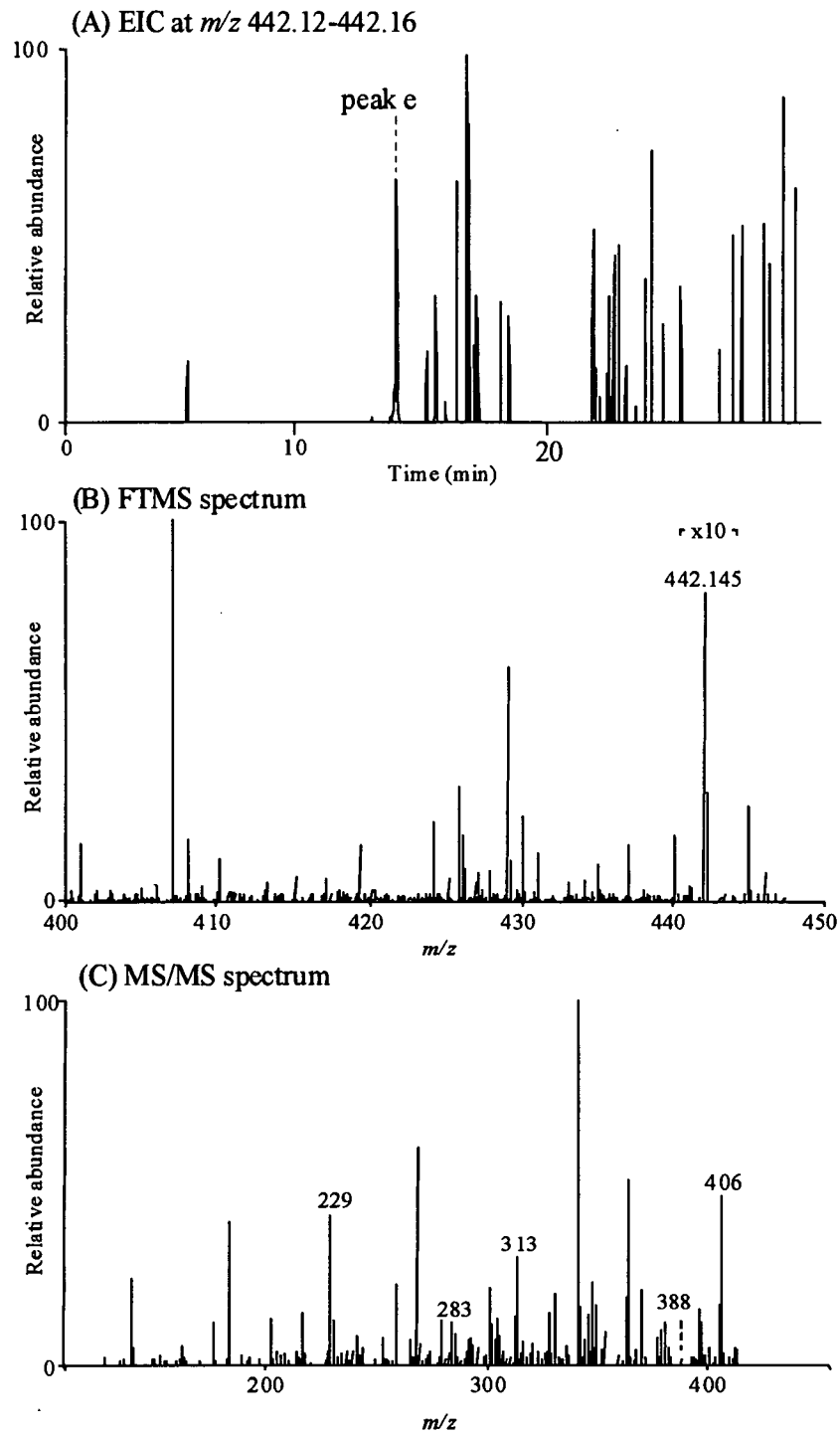


Fig. 17 10% ヒト血清 添加培地で培養したHL-60 細胞 (2.5×10^3) 膜画分由来DMB-NeuGcの検出. (A) SIMによって得られたEIC (m/z 442.12-442.16). (B) peak eのマススペクトル, (C) peak eで検出された $[M+H]^+$ (m/z 442.145) のMS/MS スペクトル

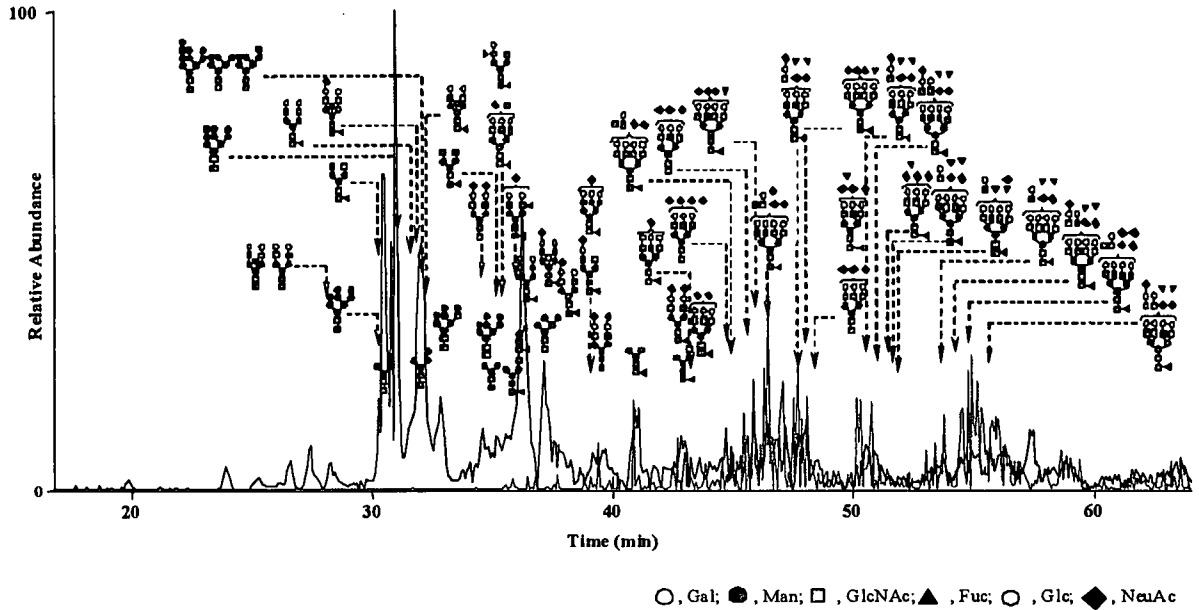


Fig. 18 FCS添加培地で培養したHL-60細胞の糖鎖プロフィールと糖鎖推定構造. 青: ポジティブイオンモード; 赤: ネガティブイオンモード

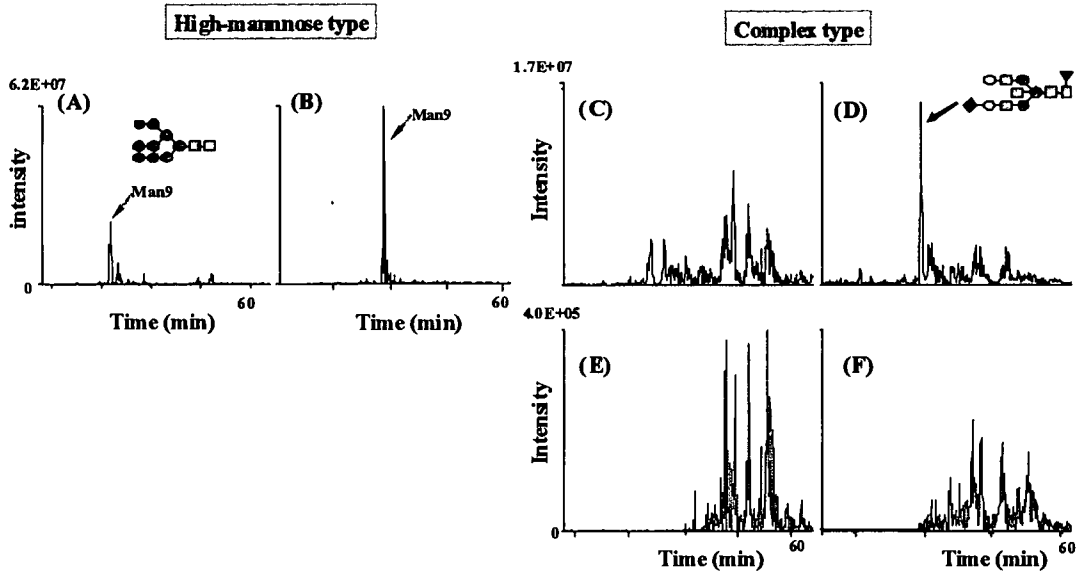


Fig. 19 ヒト血清 (HS) 添加培地及び無血清培地で培養した HL-60 細胞の糖鎖プロフィール. (A) HS 添加培地で培養した細胞の高マンノース糖鎖プロフィール. (B) 無血清培地で培養した細胞の高マンノース糖鎖プロフィール. (C) HS 添加培地で培養した細胞の複合型糖鎖プロフィール(ポジティブイオン測定). (D) 無血清培地で培養した細胞の複合型糖鎖プロフィール(ポジティブイオン測定). (E) HS 添加培地で培養した細胞の複合型糖鎖プロフィール(ネガティブイオン測定). (F) 無血清培地で培養した細胞の複合型糖鎖プロフィール(ネガティブイオン測定).

Table 1 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 ^a	Deduced structure	Lewis type
a	dHex ₃ Hex ₅ HexNAC ₅		Le ^x
b	dHex ₂ Hex ₅ HexNAC ₅		Le ^x
c	Hex ₈ HexNAC ₂		
d	Hex ₉ HexNAC ₂		
e	dHexHex ₄ HexNAC ₅		Le ^x
f	dHex ₃ Hex ₅ HexNAC ₅		Le ^x
g	Hex ₆ HexNAC ₂		
h	dHex ₂ Hex ₄ HexNAC ₅		Le ^x
i	Hex ₇ HexNAC ₂		
j	Hex ₅ HexNAC ₂		

^a dHex, deoxyhexose; Hex, hexose; HexNAC, *N*-acetylhexosamine
 △, Fuc; ●, Gal; ○, Man; □, GlcNAC

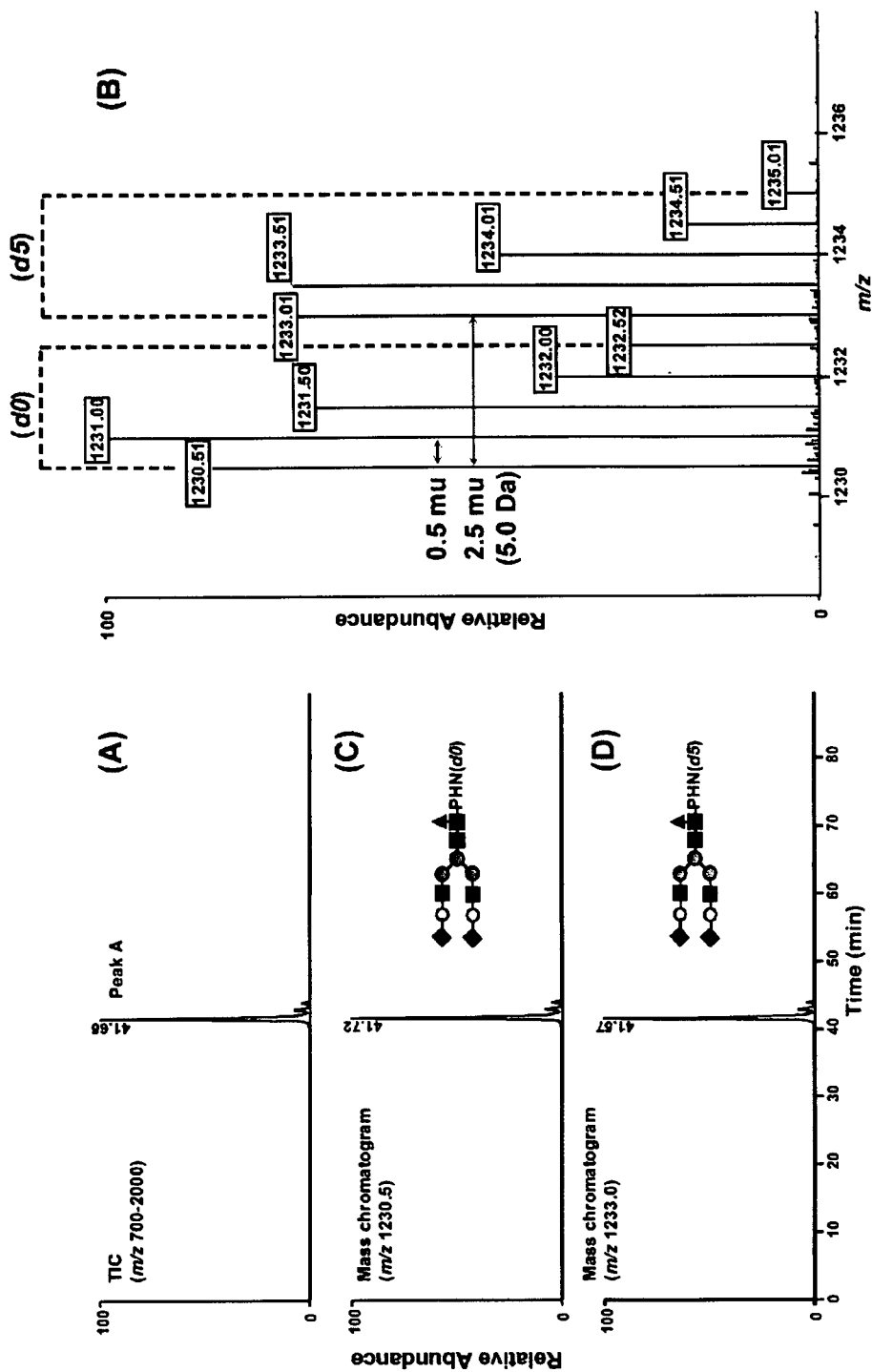


Fig. 20 d_0 -及 d_5 -PHN糖鎖のLC/FTMS. (A), d_0 -及 d_5 -PHN糖鎖の標準ジシアリル2本鎖糖鎖混合物のLC/MSにより得られたTIC; (B), peak Aのマススペクトル; (C), d_0 -PHN糖鎖のマスプロファイル; (D), d_5 -PHN糖鎖のマスプロファイル.

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; ▲, フコース; PHN, フェニルヒドラージン.

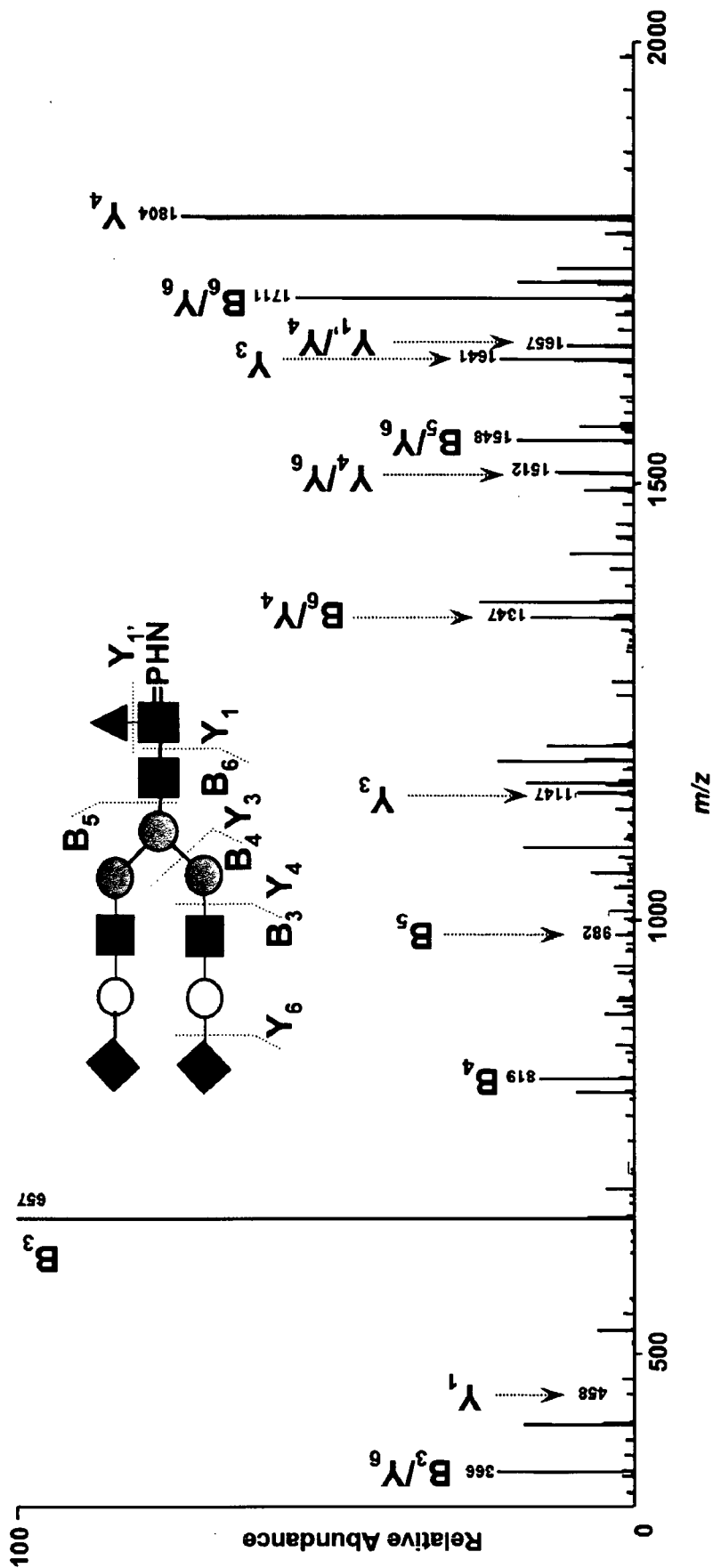


Fig.21 d₀-PHN糖鎖-のMS/MSスペクトル

◆, N-アセチルノイラムミン酸; ○, 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

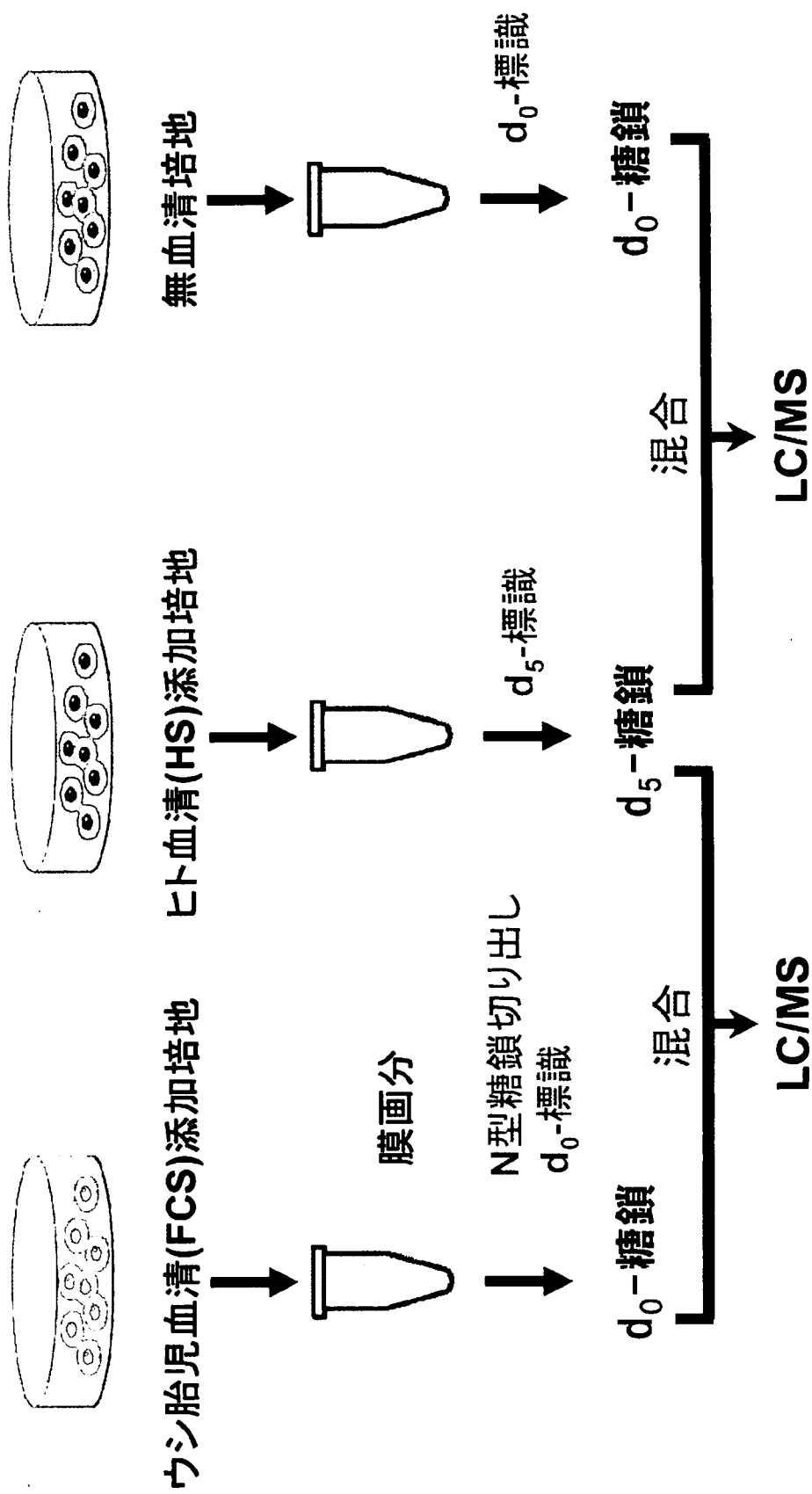


Fig. 22 異なる培養条件で培養した細胞の膜画分から糖鎖の差異解析

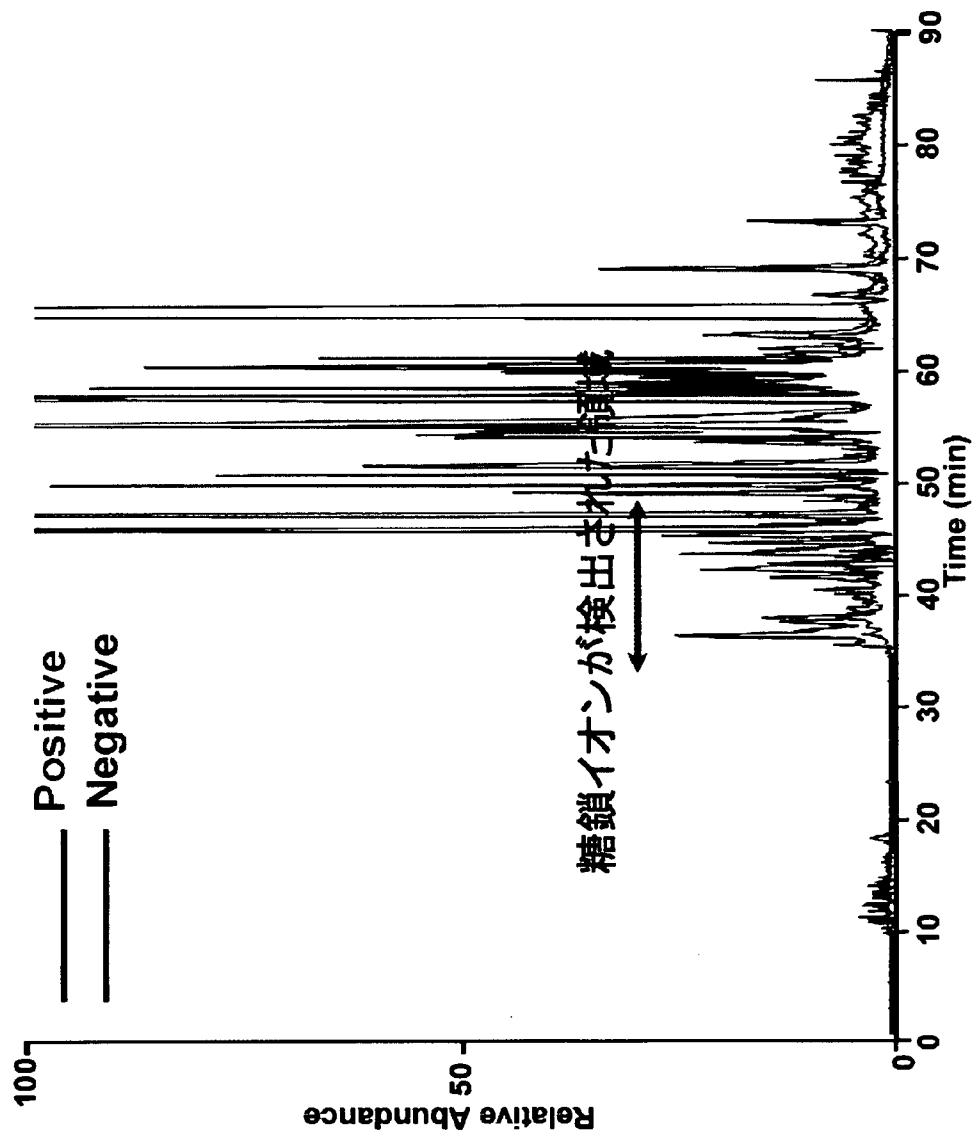


Fig. 23 FCS及びびHS添加培地で培養した細胞から調製した d_0 -PHN糖鎖及びび d_5 -PHN-HS糖鎖混合試料のLC/MSにより得られたトータルイオンクロマトグラム (TIC)

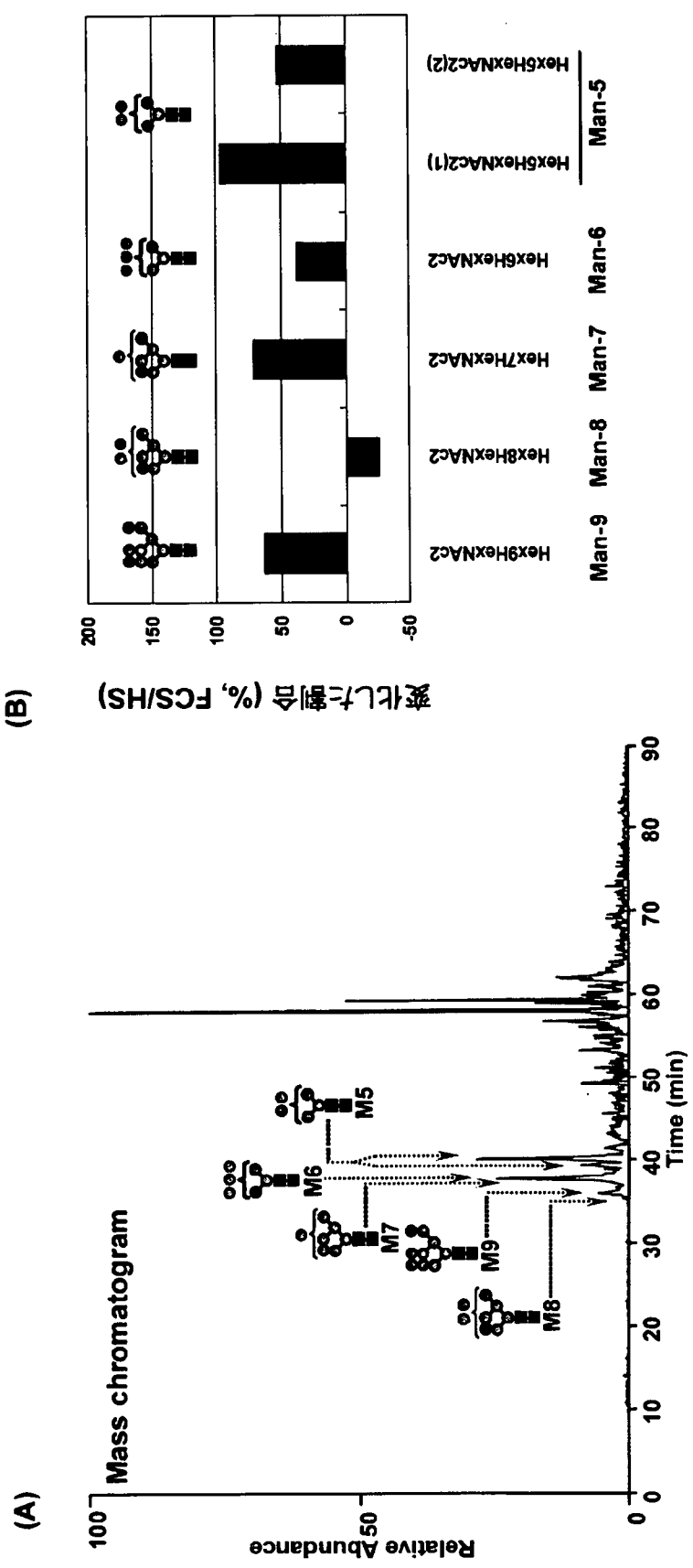
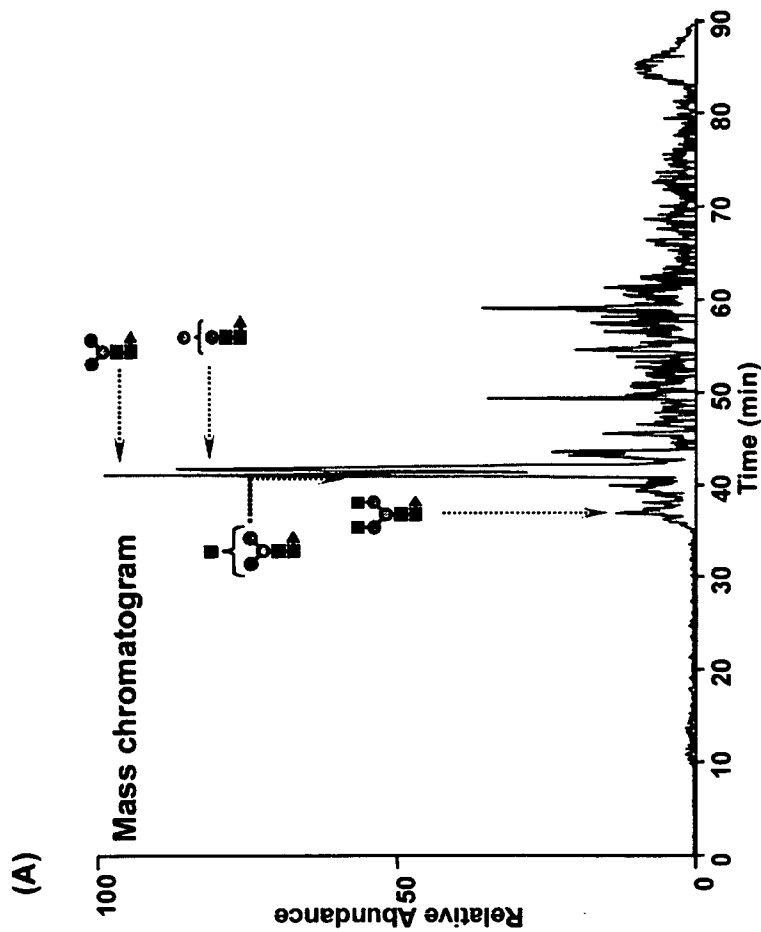


Fig. 24 高マンノース型糖鎖の比較定量解析 (FCS vs HS)



(B) 変化した割合 (% , FCS/HS)

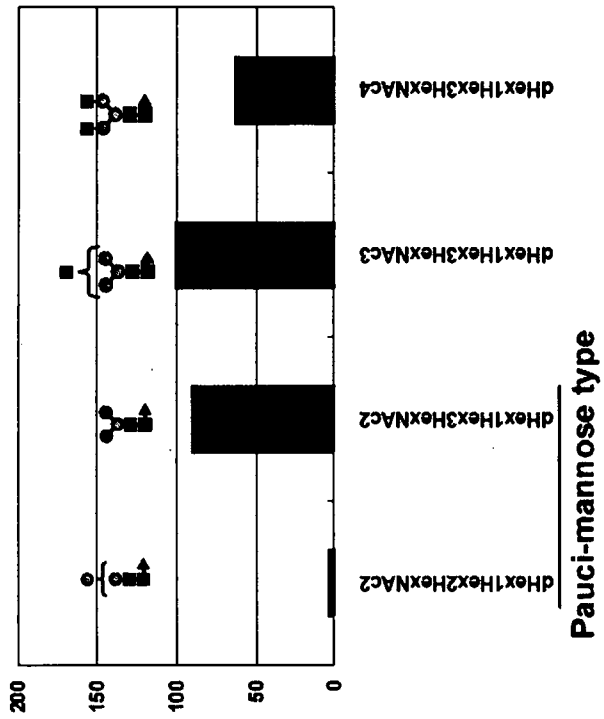


Fig. 25 低分子量糖鎖の比較定量解析 (FCS vs HS)

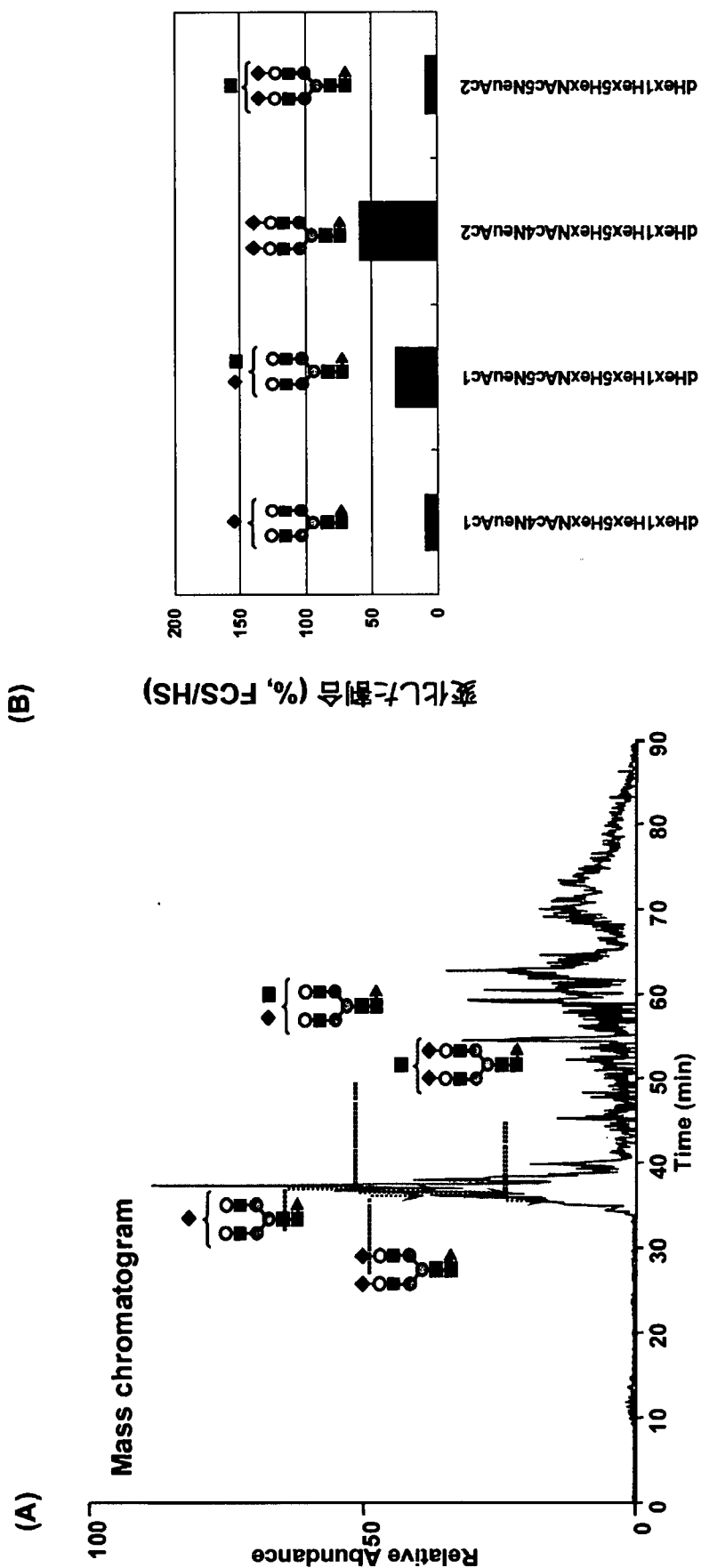


Fig. 26 2本鎖糖鎖の比較定量解析 (FCS vs HS)

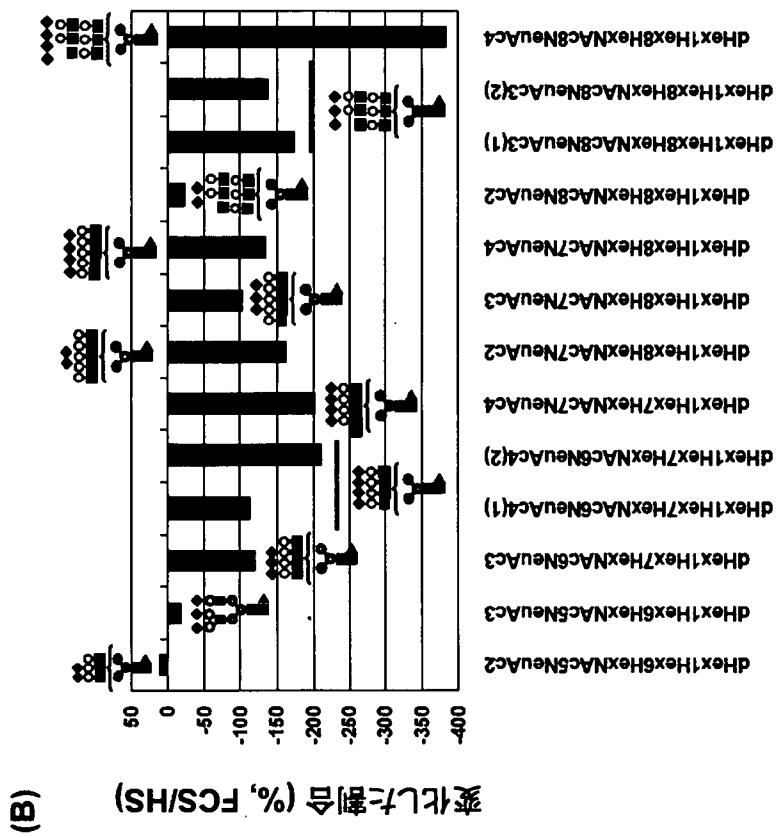
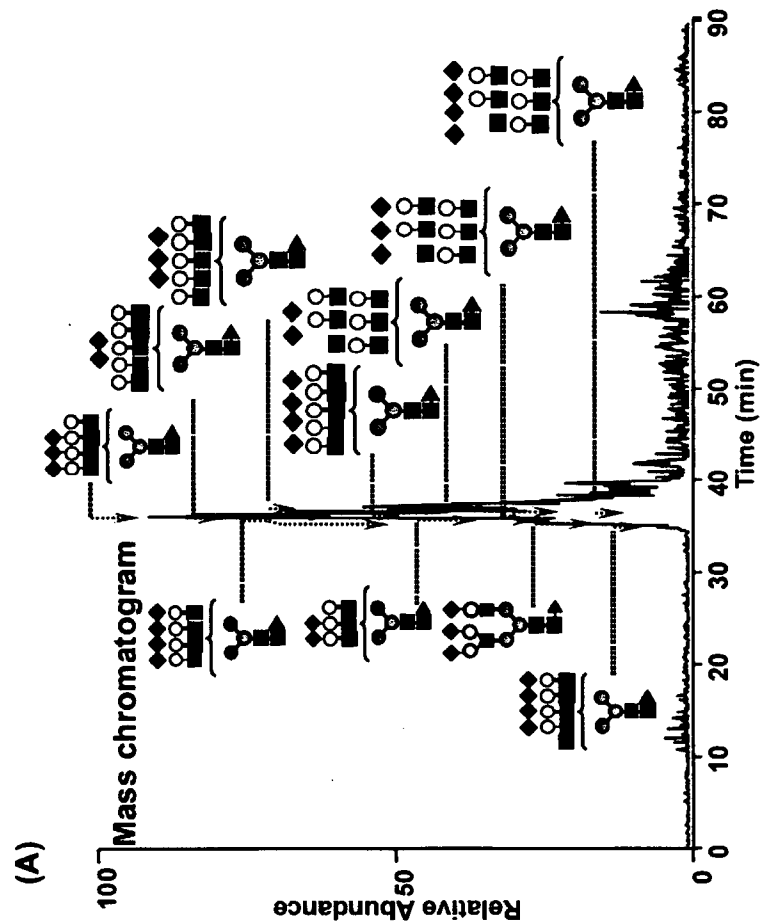


Fig. 27 3及び4本鎖糖鎖の比較定量解析 (FCS vs HS)

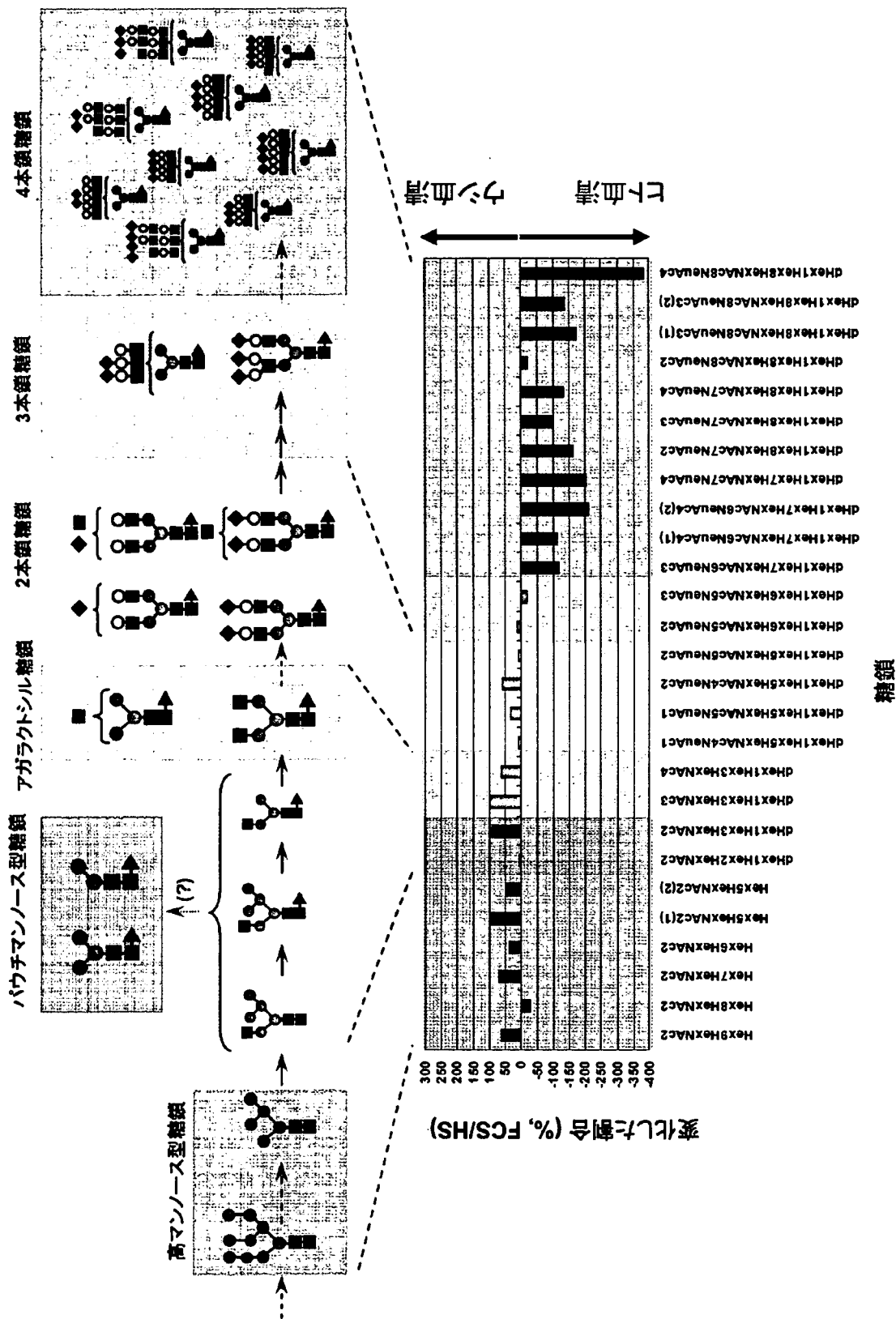


Fig. 28 N結合型糖鎖生成経路とFCS及びHS添加培地で培養したHL60RG膜画分由来糖鎖の比較定量解析

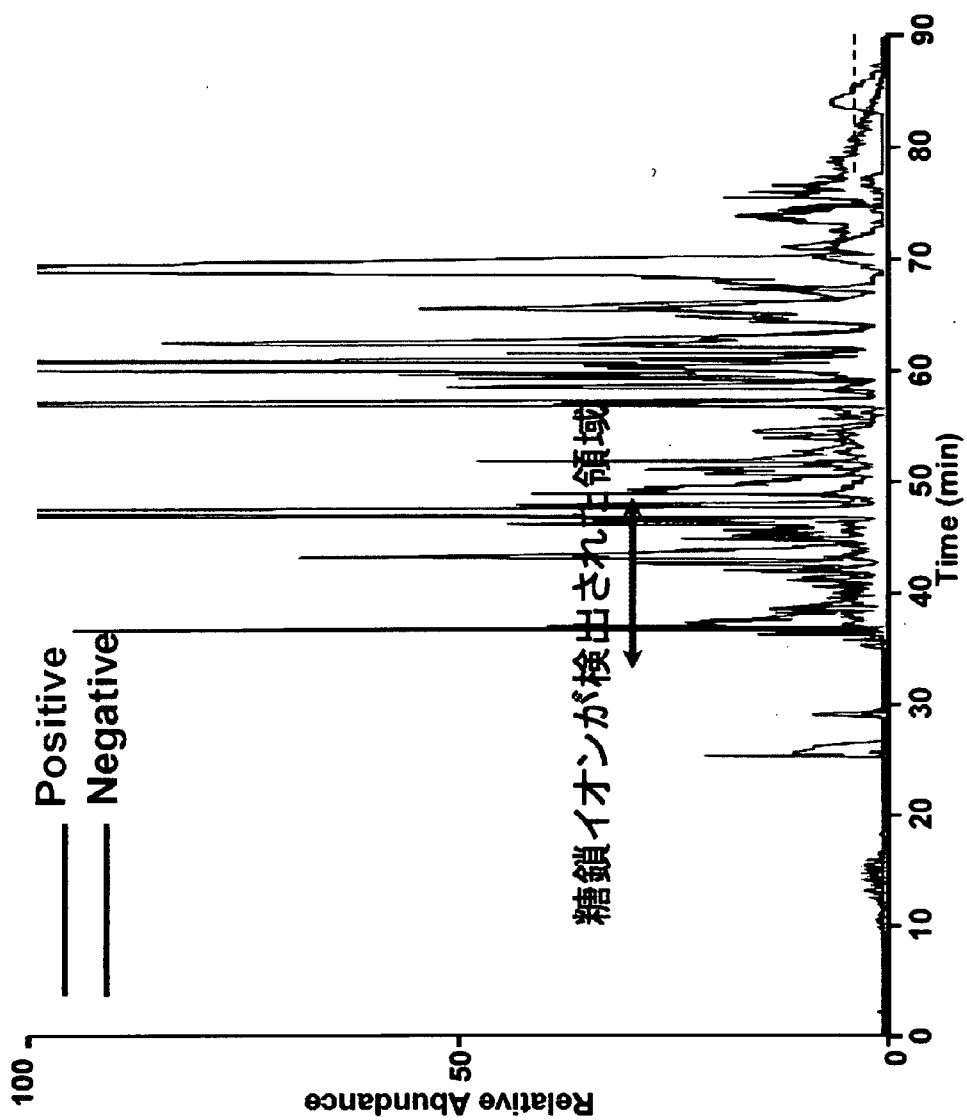
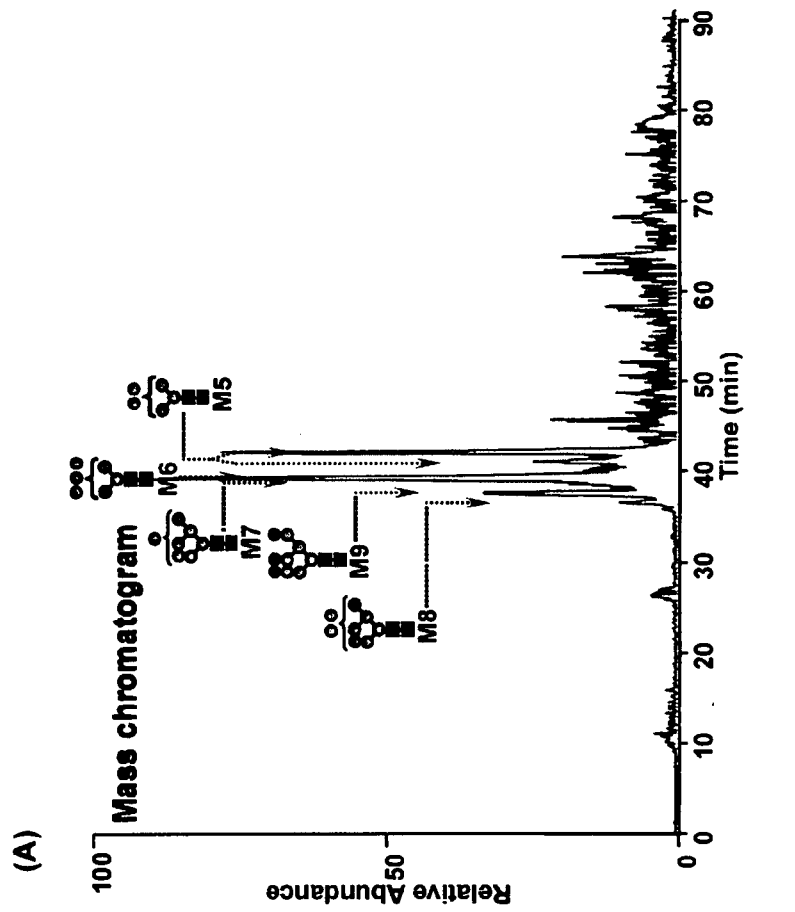


Fig. 29 無血清培地及びHS添加培地で培養した細胞から調製した d_0 -PHN糖鎖及び d_5 -PHN-HS糖鎖混合試料のLC/MSにより得られたトータルイオンクロマトグラム (TIC)



(B)

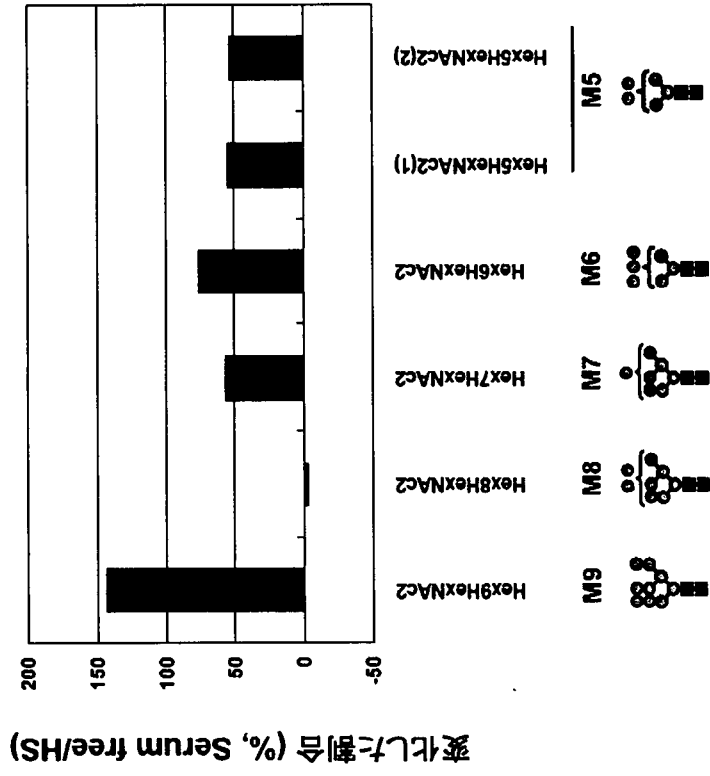


Fig. 30 高マンノース型糖鎖の比較定量解析 (serum free vs HS)

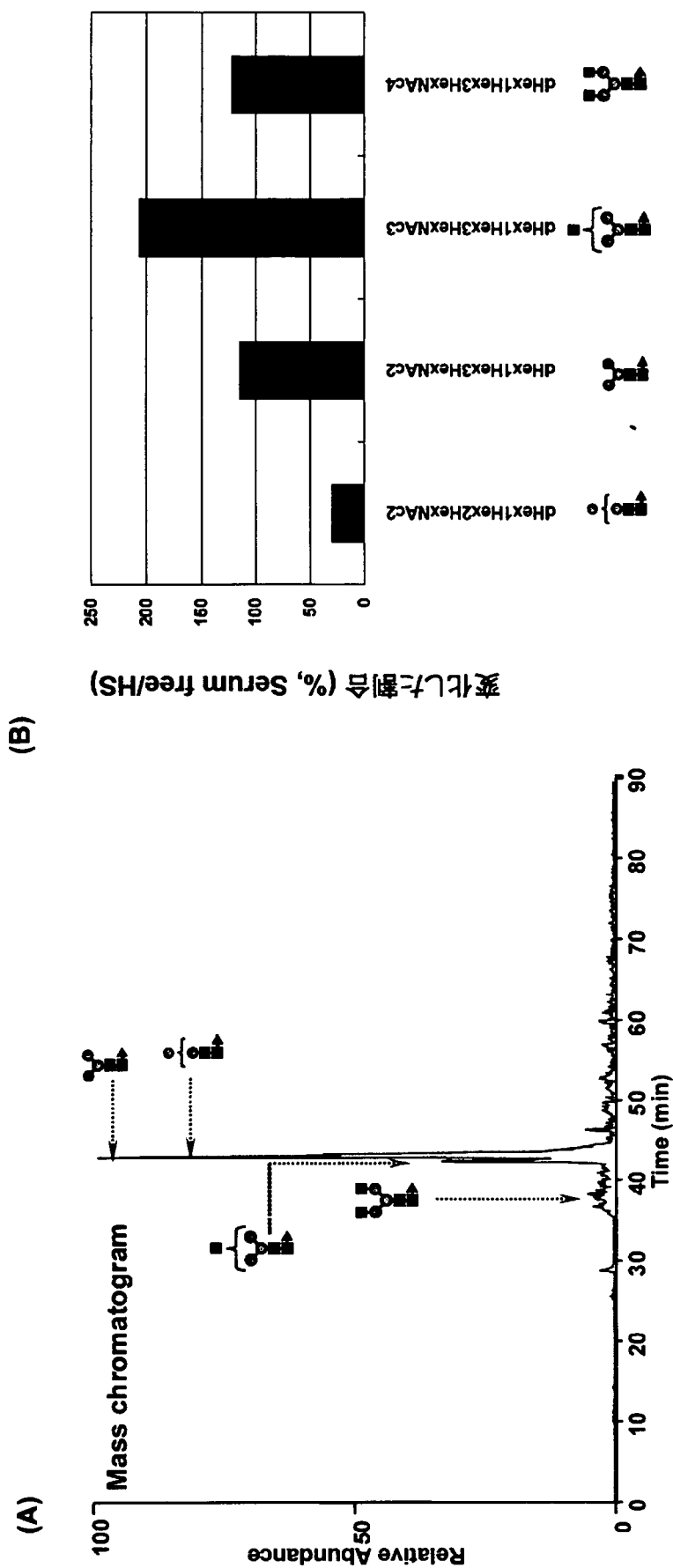
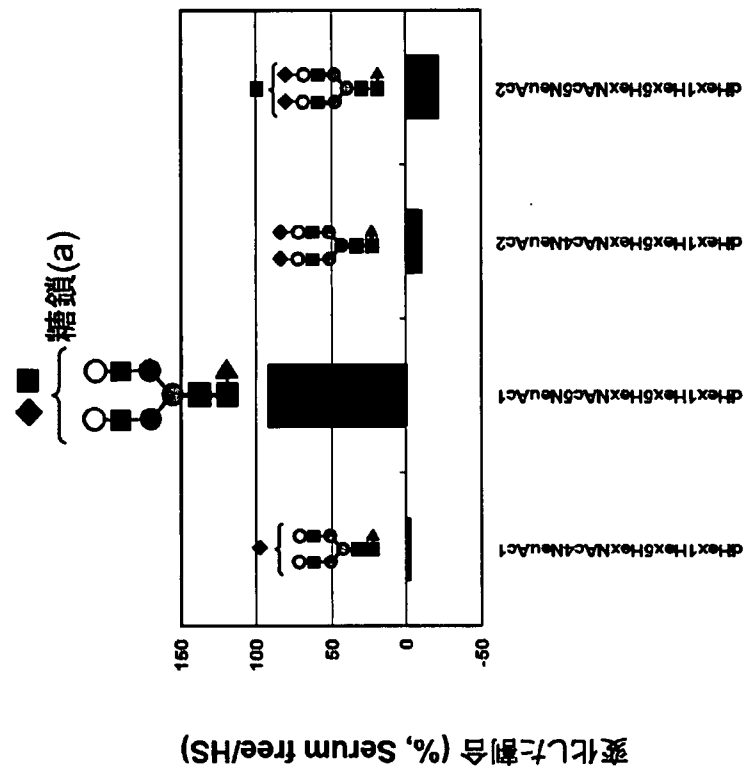
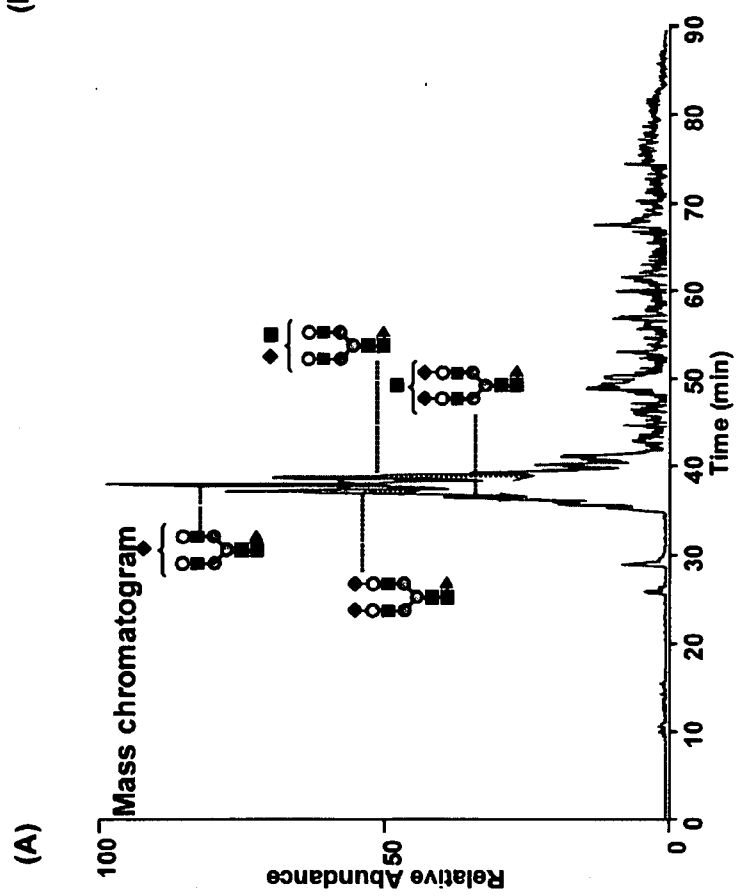


Fig. 31 低分子量糖鎖の比較定量解析 (serum free vs HS)



(B)



(A)

Fig. 32 2本鎖糖鎖の比較定量解析 (serum free vs HS)

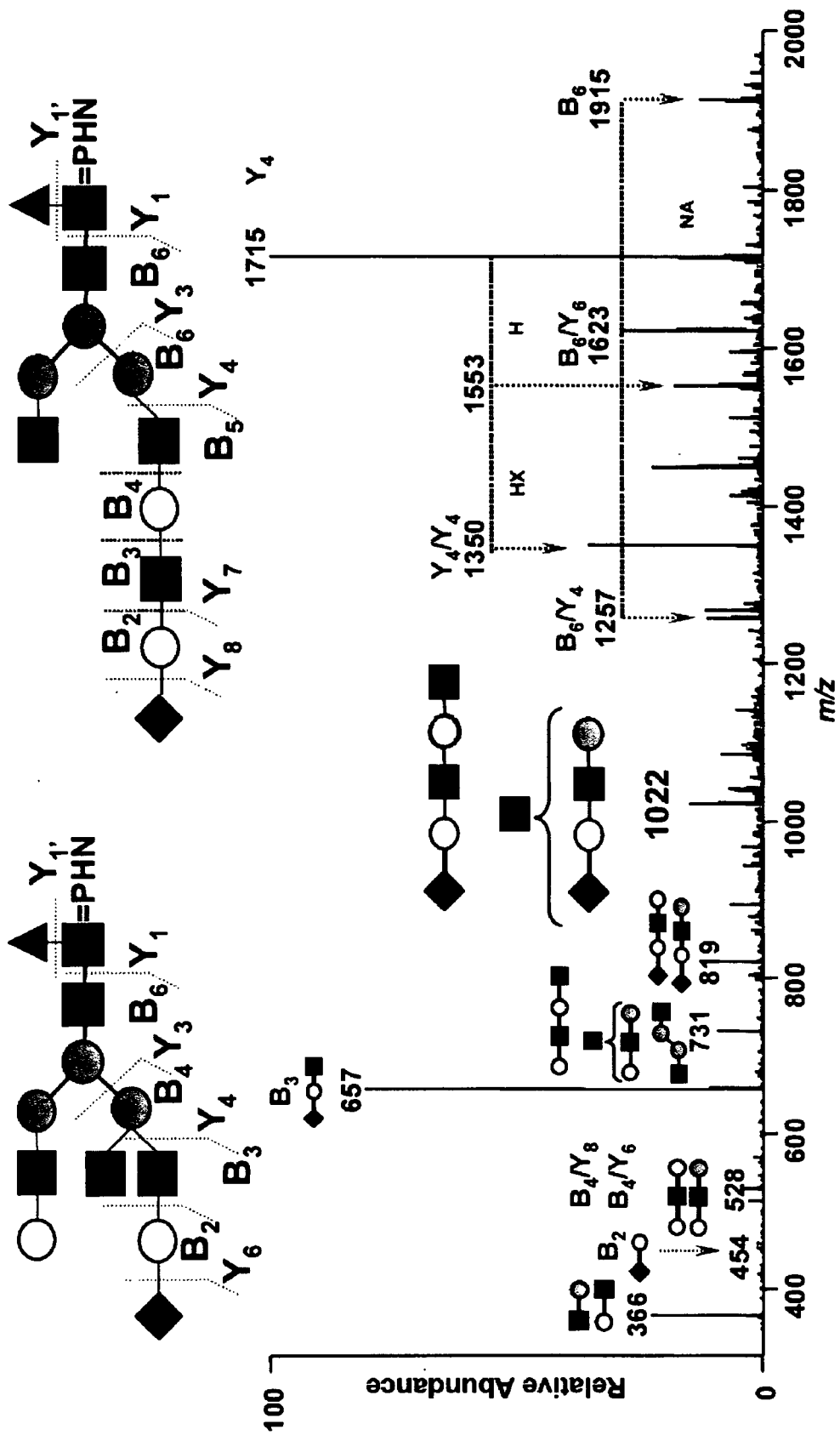


Fig. 33 糖鎖(a)のMS/MSスペクトル

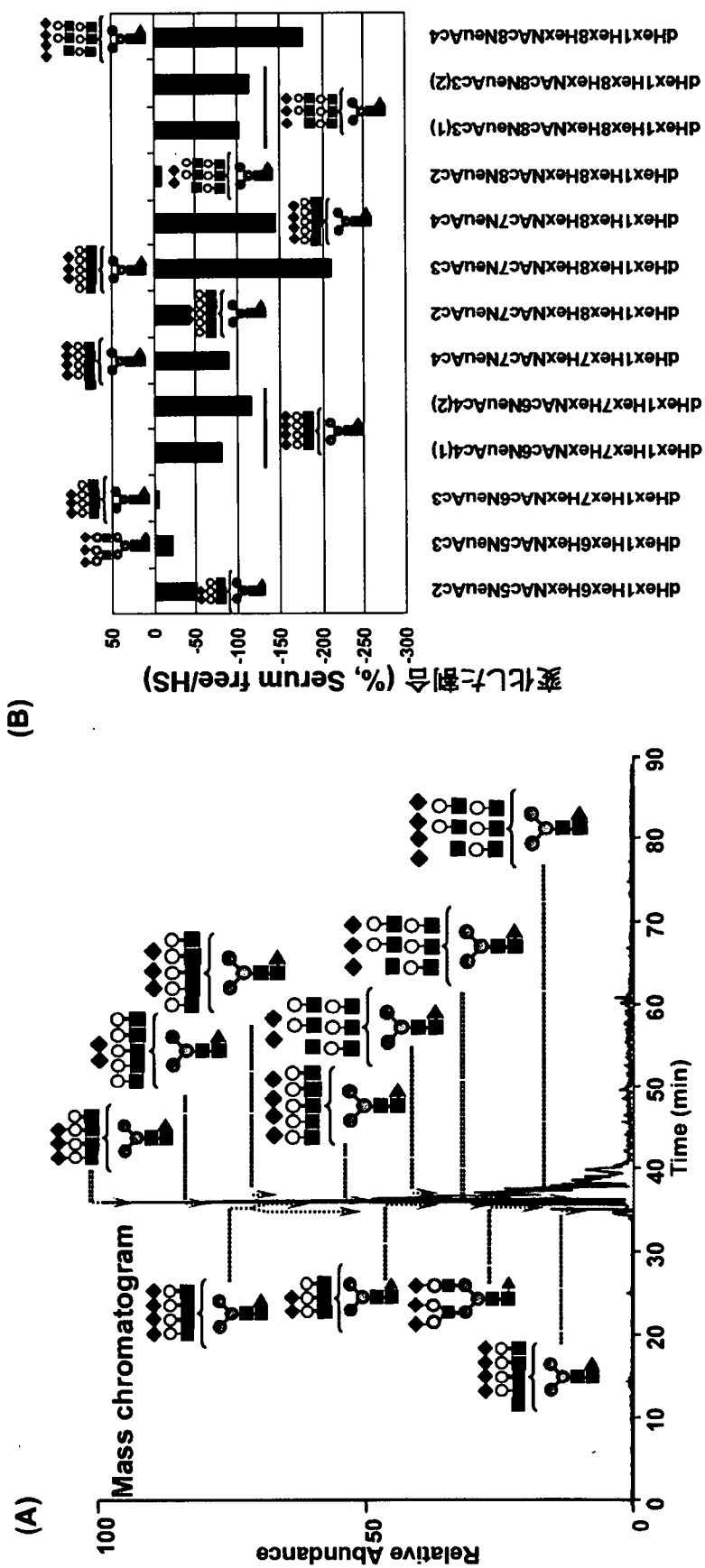


Fig. 34 3及び4本鎖糖鎖の比較定量解析 (serum free vs HS)