

戦略的創造研究推進事業 CREST

研究領域「糖鎖の生物機能の解明と利用技術」

研究課題「糖タンパク質の品質管理における糖鎖機能の解明」

研究終了報告書

研究期間 平成14年11月～平成20年3月

研究代表者:伊藤幸成

(独)理化学研究所 中央研究所
伊藤細胞制御化学研究室 主任研究員

1 研究実施の概要

1.1 研究の背景と構想

糖タンパク質の品質管理機構は、小胞体、ゴルジ体から細胞質でのフォールディング、輸送、分解の過程を包括するものである。最近になり、これらの過程において糖鎖（特に高マンノース型糖鎖）が重要な役割を果たしていることを示唆する結果が次々と報告されている。これらの現象は細胞活動根幹への糖鎖の関与を示唆するものとして、糖鎖生物学に強いインパクトを与えている。タンパク質品質管理における従来の研究は構造の不明確な糖タンパク質を用いて行なわれてきたものが殆どであることから、詳細については大部分が不明であり様々な見解の不一致も見られる。それに対し合成糖鎖、糖タンパク質を自在に造り出す手法を推進力とする本研究の実施により糖タンパク質品質管理の分子機構について明確な理解が得られるものと期待できる。

研究代表者のグループでは種々の糖タンパク質糖鎖の合成とそれに必要な方法論の開発を行って来た。その中で、従来アスパラギン結合型糖鎖の共通構造であり、その合成における最大の問題点であった β -マンノシド結合 (β Man1 \rightarrow 4GlcNAc) の合成法の開発に成功した。この手法は「分子内アグリコン転移反応」と呼ばれるものであり、混合アセタール型の橋架け中間体を經由することにより、完璧な立体選択性を実現するものである。これにより種々のアスパラギン結合型糖鎖の系統的合成への道を開くことができた。実際、この方法を用いて本研究開始前に α 2,3-シアル酸含有複合型12糖の化学合成に成功しその実用性が示されていた。そこで、本研究室の糖鎖合成化学のポテンシャルを最大限に活用すれば、糖タンパク質品質管理における様々な糖鎖-タンパク質相互作用の詳細解析につなげることができると考えられる。本研究では「高マンノース型」糖鎖を網羅的に合成し（図1）、それらを用いる糖タンパク質品質管理機構に関与する糖鎖-タンパク質相互作用や糖タンパク質プロセッシングを解析することを目標とした（図2）。対象としたタンパク質は1) Calreticulin (CRT, 小胞体内レクチン-シャペロン), 2) UGGT (小胞体内グルコース転移酵素), 3) Glucosidase II (小胞体内グルコシダーゼ II), 4) ERGIC-53/VIP36 (カーゴレセプター), 5) EDEM (ER マンノシダーゼ様タンパク質), 6) Fbs1 (ユビキチンリガーゼ), 7) PNGase (ペプチド:N-グリカナーゼ) である。この中で、1) - 3) は糖タンパク質のフォールディング (Calnexin/Calreticulin Cycle), 4) は小胞体 \rightarrow ゴルジ間の輸送, 5) - 7) は小胞体関連分解 (ERAD) に関与していると考えられている。

本研究は、糖鎖合成グループ（伊藤）が組織を代表し、糖鎖生物学グループ（井原，鈴木，山本），構造生物学グループ（加藤）との密接な連携で行われた。

1.2 主な研究実施内容

● CRT/CNX リガンド糖鎖の合成と相互作用解析

小胞体内シャペロン Calnexin (CNX)/Calreticulin (CRT) のリガンドと考えられている 12 糖 (Glc1Man9GlcNAc2, G1M9) の合成を行った。つづいて合成糖鎖を用いて CRT との特異的な相互作用を NMR により観察した。更にその部分構造や種々のアナログを合成し、CRT との結合性を定量的に比較した。また STD-NMR により CRT との結合に関与する部位のマッピングを行った。

これらを補完する形で、加藤グループではピリジルアミノ (PA) 化糖鎖ライブラリを用いる CRT/CNX の特異性解析を行った。

● 合成プローブによる UGGT の解析

UDP-グルコース：糖タンパク質グルコース転移酵素 (UGGT) は小胞体内 CNX/CRT サイクルにおける“Folding Sensor”として重要である。我々は糖鎖-メトトレキセート (MTX) 誘導体 (CHO-MTX) が UGGT の良好な基質となることを見いだした。また、様々な構造を持つ CHO-MTX を用いて UGGT の基質特異性を解明した。

● Glucosidase II の定量的特異性解析

Glucosidase II (G-II) は Glc2Man9 を Glc1Man9 に導く活性 (Cleavage-1) と Glc1Man9 を Man9 に導く活性 (Cleavage-2) を併せもっている。Cleavage-1 は糖タンパク質の CNX/CRT サイクルへの導入に、Cleavage-2 は CNX/CRT サイクルからの離脱を司っている。我々は合成糖鎖を用いた解析によりその基質特異性を解明し、Cleavage-1 は Cleavage-2 より遥かに速く進行することを確認した。更に、細胞内環境を模倣した「マクロ分子クラウディング下」条件で興味深い性質を示すことを見いだした。

● ERAD に関連する糖鎖プローブの合成とそれらを用いる Fbs1 および PNGase の解析

不良糖タンパク質の ERAD において重要な Fbs1 と PNGase を取り上げた。Fbs1 の糖鎖特異性の解明および PNGase 阻害物質の開発に成功した。また、PNGase の基質特異性を調べると共に、その活性がプロテアゾームにおける分解に重要であることを証明した。

● 合成手法の開発

上記合成研究の過程で、種々の新しい合成手法の開発を行った。例えば、超高压条件による効率的脱保護反応、凍結反応系中でのグリコシル化反応、また、重水素ラベルした保護基を用いた、グリコシル化反応の最適化である。また、高分子担体の使用に頼らない糖鎖迅速合成法を開発した。

本研究の中核をなす高マンノース型糖鎖の合成において鍵となる分子内アグリコン転移反応 (IAD) を改良した。すなわちパラメトキシベンジル (PMB) 基の代わりに 2-ナフチルメチル基 (NAP) を用いることにより IAD はより高い収率で生成物を与えること、 β -マンノ

シド以外の 1,2-シスグリコシドの高効率的合成にも適用できることが明らかになった。

● **C-マンノシル化トリプトファンの機能解明を目指す合成化学-医学生物学研究**

新規糖付加修飾として知られる C-マンノシル化トリプトファン (CMW) の機能を調べるために、CMW およびこれを含むペプチドを合成し共同研究者 (井原) の協力のもとに様々な活性を調べた。抗 CMW 抗体の作成とそれを用いる CMW 含有タンパク質の検出、合成 C-マンノシル化トリプトファン含有 TSR ペプチドの生理作用について解析した。C-マンノシル化が、タンパク質機能モチーフと考えられる TSR の細胞生理機能に影響を与え、その機能修飾に関わることを強く示唆する結果を得た。

● **その他の実施内容**

- 糖タンパク質の品質管理機構のタンパク質分泌への影響 (井原グループ)
- CRT の細胞内局在制御の機構 (井原グループ)
- SCF^{Fbs1} による糖鎖認識の分子基盤 (加藤グループ)
- PNGase の PUB ドメインとユビキチン鎖との相互作用 (加藤グループ)
- ERAD における PNGase の機能の解明 (鈴木グループ)
- 細胞内レクチンによるタンパク質輸送機構の解明 (山本グループ)
- ERGIC-53, VIP36, VIPL の糖鎖特異性 (山本グループ, 加藤グループ)

2 研究構想及び実施体制

(1) 研究構想

糖タンパク質の品質管理機構における糖鎖の役割は急速に注目度が高まっているトピックである。世界各国の研究室から次々とインパクトの高い成果が報告されているが、何れにおいても構造が均一で規定された糖鎖、糖タンパク質の供給に重大な限界があることが足かせとなり、必ずしもクリアカットな結論に至っていない。我々は研究開始にあたって、合成化学的に様々な糖鎖を供給できるという強みを最大限に活かすことによりこの難点を取り除くことができ、ブレークスルーとなる成果が得られると考えた。一方、合成化学の視点からは、常にオリジナルな手法の開発に努めるという姿勢を保つことを念頭においた。一方、糖鎖の合成研究においては多様な方法論指向型の研究が世界的に展開されているが、実際に、複雑な標的分子の合成につなげ、それを生命現象解明のための分子プローブとして用いている例は少ない。我々は、1) オリジナルな手法の開発、2) それを複雑な糖鎖の実践的な高選択、高効率合成に応用する、という2点をバランスよく両立させることに重点をおいた。

また研究組織の中に、シャペロン（井原）、ERAD（鈴木）、レクチン（山本）といった各分野で先端的な研究を行っている生物-医学グループとNMRを基盤とする強力な構造生物学グループ（加藤）を擁することにより、他ではまねのできない統合的な研究が展開できると期待した。

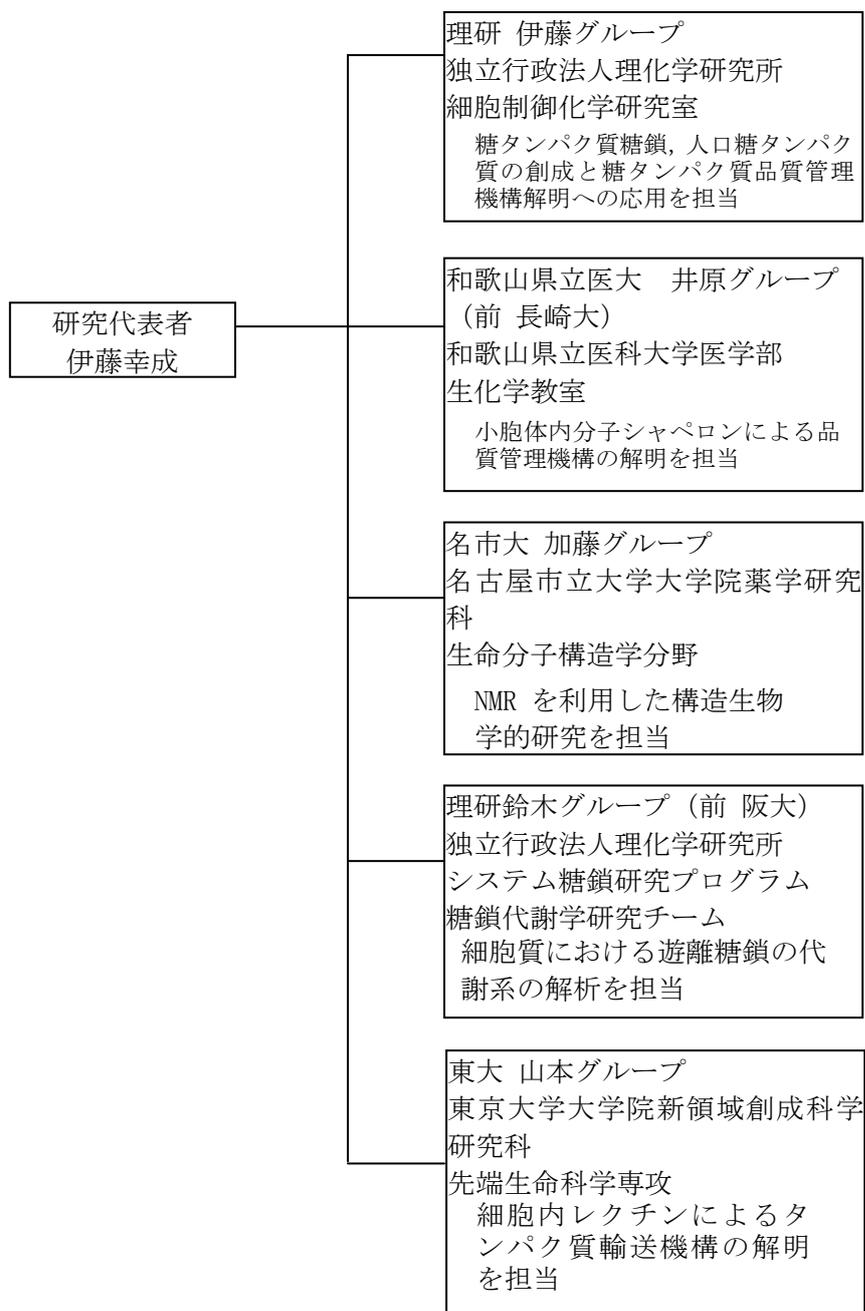
その後5年間にわたり、各グループ間の共同研究が活発に行われた。代表的なものは以下の通りである。

- Calreticulin（レクチン-シャペロン） 伊藤 G-加藤 G, 伊藤 G-井原 G
- UGGT（フォールディングセンサー） 伊藤 G-井原 G
- Glucosidase II（小胞体内プロセッシング） 伊藤 G-井原 G
- Fbs1（小胞体関連分解・ユビキチンリガーゼ） 伊藤 G-加藤 G
- PNGase（小胞体関連分解・糖鎖除去） 鈴木 G-伊藤 G-加藤 G
- ERGIC-53, VIP36, VIPL（カーゴレセプター） 山本 G-伊藤 G-加藤 G

これにより、糖タンパク質のフォールディング、輸送、分解など細胞内品質管理機構において重要な様々な糖鎖-タンパク質相互作用を定量的に解析することに成功した。しかしこれら以外にも EDEM-1, -2, -3, OS-9, Fbs2, mannosidase-1, ENGase の役割や、細胞内に存在する遊離型糖鎖の機能、リソソームにおける分解過程など興味の種は尽きない。

今後は本研究をきっかけとして構築された5研究室間の密接な協力関係を維持し、糖タンパク質品質管理機構の総合的理解に結びつけたい。

(2)実施体制



3 研究実施内容及び成果

3.1 糖タンパク質糖鎖，人工糖タンパク質の創成と糖タンパク質品質管理機能解明への応用

(理研 伊藤グループ)

(1) 研究実施内容および成果

- 研究のねらい

糖タンパク質の品質管理機構は，小胞体，ゴルジ体から細胞質でのフォールディング，輸送，分解の過程を包括するものである．最近になり，これらの過程において糖鎖（特に高マンノース型糖鎖）が重要な役割を果たしていることを示唆する結果が次々と報告されている．これらの現象は細胞活動の根幹への糖鎖の関与を示唆するものとして，糖鎖生物学に強いインパクトを与えている．タンパク質品質管理における従来の研究は構造の不明確な糖タンパク質を用いて行なわれてきたものが殆どであることから，詳細については大部分が不明であり様々な見解の不一致も見られる．それに対し合成糖鎖，糖タンパク質を自在に造り出す手法を推進力とする本研究の実施により，糖タンパク質品質管理の分子機構について明確な理解が得られるものと期待できる．

研究代表者のグループでは種々の糖タンパク質糖鎖の合成とそれに必要な方法論の開発を行って来た．その中で，従来アスパラギン結合型糖鎖の共通構造であり，その合成における最大の問題点であった β -マンノシド結合 (β Man \rightarrow GlcNAc) の合成法の開発に成功した．この手法は「分子内アグリコン転移反応」と呼ばれるものであり，混合アセタール型の橋架け中間体を經由することにより，完璧な立体選択性を実現するものである．これにより種々のアスパラギン結合型糖鎖の系統的合成への道を開くことができた．実際，この方法を用いて本研究開始前に α 2,3-シアル酸含有複合型12糖の化学合成に成功しその実用性が示されていた．そこで，本研究室の糖鎖合成化学のポテンシャルを最大限に活用すれば，糖タンパク質品質管理における様々な糖鎖-タンパク質相互作用の詳細解析につなげることができると考えた．本研究では「高マンノース型」糖鎖を網羅的に合成し，それらを用いる糖タンパク質品質管理機構に関与する糖鎖-タンパク質相互作用や糖タンパク質プロセッシングを解析することを目標とした．主たる対象は1) Calreticulin (CRT, 小胞体内レクチン-シャペロン)，2) UGGT (小胞体内グルコース転移酵素)，3) Glucosidase II (小胞体内グルコシダーゼ II)，4) ERGIC53/VIP36 (カーゴレセプター)，5) EDEM (ER マンノシダーゼ様タンパク質，6) Fbs1 (ユビキチンリガーゼ)，7) PNGase (ペプチド N-グリカナーゼ) である．この中で，1) - 3) は糖タンパク質のフォールディング (Calnexin/Calreticulin Cycle)，4) は小胞体へゴルジ間の輸送，5) - 7) は小胞体関連分解 (ERAD) に関与していると考えられている．

図1. 高マンノース型糖鎖の合成

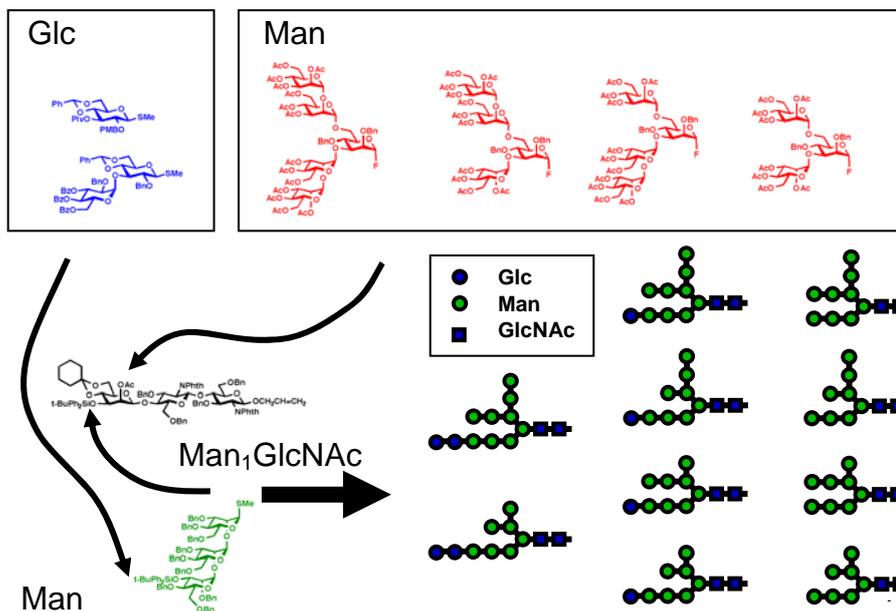
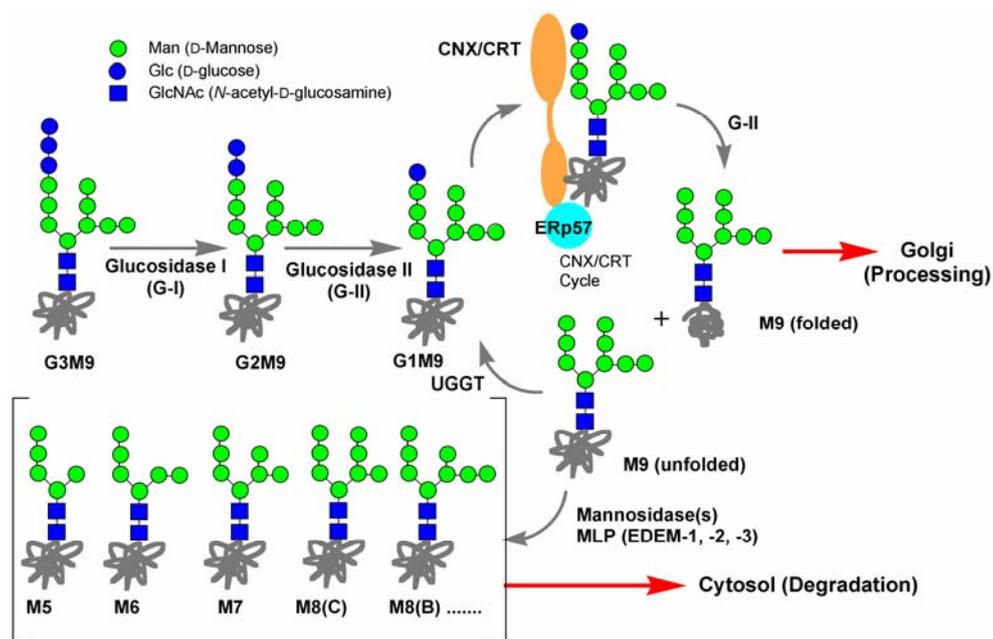


図2. 小胞体内糖タンパク質プロセッシングと品質管理機構



- CRT/CNX リガンド糖鎖の合成と相互作用解析

本研究の最初の目標として、小胞体内シャペロン Calnexin (CNX)/Calreticulin (CRT) のリガンドと考えられている 1 2 糖 (Glc1Man9GlcNAc2, G1M9) の合成を設定した. 合成は標的分子を 4 つのフラグメントすなわちフラグメント A (ManGlcNAc2), B (Man3), C (Man3), D (Glc1) の 4 つに分けて行いこれらをつなげる Convergent なルートに従っ

て行った。フラグメント A は既述の分子内アグリコン転移反応を用いて合成した。なお本合成の過程で、立体的に込み合ったマンノース 0-3 位の *t*-ブチルジフェニルシリル (TBPS) 基の脱保護において困難に直面した。これについては様々な条件を検討し、超高压反応条件を適用することで解決することができた。合成糖鎖を用いて CRT との特異的な相互作用を NMR により観察した。すなわち、末端に α -Glc を持つ G1M9 は CRT の共存下で NMR においてシグナルの広域化がみられ強く相互作用していることが示されたが、その異性体である β -Glc 型 G1M9 は影響を受けなかった。このことより、CRT は高マンノース型糖鎖の微妙な構造を認識することがわかった。

CNX/CRT は非還元末端部分の Glc1Man3 に強い結合能を有していると言われている。そこでこの部分の合成を行うとともに、そのフッ素化アナログや 2 価の Glc1Man3 鎖を持つ非天然型高マンノース様糖鎖を合成した。上述の G1M9, M9, M8, G1M9 と併せて CRT との結合性を定量的に比較した。更に、その末端 2 糖 (Glc1-3Man) およびそのアナログの CRT に対する結合能を比較した。また STD-NMR により CRT との結合に関与する部位のマッピングを行った。

また合成糖鎖を固定化した糖鎖ビーズによるタンパク質の特異性解析についても成果を得ている。これを応用し、麴菌 (*A. oryzae*) の Calnexin を同定した。

以上により、CRT がモノグルコシル化糖鎖を特異的に認識することを確認し、その特異性の定量的解析に成功するとともに合成糖鎖固定化ビーズの有用性を証明した。

- 合成プローブによる UGGT の解析

UDP-グルコース：糖タンパク質グルコース転移酵素 (UGGT) は小胞体内で CNX/CRT と共同で糖タンパク質のフォールディングに関わっている。UGGT は正しいフォールディングに至らなかった糖タンパク質の糖鎖 (M9 等) にグルコースを再付加し CNX/CRT のリガンドとなるモノグルコシル化糖鎖を再生する役割を担っているという点で “Folding Sensor” として機能していると考えられる。我々は UGGT の定量的解析を行う上で、合成的に構造が規定された基質を開発することが重要と考えた。そのような観点から糖鎖-メトトレキセート (MTX) 誘導体 (CHO-MTX) に着目した。我々は CHO-MTX がジヒドロ葉酸還元酵素 (DHFR) に強固に結合し、糖タンパク質様の複合体を形成することを見出している。そこで CHO-MTX あるいはその MTX 複合体が UGGT の基質となる可能性を探ることにし、M9 をはじめとする様々な高マンノース型糖鎖の MTX 誘導体を合成し、DHFR 複合体へと導くことにした。その結果、M9-MTX は糖タンパク質型基質として従来用いられてきた変性 Thyroglobulin を上回る反応性を有することがわかった。続いて、様々な構造を持つ CHO-MTX を用いて UGGT の基質特異性を解明した。その後、MTX 部分を種々の疎水性置換基に置き換えたプローブを合成した。その結果、CHO-MTX を遥かに上回る反応性を持つ基質を見いだすことができた。更に蛍光性基質の開発にも成功しており、マ

マイクロレベルでの UGGT の活性測定が可能になった。

以上により、UGGT の初の非タンパク性基質を開発し、その定量的解析に端緒を開いた。

- Glucosidase II の定量的特異性解析

Glucosidase II (G-II) は CNX/CRT, UGGT と共に CNX/CRT サイクルにおいて重要な役割を担っている。G-II は Glc2Man9 を Glc1Man9 に導く活性 (Cleavage-1) と Glc1Man9 を Man9 に導く活性 (Cleavage-2) を併せもっている。Cleavage-1 は糖タンパク質の CNX/CRT サイクルへの導入に、Cleavage-2 は CNX/CRT サイクルからの離脱を司っている。我々は CHO-MTX およびその DHFR 複合体を用いる G-II の解析を行った。それにより Cleavage-1 は Cleavage-2 より遥かに速く進行することを確認し、G-II の糖鎖特異性については、従来の定説を覆す結果を得た。特に Glc1Man8(B) が Glc1Man9 に匹敵する反応性を有することが明らかとなり、それによって生成する Man8(B) が糖タンパク分解過程に関わる EDEM のリガンドであるという仮説と照らし合わせると興味深い。

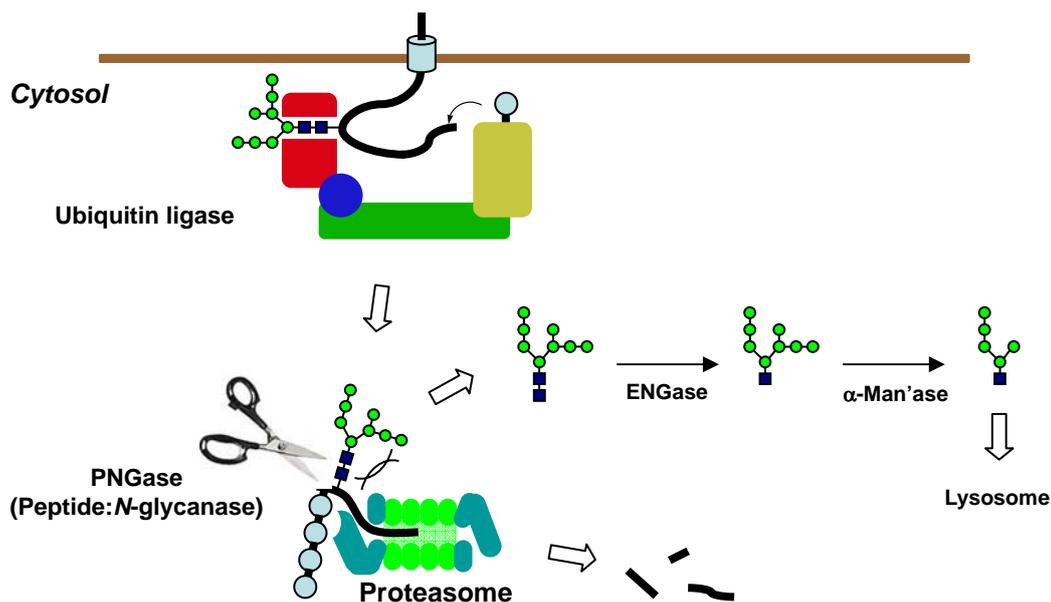
更に、「マクロ分子クラウディング下」環境において、G-II の二つの活性が全く異なった応答を示すことを見いだした。

- ERAD に関連する糖鎖プローブの合成とそれらを用いる Fbs1 および PNGase の解析

不良糖タンパク質の ERAD においても様々なタンパク質が関わっている。その中で鍵となるユビキチン化と脱グリコシル化に着目した (図 3)。Fbs1 は糖鎖を認識するユビキチンリガーゼとして報告されている。その糖鎖認識特異性を調べる目的で、化学合成した G1M9, M9, M8 等の高マンノース型糖鎖、複合型糖鎖、およびそれらの還元末端部分に相当する部分構造 (Man3GlcNAc2, Man2GlcNAc2, GlcNAc2 等) を用いて結合能を比較した。その結果、Fbs1 はアスパラギン結合型糖タンパク質のコア 5 糖 (Man3GlcNAc2) と最も強く結合すること、Fbs1 の糖鎖認識にはキトビオースに加えて α -1,6 マンノースが重要であることが判った。

続いて、N-型糖鎖の除去を触媒する PNGase が高マンノース型糖鎖のハロアセタミド体 (CHO-AcX) によって強力に阻害されることがわかった。さらに、構造を単純化したキトビオース-AcX も強い阻害能を持つことを見いだした。これをもとに、蛍光を持つ細胞透過性 PNGase 阻害物質を開発した。また、PNGase の基質特異性を調べると共に、その活性がプロテアゾームにおける分解に重要であることを証明した。

図3. 糖タンパク質の分解過程



- 合成手法の開発

上記合成研究の過程で、超高压条件による効率的脱保護反応や、凍結反応系（冷却 *p*-キシレン）中でのグリコシル化反応の著しい加速効果を見出した。また、重水素ラベルした保護基を用い、糖鎖合成において鍵となるグリコシル化反応を迅速に最適化する系を開発した。

また、これまで当研究室で行われて来たポリエチレングリコールを用いる糖鎖合成系を拡張し、高分子担体を用いない糖鎖迅速合成法を開発した。これを用いて高マンノース型糖鎖の CNX/CRT 結合部位に相当する Glc1Man3-Man 及び関連する糖鎖を合成した。現在これらをセンサーチップに固定化し、CRT をはじめとする種々のタンパク質との相互作用解析を試みている。

本研究の中核をなす高マンノース型糖鎖の合成において、*p*-メトキシベンジル基 (PMB) を用いる分子内アグリコン転移反応 (IAD) に基づく完全立体選択的 β -マンノシル化を駆使してきた。最近になり、PMB 基の代わりに 2-ナフチルメチル基 (NAP) が同様の目的に使えることが判明した。更に、NAP を用いる IAD は PMB を用いる従来の反応よりも高い収率で生成物を与えること、 β -マンノシド以外の 1,2-シスグリコシドの高効率の合成にも幅広く適用できることが明らかになった。

- C-マンノシル化トリプトファンの機能解明を目指す合成化学-医学生物学研究

新規糖付加修飾として知られる C-マンノシル化トリプトファン (CMW) は、サイトカイン受容体などに含まれるタンパク質機能モチーフ・トロンボスポンジン-タイプ I-リポート (TSR) に含まれることが知られる。CMW は糖 (Man) とタンパク質のトリプトファン (W) 残基の間に C-C 結合を有する、極めて特異な糖タンパク質構造である。その生物学的意義は未知であるが、Hofsteenge らが 1994 年に本構造を RNaseU から発見して以来、様々なタンパクにその存在が確認されている。CMW はドリコールリン酸マンノースが供与体となっていることから、タンパク質プロセッシングの早い時期に小胞体での付加が起きていると予想される。よって小胞体内タンパク質品質管理に関与している可能性もある。また、その特異な構造から合成化学的興味を集めているが、その成功例は我々理研グループと名古屋大学グループの 2 例にとどまっている。従って我々は本構造を効率よく合成しその機能を解明する上で有利な立場にある。そこで CMW およびこれを含むペプチドを合成し共同研究者 (井原) の協力のもとに様々な活性を調べている。これまでに抗 CMW 抗体の作成とそれを用いる CMW 含有タンパク質の検出を試みている。マクロファージ細胞株を用いたシグナル伝達系の実験モデルで、合成 C-マンノシル化トリプトファン含有 TSR ペプチドの生理作用について解析した。その結果、C-マンノシル化 TSR ペプチドは、コントロールの TSR ペプチドと比べると、リポポリサッカリド (LPS) による細胞シグナル伝達に影響し、特に c-Jun Kinase 経路の活性化を増強し、細胞障害作用を示すことが明らかとなった。以上の結果は、C-マンノシル化が、タンパク質機能モチーフと考えられる TSR の細胞生理機能に影響を与え、その機能修飾に関わることを強く示唆した。

(2) 研究成果の今後期待される効果

本研究成果により、糖鎖研究の中で、化学-生物学的な手法の優位性を示すことができた。すなわち、有機化学的に合成した質の高い糖鎖プローブを用いることにより、糖タンパク質のプロセッシングおよび品質管理機構について明快かつ定量的な解析を行うことができた。特に、そのユニークな性質から解析が困難であった UGGT について、合成基質の開発に成功し、その糖鎖特異性を解明した本研究の強みをアピールできる成果と考えている。

高マンノース型糖鎖の系統的合成についてはほぼ完了しており、細胞内に存在しうるものについてはすべて供給可能である。世界を見渡してもこのような状況は本研究室に限定されたものである。最近、高マンノース型糖鎖の様々な生物機能が注目されており、この成果は他の追随を許さないきわめて大きなインパクトを持つものである。実際、本研究組織以外からも多数の共同研究申し込みが来ている。

糖タンパク質の品質管理機構はきわめて奥の深い生物現象であり、まだその一端が解き

明かされたにすぎない。その重要性、注目度の高さを鑑みて、本課題終了後も本組織で構築された共同研究体制を維持していきたい。また、それ以外にも国内外を問わず幅広い共同研究が展開できる。これにより、我が国の糖質科学のプレゼンスをより高めることができる。

一方、このような状況を維持するには、これらの糖鎖を継続的に供給する体制が必要である。その反面、アカデミックな研究機関で基礎研究を行う立場からは研究がルーチンに陥らない努力は必要である。従って、より迅速な糖鎖合成手法の開発や酵素反応の応用も含めたコンビナトリアルな合成法の検討が必要であると考えている。その一環として、「トップダウン型コンビナトリアル合成」とも呼ぶべき手法の開発が進んでいる。これが完成すれば、有機化学的に合成した1種類の非天然型糖鎖からすべての高マンノース型糖鎖を酵素反応によって合成することが可能になり、高マンノース型糖鎖ライブラリ作成キットにもなり得る。今後完成を急ぎたい。

C-マンノシル化タンパク質に関する研究では、蛍光分子やアフィニティープローブなどを結合した様々なC-マンノシル化ペプチドの合成と生体試料、培養細胞を用いた生理作用の解析が進行中である。このような合成糖化合物の新たな生理作用の発見は今後、糖鎖の生物機能応用という点からも期待できる。

小胞体内分子シャペロンによる品質管理機構の解明

(長崎大 [現 和歌山県立医大] 井原グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

- 研究のねらい

小胞体における糖鎖プロセッシングのもつ細胞生物学的意義、タンパク分泌や品質管理などのこれまで解明されていなかった分子機構の詳細について、種々の新規合成糖鎖プローブを駆使することにより明らかにし、得られた結果をもとに、新規合成糖鎖プローブの細胞生物学レベルでの研究応用を目指した。

- 研究実施方法

以下の4テーマについて研究を行った。

1. 糖タンパク質の品質管理機構の破綻とタンパク分泌への影響について

カスタノスペルミンなどの小胞体糖鎖プロセッシング阻害剤を用いることにより、糖鎖を介した糖タンパク質の品質管理機構として重要な Calnexin/Calreticulin サイクルの破綻を引き起こした状況下で、細胞のタンパク分泌機構に対する影響について解析した。実験系としては、タンパク分泌系のよく発達している膵β-細胞株 (MIN6) をモデルに、インスリンや他の糖タンパク質の分泌挙動や細胞内局在の変化を生化学あるいは細胞生物学的手法で解析した。

2. Calreticulin の細胞内局在制御の分子機構について

小胞体糖鎖プロセッシングの変化に伴う Calreticulin の細胞内局在制御の分子機構を明らかにするため、Calreticulin のレクチンサイトの機能解析を中心に、その構造機能と BiP との相互作用などに焦点を合わせ、合成モノグルコシル化糖鎖 (Glc1-Man4-Biotin など) を用いた *in vitro* 実験系での解析を進めた。

3. UGGT およびα-Glucosidase II の糖鎖特異性について

ラット肝臓より UGGT あるいはα-Glucosidase II を精製し、伊藤グループにより調製された種々の合成基質を用いてその糖鎖特異性を調べた。

4. C-マンノシル化の細胞生理機能の解析

伊藤グループにより合成された C-マンノシル化トリプトファンあるいは C-マンノシル化トリプトファン含有ペプチドを用いて、C-マンノシル化トリプトファン特異抗体の作製を行った。得られた抗 C-マンノシル化トリプトファン抗体により、細胞あるいは組織における C-マンノシル化タンパク質の発現を、マウスマクロファージ細胞株や 2 型糖尿病モデル動物の Zucker fatty ラットを用いて生化学的に解析した。C-マンノシル化トリプトファンは、サイトカイン受容体などに含まれるタンパク質機能モチーフ・トロンボスポンジン-タイプ I-リピート (TSR) に含まれることが知られるが、その

生理的意義は明らかでない。そこで、C-マンノシル化の TSR ペプチドにおける機能的影響と生理的意義を調べる目的で、マクロファージ細胞株を用いたリポ多糖(LPS)シグナル伝達系の実験モデルで、合成 C-マンノシル化トリプトファン含有 TSR ペプチド (C-Man-Trp-Ser-Pro-Trp など) の生理作用について解析した。

- 研究結果

1. 糖タンパク質の品質管理機構の破綻とタンパク分泌への影響について

小胞体糖鎖プロセッシング阻害剤のカスタノスペルミンが膵β-細胞株 MIN6 のインスリン分泌を抑制することが明らかとなった。糖鎖プロセッシング阻害剤はインスリン合成の転写レベル、翻訳レベルに影響するのではなく、分泌小胞輸送系に影響することがわかった。現在、糖鎖プロセッシング阻害剤が分泌経路の輸送小胞のターンオーバーに与える影響について、KDEL 受容体あるいは COP 関連分子の関与を中心に、生化学的あるいは細胞生物学的手法により解析を進めている。また、分泌小胞輸送システムへの影響では、Calreticulin の小胞体局在変化の分子機序に、糖鎖認識機構が関与することを示唆する結果を得ており、今後、小胞体糖鎖プロセッシング阻害との関係について解析を進める。

2. Calreticulin の細胞内局在制御の分子機構について

Calreticulin の小胞体局在化の制御機構について解析を進めた結果、Calreticulin は小胞体のみならず、ゴルジ体、分泌小胞、細胞質分画にも存在することが明らかとなった。Calreticulin の小胞体への滞留、局在には C-末端アミノ酸の Lys-Asp-Glu-Leu 配列が重要であるが、N-末端側球状ドメインもまた重要な役割を果たす見解を得た。その分子機構として、Calreticulin の N-ドメインに存在するレクチンサイト近傍領域を介した BiP/GRP78 との相互作用による小胞体局在化が示唆された。さらに、Small interference-RNA を用いて細胞内 BiP の発現を抑制すると、Calreticulin の小胞体局在が減少し、細胞内の局在パターンが変化することから両者の相互作用の重要性が明らかとなった。つまり、小胞体糖鎖プロセッシングの変化は Calreticulin の小胞体局在に影響するということから、タンパク分泌機構全体における影響とその生理的意義の解明が今後重要な課題になるものと考えられる。

3. UGGT および α-Glucosidase II の糖鎖特異性について

伊藤グループにより合成基質が開発され、合成基質 (Man9-MTX, Man8-MTX, Man7-MTX 等) を用いて UGGT の基質特異性を解析した。また、α-Glucosidase II に対する合成基質 (Glc2Man9-MTX, Glc2Man7-MTX, Glc1Man9-MTX, Glc1Man8B-MTX, Glc1Man8C-MTX, Glc1Man7-MTX) の基質特異性に関する研究を進めた。その結果、α-Glucosidase II は、Glc1Man8B-MTX に最も高い反応性を示すことが明らかとなり、α-Glucosidase II の糖鎖認識機構における階層的な糖鎖認識の序列と制御の存在が示唆された。その結果、

UGGT と α -Glucosidase II の糖鎖特異性について定量的なデータを得ることに成功した。

4. C-マンノシル化の細胞生理機能の解析

伊藤グループより提供された合成サンプルを用いて、C-マンノシル化トリプトファン抗体の作製に成功した。C-マンノシル化トリプトファン抗体を用いて、C-マンノシル化タンパク質の発現が、高グルコース条件で増加することを、マクロファージ細胞株や糖尿病モデル Zucker fatty ラットの臓器によって見出した。これはC-マンノシル化タンパク質の生理的あるいは病態的意義を示唆する初めての報告である。

一方、C-マンノシル化 TSR ペプチドの LPS シグナルへの影響についての解析では、C-マンノシル化 TSR ペプチドは、コントロールの TSR ペプチドと比べると、LPS による細胞シグナル伝達に影響し、特に c-Jun Kinase 経路の活性化を増強し、細胞障害作用を示すことが明らかとなった。以上の結果は、C-マンノシル化が、タンパク質機能モチーフと考えられる TSR の細胞生理機能に影響を与え、その機能修飾に関わることを強く示唆した。

(2) 研究成果の今後期待される効果

今後、一連の新規合成糖鎖基質を用いることにより、UGGT や α -Glucosidase II の糖鎖認識機構の詳細が明らかになれば、Calnexin/Calreticulin サイクルにおける分子シャペロン制御機構の解明に繋がるものと期待できる。また、新規合成糖鎖基質は、細胞外 Calreticulin の生物機能修飾効果も期待できることから、近年注目されている Calreticulin が関わるアポトーシス制御機構の解析などへの応用も考えられる。

一方、合成 C-マンノシル化ペプチド化合物の LPS シグナル増強機構の発見から、現在の研究を進展させ、細胞内在性の C-マンノシル化標的タンパク質の同定や、C-マンノシル化ペプチドの受容体を検索、同定することにより、これまで全くその生理機能が未知であった C-マンノシル化の細胞生理機能の解析が可能となる。また、糖尿病モデルラットの大血管で C-マンノシル化タンパク質の発現増加が認められたことから、抗 C-マンノシル化トリプトファン抗体の臨床応用の可能性などについては、血管病変マーカー探索の観点からも期待できる。

NMR を利用した細胞内レクチンの糖鎖認識機構の構造生物学的解析
(名古屋市立大学 加藤グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

● 研究のねらい

本研究の目的は、糖タンパク質の細胞内運命（フォールディング，輸送，分解）を決定する様々なレクチンと糖鎖の相互作用様式を解明することを通じて，それらのレクチンの機能発現メカニズムを解明することにある．本研究では，小胞体シャペロンであるカルレティキュリン（CRT）およびカルネキシン（CNX），小胞体とゴルジ体の間の糖タンパク質の選別・輸送にかかわるL型レクチン（ERGIC-53，VIP36，VIPL），糖タンパク質の小胞体関連分解にかかわる OS-9，ペプチド:N-グリカナーゼ（PNGase），ユビキチンリガーゼ SCF^{Fbs1} を研究対象とした．

● 研究実施方法

様々な糖鎖リガンド，高マンノース型糖鎖ライブラリーおよび安定同位体標識糖ペプチドを用いて，細胞内レクチンの糖鎖認識ドメインとの相互作用解析をフロントアルフィニティークロマトグラフィー（FAC）法（図 1），および核磁気共鳴（NMR）法により行った．

● 実施内容・成果

I. 糖タンパク質のフォールディング

1) 小胞体シャペロン CRT/CNX の糖鎖認識の特異性

CRT および CNX は，小胞体内腔に局在するタンパク質として同定された分子シャペロンであり，新生糖タンパク質上に発現したモノグルコシル化（Glc₁Man₉GlcNAc₂）糖鎖を特異的に認識してポリペプチド鎖の立体構造形成の補助をしている．糖鎖のプロセッシング過程ではD2アームおよびD3アームのマンノース残基もマンノシダーゼにより切除されると考えられるが，D2アーム，D3アームの構造変化がフォールディングサイクルにどのような影響を及ぼすのか，その詳細は明らかとなっていない．本研究ではどのような糖鎖構造がフォールディングサイクルにおいて役割を果たしているのか明らかとするために，CRT，CNX と糖鎖の相互作用解析を行った．FAC 解析の結果，CNX および CRT はともに Glc₁Man₉GlcNAc₂ に対して強い親和性を示すのに対し，D1アーム末端のグルコースが欠如した糖鎖に対しては親和性を示さないことが確認された．また興味深いことに，D2 および D3アーム末端のマンノース残基の除去はいずれも CNX および CRT に対する親和性の低下をもたらすことが明らかとなった．この傾向は特に CRT の場合の方が顕著であった．

2) CRT に結合した糖鎖の構造解析

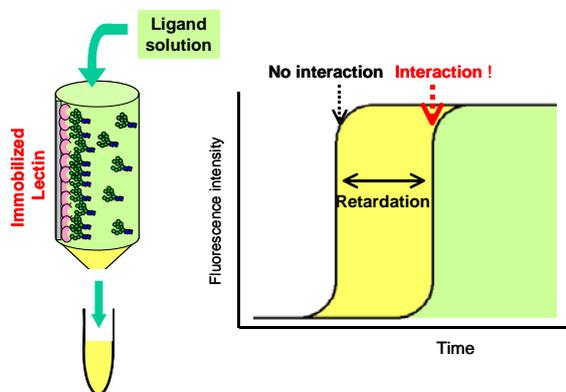


図1 FAC法によるレクチンと糖鎖の相互作用解析の概念図

NMR による滴定実験の結果, CRT は高マンノース型糖鎖のうち, 特に $\text{Man}\alpha\text{-}3$ 分枝 ($\text{Glc}\alpha\text{-}1\text{-}3\text{Man}\alpha\text{-}1\text{-}2\text{Man}\alpha\text{-}1\text{-}2\text{Man}$) を認識することが明らかとなった. さらに CRT の糖鎖の認識様式について詳細に解析したところ, $\text{Glc}\text{-}\text{Man}$ の結合様式が β 型よりも α 型であることが高い親和性を獲得するために重要であることが判明した. また, $\text{Glc}\text{-}\text{Man}$ の糖残基間の転移核オーバーハウザー効果 (TR-NOE) を観測することにより, CRT に結合した状態の $\text{Glc}\text{-}\text{Man}$ 2 糖間の二面角を決定することに成功した.

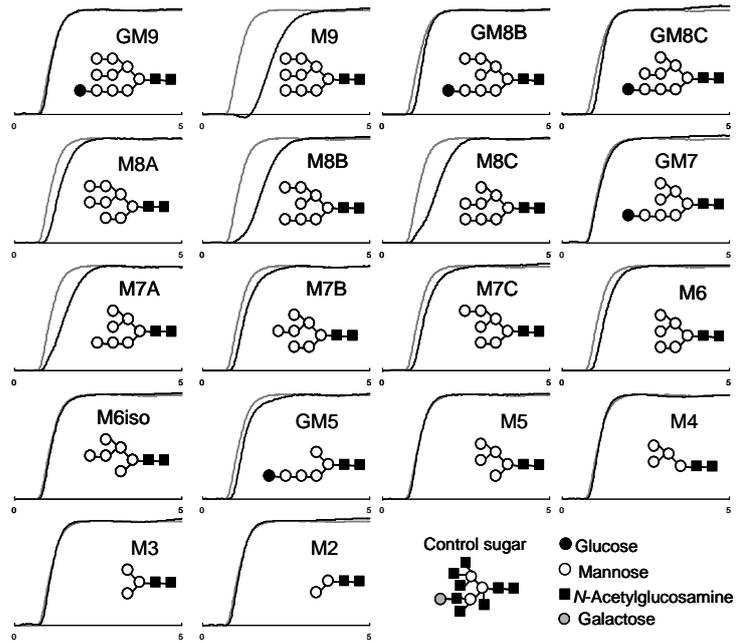


図2 VIPL固定化カラムにおける各糖鎖の溶出プロファイル

II. 糖タンパク質の選別・輸送

1). ERGIC-53, VIP36, VIPL の糖鎖認識の特異性

ERGIC-53, VIP36, VIPL は小胞体, ゴルジ体に局在する L 型レクチンであり, 小胞体-ゴルジ体のあいたの積み荷糖タンパク質の輸送に関わっていると考えられている. ERGIC-53, VIP36, VIPL は高マンノース型糖鎖をもつ糖タンパク質と結合することが考えられているが, その糖鎖認識の特異性についてはこれまで明らかとされていない. 本研究では, 糖鎖ライブラリーを用いてフロントアルフィニティクロマトグラフィ法により, ERGIC-53, VIP36, VIPL の糖鎖認識ドメイン (VIP36-CRD) の糖鎖結合特異性を詳細に解析した (図 2, 3). その結果, VIP36 は D1 アームに $\text{Man}\alpha\text{-}1\text{-}2\text{Man}\alpha\text{-}1\text{-}2\text{Man}$ の 3 糖構造を有する高マンノース型糖鎖に対し, 高い親和性を示すことが明らかとなった (図 2). このような糖鎖に比べて D1 アームにグルコース残基が結合している糖鎖, あるいは D1 アームからマンノース残基が切除された糖鎖に対する親和

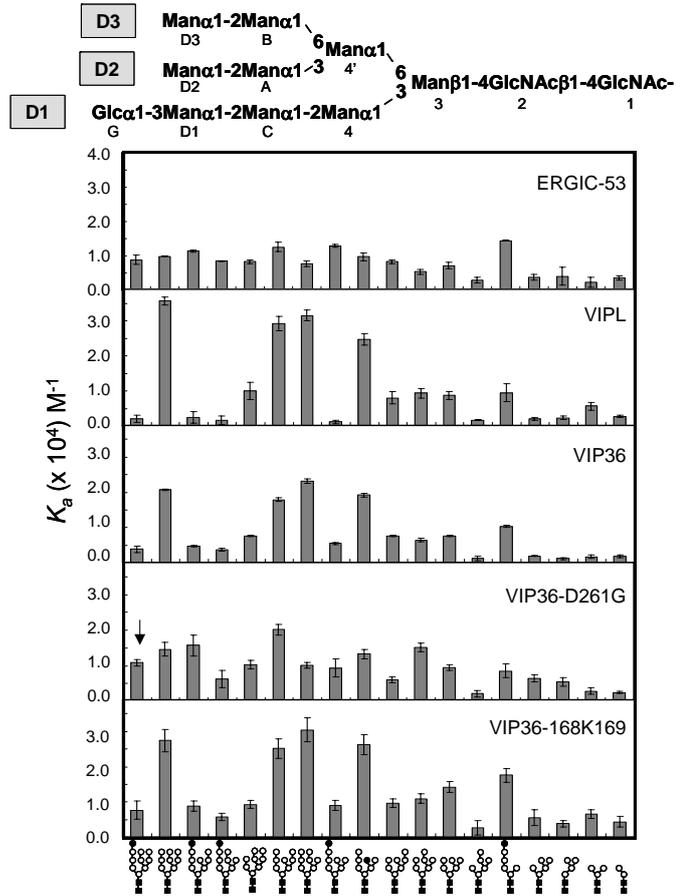


図3 カーゴレセプターの糖鎖結合プロファイル

性は低下することが明らかとなった。一方、D2 アームおよび D3 アームの構造は VIP36 の糖鎖認識に影響を及ぼさなかった。また、VIP36 とアミノ酸配列の相同性が高い VIPL も VIP36 と同様に D1 アームの Man α 1-2Man α 1-2Man の 3 糖構造を有する高マンノース型糖鎖に特異性を示した。一方、ERGIC-53 の糖鎖に対する親和性は D1 アームにおけるモノグルコシル化あるいは、マンノース残基の切除の影響を受けなかった。すなわち、ERGIC-53 は高マンノース型糖鎖に対する特異性は幅広いことが明らかとなった。

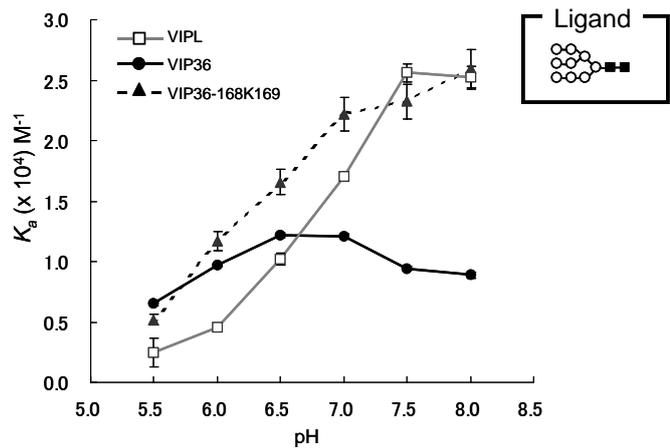


図4 VIP36、VIP36変異体、およびVIPLの糖鎖認識のpH依存性

L 型レクチンは小胞体-ゴルジ体間の選別・輸送にかかわっていると考えられる。小胞体、ゴルジ体は異なる pH 環境を示すことから、L 型レクチンの糖鎖認識における pH 依存性を解析した(図 4)。その結果、興味深いことに VIPL は糖鎖に対して中性領域で高い親和性を示したが、VIP36 と糖鎖の結合はベル型の pH 依存性を示し、pH 6.5 付近で最も高い親和性を示した。

以上の結果と ERGIC-53、VIP36、VIPL の細胞内局在を考慮し、これらのレクチンの細胞内機能は以下のように考察される。小胞体においてモノグルコシル化糖鎖を有する糖タンパク質が CRT/CNX によって立体構造形成の補助が行われた後、グルコシダーゼ II の作用により CRT/CNX から遊離する。VIPL はこの糖タンパク質は VIPL と結合する可能性があり、その際に UGGT によってグルコース残基の付加が行われる D1 アームと結合することにより、糖タンパク質を分解機構へと導く OS-9 および EDEM との相互作用から保護している可能性がある。また、興味深いことに ERGIC-53 は小胞体ストレスによって誘導されることが報告されている。誘導された ERGIC-53 は幅広い糖鎖認識の特異性によって糖タンパク質を効率的に小胞体から輸送排除し、小胞体ストレスから回避する役割を担っていると考えられる。一方、VIP36 は弱酸性の環境であるゴルジ体において糖タンパク質と結合すると予想される。VIP36 はゴルジ体に輸送された不良品糖タンパク質を捕獲し、小胞体へと差し戻すという役割を担っている可能性がある。その際に小胞体において CRT/CNX にサイクルの補助を受ける際に必要となる D1 アームを Golgi マンノシダーゼによるマンノース残基の切除から保護しているものと考えられる。

2). L 型レクチンによる糖鎖認識の分子基盤

ERGIC-53、VIP36、VIPL の糖鎖認識の特異性と pH 依存性の相違が生じる仕組みを明らかにするために、構造生物学情報に基づいた部位特異的変異実験を行うことにした。最近 p58/ERGIC-53 および VIP36 の糖鎖認識ドメインの結晶構造が報告され、いずれもマメ科レクチンのフォールドと同様に、 β シートから構成される β サンドウィッチ構造を形成していることが報告された。本研究においても、VIPL の糖鎖認識ドメインの結晶化に成功し、予備的な解析結果ながら、低分解能ながら電子密度像を得ることに成功した(高エネ研 若槻壮市教授のグループとの共同研究)。VIPL も他の L 型レクチンと同様に β サンドウィッチ構造をしており、糖鎖結合部位や Ca^{2+} 結合部位はよく保存されていることが明らかとなった。これらの結晶構造を基に、L 型レクチンの糖鎖認識の分子基盤を明らかにすることを試みた。結晶構造解析によって VIP36 の糖鎖結合部位が β シートのくぼみであることが提唱されており、我々は NMR 法を利用した相互作用解析により糖鎖と VIP36 の水溶液中における相互作用様式は結晶構造と同様であることを裏付けた。VIP36 と ERGIC-53 の糖鎖結合部位のアミノ酸残基を比較すると、VIP36 の Asp261 は ERGIC-53

では側鎖構造の小さいグリシン残基に置換されている(図 5). このことから, ERGIC-53 の糖鎖結合ポケットは広く, ERGIC-53 は D1 アームにグルコース残基を有する高マンノース型糖鎖を許容できると予想した. そこで VIP36 の Asp261 をグリシン残基に変異させた VIP36-D261G を作成し, 糖鎖との相互作用解析を行った. その結果, VIP36-D261G はモノグルコシル化糖鎖に対する親和性を獲得した(図 3). このことから, VIP36 および VIPL のアスパラギン酸残基は糖鎖結合部位の空間を制御することで高マンノース型糖鎖の D1 アームの Man α 1-2Man α 1-2Man 構造に対する特異性を獲得することが明らかとなった.

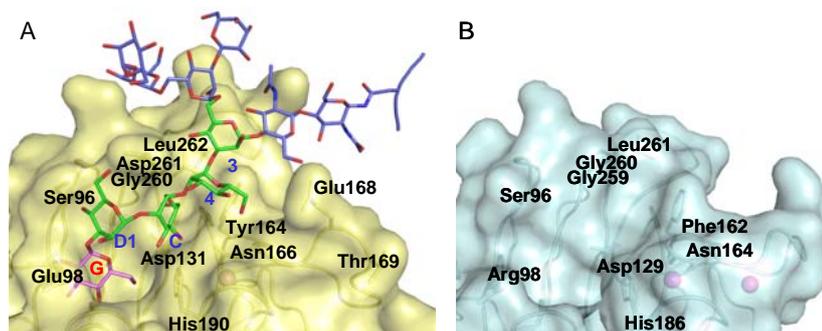


図5 VIP36とERGIC-53の糖鎖結合部位
(A. VIP36とGM8B糖鎖 B. ERGIC-53)

先に述べたように, VIPL と VIP36 は糖鎖認識に対して異なる pH 依存性を示すことが明らかとなった. VIPL と VIP36 と糖鎖結合部位のアミノ酸残基は全て保存されているが, 糖鎖結合部位周辺のアミノ酸残基に目を向けると, VIPL には VIP36 には存在しないリシン残基が挿入されていることが着目される. そこで VIP36 の対応する位置 (Glu168 と Thr169 の間) にリシン残基を挿入した変異体を作成し, FAC 解析を行った(図 3). その結果, VIP36-168K169 の糖鎖認識は, 中性環境下において親和性が上昇する pH 依存性を示し(図 4)た. このことから, 挿入部位に位置するリシン残基が間接的に糖鎖認識部位へ影響を及ぼすことによって, VIPL は VIP36 と異なる pH 依存性を示すと考える.

以上のように, 3 種類の L 型レクチンの糖鎖認識の相違は糖鎖結合部位周辺のわずかなアミノ酸残基の相違によって規定されていることが本研究を通じて明らかとなった.

3) ERGIC-53 と MCFD2 の相互作用解析

新生糖タンパク質の小胞輸送にかかわるカーゴレセプター ERGIC-53 は血液凝固因子欠損症の原因遺伝子産物である. ERGIC-53 はやはり血液凝固因子欠損症の原因遺伝子産物として同定されたタンパク質である MCFD2 と複合体を形成することで小胞体からゴルジ体への第 V 因子, 第 VIII 因子の輸送を制御している. しかしながら ERGIC-53 と MCFD2 の複合体による糖タンパク質輸送機構の詳細は未だ明らかとなっていない. そこで ERGIC-53 の糖鎖および MCFD2 との相互作用の構造的基盤を明らかにすることを試みた. NMR 解析の結果, ERGIC-53 における糖鎖および MCFD2 の相互作用部位は互いに独立であることが明らかとなった. 以上のことから第 V 因子あるいは第 VIII 因子の輸送は, ERGIC-53 による糖鎖認識と MCFD2 によるタンパク質部分との相互作用を通じて担われていると考えられる.

III. 糖タンパク質の分解

1). 分解系に関わる細胞内レクチンの糖鎖認識特異性の解析

小胞体に局在する OS-9 と、その酵母ホモログである Yos9p は、不良な糖タンパク質を細胞質への分解系へと導く細胞内レクチンであり、糖タンパク質の品質管理において重要な役割を担っている。また、PNGase は細胞質において糖鎖を遊離させる酵素として機能しており、活性ドメインの C 末端側にレクチンドメインを有している。これらのレクチンの糖鎖認識の詳細は未だ明らかとなっていない。そこで高マンノース型糖鎖ライブラリーを用いて FAC 解析を行った結果、OS-9 は D3 アームのマンノース残基が除去された糖鎖に対して高い親和性を示した。また細胞質において糖鎖の還元末端を切断する PNGase のレクチンドメインは D2 アームのマンノース残基が除去された糖鎖に対して高い親和性を示した。CRT/CNX の糖鎖認識の特異性と合わせて考えると、マンノシダーゼの作用による高マンノース型糖鎖のトリミングは分子シャペロンによるフォールディングサイクルからの離脱を促し、小胞体関連分解へと導く移行シグナルになると考察する。

2) ユビキチンリガーゼの基質認識メカニズムの解析

SCF^{Fbs1} は細胞質において、N 結合型糖鎖を有するタンパク質を認識して分解マーカーであるユビキチン鎖を連結する酵素であり、プロテアソームによる糖タンパク質の分解において重要な役割を担っている。SCF^{Fbs1} の基質認識ユニットである Fbs1 の糖タンパク質に対する分子認識の詳細は未だ明らかとなっていない。本研究では Fbs1 による糖タンパク質認識様式の解明を目的とし、様々な糖鎖リガンドを用いた Fbs1 の NMR 解析を行った。各種リガンドの結合に伴って SBD の ¹H-¹⁵N HSQC ピークに誘起された化学シフト変化を解析した結果、SBD 上の β3-β4、β9-β10 ループが糖

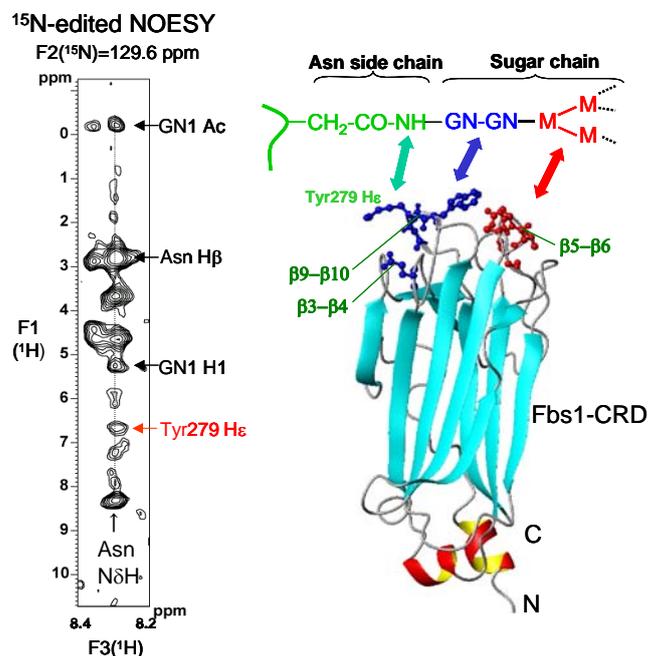


図6 Fbs1と糖ペプチドの相互作用解析

鎖の GlcNAc₂ 部分と、β5-β6 ループがマンノース残基と相互作用していることが判明した。また、糖ペプチド-SBD 複合体の ¹⁵N-edited NOESY スペクトルを測定した結果、Fbs1 は糖鎖のみならず糖鎖結合部位の Asn 残基ともコンタクトしていることが明らかとなった。この結果より、Fbs1 は高次構造を保持している糖タンパク質ではアクセスし難い還元末端近傍を認識することより、変性状態にある糖タンパク質と特異的に相互作用してユビキチン化を行うことが示唆された。また、プロテアソームの分解標的となる糖タンパク質からは PNGase によって糖鎖が遊離されると考えられているが、Fbs1 存在下ではリボヌクレアーゼ B に対する PNGase の作用が阻害されることが示された。従って Fbs1 は基質上にポリユビキチン鎖を形成している間、基質の糖鎖を PNGase から保護していると考えられた。

3) PNGase の PUB ドメインとユビキチン鎖との相互作用解析

PNGase は細胞質において糖鎖を遊離させる酵素として機能しており、HHR23をはじめと小胞体関連分解に関与するいくつかのタンパク質と結合することが報告されている。本研究では、PNGase の N 末端領域に存在する PUB ドメインがユビキチンと結合する可能性に着目し、様々な鎖長のユビキチン鎖 (Ub₂, Ub₃, Ub₄) を調製して、PUB ドメインの相

相互作用解析を行った。FAC 解析の結果、ユビキチン鎖の鎖長の増大に伴って、PUB ドメインとの親和性が増大することが明らかとなった。また、NMR 解析によってユビキチン鎖の PUB ドメイン上の結合部位を同定することに成功した。また、PUB ドメインは HHR23 のユビキチン様ドメインとも高い親和性をもって結合することから、PNGase と HHR23 の複合体中でこれら2つのドメインが相互作用しうると考えられる。

以上述べたように、本研究は糖鎖ライブラリーとNMRを活用して、糖タンパク質の細胞内運命を決定する様々なレクチンの分子認識様式を体系的かつ定量的に明らかにするものである。本研究を通じて、これまで未知であった細胞内レクチンの作動メカニズムの分子基盤を与えることができた。

(2) 研究成果の今後期待される効果

本研究を通じて、糖タンパク質の細胞内運命を決定するマシーナリーを構成する糖鎖認識ドメインの構造情報を系統的に集積することができた。今後は、小胞体シャペロン複合体、L型レクチンの超分子ネットワーク、小胞体関連分解マシーナリーなど、糖タンパク質の細胞内動態を規定する複雑な分子装置の全体構造を解明し、その作動機構を解明する必要がある。そのためには、糖鎖-タンパク質相互作用とタンパク質-タンパク質相互作用を統合して理解する構造生物学的アプローチがもとめられる。本研究を通じてそのための基盤を固めることができた。

小胞体品質管理システムの破綻により重篤な疾患を引き起こす例が知られている。例えば、本研究で対象としたカーゴレセプターERGIC-53は血液凝固因子の輸送を司っており、その変異は遺伝性の血液凝固因子欠損症の原因となり得る。本研究の成果のうえに、今後は、こうした品質管理システムの破綻がもたらす疾患の発症機構の分子基盤が解明されていくことが期待される。また、近年、抗体医薬をはじめとしてバイオロジクスとしての糖タンパク質の利用が盛んに行われている。さらにこうした一連の研究を通じて、細胞系を利用した分泌糖タンパク質の生産効率の向上と高機能化を実現するための基礎的情報がもたらされるものと期待される。

3.2 細胞質における遊離糖鎖の代謝系の解析と糖鎖トランスポーターの同定およびショウジョウバエにおける遊離糖鎖の代謝機構の解明とその生理機能の解析

(大阪大学 鈴木グループ)*

*平成 19 年 10 月より理化学研究所

(1) 研究実施内容及び成果

● PNGase 反応機構の解明

理研伊藤グループによって合成されたハロアセトアミド基を導入した糖鎖を用いて、PNGase の特異的な阻害剤となることが明らかになった。細胞質 PNGase は一次構造上の類似からトランスグルタミナーゼスーパーファミリーに属している。その活性中心については、Cys, His, Asp の 3 残基が保存されており、これらの残基は PNGase 活性に必須であることが示されている。最近小化合物のライブラリーを用いたスクリーニングにより、カスパーゼの阻害剤である Z-VAD-fmk が本酵素の阻害剤として単離された。この化合物は活性中心の Cys と共有結合することによって阻害効果があると考えられるが、カスパーゼの阻害剤でもあることから、*in vivo* の阻害剤としてはその特異性に問題がある。我々は N 型糖鎖のハロアセトアミド化体を用いて、これらの化合物が出芽酵母の PNGase の非常に特異的な阻害剤となることを明らかにした。

これらは還元状態において PNGase に特異的に結合し、大腸菌に本酵素を発現させた粗抽出液中でも PNGase のみが唯一このプローブと特異的に結合する。以前より細胞質 PNGase はキトビオース構造を持つ糖鎖と親和性があり、反応産物の遊離糖鎖に酵素活性の阻害効果があることが知られていたが、これらの結果を考え合わせると、細胞質 PNGase には N 型糖鎖の根元のキトビオース構造に対して特異的な結合ポケットが存在することが予想された。さらに、質量分析による詳細な解析により、この糖鎖プローブの酵素への結合は活性中心の Cys を介していることを明らかにした。また分子モデリングの結果から、キトビオースの結合部位は結晶構造で明らかにされている Z-VAD-fmk の結合部位とは異なることが分った。

この糖鎖 (キトビオース) 誘導体は今後 Z-VAD-fmk に代わる細胞質 PNGase に特異的な *in vivo* 阻害剤の開発のシード化合物として利用できる可能性が期待される。実際実際このプローブに蛍光標識した誘導体が、細胞質の *in vivo* のラベル化・阻害剤になることが後に示された (萩原 ら, *Glycobiology*, 2007)。これに関連して、PNGase 依存的な ERAD 経路の詳細な分子機構はこれまで不明だったが、出芽酵母において植物の毒素タンパク質の無毒化変異体が PNGase-Rad23 複合体の基質となり、その効率よい分解に PNGase 活性が必須であることを明らかにした。様々な基質に対する特異性の解析から、この PNGase-Rad23 複合体は別の ERAD に関わる複合体、Rad23-Ufd2 とは独立に存在し機能することが示され、ERAD の基質特異的な分解経路の存在が示唆された。

- ショウジョウバエ PNGase 変異体の解析

共同研究者から欠失変異体の供与を受けたことより、ショウジョウバエ PNGase の変異体の解析を中心に研究を行った。

共同研究者 (Stony Brook University, USA の Dr. Peter Gergen と Dr. William Lennarz) から、PNGase の 5' 近傍にトランスポゾンが挿入された系統の不正確なトランスポゾンの切り出しを用いて作成された、PNGase のゲノム領域のマイクロディレーションを持つ系統を数ライン提供された。まずはそれらが実際に PNGase の領域に欠失を持ち、遺伝子の機能を破壊していることを確認するために各系統からゲノム DNA を抽出、PCR で PNGase の領域を増幅しディレーションを確認後、シーケンスにより欠損領域を同定した。最終的にさらに northern blotting など mRNA を確認する予定である。

併せて、変異体の詳細な解析を行った。これらのアリのホモ個体は共通して幼虫の時期に致死となることが判った。さらにいくつかの顕著な表現型を詳細に観察し、最終的にその表現型から推察される関連因子について考察した。(Funakoshi, *et al.* manuscript in preparation)

(2) 研究成果の今後期待される効果

これまで細胞質 PNGase の阻害剤はペプチド性の Z-VAD-fmk のみが知られていたが、PNGase に非常に特異的なプローブは調べられた限りにおいて細胞質 PNGase に非常に特異的に反応し、細胞質 PNGase における世界初の特異的阻害剤といえる。本研究では *in vivo* で応用できる蛍光誘導体の開発まで成功しており、今後本酵素を細胞レベルで特異的に阻害できることが可能となった。

以下に述べるように PNGase 依存的な ERAD 経路は我々の研究によって明らかにされつつあり、酵素の生理機能の解析が糖鎖生物学のみならず、細胞生物学全体におけるツールとして広く利用されることが期待される。また、これまで細胞質 PNGase が ERAD の系に関与していることは我々を含めて様々な系で示されてきたものの、その分解の効率に影響を与える例はこの論文の前に示されておらず、今回の論文が初めてであった。この論文によって、これまで不明であった PNGase 依存的な ERAD 経路の分子機構の解明が進むことが期待されている。また、この論文によって Rad23 が関わる ERAD 複合体においても複数の独立したものがあることが示され、それぞれ別の基質をターゲットとすることから、細胞質においても ERAD 基質の選別が行われていることが明らかとなった。これ以前にそもそも Rad23 に依存しない ERAD 基質というものも知られており、今回の発見によって ERAD は小胞体の中だけでなく、細胞質においても多様な経路をとることが強く示唆された。

ショウジョウバエの PNGase はほ乳類 PNGase と同様の構造をしているが、この構造を持つ PNGase の変異体の解析は本研究が初めてである。

実際、ほ乳類 PNGase でも明らかになっている Rad23 ホモログとの結合はショウジョウバエでも保存されているらしいことが報告されており (Giot, *et al.*, Science, 2003 に、報告された、酵母の 2 ハイブリッドスクリーニングによるタンパク質相互作用マップ)、ショウジョウバエで明らかになるであろう機能がほ乳類に至るまで保存されている可能性も高い。従って本研究で得られた結果、そしてそれに基づいた研究が、将来、高等生物の PNGase の機能、それに付随する生物学的意義の解明に向けてさらなる飛躍をもたらすことが期待される。

3.3 細胞内レクチンによるタンパク質輸送機構の解明と新規 cargo receptor 創成による糖鎖利用技術への応用

(東京大学 山本グループ)

(1) 研究実施内容及び成果

- 研究の概要

糖タンパク質の選別・輸送を担うカーゴレセプター (ERGIC-53, VIP36, およびVIPL) のさまざまな分子の性状を明らかにし, 糖タンパク質品質管理の全容を明らかにすることを旨とし, CaセンサーおよびpHセンサーによる catch/release機構の解明, catch/release機構への新規分子の関与, 細胞内における分子の動きと分子間相互作用を介した活性制御について, 分子レベルでの解析を行ってきた. 上記のカーゴレセプターは, 植物マメ科レクチンと構造的に類似のL型レクチンに分類されているが, これに加えて, マンノース6リン酸レセプターと相同性を持つ小胞体内に存在するレクチン分子 (OS-9, XTP3-B, α -glucosidase II β 鎖) の性状を明らかにし, 小胞体関連分解やフォールディングチェック機構について検討した. これらの細胞内輸送, 小胞体関連分解, 蛋白質フォールディングなど, 一連の糖タンパク質品質管理機構に関わる細胞内レクチンの意義を, 糖認識特異性から明らかになったリガンドの選択性と糖タンパク質品質管理機構の理解を整理すると共に, これらレクチン遺伝子をノックアウトした細胞, あるいは相互作用を欠損した変異体をノックインした細胞を作成し, 糖タンパク質の分泌・輸送経路, 小胞体関連分解, 蛋白質のフォールディングなどに, どのような影響を及ぼすかを明らかにすることを旨とした.

- ERGIC-53, VIP36, およびVIPL

植物マメ科レクチンと相同性を持つ動物レクチンは, その構造からL型レクチンに分類される. ヒトゲノムには, このファミリーに属する遺伝子が4種類存在し, そのいずれもが細胞内糖タンパク質の輸送にかかわるカーゴレセプターである. ERGLを除く3つの分子はいずれの細胞においても恒常的に発現し, タンパク質の選別・輸送の過程を通して生合成された糖タンパク質の品質管理を行っている. これらカーゴレセプター (ERGIC-53, VIP36, およびVIPL) のさまざまな分子の性状を明らかにするに当たり, 4つの異なる性質に着目しアプローチを行った. 一つは, CaセンサーおよびpHセンサーによる結合/解離機構の解明, 第二に結合/解離機構への新規分子の関与, 第三は細胞内における分子の動きと分子間相互作用を介した活性制御の検証, 最後に, 糖認識特異性によるリガンドの選択性と細胞内輸送シグナルの理解である.

- 研究実施方法

カーゴレセプター遺伝子を単離し、大腸菌および哺乳動物細胞で発現・精製を行い、生化学的解析に用いた。発現方法は重要であり、2つの手法を用いて検討を行った。一つは、レクチンドメインにビオチン化配列を付加したcDNAを設計し、可溶性蛋白質として大腸菌で発現する系である。C末端に付加したビオチン化配列は酵素的にビオチン化を行ったのち、フィコエリスリン標識ストレプトアビジン(PE-SA)と混合することにより、蛍光標識した4量体を作製した。このプローブを用いて、細胞表面に存在する糖鎖に対して、レクチンの結合をフローサイトメトリーにより定量化する方法である。細胞表面にはさまざまな種類の糖鎖が存在するが、種々の糖鎖生合成阻害剤を細胞に処理したり、また糖鎖関連遺伝子の欠損したレクチン耐性変異株(Lec1, 2, 8など)を用いることにより、発現したレクチンがどのような糖鎖に結合するかを、フローサイトメトリーを用いて定量的な解析が可能となった。また、レクチンの詳細な糖結合特異性は、この結合実験の系に阻害糖を添加することにより比較検討した。

上記の手法は、組換え体の可溶性レクチンを単離・精製する必要がある。大腸菌を用いた蛋白質発現系は大量の試料を容易に得られる点で優れているが、多くの場合、大腸菌内で封入体として得られるため、正しくリフォールディングをする必要がある。このリフォールディングや単離・精製のステップが難しい場合の別の方法として、細胞表面へレクチン分子を提示させるcell surface display法を用いた。この手法は、レクチンドメインにCD8膜貫通ドメイン、およびCD3 ζ を繋いだcDNAを作製し、このキメラ分子を β ガラクトシダーゼ、あるいはGFP蛍光蛋白質のレポーター細胞(Bwz. 36, 2B4)に発現させた。この発現系は真核細胞を用いていることから、発現されるレクチン分子の立体構造は正しく、活性を示すことができるものと期待される。また、このキメラ分子は、CD8の膜貫通ドメインをもつことから、細胞表面に運ばれること、発現効率の善し悪しがあっても細胞表面にある一定数の分子が提示できること、細胞質内にCD3 ζ のシグナル伝達モジュールを持つことから、レクチンにリガンドが結合することによりシグナルが細胞内へ伝わり、 β ガラクトシダーゼ、あるいはGFPが発現誘導されるという点で優れている。そのため、細胞表面に提示されたレクチンへの結合が、発現誘導される β ガラクトシダーゼ、あるいはGFPを測定することにより、高感度な定量が可能である。ただし、リガンドは96ウェルプレートに固相化するなどの手段を必要とする。これらの手法を用いて、糖結合特異性の解析、Caなどの金属イオンの要求性、pHによる結合力の変化、他の相互作用する分子の関与などについて、検討を行った。また、新規分子との相互作用や自己分子の会合・解離を、表面プラズモン共鳴によるBIAcoreにより定量的に調べた。また、これらカーゴレセプターに対する特異的プローブは存在しないことから、特異的に結合するモノクローナル抗体を、それぞれについて作成した。

上記の手法は主に分子の性質を明らかにし細胞内の環境下でどのような挙動をするかを推論するものである。これに加えて、細胞内での分子のダイナミックな動きと糖結合活性を理解するために、上記のモノクローナル抗体を用いた静的な組織学的解析を行う

とともに、YFP、CFP融合タンパク質によるFRET解析により細胞内における動的な分子間相互作用を検討した。細胞内における糖タンパク質輸送活性の検討には、マーカータンパク質の分泌量を定量し、強制発現による活性増強、ドミナントネガティブ変異体による活性抑制、並びにロックダウン細胞による評価等を行った。

- 実施内容・成果

- (1) CaセンサーおよびpHセンサーによる結合/解離機構の解明

VIP36のレクチンドメインを大腸菌で発現させた可溶性VIP36を用いて、種々の糖タンパク質との結合を表面プラズモン共鳴を用いて解析を行った。その結果、VIP36はpH依存的に糖鎖と結合すること、すなわち中性では結合が見られないが、酸性になるに従って強い結合能が観察され、至適pHは6.0であった。この理由は、おもにVIP36分子の会合によって引き起こされることが超遠心分析およびゲルろ過等の分析で明らかになった。また、pHを酸性から中性に戻すことにより、徐々に結合の解離が促進され、可逆的な会合であるものと予想された。このことから、VIP36はゴルジ体(〜pH 6.0)で会合しavidityが上昇してリガンドを結合すること、小胞体 (pH 7.2) あるいは細胞外 (pH 7.4) へ移行しVIP36の会合が解離して、同時にリガンドを遊離するものと考えられた。

一方、ERGIC-53は、stalk部位に存在する2箇所のシステイン残基により、2量体、あるいは6量体として存在している点でVIP36とは異なる。また、ERGIC-53と結合する新たな分子(MCFD2)が明らかにされたことから、MCFD2の関与を検討した。いずれも単離したcDNAから組換え体タンパク質を作成し、フローサイトメトリーでERGIC-53の糖結合活性に及ぼす影響を調べたところ、ERGIC-53の糖結合活性はMCFD2存在下でのみ観察された。また、血液凝固因子分泌不全の患者から見つかったMCFD2のEFハンド構造内に点変異を持つ2種類の変異体は、いずれもERGIC-53との結合能が1/100, 1/1000に減少しており、糖結合活性の増強はできなかった。ERGIC-53の糖結合活性はMCFD2との会合によって制御されていることが明らかになったことから、ERGIC-53とMCFD2の結合定数をpH並びにCa濃度に関して詳細に調べた。VIP36とは異なり、ERGIC-53とMCFD2との結合は、生理的に機能し得るpH6.0〜7.0の範囲において、差は認められなかった。一方、両者の結合を1.0〜0.05 mM CaCl₂存在下で調べたところ、Ca濃度により大きく変化した。細胞内のオルガネラ内腔のカルシウム濃度は、小胞体やゴルジ体では0.3〜0.4mMと報告されている。その一方で、両者の中間に位置するERGIC (ER-Golgi intermediate compartment) では、カルシウムが検出されてないと報告されている。ERGICは単に小胞体とゴルジ体の移行段階の領域ではなく、特殊なオルガネラであると考えられている。小胞体内でERGIC-53/MCFD2に結合した糖タンパク質は、カルシウムの存在しないERGICを通過する際にERGIC-53とMCFD2が解離することにより、リガンドを遊離するものと考えられた。また、ゴルジ体へ運ばれた後、ERGIC-53とMCFD2は強い結合定数を持つことから容易に複合体になることが予想され、遊離したリガンドは結合が弱いこと、および糖鎖がプ

ロセシングを受けることにより結合できなくなり、リガンドだけが先に送られてゆくものと予想された。

ERGIC-53のリガンドに関しては、血液凝固第V因子、第VIII因子、そしてカテプシンZ、カテプシンCが知られている。Ginsburgらの報告によれば、血液凝固因子は主にMCFD2と結合し、ERGIC-53とMCFD2との結合を介して凝固因子をERGIC-53へリクルートしてくるとの説を唱えている。一方、Hauriらのグループは、カテプシンZ、カテプシンCとERGIC-53との結合はタンパク質/タンパク質間相互作用と、タンパク質/糖鎖間相互作用の2つの寄与があると述べている。しかしながら、これらの報告は全ての糖タンパク質に普遍的に当てはまる事象ではなく、ERGIC-53の輸送する個々のリガンドによって異なることが想定される。一方、われわれの明らかにしたレクチンとしてのタンパク質/糖鎖間相互作用は、上記の糖タンパク質を含めた全ての糖タンパク質に普遍的に当てはまる現象であり、未同定の多くの糖タンパク質の輸送・選別機構を説明できる点で重要な知見と考えられる。

一方、ERGIC-53の糖結合特異性を解析したところ、M8Bの高マンノース型糖鎖がもっとも強く阻害することが示された。M8Bの構造はM9にER α -mannosidase Iが作用して作られる糖鎖構造である。従って、M9の構造を持つ糖タンパク質にER α -mannosidase Iが作用するとERGIC-53に結合できるようになり、ゴルジ体へと運ばれるようになると予想された。従来、M8Bの糖鎖は小胞体関連分解のシグナルと言われてきた。すなわち、細胞をER α -mannosidase Iの阻害剤であるキフネンシンで処理すると小胞体関連分解が促進されること、またER α -mannosidase Iと相同性を持つEDEM分子を過剰発現すると小胞体関連分解が促進されることなどから、EDEMがER α -mannosidase Iと類似のM8Bを認識して小胞体関連分解に導くガイド分子であろうと理解されていた。しかしその後、EDEM1およびそのホモログであるEDEM2、3も含めて、これらはいずれも α -mannosidase 活性を持つグリコシダーゼそのものであること、M9、M8などに作用してM6、M5を生成することが次々と明らかになった。このことから、M8Bはもはや小胞体関連分解のシグナルではなく、輸送のシグナルと考えることができる点で、ERGIC-53がM8Bに特異性を持つことは大変興味深い。

VIPLは、VIP36と高い相同性を持つ分子として遺伝子が同定され、タンパク質の発現が確認されるに至った分子である。VIP36、ERGIC-53と異なり、細胞内の小胞体に留まり、輸送選別を行っているようには思われないこと、また、糖結合活性も確認できないことから、カーゴレセプターとは呼ばれていない。また、その生理的な意義に関しては、一切報告がない。しかし我々は可溶性VIPLを大腸菌で発現させ、PE標識4量体化することにより、HeLaS3細胞に結合することがわかった。この結合はデオキシマンノジリマイシンやキフネンシン処理で上昇し、スワインソニンでやや減少することから、高分子量の高マンノース型糖鎖に親和性を示すこと、また種々の高マンノース型糖鎖による阻害実験から、M9の高マンノース型糖鎖にもっとも強い親和性を示した。この特異性はVIP36

と類似であり、Man α 1, 2Man α 1, 2Manの糖鎖配列を認識し、グルコースの付加により阻害されることが明らかになった。このことは、カルネキシンに結合する糖鎖が α -glucosidase IIにより消化を受けると、VIPLに結合するようになることを示唆している。VIPLは小胞体内に留まり、そこでERGIC-53と相互作用していると考えられている(詳細は後述)。ERGIC-53の糖結合特異性はM8B 特異的であり、M9およびM7にも結合するものの、M8Bよりはるかに弱いこと、M8BはM9がER α -mannosidase Iにより分解を受けて生成する糖鎖であることから、糖タンパク質の糖残基が1つずつ切断されることにより、カルネキシンからVIPL、そしてERGIC-53と受け渡されることが示唆された。

(2) 糖結合/解離機構への新規分子の関与

ERGIC-53には、MCFD2という活性の調節を担う新たな分子の存在が明らかになった。一方、VIP36に関して機能に関わる未知の分子が存在するか否かについて、検討を行った。

具体的には、VIP36に恒常的に結合し、VIP36と共沈降するタンパク質を探索した。その結果、分子量80kDa付近に一つバンドが観察され、LC-MS/MSを用いた同定により、immunoglobulin binding protein (BiP)であることが明らかになった。VIP36とBiPとの結合はVIP36の糖結合活性を無くした変異体でも同様に観察されること、また結合量は絶えず一定であることから、恒常的に結合していることが予想された。また、BiPと結合するVIP36は、全てEndo β -N-アセチルグルコサミニダーゼHに耐性であったことから、VIP36とBiPとの相互作用は新規に合成されたVIP36をBiPが認識しているのではなく、ゴルジ体から逆輸送で小胞体にもどったVIP36にBiPが結合すると考えられた。次に、BiPとVIP36との結合が、単にシャペロンであるBiPの基質としてVIP36が結合しているのではないことを示すために、それぞれ大腸菌で組換え体タンパク質を作成し、表面プラズモン共鳴により結合と解離のモードを観察した。BiPがシャペロンとして種々の基質と結合する際には、金属イオンに依存しないことやATP存在下で結合しADP存在下で解離することが知られている。しかし、BiPとVIP36の結合は二価金属イオン要求性であり、ATP非要求性である点で、これらとは異なっていることも明らかになった。これらの結果から、VIP36は糖鎖プロセッシングの不全な糖タンパク質を小胞体へ送り返すとともに、BiPという新たな分子と小胞体内で相互作用することにより、ペプチド鎖のフォールディングも同時にチェックしていることが示唆された。VIP36はゴルジ体の酸性条件下で会合することを明らかにしているが、BiPは会合に伴うVIP36の疎水的な領域の露出をもとの構造に戻し単量体化するのを促進している可能性も考えられる。

(3) 細胞内における分子の動きと分子間相互作用を介した活性制御の検証

カーゴレセプターVIP36では可逆的な多量体形成により、またERGIC-53ではMCFD2との結合/解離によって、それぞれリガンドの結合/解離を説明できることを、*in vitro*の解析により示唆された。そこで、VIP36分子同士、あるいはERGIC-53とMCFD2が、それぞれ小胞体やゴルジ体において相互作用するのかを検証する目的で、蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) 法を用いて解析した。VIP36, ERGIC-53, MCFD2それぞれをCFP/YFP融合タンパク質として細胞内で発現させ、acceptor bleaching法によりFRETの効率を定量化した。オルガネラの特異性は、FRETの解像度が低くさらに検討を要するが、VIP36同士は主にゴルジ体で強くFRETが観察されること、ERGIC-53とMCFD2は主に小胞体でFRETが観察されること、Bafilomycin Aにより細胞内オルガネラのpH勾配を解除すると、FRETの効率が低下することが示され、上記で得られた*in vitro*のデータを検証することができた。

また、小胞体ストレスを負荷時の種々のシャペロン、カーゴレセプター、小胞体関連分解に関与する分子などの発現変動を統一的に調べた。細胞をツニカマイシンで処理し、12, 24, 42時間後の転写誘導能を調べた。タンパク質品質管理に関与する一連の分子のほとんどは発現が上昇したが、唯一の例外としてVIPLは発現誘導されなかった。この小胞体ストレス応答としてカーゴレセプターの細胞内局在を、当研究室で作製した特異的なモノクローナル抗体で染色し調べたところ、VIPLは相変わらず変化せず小胞体に留まっているのに対し、ERGIC-53の局在が劇的に変化し、大部分が小胞体からゴルジ体へと移行した。このことは、VIPLとERGIC-53が直接あるいは何らかの分子を介して相互作用していることを示唆しているばかりでなく、フォールディング不全のタンパク質が蓄積し小胞体ストレスがかかった場合、ERGIC-53がゴルジ体へ局在を変えることにより、小胞体からゴルジ体への輸送を停止することを意味し、小胞体内で増加した不全のタンパク質はVIPLからERGIC-53へ渡されなくなるメカニズムを示唆しており大変興味深い。

2 OS-9, XTP-3B, および α -glucosidase II β

マンノース6リン酸レセプターにはカチオン依存的なレセプターと非依存的なものが存在し、これらに共通するマンノースレセプターホモロジー (MRH) ドメインをもつ分子が、他に4種類 (OS-9, XTP3-B, α -glucosidase II β 鎖, GlcNAc-1リン酸転移酵素) が知られており、これらをP型レクチンとも言う。特にOS-9, XTP3-B, α -glucosidase II β 鎖は小胞体に存在する分子であることから、タンパク質品質管理機構への関与も十分に考えられる。これらの分子の糖結合活性の有無に関しては未だ明らかにされていないことから、手始めにMRHドメインがレクチンとして機能しているのか、またどのような糖鎖を認識するのかを明らかにすることを試みた。

- 研究実施方法

一連の分子をコードするcDNAを単離し、大腸菌および哺乳動物細胞で発現・精製を行い、生化学的解析に用いた。OS-9, XTP3-B, α -glucosidase II β 鎖に関しては前述の大腸菌による可溶性四量体として調製し、また、XTP3-BはさらにFc融合タンパク質として哺乳動物細胞の培養上清から精製、 α -glucosidase II β 鎖は α 鎖と同時に哺乳動物細胞に発現させることにより、 α -glucosidase活性を測定することも行った。糖結合活性は、蛍光標識した4量体をプローブとして用いて、細胞表面に存在する糖鎖に対して、レクチンの結合をフローサイトメトリーにより定量化する方法を用いた。細胞内の環境下でどのような挙動をするかを推論するために、金属イオンの影響、pHによる活性の変化、点変異導入による活性部位の特定などを行った。また、小胞体関連分解を観察するため、モデルタンパク質として α 1アンチトリプシンと、ミスフォールドタンパク質としてこの変異体のヌルホンコン(NHK)のcDNAをそれぞれ作製し細胞内で発現させ、小胞体関連分解に及ぼす影響について検討した。

- 実施内容・成果

- (1) OS-9, EDEM1, 2, 3の糖結合特異性と性状

糖タンパク質の運命は、輸送されるか分解されるかの二者択一と考えて良い。上記の結果から正常に折り畳まれた糖タンパク質の輸送に関する考察を行ったが、小胞体関連分解に導くシグナルを理解することにより、両者の振り分けがより明確に理解することができると考えられる。そこで、小胞体関連分解に関与するOS-9およびEDEM1, 2, 3の糖結合特異性を明らかにし、どのような糖鎖の持つシグナルが糖タンパク質の運命を決定しているかについて検討した。

OS-9のMRHドメインにビオチン化配列を付加し、大腸菌で発現させリフォールディングを行った。BirAビオチンリガーゼでビオチン化し、PE-SAにより四量体化プローブを作製した。OS-9はHeLaS3細胞に弱く結合し、ERマンノシダーゼ阻害剤のキフネンシン、マンノジリマイシンでその結合が10倍程度増強された。また、Golgiマンノシダーゼ阻害剤であるスワインソニンで30倍結合が増加した。これらの結合は金属イオン非依存的であり、EDTAで阻害されないこと、また細胞をEndo β -N-アセチルグルコサミニダーゼHで処理することにより結合が解除されることも示された。MRHドメインは本来マンノース6リン酸レセプターホモロジドドメインとして同定されたドメインであるが、各種単糖による阻害実験を行ったところ、マンノースのみで阻害が認められ、他の単糖あるいはマンノース6リン酸、マンノース1リン酸では阻害されなかった。以上の結果を総合すると、OS-9は低分子の高マンノース型糖鎖を認識するものと予想された。一方、EDEM1, 2, 3に関しては、大腸菌発現系、細胞表面ディスプレイ等の発現系、Fc融合タンパク質を用い検討した。しかしながら、発現は確認できたものの、大腸菌で発現させたタンパク質のリフォールディングが成功していないこと、哺乳動物細胞で発現したものに関して

は、細胞表面あるいは細胞外に出てくることが無く、細胞内に留まったままであった。そのため、糖結合特異性あるいは酵素活性の検討はできなかった。

上記でも触れたが、小胞体関連分解のシグナルは、M9, M8からEDEMによりM6, M5に分解され、これがシグナルになっているのではないかと考えられるようになってきた。酵母においてOS-9のホモログYos9が小胞体関連分解を促進するという報告が複数のグループから報告されている。Yos9pに関しては、糖結合活性に関しては有ることを示唆するグループと、無いことを主張するグループに見解が二分している。今回われわれがヒトOS-9で糖結合活性を明らかにしたことは、これらの議論に終止符を打つ明確な結果である。OS-9の糖結合特異性は本来小胞体内で正常の糖鎖のプロセッシングによって作られる構造ではない。また、OS-9は小胞体に留まり、実際にKDELの小胞体残留シグナルをC末端に持っていることを考え合わせると、EDEMにより分解された低分子の高マンノース型糖鎖をOS-9は小胞体内で認識していることが明確になり、OS-9がEDEMで分解されたミスフォールドタンパク質の認識に関わっていることが強く示唆される。ちなみに、酵母Yos9は小胞体膜のトランスロコンであるDerlin1に結合するという報告もあり、ミスフォールドタンパク質をEDEMからトランスロコンへ受け渡すガイド分子として機能している可能性が考えられる。

(2) XTP-3Bの糖結合特異性と性状

XTP-3BはErlectinともいい、分子内に2つのMRHドメインをもつ可溶性のタンパク質である。発生に関与するKremen2に結合するタンパク質として、2006年に初めて報告されたが、機能に関しては何もわかっていない。2つのドメインD1, D2をそれぞれ大腸菌で発現させ、OS-9と同様にビオチン化後に四量体化した。D1, D2はいずれもHeLaS3細胞をスワインソニン処理した時に弱い結合が観察され、未処理、キフネンシン処理、デオキシマンノジリマイシン処理では結合が認められなかった。CHOのレクチン耐性株のうち、GnT1を欠損したLec1細胞に強く結合し、Lec2, Lec8には結合しなかった。哺乳動物細胞で作製したFc融合タンパク質に関しても同様の結果が得られた。糖鎖による阻害実験はまだ行っていないが、実験結果はOS-9と類似していることから、同様の低分子の高マンノース型糖鎖を認識するものと予想される。XTP-3BもOS-9と同様に細胞内の小胞体に局在している可溶性の蛋白質であり、特異性はEDEMに分解された糖鎖が良いリガンドと考えられる。機能に関しては他の情報は無いが、小胞体関連分解に関与する可能性は十分考えられる。

(3) α -glucosidase II β 鎖の糖結合特異性と性状

α -glucosidase II β 鎖もMRHドメインを持つ分子である。このMRHドメインを上記と同様に大腸菌で発現し、糖結合特異性をサイトフローメトリーで解析を行った。同じMRHを持つOS-9, XTP-3Bとは異なり、キフネンシン処理、デオキシマンノジリマイシン処理した細胞に強く結合した。結合にはカルシウムの有無は関係なく、EDTAによって阻害されなかった。単糖では、マンノースにより阻害され、Endo β -N-アセチルグルコサミナーゼHで処理することにより結合が解除された。これらの結果から、 α -glucosidase II β 鎖のMRHドメインはM9などの高分子量の高マンノース型糖鎖に結合すると予想された。このことは、G1M9の高マンノース型糖鎖からグルコースを加水分解する際に、基質のG1M9を捕まえている可能性が考えられ、基質となる糖タンパク質を酵素 (α サブユニット) へ導き加水分解を効率よく行っていることが示唆される。

このサブユニットは、 α サブユニットと共同して活性を発現すると考えられているが、 β サブユニットがどのように関与しているかについて諸説あり、明確な結論は得られていない。完全長の β サブユニットcDNAと α サブユニットのcDNAを同時、あるいは単独でHEK293細胞に発現させて、p-NO₂-phenyl α -glucosideを用いて α -glucosidase活性を測定した。その結果、活性サブユニットといわれている α サブユニットのみを発現しただけでは活性が認められなかったが、 β サブユニットを同時に発現して初めて、活性を検出することができた。 α -glucosidase II β 鎖MRHドメインの糖認識部位の1つのアミノ酸に変異を導入したのも、 α サブユニットと同時に発現させると、MRHドメインはM9のような本来の基質に特異性を持つと予想されるが、p-NO₂-phenyl α -glucosideに強く結合することはないことから、 β サブユニットはリガンドを捕まえること以外に、 α サブユニットの活性発現を助ける補助的な役割をしている可能性が考えられた。

細胞内には、正しくフォールディングされたタンパク質のみを選別し機能させるための品質管理のメカニズムが存在する。30%を占めるフォールディングに失敗したタンパク質は積極的に分解されるが、分泌型タンパク質の分解と合成の振り分けは、タンパク質に付加されたN型糖鎖により仕分けがされていると言われている。しかしながら、我々はこれら糖タンパク質品質管理に関わるレクチンの糖結合特異性やさまざまな生化学的性質を調べた結果、正しいタンパク質としてゴルジ体へ送られる反応は小胞体内腔の膜上で起こり、分解へ導く経路は膜から離れた小胞体内腔の可溶性の画分で行なわれているのではないかと予想された。すなわち、N型糖鎖を介した膜と可溶性画分への振り分けが、分泌タンパク質の分解・合成の運命を決め、さらに、この振り分けの鍵となる分子が糖認識分子VIPLではないかと考えられる。

(2) 研究成果の今後期待される効果

従来知られていた植物レクチンは生体防御分子として機能していると言われている。その作用メカニズムは、細菌やウイルス表面に存在する糖と強く結合し、凝集させることにより凝集塊を作り、それ以上増殖することを阻止することにより機能を発揮している。一方、今回解析の対象とした細胞内レクチンは、タンパク質の輸送選別にせよ、小胞体関連分解にせよ、リガンドを方向性を持って運ぶ必要があり、厳密な結合と解離の制御機構が備わっている点で、明確に植物レクチンとは異なっている。

これらの糖結合活性の制御メカニズムを理解するために、一つは、CaセンサーおよびpHセンサーによる結合/解離機構の解明、第二に結合/解離機構への新規分子の関与、第三は細胞内における分子の動きと分子間相互作用を介した活性制御の検証、最後に、糖認識特異性によるリガンドの選択性と細胞内輸送シグナルの理解を目指して研究を行った。特にCaやpHセンサーを明らかにすることにより、これらの機構を改変を行うことにより、新規カーゴレセプターを発現させた細胞株、即ち異なる糖鎖品質管理を行う細胞株を樹立することも可能となる。これらの細胞株を用いることにより、異なる糖鎖構造を持つ分泌タンパク質のみを選別し細胞外に分泌することが可能になる。糖タンパク質糖鎖の品質管理の技術は未だに確立されていないが、抗体医薬などの組換え体医薬品に新たな機能を付与する技術となることが大いに期待される。

4 研究参加者

①理研 伊藤グループ(糖タンパク質糖鎖, 人工糖タンパク質の創成と糖タンパク質品質管理機能解明への応用の研究)

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
伊藤 幸成	理化学研究所	主任研究員	研究の立案と統括	平成14年11月～平成20年3月
松尾 一郎	理化学研究所	専任研究員	糖鎖及びタンパク複合体の合成と生化学的解析	平成14年11月～平成20年3月
眞鍋 史乃	理化学研究所	専任研究員	糖鎖合成法の開発とCMWの合成	平成14年11月～平成20年3月
石渡 明弘	理化学研究所	専任研究員	反応スクリーニング法	平成14年11月～平成20年3月
戸谷 希一郎	理化学研究所	CREST 研究員	糖鎖-タンパク複合体の合成と機能解析	平成14年11月～平成20年3月 (17年3月まで理化学研究所基礎科学特別研究員)
高谷 万紀	理化学研究所	CREST 研究員	糖鎖の合成と機能解析	平成14年11月～平成20年3月
萩原 伸也	理化学研究所	協力研究員	糖鎖の合成, 生化学的解析	平成15年6月～平成19年3月 (15年10月までCREST研究員, 18年9月まで基礎科学特別研究員)
多々見 篤	理化学研究所	CREST 研究員	高マンノース型糖鎖プロローブの合成	平成16年4月～平成18年9月
Peter Greimel	理化学研究所	協力研究員	糖鎖合成法の開発	平成16年10月～平成20年3月 (18年9月まで日本学術振興会特別研究員)
久保田 朱美	理化学研究所	協力研究員	糖タンパク質糖鎖プロローブの合成	平成17年4月～平成20年3月
渡邊 泰祐	理化学研究所	CREST 研究員	糖鎖の合成と機能解析	平成19年4月～平成20年3月
武田 陽一	理化学研究所	協力研究員	糖鎖-タンパク複合体の合成	平成19年4月～平成20年3月
宮川 淳	理化学研究所	協力研究員	高マンノース型糖鎖プロローブの合成	平成19年4月～平成20年3月
中野 淳	慶応義塾大学	大学院生	アスパラギン結合型糖鎖の合成法の開発	平成14年11月～平成18年3月

太田 壮一	立教大学	大学院生	糖タンパク質糖鎖プロ ープの合成	平成 15 年 10 月～ 平成 17 年 3 月
柏木 俊紀	東海大学	大学院生	糖鎖合成法の開発	平成 16 年 4 月～ 平成 18 年 3 月
Mohammed Nurul Amin	理化学研究所	協力研究 員	糖タンパク質糖鎖プロ ープの合成	平成 16 年 10 月～ 平成 20 年 3 月 (19年9月まで埼玉大 学大学院生)
Simon Dorner	理化学研究所	ドイツ財団 研究生	糖鎖合成法の開発	平成 17 年 7 月～ 平成 18 年 4 月
宗村 裕一	埼玉大学	大学院生	糖鎖合成迅速スクリー ニング法の開発	平成 17 年 4 月～ 平成 19 年 3 月
Katharina Durr	理化学研究所	ドイツ財団 研究生	糖鎖合成迅速スクリー ニング法の開発	平成 18 年 4 月～ 平成 18 年 11 月
Milaine Lapeyre	理化学研究所	大学院生	糖タンパク質糖鎖プロ ープの合成	平成 18 年 4 月～ 平成 18 年 8 月
宮崎 綾子	埼玉大学	大学院生	PNGase 解析用プローブ の合成	平成 18 年 4 月～ 平成 20 年 3 月

②長崎大 井原グループ(小胞体内分子シャペロンによる品質管理機構の解明の研究)

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
井原 義人	長崎大学・大学 院医歯薬学総 合研究科 (平成 19 年 7 月 より和歌山県立 医科大学医学 部)	助教授 (教授)	実験全般と総括	平成 14 年 11 月～ 平成 20 年 3 月
後藤 信治	長崎大学・大学 院医歯薬学総 合研究科	助教	膵β-細胞機能の解析	平成 14 年 11 月～ 平成 20 年 3 月
安岡 千枝	長崎大学・大学 院医歯薬学総 合研究科	大学院生	細胞分泌機能の解析	平成 14 年 11 月～ 平成 16 年 3 月
室井 栄治	長崎大学・大学 院医歯薬学総 合研究科	大学院生	糖ペプチド抗体の作成 と細胞機能解析	平成 16 年 4 月～ 平成 19 年 3 月
池崎みどり	長崎大学・大学 院医歯薬学総 合研究科	CREST 研究補助 員	糖ペプチドの細胞生理 機能解析	平成 15 年 3 月～ 平成 20 年 3 月

③名市大 加藤グループ(NMRを利用した細胞内レクチンの糖鎖認識機構の構造生物学的解析の研究)

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
加藤 晃一	名古屋市立大学 大学院薬学研究科	教授	実験の総括	平成14年11月～ 平成20年3月
山口 芳樹	名古屋市立大学 大学院薬学研究科	客員教授	NMR解析	平成14年11月～ 平成20年3月
栗本 英治	名古屋市立大学 大学院薬学研究科	助教	リフォールディング	平成15年4月～ 平成20年3月
高橋 禮子	名古屋市立大学 大学院薬学研究科	客員教授	糖鎖構造解析	平成15年4月～ 平成20年3月
坂田 絵理	名古屋市立大学 大学院薬学研究科	研究員	試料調製とNMR解析	平成15年4月～ 平成20年3月
神谷 由紀子	名古屋市立大学 大学院薬学研究科	大学院生	試料調製とNMR解析	平成15年4月～ 平成20年3月
矢木 宏和	名古屋市立大学 大学院薬学研究科	大学院生	試料調製とNMR解析	平成15年4月～ 平成20年3月
内海 真穂	名古屋市立大学 大学院薬学研究科	大学院生	試料調製とNMR解析	平成17年4月～ 平成20年3月
住吉 晃	名古屋市立大学 大学院薬学研究科	大学院生	試料調製とNMR解析	平成17年4月～ 平成19年9月
遠田 宙	名古屋市立大学 大学院薬学研究科	大学院生	試料調製とNMR解析	平成18年4月～ 平成20年3月
岡本 健太	名古屋市立大学 大学院薬学研究科	大学院生	試料調製とNMR解析	平成18年4月～ 平成20年3月

神谷 大貴	名古屋市立大学 大学院薬学研究科	大学院生	試料調製とNMR解析	平成18年4月～ 平成20年3月
舛金 尚哉	名古屋市立大学 大学院薬学研究科	大学院生	試料調製とNMR解析	平成18年4月～ 平成18年9月
安川 奈緒子	名古屋市立大学 大学院薬学研究科	大学院生	試料調製とNMR解析	平成18年4月～ 平成19年3月
雨宮 瑛子	名古屋市立大学 大学院薬学研究科	大学院生	試料調製とNMR解析	平成19年4月～ 平成20年3月
大野 恵里菜	名古屋市立大学 大学院薬学研究科	大学院生	試料調製とNMR解析	平成19年4月～ 平成20年3月
堀川 有希	名古屋市立大学 大学院薬学研究科	大学院生	試料調製とNMR解析	平成19年4月～ 平成19年9月
平澤 真人	名古屋市立大学 大学院薬学研究科	大学院生	試料調製とNMR解析	平成19年4月～ 平成20年3月
鈴木 麻衣子	名古屋市立大学 大学院薬学研究科	大学院生	試料調製とNMR解析	平成16年4月～ 平成18年3月
西 洋平	名古屋市立大学 大学院薬学研究科	大学院生	試料調製とNMR解析	平成16年4月～ 平成18年7月
山田 兼三	名古屋市立大学 大学院薬学研究科	大学院生	試料調製とNMR解析	平成16年4月～ 平成18年3月
佐橋 広紀	名古屋市立大学 大学院薬学研究科	大学院生	試料調製とNMR解析	平成17年4月～ 平成19年3月
塚越 晴子	名古屋市立大学 大学院薬学研究科	大学院生	試料調製とNMR解析	平成17年4月～ 平成19年3月

長野 真弓	名古屋市立大学 大学院薬学研究科	大学院生	試料調製とNMR解析	平成17年4月～ 平成18年3月
前野 亜弥	名古屋市立大学 大学院薬学研究科	大学院生	試料調製とNMR解析	平成17年4月～ 平成19年3月
三村 俊介	名古屋市立大学 大学院薬学研究科	大学院生	試料調製とNMR解析	平成17年4月～ 平成19年3月

④阪大 鈴木グループ(細胞質における遊離糖鎖の代謝系の解析と糖鎖トランスポーターの同定およびショウジョウバエにおける遊離糖鎖の代謝機構の解明とその生理機能の解析の研究)*

*平成19年10月より理化学研究所

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
鈴木 匡	大阪大学医学部 (平成19年10月より理化学研究所)	特任助教 授 (チームリーダー)	糖鎖プローブの酵素への特異的な結合の生化学的解析	平成14年11月～ 平成20年3月
田邊 香	大阪大学医学部	博士研究員	出芽酵母におけるPNGaseの機能解析	平成16年4月～ 平成17年3月
船越 陽子	大阪大学医学部 (平成19年10月より理化学研究所)	CREST研究員 (研究員)	ショウジョウバエのPNGaseおよび遊離糖鎖の解析	平成16年8月～ 平成20年3月 (平成19年10月までCREST研究員)

⑤臨床研 田井グループ(細胞質内での糖タンパク質分解に関わるユビキチンリガーゼFbx2とそのホモログの構造と機能解析の研究)

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
田井 直	都臨床研	部長	ユビキチンリガーゼに関する研究	平成14年11月～ 平成15年9月
吉田 雪子	都臨床研	研究員	ユビキチンリガーゼに関する研究	平成14年11月～ 平成15年9月
川島 育夫	都臨床研	研究員	ユビキチンリガーゼに関する研究	平成14年11月～ 平成15年9月
足立 絵瑠	都臨床研	CREST 技術員	ユビキチンリガーゼに関する研究補助	平成14年11月～ 平成15年9月

⑥東大 山本グループ(細胞内レクチンによるタンパク質輸送機構の解明と新規 cargo receptor 創成による糖鎖利用技術への応用の研究)

氏名	所属	役職	研究項目	参加時期
山本 一夫	東京大学大学 新領域創成科学研究科	教授	研究全体の総括, 遂行	平成 14 年 11 月～ 平成 20 年 3 月
豊本 雅靖	東京大学大学 新領域創成科学研究科	大学院生	VIP36 の生化学的解析等	平成 14 年 11 月～ 平成 16 年 3 月
檜野 雅衣	東京大学大学 新領域創成科学研究科	大学院生	VIP36 改変体による機能解析等	平成 14 年 11 月～ 平成 16 年 3 月
下方 郷嗣	東京大学大学 新領域創成科学研究科	大学院生	ERGIC-53 改変体による機能解析等	平成 14 年 11 月～ 平成 16 年 3 月
瀧森 陽子	東京大学大学 新領域創成科学研究科	大学院生	VIP36 等の細胞生物学的解析	平成 14 年 11 月～ 平成 16 年 3 月
河崎 徳人	東京大学大学 新領域創成科学研究科	大学院生	VIP36, ERGIC-53 の生化学的解析	平成 15 年 4 月～ 平成 20 年 3 月
名和 大輔	東京大学大学 新領域創成科学研究科	大学院生	VIP36 と相互作用する分子の同定	平成 15 年 4 月～ 平成 20 年 3 月
戸澤 英人	東京大学大学 新領域創成科学研究科	大学院生	カーゴレセプター間の相互作用解析	平成 15 年 4 月～ 平成 17 年 3 月
塚本早希与	東京大学大学 新領域創成科学研究科	大学院生	細胞内レクチン全般の FAC 解析	平成 15 年 4 月～ 平成 17 年 3 月
山口 大介	東京大学大学 新領域創成科学研究科	大学院生	VIPL, XTP-3B の生化学的解析	平成 16 年 4 月～ 平成 20 年 3 月
市川 瑤子	東京大学大学 新領域創成科学研究科	大学院生	MCFD2 の生化学的解析	平成 16 年 4 月～ 平成 18 年 3 月
藤井美也子	東京大学大学 新領域創成科学研究科	大学院生	ERGIC-53 等の細胞生物学的解析	平成 16 年 4 月～ 平成 18 年 3 月
小金井 悟	東京大学大学 新領域創成科学研究科	大学院生	Cell surface display を用いた抗体作製	平成 16 年 4 月～ 平成 17 年 3 月
伊藤 昌之	東京大学大学 新領域創成科学研究科	大学院生	Cell surface display 発現系の確立	平成 16 年 4 月～ 平成 17 年 3 月
古澤 祐樹	東京大学大学 新領域創成科学研究科	大学院生	EDEM1,2,3 の生化学的解析	平成 17 年 4 月～ 平成 19 年 3 月
三上 薫	東京大学大学 新領域創成科学研究科	大学院生	OS-9 の生化学的解析	平成 18 年 4 月～ 平成 20 年 3 月
中川 祐介	東京大学大学 新領域創成科学研究科	大学院生	ERGIC-53 ノックアウト細胞の作製	平成 18 年 4 月～ 平成 20 年 3 月
胡 丹	東京大学大学 新領域創成科学研究科	大学院生	α -glucosidase II β 鎖の糖結合特異性	平成 19 年 4 月～ 平成 20 年 3 月

5 招聘した研究者等

氏名(所属, 役職)	招聘の目的	滞在先	滞在期間

6 成果発表等

(1)原著論文発表 (国内誌 2 件, 国際誌 57 件)

1. J. Nakano, T. Ichianagi, H. Ohta, Y. Ito: A novel method for the formation of *N*-glycosides using hydroxamate, *Tetrahedron Lett.*, **44**, 2853–2856 (2003)
2. I. Matsuo, M. Wada, S. Manabe, Y. Yamaguchi, K. Otake, K. Kato, Y. Ito: Synthesis of monoglucosylated high-mannose-type dodecasaccharide, a putative ligand for molecular chaperone, calnexin, and calreticulin, *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 3402–3403 (2003)
3. M. Takatani, I. Matsuo, Y. Ito: Pentafluoropropionyl and trifluoroacetyl groups for temporary hydroxyl group protection in oligomannoside synthesis, *Carbohydr. Res.*, **338**, 1073–1081 (2003)
4. I. Matsuo, Y. Ito: Synthesis of an octamannosylated glycan chain, the key oligosaccharide structure in ER-associated degradation, *Carbohydr. Res.*, **338**, 2163–2168 (2003)
5. M. Takatani, J. Nakano, M. A. Arai, A. Ishiwata, H. Ohta, Y. Ito: Accelerated glycosylation under frozen conditions, *Tetrahedron Lett.*, **45**, 3929–3932 (2004)
6. K. Totani, I. Matsuo, Y. Ito: Tight binding approach to oligosaccharide-grafted protein, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **14**, 2285–2289 (2004)
7. K. Totani, I. Matsuo, M. Takatani, M. A. Arai, S. Hagihara, Y. Ito, Synthesis of glycoprotein molecular probes for the analyses of protein quality control system, *Glycoconjugate J.*, **21**, 67–74 (2004)
8. S. Hanashima, S. Manabe, K. Inamori, N. Taniguchi, Y. Ito, Synthesis of a bisubstrate-type inhibitor of *N*-acetylglucosaminyltransferases, *Angew. Chem.Int. Ed.*, **43**, 5674–5677 (2004)
9. Y. Ito, S. Hagihara, M. A. Arai, I. Matsuo, M. Takatani, Synthesis of fluorine substituted oligosaccharide analogues of monoglucosylated glycan chain, a proposed ligand of lectin-chaperone calreticulin and calnexin, *Glycoconj. J.*, **21**, 257–266 (2004)
10. T. Mizushima, T. Hirao, Y. Yoshida, S. J. Lee, T. Chiba, K. Iwai, Y. Yamaguchi, K. Kato, T. Tsukihara, K. Tanaka: Structural basis of sugar-recognizing ubiquitin ligase, *Nature Struct. Mol. Biol.*, **11**, 365–370 (2004)
11. 山口芳樹,加藤晃一:レクチンによる糖鎖認識の構造生物学, 生化学, 76, 269–277 (2004)
12. T. Horibe, H. Matsui, M. Tanaka, H. Nagai, Y. Yamaguchi, K. Kato, M. Kikuchi: Gentamicin binds to the lectin site of calreticulin and inhibits its chaperone activity, *Biochem Biophys Res Commun.*, **323**, 281–287 (2004)
13. T. Suzuki: Oligosaccharide chains: Free, *N*-linked, *O*-linked, *Encyclopedia of Biological Chemistry*, **3**, 161–164 (2004)
14. S. Nakamura, F. Yagi, K. Totani, Y. Ito, J. Hirabayashi: Comparative analysis of carbohydrate-binding properties of two tandem repeat-type Jacalin-related lectins, *Castanea crenate* agglutinin and *Cycas revoluta* leaf lectin, *FEBS J.*, 2784–2799 (2005)
15. A. Ishiwata, Y. Ito: High throughput screening of *O*-glycosylation conditions, *Tetrahedron Lett.*, **46**, 3521–3524 (2005)
16. S. Hagihara, K. Totani, I. Matsuo, Y. Ito: Thermodynamic analysis of interactions between *N*-linked sugar chains and F-box protein Fbs1, *J. Med. Chem.*, **48**, 3126–3129 (2005)
17. Matsuo, T. Kashiwagi, K. Totani, Y. Ito: First chemical synthesis of triglucosylated tetradecasaccharide (Glc3Man9GlcNAc2), a common precursor of asparagine-linked oligosaccharides, *Tetrahedron Lett.*, **46**, 4197–4200 (2005)
18. M. A. Arai, I. Matsuo, S. Hagihara, K. Totani, J. Maruyama, K. Kitamoto, Y. Ito: Design and synthesis of oligosaccharides that interfere with glycoprotein quality-control systems, *ChemBioChem.*, **6**, 2281–2289 (2005)
19. K. Totani, Y. Ihara, I. Matsuo, H. Koshino, Y. Ito: Synthetic substrates for an endoplasmic reticulum protein-folding sensor, UDP-glucose: Glycoprotein glucosyltransferase, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **44**, 7950–7954 (2005)
20. S. Hanashima, S. Manabe, Y. Ito: Divergent synthesis of sialylated glycan chains: Combined use of polymer support, resin capture-release, and chemoenzymatic strategies, *Angew. Chem.Int. Ed.*, **44**, 4218–4224 (2005)
21. Y. Kamiya, Y. Yamaguchi, N. Takahashi, Y. Arata, K. Kasai, Y. Ihara, I. Matsuo, Y. Ito, K. Yamamoto, K. Kato: Sugar-binding properties of VIP36, an intracellular animal lectin operating as a cargo receptor, *J. Biol. Chem.*, **280**, 37178–37182 (2005)

22. T. Suzuki: A simple sensitive *in vitro* assay for cytoplasmic deglycosylation by Peptide: *N*-glycanase (PNGase), *Methods*, **35**, 360–365 (2005)
23. K. Yamamoto, S. Ito, F. Yasukawa, Y. Konami, N. Matsumoto: Carbohydrate-binding specificity of lectins by a multiplexed particle-based flow cytometric assay, *Anal. Biochem.*, **336**, 28–38 (2005)
24. Y. Ihara, S. Manabe, M. Kanda, H. Kawano, T. Nakayama, I. Sekine, T. Kondo, Y. Ito: Increased expression of protein C-mannosylation in the aortic vessels of diabetic Zucker rats, *Glycobiology*, **15**, 383–392 (2005)
25. Y. Ihara, K. Kageyama, T. Kondo: Overexpression of calreticulin sensitizes SERCA2a to oxidative stress, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **329**, 1343–1349 (2005)
26. J. Nakano, H. Ohta, Y. Ito: Synthesis of complex-type glycans derived from parasitic helminths, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **16**, 928–933 (2006)
27. A. Ishiwata, S. Ohta, Y. Ito: A stereoselective 1,2-cis glycosylation toward the synthesis of a novel N-linked glycan from the Gram-negative bacterium *Campylobacter jejuni*., *Carbohydr. Res.*, **341**, 1557–1573 (2006)
28. M. N. Amin, A. Ishiwata, Y. Ito: Synthesis of asparagine-linked bacillosamine, *Carbohydr. Res.*, **341**, 1922–1929 (2006)
29. S. Hanashima, K. Inamori, S. Manabe, N. Taniguchi, Y. Ito: Systematic synthesis of bisubstrate-type inhibitors of N-acetylglucosaminyltransferases, *Chem. Eur. J.*, **12**, 3449–3462 (2006)
30. K. Totani, I. Matsuo, Y. Ihara, Y. Ito: High-mannose-type glycan modifications of dihydrofolate reductase using glycan-methotrexate conjugates, *Bioorg. Med. Chem.*, **14**, 5220–5229 (2006)
31. I. Matsuo, K. Totani, A. Tatami, Y. Ito: Comprehensive synthesis of ER related high-mannose-type sugar chains by convergent strategy, *Tetrahedron*, **62**, 8262–8277 (2006)
32. T. Suzuki, I. Hara, M. Nakano, G. Zhao, W. J. Lennarz, H. Schindelin, N. Taniguchi, K. Totani, I. Matsuo, Y. Ito: Site-specific labeling of cytoplasmic peptide: *N*-glycanase by *N,N'*-diacetylchitobiose-related compounds, *J. Biol. Chem.*, **281**, 22152–22160 (2006)
33. K. Totani, Y. Ihara, I. Matsuo, Y. Ito: Substrate specificity analysis of endoplasmic reticulum glucosidase II using synthetic high mannose-type glycans, *J. Biol. Chem.*, **281**, 31502–31508 (2006)
34. S. Hagihara, K. Totani, Y. Ito: Exploration of oligosaccharide-protein interactions in glycoprotein quality control by synthetic approaches, *The Chemical Record*, **6**, 290–302 (2006)
35. M. Takatani, Y. Ito: Facile synthesis of oligosaccharide probes for the analysis of protein-carbohydrate interactions, *Chem. Asian J.*, **1**, 64–75 (2006)
36. Y. Ihara, Y. Urata, S. Goto, T. Kondo: Role of calreticulin in the sensitivity of myocardial H9c2 cells to oxidative stress caused by hydrogen peroxide, *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, **290**, C208–221 (2006)
37. T. Okunaga, Y. Urata, S. Goto, T. Matsuo, S. Mizota, K. Tsutsumi, I. Nagata, T. Kondo, Y. Ihara: Calreticulin, a molecular chaperone in the endoplasmic reticulum, modulates radiosensitivity of human glioblastoma U251MG cells, *Cancer Res.*, **66**, 8662–8671 (2006)
38. Y. Hayashida, Y. Urata, E. Muroi, T. Kono, Y. Miyata, K. Nomata, H. Kanetake, T. Kondo, Y. Ihara: Calreticulin represses E-cadherin gene expression in MDCK cells via slug, *J. Biol. Chem.*, **281**, 32469–32484 (2006)
39. Y. Yamaguchi, M. Nishimura, M. Nagano, H. Yagi, H. Sasakawa, K. Uchida, K. Shitara, K. Kato: Glycoform-dependent conformational alteration of the Fc region of human immunoglobulin G1 as revealed by NMR spectroscopy, *Biochim. Biophys. Acta-General Subjects*, **1760**, 693–700 (2006)
40. K. Tanabe, W. J. Lennarz, T. Suzuki: The cytoplasmic peptide: *N*-glycanase, *Methods Enzymol.*, **415**, 46–55 (2006)
41. T. Suzuki, Y. Funakoshi: Free oligosaccharides; formation and degradation, *Glycoconjugate J.*, **23**, 291–302 (2006)
42. I. Kim, J. Ahn, C. Liu, K. Tanabe, J. Apodaca, T. Suzuki, H. Rao: The Png1-Rad23 complex regulates glycoprotein turnover., *J. Cell Biol.* **172**, 211–219 (2006)
43. J. Nakano, A. Ishiwata, H. Ohta, Y. Ito: Synthesis of complex-type glycans derived from

- parasitic helminths, *Carbohydr. Res.*, **342**, 675–695 (2007)
44. T. Suzuki, K. Tanabe, I. Hara, N. Taniguchi, A. Colavita: Dual enzymatic properties of the cytoplasmic peptide: *N*-glycanase in *C. elegans*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **358**, 837–841 (2007)
 45. S. Hagihara, K. Goda, I. Matsuo, Y. Ito: Analysis of ER-associated glycoprotein degradation using synthetic glycopeptide probes, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **360**, 357–362 (2007)
 46. M. N. Amin, A. Ishiwata, Y. Ito: “Synthesis of N-linked glycan derived from Gram-negative bacterium, *Campylobacter jejuni*”, *Tetrahedron*, **63**, 8181–8198 (2007)
 47. Y. Yamaguchi, T. Hirao, E. Sakata, Y. Kamiya, E. Kurimoto, Y. Yoshida, T. Suzuki, K. Tanaka, K. Kato: Fbs1 protects the malfolded glycoproteins from the attack of peptide:*N*-glycanase, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **362**, 712–716 (2007)
 48. A. Tatami, Y.-S. Hon, I. Matsuo, M. Takatani, H. Koshino, Y. Ito: Analyses of carbohydrate binding property of lectin-chaperone calreticulin, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **364**, 332–337 (2007)
 49. T. Watanabe, I. Matsuo, J. Maruyama, K. Kitamoto, Y. Ito: Identification and characterization of an intracellular lectin, calnexin, from *Aspergillus oryzae* using *N*-glycan conjugated beads, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **71**, 2688–2696 (2007)
 50. E. Muroi, S. Manabe, M. Ikezaki, Y. Urata, S. Sato, T. Kondo, Y. Ito, Y. Ihara: C-Mannosylated peptides derived from the thrombospondin type 1 repeat enhance lipopolysaccharide-induced signaling in macrophage-like RAW264.7 cells, *Glycobiology*, **17**, 1015–1028 (2007)
 51. S. Hagihara, A. Miyazaki, I. Matsuo, A. Tatami, T. Suzuki, Y. Ito: Fluorescently labeled inhibitor for profiling cytoplasmic peptide: *N*-glycanase, *Glycobiology*, **17**, 1070–1076 (2007)
 52. D. Nawa, O. Shimada, N. Kawasaki, N. Matsumoto, K. Yamamoto: Stable interaction of the cargo receptor VIP36 with molecular chaperone BiP, *Glycobiology*, **17**, 913–921 (2007)
 53. D. Yamaguchi, N. Kawasaki, I. Matsuo, K. Totani, H. Tozawa, N. Matsumoto, Y. Ito, K. Yamamoto: VIPL has sugar-binding activity specific for high-mannose-type N-glycans, and glucosylation of the α 1,2 mannosyl branch blocks its binding, *Glycobiology*, **17**, 1061–1069 (2007)
 54. N. Kawasaki, I. Matsuo, K. Totani, D. Nawa, N. Suzuki, D. Yamaguchi, N. Matsumoto, Y. Ito, and K. Yamamoto: Detection of weak sugar binding activity of VIP36 using VIP36-streptavidin complex and membrane-based sugar chains, *J. Biochem.*, **141**, 221–229. (2007)
 55. K. Yamamoto, F. Yasukawa, S. Ito: Measurement of the sugar-binding specificity of lectins using multiplexed bead-based suspension arrays, *Methods Mol. Biol.*, **381**, 401–409 (2007)
 56. N. Kawasaki, Y. Ichikawa, I. Matsuo, K. Totani, N. Matsumoto, Y. Ito, K. Yamamoto: The sugar-binding ability of ERGIC-53 is enhanced by its interaction with MCFD2, *Blood in press* (2007)
 57. Y. Kamiya, D. Kamiya, K. Yamamoto, B. Nyfeler, H.-P. Hauri, and K. Kato: Molecular basis of sugar recognition by the human L-type lectins ERGIC-53, VIPL and VIP36, *J. Biol. Chem. in press* (2007)
 58. B. Nyfeler, Y. Kamiya, F. Boehlen, K. Yamamoto, K. Kato, P.de Moerloose, H.-P. Hauri, M. Neerman-Arbez : Deletion of three residues from the C-terminus of MCFD2 affects binding to ERGIC-53 and causes combined factor V and VIII deficiency, *Blood in press* (2007)
 59. K. Totani, Y. Ihara, I. Matsuo, Y. Ito: Effects of macromolecular crowding on glycoprotein processing enzymes, *J. Am. Chem. Soc. in press* (2008)

(2)その他の著作物

1. 山口芳樹, 加藤晃一: 安定同位体利用NMRによる糖鎖構造解析 蛋白質 核酸 酵素, **48**, 1184–1189 (2003)
2. T. Suzuki, and W. J. Lennarz: The PUB/PUG domain; a novel protein-protein interaction domain? Sociedad Iberoamericana de Información Científica (SIIC); <http://www.siicsalud.com/dato/dat031/03130000.htm> (2003)

3. T. Suzuki: Cytoplasmic peptide: *N*-glycanase. In “Beyond Glycogenes” (N. Taniguchi, ed.) Glycoforum, Seikagaku Corporation, <http://www.glycoforum.gr.jp/science/glycogenes/12/12E.html> (2003)
4. 松尾一郎, 伊藤幸成: 糖タンパク質糖鎖の生体機能と精密合成: 糖タンパク質品質管理機構の解明をめざして, 日本農芸化学会誌, **77**, 983-987 (2003)
5. 鈴木 匡: *N*型糖鎖のペプチド: *N*-グリカナーゼ (PNGase) による脱グリコシル化, 日本農芸化学会誌, 37-38 (2004)
6. T. Suzuki: Oligosaccharide chains: Free, *N*-linked, *O*-linked. Encyclopedia of Biological Chemistry, **3**, 161-164 (2004)
7. 鈴木 匡: 糖タンパク質の品質管理機構, メディカル・サイエンス・ダイジェスト(北隆館/ニューサイエンス社)(谷口直之 編), pp487-490 (2004)
8. 眞鍋史乃, 伊藤幸成: 糖タンパク質, 迅速固相合成, 新反応, 未来を拓く糖鎖科学, 金芳堂(永井克孝 監修) pp126-129 (2005)
9. 鈴木 匡: 細胞質における糖タンパク質の分解とペプチド: *N*-グリカナーゼ, 未来を拓く糖鎖科学, 金芳堂(永井克孝 監修), pp257-259 (2005)
10. 伊藤幸成, 松尾一郎, 戸谷希一郎: 糖鎖合成化学の新展開-高マンノース型糖鎖の合成を例にして, 糖鎖科学の新展開-機能解明・次世代型材料・医薬品開発に向けて-(谷口直之, 伊藤幸成編), エヌ・ティー・エス, pp356-363 (2005)
11. 眞鍋史乃, 伊藤幸成: 有機合成手法による糖鎖迅速合成, 糖鎖科学の新展開-機能解明・次世代型材料・医薬品開発に向けて-(谷口直之, 伊藤幸成編), エヌ・ティー・エス, pp386-392 (2005)
12. 神谷由紀子, 山口芳樹, 加藤晃一: NMRを利用した糖鎖構造生物学, 糖鎖科学の新展開-機能解明・次世代型材料・医薬品開発に向けて-(谷口直之, 伊藤幸成編), エヌ・ティー・エス, pp76-83 (2005)
13. 鈴木 匡: 細胞質ペプチド: *N*-グリカナーゼ, 糖鎖科学の新展開 機能解明・次世代型材料・医薬品開発に向けて(NTS)(谷口直之, 伊藤幸成 監修), pp86-91 (2005)
14. T. Suzuki: Evolutional Conservation of the Glycan-mediated Quality Control System for Newly Synthesized Proteins in the Endoplasmic Reticulum (ER), In “Comparative Glycomics and Life Evolution (J. Hirabayashi, ed.) Glycoforum, Seikagaku Corporation, <http://www.glycoforum.gr.jp/science/word/evolution/ES-B01E.html> (2005)
15. Y. Kamiya, K. Kato: Sugar recognition by intracellular lectins that determine the fates of glycoproteins, *Trends Glycosci. Glycotech.*, **18**, 231-244 (2006)
16. Y. Yamaguchi, K. Kato: Structural glycobiology by stable-isotope-assisted NMR spectroscopy, *Modern Magnetic Resonance* (G.M. Webb ed.), Springer (The Netherlands), **vol.1**, pp219-225 (2006)
17. Y. Ito: Approaches to rapid synthesis of biologically active oligosaccharides, Transworld Research Network, **37**, 1-22 (2006)
18. 戸谷希一郎, 萩原伸也, 伊藤幸成: 有機合成化学による糖タンパク質糖鎖の機能解明, 有機合成化学協会誌, **64**, pp.492-501 (2006)
19. 鈴木 匡: 細胞質ペプチド: *N*-グリカナーゼ (PNGase) と細胞質 *N*型糖鎖の代謝 Functional Glycomics, ポストゲノム時代のバイオサイエンス News Letter 糖鎖フラッシュ号 No. 7(文部科学省科学研究費補助金特定領域研究 糖鎖によるタンパク質と分子複合体の機能調節) pp36-40 (2006)
20. 鈴木 匡: 細胞質 PNGase と細胞質 *N*型糖鎖の代謝, 生化学, pp1123-1130 (2006)
21. 山本一夫, 小浪悠紀子: レクチン -歴史, 構造・機能から応用まで-, シュプリンガー・フェアラーク東京 (2006)

22. T. Suzuki, K. Tanabe, Y. Funakoshi: Folding and quality control of glycoproteins, *Comprehensive Glycoscience: From Chemistry to Systems Biology I*, (Ed) Kamerling JP, Elsevier, Oxford, UK, pp129-149 (2007)
23. Y. Ito, Y. Ihara, S. Manabe: C-Mannosyl tryptophan: From chemistry to cell biology, *Comprehensive Glycoscience: From Chemistry to Systems Biology I*, (Ed) Kamerling JP, Elsevier, Oxford, UK, pp229-278 (2007)
24. Y. Ito, S. Manabe: Polymer-supported oligosaccharides Synthesis, *Comprehensive Glycoscience: From Chemistry to Systems Biology I*, (Ed) Kamerling JP, Elsevier, Oxford, UK, pp335-378 (2007)
25. K. Kato, Y. Kamiya: Structural views of glycoprotein-fate determination in cells, *Glycobiology*, **17**, 1031-1044 (2007)
26. Y. Yamaguchi, N. Takahashi, K. Kato: Molecular interactions: Antibody structures, *Comprehensive Glycoscience*, Elsevier, 3, pp745-763 (2007)
27. K. Kato, H. Sasakawa, Y. Kamiya, M. Utsumi, M. Nakano, N. Takahashi, Y. Yamaguchi: 920 MHz ultra-high field NMR approaches to structural glycobiology, *Biochim. Biophys. Acta.* –General Subjects in press (2007)
28. T. Suzuki: A cytoplasmic peptide: N-glycanase and ER-associated degradation, In “Glycoscience Lab Manual” (N. Taniguchi, ed.) Springer Japan Ltd., Japan in press (2008)

(3)学会発表(国際学会発表及び主要な国内学会発表)

招待講演 (国際会議 17 件, 国内会議 28 件)

1. T. Suzuki(阪大): ENGase and PNGase; two cytoplasmic deglycosylating enzymes act on N-linked glycan chain, William J. Lennarz Symposium, San Diego, USA, December 7 (2003)
2. T. Suzuki(阪大): Cytosolic free oligosaccharides: formation and cytosolic processing, *US/Japan Glyco 2004 (Joint meeting of the society for glycobiology and the Japanese society of carbohydrate research)*, Honolulu, Hawaii, November 18 (2004)
3. Y. Ito(理研): Synthesis and functional analysis of glycoprotein glycan chains, 2nd Workshop the Netherlands-Japan Recent Advances in Glycobiology, Utrecht, The Netherlands, April (2005)
4. K. Tanabe, I. Hara, N. Taniguchi, T. Suzuki(阪大): Biological function of PNGase in budding yeast, *Saccharomyces cerevisiae*, 2nd Workshop the Netherlands-Japan on Recent Advances in Glycobiology, Utrecht, The Netherlands, April 18 (2005)
5. K. Kato, Y. Yamaguchi, Y. Kamiya, T. Hirao, H. Yagi, N. Takahashi(名市大): NMR structural biology of glycoproteins: Structures, dynamics, and interactions, 2nd Workshop the Netherlands-Japan on Recent Advances in Glycobiology, Utrecht, The Netherlands, April 18 (2005)
6. N. Kawasaki, D. Nawa, Y. Ichikawa, D. Yamaguchi, M. Fujii, K. Yamamoto(東大): Regulation of carbohydrate-binding activities of VIP36 and ERGIC-53 during intracellular transport, 2nd Workshop the Netherlands-Japan on Recent Advances in Glycobiology, Utrecht, The Netherlands, April 17 (2005)
7. Y. Ito(理研): Synthetic approaches towards and analysis of a glycoprotein quality control system, 2005 GRC on Carbohydrates, Tilton, USA, June (2005)
8. Y. Ito(理研): Synthesis and functional analyses of glycoprotein glycan chains, 11th Asian Chemical Congress, Seoul, Korea, August (2005)
9. Y. Funakoshi(阪大): Analysis of putative glycosidases for the metabolic pathways of cytosolic free N-linked glycan species in *Drosophila melanogaster* The European-Japan, Glycomics Workshop at Florence, Italy, Sep. (2005)
10. Y. Ito(理研): Synthetic approaches to glycoprotein functions, PACIFICHEM2005, Honolulu,

- Hawaii, Dec. (2005)
11. K. Tanabe, I. Hara, N. Taniguchi, T. Suzuki (阪大): Functional involvement of cytoplasmic PNGase in ERAD process, PACIFICHEM2005, Honolulu, Hawaii, Dec. 16 (2005)
 12. Y. Ihara, Y. Hayashida, H. Kanetake, T. Kondo (長崎大): Calreticulin modulates cell adhesion and motility in kidney epithelial MDCK cells: An implication for epithelial-mesenchymal transition, 7th International Calreticulin Workshop, Niagara Falls, Ontario, Canada, April 22-24 (2006)
 13. K. Kato, H. Sasakawa, Y. Yamaguchi (名市大): 920 Mhz Ultra-High Field NMR Analysis of Proteins And Glycoconjugates, ICOB-5 & ISCNP-25 IUPAC International Conference on Biodiversity and Natural Products, Kyoto, July 24(P-565), 27(ILIV-4) (2006)
 14. Y. Ito (理研): Synthesis and functional analyses of glycoprotein glycan chains, 23rd International Carbohydrate Symposium, Whistler, Canada, Aug. 23-28 (2006)
 15. T. Suzuki, H. Rao (阪大): Deglycosylation of Newly Synthesized Glycoproteins by Cytoplasmic Peptide:N-glycanase (PNGase), 4th NIBB-EMBL Symposium, Okazaki, Dec. 5(2006)
 16. Y. Ito (理研): Glycoprotein functions: Chemist's point of view, RIKEN International Workshop, US-Japan Workshop on Chemical Biology, Wako, June 5 (2007)
 17. Y. Ito, S. Hagihara, I. Matsuo, M. Takatani, K. Totani, T. Watanabe (理研): Synthetic approaches to glycoprotein functions, The 234th American Chemical Society National Meeting, Boston, USA, Aug.22 (2007)
 18. 伊藤幸成 (理研): 糖タンパク質糖鎖の生体機能と精密合成: 糖タンパク質品質管理機構の解明を目指して, 日本農芸化学会2003年度大会, 神奈川, 2003年4月3日
 19. 伊藤幸成 (理研): 有機合成化学を基盤とする糖タンパク質の生物機能解明, 日本学会議主催シンポジウム, 東京, 2003年7月11日
 20. 伊藤幸成 (理研): 糖タンパク質生物機能の解明をめざす有機合成化学, 有機合成化学講習会, 東京, 2003年11月5日
 21. T. Suzuki (阪大): 細胞質PNGaseの構造と機能, 第5回関西グライコサイエンスフォーラム, 大阪, 2004年5月29日 伊藤幸成 (理研): 有機合成化学と糖鎖生物学, 15周年記念仙台シンポジウム, 仙台, 2004年6月26日
 22. T. Suzuki (阪大): Cytosolic Processing of N-glycans: more important than you think?, 第77回生化学会大会, 横浜, 2004年10月15日
 23. Yukishige Ito (理研): Organic Synthesis and Glycobiology, The 80th Anniversary JSBBA Int. Symp., 2004年11月
 24. T. Suzuki (阪大): 細胞質に存在する遊離N型糖鎖の生成, プロセッシング機構とその生理機能, 大阪大学21世紀プログラム, 第2回合同シンポジウム, 大阪, 2004年12月21日
 25. 加藤晃一, 山口芳樹, 高橋禮子 (名市大): NMRと糖鎖ライブラリーを利用した構造グライコムクスへのアプローチ, 日本薬学会第125年会, 東京, 2005年3月29-31日
 26. 伊藤幸成 (理研): 糖タンパク質の生体機能に迫る有機化学, 第40回天然物化学談話会, 静岡, 2005年7月13日
 27. T. Suzuki (阪大): 細胞質PNGaseの構造と機能の研究, 第78回日本生化学会大会, 神戸, 2005年10月19日
 28. K. Kato (名市大): Carbohydrate-protein interactions probed by NMR and sugar library, 第78回日本生化学会大会, 神戸, 2005年10月22日
 29. 伊藤幸成 (理研): 糖タンパク質品質管理機構の解明を目指す合成化学, 第1回糖鎖科学コンソーシアムシンポジウム, 東京, 2005年11月4日

30. 伊藤幸成 (理研): 糖タンパク質の生体機能に迫る有機化学, GlycoTOKYO2005シンポジウム, 東京, 2005年11月5日
31. 加藤晃一 (名市大): NMRを利用した構造グライコムクス, 第3回糖鎖科学コンソーシアム, 東京, 2005年12月6日
32. 伊藤幸成 (理研): 糖鎖生物学を指向するコンビケムテクノロジー, 第6回コンビナトリアル・バイオエンジニアリングシンポジウム, 和光, 2006年1月12日
33. 山本一夫, 河崎徳人, 山口大介, 市川遥子, 藤井美也子, 名和大輔, 松尾一郎, 戸谷希一郎, 神谷由紀子, 伊藤幸成, 加藤晃一 (東大, 理研, 名市大): 糖鎖を介した細胞内輸送・選別の制御, 第6回日本蛋白質科学会年会, 京都, 2006年4月26日
34. 伊藤幸成 (理研): 糖タンパク質糖鎖の有機合成化学と機能解析, 第4回糖鎖科学コンソーシアムシンポジウム, 東京, 2006年10月23日
35. 加藤晃一 (名市大): 細胞内のタンパク質社会の理解を目指した NMR 構造生物学, 第14回日本バイオイメージング学会学術集会, 盛岡, 2006年11月2日
36. 伊藤幸成 (理研): 有機合成を通して観る小胞体糖タンパク質プロセッシング, 大阪大学蛋白質研究所セミナー「ケミカルバイオロジーの進展と生命科学研究の新たな展開」, 大阪, 2006年11月24日
37. 戸谷希一郎 (理研): 糖タンパク質品質管理機構—合成糖鎖を駆使した分子レベル解析—, 日本化学会第87春季年会, 大阪, 2007年3月25日
38. 松尾一郎: 糖タンパク質糖鎖の機能解明に向けた化学的アプローチ, 日本農芸化学会 2007年度大会, 東京, 2007年3月
39. 加藤晃一 (名市大): 糖タンパク質の細胞内運命を決定するシステムの構造的基盤, 第27回日本糖質学会年会, 福岡, 2007年8月3日
40. 伊藤幸成 (理研): バイオ高分子としての糖タンパク質を有機合成化学の視点で観る, 第56回高分子討論会, 名古屋, 2007年9月20日
41. 石渡明弘 (理研): 複合糖質糖鎖合成を指向した立体選択的グリコシル化反応の開発研究, GlycoTOKYO2007 シンポジウム, 神奈川, 2007年10月20日
42. 井原義人 (長崎大): トリプトファンの新糖付加修飾, C-マンノシル化とその細胞機能, 日本トリプトファン研究会第29回学術集会, 東京, 2007年12月8-9日
43. T. Suzuki, M. Della Mea, D. Serafini-Fracassini, N. Taniguchi (阪大): The cytoplasmic peptide: *N*-glycanase: a deglycosylating enzyme with a transglutaminase domain, 第80回生化学会/第30回日本分子生物学会合同年会, 横浜, 2007年12月12日
44. 伊藤幸成 (理研): 糖鎖生物学の推進をめざす有機合成化学, SORST ジョイントシンポジウム「有機合成力」-そのダイナミズム, 東京, 2008年1月30日

口頭発表 (国際会議 29 件, 国内会議 99 件)

1. K. Yamamoto, M. Toyomoto, D. Nawa, N. Kawasaki, S. Tsukamoto, H. Tozawa, N. Matsumoto (東大): pH-dependent segregation of glycoproteins by cargo receptor VIP36 during intracellular transport, Interlec 21, Kanagawa, May 24 (2004)
2. S. Koganei, N. Matsumoto, K. Yamamoto (東大): Cloning and expression of mouse KLRH1, a lectin-like receptor on natural killer cells, Interlec 21, Kanagawa, May 26 (2004)
3. K. Kato, Y. Yamaguchi (名市大): NMR approaches to the elucidation of the mechanisms of the sugar recognition by the lectins that determine the intracellular fates of glycoproteins,

- Interlec 21, Kanagawa, May 23–28 (2004)
4. Y. Ito, I. Matsuo, K. Totani, S. Hagihara, M. Arai(理研): Synthesis of glycoprotein molecular probes and functional analyses of protein quality control system, 22nd International Carbohydrate Symposium, Glasgow, Scotland, July (2004).
 5. T. Suzuki(阪大): Two deglycosylating enzymes for *N*-linked glycan chains in cytoplasm of eukaryotes: PNGase and ENGase, 22nd International Carbohydrate Symposium, Glasgow, Scotland, July 26 (2004)
 6. K. Kato, Y. Yamaguchi, T. Hirao, Y. Kamiya, H. Yagi, N. Takahashi(名市大): An NMR approach to structural glycomics Human Disease Glycomics, Proteome Initiative 1st Workshop 2004, Osaka, Aug. 23–24 (2004)
 7. Y. Ito(理研): Glycoprotein molecular probes for functional analyses of protein quality control system, USA/Japan Glyco 2004, Honolulu, USA, Nov. 17–20 (2004)
 8. K. Kato(名市大): NMR structural biology of the intracellular lectins that contribute to quality control of glycoproteins in cells, USA/Japan Glyco 2004, Honolulu, USA, Nov. 17–20 (2004)
 9. K. Totani, Y. Ihara, I. Matsuo, Y. Ito(理研, 長崎大): Oligosaccharide–MTX conjugate for the analyses of UGGT mediated glucosylation, USA/Japan Glyco 2004, Honolulu, USA, Nov. 17–20 (2004)
 10. N. Kawasaki, N. Matsumoto, K. Yamamoto (東大): Characterization of cargo receptors ERGIC–53, VIP36, and VIPL using monoclonal antibodies, USA/Japan Glyco 2004, Honolulu, USA, Nov. 20 (2004)
 11. Y. Yamaguchi¹, T. Hirao¹, Y. Kamiya, N. Takahashi¹, K. Kato(名市大): Application of stable–isotope–labeling of glycopeptides to NMR analyses of sugar recognition by the intracellular lectins that determine the fates of glycoproteins in cells, ICMRBS, India, January 16–21 (2005)
 12. K. Yamamoto(東大): Regulation of carbohydrate–binding activities of VIP36 and ERGIC–53 during intracellular transport, 2nd Workshop the Netherlands–Japan on Recent Advances in Glycobiology, Utrecht, The Netherlands, April (2005)
 13. K. Kato, Y. Yamaguchi, Y. Kamiya, H. Yagi, T. Hirao, M. Nishimura, M. Nagano, N. Takahashi(名市大): Structural biology of glycoproteins and lectins by stable–isotope–assisted NMR spectroscopy, Glycoproteomics – protein modifications for versatile functions, Dubrovnik, Croatia, June 30 (2005)
 14. Y. Funakoshi(阪大): Analysis of glycosidases involved in metabolisms of cytosolic free *N*-linked glycan species in *Drosophila melanogaster*, The European–Japan Glycomics Workshop, Firenze, Italy, Sep. 4 (2005)
 15. T. Suzuki(阪大): The cytoplasmic free *N*-linked oligosaccharides: formation and degradation, The European–Japan Glycomics Workshop, Firenze, Italy, Sep. 4 (2005)
 16. T. Suzuki, I. Hara, M. Nakano, K. Totani, I. Matsuo, N. Taniguchi, Y. Ito(阪大, 理研): Specific labeling of cytoplasmic PNGase by oligosaccharide–related compounds, 18th International Symposium on Glycoconjugates, Firenze, Italy, Sep. 9 (2005)
 17. K. Kato, Y. Yamaguchi, T. Hirao, T. Suzuki, Y. Yoshida, K. Tanaka(名市大): NMR structural biology of sugar–recognizing ubiquitin ligase involved in glycoprotein degradation, 18th International Symposium on Glycoconjugates, Firenze, Italy, Sep. 9 (2005)
 18. Y. Kamiya, H. Tsukakoshi, Y. Yamaguchi, N. Takahashi, Y. Arata, K. Kasai, Y. Ihara, I. Matsuo, Y. Ito, K. Yamamoto, K. Kato(名市大, 長崎大, 理研): Sugar–binding, properties of

- VIP36, an intracellular animal lectin operating as a cargo receptor, 18th International Symposium on Glycoconjugates, Firenze, Italy, Sep. 9 (2005)
19. T. Suzuki, I. Hara, M. Nakano, K. Totani, I. Matsuo, N. Taniguchi, Y. Ito(阪大, 理研): Specific labeling of cytoplasmic PNGase by oligosaccharide-related compounds, 18th International Symposium on Glycoconjugates, Firenze, Italy, Sep. 9 (2005)
 20. A. Ishiwata, Y. Ito(理研): High-throughput screenings of glycosylation conditions and its application to the constructions of α -glycosidic linkages, PACIFICHEM2005, Honolulu, Hawaii, Dec. (2005)
 21. I. Matsuo, T. Watanabe, J. Maruyama, K. Kitamoto, Y. Ito(理研, 東大): High mannose glycan conjugated affinity beads: Search for new intracellular lectins, 23rd International Carbohydrate Symposium, Whistler, Canada, Aug. 23-28 (2006)
 22. K. Totani, Y. Ihara, I. Matsuo, Y. Ito(理研, 長崎大): Synthetic approach to functional analysis of protein folding sensor, UGGT, 23rd International Carbohydrate Symposium, Whistler, Canada, Aug. 23-28 (2006)
 23. M. Amin, S. Ohta, A. Ishiwata, Y. Ito(理研): Synthesis of *N*-asparagine linked bacillosamine toward synthesis of *N*-glycan present in gram-negative bacterium *Campylobacter jejuni*, 23rd International Carbohydrate Symposium, Whistler, Canada, Aug. 23-28 (2006)
 24. S. Hanashima, S. Manabe, Y. Ito(理研): Divergent synthesis of sialylated glycan chain: Combined use of polymer support, resin capture-release, and chemoenzymatic strategies, 10th International Kyoto Conference on New Aspects of Organic Chemistry (IKCOC-10), Kyoto, Nov. 13-17 (2006)
 25. Y. Kamiya, H. Tsukakoshi, D. Kamiya, Y. Yamaguchi, N. Takahashi, Y. Arata, K. Kasai, Y. Ihara, I. Matsuo, Y. Ito, K. Yamamoto, H. Hauri, K. Kato(名市大, 長崎大, 理研, 東大): Sugar-binding properties of intracellular lectins that govern quality control of glycoproteins, Asia-core Programe, Kwangiu, Korea, Feb. 24 (2007)
 26. K. Kato, Y. Yamaguchi, Y. Kamiya, M. Utsumi, H. Sasakawa, N. Takahashi(名市大): 920 MHz ultra-high field NMR analyses of sugar-protein interactions, Glycobiology and Sphingobiology 2007, Tokushima, Feb. 28 (2007)
 27. T. Tsuchimoto, R. Nakagawa, S. Inoue, H. Watarai, M. Taniguchi, Y. Ito(理研): Diversity-oriented synthetic approach to α -galactosylceramides, 19th International Symposium on Glycoconjugates, Cairns, Australia, July 19 (2007)
 28. T. Watanabe, I. Matsuo, J. Maruyama, K. Kitamaoto, Y. Ito(理研, 東大): Identification of intracellular lectin, calnexin, from *Aspergillus oryzae* using *N*-glycan-conjugated beads, 19th International Symposium on Glycoconjugates, Cairns, Australia, July 19 (2007)
 29. T. Suzuki, M. Della Mea, I. Hara, R. Casadio, G. Tasco, N. Taniguchi, D. Serafini-Fracassini(阪大): Peptide: *N*-glycanase (PNGase) and transglutaminase (TGase): same catalytic domain, distinct function, 9th International Conference on Transglutaminase and Protein Crosslinking, Marrakech, Morocco, Sep. 2 (2007)
 30. 加藤晃一(名市大): 糖鎖構造解析からバイオを見る, 中部バイオインダストリー振興懇談会 第 62 回研究会, 名古屋, 2003 年 2 月 17 日
 31. 神谷由紀子, 大竹恵介, 山口芳樹, 松尾一郎, 伊藤幸成, 豊本雅靖, 松本直樹, 山本一夫, 加藤晃一(名市大, 理研, 東大): タンパク質の品質管理に関わる細胞内レクチンとリガンド糖鎖の結合様式の解析, 第 8 回糖質若手フォーラム, 兵庫, 2003 年 5 月 16-17 日
 32. 山本一夫, 豊本雅靖, 神谷由紀子, 山口芳樹, 加藤晃一(東大, 名市大): Cargo receptor

- による sorting メカニズムの解析, 第 24 回日本糖質学会年会, 横浜, 2003 年 7 月
33. 山口芳樹, 平尾武士, 吉田雪子, 田井 直, 田中啓二, 加藤晃一(名市大, 臨床研): F-box 蛋白質 Fbs1 による糖鎖認識の構造的基盤, 第 24 回日本糖質学会年会, 神奈川, 2003 年 7 月 29-31 日
 34. 戸谷希一郎, 松尾一郎, 伊藤幸成(理研): 糖-メトトレキセート複合型分子の合成と人工糖タンパク質創製への応用, 第 46 回有機合成化学協会関東支部シンポジウム, 新潟, 2003 年 11 月 22 日
 35. 加藤晃一(名市大): NMR を利用したユビキチンリガーゼの分子認識の解析, 第 42 回 NMR 討論会, 大阪, 2003 年 11 月 26-28 日
 36. 山本一夫(東大): 糖鎖を介した細胞内における蛋白質の品質管理と蛋白質医薬品への応用, 第 6 回富山医療薬学研究会, 富山, 2004 年 1 月
 37. 戸谷希一郎, 松尾一郎, 伊藤幸成(理研): 高マンノース型糖鎖を有する人工糖タンパク質の創製, 日本化学会第 84 春季年会, 大阪, 2004 年 3 月 29 日
 38. 萩原伸也, 伊藤幸成(理研): アスパラギン結合型糖鎖とユビキチンリガーゼ Fbs1 の相互作用解析, 日本化学会第 84 春季年会, 大阪, 2004 年 3 月 29 日
 39. 高谷万紀, 中野 淳, 荒井 緑, 石渡明弘, 太田博道, 伊藤幸成, (理研, 慶大理工): 凍結条件下におけるグリコシル化反応の加速, 第 47 回有機合成協会関東支部(茨城)シンポジウム, 水戸, 2004 年 5 月
 40. 平尾武士, 山口芳樹, 吉田雪子, 田中啓二, 加藤晃一(名市大, 臨床研): 安定同位体標識した糖ペプチドを用いた糖鎖認識ユビキチンリガーゼ SCFFbs1 の基質認識機構の NMR 解析, 第 31 回生体分子科学討論会, 茨城, 2004 年 7 月 2-3 日
 41. 平尾武士, 山口芳樹, 吉田雪子, 鈴木匡, 田中啓二, 加藤晃一(名市大, 臨床研, 阪大, 理研): NMR によるユビキチンリガーゼ SCFFbs1 の基質認識機構の解明, 第 2 回糖鎖科学名古屋拠点「若手の力」フォーラム, 名古屋, 2004 年 9 月 7-8 日
 42. 加藤晃一(名市大): NMR による糖タンパク質糖鎖の高次構造・ダイナミクス・相互作用の解析, 第 53 回高分子討論会, 札幌, 2004 年 9 月 15-17 日
 43. 加藤晃一(名市大): 糖タンパク質の細胞内運命を決定するレクチンの分子認識の構造的基盤, 第 77 回日本生化学会大会, 横浜, 2004 年 10 月 13-16 日
 44. 名和大輔, 松本直樹, 山本一夫 (東大): VIP36 associates with BiP in a stable manner, 第 77 回日本生化学会大会, 横浜, 2004 年 10 月 14 日
 45. 花島慎弥, 眞鍋史乃, 伊藤幸成(理研): N-アセチルグルコサミン転移酵素阻害剤の合成研究, 第 30 回反応と合成の進歩シンポジウム, 札幌, 2004 年 10 月
 46. 加藤 晃一(名市大, グライエンス): 糖タンパク質の細胞内運命を決定する糖鎖認識タンパク質の NMR 構造生物学, 第 43 回 NMR 討論会, 東京, 2004 年 11 月 10-12 日
 47. 加藤晃一, 西村真美子, 長野真弓, 山口芳樹, 高橋 禮子(名市大, グライエンス): 抗体の NMR 分析, バイオロジクスフォーラム第 2 回学術集会, 東京, 2004 年 11 月 22 日
 48. 太田壮一, 石渡明弘, 伊藤幸成(理研): グラム陰性菌 *Campylobacter jejuni* 由来 N-結合型糖タンパク質糖鎖の合成研究, 第 48 回有機合成化学協会関東支部シンポジウム(新潟シンポジウム), 新潟, 2004 年 11 月
 49. 石渡明弘, 伊藤幸成(理研): 糖鎖合成反応の新規迅速スクリーニング系の開発, 第 48 回有機合成化学協会関東支部シンポジウム(新潟シンポジウム), 新潟, 2004 年 11 月 20-21 日
 50. 鈴木 匡: 細胞質に存在する遊離 N 型糖鎖の生成, プロセッシング機構とその生理機能, 大阪大学 21 世紀プログラム, 第 2 回合同シンポジウム, 大阪, 2004 年 12 月 21 日
 51. 加藤晃一, 山口芳樹, 高橋禮子(名市大, 分子研, 理研, グライエンス): NMR と糖鎖ライブラリーを利用した構造グライコミクスへのアプローチ, 日本薬学会第 125 年会, 東京, 2005 年 3

月 29-31 日

52. 多々見 篤, 松尾一郎, 伊藤幸成(理研):細胞内糖鎖結合性タンパクの解析を目的とした光親和性プローブの合成, 日本化学会第85春季年会, 横浜, 2005年3月 26-29日
53. 太田壮一, 石渡明弘, 伊藤幸成(理研):Campylobacter jejuni 由来 N-結合型糖タンパク質糖鎖の分岐6糖の立体選択的合成, 日本化学会第85春季年会, 横浜, 2005年3月 26-29日
54. 石渡明弘, 伊藤幸成(理研):グリコシル化反応の新規迅速スクリーニング系の構築と応用, 日本化学会第85春季年会, 横浜, 2005年3月 26-29日
55. 萩原伸也, 戸谷希一郎, 松尾一郎, 伊藤幸成(理研):アスパラギン結合型糖ペプチドの合成及び Fbs1 との相互作用解析, 日本化学会第85春季年会, 横浜, 2005年3月 26-29日
56. 戸谷希一郎, 井原義人, 松尾一郎, 伊藤幸成(理研, 長崎大医):オリゴ糖-MTX 複合体を用いた糖タンパク質フォールディングセンサー「UGGT」の機能解析, 日本化学会第85春季年会, 横浜, 2005年3月 26-29日
57. 中野 淳, 太田博道, 伊藤幸成(理研, 慶大理工):寄生虫を由来とする N-結合型糖鎖の合成研究, 日本化学会第85春季年会, 横浜, 2005年3月 26-29日
58. 中野淳¹, 太田博道², 伊藤幸成¹(¹理研, ²慶大):寄生虫を由来とする N-結合型糖鎖の合成研究, 第49回有機合成化学協会関東支部シンポジウム, 横浜, 2005年5月14日
59. 戸谷希一郎, 松尾一郎, 伊藤幸成(理研):N-グリカン-MTX ー合成, 機能および応用ー, 第49回有機合成化学協会関東支部シンポジウム, 横浜, 2005年5月14日
60. 神谷由紀子(名市大):NMR と糖鎖ライブラリーを用いたカーゴレセプターVIP36 の標的糖タンパク質認識機構の解析, 平成17年度比較グライコーム研究会, 大阪, 2005年5月14日
61. 萩原伸也(理研):タンパク質の品質管理と糖鎖, 新世代の生物有機化学研究会2005, 滋賀, 2005年6月.
62. 神谷由紀子, 山口芳樹, 高橋禮子, 荒田洋一郎, 笠井猷一, 井原義人, 松尾一郎, 伊藤幸成, 山本一夫, 加藤晃一(名市大, 分子研, グライエンス, 帝京大, 長崎大, 理研, 東大), VIP36 の標的糖タンパク質認識の構造学的基盤, 第10回糖質若手フォーラム, 岐阜, 2005年6月
63. 松尾一郎(理研):収斂的経路によるアスパラギン結合型糖鎖の効率的な合成法の開発, 第25回日本糖質学会年会, 滋賀, 2005年7月20日
64. 山本一夫, 河崎徳人, 名和大輔, 塚本早希与, 山口大介, 市川瑤子, 藤井美也子(東大):catgo receptor のダイナミックな糖結合活性の制御, 第25回日本糖質学会年会, 滋賀, 2005年7月21日
65. 戸谷希一郎¹, 井原義人², 松尾一郎¹, 伊藤幸成¹(¹理研, ²長崎大):合成 N-グリカン分子プローブ群によるカルネキシン/カルレティキュリンサイクルの解析, 第25回日本糖質学会年会, 滋賀, 2005年7月22日
66. 鈴木 匡, 田邊 香, 原 いずみ, 船越 陽子, 谷口 直之(阪大):細胞質遊離 N 型糖鎖の生成, 代謝機構, 第25回糖質学会年会, 滋賀, 2005年7月24日
67. T. Suzuki:ERAD における遊離糖鎖の生成, 代謝機構, 文部科学省科学研究費補助金特定領域研究 糖鎖によるタンパク質と分子複合体の機能調節 第3回夏期シンポジウム, 岐阜 2005年8月8日
68. 石渡明弘, 赤尾寛子, 伊藤幸成(理研):立体選択的アラビノフラノシル化反応の開発とミコバクテリア由来分岐オリゴアラビノフラノシド合成, 第47回天然有機化合物討論会, 徳島, 2005年10月7-9日
69. Koichi Kato(名市大, グライエンス, 分子研):Carbohydrate-protein interactions probed by NMR and sugar library, 第78回日本生化学会大会, 神戸, 2005年10月22日

70. 山口芳樹, 高橋禮子, 加藤晃一(名市大, グライエンス, 分子研), タンパク質の糖鎖修飾と NMR構造生物学, 第 43 回日本生物物理学会年会, 札幌, 2005 年 11 月
71. 神谷大貴, 神谷由紀子, 栗本英治, 山口芳樹, 加藤晃一(名市大): フロントアルフィニティク ロマトグラフィー法を用いたシャペロンと糖鎖の相互作用解析, 第 52 回日本薬学会東海支部 例会, 名古屋, 2005 年 12 月 3 日
72. 遠田 宙, 神谷由紀子, 山口芳樹, 松尾一郎, 伊藤幸成, 吉田雪子, 田中啓二, 加藤晃一 (名市大, 理研, 臨床研): 糖鎖認識ユビキチンリガーゼ Fbs2 と糖鎖の相互作用解析, 第 52 回日本薬学会東海支部例会, 名古屋, 2005 年 12 月 3 日
73. K. Masuda, K. Yamamoto, N. Matsumoto(東大): KLRG1 expression on mouse lung NK cells, 第 35 回日本免疫学会総会, 横浜, 2005 年 12 月 13 日
74. N. Matsumoto, M. Ito, M. Morioka, K. Yamamoto(東大): Establishment of a mouse NK cell line with expression of functional Ly49 receptors, 第 35 回日本免疫学会総会, 横浜, 2005 年 12 月 13 日
75. 萩原伸也(理研): 糖タンパク質の品質管理機構の解明に向けた糖鎖プローブの合成, 理研 シンポジウム「第9回生体分子の化学」, 和光, 2006 年 1 月 27 日
76. 石渡明弘 (理研): グリコシル化反応の迅速最適化法の開発と複合糖質糖鎖の合成, 理研 シンポジウム「第9回生体分子の化学」, 和光, 2006 年 1 月 27 日
77. 松尾一郎, 越野広雪, 伊藤幸成(理研): 飽和移動差スペクトル(STD)法による Calreticulin-糖鎖相互作用におけるエピトープ解析, 日本農芸化学会 2006 年度大会, 京都, 2006 年 3 月 26 日
78. 中野淳, 太田博道, 伊藤幸成(理研, 慶大): 寄生虫を由来とする N-結合型糖鎖の合成, 日本農芸化学会 2006 年度大会, 京都, 2006 年 3 月 26 日
79. 高谷万紀, 伊藤幸成(理研): ライブラリー構築を目指した効率的糖鎖合成および QCM を用いたレクチンとの相互作用解析, 日本農芸化学会 2006 年度大会, 京都, 2006 年 3 月 26 日
80. Mohammed N. Amin, Soichi Ohta, Akihiro Ishiwata, Yukishige Ito(理研): Synthetic studies on novel N-glycan found in a human pathogenic bacterium *Campylobacter jejuni*: Synthesis of bacillosamine and its derivatives, 日本農芸化学会 2006 年度大会, 京都, 2006 年 3 月 26 日
81. 石渡明弘, 赤尾寛子, 伊藤幸成(理研): ミコバクテリア由来アラビナンの立体選択的合成研究, 日本化学会第 86 春季年会, 千葉, 2006 年 3 月 27-30 日
82. 多々見篤, 伊藤幸成(理研): 小胞体内レクチンの機能解析に向けた光親和性糖鎖プローブの合成研究, 日本化学会第 86 春季年会, 千葉, 2006 年 3 月 27-30 日
83. 萩原伸也, 戸谷希一郎, 松尾一郎, 伊藤幸成(理研): 合成糖ペプチドプローブを用いた糖タンパク質分解系の定量解析, 日本化学会第 86 春季年会, 千葉, 2006 年 3 月 27-30 日
84. 戸谷希一郎, 井原義人, 松尾一郎, 伊藤幸成(理研, 長崎大): 合成糖鎖を用いた小胞体 グルコシダーゼ II の定量解析, 日本化学会第 86 春季年会, 千葉, 2006 年 3 月 27-30 日
85. 山本一夫, 河崎徳人, 山口大介, 市川遥子, 藤井美也子, 名和大輔, 松尾一郎, 戸谷希一郎, 神谷由紀子, 伊藤幸成, 加藤晃一(東大, 理研, 名市大): 糖鎖を介した細胞内輸送・選別の制御, 第 6 回日本蛋白質科学会年会, 京都, 2006 年 4 月
86. 山口芳樹, 笹川拓明, 神谷由紀子, 矢木宏和, 長野真弓, 高橋禮子, 加藤晃一(名市大): 920 MHz 超高磁場 NMR 装置を活用した複合糖質の精密構造解析, 第 26 回日本糖質学会 年会, 仙台, 2006 年 8 月 23 日
87. 鈴木 匡, 原いずみ, 中の三弥子, Gang Zhao, William J. Lennarz, Hermann Schindelin, 谷口直之, 戸谷希一郎, 松尾一郎, 伊藤幸成(阪大, 理研): 細胞質 PNGase のキトビオース糖鎖誘導体への特異的結合: 反応機構の解明に向けて, 第 26 回糖質学会年会, 仙台,

2006年8月24日

88. 鈴木詔子, 名和大輔, 松本直樹, Yuan C. Lee, 山本一夫(東大): 鳥類における Gal α 1-4 グラクトース転移酵素の解析, 第26回日本糖質学会年会, 仙台, 2006年8月25日
89. 松尾 一郎, 宮崎 綾子, 戸谷 希一郎, 伊藤 幸成: 糖タンパク質品質管理機構解明に向けた化学的アプローチ, 第55回 FCCA セミナー グライコサイエンス若手フォーラム 2006, 仙台, 2006年8月27日
90. 掛川 彩子, 丑田 公規, 多々見 篤, 松尾 一郎, 伊藤 幸成: 蛍光相関分光法による糖鎖-タンパク質間相互作用の解析, 第55回 FCCA セミナー グライコサイエンス若手フォーラム 2006, 仙台, 2006年8月27日
91. 松尾 一郎: トップダウン型酵素-化学法による小胞体型糖鎖ライブラリの構築, GlycoTOKYO 2006 シンポジウム, 横浜, 2006年8月31日
92. 萩原 伸也: 糖タンパク質品質管理機構の解明に向けた合成化学的アプローチ, SORS 齋藤シンポジウム「ゲノム化学の最先端: 医学・分子生物学への応用と展開」, 福島, 2006年9月16日
93. 渡邊 泰祐: N-結合型糖鎖ビーズを用いた *A. oryzae* の解析-糖タンパク質品質管理機構の理解から異種タンパク質高生産に向けて-, 平成 18 年度生理学研究所研究会「病態糖鎖研究会」, 岡崎, 2006年9月26日
94. 渡邊 泰祐, 松尾 一郎, 丸山 潤一, 北本 勝ひこ, 伊藤 幸成: N-結合型糖鎖ビーズを用いた *A. oryzae* 小胞体内レクチンの取得と局在解析, 第6回糸状菌分子生物学コンファレンス, 大阪, 2006年11月14日
95. 岡林 俊, 前野亜弥, 山口芳樹, 笹川拓明, 裏出令子, 加藤晃一(名市大): 分光学的手法を用いた ER-60 とカルレティキュリンの相互作用解析, 平成 18 年度日本薬学会東海支部例会, 名古屋, 2006年12月2日
96. 堀川有希, 神谷由紀子, 山口芳樹, 笹川拓明, 加藤晃一(名市大): N 型糖鎖の立体構造解析のための還元末端修飾法の検討, 平成 18 年度日本薬学会東海支部例会, 名古屋, 2006年12月2日
97. 宗村裕一, 石渡明弘, 伊藤幸成(理研): 2-naphthylmethyl(NSP)基を利用した分子内アグリコン転位反応: α -グリコシド形成の検討, 第52回有機合成化学協会関東支部シンポジウム(新潟シンポジウム), 新潟, 2006年12月2-3日
98. 掛川彩子, 松尾一郎, 丑田公規, 伊藤幸成(理研): 蛍光相関分光法を用いたオリゴ糖の分子運動解析, 日本農芸化学会 2007 年度大会, 東京, 2007年3月25日
99. 渡邊泰祐, 松尾 一郎, 丸山 潤一, 北本勝ひこ, 伊藤幸成(理研, 東大): N-結合型糖鎖ビーズを用いた *Aspergillus oryzae* 細胞内レクチンの取得と局在解析, 日本農芸化学会 2007 年度大会, 東京, 2007年3月25日
100. 萩原伸也, 宮崎綾子, 松尾一郎, 伊藤幸成(理研): 細胞質ペプチド:N-グリカナールゼ阻害剤の合成および評価, 日本化学会第87春季年会, 大阪, 2007年3月25日
101. 高谷万紀, 松尾一郎, 伊藤幸成(理研): トップダウン型酵素-化学法による小胞体型糖鎖ライブラリの構築(1), 日本農芸化学会 2007 年度大会, 東京, 2007年3月26日
102. 松尾一郎, 高谷万紀, 伊藤幸成(理研): トップダウン型酵素-化学法による小胞体型糖鎖ライブラリの構築(2), 日本農芸化学会 2007 年度大会, 2007年3月26日
103. 宮崎綾子, 松尾一郎, 萩原伸也, 鈴木匡, 伊藤幸成(理研): PNGase 機能解明に向けた糖鎖分子プローブの合成, 日本農芸化学会 2007 年度大会, 東京, 2007年3月26日
104. Amin Mohammed, 太田壮一, 石渡明弘, 伊藤幸成(理研): First chemical synthesis of novel N-glycan: a heptasaccharide, GlcGalNAc₅Bac, from *Campylobacter jejuni*., 日本農芸化学会 2007 年度大会, 東京, 2007年3月26日

105. 宗村裕一, 石渡明弘, 伊藤 幸成(理研): 分子内アグ WW リコン転位反応による α -グリコシド形成の検討及び応用, 日本化学会第 87 春季年会, 大阪, 2007 年 3 月 26 日
106. 山本一夫(東大): 言語から読み解くゲノムと生命システム, 糖鎖と言語 COE シンポジウム, 東京, 2007 年 4 月 22 日
107. 松尾一郎, 高谷万紀, 戸谷希一郎, 渡邊泰祐, 伊藤幸成(理研): 糖鎖機能解明に向けた小胞体関連高マンノース型糖鎖ライブラリの構築, 日本ケミカルバイオロジー研究会, 京都, 2007 年 5 月 10 日
108. 遠田 宙, 神谷由紀子, 山口芳樹, 高橋むつみ, 畠山鎮次, 加藤晃一(名市大): ユビキチンリガーゼ Ro52 と免疫グロブリン G1 の相互作用解析, 第 53 回日本薬学会東海支部会大会, 名古屋, 2007 年 7 月 7 日
109. 神谷大貴, 神谷由紀子, 山口芳樹, 加藤晃一(名市大): 糖鎖ライブラリーを利用した細胞内レクチンの糖鎖認識の特異性の解析, 第 53 回日本薬学会東海支部会大会, 名古屋, 2007 年 7 月 7 日
110. 松尾一郎, 萩原伸也, 多々見篤, Yung-Son Hon, 越野広雪, 合田和央, 高谷万紀, 戸谷希一郎, 伊藤幸成(理研, OLYMPUS): レクチン様分子シャペロン: カルレティキュリンの糖鎖結合特異性の解析, 第 27 回日本糖質学会年会, 福岡, 2007 年 8 月 3 日
111. 松本直樹, 西村崇, 河崎徳人, 山本一夫(東大): 樹状細胞サブセットに発現する抑制性レクチンレセプター DCIR2 によるリガンド認識, 第 27 回日本糖質学会年会, 福岡, 2007 年 8 月 3 日
112. 松尾一郎, 合田和央, 萩原伸也, 戸谷希一郎, 井原義人, 伊藤幸成(理研, OLYMPUS, 長崎大): 蛍光相関分光法を用いたグルコース転酵素 (UGGT) の活性測定, FCCA グライコサイエンス若手フォーラム 2007, 福岡, 2007 年 8 月 4 日
113. K. Kato(名市大): NMR structural biology of protein quality control in cells, 第 46 回 NMR 討論会, 札幌, 2007 年 9 月 12 日
114. 神谷大貴, 神谷由紀子, 山口芳樹, 加藤晃一(名市大): 高マンノース型糖鎖ライブラリーを利用した細胞内レクチンの糖鎖認識特異性の体系的解析: 第 5 回糖鎖科学名古屋拠点「若手の力」フォーラム, 名古屋, 2007 年 9 月 15 日
115. 石渡明弘, Mohammed N. Amin, Yon Joo Lee, 太田壮一, 伊藤幸成(理研): 細菌由来 *N*-結合型糖タンパク質糖鎖の立体選択的合成, 第 49 回天然有機化合物討論会, 札幌, 2007 年 9 月 19-21 日
116. 戸谷希一郎, 松尾一郎, 井原義人, 伊藤幸成(理研, 長崎大): 疑似細胞内環境における小胞体糖鎖プロセッシング解析, 第 22 回生体機能関連化学シンポジウム, 仙台, 2007 年 9 月 29 日
117. 武本映見, 住吉 晃, 坂田絵理, 栗本英治, 内海真穂, 森戸大介, 永田和宏, 加藤晃一(名市大): ユビキチンリガーゼ gp78 と E2 の相互作用の NMR 解析, 平成 19 年度日本薬学会東海支部会例会, 岐阜, 2007 年 12 月 8 日
118. 良川須美, 内海真穂, 山口芳樹, 笹川拓明, 栗本英治, 本間貴之, 寶関 淳, 西川良美, 小出隆規, 永田和宏, 加藤晃一(名市大): コラーゲン特異的シャペロン Hsp47 の NMR 解析, 平成 19 年度日本薬学会東海支部会例会, 岐阜, 2007 年 12 月 8 日
119. 井原義人, 池崎みどり, 和田芳直, 伊藤幸成, 近藤宇史(長崎, 理研): レクチン様シャペロン・カルレティキュリンの小胞体局在におけるカルレティキュリン-BiP 相互作用の意義, 第 80 回日本生化学会大会, 横浜, 2007 年 12 月 11-15 日
120. 赤塚明宣, 伊藤昌之, 山本一夫, 松本直樹(東大): Ectopic expression of AICL on tumor cell lines of non-myeloid origins, 第 80 回日本生化学会大会, 第 30 回日本分子生物学会年会(合同大会), 横浜, 2007 年 12 月 13 日

121. 石渡明弘, 赤尾寛子, 伊藤幸成(理研):アラビナンの合成研究, 日本化学会第 88 春季年会, 東京, 2008 年 3 月 26-30 日
122. 戸谷希一郎, 井原義人, 松尾一郎, 伊藤幸成(理研, 和歌山県立医大):分子クラウディング環境における N-結合型糖タンパク質プロセッシング酵素の性状, 日本化学会第 88 春季年会, 東京, 2008 年 3 月 26-30 日
123. 武田陽一, 松尾一郎, 伊藤幸成(理研):¹⁹F NMR による糖鎖プローブとレクチンの相互作用解析, 日本化学会第 88 春季年会, 東京, 2008 年 3 月 26-30 日
124. 宮川淳, 戸谷希一郎, 松尾一郎, 伊藤幸成(理研):UDP-グルコース誘導体を用いた糖タンパク質フォールディングセンサーUGGT の基質特異性解析, 日本化学会第 88 春季年会, 東京, 2008 年 3 月 26-30 日
125. 高谷万紀, 戸谷希一郎, 松尾一郎, 伊藤幸成(理研):ハイマンノース型糖鎖プローブの合成および小胞内レクチンとの相互作用解析, 日本農芸化学会 2008 年度大会, 名古屋, 2008 年 3 月 26-29 日
126. 松尾一郎, 宮崎綾子, 萩原伸也, 武田陽一, 鈴木匡, 伊藤幸成(理研):細胞内 Peptide-N-Glycanase 活性測定に向けた糖鎖分子プローブの合成, 日本農芸化学会 2008 年度大会, 名古屋, 2008 年 3 月 26-29 日
127. 渡邊泰祐, 松尾一郎, 戸谷希一郎, 丸山潤一, 北本勝ひこ, 伊藤幸成(理研, 東大):*Aspergillus oryzae* 小胞体の糖タンパク質品質管理機構に関連する遺伝子群の機能解析, 日本農芸化学会 2008 年度大会, 名古屋, 2008 年 3 月 26-29 日
128. 宮崎綾子, 松尾一郎, 伊藤幸成(理研):凍結反応を利用した糖アミノ酸の合成, 日本農芸化学会 2008 年度大会, 名古屋, 2008 年 3 月 26-29 日

ポスター発表 (国際会議 45 件, 国内会議 126 件)

1. M. Nakano, Y. Yamaguchi, C. Murakami, T. Harada, E. Kurimoto, O. Asami, T. Kajino, K. Inaba, K. Kato (名市大, 豊田中研, 京大ウイルス研): Domain-domain interaction of protein disulfide isomerase as revealed by NMR spectroscopy. The 1st Pacific-Rim International Conference on Protein Science, Yokohama, April 14-18 (2004)
2. T. Hirao, Y. Yamaguchi, Y. Yoshida, T. Tai, K. Tanaka, K. Kato (名市大, 臨床研): Stable-isotope-assisted NMR analyses of the interactions of the Sugar-binding domain of SCFFbs1 with glycopeptides. The 1st Pacific-Rim International Conference on Protein Science, Yokohama, April 14-18 (2004)
3. Y. Kamiya, Y. Yamaguchi, I. Matsuo, Y. Ito, M. Toyomoto, N. Matsumoto, K. Yamamoto, K. Kato (名市大, 理研, 東大): Interaction between the transport lectin VIP36 and N-glycans as studied by NMR spectroscopy, Interlec 21, Kanagawa, May 23-28 (2004)
4. S. Koganei, N. Matsumoto, K. Yamamoto: Cloning and expression of mouse KLRH1, a lectin-like receptor on natural killer cells, Interlec 21, Kanagawa, May 26 (2004)
5. K. Totani, I. Matsuo, Y. Ito(理研):Oligosaccharide-MTX conjugates for the creation of artificial glycoprotein, 22nd Int. Carbohydr. Symp., Glasgow, UK, July (2004)
6. S. Hanashima, S. Manabe, K. Inamori, N. Taniguchi, Y. Ito(理研, 阪大):Synthesis of bisubstrate type inhibitor of N-acetylglucosaminyltransferases using polymer-resin hybrid strategy, USA/Japan Glyco 2004, Honolulu, USA, Nov. (2004)
7. M. Takatani, Y. Ito(理研): Facile and library-oriented methodology for solution phase oligosaccharide synthesis, USA/Japan Glyco 2004, Honolulu, USA, Nov. (2004)
8. J. Nakano, H. Ohta, Y. Ito(理研, 慶大理工): Toward synthesis of complex type N-glycans of helminth origin, USA/Japan Glyco 2004, Honolulu, USA, Nov. (2004)
9. I. Matsuo, S. Hagihara, K. Totani, T. Kashiwagi, Y. Ito(理研): Synthesis of asparagine-linked glycan chains: Toward understanding glycoprotein quality control, USA/Japan Glyco 2004, Honolulu, USA, Nov. (2004)

10. S. Hagihara, K. Totani, I. Matsuo, Y. Ito(理研): Thermodynamic analysis for the sugar recognition of Fbs1, USA/Japan Glyco 2004, Honolulu, USA, Nov. (2004)
11. Y. Kamiya, Y. Yamaguchi, I. Matsuo, Y. Ito, M. Toyomoto, N. Matsumoto, K. Yamamoto, K. Kato (名市大, 理研, 東大): Structural basis of sugar recognition by the cargo receptor VIP36, USA/Japan Glyco 2004, Honolulu, USA, Nov.17-20 (2004)
12. H. Tozawa, N. Matsumoto, K. Yamamoto: Characterization of VIPL, USA/Japan Glyco 2004, Honolulu, USA, Nov.18 (2004)
13. D. Nawa, N. Matsumoto, K. Yamamoto: Immunoglobulin binding protein (BiP) coimmunoprecipitate with VIP36, USA/Japan Glyco 2004, Honolulu, USA, Nov.18 (2004)
14. S. Hagihara, K. Totani, I. Matsuo, Y. Ito (理研): Synthesis of N-linked glycos and glycopeptides toward analysis of glycoprotein degradation pathway, 18th International Symposium on Glycoconjugates, Firenze, Italy, Sep. (2005)
15. I. Matsuo, S. Hagihara, T. Totani, Y. Ito (理研): Synthetic N-glycans for quantitative analysis of calreticulin, 18th International Symposium on Glycoconjugates, Firenze, Italy, Sep. (2005)
16. D. Yamaguchi, T. Imamura, N. Suzuki, N. Matsumoto, K. Yamamoto(東大): Intracellular visualization of VIP36 oligomerization using FRET analysis, 18th International Symposium on Glycoconjugates, Firenze, Italy, Sep. 4 (2005)
17. D. Nawa, N. Kawasaki, N. Suzuki, N. Matsumoto, K. Yamamoto(東大): IMolecular chaperone BiP binds to cargo receptor VIP36 constitutively, 18th International Symposium on Glycoconjugates, Firenze, Italy, Sep. 4 (2005)
18. M. Fujii, D. Yamaguchi, N. Suzuki, N. Matsumoto, K. Yamamoto(東大): responses to ER stress of intracellular cargo receptors, 18th International Symposium on Glycoconjugates, Firenze, Italy, Sep. 4 (2005)
19. N. Kawasaki, Y. Ichikawa, N. Suzuki, N. Matsumoto, K. Yamamoto(東大): MCFD2 enhances sugar-binding activity of ERGIC-53, 18th International Symposium on Glycoconjugates, Firenze, Italy, Sep. 4 (2005)
20. Y. Funakoshi, K. Saigo, R. Ueda, S. Nishihara, N. Taniguchi, and T. Suzuki(阪大): Analysis of putative glycosidases for the metabolic pathways of cytosolic free N-linked glycan species in *Drosophila melanogaster*, 18th International Symposium on Glycoconjugates, Firenze, Italy, Sep. 6 (2005)
21. Y. Ihara (長崎大), E. Muroi, S. Manabe, T. Kondo, Y. Ito: The C-mannosylated tetrapeptide modulates lipopolysaccharide signaling in macrophage-like RAW264.7 cells, 18th International Symposium on Glycoconjugates, Firenze, Italy, Sep. 4-9 (2005)
22. E. Muroi, Y. Ihara, S. Manabe, S. Sato, T. Kondo, Y. Ito: Protein C-mannosylation in monocyte differentiation, 18th International Symposium on Glycoconjugates, Firenze, Italy, Sep. 4-9 (2005)
23. K. Totani, Y. Ihara, I. Matsuo, Y. Ito(理研, 長崎大): Synthetic N-glycan probes for the functional analyses of calnexin/calreticulin cycle in ER glycoprotein quality control, PACIFICHEM2005, Honolulu, Hawaii, Dec. (2005)
24. A. Tatami, I. Matsuo, Y. Ito(理研): Synthesis of photoaffinity glycoprobes for the analysis of carbohydrate-protein interaction in ER, PACIFICHEM2005, Honolulu, Hawaii, Dec. (2005)
25. Y. Hayashida, Y. Ihara, Y. Urata, Y. Miyata, K. Nomata, H. Kanetake, T. Kondo(長崎大): Calreticulin down-regulates E-cadherin gene expression via Slug in a Ca²⁺-dependent manner (#2781), 97th American Association for Cancer Research Annual Meeting, Washington, DC, USA, April 1-5 (2006)
26. D. Yamaguchi, N. Kawasaki, I. Matsuo, N. Suzuki, N. Matsumoto, Y. Ito, K. Yamamoto(東大, 理研): Sugar-binding specificity of VIPL involved in glycoprotein secretion, 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology, Kyoto, June 19 (2006)
27. Y. Funakoshi, K. Saigo, R. Ueda, S. Nishihara, N. Taniguchi, T. Suzuki(阪大): Analysis of metabolic pathways of cytosolic free N-linked glycans in *Drosophila melanogaster*, 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology, Kyoto, June 19

- (2006)
28. Y. Yamaguchi, H. Sasakawa, Y. Kamiya, M. Nagano, N. Takahashi, K. Kato(名市大, 分子研): Structural analyses of glycoconjugates by use of ultra-high field NMR spectroscopy measured at 920 MHz ¹H resonance frequency, 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology, Kyoto, June 19 (2006)
 29. Y. Kamiya, H. Tsukakoshi, Y. Yamaguchi, N. Takahashi, Y. Arata, K. Kasai, Y. Ihara, I. Matsuo, Y. Ito, Y. Ichikawa, N. Kawasaki, N. Matsumoto, K. Yamamoto, K. Kato(名市大, 長崎大, 理研, 東大): Sugar-protein and protein-protein interactions involving the intracellular animal lectins operating as cargo receptors, 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology, Kyoto, June 19 (2006)
 30. M. Naoki, M. Ito, T. Maruyama, S. Nakamura, K. Kuroki, D. Kohda, K. Maenaka, K. Yamamoto(東大): Identification of three members of classical cadherins as the ligands for the NK cell receptor KLRG1, 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology, Kyoto, June 20 (2006)
 31. S. Nakamura, K. Kuroki, T. Maruyama, M. Ito, M. Ikura, K. Yamamoto, N. Matsumoto, DKohda, K. Maenaka(東大): Structural basis for the E-cadherin recognition of KLRG1, 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology, Kyoto, June 22 (2006)
 32. E. Muroi, Y. Ihara, S. Manabe, T. Kondo, Y. Ito(長崎大, 理研): The C-mannosylated peptides enhance lipopolysaccharide-induced cell death in macrophage-like RAW264.7 cells, 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology, Kyoto, June 18-23 (2006)
 33. Y. Ihara, T. Okunaga, Y. Urata, S. Goto, I. Nagata, T. Kondo(長崎大): Role of calreticulin, a molecular chaperone in the endoplasmic reticulum, in the radiosensitivity of glioblastoma U251MG cells, 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology, Kyoto, June 18-23 (2006)
 34. K. Tanabe, H. Rao, N. Taniguchi, T. Suzuki(阪大): Png1p, a cytoplasmic peptide: N-glycanase in *S. cerevisiae*, implicated in ERAD, 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress, Kyoto June 23 (2006)
 35. I. Matsuo, K. Totani, Y. Ihara, Y. Ito(理研, 長崎大): Synthetic substrate for an endoplasmic reticulum protein-folding sensor, UDP-glucose: Glycoprotein glucosyltransferase, 5th International Symposium on Glycosyltransferases (GlycoT 2006), Tsukuba, June 26-28 (2006)
 36. K. Totani, I. Matsuo, Y. Ihara, Y. Ito(理研, 長崎大)): Quantitative analysis of UDP-glucose: Glycoprotein glucosyltransferase, 5th International Symposium on Glycosyltransferases (GlycoT 2006), Tsukuba, June 26-28 (2006)
 37. S. Manabe, Y. Ihara, Y. Ito(理研, 長崎大): Mannosylation as novel protein modification; Synthesis and its relationship with diabeters, ICOB-5 & ISCNP-25 IUPAC International Conference on Biodiversity and Natural Products, Kyoto, July (2006)
 38. I. Matsuo, T. Watanabe, J. Maruyama, K. Kitamoto, Y. Ito(理研): High mannose glycan conjugated affinity beads: Search for new intracellular lectins, 23rd International Carbohydrate Symposium, Whistler, Canada, Aug. 23-28 (2006)
 39. K. Totani, Y. Ihara, I. Matsuo, Y. Ito(長崎大, 理研): Synthetic approach to functional analysis of protein folding sensor, UGGT, 23rd International Carbohydrate Symposium, Whistler, Canada, Aug. 23-28 (2006)
 40. M. Amin, S. Ohta, A. Ishiwata, Y. Ito(理研): Synthesis of N-asparagine linked bacillosamine toward synthesis of N-glycan present in gram-negative bacterium *Campylobacter jejuni*, 23rd International Carbohydrate Symposium, Whistler, Canada, Aug. 23-28 (2006)
 41. S. Hanashima, S. Manabe, Y. Ito(理研): Divergent synthesis of sialylated glycan chain: Combined use of polymer support, resin capture-release, and chemoenzymatic strategies, 10th International Kyoto Conference on New Aspects of Organic Chemistry (IKCOC-10), Kyoto, Nov. 13-17 (2006)

42. Y. Kamiya, H. Tsukakoshi, D. Kamiya, Y. Yamaguchi, N. Takahashi, Y. Arata, K. Kasai, Y. Ihara, I. Matsuo, Y. Ito, K. Yamamoto, H. Hauri, K. Kato(名市大, 長崎大, 理研, 東大): Sugar-binding properties of intracellular lectins that govern quality control of glycoproteins, Asia-core Programe, Kwangiu, Korea, Feb. 24 (2007)
43. K. Kato, Y. Yamaguchi, Y. Kamiya, M. Utsumi, H. Sasakawa, N. Takahashi(名市大, 分子研): 920 MHz ultra-high field NMR analyses of sugar-protein interactions, Glycobiology and Sphingobiology 2007, Tokushima, Feb. 28 (2007)
44. Y. Hayashida, Y. Ihara, Y. Miyata, K. Nomata, S. Shirahama, T. Kondo, H. Kanetake(長崎大): Overexpression of calreticulin causes epithelial-mesenchymal transition in renal epithelial cells by repressing E-cadherin gene expression: An implication to metastasis of kidney cancer. American Urological Association (AAU) Annual Meeting 2007, Anaheim, CA, USA, May 19-24 (2007)
45. I. Matsuo, M. Takatani, Y. Ito(理研): Construction of N-glycan library: Using a top-down chemoenzymatic stratege, 14th European Carbohydrate Symposium, Lubeck, Germany, Sep. 2-7 (2007)
46. 松尾一郎, 伊藤幸成(理研): 超高压条件による保護基の着脱を有効に利用した小胞体関連ハイマンノース型糖鎖の合成, 日本農芸化学会 2003 年度大会, 神奈川, 2003 年 4 月 1 日
47. 神谷由紀子, 山口芳樹, 松尾一郎, 伊藤幸成, 豊本雅靖, 松本直樹, 山本一夫, 加藤晃一(名市大, 理研, 東大院), NMR を用いた小胞輸送タンパク質 VIP36 の糖鎖認識機構の解析, 第 67 回日本生化学会中部支部例会, 三重, 2003 年 5 月 24 日
48. 中野路子, 大竹恵介, 山口芳樹, 奥山由紀子, 名取俊二, 加藤晃一(名市大, 理研): カルレティキュリンにおける多様な分子認識機構の解析, 第 67 回日本生化学会中部支部例会, 三重, 2003 年 5 月 24 日
49. 矢木宏和, 高橋禮子, 山口芳樹, Royston Jefferis, 橋本寿美子, 老田達朗, 加藤晃一(名市大, バーミンガム大, 日大板橋病院, 神戸中央市民病院): 様々な病態における免疫グロブリン G の糖鎖プロファイルの解析, 第 67 回日本生化学会中部支部例会, 三重, 2003 年 5 月 24 日
50. 平尾 武士, 山口 芳樹, 吉田 雪子, 田中 啓二, 加藤 晃一(名市大, 臨床研): NMR による糖鎖認識ユビキチンリガーゼの糖タンパク質結合様式の解析, 第 3 回日本蛋白質科学会年会, 札幌, 2003 年 6 月 23-25 日
51. 平尾 武士, 山口 芳樹, 吉田 雪子, 田中 啓二, 加藤 晃一(名市大, 臨床研): NMR による糖鎖認識ユビキチンリガーゼの糖タンパク質結合様式の解析, 第 1 回糖鎖科学名古屋拠点「若手の力」フォーラム, 名古屋, 2003 年 7 月 25-26 日
52. 神谷由紀子, 山口芳樹, 松尾一郎, 伊藤幸成, 豊本雅靖, 松本直樹, 山本一夫, 加藤晃一(名市大, 理研, 東大): VIP36 とリガンド糖鎖の結合様式の解析, 第 24 回日本糖質学会年会, 神奈川, 2003 年 7 月 29-31 日
53. 矢木宏和, 高橋禮子, 山口芳樹, Royston Jefferis, 加藤晃一(名市大, バーミンガム大): ウェゲナー肉芽腫症患者血清由来の免疫グロブリン G の糖鎖プロファイル解析, 第 24 回日本糖質学会年会, 神奈川, 2003 年 7 月 29-31 日
54. 高谷万紀, 松尾一郎, 伊藤幸成(理研): ペンタフルオロプロピオニル基およびトリフルオロアセチル基を用いたオリゴ糖の合成, 第 24 回日本糖質学会年会, 神奈川, 2003 年 7 月 30 日
55. 中野 淳, 一柳 剛, 太田博道, 伊藤幸成(理研, 慶大理工): ヒドロキサム酸エステルを用いた N-グリコシド結合の新規合成法, 第 24 回日本糖質学会年会, 神奈川, 2003 年 7 月 30 日
56. 松尾一郎, 伊藤幸成(理研): アスパラギン結合型糖鎖プローブを用いたタンパク質の化学修飾, 第 24 回日本糖質学会年会, 神奈川, 2003 年 7 月 30 日
57. 戸谷希一郎, 松尾一郎, 伊藤幸成(理研): 糖-メトトレキセート複合型分子プローブの合成と人工糖タンパク質創製への応用, 第 24 回日本糖質学会年会, 神奈川, 2003 年 7 月 30 日
58. 中野路子, 山口芳樹, 村上千穂, 原田拓志, 栗本英治, 浅見 修, 梶野 勉, 稲葉謙次, 加藤晃一(名市大, 豊田中研, 京大ウイルス研): プロテインジスルフィドイソメラーゼの高次構造およびドメイン間相互作用の NMR 解析, 第 41 回日本生物物理学会, 新潟, 2003 年 9 月

23-25 日

59. S. Koganei, N. Matsumoto, K. Yamamoto(東大): Cloning and expression of mouse KLRH1, a lectin-like inhibitory receptor of natural killer cells, 第 76 回日本生化学会大会, 横浜, 2003 年 10 月
60. H. Wada, N. Matsumoto, K. Yamamoto(東大): Two HLA-E mutants discriminate between the inhibitory NK receptor CD94/NKG2A and the activating receptor CD94/NKG2C, both of which bind the top of HLA-E, 第 76 回日本生化学会大会, 横浜, 2003 年 10 月
61. M. Toyomoto, N. Matsumoto, K. Yamamoto(東大): Analysis of sorting mechanism in cargo receptors, 第 76 回日本生化学会大会, 横浜, 2003 年 10 月
62. M. Nakano, K. Otake, Y. Yamaguchi, Y. Okuyama, S. Natori, K. Kato(名市大, 名取研, 理研): Versatility of molecular recognition by calreticulin in the ER lumen and on the cell surface, 第 16 回内藤コンファレンス, 神奈川, 2003 年 10 月 28-31 日
63. 山口芳樹, 菊池 淳, 西村真美子, 加藤晃一(名市大, 理研, 横市大): 安定同位体標識と磁場配向を利用した糖タンパク質の高次構造解析, 第 42 回NMR討論会, 大阪, 2003 年 11 月 26-28 日
64. 辻知奈, 松本直樹, 田嶋恭子, 三ツ木元章, 山本一夫(東大): マウス NK 細胞レセプター Ly49D による H-2Dd の認識機構の解析, 第 33 回日本免疫学会総会, 福岡, 2003 年 12 月
65. 田嶋恭子, 松本直樹, 山本一夫(東大): NK 細胞抑制性レセプター Ly49A に対する高親和性ブロッカーの探索, 第 33 回日本免疫学会総会, 福岡, 2003 年 12 月
66. 伊藤昌之, 松本直樹, 山本一夫(東大): MHC クラス I 認識における Ly49, CD8 間の機能的競合の解析, 第 33 回日本免疫学会総会, 福岡, 2003 年 12 月
67. 齊藤直俊, 松本直樹, 山本一夫(東大): Killer cell lectin-like receptor G1 リガンドを発現する細胞株の同定, 第 33 回日本免疫学会総会, 福岡, 2003 年 12 月
68. 和田はるか, 松本直樹, 山本一夫(東大): NK 細胞抑制性レセプター CD94/NKG2A, 活性化レセプター CD94/NKG2C が認識する HLA-E 上領域の同定, 第 33 回日本免疫学会総会, 福岡, 2003 年 12 月
69. 神谷由紀子, 山口芳樹, 松尾一郎, 伊藤幸成, 豊本雅靖, 松本直樹, 山本一夫, 加藤晃一(名市大, 理研, 東大): VIP36 による標的糖タンパク質認識機構, 第 26 回日本分子生物学, 神戸, 2003 年 12 月 10-13 日
70. 松尾一郎, 柏木俊紀, 伊藤幸成(理研): アスパラギン結合型糖鎖 14 糖 (Glc3Man9GlcNAc2) の合成研究, 日本農芸化学会 2004 年度大会, 広島, 2004 年 3 月 29 日
71. 高谷万紀, 松尾一郎, 伊藤幸成, 萩原伸也, 山口芳樹, 加藤晃一(理研, 名市大): ペンタフルオロプロピオニル基及びトリフルオロアセチル基を保護基として用いたハイマンノース型糖鎖の合成, 日本農芸化学会 2004 年度大会, 広島, 2004 年 3 月 29 日
72. 山口芳樹, 西村真美子, 加藤晃一(名市大): 均一安定同位体標識を利用した免疫グロブリン G の Fc 領域の NMR による高次構造解析, 第 68 回日本生化学会中部支部例会, 愛知, 2004 年 5 月 22 日
73. 神谷由紀子, 山口芳樹, 荒田洋一郎, 笠井献一, 松尾一郎, 伊藤幸成, 豊本雅靖, 松本直樹, 山本一夫, 加藤晃一(名市大, 帝京大, 理研, 東大): VIP36 による標的糖タンパク質認識機構の解明, 第 2 回糖鎖科学名古屋拠点「若手の力」フォーラム, 名古屋, 2004 年 9 月 7-8 日
74. 名和大輔, 松本直樹, 山本一夫(東大): VIP36 associates with BiP in a stable manner, 第 77 回日本生化学会大会, 横浜, 2004 年 10 月 14 日
75. 河崎徳人, 松本直樹, 山本一夫(東大): Characterization of cargo receptor ERGIC-53 using newly established anti-ERGIC-53 monoclonal antibodies, 第 77 回日本生化学会大会, 横浜, 2004 年 10 月 14 日
76. Y. Kamiya, Y. Yamaguchi, I. Matsuo, Y. Ito, M. Toyomoto, N. Matsumoto, K. Yamamoto, K. Kato(名市大, 理研, 東大): Sugar binding mode of VIP36, an intracellular lectin operating as a cargo receptor, 第 77 回日本生化学会大会, 横浜, 2004 年 10 月 13-16 日
77. 戸谷希一郎, 松尾一郎, 伊藤幸成(理研): 糖-MTX 複合体を用いた糖タンパク質品質管理機構解明への化学的アプローチ, 第 46 回天然有機化合物討論会, 広島, 2004 年 10 月

78. 伊藤昌之, 松本直樹, 山本一夫(東大): Killer cell lectin-like receptor F1リガンドを発現する細胞株の同定, 第34回日本免疫学会総会, 札幌, 2004年12月1日
79. 小金井悟, 松本直樹, 山本一夫(東大): マウス NK 細胞レセプターKLRH1 の同定および機能解析, 第34回日本免疫学会総会, 札幌, 2004年12月1日
80. 田邊 香, 原いずみ, 谷口直之, 鈴木 匡(阪大): ERAD と PNGase の関連性についての解析, 第27回日本分子生物学会年会, 神戸, 2004年12月10日
81. 平尾武士, 山口芳樹, 吉田雪子, 鈴木匡, 田中啓二, 加藤晃一(名市大, 臨床研, 阪大, 理研): 糖鎖認識ユビキチンリガーゼ SCFFbs1 の基質認識機構の NMR 解析, 第27回日本分子生物学会年会, 神戸, 2004年12月8-11日
82. 中野路子, 山口芳樹, 村上千穂, 原田拓志, 栗本英治, 浅見 修, 梶野 勉, 稲葉謙次, 加藤晃一(名市大, 豊田中研, 京大ウイルス研): NMRによるプロテインジスルフィドイソメラーゼのマルチドメイン構造と機能発現の連関の解析, 第42回日本生物物理学会年会, 京都, 2004年12月13-15日
83. 神谷由紀子, 塚越晴子, 山口芳樹, 荒田洋一郎, 笠井献一, 松尾一郎, 伊藤幸成, 豊本雅靖, 松本直樹, 山本一夫, 加藤晃一(名市大, 帝京大, 理研, 東大): NMR と糖鎖ライブラリーを用いたカーゴレセプターによる標的糖タンパク質認識機構の解析, 分子研研究会, 岡崎, 2004年12月20-21日
84. 松尾一郎, 伊藤幸成(理研): High-mannose 型糖鎖結合ビーズによる細胞内レクチンの網羅的解析, 日本農芸化学会 2005年度大会, 北海道, 2005年3月28-30日
85. 柏木俊紀, 松尾一郎, 中原義昭, 伊藤幸成(理研, 東海大工): 分子内アグリコン転移反応を利用した新規 α -グルコシル化反応の開発, 日本農芸化学会 2005年度大会, 北海道, 2005年3月28-30日
86. 石渡明弘, 赤尾寛子, 伊藤幸成(理研): アラビノフラノース供与体の立体選択的グリコシル化反応における保護基の効果, 日本農芸化学会 2005年度大会, 北海道, 2005年3月28-30日
87. 花島慎弥, 眞鍋史乃, 伊藤幸成(理研): N-アセチルグルコサミン転移酵素阻害剤の合成研究, 日本農芸化学会 2005年度大会, 北海道, 2005年3月28-30日
88. 高谷万紀, 伊藤幸成(理研): ライブラリー構築を目指した効率的糖鎖合成法の開発, 日本農芸化学会 2005年度大会, 北海道, 2005年3月28-30日
89. Y. Yamaguchi, T. Hirao, Y. Yoshida, K. Tanaka, T. Suzuki, K. Kato(名市大, 臨床研, 阪大): NMR analyses of interactions between Fbs1 and glycoconjugate ligands, 第58回日本細胞生物学会大会, 埼玉, 2005年6月15-17日
90. Y. Kamiya, Y. Yamaguchi, I. Matsuo, Y. Ito, Y. Arata, K. Kasai, M. Toyomoto, N. Matsumoto, K. Yamamoto, K. Kato(名市大, 理研): Structural studies of interactions between the cargo receptor VIP36 and glycoproteins, 第58回日本細胞生物学会大会, 埼玉, 2005年6月15日
91. 神谷由紀子, 山口芳樹, 高橋禮子, 荒田洋一郎, 笠井献一, 井原義人, 松尾一郎, 伊藤幸成, 山本一夫, 加藤晃一(名市大, 長崎大, 理研): VIP36 の標的糖タンパク質認識の構造学的基盤, 第10回糖質若手フォーラム, 岐阜, 2005年6月24日
92. Y. Funakoshi, K. Saigo, R. Ueda, S. Nishihara, N. Taniguchi, T. Suzuki(阪大): Analysis of glycosidases involved in metabolisms of cytosolic free N-linked glycan species in Drosophila melanogaster, 7th Japanese Drosophila Research Conference, 淡路, 2005年7月7日
93. 山口芳樹, 笹川拓明, 神谷由紀子, 長野真弓, 高橋禮子, 加藤晃一(名市大, 分子研): 920 MHz 超高磁場 NMR 装置を用いた複合糖質の構造解析, 第25回日本糖質学会年会, 滋賀, 2005年7月21日
94. 河崎徳人, 市川瑤子, 松本直樹, 山本一夫(東大): MCFD2 は ERGIC-53 の糖結合能を増強する, 第25回日本糖質学会年会, 滋賀, 2005年7月22日
95. 高谷万紀, 伊藤幸成(理研): ライブラリー構築を目指した効率的糖鎖合成法及びレクチンとの相互作用解析, 第25回日本糖質学会年会, 滋賀, 2005年7月20-22日
96. 多々見 篤, 松尾一郎, 伊藤幸成(理研): 小胞体内レクチンの機能解析に向けた光親和性糖鎖プローブの合成, 第25回日本糖質学会年会, 滋賀, 2005年7月20-22日

97. 松尾一郎, 丸山潤一, 北本勝ひこ, 伊藤幸成(理研, 東大):細胞内レクチン様タンパク質の網羅的取得に向けたハイマンノース型糖鎖結合ビーズの調整, 第25回日本糖質学会年会, 滋賀, 2005年7月20-22日
98. 萩原伸也, 戸谷希一郎, 松尾一郎, 伊藤幸成(理研):糖タンパク質分解機構の解明に向けた糖ペプチドプローブの合成, 第25回日本糖質学会年会, 滋賀, 2005年7月20-22日
99. 中野 淳, 太田博道, 伊藤幸成(理研, 慶大理工):寄生虫を由来とする N-結合型糖鎖の合成研究, 第25回日本糖質学会年会, 滋賀, 2005年7月20-22日
100. 花島慎弥, 眞鍋史乃, 伊藤幸成(理研):分子担体-固相樹脂ハイブリッド法と化学酵素法を組み合わせたシアリル化複合型糖鎖群の合成, 第25回日本糖質学会年会, 滋賀, 2005年7月20-22日
101. 石渡明弘, 赤尾寛子, 伊藤幸成(理研):保護基の効果を利用した立体選択的アラビノフラノシル化反応, 第25回日本糖質学会年会, 滋賀, 2005年7月20-22日
102. 加藤晃一, 矢木宏和, 神谷由紀子, 山田兼三, 山口芳樹, 高橋禮子:N型糖鎖ライブラリーのグライコムクス解析への応用, 第3回グライコムクス夏季シンポジウム, 岐阜, 2005年8月8日
103. 田邊 香, 谷口直之, 鈴木 匡(阪大): PNGase (peptide;N-glycanase)は ERAD で機能する, 酵母遺伝学フォーラム, 柏, 2005年9月6日
104. 船越陽子, 西郷薫, 上田龍, 西原祥子, 谷口直之, 鈴木匡(阪大): Analysis of glycosidases involved in metabolisms of cytosolic N-linked glycan species in Drosophila melanogaster, 第78回日本生化学会大会, 神戸, 2005年10月20日
105. 鈴木 匡(阪大): トランスグルタミナーゼドメインを持つ脱糖鎖酵素, PNGase, 第1回TGase研究会&ポリアミン研究会合同学術集会, 神戸, 2005年10月23日
106. 山口芳樹, 神谷由紀子, 高橋禮子, 荒田洋一郎, 笠井猷一, 井原義人, 松尾一郎, 伊藤幸成, 山本一夫, 加藤晃一(名市大, 長崎大, 理研):カーゴレセプターVIP36 による積み荷糖タンパク質の品質管理, メンブレントラフィック班会議, 群馬, 2005年11月16-19日
107. 中村聖子, 黒木喜美子, 佐々木香織, 丸山拓馬, 伊藤昌之, 山本一夫, 松本直樹, 神田大輔, 前仲勝実:NK細胞抑制型レセプターKLRG1によるKLRG1リガンド認識の構造基盤, 第28回日本分子生物学会年会, 福岡, 2005年12月7日
108. 塚越晴子, 神谷由紀子, 山口芳樹, 市川瑠子, 河崎徳人, 松本直樹, 山本一夫, 加藤晃一(名市大, 東大):血液凝固因子欠損症 F5F8Dの原因遺伝子産物 MCFD2のCa²⁺に依存した構造転移, 第28回日本分子生物学会年会, 福岡, 2005年12月9日
109. 丸山拓馬, 松本直樹, 伊藤昌之, 中村聖子, 黒木喜美子, 前仲勝実, 山本一夫:Killer cell lectin-like receptor G1が認識するKLRG1リガンド上領域の同定, 第35回日本免疫学会総会, 横浜, 2005年12月13日
110. 伊藤昌之, 丸山拓馬, 山本一夫, 松本直樹:Liller cell lectin-like receptor G1が認識するリガンドの同定, 第35回日本免疫学会総会, 横浜, 2005年12月13日
111. 中村聖子, 黒木喜美子, 佐々木香織, 丸山拓馬, 伊藤昌之, 山本一夫, 松本直樹, 神田大輔, 前仲勝実:NK細胞抑制型レセプターKLRG1によるKLRG1リガンド認識の構造基盤, 第35回日本免疫学会総会, 横浜, 2005年12月13日
112. 森岡美沙子, 和田はるか, 松本直樹, 山本一夫:NKG2E,Hはホモダイマーとして発現する, 第35回日本免疫学会総会, 横浜, 2005年12月13日
113. 高谷万紀, 伊藤幸成(理研):ライブラリー構築を目指した効率的糖鎖合成法の開発, 第6回GSCシンポジウム, 東京, 2006年3月
114. 石渡明弘, 高谷万紀, 中野淳, 荒井緑, 赤尾寛子, 伊藤幸成(理研):凍結反応条件下におけるグリコシル化反応の加速, 第6回GSCシンポジウム, 東京, 2006年3月
115. 石渡明弘, 宗村裕一, 植木章晴, 眞鍋史乃, 伊藤幸成(理研):重水素標識保護基を利用する糖鎖合成反応の微量迅速スクリーニング系の開発, 第6回GSCシンポジウム, 東京, 2006年3月
116. 中の三弥子, 原いずみ, 戸谷希一郎, 松尾一郎, 伊藤幸成, 谷口直之, 鈴木 匡(阪大, 理研):N結合型糖鎖誘導体と細胞質PNGaseの結合部位の質量分析による同定, 第126回日本薬学会年会, 仙台, 2006年3月28日

117. 神谷由紀子, 塚越晴子, 山口芳樹, 高橋禮子, 荒田洋一郎, 笠井献一, 井原義人, 松尾一郎, 伊藤幸成, 市川瑤子, 河崎徳人, 山本一夫, 加藤晃一(名市大, 長崎大, 理研, 東大): カーゴレセプターによる糖タンパク質の小胞輸送を制御する分子間相互作用の構造的基盤, 第6回日本蛋白質科学会, 京都, 2006年4月26日
118. Amin Mohammed, 石渡 明弘, 太田 壮一, 伊藤 幸成(理研): Synthesis of heptasaccharide from bacterial *N*-glycan containing rare sugar bacillosamine, 第26回日本糖質学会年会, 仙台, 2006年8月24日
119. 久保田 朱美, 石渡 明弘, 伊藤 幸成(理研): *C.jejuni* 鞭毛糖タンパク質由来 Pseudaminic Acid の合成研究, 第26回日本糖質学会年会, 仙台, 2006年8月24日
120. 石渡 明弘, 宗村 裕一, 伊藤 幸成(理研): “グリコシル化反応の迅速最適化を利用した Glc₃Man₁ の合成検討”, 第26回日本糖質学会年会, 仙台, 2006年8月24日
121. 渡邊 泰祐, 松尾 一郎, 丸山 潤一, 北本 勝ひこ, 伊藤 幸成(理研, 東大): *N*-結合型糖鎖ビーズを用いた *A.oryzae* 細胞内レクチンの取得と局在解析, 第26回日本糖質学会年会, 仙台, 2006年8月25日
122. 高谷 万紀, 松尾 一郎, 伊藤 幸成(理研): トップダウン型酵素—化学法による *N*-結合型糖鎖ライブラリーの構築(1), 第26回日本糖質学会年会, 仙台, 2006年8月25日
123. 松尾 一郎, 高谷 万紀, 伊藤 幸成(理研): トップダウン型酵素—化学法による *N*-結合型糖鎖ライブラリーの構築(2), 第26回日本糖質学会年会, 仙台, 2006年8月25日
124. 宮崎 綾子, 松尾 一郎, 鈴木 匡, 伊藤 幸成(理研): PNGase 機能解明に向けた糖鎖分子プローブの系統的合成, 第26回日本糖質学会年会, 仙台, 2006年8月25日
125. 萩原 伸也, 松尾 一郎, 伊藤 幸成(理研): PNGase を特異的に蛍光修飾する分子の開発, 第26回日本糖質学会年会, 仙台, 2006年8月25日
126. 戸谷 希一郎, 松尾 一郎, 伊藤 幸成(理研): 疑似細胞内環境における糖鎖プロセッシング酵素の性状, 第26回日本糖質学会年会, 仙台, 2006年8月25日
127. 多々見 篤, 高谷 万紀, 柏木 俊紀, 洪 永参, 松尾 一郎, 伊藤 幸成(理研): 水晶発振子マイクロバランズ(QCM)を用いた糖鎖—カルレティキュリン間相互作用解析, 第26回日本糖質学会年会, 仙台, 2006年8月25日
128. 山口大介, 河崎徳人, 松尾一郎, 鈴木詔子, 松本直樹, 伊藤幸成, 山本一夫(東大, 理研): VIPL は高マンノース型糖鎖を認識する, 第26回日本糖質学会年会, 仙台, 2006年8月24日
129. 河崎徳人, 松尾一郎, 戸谷希一郎, 名和大輔, 鈴木詔子, 山口大介, 松本直樹, 伊藤幸成, 山本一夫(東大, 理研): レクチン—高マンノース型糖鎖間相互作用を簡便且つ高感度で検出できる手法の確立, 第26回日本糖質学会年会, 仙台, 2006年8月24日
130. 塚越晴子, 神谷由紀子, 山口芳樹, 市川瑤子, 河崎徳人, 松本直樹, 山本一夫, 加藤晃一(名市大, 東大): MCFD2 によるカーゴレセプターERGIC-53 の積荷輸送の制御機構の構造的基盤, 第26回日本糖質学会年会, 仙台, 2006年8月24日
131. 山口芳樹, 笹川拓明, 神谷由紀子, 矢木宏和, 長野真弓, 高橋禮子, 加藤晃一(名市大, 分子研): 920 MHz 超高磁場 NMR 装置を活用した複合糖質の精密構造解析, 第26回日本糖質学会年会, 仙台, 2006年8月23日
132. 鈴木 匡, 原いずみ, 中の三弥子, Gang Zhao, William J. Lennarz, Hermann Schindelin, 谷口直之, 戸谷希一郎, 松尾一郎, 伊藤幸成(阪大, 理研): 細胞質 PNGase のキトビオース糖鎖誘導体への特異的結合: 反応機構の解明に向けて, 第26回糖質学会年会, 仙台, 2006年8月24日
133. 鈴木詔子, 名和大輔, 松本直樹, Yuan C. Lee, 山本一夫(東大): 鳥類における Gal α 1-4ガラクトース転移酵素の解析, 第26回日本糖質学会年会, 仙台, 2006年8月25日
134. 松尾 一郎, 宮崎 綾子, 戸谷 希一郎, 伊藤 幸成(理研): 糖タンパク質品質管理機構解明に向けた化学的アプローチ, 第55回 FCCA セミナー グライコサイエンス若手フォーラム 2006, 仙台, 2006年8月27日
135. 掛川 彩子, 丑田 公規, 多々見 篤, 松尾 一郎, 伊藤 幸成(理研): 蛍光相関分光法による糖鎖—タンパク質間相互作用の解析, 第55回 FCCA セミナー グライコサイエンス若手フォーラム 2006, 仙台, 2006年8月27日

136. 松尾 一郎(理研): トップダウン型酵素—化学法による小胞体型糖鎖ライブラリの構築, GlycoTOKYO 2006 シンポジウム, 横浜 2006 年 8 月 31 日
137. 萩原 伸也(理研): 糖タンパク質品質管理機構の解明に向けた合成化学的アプローチ, SORST 齋藤シンポジウム「ゲノム化学の最先端:医学・分子生物学への応用と展開」, 福島, 2006 年 9 月 16 日
138. 渡邊 泰祐(理研): *N*-結合型糖鎖ビーズを用いた *A. oryzae* の解析—糖タンパク質品質管理機構の理解から異種タンパク質高生産に向けて—, 平成 18 年度生理学研究所研究会「病態糖鎖研究会」, 岡崎, 2006 年 9 月 26 日
139. 石渡 明弘, Amin Mohammed, 太田 壮一, 伊藤 幸成(理研): グラム陰性菌 *Campylobacter jejuni* 由来 *N*-結合型糖タンパク質糖鎖の立体選択的合成研究, 第 48 回天然有機化合物討論会, 仙台, 2006 年 10 月 11-13 日
140. 渡邊 泰祐, 松尾 一郎, 丸山 潤一, 北本 勝ひこ, 伊藤 幸成(理研): “*N*-結合型糖鎖ビーズを用いた *A. oryzae* 小胞体内レクチンの取得と局在解析”, 第 6 回糸状菌分子生物学コンファレンス, 大阪, 2006 年 11 月 14 日
141. K. Masuda, K. Yamamoto, N. Matsumoto(東大): Characterization of mouse lung NK cells, 第 36 回日本免疫学会総会, 大阪, 2006 年 12 月 13 日
142. A. Akatsuka, M. Ito, K. Yamamoto, N. Matsumoto(東大): Characterization of a putative KLRF1 ligand, 第 36 回日本免疫学会総会, 大阪, 2006 年 12 月 13 日
143. A. Takada, K. Masuda, K. Yamamoto, N. Matsumoto(東大): A unique phenotype of skin-resident natural killer cells, 第 36 回日本免疫学会総会, 大阪, 2006 年 12 月 13 日
144. Y. Kameda, M. Ito, T. Maruyama, N. Kawasaki, K. Yamamoto, N. Matsumoto(東大): Recognition of human cadherins by the human killer cell lectin-like receptor G1, 第 36 回日本免疫学会総会, 大阪, 2006 年 12 月 13 日
145. T. Maruyama, M. Ito, S. Nakamura, K. Kuroki, K. Maenaka, K. Yamamoto, N. Matsumoto(東大): KLRG1 recognition of E-cadherin requires proper removal of the E-cadherin prodomain, 第 36 回日本免疫学会総会, 大阪, 2006 年 12 月
146. T. Nishimura, N. Kawasaki, K. Yamamoto, N. Matsumoto(東大): Cell surface expression of the putative ligands for the C-type lectin receptor DCIR2, 第 36 回日本免疫学会総会, 大阪, 2006 年 12 月
147. 岡林 俊, 前野亜弥, 山口芳樹, 笹川拓明, 裏出令子, 加藤晃一(名市大, 分子研): 分光的手法を用いた ER-60 とカルレティキュリンの相互作用解析, 第 53 回日本薬学会東海支部例会, 名古屋, 2006 年 12 月 2 日
148. 堀川有希, 神谷由紀子, 山口芳樹, 笹川拓明, 加藤晃一(名市大, 分子研): *N* 型糖鎖の立体構造解析のための還元末端修飾法の検討, 第 53 回日本薬学会東海支部例会, 名古屋, 2006 年 12 月 2 日
149. 宗村 裕一, 石渡 明弘, 伊藤 幸成(理研): 2-naphthylmethyl(NSP)基を利用した分子内アグリコン転位反応: α -グリコシド形成の検討, 第 52 回有機合成化学協会関東支部シンポジウム(新潟シンポジウム), 新潟, 2006 年 12 月 2-3 日
150. 神谷由紀子, 塚越晴子, 山口芳樹, 高橋禮子, 荒田洋一郎, 笠井献一, 井原義人, 松尾一郎, 伊藤幸成, 山本一夫, Hans-Peter Hauri, 加藤晃一(名市大, 長崎大, 理研, 東大): 糖タンパク質の選別輸送を担う細胞内レクチンによる分子認識, 日本分子生物学会 2006 フォーラム, 名古屋, 2006 年 12 月 6-8 日
151. 久保田 朱美, 石渡 明弘, 伊藤 幸成(理研): *Campylobacter jejuni* 鞭毛糖タンパク質由来 Pseudaminic Acid の合成研究, 第 127 回日本薬学会年会, 富山, 2007 年 3 月 30 日
152. 塚越晴子, 神谷由紀子, 山口芳樹, 市川瑤子, 河崎徳人, 松本直樹, 山本一夫, Hans-Peter Hauri, 加藤晃一(名市大, 東大): 糖タンパク質の小胞輸送におけるカーゴレセプターERGIC-53 と糖鎖および MCFD2 との相互作用解析, 第 127 回日本薬学会年会, 富山, 2007 年 3 月 30 日
153. 神谷大貴, 神谷由紀子, 山口芳樹, 加藤晃一(名市大): フロンタルアフィニティークロマトグラフィー法を利用した calnexin および calreticulin の糖鎖認識の解析, 第 127 回日本薬学会年会, 富山, 2007 年 3 月 30 日

154. 戸谷希一郎, 井原義人, 松尾一郎, 伊藤幸成(理研, 長崎大):ミスフォールド糖タンパク質を再現した合成糖鎖プローブの開発, 日本ケミカルバイオロジー研究会, 京都, 2007年5月9日
155. Y. Funakoshi, P. Gergen, W. J. Lennarz, N. Taniguchi, T. Suzuki(阪大): Analysis of PNGase in *Drosophila melanogaster*, 第27回札幌がんセミナー, 札幌, 2007年7月12日
156. 戸谷希一郎, 井原義人, 松尾一郎, 伊藤幸成(理研, 長崎大):糖タンパク質折り畳みセンサーUGGTの構造活性相関, 第27回日本糖質学会年会, 福岡, 2007年8月2日
157. 石渡明弘, 宗村裕一, 伊藤幸成(理研):分子内グリコン転移による立体選択的 *1,2-cis* グリコシド形成, 第27回日本糖質学会年会, 福岡, 2007年8月2日
158. 宮崎綾子, 松尾一郎, 萩原伸也, 鈴木匡, 伊藤幸成(理研, 阪大):PNGase 機能解明に向けた合成基質の開発, 第27回日本糖質学会年会, 福岡, 2007年8月2日
159. 高谷万紀, 戸谷希一郎, 松尾一郎, 伊藤幸成(理研):小胞体レクチンの機能解明に向けた糖鎖プローブの合成および水晶発振子マイクロバランス法による相互作用解析, 第27回日本糖質学会年会, 福岡, 2007年8月2日
160. Amin Mohammed, 石渡 明弘, 伊藤 幸成(理研): *Campylobacter jejuni*由来新規 *N*-結合型糖タンパク質糖鎖の立体選択的合成, 第27回日本糖質学会年会, 福岡, 2007年8月2日
161. 神谷由紀子, 塚越晴子, 神谷大貴, 西尾美穂, 山口芳樹, 山本一夫, Hans-Peter Hauri, 加藤晃一(名市大, 東大):糖タンパク質の輸送を司るカーゴレセプターによる糖鎖認識の特異性の解析, 第27回日本糖質学会年会, 福岡, 2007年8月2日
162. 渡邊泰祐, 松尾一郎, 戸谷希一郎, 丸山潤一, 北本勝ひこ, 伊藤幸成(理研, 東大):*A. oryzae* 小胞体の糖タンパク質品質管理機構に関連する遺伝子群の機能解析, 第7回糸状菌分子生物学コンファレンス, 東京, 2007年11月15日
163. 松本直樹, 西村崇, 富永剛弘, 石田知里, 河崎徳人, 山本一夫(東大):ミエロイド DC に発現する抑制性レクチンレセプターDCIR2 の内在性糖鎖リガンドの同定, 第37回日本免疫学会総会, 東京, 2007年11月21日
164. 柳下夏穂, 山本一夫, 松本直樹(東大):NK細胞レセプターKLRG1による肺炎症の制御, 第37回日本免疫学会総会, 東京, 2007年11月21日
165. 中村聖子, 黒木喜美子, 山本一夫, 松本直樹, 神田大介, 前中勝美(東大):NK細胞抑制型レセプターKLRG1によるE-カドヘリン認識の分子機構, 第37回日本免疫学会総会, 東京, 2007年11月21日
166. 高田篤志, 山本一夫, 松本直樹(東大):The similar phenotype of skin- and thymus-resident natural killer cells, 第37回日本免疫学会総会, 東京, 2007年11月21日
167. 船越陽子, Peter Gergen, William J. Lennarz, 谷口直之, 鈴木 匡(阪大): Analysis of PNGase in *Drosophila melanogaster*, 第2回TGase研究会&ポリアミン研究会合同学術集会, 東京, 2007年12月10日
168. 佐藤薫, 松永朋子, 三田和英, 山本一夫, 小嶋徹也, 藤原晴彦(東大):カイコ無翅突然変異体 fl の原因遺伝子 fringe(fng)の機能解析, 第30回日本生化学会大会/第80回日本分子生物学会大会合同大会, 横浜, 2007年12月12日
169. 船越陽子, Peter Gergen, William J. Lennarz, 谷口直之, 鈴木 匡(阪大): Analysis of PNGase in *Drosophila melanogaster*, 第30回日本生化学会大会/第80回日本分子生物学会大会合同大会, 横浜, 2007年12月14日
170. 三上薫, 山口大介, 河崎徳人, 松本直樹, 山本一夫(阪大):小胞体関連分解に関与する蛋白質 OS-9 は高マンノース方糖鎖に結合する 第30回日本生化学会大会/第80回日本分子生物学会大会合同大会, 横浜, 2007年12月14日
171. 中川祐介, 河崎徳人, 山口大介, 松本直樹, 山本一夫(阪大):カーゴレセプターERGIC-53上のMCFD2結合部位の同定 第30回日本生化学会大会/第80回日本分子生物学会大会合同大会, 横浜, 2007年12月14日

(4)特許出願

①国内出願 (3件)

1. “高マンノース型糖化合物, その製造方法及びそれに用いる中間体” 伊藤幸成, 松尾一郎: 科学技術振興事業団, 理化学研究所, 2003年2月17日, 出願番号2003-038206
2. “抗 C-マンノシル化ペプチド抗体およびその利用” 井原義人, 近藤宇史, 室井栄治, 伊藤幸成, 眞鍋史乃: 国立大学法人長崎大学, 独立行政法人理化学研究所, 2005年12月28日, 出願番号2005-379826
3. “糖鎖ライブラリの作成方法及びその利用” 松尾一郎, 伊藤幸成: 独立行政法人理化学研究所, 2006年4月27日, 出願番号2006-124468

②海外出願 (2件)

1. “抗 C-マンノシル化ペプチド抗体およびその利用” 井原義人, 近藤宇史, 室井栄治, 伊藤幸成, 眞鍋史乃: 国立大学法人長崎大学, 独立行政法人理化学研究所, 2006年12月27日国際出願, PCT/JP2006/326027
2. “糖鎖ライブラリの作成方法及びその利用” 松尾一郎, 伊藤幸成, 独立行政法人理化学研究所, 2007年3月23日 (国内出願 2006年4月27日, 出願番号2006-124468)

その他 0件

(5)受賞等

① 受賞

- | | |
|--------|---|
| 松尾一郎 | 日本糖質学会奨励賞(2004年) |
| 戸谷希一郎 | 日本糖質学会ポスター賞(2004年) |
| 鈴木 匡 | 日本生化学会奨励賞(2005年) |
| 神谷 由起子 | 日本糖質学会ポスター賞(2005年) |
| 戸谷希一郎 | 日本化学会第86春季年会 優秀講演賞(2006年) |
| 山口芳樹 | 東京糖鎖研究会(GlycoTOKYO)奨励賞(2006年) |
| 山口芳樹 | 平成19年度日本糖質学会奨励賞(2007年) |
| 前野亜弥 | 第3回日本生物物理学会中部支部討論会 奨励賞(2007年) |
| 内海真穂 | フィジカル・ファーマフォーラム2007 最優秀賞(2007年) |
| 松尾一郎 | 日本農芸化学会奨励賞(2007年) |
| 戸谷希一郎 | 日本化学会第87春季年会 若い世代の特別講演会(2007年) |
| 石渡明弘 | 東京糖鎖研究会奨励賞(2007年) |
| 伊藤幸成 | Roy L. Whistler International Award in Carbohydrate Chemistry (2008年) |

②新聞報道

- 日経産業新聞 2003年1月6日(理研 伊藤幸成, 名市大 加藤晃一)
日刊工業新聞 2004年1月15日(理研 伊藤幸成)

③その他

(6) その他特記事項

加藤グループ担当項目は名古屋市立大学発の糖鎖科学ベンチャー「グライエンス」と緊密な連携のもとで行われた。

7 研究期間中のおもな活動（チーム内ミーティングなど）

年月日	名称	場所	参加人数	概要
2003年2月6日	研究協議	理化学研究所 物質科学研究棟	25名	各グループの代表者が研究の現状と展望について発表を行った。その後、本課題の推進について協議を行った。
2004年4月2日	研究報告会	理化学研究所 物質科学研究棟	25名	研究の進捗状況と16年度の方針について各グループの代表者が発表した。谷口研究総括のサイトビジットにあわせて研究報告と協議を行い、アドバイスを受けた。
2005年1月26日	研究報告会	理化学研究所 物質科学研究棟	25名	各グループの代表者及び担当者が研究の現状と展望について発表を行った。それを基に今後の研究推進について協議を行った。
2007年12月3日	研究報告会	理化学研究所 物質科学研究棟	30名	各グループの代表者及び担当者が研究の現状と展望について発表を行った。それを基に今後の研究推進について協議を行った。

8 結び

伊藤にとって、研究代表者としてCREST研究を組織するのは初めての経験であり、大きな希望と不安を持って本研究を開始したのが平成14年11月であった。幸いすばらしい共同研究者と組むことができ、楽しく研究を行うことができた5年間であった。これが契機となり、代表者自身も研究内容を格段に広げることができた。これはCREST研究なくしては起こりえなかったことであり、今後の研究展開に向けて大きな転機になった。本課題は代表者の糖鎖合成化学研究を基盤として糖タンパク質糖鎖の機能、特にタンパク質品質管理機構の解明を目指す、という理念に基づいてスタートした。一見地道に見える高マンノース型糖鎖の合成が予想以上の幅広い展開を見せ、糖鎖科学における有機合成化学の重要性を発信できる成果が挙げられたと感じている。すべての共同研究者の間で密接な研究協力体制が築かれ、本研究終了後も共同研究が活発に行われると期待される。

一方、この間における若手研究者の奮闘はまさに目を見張るものがあった。伊藤の研究室は糖鎖合成を主要な専門分野として来たが、本課題に関わった研究員は熱意を持って生物学的手法の習得に取り組み、現在では基本的な分子生物学の実験は自力で行える体制が整っている。最近ではそれにとどまらず細胞レベルでの実験にも積極的に取り組んでいる。このような若手の成長を目の当たりにすることは喜びであるとともに、大きな刺激になった。また、共同研究チームのスタッフ、学生の方々とも頻りに交流を持ち、自発的な共同研究が展開されていった。心よりの敬意と感謝をささげたい。

必ずしも本研究の成果のみに起因するものではないが、共同研究者の良好なキャリアアップも見られた。すなわち井原義人氏(長崎大学助教授)、鈴木匡氏(大阪大学特任助教授)は平成19年度に和歌山県立医大教授、理化学研究所チームリーダーとして転出し、現在では完全に独立した研究室を構えている。また研究代表者のラボにおいて、中心的存在として本課題を推進して来た2名が20年4月に独立のポジションに転出する(国立大学教授、および私立大学専任講師)ことも確定している。また、加藤グループの研究を牽引してきた山口芳樹氏も鈴木氏と同時にチームリーダーとして理化学研究所に赴任して来た。これらをあわせると、本研究において築かれた共同研究体制は今後更に広がることは明らかである。一方、加藤晃一氏(名古屋市立大)、山本一夫氏(東大)もそれぞれの専門分野の代表的存在としての輝きを増していることは改めて述べるまでもない。

その中で「代表者自身が何をして来たのか」という点については明確な答えを持たない。しかし、本課題の推進により糖鎖生物学の中で有機合成化学が大きな力を持ち得るということは証明できたと考えている。糖質関連分野において最近とみに化学分野の比重が低下しているように感じられるが、研究に関わって下さった諸氏が本研究の志を広め、我が国においてすばらしい伝統を持つ糖質化学が輝きを放ち続ける契機となれば大きな喜びである。

なお、本研究の中期にCREST発展研究(SORST)の新規採択が見送りとなった。これについて若干の失望を感じたことは否めない。優れた研究を切れ目なく継続し、さらなる発展をめざすという当初の理念に立ち戻り、本制度が復活することを期待する。

有力大学とは違い理化学研究所の様な試験研究機関では継続的に大学院生(特に博士後期課程)が研究に参画するといった状況は期待できない。従って、競争的資金を獲得し、それによって任期制研究員を採用することが研究を行う上で必要不可欠である。理化学研究所においてプロジェクト研究を行っている他のセンターと異なり、代表者が所属する中央研究所は定期的に配分される研究費はごくわずかであるが、この点について国内で少なからぬ誤解が広まっているように感じる。研究課題の採択に当たって、正しい理解にもとづく審査が行われることを強く希望する。近年とみに研究費の集中が議論の的になっているが、国立大学等において大学院教育に投じられている国費も考慮に入れた上での議論が行われるべきであると考え。

本課題の推進にあたっては多くの方々のサポートを得た。特に谷口直之先生(研究総括)には常に暖かい励ましと数多くの適切なお助言をいただいた。領域アドバイザーの先生方からは、全体会議、中間評価会の席で建設的なご意見をいただいた。代表者として今更ながら至らぬ説明を恥じるとともに、好意的に耳を傾けて下さった先生方に厚く御礼申し上げたい。また、事務処理にあたっては、西澤敏雄技術参事、長澤睿事務参事をはじめとする CREST 糖鎖事務所の方々から多大なご助力をいただいた。また、研究室内の事務処理については高橋明美氏より多大なご尽力を賜った。ご協力いただいたすべての方々に深謝し、本報告書の結びとする。