

「糖鎖の生物機能の解明と利用技術」

平成16年度採択研究代表者

木下 タロウ

(大阪大学微生物病研究所 所長/教授)

「糖鎖の動態－機能相関への統合的アプローチ」

1. 研究実施の概要

糖鎖は、単独で存在するだけでなくタンパク質や脂質に結合し、糖タンパク質、糖脂質として存在する。糖鎖の機能研究の多くは、生合成が完了した形態のものを対象として行われ、すでに様々な重要な生物学的機能が明らかになり、それらの機能と糖鎖の構造の関係についても解明が進みつつある。本研究課題では、糖鎖の生合成の過程と、分解に至るプロセッシングの過程でも重要な生物機能が発現することに注目し、生合成から分解への全行程における、糖鎖の構造と局在部位の変化と、生物機能発現の相関を統合的に研究する。

糖鎖の動態と機能の相関に統合的にアプローチするため、糖鎖動態を変化の時間的流れに沿って3つの相に分けてとらえ、各相における機能との相関をとらえる。第1は、「糖鎖生合成時の動態と機能発現」である。特に、GPIアンカー、N-グリカン、グリコサミノグリカンといった複雑な構造の糖鎖生合成時の動態を支配する構造的、細胞生物学的基盤を解明し、病態解明への展開を図る。

第2は、「糖鎖の膜上動態と機能発現」である。生合成された糖鎖は、細胞膜上・膜外に局在し機能を発現するが、特に膜のドメインである脂質ラフトは様々な膜構成成分が相互作用しつつ細胞内外の情報のやりとりを行う場になっている。脂質ラフトの構成成分である糖脂質とGPIアンカー型タンパク質のラフト局在メカニズム、細胞内トラフィッキングと機能発現の相関を解明する。

第3は、「糖鎖プロセッシングの動態と機能発現」である。できあがった糖鎖がグリコシダーゼなどによってプロセッシングを受け、新たに生成する糖鎖あるいは遊離したタンパク質が機能を発現する現象を対象に、糖鎖プロセッシングに働く酵素・制御因子群を解明する。さらに、それらの欠損・変調の糖鎖機能への影響を解析し、糖鎖プロセッシングが生体機能に果たす役割を解明する新領域を開く。

2. 研究実施体制

木下 タロウグループ

① 研究分担グループ長： 木下 タロウ (大阪大学 微生物病研究所 教授)

- ② 研究実施項目：GPIアンカー型タンパク質の生合成時の動態の解明
研究実施項目：GPIアンカー型タンパク質の脂質ラフトへの組み込みメカニズムの解明

池田 義孝グループ

- ① 研究分担グループ長：池田 義隆（佐賀大学 医学部 教授）
- ② 研究実施項目：アスパラギン結合型糖鎖のアセンブリと多様性の制御機構

大山グループ

- ① 研究分担グループ長：大山 力（弘前大学 医学部 教授）
- ② 研究実施項目：泌尿器疾患における糖鎖の意義と臨床応用

顧 建国グループ

- ① 研究分担グループ長：顧 建国（大阪大学 医学系研究科 助教授）
- ② 研究実施項目：N-結合型糖鎖による細胞膜受容体の機能制御とそのメカニズムの解析

近藤 玄グループ

- ① 研究分担グループ長：近藤 玄（京都大学 再生医科学研究所 助教授）
- ② 研究実施項目：糖鎖プロセッシングの動態と機能発現

菅原 一幸グループ

- ① 研究分担グループ長：菅原 一幸（神戸薬科大学 教授）
- ② 研究実施項目：グリコサミノグリカンの動態- 機能相関への統合的アプローチ

鈴木 匡グループ

- ① 研究分担グループ長：鈴木 匡（大阪大学 医学系研究科 特任助教授）
- ② 研究実施項目：細胞質における遊離糖鎖のプロセッシング機構とその生物学的重要性

田口 友彦グループ

- ① 研究分担グループ長：田口 友彦（大阪大学 医学系研究科 特任助教授）
- ② 研究実施項目：エキソ・エンドサイトーシスに関する輸送小胞の形成機構の解明

田口 良グループ

- ① 研究分担グループ長：田口 良（東京大学 医学系研究科 教授）
- ② 研究実施項目：質量分析法によるGPIアンカーの詳細構造決定システムの動態理解への応用

和田 芳直グループ

- ① 研究分担グループ長： 和田 芳直（大阪府立母子保健総合医療センター研究所 所長）
- ② 研究実施項目：部位特異的な糖鎖構造解析と糖鎖合成疾患解析への応用

3. 主な研究成果の発表（論文発表および特許出願）

(1) 論文（原著論文）発表

木下グループ

- Rungruang, T., O. Kaneko, Y. Murakami, T. Tsuboi, H. Hamamoto, N. Akimitsu, K. Sekimizu, T. Kinoshita and M. Torii. 2005. Erythrocyte surface glycosylphosphatidyl inositol anchored receptor for the malaria parasite. *Mol. Biochem. Parasitol.*, 140:13-21.
- Kondoh, G, H. Tojo, Y. Nakatani, N. Komazawa, C. Murata, K. Yamagata, Y. Maeda, T. Kinoshita, M. Okabe, R. Taguchi and J. Takeda. 2005. Angiotensin-converting enzyme is a GPI-anchored protein releasing factor crucial for fertilization. *Nat. Med.*, 11, 160-166.
- Ashida, H., Y. Hong, Y. Murakami, N. Shishioh, N. Sugimoto, Y. U. Kim, Y. Maeda and T. Kinoshita. 2005. Mammalian PIG-X and yeast Pbn1p are the essential components of glycosylphosphatidylinositol-mannosyltransferase I. *Mol. Biol. Cell*, 16:1439-1448.
- Kang, J.Y., Y. Hong, H. Ashida, N. Shishioh, Y. Murakami, Y. S. Morita, Y. Maeda and T. Kinoshita. 2005. PIG-V involved in transferring the second mannose in glycosylphosphatidylinositol. *J. Biol. Chem.* 280:9489-9497.
- Shishioh, N., Y. Hong, K. Ohishi, H. Ashida, Y. Maeda and T. Kinoshita. 2005. GPI7 is the second partner of PIG-F and involved in modification of glycosylphosphatidylinositol. *J. Biol. Chem.* 280:9728-9734.

池田義孝グループ

- Nagaoka Y, Iuchi Y, Ikeda Y, Fujii J.: Glutathione reductase is expressed at high levels in pancreatic islet cells. *Redox Rep.* 9, 321-324. (2004)
- Cheng G, Ikeda Y, Iuchi Y, Fujii J.: Detection of S-glutathionylated proteins by glutathione S-transferase overlay. *Arch Biochem Biophys.* 435, 42-49 (2005).

大山 カグループ

- Tsuchiya N, Satoh S, Tada H, Li Z, Ohyama C, Sato K, Suzuki T, Habuchi T, Kato.
TInfluence of CYP3A5 and MDR1 (ABCB1) polymorphisms on the pharmacokinetics of tacrolimus in renal transplant recipients. *Transplantation*. 78:1182-1187, 2004.
- Kakinuma H, Tsuchiya N, Habuchi T, Ohyama C, Matsuura S, Wang L, Nakamura A, Kato T. Serum sex steroid hormone levels and polymorphisms of CYP17 and SRD5A2: implication for prostate cancer risk. *Prostate Cancer Prostatic Dis.* 2004
- Narita S, Tsuchiya N, Wang L, Matsuura S, Ohyama C, Satoh S, Sato K, Ogawa O, Habuchi T, Kato T. Association of lipoprotein lipase gene polymorphism with risk of prostate cancer in a Japanese population. *Int J Cancer.* 112:872-876, 2004.

近藤 玄グループ

- Kondoh, G., H. Tojo, Y. Nakatani, N. Komazawa, C. Murata, K. Yamagata, Y. Maeda, T. Kinoshita, M. Okabe, R. Taguchi and J. Takeda: Angiotensin-converting enzyme is a GPI-anchored protein releasing factor crucial for fertilization. *Nat. Med.*, 11, 160-166 (2005).

菅原一幸グループ

- Bao, X., Mikami, T., Yamada, S., Faissner, F., Muramatsu, T., and Sugahara, K. (2005) Heparin-binding growth factor, pleiotrophin, mediates neuritogenic activity of embryonic pig brain-derived chondroitin sulfate/dermatan sulfate hybrid chains. *J. Biol. Chem.*, 280 (10), 9180-9191.

田口友彦グループ

- Ang, AL., Taguchi, T., Francis, S., Folsh, H., Murrells, L.J., Pypaert, M., Warren, G., and Mellman, I.: Recycling endosomes can serve as intermediates during transport from the Golgi to the plasma membrane of MDCK cells. *J. Cell Biol.*, 2004, 531-543

田口 良グループ

- Mayuko Ishida, Toshiyuki Yamazaki, Toshiaki Houjou, Masayoshi Imagawa, Ayako Harada, Keizou Inoue and Ryo Taguchi, "High-resolution analysis by

nano-electrospray ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry for the identification of molecular species of phospholipids and their oxidized metabolites” *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 18, 2486–2494, 2004

- Toshiaki Houjou, Kotoko Yamatani, Hiroki Nakanishi, Masayoshi Imagawa, Takao Shimizu and Ryo Taguchi, “Rapid and selective identification of molecular species in phosphatidylcholine and sphingomyelin by conditional neutral loss scanning and MS” *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 18, 3123–3130, 2004
- Kondoh G, Tojo H, Nakatani Y, Komazawa N, Murata C, Yamagata K, Maeda Y, Kinoshita T, Okabe M, Taguchi R, Takeda J. “Angiotensin-converting enzyme is a GPI-anchored protein releasing factor crucial for fertilization.” *Nat Med.* 2005 Feb;11(2):160–166. 2005
- Toshiaki Houjou, Kotoko Yamatani, Masayoshi Imagawa, Takao Shimizu and Ryo Taguchi, “A Shotgun tandem mass spectrometric analysis of phospholipids with normal-phase and/or reverse-phase liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry”. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 19, 654–666, 2005
- Mayuko Ishida, Masayoshi Imagawa, Takao Shimizu and Ryo Taguchi “Specific Detection of Lysophosphatidic Acids in Serum Extracts by Tandem Mass Spectrometry”. *J. Mass Spectrom. Soc. Jpn.*, 53(1), 25–32, 2005

和田芳直グループ

- Okuno S, Nakano M, Matsubayashi GE, Arakawa R, Wada Y. “Reduction of organic dyes in matrix-assisted laser desorption/ionization and desorption/ionization on porous silicon.” *Rapid Commun Mass Spectrom.* 18, 2811–2817 (2004)
- Wada Y, Tajiri M, Yoshida S. “Hydrophilic Affinity Isolation and MALDI Multiple-Stage Tandem Mass Spectrometry of Glycopeptides for Glycoproteomics.” *Anal Chem.* 76, 6560–6565, (2004)
- Sekiya S, Wada Y, Tanaka K. “Improvement of the MS/MS fragment ion coverage of acidic residue-containing peptides by amidation with ¹⁵N-substituted amine” *Anal Chem* 76, 5894–5902 (2004)
- Nishiuchi R, Sanzen N, Nada S, Sumida Y, Wada Y, Okada M, Takagi J, Hasegawa H, Sekiguchi K. “Potentiation of the ligand-binding activity of integrin alpha3beta1 via association with tetraspanin CD151.” *Proc Natl*

Acad Sci U S A. 102, 1939-1944 (2005)

(2) 特許出願

H16年度特許出願件数：2件（CREST研究期間累積件数：2件）