

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月10日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21550200

研究課題名（和文） N結合糖鎖による生体高分子ゲルのゲル化調節機構の研究

研究課題名（英文） Study on the Regulation Mechanism of Gelation in Biopolymer Gel associated with N-linked Carbohydrate Chain

研究代表者

窪田 健二（KUBOTA KENJI）

群馬大学・大学院工学研究科・教授

研究者番号：40153332

研究成果の概要（和文）：フィブリノゲンDドメイン中のBβ鎖にN結合した糖鎖は、プロトフィブリルのラテラル凝集をになうBβ鎖N末端領域と相互作用し、プロトフィブリル形成後の凝集作用を阻害する。ラテラル凝集を媒介するαCドメインをBβ鎖N末端のFpBが中央部に拘束しているが、糖鎖の効果によりαCドメインの遊離が影響される。その結果、プロトフィブリル生成・成長段階からラテラル凝集段階への移行がN結合糖鎖によって調節されるというメカニズムを示唆する結果が得られた。

研究成果の概要（英文）：Following scheme of the fibrin gel formation mechanism was strongly suggested from the present study on the fibrin gel formation. Carbohydrate chain N-linked to the Bβ peptide chain that locates in the distal D region of fibrinogen molecule interacts with the N-terminal region of Bβ chain, and inhibits the aggregating action of it succeeding to the protofibril formation. αC domains that mediate the lateral aggregation of protofibrils are bound to the fibrinopeptide B, and the release of them might be affected by the interaction between carbohydrate chain and N-terminal region of Bβ chain. As a result, the switchover from the protofibril formation/growth to the lateral aggregation of protofibrils is regulated by the carbohydrate chain.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,300,000	690,000	2,990,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
2011年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：材料化学・高分子・繊維材料

キーワード：ゲル・生体高分子・フィブリノゲン

1. 研究開始当初の背景

(1) 学術的背景：フィブリンゲル研究動向
生体高分子ゲルの典型例であるフィブリンゲルのゲル化においては、フィブリノゲン分子内の多くの部分が複雑に関係しあっている。アミノ酸シーケンスの部位特異的な役割の検討が世界的な研究の中心となってお

り、変異体フィブリノゲンにおける血液凝固メカニズムへの影響の研究が広く進められている。その中で、フィブリノゲン Aα鎖 C末ドメイン間の相互作用がラテラル凝集を媒介するものとして認識されるようになってきたが、ラテラル凝集の詳細な作用機序が議論の対象となっている。

(2) 研究の背景：糖添加によるゲル化の遅延、N結合糖鎖切除によるゲル化の促進

我々は、単糖・2糖を添加したフィブリノゲン溶液において、糖の異性体、立体構造依存的にゲル化が遅延され、ネットワーク構造が変化することを発見した。また、N結合糖鎖を切除する酵素でフィブリノゲンを処理するとゲル化が促進されることは知られていたが、その促進効果はB β 鎖結合糖鎖の方が支配的であること、糖鎖の切断が十分に進むと糖の添加によるゲル化の遅延効果が消失することを我々は見出した。このことを利用すれば部位特異的な糖鎖の作用の検討が可能となる。これらの過程ではプロトフィブリル成長速度が影響されないことから、N結合糖鎖はプロトフィブリルのラテラル凝集プロセスに能動的に関与していること、添加した糖によるゲル化の遅延効果は糖鎖と競合して発現していることが示されてきた。

2. 研究の目的

N結合糖鎖とフィブリノゲン分子との相互作用の直接的な確認が基本的な研究目的であり、N結合糖鎖によりフィブリンゲル形成がどのように制御・調節されているのか、どのような部位との相互作用がそのプロセスにおいて重要かを明らかにすることである。

同時に、タンパク質の品質管理や認識・接着などの役割を担うとされているタンパク質の糖鎖修飾が、タンパク質自身の機能発現にも果たしている役割について知見を得る。

3. 研究の方法

N結合糖鎖と、種々の方法で調製したフィブリノゲン部分鎖断片との相互作用解析から、糖鎖がどの部位と相互作用することがゲル形成に関与するのかを明らかにする。糖鎖については、逐次的な加水分解を行うことにより、どの糖単位が相互作用に支配的に作用しているのかについて明らかにする。これらの結果から想定された部位について、特定部位を欠損したフィブリノゲンを調製し、そのゲル化の動態を検討する。これにより、糖鎖がフィブリンゲル形成の調節因子としての機能を持っていることを実証する。

そのために、ウシフィブリノゲンを基本試料として、以下の点について検討した。

(1) α C領域を欠損させたフラグメント-Xを調製した。さらに、PNGFにより糖鎖を切除し、その凝集特性を検討した。

(2) 部位(D領域)特異的に糖鎖を切除したフィブリノゲンの凝集特性、ならびにインタクトフィブリノゲンとの混合試料の凝集特性を検討した。

(3) 糖鎖の非還元末端のシアル酸から逐次的に糖を切除した試料の凝集特性、ならびにインタクトフィブリノゲンとの混合試料の

凝集特性の解析を行った。

(4) 遺伝子工学的に調製した全長型 α C鎖(約400残基)のフィブリノゲン断片とのSPRによる相互作用解析を行い、特性を検討した。

(5) BノブアナログであるGHRPamの添加によるbホールの閉塞による凝集特性への影響を調べることにより、ラテラル凝集におけるB:b相互作用の意義を検討した。

4. 研究成果

(1) フラグメント-Xの調製はプラスミンにより行った。プラスミン処理によっては、 α C鎖の切除のみならず、加水分解反応の進行によりB β 鎖N末端領域の切断も同時に起こる。そこで、処理条件を変えることにより、 α C鎖は完全に切除され、B β 鎖N末端領域の切除の程度の異なる試料(Fragment-XY, -XN)を得た。XYではB β 鎖N末端領域は約50%、XNでは約90%が切除されていることを2次元電気泳動の結果から確認した。この2つの試料についてPNGF(peptide N-glycosidase F)により糖鎖を切除した。PNGFの処理量を調節することによりB β 鎖結合糖鎖が半分程度切除されたものと完全に切除された試料を得た。 α C鎖を欠損したフラグメント-Xにおいても、インタクトの場合と同様にB β 鎖結合糖鎖のPNGFによる切除効率は γ 鎖結合糖鎖よりも高く、 α C鎖がB β 鎖結合糖鎖と選択的に相互作用している可能性は低い。

トロンビンによるFpAリリース速度については、XYではほぼ同等、XNでは有意の低下が認められ、FpBリリースについてはXYでは有意の低下、XNではリリースが殆ど認められなかった。このことから、B β 鎖N末端領域の欠損程度の差異が確認された。

トロンビンによるゲル化については、XYでは有意の遅延が起こるが明瞭なゲル形成が起こるのに対し、XNでは全くゲル形成が認められなかった。プロトフィブリル形成はXNでも相当の遅延が起こるものの、進んでいることからB β 鎖N末端領域の欠損がラテラル凝集に重要な役割を持っていることを示している。B β 鎖N末端を欠損した変異体フィブリノゲン(α C鎖は正常)においては、ネットワーク構造に異常はあるものの凝集が起こることが知られており、B β 鎖N末端領域と α C鎖の双方がフィブリンゲル形成に不可欠の因子であることが示された。

XY, XNそれぞれの糖鎖切除試料においては、興味深い結果が得られた。糖鎖切除XYではインタクトの場合と同様に糖鎖切除による凝集・ゲル化の促進がB β 鎖結合糖鎖の切除割合依存的に起こる。また、プロトフィブリル成長過程には、インタクトの場合と同様に、糖鎖切除の影響は見られない。インタクトの場合にみられる糖鎖切除によるゲル化の促進は、 α C鎖の有無には直接的には関係

していないものと考えられる。これは、 $\beta\beta$ 鎖結合糖鎖と γ 鎖結合糖鎖の切除効率の差異がインタクトの場合とほぼ同一の傾向にあることとも一致しており、糖鎖と αC 鎖との間の直接的な相互作用はないと考えられる。一方、XNにおいては、糖鎖切除により無秩序なアグリゲートの形成がすすむがネットワーク形成は起こらない。このことも $\beta\beta$ 鎖N末端領域が秩序性のあるラテラル凝集にとって必須の因子であることが示唆される。プロトフィブリルは形成されているので、アグリゲートは繊維状のプロトフィブリルの凝集体と考えられる。糖鎖のかさだかい構造故に立体障害効果をもたらすが、それが切除されているために凝集しやすくなっており、わずかに残っている $\beta\beta$ 鎖末端領域の効果とあいまって凝集体を作ったものと考えられる。

XY, XNにモル比で5%だけインタクトフィブリノゲンを混合した系においては、XYの場合顕著な（ほぼインタクトの場合と同程度の）ゲル化挙動が見られた。XNにおいても、最終的なOD値の低下と極めて弱いネットワークではあるもののゲル化が起こっている。XNではプロトフィブリルは形成されているので、ラテラル凝集—ゲル化をになう部分があれば、そのようなインタクト成分を介してネットワーク構造を構築することが出来ることが示された。

それ故、ラテラル凝集、ゲル化をになう部分として $\beta\beta$ 鎖N末端領域、および αC 鎖がそれに対応することが示唆される。 αC 鎖のみを欠損した変異体フィブリノゲンの場合、正常型フィブリノゲンとほとんど同等の凝集挙動を示すこと、 $\beta\beta$ 鎖N末端領域のみを欠損した試料では異常性はあるもののネットワーク形成が起こること、ならびに凝集プロセスに密に関与していると考えられている αC 鎖のC末端領域にある αC ドメインは $\beta\beta$ 鎖N末端のFpBと相互作用して分子中央部に拘束されているという報告を考え合わせると、正常なラテラル凝集にとって $\beta\beta$ 鎖N末端領域が第一に重要な部位であることが示唆される。 β 鎖結合糖鎖はフィブリノゲン分子両端のD領域に存在し、プロトフィブリル形成時に分子中央部に接近し $\beta\beta$ 鎖N末端領域と相互作用できることから、ラテラル凝集における $\beta\beta$ 鎖N末端領域の作用に影響を及ぼしてゲル化挙動に関与していると考え、XY, XNでの糖鎖切除効果が合理的に説明できる。この点は、NDSKとFragment-Dとの間には相互作用があるという最近の報告と合致している。

(2) 部位 (D領域) 特異的な糖鎖切除は、ウシフィブリノゲンの場合 PNGF の処理量を調整することにより可能である。今回の研究ではD領域の糖鎖の関与が示唆されていることから、D領域 $\beta\beta$ 鎖結合糖鎖を切除した試料の調製を行った。SDS-PAGEの解析から、 $\beta\beta$ 鎖結

合糖鎖66%、 γ 鎖結合糖鎖 (Coiled-coil 領域) 3%の試料と93%、6%が切除された試料を得た。濁度測定から、切除割合依存的な顕著な凝集・ゲル化の促進という結果が得られた。さらに、インタクトフィブリノゲンに糖鎖切除フィブリノゲンを混合した試料についても凝集挙動を観察した。糖鎖切除フィブリノゲンの混合が、わずかな割合であっても顕著な凝集促進をもたらすことを見出した。プロトフィブリル成長からラテラル凝集への移行の指標となるOD値の屈曲点のラグタイムは混合組成に対し直線的な変化をするのではなく、糖鎖切除フィブリノゲンに強く依存して変化(減少)するという協同的な促進効果という結果が得られた。

このことは、糖鎖が切除されたフィブリノゲン、並びにそれを含んで構成されたプロトフィブリルにおいては優先的なラテラル凝集が起こり、ネットワーク形成・ゲル化が促進されること、プロトフィブリル中の一部でも糖鎖切除フィブリノゲンが含まれると、そこを起点・トリガーとして、ラテラル凝集が進行することを意味している。逆に考えると、インタクトのフィブリノゲンにおいてはN結合糖鎖がラテラル凝集への移行を抑制するように相互作用していることを意味する。 $\beta\beta$ 鎖結合糖鎖の切除が66%の試料では1分子内に2つある $\beta\beta$ 鎖結合糖鎖のうち片方のみしか切除されていないものが両方とも切除されたものと同程度存在する。しかし、ラグタイムの非直線的な挙動にはほとんど差がないことは、糖鎖切除によるラテラル凝集への移行が糖鎖の有無と密に関係していること、糖鎖の能動的な役割を示唆している。

ゲル化点での凝集体のサイズ分布を光散乱法で解析した結果からは、相当量のフィブリンモノマー、あるいは未発達のプロトフィブリルがネットワークに組み込まれずに残っていることがわかった。このことも、糖鎖切除フィブリノゲンによる選択的なラテラル凝集の進行を支持する。

また興味深いことに、トロンビンによる凝集の場合、OD値の最終平衡値が糖鎖切除フィブリノゲンの比率増加により増大するのに対し、FpAの切断、A:a相互作用のみしか起こらず、FpBの切断、B:b相互作用が起こらないレプチラーゼによる凝集では最終平衡値はほとんど変化が見られなかった。最終平衡値はラテラル凝集したネットワーク構造の不均一性(ネットワークを構成するフィブリンファイバーのラテラル凝集の強弱の不均一性)を表すものであり、これが大きくなることは太い繊維、細い繊維の粗密のムラが大きいことを示すものである。それ故、B:b相互作用は、ラテラル凝集に不可欠のものではないが、ラテラル凝集をより強力に進める因子として作用していることを示している。

B:b 相互作用の無いレプチラーゼ系でもラテラル凝集・ゲル化は起こる（しかし、B β 鎖 N 末端領域を欠損している XN ではラテラル凝集は起こらない）ので、プロトフィブリル形成により遊離した B β 鎖 N 末端領域は D 領域と弱く相互作用し、半分子長の周期的なラテラル凝集を進展させていると考えられる。その相互作用が弱いために、ラテラル凝集に伴うフィブリンファイバーのねじれの歪のために、それ以上のラテラル凝集が制限されて OD 値の最終平衡値が変化しないのではないかと考えられる。

(3) 糖鎖の非還元末端のシアル酸からの逐次的な糖の切除は、ノイラミニダーゼ、 β -ガラクトシダーゼを用いて行った。フィブリノゲン N 結合糖鎖は、(Sia-Gal-GlcNAc-Man)₂-Man-GlcNAc-GlcNAc- という構造を持っている。末端シアル酸は、NeuAc と NeuGc の 2 種類が含まれており、フィブリノゲン 1 分子に 4 つある N 結合糖鎖全部で 8 個の非還元末端のすべてがシアル酸になっているのではなく、シアル酸がなくガラクトースの場合もある。糖残基一つの切除を SDS-PAGE では確認できないので、酵素処理によって遊離したシアル酸、ガラクトースをそれぞれ蛍光分光法により定量し、切除効率を確認した。ガラクトースの切除は、100%シアル酸切除を確認できた試料に対して行った。その結果、100%シアル酸を切除した試料 (desSia-Fbg)、ガラクトースまでを 100% 切除した試料 (desSiaGal-Fbg) を得ることが出来た。シアル酸の結合割合は 5/8 であった。なお、ガラクトシダーゼとしては、*Bacteroides fragilis*由来のもののみが十分な切除能力を持っており、例えば *Escherichia coli*由来のものでは殆ど切除できなかった。

desSia-Fbg と desSiaGal-Fbg のトロロンビン、レプチラーゼによる凝集特性の結果は、両者に有意の差異はなく、ともに糖鎖全体を切除したものと同等の、インタクトのものに比べ顕著な凝集・ゲル化の促進が見られた。

また、desSia-Fbg とインタクトフィブリノゲンの混合系の濁度による凝集挙動の解析からは、PNGF による効果と同等の結果、すなわち desSia-Fbg のわずかな混合によっても顕著な凝集促進効果が得られた。

インタクトのフィブリノゲン (3 μ M) に非還元末端のシアル酸と同じ NANA (N-アセチルノイラミン酸) (1 mM) を添加すると、顕著な凝集遅延 (プロトフィブリル成長からラテラル凝集への移行の遅延) がみられるが、desSia-Fbg, desSiaGal-Fbg では全くその効果は見られなかった。

以上の結果は、N 結合糖鎖はその非還元末端のシアル酸の相互作用により、ラテラル凝集への移行を抑制しており、非還元末端のシアル酸が抑制効果の中心となっていること

を示唆するものである。

なお、シアル酸を切除した試料においても PNGF の糖鎖切除効率は B β 鎖のほうが高く、末端シアル酸の有無、組成 (NeuAc, NeuGc) の差異による影響はなく、効率の違いは N 結合しているペプチド部分の構造によるものと考えられる。

(4) リコンビナント α C 領域の作製は、Human フィブリノゲン A α 鎖の 210 残基から C 末端 610 残基の α C 領域全長相当について行った。クローニングに用いるベクターは pET15b を用い、発現タンパク質の N 末端に His-tag を付加させた。形質転換のためのコンピテンセルとして DH5 α を用い、目的タンパク質の大量発現には AD494 (DE3) 株を用いた。クローニングに使用したプライマーは、Forward Primer として、GGAATTCATATGGTCCAGACTTGGTCCCGG、Reverse Primer として、CGGGATCCTTATCAGACAGGCGAGATTTAGCATG である。発現させたタンパク質は封入体を形成しているため、尿素を用いて可溶化し、尿素濃度を段階的に低下させることによりリフォールディングを行った。これにより 44 kDa のリコンビナント α C 鎖を得た。

フィブリノゲン断片とリコンビナント α C 鎖との相互作用解析には SPR (日本レーザー電子 SPR670M) を使用した。相互作用を検討する断片として、Fragment-X, -D, NDSK, ならびにリコンビナント B β 鎖 N 末端領域 1-66 残基を対象とした。結果として、Fragment-D との相互作用は見られず、それ以外の B β 鎖 N 末端領域を含むものに対して相互作用が見られた。この結果は、最近報告のある光ピンセットを用いた結果とも一致する。

α C 鎖同士でも相互作用が見られるが、これは α C 鎖内の S-S 結合で結び付けられた領域が β シート構造を取っており、この部分間で疎水的な相互作用が働くためであると考えられている。この相互作用が協同的に作用すれば Amyloid β 様のクロス β シートのスタックが生じている可能性がある。そこでアミロイド繊維に特異的な蛍光色素 ThT を用いて蛍光強度を測定したところ、顕著な強度の増大が認められ、 α C- α C 間での疎水的相互作用の存在が検証された。

(5) b ホールの閉塞による凝集に対する影響を調べるために、FpB のリリースにより露出する B ノブのアナログである GHRPam を添加した系での凝集特性を検討した。合成した GHRPam を添加することにより、顕著な凝集遅延が観測され、遅延効果はトロロンビン系よりもレプチラーゼ系の方がより顕著である。

レプチラーゼ系の場合、FpB リリースがなく B:b 相互作用は本来働かないにもかかわらず遅延効果が表れたのは、GHRPam により A:a 相互作用が阻害されたためであると考えられ、B ノブ: a ホール間の相互作用の存在が示

唆された。また、その遅延がCa²⁺の存在によりより強く表れることがみられたことから、aホール近傍に存在するカルシウム結合サイトにCaイオンが結合することによりaホールのGHRPamとの結合能が増強されたことが示唆された。B:b相互作用が働くトロロンビン系の方が遅延効果が弱いことは、FpB切除により露呈したBノブがGHRPamと競合してbホールに結合しラテラル凝集への移行に作用した結果であると考えられる。

GHRPamによる凝集遅延は、糖鎖切除の場合とは異なり、プロトフィブリル生成・成長過程が抑制されスローダウンしていることによることが時間分解光散乱測定により示された。また、PNGFにより糖鎖を切除したフィブリノゲンにGHRPamを添加した系での凝集特性の解析から、糖鎖切除による凝集促進とGHRPam添加による遅延効果のキャンセルが起こっていることが示された。これは、それぞれの効果が発揮される段階が異なっていること（糖鎖切除：ラテラル凝集への移行、GHRPam：プロトフィブリル成長の阻害）から説明でき、それぞれが独立して作用していることを意味している。

Fragment-XYに対するGHRPamの添加においては、特にレプチラーゼ系においてインタクトの場合に比して極めて強い凝集抑制効果がみられた。プロトフィブリルの生成・成長の阻害のみならず、ラテラル凝集に対する強い抑制が見られた。B β 鎖N末端領域がラテラル凝集に中心的に関与していることを考慮すると、bホールの閉塞によってB β 鎖N末端領域が相互作用するD領域がGHRPamに影響され結合が阻害されたものとして考えられ、bホールの閉塞によりその周辺領域のコンフォメーション変化が起こりB β 鎖N末端領域の結合能が低下したことが示唆される。すなわち、B β 鎖N末端領域はbホール周辺部と相互作用していることが示唆された。トロロンビン系の場合には、FpBが切除されBノブが露呈しており、GHRPamと競合的にbホールに結合できるのでレプチラーゼ系で見られたような強いラテラル凝集の抑制は起こらなかったものと考えられる。

(6) Dドメイン中のB β 鎖にN結合した糖鎖と相互作用するB β 鎖N末端領域の部位については、シアル酸の切除効果が重要な鍵となる。シアル酸の負電荷に対し、B β 鎖N末端領域には正電荷が集中した部位があり、特にB β 15-42の領域は負電荷に富んだヘパリンの結合サイトであるとの報告がある。この下流にはトロロンビンとの結合に関与するb-wallと呼ばれる部分(B β 57-70)がある。B β 15-42の領域は自由度が高く、N末端はBノブそのものである。それ故、この部分の自由度の制限はBノブ、ならびにその上流FpBの作用を阻害する。また、Dドメイン中のB β 鎖に結合

した糖鎖はbホール直近に位置しているのでB β 鎖N末端領域がDドメインと相互作用する際に強く影響を与える。

低イオン強度下でのフィブリン凝集の促進、ラグタイムの低下という現象は、静電相互作用の寄与を示している。イオン強度が低くなると解離基は解離しにくくなり、結果として塩橋の効果が弱くなる。これはシアル酸とB β 鎖N末端領域の正電荷（塩基性アミノ酸）部分との相互作用の働きを弱めることとなり、B β 鎖N末端領域のリリース、Dドメインとの相互作用を高めることにつながり、ゲル化の促進をもたらす。

以上の結果を総合すると、以下のスキームが考えられる。フィブリノゲンDドメイン中のB β 鎖にN結合した糖鎖は、プロトフィブリルのラテラル凝集をになう分子中央部EドメインのB β 鎖N末端領域と相互作用し、プロトフィブリル形成後のB β 鎖N末端領域のD領域中bホール（周辺部）との相互作用によるラテラル凝集作用を阻害する。ラテラル凝集を媒介する α CドメインをB β 鎖N末端のFpBが分子中央部に拘束しているが、プロトフィブリル生成後に糖鎖との相互作用により遊離が制限されていたB β 鎖N末端領域がフリーとなるに伴い α Cドメインが遊離するようになる。フリーとなった α Cドメインはそれら同士で疎水性相互作用により集合化し、ラテラル凝集を媒介する。その結果、N結合糖鎖の有無により、プロトフィブリル生成・成長段階からラテラル凝集段階への移行が調節されるというメカニズムを示唆する結果が得られた。このことは、これまでのフィブリンゲル研究において軽視されてきたN結合糖鎖について、そのゲル形成における重要な意義を示す結果である。

今回の成果は、タンパク質の糖鎖修飾が付加的なものではなく、そのタンパク質自身の正常な機能発現にとって不可欠のものでありうることを示すものである。

(7) 今後の課題・展望として、B β 鎖N末端領域内のシアル酸との相互作用部位のより精密な特定化、B β 鎖N末端領域が作用してラテラル凝集の基となるDドメインの相互作用部位の特定化が大切である。フィブリノゲンのような巨大タンパク質が凝集・集合してネットワークを作る上では、多くの部位がたがいに作用しあい、またその過程でコンフォメーション変化することによりインタクトでは隠れていた部分が特異的な作用をもたらすということが起こりうる。このことは、凝集メカニズムの研究にとって困難な問題であるが、今回の研究成果がその解決の一助となると期待できる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 8 件)

- ① K. Kubota, Y. Toyama, N. Nameki and K. Wakamatsu: Desialylation of N-linked Carbo- hydrate Chain of Fibrinogen, Key Engineering Materials (査読有), in press (2012).
- ② Y. Yatagai, K. Kubota, Y. Toyama, N. Nameki, and M. Ochiai: Effect of Plasmin Treatment on the Fibrin Gel Formation, Transactions of Material Research Society of Japan (査読有), 36, 371-374 (2011).
- ③ K. Kubota, Y. Yatagai, N. Watanabe, T. Fukuda, Y. Toyama, N. Nameki and M. Ochiai: Mixing Effect of Deglycosylated Fibrinogen on the Fibrin Polymerization, Transactions of Material Research Society of Japan (査読有), 36, 375-378 (2011).
- ④ K. Kubota, K. Wakamatsu, N. Nameki, and Y. Toyama: SAXS Study on the Role of the α C Region of Fibrinogen in the Fibrin Polymerization, Key Engineering Materials (査読有), 497, 41-46 (2011).
- ⑤ K. Kubota, Y. Masuda, Y. Toyama, N. Nameki, N. Okumura, and M. Ochiai: Gel Formation of Recombinant Fibrinogen Lacking α C Termini, Progr Colloid Polym Sci (査読有), 136, 187-194 (2009).

[学会発表] (計 34 件)

- ① K. Kubota, Y. Yatagai, Y. Toyama, N. Nameki and M. Ochiai, Deglycosylation Effect of Plasmin-treated Fibrinogen on the Poly- merization, the Materials Research Society of Japan 21st Academic Symposium, 2011. 12. 21、横浜開港記念館 (神奈川県)
- ② 窪田健二、フィブリン重合とゲル、日本バイオレオロジー学会第11回バイオレオロジーリサーチフォーラム(招待講演)、2011. 12. 2、東京大学本郷キャンパス (東京都)
- ③ 窪田健二、界面活性剤溶液の相挙動の複雑さ・面白さ、日本レオロジー学会第13回レオロジーフォーラム (招待講演)、2011. 10. 8、桐生市市民文化会館 (群馬県)
- ④ K. Kubota, Y. Yatagai, Y. Toyama, N. Nameki and M. Ochiai, Deglycosylation Effect of Plasmin-treated Fibrinogen on the Polymerization, International Union of Mate- rials Research Society 12th International Conference in Asia, 2011. 9. 20、Taipei (Taiwan)

- ⑤ 福田貴宏、窪田健二、渡辺直巳、谷田貝祥美、外山吉治、行木信一、落合正則、フィブリン凝集に対するN-結合糖鎖の部分的切除効果、高分子学会第60回高分子学会年次大会、2011. 5. 5、大阪国際会議場 (大阪府)
- ⑥ K. Kubota, Y. Yatagai, N. Watanabe, T. Fukuda, Y. Toyama, N. Nameki, and M. Ochiai Deglycosylation Effect on the Fibrin Gel Formation, International Union of Materials Research Society 11th International Conference in Asia (招待講演)、2010. 9. 27、Qingdao (China)
- ⑦ 谷田貝祥美、窪田健二、岡田希、外山吉治、行木信一、落合正則、フィブリノゲンFragment-Xの凝集特性、高分子学会第 59 回高分子討論会、2010. 9. 16、北海道大学 (北海道)
- ⑧ 窪田健二、岩井裕、外山吉治、行木信一、フィブリンゲル形成におけるN-結合糖鎖切除効果、高分子学会第 59 回高分子学会年次大会、2010. 5. 26、パシフィコ横浜 (神奈川県)
- ⑨ 岩井裕、谷田貝祥美、岡田希、外山吉治、行木信一、窪田健二、フィブリノゲンBノブ様ペプチドGHRPによるフィブリン重合阻害、the Materials Research Society of Japan 19th Academic Symposium, 2009. 12. 9、横浜開港記念館 (神奈川県)
- ⑩ 糸井璃沙、高橋唯、外山吉治、行木信一、窪田健二、落合正則、フィブリノゲンクライオゲル形成におけるフラグメントX及びD添加の影響、第32回日本バイオレオロジー学会年会、2009. 6. 5、桐生市市民文化会館 (群馬県)

[図書] (計 0 件)

なし

[産業財産権] (計 0 件)

なし

[その他] (計 0 件)

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

窪田 健二 (KUBOTA KENJI)
群馬大学・大学院工学研究科・教授
研究者番号：40153332

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし