

## 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4月1日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21590057

研究課題名（和文） 神経再生医療に応用可能なエンド型コンドロイチン硫酸加水分解酵素の同定

研究課題名（英文） Identification of endo-type chondroitin sulfate hydrolases applicable to neuronal regenerative therapy

研究代表者

山田 修平（YAMADA SHUHEI）

北海道大学・大学院先端生命科学研究院・准教授

研究者番号：70240017

研究成果の概要（和文）：

ヒトヒアルロニダーゼ4 (HYAL4)がコンドロイチン硫酸 (CS) に特異的なエンド型加水分解酵素であることを初めて報告した。マウスのオーソログ(mHyal4)も CS 特異的分解酵素であったが、より広い特異性を持っていた。両酵素の様々なキメラ体、変異体を作製し、基質特異性の違いを決定するアミノ酸を同定した。神経再生医療に応用するために、活性を保持した酵素の酵母での大量発現系を構築した。脊髄損傷モデルラットから損傷部位を摘出し、その部分の CS 分析と mHyal4 での消化実験を行った。

研究成果の概要（英文）：

In this study, human hyaluronidase-4 (HYAL4) was demonstrated to be a chondroitin sulfate (CS)-specific endo-type hydrolase for the first time. Although mouse hyaluronidase-4 (mHyal4) was also demonstrated to be a CS-specific endo-type hydrolase, it has broader substrate specificity than HYAL4. A series of human/mouse hyaluronidase-4 chimeric proteins and point mutants were generated, and the amino acid residues responsible for the difference in substrate specificity were identified. To prepare an active enzyme applicable to neuronal regenerative therapy in a large scale, the expression system in yeast was constructed. Injury region was extracted from the rats with lateral hemisection of the spinal cord, and the composition of CS in the region as well as its sensitivity to mHyal4 was investigated.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2011年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・生物系薬学

キーワード：グリコサミノグリカン、コンドロイチン硫酸、ヒアルロン酸、神経再生、ヒアルロニダーゼ

## 1. 研究開始当初の背景

コンドロイチン硫酸 (CS) は硫酸化グリコサミノグリカン (GAG) の一種であり、生体内に普遍的に存在し、細胞増殖・分化、細胞接

着、細胞移動、形態形成など様々な生理機能を発揮している。CS 多糖鎖の代謝分解は主にリソソームで起こっており、まずエンド型の糖鎖分解酵素が CS 鎖を切断してオリゴ糖

にした後、エキソ型の酵素群が非還元末端より順々に作用し分解する。エキソ型の酵素については、それらの欠損によって発症するムコ多糖症の診断・治療のため詳細な研究が行われてきた。ところが、初期段階で作用するエンド型の酵素については、ほとんど解析されていなかった。硫酸化されていないCSであるコンドロイチン(Chn)とよく似た構造を持つヒアルロン酸(HA)の分解酵素であるヒアルロニダーゼが、CS代謝の初期反応を触媒しているとする説が一般的であるが、既知のヒアルロニダーゼの作用だけでは、CSの代謝を説明することは不可能であった。また、ヒアルロニダーゼはヘキササミニダーゼであるが、天然には還元末端にウロン酸をもつCSのオリゴ糖も見つかっており、このことはCSを分解するエンド型のグルコニダーゼの存在を示唆している。つまり、ヒアルロニダーゼ以外にCSを特異的に分解する酵素(群)が、生体内でのCS代謝に機能している可能性が考えられた。

研究代表者は、モデル生物である線虫、ショウジョウバエ、ヒドラのGAGの解析を行い、これらの中にはChnあるいはCSが存在するがHAは存在しないことを明らかにした。ところが、線虫のゲノム中には、ヒトのヒアルロニダーゼのホモログが存在する。そこで、この遺伝子産物の性質を調べたところ、Chn/CSに特異的な加水分解酵素であることを見いだした。また、ショウジョウバエやヒドラにおいても、HAが産生されないにもかかわらずヒアルロニダーゼのホモログがあり、これらも同様にCS特異的な分解酵素である可能性がある。

ヒトのヒアルロニダーゼに関しては、5種類の関連遺伝子(HYAL1、HYAL2、HYAL3、HYAL4、PH-20)の存在が知られている。これらのうちHYAL1、HYAL2、PH-20についてのみ詳細な解析が行われていた。線虫におけるヒアルロニダーゼホモログがChn/CSに特異的な加水分解酵素であることを考えると、これまで酵素活性が検出されていないHYAL3とHYAL4がChn/CSに特異的な加水分解酵素である可能性があった。また、HYAL1とHYAL2についても、HA分解の観点からは多くの研究がなされHA代謝における機能が検証されてきたが、CS分解については詳細な報告はなかった。

## 2. 研究の目的

CSは、生体内に普遍的に存在し、細胞増殖・分化、細胞接着、細胞移動、形態形成など様々な生理機能を発揮している。実験的に脊髄の神経を損傷して半身不随にしたマウスに対し、細菌由来のCS分解酵素で脊髄損傷部位を処理すると、損傷した神経が再生し半身不随が改善することが証明された。これは、CS

が本来神経軸索の伸展の方向性を決定する分子であるため、損傷部位に形成される瘢痕組織中のCSが脊髄損傷後の神経連結を阻害していたためと考えられている。CSの機能や重要性が認識され、CSの生合成メカニズムの研究が盛んに行われていたが、CSの代謝の研究は十分とはいえなかった。特に、CS分解の初期の段階で作用するエンド型の酵素については、ほとんど解析されていなかった。研究代表者は、モデル生物である線虫において、コンドロイチン(Chn)/CSに特異的なエンド型の加水分解酵素を初めて発見していた。このことは、ヒトにおいてもCS特異的なエンド型の分解酵素が存在する可能性を示唆している。そこで研究代表者は、ヒトの生体内でのCSの代謝に関するエンド型の分解酵素を同定し、CSの代謝機構およびその調節機構を解明しようとした。さらに、CS特異的な分解酵素による生体内での多様な機能の解明や、この酵素を上記の細菌由来の酵素の代わりに利用し、神経損傷時の再生医療などへの応用を目指した。

## 3. 研究の方法

### (1) HYAL3およびHYAL4に関する実験：

1. 遺伝子のクローニング：IMAGEクローンよりヒトHYAL3およびHYAL4の遺伝子を購入した。PCRを用いて目的領域を増幅するとともに、両端に制限酵素切断部位を導入した。発現ベクターに両遺伝子を組み込んだ。増幅後、プラスミドを精製した。タグとの融合タンパク質として組換え体タンパク質を得た。ヒトHYAL4は本来グリコシルホスファチジルイノシトール(GPI)アンカー型の膜結合分子であるが、この際には、GPI付加シグナルを除去し、分泌シグナルとタグを導入した。

2. 遺伝子の発現：発現ベクターを培養細胞にトランスフェクトした。培地中よりアフィニティークロマトグラフィーを利用して組換えタンパク質を精製した。また、ウエスタンブロッティングにより発現を確認した。

3. 蛍光標識基質の調製：市販のGAGをフルオレセインイソチオシアネート(FITC)で蛍光標識した。

4. 酵素消化：蛍光標識した基質、あるいは標識していない基質を精製した酵素源とともにインキュベートした。温度、pHなどの条件を変化させて消化反応を行なった。FITC標識した試料を基質として用いた場合はそのまま分析した。一方、標識していないGAGを用いた場合には、消化物を蛍光試薬の一種である2-アミノベンズアミド(2AB)を用いて標識し、還元末端をモニターした。

5. HPLC分析：上記の方法で調製した酵素反応物を、ゲルろ過クロマトグラフィーあるいは陰イオン交換クロマトグラフィー用の

カラムを接続した HPLC で分析し、GAG が分解を受けたかどうかを判定した。

6. 質量分析：酵素消化による分解産物の構造を決定するため、HPLC で分画した試料を質量分析 (MALDI-TOF/MS) した。

7. その他の方法でのアッセイ：分解反応をより簡便に検出するため、必要に応じて、ELISA 様アッセイなども検討した。

8. 基質特異性の検討：酵素活性が検出された場合には、さらに詳細な活性を検討するため、同じ酵素消化条件下で、等量の異なる GAG 基質を同時に消化し、消化物の解析結果を比較することで基質特異性を考察した。また、基質濃度を変化させて酵素反応を行い、ミカエリス定数  $K_m$  と最大反応速度  $V_{max}$  を求め、これらの値の比較より、各基質間での親和性を定量的に比べた。

9. 免疫染色実験：HYAL3 や HYAL4 の細胞内での局在は分かっていなかった。そこで、特異的な抗体を利用して、細胞内での分布を調べ、酵素の機能を推定する情報の一つを得た。

#### (2) 神経軸索の伸長促進実験：

CS に特異的な加水分解活性が検出された酵素の中で、比較的強い分解活性を示した酵素については、神経軸索の伸長への効果を検証した。

1. *in vitro* での神経軸索の伸長の促進効果を検証する系に、発現させた酵素を添加し、神経軸索の伸長促進活性を検討した。

2. 脊髄損傷モデルラットを利用し、その実験系に新規の CS 特異的な加水分解酵素を添加することにより損傷した神経の再生に貢献できるかを検証した。

#### 4. 研究成果

(1) ヒトヒアルロニダーゼ HYAL4 に関する実験：

ヒト HYAL4 遺伝子のクローニングを行い、発現ベクターに HYAL4 遺伝子を組み込み、タグとの融合タンパク質として組換え体タンパク質を得た。アフィニティークロマトグラフィーを利用して組換えタンパク質を精製し、蛍光標識した基質あるいは標識していない基質に作用させた。酵素反応物のゲルろ過クロマトグラフィーあるいは陰イオン交換クロマトグラフィーによる分析から、CS が分解を受けたことを確認した。温度、pH などの条件を変化させて消化反応を行ない、反応の至適条件を決定した。種々の CS バリエーションを用いて反応を行い、詳細な基質特異性を検討した。また、ミカエリス定数  $K_m$  と最大反応速度  $V_{max}$  を求め、各基質間での親和性を定量的に比べた。さらに、酵素消化による分解産物の構造を質量分析の手法などを用いて決定した。その結果、HYAL4 が特定の

高硫酸化 CS 構造を特異的に認識することを明らかにし、CS に特異的なエンド型加水分解酵素を世界で初めて報告した。

また、HYAL4 を脊髄損傷の治療など神経再生医療に応用するためには、大量の酵素が必要である。そこで、活性を保持した酵素の酵母での大量発現系の構築を行なった。

(2) マウスヒアルロニダーゼ-4 (mHyal4) に関する実験：

ヒアルロニダーゼ-4 の機能研究を行うにあたり、マウスをモデル系として使用するため、mHyal4 の解析を行なった。mHyal4 遺伝子のクローニングを行い、発現ベクターに遺伝子を組み込み、タグとの融合タンパク質として組換え体タンパク質を得た。組換え体タンパク質を、各種グリコサミノグリカン基質に作用させ、酵素反応物をゲルろ過あるいは陰イオン交換クロマトグラフィーによって分析し、CS を特異的に分解したことを確認した。温度、pH などの条件を変化させて消化反応を行ない、反応の至適条件を決定した。種々の CS バリエーションを用いて、詳細な基質特異性を検討した。また、ミカエリス定数  $K_m$  と最大反応速度  $V_{max}$  を求め、各基質間での親和性を定量的に比較した。さらに、分解産物の構造を質量分析の手法などを用いて決定した。その結果、mHyal4 が HYAL4 よりも広い基質特異性を持つことを明らかにした。さらに、mHyal4 の mRNA の発現部位を解析し、精巣など極めて限局された部位にしか発現していないことを解明した。

HYAL4 と mHyal4 の基質特異性の違いを決定するアミノ酸を同定するため、様々なキメラ酵素、変異体酵素を作製し、それぞれの特異性を解析した。その結果、N-アセチルガラクトサミン残基の 4 位の硫酸基の認識に必須のアミノ酸残基を同定することができた。この成果については、現在論文投稿中である。また、HYAL4 よりも比活性の高い mHyal4 を脊髄損傷の治療など神経再生医療に応用するために、活性を保持した酵素の酵母での大量発現系の構築を行なった。その結果、活性のある酵素が大量に得られた。また、それらの酵素はヒトの培養細胞で産生された酵素と同様の基質特異性を持っていた。

(3) ヒアルロニダーゼ 4 による神経軸索の再生実験：北海道大学医学部脳神経外科の黒田敏博士らの作製した脊髄損傷モデルラットから、損傷部位を摘出し、その部分の CS の分析とヒアルロニダーゼ 4 を用いた消化実験を行った。損傷部位で CS 量が増加していること、その CS をヒアルロニダーゼ 4 で分解できることを確認した。

#### 4. その他の実験：

多様な構造をもった CS を得るため、種々の生物由来の CS の構造およびその生物活性を調べた。特に、イカ肝臓外皮、アフリカツメガエル、エイ軟骨の CS について解析し、その成果を論文として公表した。エビと頭部由来の GAG についても解析した。また、新規の抗 CS 抗体も作製し、新規の CS 合成酵素活性を検出した。これら新規の CS や抗 CS 抗体は、今後の CS の解析に有効活用できると期待される。さらに、膝臓のランゲルハンス島のグリコサミノグリカンの解析も行い、ランゲルハンス島には CS が殆ど存在しないことを初めて明らかにした。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 11 件)

- (1) 山田修平  
“新規のコンドロイチン硫酸に特異的な加水分解酵素”  
**応用糖質科学**, 印刷中, 2012. 査読有
- (2) Taishi Hashiguchi, Takanari Kobayashi, Duriya Fongmoon, Ajaya Kumar Shetty, Shuji Mizumoto, Nobuyuki Miyamoto, Toshikazu Nakamura, Shuhei Yamada<sup>#</sup>, and Kazuyuki Sugahara<sup>#</sup>  
“Demonstration of the Hepatocyte Growth Factor Signaling Pathway in the *in vitro* Neuritogenic Activity of Chondroitin Sulfate from Ray Fish Cartilage”  
**Biochim. Biophys. Acta**, 1810 (4), 406-413, 2011. <sup>#</sup>Corresponding authors. 査読有
- (3) Shuhei Yamada<sup>#</sup>, Kazuyuki Sugahara, and Suat Özbek  
“Evolution of Glycosaminoglycans: Comparative Biochemical Study.”  
**Commun. Integr. Biol.**, 4 (2), 150-158, 2011. <sup>#</sup>Corresponding author. 査読有
- (4) Jiancheng Chen, Shuhei Yamada<sup>#</sup>, Yoshiki Hama, Ajaya Kumar Shetty, Takanari Kobayashi, Hiroshi Oda, Kosuke Seiki, Eunmi Kim, Takashi Kimura, Naonori Takahashi, Kazuya I. P. J. Hidari, Takashi Suzuki, Yasuo Suzuki, and Kazuyuki Sugahara<sup>#</sup>  
“Unique heparan sulfate from shrimp heads exhibits a strong inhibitory effect on infections by dengue virus and Japanese encephalitis virus”  
**Biochem. Biophys. Res. Commun.**, 412 (1), 136-142, 2011. <sup>#</sup>Corresponding authors. 査読有
- (5) Taishi Hashiguchi, Shuji Mizumoto, Yuko Nishimura, Jun-ichi Tamura, Shuhei Yamada<sup>#</sup>, and Kazuyuki Sugahara<sup>#</sup>  
“Involvement of HNK-1 sulfotransferase in the biosynthesis of the GlcUA(3-*O*-sulfate)-Gal-Gal-Xyl tetrasaccharide found in  $\alpha$ -thrombomodulin from human urine”  
**J. Biol. Chem.**, 286 (38), 33003-33011, 2011. <sup>#</sup>Corresponding authors. 査読有
- (6) Tomoyuki Kaneiwa, Shuji Mizumoto, Kazuyuki Sugahara, and Shuhei Yamada<sup>#</sup>  
“Identification of Human Hyaluronidase-4 as a Novel Chondroitin Sulfate Hydrolase That Preferentially Cleaves the Galactosaminidic Linkage in the Trisulfated Tetrasaccharide Sequence”  
**Glycobiology**, 20 (3), 300-309, 2010. <sup>#</sup>Corresponding author. 査読有
- (7) Chizuru Akatsu, Duriya Fongmoon, Shuji Mizumoto, Jean-Claude Jacquinet, Prachya Kongtawelert, Shuhei Yamada<sup>#</sup>, and Kazuyuki Sugahara<sup>#</sup>  
“Development of a Mouse Monoclonal Antibody Against the Chondroitin Sulfate-protein Linkage Region Derived from Shark Cartilage”  
**Glycoconjugate J.**, 27 (4), 387-399, 2010. <sup>#</sup>Corresponding authors. 査読有
- (8) Iwao Takahashi, Naoya Noguchi, Koji Nata, Shuhei Yamada, Tomoyuki Kaneiwa, Shuji Mizumoto, Takayuki Ikeda, Kazushi Sugihara, Masahide Asano, Takeo Yoshikawa, Akiyo Yamauchi, Nausheen Jamal Shervani, Akira Uruno, Ichiro Kato, Michiaki Unno, Kazuyuki Sugahara, Shin Takasawa, Hiroshi Okamoto, and Akira Sugawara  
“Important Role of Heparan Sulfate in Postnatal Islet Growth and Insulin Secretion”  
**Biochem. Biophys. Res. Commun.**, 383 (1), 113-118, 2009. 査読有
- (9) Ajaya Kumar Shetty, Takanari Kobayashi, Shuji Mizumoto, Masaki Narumi, Yoshiaki Kudo, Shuhei Yamada<sup>#</sup>, and Kazuyuki Sugahara<sup>#</sup>  
“Isolation and Characterization of a Novel Chondroitin Sulfate from Squid Liver Integument Rich in *N*-Acetylgalactosamine(4,6-*O*-disulfate) and Glucuronate(3-*O*-sulfate) Residues.”  
**Carbohydr. Res.**, 344 (12), 1526-1532, 2009. <sup>#</sup>Corresponding authors. 査読有

(10) Shuhei Yamada<sup>#</sup>, Masako Onishi, Reiko Fujinawa, Yuko Tadokoro, Koji Okabayashi, Makoto Asashima, and Kazuyuki Sugahara “Structural and Functional Changes of Sulfated Glycosaminoglycans in *Xenopus laevis* during Embryogenesis” **Glycobiology**, 19 (5), 488-498, 2009. <sup>#</sup>Corresponding author. 査読有

(11) Shuhei Yamada<sup>#</sup>, Shuji Mizumoto, and Kazuyuki Sugahara “Chondroitin Hydrolase in *Caenorhabditis elegans*.” **Trends Glycosci. Glycotechnol.**, 21 (119), 149-162, 2009. <sup>#</sup>Corresponding author. 査読有

[学会発表] (計 50 件)

(1) The IGP International Symposium 2012 (2012.3.2 Sapporo)

Yoshiki Hama, Chen Jiancheng, Ajaya Kumar Shetty, Takanari Kobayashi, Hiroshi Oda, Kosuke Seiki, Eunmi Kim, Takashi Kimura, Kazuyuki Sugahara, Shuhei Yamada

「Shrimp head heparan sulfate with unique structure and function」

(2) 7th International Conference on Proteoglycans (2011.10.20 Sydney, Australia) T. Hashiguchi, S. Mizumoto, Y. Nishimura, J. Tamura, S. Yamada, K. Sugahara

「Involvement of HNK-1 Sulfotransferase in the Biosynthesis of Chondroitin Sulfate and the GlcUA(3-*O*-sulfate)-Gal-Gal-Xyl Tetrasaccharide Found in  $\alpha$ -Thrombomodulin from Human Urine」

(3) 7th International Conference on Proteoglycans (2011.10.18 Sydney, Australia) T. Kaneiwa, A. Miyazaki, S. Mizumoto, K. Sugahara, and S. Yamada

「Determination of amino acid sequences in hyaluronidase-4 responsible for the substrate recognition」

(4) The 31st Naito Conference. Glycan Expression and Regulation [II]: Metabolites, Stress Response, Microdomains, and Beyond. (2011.9.13-16 Sapporo)

S. Yamada, A. Miyazaki, T. Kaneiwa, S. Mizumoto, and K. Sugahara

「Mouse hyaluronidase-4: Identification of a chondroitin sulfate-specific hydrolase with distinct specificity from human hyaluronidase-4」

(5) The 3rd FEBS-MPST Advanced Lecture Course on Matrix Pathobiology, Signaling and Molecular Targets (FEBS-MPST2011). (2011.9.2-7 Spetses, Greece)

T. Kaneiwa, A. Miyazaki, S. Mizumoto, K. Sugahara, S. Yamada

「Studies on novel mammalian endo-type chondroitin sulfate hydrolases」

(6) 9th International Symposium on Biochemical Roles of Eukaryotic Cell Surface Macromolecules (2011.1.28, Trivandrum, Kerala, India)

山田 修平 (招待講演)

「Chondroitin sulfate-specific novel hydrolase in human」

(7) The 8<sup>th</sup> International Symposium for Future Drug Discovery and Medical Care (2010.9.2 Sapporo)

T. Kaneiwa, S. Mizumoto, K. Sugahara, S. Yamada

「Identification of a novel chondroitin sulfate hydrolase applicable to neuronal regenerative therapy」

(8) The 25<sup>th</sup> International Carbohydrate Symposium (ICS2010) (2010.8.5 Chiba)

T. Kaneiwa, S. Mizumoto, K. Sugahara, S. Yamada

「Identification of a chondroitin sulfate-specific novel hydrolase in human」

(9) The 25<sup>th</sup> International Carbohydrate Symposium (ICS2010) (2010.8.3 Chiba)

T. Hashiguchi, T. Kobayashi, D. Fongmoon, A. K. Shetty, S. Mizumoto, N. Miyamoto, T. Nakamura, S. Yamada, and K. Sugahara

「Involvement of the Hepatocyte Growth Factor Signaling Pathway in the Neuritogenic Activity of Chondroitin Sulfate Derived from Ray Fish Cartilage」

(10) The 25<sup>th</sup> International Carbohydrate Symposium (ICS2010) (2010.8.2 Chiba)

T. Kaneiwa, S. Yamada, K. Sugahara, I. Takahashi, N. Noguchi, K. Nata, H. Okamoto, A. Sugawara

「Structural characterization of heparan sulfate in the *Extl3* knockout mice and the pancreatic  $\beta$ -cell specific *Extl3* knockout mice」

(11) The 8th International Conference on Hyaluronan Sciences (2010.6.7-10 Kyoto)

T. Kaneiwa, S. Mizumoto, K. Sugahara, S. Yamada

「Demonstration of chondroitin sulfate-specific

hydrolytic activity in human hyaluronidase-4」

(12) 6th International Conference on Proteoglycan (2009.9.14-16 Aix-les-Bains, France)

Tomoyuki Kaneiwa, Shuhei Yamada, Shuji Mizumoto, Adriana M. Montaña, Muneyoshi Otori, Shohei Mitani, and Kazuyuki Sugahara

「Identification and characterization of a novel chondroitin hydrolase in *Caenorhabditis elegans*」

(13) 6th International Conference on Proteoglycan (2009.9.15 Aix-les-Bains, France)

Shuhei Yamada, Tomoyuki Kaneiwa, Shuji Mizumoto, and Kazuyuki Sugahara

「Identification of Human Hyaluronidase-4 as a Novel Chondroitin Sulfate Hydrolase That Preferentially Cleaves the Specific Linkage in a Highly Sulfated Sequence」

(14) 2<sup>nd</sup> Symposium on Structural Analysis of Biological Macromolecules & 7<sup>th</sup> Japan-Korea Bilateral Symposium on Biological NMR (2009.7.27 Sapporo)

Tomoyuki Kaneiwa, Shuhei Yamada, Shuji Mizumoto, Adriana M. Montaña, Shohei Mitani, and Kazuyuki Sugahara

「Identification and characterization of a novel chondroitin hydrolase in *Caenorhabditis elegans*」

(15) 2<sup>nd</sup> Symposium on Structural Analysis of Biological Macromolecules & 7<sup>th</sup> Japan-Korea Bilateral Symposium on Biological NMR (2009.7.27 Sapporo)

Jiancheng Chen, Ajaya Kumar Shetty, Takanari Kobayashi, Hiroshi Oda, Kosuke Seiki, Shuhei Yamada, and Kazuyuki Sugahara

「Structure and biological activities of heparin-like glycosaminoglycan from shrimp heads」

〔図書〕(計1件)

(1) 水本秀二, 山田修平, 菅原一幸

『遺伝子医学 MOOK 別冊 ますます重要になる細胞周辺環境(細胞ニッチ)の最新科学技術 ～細胞の生存、増殖、機能のコントロールから創薬研究、再生医療まで～』, (“グリコサミノグリカン—生体シグナル分子相互作用”)

メディカルドゥ, 223-230, 2009年.

〔産業財産権〕

○出願状況(計2件)

名称: コンドロイチン硫酸オリゴ糖の製造方法

発明者: 松嶋景一郎, 浦晴雄, 鎌田樹志, 宮本宜之, 菅原一幸, 山田修平

権利者: 地方独立行政法人 北海道立総合研究機構, 丸共水産株式会社, 国立大学法人 北海道大学

種類: 特許

番号: 特願 2012-035546

出願年月日: 2012年2月21日

国内外の別: 国内

名称: グリコサミノグリカン分解促進剤

発明者: 菅原一幸, 山田修平, 水本秀二, 金岩知之

権利者: 国立大学法人 北海道大学

種類: 特許

番号: 特願 2009-238490

出願年月日: 2009年10月15日

国内外の別: 国内

○取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山田 修平 (YAMADA SHUHEI)

北海道大学・大学院先端生命科学研究院・准教授

研究者番号: 70240017

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

菅原 一幸 (SUGAHARA KAZUYUKI)

北海道大学・大学院先端生命科学研究院・教授

研究者番号: 60154449