

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25年 6月 5日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2010 ～ 2012

課題番号：22380187

研究課題名（和文）初期胚表面に存在する巨大糖鎖の機能とその分子機構の解明

研究課題名（英文）Functional study on large glycans on the surface of developing embryos

研究代表者

北島 健 (KITAJIMA KEN)

名古屋大学・生物機能開発利用研究センター・教授

研究者番号：80192558

研究成果の概要（和文）：

初期胚表層にどうして巨大糖鎖が存在するのかという疑問の解決を目指して研究を行って、新しい知見を得た。まず、巨大糖鎖をもつ糖タンパク質 Le^X-gp について、その精製に成功、その糖鎖が細胞接着性に関わる Le^X 構造のタンデム反復構造という新規構造をもつことを明らかにした。つぎに、受精時に卵から卵胞腔中に分泌される hyosoporphin について、そのペプチド部分が細胞表面の特異的な受容体を介して細胞増殖促進活性を示すこと、糖鎖部分は受精時の卵表層反応の進行に重要であることを明らかにした。本研究成果を通じて、巨大糖鎖は細胞表面と相互作用して細胞表層の性質を変化させ、細胞の命運を決定するという仮説を提唱したい。

研究成果の概要（英文）：

To address a question why the extremely large glycans are attached on the embryonic cell surface, we studied on two examples of glycoprotein that had been found in madaka fish by ourselves. First, the protein with Le^X-containing large glycans, named Le^X-gp, was successfully purified. The glycans were shown to contain a multiply tandem repeat of Le^X-structure, and to be involved in cell adhesion. Second, the egg cortical vesicular glycoprotein that is secreted from egg at fertilization, named hyosoporphin, was found to be involved in cortical reaction or egg activation and the progress of early development of medaka. We revealed that the peptide part is important for its cell proliferation stimulating activity through its binding to a specific receptor, while the glycan part is rather required for the cortical reaction than for the cell growth of embryonic cells. Taken together, we postulate a hypothesis that, once associated with the cell surface, the huge glycans drastically change the surface atmosphere to affect the physiology of cell significantly.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|------------|-----------|------------|
| 2010年度 | 5,000,000 | 1,500,000 | 6,500,000 |
| 2011年度 | 4,200,000 | 1,260,000 | 5,460,000 |
| 2012年度 | 4,400,000 | 1,320,000 | 5,720,000 |
| 総計 | 13,600,000 | 4,080,000 | 17,680,000 |

研究分野：農学

科研費の分科・細目：境界農学・応用分子細胞生物学

キーワード：糖鎖、発生・分化、生理活性、タンパク質、再生医学、膜マイクロドメイン、細胞接着、魚類

1. 研究開始当初の背景

すべての細胞はその表面をグリコカリクスという糖鎖の層で覆われている。この糖鎖は糖タンパク質・糖脂質に存在し、細胞の認識や接着に関わることが知られている。糖鎖の機能は、(1)糖鎖結合タンパク質(レクチン)と結合して特異的シグナルを発動すること、(2)タンパク質を正しいコンホメーションに誘導・保持することによって発揮される。前者には、白血球細胞上のシアリルルイス X (四糖構造)が、炎症部位近傍の血管の内皮細胞上のレクチン P-selectin と結合する例がある(Rosen, *Annu. Rev. Immunol.* **22**, 129, 2004)。この結合は白血球が炎症部位に浸潤する際に必須である。後者には、細胞分化決定因子 Notch のフコース修飾が間接的に Notch リガンドとの結合に必須である例が挙げられる(Haltiwanger *et al.*, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **12**, 593, 2002)。一方、初期胚の細胞表面は通常の糖鎖の 5~10 倍の大きさ(10~20 kDa)をもつ巨大糖鎖で修飾されていることが知られている。その巨大糖鎖の特徴は、ラクトサミン(二糖構造)の「反復」構造に多数の「枝分かれ」構造をもち、その末端に特定の糖鎖構造を多価化状態で提示していることである(図 1)。三十年前に本邦の村松らによって見出され、エンブリオグリカンと呼ばれている(Muramatsu *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **75**, 2315, 1978)。大きな水和効果のために見かけ以上に嵩高い。巨大糖鎖は、タンパク質のコンホメーション保持というよりも、直接何らかの分子と結合して作用することが推測される。しかしながら、初期胚表面において巨大糖鎖がどのような分子と相互作用し、どのような機能を生み出すのかについて、十分な解答が得られていない。

初期胚表層の巨大糖鎖は、発見当初から胚性幹(ES)細胞、胚性カルシノーマ(EC)細胞のマーカールとして使用され、今でも癌細胞マーカー等として利用されている。一方、米国 Hakomori らや英国 Feizi らはマウス桑実胚での強固な細胞接着に巨大糖鎖上のルイス X 構造が関わることを抗体やハプテン糖を用いて証明した(Rastan *et al.*, *J. Embryol. Exp. Morphol.*, **87**, 115, 1985; Fenderson *et al.*, *Bioessays*, **12**, 173, 1990)。しかし、本邦の成松らによるルイス X ノックアウトマウスの解析から、マウスではルイス X 構造自体は必ずしも強固な細胞接着に必要ではないことが証明された(Kudo *et al.*, *Mol. Cell. Biol.*, **24**, 4221, 2004)。一方で、興味深い観察もなされている。細胞凝集塊を形成する性質をもつマウス EC 細胞は巨大糖鎖をもつ。巨大糖鎖をもつ EC 細胞とそこから樹立した巨大糖鎖をもたない EC 細胞の 2 群の細胞を混合培養し

たところ、凝集塊は巨大糖鎖の有無にしたがって選別された(Boubelik *et al.*, *BBRC*, **224**, 283, 1996)。このことは胚表面の巨大糖鎖が細胞群の分別凝集を担うことを示唆している。また、最近、村松らは巨大糖鎖中の枝分かれ構造(図 1)を形成する糖転移酵素(IGnT)を欠損した EC 細胞の解析から、巨大糖鎖が α 6-インテグリンを介する細胞接着を増幅することを見出した(Muramatsu *et al.*, *Glycobiology*, **18**, 242, 2008)。以上の研究成果は、巨大糖鎖は初期発生における細胞接着や細胞選別に関わることを示唆しており、今後、その詳細なメカニズム解析が必要であることを示している。

一方、我々は初期発生における糖鎖の役割を解明する研究途上で、メダカ初期胚細胞表層に巨大糖鎖が発現していることを発見した。ひとつは、糖含量が 95%を超え 2,000 kDa におよぶメガダルトン糖タンパク質 Le^X-gp であり、もうひとつは 10 kDa N-型糖鎖をもつ糖ペプチド hyosoporphin である。Le^X-gp はルイス X (Le^X) という三糖構造をもつ特徴をもち、原腸胚において高度に発現する。興味深いことに、細胞膜マイクロドメイン(ラフト)において細胞接着分子 E-cadherin と共局在して存在する。我々はラフトの形成が細胞接着に必要であり、ひいては初期発生の進行に必須であることを証明した(Adachi *et al.*, *BBRC*, **358**, 848, 2007)。また、実際ラフト同士が互いに接着することを見出し、その接着には E-cadherin 同士の結合と糖鎖を介する結合が作用することを明らかにした(Adachi *et al.*, *Glycoconj. J.*, **26**, 285, 2009)。一方、hyosoporphin は受精時に卵表層顆粒から分泌され、初期胚を取り囲む空隙に存在する。興味深いことは、初期胚 hyosoporphin が哺乳類細胞に対する細胞増殖促進活性を示すことであり、胚細胞においても同様の活性もつことが示唆された点である(Kitajima *et al.*, unpublished)。以上、我々自身の研究成果から、メダカ初期胚表層に存在する巨大糖鎖は胚細胞の接着や増殖に関わるということが推定される。巨大糖鎖が細胞接着に関わるという点はマウス初期胚での観察と共通である。一方、巨大糖鎖が増殖に関わるという点は新しくメダカ初期胚で見出されたことである。

2. 研究の目的

本研究は、初期胚表層にどうして巨大糖鎖が存在するのか、という疑問のもと、我々が発見した Le^X-gp と hyosoporphin に着目して、その巨大糖鎖の機能とその分子機構をメダカとゼブラフィッシュを用いて解明することを目的とする。具体的には、次の 2 つのことに取り組む。生化学・細胞生物学的手法に

加え、遺伝子改変動物を用いた細胞レベルおよび個体レベルの解析手法を適用して取り組む。

(1) Le^X-gp の細胞接着機能とその分子機構の解明：

Le^X-gp は、我々がメダカ初期胚の原腸胚細胞膜上において発見したユニークな糖タンパク質である。これまでに以下のことを明らかにしている(Adachi *et al.*, *BBRC*, **358**, 848, 2007; Adachi *et al.*, *Glycoconj. J.*, **26**, 285, 2009)：(a) Le^X-gp は 2,000 kDa の膜結合性糖タンパク質で、糖含量が 95% を超える。SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動の検出法に用いられる染料や銀染色では検出されない；(b) ルイス X (三糖構造) が 20 kDa を超える巨大糖鎖上に存在する；(c) その発現は胚後期から開始され、原腸後期にかけて上昇する；(d) ラフト局在糖タンパク質であり、ラフトが媒介する細胞接着において、細胞接着分子 E-cadherin とともに作用する。Le^X-gp を介する接着においてはルイス X 構造上のフコース残基が必須である；(e) メダカ E-cadherin のノックダウン実験では、原腸胚の細胞がはがれる重篤な表現型を示す。この表現型は胚をラフト破壊試薬(メチルβ-シクロデキストリン)で処理した胚の表現型に似ている。以上のことから、Le^X-gp は原腸胚形成期において E-cadherin と共同して胚細胞同士の接着を担う分子であると考えられる。また、巨大糖鎖が初期胚の接着に関わるというマウスで観察されたことが、発生段階は違うもののメダカでも起こることを示している。問題は、どのように Le^X-gp の巨大糖鎖が細胞接着に関与するのか、特に E-cadherin とそのシグナル経路とどのように関わるのかが不明な点である。この点を明らかにするために、Le^X-gp の構造と Le^X-gp から発せられるシグナル経路を理解し、さらに E-cadherin との関係の解明することを目指す。

(2) hyosphorin の細胞増殖促進とその分子機構の解明

hyosphorin は、魚類の卵表層顆粒に局在し、受精と同時に囲卵腔中に分泌される。その際に特定のプロテアーゼの作用によって巨大糖鎖(10 kDa 程度)をもつ糖ペプチドへとプロセスされる。メダカ hyosphorin について、我々はこれまでに以下のことを明らかにしている(Kitajima *et al.*, unpublished data)：(a) 初期胚 hyosphorin は受精後から孵化する直前までの期間において、主要な糖タンパク質成分として囲卵腔中に存在する；(b) メダカ hyosphorin の巨大糖鎖、タンパク質部分、遺伝子の構造を解明している；(c) 初期胚 hyosphorin は哺乳類細胞に対して細胞増殖を促進する効果をもつ。以上のことから、初期胚 hyosphorin は糖ペプチドとして細胞増

殖促進因子であると考えられる。しかしながら、初期胚 hyosphorin がどのような分子機構で細胞増殖を促進するのか、巨大糖鎖がどのように関わるのか、については未解明であるためその解明を目指す。

3. 研究の方法

(1) Le^X-gp の細胞接着機能とその分子機構の解明

①メダカ Le^X-gp の精製と構造解析

メダカ原腸胚を採取し、Le^X-gp をゲル濾過、イオン交換、フコース特異的レクチンカラムによって精製した。巨大糖鎖構造の解析は、研究協力者で糖鎖構造解析の専門家

Kay-Hooi Khoo 博士 (Academia Sinia, Taiwan ; 主任研究員) の助言と技術協力の下に行った。タンパク質部分については、TOF-MS/MS 等の解析および Edman 分解法により決定を試みた。

②メダカ Le^X-gp の同定

①の結果、タンパク質部分の配列がわかった場合には、その情報をもとに遺伝子クローニングを行う。

③遺伝子改変メダカの解析

糖鎖構造は糖転移酵素のノックダウンによって構造改変することが可能である。そこで、巨大糖鎖の生合成に関わる糖転移酵素の中で、Le^X-構造の形成に関わるフコース転移酵素候補の遺伝子群の同定を行った。その酵素遺伝子をノックダウンメダカを調製し、初期発生への効果を評価する。作出に当たり連携研究者の日比正彦博士 (名大・生物機能開発利用研究センター・教授) の協力を得た。

④メダカ Le^X-gp の細胞接着活性と原腸形成における機能解析

(a) Le^X-gp の構造と活性相関解析：Le^X-gp の巨大糖鎖における細胞接着活性に必要な構造単位を決定する。まず、巨大糖鎖から糖鎖単位 (ルイス X 三糖、枝分かれ構造など) を抽出し、その構造をポリマー化した人工多価化プローブを合成する。そのプローブが初期胚表面および単離したラフトに対して結合する程度を評価する。また、単離したラフト同士が Le^X-gp 依存的に接着することを利用して、人工多価化プローブの阻害効果を評価する。人工多価化プローブの調製は、連携研究者の田中浩士博士 (東工大院・理工・准教授) から恵与された。

(b) 細胞レベルの解析：Le^X-gp をもつ培養細胞として、マウス F9 細胞を用いて Le^X-gp と E-cadherin の細胞接着への関与を ELISA に基づく方法によって調べた。

⑤ゼブラフィッシュ Le^X-gp の相同分子探索

巨大糖鎖が種を超えて同様の役割を果たすか否かを調べる目的で、ゼブラフィッシュ

の初期胚を用いて探索実験を行った。

(2) hyosoporphin の細胞増殖促進とその分子機構の解明

①メダカ hyosoporphin の細胞増殖促進活性の構造機能相関

まず、メダカ培養細胞を用いて、単離したメダカ初期胚 hyosoporphin 添加後の細胞数を計測する活性測定法を確立した。次に、hyosoporphin の巨大糖鎖部分 (PNGase 処理で脱離させて調製)、ペプチド部分を用いて、構造・活性相関を調べた。

②メダカ hyosoporphin の受容体の探索

まず、受容体の存在を確認する目的で、ビオチン化 hyosoporphin をリガンドとして用いて細胞増殖促進活性が観察される細胞に対して結合実験を行った。また、メダカ hyosoporphin の受容体を同定するために、メダカ hyosoporphin を固相化した樹脂を用いてアフィニティー精製を試みた。

③ゼブラフィッシュ hyosoporphin の同定

種による違いを検証することを目的として、ゼブラフィッシュの hyosoporphin の同定を目指して、精製を試みた。ゼブラフィッシュの hyosoporphin の構造決定は研究協力者の Yann Guerardel (リール科学技術大学, フランス・チームリーダー) との協力で行う予定であった。

4. 研究成果

(1) Le^X-gp の細胞接着機能とその分子機構の解明:

① Le^X-gp の精製と構造解析

メダカ初期胚表面に発見した巨大糖鎖をもつ糖タンパク質 Le^X-gp は、原腸胚形成期に細胞接着分子 E-cadherin と共同して胚細胞同士の接着を担う。そこでまず、メダカ原腸胚から Le^X-gp を精製した。種々のクロマトグラフィ操作を駆使して、初期胚 10,000 個から数 mg の Le^X-gp が精製できる方法を確認した。精製 Le^X-gp は、2 メガダルトンを超える分子量をもち、銀染色など通常のタンパク質染色では検出できず、糖含量が高いことが推定された。

次に、糖鎖構造の情報を得る目的で、質量分析を行った。その結果、Le^X 糖鎖がタンデムに 8 回反復するような新奇構造が O-型糖鎖に結合していることが判明した。

②メダカ Le^X-gp の同定

メダカ Le^X-gp のタンパク質部分およびその遺伝子の決定を行うために、メダカ胚を採取し、Le^X-gp の精製を行った。精製標品のアミノ酸配列解析を Edman 分解と質量分析によって徹底的に行ったが、特定のタンパク質の同定には至らなかった。糖鎖含有量が高く、

糖鎖が密集しているために、タンパク質部分の情報が隠れてしまっているからであると考えられる。

③遺伝子改変メダカの解析

また、巨大糖鎖生成に関わる糖転移酵素群について、候補遺伝子のひとつフコース転移酵素の発現をリアルタイム PCR によって解析した。その中で、哺乳類の類似性から Le^X 構造の合成に関与すると思われる 3 種類のフコース転移酵素遺伝子をクローニングし、その発現抑制胚を作製した。しかし、発生の進行や形態形成の異常を示すようなはっきりとした表現型は観察されなかった。

④メダカ Le^X-gp の細胞接着活性と原腸形成における機能解析

Le^X 関連糖鎖合成プローブの初期胚へ投与実験を行ったところ、きわだった効果は観察されなかった。Le^X 関連糖鎖の合成プローブ上での多価性、反復性の程度が低いことが原因と思われる。また、Le^X 構造と E-cadherin を併せもつ F9 細胞からマイクロドメインを調製し、その自己接着能を調べた。その結果、E-cadherin 依存的接着は観測されたが、糖鎖依存的接着は観察されず、メダカ初期胚で観察されるような接着における糖鎖機能の普遍性は確認できなかった。

⑤ゼブラフィッシュ Le^X-gp の相同分子探索

また、種を超えた Le^X-gp の存在を調べるために、ゼブラフィッシュ Le^X-gp の探索を行ったところ、Le^X 構造はもたないものの高分子領域に特徴的な糖タンパク質の存在が示唆された。糖鎖構造は異なるものの、種を超えて初期胚に存在する可能性が高いと考えられる。

(2) hyosoporphin の細胞増殖促進とその分子機構の解明

①メダカ hyosoporphin の細胞増殖促進活性の構造機能相関

hyosoporphin は、卵の分泌顆粒成分であり、受精と同時に卵胞腔中に分泌される。その際に巨大糖鎖 (10 kDa 程度) をもつ糖ペプチドへとプロセスされる。この hyosoporphin 糖ペプチドが細胞増殖促進因子であることをメダカ線維芽細胞 OLF-136 およびマウス線維芽細胞 BALB/c 3T3 を用いて確認した。次に、メダカ hyosoporphin 糖ペプチドを調製し、その細胞増殖促進活性を確認した。糖鎖を持たないペプチド、N-型糖鎖を調製し構造機能相関を解析したところ、ペプチド部分が重要であることが判明した。また、メダカ hyosoporphin に特異的なモノクローナル抗体 3D11 を、メダカ hyosoporphin を共有結合的に結合させたタンパク質を抗原として、脾臓とミエローマ細胞とのハイブリドーマを作製して用いて調製した。

さらに、hyosophorin 糖ペプチド添加時に動く増殖シグナルをシグナル伝達関連分子について調べたが、哺乳類で知られているシグナル分子を検出することができず、メダカに特異的なタンパク質に対する抗体が必要であることがわかった。また、hyosophorin 添加時の細胞増殖促進を阻害する種々のリン酸化酵素阻害剤の探索も行ったが、特定分子の同定に至らなかった。

種々の試薬を直接胚の外空間に投与する囲卵腔注入法を確立し、その技術を用いて、種々の作用分子を注入した時の効果を観察した。まず、hyosophorin 糖鎖に作用して糖鎖構造を改変する酵素を選び、それを囲卵腔注入して個体レベルの効果を調べたところ、フコシダーゼ、シアリダーゼの囲卵腔注入によって発生異常を起こすことがわかった。今後、これが hyosophorin 特異的であるかどうかの検討が必要である。また、抗 hyosophorin 糖鎖抗体 3D11 の注入効果を調べた結果、胚発生過程へのきわだった効果は観察されなかった。しかし、この抗体は受精阻害効果をもつことが判明し、hyosophorin が胚発生過程よりも受精時に重要な分子である可能性が示唆された。

②メダカ hyosophorin 受容体の探索

まず、ビオチン化 hyosophorin を調製し、それをリガンドとして用いて、細胞増殖促進活性が観察される BALB/c 3T3 細胞上に受容体の存在を探索した。ビオチン化 hyosophorin は細胞に保持されること、過剰量の未標識 hyosophorin の存在下ではその保持量が顕著に減少することから、hyosophorin に対する特異的受容体が存在することがわかった。また、メダカ hyosophorin を固相化した樹脂を用いたアフィニティー精製を行い、特異的に結合する複数の分子の存在が見出された。今後、これらの分子の同定を行う予定である。

③ゼブラフィッシュ hyosophorin の同定

ゼブラフィッシュ hyosophorin の同定のために材料を収集し、その精製を行った。種々のクロマトグラフィーの結果、ゼブラフィッシュ hyosophorin (zhyo) の候補分子の精製とその組成分析までは行うことができた。アミノ鎖配列は決定できなかったものの、糖鎖の組成はメダカとは異なることが判明した。今後の機能解析の基盤を確立することができた。

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)

[雑誌論文] (計 1 件)

- ① Miyata S, Yamakawa N, Toriyama M, Sato C, Kitajima K. Co-expression of two distinct polysialic acids, α 2,8- and α 2,9-

linked polymers of N-acetylneuraminic acid, in distinct glycoproteins and glycolipids in sea urchin sperm. *Glycobiology* (査読有) 21 (2011): 1596-1605.

[学会発表] (計 26 件)

- ① Ken Kitajima, Discovery of a 16-30-kDa, highly glycosylated glycoprotein from pig seminal plasma (WGA16) that regulates sperm fertilizability; 25th International Carbohydrate Symposium; 2010.8.3; 幕張メッセ (千葉県)
- ② Nao Yamakawa, A new insight into di- and oligosialic acid binding mechanism of Siglec-7; 25th International Carbohydrate Symposium; 2010.8.1-5; 幕張メッセ (千葉県)
- ③ 金沢 尊, ブタ精子鞭毛糖タンパク質 WGA-gp の細胞内カルシウム調節への関与; 第 81 回日本動物学会; 2010.9.24; 東京大学駒場キャンパス (東京都)
- ④ 丸山 恵実, メダカ卵表層胞局在糖タンパク質の発生における機能解析; 第 81 回日本動物学会; 2010.9.24; 東京大学駒場キャンパス (東京都)
- ⑤ 小林 隆史, 史哺乳類シアル酸アルドラーゼのシアル酸合成および分解活性の解析; 第 83 回日本生化学会大会; 2010.12.7-10; 神戸ポートアイランド (兵庫県)
- ⑥ 安川 裕子, 魚類 CMP-シアル酸合成酵素のシアル酸分子種認識および細胞内局在の解析; 第 83 回日本生化学会大会; 2010.12.7-10; 神戸ポートアイランド (兵庫県)
- ⑦ Hitomi Kosaki, A molecular mechanism for the specific recognition of di- and oligosialic acids by Siglec-7; 83 回日本生化学会大会; 2010.12.7-10; 神戸ポートアイランド (兵庫県)
- ⑧ Estelle Garenaux, Discovery, identification, and structure of the potential decapacitatin factor WGA16; 第30回日本糖質学会年会; 平成23年7月11日; 長岡リリックホール・ハイブ長岡 (新潟県)
- ⑨ 金沢 尊, ブタ精子膜マイクロドメインに局在する糖タンパク質 WGA-gp の生理機能; 第 30 回日本糖質学会年会; 平成 23 年 7 月 11 日; 長岡リリックホール・ハイブ長岡 (新潟県)
- ⑩ 小林 隆史, シアル酸ピルビン酸リアーゼによる細胞内シアル酸量の制御; 第 30 回日本糖質学会年会平成 23 年 7 月 11 日長岡リリックホール・ハイブ長岡 (新潟県)
- ⑪ 丸山 恵実, メダカ卵表層胞糖タンパク質 hyosophorin の糖鎖の発生における機能解析; 第 30 回日本糖質学会年会; 平成 23 年 7 月 11 日; 長岡リリックホール・ハイブ長岡 (新潟県)

- ⑫ 萩原尚文, ウニ初期胚マイクロドメインに局在するユニークな糖鎖構造とその機能; 第30回日本糖質学会年会; 平成23年7月11日; 長岡リリックホール・ハイブ長岡 (新潟県)
- ⑬ 藤田明子, 魚類 CMP-シアル酸合成酵素の性質; 比較第30回日本糖質学会年会; 平成23年7月11日; 長岡リリックホール・ハイブ長岡 (新潟県)
- ⑭ 金沢尊, ブタ精子ラフト糖タンパク質 WGA-gp の精子活性化における役割; 第82回日本動物学会大会; 平成23年9月21日; 旭川市大雪クリスタルホール・旭川 (北海道)
- ⑮ 丸山恵実, メダカ初期発生におけるシアロ糖鎖の重要性の検証; 第82回日本動物学会大会; 平成23年9月21日; 旭川市大雪クリスタルホール・旭川 (北海道)
- ⑯ 萩原尚文, ウニ初期胚マイクロドメインに局在する糖鎖抗原の構造と機能; 第82回日本動物学会大会; 平成23年9月21日; 旭川市大雪クリスタルホール・旭川 (北海道)
- ⑰ 金沢尊, ブタ精子におけるマイクロドメイン局在性糖タンパク質 WGA-gp の生理機能; 日本農芸化学会 2012 年度; 平成 24 年 3 月 25 日; 京都女子大学 (京都府)
- ⑱ Di Wu, Enzymatic properties of the insect CMP-sialic acid synthetases; 第31回日本糖質学会年会; 2012年9月17-20日; 鹿児島市民文化ホール (鹿児島県)
- ⑲ Phitak Thanyaluck, Serum content of sialic acid and its alterations with age and Alzheimer pathogenesis; 第31回日本糖質学会年会; 2012年9月17-20日; 鹿児島市民文化ホール (鹿児島県)
- ⑳ Di Wu, Molecular cloning and characterization of the insect CMP-sialic acid synthetases; SialoGlyco 2012; 2012年9月9-12日; Academia Sinica, Taipei, Taiwan
- (21) Takeru Kanazawa, Waraporn Kasekarn, Estelle Garénaux, Hiroshi Yasue, Chihiro Sato, and Ken Kitajima Regulation of the intracellular Ca²⁺ by a highly glycosylated protein on sperm microdomains. 4th Asian Communications of Glycobiology and Glycotechnology (招待講演) 2012年10月28日~2012年10月31日 OC JEJU, Jeju Island, Korea
- (22) 呉迪, Enzyme activity and intracellular localization of the insect CMP-sialic acid synthetases; 第85回日本生化学会大会; 平成24年12月14-16日; 福岡国際会議場・マリンメッセ (福岡県)
- (23) 川本英里, シアル酸種の細胞特異的選択における CMP-シアル酸トランスポーターの役割; 第85回日本生化学会大会; 平成24年12月14-16日; 福岡国際会議場・マリンメッセ (福岡県)
- (24) 羽根正弥, 統合失調症患者に見出された ST8SialII/STX が生合成するポリシアル酸の構造解析; 日本農芸化学会 2013 年度仙台大会; 2013 年 3 月 24-28 日; 東北大学川内北キャンパス・仙台 (宮城県)
- (25) 呉迪, Characterization and intracellular localization of the insect CMP-sialic acid synthetases; 日本農芸化学会 2013 年度仙台大会; 2013 年 3 月 24-28 日; 東北大学川内北キャンパス・仙台 (宮城県)
- (26) 北島健, ブタ精子 CD52 の同定と細胞内カルシウム調節機能の解明; 日本農芸化学会 2013 年度仙台大会; 2013 年 3 月 24-28 日; 東北大学川内北キャンパス・仙台 (宮城県)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

北島 健 (KITAJIMA KEN)
 名古屋大学・生物機能開発利用研究センター・教授
 研究者番号: 80192558

(2) 研究分担者

佐藤 ちひろ (SATO CHIHIRO)
 名古屋大学・生物機能開発利用研究センター・准教授
 研究者番号: 10343211

(3) 連携研究者

日比 正彦 (HIBI Masahiko)
 名古屋大学・生物機能開発利用研究センター・教授
 研究者番号: 40273627

田中 浩士 (TANAKA Hiroshi)
 東京工業大学・理工学研究科・准教授
 研究者番号: 40334544