

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 9 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25292216

研究課題名(和文)精子膜マイクロドメイン局在糖鎖による新規細胞内カルシウムイオン調節機構の解明

研究課題名(英文) Novel regulatory mechanism for intracellular calcium ion concentration by membrane microdomain-localized glycans in sperm

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,600,000円

研究成果の概要(和文)：受精における糖鎖の重要性は多数の報告があるが、遺伝子改変動物の解析結果から受精の成立には必ずしも必須ではない場合があることが例証されるなど、現在、糖鎖が関わる受精の分子機構の再評価が課題である。その課題解決のために、我々は糖鎖が集積してタンパク質や脂質とともに形成する分子複合体「細胞膜マイクロドメイン」に着目して研究を行った。本研究では、精子マイクロドメインに局在し糖鎖に富むGPI-アンカー分子が、これまで見出されていたウニと哺乳類以外にも、鳥類、両生類にも存在することを明らかにした。また、これらの分子が糖鎖を介して細胞内Caイオン調節に関わることを証明した。

研究成果の概要(英文)：Many studies using glycan-related probes have reported the importance of glycan chains in fertilization. However, glycan-related gene-modified studies have told that glycans are not always essential for a successful fertilization. It is thus a currently important subject to re-evaluate molecular mechanisms for glycan-involved events at fertilization. To solve the subject, we focused on the "membrane microdomain" that is molecular complex of proteins and lipids with highly concentrated glycans on plasma membrane. In this study, we demonstrated the followings: (1) Glycan-enriched GPI-anchor peptide on the sperm membrane microdomains ubiquitously occurs not only in sea urchin and pig, but also avians and amphibians that have never been shown to contain such GPI-anchored molecules before; (2) These glycans are involved in sperm motility through regulating the intracellular calcium ion concentration in sperm.

研究分野：糖鎖生物学

キーワード：糖鎖 受精 精子 生理活性 蛋白質 カルシウム調節 受精能獲得 GPIアンカー

1. 研究開始当初の背景

受精は、配偶子の形成・成熟、結合・融合を経て発生開始までの多段階過程である。あらゆる細胞の表面は、糖タンパク質や糖脂質に結合する糖鎖によって構成されるグリコカリックスと呼ばれる層で覆われている。とりわけ配偶子細胞表面の糖鎖は、受精における精子と卵の相互作用を媒介するなど、その機能的な重要性が報告されている。その多くの研究は、細胞表面の糖鎖あるいは糖鎖認識分子に特異的な抗体を用いて、その受精に及ぼす効果を調べることで証明されてきた。しかし近年、これらの分子のノックアウトマウスを解析することによって、これらが受精の成立には必須ではないことを証明した。また、主として遺伝子改変動物の解析から、受精機構に関する新しい知見を報告し、受精のタンパク質による分子機構の理解を大きく進展させた。しかし一方で、遺伝子改変と表現型の間には存在するブラックボックスに関わる次のような疑問を残すことになった。つまり、そもそも遺伝子改変の結果から必須ではないと結論された分子の特異抗体がどうして受精阻害を起こしたのか？また、受精の成立に関わる分子装置は複数あり、そのなかの一つの分子装置の機能的欠陥だけでは致命傷にならなかった可能性はないのか？また、種の存続に関わる分子装置は生息環境、地球環境の変化に対応するべくあらゆる準備を行っていると考えられ、通常の条件下では作動しなくても、異常 pH や浸透圧下では作動する可能性はないのか？である。これらの疑問に解答を与えるためには、我々は、一遺伝子産物の改変の効果を研究することに加えて、その遺伝子産物と相互作用して形成される分子集合体に着目してその理解を深める必要があり、特に糖鎖を含む分子集合体の機能解明には、糖鎖が顕著に集積してタンパク質や脂質と複合体を形成している分子集合体である生体膜マイクロドメインに着目し、それが分子装置としてどのように作動するのかを解明することが重要であると考えに至った。

近年、生体膜から細胞内へのシグナル伝達が生体膜マイクロドメイン（脂質ラフトなどとも呼称；以下、マイクロドメインと呼ぶ）を介して起こることが解明されてきた。その分子基盤は、シグナル伝達分子の存在にあるが、一方、マイクロドメインは糖鎖が集積する膜ドメインでもある。マイクロドメインへの糖脂質や GPI-アンカー糖タンパク質の集積はよく知られており、マイクロドメインは糖脂質や糖タンパク質由来の糖鎖を介して細胞接着やレクチンとの相互作用が起こる部位でもある。我々は、この糖鎖集積ドメインとしてのマイクロドメインにいち早く着目し、ウニの精子マイクロドメインが糖鎖を介して卵膜と相互作用することを世界で初めて報告した（Kitajima, Gordon Research Conference on Fertilization and the Activation of

Development, 1999年7月講演；受精の生物学研究者が集まる国際会議において、精子マイクロドメインの調製とその性質に関する世界初の報告をした；Ohta et al, 1999; Ohta et al, 2000; Maehashi et al, 2003）。その過程で、我々は精子マイクロドメインには、糖鎖が分子の90%以上を占め、糖鎖の大きさによって多分散性を示す GPI-アンカー糖タンパク質の存在を見出し、フラジェラシリンと命名した（Miyata et al, 2004; Miyata et al, 2006; Kanazawa et al, unpublished results）。さらに、我々はフラジェラシリンに特異的なモノクローナル抗体を調製してその効果を調べた結果、精子内の Ca イオン濃度を上昇させ、精子の運動を制止させることから、この分子が精子内 Ca イオン濃度の制御分子であることを明らかにした（Miyata et al, 2004; Miyata et al, 2006）。精子の細胞内 Ca イオン濃度の生理学的重要性を鑑み、我々は、フラジェラシリンの存在をブタ精子中にも検索した。その結果、フラジェラシリンとは構造上の同一性はないものの、マイクロドメインに局在し、糖鎖に富む GPI-アンカータンパク質で、精子内 Ca イオン濃度の制御に関わる分子として WGA-gp を見いだすことに成功した（Kasekarn et al, 2012）。そしてごく最近、我々は WGA-gp の cDNA 塩基配列を決定し、この分子が CD52 であることをつきとめた。ブタ CD52 の報告は初めてであり、成熟タンパク質は 10 アミノ酸残基、N-型糖鎖が 1 本と O-型糖鎖が 2 本からなり、糖鎖が分子のほぼ全体を占める構造をもち（投稿準備中）、糖鎖を細胞表面に提示するために発現している分子であった。

我々のこれまでに得た研究成果の新規性と重要性は、第 1 に、哺乳類以外にも CD52 と相同な分子が存在することを示唆した点である。したがって、哺乳類以外の生物においても相同機能をもつ GPI-アンカー糖タンパク質の存在が推定される。第 2 に、CD52 が精子における Ca イオン調節機能をもつという全く新しい発見をした点である。この特徴が CD52 の本来の生物学的機能の解明につながると考えられる。一方、糖鎖を提示する GPI-アンカー糖ペプチドである CD52 がどのように Ca イオン調節するのかの分子機構は謎に包まれている。

2. 研究の目的

本研究は、精子マイクロドメインに局在し高度に糖鎖修飾された GPI-アンカータンパク質の普遍的な存在と、そのカルシウムイオン調節機構を解明することを目的とする。具体的には、以下の研究内容を遂行する。

(1) 精子マイクロドメイン GPI-アンカータンパク質が哺乳類とウニ以外の生物種に普遍的に存在して、細胞内カルシウム濃度制御に関わることを証明することである。その上で、CD52 やフラジェラシリンを含み Ggplycan と総称することを提唱する。

Gagglycan には GPI-アンカーペプチド (GPI-anchored peptide) で糖鎖 (glycan) に富む特徴をもつ分子という意味である。

(2) Gagglycan によるカルシウムイオン調節機構の解明であり、特にマイクロドメイン分子集合体の役割に着目する。また、CD52 がリンパ球にも存在する事実も考慮して、適宜、血球系の CD52 にも着目する。

3. 研究の方法

(1) Gagglycan の哺乳類とウニ以外の生物種における普遍的存在の証明:

Gagglycan の相同性検索による探索

Gagglycan が広く動物種に存在することを証明するために、動物種として脊椎動物 (鳥類ニワトリ、両生類アフリカツメガエル、魚類メダカ、ゼブラフィッシュ) および無脊椎動物 (ナメクジウオ、ホヤ、ヒトデなど) について調査した。まず、哺乳類 Gagglycan/CD52 の既知の cDNA 塩基配列とタンパク質のアミノ酸配列をもとにデータベース検索した。哺乳類 Gagglycan/CD52 の成熟タンパク質部分の構造を比較すると、ブタ CD52 が 10 アミノ酸残基からなる塩基性ペプチド、ヒトとマウスでは 12 アミノ酸残基からなるそれぞれ酸性および塩基性ペプチドであり、構造的相同性は全く見出されない。また抗体の交叉性も見られない。CD52 として同定される根拠は、成熟タンパク質には存在しないシグナルペプチド (25 アミノ酸残基) および GPI-アンカーシグナル配列部分 (32 アミノ酸残基) の相同性が哺乳類間で高いことにある。そこで、これら両シグナル配列を手がかりに、脊椎動物からさかのぼって検索を進めた。

Gagglycan の哺乳類 CD52 遺伝子のシntenニーに基づく探索

哺乳類 CD52 遺伝子およびその近傍の遺伝子群のゲノム上での並びは近縁の生物でも保存されている (シntenニーが存在する) 可能性がある。哺乳類の CD52 遺伝子を含む領域に基づいて、ニワトリとアフリカツメガエルについてシntenニー解析を行った。

Gagglycan の生化学的手法による探索

ウニ Gagglycan/フラジェラシアリンおよびブタ Gagglycan/CD52 に対する抗体は、すべて糖鎖部分を認識する抗体であった。マウスやヒト CD52 に対する抗体もすべて糖鎖認識抗体であることが報告されている。したがって、抗体調製のためには、抗原として Gagglycan を調製する必要がある。まず、種々のレクチンおよび糖鎖に対する抗体を用いて、動物精子から調製したマイクロドメインの免疫プロットングを行い、スミアな染色性を示す分子を Gagglycan 候補とした。その候補分子をブタ Gagglycan/CD52 (Kasekarn, 2012) の調整法に従って精製した。精製 Gagglycan でマウスを免疫し、最終的にモノ

クローナル抗体を調製した。ニワトリから調製した GPI-アンカー分子は SpGP と命名した。なお、ニワトリとウズラの試料は、名古屋大学鳥類バイオサイエンス研究センターから提供していただいた。アフリカツメガエルとアカハライモリの精子の入手と生理学的研究については、岩尾康宏先生 (山口大学) から助言いただいた。

ニワトリ chCD52L の構造と性質

chCD52L の推定アミノ酸配列に基づいて、ペプチド合成し、そのペプチドに対する抗体を、ペプチドを KLH に結合させたものを免疫源として目ウスを免疫した。調製した抗体を抗-chCD52L と命名した。この抗体で精子を処理した時のニワトリ精子および細胞内 Ca イオン濃度に対する効果を調べた。生物種によって輸送や扱いに注意を要する場合には、生物種の専門家である研究協力者の研究室に向いて実験を行うなど助言を得て行った。また、精子運動能を解析するために、ブタ、ニワトリ精子を用いて、温度コントロール下での顕微鏡観察の準備 (備品購入) を行って利用した。

ニワトリ SpGP の構造と機能解析

ニワトリ精子から精製した SpGP の構造解析を N-末端アミノ酸配列決定、の配列に基づく cDNA クローニングによって行った。また、で調製した抗体を用いて、精子の運動性とカルシウム濃度変化に対する効果を調べた。

(2) Gagglycan の細胞内 Ca イオン濃度調節機構の解明

ブタ Gagglycan/CD52 と相互作用する Ca ポンプ/チャンネルの探索

Gagglycan/CD52 の構造的特徴は、(a) Gagglycan は GPI-アンカー分子であり細胞質内との直接的連絡がないこと; (b) 成熟分子のオリゴペプチドは、数個の糖鎖の担体としての機能をもつと推定されること; (c) 成熟分子上の糖鎖が機能を担うと考えられるが、その糖鎖構造は生物種特異的かつ Gagglycan/CD52 分子特異的であることである。これらの事実から、マイクロドメインにおいて、Gagglycan/CD52 の糖鎖が Ca ポンプ/チャンネルと結合して機能調節する分子機構、すなわち糖鎖-レクチン相互作用が想定される。

まず、ブタ Gagglycan/CD52 と相互作用する Ca ポンプ/チャンネルの同定を行った。まず、精子に Fura-2 などの蛍光カルシウム指示薬を取り込ませ、Gagglycan/CD52 特異的な抗体を作用させて、細胞内 Ca イオン変動を確認した。次に、そこに既知の Ca ポンプ/チャンネル阻害剤の中から、その Ca イオン変動をキャンセルする阻害剤を特定して、Ca ポンプ/チャンネルの種類を特定した。

プロテオミクス解析による Gagglycan/CD52 相互作用分子の同定

ブタ成熟精子からマイクロドメイン上にあって CD52/Gapglycan と同居する分子をプロテオミクス解析によって探索した。我々は、アフィニティー精製法によって、ブタ Gapglycan/CD52 が、MFG8 (透明帯 ZP 結合分子)、ADAM2 (ZP および子宮卵管接合部への結合性をもち精子の卵管移動を制御)、AQN-1 (ブタ卵管結合能をもつレクチン活性をもつ分子) と結合するという予備的結果を得ている。この事実は、ブタ Gapglycan/CD52 が卵管および配偶子の相互作用の両者に関わる可能性を示している。これらの分子の存在の確認を行った。

4. 研究成果

(1) Gapglycan の哺乳類とウニ以外の生物種における普遍的存在の証明:

Gapglycan の相同性検索による探索

ウニ flagelliasialin および哺乳類 CD52 の塩基配列およびアミノ酸配列に基づくデータベース検索を行ったが、相同性ある分子は見出せなかった。このデータベース検索にあたり、インフォーマティクスの専門家 (連携研究者: 山口芳樹博士・理研チームリーダー) の協力もお願いした。その協力に感謝する。

Gapglycan の哺乳類 CD52 遺伝子のシテニーに基づく探索

哺乳類と鳥類および両生類の近縁性に鑑み、哺乳類 CD52 遺伝子およびその近傍のゲノム領域がそのまま保存されている (シテニーが存在する) 可能性が考えられたため、ニワトリとアフリカツメガエルについて、シテニー解析を行った。その結果、いずれも哺乳類の CD52 遺伝子の位置にひとつの未知遺伝子が座乗していることが判明した。これらをそれぞれ chCD52L (ニワトリ CD52 様タンパク質) および xCD52L (アフリカツメガエル CD52 様タンパク質) と命名した。名古屋大学鳥類バイオサイエンス研究センターの木下圭司博士および大森保成博士の助言をいただいた。

Gapglycan の生化学的探索

まず、Gapglycan の存在の可能性を、脊椎動物 (鳥類ニワトリ、両生類アフリカツメガエル、アカハライモリ) について生化学的方法によって調査した。マイクロドメインを調製して、それを種々のレクチンを用いたレクチンプロット法によって解析して、マイクロドメイン局在で糖鎖に富む構造をもつ分子を Gapglycan 候補分子として見出すことができた。

鳥類ニワトリについては、シアル酸特異的レクチン MAM によって特徴的なスミア染色が得られる分子として、chSpGP を見出した。また、ウズラにおいても、項で記述するように chSpGP の相当する分子の存在を示唆することができた。

ニワトリ chCD52L の構造と性質

上記 chCD52L については、さらに解析を続けた。chCD52L の cDNA は、雄性生殖管からクローニングすることができ、その塩基配列とアミノ酸配列は、哺乳類 CD52 とはまったく似ていなかった。しかし、GPI タンパク質として発現することが推定され、その成熟タンパク質が 12 アミノ酸残基から成ること、推定糖鎖結合部位が少なくとも N-型糖鎖を含む 3~4 箇所存在する特徴は、哺乳類の CD52 の特徴と一致している。推定アミノ酸配列をペプチド合成して、そのペプチドに対する抗体 (anti-chCD52L) によってマウスを免疫して調製した。この抗体を用いて、マイクロドメイン画分を免疫染色すると 15-20 kDa にスミアな成分が検出された。chCD52L は mRNA だけでなく翻訳されて糖鎖修飾を受けていると考えられる。Anti-chCD52L を用いた組織免疫染色から、この分子は主として精巣上体から精管にいたる上皮細胞で生合成、分泌されて精子上に取り込まれることが示唆された。chCD52L の機能解析を待たなければならないが、この分子は Gapglycan の範疇にある分子であることが推定される。

これまでの結果から、少なくとも、脊椎動物では哺乳類の他には、鳥類ニワトリとウズラ、両生類カエルとイモリに、無脊椎動物では、棘皮動物ウニに候補分子の存在があると言える。とくに、鳥類における chCD52L の発見は、CD52 分子の進化の系譜を初めて構造的に明らかにすることになり、基礎科学として大きな進展をもたらすものと評価できる。

ニワトリ SpGP の構造と機能解析

ニワトリ SpGP については、陰イオンおよび陽イオン交換クロマトグラフィーを用いて精製を行い、18-22 kDa の範囲に広がるものの均一な分子として得ることができた。その分子を免疫源としてマウスで特異的なモノクローナル抗体の調製を行い、mAb.3G11 を得た。mAb.3G11 は SpGP に特異的かつ糖鎖部分も認識する抗体であることがわかった。精製 SpGP は Neu5Ac 2-3Gal 配列を末端にもつ O 型糖鎖で修飾された GPI アンカータンパク質であった。また、アミノ酸配列から候補遺伝子が同定され (名称は未公表)、それが既知遺伝子からの新規プライシング変異体であることが示された。また、mAb.3G11 を用いた局在解析から、この分子が主として精巣で生合成される分子であることが示唆された。

また、mAb.3G11 抗体による処理実験を行い、精子細胞内 Ca イオン濃度を変化させて、運動速度を低下させることが判明し、Ca 調節を介して精子運動性に関わる分子であることが示唆される。さらにウズラにも mAb.3G11 反応性と相同遺伝子の存在が認められることから SpGP 様の分子が存在することが判明した。さらに、マウスについても、雄性生殖管に既報の CD52 とは異なる局在を示す Gapglycan 様分子がしかも大量に存在することを見出したが、この分子は SpGP と類

似の分子である可能性がある。

以上、ニワトリとウズラにも見出されるこの既知遺伝子は、アミノ酸配列が脊椎動物および無脊椎動物の種を超えて高い保存性があり、種によるアミノ酸配列の多様性を特徴とする Gagglycan とは異なる範疇に分類される分子である可能性がある。

(2) Gagglycan による細胞内 Ca イオン調節機構と役割の解明:

ブタ Gagglycan/CD52 と相互作用する Ca ポンプ/チャンネルの探索

ブタ精子を用いて Gagglycan と相互作用する Ca ポンプ/チャンネルの探索を Ca イオン輸送体阻害剤によって行い、特定のポンプとチャンネル種が関与することをつきとめた。また、Gagglycan は受精能獲得後ではなく、それ以前の精子において Ca 調節に関与することが判明した。さらに、カルシウムイメージング手法を用いて、一細胞レベルのカルシウム変化をモニターする技術の導入を行い、その観察に成功した。

プロテオミクス解析による Gagglycan/CD52 相互作用分子の同定

プロテオミクス解析では、該当するイオンチャンネルまたはポンプの存在は見出せず、方法を再検討する必要がある。一方、Gagglycan とマイクロドメイン上で相互作用する分子として、卵膜と相互作用する分子群が新たに見出されたり、GPI アンカーを修飾する酵素が見出されるなど興味深い結果が得られた。今後、これらの直接的にイオン調節に関与しない分子が細胞内カルシウム制御に関わる可能性を探る必要がある。

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2件)

Kanazawa T, Suzuki E, Miyata S, Sato C, Kitajima K. Flagelliasalin: A highly glycosylated GPI-anchored protein involved in intracellular Ca²⁺ regulation in sea urchin sperm. *Glycoscience: Biology and Medicine* (eds., Taiguchi N, Endo T, Hart GW, Seeberger P, Wong CH) Vol.2 (査読有り) (2015): pp.883-889. (DOI: 10.1007/SpringerReference_396268)

Garénaux E, Kanagawa M, Tsuchiyama T, Hori K, Kanazawa T, Goshima A, Chiba M, Yasue H, Ikeda A, Yamaguchi Y, Sato C, and Kitajima K. Discovery, primary and crystal structures, and capacitation-related properties of a prostate-derived heparin-binding protein WGA16 from boar sperm. *J. Biol. Chem.* 290(9), (2015): 5484-5501

(DOI: 10.1074/jbc.M114.635268)

[学会発表](計22件)

Ken Kitajima, Takeru Kanazawa, Estelle Garénaux, Waraporn Kasekarn, Kazuki Hori, Andrés D. Maturana, Hiroshi Yasue, Chihiro Sato. Novel regulation of the intracellular Ca²⁺ by microdomain-localized GPI-anchored glycans in animal sperm. 22nd International Symposium on Glycoconjugates; June 23-28, 2013; convention center of Dalian Institute of Chemical Physics, Dalian, China (招待講演)

Di Wu, Akiko Fujita, Kayo Hamaguchi, Anne Harduin-Lepers, Philippe Delannoy, Vladislav M. Panin, Chihiro Sato, Ken Kitajima. The insect CMP-sialic acid synthetases: New features in the enzyme activity and intracellular localization. 22nd International Symposium on Glycoconjugates; June 23-28, 2013; convention center of Dalian Institute of Chemical Physics, Dalian, China (ポスター)

北島健. 不均一性は糖鎖を相互作用分子から場へと変える; 糖鎖の構造不均一性:改めてどう考える(オーガナイザー:北島健、平林淳); 日本糖質学会第32回日本糖質学会年会; 2013年8月5-7日; 大阪国際交流センター、大阪(招待講演)

Garénaux Estelle, 金川真由美, 金澤尊, 堀和紀, 安江博, 池田明美, 山口芳樹, 佐藤ちひろ, 北島健. ブタ精漿タンパク質 WGA16の精子表面への結合と解離はその糖鎖とレクチン活性が制御する. 日本糖質学会第32回日本糖質学会年会; 2013年8月5-7日; 大阪国際交流センター、大阪.

田嶋克枝, 丸山恵美, Chang Lan-Yi, 足立朋子, 橋本寿史, 日比正彦, 佐藤ちひろ, 北島健. メダカ初期発生において α 2,6-結合シアル酸残基の発現は必須である. 日本糖質学会第32回日本糖質学会年会; 2013年8月5-7日; 大阪国際交流センター.

藤田明子、熊澤慎介、小林隆史、門脇辰彦、佐藤ちひろ、北島健. 昆虫由来シアル酸アルドラーゼ SPL の存在と性質. 日本糖質学会第32回日本糖質学会年会; 2013年8月5-7日; 大阪国際交流センター、大阪.

北島健. 細胞表面糖鎖フィールドによる細胞接着と増殖シグナルの方向性の制御. 糖鎖フィールド: 糖鎖がシグナル伝達を制御する原理(シンポジウムオーガナイザー:北島健、遠藤玉夫); 第86回日本生化学会大会シンポジウム; 2013年9月11-13日; パシフィコ横浜、横浜.

川本英里, 佐藤ちひろ, 北島健. 細胞内シアル酸種の微量分別定量法の確立. 第86回日本生化学会大会; 2013年9月11-13日; パシフィコ横浜、横浜.(ポスター)

田嶋克枝, 丸山恵美, Chang Lan-Yi, 足立朋子, 橋本寿史, 日比正彦, 佐藤ちひろ, 北島健. メダカ初期胚表面 α 2,6-結合シアル酸残基は発生過程に必要である. 日本

動物学会第 84 回岡山大会; 2013 年 9 月 26-28 日; 岡山大学津島キャンパス・岡山. Estelle Garénaux, 金川真由美, 金澤尊, 堀和紀, 安江博, 池田明美, 山口芳樹, 佐藤ちひろ, 北島健. 精漿由来タンパク質 WGA16 の精子表面への結合機構. 日本動物学会第 84 回岡山大会; 2013 年 9 月 26-28 日; 岡山大学津島キャンパス・岡山.

ガレノ・エステル, 金川真由美, 土山智之, 堀和紀, 金澤尊, 千葉満, 安江博, 池田明美, 山口芳樹, 佐藤ちひろ, 北島健. プタ精漿由来新規レクチン WGA16 の精子表面への結合機構の解明. 日本農芸化学会 2014 年度東京大会; 2014 年 3 月 27-30 日; 明治大学生田キャンパス, 神奈川.

Ken Kitajima. Microdomain-localized GPI-anchored glycans and calcium regulation in animal sperm. The Royal Golden Jubilee Ph D. Congress XV. May 28-30, 2014; Jomtien Palm Beach Hotel and Resort, Pataya, Thailand. (基調講演)

北島健. 精漿タンパク質 WGA16 の糖鎖とレクチン活性依存的な精子活性化制御機構. タンパク質の物性を制御する糖鎖 3S05p (シンポジウムオーガナイザー: 高橋素子, 西原祥子); 第 87 回日本生化学会大会シンポジウム; 2014 年 10 月 17 日; 国立京都国際会館, 京都.

鈴木英里子, 宮田真路, 岩尾康宏, 佐藤ちひろ, 北島健. 動物精子ラフトに局在する糖鎖に富むタンパク質の普遍的存在の証明. 第 78 回日本生化学中部支部例会・シンポジウム; 2014 年 5 月 24 日; 名古屋大学, 野依記念学術交流館, 名古屋.

北島健. 糖鎖の常識と非常識. 平成 26 年度比較グライコム研究会; 2014 年 6 月 7 日; 名古屋市立大学薬学部; 研究棟会議室. 鈴木英里子, 宮田真路, 岩尾康宏, 佐藤ちひろ, 北島健. 動物精子ラフトにおける糖鎖に富むペプチドの普遍的存在の証明. 第 33 回日本糖質学会年会; 2014 年 8 月 10-12 日; 名古屋大学豊田講堂, 名古屋.

鈴木英里子, 宮田真路, 金澤尊, 佐藤ちひろ, 北島健. マウス雄性生殖器官における CD52 の局在解析. 日本動物学会第 85 回仙台大会; 2014 年 9 月 11-13 日; 東北大学川内北キャンパス, 仙台.

Eriko Suzuki, Takeru Kanazawa, Shinji Miyata, Keiji Kinoshita, Chihiro Sato, Ken Kitajima. Ubiquitous occurrence and function of a heavily glycosylated GPI-anchored peptides in lipid rafts of various animal sperm. 7th Asian Communications of Glycobiology and Glycotechnology (ACGG7); November 12-15, 2015; Matsushima, Miyagi, Japan.

Ken Kitajima. Functional significance of glycan-mediated interactions on sperm

microdomains during fertilization. 23rd International Symposium on Glycoconjugates (Glyco23); September 15-20, 2015; Hotel Le Méridien Lav, Split, Croatia (基調講演)

鈴木英里子, 宮田真路, 木下圭司, 佐藤ちひろ, 北島健. ニワトリ精子ラフトに局在する CD52 様糖ペプチドの発見. 日本動物学会第 86 回新潟大会; 2015 年 9 月 17-19 日; 朱鷺メッセ: 新潟コンベンションセンター, 新潟.

(21) Thanyaporn Senarai, Shinji Miyata, Chihiro Sato, Ken Kitajima. Alpha-2 macroglobulin, middle spermatid-specific protein, is involved in sperm acrosome reaction of the blue swimming crab, *Portunus pelagicus*. 日本動物学会第 86 回新潟大会; 2015 年 9 月 17-19 日; 新潟コンベンションセンター, 新潟.

(22) 土岐沙也加, 宮田真路, 佐藤ちひろ, 北島健. ウニ生殖巣における新奇ポリシアル酸含有糖タンパク質の発見と同等. 日本動物学会第 86 回新潟大会; 2015 年 9 月 17-19 日; 新潟コンベンションセンター, 新潟.

〔図書〕(計 1 件)

北島健. 第 2 章糖鎖と生命, 第 1 節 受精. 「糖鎖の新機能開発・応用ハンドブック〜創薬・医療から食品開発まで〜」(秋吉一成監修) (2015), pp. 78-83, エヌ・ティー・エス

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

山口 芳樹 (YAMAGUCHI Yoshiki)
独立行政法人理化学研究所・糖鎖構造生物学研究チーム・チームリーダー
研究者番号: 90323451

真行寺 千佳子 (SHINGYOJI Chikako)
東京大学・理学系研究科・准教授
研究者番号: 80125997