

【2023 年度 J-GlycoNet 共同研究成果報告】

2023 年度は、「課題融合型研究」3 題（すべて 2022 年度からの継続課題）、支援型糖鎖研究は合計 27 題（探索型 21、加速型 16）の共同研究を実施した。

（参考）

=課題融合型研究について=

拠点で設定した下記課題研究を公募して行う先進的糖鎖融合研究。研究者（申請者）とネットワーク内の 3 施設による合同の研究チームを編成し、糖鎖との融合による多様な生命科学の新分野創出を目指した研究を推進する（1～3 年（年度ごと継続審査有）で行う研究。（共同研究費 400 万円））。

（2023 年度からの課題）

課題 1 「糖鎖が関与する疾患の分子機構の研究」 ヒト疾病のモデル細胞、モデル動物等における各種糖鎖構造解析、糖鎖代謝解析、糖鎖動態、糖鎖情報解析、ないし臨床検体を対象にした上記糖鎖関連研究を対象とする。これまでの病態発症の分子機構の概念、診断・予防法に「糖鎖」の知見を加えることで疾患発症分子機構の理解を飛躍的に増大させることが期待できる研究課題を広く公募する。

課題 2 「多様な生物種における糖鎖関連分子に関する研究」 動物、植物、微生物を含む様々な生物種における糖鎖構造や糖鎖合成機構の解析に関する研究、ないし糖鎖認識分子（レクチン、毒素など）の糖鎖認識機構・細胞内動態・機能に関する研究、糖鎖相互作用分子や阻害分子の相互作用パラメータ解析等を対象とする。生物多様性・糖鎖多様性の理解や糖鎖応用利用の革新が期待できる研究課題を広く公募する。

課題 3 「糖鎖研究のための新技術開発」 従来の糖鎖解析手法は高速液体クロマトグラフィーや質量分析法などの物理化学的な分離現象を基盤とする計測技術で成り立っているが、糖鎖科学の飛躍的発展には新たな原理・現象に根差した糖鎖や糖鎖関連分子の技術革新が必要である。複雑な糖鎖や糖鎖複合体の解析を主眼とした分離・分析・解析システム（インフォマティクスを含む）の斬新なアイデアによる研究課題を広く公募する

=支援型糖鎖共同研究（探索型）について=

糖鎖が関わる幅広いテーマの研究を公募して行う共同研究。生命科学および周辺分野を中心に多様な研究の発展に寄与する共同研究を推進します（3～12 カ月間の短期で実施する萌芽的研究）。

=支援型糖鎖共同研究（加速型）について=

支援型糖鎖共同研究（探索型）で得られた研究成果を発展させる共同研究。（1 年以内の短期で実施する研究。審査により 3 年まで継続可能）。

【2023 年度 課題融合型研究報告】

採択番号	23K1
------	------

日本人におけるシグレックファミリー遺伝子多型と疾患発症リスクを含む表現型の相関解析

研究代表者：井ノ口仁一・大阪大学・大学院理学研究科・フォアフロント研究センター(FRC)・特任教授

参画研究者 稲森啓一郎・東北医科薬科大学・分子生体膜研究所・機能病態分子学教室・教授

山口芳樹・東北医科薬科大学・分子生体膜研究所・糖鎖構造生物学教室・教授

木下賢吾・東北大学・東北メディカル・メガバンク機構 (ToMMo)・教授

城田松之・東北大学・東北メディカル・メガバンク機構 (ToMMo)・講師

田高周・東北大学・東北メディカル・メガバンク機構 (ToMMo)・講師

西原祥子・創価大学・糖鎖生命システム融合研究所 (GaLSIC)・所長・教授

木下聖子・創価大学・糖鎖生命システム融合研究所 (GaLSIC)・副所長・教授

梶谷内晶・創価大学・糖鎖生命システム融合研究所 (GaLSIC)・教授

安形清彦・創価大学・糖鎖生命システム融合研究所 (GaLSIC)・教授

佐藤ちひろ・東海国立大学機構名古屋大学・糖鎖生命コア研究拠点 (iGCORE)

(iGMED)・センター長・教授

羽根正弥・東海国立大学機構名古屋大学・糖鎖生命コア研究拠点 (iGCORE)

(iGMED)・助教

石田秀治・東海国立大学機構岐阜大学・糖鎖生命コア研究拠点 (iGCORE) (iGMOL)

・教授

古川潤一・東海国立大学機構名古屋大学・糖鎖生命コア研究拠点 (iGCORE)・特任教授

矢木宏和・自然科学研究機構・生命創成探究センター (ExCELLS)・客員准教授

受入研究者：西原祥子・創価大学・糖鎖生命システム融合研究所 (GaLSIC)・所長・教授

【要旨】

東北メディカル・メガバンク機構 (ToMMo) の公開した全ゲノムデータベース(38KJPN)を用いて、シアル酸結合タンパク質であるシグレックファミリー (*SIGLEC 1~16*) のミスセンスバリエーションの中から、我々がこれまでに独自に開発した構造生物学的多型深刻度評価法 (VarMeter) を用いて、疾患発症リスクとの関連がある7バリエーションを新たに同定した。本研究は、シグレック遺伝子診断による疾患発症の予防・診断法の開発に直結することが期待される。

採択番号	融 - 2
------	-------

糖鎖の構造研究のための安定同位体技術の開発

研究代表者：武村政春・東京理科大学・教養教育研究院・教授

参画研究者：谷中冴子・自然科学研究機構・生命創成探究センター (ExCELLS)・准教授 (兼任)

矢木宏和・自然科学研究機構・ExCELLS・客員准教授
中嶋和紀・東海国立大学機構岐阜大学・糖鎖生命コア研究拠点 (iGCORE)・准教授
安藤弘宗・東海国立大学機構岐阜大学・iGCORE・教授
田中秀則・東海国立大学機構岐阜大学・iGCORE・助教
木下フローラ聖子・創価大学・糖鎖生命システム融合研究所・教授
矢木真穂・名古屋市立大学・大学院薬学研究科・講師
シム ジンボ・名古屋市立大学・大学院薬学研究科・博士課程学生

受入研究者：加藤晃一・自然科学研究機構・ExCELLS・教授

【要旨】

糖鎖は、核酸やタンパク質には見られない複雑な構造を有しており、シーケンス解析や立体構造解析が困難である。こうした解析には、安定同位体を用いた核磁気共鳴 (NMR) 法が有用であるが、現在の標識技術は、適応できる生物種が限られている。そこで本研究では、多様な生物種に由来する糖鎖を研究するための新しい安定同位体標識技術の開発を目指す。本年度は、 $[^{13}\text{C}]$ グルコースを唯一の炭素源とする最少培地中で培養したアカントアメーバに対して、巨大ウイルスを感染させることで、ウイルスの糖鎖を ^{13}C 標識する条件を確立することに成功した。

採択番号	融 - 3
------	-------

糖脂質異常症の遺伝子変異を基点とする糖鎖合成酵素の構造と機能調節機構

研究代表者：古川鋼一・中部大学・特定教授
参画研究者：大海雄介・中部大学生命健康科学部・助手
古川圭子・同教授; 田島織絵・同准教授
金子 慶・同助手;
安藤弘宗・岐阜大学 iGCORE・教授;
矢木宏和・ExCELLS・特任准教授
梶谷内晶・GalSIC・教授

受入研究者：北島 健・名古屋大学 iGCORE・教授

【要旨】

ガングリオシド合成酵素変異症で検出された変異酵素の発現ベクターを用いて、変異酵素の活性、二量体形成、細胞内動態等につき解析を行った。B4GALNT1 の既報の 13 変異、米国等から紹介された 3 変異、国内で検出された 1 変異に合わせ、システイン変異クローンを合わせて解析した結果、低レベルの酵素活性でも有意の糖鎖発現が得られ、二量体形成が活性発現にとって必須であること、Golgi 局在が活性の発現に重要だが十分ではないこと、等が明らかになった。

【2023 年度 支援型糖鎖研究（加速型）報告】

採択番号	23A1
------	------

レクチンの鏡像体に基づく糖結合性ペプチドの開発

研究代表者：入江一浩・京都大学・農学研究科・教授

受入研究者：中川 優・名古屋大学・糖鎖生命コア研究所・准教授

【要旨】

本研究では、L-fucose (L-Fuc) と D-galactose (D-Gal) が互いに鏡像体に近い関係にあることに着目し、L-Fuc 結合性レクチンである odorranalectin (OL) の鏡像体 (*ent*-OL) が D-Gal と結合するか否かを検証した。化学合成した *ent*-OL は単糖の D-Gal には結合しなかったが、糖鎖末端に D-Gal を有する糖タンパク質・asialofetuin に対する結合は確認できた。本結果は、*ent*-OL が糖鎖末端に D-Gal を有する糖タンパク質を認識する糖結合性ペプチドである可能性を示唆するものである。

採択番号	23A2
------	------

極性誘導分泌性糖タンパク質 Wnt の膜結合と局在の蛍光 1 分子評価

研究代表者：森垣憲一・神戸大学・バイオシグナル総合研究センター・教授

参画研究者：鈴木健一・岐阜大学・糖鎖生命コア研究所・教授、

安藤弘宗・岐阜大学・糖鎖生命コア研究所・教授

廣澤幸一郎・岐阜大学・糖鎖生命コア研究所・研究員

吉村優・神戸大学・農学研究科・博士前期課程 2 年生

肥塚雅人・神戸大学・農学研究科・博士前期課程 1 年生

受入研究者：笠井倫志・岐阜大学・糖鎖生命コア研究所・特任准教授

【要旨】

分泌性タンパク質 Wnt (ウイント) は、細胞の極性形成を誘導する重要なシグナル分子であり、個体発生や神経回路の維持に重要な細胞間コミュニケーションを司る。標的細胞、細胞膜の的確な場所に正しく誘導される必要があるが、詳しい仕組みはよくわかっていない。本研究ではパターン化人工膜を用い Wnt の脂質膜への結合時間や局在を定量した。脂質組成、糖鎖、膜タンパク質の Wnt 結合・局在への影響を定量的に評価することで、糖鎖による Wnt 膜結合の制御原理を解明、細胞間シグナル経路を分子レベルで理解する基礎情報を得られるものと期待される

採択番号	23A3
------	------

グリオーマに発現するポリシアル酸の機能構造解析

研究代表者：北爪しのぶ・福島県立医科大学・保健科学部・臨床検査学科・教授

参画研究者：藤井正純・福島県立医科大学・脳神経外科学講座・教授

長井健一郎・福島県立医科大学・脳神経外科学講座・助教

鳴瀬 悠・福島県立医科大学・脳神経外科学講座・大学院生

受入研究者：佐藤ちひろ・名古屋大学 糖鎖生命コア研究所・教授

【要旨】

要旨代表的な原発性脳腫瘍であるグリオーマには、現在診断と治療に多くの課題がある難治性がんである。本申請者らは、受容体型プロテインチロシンホスファターゼ・ゼータ (PTPRZ) がグリオーマに高発現しており、患者の脳脊髄液中に可溶性 PTPRZ (sPTPRZ) が特異的かつ著明に上昇していることを発見した (Yamanoi *et al. Neuro-oncology Advances*, 2020)。PTPRZ は高度に糖鎖修飾されており、抗体作製や治療薬開発にあたって、糖鎖に関する基礎的知見を得ることが重要である。

採択番号	23A4
------	------

小脳オルガノイドにおける硫酸化 GAG の機能解析

研究代表者：平野和己・産業技術総合研究所・細胞分子工学研究部門・主任研究員

参画研究者：伊藤和義・創価大学糖鎖生命システム融合研究所・講師

参画研究者：小倉千佳・創価大学・理工学部・助教

受入研究者：西原祥子・創価大学糖鎖生命システム融合研究所・所長

【要旨】

小脳での運動学習機構の基盤を成すプルキンエ細胞は、小脳皮質の中で最も早く分化する神経細胞である。小脳の発生において、ソニックヘッジホッグ (SHH) や FGF と各受容体との結合を介してヘパラン硫酸 (HS) などの硫酸化グリコサミノグリカン (GAG) がシグナルを制御していることが予想される。そこで、本申請課題では、探索型で得た知見を基に、3次元小脳発生モデルである「小脳オルガノイド」を用いて、ヒト小脳発生における硫酸化 GAG の役割をさらに解明する。

採択番号	23A5
------	------

脂肪分解を制御するシアル酸誘導体の探索

研究代表者：根岸 文子・帝京大学薬学部基礎生物学研究室・准教授

受入研究者：今村 彰宏・岐阜大学応用生物科学部・准教授

【要旨】

糖鎖分解酵素シアリダーゼ (NEU1) は、脂肪組織においてアディポサイトカインの分泌と脂肪分解を調

節し、NEU1 発現の異常は肥満の病態に関連する。申請者は、NEU1 に特異的なシアリダーゼ阻害物質 C9-BA-DANA を用いて、アディポサイトカインの分泌における NEU1 のシアリダーゼ活性および糖鎖修飾の重要性を明らかにする目的で解析を行った。C9-BA-DANA あるいは DANA で白色脂肪細胞を処理した場合のリポ多糖 (LPS) 刺激によるアディポサイトカインの発現変動を調べたところ、炎症性アディポサイトカインの分泌が減少することが明らかとなった。以上のことから、白色脂肪組織における炎症性アディポサイトカインの分泌に、NEU1 のシアリダーゼ活性が関与する可能性が示唆された。

採択番号	23A6
------	------

抗体の糖鎖構造と細胞侵入能の構造活性相関研究

研究代表者：眞鍋史乃・星薬科大学・薬学部・教授

参画研究者：Methanee Hiranyakorn・星薬科大学・薬学部・特任助教

伊藤和義・創価大学・糖鎖生命システム融合研究所・講師

受入研究者：西原祥子・創価大学・糖鎖生命システム融合研究所・教授

【要旨】

糖鎖構造は、タンパク質の動態に影響を及ぼすが、厳密に構造が規定された糖タンパク質の入手が難しいため、現時点でも明確な構造活性相関は得られていない。糖鎖構造を均一化した抗体の細胞内への取り込みを測定し、糖鎖が抗体の細胞表面への結合やオルガネラへの分布に及ぼす影響の相関を明らかにすることを目的とする。作製した複数の糖鎖構造均一抗体の蛍光標識、およびそれを用いたイメージング解析を行った。

採択番号	23A7
------	------

集合状態変化に依存して色調変化を示す糖脂質型超分子ヒドロゲルの開発

～糖残基の立体異性とゲル形成能との関係性の精査～

研究代表者：越智里香・高知大学・教育研究部・助教

参画研究者：山下琴代・高知大学・理工学部・4年

新谷勇喜・岐阜大学・大学院連合創薬医療情報研究科・博士後期課程2年

受入研究者：池田将・岐阜大学・工学部・教授

【要旨】

超分子ヒドロゲルとは、両親媒性分子(ゲル化剤)が水中で分子間力により自己集合することで形成されるゲル状物質であり、機能性材料として注目されている。本研究では、熱や糖加水分解酵素などの外部刺激に応答して色調変化を示す糖脂質型超分子ヒドロゲルのバリエーション拡張を目的とした。この際、

ゲル化剤分子中に導入した糖残基の立体異性がゲル形成能や分子集合体の形態に与える影響を精査することで、ゲル化剤の分子設計指針の確立を目指した。

採択番号	23A8
------	------

GPI アンカーを介した真菌型ガラクトマンナンの細胞表層輸送機構の解明

研究代表者：岡 拓二・崇城大学・生物生命学部・教授

参画研究者：門岡 千尋・崇城大学・生物生命学部・助教

受入研究者：藤田 盛久・岐阜大学・糖鎖生命コア研究所・教授

【要旨】

糸状菌の細胞壁構成糖鎖のうち最表層を覆っている糖鎖の 1 つに真菌型ガラクトマンナン (FTGM) がある。FTGM はゴルジ体に局在する各種の糖転移酵素によって生合成されることが明らかにされているが FTGM が何をキャリアー分子として生合成されて、どのように細胞表層に係留されるのかについては謎が残されている。本研究では、キャリアー分子としてもっとも有力な GPI (ホスファチジルイノシトール) アンカーの生合成酵素および遺伝子に着目して FTGM の細胞表層輸送機構を明らかにすることを目的とした。

採択番号	23A9
------	------

海水中に存在する糖鎖の測定

研究代表者：和田茂樹・筑波大学・下田臨海実験センター・助教

参画研究者：大森裕子・筑波大学・生命環境系・助教

林靖人・海洋研究開発機構・超先鋭研究開発部門・臨時研究員補助員

受入研究者：古川潤一・名古屋大学・糖鎖生命コア研究所・教授

【要旨】

海洋には大気 CO₂ 量に匹敵する有機炭素量が存在しており、海水中の糖の組成はその動態を示す指標となり得ることから、気候変動のメカニズム解明への貢献が期待できる。本研究は海水中の糖鎖を測定する初の試みであり、自然海水試料の糖鎖解析を実施してきた。海水においては、遊離糖鎖と N 型糖鎖の間で海水中の糖鎖の分布様式に明瞭な違いがあり、N 型糖鎖が選択的に海洋深層へ輸送されている可能性が示された。

採択番号	23A10
------	-------

植物スフィンゴ糖脂質の加水分解を起点とする細胞シグナルに関する研究

研究代表者：田中保・徳島大学・大学院社会産業理工学研究部・教授

参画研究者：石川寿樹・埼玉大学・大学院理工学研究科・准教授

長野稔・立命館大学・生命科学部・講師

受入研究者：田中秀則・岐阜大学・糖鎖生命コア研究所・准教授

【要旨】

本研究で合成されたイノシトールグリカン(InoGly)を標準品に用いることで、植物スフィンゴ糖脂質のグリコシルイノシトールホスホセラミド(GIPC)の末端糖鎖が、マンノースであることが決定された。InoGly の単離法および定量法が開発され、植物組織の破碎によって産生されることがわかった。現在、InoGly が植物の感染応答に関わっている可能性を検討中である。

採択番号	23A11
------	-------

遊離 N-glycan の構造解析法

研究代表者：篠原 康郎・金城学院大学・薬学部・教授

受入研究者：古川潤一・名古屋大学・糖鎖生命コア研究所・特任教授

【要旨】

糖鎖の研究を進めていく上で、糖鎖の構造解析を行うこと重要な要素技術となる。ハイマンノース型やパウチマンノース型の遊離 N-glycan は構造のバリエーションも限られており、構造解析によってその代謝経路がかなり明らかにされつつある。他方、ハイブリッド型やコンプレックス型の遊離 N-glycan がオートファジー欠損細胞およびさまざまながん組織、正常な個体の体液等で近年観察されているものの、これらの遊離 N-glycan の代謝経路はなお不明な点が多く残されている。本研究では、ハイブリッド型やコンプレックス型を含む遊離 N-glycan の簡便かつ有効な構造解析法を開発することを目的とする。

採択番号	23A12
------	-------

腸内細菌由来レクチンと生体防御分子 GP2 の糖鎖との相互作用解析

研究代表者：西尾 俊亮・福島大学・食農学類附属発酵醸造研究所・特任講師

参画研究者：松田 幹 ・福島大学・食農学類・教授

受入研究者：羽根 正弥・名古屋大学・糖鎖生命コア研究所・助教

【要旨】

腸管の管腔側にある粘膜バリアの機能破綻による炎症は、膵臓から腸への Glycoprotein 2 (GP2) の分泌を誘導する。GP2 は腸内細菌の線毛タンパク質 FimH と結合し、腸内細菌の定着を阻害するが、その結合は GP2 の糖鎖を介したものである。しかし、GP2 の糖鎖構造と FimH 結合活性とを定量的に解析した

報告はない。本研究では、ヒト GP2 の 2 種類のアイソフォームを組換えタンパク質として調製し、バイオレイヤー干渉法を用いて FimH との結合活性を測定した。

採択番号	23A13
------	-------

糖鎖構造のデザインによる超分子集合体構造の制御とその機能開拓

研究代表者：佐々木紀彦・鳥取大学・工学部・助教

受入研究者：池田 将・岐阜大学・工学部・教授

【要旨】

糖鎖から形成される超分子集合体の合成に関する研究は、酵素反応により得られるシクロデキストリンや菌の発酵により生産されるカードランなどの供給源が安定した一部のオリゴ糖を除いて、高純度な合成糖鎖の供給がボトルネックとなり、未開拓な領域が数多くある。本研究では糖分子をモノマーとした際に、得られる超分子集合体の形状に及ぼす影響を調査した。また、得られた超分子集合体から反応の開始剤となるタネを調整し、それを用いたタネ重合に取り組んだ。

採択番号	23A14
------	-------

小胞体タンパク質品質管理因子 UGGTs の機能解析

研究代表者：蜷川 暁・バイオシグナル総合研究センター・助教

参画研究者：森 和俊・京都大学大学院理学研究科・教授

松尾 将生・神戸大学大学院農学研究科・大学院生

受入研究者：矢木 宏和・自然科学研究機構・ExCELLS・特任准教授

【要旨】

小胞体タンパク質品質管理機構は、膜タンパク質や分泌タンパク質の生合成に必須である。本研究では、小胞体タンパク質品質管理機構のうち、タンパク質が構造形成できない場合のみに機能する構造形成のセーフティネットとしての役割を行う UGGT の真の機能を明らかにできた。具体的には、UGGT が小胞体において生合成される広い基質に作用し、構造形成だけでなく分解にも影響があることを示した。小胞体タンパク質品質管理機構の分子機構の理解が進み、糖尿病などの小胞体関連疾患の新規予防、治療法などにつなげたい。

採択番号	23A15
------	-------

疾患関連糖鎖と結合する海産無脊椎動物レクチンの比較解析

研究代表者：大関泰裕・横浜市立大学大学院・生命ナノシステム科学研究科・教授

参画研究者：藤井佑樹・長崎国際大大学院・薬学研究科・准教授

山田雅雄・(合)エムック・代表/横浜市立大学大学院・客員教授 他 7 名

受入研究者：島村徹平・名古屋大学・医学部・教授

【要旨】

相模湾から採取したカイメン動物のトランスクリプトーム解析を行い、レクチンの構造特徴を明らかにした。2 種のカイメンの転写結果を比較し、探索型で研究したレクチンがガレクチンファミリーに属すこと、それが哺乳動物ガレクチンに存在しない付加配列をもつことを明らかにした。本ガレクチンは、腫瘍マーカーである TF 抗原と結合し、これを発現しているがん細胞に投与すると細胞表面への結合し、細胞内情報伝達分子を活性化させ、細胞死を誘導した。

採択番号	23A16
------	-------

新規硬組織関連タンパク質 SPARCL1 の糖鎖構造解析とその改変に基づく歯周組織維持機構の解明

研究代表者：岩山 智明・大阪大学・歯学研究科・助教

受入研究者：近藤裕史・名古屋大学・糖鎖生命コア研究所・講師

【要旨】

歯周病で失われた歯周組織を再生させるためには、歯の表面を覆う硬組織であるセメント質を再生させることが重要であるが、セメント質の形成を担うセメント芽細胞については不明な点が多く残されている。我々は最近セメント芽細胞に高発現する分子として SPARCL1 を同定した。本研究では、SPARCL1 タンパク質がセメント質と象牙質の接合部に局在すること、硬組織形成条件で細胞外に分泌されること、効率的な細胞外分泌機構を持つことを明らかとした。

【2023 年度 支援型糖鎖研究（探索型）報告】

採択番号	23E1
------	------

先天性糖鎖異常症モデルマウスの糖鎖解析

研究代表者：金川基・愛媛大学・大学院医学系研究科・教授

受入研究者：矢木宏和・自然科学研究機構・ExCELLS・客員准教授

【要旨】

先天性糖鎖異常症は糖鎖修飾経路の異常を原因とする遺伝子疾患で、糖転移酵素のみならず様々な原因遺伝子が知られており、病型は 100 種以上にのぼる。その多くは発達遅延、知的障害、筋緊張低下などの神経障害を認める。先天性糖鎖異常症遺伝子 X は様々な糖鎖修飾に関わるタンパク質であり、その欠損によって神経障害と筋障害が生じる。本研究では、患者変異をノックインした先天性糖鎖異常症モデルマウスを用いて脳・筋組織において異常がみられる糖タンパク質の同定を目指した。

採択番号	23E2
------	------

Molecular identification and mechanisms underlying microglia activation regulated by sialylated keratan sulfate glycans

Applicant :

Kenji Uchimura, Research Director, UGSF - CNRS, Univ Lille

Participants :

Hirokazu Yagi, Associate Prof, ExCELLS;

Yann Guérardel, Head, UGSF - CNRS, Univ Lille;

Hiroyuki Kaji, Prof, iGCORE Nagoya Univ; Kenji Kadomatsu, Director, iGCORE Nagoya Univ

Host researcher :

Shiori Go, Assistant Prof, iGCORE Nagoya Univ

[Summary]

Microglia are multifunctional immune cells that maintain brain homeostasis. Microglial activation limits the pathogenesis of neurodegenerative diseases. We previously discovered that sialylated keratan sulfate-related glycans (Sia-KS) are newly induced in activated phagocytotic microglia and regulate their activities. However, the identification of the core protein of Sia-KS and the molecular mechanisms underlying Sia-KS-mediated microglial activation remain to be elucidated. Here, we identified a core protein of Sia-KS in

microglia by high-end LC-MS/MS and explored the potential mechanisms further.

採択番号	23E3
------	------

ペプチド:N-グリカナーゼの持つレクチンドメインの基質特異性解析

研究代表者：平山弘人・理化学研究所・鈴木糖鎖代謝生化学研究室・研究員

受入研究者：藤田盛久・岐阜大学・糖鎖生命コア研究所・教授

【要旨】

Peptide:N-glycanase (PNGase/哺乳動物: NGLY1)はタンパク質上の糖鎖を切り出す脱糖鎖酵素として知られている。本酵素は真核生物に広く保存されているが、多細胞生物の PNGase/NGLY1 の C 末端にはレクチンドメインである PAW ドメインが保存されている。しかしながら、その基質特異性や生物学的機能についての詳細は明らかではない。申請者らは、精製 PAW ドメインを調製し、また、受入研究者が有する均一な N-結合型糖鎖を持つ糖タンパク質を発現する細胞ライブラリを用いることで、PAW ドメインと細胞表面糖鎖との親和性を FACS により解析した。その結果、PAW ドメインは特定の構造の高マンノース型糖鎖に非常に強い親和性を示すことを見出した。

採択番号	23E4
------	------

蛍光一分子法による糖鎖受容体の細胞膜局在性とシグナルの解析

研究代表者：村井 稔幸・大阪大学・大学院医学系研究科・助教

参画研究者：川島 博人・千葉大学・大学院薬学研究院・教授

受入研究者：鈴木 健一・岐阜大学・糖鎖生命コア研究所・教授

【要旨】

本研究は、細胞表層における糖鎖とその受容体の相互作用により発生するシグナル伝達機構を蛍光一分子法により解析することを目的としたものである。腫瘍間質には特異なグリコサミノグリカンが検出されることから、これらがシグナルの惹起において重要な役割を果たしていることが予想される。本課題では、糖鎖受容体の細胞膜局在性とシグナルを、二波長励起蛍光同時追跡イメージングにより一分子レベルで可視化する実験系を確立した

採択番号	23E5
------	------

SALSA 法を組み合わせた改良 BEP 法の開発

研究代表者：黒河内政樹・野口研究所・糖鎖有機化学研究室・研究員

受入研究者：古川潤一・名古屋大学・糖鎖生命コア研究所・特任教授

【要旨】

シアル酸の結合様式を判別できる SALS法と O 結合型糖鎖解析の改良 BEP 法（蒸発型 BEP 法）を組み合わせる事によって、MALDI-TOF MS 測定では検出が困難であったシアリル糖鎖を持つ O 結合型糖鎖解析を開発し、O 結合型糖鎖のハイスループット解析の基盤とする。

採択番号	23E6
------	------

シロイヌナズナ新規 fucosyltransferases 候補の酵素活性解析

研究代表者：植村知博・お茶の水女子大学・基幹研究院・自然科学系・教授

受入研究者：矢木 宏和・自然科学研究機構・ExCELLS・准教授

【要旨】

シロイヌナズナのタンパク質 X は、プロテオーム解析より同定された新規膜タンパク質であり、タンパク質 X に高いアミノ酸配列類似性を示す他の 4 つのタンパク質と同じタンパク質グループを構成している。構造予測解析から、fucosyltransferase と構造的な相同性が高く、Rossmann fold を有していることが明らかとなった。しかし、実際にその酵素活性を有しているかについては不明である。本研究では、このタンパク質グループが fucosyltransferase を有しているかについて生化学的な研究をおこなった。

採択番号	23E7
------	------

Screening of factors regulating GPI biosynthesis

Applicant : Yi-Shi Liu, associate professor, Jiangnan university

Host researcher : Morihisa Fujita, professor, Gifu University

[Summary]

Glycosylphosphatidylinositol (GPI)-anchored modification is a crucial post-translational modification of eukaryotic proteins, playing a significant role in various physiological functions. In previous studies, we discovered a potential link between the upregulation of GPI biosynthesis and lipid droplet metabolism. To clarify the relationship between GPI biosynthesis and lipid droplets, we conducted a genetic screening with Gecko library and identified several factors involved in GPI biosynthesis. Among them, deficiencies in specific subunits of GPI-GlcNAc transferase, including PIGQ, PIGH, PIGC, and DPM2, led to a reduction in GPI levels, independent of GPI-anchored proteins. Additionally, we found that diacylglycerol kinase (DGK) regulates GPI biosynthesis by promoting the reverse conversion of lipid droplets.

採択番号	23E8
------	------

Capturing the hydration dynamics of branched and linear oligosaccharides using polarizable simulations

Applicant : Sairam Swaroop Mallajosyula, Associate Professor, Indian Institute of Technology Gandhinagar, India.

Participant : Takumi Yamaguchi, Associate Professor, Japan Advanced Institute of Science and Technology (JAIST)

Host researcher : Koichi Kato, Professor, National Institutes of Natural Sciences

[Summary]

As part of the assisted joint research program we developed a revision of the Drude polarizable carbohydrate force field (FF), focusing on refining the ring and exocyclic torsional parameters for hexopyranose monosaccharides. This refinement addresses the previously observed discrepancies between calculated and experimental NMR 3J coupling values, particularly in describing ring dynamics and exocyclic rotamer populations within major hexose monosaccharides and their anomers. Specifically, α -MAN, β -MAN, α -GLC, β -GLC, α -GAL, β -GAL, α -ALT, β -ALT, α -IDO, and β -IDO were targeted for optimization. The resulting polarizable model is shown to be in good agreement with a range of quantum mechanical data, experimental NMR data and conformational energetics of monosaccharides in aqueous solutions. This offers a significant improvement of the polarizable carbohydrate force field, wherein the refinement enhances the accuracy of accessing conformational dynamics of carbohydrates in biomolecular simulations.

採択番号	23E9
------	------

ヤマトヒメミミズとミサカヒメミミズの糖鎖比較解析による再生機構の解明

研究代表者：野呂 知加子・日本大学・医学部・客員教授

参画研究者：井上 菜穂子・日本大学・生物資源科学部・准教授、斎藤 稔・文理学部・教授

受入研究者：古川 潤一・東海国立大学機構 名古屋大学・糖鎖生命コア研究所・特任教授

【要旨】

ヤマトヒメミミズは、碎片分離と頭部・後部再生による無性生殖を行う環形動物である。このミミズの再生幹細胞はネオブラストと呼ばれ、再生シグナルが入ると増殖、再生芽を形成して中胚葉系の再生を担っている。一方、ネオブラストを持たない近縁種ミサカヒメミミズは、有性生殖で増殖し、頭部は再生しない。本研究では、再生と生殖における糖鎖の役割を調べるために、この2種間で、N型およびO型糖鎖の網羅的比較分析を行った。

採択番号	23E10
------	-------

Characterization of O-glycan glycoforms of IgA1 in IgA nephropathy

Applicant : Ann Chen, Professor, Hualien Tzu Chi Hospital

Participant : I-Lin Tsai, Associate Professor, Taipei Medical University
Shuk-Man Ka, Professor National Defense Medical Center
Shinn-Zong Lin, Hualien Tzu Chi Hospital, Professor
Yohei Tsukamoto, Researcher, Nagoya University

Host researcher : Tetsuya Okajima, Professor, Nagoya University, iGcore

[Summary]

The study aims to explore the molecular structure of galactose-deficient IgA1 (Gd-IgA1) hinge regions in IgA nephropathy (IgAN) patients to understand how IgG autoantibodies bind to specific glycoepitopes. This research could clarify the molecular and immunopathogenesis of IgAN and contribute to drug development by identifying O-glycan attachment sites and unique glycoepitopes. Although mass spectrometry is helpful in detecting abnormal O-glycans, it has limitations in pinpointing their exact locations on the IgA1 hinge region. The goal, in collaboration with iGCORE, is to define the molecular structure and exact positions of glycoepitopes on the IgA1 hinge region. Human IgA from hybridoma antibody-producing cells was digested using trypsin protease and IMPa glycoprotease to obtain (glyco)peptide fragments, which were analyzed using the mass spectrometer Orbitrap Fusion Eclipse. The analysis detected ions from glycopeptide fragments of the hinge region, identifying six O-GalNAc modification sites, with four being particularly well-modified. The data also indicated that in samples with low reactivity to the anti-GalNAc antibody KM55, the extension of galactose at T255 is likely suppressed.

採択番号	23E11
------	-------

糖転移酵素の特異性・疾患関連性解析のためのグライコプロテオミクス分析法の改良

研究代表者：中ノ三弥子・広島大学・大学院統合生命科学研究科・准教授

受入研究者：木塚康彦・東海国立大学機構・糖鎖生命コア研究所・教授

【要旨】

タンパク質に結合している糖鎖の分岐構造を形成する「糖転移酵素」の活性制御メカニズムの解明を目指すために、タンパク質の糖鎖結合部位特異的に糖鎖構造解析が高感度で詳細に解析できるグライコプロテオミクス法の改良を行った。さらに、その改良法を用いて、ある糖転移酵素を欠損させたマウスの細胞から精製した微量な 2 つの糖タンパク質を質量分析に供し、この糖転移酵素が好む糖鎖付加部位を同定することができた。

採択番号	23E12
------	-------

IgG 上の炎症型・抗炎症型糖鎖の作用機序と発現制御メカニズムの解明

研究代表者：大海雄介・中部大学・生命健康科学部・講師

受入研究者：田嶋優子・名古屋大学・糖鎖生命コア研究所・講師

【要旨】

IgG 上には N 型糖鎖が結合し、IgG の機能を調節すると報告されているが、その作用機序は不明な点が多い。本研究では、IgG 上の糖鎖にシアル酸を付加させ、その IgG をマウス末梢血単核球 (PBMC) に反応させることで、PBMC のサイトカイン遺伝子の発現レベルを検討した結果、シアル酸を付加させた IgG では、シアル酸が付加していない IgG に比べ、炎症性サイトカインの発現が低下した。これは、シアル酸の付加によって、PBMC の活性を抑制したことを示している。また、一方で、in vivo レベルにおけるシアル酸付加 IgG の研究は、あまり行われていない。そこで、我々は、今回、活性化 B 細胞特異的糖転移酵素遺伝子改変マウス (St6gal1^{LPL} x AID-Cre マウス、B4galt1^{LPL} x AID-Cre マウス) を作製した。これらのマウスから血清 IgG を回収し、その糖鎖構造を調べたところ、St6gal1^{LPL} x AID-Cre マウスより、むしろ B4galt1^{LPL} x AID-Cre マウスの方が、シアル酸まで伸長することが明らかになった。これにより、in vivo レベルでのシアル酸付加 IgG の解析が可能となった。

採択番号	23E13
------	-------

高強度持久性運動の前後で血漿の糖鎖は変わるのか？

研究代表者：武政 徹・筑波大学・体育系・教授

参画研究者：白井隆長・筑波大学・体育系・常勤研究員

受入研究者：古川潤一・名古屋大学・糖鎖生命コア研究所・特任教授

【要旨】

一般成人はフルマラソン走破直後から 24 時間後にかけて筋損傷損傷や炎症応答が上昇すると考えられる。本研究では、フルマラソン前後での血液中における各種指標マーカーの変動をモニターした。また、主観的筋痛および全身疲労度についても調べた。その結果、炎症マーカー群は様々なパターンで上昇した。一方で、糖鎖の変化とフルマラソンとの関係は調べられてなく、糖鎖の変化と高強度持久性運動へのレスポンスに関して探索的な研究を実施する。

採択番号	23E14
------	-------

Symbiotic Sugar: How sugar biology regulates symbiosis between anemonefish and their hosts

Applicant : Vincent Laudet, Professor, Okinawa Institute of Science and Technology

Participant : Natacha Roux, Post-doc, Okinawa Institute of Science and Technology, Chihiro Sato, Professor, Nagoya University, Di Wu, Assistant Professor, Nagoya University, Takahiro Nakagawa, PhD Student, Nagoya University

Host researcher : Ken Kitajima, Professor, Nagoya University

[Summary]

The symbiosis of clownfish with host sea anemone is unique as these fishes avoid the discharge of stinging toxins by the cnidocytes, dedicated cells in the tentacles of sea anemone. However, the mechanisms through which the clownfishes avoid triggering the cnidocyte discharge are largely unknown. We have accumulated evidence that the surface glycosylation status of the clownfish is key in the acquisition of resistance. Namely, we have observed that clownfish mucus does not contain certain sialic acids that are known to trigger cnidocyte discharge. In this collaboration we would like to test our model by engineering fishes with different levels of sialic acid to see directly if we can render resistant to sea anemone tentacles, fish that are naturally sensitive.

採択番号	23E15
------	-------

糖鎖高次構造・運動性制御のための非天然型糖鎖の化学合成

研究代表者：石井希実・群馬大学 大学院理工学府・分子科学部門・助教

参画研究者：山口拓実・北陸先端科学技術大学院大学・マテリアルサイエンス・准教授

受入研究者：加藤晃一・自然科学研究機構・生命創成探究センター(ExCELLS)・教授

【要旨】

糖鎖は複雑な分岐構造により創り出される空間と運動性を利用して生命情報を伝えると考えられる。本研究課題では、糖鎖の分岐部分の構造が糖鎖の高次構造ならびに運動性に与える影響を明らかにするために、糖鎖の分岐部分を β Man 残基から β Gal、 β Glc 残基に変えた糖鎖を系統的に合成、NMR 解析と MD シミュレーションにより解析した。MD シミュレーションの結果より Glc 型糖鎖は Man 型、Gal 型に比べ、多様な立体構造パターンを示したことから、分岐部分のヒドロキシ基の配向が糖鎖の立体構造に影響を与えることが示唆された。

採択番号	23E16
------	-------

Development of a comprehensive screening system for glycans that prevent viral infection

Applicant : Hitoshi Takemae Senior Assistant Professor, TUAT

Participant : Ryosuke Nagatomo (iGCORE), Clément Delannoy (UGSF)

Host researcher : Yann Guerardel, Designated Professor, iGCORE Gifu University

[Summary]

The aim of this project is to develop and demonstrate the use of a platform for high throughput identification of glycan ligands and their interaction and inhibition against various viruses. During this study we have optimized the extraction, purification and coupling of N-glycans to a bifunctional fluorescent probe printed on activated solid surfaces. We have also shown that this probe can be used to separate and analyze N-glycans by LC-MS, paving the way for the construction of natural glycan arrays.

採択番号	23E17
------	-------

新規糖複合体の合成と抗がん活性評価

研究代表者：山口 英士・岐阜薬科大学・薬学部・講師

参画研究者：平島 一輝・岐阜大学・大学院連合創薬医療情報研究科・G-YLC 特任助教

受入研究者：岡 夏央・岐阜大学・工学部・教授

【要旨】

本研究は、糖修飾セスキテルペンの化学合成法の開発、及び生物活性の評価を目的としたものである。セスキテルペンの生物活性を維持しつつ糖による修飾を行う必要があることから、糖修飾の位置、糖-セスキテルペンをつなぐリンカーの種類、及び糖付加反応を加速する添加剤などの反応条件に関して詳細な検討を行った。加えて、修飾セスキテルペンの生物活性に関する評価を行い、活性が維持されていることを見出した。

採択番号	23E18
------	-------

構造解析による植物成長鍵因子における糖鎖の機能解析

研究代表者：

吉田英樹・福島大学・食農学類附属発酵醸造研究所・特任助教

参画研究者：松岡信・福島大学・食農学類附属発酵醸造研究所・特任教授

松田幹・福島大学・食農学類附属発酵醸造研究所・教授

西尾俊亮・福島大学・食農学類附属発酵醸造研究所・特任助教

受入研究者：佐藤ちひろ・名古屋大学・糖鎖生命コア研究所・教授

【要旨】

植物ホルモンの 1 つであるジベレリンは多様な発達過程の制御を司っており、その生理作用は DELLA

タンパク質と呼ばれる植物固有の転写因子様タンパク質によって抑制されていることが知られている。DELLA は O-fucosylation や O-GlcNAcylation といった糖鎖修飾を受けることがモデル植物であるシロイヌナズナにおいて報告されているが、それ以外の植物での解析はまだ進んでいなかった。本研究により、シロイヌナズナで報告されている fucose 転移酵素遺伝子のオルソログである OsSPY がシロイヌナズナと同様にイネの DELLA タンパク質を fucosyl 化することを *in vitro* 実験で確かめた。さらに、イネ細胞内において OsSPY とイネ DELLA タンパク質が直接結合することを明らかにし、*in vitro* と同様にイネ細胞内でも DELLA は fucosylation を受け、活性が制御されていることを示唆するデータを得た。

採択番号	23E19
------	-------

ガングリオシド改変細胞由来 EVs における糖鎖機能の解明

研究代表者：金子 慶・中部大学・生命健康科学部・助手

受入研究者：郷 詩織・名古屋大学・糖鎖生命コア研究所・特任助教

【要旨】

細胞外分泌小胞(EVs)は、直径 40-150 nm の細胞膜由来の小胞で、細胞間の情報伝達に重要である。悪性メラノーマでは、特有の糖鎖を有したシアル酸含有糖脂質（ガングリオシド）の GD3 や GD2 の高発現が認められ、がん関連抗原として利用されている。

本研究では、ガングリオシド改変メラノーマ細胞由来の細胞外分泌小胞の性状と機能を解析して、細胞外分泌小胞における糖鎖、EV マーカー、脂質ラフトマーカーなどの発現の特徴を明らかにすると共に、その標的細胞への作用解析を行い、興味深い結果を得た。

採択番号	23E20
------	-------

新規希少糖核酸の合成と生理活性評価

研究代表者：塚本 郁子・香川大学・医学部・客員教授

(2024年4月より同技能補佐員、7月より協力研究員)

参画研究者：中北 慎一・香川大学・医学部・准教授

受入研究者：岡 夏央・東海国立大学機構・岐阜大学工学部・教授

【要旨】

核酸塩基のグリコシル化反応を用いて、希少糖 D-アロースを組み込んだアデノシン誘導体(β -allofuranosyl-2-chloroadenine: AfA-Cl)の合成に成功した。これはかねてより報告している生理活性の高い新規核酸誘導体である COA-Cl と同じ塩基構造を持つ。D-アロースは種々の生理活性が報告されている希少糖である。現在 AfA-Cl の生理活性について、COA-Cl の活性を念頭に、培養細胞を用いて検証中である。

採択番号	23E21
------	-------

CIRES データベースの構築

研究代表者：竹松弘・藤田医科大学・医療科学部・教授

参画研究者：内藤裕子・所属機関・医療科学部・講師

受入研究者：木下聖子・創価大学・理工学部・教授

【要旨】

CIRES(Correlation index-based responsible enzyme gene screening)は定量的な遺伝型—表現型相関解析法であり、他細胞間でのトランスクリプトームデータと糖鎖発現データの相関解析を行うことで、糖鎖発現の量的な制御に関わる酵素遺伝子をピンポイントに同定できる利点を持つ。これに使用するトランスクリプトームデータは繰り返し使用できるため、有効に利用できることを考え（利用者は新たにとる必要が無い）、データベース化し、公開していく。