

# 糖鎖の生理機能と疾患

## Physiological functions and diseases of glycans

堀 智美 紹介教員 西原 祥子

### SYNOPSIS

In this study, the physiological functions of glycans in five research items across species were investigated, and then their associations with muscular dystrophy, colorectal carcinoma and viral infection were examined. The following results were shown for each research item. (1) The deficiency of *O*-mannosyl glycan synthesis in *Drosophila* showed a “twisted abdomen” phenotype, which was shown to be a model for muscular dystrophy. (2) Novel  $\beta$ 1,3-GalT, which synthesizes insect-specific *N*-type glycans containing T antigen in the brain of honeybees, was identified and a consensus sequence of active motifs was proposed. (3) PAPST-mediated sulfation is involved in the proliferation of colorectal cancer cells. (4) The sulfated glycan structure extracted by data mining enhances influenza virus infection. (5) Furthermore, this glycan structure is involved in the efficient propagation of human influenza virus to chicken egg.

Keywords: 糖鎖、糖転移酵素、筋ジストロフィー、昆虫、硫酸化、輸送体、大腸癌、データマイニング、インフルエンザウイルス、感染、発育鶏卵馴化

### 1. 緒言

糖鎖修飾は翻訳後修飾の1つであり、タンパク質の活性、安定性、局在などの機能を緻密に制御している。糖鎖はタンパク質の表面に存在し、発生、分化、免疫、癌など様々な生理学的プロセス、個体の生理機能の維持・調節に深く関与している[1]。糖鎖修飾を担う糖転移酵素は200種類以上存在する。その理由はそれぞれの酵素による厳密な基質特異性、結合様式のためであり、それは生物において不均一で複雑、多様な糖鎖による修飾が必要であることを示している。

本研究では糖鎖の生理機能を、①「糖転移酵素活性と筋ジストロフィー表現型との相関」、②「種固有の糖鎖構造と糖転移酵素の保存性」、③「糖鎖の硫酸化と大腸癌の関連」、④「情報科学と糖鎖生物学、ウイルス学の融合」、⑤「ウイルス感染と発育鶏卵馴化に関連する硫酸化糖鎖構造」の5つの観点から検討した。

### 2. 各研究項目の緒言、方法、結果及び考察

①「糖転移酵素活性と筋ジストロフィー表現型との相関」[2]: *O*-結合型糖鎖の1つである *O*-Man 型糖鎖は骨格筋や脳、神経系などに存在し、コアタンパク質の  $\alpha$ -ジストログリカン ( $\alpha$ -DG) とラミニンなどの細胞外マトリックスを結合させるリガンドとして機能する。ヒトにおいて多様な *O*-Man 型構造が報告されているが、還元末端側の GlcNAc、Man の2糖の構造は共通している。この *O*-Man 型糖鎖の最初のステップである Man の転移には、hPOMT1 と hPOMT2 が共発現されることが必須である[3]。hPOMTs と、次に GlcNAc を転移する hPOMGnT1 の遺伝子の変異は、先天性の筋ジストロフィー、重度な脳の奇形、眼球異常を呈する常染色体劣性遺伝病 Walker-Warburg syndrome (WWS)、および Muscle-eye-brain 病 (MEB) の原因となり、 $\alpha$ -DG 上の *O*-Man 型糖鎖構造が神経と筋肉組織の発生、維持に重要な役割を果たしていることを示している。本研究では、ショジョウバエオルソログ *dPOMT1* と *dPOMT2* の RNAi による変異体の作製、その表現型および dPOMTs 酵素活性の解析により、*O*-Man 型糖鎖構造の種を越えた機能を明らかにした。

*dPOMT1*、*dPOMT2* の *in vivo* での機能解析のために、GAL4-UAS-IR システムを用いて遺伝性かつ誘導性の RNAi 変異体を作出し、その表現型を解析した。全身性にノックダウンされた *Act5C-GAL4/UAS-dPOMT1-IR* および *Act5C-GAL4/UAS-dPOMT2-IR* 個体は生存性が低下し、共に時計回りに腹部がよじれる「腹よじれ」の表現型を示した(図1)。



Act5C-GAL4/  
UAS-dPOMT1-IR    Act5C-GAL4/  
UAS-dPOMT2-IR    野生型

図1: *dPOMT1*、*dPOMT2* RNAi 体に見られる「腹よじれ」の表現型

*dPOMT1* と *dPOMT2* の RNAi 体ではそれぞれの遺伝子のみがノックダウンされており、また、古典的な *dPOMT1* 変異体との遺伝学的相互作用解析においても「腹よじれ」の表現型を示したことから、2つの *POMT* 遺伝子は強く相互作用してハエの筋発生に機能していることが示された。

さらに *POMT* 活性について検討するため、バキュロウイルス発現系を用いて *dPOMT1*-HA および *dPOMT2* 組み換えタンパク質を調製し、その酵素活性を測定したところ、hPOMTs と同じく共発現させた場合でのみ活性を示した。加えて、*POMT1*、*dPOMT2* RNAi 体3齢幼虫抽出液においても酵素活性の低下が認められ、*in vitro* および、*in vivo* において、*dPOMT1* と *dPOMT2* は相互作用して *O*-Man 転移酵素として機能していることが明らかになった。

次いで、ショジョウバエの *POMGnT* を検索すべく BLAST サーチを行ったが、hPOMGnT1 のオルソログは見出されなかった。そこで、 $\beta$ 1-2 結合で GlcNAc を転移する酵素である dMGAT1、dMGAT2 について *POMGnT* 活性を検討したが、酵素活性は認められなかった。これらの結果は、ヒトに存在する GlcNAc  $\beta$ 1-2Man  $\alpha$  を骨格とする *O*-Man 型糖鎖構造は、*POMGnT* が無いことからショジョウバエにおいては存在しな

いことを意味しており、ヒトでは伸長した *O*-Man 糖鎖が必要であるのに対し、ショウジョウバエでは *O*-Man 単糖のみで十分であることが考えられた(図2)。

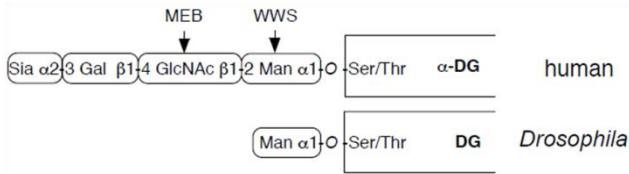


図2: ヒトとショウジョウバエの *O*-Man型糖鎖構造

近年、ヒト *O*-Man 型糖鎖構造の研究が活発に行われ、非常に複雑な構造であることが解明されており、その合成過程の不全が筋ジストロフィーを呈する疾患を伴うことが報告されている[4]。一方、モデル生物であるショウジョウバエにおいては、ヒトの複雑な糖鎖構造を合成する酵素が存在しないことが多く、*O*-Man 型糖鎖構造が大きく異なると予想される。しかしながら、我々はその後の解析により、ショウジョウバエの *O*-Man 型糖鎖が筋発生に必要であり、その欠損により運動性が低下し、寿命が短くなるという、筋ジストロフィーを模倣した表現型を示すことを報告している[5]。ヒトに比べて単純なショウジョウバエの *O*-Man 型糖鎖は、種を超えて保存されている *O*-Man 型糖鎖機能の本質を知るための良いモデルとなることがわかった。

②「種固有の糖鎖構造と糖転移酵素の保存性」[6]: 社会性を持つ昆虫であるミツバチの記憶中枢のキノコ体には、非還元末端に Gal β 1-3GalNAc (T 抗原) ユニットを持つ *N*-結合型糖鎖が存在することが報告されている。この糖鎖構造は哺乳類には認められていない[7]。本研究では、ショウジョウバエでの β 1,3-GalT の研究を元にして、昆虫特有の *N*-結合型糖鎖上の T 抗原を合成する β 1,3-GalT を同定し β 1,3-GalT の種を超えて保存される酵素活性に重要な領域を明らかにした。

*O*-結合型糖鎖であるムチン型糖鎖上の T 抗原は Core1 β 1,3-GalTs により合成される。ミツバチの Core1 β 1,3-GalT1 を同定し、この酵素が *N*-結合型糖鎖上の T 抗原を合成するのか検討したが、転移活性は認められなかった。次に *N*-結合型糖鎖合成に関わるヒトの β 1,3-GalT1、T2 をクエリーにした BLAST サーチにより、3 つのミツバチ想定 β 1,3-GalT を見出した。これらの中でショウジョウバエオルソログが脳で発現しているミツバチ β 1,3-GalT1、ミツバチ β 1,3-GalT2 をミツバチ頭部 cDNA よりクローニングし、組み換えタンパク質を作製して活性を検討した結果、共に *N*-結合型糖鎖上に T 抗原を合成する酵素であることがわかった。これら昆虫特異的な糖鎖構造を合成する β 1,3-GalT の酵素活性領域のアミノ酸配列は高度に保存されており、ヒトの β 1,3-GalTs とも保存性が認められる。これまでに報告されている β 3GT モチーフを、昆虫も含む拡張された β 3GT モチーフ、① (I/L/V)Rx(T/S)WG/A/M、② (Y/F)(L/F/I/V/M)(L/M/F)xx(D/Q)xD、③ (E/D)D(V/A)(Y/F)x(T)G L/I/M/V として拡張し、提案した。

*N*-結合型糖鎖は細胞間の情報伝達や組織形成に重要な役割を担うことから、ミツバチ脳のキノコ体に発現している T 抗原含有 *N*-型糖鎖構造も、脳組織の構成に関与している可能性がある。また、コアタンパク質の MRJP1 は女王蜂への分化誘導に必要であり、これを摂取した個体が女王となることが報告されている生理活性物質であり[8]、そこに存在する T 抗原を有する独特な *N*-結合型糖鎖もまたその活性に影響しているものと考えられる。

種特異的な糖鎖構造の存在は糖鎖の多様性を示すものであり、一方でその構造を合成する糖転移酵素のモチーフは種を超えて保存されている。このことは、糖鎖の生理機能を俯瞰して考察する上で、興味深い。

③「糖鎖の硫酸化と大腸癌の関連」[9]: 糖鎖の硫酸化は、活性硫酸である 3'-Phosphoadenosine-5'-phosphosulfate (PAPS) を硫酸供与体とする。PAPS は細胞質において合成された後、PAPS 輸送体 (PAPST) によって、硫酸化の場となるゴルジ装置内腔へ輸送される。PAPS の合成、輸送は、全ての糖鎖の硫酸化で共通するステップであり、そこに関わる分子は全ての糖鎖の硫酸化に影響を与える。

癌が発生する悪性形質転換の際、特異的な糖鎖抗原が癌細胞表面の糖タンパク質や糖脂質に発現する。硫酸化糖鎖を含む種々な糖鎖エピトープは癌の進行と増大に密接に関与し、様々なヒトの癌の診断において典型的な腫瘍マーカーとして使用されている。これらの糖鎖エピトープの出現は、糖ヌクレオチド輸送体の発現変化と関連がある[10]。しかしながら、癌における PAPST 遺伝子の発現様式の研究は行われていなかった。本研究では、ヒト大腸癌における PAPST の発現を遺伝子レベルとタンパク質レベルの双方から解析し、大腸癌細胞の増殖におけるゴルジ装置特異的な硫酸化の制御に関する役割について考察し、悪性形質転換と PAPST との関連について検討した。

ヒトの PAPST である *hPAPST1*、*hPAPST2* の大腸癌における発現を細胞株と組織で解析した。大腸癌細胞株では試行した 22 株全てで *PAPST1* が *PAPST2* に比べ高発現し、7 検体の大腸癌組織では正常大腸組織に比べ *PAPST1* の発現が増加し、*PAPST2* の発現が低下するという、相反する発現変化が示された。さらに詳細な発現解析を行うために、*PAPST1*、*PAPST2* それぞれの特異抗体を作製し、免疫組織学的解析を行った。*PAPST1* は正常大腸・大腸癌組織の両方において、細胞の核の周辺のゴルジ体で検出され、間質細胞(図3、矢印)よりも上皮細胞(図3、矢頭)で優位な発現が認められた。さらに、浸潤した癌細胞の近傍の線維芽細胞において発現が増強されていた(図3、\*)。一方、*PAPST2* は正常大腸・大腸癌組織の両方において、造血系の細胞で高発現していた(図3、四角印)。上皮細胞での発現は正常大腸組織において優位に検出され、癌組織ではわずかであった。これらの結果により、大腸癌組織において、間質線維化反応近傍の線維芽細胞で *PAPST1* の発現は増加し、上皮性大腸癌細胞で *PAPST2* の発現は減少することが示された。癌組織での *PAPST1* の増強した発現は、間質線維化反応と関連していると考えられた。

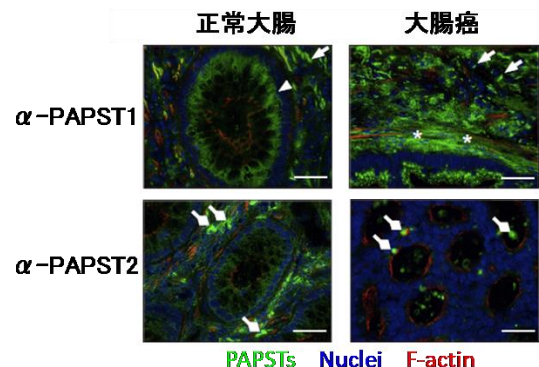


図3: 正常大腸および大腸癌組織におけるPAPSTsの発現

次いで、siRNA 導入による *PAPSTs* 遺伝子の発現抑制が、硫酸化に与える影響を大腸癌細胞 DLD-1 において検討した。3 日毎の siRNA 導入を 3 回連続で行った細胞では、それぞれの遺伝子の発現は 20% 以下に低下し、*PAPST1* と *PAPST2* のダブルノックダウンでは両方の遺伝子の発現が減少していた。これらのノックダウン細胞における、硫酸代謝標識解析、細胞増殖解析、増殖シグナル解析を行った。硫酸代謝標識解析では、24 時間の  $\text{Na}_2[^{35}\text{S}]\text{O}_4$  による代謝標識の後、ヘパラン硫酸 (HS)、コンドロイチン硫酸 (CS)、*N*-結合型糖鎖、その他糖鎖への取り込みを評価した。*PAPST1* の発現抑制では全ての硫酸化構造が影響を受けるのに対し、*PAPST2* の発現抑制では主に HS に影響が現れる結果となり、*PAPST* 遺伝子発現は硫酸化の制御をしていることが示された。WST-8 を用いた細胞増殖の解析では、*PAPST1*、*PAPST2* どちらの発現抑制細胞においても、細胞増殖が顕著に抑制された (図 4 左)。代謝標識の結果と同様に、*PAPST2* に比べ *PAPST1* ノックダウンの影響が顕著であった。これらの結果から、PAPS 輸送体は硫酸化を制御して大腸癌細胞の増殖に関与していることが明らかとなった。また、HS は多くの成長因子シグナル伝達に関与しており、HS の硫酸基と相互作用する成長因子 FGF-2 は、細胞の増殖の制御に関与することが報告されている。そこで、血清飢餓培養した発現抑制細胞を FGF-2 で刺激し、ERK の活性化を解析した。*PAPST1*、*PAPST2* どちらのノックダウンにおいても、リン酸化 ERK/total ERK の比は減少し、HS の硫酸化度の減少が FGF シグナルの活性化の抑制に反映されていることが示された (図 4 右)。これらの結果から、大腸癌細胞において、*PAPST* 遺伝子の発現が HS 依存的シグナル伝達に関与することが明らかとなった。

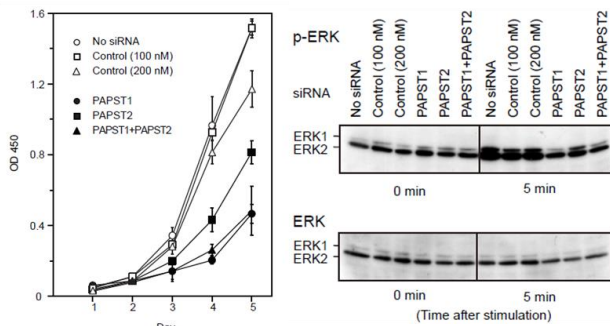


図4: *PAPSTs* 発現抑制細胞における細胞増殖と FGF-2 シグナル応答性

ERK は癌細胞において活性化し、癌の増殖・転移に関わる遺伝子群の発現を亢進させることはよく知られている[11]。*PAPSTs* の発現低下は FGF-2 による ERK の活性化を抑制させたが、逆の *PAPSTs* の発現上昇は、ERK の活性を亢進するものと考えられる。*PAPST1* が癌細胞において高発現し、特に間質線維化反応による線維芽細胞において強く発現していることは、*PAPST1* による HS の硫酸化度の増加が ERK の活性化につながり、癌の浸潤・転移に関与することを示唆している。

④「情報科学と糖鎖生物学、ウイルス学の融合」[12]: インフルエンザはヒトだけでなく多くの動物に感染する人獣共通感染症である。インフルエンザウイルスの粒子表面には、ヘマグルチニン (HA) が存在しており、インフルエンザウイルスの感染は、この HA が宿主細胞表面に存在するシアル酸に結合することで開始される[13]。ウイルス感染に関わるシアル酸以外の糖鎖を見出すべく、Glycan Miner Tool を用いたデータマイニングにより、公開糖鎖結合アレイデータから高い結合親和性を

示す糖鎖構造として Gal  $\beta$  1-4 ( $\text{SO}_3^-$ -6) GlcNAc の硫酸化糖鎖構造を抽出した。この構造が実際に感染に関わるか、感染実験で検討した。

Gal  $\beta$  1-4 ( $\text{SO}_3^-$ -6) GlcNAc 構造を合成する硫酸転移酵素 *hGlcNAc6ST-1* を安定発現する MDCK 細胞を作出し、硫酸化 GlcNAc 構造の増加をフローサイトメトリー解析により確認した。この細胞に対し、ヒト H1N1 亜型インフルエンザウイルス A/Hokkaido/11/2002 を感染させ、感染 48、72 時間後の培養上清に含まれるウイルス *M* 遺伝子をリアルタイム RT-PCR 法によって定量したところ、コントロール細胞に比べ、感染 48 時間後では約 70 倍、感染 72 時間後では約 13 倍のウイルス増加が認められた。このことより、データマイニングにより抽出された Gal  $\beta$  1-4 ( $\text{SO}_3^-$ -6) GlcNAc 構造は、ヒト H1N1 亜型ウイルスの感染を増強することがわかった。この結果は、*in silico* のデータマイニング結果の妥当性を *in vivo* の wet 実験により検証しただけでなく、シアル酸糖鎖以外のウイルス感染に関与する新規な硫酸化糖鎖構造 Gal  $\beta$  1-4 ( $\text{SO}_3^-$ -6) GlcNAc を見出したというウイルス学的な意義も持つ。

⑤「ウイルス感染と発育鶏卵馴化に関連する硫酸化糖鎖構造」[14]: ヒトのインフルエンザウイルスは  $\alpha$  2-6 結合のシアル酸 (NeuAc  $\alpha$  2-6Gal) に特異的に結合するが、鳥類のウイルスは  $\alpha$  2-3 結合のシアル酸 (NeuAc  $\alpha$  2-3Gal) に特異的に結合する[15]。ヒトの患者より分離されたインフルエンザウイルスは、発育鶏卵の羊膜腔または漿尿膜腔において植え継がれた場合、HA 分子にアミノ酸置換を持つバリエーションが選択され、多くの場合、NeuAc  $\alpha$  2-3Gal への結合性の獲得が起こる[16]。発育鶏卵における NeuAc  $\alpha$  2-6Gal より高い NeuAc  $\alpha$  2-3Gal の発現は、鶏卵継代の過程でヒトウイルスのレセプター結合特異性が NeuAc  $\alpha$  2-6Gal から NeuAc  $\alpha$  2-3Gal へシフトすることを説明しているが、ヒトインフルエンザウイルスの発育鶏卵馴化の根拠となるメカニズムは解明されていない。本研究では、Gal  $\beta$  1-4 ( $\text{SO}_3^-$ -6) GlcNAc 構造を合成する硫酸転移酵素 *GlcNAc6ST-1* を発現させた MDCK 細胞に対する発育鶏卵継代されたヒト H1N1 亜型インフルエンザウイルスの感染性の解析を通して、ヒトのインフルエンザウイルスの発育鶏卵馴化の根底にあるメカニズムを明らかにすることを目的とした。

鶏卵継代 H1N1 亜型ウイルスのレセプター結合特異性は合成糖鎖 (図 5A) を用いた固相結合解析により評価した。使用したウイルスは HKD/2002 (ヒト季節性流行株 A/Hokkaido/11/2002 (H1N1))、HYG/2011 (2009 年ヒトパンデミック株 A/Hyogo/YS/2011 (H1N1)) および結合特異性の比較のために加えたカモ H1N1 亜型ウイルス Dk/AB/1976 (A/duck/Alberta/35/1976 (H1N1)) の 3 種類で、いずれも発育鶏卵での継代により馴化されたものである。HKD/2002 は GlcNAc の硫酸化に関係なく NeuAc  $\alpha$  2-6Gal  $\beta$  1-4GlcNAc の糖鎖構造と結合した。また、NeuAc  $\alpha$  2-3Gal  $\beta$  1-4GlcNAc には結合しないものの、シアルル  $\text{Le}^x$  構造 (NeuAc  $\alpha$  2-3Gal  $\beta$  1-4 (Fuc  $\alpha$  1-3) GlcNAc) に結合した。さらに、シアルル  $\text{Le}^x$  が硫酸化された 6-スルホシアルル  $\text{Le}^x$  (NeuAc  $\alpha$  2-3Gal  $\beta$  1-4 (Fuc  $\alpha$  1-3) ( $\text{SO}_3^-$ -6) GlcNAc) に対して劇的に結合親和性が上昇し、硫酸化とフコシル化は HKD/2002 に NeuAc  $\alpha$  2-3Gal を含む糖鎖構造への結合能を付与した (図 5B)。HYG/2011 は GlcNAc の硫酸化に関係なく NeuAc  $\alpha$  2-6Gal  $\beta$  1-4GlcNAc の糖鎖構造とは結合しなかったが、NeuAc  $\alpha$  2-3Gal を含む糖鎖構造に結合し、GlcNAc の硫酸化とフコシル化により結合能が増強された (図 5C)。Dk/AB/1976 は GlcNAc への硫酸化に関係なく

NeuAc  $\alpha$  2-6Gal  $\beta$  1-4GlcNAc の糖鎖構造への結合能はわずかであった。フコシル化は NeuAc  $\alpha$  2-3Gal を含む糖鎖構造への結合能を増強させた。しかしながら、GlcNAc の硫酸化はこの結合を阻害した(図 5D)。これらの結果は、鶏卵継代のヒト H1N1 亜型インフルエンザウイルス HKD/2002 と HYG/2011 において、GlcNAc の硫酸化が NeuAc  $\alpha$  2-3Gal  $\beta$  1-4GlcNAc を含む糖鎖構造への強い結合を促すことを明確に示した。

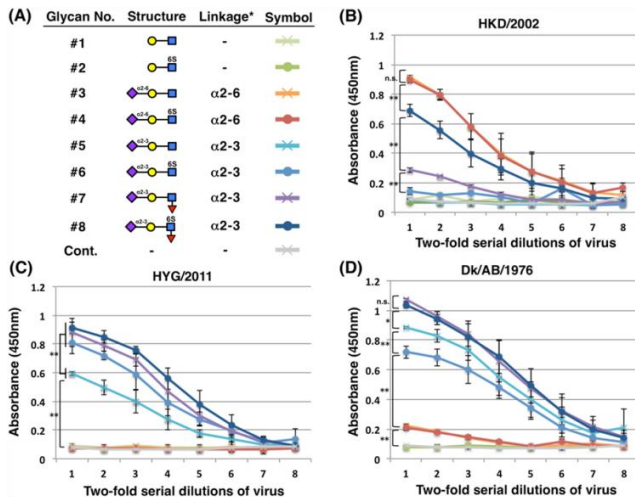


図5: 鶏卵継代H1N1ウイルスの合成糖鎖構造に対する固相結合解析

次いで、実際の感染において GlcNAc の硫酸化が HKD/2002 と HYG/2011 の感染に影響するか、前項で作出した *hGlcNAc6ST-1* を安定発現する MDCK 細胞のバルク株 Tr-1、Tr-2 を用いて検討した。まず、Tr-1、Tr-2 の細胞表面の糖鎖構造のプロファイルを FACS で解析した。Tr-1、Tr-2 はコントロール細胞に比べ MECA-79 (Gal  $\beta$  1-4 (SO<sub>3</sub><sup>-</sup>)<sub>6</sub> GlcNAc  $\beta$  1-3Gal  $\beta$  1-3GalNAc を認識)、S1 (O-結合型糖鎖上の 6-スルホシアルル Le<sup>x</sup>、NeuAc  $\alpha$  2-3Gal  $\beta$  1-4 (SO<sub>3</sub><sup>-</sup>)<sub>6</sub> GlcNAc を認識)、S2 (O-結合型糖鎖、N-結合型糖鎖上の 6-スルホシアルル Le<sup>x</sup>、NeuAc  $\alpha$  2-3Gal  $\beta$  1-4 (SO<sub>3</sub><sup>-</sup>)<sub>6</sub> GlcNAc を認識) の 3 つの抗体が認識する 6-スルホ GlcNAc 構造の増加が認められた(図 6)。一方で、SSA、MAL、MAH レクチンが認識するシアル酸構造は変化せず、CSLEX 抗体が認識するシアルル Le<sup>x</sup> 構造は減少していた。

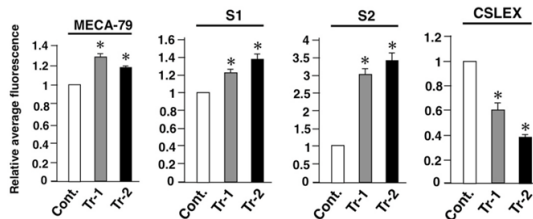


図6: *hGlcNAc6ST-1* 安定発現MDCK細胞の細胞表面の糖鎖構造

Tr-1、Tr-2 に対する HKD/2002、HYG/2011 の感染実験では、感染性のウイルス産生量の増加が示され、Dk/AB/1976 の感染では、感染性のウイルス産生量に変化は認められなかった。これらは、細胞表面での Gal  $\beta$  1-4 (SO<sub>3</sub><sup>-</sup>)<sub>6</sub> GlcNAc の発現が、鶏卵継代されたヒト H1N1 亜型インフルエンザウイルスの産生を増進するのに対し、カモ H1N1 亜型インフルエンザウイルスの産生には影響しないことを示している。

*hGlcNAc6ST-1* により増加した糖鎖構造が発育鶏卵で発現しているのか調べるために免疫組織学的染色による解析を行った。S1 抗体による染色では、漿尿膜と羊膜の胎仔側が強

く染色され、S2 抗体による染色では漿尿膜と羊膜が胎仔側、卵殻側双方で強く染色された。これらの結果は、6-スルホシアルル Le<sup>x</sup> と NeuAc  $\alpha$  2-3Gal  $\beta$  1-4 (SO<sub>3</sub><sup>-</sup>)<sub>6</sub> GlcNAc は漿尿膜と羊膜両方の表面に発現し、発育鶏卵におけるヒト H1N1 亜型インフルエンザウイルスの産生の補助として機能していることを示しており、発育鶏卵馴化を促進するカギとなるレセプターであることが明らかとなった。

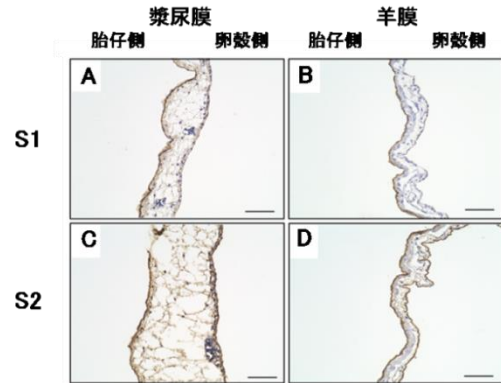


図7: S1、S2抗体による発育鶏卵漿尿膜と羊膜の免疫組織学的染色

### 3. 結論

本研究では糖鎖の生理機能を、ショウジョウバエ、ミツバチの昆虫、ヒト、ウイルスと種を越えて 5 つの研究項目から検討し、筋ジストロフィー、大腸癌、ウイルス感染の各疾患との関連の一端を明らかにした。各研究項目では、(1) ショウジョウバエにおいて O-Man 型糖鎖の合成不全が「腹よじれ」の表現型を呈し、筋ジストロフィーのモデルとなることを初めて明らかにし、(2) ミツバチ脳の T 抗原構造を有する昆虫特異的な N-結合型糖鎖を合成する  $\beta$  1,3-GalT を同定し、活性モチーフのコンセンサス配列を提示し、(3) PAPST による硫酸化の制御が大腸癌細胞の増殖に関わることを初めて明らかにした。さらに、(4) データマイニングにより抽出された硫酸化糖鎖構造の機能をウイルス感染による wet 実験で検証し、(5) 糖鎖の硫酸化がウイルス感染を増強して、発育鶏卵馴化に関与することを初めて明らかにした。

### 4. 参考文献

- Varki A. Essentials of Glycobiology, 3rd edition. 2017.
- Ichimiya T, et al. *J Biol Chem*. 2004;279:42638-42647.
- Manya H, et al. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101: 500-5.
- Endo T. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*. 2019;95: 39-51.
- Ueyama M, et al. *PLoS One* 2010;5(7):e11557.
- Ichimiya T, et al. *Glycoconj J*. 2015;32:141-151.
- Kimura Y, et al. *Biosci Biotechnol Biochem* 2006;70: 2583-7.
- Kamakura M. *Nature*. 2011;473(7348):478-83.
- Kamiyama S, Ichimiya T, et al. *Glycobiology*. 2011;21: 235-246.
- Kumamoto K, et al. *Cancer Res*. 2001;61:4620-4627.
- Maik-Rachline G, et al. *Int J Mol Sci*. 2019;20(5):1194.
- Ichimiya T, et al. *Bioinformatics*. 2014.;30:706-711.
- Luo M. *Adv Exp Med Biol*. 2012;726:201-21.
- Ichimiya T, et al. *Virology*. 2021;562:29-39.
- Connor RJ, et al. *Virology*. 1994;205:17-23.
- Ito T, et al. *J. Virol*. 1997;71:3357-3362.