

なかった。

株式会社横浜国際バイオ研究所は研究用に保有しているが販売はしていない。1,4- α ガラクトシルトランスフェラーゼはグロボ3糖を生成するが非常に収率が悪いとの情報を得た。

2) 糖鎖担持カルボシランデンドリマーの用途検討

①診断薬の検討

富山研究所では結核菌を始め、種々の感染症に関する診断薬を研究開発しており、糖鎖担持カルボシランデンドリマーの発表を聞き、これを診断薬に応用することを発案された。(株)ジーエスプラッツは富山研究所と秘密保持を含むサンプル供給契約を結び、グロボ三糖担持カルボシランデンドリマー:Dumbbell(1)6を提供し診断応用のための検討を行っている。富山研究所の報告ではポリスチレン latex、SiO₂などの担体とグロボ三糖担持カルボシランデンドリマーを混合したものを用いて、0157:H7の培地に目視可能な沈降線が見られる条件を検討したが、いずれも陰性という結果となっている。

株式会社ジェネティックラボは微量蛋白質の検出技術 IDAT 法(添付)を有している。この検出技術は検出しようとする蛋白質の抗体を用いるが、結合する蛋白質をベロ毒素とした場合抗体の代わりに糖鎖担持デンドリマーに応用することが可能である。

糖鎖担持デンドリマーに T7RNA ポリメラーゼで増幅可能なタグ配列をつけて、微量なベロ毒素でも保持抗体を用いて保持できれば T7RNA ポリメラーゼによって存在を増幅して検出することができる。この技術検討

を平成 15 年度の診断薬の検討に加えたい。

以上の結果、ベロ毒素を中和する活性ではグロボ三糖担持デンドリマーが最も優れていることから、非臨床段階の原体製造には①発酵生産システム(協和発酵)を選択することが考えられる。また、今後、課題となっている特許の対応(ライセンス等)の交渉を行いたい。また、ベロ毒素検出システムの開発を目指して、微量な蛋白質の検出技術を有する IDAT 法を用いるシステムについて株式会社ジェネティックラボとの検討を計画している。

C. 結論

平成 14 年度に発足した本プロジェクトは、これを構成する、埼玉大学、国立国際医療センター、理化学研究所、および(株)ジーエスプラッツが相互に連携し、ベロ毒素中和剤開発に向けて確実に成果をあげることができた。その成果を以下に記す。また、治療薬としての効果を評価するため研究を委託した奈良医大においても、Dumbbell(1)6 の治療薬としての効果を実証する成果をあげた。

1. 二糖 (Gal α 1-4Gal β 1) を担持した場合もベロ毒素中和活性が観測された。
2. Dumbbell(1)6 をリード化合物としてカルボシランデンドリマーの骨格を系統的に合成することができた。
3. Dumbbell(1)4 は in vitro の試験で Dumbbell(1)6 と同程度のベロ毒素に対する接着効果を発揮することが分かった。また、糖鎖担持カルボシランデンドリマーとベロ毒素接着体の結晶化の可能性が認められた。
4. 実用的合成に関する技術的環境が明らかとなった。

D. 健康危険情報

特になし

E. 研究発表

1. 発表論文

1) K. Nishikawa, K. Matsuoka, E. Kita, N. Okabe, M. Mizuguchi, K. Hino, S. Miyazawa, C. Yamasaki, J. Aoki, S. Takashima, Y. Yamakawa, M. Nishijima, D. Terunuma, H. Kuzuhara, and Y. Natori, A Therapeutic Agent with Oriented Carbohydrates for Treatment of Infections by Shiga Toxin-producing *Escherichia Coli* 0157:H7, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, pp. 7669-7674, 2002.

2) K. Matsuoka, H. Kurosawa, Y. Esumi, D. Terunuma, and H. Kuzuhara, Introduction of Monosaccharides Having Functional Groups onto a Carbosilane Dendrimer: A Broadly Applicable One-pot Reaction in Liquid Ammonia Involving Birch Reduction and Subsequent S_N2 Reaction, *Carbohydr. Res.* **329**, pp. 765-772, 2000.

3) 松岡浩司, 齋藤洋祐, 照沼大陽, 葛原弘美, カルボシラン dendrimer をコア骨格として用いた α -CD 残基の合成的アッセムブリー, *高分子論文集* **57**, pp. 691-695, 2000.

4) K. Matsuoka, M. Terabatake, Y. Esumi, D. Terunuma, H. Kuzuhara, Synthetic Assembly of Trisaccharide Moieties of Globotriaosyl Ceramide Using Carbosilane Dendrimers as Cores. A New

Type of Functional Glyco-Materials, *Tetrahedron Lett.* **40**, pp. 7839-7842, 1999.

2. 学会発表

1) 大田和拓己, 松岡浩司, 西村紳一郎, 江角保明, 幡野 健, 照沼大陽, *N*-アセチルラクトサミン誘導体の効率的合成法とカルボシラン dendrimer への導入法の検討, 日本化学会第 81 回春季年会 (早稲田) 講演予稿集 IF630, p. 948 (2001. 3).

2) 松岡浩司, 照沼大陽, *N*-アセチルラクトサミン誘導体の改良合成法とそのクラスタ化, 第 4 回グリコクラスタシンポジウム (札幌) 講演要旨集 03, p. 21 (2002. 5).

3) 阿部展久, 幡野 健, 松岡浩司, 照沼大陽, カルボシラン-ポリイミン複合型 dendrimer の合成と応用, 高分子学会第 51 回年次大会 (横浜) 講演予稿集 IIPa015, p. 315 (2002. 5).

4) 陳 珊珊, 竹澤 豊, 松岡浩司, 幡野 健, 照沼大陽, グロボ 3 糖担持カルボシラン dendrimer の合成-脂溶性基の効果の検討, 高分子学会第 51 回年次大会 (横浜) 講演予稿集 IIPd018, p. 330 (2002. 5).

5) 山田明宏, 幡野 健, 松岡浩司, 照沼大陽, ガラビオース担持カルボシラン dendrimer の合成, 高分子学会第 51 回年次大会 (横浜) 講演予稿集 IIPc019, p. 331 (2002. 5).

- 6) Suzuki, Y., Suzuki, T., Miyamoto, D., Hidari, K. I.-P.J., Guo, C.-T., Ito, T., Kanie, O., Kida, H., Nishimura, S.-I., Matsuoka, K., Terunuma, D., Kawaoka, Y., Host Range of Influenza Viruses and Approach to Develop New Anti-Influenza Drugs, XXIst International Carbohydrate Symposium (Cairns, Australia), Abstract OP057, (2002. 7).
- 7) Matsuoka, K., Ohtawa, T., Hinou, H., Koyama, T., Esumi, Y., Nishimura, S.-I., Hatano, K., and Terunuma, D., Novel *N*-Acetyllactosamine Derivative and Its Potential Reactivity as A Glycosyl Donor, XXIst International Carbohydrate Symposium (Cairns, Australia), Abstract PP155, (2002. 7).
- 8) Miyagawa, A., Kasuya, M. C. Z., Hatanaka, K., and Matsuoka, K., Synthesis of Polyacrylamide Carrying Globotriose Derivative for Immobilization on Cellulose Materials, XXIst International Carbohydrate Symposium (Cairns, Australia), Abstract PP160, (2002. 7).
- 9) 松岡浩司, 機能材料としての糖鎖クラスター, 日本糖質学会第 23 回年会 (横浜) 講演要旨集 SC-04, p. 23, (2002. 8).
- 10) 松岡浩司, 大田和拓巳, 赤木隆史, 小山哲夫, 西村紳一郎, 江角保明, 幡野 健, 照沼大陽, カルボシランをコアとした *N*-アセチルラクトサミンクラスターの合成研究, 日本糖質学会第 23 回年会 (横浜) 講演要旨集 PI-06, p. 75, (2002. 8).
- 11) 小山哲夫, 陳 珊珊, 幡野 健, 松岡浩司, 江角保明, 照沼大陽, 末端にグロボ三糖を導入した新規カルボシランデンドリマーの合成, 日本糖質学会第 23 回年会 (横浜) 講演要旨集 PI-11, p. 78, (2002. 8).
- 12) 竹澤 豊, 松岡浩司, 小山哲夫, 幡野 健, 照沼大陽, 江角保明, グロボ三糖を担持する新規糖鎖クラスターの合成, 日本糖質学会第23回年会 (横浜) 講演要旨集 PII-02, p. 109, (2002. 8).
- 13) 翁長朝典, 松岡浩司, 小山哲夫, 江角保明, 幡野 健, 照沼大陽, シアリルラクトース含有カルボシランデンドリマー群の合成研究, 日本糖質学会第23回年会 (横浜) 講演要旨集 PII-03, p. 110, (2002. 8).
- 14) 山田明宏, 幡野 健, 松岡浩司, 照沼大陽, 西川喜代孝, 名取泰博, 江角保明, 病原性大腸菌 O157 中和剤としての糖鎖担持カルボシランデンドリマーの合成と評価, 高分子学会第 51 回高分子討論会 (北九州) 講演予稿集 IIPa023, p. 1277-1278 (2002. 10).
- 15) 山田明宏, 幡野 健, 松岡浩司, 照沼大陽, 西川喜代孝, 名取泰博, 江角保明, 病原性大腸菌 O157 中和剤としての糖鎖ミカルボシランデンドリマー複合材料における骨格効果, 高分子学会第 51 回高分子討論会 (北九州) 講演予稿集 IIC13, p. 1486 (2002. 10).

16) 山田明宏, 幡野 健, 松岡浩司, 照沼大陽, 西川喜代孝, 名取泰博, 江角保明, 病原性大腸菌 0157 中和剤としての糖鎖担持カルボシランデンドリマーの合成と評価, ケイ素化学協会第7回シンポジウム (神奈川) 講演要旨集 P48, p. 74 (2002. 11).

3. 新聞報道

日経産業新聞, 2002年12月18日付け, 朝刊
13面

F. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得

出願番号 特願2002-269761

発明の名称 ガラビオース結合カルボシランデンドリマー化合物

発明者 照沼大陽、松岡浩司、幡野健、
名取泰博、西川喜代孝

出願人 株式会社ジーエスプラッツ

出願日 平成14年9月17日

糖鎖担持カルボシラン dendroliマーの生理活性評価及び病理学的解析

分担研究者 国立国際医療センター研究所臨床薬理研究部 名取泰博

研究要旨

本研究では新しいタイプの薬剤の創生を究極の目標にして、糖鎖担持カルボシラン dendroliマーについて、腸管出血性大腸菌感染症に対する新しい治療薬としての有用性に関する評価を行う。すなわち、腸管出血性大腸菌の産生するペロ毒素/志賀毒素 (Stx) の中和剤として、Stx 受容体である中性糖脂質・Gb3 の糖鎖部分を分子内に多数有するカルボシラン dendroliマーが機能するための至適構造を明らかにし、薬剤としての dendroliマーの可能性を調べる。これまで我々は分子内に Gb3 糖鎖を 3、6、及び 12 個有する 3 種類の dendroliマーについて調べ、そのうち 6 個及び 12 個の糖鎖を有する dendroliマーが Stx に強く結合し、培養細胞に対する Stx の毒性を中和することを明らかにした。今年度はさらに多種類の dendroliマーについて調べ、培養細胞レベルにおいては 4 個の糖鎖を有する dendroliマーでも強い Stx 結合阻害活性を有すること、その活性には dendroliマーの世代数（糖鎖間のスペーサーの長さ）が重要であることを明らかにした。

A. 研究目的

腸管出血性大腸菌の産生するペロ毒素/志賀毒素 (Stx) やコレラ菌の産生するコレラ毒素など、ある種の細菌性腸管感染症の病原因子は糖脂質を受容体とする菌体外毒素である。これらの毒素は毒性の本体である酵素活性を担う A サブユニットと、受容体結合活性を有する B サブユニット 5 量体からなり、B サブユニット 5 量体が標的細胞の表面にある糖脂質に結合することが毒性発揮に必須である。また B サブユニット 5 量体には最大 15 個までの糖脂質結合サイトの存在が報告され、これらのサイトのいくつかは細胞表面の糖脂質クラスターに結合することが、毒素が強く細胞に結合するのに重要と考えられている。このことから、分子内に複数の糖鎖を有する化合物はこれらの毒素と強く結合し、標的細胞への毒素の結合を阻害する可能性が考えられ、このアイデアによりいくつかの毒素中和剤が合成され、その活性について報告された。しかし現在に至るまで、実際に薬剤として開発が進んでいる化合物はない。

腸管出血性大腸菌感染症における主な死因は脳症などの合併症であり、それらは体内に侵入した Stx が引き起こす。従って同菌感染後でも体内で毒素を中和し、合併症の発症を抑制する治療法が開発されれば、重症例や死亡例の減少が期待される。また我が国を始めとする先進国ではコレラによる死者がほとんどいないのに対して、Stx の方は平成 8 年の堺など我が国各地で起きた腸管

出血性大腸菌感染症の集団発生を契機とし、昨年には宇都宮での集団発生で我が国最悪の死者 9 名が出たこともあって、国民への大きな脅威となっている。従って糖脂質を受容体とする菌体外毒素を標的として治療薬の開発を行うには、Stx が最もふさわしいと考えられる。

このような背景からこれまで我々は、共同研究者の照沼、松岡らとともに、Stx 受容体である中性糖脂質 Gb3 (Gal α 1 \rightarrow 4Gal β 1 \rightarrow 4Glc α 1 \rightarrow ceramide) の糖鎖 (グロボ 3 糖) を分子内に含有するカルボシラン dendroliマーの Stx 中和剤としての有効性を検討してきた。グロボ 3 糖の糖鎖を各々 3、6、12 個結合させた計 3 種類の dendroliマー (Super Twig と命名) の活性を調べたところ、糖鎖 6 及び 12 個の化合物が Stx に対して強い結合性を示し、培養細胞に対して毒性中和活性を示すことを発見した。さらにこのうち、糖鎖を 6 個有する化合物、Dumbbell(1)6 (括弧内の数字は世代数=分枝点の数を表わす) はマウスに対する Stx の致死活性を完全に抑制した。また Super Twig 投与で死を免れたマウスでは毒素の脳への沈着が減少し、脳の病理学的な所見が抑制されていたことから、ヒトの腸管出血性大腸菌感染症では脳症が死因となることが多いことを考え合わせると、Super Twig が臨床的にも有望であると期待されている。

これらの知見に踏まえて本研究では、新しいタイプの薬剤としての dendroliマー化合物の有用性を明らかにすることを最終目標とし、具体的に

は Stx の中和剤としてのデンドリマー化合物の評価を行う。今年度は、昨年までに検討した Super Twig に加えて、世代数や含有する糖鎖数を変えた種々のデンドリマーについて、Stx の標的細胞への結合に対する阻害活性を調べることにより、毒性を中和するのに至適なデンドリマー構造を同定することを目指した。

B. 研究方法

世代数が 0 から 2、糖鎖の数が 3 から 36 までの以下のデンドリマー、Fan(0)3、Ball(0)4、Dumbbell(1)4、Dumbbell(1)6、Fan(1)9、Ball(1)12、Dumbbell(2)18、Ball(2)36 の計 8 種類の Stx 結合阻害活性について調べた。標的細胞として培養ベロ細胞を用い、¹²⁵I 標識 Stx を細胞と 4 °C にて 30 分間インキュベーションさせる際に上記デンドリマーを種々の濃度で共存させ、細胞に結合した ¹²⁵I の放射活性を測定することにより、結合阻害活性を測定した。

C. 研究結果

世代数ゼロで糖鎖を 4 個有する化合物 Ball(0)4 は ID₅₀ が 10 µg/ml 以上と結合阻害活性が弱く、以前に報告した Fan(0)3 とほぼ同程度の活性しか示さなかった。一方、世代数 1 の化合物は Dumbbell(1)4 から Ball(1)12 まで ID₅₀ が 0.1 - 1 µg/ml とほぼ同程度であり、同じカルボシランデンドリマー骨格を有するこれら世代数 1 の化合物は、糖鎖の数にかかわらず、ほぼ同じ阻害活性を示すことがわかった。この結果から、*in vitro* における Stx の結合阻害には、デンドリマー内の糖鎖の数が 4 個で十分であることが明らかになった。また Ball(0)4 に比べて、Dumbbell(1)4 が強い結合阻害活性を示したことから、この活性は糖鎖の数のみでは規定されず、糖鎖間の距離も重要であることがわかった。また世代数 2 の化合物、Dumbbell(2)18 及び Ball(2)36 はいずれも Ball(1)12 とほぼ同じ結合阻害活性を示したことから、4 個以上に糖鎖の数を増加させてもその阻害活性はあまり強くないことがわかった。以上の結果から、Stx の標的細胞への結合を阻害する活性を指標にした場合、Dumbbell(1)4 の化合物が、活性を示す最も単純な構造であることが明らかとなった。

D. 考察

これまで報告したように、我々が開発した Super Twig は Stx への強い結合活性を有し、さらに細胞レベル及びマウス個体レベルにおいて Stx の致死活性を完全に中和する。すなわち、グ

ロボ 3 糖を 6 個有する Dumbbell(1)6 は培養細胞及びマウスに対する Stx の毒性を強力に阻害する。さらにこの Dumbbell(1)6 は体内においてマクロファージによる Stx の代謝を促進して無毒化するという、抗体による毒素中和の機構に類似した活性を示した。従って Super Twig は、これまでにない全く新しいタイプの腸管出血性大腸菌感染症の治療薬として有望と考えられる。

これらの実験結果を踏まえて本研究では、Super Twig の Stx 阻害活性に関する構造活性相関を調べた。その結果、Stx の結合阻害にはグロボ 3 糖の糖鎖の数は 4 個でも十分であることを明らかにした。Stx の糖鎖結合活性を担う B サブユニットは 5 量体構造を有し、またこの 5 量体構造中には 3 種類の糖鎖結合サイトが計 15 個存在することが報告されている。従って、Stx と標的細胞表面の Gb3、あるいは Stx と Super Twig のようなグロボ 3 糖の糖鎖クラスターを分子内に有する化合物との十分に強い結合には、各々最大 15 個のサイトによって結合する可能性が考えられる。本研究の結果から示されたように、Super Twig の分子内の糖鎖数は 4 個で十分であることから、実際の Stx と標的細胞上の Gb3 との強い結合においても、4 カ所で十分であることが示唆される。3 個あるいは 2 個の糖鎖でも十分であるかについては今後の課題である。

一方、本研究の結果から同じ 4 個の糖鎖を有する化合物でも世代数ゼロの Ball(0)4 は結合阻害活性が弱いことから、糖鎖間の距離が重要であることがわかった。すなわち 1 分子のデンドリマー上にある 4 個の糖鎖が、B サブユニット 5 量体上にある結合サイトのうち重要な 4 カ所に結合するには、十分なスペーサーを配置することにより糖鎖間の距離を長くすることが必要であり、これが短い場合には糖鎖が全ての結合サイトに届かず、強い結合が得られないことが示唆された。

前述のように、細菌毒素の中にはコレラ毒素や大腸菌易熱性毒素など、Stx と同じく B サブユニットがペンタマー構造を有し、糖脂質糖鎖を受容体とするものがある。従って、これらの毒素と受容体糖脂質との結合様式は類似していることが想像される。本研究で用いた Gb3 糖鎖の替わりに例えばコレラ毒素の受容体である GMI 糖鎖を結合させた化合物はコレラ毒素の中和剤として有効であることが十分に考えられる。また本研究は、糖鎖に結合するウイルスにも応用できる可能性があり、さらには糖鎖の代わりにペプチドのクラスターを含有するデンドリマーは、例えば 3 量体構造を有する腫瘍壊死因子など、多量体構造の生体内タンパク質に強く結合する可能性もあ

り、その応用範囲の広がりが期待される。

E. 結論

Stx の標的細胞への結合に対するカルボシランデンドリマー化合物の阻害活性について、その構造活性相関を調べ、世代数が 1、グロボ 3 糖の糖鎖数が 4 個が十分条件であることを明らかにした。今後、個々のデンドリマーと Stx との直接の結合の強さや、細胞及びマウスに対する Stx の毒性を中和する活性についても調べ、上述の構造活性相関の裏付けを得る予定である。本研究から、Stx 中和剤としての腸管出血性大腸菌感染症治療薬としてだけでなく、新しい創薬の手法が開拓され、クラスター構造が重要な様々な毒素やウィルスが関与する疾患に対しても有効な対応策が開発されることが期待される。

F. 健康危険情報
なし

G. 研究発表
論文発表

1. K. Nishikawa, K. Matsuoka, E. Kita, N. Okabe, M. Mizuguchi, K. Hino, S. Miyazawa, C. Yamasaki, J. Aoki, S. Takashima, Y. Yamakawa, M. Nishijima, D. Terunuma, H. Kuzuhara : A therapeutic agent with oriented carbohydrates for treatment of infections by Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 99:7669-7674, 2002.

H. 知的財産の出願・登録状況
なし

厚生労働科学研究費補助金（萌芽的先端医療技術推進研究事業）
分担研究報告書

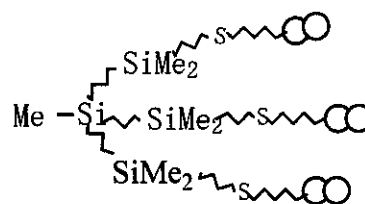
ペロ毒素、糖鎖担持カルボシラン dendリマー(Fan(1)3-Gal2)の結合様式の解析

分担研究者 宮澤 淳夫 理化学研究所

研究要旨 Stx2B と Fan(1)3-Gal2 の共結晶化を試みたところ、17 のバッファー条件下で結晶が観察された。現れた結晶の多くは、X 線結晶解析をすることが難しい微小結晶や針状結晶であった。そこで、現れた結晶の質量分析を行なうことにより、共結晶化条件の絞り込みを行なった。現れた 17 の結晶のうち、回収可能な 5 つの結晶を選び、2 μ l の PBS に回収した。室温で 3 時間インキュベーションして結晶を溶かし、MALDI-TOF 型質量分析装置で分析したところ Stx2B と Fan(1)3-Gal2 のピークが観察された。

A. 研究目的

大腸菌 O157:H7 の産生する Shiga Toxin(Stx)は、腸管上皮細胞を破壊して出血性大腸炎を引き起こし、特に 5 歳以下の小児ならびに老人においては腎臓や脳などに障害を与える溶血性尿毒症症候群を起こし死に至ることもある。O157:H7 の産生する 2 種類の Stx1 および Stx2 のうち、特に Stx2 型はガラビオース担持カルボシラン dendリマー(Fan(1)3-Gal2) と高い親和性で特異的に結合して、その毒性が中和される。そこで、更に高い中和活性を持つ高親和性の高分子化合物の合成、および実際に臨床応用して毒性中和剤として使用できる薬物の開発のためには、Stx2 と Fan(1)3-Gal2 との結合様式を原子分解能のレベルで解析し、毒性中和の分子作用機序を完全に解明することが重要である。そのためには、両者の複合体からなる良質な 3 次元結晶を作製し、X 線結晶構造解析を行い、Stx2 と Fan(1)3-Gal2 複合体の原子構造を決定する必要がある。今年度は、Stx2 と Fan(1)3-Gal2 の複合体の調製と、共結晶化条件の詳しい探索を行った。



Fan(1)3-Gal2

B. 研究方法

5.4 mg/ml のガラビオース担持カルボシラン dendリマー(Fan(1)3-Gal2)水溶液 6 μ l を、7.9 mg/ml の精製ペロ毒素(Stx2)の B サブユニット(Stx2B)水溶液 54 μ l に攪拌しながら加え、さらに 20 $^{\circ}$ C で 1 時間攪拌を続けた。コントロールとして、Fan(1)3-Gal2 のかわりに PBS を加えたサンプルを調整した。これらのサンプルを用いて、ハンギングドロップ蒸気拡散法により Stx2B サブユニットと Fan(1)3-Gal2 複合体の共結晶化条件を探索した。

C. 研究結果

ハンプトンリサーチ社より販売されて

いる、結晶化スクリーニングキットを用いて Stx2B と Fan(1)3-Gal2 の共結晶化を試みたところ、17 のバッファー条件下で結晶が観察された(表. 1)。現れた結晶の多くは、X 線結晶解析をすることが難しい微小結晶や針状結晶であった。そこで、現れた結晶の質量分析を行うことにより、共結晶化条件の絞り込みを行った。現れた 17 の結晶のうち、回収可能な 5 つの結晶を選び、2 μ l の PBS に回収した(図.1)。室温で 3 時間インキュベーションして結晶を溶かし、MALDI-TOF 型質量分析装置で分析したところ、バッファー条件 No. 15 (15% PEG8000、50 mM カコジル酸ナトリウム (pH 6.5)、100 mM 硫酸アンモニウム)で得られた結晶から Stx2B と Fan(1)3-Gal2 のピークが観察された(図.2(c))。

D. 考察

ハンプトンリサーチ社より販売されているスクリーニングキットのバッファー条件で得られた結晶は、いずれも X 線結晶構造解析には適さない微小結晶や針状結晶であった(表.1)。そこで、現れた結晶を MALDI-TOF 質量分析装置で分析することにより、Stx2B と Fan(1)3-Gal2 の共結晶の選択を試みた。結晶化に用いた Stx2B および Fan(1)3-Gal2 は、PBS 溶液中で、分子量 7836 および 1824 のピークとして観察された(図.2(a)、(b))。Stx2B、Fan(1)3-Gal2 の分子量はそれぞれ 7818、1800 であることから、PBS 中で Stx2B はサブユニットごとに 1 個の水分子が、Fan(1)3-Gal2 はナトリウムイオンが 1 つ付加した形であると考えられる。質量分析した 5 条件の結晶のうち 4 条件で Stx2B のみのピークが観察され、Fan(1)3-Gal2 との共結晶ではないことが示唆された。これら 4 条件では、コントロール実験でも同じ形状の結晶が現れた。また、ドロップ中に強いアグリゲーションが見られ、質量分析によって溶存する Stx2B と Fan(1)3-Gal2 が検出されなかったことから、Fan(1)3-Gal2 は単独、もしくは Stx2B とともにアグリゲーションを

起こし、沈殿してしまっていると思われる。バッファー条件 No. 15 で得られた結晶は、質量分析の結果から Stx2B と Fan(1)3-Gal2 の共結晶であることが示唆された(図.2(c))。コントロール実験では、バッファー条件 No. 15 において結晶は得られなかった。共結晶において、Stx2B と Fan(1)3-Gal2 はそれぞれ分子量 7856、1873 のピークとして観察されたことから、結晶中では Stx2B はサブユニットにつき 2 個の水分子が、Fan(1)3-Gal2 は 3 個のナトリウムイオンが付加していると考えられる。

E. 結論

結晶化スクリーニングにより、Stx2B と Fan(1)3-Gal2 の共結晶が得られた。しかし、得られた結晶は、その大きさおよび結晶性ともに X 線結晶構造解析を行うには不十分である。今後、共結晶が得られたバッファー条件をベースとして、X 線結晶構造解析を行うに十分適する結晶を得るための最適条件を探索していく必要がある。また今回、質量分析を行った結晶のほかに、結晶成長が不十分なために質量分析が不可能な結晶が他の 12 条件のスクリーニング中にあった。X 線結晶構造解析においては、複数の異なる条件から得られた結晶を同時に解析することが、結晶構造データの精度を上げることにつながる。よって、これらの結晶の質量分析も平行して行い、新たな Stx2B と Fan(1)3-Gal2 の共結晶化条件を探索して行く予定である。

No.	バッファーに含まれる成分	結晶形状
1	15% (v/v) MPD, 50 mM 酢酸ナトリウム (pH 4.6), 10 mM 塩化カルシウム	針状
5	15% (v/v) MPD, 50 mM Na-Hepes (pH 7.5), 100 mM クエン酸ナトリウム	針状
9	15% (w/v) PEG4000, 50 mM クエン酸ナトリウム (pH 5.6), 100 mM 酢酸アンモニウム	微細
10	15% (w/v) PEG4000, 50 mM 酢酸ナトリウム (pH 4.6), 100 mM 酢酸アンモニウム	微細
14	14% (w/v) PEG400, 50 mM Na-Hepes (pH 7.5), 100 mM 塩化カルシウム	針状
15	15% (w/v) PEG8000, 50 mM カコジル酸ナトリウム (pH 6.5), 100 mM 酢酸アンモニウム	板状
17	15% (w/v) PEG4000, 50 mM Tris-Cl (pH 8.5), 100 mM 硫酸リチウム	微細
18	10% (w/v) PEG8000, 50 mM カコジル酸ナトリウム (pH 6.5), 100 mM 酢酸マグネシウム	板状
20	12.5% (w/v) PEG4000, 50 mM 酢酸ナトリウム (pH 4.6), 100 mM 硫酸アンモニウム	微細
21	15% (v/v) MPD, 50 mM カコジル酸ナトリウム (pH 6.5), 100 mM 酢酸マグネシウム	板状
22	15% (w/v) PEG4000, 50 mM Tris-Cl (pH 8.5), 100 mM 酢酸ナトリウム	板状
26	15% (v/v) MPD, 50 mM クエン酸ナトリウム (pH 5.6), 100 mM 酢酸アンモニウム	針状
28	15% (w/v) PEG8000, 50 mM カコジル酸ナトリウム (pH 6.5), 100 mM 酢酸ナトリウム	針状
37	4% (w/v) PEG4000, 50 mM 酢酸ナトリウム (pH 4.6)	針状
40	10% (v/v) イソプロパノール, 50 mM クエン酸ナトリウム (pH 5.6), 20% (w/v) PEG4000	微細
42	10% (w/v) PEG8000, 25 mM リン酸カリウム	微細
46	9% (w/v) PEG8000, 50 mM カコジル酸ナトリウム (pH 6.5), 100 mM 酢酸カルシウム	板状

表.1 Stx2B と Fan(1)3-Gal2 共存下で結晶の現れたバッファー条件

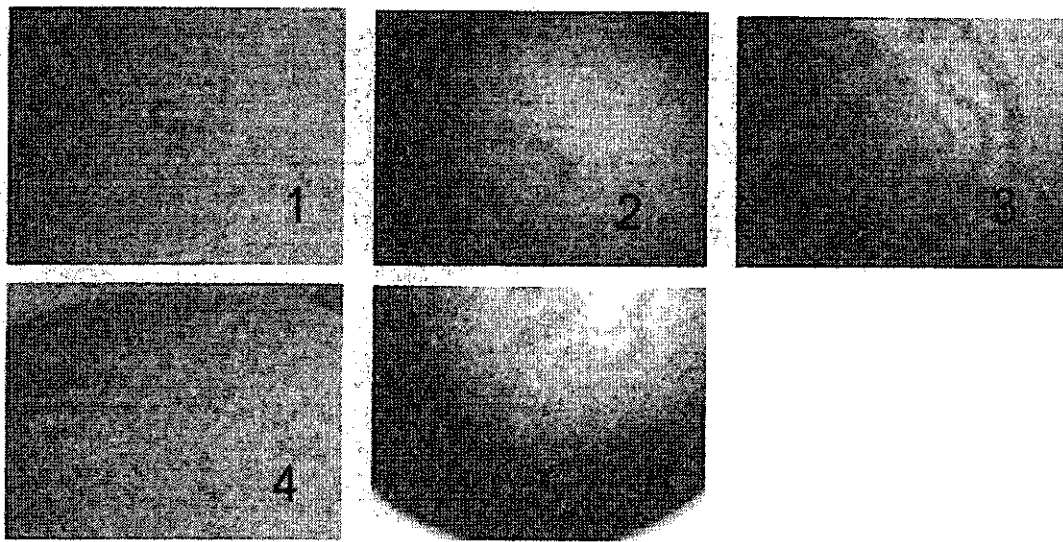


図.1 MALDI-TOF 型質量分析を行った Stx2B の結晶。1. バッファー条件 No. 1、2. バッファー条件 No. 15、3. バッファー条件 No. 18、4. バッファー条件 No. 21、5. バッファー条件 No. 22。バッファー条件は、表 1 を参照。

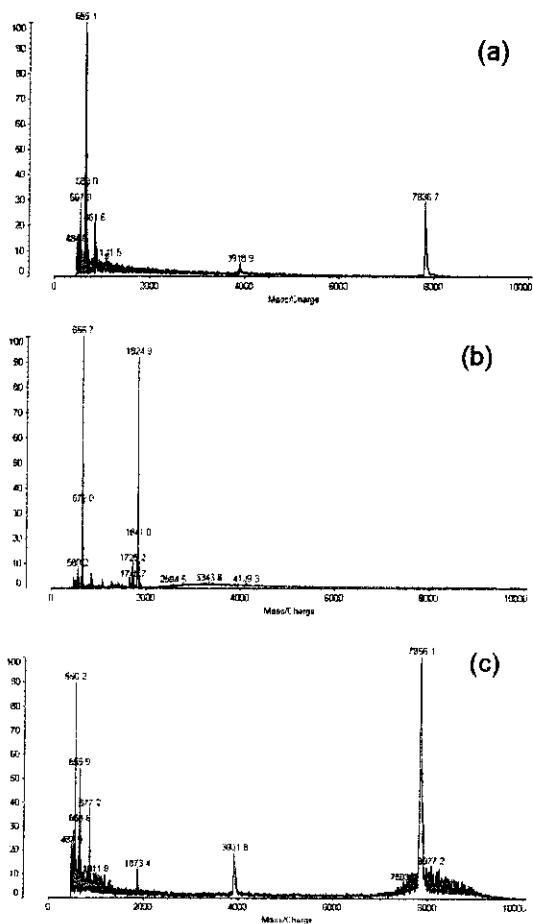


図.2 Stx2B と Fan(1)3-Gal2 の MALDI-TOF 型質量分析スペクトル。(a) Stx2B、(b) Fan(1)3-Gal2、(c) スクリーニングバッファー No. 15 で現れた結晶。縦軸は%intensity。

厚生労働科学研究費補助金（萌芽的先端医療技術推進研究事業）
分担研究報告書

糖鎖担持カルボシランデンドリマーの実用的合成および用途の検討

分担研究者 平野 弘之 株式会社ジーエスプラッツ

研究要旨 糖鎖担持カルボシランデンドリマーの医薬開発を行うためには薬物動態、毒性試験など非臨床段階に必要な中量から実生産に近い原体の製造が必要になる。しかしながら糖鎖担持カルボシランデンドリマーの糖鎖部分の製造、特にグロボ3糖の化学的合成は工程数が多く工業化は難しく、原料糖鎖を提供する企業も少量の生産にとどまっている。

(株)ジーエスプラッツは下記のグロボ3糖の製造方法について調査した。

1. 糖鎖担持カルボシランデンドリマー
の実用化のための中量以上の製造企業
の検討

①発酵生産システム(協和発酵)

糖ヌクレオチド生産システム(ABSシステム)と糖転移酵素遺伝子をもつ微生物の組み合わせで構成されており、各種糖鎖を効率的に発酵生産するシステムである。

ABSシステムにより生産された糖ヌクレオチドが発酵液中で直接当該糖転移酵素の基質として利用されるので、原料としては受容体糖(単糖、二糖、三糖等々)を用いるだけで、糖ヌクレオチドを使用することなく直接各種糖鎖を生産することが可能となっている。

このシステムによって Globotriose, Lacto-N-tetraose, Lewis X, 2'-Fucosyllactose, 3'-Sialyllactose, 6'-Sialyllactose, N-Acetyllactosamine のような各種糖鎖の生産が可能であることが確認されている。

[課題点]

このシステムを利用すれば、グロボ3糖(Gb3)を実生産可能なコストまた量的に生産する見通しがある。しかしグロボ3糖を生産するための糖転移酵素遺伝子関連の特許があり、医薬品開発を想定した生産には実施許諾契約が必要となるため

発酵生産システムの技術をもつ協和発酵では研究段階以上の提供には困難であるとしている。

[連絡先]

協和発酵工業株式会社
バイオケミカルカンパニー
〒100-8185 東京都千代田区大手町
1-6-1
電話番号 : 03-3282-0089

②デンプン糖の異化酵素を利用した生産システム(林原生化学研究所)

腸管出血性大腸菌が産生するベロ毒素や赤痢菌(*Shigella dysenteriae*)が産生する志賀毒素はアルファー-1,4ガラビオースを含む中性糖脂質の Ga2Cer (ガラビオシド) や Gb3Cer (セラミドトリヘキシド) をレセプターとしている。林原生化学研究所ではデンプン糖を異化して Gb3Cer (セラミドトリヘキシド) の一部分であるグロボ2糖(Gb2)を効率的に生産する事が可能としている。

[課題点]

グロボ2糖(Gb2)を効率的に生産する事が可能となっているが、研究所レベルで製造するため数10g~100g程度を共同研究として供給することができるという状況である。

糖鎖担持カルボシランデンドリマーではグロボ3糖を担持させた化合物が最も良好な成績を示しており、グロボ2糖担

持デンドリマーよりも優先させる計画となっている。

[連絡先]

榊林原生化学研究所 開発センター
チーフディレクター 理学博士

茶園 博人氏

〒700-0907 岡山市下石井 1-2-3

TEL (086)224-4311

FAX (086)221-6405

③1,4- α ガラクトシルトランスフェラーゼによる製造方法

グロボ 3 糖(Gb3)担持カルボシランデンドリマーの合成はカルボシランデンドリマーにグロボ 3 糖(Gb3)を結合させているが、2 糖鎖を結合したものに 1,4- α ガラクトシルトランスフェラーゼで 3 糖目を結合させる方法が考えられた。そのため 1,4- α ガラクトシルトランスフェラーゼの入手について調査を行った。

生化学工業株式会社 試薬営業部田中氏
糖鎖関連の酵素試薬を最も多く扱っているが、取り扱いはなかった。

[連絡先]

<http://www.seikagaku-hit.com/seikagaku/ingu.html>

〒103-0023 東京都中央区日本橋本町
二丁目 1-5 東京薬業会館 3F

〒103-0023 東京都中央区日本橋本町
三丁目 1-11 繊維会館 5F
TEL(03)3270-0966

ヒューマンサイエンス振興財団研究資源
バンク (HSRRB)

HS 財団は医療・医薬領域の先端的・基盤的科学技术の振興をはかり、健康と福祉に寄与するため 1986 年 厚生労働省の支援と約 130 社の企業によって設立され、この目的に沿う事業として 1995 年より、研究者へ研究資源を提供する事業を行っている。HSRRB の遺伝子バンクには国立感染症研究所と国内外の研究機関から提供された遺伝子が保管・提供されている。HSRRB 研究資源カタログを入手したところ現在 1,4- α ガラクトシルト

ランスフェラーゼは登録されていなかった。コンタクトのある遺伝子提供機関からの供託があればカタログに加え領布する予定。

[連絡先]

〒590-0535 大阪府和泉南市

りんくう南浜 2-11

TEL (0724)80-1670

FAX (0724)80-1655

株式会社横浜国際バイオ研究所

BIO RESEARCH CORPORATION OF
YOKOHAMA : 略称 BICO (バイコ)

バイオと糖を中心とした研究および生産、販売を行っている

研究用に保有、販売はしていない。1,4- α ガラクトシルトランスフェラーゼはグロボ 3 糖を生成するが非常に収率が悪いとの情報を得た。

[連絡先]

〒236-0004 横浜市金沢区福浦 1-1-1

横浜金沢ハイテクセンター・
テクノコア 5 階

BICO 研究開発部 (開発課、研究課)

TEL.045-780-1922

FAX045-780-1920

【合成・製造企業の検討まとめ】

(株) ジーエスプラッツは糖鎖担持カルボシランデンドリマーの医薬開発のため合成・製造の段階で参加可能な企業の調査・検討・交渉を行う立場から本研究開発に参加した。

現在までに 0-157 のペロ毒素に結合するグロボ 2 糖、グロボ 3 糖の製造方法として①発酵生産システム(協和発酵)②デンプン糖の異化酵素を利用した生産システム(榊林原生化学研究所)③1,4- α ガラクトシルトランスフェラーゼによる製造方法を検討してきた。

ペロ毒素を中和する活性ではグロボ 3 糖担持デンドリマーが最も優れていることから、非臨床段階の原体製造には①発酵生産システム(協和発酵)を選択することが考えられた。今後、課題となっている特許の対応(ライセンス等)の交渉を行いたい。

2. 糖鎖担持カルボシランデンドリマーの用途検討

① 診断薬の検討

- 株式会社富山研究所
代表取締役 富山哲雄氏
〒178-0061 東京都練馬区大泉学園
町 7-2-2
TEL (03)3922-3457
FAX (03)3922-3401

富山研究所では結核菌を始め、種々の感染症に関する診断薬を研究開発しており、糖鎖担持カルボシランデンドリマーの発表を聞き、これを診断薬に応用することを発案された。

(株)ジーエスプラッツは富山研究所と秘密保持を含むサンプル供給契約を結び、グロボ3糖担持カルボシランデンドリマー: Dumbbell(1)6-Gb3(D-Gb3)を提供し診断応用のための検討を行っている。

富山研究所の報告ではポリスチレン latex、SiO₂ などの担体とグロボ3糖担持カルボシランデンドリマーを混合したものを用いて、0-157 の培地に目視可能な沈降線が見られる条件を検討したが、いずれも陰性という結果となっている(詳細、添付報告書)。

- 株式会社ジェネティックラボ
〒001-0027 札幌市北区北 27 条
西 6 丁目 2 番 12 号
Tel 011-756-8731
Fax 011-756-8732

株式会社ジェネティックラボは微量蛋白質の検出技術 IDAT 法(添付)を有している。この検出技術は検出しようとする蛋白質の抗体を用いるが、結合する蛋白質をペロ毒素とした場合抗体の代わりに糖鎖担持デンドリマーに応用することが可能である。

糖鎖担持デンドリマーに T7RNA ポリメラーゼで増幅可能なタグ配列をつけて、微量のペロ毒素でも保持抗体を用いて保持できれば T7RNA ポリメラーゼによって存在を増幅して検出することができる。この技術検討を平成 15 年度の診断薬の

検討に加えたい。

【診断薬への応用検討のまとめ】

ペロ毒素は非常に低濃度でその毒性を示すことから、その検出には数 pg/ml 程度の感度が必要となっている。微量な蛋白質の検出技術が必要であり株式会社ジェネティックラボと IDAT 法を用いた検討を行いたい。

(資料) ベロ毒素中和剤関連特許等の検索結果 平野弘之 ジーエスプラッツ株式会社

【グロボ3糖合成】 5件

#000001 JST COPYRIGHT

CN 02A0664927, L02323063

TI グロボ3糖を担持する新規糖鎖クラスターの合成

AU 竹沢豊, 松岡浩司, 小山哲夫, 幡野健, 照沼大陽 (埼玉大 工); 江角保明 (理研)

JN L0157A 日本糖質学会年会要旨集

VN VOL. 23rd PAGE. 109 2002

CI (C) (a2) (JA) (JPN)

CC EB06010I, GZ03030F (577.114, 615.91:579)

KW スフィンゴ糖脂質; 大腸菌O157; 膜受容体; 糖鎖; 糖配列; クラスタ分子; 化学合成; 抗毒素; 糖アルコール; 外毒素

FT [ペロトキシン; グロボトリアオシルセラミド]

#000002 JST COPYRIGHT

CN 02A0665886

TI グロボ3糖担持カルボシラン dendrimer の合成 脂溶性基の効果の検討

AU CHEN S, 竹沢豊, 幡野健, 松岡浩司, 照沼大陽 (埼玉大 工)

JN Z0703B 高分子学会予稿集

VN VOL. 51, NO. 2 PAGE. 330 2002

CI (C) (a2) (JA) (JPN) (写真2)

CC CG03040H, CF10053Y (544.23:542.9+, 547.458.2/.3)

KW グロボシド; 多糖類; dendrimer; ポリカルボシラン; 大腸菌O157; アルキル基; フェニル基; 担体; 反応経路; 置換基効果; 高分子間反応; 疎水性

FT [脂溶性]

SW エチルマグネシウムブロミド(J52.086A); プチルマグネシウムブロミド(J52.090J); フェニルマグネシウムブロミド(J52.108F); 4-[4-O-[4-O-(α -D-ガラクトピラノシル)- β -D-ガラクトピラノシル]- β -D-ガラクトピラノシルオキシ]ブタン-1-チオール(J1.780.524J)

#000003 JST COPYRIGHT

CN 02A0664865

TI 末端にグロボ3糖を導入した新規カルボシラン dendrimer の合成

AU 小山哲夫, CHEN S, 幡野健, 松岡浩司, 照沼大陽 (埼玉大); 江角保明 (理研)

JN L0157A 日本糖質学会年会要旨集

VN VOL. 23rd PAGE. 78 2002

CI (C) (a2) (JA) (JPN)

CC CF10054P (547.458)

KW デンドリマ; グロボシド; 分子設計; 分子構造; 化学合成; 病原性大腸菌; 細菌毒素; 解毒; 大腸菌O157

FT [カルボシランデンドリマー]

#000004* JST COPYRIGHT

CN 01A0985266, J02032747, L01353624

TI 糖鎖担持カルボシランデンドリマー

ET Saccharide chain-supported
carbosilane dendrimers.

AU 幡野健 (埼玉大 工)

JN L3693A ケイ素化学協会誌

VN NO. 14 PAGE. 26 2001

CI (A) (b2) (JA) (JPN)

AB O-157が生産する多価のリガンドであるペロ毒素を吸着させるには、グロボ三糖を集積させた多価のレセプタが適しており、そのレセプタとして、デンドリマの末端にグロボ三糖を導入した糖鎖担持デンドリマを提案した。基本骨格の異なるデンドリマをいくつか合成し、その表面にグロボ三糖を修飾させると、期待通りペロ毒素に対して高い吸着性を示す化合物ができた。医薬品としても期待され、デンドリマ構造と延命効果との関連について明らかにすることは現在の最重要課題である。

CC GW23010K, CG02025L (615.2+, 544.23-16.03/.04+)

KW 大腸菌O157; 外毒素; デンドリマ; 糖鎖; 有機けい素化合物; 受容体; グロボシド; 吸着剤; 末端基; 分子設計; 機能材料

FT [ペロトキシン]

#000005* JST COPYRIGHT

CN 98A0961445, J99010638

TI 糖鎖の超精密合成に関する基礎研究 球状糖鎖の超精密合成 (Glyco-silicon機能材料の創製を指向した有機合成) (文部省S)

ET Basic research on the ultraprecision
synthesis of sugar chain. The
ultraprecision synthesis of a
globular sugar chain (organic

synthesis aiming at an invention of glyco-silicon functional material). (the Ministry of Education S).

AU 葛原弘美 (埼玉大 工)

JN NI9982456 スーパーバイオシステムの高次認識糖鎖分子による構築 平成9年度成果報告書

VN PAGE. 5 - 8 1998

CI (A) (a2) (JA) (JPN) (写真5, 参4)

AB カルボシラン dendriマの表層に活性糖鎖として β -シクロデキストリンおよびグロブ三糖の2種オリゴ糖を結合させた新規機能性材料の創製を試みた。Dendriマ表層のハロゲン化アルキルを糖鎖へ導入したチオールで求核置換して両者をチオエーテルを介し結合させる戦略により、ゼロ世代 dendriマへの結合法を試み液体アンモニア中でのワンポット結合法を開発することができた。

CC CF10053Y (547.458.2/.3)

KW 化学合成; テレケリック重合体; シクロデキストリン; 二糖類; ガラクトシド; シラン誘導体; グルコシド; 有機臭素化合物; チオール; 置換反応; スルフィド; 三糖類; 求核反応; dendriマ; 芳香族化合物

FT [求核置換反応; ベンゼン誘導体]

【ガラクトシルトランスフェラーゼと O-157 ベロトキシン関連】

#000001* JST COPYRIGHT

CN 02A0393069, L02200301

TI 巨核芽球白血病細胞における Gb3/CD77 シンターゼ遺伝子の発現

ET Expression of the Gb3/CD77 Synthase Gene in Megakaryoblastic Leukemia Cells.

AU FURUKAWA K, YOKOYAMA K, HIRAYAMA Y, OHTA M, FURUKAWA K (Nagoya Univ. School of Medicine, Nagoya, JPN); SATO T (Chiba Univ. School of Medicine, Chiba, JPN); WIELS J (CNRS UMR, Villejuif, FRA)

JN E0038A (JBCHA) (0021-9258) J Biol Chem

VN VOL. 277, NO. 13 PAGE. 11247 - 11254 2002

CI (A) (a1) (EN) (USA) (写真11, 参45)

AB Gb3/CD77 抗原とそのシンターゼ発現レベルをヒト造血器腫瘍細胞系と正常細胞を用いて分析した。40種の細胞中で、Burkittリンパ腫細胞はGb3/CD77発現レベルに付随して高遺伝子発現を示した。巨核芽球白血病細胞系もまたGb3/CD77シンターゼのmRNAとその産物を高レベル発現した。巨核芽球白血病系MEG-01は大腸菌O157由来のベロトキシンに感受性であり、アポトーシスをカスパーゼ経路を経て誘発した。細胞表面Gb3/CD77発現は分化したMEG-01で減少し、 $\alpha 1, 4$ Gal-T遺伝子のmRNAレベルは増加した。Gb3/CD77の局在化は細胞表面から細胞質に変化し、血小板前駆体GPIIb-IIIaと共局在した。これらの結果は成熟巨核芽球に産生する血小板がGb3/CD77抗原を豊富に含有するという既報に一致した。我々はベロトキシンが未成熟巨核芽球に結合し、アポトーシスを誘発して骨髄の血小板生成を停止する可能性を提案した。これは溶血性尿毒症性症候群を持つ患者の血小板減少症の原因の一つであると考えた。

CC EC02040Q, GK04000M (575.113.087, 616.15-006.43/.44)

KW ヒト; ガラクトシルトランスフェラーゼ; 分化抗原; グロボシド; 遺伝子発現; 巨核球; 白血病; Burkittリンパ腫; 大腸菌O157; 外毒素; アポトーシス; 血小板減少症

FT [Gb3シンターゼ; CD77シンターゼ; ベロトキシン]

#000002* JST COPYRIGHT

CN 00A0549297, L01042507
TI 高機能糖質合成法の確立とバイオミメティックマテリアル新素材の開発 (科学技術庁S)
AU 西田芳弘, 小林一清 (名古屋大 大学院)
JN N20001237 生体認識機能を持つ新糖鎖素材の創製に関する地域基盤研究 平成10年度 科学技術総合研究委託費地域先導研究研究成果報告書
VN PAGE. 94 - 104 1999
CI (A) (a1) (JA) (JPN) (写図16, 表1, 参12)
AB 1) インフルエンザウイルス, ペロ毒素, *M. fermentans* がそれぞれ認識する糖鎖を効率的に合成した。2) 特定の微生物を吸着し無毒化する新規材料糖鎖/フラレン含有高分子の分子設計を行なった。3) *M. fermentans* の病原性物質の一つと考えられている新規糖質GGPL-IIIの絶対構造を決定することを目的として, GGPLsの一般合成法の確立とそれを側鎖きのうざいに有する人工複合糖鎖高分子の合成を行なった。4) ミルク由来ガラクトース転移酵素の新しい反応を開拓する目的でL-グルコース, L-キシロースの1-N-アセチル化体を分子設計した。
CC EB06010I (577.114)
KW インフルエンザウイルス; 大腸菌O157; 高分子吸着剤; 分子認識; 糖鎖; *Mycoplasma*; フラレンC60; 医用素材; グリセロ糖脂質; 共重合体; 立体特異性反応; ラクトースシンターゼ; 機能材料; 分子設計; 外毒素
FT [ペロトキシン; *Mycoplasma fermentans*]
SW GGPL-III (J913.650I)

#000003* JST COPYRIGHT

CN 00A0911607, L00350235
TI グロボシリーズのスフィンゴ脂質合成における重要な酵素, Gb3シンターゼのクローニングは, 植物, 昆虫とほ乳類で保存されている $\alpha 1, 4$ -グリコシルトランスフェラーゼのファミリーを予測する
ET Cloning of Gb3 Synthase, the Key Enzyme in Globo-series Glycosphingolipid Synthesis, Predicts a Family of $\alpha 1, 4$ -Glycosyltransferases Conserved in Plants, Insects, and Mammals.
AU KEUSCH J J, MANZELLA S M, BAENZIGER J U (School of Medicine, Missouri); NYAME K

A, CUMMINGS R D (Univ. Oklahoma Health
Sci. Center, Oklahoma)

JN E0038A (JBCHA) (0021-9258) J Biol Chem

VN VOL. 275, NO. 33 PAGE. 25315 - 25321 2000

CI (A) (a1) (EN) (USA) (写真8, 参41)

AB ショウジョウバエとシロイヌナズナのGb3シンターゼと遺伝子の配列は35%が
相同であり, 進化を通してGb3シンターゼは保存されていることを示唆した。分
離した酵素cDNAは360個のアミノ酸より成るII型膜貫通グリコシルトラン
スフェラーゼをコードしていた。Gb3シンターゼmRNAの最も高い発現は, 腎
臓, 腸間膜リンパ節, ひ臓と脳であった。Pk抗原またはCD77と称するGb3
糖脂質はベロトキシンに対する受容体であり, Gb3を発現せず, ベロトキシンに
耐性のCHO細胞にGb3シンターゼをトランスフェクトすると細胞は毒素に感受
性になった。

CC EC02020U, EB05030X (575.116.4, 577.115:577.12)

KW ショウジョウバエ; *Arabidopsis thaliana*; ガラクトシルト
ランスフェラーゼ; グロボシド; 相同性; 分子進化; cDNA; アミノ酸配列; 膜
貫通蛋白質; mRNA; トランスフェクション; CHO細胞; 分化抗原; 外毒素;
膜受容体; ラット

FT [Gb3シンターゼ]

#000004* JST COPYRIGHT

CN 00A0571977, L00270246

TI グロボシリーズのスフィンゴ糖脂質の合成を開始するグリコシルトランスフェラー
ゼ, グロボトリアオシルセラミド/CD77シンターゼの分子クローニング

ET Molecular Cloning of
Globotriaosylceramide/CD77 Synthase,
a Glycosyltransferase That Initiates
the Synthesis of Globo Series
Glycosphingolipids.

AU KOJIMA Y, FUKUMOTO S, FURUKAWA K, OKAJIM
A T, YOKOYAMA K, OHTA M, FURUKAWA K (Nago
ya Univ. School of Medicine, Nagoya,
JPN); WIELS J (Inst. Gustave Roussy, Vil
lejuif, FRA); SUZUKI Y (Univ. Shizuoka S
chool of Pharmaceutical Sci., Shizuok
a, JPN)