

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
片桐秀樹 (監修)	特集 メタボリックシンドローム研究の最前線：肥満糖尿病の予防と治療を目指して	細胞工学	24(5)		2005
片桐秀樹	序：肥満研究から明らかとなりつつある個体としてのエネルギー恒常性機構	細胞工学	24(5)	442-444	2005
山田哲也、石垣泰、岡芳知、片桐秀樹	肥満・糖尿病治療法開発研究	細胞工学	24(5)	481-484	2005
岡芳知、石垣泰、山田哲也、片桐秀樹	肥満・糖尿病に対する先進的治療の開発	Therapeutic Research	26(8)	1537-1540	2005
加藤啓子 平林義雄	小脳グリア細胞の分化機構—糖鎖生物学の視点から—	CLINICAL NEUROSCIENCE (臨床神経科学)	23	144	2005
Yamada, T., Katagiri, H., Ishigaki, Y., Ogihara, T., Imai, J., Uno, K., Hasegawa, Y., Gao, J., Ishihara, H., Nijima A., Mano, H., Aburatani, H., Asano, T., Oka Y.	Signals from intra-abdominal fat modulate insulin and leptin sensitivity through different mechanisms: Neuronal involvement in food intake regulation.	Cell Metab	3	223-229	2006
奥野寿臣	VZVの遺伝子とその産物	日本臨床「ヘルペスウイルス学 - 基礎・臨床研究の進歩 -」	64(3)	133-139	2006
M. Akamatsu, Y. Fujimoto, M. Kataoka, Y. Suda, S. Kusumoto, and K. Fukase	Synthesis of lipid A monosaccharide analogues containing acidic amino acid: Exploring the structural basis for the endotoxic and antagonistic activities	Bioorganic & Medicinal Chemistry	14	6759-6777	2006
Y. Suda, Y. Kishimoto, T. Nishimura, S. Yamashita, M. Hamamatsu, A. Saito, M. Sato, M. Wakao	Sugar-immobilized gold nanoparticles (SGNP): Novel bioprobe for the on-site analysis of the oligosaccharide protein interactions	Polymer Preprints	47 (2)	156-157	2006
Errol S. Wijelath, S. Rahman, M. Namekata, J. Murray, T. Nishimura, Z. Mostafavi-Pour, Y. Patel, Y. Suda, M. J. Humphries, M. Sobel	Heparin-II Domain of Fibronectin Is a Vascular Endothelial Growth Factor-Binding Domain. Enhancement of VEGF Biological Activity by a Singular Growth Factor/Matrix Protein Synergism	Circ Res.	99 (8)	853-860	2006
Y. Suda, A. Arano, Y. Fukui, S. Koshida, M. Wakao, T. Nishimura, S. Kusumoto, M. Sobel	Immobilization and Clustering of Structurally Defined Oligosaccharides for Sugar Chips: An Improved Method for Surface Plasmon Resonance Analysis of Protein-Carbohydrate Interactions	Bioconjug Chem.	17 (5)	1125-1135	2006
M. Hashimoto, K. Tawaratsumida, H. Kariya, A. Kiyohara, Y. Suda, F. Kirikae, T. Kirikae, and F. Gotz	Not Lipoteichoic Acid but Lipoproteins Appear to Be the Dominant Immunobiologically Active Compounds in Staphylococcus Aureus	The Journal of Immunology	177	3162-3169	2006

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
M. Kataoka, M. Hashimoto, Y. Suda, S. Kusumoto, and K. Fukase	Synthesis and Biological Activities of Biscarboxymethyl Lipid A Analogues	Heterocycles	69	395-415	2006
隅田泰生	ヘパリンと血小板ならびにフォンビルプラント因子との相互作用解析からシュガーチップの開発へ	ドージンニュース	121	1-10	2006
Fukuuchi T, Doh-ura K, Yoshihara S, Ohta S	Metal complexes with superoxide dismutase-like activity as candidates for anti-prion drug	Bioorg. Med. Chem. Lett.	16	5982-5987	2006
Ishikawa K, Kudo Y, Nishida N, Suemoto T, Sawada T, Iwaki T, Doh-ura K	Styrylbenzazole derivatives for imaging of prion plaques and treatment of transmissible spongiform encephalopathies	J. Neurochem.	99	198-205	2006
Sasaki K, Doh-ura k, Ironside J, Mabbott N, Iwaki T	Clusterin expression in follicular dendritic cells associated with prion protein accumulation	J. Pathol.	209 (4)	484-91	2006
Wakisaka Y, Santa N, Doh-ura K, Kitamoto T, Ibayashi S, Iida M, Iwaki T	Increased asymmertric pulvinar magnetic resonance imaging signals in Creutzfeldt-Jakob disease with florid plaques following a cadaveric dura mater graft	Neuropathol.	26	82-88	2006
Shintaku M, Yutani C, Doh-ura K	Brain stem lesions in sporadic Creutzfeldt-Jakob disease: A histopathological and immunohistochemical study	Neuropathol.	26	43-49	2006
Kawatake S, Nishimura Y, Sakaguchi S, Iwaki T, Doh-ura K	Surface plasmon resonance analysis for the screening of anti-prion compounds	Biol. Pharm. Bull.	29 (5)	927-932	2006
逆瀬川裕二、堂浦克美	プリオン病の治療 _その現状と展望_	Brain Medical	18 (4)	365-370	2006
逆瀬川裕二、堂浦克美	孤発性クロイツフェルトーヤコブ病と6種類のサブタイプ	Medical Briefs in Brain & Nerve	15 (4)	5-6	2006
石川謙介、堂浦克美	プリオンイメージングの試み	Clinical Neuroscience	24 (3)	313-316	2006
Yamada, T., Ishihara, H., Tamura, A., Takahashi, R, Yamaguchi, S., Takei, D, Tokita, A., Satake, C.,, Tashiro, F., Katagiri, H., Aburatani, H., Miyazaki, J-I., Oka, Y.	WFS1-deficiency enhances endoplasmic reticulum stress, triggers apoptotic pathway and impairs cell cycle progression specifically in pancreatic β -cells.	Hum Mol Genet.	15	1600-1609	2006
Uno K, Katagiri H, Yamada T, Ishigaki Y, Ogihara T, Imai J, Hasegawa Y, Gao J, Kaneko K, Iwasaki H, Ishihara H, Sasano H, Inukai K, Mizuguchi H, Asano T, Shiota M, Nakazato M, Oka Y	Neuronal pathway from the liver modulates energy expenditure and systemic insulin sensitivity.	Science	312	1656-1659	2006

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Imai, J, Katagiri, H., Yamada, T, Ishigaki, Y, Ogihara, T, Uno, K, Hasegawa, Y, Gao, J, Ishihara, H, Oka, Y	Activation of sympathetic nervous system suppresses serum adiponectin levels in mice.	Obesity	14	1132-1141	2006
Takei, D., Ishihara, H., Yamaguchi, S., Yamada, T., Katagiri, H., Maruyama, Y., Oka, Y	WFS1 protein modulates the free Ca ²⁺ concentration in the endoplasmic reticulum.	FEBS Lett	580	5635-5640	2006
田村明、石原寿光、鈴木進、平井完史、高橋累、山口賢、岡芳知、佐藤文俊、菅野記豊、片桐秀樹	肝硬変を伴う2型糖尿病患者に見られた著明な高インスリン血症と低血糖発作	日本内科学会雑誌	95	1371-4	2006
片桐秀樹	臓器間代謝情報ネットワークによる代謝調節機構の発見～肥満・糖尿病の治療法開発に向けて～	ヒューマンサイエンス	17	14-18	2006
山田哲也、片桐秀樹	脂肪組織の神経調節	分子細胞治療	5 (4)	318-324	2006
山田哲也、石垣泰、岡芳知、片桐秀樹	食欲調節における腹腔内脂肪からの神経シグナルの役割	細胞工学	25 (7)	774-775	2006
荻原健英、片桐秀樹、岡芳知	インスリン抵抗性発現にかかわるインスリン受容体および受容体基質の役割	日本臨床 増刊号「メタボリックシンドローム」	64 (9)	126-131	2006
山田哲也、石垣泰、宇野健司、岡芳知、片桐秀樹	神経ネットワークを用いた臓器間相互作用調節機構	実験医学	24 (16)	2490-2493	2006
犬飼浩一、片桐秀樹	レジスチン	Adiposcience	11(3)	277-281	2006
石垣泰、片桐秀樹	病態基盤としての肥満	脈管学	46 (4)	423-428	2006
長谷川豊、荻原健英、片桐秀樹、岡芳知	糖尿病・耐糖能異常	Medical Practice	23(9)	1507-1510	2006
Magesh S., Suzuki T., Miyagi T., Ishida H., Kiso M.	Homology modeling of human sialidase enzymes NEU1, NEU3 and NEU4 based on the crystal structure of NEU2: Hints for the design of selective NEU3 inhibitors	Journal of Molecular Graphics and Modelling	25	196-207	2006
Atrill, H., Takazawa H., Witt S., Kelm S., Isecke R., Brossmer R., Ando T., Ishida H., Kiso M.	The structure of Siglec-7 in complex with sialosides: leads for rational structure-based inhibitor design	Biochemical Journal	397 (2)	271-278	2006
Takaku H., Sato J., Ishida H., Inazu T., Ishida H., Kiso M.	A chemical synthesis of UDP-LacNAc and its regioisomer for finding 'oligosaccharide transferases'	Glycoconjugate Journal	23	565-573	2006

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ando, H., Shimizu, H. Katano, Y., Koike, Y. Koizumi, S., Ishida, H. Kiso, M.	Studies on the α -(1→4)- and α -(1→8)-fucosylation of sialic acid for the total assembly of the glycan portions of complex HPG-series gangliosides	Carbohydrate Research	341	1522-1532	2006
Makimura Y., Watanabe S., Suzuki T., Suzuki Y., Ishida H., Kiso M., Katayama T., Kumagai H., Yamamoto K.	Chemoenzymatic synthesis and application of a sialoglycopolymer with a chitosan backbone as a potent inhibitor of human influenza virus hemagglutination	Carbohydrate Research	341	1803-1808	2006
Fuse, T., Ando, H. Imamura, A., Sawada, N. Ishida H., Kiso, M. Ando T.	Synthesis and enzymatic susceptibility of a series of novel GM2 analogs	Glycoconjugate Journal	23	329-343	2006
Sawada, T., Hashimoto, T. Nakao, H., Suzuki T. Ishida H., Kiso, M.	Why does avian influenza A virus hemagglutinin bind to aviav receptor stronger than to human receptor? Ab initio fragment molecular orbital studies	Biochemical and Biophysical research communications	351	40-43	2006
Sawada, T., Hashimoto, T. Nakao, H., Shigematsu, M. Ishida H., Kiso, M.	Conformational study of α -N-acetyl-D-neuraminic acid by density functional theory	Journal of Carbohydrate Chemistry	25(5)	387-405	2006
Kimura, A., Imamura, A. Ando, H., Ishida, H. Kiso, M.	A novel synthetic route to α -galactosyl ceramides and iGb3 using DTBS-directed α -selective galactosylation	SYNLETT	15	2379-2382	2006
Imamura, A., Kimura, A., Ando, H., Ishida, H., Kiso, M.	Extended applications of Di-ter-ethylsilylene-Directed α -Predominant galactosylation compatible with C2-Participating groups toward the assembly of various glycosides.	Chemistry European Journal	12	8862-8870	2006
岡本紀夫、濱田文、西村雅史、 栗本拓治、田上雄一、周允元、 奥野寿臣、三村治	Birdshot chorioretinopathy の 1 例.	眼科	48	1853-1858	2006
Noriyuki Maeda, Souichiro Miyazawa, Kosuke Shimizu, Tomohiro Asai, Sei Yonezawa, Sadaya Kitazawa, Yukihiro Namba, Hideo Tsukada and Naoto Oku	Enhancement of anticancer activity in antineovascular therapy is based on the intratumoral distribution of the active targeting carrier for anticancer drugs.	Biol. Pharm. Bull.	29	1936-1940	2006
Pongpun Siripong, Jantana Yahuafai, Kosuke Shimizu, Kanae Ichikawa, Sei Yonezawa, Tomohiro Asai, Kwanjai Kanokmedakul, Somsak Ruchirawat and Naoto Oku	Antitumor activity of liposomal naphthoquinone esters isolated from thai medicinal plant: Rhinacanthus nasutus Kurz.	Biol. Pharm. Bull.	29	2279-2283	2006

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Pongpun Siripong, Jantana Yahuafai, Kosuke Shimizu, Kanae Ichikawa, Sei Yonezawa, Tomohiro Asai, Kwanjai Kanokmedakul, Somsak Ruchirawat and Naoto Oku	Induction of apoptosis in tumor cells by three naphthoquinone esters isolated from thai medicinal plant: Rhinacanthus nasutus Kurz.	Biol. Pharm. Bull.	29	2070-2076	2006
Pongpun Siripong, Kwanjai Kanokmedakul, Suratsawadee Piyaviriyagul, Jantana Yahuafai, Rittichai Chanpai, Somsak Ruchirawat and Naoto Oku	Antiproliferative naphthoquinone esters from Rhinacanthus nasutus Kurz. roots on various cancer cells.	J. Trad. Med.	23	166-172	2006
Yasuyuki Sadzuka, Koji Tokutomi, Fumiaki Iwasaki, Ikumi Sugiyama, Toru Hirano, Hiroyuki Konno, Naoto Oku and Takashi Sonobe	The phototoxicity of photofrin was enhanced by PEGylated liposome in vitro.	Cancer Lett.	241	42-48	2006
Noriyuki Akita, Fukuto Maruta, Leonard W. Seymour, David J. Kerr, Alan L. Parker, Tomohiro Asai, Naoto Oku	Identification of oligopeptides binding to peritoneal tumors of gastric cancer	Cancer Sci.	97	1075-1081	2006
清水広介、奥直人	第2章 遺伝子導入のためのDDS技術、方法論 5. リボソームによるターゲティング 「ウイルスを用いない遺伝子導入法の方法、技術、方法論の新たな展開」(原島秀吉、田畑泰彦 編)	遺伝子医学 MOOK	5	130-134	2006
浅井知浩、奥直人	リボソーム応用の新展開 特集：がん領域におけるドラッグデリバリーシステム (DDS)	最新医学	61	1084-1091	2006
浦上武雄、奥直人	siRNA 実用化の鍵をにぎる DDS	ファルマシア	42	1217-1222	2006
Suzuki S., Uozumi K., Maeda M., Yamasuji Y., Hashimoto S., Komorizono Y., Owatari S., Tokunaga M., Haraguchi K. Arima N.	Adult T-cell leukemia in a liver transplant recipient that did not progress after onset of graft rejection.	Int J Hematol	83	429-432	2006
Kozako T, Arima N, Toji S, Masamoto I,*Akimoto M, Hamada H, Che X-F,Fujiwara H, Matsushita K,Tokunaga M, Haraguchi K, Uozumi K, Suzuki S, Takezaki T, and Sonoda S	Reduced Frequency, Diversity, and Function of Human T-cell Leukemia Virus Type 1-specific CD8+ T-cell in Adult T-cell Leukemia Patients	J Immunol	177	5718-5726	2006
Che X-F, Zheng C-L, Mutoh M, Owatari S, Gotanda T, Jeung H-C, Furukawa T, Ikeda R, Haraguchi M, Arima N, Tanaka Y, Akiyama S.	Overexpression of surviving I primary ATL cells and sodium arsenite induces apoptosis by down-regulating surviving expression in ATL cell lines.	Blood	2005	4880-4887	2006

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Owatari S, Uozumi K, Tokunaga M, Tokumaga M, Haraguchi K, Suzuki S, Arima N.	Adult T-cell leukemia/lymphoma in a 21-year-old man.	Clin. Lab. Haem.	28	141-144	2006
Doh-ura K, Tamura K, Karube Y, Naito M, Tsuruo T, Kataoka Y	Chelating compound, chrysoidine, is more effective in both anti-prion activity and brain endothelial permeability than quinacrine	Cell. Mol. Neurobiol.	27(3)	303-316	2007
Gao J, Katagiri H, Ishigaki Y, Yamada T, Ogihara T, Imai J., Uno K., Hasegawa Y., Kanzaki M., Yamamoto TT., Ishibashi S., Oka Y	Involvement of apolipoprotein E in excess fat accumulation and insulin resistance.	Diabetes	56	24-33	2007
上田美子, 岡本紀夫, 奥野寿臣, 三村治	Multiple evanescent white dot syndrome の 1 例.	眼科臨床医報	101	7-8	2007
M. Hashimoto, M. Furuyashiki, R. Kaseya, Y. Fukada, M. Akimaru, K. Aoyama, T. Okuno, T. Tamura, T. Kirikae, F. Kirikae, N. Eiraku, H. Morioka, Y. Fujimoto, K. Fukase, K. Takashige, Y. Moriya, S. Kusumoto, Y. Suda	Evidence of immunostimulating lipoprotein co-existing in natural lipoteichoic acid fraction	Infect. Immun.	75,4	1926-1932	2007
Y. Fujimoto, M. Iwata, N. Imakita, A. Shimoyama, Y. Suda, S. Kusumoto, K. Fukase	Synthesis of immunoregulatory Helicobacter pylori lipopolysaccharide partial structures	Tetrahedron Lett.	48	6577-6581	2007
H.Kariya, A. Kiyohara, S. Masuda, Y. Yoshihara, M. Ueno, M. Hashimoto, Y. Suda	Biological roles of carboxymethyl-chitin associated for the growth factor production	J. Biomed. Mater. Res.	83A	58-63	2007
Takahashi R, Ishihara H, Takahashi K, Tamura A, Yamaguchi S, Yamada T, Katagiri H, Oka Y.	Efficient and controlled gene expression in mouse pancreatic islets by arterial delivery of tetracycline- inducible adenoviral vectors	J. Mol. Endocrinol.	38	127-36	2007
Hasegawa Y, Ogihara T, Yamada T, Ishigaki Y, Imai J, Uno K, Gao J, Kaneko K, Ishihara H, Sasano H, Nakauchi H, Oka Y, Katagiri H.	Bone Marrow (BM) Transplantation Promotes Beta Cell Regeneration after Acute Injury through BM Cell Mobilization	Endocrinology	148	2006-15	2007
Yamada T, Katagiri H.	Avenues of Communication between the Brain and Tissues/Organs Involved in Energy Homeostasis	Endocrine J	54	497-505	2007
Katagiri H, Yamada T, Oka Y.	Adiposity and Cardiovascular Disorders: Disturbance of the Regulatory System Consisting of Humoral and Neuronal Signals	Circ Res	101	27-39	2007
Ono H, Sakoda H, Fujishiro M, Anai M, Kushiya A, Fukushima Y, Katagiri H, Ogihara T, Oka Y, Kamata H, Horike N, Uchijima Y, Kurihara H, Asano T	Carboxyl-terminal modulator protein (CTMP) induces AKT activation, thereby enhancing anti-apoptotic, glycogen synthetic and glucose uptake pathways	Am J Physiol Cell Physiol	293	C1576-85	2007

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Yamada T, Imai J, Ishigaki Y, Hinokio Y, Oka Y, Katagiri H.	Possible relevance of HLA-DRB1*0403 haplotype in insulin autoimmune syndrome induced by α -lipoic acid, used as a dietary supplement	Diabetes Care	30	e131	2007
Yoon, S.-J., Ikeda, S., Sadilek, M., Hakomori, S., Ishida, H. and Kiso, M.:	Self-recognition of N-linked glycans with multivalent GlcNAc, determined as ceramide mimetic conjugate	Glycobiology	17	1007-1014	2007
Ishibashi, Y., Nakasone, T., Kiyohara, M., Horibata, Y., Sakaguchi, K., Hijikata, A., Ichinose, S., Omori, A., Yasui, Y., Imamura, A., Ishida, H., Kiso, M., Okino, N. and Ito, M.	A novel endoglycoceramidase hydrolyzes oligogalactosylceramides to produce galactooligosaccharides and ceramides	J. Biol. Chem.	282(15)	11386-11396	2007
Yu, J., Sawada, T., Adachi, T., Gao, X., Takematsu, H., Kozutsumi, Y., Ishida, H., Kiso, M. and Tsubata, T	Synthetic glycan ligand excludes CD22 from antigen receptor-containing lipid rafts	Biochem. Biophys. Res. Commun.	360	759-764	2007
Sawada, T., Hasimoto, T., Nakano, H., Suzuki, T., Suzuki, Y., Kawaoka, Y., Ishida, H. and Kiso, M.	Influenza viral hemagglutinin complicated shape is advantageous to its binding affinity for sialosaccharide receptor	Biochem. Biophys. Res. Commun.	355	6-9	2007
Takaku, H., Ishida, H.-K., Fujita, M., Inazu, T., Ishida, H. and Kiso, M.	A chemical synthesis of GlcNAc β (1-4)GlcUA-UDP to elucidate to catalytic mechanism of hyaluronic acid synthesis (HAS)	Synlett	5	818-820	2007
Hashimoto, M., Furuyashiki, M., Kaseya, R., Fukuda, Y., Akimaru, M., Aoyama, K., Okuno, T., Tamura, T., Kirikae, T., Kirikae, F., Eiraku, N., Morioka, H., Fujimoto, Y., Fukase, K., Takashige, K., Moriya, Y., Kusumoto, S., Suda Y	Evidence of immunostimulating lipoprotein existing in the natural lipoteichoic acid fraction.	Infect. Immun.	75	1926-1932	2007
Otani, N. and Okuno, T	Human herpesvirus 6 infection of CD4(+) T-Cell subsets.	Microbiol Immunol.	51	993-1001	2007
Inoue M, Kato K, Matsushashi H, Kizuka Y, Kawasaki T, and Oka S.	Distributions of glucuronyltransferases, GlcAT-P and GlcAT-S, and their target substrate, the HNK-1 carbohydrate epitope in the adult mouse brain with or without a targeted deletion of the GlcAT-P gene	Brain Res	1179	1-15	2007
Kato K.	Glycobiological approach to understanding neural plasticity	Trends in glycoscience and glycotechnology	19	97-110	2007

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Yonezawa, S., Asai, T. and Oku, N.	Effective tumor regression by antineovascular therapy in hypovascular orthotopic pancreatic tumor model	J.Control. Release	118	303-309	2007
Ichikawa, K., Urakami, T., Yonezawa, S., Miyauchi, H., Shimizu, K., Asai, T. and Oku, N.	Enhanced desensitization efficacy by liposomal conjugation of a specific antigen	Int.J.Pharm.	336	391-395	2007
Fuse, C., Ishida, Y., Hikita, T., Asai, T. and Oku, N.	Junctional adhesion molecule-C promotes metastatic potential of HT1080 human fibrosarcoma	J. Biol. Chem.	282	8276-8283	2007
Katanasaka, Y., Asai, T., Naitou, H., Ohashi, N. and Oku, N.	Proteomic characterization of angiogenic endothelial cells stimulated with cancer cell-conditioned medium	Biol.Pharm.Bull.	30	2300-2307	2007
Urakami, T., Akai, S., Katayama, Y., Harada, N., Tsukada, H., and Oku, N.	Novel amphiphilic probes for [18F]-radiolabeling preformed liposomes and determination of liposomal trafficking by positron emission tomography	J.Med.Chem.	50	6454-6457	2007
Asai, T., Yonezawa, S., and Oku, N.	Tumor angiogenesis-targeted liposome	Mebio Oncology	4	48-57	2007
Urakami, T. Oku, N	Current status of siRNA drug delivery technology and siRNA	Open Drug Delivery Rev.	1	1-7	2007
Akimoto M, Kozako T, Sawada T, Matsushita K, Ozaki A, Hamada H, Kawada H, Yoshimitsu M, Tokunaga M, Haraguchi H, Uozumi K, Arima N, and Tei C.	Anti-HTLV-1 Tax Antibody and Tax-specific Cytotoxic T Lymphocyte are Associated with a Reduction in HTLV-1 Proviral Load in Asymptomatic Carriers.	Journal of Medical Virology	79	977-986	2007
Arimura K, Arima N, Matsushita K, Akimoto M, Park C-Y, Uozumi K, and Tei C.	High incidence of morphological myelodysplasia and aortic bone marrow cells in Behcet's disease.	Journal of Clinical Immunology	27	145-151	2007
Owatari S, Uozumi K, Haraguchi K, Ohno N, Tokunaga M, Tokunaga M, Suzuki S, Hanada S, Arima N.	A new cytogenetic abnormality, t(2;7)(33;q36), in acute promyelocytic leukemia.	Cancer Genetics and Cytogenetics	174	71-74	2007
Akimoto M, Matsushita K, Suruga Y, Aoki N, Oaki A, Uozumi K, Tei C, Arima N.	Clinical manifestations of human T lymphotropic virus type I-infected patients with systemic lupus erythematosus.	Journal of Rheumatology	34	1841-1848	2007
Ozaki A, Arima N, Matsushita K, Uozumi K, Akimoto M, Hamada H, Kawada H, Hourai S, Tanaka Y, and Tei C.	Cyclosporin A inhibits HTLV-1 Tax expression and shows anti-tumor effects in combination with VP-16.	Journal of Medical Virology	79	1906-1913	2007

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
M. Hashimoto, K. Takashige, M. Furuyashiki, K. Yoshidome, R. Sano, Y. Kawamura, S. Ijichi, H. Morioka, H. Koide, N. Oku, Y. Moriya, S. Kusumoto, Y. Suda	Enhancement of antitumor activity of OK-432 (Picibanil) by Triton X-114 phase partitioning	International Immunopharmacology	8	12-19	2008
Magesh, S., Moriya, S., Suzuki, T., Miyagi, T., Ishida, H. and Kiso, M.	Design, synthesis, and biological evaluation of human sialidase inhibitors. Part 1: Selective inhibitors of lysosomal sialidase (NEU1)	Bioorg. Med. Chem. Lett.,	18	532-537	2008
Shimizu, K., Sawazaki, Y., Tanaka, T., Asai, T., and Oku, N.	Chronopharmacological cancer treatment with angiogenic vessel-targeted liposomal drug	Biol.Pharm.Bull.	31	95-98	2008
Yamada T, Oka Y, Katagiri H	Communications between the Brain and Peripheral Tissues/Organs Involved in Energy Homeostasis -Potential Therapeutic Targets for Obesity and Metabolic syndrome	Pharmacol Ther	117	188-98	2008
Okimoto H, Ishigaki Y, Koiwa Y, Hinikio Y, Ogihara T, Suzuki S, Katagiri H., Ohkubo T, Hasegawa H, Kanai H, Oka Y	A novel method for evaluating human carotid artery elasticity: possible detection of early stage atherosclerosis in subjects with type 2 diabetes	Atherosclerosis	196	391-7	2008
Urakami T. and Oku, N.	Imaging technology for the research and the development of DDS nanocarriers and nanomedicines	Drug Delivery System	23	40-48	2008
Nedachi T, Kadotani A, Ariga M, Katagiri H, Kanzaki M	Ambient Glucose Levels Qualify the Potency of Insulin Myogenic Actions by Regulating SIRT1 and FoxO3a in C2C12 myocytes	Am J Physiol Endocrinol Metab.			2008, in press
Ariga M, Nedachi T, Katagiri H, Kanzaki M	Functional role of sortilin in myogenesis and development of insulin-responsive glucose transport system in C2C12 myocytes	J Biol Chem.			2008, in press
Yamaguchi S, Ishihara H, Yamada T, Tamura A, Usui M, Tominaga R, Munakata Y, Satake C, Katagiri H, Tashiro F, Aburatani H, Tsukiyama-Kohara K, Miyazaki J, Sonenberg N, Oka Y	ATF4-Mediated Induction of 4E-BP1 Contributes to Pancreatic Beta Cell Survival under Endoplasmic Reticulum Stress	Cell Metab.			2008, in press
N. Sasaki, K. Okishio, K. Ui-Tei, K. Saigo, A. Kinoshita-Toyoda, H. Toyoda, T. Nishimura, Y. Suda, M. Hayasaka, K. Hanaoka, S. Hitoshi, K. Ikenaka, and S. Nishihara	Heparan sulfate regulates self-renewal and pluripotency of embryonic stem cells	J. Biol. Chem.			2008, in press

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
M. Wakao, A. Saito, K. Ohishi, Y. Kishimoto, T. Nishimura, M. Sobel, Y. Suda	Sugar Chips Immobilized with Synthetic Sulfated Disaccharides of Heparin/Heparan Sulfate Partial Structure	Bioorg. Med. Chem. Lett.			2008, in press
S. Nakamura-Tsuruta, Y. Kishimoto, T. Nishimura and Y. Suda	One-Step Purification of Lectins from Banana Pulp Using Sugar-immobilized Gold Nano-Particles (SGNPs)	Journal of Biochemistry			2008, in press
Imamura, A., Yoshikawa, T., Komori, T., Ando, M., Ando, H., Wakao, M., Suda, Y., Ishida, H., Kiso, M.	Design and synthesis of versatile ganglioside probes for carbohydrate microarrays	Glycoconjugate J.			2008, in press
Imamura, A., Ando, H., Ishida, H., Kiso, M.	DTBS(di-tert-butylsilylene)-directed α -galactosylation for the synthesis of biologically relevant glycans	Current Organic Chem.			2008, in press
Yoshikawa, T., Kato, Y., Yuki, N., Yabe, T., Ishida, H. and Kiso, M.	A highly efficient construction of GM1 epitope tetrasaccharide and its conjugation with KLH	Glycoconjugate J.			2008, in press
Komori, T., Ando, T., Imamura, A., Li, Y.-T., Ishida, H. and Kiso, M.	Design and efficient synthesis of novel GM2 analogues with respect to the elucidation of the function of GM2 activator	Glycoconjugate J.			2008, in press
Fujikawa, K., Ishida, H. and Kiso, M.	Synthesis of ganglioside GM3 analog carrying phytoceramide by employing intramolecular glycosylation as a key reaction	Carbohydr. Res.			2008, submitted

研 究 成 果 の 刊 行 物 ・ 別 刷

マイクロアレイ・バイオチップの最新技術

Microarray Biochips

監修：伊藤嘉浩

Supervisor: Yoshihiro Ito

シーエムシー出版

第12章 糖鎖アレイ

隅田泰生*

1 はじめに

2～10個程度の糖分子から構成されるオリゴ糖鎖（以下、糖鎖）は様々な生理機能に関係しており、細胞の接着やシグナル伝達などには必須の役割を演じている¹⁾。糖鎖と蛋白質、細胞、ウイルスなどとの直接的な結合には、各々の糖鎖の特異的構造が重要であり、分子レベルでの解析には、構造明確な糖鎖を使用することが求められる。我々は、表面プラズモン共鳴（SPR）測定装置のセンサーチップとして、糖鎖を固定化した金チップ（シュガーチップと命名）を開発している²⁾。SPRは分子間相互作用を解析する技術として広く使用されている。簡単に原理を説明する。即ち、測定媒体である金属薄膜に光をある角度から入射させると、金属薄膜の表面の表面プラズモン波と金属薄膜に対して垂直方向のエバネッセント波が生じ、それらが共鳴する。この現象を表面プラズモン共鳴現象と称し、金属固有の誘電率や金属界面の屈折率の変化に影響されるので、反射光の強度あるいは表面プラズモン共鳴角（共鳴が起こるときの反射角の角度）の変化を測定することによって、界面で起こる変化を測定できる。従って、解析対象物を蛍光剤などのプローブ分子で化学修飾する必要がないため、相互作用解析が簡単に行え、化学修飾による解析対象物の変化（変性）を考慮する必要がない、さらにリアルタイムでの解析が可能となる。これらの利点から、生体分子のみならず、有機高分子や細胞の相互作用研究にも使用されている。このようなSPRと我々が開発したシュガーチップを組み合わせた分析法は、網羅的解析を可能とし、同時に新しい検査・診断法となる可能性を有している。

我々のシュガーチップに対する基本的コンセプトは、構造明確な糖鎖を金チップ上に固定化することであり、そのために我々はまず金チップと糖鎖とを結ぶリンカー化合物をデザインし、それと糖鎖とを複合体化した「糖鎖リガンド複合体」と称する化合物を合成した。このリガンド複合体の溶液を短時間金チップに接触させるだけで、Au-S結合を通して簡単に糖鎖を固定化したシュガーチップを調製できた。そこで、次に我々はこのリガンド複合体を多数（最大96個）固定化して、アレイタイプシュガーチップを調製し、それをSPRイメージング装置（東洋紡社製、

* Yasuo Suda 鹿児島大学 大学院理工学研究科 教授；(株)スディックスバイオテック
代表取締役

Multi SPRinter) のセンサーチップとして用いて、検体 (蛋白質, 血清, ウイルス溶液など) の糖鎖結合性を迅速に測定する系を構築した。以下にいくつかの例を示す。なお, 本章で紹介するアレイタイプのシュガーチップおよび SPR イメージング法を用いた解析については, 弊社ホームページ (<http://www.sudxbiotech.jp/>) も参照されたい。

2 リガンド複合体の調製

我々が開発したモノバレントリンカー化合物を用いて, マルトース (Glc α 1-4 Glc) をリガンド複合体化した例を, 図 1 に示した。この際, マルトースの還元末端はその糖構造を消失するが, その部分は親水性のスペーサーとして作用するため, 疎水性のあるリンカー分子と測定対象の蛋白質との疎水性相互作用に基づく非特異的吸着を軽減する。このリガンド複合体 (Glc α 1-4 Glc-mono) を用いた SPR 測定例を図 2 に示す。ここでは, モリテックス社製の 2 チャンネル型機器である SPR-670 M を使用した。まず, センサーチップは以下のように調製した。すなわち Glc α 1-4 Glc-mono の 1 μ M 溶液 (メタノール/水=1/1, v/v) を調製し, そこに金蒸着チップ (スディックスバイオテック社製) を 2 時間から一晩浸漬し, その後浸漬した溶媒, 界面活性剤 (0.05 % Tween-20) 入り溶媒, リン酸バッファー等で洗浄した。洗浄の際は超音波洗浄機を用

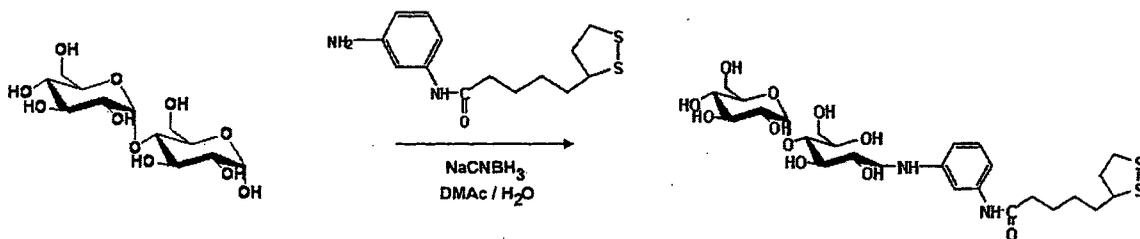


図 1 糖鎖リガンド複合体の調製例

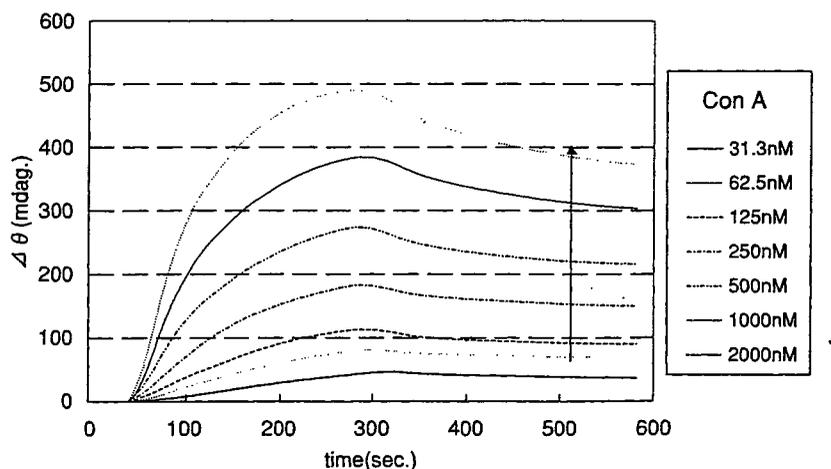


図 2 Glc α 1-4 Glc-mono チップへのコンカナバリン A の結合挙動 (SPR センサーグラム)

いて行い、固定化されていない糖鎖がチップ上に残存するのを防いだ。この方法によれば、同時に50枚以上のシュガーチップを調製することも可能であり、実験の再現性の確認時に問題となるチップロット間の差を無視することができる。このようにして調製したシュガーチップを用いて、 α グルコースに結合するレクチンとして知られるコンカナバリンA(ConA)の結合挙動を測定した。蛋白質濃度に依存してセンサーグラムが大きく観測されていることが分かる。なお、図2のデータは生データであり、対照を差し引いたものではない。一方、同じロットのチップを用いて、同じ条件でBSAの結合挙動を測定したところ、全く結合挙動は観測されなかった。以上から、我々の方法で固定化すると、非特異的相互作用を最小に抑え、かつ高選択的に糖鎖と蛋白質との相互作用が観測可能であることが明らかとなった。そこで、この系をアレイタイプのシュガーチップに適用することとし、70種類以上の糖鎖リガンド複合体を調製した。

3 アレイタイプのシュガーチップの調製と SPR イメージング

各々のリガンド複合体は $500\mu\text{M}$ (0.5%のグリセロールを含む水溶液)に溶解し、その溶液 $1\mu\text{l}$ を専用チップ(東洋紡社製)上に、スポッター装置(東洋紡社製)を用いてスポットした。スポットしたチップを室温で約1時間放置した後、水、リン酸緩衝液(pH 7.4, PBS), 0.05% Tween-20入りPBSで洗浄し、その後室温で乾燥させて保存した。このようにして、最大96種類の異なる糖鎖を固定化できるアレイタイプのチップを調製した。このチップをSPRイメージング装置(MultiSPRinterTM, 東洋紡社製)のプリズムにマッチングオイルを介して装着し、機器付属のマニュアルにしたがって種々の蛋白質の結合挙動を観測した。結果の一例を図3に示した。この実験では、蛋白質の濃度は $2\mu\text{M}$ (PBS-T)、流速は $100\mu\text{l}/\text{min}$ に固定している。それぞれの糖鎖に特異的に結合する蛋白質を簡単に判別できたことがわかった。さらに、図3の輝度を定量化することによって、結合の強度(親和性の強さ)を推定することもできた。

4 インフルエンザウイルスの糖鎖結合活性の解析

数年前に地球上に出現した強毒性のトリ型インフルエンザウイルス(H5N1)がヒト型に変異すると世界中に危機的流行が起こることは確実であり、簡便な検査法に基づく世界的な監視システムが必要である。インフルエンザウイルスは細胞表層のシアル酸含有糖鎖に結合し、そして細胞に侵入し感染することが知られている。また、ウイルスが結合するシアル酸含有糖鎖の構造は宿主の動物種によって異なり、さらに抗血清によって同じ亜型に分類されるウイルス株でも異なることが報告されている^{3~7)}。我々は、糖鎖を用いたウイルス株の検査・診断システムの構築

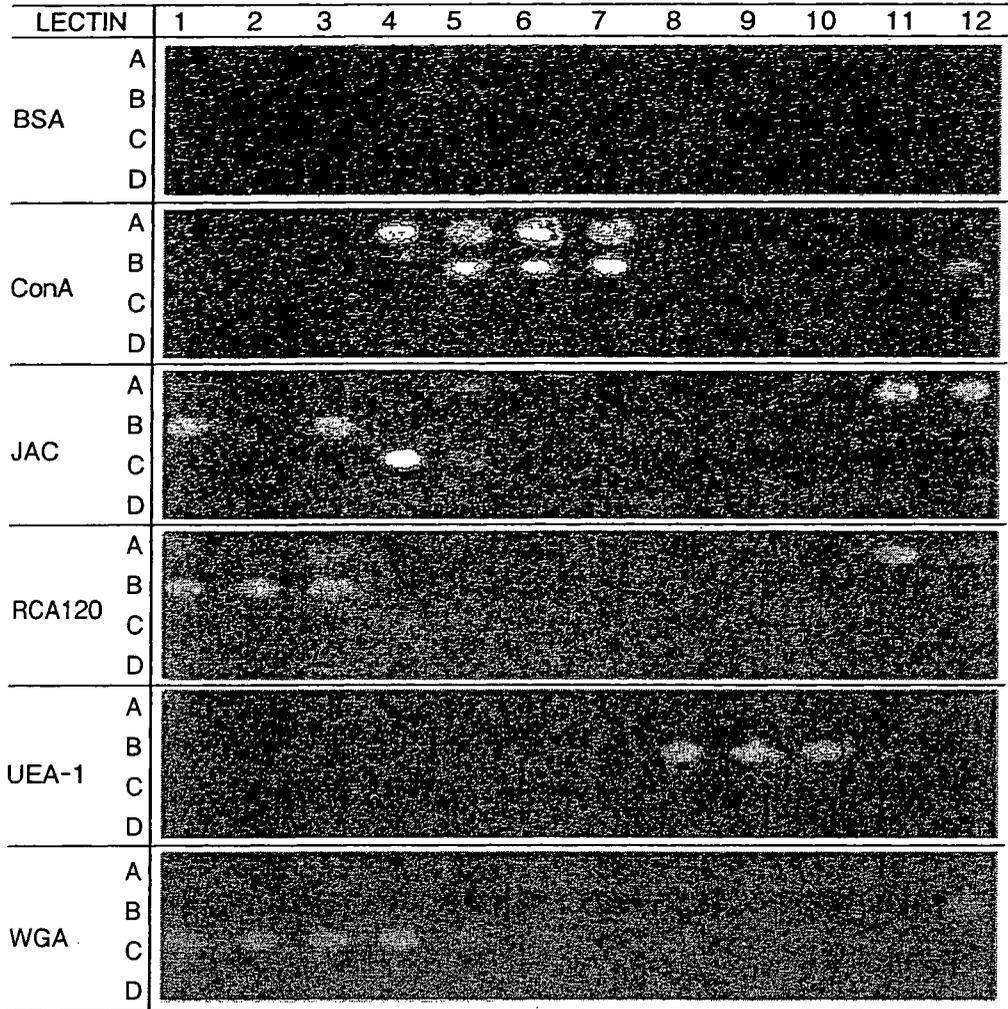
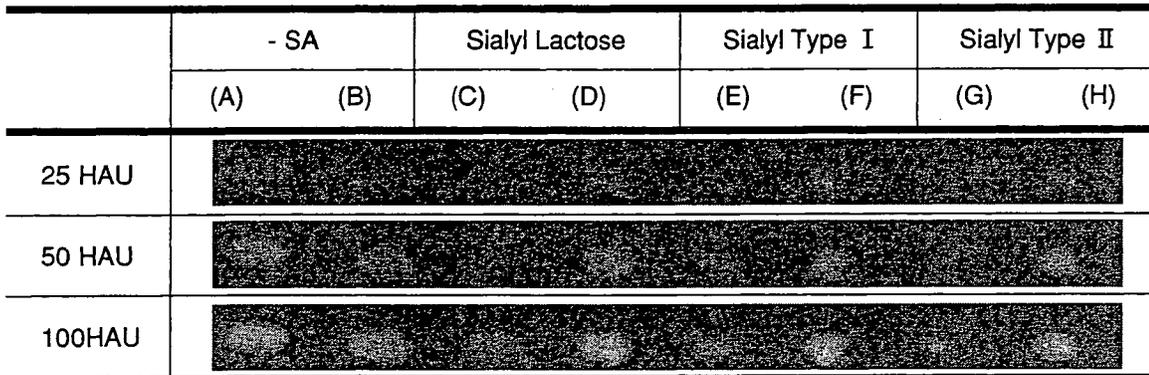


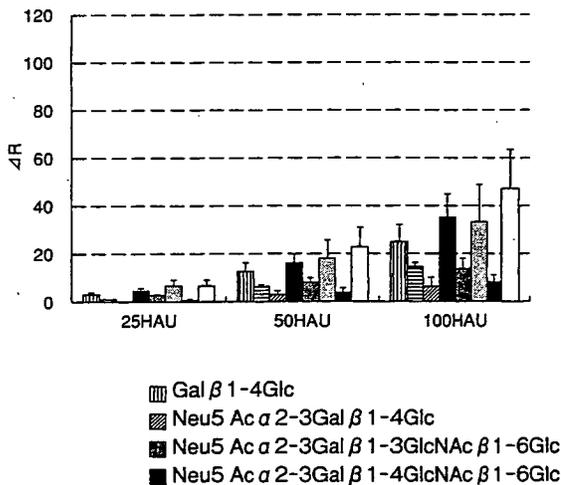
図3 アレイタイプのシュガーチップへの各種蛋白質の結合挙動 (SPR イメージング)
 蛋白質は牛血清アルブミン (BSA), コンカナバリン (ConA), *Jacalin lectin* (JAC), *Ricinus communis* アグルチニン (RCA 120), *Ulex europeas* アグルチニン (UEA-1), *Wheat germ* アグルチニン (WGA)。チップ上のアドレス (括弧内) にスポットした糖鎖リガンド複合体は以下の通り。Glc-mono (A 1); GlcNAc-mono (A 2); Gal-mono (A 3); Glc α 1-4 Glc-mono (A 4); Glc α 1-4 Glc α 1-4 Glc-mono (A 5); Glc α 1-6 Glc-mono (A 6); Glc α 1-6 Glc α 1-6 Glc-mono (A 7); Glc β 1-3 Glc β 1-3 Glc-mono (A 8); Glc β 1-4 Glc-mono (A 9); Glc β 1-6 Glc-mono (A 10); Gal α 1-6 Glc-mono (A 11); Gal α 1-4 Gal β 1-4 Glc-mono (A 12); Gal β 1-3 GalNAc α 1-6 Glc-mono (B 1); Gal β 1-4 GlcNAc β 1-6 Glc-mono (B 2); Gal β 1-4 Glc-mono (B 3); Gal β 1-4 [Fuc α 1-2] GlcNAc β 1-3 Gal β 1-4 Glc-mono (B 4); Man α 1-2 Man-mono (B 5); Man α 1-3 Man α 1-4 Man-mono (B 6); Man α 1-6 Man-mono (B 7); Fuc α 1-2 Gal β 1-4 Glc-mono (B 8); Fuc α 1-6 Glc-mono (B 9); Fuc β 1-6 Glc-mono (B 10); Xyl β 1-6 Glc-mono (B 11); GlcNAc α 1-6 Glc-mono (B 12); GlcNAc β 1-4 GlcNAc-mono (C 1); GlcNAc β 1-6 Glc-mono (C 2); GlcNAc β 1-3 Gal β 1-4 GlcNAc β 1-3 Gal β 1-4 Glc-mono (C 3); GalNAc α 1-6 Glc-mono (C 4); GalNAc β 1-3 Gal-mono (C 5); NeuAc α 2-3 Gal β 1-4 GlcNAc-mono (C 7); NeuAc α 2-3 Gal β 1-3 GlcNAc β 1-6 Glc-mono (C 8); NeuAc α 2-3 Gal β 1-4 GlcNAc β 1-6 Glc-mono (C 9); NeuAc α 2-6 Gal β 1-4 Glc-mono (C 10); NeuAc α 2-6 Gal β 1-3 GlcNAc β 1-6 Glc-mono (C 11); NeuAc α 2-3 Gal β 1-4 GlcNAc β 1-6 Glc-mono (C 12); GlcNS 6 S α 1-4 IdoA 2 S β 1-6 Glc-mono (D 1); Heparin-mono (D 2)。

を目指し、異なるインフルエンザウイルス株の結合挙動を上記の糖アレイシステムを用いて検討した。すなわち、化学酵素法で合成、または市販の6種のシアル酸含有糖鎖とコントロールの2種類の糖鎖を固定化したアレイタイプのシュガーチップを調製し、実験に用いた。全部で8種類の糖鎖であるので、チップ上にはそれぞれの糖鎖は複数(4~8点)スポットした。インフルエンザウイルスは、MDCK細胞または鶏卵で培養し、シヨ糖密度勾配法で精製後、鶏赤血球を用いたヘマグルチニン(HA)価で濃度を決定し、HA価を合わせて実験に供した。図4に1例を示した。SPRイメージングで観測された輝度(a)を定量し、それぞれの糖鎖に対する絶対結合値

(a) SPRイメージング



(b) 結合の絶対値



(c) 相対結合率

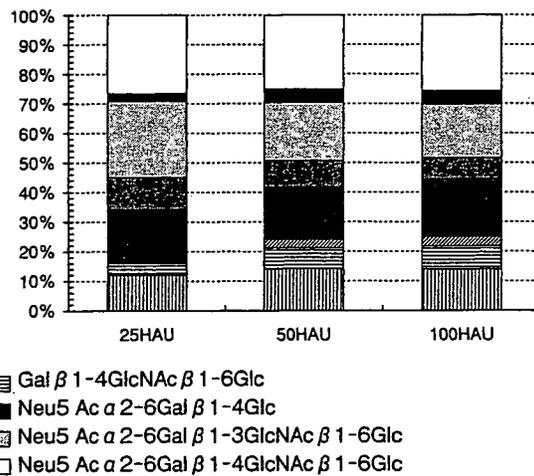


図4 A型インフルエンザウイルス福岡株 [A/Fukuoka/C 29/85 (H3N2)] のアレイタイプシュガーチップへの結合挙動

(a) SPR イメージング; (b) 結合の絶対値; (c) 相対結合率。チップ上のアドレス(括弧内)にスポットした糖鎖リガンド複合体は以下の通り。Gal β 1-4 Glc-mono(A); Gal β 1-4 GlcNAc β 1-6 Glc-mono(B); Neu 5 Ac α 2-3 Gal β 1-4 Glc-mono(C); Neu 5 Ac α 2-6 Gal β 1-4 Glc-mono(D); Neu 5 Ac α 2-3 Gal β 1-3 GlcNAc β 1-6 Glc-mono(E); Neu 5 Ac α 2-6 Gal β 1-3 GlcNAc β 1-6 Glc-mono(F); Neu 5 Ac α 2-3 Gal β 1-4 GlcNAc β 1-6 Glc-mono(G); Neu 5 Ac α 2-6 Gal β 1-4 GlcNAc β 1-6 Glc-mono(H)。

を算出した (b)。当然のことながら、HA 価が大きいほど、結合値は大きくなっている。ここで、(b) の絶対結合値を相対結合率に直すと、HA 価によらずそれぞれの糖鎖への相対結合率はほぼ同じであることが分かった (c)。そこで、ウイルスの種類を増やし、同じ系でウイルスの 8 種の糖鎖への相対結合率を測定することとした。現在までに、約 20 種類のインフルエンザウイルス株を対象とした測定を終了し、データベースの作成とそれに基づくウイルス株の識別アルゴリズム作成を開始している。

5 おわりに

アレイタイプの糖チップ (シュガーチップ) は、本稿で述べたインフルエンザウイルス株の同定など、今までの抗体を用いた方法では識別できなかった対象物の新しい検査・診断法に応用できる可能性がある。我々はインフルエンザウイルス以外のウイルスや、各種細菌の識別、さらには細胞表層の変化をアレイタイプのシュガーチップで観測する系を構築している。現在の実験上の問題点は、比較的大量のサンプル量 (約 300 μ l) が必要であること、測定時のハンドリングが悪いこと、さらに測定方法が SPR イメージングであるため、定量化する際のダイナミックレンジが小さいことである。特に、後者は解離定数を求める時等に正確さを欠くときがあるので、我々はアレイタイプのシュガーチップは主としてスクリーニングに用いて、定性的情報を得るために使用し、正確な解離定数等は前述した 2 チャンネルの SPR 機器を使用して求めている。また、前者 2 つの問題をも一気に解決するために、我々は局所プラズモン共鳴法を原理とした光ファイバー型 SPR を別途開発しており、近い将来はそれに変えていきたいと考えている。

文 献

- 1) Varki, A. in *Essentials of Glycobiology*, (Eds.: Varki, A., Cummings, R., Esko, J., Freeze, H., Hart, G., and Marth, J.), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, NY, pp. 57-68, and references therein. (1999)
- 2) Suda, Y., Arano, A., Fukui, Y., Koshida, S., Wakao, M., Nishimura, T., Kusumoto, S., and Sobel, M., Immobilization and Clustering of Structurally Defined Oligosaccharides for Sugar Chips: An Improved Method for Surface Plasmon Resonance Analysis of Protein-Carbohydrate Interactions, *Bioconjug. Chem.*, **17**, 1125-1135 (2006)
- 3) Skehel, J. J., Wiley, D. C., Receptor binding and membrane fusion in virus entry: the influenza hemagglutinin. *Annu. Rev. Biochem.*, **69**, 531-569 (2000)

- 4) Ito, T., Couceiro, J. N., Kelm, S., Baum, L. G., Krauss, S., Castrucci, M. R., Donatelli, I., Kida, H., Paulson, J. C., Webster, R. G., Kawaoka, Y., Molecular basis for the generation in pigs of influenza A viruses with pandemic potential, *J. Virol.*, 72, 7367-7373 (1998)
- 5) Gamblin, S. J., Haire, L. F., Russell, R. J., Stevens, D. J., Xiao, B., Ha, Y., Vasisht, N., Steinhauer, D. A., Daniels, R. S., Elliot, A., Wiley, D. C., Skehel, J. J., The structure and receptor binding properties of the 1918 influenza hemagglutinin, *Science.*, 303, 1838-1842 (2004)
- 6) Gagneux, P., Cheriyan, M., Hurtado-Ziola, N., van der Linden, E. C., Anderson, D., McClure, H., Varki, A., Varki, N. M., Human-specific regulation of alpha 2-6-linked sialic acids. *J. Biol. Chem.*, 278, 48245-48250 (2003)
- 7) Ryan-Poirier, K., Suzuki, Y., Bean, W. J., Kobasa, D., Takada, A., Ito, T., Kawaoka, Y., Changes in H3 influenza A virus receptor specificity during replication in humans, *Virus Res.*, 56, 169-176 (1998)

Immobilization and Clustering of Structurally Defined Oligosaccharides for Sugar Chips: An Improved Method for Surface Plasmon Resonance Analysis of Protein–Carbohydrate Interactions

Yasuo Suda,^{*,†,‡} Akio Arano,[‡] Yasuhiro Fukui,[§] Shuhei Koshida,[§] Masahiro Wakao,[†] Tomoaki Nishimura,^{†,‡} Shoichi Kusumoto,^{§,∇} and Michael Sobel[‡]

Department of Nanostructure and Advanced Materials, Graduate School of Science and Engineering and Venture Business Laboratory, Kagoshima University, Kohrimoto, Kagoshima 890-0065, Japan, Japan Science and Technology Agency (JST), 5-3-4 Bancho, Chiyoda-ku, Tokyo 102-8666, Japan, Department of Chemistry, Graduate School of Science, Osaka University, Toyonaka, Osaka 560-0043, Japan, and Department of Surgery, University of Washington and VA Puget Sound Health Care System, Seattle, Washington 98108. Received March 11, 2006; Revised Manuscript Received July 7, 2006

Oligosaccharides are increasingly being recognized as important partners in receptor–ligand binding and cellular signaling. Surface plasmon resonance (SPR) is a very powerful tool for the real-time study of the specific interactions between biological molecules. We report here an advanced method for the immobilization of oligosaccharides in clustered structures for SPR and their application to the analysis of heparin–protein interactions. Reductive amination reactions and linker molecules were designed and optimized. Using mono-, tri-, or tetravalent linker compounds, we incorporated synthetic structurally defined disaccharide units of heparin and immobilized them as ligands for SPR. Their binding to an important hemostatic protein, von Willebrand factor (vWf), and its known heparin-binding domain was quantitatively analyzed. These multivalent ligand conjugates exhibited reproducible binding behavior, with consistency of the surface conditions of the SPR chip. This novel technique for oligosaccharide immobilization in SPR studies is accurate, specific, and easily applicable to both synthetic and naturally derived oligosaccharides.

INTRODUCTION

Oligosaccharides of two to ten sugar moieties are responsible for many important biological functions (1). Both the specific structural attributes of the minimum oligosaccharide unit and the spacing and distribution of these key binding units determine the ultimate biological function of heparins and heparin-like glycosaminoglycans (2). Often, the minimal oligosaccharide unit with a structurally specific interaction may be as small as a di- or trisaccharide (3, 4). However, for full biological activity, these key binding units must often be presented in repeating units or clusters, appropriately spaced to interact with the heparin-binding sites of the cognate protein. Two major problems arise in the study of these structure–function relations. First, it is not easy to obtain large quantities of a homogeneous, structurally defined oligosaccharide. They cannot be expressed recombinantly, like proteins, and therefore, long and tedious chemical processes are necessary to synthesize or derive them from natural sources. The second problem is that an individual oligosaccharide motif may have low affinity but in biological systems they are often presented in clustered or repeating forms, which contribute significantly to their potency and affinity. We hypothesized that a chip or an array technology, in which structurally defined key oligosaccharide binding units are two-dimensionally immobilized on a surface, would be an effective

method to solve these problems and could be used as a high-throughput screening method.

A number of investigators have tackled the challenges of oligosaccharide immobilization. Techniques for self-assembled monolayers have been described by Horan et al. (5), Mrksich and co-workers (6, 7), and others. However, no method has so far been devised that both is procedurally simple and does not significantly modify or potentially interfere with the biological activity of the oligosaccharide. Most of these techniques require significant chemical modifications of the glycans, potentially obscuring the interpretation of structure–function relations. For example, conventional methods have involved chemical modifications at the 1-position of the carbohydrate, such as amination or allylation (8, 9). But these approaches invariably put functional sulfate or phosphate groups at risk. Finally, currently established methods do not afford the opportunity to control the clustering or multimerization of oligosaccharide functional domains. To this end, we pursued novel immobilization strategies for oligosaccharides, which would be technically simpler and less destructive, making them useful to a wider group of investigators. For detection, we chose surface plasmon resonance (SPR) technology, which permits the real-time analysis of molecular binding using microgram quantities of analyzing materials, without further labeling (10–14). It can measure the binding affinity and on (association) and off (dissociation) rates and is useful for high-throughput screening of new drug targets.

In previous work, we had shown that a specific disaccharide unit in heparin, *O*-(2-deoxy-2-sulfamido-6-*O*-sulfo- α -D-glucopyranosyl)-(1–4)-2-*O*-sulfo- α -L-idopyranosyluronic acid (abbreviated as GlcNS6S-IdoA2S), was a key unit responsible for heparin binding to human platelets (15) and von Willebrand factor (vWf) (16). We also found that the clustering of these disaccharides significantly enhanced the interaction (17, 18). To systematically investigate heparin's binding interactions, we

* Corresponding author. Tel: +81-99-285-8369 or +81-99-285-8598. Fax: +81-99-285-3630. E-mail: ysuda@eng.kagoshima-u.ac.jp.

[†] Kagoshima University.

[‡] Japan Science and Technology Agency.

[§] Osaka University.

[∇] Present address: Suntory Institute for Bioorganic Research, Shimamoto-cho, Mishima-gun, Osaka 618-8503, Japan.

[‡] University of Washington and VA Puget Sound Health Care System.