

神経突起伸長に機能するグリコサミノグリカン糖鎖 の構造と分子認識

神戸薬科大学薬学部教授

菅原 一幸

硫酸化グリコサミノグリカン糖鎖は膨大な情報を包含しうる構造多様性を有し、初期発生や神経分化に深く関与している。しかし、糖鎖の分子量が大きく、構造が複雑で、その機能と構造の相関関係の解明は極めて遅れている。本研究において、我々は、硫酸化グリコサミノグリカンの神経突起伸長促進活性と初期発生におけるこの種の糖鎖の機能と構造の相関関係を解明すべく、次の3種類のプロジェクトを遂行した。(1) サメ軟骨コンドロイチン硫酸 D の神経突起伸長促進活性と構造の相関に関する研究、(2) 神経突起伸長促進活性を有する分化因子ミッドカインとコンドロイチン硫酸の相互作用に関する研究、(3) アフリカツメガエルの胚発生過程におけるヘパラン硫酸の機能の研究。以下、個々のプロジェクトに関して、研究成果を報告する。

(1) サメ軟骨由来のコンドロイチン硫酸 D の神経突起伸長促進活性に関する研究

「研究の背景と目的」脳神経系に存在するコンドロイチン硫酸 (CS) の機能的重要性が示されつつある。Fujita や Faissner [独] などにより CS を認識する mAb が作成され、神経系での CS の局在や出現のパターンが明らかになった。Oohira らは、脳のコンドロイチン硫酸プロテオグリカン (CS-PG) を単離精製し、幾つかのコアプロテインのクローニングを行った。最近になり、ラットの脳のグリア細胞表面上に存在する CS-PG が、ニューロンの突起伸長に関与することが報告された。我々はサメ軟骨コンドロイチン硫酸 D (CS-D) にもラット脳の神経突起伸長促進活性があることを見い出し、単クローン抗体を用いた実験により、機能ドメインの構造は、おそらく D unit [-GlcA(2-O-sulfate) β 1-3GalNAc(6-O-sulfate)-] を含む構造であると推察した。脳より単離した神経突起伸長促進活性を有する CS-PG にも D unit が存在することを示し、さらに機能ドメインの構造的特徴を推定した。

「研究方法・研究内容」CS-D に含まれる特徴的なドメイン構造を探索することを目的として八糖の構造解析を行った。CS-D をコンドロイチナーゼを用いて部分的に分解し、ゲル濾過によりサイズで分画し八糖画分を得た。八糖画分を陰イオン交換 HPLC で硫酸化パターンの違いにより分画し、精製八糖を得た。精製八糖は、コンドロイチナーゼやスルファターゼなどの分解酵素や¹H NMR を用いた分析により構造解析を行った。次に、神経突起伸長促進活性と構造との相関性を調べた。CS-D より調製したオリゴ糖を用いて阻害実験を行い、エピトープのサイズや抗体との結合に必要な構造を調べた。CS-D を脱硫酸化し、糖鎖の硫酸化の重要性を示し、さらに阻害活性や神経突起伸長活性の強弱と構造を相関させることで、機能発現に重要な硫酸化パターンの特徴についても考察した。

「研究結果」

神経突起伸長促進活性をもった CS-PG を認識する単クローン抗体のエピトープを調べる目的で、サメ軟骨 CS-D をコンドロイチナーゼにより分解し、八糖を調製した。まず、CS-D のコンドロイチナーゼによる消化

物を Bio-gel P-10 を用いたゲルろ過によりサイズで分画した (図 1)。得られた八糖をポリアミンカラムを用いた HPLC で硫酸化パターンの違いにより分画した (図 2)。主要な画分である、Fr. I, II, IV, Va, Vb, VIa, VIb, VIII について、分解酵素を用いた分析や ^1H NMR を用いた機器分析を行い構造を決定した。構造解析の例として、Fr. Vb の 500-MHz ^1H NMR スペクトルを示した (図 3)。以上のような分析手法により決定した 8 種の八糖の構造を表 1 に示した。

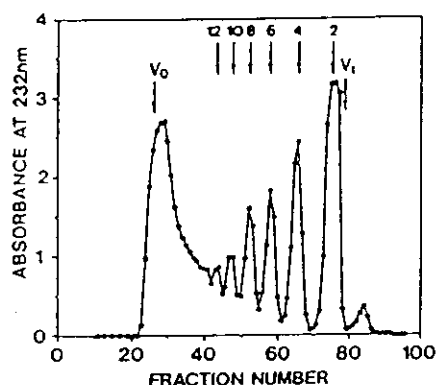


図 1 Bio-gel P-10 カラムを用いたゲル濾過によるオリゴ糖のサイズ分画

サメ軟骨 CS-D をコンドロイチナーゼ ABC で部分消化し、Bio-gel P-10 を用いたゲル濾過によりサイズで分画した。上の矢印と数字は、2 は二糖、4 は四糖を示す。今回は、八糖画分について構造解析を行った。

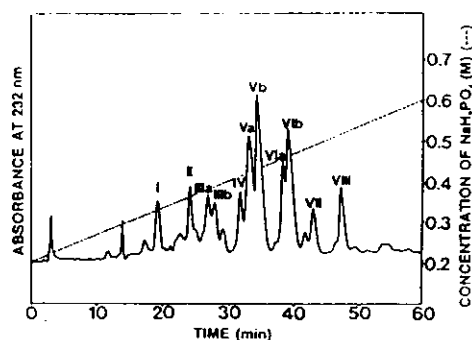


図 2 八糖画分の HPLC による分画

ゲル濾過により得八糖画分を、ポリアミンカラムを用いた HPLC で硫酸化の程度の違いにより分画した。

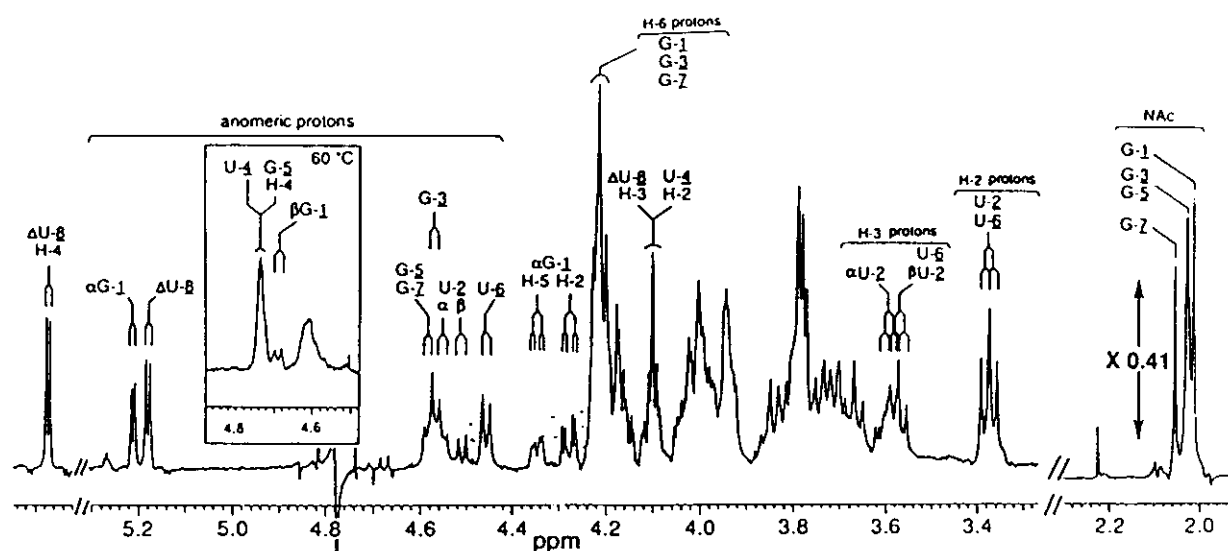


図 3 Fr. Vb の 500-MHz ^1H NMR の一次元スペクトル

Fr. Vb の 500-MHz ^1H NMR の 26 °C における一次元スペクトルである。各プロトンのシグナルのアサインメントは 2 次元 HOHAHA、COSY スペクトルにより行った。HOD シグナルのサプレッションのため観察できない部分があったので、60 °C でも測定し、インセットに示した。

Fr. I:

ΔHexA $\alpha 1\text{-3GalNAc(6S)}\beta 1\text{-4GlcA}\beta 1\text{-3GalNAc(6S)}\beta 1\text{-4GlcA}\beta 1\text{-3GalNAc(6S)}\beta 1\text{-4GlcA}\beta 1\text{-3GalNAc(6S)}$

Fr. II:

ΔHexA $\alpha 1\text{-3GalNAc(6S)}\beta 1\text{-4GlcA}\beta 1\text{-3GalNAc(6S)}\beta 1\text{-4GlcA}\beta 1\text{-3GalNAc(6S)}\beta 1\text{-4GlcA}\beta 1\text{-3GalNAc(4S)}$

Fr. IV:

$\Delta\text{HexA(2S)}$ $\alpha 1\text{-3GalNAc(6S)}\beta 1\text{-4GlcA}\beta 1\text{-3GalNAc(6S)}\beta 1\text{-4GlcA}$ $\beta 1\text{-3GalNAc(6S)}\beta 1\text{-4GlcA}\beta 1\text{-3GalNAc(4S)}$

Fr. V a:

ΔHexA $\alpha 1\text{-3GalNAc(4S)}\beta 1\text{-4GlcA}\beta 1\text{-3GalNAc(4S)}\beta 1\text{-4GlcA(2S)}\beta 1\text{-3GalNAc(6S)}\beta 1\text{-4GlcA}\beta 1\text{-3GalNAc(6S)}$

Fr. Vb:

ΔHexA $\alpha 1\text{-3GalNAc(6S)}\beta 1\text{-4GlcA}\beta 1\text{-3GalNAc(4S)}\beta 1\text{-4GlcA(2S)}\beta 1\text{-3GalNAc(6S)}\beta 1\text{-4GlcA}\beta 1\text{-3GalNAc(6S)}$

Fr. VIa:

ΔHexA $\alpha 1\text{-3GalNAc(4S)}\beta 1\text{-4GlcA}\beta 1\text{-3GalNAc(4S)}\beta 1\text{-4GlcA(2S)}\beta 1\text{-3GalNAc(6S)}\beta 1\text{-4GlcA}\beta 1\text{-3GalNAc(4S)}$

Fr. VIb:

ΔHexA $\alpha 1\text{-3GalNAc(6S)}\beta 1\text{-4GlcA}\beta 1\text{-3GalNAc(4S)}\beta 1\text{-4GlcA(2S)}\beta 1\text{-3GalNAc(6S)}\beta 1\text{-4GlcA}\beta 1\text{-3GalNAc(4S)}$

Fr. VIII:

$\Delta\text{HexA(2S)}$ $\alpha 1\text{-3GalNAc(6S)}\beta 1\text{-4GlcA}\beta 1\text{-3GalNAc(4S)}\beta 1\text{-4GlcA(2S)}\beta 1\text{-3GalNAc(6S)}\beta 1\text{-4GlcA}\beta 1\text{-3GalNAc(4S)}$

表 1 サメ軟骨 CS-D 由来不飽和八糖の構造

ΔHexA , 不飽和ヘキサロン酸; GalNAc , *N*-アセチルガラクトサミン; GlcA , グルクロン酸; S, 硫酸基;
2S, 2 位の水酸基の硫酸化; 4S, 4 位の水酸基の硫酸化; 6S, 6 位の水酸基の硫酸化。

八糖の構造解析の結果より、サメ軟骨 CS-D に特徴的なジ硫酸化二糖単位である D unit はその非還元末端側に A unit [-GlcA β 1-3GalNAc(4S)-] を伴い、A-D 四糖配列 [-GlcA β 1-3GalNAc(4S) β 1-4GlcA(2S) β 1-3GalNAc(6S)-] (上記構造式の二重線部) として存在すること、さらに A-D 四糖配列は、その還元末端側に A unit あるいは C unit [-GlcA β 1-3GalNAc(6S)-] を伴い、A-D-A あるいは A-D-C 六糖配列 [-GlcA β 1-3GalNAc(4S) β 1-4GlcA(2S) β 1-3GalNAc(6S) β 1-4GlcA β 1-3GalNAc(4S)- or -Glc β 1-3GalNAc(4S) β 1-4GlcA(2S) β 1-3GalNAc(6S) β 1-4GlcA β 1-3GalNAc(6S)-] として存在することがわかった (上記の下線部の構造)。

マウスの脳に存在する神経突起伸長促進活性をもった CS-PG と単クローン抗体 (473HD mAb) との結合はサメ軟骨 CS により特異的に阻害された (Faissner, A. *et al.* (1994) *J. Cell Biol.*, 126, 783-799)。473HD mAb との結合部位の大きさを推測するため、1) でサメ軟骨 CS-D より調製したいろいろなサイズのオリゴ糖を阻害物質として用いて、CS-PG と 473HD mAb との結合を阻害したところ、12 糖以上のサイズで阻害活性が認められた。473HD mAb が結合した Sepharose カラムを用いて、フットプリンティング法により CS-D 鎖中に存在する結合部位を単離した。単離した結合部位をゲル濾過により分析したところ、その分子量は、およそ 10,000 であることがわかった。

サメ軟骨 CS-D をソルボリシスによる化学処理により脱硫酸化したところ、硫酸化の程度が低下するにつれ、CS-PG と単クローン抗体との結合を阻害する活性や神経突起伸長促進活性が減少した。したがって、硫酸化構造は単クローン抗体が CS-PG を認識する際、あるいは CS-PG が神経突起伸長促進活性を発揮する際、非常に重要な役割を担うと考えられる。次に、どのような構造が重要であるかを調べた。473HD mAb が結

合した Sepharose カラムに [^3H] で標識した CS-A と CS-D を添加した。CS-A は CS のサブクラスの一つであり、主に GalNAc の 4 位が硫酸化された二糖単位 (A unit) より構成され、CS-D に特徴的な D unit と呼ばれるジ硫酸化二糖構造は含まない。CS-D は抗体カラムに結合したが、CS-A は結合しなかった。また、[^3H]-CS-D の抗体カラムへの結合は、非標識の CS-A ではなく、CS-D により特異的に阻害された (図 4)。

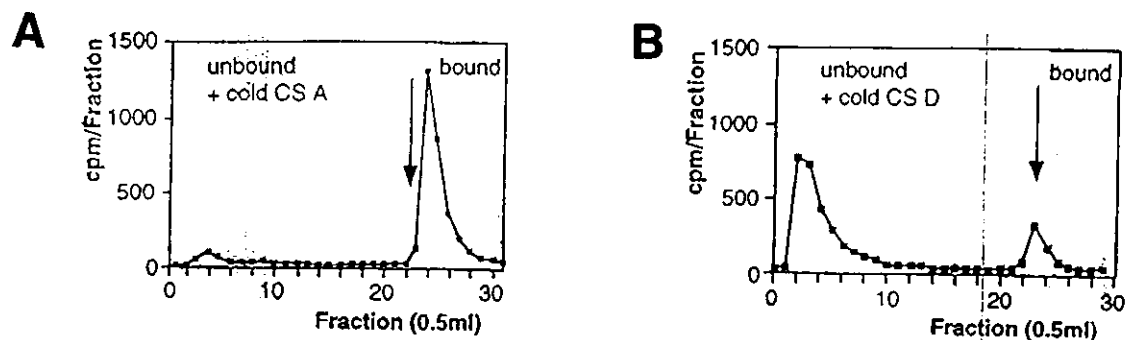


図 4 473HD mAb が結合した Sepharose カラムに対して CS-D は特異的に結合する

[^3H] CS-D を 473HD mAb が結合した Sepharose カラムに Apply する。非結合画分は PBS で、結合画分はジェエ ルアミン (pH 11.5) buffer で溶出して得た。[^3H] CS-D の抗体に対する結合は、非標識 CS-A では阻害されず (図 A)、 CS-D で特異的に阻害された (図 B)。

サメ軟骨 CS-D 中には、473HD mAb により認識されるエピトープ構造 が存在することはわかってきたので、サメ軟骨 CS-D 鎖を、抗体カラム を用いて、エピトープをより多く含む CS-D 鎖とそうでない CS-D 鎖に 分画し、エピトープの構造上の特徴を調べようと試みた。また、抗体に 対する結合の強さと構造、阻害活性、及び神経突起伸長促進活性との相 関性を調べようとした。CS-D を 473HD mAb が結合した Sepharose カラ ムを用いた Affinity chromatography により分画し、結合画分 (FR. 1) と非 結合画分 (FR. UB) を得た。再クロマトを行うことで、FR. 1 より FR. 2 と FR. UB を得た。さらに、再々クロマトを行い、FR. 2 より FR. 3 と FR. UB を得た。構造と機能の相関性を示すことを目的として、得られた 画分の二糖組成分析 (表 2)、Inhibition assay、Functional assay (図 5) を行った。抗体との結合力が強いほど、つまり、FR. 1 > FR. 2 > FR. 3 > FR. UB の順に、D unit 構造、阻害活性、神経突起伸長促進活性が増加す る傾向が見られた。サメ軟骨の CS には D unit の含量の異なる 2 種のサ ブタイプが存在し、D unit の含量が高いものを CS-D、低いものを CS-C と呼んでいる。CS-C でも同じ実験を行ったところ、D unit の含 量が高い Fr. B-1 のみが活性を示すことがわかった (表 2、図 5)。

これらの実験結果より、脳に存在する神経突起伸長促進活性をもった CS-PG を認識する 473HD mAb は、サメ軟骨 CS-D に特徴的な構造であ る D unit を含む構造を認識することが示唆された。D unit は神経突起伸 長促進活性とも相関性を示すため、神経系における機能発現において重 要な構造であることがわかった。D unit は脳内に痕跡程度にしか発現し ていない構造であると考えられているが、この珍しい構造が、神経系の

分化・発生において重要な役割を果たす可能性が示された。また、エビトープのサイズは、かなり大きいと考えられ、D unit とその周辺の構造が重要であることがわかった。今回、サメ軟骨 CS-D の構造解析を行ったところ、D unit を含む特徴的な六糖配列が存在することがわかった。この六糖配列が神経突起伸長促進活性を担うかどうかは興味深い問題である。

	C-FR. 1	C-FR. 2	C-FR. 3	C-FR. UB	D-FR. 1	D-FR. 2	D-FR. 3	D-FR. UB
C unit	60.9	75.2	74.4	81.4	33.6	42.7	50.7	62.6
A unit	18.0	15.2	14.1	16.6	38.8	32.3	27.2	27.6
D unit	21.1	9.6	11.5	2.0	26.0	23.2	20.5	9.8

表2 473HD mAb を結合した Sepharose カラムを用いて分画して得た画分の二糖組成分析
各画分の二糖組成はコンドロイチナーゼで消化し、その消化物をHPLCで分析することにより求めた。C-FR. はCS-C、D-FR. はCS-Dより得た画分を示す。抗体に対する結合力が低下するにつれ、C unit の含量は増加し、D unit の含量が低下していることがわかる。C unit: GlcA-GalNAc(6-O-sulfate); A unit: GlcA-GalNAc(4-O-sulfate); D unit: GlcA(2-O-sulfate)-GalNAc(6-O-sulfate)。

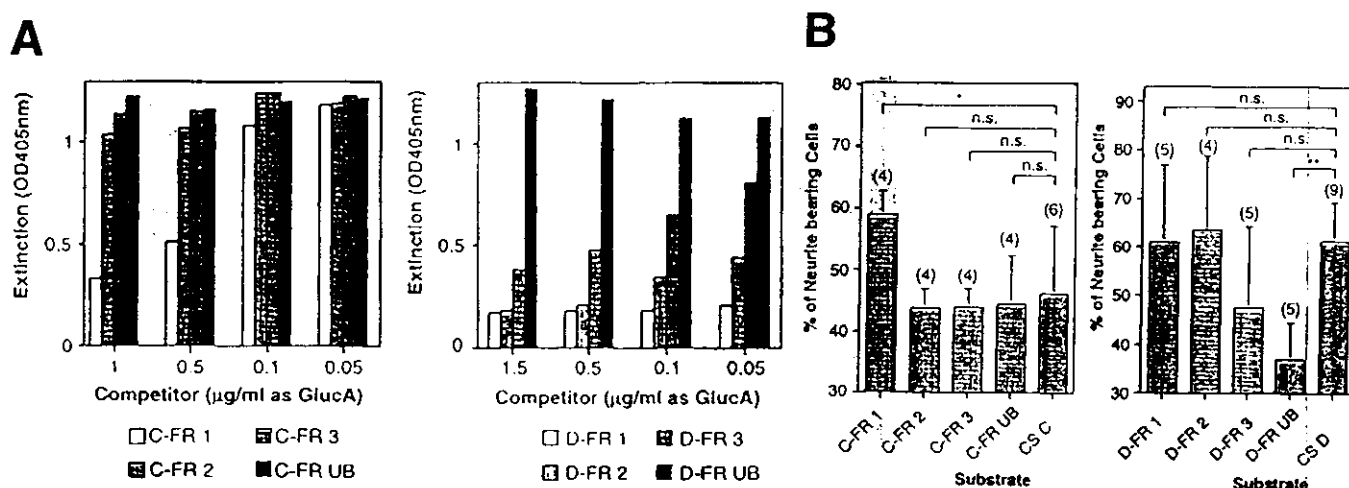


図5 抗体カラムを用いて調製した各画分のInhibition Assay及びFunctional Assay
(A) 抗体カラムを用いて調製した各画分を阻害物質として用いて、CS-PGと473HD mAbの結合を阻害した。抗体への結合力が強いほど阻害活性も強かった。C-FR. はCS-Cより、D-FR. はCS-Dより調製した画分を示す。
(B) 抗体カラムを用いて調製した各画分をデッシュにコートして、神経細胞の突起伸長をみた。抗体への結合力が強いほど神経突起伸長促進活性も強かった。

「生活や産業への貢献および波及効果」

中枢神経において、軸索が切れると再生することはないと考えられている。現在、開発されている抗痴呆薬は、障害を受けた神経細胞の周辺の神経細胞の代償機能を高めるといった薬理的効果をもつものが多いが、神経突起伸長の分子レベルでのメカニズムを解明することができれば、障害を受けた細胞を活性化させ、再び突起の伸展を引き起こすことが可能であるかもしれない。したがって、新しいタイプの抗痴呆薬の開発が

望める。本研究では、糖鎖を用いたそのような創薬のための重要な基礎的知見が得られたといえる。

（２）神経突起伸長促進活性を有する分化因子ミッドカインとコンドロイチン硫酸の相互作用に関する研究

「研究の背景と目的」

神経突起伸長促進活性を有する分化因子・ミッドカインの活性調節にはヘパラン硫酸が関わっていることが予想されているが、その正確なリガンド分子は同定されていない。脳内には、ヘパラン硫酸によく似た構造をもつコンドロイチン硫酸が多く存在することが明らかになってきており、それらの幾つかのものは神経突起の方向性の決定や神経細胞の延命効果、神経細胞突起伸長促進に関係していると考えられている。我々は、以前、ラット胎児脳由来の培養神経細胞のミッドカインを介した基質への接着が、多硫酸化コンドロイチン硫酸 E によっても強く阻害されることを見いだした。そこで、今回コンドロイチン硫酸とミッドカインとの相互作用について、特にコンドロイチン硫酸 E に注目しながら解析した。

「研究方法・研究内容」

イカ軟骨より精製した多硫酸化コンドロイチン硫酸 E について、 ^3H -無水酢酸でアセチル化標識した。 ^3H -放射したコンドロイチン硫酸 E とミッドカインをインキュベートし、ニトロセルロース膜を用いた結合実験を行って、その結合能をしらべた。

さらに、結合実験の際に、標識していない各種グリコサミノグリカン鎖を同時に加えてインキュベーションを行なうことにより、 ^3H -標識された糖鎖とミッドカインとの相互作用を阻害した。阻害の程度の強さから、相対的な親和力の差を知ることができた。

また、表面プラズモン共鳴を利用したバイオセンサー（BIAcore）を用い、ミッドカインと各種硫酸化グリコサミノグリカンとの相互作用を解析した。BIAcore では、センサーチップ上にミッドカインを固定化し、様々な硫酸化グリコサミノグリカンを追加することによって結合能を解析した。

「研究結果」

イカ軟骨コンドロイチン硫酸 E は実際にミッドカインと濃度依存的に結合できた（図 6）。ミッドカインは、脳内の多硫酸化コンドロイチン硫酸と相互作用して機能している可能性がある。また、ミッドカインとコンドロイチン硫酸 E との結合を阻害する実験の結果より（図 7）、両者の結合には硫酸基が重要であることが示唆された。

BIAcore を用い、ミッドカインと各種硫酸化グリコサミノグリカンとの相互作用を速度論的に解析することができ、反応速度に関する三種類のパラメーターをそれぞれのグリコサミノグリカンについて求めることができた（表 3）。BIAcore を用いて得られたミッドカインとグリコサミノグリカンの結合特異性は、ニトロセルロース膜を用いた阻害実験の結果得られた結合特異性とよく似たものであった。

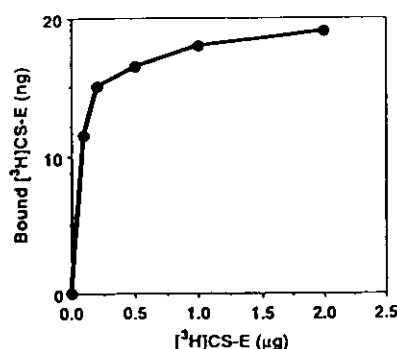


図6 ミッドカインとコンドロイチン硫酸E (CS-E) との結合実験
縦軸はミッドカインに結合したコンドロイチン硫酸Eの量を表した。実験は各二回行い、その誤差は15%以内であった。

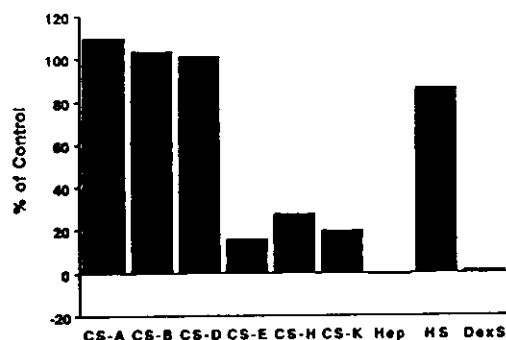


図7 ミッドカインとコンドロイチン硫酸Eとの結合の様々なグリコサミノグリカンによる阻害実験実験
縦軸は阻害物質を加えないときの値を100%としたときのそれに対する比を表す。CS、Hep、HS、DexSは、それぞれコンドロイチン硫酸、ヘパリン、ヘパラン硫酸、デキストラン硫酸を表している。実験は各二回行い、その誤差は12%以内であった。

GAG	k_a $s^{-1} \cdot \mu g^{-1} \cdot ml \times 10^{-4}$	k_d $s^{-1} \times 10^{-3}$	K_D $\mu g/ml$
Hep	8.53	0.715	0.838
HS	3.25	1.24	3.81
CS-A	0.456	1.85	40.5
CS-B	0.0730	0.891	122
CS-C	0.555	1.17	21.1
CS-D	0.804	0.981	12.2
CS-E	7.16	0.637	0.890
CS-H	5.74	1.12	1.95
CS-K	1.38	0.795	5.75
Dex.S	2.32	0.940	4.05

表3 ミッドカインと各種グリコサミノグリカン (GAG) の間の結合反応速度定数 (k_a)、解離反応速度定数 (k_d)、解離定数 (K_D)

本来、生体内においては、硫酸化グリコサミノグリカンの方が細胞表面などに固定化された状態で存在しており、可溶性のミッドカインが固定化された糖鎖と相互作用する場合の方が多いと考えられる。今回BIAcoreを用いて行った実験系では、ミッドカインを固定しグリコサミノグリカン溶液を添加するという生体内とは逆の系で行った。生体内での状況をより反映した実験系を組むためには、グリコサミノグリカンの方をセンサーチップ上に固定化し、ミッドカインを添加する方法で両者の結合の速度論的パラメーターを求めていく必要がある。

「生活や産業への貢献および波及効果」

申請者らの研究は、神経細胞を分化・増殖させるための研究の基盤となるものであるため、得られる成果による波及効果は大きい。我々は神経突起伸長促進活性を有する分化因子の機能発現の制御の探求を行っており、これが解明されれば、神経組織形成のメカニズムや障害をうけた神経組織の修復の研究を行っている他の研究者に、有益な情報を提供することができ、脳・神経分野の研究がますます進歩を遂げるであろう。長期的には、痴呆治療薬や神経系の疾病の治療薬の開発へと発展していく可能性がある。

(3) アフリカツメガエルの胚発生過程におけるヘパラン硫酸の機能の研究

「研究の背景と目的」

ヘパラン硫酸 (HS) は種々の細胞の表面に普遍的に存在し、様々な細胞増殖・分化因子と相互作用して細胞増殖調節活性を発揮することが広く知られている分子である。最近、アフリカツメガエル胚にHS分解酵素を作用させると、その後の発生が阻害されることが報告され、胚発生の過程においてもHSが重要な機能を担っていることが示唆された。アフリカツメガエルの発生過程において、種々のヘパリン結合性分化因子が発現していることも示されており、これらはHSを介して活性を発揮している可能性がある。今回、申請者らはアフリカツメガエル胚よりHSを単離し、特に塩基性繊維芽細胞増殖因子(bFGF)及びフォリスタチン(FS)との相互作用について調べた。また、両因子との結合に必要なHSの構造も調べ、両者を比較した。

「研究方法・研究内容」

アフリカツメガエル胚から精製したHSについて、ヒドラジン分解を行ってGlcNAcのN-アセチル基を遊離後、³H-無水酢酸で再アセチル化を行なって放射標識した。

³H-放射したヘパラン硫酸と細胞増殖・分化因子をインキュベートし、ニトロセルロース膜を透過させた。細胞増殖・分化因子は疎水性が高いため、膜に結合する。その際に、細胞増殖・分化因子と結合していたヘパラン硫酸も膜上に残るため、そのカウントの値から結合能が判定できた。

また、結合実験の際に、標識していない各種グリコサミノグリカン鎖を同時に加えてインキュベーションを行なうことにより、³H-標識された糖鎖と細胞増殖・分化因子との相互作用を阻害した。阻害の程度の強さから、相対的な親和力の差を知ることができた。

さらに、化学修飾したヘパリンやヘパラン硫酸、サイズが特定できたヘパリンオリゴ糖を阻害剤として利用することにより、相互作用に必要な硫酸化構造や結合に必要な最小サイズを明らかにした。

「研究結果」

アフリカツメガエル胚HSは実際にbFGF及びFSと結合できた(図8、9)。HSは、これら分化因子の機能調節によって発生に関与している可能性がある。また、今回初めてFSとの結合に必要なHSの硫酸化構造と(図10)、結合に必要な最小サイズを明らかにすることができた(図11)。bFGF及びFSとHSとの結合にはHSのO、N-硫酸基がともに重要であった。しかし、結合に必要な最小サイズはそれぞれ六糖と十二糖であり、両者のHSに対する結合特異性や結合しうる最小サイズには違いがあり、両因子は異なる構造のHSを認識することが証明された。このことは、発生に伴ってHSの構造がダイナミックな変化をとげ、ヘパリン結合性の種々の分化因子の働きを適切に制御していることを示唆しているのかもしれない。

今後、胚発生の各ステージとHSの構造との相関関係、各ステージで発現している各種分化因子とHSとの相互作用を解析することによって、生

物の発生の制御メカニズムを解明する手掛りが得られるであろう。

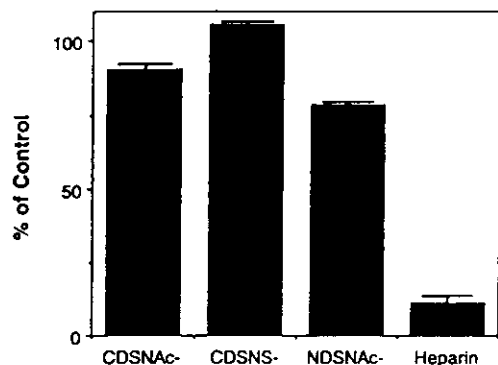


図8 FS、bFGFとHSの結合のいろいろなサイズのヘパリンオリゴ糖による阻害実験
縦軸は阻害物質を加えないときの値を100%としたときのそれに対する比を表す。AはbFGFを用いたとき、BはFSを用いたときの結果を示す。

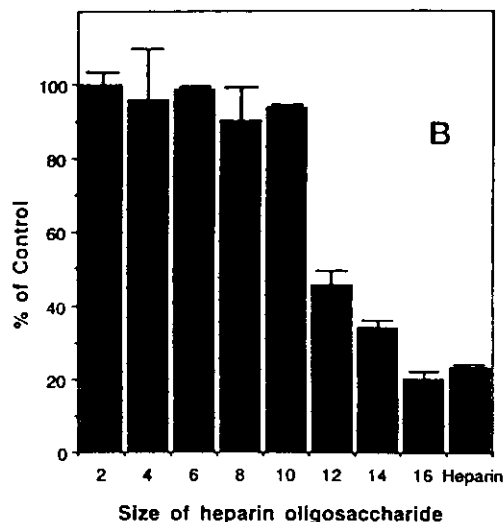
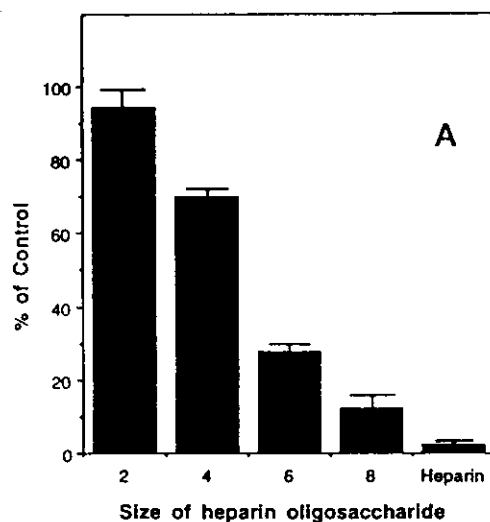


図9 FSとHSの結合の様々な化学修飾を施したヘパリンによる阻害実験
縦軸は阻害物質を加えないときの値を100%としたときのそれに対する比を表す。CDSNAc-、CDSNS-、NDSNAc-はそれぞれ完全脱硫酸化後N-アセチル化 (completely desulfated N-acetylated) したもの、完全脱硫酸化後N-硫酸化 (completely desulfated N-sulfated) したもの、N-脱硫酸化後N-アセチル化 (N-desulfated N-acetylated) したものを表している。

「生活や産業への貢献および波及効果」

我々の研究は、生命現象の探求という基礎の研究であるため、得られる成果による波及効果は大きい。今回の研究によって、胚発生という重要な生命現象に糖質科学という新しい側面からアプローチでき、生物の発生の制御メカニズムの解明が期待される。

本研究に関連する研究成果発表

[1] Nadanaka, S., Clement, A., Masayama, K., Faissner, A. and Sugahara, K. (1998) Characteristic hexasaccharide sequences in octasaccharides derived from shark cartilage chondroitin sulfate D with neurite outgrowth promoting activity. **J. Biol. Chem.**, 273 (6), 3296-3307.

[2] Yamane, Y., Tohno-oka, R., Yamada, S., Furuya, S., Shiokawa, K., Hirabayashi, Y., Sugino, H., and Sugahara, K. (1998) Molecular characterization of *Xenopus* embryo heparan sulfate: Differential structural requirements for the specific binding to basic fibroblast growth factor and follistatin. **J. Biol. Chem.**, 273 (13), 7375-7381.