

伊藤細胞制御化学研究室

Synthetic Cellular Chemistry Laboratory

主任研究員 伊藤 幸成
ITO, Yukishige

糖タンパク質、糖脂質、プロテオグリカン等の複合糖質は構成成分として糖が連なった糖鎖と呼ばれる部分を有している。糖鎖は細胞間の認識、分化やがん化等の細胞レベルでの生命現象と密接に関連していることが知られている。また、タンパク質の活性制御、安定化、フォールディング、輸送、分解過程においても重要な役割を担っていることも明確になりつつある。複雑で多様性に富んだ糖鎖の構築は有機合成化学の見地から興味深い課題であるのみならず、生物学との境界領域の研究対象としても注目されている。これらの背景をもとに複合糖質特に糖タンパク質関連分子の精密合成、それに関連する分子プローブの創製に有効な新規反応や合成戦略、固相合成法の開発を中心に研究を行っている。

1. 複合糖質、特に糖タンパク質構造モチーフの化学合成と機能の解明 (松尾, 眞鍋, 石渡, 戸谷 *1, 萩原 *1, 中原 *2, 中野 *3, 久保田 *3, 太田 *4, 柏木 *4, 宗村 *4, 高谷 *5, 多々見 *5, 高橋, 伊藤)

糖鎖を含む生体分子である複合糖質は多様な構造を持ち、細胞の相互認識、がん化、分化、情報伝達等の生命活動に密接に関与していることが明らかになっている。実際、真核生物の生体内反応を司る酵素、ホルモン、サイトカイン等のタンパク質の多くは糖鎖を含む糖タンパク質であり、それらの輸送、活性調節、立体構造の制御において糖鎖が重要な役割を果たしていることが知られている。一方、糖鎖の役割について明確な理解を得るためには機能と構造を関連づける必要がある。そのためには構造の決まった糖鎖が必要となるが、生物試料から得られる糖タンパク質には限りがあり、ミクロ構造不均一性に起因する構造の曖昧さを含んでいる。また、タンパク質、核酸は多くの場合遺伝子工学的手法により比較的容易に得られるのに対し、糖鎖は遺伝情報の直接の産物ではないためそのような手法の適用外にある。それに対し化学合成の手法を用いると任意の構造を持つ糖鎖、あるいは糖タンパク質部分構造 (機能性ドメイン) を作り出すことが可能になる。

糖鎖の多様な機能の中で特に重要なものに、タンパク質品質管理機構 (Quality Control) における高マンノース型糖鎖の役割がある。細胞内の様々な糖鎖認識タンパク質がこの過程に関わっていることが徐々に明らかになっている。リボソームで作られたタンパク質が小胞体の中で修飾を受ける過程で付加されるアスパラギン結合型糖鎖は、末端に3個のグルコース残基を持つ14糖 ($\text{Glc}_3\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2$, G3M9) としてタンパク質のアスパラギン側鎖に導入される。その後グルコシダーゼ I によって1個のグルコース残基が取り除かれ13糖 ($\text{Glc}_2\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2$, G2M9) となった後に、グルコシダーゼ II の作用により12糖 ($\text{Glc}_1\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2$, G1M9) および11糖 ($\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2$, M9) へと変換される。その中間に生じるモノグルコシル化糖鎖 G1M9 は、小胞体内に存在する分子シャペロンであるカルネキシン (CNX) やカルレティキュリン (CRT) のリガンドとして認識されると考えられている。その他にも (1) 小胞体内にはフォール

ディングセンサーとして働くグルコース転移酵素 (UGGT) や不良タンパク質を分解過程へと導くマンノシダーゼ様レクチン (MLP) が存在すること、(2) 糖鎖を認識するカーゴレセプターとよばれるタンパク質 (VIP36, ERGIC-53) が小胞体-ゴルジ体間の輸送に関わっていること、(3) 細胞質におけるプロテアゾームでのタンパク質の分解における重要なステップのユビキチン化を触媒するユビキチンリガーゼの中で Fbs1 はアスパラギン結合型糖鎖を認識する、等の興味ある現象が続々と発見された。これらのことから糖タンパク質の品質管理の全般において高マンノース型糖鎖が重要な役割を担っていることが分かって来た。当研究室では、上記の現象について明確な理解を得ることを目的として、合成化学的手法を用いることにより均一な構造の高マンノース型糖鎖の系統的な合成経路を開発し、それらを基に糖タンパク質分子プローブを調製する研究を行っている。

我々は昨年度までに分子シャペロン CNX, CRT のリガンド糖鎖と想定される12糖 ($\text{Glc}_1\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2$, G1M9) の合成と NMR による CRT との相互作用解析、G1M9 の小胞体内トリミングによって生ずる一連の糖鎖 [$\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2$ (M9), $\text{Man}_8\text{GlcNAc}_2$ (M8), $\text{Glc}_1\text{Man}_8\text{GlcNAc}_2$ (G1M8)] の合成を完成させた。本年度は等温滴定型カロリメータ (ITC) による合成糖鎖と CRT との定量的相互作用解析を行った。また、前述のユビキチンリガーゼと糖鎖の相互作用の詳細解析を目指し、リガンドの候補と考えられる一連の糖鎖を合成した。これらについても ITC による解析を進めている。

また、合成糖鎖を組み込んだ人工糖タンパク質を創製するために様々な試みを行っている。その一環としてジヒドロ葉酸還元酵素 (DHFR) とそのリガンド (MTX) の強力な結合を利用して合成糖鎖を DHFR に導入する手法を昨年度開発した。本年度は天然型の高マンノース型糖鎖 (M9, G1M9, M8 等) の MTX 複合体を合成し、これを DHFR に導入した。ところで、前述の UGGT はミスフォールドしたタンパク質に結合した糖鎖 (M9, M8 等) のみを基質とするというユニークな基質特異性を持っている。本年度の検討の中で、M9-MTX が UGGT の良好な基質になることを見いだした。これは糖タンパク質に由来しない小分子が基

質として認識された初の例である。現在、種々の糖鎖-MTX複合体の合成と、それらを用いる反応生成物の構造確認、UGGTの糖鎖特異性の解析を行っている。

ユニークな糖タンパク質構造として興味を持たれる C-マンノシルトリプトファン (C-Man-Trp, CMW) は、機能未知のタンパク質翻訳後修飾である。我々は既に本構造の初の立体選択的全合成とこれを含む糖ペプチドの合成を達成している。それに引き続き本年度は CMW を含むタンパク質の部分構造を種々合成した。現在は理研内外との共同研究で CMW の機能、生物活性や疾病との関連を明らかにすべく検討を行っている。

ある種のグラム陰性菌 (*C. jejuni*) がアスパラギン結合型糖鎖を持つことが見いだされ、感染や糖タンパク質合成系の進化の両面で興味を集めている。その構造は, bacillosamine (Bac) をタンパク質結合部位に有し, N-アセチルガラクトサミン (GalNAc) のくり返し構造とグルコースによる枝分かれから構成されている。GalNAc の伸長については昨年度素反応の条件を検討し, 20:1 程度選択性で望む α -体を与える条件を見いだしている。この知見を基に本年度は糖鎖伸長に向けて検討を行い, 枝分かれ部分のグルコースを含む基本骨格の合成ルートを開発した。

2. 新たな合成手法の開発と複合糖質関連分子プローブの創製 (石渡, 眞鍋, 松尾, 花島 *¹, 赤尾 *⁶, 中野 *³, Amin *⁴, 宗村 *⁴, 高谷 *⁵, 山口 *⁵, 植木 *⁵, 土肥 *⁵, Greimel *⁵, 高橋, 伊藤)

糖鎖の分子機能を解明する上で種々の分子プローブを創製することは極めて有用である。そこで当研究室では多種多様な糖鎖を自在に合成するための手法の開発を目指して多面的な研究を行っている。また, それらの手法を活用し, 糖鎖の生物機能解明に有用な分子プローブの創製を試みている。本年度は以下の検討を行った。

糖鎖の合成においては糖残基を結ぶグリコシド結合形成反応 (グリコシル化反応) が鍵となる。グリコシル化反応には多種多様な反応条件 (溶媒, 温度, 試薬等) がある。高い選択性と収率の両方を満たす最適なものを見いだすのは多大な労力と時間を要する作業である。そこで, 我々は重水素置換した保護基を持つ基質を用いることにより, 多数の反応を小スケールでパラレルに行い, 迅速に結果を評価する系の開発に向けた検討を行った。具体的には重水素ラベルしたベンジル基で保護した糖供与体と糖受容体を用いてグリコシル化を行った。これにより立体異性体の比率が ¹H NMR を用いて容易に算出できるのみならず, ノンラベル体との混合物の MALDI-TOF MS を測定することによって収率, 原料の回収を定量することができた。本手法はミクロスケールの反応やパラレル反応に応用可能である。

多くの有機化学反応は溶液中で行われるが, 溶液が凍結する温度では反応は進行しないと考えられている。しかし我々はマンノースのチオグリコシドを用いるグリコシル化反応が凍結した p-キシレン中で反応が進むのみならず, 非凍結条件に比べて顕著な反応促進効果があることを見いだした。この現象については昨年度初期的な知見を得ていたが, 本年度は系統的な検討を行った。その結果, オリゴ糖フラグメント間の縮合を含め様々な構造のマンノースチオグリコシドを用いる反応において大幅な反応加速が見られた。

我々は昨年度までに可溶性高分子を用いることにより高分担体上での糖鎖伸長反応をリアルタイムでモニターし, 望む生成物を特異的に樹脂で釣り上げる手法を開発した。この手法を用いて N-アセチルグルコサミン転移酵素 (GnT) の阻害剤となりうる 2 基質型化合物の合成を行った。特に GnT-V はがん細胞の悪性化や転移と密接に関連していることが知られており注目を集めている。また, そのホモログである GnT-IX は脳組織に特異的に発現していると報告されている。我々がデザインした 2 基質型化合物は GnT の受容体および供与体の双方を併せ持ち, 強い活性が期待できる。また, 2 つの基質間の距離を変化させた化合物を合成することにより, さらに強い活性と選択性を持つ阻害剤が開発できるものと期待される。本年度は受容体 (GlcNAc β 1 \rightarrow 2Man α 1 \rightarrow 6Man) と UDP-GlcNAc を S で結合させた化合物の合成を完了した。まず糖鎖部分を可溶性高分子の上で合成し選択的に釣り上げた後に, UDP-GlcNAc 部分と結合された。この化合物は GnT-IX に対して比較的強い阻害活性を持つことが明らかとなった。さらに, 水酸基の新しい保護基としてスルホニルカーバメートを開発した。これは種々の合成反応の条件で安定であり, マイルドな条件で脱着ができることを明らかにした。また, 平林らによって見いだされた新規なリン酸化グルコース含有グリセロ糖脂質の合成研究を開始した。

3. 糖鎖の迅速自動合成をめざす研究 (眞鍋, 花島 *¹, 高谷 *⁵, 山口 *⁵, 植木 *⁵, 土肥 *⁵, 高橋, 伊藤)

糖鎖の化学合成については, 個別の反応のレベルでは様々な改良が加えられ, 現在ではかなり複雑なものまで合成可能になっている。しかし, 生体中に存在する糖鎖の膨大な構造多様性を考えると, 合成化学が糖鎖関連科学の推進力として有効に機能するためには合成の迅速化を目指した取り組みが必要となる。核酸やペプチドの化学では合成の自動化が進み, 市販の合成機を用いて簡便に合成できるようになっているが, そこで鍵を握るのが高分子担体を用いる固相合成法である。糖鎖の固相合成の重要性は広く認識され最近国内外で活発な研究が展開されているが, 実用化に向けて未だ明確なビジョンは開けていない。その大きな原因として, 反応をモニターする手段が極めて乏しいことがある。我々は昨年度までに可溶性高分子を用いることにより高分担体上での糖鎖伸長反応をリアルタイムでモニターし, 望む生成物を特異的に樹脂で釣り上げる手法を開発した。さらに樹脂上での固相糖鎖合成反応を全ての段階を簡単な呈色反応によりリアルタイムでモニターする方法を見いだしている。本年度は上記の手法をさらに簡略化するストラテジーを確立した。これを使うと, 一連の糖鎖伸長反応の後 1 回の釣り上げ操作を行うだけで純粋な糖鎖が得られる。今後はこの手法を自動合成技術に結びつけるべく, より具体的な検討を行っているところである。

*¹ 基礎科学特別研究員, *² 研究嘱託, *³ ジュニア・リサーチ・アソシエイト, *⁴ 研修生, *⁵ 訪問研究員, *⁶ 協力研究員

that contain glycan chains. They are involved in a variety of biological events such as cell-cell recognition, malignant transformation, cell differentiation, and signal transduction. In fact, a majority of proteins produced in eukaryotic cells are glycoproteins. Syntheses of these classes of molecules are a significant problem and may be expected to provide useful molecular probes to clarify the biological functions of glycoconjugates. Our current research activities are directed to at: (1) synthesis of glycoprotein structural motifs for analysis of their functions, (2) development of novel synthetic methodologies and their application to glycoconjugate related molecular probes, and (3) studies toward facile and automated synthesis of glycan chains. The following are representative achievements for the fiscal year of 2003.

In recent years, functional roles of asparagine (Asn)-linked glycan chains in glycoprotein quality control have been attracting attention. In particular, high-mannose type glycan chains are proposed to play major roles in this process, being recognized by a variety of intracellular proteins. For instance, the endoplasmic reticulum (ER) residing molecular chaperons calnexin (CNX) and calreticulin (CRT) are suggested to recognize mainly the oligosaccharide portion ($\text{Glc}_1\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2$) of glycoproteins and assist in their folding in collaboration with protein disulfide isomerase ERp53. Subsequently, the terminal glucose (Glc) is removed by glucosidase II and glycoproteins carrying undecasaccharide ($\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2$) are transported to the Golgi for further processing. Other major players in glycoprotein quality control are glucosyl transferase (UGGT), mannosidase-like lectin (EDEM), cargo receptors (VIP36, ERGIC-53), and ubiquitin ligase (Fbs1). All of these proteins likely recognize precisely different oligosaccharide structures, although the molecular basis for these phenomena is unclear. We achieved: (1) the first chemical synthesis of a dodecasaccharide ($\text{Glc}_1\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2$), which is a putative ligand of CNX and CRT, and, (2) putative ligand structures of EDEM ($\text{Man}_8\text{GlcNAc}_2$ and $\text{Glc}_1\text{Man}_8\text{GlcNAc}_2$). By using these glycan chain molecular probes, systematic analyses of their interactions with various proteins (chaperones, lectins and UGGT) involved in protein quality control were conducted, via isothermal titration calorimetry (ITC). We also focused our attention on the aforementioned interaction of Fbs1 and glycan chains. To analyze its specificity, a series of oligosaccharides, which are candidates for Fbs1 ligands, were prepared. Their interaction with Fbs1 was measured using ITC.

In order to conjugate synthetic oligosaccharides with proteins to create artificial glycoproteins, various approaches are under current investigation. In particular, a novel method was developed that utilizes the strong interaction between dehydrofolate reductase (DHFR) and its ligand methotrexate (MTX). Using this strategy, we successfully prepared oligosaccharide-MTX-DHFR conjugates, which are going to be used as artificial glycoproteins for our future studies. We also discovered that $\text{Glc}_1\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2$ -MTX was accepted as a substrate of UGGT. This represents the first example of a small molecule substrate for this enzyme. Systematic studies toward analysis of specificity of UGGT are in progress.

As a part of our effort to provide molecular probes to delineate the function of C-mannosyl tryptophan (Man-Trp), systematic syntheses of Man-Trp carrying glycopeptides, as well as their analogues, were continuously conducted. Evaluation of the biological activities of these glycopeptides, as well as Man-Trp itself, is under way

in collaboration with laboratories both inside and outside RIKEN.

For the systematic analysis of the functional roles of glycan chains, facile access to various oligosaccharides and glycoconjugates is desired. To achieve this, our investigations have been directed toward polymer-support oligosaccharide synthesis, which aims for the development of an automated process. We developed novel methods for the real-time monitoring of both solution-phase and solid-phase oligosaccharide synthesis employing a chemoselective color test. We also developed a methodology that makes it possible to fish-up the correctly assembled oligosaccharides by one-step capture-release. This strategy was applied to the synthesis of a bisubstrate-type compound that was designed as an inhibitor of *N*-acetylglucosaminyl transferases (GnTs). The synthetic compound was revealed to have significant activity towards GnT-IX.

Toward the development of efficient methodologies in oligosaccharide synthesis, the following investigations were conducted. (1) The rate acceleration effect of frozen solvents for glycosylation was investigated systematically using mannosyl thioglycosides. In all cases, the reactions were found to proceed with markedly higher velocity in frozen *p*-xylene, compared to unfrozen systems. (2) A novel system for rapid screening of reaction conditions was developed. It utilized deuterium substituted protecting groups and proved to be applicable for micro-scale parallel reaction screening systems.

Research Subjects

1. Reconstruction of the functional domain of glycoconjugates, especially glycoproteins
2. A new strategy for glycan synthesis and its application to the creation of glycoconjugate related molecular probes
3. Studies toward automated oligosaccharide synthesis

Staff

Head

Dr. Yukishige ITO

Members

Dr. Shino MANABE

Dr. Ichiro MATSUO

Dr. Akihiro ISHIWATA

Ms. Akemi TAKAHASHI

Dr. Shinya HAGIHARA *¹

Dr. Shinya HANASHIMA *¹

Dr. Kiichiro TOTANI *¹

Dr. Hiroko AKAO *²

*¹ Special Postdoctoral Researcher

*² Contract Researcher

Visiting Members

- Dr. Hirohisa DOI (JST)
Dr. Peter GREIMEL (JSPS)
Ms. Akemi KUBOTA (Fac. Eng., Saitama Univ.)
Dr. Yuko NAKAHARA (Glycotech. Res. Cen., Tokai Univ.)
Mr. Jun NAKANO (Fac. Sci. Technol., Keio Univ.)
Ms. Maki TAKATANI (JST)
Dr. Atsushi TATAMI (JST)
Dr. Akiharu UEKI (JST)
Dr. Masanori YAMAGUCHI (JST)

Trainees

- Mr. Mohammed Nurul AMIN (Fac. Eng., Saitama Univ.)
Mr. Toshinori KASHIWAGI (Fac. Eng., Tokai Univ.)
Mr. Yuichi MUNEMURA (Fac. Sci., Tokyo Univ. Sci.)
Mr. Soichi OHTA (Fac. Sci., Rikkyo Univ.)

誌上発表 Publications

[雑誌]

(原著論文) *印は査読制度がある論文

- Hanashima S., Manabe S., and Ito Y.: "Polymer-resin hybrid capture-release strategy for rapid oligosaccharide construction", *Synlett*, No. 7, pp. 979–982 (2003). *
- Hanashima S., Manabe S., Inamori K., Taniguchi N., and Ito Y.: "Synthesis of a bisubstrate-type inhibitor of *N*-acetylglucosaminyltransferases", *Angew. Chem. Int. Ed.* **43**, 5674–5677 (2004). *
- Totani K., Matsuo I., and Ito Y.: "Tight binding ligand approach to oligosaccharide-grafted protein", *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **14**, 2285–2289 (2004). *
- Totani K., Matsuo I., Takatani M., Arai M., Hagihara S., and Ito Y.: "Synthesis of glycoprotein molecular probes for the analyses of protein quality control system", *Glycoconjugate J.* **21**, 69–74 (2004). *
- Ito Y., Hagihara S., Arai M., Matsuo I., and Takatani M.: "Synthesis of fluorine substituted oligosaccharide analogues of monoglucosylated glycan chain, a proposed ligand of lectin-chaperone calreticulin and calnexin", *Glycoconjugate J.* **21**, 257–266 (2004). *
- Matsuo G., Kawamura K., Hori N., Matsukura H., and Nakata T.: "Total synthesis of Brevetoxin-B", *J. Am. Chem. Soc.* **126**, 14374–14376 (2004). *
- Kamisuki S., Takahashi S., Mizushima Y., Hanashima S., Kuramochi K., Kobayashi S., Sakaguchi K., Nakata T., and Sugawara F.: "Total synthesis of dehydroaltenusin", *Tetrahedron* **60**, 5695–5700 (2004). *
- Takatani M., Nakano J., Arai M., Ishiwata A., Ohta H., and Ito Y.: "Accelerated glycosylation under frozen conditions", *Tetrahedron Lett.* **45**, 3929–3932 (2004). *
- (総説)
松尾一郎, 伊藤幸成: "糖タンパク質糖鎖の生体機能と精密合成: 糖タンパク質品質管理機構の解明を目指して", 日

本農芸化学会誌 **77**, 983–987 (2003).

眞鍋史乃: "糖鎖固相合成における固相上での反応進行モニタリングの開発", 薬学研究の進歩研究成果報告集 **20**, pp. 79–85 (2004).

口頭発表 Oral Presentations

(国際会議等)

- Totani K., Matsuo I., and Ito Y.: "Oligosaccharide-MTX conjugates for the creation of artificial glycoprotein", 22nd Int. Carbohydrate Symp., (The RSC on behalf of the ICO), Glasgow, July (2004).
- Ishiwata A. and Ito Y.: "Rapid screenings of glycosylation conditions using high-throughput", 22nd Int. Carbohydrate Symp., (The RSC on behalf of the ICO), Glasgow, July (2004).
- Ito Y., Matsuo I., Totani K., Hagihara S., and Arai M.: "Synthesis of glycoprotein molecular probes and functional analyses of protein quality control system", 22nd Int. Carbohydrate Symp., (The SRC on behalf of the ICO), Glasgow, July (2004).
- Inamori K., Gu J., Miyoshi E., Matsuo I., Ito Y., Honke K., and Taniguchi N.: "Comparison of the enzymatic properties of GnT-IX and GnT-V", Joint Meet. of the Society for Glycobiology and the Japanese Society of Carbohydrate Research (US/Japan Glyco 2004), Honolulu, USA, Nov. (2004).
- Takatani M. and Ito Y.: "Facile and library-oriented methodology for solution phase oligosaccharide synthesis", Joint Meet. of the Society for Glycobiology and the Japanese Society of Carbohydrate Research (US/Japan Glyco 2004), Honolulu, USA, Nov. (2004).
- Ito Y.: "Glycoprotein molecular probes for functional analyses of protein quality control system", Joint Meet. of the Society for Glycobiology and the Japanese Society of Carbohydrate Research (US/Japan Glyco 2004), Honolulu, USA, Nov. (2004).
- Totani K., Ihara Y., Matsuo I., and Ito Y.: "Oligosaccharide-MTX conjugate for the analyses of UGGT mediated glucosylation", Joint Meet. of the Society for Glycobiology and the Japanese Society of Carbohydrate Research (US/Japan Glyco 2004), Honolulu, USA, Nov. (2004).
- Manabe S. and Ito Y.: "Protein modification by C-glycosylation: Synthesis of C-mannosyl tryptophan and its relative peptides", Joint Meet. of the Society for Glycobiology and the Japanese Society of Carbohydrate Research (US/Japan Glyco 2004), Honolulu, USA, Nov. (2004).
- Kamiya Y., Yamaguchi Y., Matsuo I., Ito Y., Toyomoto M., Matsumoto N., Yamamoto K., and Kato K.: "Structural basis of sugar recognition by the cargo receptor VIP36", Joint Meet. of the Society for Glycobiology and the Japanese Society of Carbohydrate Research (US/Japan Glyco 2004), Honolulu, USA, Nov. (2004).
- Suzuki Y., Nakahara Y., Ito Y., Miseki K., Suzuki M.,

- and Suzuki A.: “Structural characterization of glycopeptides by N-terminal protein ladder sequencing”, Joint Meet. of the Society for Glycobiology and the Japanese Society of Carbohydrate Research (US/Japan Glyco 2004), Hawaii, USA, Nov. (2004).
- Matsuo I., Hagihara S., Totani K., Kashiwagi T., and Ito Y.: “Synthesis of asparagine-linked glycan chains: Toward understanding glycoprotein quality control”, Joint Meet. of the Society for Glycobiology and the Japanese Society of Carbohydrate Research (US/Japan Glyco 2004), Honolulu, USA, Nov. (2004).
- Hanashima S., Manabe S., Inamori K., Taniguchi N., and Ito Y.: “Synthesis of bisubstrate type inhibitor of *N*-acetylglucosaminyltransferases using polymer-resin hybrid strategy”, Joint Meet. of the Society for Glycobiology and the Japanese Society of Carbohydrate Research (US/Japan Glyco 2004), Honolulu, USA, Nov. (2004).
- Akao H., Ishiwata A., and Ito Y.: “Synthesis of the terminal pentaarabinofuranoside derivatives of cell wall skeleton from *Mycobacterium tuberculosis*”, Joint Meet. of the Society for Glycobiology and the Japanese Society of Carbohydrate Research (US/Japan Glyco 2004), Honolulu, USA, Nov. (2004).
- Hagihara S., Totani K., Matsuo I., and Ito Y.: “Thermodynamic analysis for the sugar recognition of Fbs1”, Joint Meet. of the Society for Glycobiology and the Japanese Society of Carbohydrate Research (US/Japan Glyco 2004), Honolulu, USA, Nov. (2004).
- Nakano J., Ohta H., and Ito Y.: “Toward synthesis of complex type *N*-glycans of helminth origin”, Joint Meet. of the Society for Glycobiology and the Japanese Society of Carbohydrate Research (US/Japan Glyco 2004), Honolulu, USA, Nov. (2004).
- Ito Y.: “Organic synthesis and glycobiology”, 80th Anniversary Japan Soc. for Bioscience, Biotechnology, and Agrochemistry Int. Symp., Tokyo, Nov. (2004). (国内会議)
- 高谷万紀, 中野淳, 荒井緑, 石渡明弘, 太田博道, 伊藤幸成: “凍結条件下におけるグリコシル化反応の加速”, 第47回有機合成化学協会関東支部シンポジウム, 水戸, 5月(2004).
- 伊藤幸成: “有機合成化学と糖鎖生物学”, 15周年記念仙台シンポジウム「有機化学の挑戦: 有機合成化学の使命と未来」, 仙台, 6月(2004).
- 伊藤幸成: “糖タンパク質糖鎖の化学合成と機能解析”, 2004年度大塚有機合成シンポジウム, (大塚製薬有機化学研究所), 徳島, 9月(2004).
- 眞鍋史乃: “高分子担体/固相糖鎖合成における新手法の開発 反応追跡と精製法の解決”, 第53回高分子討論会, (高分子学会), 札幌, 9月(2004).
- 花島慎弥, 眞鍋史乃, 伊藤幸成: “*N*-アセチルグルコサミン転移酵素阻害剤の合成研究”, 第30回反応と合成の進歩シンポジウム, (日本薬学会), 札幌, 10月(2004).
- 戸谷希一郎, 松尾一郎, 伊藤幸成: “糖-MTX 複合体を用いた糖タンパク質品質管理機構解明への化学的アプローチ”, 第46回天然有機化合物討論会, 広島, 10月(2004).
- 鈴木佑典, 中原義昭, 伊藤幸成, 御石浩三, 飯田順子, 伊藤恵実, 石井浩, 鈴木實, 鈴木明身: “MALDI-QIT-TOF MS/MSによる糖ペプチドの構造解析”, 第77回日本生化学会大会, 横浜, 10月(2004).
- 眞鍋史乃: “糖鎖合成のルネッサンス”, 第14回光学活性化化合物シンポジウム, (光学活性化化合物研究会, 他), 東京, 10月(2004).
- 太田壮一, 石渡明弘, 伊藤幸成: “グラム陰性菌 *Campylobacter jejuni* 由来 *N*-結合型糖タンパク質糖鎖の合成研究”, 第48回有機合成化学協会関東支部シンポジウム (新潟シンポジウム), 新潟, 11月(2004).
- 久保田朱美, 伊藤幸成, 中田忠: “ポリエーテル系天然物 Gymnocin-A の合成研究”, 第48回有機合成化学協会関東支部シンポジウム (新潟シンポジウム), 新潟, 11月(2004).
- 石渡明弘, 伊藤幸成: “糖鎖合成反応の新規迅速スクリーニング系の開発”, 第48回有機合成化学協会関東支部シンポジウム (新潟シンポジウム), 新潟, 11月(2004).
- 植木章晴, 眞鍋史乃, 伊藤幸成: “温和な条件下でのケトン α 位重水素化法の開発”, 日本薬学会第125年会, 東京, 3月(2005).
- 眞鍋史乃, 山口真範, 土肥弘久, 伊藤幸成: “新規 Safety-Catch 型保護基; スルホニルカーバメート”, 日本薬学会第125年会, 東京, 3月(2005).
- 眞鍋史乃, 井原義人, 伊藤幸成: “新規タンパク質修飾 C-Man-Trp の合成と糖尿病との関係”, 日本薬学会第125年会, 東京, 3月(2005).
- 山口真範, 眞鍋史乃, 伊藤幸成: “1,3-Dipolar Cycloaddition を用いた Capture-Release 法”, 日本農芸化学会 2005 年度大会, 札幌, 3月(2005).
- 松尾一郎, 伊藤幸成: “High-mannose 型糖鎖結合ビーズによる細胞内レクチンの網羅的解析”, 日本農芸化学会 2005 年度大会, 札幌, 3月(2005).
- 花島慎弥, 眞鍋史乃, 伊藤幸成: “*N*-アセチルグルコサミン転移酵素阻害剤の合成研究”, 日本農芸化学会 2005 年度大会, 札幌, 3月(2005).
- 石渡明弘, 赤尾寛子, 伊藤幸成: “アラビノフラノース供与体の立体選択的グリコシル化反応における保護基の効果”, 日本農芸化学会 2005 年度大会, 札幌, 3月(2005).
- 高谷万紀, 伊藤幸成: “ライブラリー構築を目指した効率的糖鎖合成法の開発”, 日本農芸化学会 2005 年度大会, 札幌, 3月(2005).
- 柏木俊紀, 松尾一郎, 中原義昭, 伊藤幸成: “分子内アグリコン転移反応を利用した新規 α -グルコシル化反応の開発”, 日本農芸化学会 2005 年度大会, 札幌, 3月(2005).
- 植木章晴, 眞鍋史乃, 伊藤幸成: “SmI₂ を用いるプロパルギルエーテルの新規脱保護法の開発”, 日本化学会第85春季年会, 横浜, 3月(2005).
- 太田壮一, 石渡明弘, 伊藤幸成: “*Campylobacter jejuni* 由来 *N*-結合型糖タンパク質糖鎖の分岐 6 糖の立体選択的合成”, 日本化学会第85春季年会, 横浜, 3月(2005).
- 萩原伸也, 戸谷希一郎, 松尾一郎, 伊藤幸成: “アスパラギン結合型糖ペプチドの合成及び Fbs1 との相互作用解析”, 日本化学会第85春季年会, 横浜, 3月(2005).
- 戸谷希一郎, 井原義人, 松尾一郎, 伊藤幸成: “オリゴ糖-

MTX 複合体を用いた糖タンパク質フォールディングセンサー「UGGT」の機能解析”, 日本化学会第 85 春季年会, 横浜, 3 月 (2005).

石渡明弘, 伊藤幸成: “グリコシル化反応の新規迅速スクリーニング系の構築と応用”, 日本化学会第 85 春季年会, 横浜, 3 月 (2005).

中野淳, 太田博道, 伊藤幸成: “寄生虫を由来とする *N*-結合型糖鎖の合成研究”, 日本化学会第 85 春季年会, 横浜, 3 月 (2005).

多々見篤, 松尾一郎, 伊藤幸成: “細胞内糖鎖結合性タンパクの解析を目的とした光親和性プローブの合成”, 日本化学会第 85 春季年会, 横浜, 3 月 (2005).