総　説

〔*Nippon Nōgeikagaku Kaishi* Vol. 67, No. 11, pp. 1545～1554, 1993〕

複合糖質糖鎖の合成化学的および酵素化学的研究†

（1993 年農芸化学奨励賞受賞）

伊　藤　幸　成
（理化学研究所）

近年，糖タンパク，糖脂質，プロテオグリカン等の複合糖質の生物機能が広く注目を集めるようになり，その医学的な応用を目ざして活発な研究が行われている[1]．複合糖質は，その名前が示すように，タンパクや脂質といったコア分子に糖鎖と呼ばれるオリゴ糖が還元末端で結合した構造を有している．それらの機能の発現のうえではしばしば糖鎖部分が決定的な重要性を持つことを示す証拠が次々と蓄積されている．たとえば，細胞の癌化や個体発生の際の細胞分化に伴って，細胞表層の糖鎖のパターンが劇的に変化することはよく知られている[2]．糖タンパクのいくつかはその作用部位へ運搬されるためのシグナルとして糖鎖の微細構造を利用しており，糖鎖の存在がタンパク質の物理化学的または生化学的な安定性の鍵を握っていることもしばしばみとめられる[3]．またホルモンレセプターとしての糖鎖の役割を示唆する結果も報告されている[4]．さらに，ある種のウイルスや細菌は宿主細胞に感染する際，糖鎖をリガンドとして利用していることも明らかにされている[5]．細胞間接着現象への関与は以前から示唆されてきたが，最近炎症反応との関連から ELAM-1 に代表されるセレクチンと呼ばれる接着分子群のリガンドとして糖鎖構造が提唱されており[6]，糖関連の生化学における最近のトピックスとなっている．

糖鎖の構造と機能の関連を解明するうえで，従来の純粋生化学的な手法に分子生物学，免疫学，有機化学等の手法を加えた総合的なアプローチの必要性が叫ばれている[7]．なかでも有機合成化学の手法を用いて多種多様の糖鎖を自在に合成することができれば，きわめて有力な手段を提供するものと期待される．なぜなら，生物試料から得られるサンプルは通常微量であるうえしばしばミクロ不均一性がその解析のうえで深刻な問題となるからである．また糖鎖構造はタンパク質や核酸と異なり DNA-RNA-タンパクといった遺伝情報の直接の反映ではないため，その調製を分子生物学的な手法に頼ることができない．したがって非天然型のものも含めて多種多様の糖鎖構造を合成できればその生物活性を調べることにより，糖鎖-タンパク質[8]および糖鎖-糖鎖[9]の相互作用の解明を分子レベルで行ううえで大きな助けになるであろう．

糖鎖にみられる構造の多様性はいわば生物学的なポテンシャルの反映と考えることができるが，合成化学者の立場からは誠にやっかいな問題である．その合成において糖残基間のグリコシド結合の形成が鍵となるが，その際分子内に多数存在する水酸基をどのようにして区別するか（位置選択性）そしてどのようにしてグリコシド結合を正しい配位で導入するか（立体選択性）が常に問題となる．これが通常配列のみが問題となるポリペプチドやポリヌクレオチドの合成と大きく異なる点である．

1. 新しいグリコシル化反応の開発

1980 年代中盤からさまざまなコンセプトに基づくグリコシル化反応が開発されるようになり，複合糖質の合成に応用可能な方法論は飛躍的にひろがった[10]．その代表的なものにトリクロロアセトイミデート（**1a**）[11]，グリコシルフルオリド（**1b**）[12]，チオグリコシド（**1c**）[13]をそれぞれ糖供与体とする反応が挙げられる．これらは従来用いられてきたグリコシルブロミド（**1d**），クロリド（**1e**）と比べてはるかに安定であるうえ，活性化に用いうる条件も多彩であり，収率，選択性等の点でも優れた結果を与えることが多い．グリコシル化反応の経路を簡略化して示すと図 1 のようになる[14]．まず糖供与体が何らかの手段で活性化されオキソカルベニウムイオンと

† Chemical and Enzymatic Approaches toward Glycoconjugates.
Yukishige ITO (The Institute of Physical and Chemical Research, Wako, Saitama 351-01)

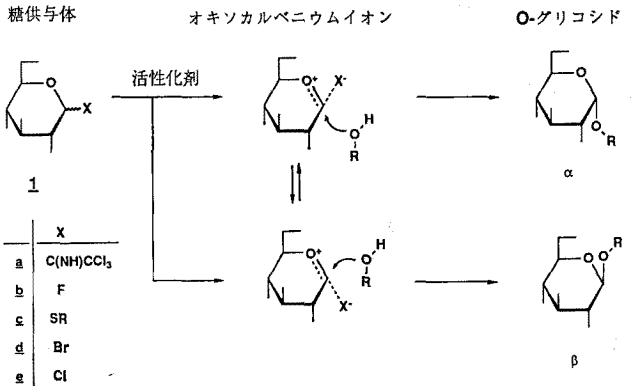


図 1　*O*-グリコシル化反応の概略

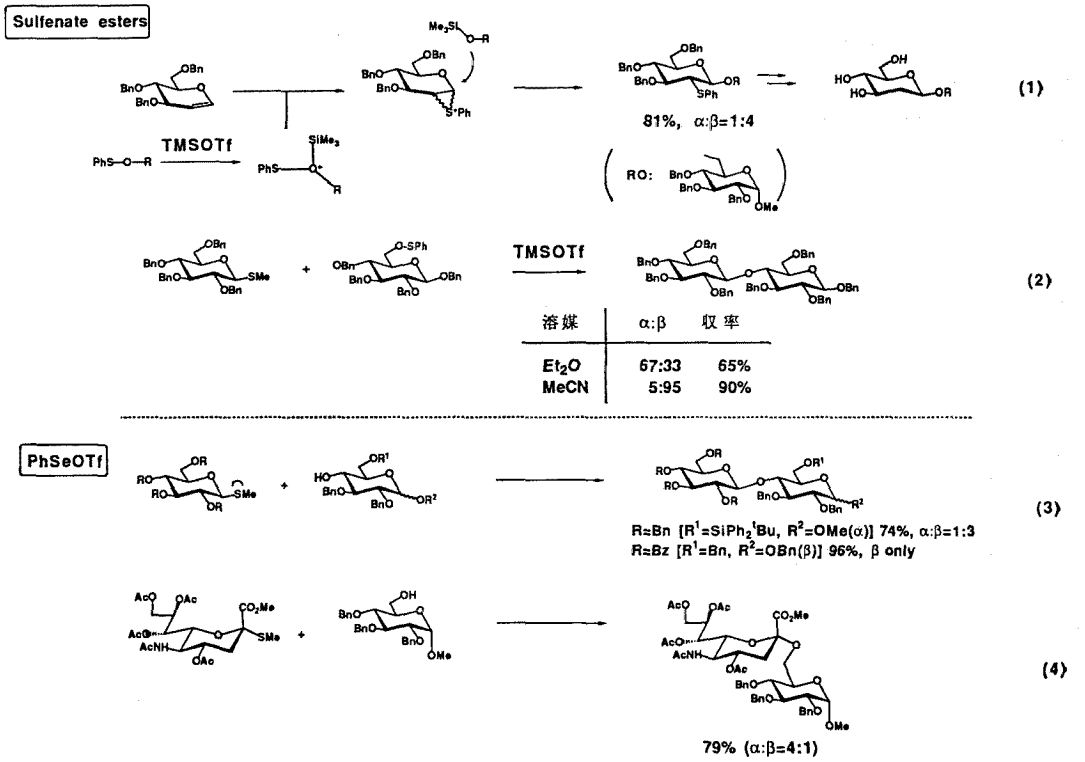


図 2　新しいグリコシル化反応の開発

なる．これに対してアルコール（R-OH）が求核的に攻撃し *O*-グリコシドを与えるというものである．ちなみに他に特別な要因がない限り立体電子的な理由からα(アキシャル)-グリコシドの生成が優先するのが一般的である．この式から明らかなように，グリコシル化反応は常に糖供与体の活性化が引き金となっている．

（1）スルフェン酸エステルおよびセレネニルトリフラートを用いるグリコシル化（図2）

スルフェン酸エステル（RO-SPh）は求核性を持つアルコキシ基がソフトな二価の硫黄に結合した特徴的な構造を有しており，その性質に興味が持たれる．しかしこれまでのところシグマトロピー転位の中間体としての利用の他は芳香族オレフィンの分子内環化への利用[15]が

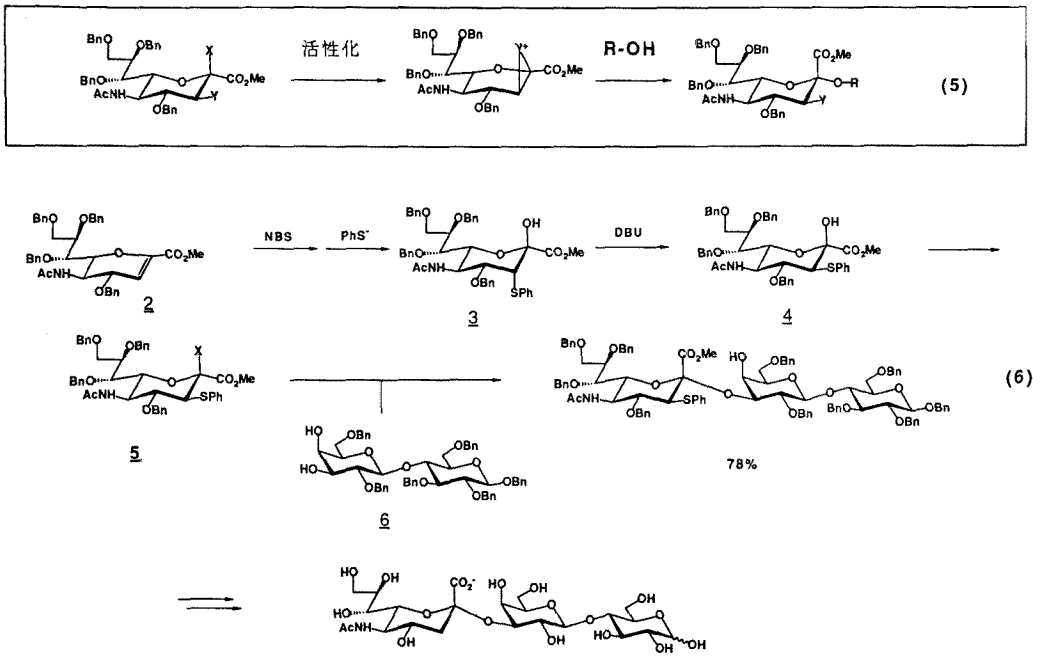


図 3 隣接基関与を利用したシアル酸の立体選択的グリコシル化反応

報告されているのみで比較的未開拓の反応種であった．われわれはスルフェン酸エステルがルイス酸によって活性化され求電子性活性種を発生することを想定し，そのグリコシル化反応への応用を試みた[16]．まず，TMSOTf または BF_3-OEt_2 の存在下スルフェン酸エステルとグリカールとの反応を行ったところ，C-2 位に SPh の導入されたグリコシル化生成物が得られた．続いて SPh 基を還元的に除去し 2-デオキシグリコシドへと導いた（式 1）．この反応は低温で速やかに進行することおよび通常困難な β-2-デオキシグリコシドの合成[17]に用いうるという点で興味深い．さらに同様な条件下でチオグリコシドも活性化されグリコシル化生成物を与えることがわかった[18]（式 2）．その立体選択性は反応溶媒に依存し，エーテル中では α-体を，アセトニトリル中では β-体をそれぞれ主生成物として与えることがわかった．

続いて強力な求電子剤として知られているベンゼンセレネニルトリフラート[19]（PhSeOTf）に注目し，これをチオグリコシドの活性化剤として用いることを考えた[20]．この反応は低温でもきわめて迅速に進行することがわかった（式 3）．また，C-2 位の置換基が隣接基関与を行わないようなものを用いてトルエン中で反応を行っても主として β-体が得られるという興味ある結果が得られた．同様な反応はシアル酸由来のチオグリコシドにも適用が可能であり（式 4），ガングリオシドの合成にも応用されている[21,22]．

（2） 隣接基関与を利用したシアル酸の立体選択的グリコシル化反応（図 3）

シアル酸（NeuAc）は複合糖質の構成成分としてその非還元末端に広く存在している．その効率的かつ立体選択的な導入は糖鎖の合成化学において重要な課題であるが，以下のような理由で従来はきわめて困難とされてきた[23]．

まず第一にその構造自体の複雑さが挙げられる．次にアノマー位に存在するカルボキシル基の電子吸引性のため，この位置でのカチオンの生成すなわちグリコシル化がエネルギー的に不利となり，必然的に通常のグリコシル化と比べて副反応を伴いやすいという点がある．さらにそのグリコシド結合の立体化学は常に 2-α（エカトリアル）であり，これはとりもなおさず熱力学的に不安定[24]な型である．加えてアノマー位の隣の C-3 位がデオキシ型であるためこのままでは隣接基関与を立体化学制御に用いることはできない．

これらの問題点を解決しシアル酸のグリコシル化反応を立体選択的かつ高収率で行うために次のような考え方

に基づいて検討を行った．それは C-3 位に何らかの置換基を導入し，その隣接基関与を利用するというものである．その際 C-3 位の置換基としては，これまでに行われてきた 2-デオキシグリコシドの合成研究から[25]，SePh または SPh 基が適切であると考えた．このような供与体を用いればアノマー位の活性化に伴って三員環中間体が生成し，アルコールは必然的に α-面から攻撃することになり目的とする異性体が選択的に得られると予想される（式5）．

そこで C-3 位に SePh 基あるいは SPh 基を有するシアル酸供与体の合成およびそれらを用いるグリコシル化を検討した[26]．ここではより優れた結果を与えた 3-SPh 体について話を進めて行きたい．まず 2,3-デヒドロ体 **2** を *N*-ブロモコハク酸イミド（NBS）続いてチオフェノールで処理し，ヘミケタール **3** を得た．これは主としてジアキシャル体であったが，触媒量の DBU で処理すると容易にエピメリ化が起こり望む異性体 **4** が結晶として高収率で得られた．引き続きフルオリド，クロリド，ブロミドへと導きグリコシル化の条件を検討した．反応はいずれも立体選択的に進行したが，なかでもブロミド **5** を用いて四塩化炭素中で反応を行った場合に最も良い結果が得られることがわかった．二級アルコールであるラクトース誘導体 **6** を用いても 78% という高収率で目的の異性体が得られた（式6）．SPh 基の除去はラジカル還元によって容易に行うことができた．

このようにしてシアル酸残基を効率よく導入する方法を開発することができた．これは後に述べるガングリオシドの合成やムチン型糖ペプチドの合成[27]に応用されている．

2. スフィンゴ糖脂質の合成研究（図 4，5）

スフィンゴ糖脂質はセラミドと呼ばれる脂質部分に糖鎖が結合した構造を有している．その糖鎖構造は多様性に富んでいるが，その大部分はラクトシルセラミド（Galβ 1→4 Glcβ 1→1 Cer）を共通骨格としており，ガラクトースに結合した糖鎖の構造や結合位置に従って，ラクト系，ネオラクト系，グロボ系，ガングリオ系等に分類されている[28]．最近これらの化合物の合成研究が活発に行われているが[29]，われわれの研究室でもさまざまな方向からのアプローチが検討されてきた．

まず特徴的な構造を有する[30]，ラクト-ガングリオ系列と呼ばれる糖脂質 **8** を合成目標としてとりあげた[31]．この糖脂質はガラクトース残基上での枝分かれ構造に特色があるが，その構築は水酸基の反応性の差異を利用して 3,4-ジオール **7** に順次 *N*-アセチルグルコサミンおよび *N*-アセチルガラクトサミン残基を導入することによ

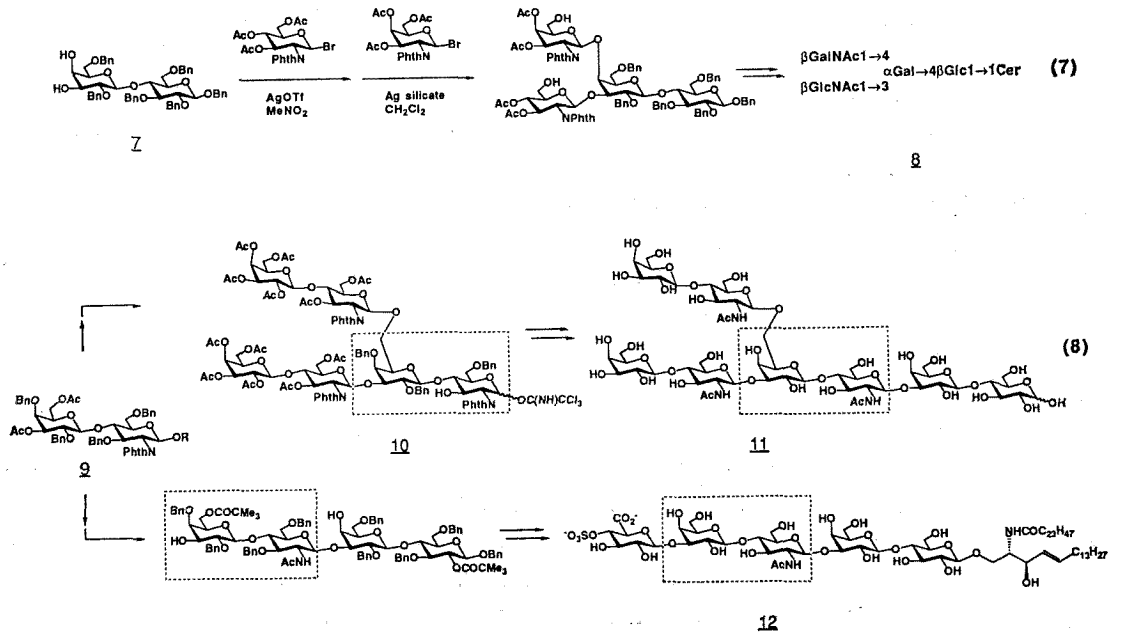
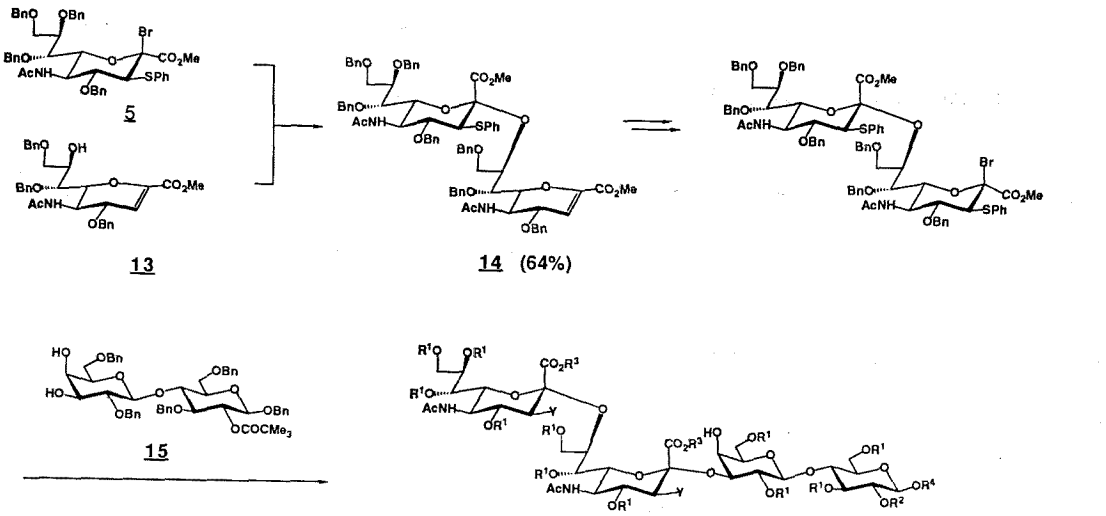


図 4　スフィンゴ糖脂質糖鎖の合成研究



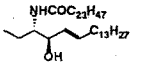
	Y	R^1	R^2	R^3	R^4
16	SPh	Bn	$COCMe_3$	Me	Bn
17 (GD3)	H	H	H	H	

図 5　ガングリオシド GD 3 の合成

って行った（式 7）．この合成の過程でグリコシル化の位置選択性に対する溶媒の効果，セラミドとのカップリングへのグリコシルフルオリドの利用，フタルイミド基の脱保護法等その後の糖脂質合成研究において有用な知見を得た．

続いて自己免疫疾患における糖鎖抗原として[32]，また分化関連抗原として[33]知られている I-血液型糖脂質糖鎖の合成研究を行った[34]．ここでは目標として I 型糖脂質の基本構造である 8 糖 **11** をとりあげた．その合成中間体としてガラクトース残基での 3- および 6-位への糖鎖の伸長および還元末端の活性化が可能な二糖単位 **9** をデザインし，合成した．さらに保護基を変換した後 2 つのラクトサミン単位をカップリングさせた．続いてトリクロロアセトイミデート **10** へと導き，先ほど用いたジオール **7** と反応させ，位置選択的に 8 糖を得た（式 8）．この基本戦略は広い範囲のポリラクトサミン型糖鎖へと応用が可能であり，硫酸含有糖脂質 **12**[35] や I 型 15 糖性糖脂質[36]の合成に用いられている．

続いて，先に述べたシアル酸のグリコシル化の方法論を応用したガングリオシドの合成研究に着手した．当面の目標としては従来きわめて合成が困難とされてきたジシアロガングリオシド GD 3[37] (**17**) を設定した（図 5）．この合成に際しては，われわれが開発した方法がシアル酸同志の α 2→8 結合に応用できるか，またシアル酸オリゴマーを糖供与体として同様の立体制御ができるかどうかが問題であった．そこでまず 2, 3-デヒドロ体から導いた 8-OH 体 **13** を **5** と反応させたところ，好収率でシアル酸 2 量体 **14** が得られた．次にラクトース単位とのカップリングを立体選択的に行うために C-2 位に Br, C-3 位に SPh 基を導入し，ラクトース単位 **15** と反応させた．この場合も四塩化炭素中で反応を行った場合に最も良い結果（48%；$\alpha:\beta=60:1$）が得られた．続いて生成物 **16** の SPh 基をラジカル還元によって除去し，保護基の変換を経てトリクロロアセトイミデートとした．さらにセラミドとのカップリングを TMSOTf の存在下で行い，GD 3 を得た[38]．このようにわれわれの方法論はシアル酸オリゴマーにも適用できる柔軟性の高いものであることがわかった．

続いてさらに複雑な構造を持つポリシアロガングリオシドの合成研究に着手し，フラグメントを立体選択的に

合成するルートを開拓した[39].

3. 酵素化学的手法による糖鎖の合成研究

近年の糖化学の進歩によりグリコシル化反応の効率は著しく改善され，かなり複雑な糖鎖も合成可能になってきた．しかし一般的にはその立体選択性は必ずしも予測可能な段階には至っておらず，しばしば反応条件の注意深いスクリーニングによってはじめて目的の異性体が得られることがある．またグリコシド結合を位置選択的に構築するためには糖受容体の選択的な保護が必要であり，糖鎖合成の工程は必然的に長いものにならざるをえない．一方，酵素とくに糖転移酵素を用いるグリコシル化反応は高度の位置および立体選択性のもとで進行することが知られている[40]．したがってこれらの酵素を自在に用いることができれば糖鎖の合成は著しく簡略化されると期待される[41].

しかし膨大な数の糖転移酵素のなかで入手可能なものはごく一部であり，いずれも厳密な基質特異性を有しているためその利用範囲には限りがある．それと比較して化学合成にはほぼ無制限の柔軟性という酵素法では得られないメリットがある．したがって，糖鎖の合成において酵素の特性をフルに活用するためには何らかの型で化学反応と組合せることが望ましいと考えられる．とくに，シアル酸のグリコシドのように化学的に形成が困難なグリコシド結合の構築に糖転移酵素を用い，その生成物を今度は糖供与体としてグリコシル化に用いるという経路をとることができれば，きわめて応用範囲の広い方法論となるであろう．このような考え方に基づいて2種類の α-2, 3-シアル酸転移酵素[42]に注目し，その基質特異性を合成化学者の立場から見直すことを考えた[43]（図6）．そのなかでもとくに興味を持ったのは C-2 位の修飾である．これは化学的グリコシル化の立体化学の制御はしばしばこの位置の置換基の影響によって達成されるからである．その結果，シアル酸転移酵素が認識する二糖構造の GalNAc または GlcNAc の窒素置換基に対してはある程度の修飾は基質特異性の許容範囲であり，図に示したように NHAc を N_3（**18 b**, **19 b**），NPhth（**18 c**），NHAOC（**19 c**），OCOR（**19 e**）で置き換えた化合物はすべて良い基質であることがわかった．生成物の水酸基およびカルボキシル基を保護し，還元末端アノマー位を活性化すれば，α-グリコシドおよび β-グリコシドをそれぞれ選択的に作り分けることができると予想される．とくに興味深いのは C-2 位にアシル基を導入したラクトース誘導体 **19 e** である．この化合物は βGal 1→3/4 GlcNAc-α-2, 3-シアル酸転移酵素に対して，むしろ天然型の基質である *N*-アセチルラクトサ

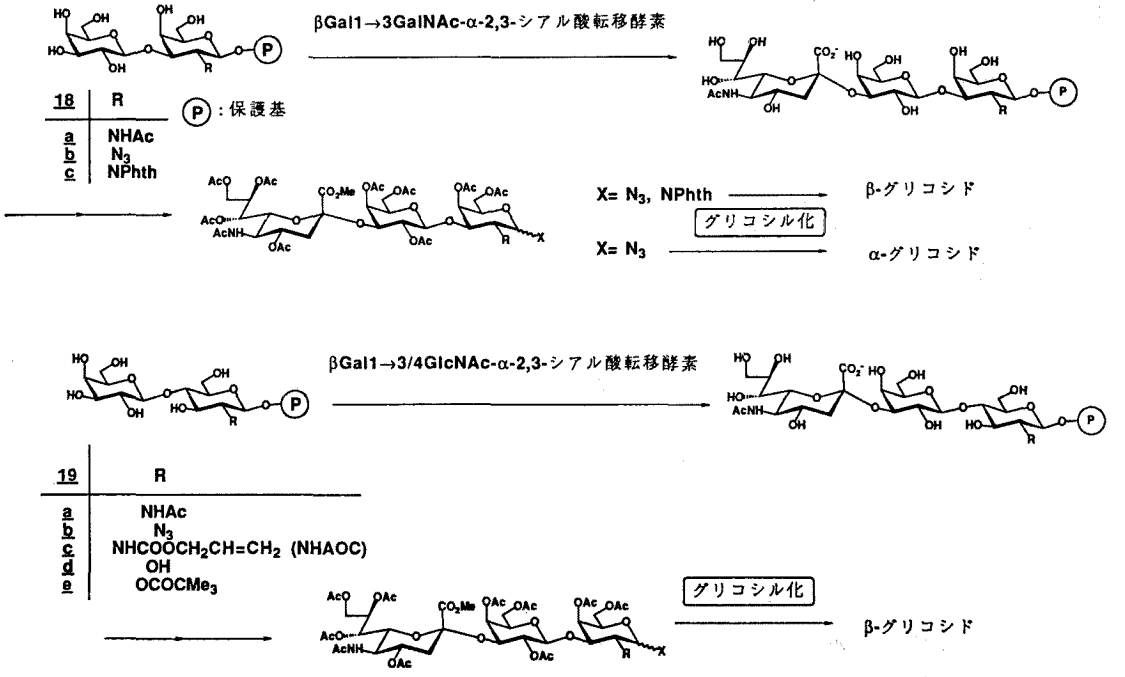


図 6　シアル酸転移酵素によるグリコシル化

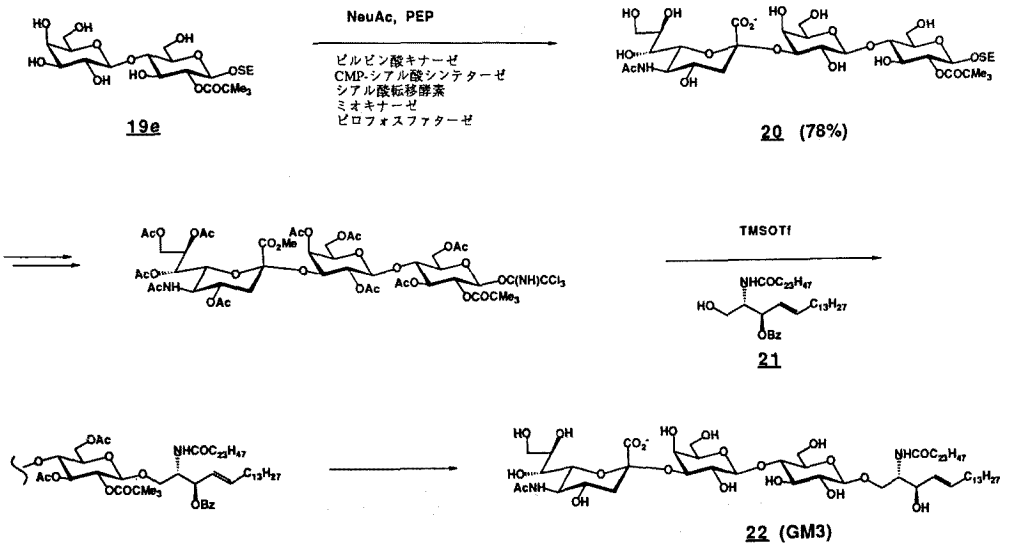
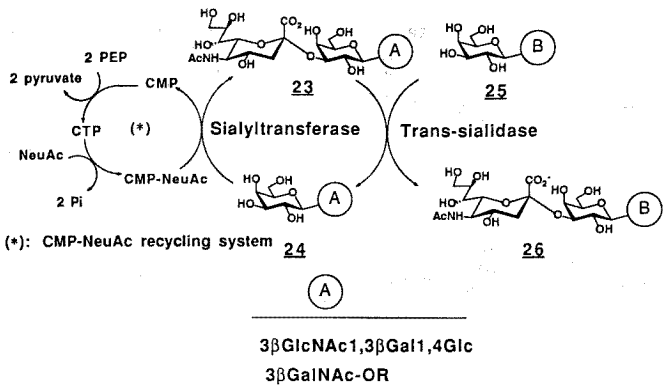


図 7 酵素化学的手法によるガングリオシド GM 3 の合成

ミン (**19 a**) よりも良い基質であるという興味深い結果も得られた[44].

ここに示した反応はすべて Ichikawa, Wong らによって開発された CMP-NeuAc をリサイクルさせる系[45]でも円滑に進行し，容易にスケールアップができる．たとえば **19 e** の反応はこの条件下 78% の収率で生成物 **20** を与えた（図7）．その三糖構造すなわちシアリルラクトースは種々のガングリオシドの共通部分構造であり，GM 3 (**22**) の糖鎖部分に相当する．そこで次のように GM 3 への変換を試みた[44]．まずカルボン酸をメチルエステルとし，水酸基を保護したのち還元末端の β-トリメチルシリルエチル基を選択的に脱保護してトリクロロアセトイミデートへと導いた．これをセラミド(**21**)とカップリングさせ，脱保護を行って GM 3 を得た．そのシアル酸からの通算収率は約 40% であり，従来の純粋化学合成のそれ[46]をはるかに上回っている．この例からもわかるように，酵素反応と化学的グリコシル化を適切に組合せることにより，きわめて効率のよい糖鎖合成が可能となる．この考え方をさらに進めれば，2種類のシアル酸転移酵素を使い分けることによりさらに複雑なガングリオシドの合成を行うことも可能であろう．

このように実際に複合糖質の合成の中に酵素反応を組込むという方法論が十分に実行可能であることが証明できた．しかし，シアル酸転移酵素の基質特異性には越えられない壁があることも事実である．もしその還元末端の置換基にかかわらず αNeuAc 2→3 Gal 1→OR という sequence を酵素的に作りだすことができれば，それは合成中間体としてきわめて有用であろう．そこで次に，最近 *T. cruzi* から見出されたトランスシアリダーゼ (*trans*-sialidase)[47] に注目した．この酵素は2つのガラクトース残基間でのシアル酸のやりとりを触媒するものである．その特徴として次の2点が挙げられる[48]．まず，比較的広い基質特異性を持っていることである．ガラクトースとその上流側の糖（たとえば GlcNAc）での枝分かれさえなければ，基本的にはどのような β-ガラクトシドでも基質となりうる．一方このような基質特異性の広さにもかかわらず，反応は高い立体および位置特異性のもとで進み，αNeuAc 2→3 βGal 1→OR の生成物のみを与える．一方，実用的な観点からの問題点として，あらかじめシアル酸を含むオリゴ糖を合成しておく必要があること，本質的に可逆反応であり望む方向に平衡を片寄せることが難しいことが挙げられる．これらを解決するために，次のような複合酵素系を考えた[49]（図8）．それは CMP-NeuAc のリサイクル系によるシアル酸転移反応とトランスシアリダーゼの反応を組合せたものである．ここでシアル酸転移酵素の基質となるオリゴ糖 (**24**) を触媒量加えておくと，それに由来するシアリルオリゴ糖 (**23**) が系内で発生する．次にそれが供与体となり別のガラクトシド (**25**) にシアル酸を受け渡し，αNeuAc 2→3 βGal 1→OR (**26**) を与え，**24** が再生



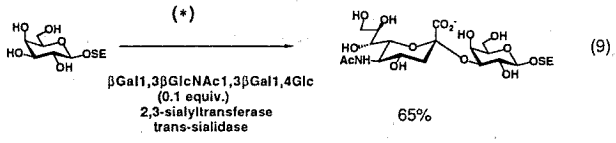


図 8　トランスシアリダーゼ-シアル酸転移酵素複合系によるシアリルオリゴ糖の合成

される．この反応の実行例を式9に示した．ここで得られた生成物はシアル酸転移酵素の反応では容易には得られないものであることに注意されたい．また，この方法を応用すれば，きわめて広い範囲のガラクトース誘導体にシアル酸を導入することができるはずである．トランスシアリダーゼはすでにクローニングがなされており[50]，近い将来 overexpression も可能になると期待される．

本研究の遂行にあたり，終始ご指導を賜りました東京大学農学部教授（理化学研究所主任研究員）小川智也先生に厚く御礼申し上げます．また貴重なご助言とご協力をいただきました中原義昭副主任研究員をはじめとする理化学研究所細胞制御化学研究室の皆様に感謝いたします．後半の酵素を用いた研究はアメリカ合衆国サンディエゴの CYTEL Corporation において James C. Paulson 博士の研究室で行ったものであります．ベンチャー企業でありながら，基礎研究を行ううえで優れた環境を提供してくださった同社の皆様に感謝いたします．また，常に温かい励ましを賜りました大学院時代の恩師，東京大学名誉教授大野雅二先生に御礼申し上げます．

（1）「複合糖質，細胞認識から病態まで」蛋白質 核酸 酵素臨時増刊，**37**，(1992).
（2）S. Hakomori : *Sci. Am.*, **254**, 32—41 (1986).
（3）N. Jentoft : *Trends Biochem. Sci.*, **15**, 291—294 (1990) ; J. C. Paulson : *Trends Biochem. Sci.*, **14**, 272—276 (1989) ; A. D. Elbein : *Trends Biotech.*, **9**, 346—352 (1991).
（4）W. Kielczynski, L. C. Harrison, and P. Leedman : *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **88**, 1991—1995 (1991).
（5）K.-A. Karlsson : in "Molecular Mechanisms of Microbial Adhesion," Springer-Verlag, New York, 1988, pp. 77—96 ; N. Sharon and H. Lis : *Science*, **264**, 227—234 (1989) ; J. C. Paulson : in "The Receptors," Academic Press, New York, 1985, pp. 131—219.
（6）T. A. Springer and L. A. Lasky : *Nature*, **349**, 196—197 (1991) ; J. C. Paulson : in "Adhesion : Its Role in Inflammatory Disease," Stockton Press, New York, 1992, pp. 19—42.
（7）産業調査会バイオテクノロジー情報センター：「糖鎖工学」(1992).
（8）U. C. Lee : *FASEB J.*, **6**, 3193—3200 (1992); G. D. Holt : *Glycobiology*, **1**, 329—336 (1991).
（9）N. Kojima and S. Hakomori : *J. Biol. Chem.*, **266**, 17552—17558 (1991).
（10）鈴木啓介，長澤徹哉：有機合成化学，**50**，378—390 (1992).
（11）R. R. Schmidt, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **25**, 212—235 (1986).
（12）T. Mukaiyama, Y. Murai, and S. Shoda : *Chem. Lett.*, **1981**, 431—432.
（13）G. H. Veenemann, S. H. van Leenwen, and J. H. van Boom : *Tetrahedron Lett.*, **31**,

1331—1334 (1990).
(14) H. Paulsen : *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **21**, 155—173 (1982).
(15) E. D. Edstrom and T. Livinghouse : *J. Am. Chem. Soc.*, **108**, 1334—1336 (1986).
(16) Y. Ito and T. Ogawa : *Tetrahedron Lett.*, **28**, 2723—2726 (1987).
(17) K. C. Nicolaou, T. Ladduwahetty, J. L. Randall, and A. Chucholowski : *J. Am. Chem. Soc.*, **108**, 2466—2467 (1986).
(18) Y. Ito and T. Ogawa : *Tetrahedron Lett.*, **28**, 4701—4704 (1987).
(19) S. Murata and T. Suzuki : *Chem. Lett.*, **1987**, 849—852.
(20) Y. Ito and T. Ogawa : *Tetrahedron Lett.*, **29**, 1061—1064 (1988) ; Y. Ito, T. Ogawa, M. Numata, and M. Sugimoto : *Carbohydr. Res.*, **202**, 165—175 (1990).
(21) S. Fujita, M. Numata, M. Sugimoto, K. Tomita, and T. Ogawa : *Carbohydr. Res.*, **228**, 347—370 (1992).
(22) Y. Matsuzaki, S. Nunomura, Y. Ito, M. Sugimoto, Y. Nakahara, and T. Ogawa : *Carbohydr. Res.*, **242**, C 1—C 6 (1993).
(23) K. Okamoto and T. Goto : *Tetrahedron*, **46**, 5835—5857 (1990) ; M. P. DeNinno : *Synthesis*, **1991**, 583—593 ; 岡本 馨, 後藤俊夫：有機合成化学, **47**, 349—362 (1989).
(24) P. Deslongchamps : in "Stereoelectronic Effects in Organic Chemistry," Pergamon, Oxford, 1983, p. 5.
(25) G. Jaurand, J.-M. Beau, and P. Sinaÿ : *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **1981**, 572—573 ; K. Bock, I. Lundt, and C. Pederson : *Carbohydr. Res.*, **130**, 125—134 (1984) ; K. C. Nicolaou, T. Ladduwahetty, J. L. Randall, and A. Chucholowski : *J. Am. Chem. Soc.*, **108**, 2466—2467 (1986) ; R. Preuss and R. R. Schmidt : *Synthesis*, **1988**, 694—697.
(26) Y. Ito and T. Ogawa : *Tetrahedron Lett.*, **28**, 6221—6224 (1987) ; Y. Ito and T. Ogawa : *Tetrahedron Lett.*, **29**, 3987—3990 (1988) ; Y. Ito and T. Ogawa : *Tetrahedron*, **46**, 89—102 (1990).
(27) Y. Nakahara, H. Iijima, S. Shibayama, and T. Ogawa : *Carbohydr. Res.*, **216**, 211—225 (1991).
(28) 岩森正男：細胞工学, **5**, 566—572 (1986).
(29) 伊藤幸成：化学と生物, **29**, 788—797 (1992).
(30) R. Kannagi, S. B. Levery, and S. Hakomori : *J. Biol. Chem.*, **259**, 8444—8451 (1984); K. Shigeta, Y. Ito, T. Ogawa, Y. Kirihata, S. Hakomori, and R. Kannagi : *J. Biol. Chem.*, **262**, 1358—1362 (1987).
(31) Y. Ito, M. Sugimoto, S. Sato, and T. Ogawa : *Tetrahedron Lett.*, **27**, 4753—4756 (1986).
(32) 神奈木玲児, 恒松徳五郎：臨床化学, **21**, 717—753 (1985).
(33) S. Hakomori : *Semin. Hematol.*, **18**, 39—62 (1981).
(34) Y. Ito and T. Ogawa : *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 3227—3230 (1986) ; Y. Ito and Y. Ogawa : *Agric. Biol. Chem.*, **50**, 3231—3233 (1986).
(35) T. Nakano, Y. Ito, and T. Ogawa : *Tetrahedron Lett.*, **31**, 1597—1600 (1990) ; T. Nakano, Y. Ito, and T. Ogawa : *Tetrahedron Lett.*, **32**, 1569—1602 (1991) ; T. Nakano, Y. Ito, and T. Ogawa : *Carbohydr. Res.*, **243**, 43—69 (1993).
(36) Y. Matsuzaki, Y. Ito, and T. Ogawa : *Tetrahedron Lett.*, **33**, 4025—4028 (1992) ; Y. Matsuzaki, Y. Ito, and T. Ogawa : *Tetrahedron Lett.*, **34**, 1061—1064 (1993).
(37) C. S. Pukel, K. O. Lloyd, L. R. Travaassons, W. G. Dippold, H. F. Oettgen, and L. F. Old : *J. Exp. Med.*, **155**, 1133—1147 (1982); E. Nudelman, S. Hakomori, R. Kannagi, S. Levery, M.-Y. Yeh, K. E. Hellström, and I. Hellström : *J. Biol. Chem.*, **257**, 12752—12756 (1982).
(38) Y. Ito, M. Numata, M. Sugimoto, and T. Ogawa : *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, 8508—8510 (1989).
(39) Y. Ito, S. Nunomura, S. Shibayama, and T. Ogawa : *J. Org. Chem.*, **57**, 1821—1831 (1992).
(40) A. T. Beyer, J. E. Sadler, J. I. Rearick, J. C. Paulson, and H. L. Hill : *Adv. Enzymol.*, **52**, 23—175 (1981).
(41) Y. Ichikawa, G. C. Look, and C.-H. Wong: *Anal. Biochem.*, **202**, 215—238 (1992).
(42) J. I. Rearick, J. E. Sadler, J. C. Paulson, and R. L. Hill : *J. Biol. Chem.*, **254**, 4444—4451 (1979) ; J. Weinstein, U. de Souza-e-Silva, and J. C. Paulson : *J. Biol. Chem.*, **257**, 13835—13844 (1982).
(43) Y. Ito, J. J. Gaudino, and J. C. Paulson : *Pure Appl. Chem.*, **65**, 753—762 (1993).
(44) Y. Ito and J. C. Paulson : *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 1603—1605 (1993).
(45) Y. Ichikawa, G.-J. Shen, and C.-H. Wong: *J. Am. Chem. Soc.*, **113**, 4698—4700 (1991).
(46) M. Sugimoto and T. Ogawa : *Glycoconjugate J.*, **2**, 5—9 (1985) ; M. Numata, M. Sugimoto, S. Shibayama, and T. Ogawa : *Carbohydr. Res.*, **174**, 73—85 (1988) ; T. Murase, H. Ishida, M. Kiso, and A. Hase-

gawa : *Carbohydr. Res.*, **188**, 71—80 (1989); M. Numata, M. Sugimoto, Y. Ito, and T. Ogawa : *Carbohydr. Res.*, **203**, 205—217 (1990).

(47) S. Schenkman, E. S. Robins, and V. Nussenzweig : *Cell*, **65**, 1117—1125 (1991).

(48) F. Vandekerckhove, S. Schenkman, L. P. de Carvalho, S. Tomlinson, M. Kiso, M. Yoshida, A. Hasegawa, and V. Nussenzweig : *Glycobiology*, **2**, 541—548 (1992).

(49) Y. Ito and J. C. Paulson : *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, 7862—7863 (1993).

(50) A. Parodi, G. Pollevick, M. Mautner, A. Buschiazzo, D. Sanchez, and C. Frash : *EMBO J.*, **11**, 1705—1710 (1992).