

これまでの成果物と 平成21年度計画

産業技術総合研究所
糖鎖医工学研究センター

2009年5月20日

平成20年度までの成果物

*National Institute of
Advanced Industrial Science
and Technology*

AIST

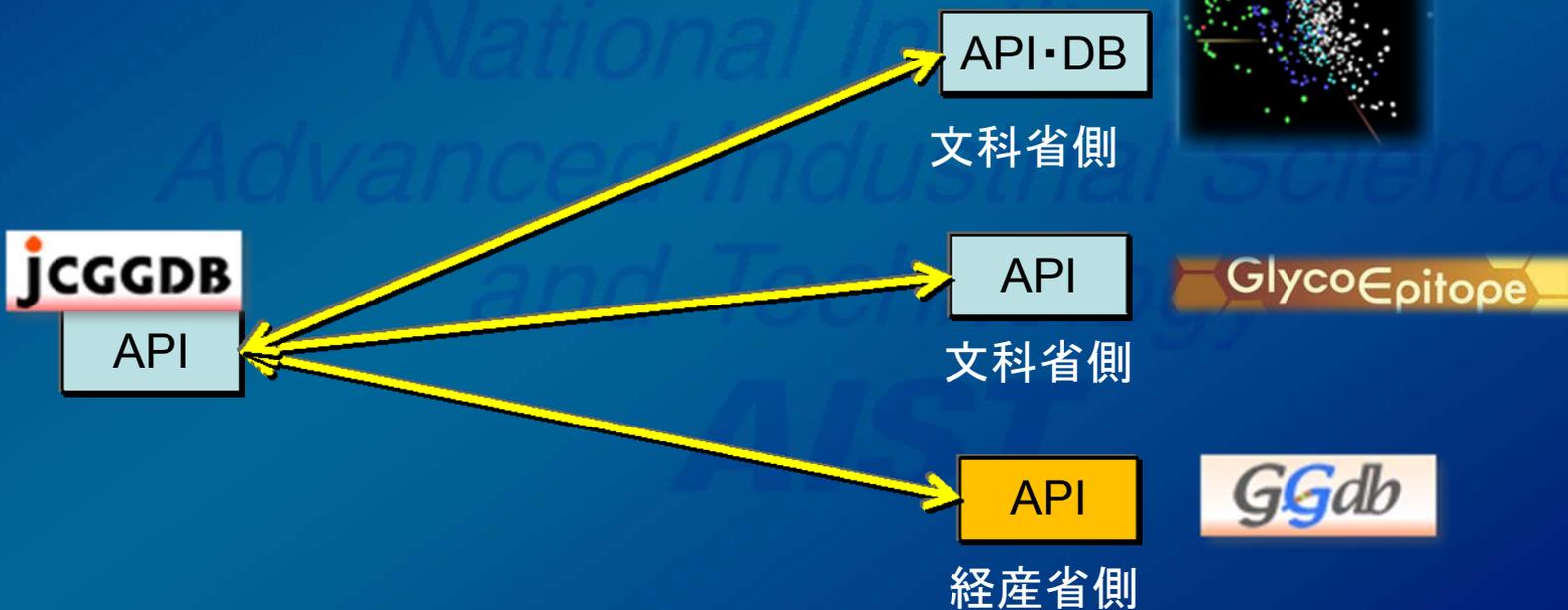
統合検索の基盤整備

HTMLをTextで出力するAPI→横断検索用

- ・HyperEstrailerのindex用のdraft形式での出力
- ・Namazuなどの全文検索用のテキスト

キーとなるIDの全出力→indexの更新システムとの連携

検索&結果出力(XMLとText)→統合検索用





キーワードによる横断検索 ～ HyperEstrailer ～

- 検索用にWebページをindex化
- 開発したAPIから出力されるテキストをindex化

キーワード検索 / 糖鎖構造から検索 // Language Preference: English 日本語

JCGGB

日本糖鎖科学統合データベース Version 1.1 (27 June 2008)

words
 横断検索 検索
 例えば、"fuc lectin"と入力してみてください。

糖鎖関連遺伝子 (糖転移酵素、グリコシダーゼ、硫酸転移酵素、糖ヌクレオチド輸送体、PAPS輸送体)、レクチン、糖タンパク質

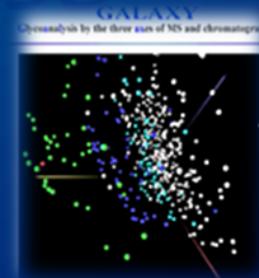
GGDB: 糖鎖関連遺伝子データベース (糖転移酵素、硫酸転移酵素、糖ヌクレオチド輸送体等) (産業技術総合研究所)	LfDB: レクチンデータベース (産業技術総合研究所)
GlycoProtDB: 糖タンパク質データベース (産業技術総合研究所)	

糖鎖構造解析 (全体構造)

GALAXY: 多次元HPLCデータベース (名古屋市立大学)	LipidBank (日本脂質学会)
GMDB: 質量分析データベース (産業技術総合研究所)	

糖鎖構造解析 (部分構造)

GlycoEpitope: 抗糖鎖抗体・エピトープ情報 (立命館大学)	LfDB: レクチンデータベース (産業技術総合研究所)
-------------------------------------	------------------------------



JCGGDB キーワードによる横断検索



キーワード検索 / [糖鎖構造から検索](#) // Language Preference: English 日本語

JCGGDB

日本糖鎖科学統合データベース Version 1.1 (27 June 2008)

横断検索 検索

例えば、"fuc lectin"と入力してみてください。

糖鎖関連遺伝子 (糖転移酵素、グリコシダーゼ、硫酸転移酵素、糖ヌクレオチド輸送体、PAPS輸送体)、レクチン、糖タンパク質

- GGDB : 糖鎖関連遺伝子データベース (糖転移酵素、硫酸転移酵素、糖ヌクレオチドトランスポーター等) (産業技術総合研究所)
- GlycoProtDB : 糖タンパク質データベース (産業技術総合研究所)
- LfDB : レクチンデータベース (産業技術総合研究所)

糖鎖構造解析 (全体構造)

- GALAXY : 多次元HPLCデータベース (名古屋市立大学)
- GMDB : 質量分析データベース (産業技術総合研究所)
- LipidBank (日本脂質学会)

糖鎖構造解析 (部分構造)

- GlycoEpitope : 抗糖鎖抗体・エピトープ情報 (立命館大学)
- LfDB : レクチンデータベース (産業技術総合研究所)



立命館大学



LipidBank構築委員会



名古屋市立大学



産業技術総合研究所



生化学工業

JCGGDB 構造検索

～横断検索サービス～



構造検索
Structural search
(構造エディター)

File Edit Structure New Open Save back forward All Clear show Xpath ID ID Search

DB JCGGDB CONDITION Substruct RESULT PER PAGE 10 Structure Search

m/z : 1133.3911

Symbol
Pentose
Hexose
Hexosamine
Acidic sugar
Heptose
Modification
N-linked

D-linked
GlycoLipid
Terminal
Repeat

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 Next >

JCGGDB ID	JCGG-STR000377
GlycomeDB	10346
underivatised	mono 1259.465
	ave 1260.1704

JCGGDB ID	JCGG-STR000392
GlycomeDB	1036
underivatised	mono 1259.465
	ave 1260.1704

JCGGDB ID	JCGG-STR001554
GlycomeDB	11494
underivatised	mono 1259.465
	ave 1260.1704

JCGGDB ID	JCGG-STR021881
-----------	----------------

各DBへのリンク

3-STR023283

465
1704

3-STR000322

5972
5078

JCGGDB ID	JCGG-STR000414
GlycomeDB	1038
underivatised	mono 1624.5972
	ave 1625.5078

JCGGDB ID	JCGG-STR000425
GlycomeDB	1039
underivatised	mono 1624.5972
	ave 1625.5078



構造検索(structure search)
部分構造検索(substructure search)

m/zから糖鎖構造検索

m/z検索

m/z of precursor ion: tolerance: \pm

mass type:

Adduct:

H+ Na+ K+ Li+

-H Cl- Null

Label:

m/z of precursor ion: 1200.0 tolerance: \pm 1.0 Adduct: Null Label: non-labeled

Results 1 - 5 of 8

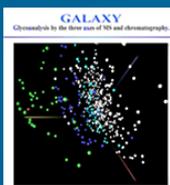
1 [2](#) [Next >](#)

JCGGDB ID	JCGG-STR008073	
GlycoDB	18388	
underivatised	mono	1199.2839
	ave	1200.0763

JCGGDB ID	JCGG-STR008074	
GlycoDB	18389	
underivatised	mono	1199.2839
	ave	1200.0763

JCGGDB ID	JCGG-STR008079	
GlycoDB	18393	
underivatised	mono	1199.2839
	ave	1200.0763

JCGGDB ID	JCGG-STR010517	
GlycoDB	20614	
underivatised	mono	1199.2839
	ave	1200.0763



単糖組成から構造を検索

4Hex 4HexNAc 1dHex

単糖組成検索

Composition

Hex HexA

HexNAc Pent

dHex Sulfo

Neu5Ac Phos

Neu5Gc

Adduct

H+ Na+ K+ Li+

-H Cl- Null

Label non-labeled ▾

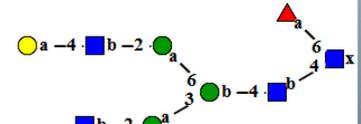
検索

Composition : dHex:1 HexNAc:4 Hex:4 Adduct: Null Label: non-labeled

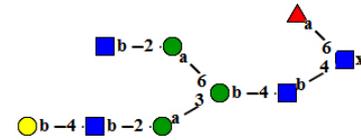
Results 1 - 5 of 59

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 Next >

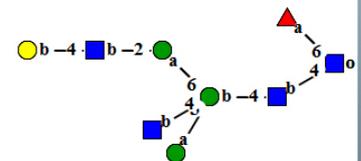
JCGGDB ID	JCGG-STR000275
GlycomeDB	1025
underivatised	mono 1624.5972
	ave 1625.5078



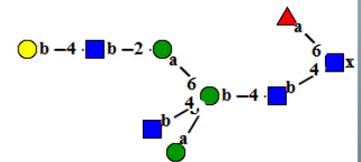
JCGGDB ID	JCGG-STR000286
GlycomeDB	1026
underivatised	mono 1624.5972
	ave 1625.5078



JCGGDB ID	JCGG-STR000322
GlycomeDB	10295
underivatised	mono 1624.5972
	ave 1625.5078



JCGGDB ID	JCGG-STR000414
GlycomeDB	1038
underivatised	mono 1624.5972
	ave 1625.5078



GlycoEptope



※右図: ルートの文字

a: alpha, b: beta, o: alditol, x: unknown

フェーズ

- キーワード検索(横断)



- API構築

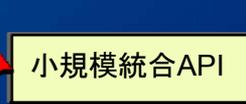
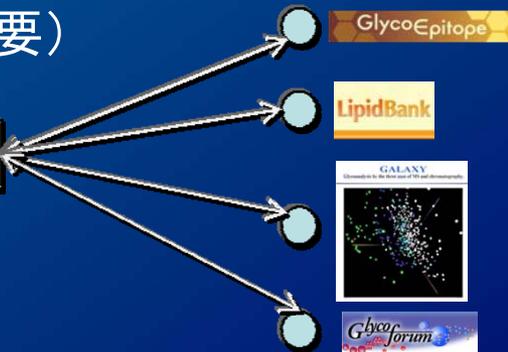
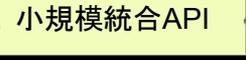
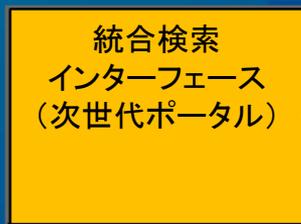
- 構造による検索機能

- イメージしやすいように横断といっているが実際には統合している



- 統合検索(残りの2年で開発)

- APIの増築
 - キーワード⇔糖鎖構造(糖鎖構造の名前を整備が必要)
 - APIを利用して各DBからデータを引き出す



平成21年度 糖鎖統合DBの計画

産業技術総合研究所
糖鎖医工学研究センター

2009年5月20日

プロジェクトへの協力の呼びかけと 統合DBの普及活動(概要)

- 1. 糖鎖データ統合への参加機関を確定し(12/E)、各機関と相談の上、統合化の計画を行う
 - プロジェクトに理解を示してくれる機関と話し合い、最終年度の計画に盛り込む。
- 2. 公開している糖鎖データベース(JCGGDB)の普及活動を行う
 - プロジェクトの進捗・DBの使用方法をJCGGやGLITを活用して研究者へ普及させる
 - GLIT(糖鎖産業技術フォーラム:産総研+JBA)の勉強会
 - JCGG年会、各学会
 - EuroCarbDB
- 3. 実験データを持っている機関にはDB化し公開の支援を行い、糖鎖統合DBと連携する
 - 産業技術総合研究所、立命館大学、名古屋大学、名古屋市立大学、理化学研究所、野口研究所、創価大学、京都大学と連携し統合DBの連携を強化する

JCGGDB Alliance

RCMG, AIST Tsukuba

Executive Committee of Lipid Database

Nagoya University
Systems Glycobiology Research Group, RIKEN

General	Antibody	Glycoprotein	Glycolipid	Enzyme	Reference
General Information of EP0033					
Epitope ID	EP0033				
Epitope	C-Series Ganglioside Oligosaccharide / Gangliosidase Core Structure				
Structure	<chem>Neu5Ac2-8Neu5Ac2-8Neu5Ac2-3Gal1-4GalNAc6S1-1Cer</chem>				
Sequence	R-Gal1-3YGalNAc1-4EHexA2-8HexA2-8HexA2-3Gal1-4GlcB1-1Cer				
Aliases					
History					
3D structure					
Molecular weight	1581 kDa				
Composition	[F2a]GalNAc1Y(Glc)1HexA2Cer				
Species					
General	Antibody	Glycoprotein	Glycolipid	Enzyme	Reference
5 antibodies registered for EP0033					
Name	A2B1				
Species	Mouse				
Category	Monoclonal				
Isotype	IgM				
Recognition region	Neu5Ac1-2-8HexA2-8HexA2-3Gal1-4GlcB1-1Cer				
Immunoprecipitation					
Immunoblot	[1] [2] [3] [4] [5]				
ELISA/RIA					
Flow cytometry					
Historical chemistry					
Availability	ATCC				
Application					
Comment					

Ritsumeikan University

Knockout Mouse DB

N-glycan conformation database

Glycan Synthesis DB

Noguchi Institute RCMG, AIST Tsukuba

FlyGlycoDB

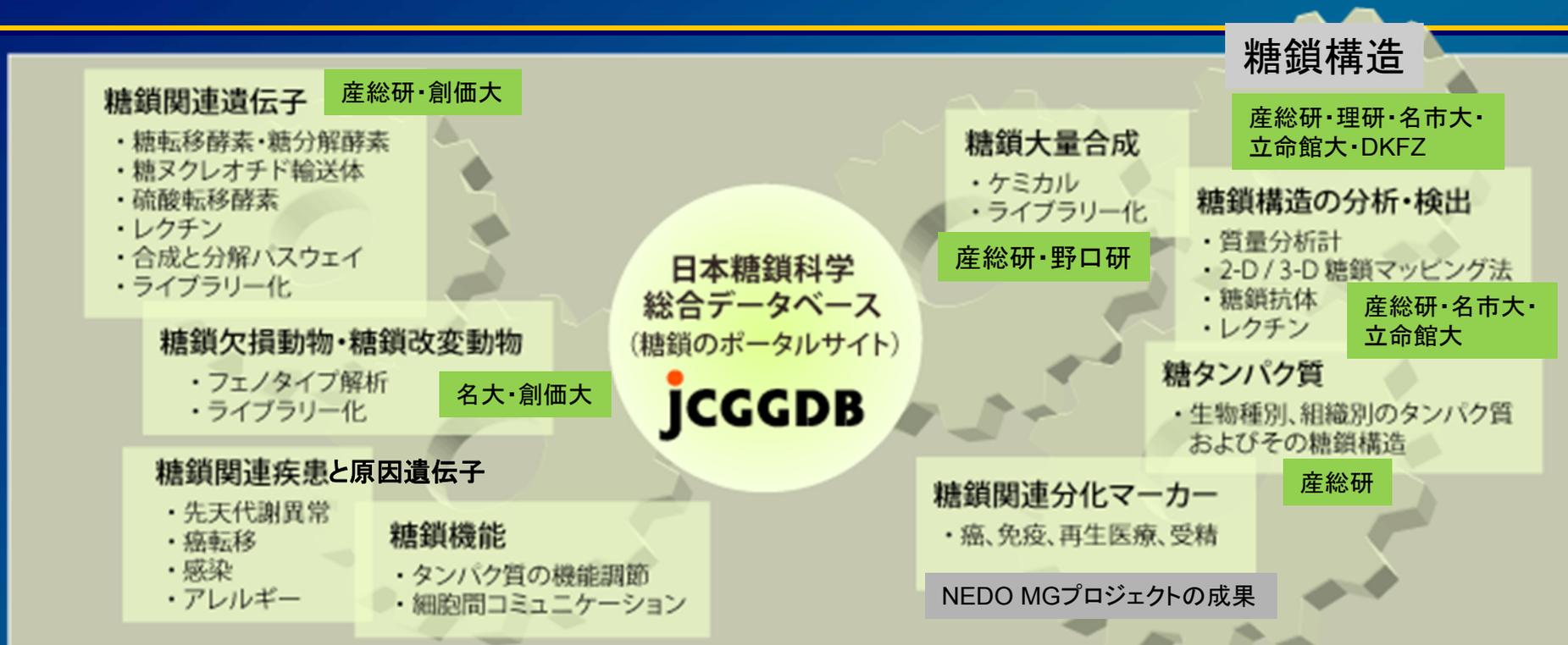
Soka University

KEGG

Kyoto University

Nagoya City University

構想 (協力体制)



オンラインプロトコル

J-oil、生化学工業(今年度交渉予定)

一般 & 糖鎖領域
以外の研究者向けのドキュメント

糖脂質・GAG・
ポリシアル酸・
多糖

糖鎖プロセッシングの阻害剤DB

産総研

特許

産総研

健康食品の
安全性・有効性

国立健康・栄養研究所(リンクレベル?)

データベースの整備(概要)

- 4. オンラインプロトコルの整備を行う
 - 30~40のオンラインプロトコルを整備する予定
 - 糖鎖合成(有機合成+酵素合成の融合した)のデータベース構築

- 5. 糖鎖関連疾患とその糖鎖関連遺伝子の関連をDB化する(小規模統合APIの設置)
 - 糖鎖関連疾患とその糖鎖関連遺伝子の関連した情報を集めてDB化(産総研が収集:年度内・次年度の初めくらいを目処に公開)
 - 糖鎖関連遺伝子(DB公開の支援とAPIの設置)
 - ショウジョウバエの糖鎖関連遺伝子のデータベース(糖鎖関連遺伝子とそのノックダウン、その結果のフェノタイプ情報)の構築(創価大学)
 - KOマウスの情報を追加(名古屋大学)
 - 農水のガラクトシダーゼなどのトランスジェニックマウスのデータも追加
 - 糖鎖関連遺伝子のDB・KOマウスDB・糖鎖関連疾患DBの3つで連携を図る

- 6. 糖鎖機能に関する情報を発信する(産総研から依頼:10~20程度)
 - 糖鎖の機能に関する研究の原稿を依頼
 - 糖鎖の機能を活用して産業に結びつけている方々に原稿を依頼する

- 7. 横断検索用インデックスの更新システムを開発する
 - 横断検索用インデックスの更新システムを開発し、最新のデータを糖鎖研究のユーザと中核機関に提供できるようにする

4.1. オンラインプロトコルDB

データ収集・開発

- 糖鎖研究以外の分野の研究者が糖鎖を解析したいと思った時に直ぐにプロトコルの情報が出てくるようにする。
 - 論文のマテリアル&メソッドの情報だけでは実験ができない
 - 糖鎖研究に入りやすくし、糖鎖に関連する研究データを増やすことができればよい。最終的には実験データの蓄積につながる。

1. ピリジリアミノ(PA)化法による糖鎖の蛍光標識と分離

準備	試薬
	*hydrazine, anhydrous (Pierce) *toluene *acetic acid *acetic anhydride *飽和NaHCO ₃ 水溶液 *2-aminopyridine *PA reagent *borane-dimethylamine complex *reducing reagent *ammonia solution (精密分析用) *chloroform *ゲル濾過精製用TSKgel HW-40F *10mM AcONH ₄ (pH 6.0) *Mono-Q用 eluent A *Mono-Q用 eluent B: 0.5M AcO *size-fractionation HPLC用 eluent *size-fractionation HPLC用 eluent *reversed phase HPLC用 eluent *reversed phase HPLC用 eluent *reversed phase HPLC用 eluent *reversed phase HPLC用 eluent
器具・装置	*スクリューキャップ付き試験管 *ウォーターバス (60~100°C) * -60~-80°Cのトラップ付き真 *Dowex 50W-X2用ミニカラム *スクリューキャップ付きコニカ *Speed Vac Concentrator (Sava) *Mono-Q HR 5/5 column (Phari) *Shodex Asahipak NH2P-50 col *Cosmosil 5C18-P column (0.46 *蛍光検出器 (500Vキセノンラ

1. ピリジリアミノ(PA)化法による糖鎖の蛍光標識と分離

方法

- 糖タンパク質からの糖鎖の切り出しとPA(糖鎖)の調整
- Put less than 2mg of a sample into the test tube with a screw cap.
- ↓
- Lyophilize.
- ↓
- Add 0.2~0.3ml of anhydrous hydrazine
- ↓
- Heat at 100°C, 10hr for N-glycans or a
- ↓
- Co-evaporate hydrazine with 1"2 drop
- ↓
- Add 200µl of sat. NaHCO₃ aq. Solution
- ↓
- reversed phase HPLC用 eluent
- ↓
- Mix well and sit on ice for 5 min.
- ↓
- Add 200µl of sat. NaHCO₃ aq. Solution
- ↓
- Mix well and sit on ice for 30 min.
- ↓
- Adjust the pH to 3 by adding Dowex
- ↓
- Pour the suspension into the mini-co
- ↓
- Wash the resin with 5 bed volumes o
- ↓
- Take effluent.
- ↓
- Concentrate by Speed Vac Concentra
- ↓
- Transfer the solution into the conical
- ↓
- Lyophilize.
- ↓

1. ピリジリアミノ(PA)化法による糖鎖の蛍光標識と分離

方法

- Add 20µl of PA reagent.
- ↓
- Heat at 90°C for 60 min.
- ↓
- Add 70µl of reducing reagent.
- ↓
- Heat at 80°C for 35 min.
- ↓
- Add 300µl of ammonia solution and 300µl of chloroform.
- ↓
- Vortex well.
- ↓
- Spin down.
- ↓
- Take an upper layer.
- ↓
- Evaporate by Speed Vac Concentrator without operating the heater.
- ↓
- Separate excess reagents by gel filtration (TSKgel HW-40F).
- ↓
- Collect PA-oligosaccharide fraction.
- ↓
- Lyophilize.
- ↓
- Dissolve in 100µl of water and store below -20°C.

2. 糖タンパク質からの糖鎖の切り出しとPA(糖鎖)の調整

- Wash the Mono-Q column with 6% acetic acid for 10 min at a flow rate of 1 ml/min.
- ↓
- Wash the Mono-Q column with 0.4 M ammonia solution for 10 min at a flow rate of 1 ml/min.
- ↓
- Equilibrate the column with Mono-Q-eluent A.
- ↓

サンプル(イメージ)

糖鎖の切り出し
糖鎖の精製方法
糖鎖構造解析 他

目標は30~40プロトコル

4.2. オンラインプロトコルDB 糖鎖合成支援 (有機化学と酵素による合成)

有機化学合成
大量合成

野口研未公開DB



酵素合成

構造のバリエティ

産総研未公開DB



糖鎖研究

- 市販糖鎖構造や提供元の登録のある糖鎖構造から最終構造までの経路を表示する
- 合成のノウハウや提供できるサンプルかどうかのリソース情報も提供

合成経路一覧 表示形式: CFG

Starting Material 出発物質として経験済みの糖鎖構造
 市販されている糖鎖

Display of a suitable synthetic pathway Method I: To obtain a desired glycan at maximum yield
 Method II: To obtain information related to a desired glycan as well as all possible structures involved in the reaction (Default: One-pot method)

開発

● OOA-00012e -> [CAZ-000aa6, DNR-00003d] -> OOA-000127 -> [CAZ-000aa7, DNR-00003e] -> OOA-000128 -> [CAZ-000a9f, DNR-000040] -> OOA-00014a

Enzyme	b3GalT6	b4GalT1	FUT6
Donor	PubChem UDP-GlcNAc	PubChem UDP-Gal	PubChem GDP-Fuc

Products

Available

平成21年度は有機化学合成と酵素的に合成する反応の融合を目指し、登録したデータを検索できるプロトタイプ版を作成。

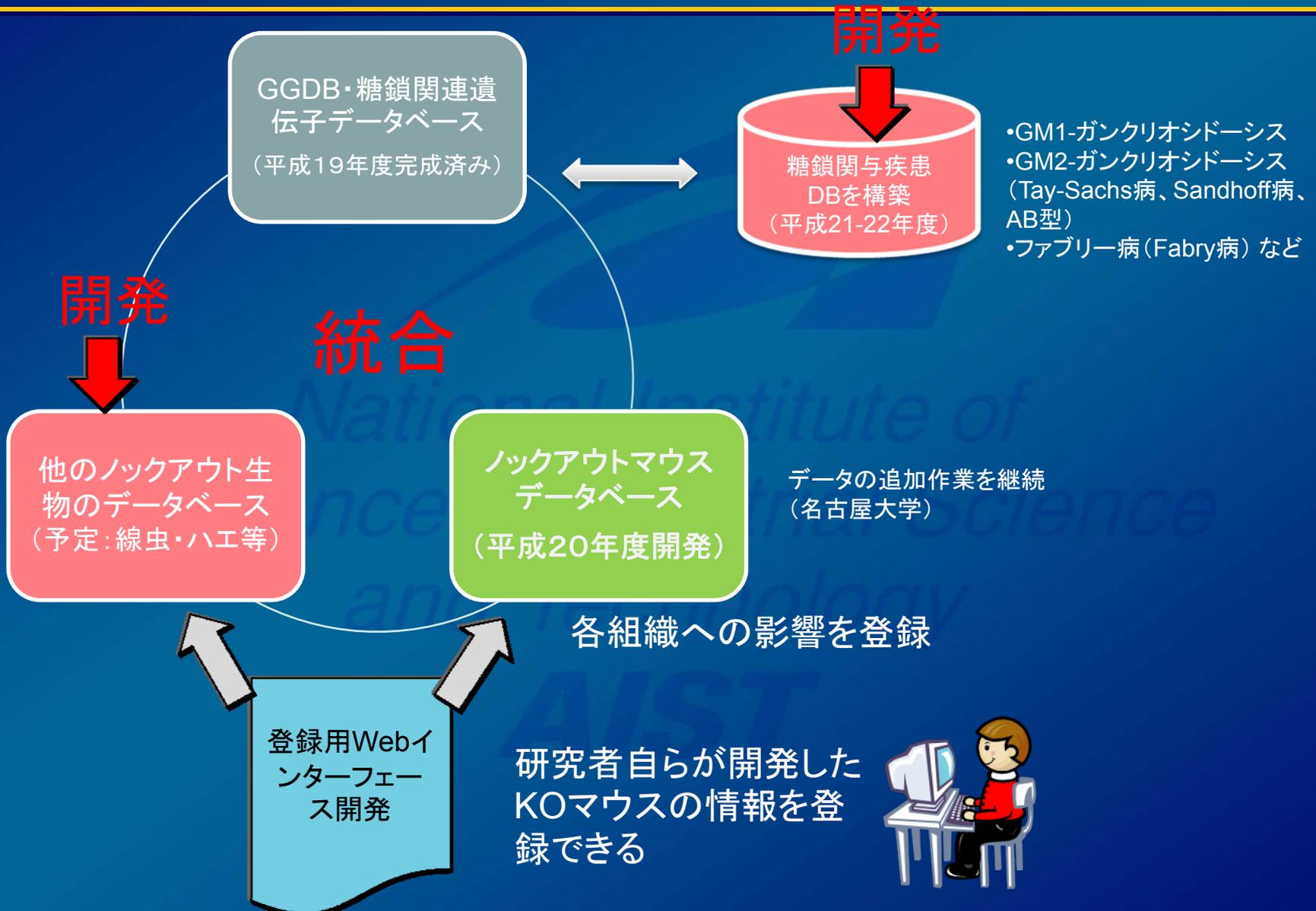
平成22年度は外部の研究者が登録できるインターフェースを開発し改良を重ねる。

野口研 + 産総研

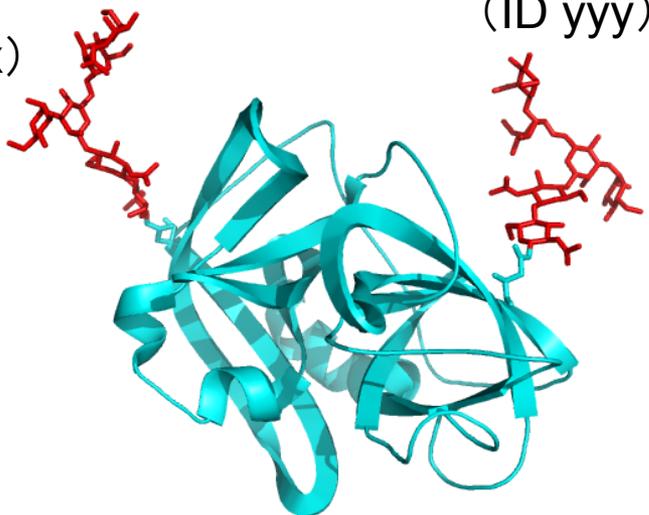
5.1 統合のためのインフラ整備を強化

- APIの増設
- 未公開DBを公開する活動
- 公開しているDBにはAPIを設置 & 非公開版DBを公開版に作りかえAPIを設置
 - 平成21年度から参加
 - 理化学研究所のシステム糖鎖生物学研究所の糖鎖コンフォメーションDB
 - 野口研究所の有機化学による糖鎖合成DB+化合物DB
 - 創価大学のショウジョウバエのGlycoGeneDBとフェノタイプ情報
- 産総研のGlycoGeneDB以外のDBにもAPIを設置（経産省側のプロジェクトにお願いしている）
 - Lectin DB（経産省側のプロジェクトで構築）
 - GlycoProtDB（文科省側プロジェクトで構築）
 - GlycoMass DB（未定）

5.2. 糖鎖関連疾患とその糖鎖関連遺伝子の関連をDB化 「糖鎖と病気」に関するデータベース



1. データベースの構築

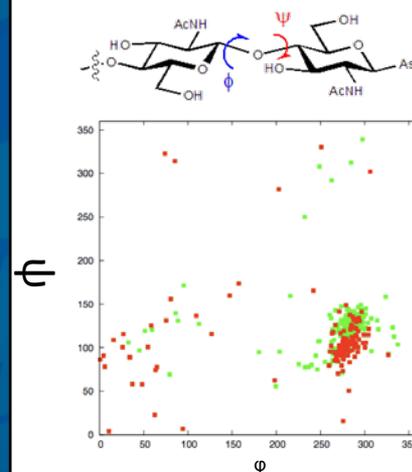
糖鎖
(ID xxx)糖鎖
(ID yyy)

糖タンパク質 (PDB code: zzz)

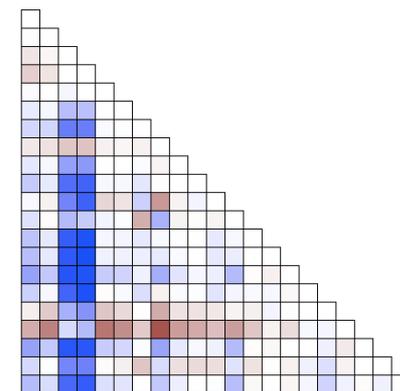
Protein Data Bankに登録されている
糖タンパク質糖鎖の立体構造データ
ベースの構築と改良

2. データベースの解析

(1) 2面角の解析



(2) 距離地図の解析



糖鎖立体構造の構築原理とタンパク質
による糖鎖認識様式の解明

6. 糖鎖機能に関する情報を発信

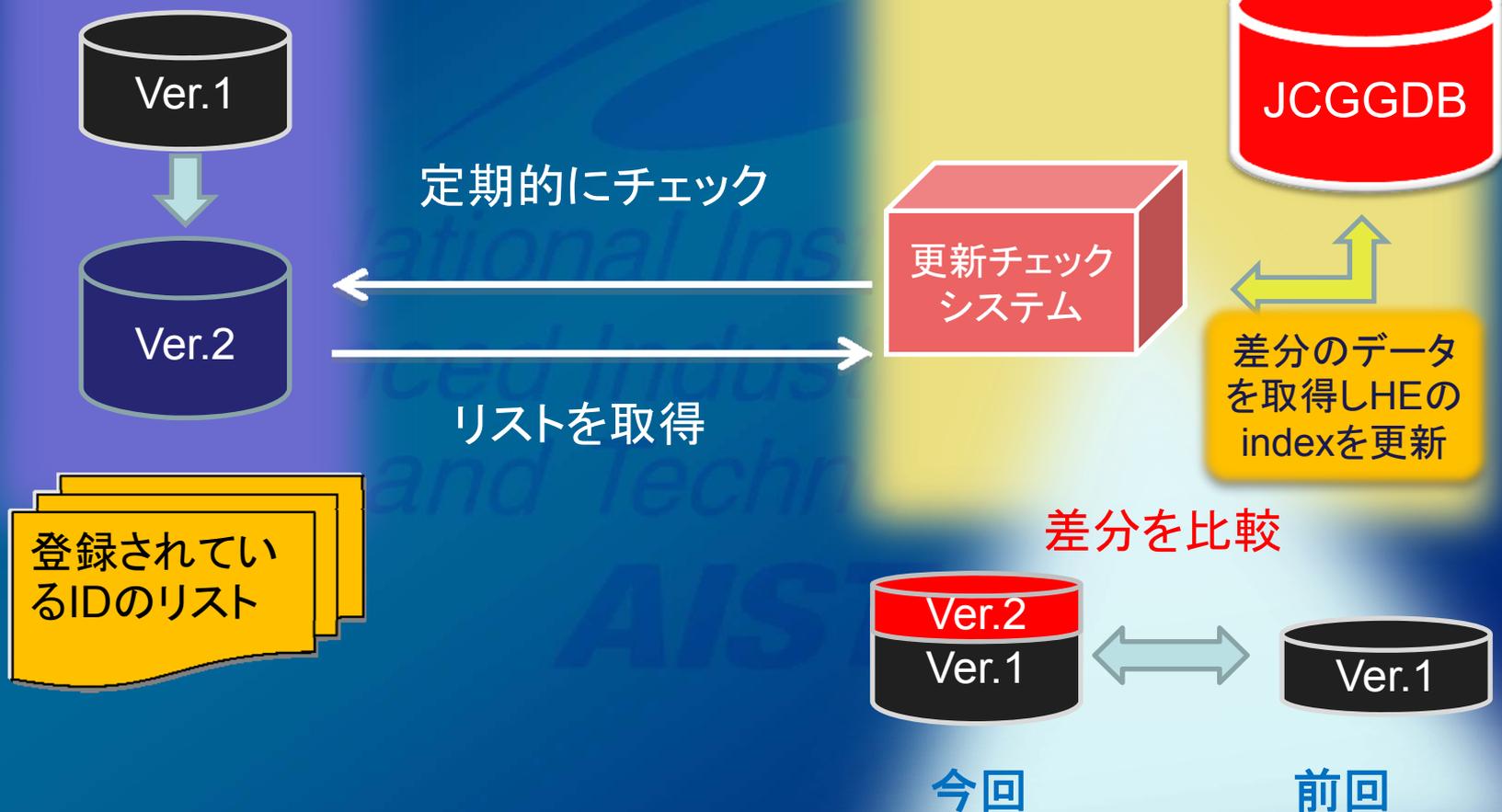
- 糖鎖機能に関する研究や、糖鎖が関与した生命現象について原稿を依頼
 - ウィルス・病原菌
 - アルツハイマー病、筋ジストロフィー、動脈硬化
 - 免疫
 - 癌 他
- 糖鎖の機能を活用して産業に結びつけている方々に原稿を依頼する
 - 抗体医薬
 - 糖鎖関連バイオマーカーの可能性
 - 再生医療への応用とその可能性
- 目標として10～20程度のドキュメント

7. APIを利用したIndex更新システムを構築 ～横断検索・統合検索～

研究機関

JCGGDB 運営事務局

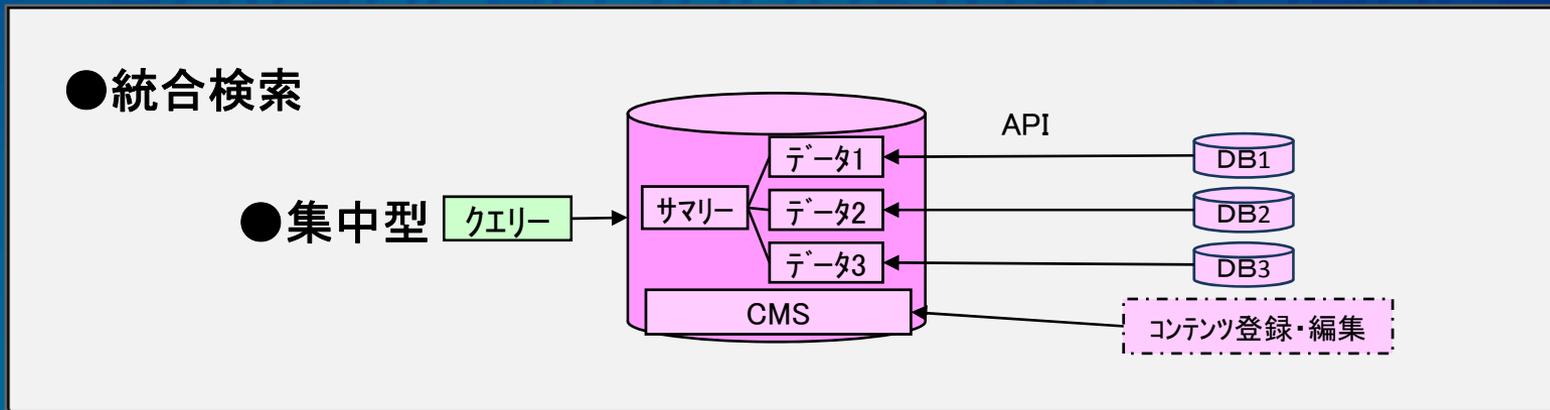
HyperEstraiерのindex更新



総合検索機能の開発(概要)

(中核機関との共同開発)

- 8. 直観的なポータルサイトを目指し統合検索機能を開発し始める(2ヶ年計画)
 - 糖鎖に関連した専門用語を整備する
 - シノニム・ゆらぎを整備する
 - 日本語・英語のキーワードに対応できるようにする
 - 総合検索のプロトタイプを開発する



セマンティックwebを 横断検索/統合検索に取り入れる

予め準備
キーワード
単語A

日本語/英語の文章にある1文章中の
単語A 動詞 単語B.

単語B 動詞 単語A.

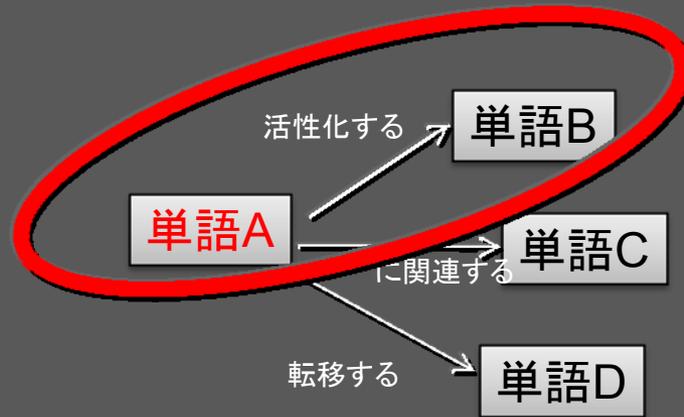
専門用語
遺伝子名
疾患名
生命現象 他

↓
予め様々なドキュメントから
単語Aに関連する動詞と単語を抜き出して
関連性と重み(頻度?)を付けてDB化しておく。

検索時

キーワード
単語Aを検索

Viewerで関連性を表示



→ 選択した単語Aと動詞“活性化する”と単語Bが含まれる文章のリストを表示