

多糖核酸複合体の発見から バイオベンチャーの起業まで

北九州市立大学 国際環境工学部

櫻井和朗*

Polysaccharide/DNA complex on the move: from discovery to business

Looking back in own history is sometime good to get perspective for the next ten years. Since we found a new polysaccharide/DNA complex in 1999, we have worked on clarifying its fundamental properties and complexation mechanism as well as seeking application as a platform technology in DDS. There were several major stepping stones to lead us to the present. Finding of dectin-1 receptor in antigen presenting cells and targeting delivery of DNA through dectin-1. Human encounters at right time and right place to start our bio-venture company: Napajen Pharma.

siRNA や CpGDNA などの核酸医薬を抗原提示細胞へ選択的に送達する DDS ツールとして実用化を目指して開発研究が進んでいる、多糖核酸複合体に関して、その発見から現在にいたる過程を、著者の DDS との出会いにさかのぼって概説する。

Kazuo Sakurai*

Keywords: DDS, polysaccharide/DNA complex, schizophyllan, dectin-1

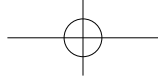
1. DDS との出会い

大阪駅から北東に車で20分ほど走り、天神祭り
で有名な大川を渡ったところが都島区である。今では高層マンションやホテルが立ち並ぶ大川沿いの地区は、かつては煙突が立ちならぶ工業地帯であった。鉄道と船の便が良いことから、この地区に工場が集まり、その周辺には安い飲み屋と下請けの町工場がひしめく労働者の町、まさに戦後復興や高度経済成長を支えた地域である。旧鐘紡(鐘淵紡績、鐘紡、カネボウと社名を変更し、2008年に消滅)はここに広大な本社工場を有していた。最盛期の鐘紡の雰囲気は城山三郎の「役員室午後三時」が伝えているが、工場内に社宅や寮、瀟洒な幹部社宅、スーパーから銭湯まである1つの村のようであったという。しかし、私が鐘紡に入社した1984年には、オイルショック後の長い繊維不況で鐘紡は往時の勢いはなかつ

た。本社工場をマンション用地として売却して、中央研究所だけがさら地の中に残っていた。脱繊維を目指して、研究所の半分以上のメンバーは薬品の研究をしていた。筆者はそんな鐘紡の素材関係の研究開発の部署に配属された。

会社から行かせてもらったアメリカ留学から1993年に帰ってきた著者は、シーズ探索の部署でポリエステルの重合の研究をしていた。そんな1994年の始めころ薬品研究所の高橋氏と中田氏から、武田薬品工業のリュープリンや、横山、岡野、片岡先生がしておられた高分子ミセルの初期の論文を紹介され、同じようなものを作って欲しいと依頼をうけた。平たくいえば、特許を回避して”ゼロ：模造品”を作って欲しいということである。これが、著者が DDS なるものに触れた最初のきっかけである。当時の医薬品開発は、低分子医薬が中心で、薬品研究所には博士号を持っているような有機合成の専門家はいたが、高分子に関してはまったく経験がないようであった。「PEG には分子量分布があり・・・」「え、それは不純物ということですか」か

* Department of Chemistry and Biochemistry,
University of Kitakyushu
1-1 Hibikino, Wakamatsu-ku, Kitakyushu, Fukuoka 808-0135, Japan



ら始まった共同研究で、著者も RES 回避、血中滞留性などの DDS の用語を学んでいった。鐘紡の崩壊の中でこの研究も消滅してしまったが、当時に出した論文¹⁾は100を超える被引用数となっている。1999年に高松で行われた第15回の DDS 学会でポスター発表をしたのが、日本 DDS 学会への初めての参加であった。なお、高橋氏とは、2013年の第15回 Asian Arden Conference で再会し、共同研究などで懇意にいただいている高倉喜信先生と同じ研究室のご出身と知り、世の中は狭いと思ったものである。

2. 多糖核酸複合体の発見

鐘紡という大きな船が沈んでいく中で、管理職のグループリーダーとなり「ウチは大丈夫だろう、まさかこんな大きな会社は倒産しないよ」と自覚もなく研究をしていたら、突然、所長に呼び出され転勤の辞令をもらった。そこには「科学技術振興事業団 出向を命ず」と書いてある。1999年のことであった。

九州大学の新海征治先生が JST・ICORP 分子転写プロジェクトの研究員を、会社を通じて募集しておられた。会社は、絶好の口減らしのチャンスと思ったのだろう、私の派遣を即座に決めた。後から聞くところによると、いずれ、研究所も閉鎖することが決まっていたが、当時の研究開発のトップは、必ず会社は復活する、その時に研究所も再開するから、学位を持っている人材を緊急避難させておこうと考えたらしい。正直言って、都落ち、菅原道真の気分で九州に転勤した。久留米の百年公園にあった研究室か、新海先生の箱崎の教授室か、記憶がないが、ある日、新海先生とのテーマに関するディスカッションのなかで、「何か面白い多糖は知らないか？」と聞かれたので、「 β -1,3-グルカンの中のシゾフィランという、セルロースとアミロースの中間のような多糖を知っています」と答えた。新海先生はしばらく考えた後、「はい、面白そうな多糖だね。君は他の研究員より歳をとっているし、すこし自由にこの多糖をいじってみなさい」と言われた。

シゾフィランとは、**図1A**に示す化学構造を持つ

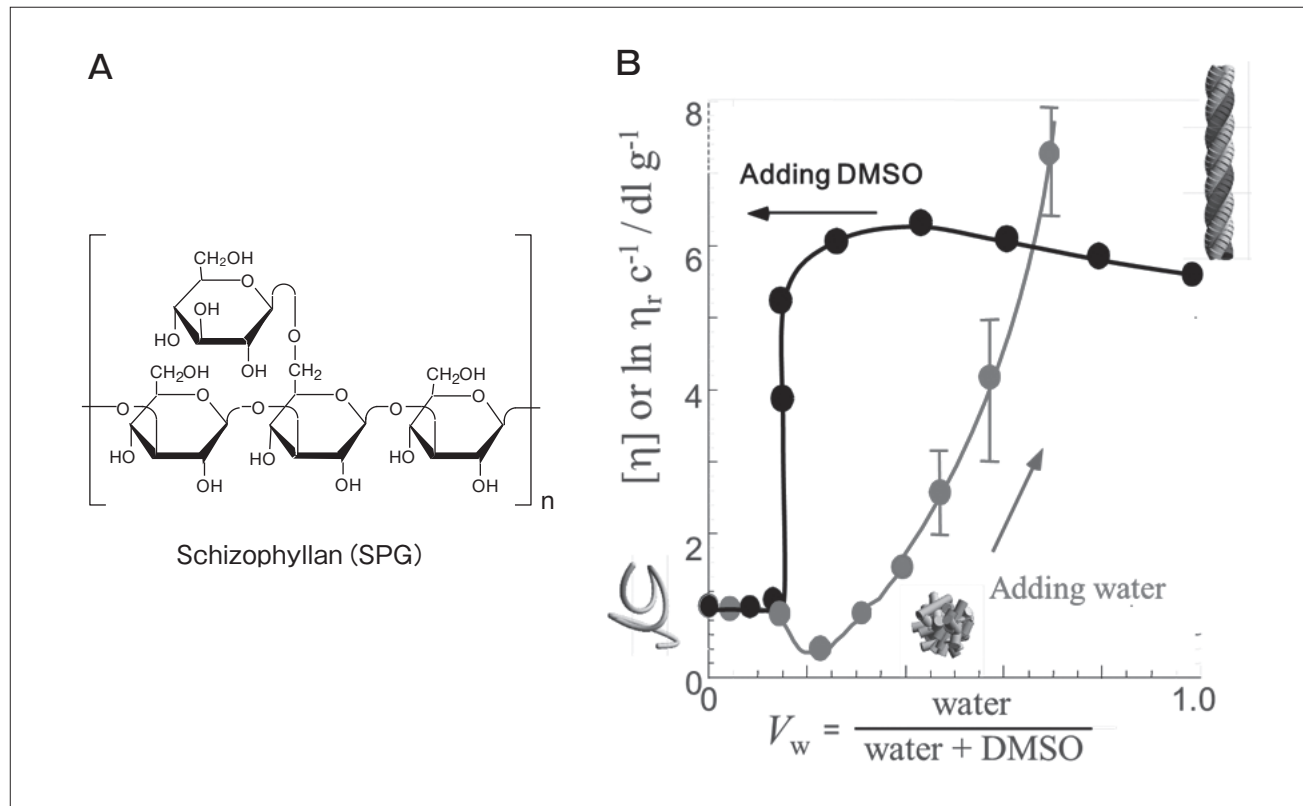
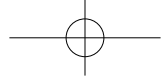


図1 シゾフィランの化学式とその3重螺旋の解離・再生の挙動(著者の4年生の卒業論文より)



キノコが作る天然の多糖であり、抗腫瘍活性があることが見出されている。シゾフィランは台糖(現三井製糖)によって企業化され、進行性子宮頸癌に対する筋肉注射製剤として産婦人科医にとってはなじみ深い薬であった。シゾフィランは通常3重螺旋の状態に産出される。これをDMSOやアルカリ溶液に溶解すると螺旋が解けてランダムコイル状の単鎖となる。この状態から溶媒を中性の水溶液に戻すと、疎水性相互作用と水素結合によって分子間の結合が生じ、部分的ではあるが3重螺旋の構造が再生される。実は、この再生過程を詳しく調べることが私の4年生の卒業論文のテーマであった²⁾。ランダムコイル状のシゾフィランDMSO溶液に水を加えていくと、ある組成で急に分子内での水素結合の形成が始まり、分子内架橋のため高分子鎖の拡がり減少する。さらに水を加えていくと、小さくなった高分子鎖どうしが会合を始める。図1Bは、このシゾフィランの3重螺旋の解離、再生の過程を、高分子の流体力学的な体積に対応する極限粘度で追跡した私の卒業論文のデータである²⁾。

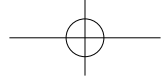
筆者が、道真が左遷された大宰府よりさらに遠い久留米に都落ちしたころ、京都大学の秋吉一成先生らは、プルランにコレステロールを修飾すると水溶性にも関わらず、疎水的な薬剤を取り込む不思議な粒子を発見していた。新海先生から「何か面白い多糖を知らないか」と聞かれたとき、私の頭の中で、鐘紡でのDDSの研究、1本鎖のシゾフィランが作る分子内架橋の粒子、秋吉先生の系が重なり、シゾフィランの粒子の中に何か薬剤が内包できるのではないかと思ったのである。DDSまでの道が見えていた訳ではない、ただ、漠然と何か面白いことが起きるのではと考えていたような気がする。それからタンパク質や疎水性の薬剤をシゾフィランの3重螺旋の再生過程に混ぜてみるが何も起こらない。あきらめかけたころ、実験室の冷蔵庫を見ると、誰かが使ってそのままになっている「Poly(C)」と書いてある試薬がある。核酸らしい。それをシゾフィランの3重螺旋の再生過程に混ぜてみると、驚いたことに、まったく異なる円偏光2色性を示す³⁾。これが多糖核酸複合体の発見のきっかけであった。最初にPoly(C)を試したのは幸運だった。1本鎖のRNAの

中でシゾフィランと結合するホモ核酸はPoly(C)以外にないのである。これがPoly(U)だったら、この発見は他の人がしていたかもしれない。しかし、中性の多糖と核酸が複合体を作ること、しかも化学量論的に主鎖のグルコース2分子と1塩基となる複合体を作ること、をなかなか信じてもらえなかった。高分子学会で発表しても、東京工業大学の岡畑先生や丸山厚先生、当時京都工芸繊維大学におられた山岡先生から随分きつい質問を頂いたものである。図2Aに示すデータはこれから10年のほどたってから得た誰もが納得する決定的な証拠、GPCの結果⁴⁾である。確かにシゾフィランを加えると核酸単独のピークは消失して、新しい複合体のピークが出現する。

21世紀が始まった平成12年の正月の初詣は、普段になく真剣に鈴を振りお札を賽銭箱に投げ込んだことを覚えている。それまであまり神頼みをするものがなかったが、鐘紡の研究所がいよいよ閉鎖されることが決まり、九州に島流しになりかつ二階に登ったまま梯子をはずされ、仕事と収入を失う危機を切実に感じていた。会社の整理のために銀行から派遣されて来た役員によって、私のことを良く知っている所長や部長も、ある人は自主退職という名の解雇、ある人は転勤と、組織の中心から遠のけられ、研究所自体が日本オルガノンに売却されて、派遣されていた私は帰るべき部署が消滅してしまった。明るい希望は、この多糖と核酸が作る奇妙な複合体であった。私はこのテーマにすがる思いで論文を書きJSTの「さきがけ」に応募をした。民間会社に勤務していて公の記録に残る実績がない無名の私が提案したテーマを採用していただいたのは領域代表の国武先生であった。

3. 遺伝子・デリバリー研究会との出会い

多糖と1本鎖の核酸が複合体を作る⁵⁾。これは確かである。しかし、何に使えるか、核酸のデリバリーに出来ないかと考えていた。2001年に、新海先生から紹介していただき、新海研出身で大阪市立大学の長崎健先生に、この複合体の応用に関して相談に行くと、「遺伝子・デリバリー研究会」なる研究会が



できて、そこで医学や薬学、工学の研究者が集まって情報交換をしているという。2001年の夏に那須であった第1回の夏季セミナーに参加した。非ウイルス性ベクターの研究がもっと盛んなところで、白熱した議論を夜遅くまでしている(アルコールが入るとよけいに白熱して・・・)。持ち時間30分の講演なのに、質問が終わらず、最後の拍手まで3時間もかかる。著者にとっては聞くことがすべて新しく、あのような刺激的な研究会には今まで参加したことがなかった。核酸医薬や DDS のことを全く知らなかった著者であるが、この研究会を通じて多くのことを学び、新しい多くの友人ができた。

当時は、ほとんどの人がプラスミド DNA をどうやって細胞に入れるかに夢中であった。しかし、2重鎖 DNA からは多糖核酸複合体が作れないし、いまさら皆がやっているプラスミドの DDS をしても勝ち目がないと考え、アンチセンス DNA の DDS を細々と試みていた。動物どころか細胞の実験にも経験がないので、セルフリーのタンパク質発現系

に DNase を入れて、多糖複合体は複合化したアンチセンス鎖を分解から守るとして、初めてのバイオの論文を書いた⁶⁾。投稿してもなかなか受理されない。細胞すら使っていないので、今から考えると当たり前である。しかも、初めてアンチセンスの概念⁷⁾が提唱されてから20年近く経過し、前評判が高い割には効果がないと、“魔法の弾丸”ではない“antisense is nonsense”と酷評されていた頃である。DDS を使わないでアンチセンス核酸だけを投与しても効果がないのは当たり前であるが・・・。

4. 抗原提示細胞への DDS へ向けて

Google Scholar の最初のページには「巨人の肩の上に立つ」と目立つフォントで書いてある。我々が立った肩は、Gordon Brown らが発見したβグルカンの新しい受容体 dectin-1 の論文^{8,9)}であった。著者らがこの論文の存在を知ったのは2003年ごろ。初めて読んだ時は足が震えた。dectin-1 は樹状細胞

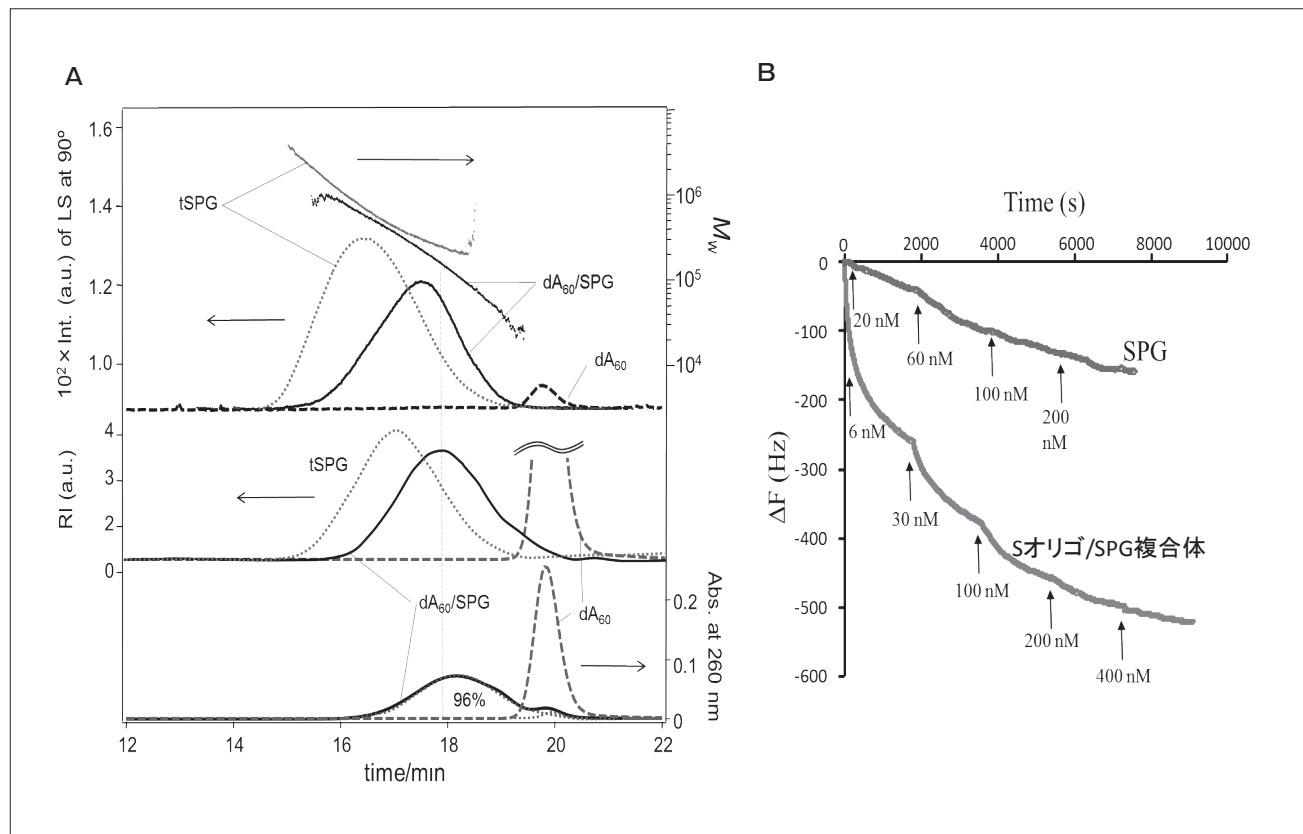
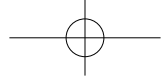


図2 多糖核酸複合体の形成を示すゲルクロマトグラムのデータと、水晶発振子天秤でのデクチン1への結合試験



やマクロファージなどの抗原提示細胞に発現している β グルカンの特異的に認識し、免疫系の制御をする新しい標的分子となると書いてある。瞬間的に思ったことは、dectin-1が β グルカンを認識するなら多糖核酸複合体も認識するだろう、もしそれが正しいなら、核酸医薬の選択的送達ができるということである。遺伝子・デリバリー研究会の仲間達が必死で探している Targeting Delivery である。しかし、アイデアを思いついてから dectin-1が複合体に結合するという仮説を完全に証明するには10年が必要であった¹⁰⁾。

図2Bに水晶発振子の上に修飾した dectin-1の糖鎖認識部位に対する応答を示す。 β グルカン以外の糖鎖や核酸にはまったく応答しないが、 β グルカンであるシゾフィランには応答している。天然の核酸との複合体は親和性を示し、結合定数はシゾフィランより小さい。ここまでは予想通りである。我々を悩ませたのは、リン酸の酸素原子をイオウに置き換えた phosphorothioate 核酸(Sオリゴ)との複合体は、シゾフィランより高い親和性を対して示すことである。dectin-1の β グルカン認識部位のペプチドを置き換えて、シゾフィランを認識しなくしたタンパク質にもSオリゴ/多糖複合体は応答する。この事実は dectin-1にはSオリゴ/多糖複合体だけを認識する部位が存在し、それは β グルカンを認識する部位とは異なることを示唆している。これはますます不思議なことである。SオリゴはDNAの分解酵素耐性を上げるために人工的に作り出された分子であり天然には存在しないはずである。そんな人工核酸とシゾフィランの複合体のみを認識する隠れた部位が天然のタンパク質 dectin-1に存在する。さらに、シゾフィランとSオリゴの複合体は天然型DNAとの複合体よりはるかに安定性が高いことも明らかになってきた。そんな頃、面白い論文を読んだ。Wangらが天然型のDNAをSオリゴに変換する生物がいると報告した論文である¹¹⁾。直後にNatureのエディターが、この発見の phosphorothioate 核酸を生物が昔から使っていたことの重要性を指摘している。Sオリゴを使っている生物がいる、それも古細菌の仲間に、dectin-1にSオリゴと多糖核酸複合体だけを認識する部位がある、Sオリゴと β グルカ

ンは極めて安定な複合体を作る。これらの事実から、Sオリゴの多糖核酸複合体が、太古の地球で生命が生まれてくる時、化学進化や生物進化の過程でなにかの役割をしていたのではないかと疑うのは、著者だけでないと思う。このことを、数回論文に書いたが、根拠のない推定として査読者や編集者から削除を命じられ、まだ活字になっていない(どうかDDS学会誌では削らないでください)。

5. CpGDNA の DDS へ

2003年ごろ、抗原提示細胞へのDDSを考えて、免疫細胞と核酸医薬で検索をするとCpGDNAがヒットした。CpGDNAのことを勉強して、DDSによってサイトカイン産生が増えると論文を書いたらJACSに受理された¹²⁾。いい気になって、2004年のJSTのシンポジウムで「CpGDNAのエンドソームターゲティング」と題して講演をした。エンドソームとしたのはそこにCpGの受容体のTLR9があるからである。私の講演が終わると、専門用語を綺麗な英語で発音し、ポニーテールをした先生から沢山の質問を頂いたが、私の理解を超えてしまったか答えることができなかった。失礼ながら、最初は東洋系のアメリカ人かと思ったのだが、これが石井健先生との出会いであった。私が石井先生の質問に答えられないのは当たり前である、石井先生はCpGDNAとTLR9の世界的な権威である。恐いもの知らずとはこのことである。石井先生はFDAでCpGDNAの研究をしておられたところを、審良静男先生が大阪大学の微生物病研究所に招聘されたと聞く。石井先生はCpGDNAのDDSを探しておられて、私の講演を聴くためにその学会に参加をされていた。この出会いがきっかけとなって、石井先生との10年以上にわたる、感染症ワクチンのアジュバントとしてCpG含有の多糖核酸複合体の共同研究が始まった。この共同研究では本当に多くのことを学ばせていただいた。化学に比べてデータのばらつきが大きくて、再現性の確認が難しい生物の実験に対する姿勢、論文でひとつの図を出すために費やす舞台裏のデータの数など。

石井先生との共同研究は10報を超える論文と

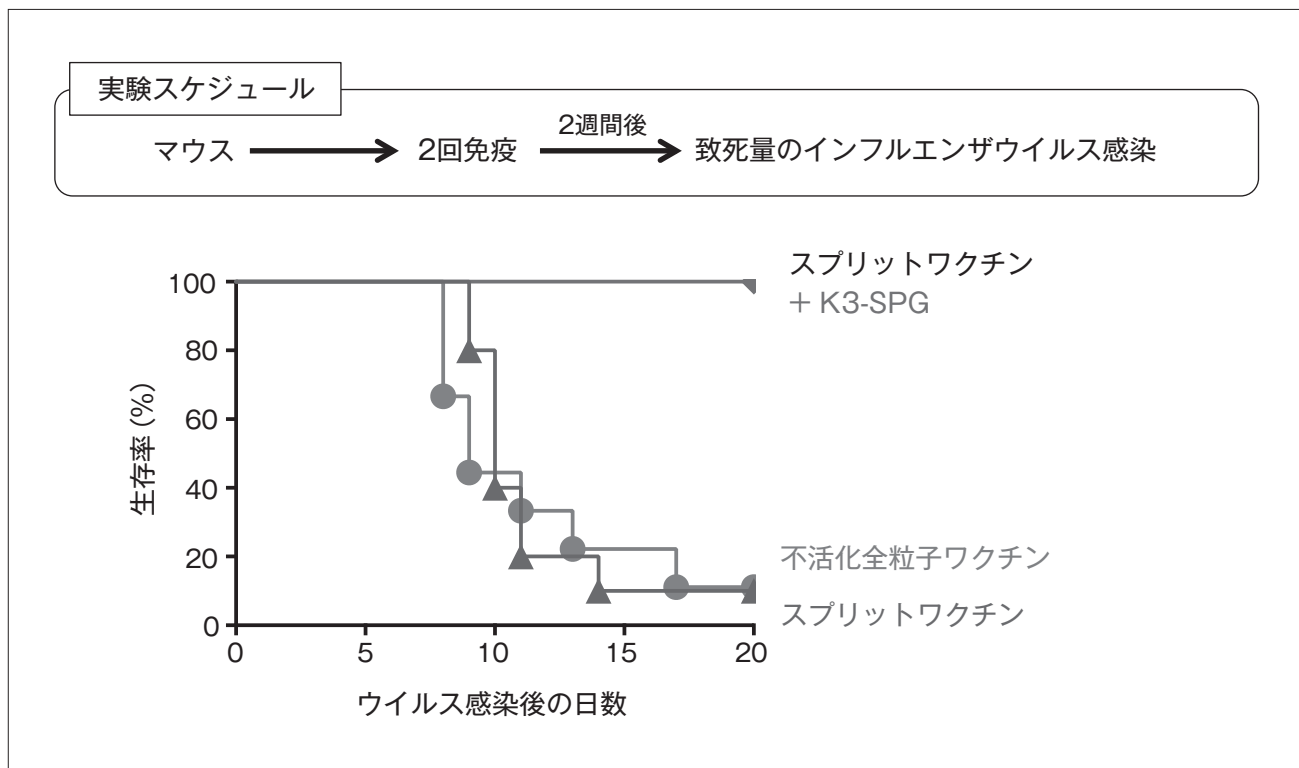
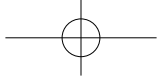


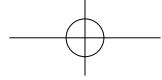
図3 マウスに対するワクチンの実験(石井健先生のスライドから)¹⁵⁾

なっているが^{13,14)}、アジュバントとしての説得力のある成果を出すにはやはり研究開始から10年が必要であった¹⁵⁾。図3に最新の結果を示す。マウスインフルエンザワクチンモデルを用いて検討したところ、季節性インフルエンザワクチンとして用いられているスプリットワクチンに CpGDNA/SPG 複合体である K3-SPG を添加するだけで、これまで効果が高いと考えられてきた全粒子ワクチンよりもインフルエンザウイルス感染に対して強い防御効果を示した。全粒子ワクチンには、ウイルス RNA 由来の CpG 配列が含まれていて、スプリットワクチンより高い効果を示すが、CpGDNA/SPG がそれよりもはるかに高い効果を示すことに驚いた。ヒトへの応用を考え、霊長類であるカニクイザルで検討したところ、インフルエンザワクチンに対する免疫応答が強力に誘導されたことから、いままで問題であったマウスと霊長類での反応性の違いを克服できたと考えられる。さらに、石井先生らは、K3-SPG の作用機序、特に体内動態を明らかとするためにイメージング技術を用いて解析をした。その結果、K3-SPG はマウスに接種後、直ちにリンパ節表面のマクロファージ

に特異的に取り込まれることが明らかとなった。これらの結果から、新規免疫核酸医薬である K3-SPG はマウスだけでなく、霊長類であるカニクイザルにおいてもアジュバントとして有用であることが示唆されるとともに、ヒト細胞を用いた結果からも、ヒトへの応用が可能であると見込まれる。

6. Napa Genomics 設立、そして NapaJen Pharma へ

2004年の夏、博多山笠の熱気に包まれた福岡で新海先生から、アメリカ帰りでベンチャー企業のネタを探していると方を紹介された。やや小柄だが、あふれんばかりの熱意を秘め、博多弁の会話の中に英語が混ざってくるその方が安藤弘法氏であった。私はどこまで説明してよいのか分からないまま、多糖核酸複合体のこと、それが DDS に使えそうなこと、まだ細胞の実験しかできていないことを話した。経済がバックグラウンドの安藤氏に、化学中心の話がどこまで伝わったか分からなかったが、安藤氏の決断は早かった。あっという間に会社を作る話に



なった。安藤氏の紹介でアステラスになる前の藤沢薬品工業で核酸医薬の開発経験があるS氏と会ったのがその年の秋だったろうか。まだ、話半分、本当に前に進むと思っていたいなかった私は、失礼にもS氏と安藤氏を実験中のSPring-8まで呼びつける形になってしまった。おそらく、これが技術面接だったのだと思う。企業で核酸医薬の開発経験があるS氏の意見をセカンドオピニオンとして、前に進むことを決断した安藤氏は、投資家を集め、株主を集めて12月には最初の株主総会を開いて、多糖核酸複合体をDDSのプラットフォーム技術とする会社、Napa Jenomicsができた。

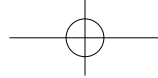
安藤氏の発想はユニークであった。バイオテクノロジーの先進国はアメリカであり、英語圏の市場は日本の30倍以上ある。日本発の純国産技術を実用化して日本でビジネスをするためには、アメリカで技術を磨く必要がある。ちょうど、電気製品が目肥えた日本市場で技術を磨いて外に打って出たように、バイオの世界では先進的なアメリカ市場で技術を磨いて逆輸入をする。これが、Napa Jenomicsのビジネスモデルである。そのため、アメリカのサンフランシスコ空港近くの533 Airport Blvd., #527, Burlingameに本社を置いている。また、技術屋だけに経営をさせない。良い技術であれば自然に売れるという過信は間違っている。技術を製品にするためには、財務・経理のプロと特許のプロが必要との考えから、化学者2人、分子生物学者4人、医学者2人を始めとして、ベンチャー企業経営の経験者、財

務・経理のプロ、バイオ部材メーカーの経営者、バイオ試薬マーケティングのプロ、弁理士、弁護士、米国会計士、欧州現地法人経営経験者などの非常にヘテロなチームが結成された。の中には、大手製薬会社で創薬探索研究から厚生労働省への申請に携わった研究者、また同じく大手製薬会社で国内外の契約・知財系法務に専心されてこられた方もいた。すべての方が兼務であり、いつも会議は夕方6時以降である。給料も払えない小さな会社なのに、こんな多彩な人を集めてこられたと、安藤氏の人脈の深さに驚いたものである。Napa Jenomicsの社員の第1号は、長崎健先生のところで研究員をしていたバイオの実験が上手な宇野氏に来てもらった。以来、宇野氏はNapa Jenomicsの実験室の中心的存在である。

最初は関節炎のアンチセンス、腸炎のアンチセンスやsiRNAの実験を北海道大学の一部で行っていた。先に述べたS氏がこの黎明期の開発を指導された。とにかく、できたばかりの会社でお金がない。限られた予算と貧弱な設備の中から得た実験データ、それから真実を読み取るS氏の鋭い観察力・分析力には感銘を受けた。その後の詳細はNapa Jenomicsの機密にかかわるので記載することができないが、NEDOやJST、北九州市からの公的資金の援助を受けながら、2008年に三井物産の子会社の三井ベンチャーキャピタルから資本が入り、2014年には産業革新機構から大型の資本が入って、現在では社員が10人を超える会社となっている。



図4 Napa Jenomicsの本社があるビルと米国コンサルタントとの会議



7. おわりに

多糖核酸複合体がまだ実用化されていない段階で、このような歴史を振り返る原稿を書くのはおこがましいと感じたが、西山伸宏先生からのご依頼で書くことにした。DDS学会の創立30周年の記念号には、温故知新とあった。同じ4文字で多糖核酸複合体の15年になる過去を振り返ると、一期一会だ

ろう。人との出会い、研究テーマとの出会い、その出会いを大切にしてきたことがここまで繋がっていると感じている。本文では触れることがなかったが、丸山厚先生の研究室で学位を取ってから、私と7年間研究をしてきてくれた望月慎一博士(現北九大准教授)には感謝をしている。著者に不足している生物の実験と知識を補ってくれた。

文献

- 1) Matsumoto, J., Nakada, Y., Sakurai, K., Nakamura, T. & Takahashi, Y. (1999) Preparation of nanoparticles consisted of poly (L-lactide)-poly (ethylene glycol)-poly (L-lactide) and their evaluation in vitro, International journal of pharmaceuticals. 185, 93-101.
- 2) Sato, S., Sakurai, K., Norisuye, T. & Fujita, H. (1983) Collapse of Randomly Coiled Schizophyllan in Mixture of Water and Dimethylsulfoxide, Polym J. 15, 87-92.
- 3) Sakurai, K. & Shinkai, S. (2000) Molecular Recognition of Adenine, Cytosine, and Uracil in a Single-Stranded RNA by a Natural Polysaccharide: Schizophyllan, J Am Chem Soc. 122, 4520-4521.
- 4) Sanada, Y., Matsuzaki, T., Mochizuki, S., Okobira, T., Uezu, K. & Sakurai, K. (2012) beta-1,3-D-glucan schizophyllan/poly (dA) triple-helical complex in dilute solution, J Phys Chem B. 116, 87-94.
- 5) Sakurai, K., Mizu, M. & Shinkai, S. (2001) Polysaccharide-polynucleotide complexes. 2. Complementary polynucleotide mimic behavior of the natural polysaccharide schizophyllan in the macromolecular complex with single-stranded RNA and DNA, Biomacromolecules. 2, 641-650.
- 6) Mizu, M., Koumoto, K., Anada, T., Karinaga, R., Kimura, T., Nagasaki, T., Shinkai, S. & Sakurai, K. (2004) Enhancement of the Antisense Effect of Polysaccharide-Polynucleotide Complexes by Preventing the Antisense Oligonucleotide from Binding to Proteins in the Culture Medium, Bulletin of the Chemical Society of Japan. 77, 1101-1110.
- 7) Zamecnik, P. C. & Stephenson, M. L. (1978) Inhibition of Rous sarcoma virus replication and cell transformation by a specific oligodeoxynucleotide, Proceedings of the National Academy of Sciences. 75, 280-284.
- 8) Brown, G. D. & Gordon, S. (2001) Immune recognition. A new receptor for beta-glucans, Nature. 413, 36-7.
- 9) Brown, G. D., Taylor, P. R., Reid, D. M., Willment, J. A., Williams, D. L., Martinez-Pomares, L., Wong, S. Y. & Gordon, S. (2002) Dectin-1 is a major beta-glucan receptor on macrophages, J Exp Med. 196, 407-12.
- 10) Mochizuki, S., Morishita, H., Adachi, Y., Yamaguchi, Y. & Sakurai, K. (2014) Binding Assay between Murine Dectin-1 and β -glucan/DNA Complex with Quartz-Crystal Microbalance, Carbohydrate Research.
- 11) Wang, L., Chen, S., Xu, T., Taghizadeh, K., Wishnok, J. S., Zhou, X., You, D., Deng, Z. & Dedon, P. C. (2007) Phosphorothioation of DNA in bacteria by dnd genes, Nat Chem Biol. 3, 709-10.
- 12) Mizu, M., Koumoto, K., Anada, T., Matsumoto, T., Numata, M., Shinkai, S., Nagasaki, T. & Sakurai, K. (2004) A polysaccharide carrier for immunostimulatory CpG DNAs to enhance cytokine secretion, J Am Chem Soc. 126, 8372-3.
- 13) Shimada, N., Ishii, K. J., Takeda, Y., Coban, C., Torii, Y., Shinkai, S., Akira, S. & Sakurai, K. (2006) Synthesis and in Vitro Characterization of Antigen-Conjugated Polysaccharide as a CpG DNA Carrier, Bioconjug Chem. 17, 1136-1140.
- 14) Takeda, Y., Shimada, N., Kaneko, K., Shinkai, S. & Sakurai, K. (2007) Ternary Complex Consisting of DNA, Polycation, and a Natural Polysaccharide of Schizophyllan to Induce Cellular Uptake by Antigen Presenting Cells, Biomacromolecules. 8, 1178-1186.
- 15) Kobiyama, K., Aoshi, T., Narita, H., Kuroda, E., Hayashi, M., Tetsutani, K., Koyama, S., Mochizuki, S., Sakurai, K. & Katakai, Y. (2014) Nonagonistic Dectin-1 ligand transforms CpG into a multitask nanoparticulate TLR9 agonist, Proceedings of the National Academy of Sciences. 111, 3086-3091.