

## 加藤 晃一（教授）（2008年4月1日着任）

矢木 真穂（准教授（兼任））

谷中 冴子（准教授（兼任））

神田 智哉（助教）

西 栄美子（研究員）

小櫃 冴未（研究員）

MOUTAKANNI, Alix（インターンシップ）

関口 太一郎（大学院生）

斉藤 泰輝（特別共同利用研究員）

梅澤 美美子（特別共同利用研究員）

西村 誠司（特別共同利用研究員）

沈 佳娜（特別共同利用研究員）

山本 葉（特別共同利用研究員）

磯野 裕貴子（特任専門員）

平峰 里菜（技術支援員）

福富 幸恵（事務支援員）

A-1) 専門領域：構造生物学，タンパク質科学，糖鎖生物学，NMR 分光学

A-2) 研究課題：

- a) 生命分子ネットワークが創発する高次機能のメカニズム探査と設計と制御
- b) 生命体を構成する多様な分子素子がダイナミックに秩序形成する仕組みの探究
- c) 極限環境において生命活動を司る分子集団の構造・動態・機能の解析

A-3) 研究活動の概略と主な成果

- a) タンパク質の糖鎖修飾機構に関する研究において重要な進展を遂げた。第一に、タンパク質分子の中に組み込まれた糖鎖修飾の制御コードを発見した。自然界に存在する多くのタンパク質は、タンパク質（ポリペプチド鎖）と糖鎖からなる糖タンパク質として存在している。タンパク質の構造は遺伝子の情報を設計図として決定されるが、糖鎖の情報はゲノムが直接コードしているわけではない。我々は、LAMP-1 のポリペプチド鎖の中に、ルイス X と呼ばれる特定の糖鎖の修飾を促進する 29 アミノ酸残基からなる配列を発見した。さらに、この配列をバイオ医薬品として用いられるエリスロポエチンなどの他の糖タンパク質の一端に連結させることで、それらにもルイス X 修飾をもたらすことを明らかにした。本研究の成果を活用すれば、バイオ医薬品の糖鎖構造を合理的に制御する知見につながり、次世代バイオ医薬品の開発に資することが期待される。一方、タンパク質の糖鎖修飾は、疾患発症にも関わっている。我々は以前、マトリグリカンのコア部分にグリセロールリン酸（GroP）が結合し、その伸長を阻害するという新しい翻訳後修飾を発見した。今回、この GroP 修飾は、ヒトの CDP-Gro 合成酵素である PCYT2 によって担われており、様々ながん組織において発現すること、さらには、大腸がんの悪性度が高まるにつれて、亢進していることを見出した。GroP 修飾が亢進することで、がん細胞の遊走能が高まるなど、GroP 修飾ががんの悪性化に関わることも明らかとなった。こうした成果は、GroP 修飾を対象としたがんの治療法の開発に資するものと期待できる。さらに、リツキシマブなどの治療抗体の機能に血清タンパク質が与える影響について調査し、ヒト血清アルブミン（HSA）と血清 IgG

の Fab 領域が、リツキシマブと Fc $\gamma$  受容体 III との相互作用を介した抗体依存性細胞傷害作用を非競合的に阻害することを明らかとした。また、NMR データにより、HSA がリツキシマブの Fab および Fc 領域、および Fc $\gamma$ RIII の細胞外領域と相互作用することを示した。本研究の結果は、治療抗体の設計や適用において血清タンパク質との相互作用を考慮することが重要であることを示唆している。

- b) 本グループが擁する構造生物学的手法を基軸に、分子研内外の共同研究ネットワークを強化発展し、生命分子の動秩序創発の仕組みを探究した。具体的には、アルツハイマー病の発症に関わるアミロイド  $\beta$  (A $\beta$ ) タンパク質について、オリゴマー化の初期過程である二量体化過程を調べた。分子動力学 (MD) シミュレーションと *in vitro* アッセイの結果、A $\beta$ 42 の二量体形成には Arg5 側鎖とカルボキシル末端の分子内静電相互作用が重要であることが明らかとなった (奥村久士博士との共同研究)。A $\beta$  は神経細胞膜に豊富に存在する糖脂質である GM1 ガングリオシドと強固に結合し、アミロイド線維形成を促進することが知られている。固体 NMR 法と MD シミュレーションを用いて、GM1-A $\beta$  複合体の 3 次元構造解析を実施した結果、二層の逆平行  $\beta$  構造を特徴とする新規な集合体構造であることを明らかにした。さらに、この A $\beta$  集合体自身は GM1 膜上においてアミロイド線維へと変換することはなく、 $\beta$  シートからなる疎水性表面を触媒場として GM1 糖鎖上に提示することにより、モノマー状態の A $\beta$  のアミロイド線維形成を促進することが明らかとなった (西村勝之博士および奥村久士博士との共同研究)。一方、タンパク質のフォールディング過程に関しても NMR 法を用いた解析を展開した。水素/重水素交換 NMR 法により、6M 塩酸ゲアニジンにより変性したタンパク質に残存する構造情報を捉えるとともに (東京大学 桑島邦博博士との共同研究)、球状の自己組織化錯体の内腔にタンパク質を捕捉することにより、タンパク質のフォールディング・リフォールディング過程におけるヒステリシスの挙動を捉えることができた (東京大学/分子研 藤田 誠博士との共同研究)。
- c) 極限環境において生命活動を司る分子集団の構造・動態・機能の解析を通じて生命の環境適応の仕組みを理解するとともに、得られた知見に基づいた生物工学的な応用研究を展開することを目指している。2022 年度は、トランスクリプトーム解析により、ヨコヅナクマムシにおいて紫外線ストレスへの曝露後に急速に誘導された遺伝子ファミリーを同定した。さらに、同定されたタンパク質の X 線結晶構造解析および生化学実験を実施した結果、本タンパク質が新規のマンガン依存性ペルオキシダーゼであることが判明した。また、これらのタンパク質が主にゴルジ体に存在していることから、乾燥耐性時の酸化ストレスに対処する新しいメカニズムとして、ゴルジ体におけるストレス応答が不可欠であることが示唆された。こうした発見は、水のない過酷な環境に対する生命体の適応戦略の理解につながると考えられる。

#### B-1) 学術論文

**H. YAGI, E. AMAGASA, M. SHIOTA, I. YAMADA, K. F. AOKI-KINOSHITA and K. KATO**, “GALAXY Ver3: Updated Web Application for Glycosylation Profiling Based on 3D HPLC Map,” *Glycobiology* **32(8)**, 646–650 (2022). DOI: 10.1093/glycob/cwac025

**F. UMEZAWA, M. NATSUME, S. FUKUSADA, K. NAKAJIMA, F. YAMASAKI, H. KAWASHIMA, C. W. KUO, K. H. KHOO, T. SHIMURA, H. YAGI and K. KATO**, “Cancer Malignancy Is Correlated with Upregulation of PCYT2-Mediated Glycerol Phosphate Modification of  $\alpha$ -Dystroglycan,” *Int. J. Mol. Sci.* **23(12)**, 6662 (2022). DOI: 10.3390/ijms23126662

**T. SAITO, H. YAGI, C. W. KUO, K. H. KHOO and K. KATO**, “An Embeddable Molecular Code for Lewis X Modification through Interaction with Fucosyltransferase 9,” *Commun. Biol.* **5(1)**, 676 (2022). DOI: 10.1038/s42003-022-03616-1

- S. YANAKA, R. YOGO, H. YAGI, M. ONITSUKA, N. WAKAIZUMI, Y. YAMAGUCHI, S. UCHIYAMA and K. KATO**, “Negative Interference with Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity Mediated by Rituximab from Its Interactions with Human Serum Proteins,” *Front. Immunol.* **14**, 1090898 (2023). DOI: 10.3389/fimmu.2023.1090898
- T. MATSUMARU, K. SAKURATANI, S. YANAKA, K. KATO, S. YAMASAKI and Y. FUJIMOTO**, “Fungal  $\beta$ -Mannosyloxymannitol Glycolipids and Their Analogues: Synthesis and Mincle-Mediated Signaling Activity,” *Eur. J. Org. Chem.* **2022(20)**, e202200109 (2022). DOI: 10.1002/ejoc.202200109
- Y. YOSHIDA, T. SATOH, C. OTA, S. TANAKA, D. D. HORIKAWA, M. TOMITA, K. KATO and K. ARAKAWA**, “Time-Series Transcriptomic Screening of Factors Contributing to the Cross-Tolerance to UV Radiation and Anhydrobiosis in Tardigrades,” *BMC Genomics* **23(1)**, 405 (2022). DOI: 10.1186/s12864-022-08642-1
- K. KONDO, Y. HARADA, M. NAKANO, T. SUZUKI, T. FUKUSHIGE, K. HANZAWA, H. YAGI, K. TAKAGI, K. MIZUNO, Y. MIYAMOTO, N. TANIGUCHI, K. KATO, T. KANEKURA, N. DOHMAE, K. MACHIDA, I. MARUYAMA and H. INOUE**, “Identification of Distinct N-Glycosylation Patterns on Extracellular Vesicles from Small-Cell and Non-Small-Cell Lung Cancer Cells,” *J. Biol. Chem.* **298(6)**, 101950 (2022). DOI: 10.1016/j.jbc.2022.101950
- R. HASHIMOTO, M. MINOSHIMA, S. SAKATA, F. ONO, H. ISHII, Y. WATAKABE, T. NEMOTO, S. YANAKA, K. KATO and K. KIKUCHI**, “Efficient Visible/NIR Light-Driven Uncaging of Hydroxylated Thiazole Orange-Based Caged Compounds in Aqueous Media,” *Chem. Sci.* **13(25)**, 7462–7467 (2022). DOI: 10.1039/D2SC02364D
- S. G. ITOH, M. YAGI-UTSUMI, K. KATO and H. OKUMURA**, “Key Residue for Aggregation of Amyloid- $\beta$  Peptides,” *ACS Chem. Neurosci.* **13(22)**, 3139–3151 (2022). DOI: 10.1021/acscchemneuro.2c00358
- S. YANAKA, M. YAGI-UTSUMI, K. KATO and K. KUWAJIMA**, “The B Domain of Protein A Retains Residual Structures in 6 M Guanidinium Chloride as Revealed by Hydrogen/Deuterium-Exchange NMR Spectroscopy,” *Protein Sci.* **32(3)**, e4569 (2023). DOI: 10.1002/pro.4569
- M. HIRANYAKORN, M. YAGI-UTSUMI, S. YANAKA, N. OHTSUKA, N. MOMIYAMA, T. SATOH and K. KATO**, “Mutational and Environmental Effects on the Dynamic Conformational Distributions of Lys48-Linked Ubiquitin Chains,” *Int. J. Mol. Sci.* **24**, 6075 (2023). DOI: 10.3390/ijms24076075
- T. NAKAMA, A. ROSSEN, R. EBHARA, M. YAGI-UTSUMI, D. FUJITA, K. KATO, S. SATO and M. FUJITA**, “Hysteresis Behavior in the Unfolding/Refolding Processes of a Protein Trapped in Metallo-Cages,” *Chem. Sci.* **14**, 2910–2914 (2023). DOI: 10.1039/D2SC05879K

B-3) 総説, 著書

- K. KUWAJIMA, M. YAGI-UTSUMI, S. YANAKA and K. KATO**, “DMSO-Quenched H/D-Exchange 2D NMR Spectroscopy and Its Applications in Protein Science,” *Molecules* **27(12)**, 3748 (2022). DOI: 10.3390/molecules27123748
- M. YAGI-UTSUMI and K. KATO**, “Conformational Variability of Amyloid- $\beta$  and the Morphological Diversity of Its Aggregates,” *Molecules* **27(15)**, 4787 (2022). DOI: 10.3390/molecules27154787
- 矢木真穂, 加藤晃一, 「クマムシの乾燥耐性の仕組み～水分消失に伴うタンパク質の繊維化～」, *生物物理*, **62(4)**, 232–234 (2022). DOI: 10.2142/biophys.62.232
- 加藤晃一, 谷中冴子, 「抗体のエフェクター活性と定常部を介した抗体の高機能化」, *実験医学*, **40(20)**, 3253–3258 (2022).

矢木真穂, 加藤晃一, 「“地上最強生物”クマムシの乾眠の分子機構の解明に挑む」, *生化学*, **94(6)**, 888–891 (2022). DOI: 10.14952/SEIKAGAKU.2022.940888

柚木康弘, 松本 淳, 守島 健, Anne Martel Lionel Porcar, 佐藤信浩, 與語理那, 富永大輝, 矢木真穂, 井上倫太郎, 河野秀俊, 矢木宏和, 加藤晃一, 杉山正明, 「時計タンパク質複合体の構造解析を通して明らかとなった中性子小角散乱の強み」, *日本中性子科学会誌「波紋」*, **40**, 3253–3258 (2023).

**Y. YAMAGUCHI, T. YAMAGUCHI and K. KATO**, “Structural Analysis of Oligosaccharides and Glycoconjugates Using NMR,” *Adv. Neurobiology* **29**, 163–184 (2022). DOI: 10.1007/978-3-031-12390-0\_6

#### B-4) 招待講演

加藤晃一, 「生命創成探究センター (ExCELLS)」, NMR プラットフォーム シンポジウム 2022, 東京, 2022年11月.

加藤晃一, 「生命分子動秩序創発研究と極限環境生命分子研究の2022年の進展」, 第5回ExCELLS シンポジウム, 岡崎, 2022年12月.

**K. KATO**, 「From Antibody NMR to Integrative Glycoscience」, 20<sup>th</sup> IPR Retreat, 大阪, 2022年12月.

加藤晃一, 谷中冴子, 「抗体の高次構造と相互作用のダイナミクス」, 第1回日本抗体学会設立記念学術大会, 鹿児島, 2022年11月.

加藤晃一, 「生命分子動秩序創発研究と極限環境生命分子研究の最近の進展」, ExCELLS ファカルティデベロップメント, 岡崎, 2023年2月.

矢木真穂, 「アミロイドβの構造変化とアッセムブリー」, 日本生物物理学会次世代NMRワーキンググループ金曜Spin-off会, 2022年7月.

矢木真穂, 「微小重力環境下におけるアミロイド線維形成」, 日本マイクロ重力応用学会第34回学術講演会 (JASMAC-34), 2022年9月.

**S. YANAKA and K. KATO**, “Integrative approach for the observation of conformational dynamics and interactions of antibodies,” The 7<sup>th</sup> International Symposium on Drug Discovery and Design by NMR, Yokohama, October 2022.

**S. YANAKA, R. YOGO, H. YAGI and K. KATO**, “Multifaceted observation of conformational dynamics and interactions of antibodies,” ABA APPA & TBS Join Congress, Tainan (Taiwan), June 2022.

**K. KATO**, “Subsequent developments of the project on dynamical ordering of biomolecular systems for creation of integrated functions,” iNANO-IMS-ExCELLS Interdisciplinary Nanoscience Joint Meeting, Okazaki, December 2022.

**S. YANAKA, M. YAGI-UTSUMI, K. KATO and K. KUWAJIMA**, “The B domain of Protein A Retains Residual Structures in 6 M Guanidium Chloride as Revealed by Hydrogen/Deuterium-Exchange NMR Spectroscopy,” Joint Meeting of the 20<sup>th</sup> KIAS Conference on Protein Structure and Function and The 7<sup>th</sup> Korean-Polish Conference on “Protein Folding: Theoretical and Experimental Approaches,” Seoul (Korea), September 2022.

**K. KATO**, “Recent research activities in the Kato Groups,” Symposium on Frontier Research for Disease-related Proteins and 2023 Korea-Japan Joint Meeting for Molecular Sciences, Seoul (Korea), January 2023.

**M. YAGI-UTSUMI and K. KATO**, “The double-layered structure of amyloid-β assemblage on GM1-containing membranes,” Symposium on Frontier Research for Disease-related Proteins and 2023 Korea-Japan Joint Meeting for Molecular Sciences, Seoul (Korea), January 2023.

S. YANAKA, R. YOGO, H. YAGI and K. KATO, “Exploring the Structural Dynamics and Interactions of Antibodies: A Multidisciplinary Approach,” Symposium on Frontier Research for Disease-related Proteins and 2023 Korea-Japan Joint Meeting for Molecular Sciences, Seoul (Korea), January 2023.

#### B-7) 学会および社会的活動

##### 学協会役員等

日本バイオイメージング学会評議員 (1995–), 理事 (2012–), 副会長 (2021–).

日本生化学学会評議員 (2002–).

日本糖質学会評議員 (2003–), 理事 (2013–).

日本核磁気共鳴学会幹事 (2020–), 評議員 (2022–).

日本蛋白質科学会理事 (2015–).

日本糖鎖科学コンソーシアム幹事 (2012–), 常任幹事 (2016–).

日本生物物理学会代議員 (2021–2023). (谷中冴子)

日本蛋白質科学会 アーカイブ編集委員 (2017–). (矢木真穂)

日本生物物理学会代議員 (2023–2025). (矢木真穂)

##### 学会の組織委員等

ISMAR-APNMR-NMRSJ-SEST2021 合同会議実行委員会委員, 募金委員会委員長 (2019–).

Universal Scientific Education and Research Network (USERN), Advisory board member (2021–).

##### 文部科学省, 学術振興会, 大学共同利用機関等の委員等

大阪大学蛋白質研究所専門委員会委員 (2014–).

大阪大学蛋白質研究所「共同利用・共同研究」委員会超高磁場 NMR 共同利用・共同研究専門部会委員 (2012–2024).

日本学術会議連携会員 (2017–2023).

日本学術振興会先端科学 (FoS) シンポジウム事業委員会委員 (2018–2024).

##### 学会誌編集委員

*Open Glycoscience*, Editorial board member (2008–).

*Glycoconjugate Journal*, Editorial board member (2009–).

*World Journal of Biological Chemistry*, Editorial board member (2010–).

*Glycobiology*, Editorial board member (2011–).

*Scientific Reports*, Editorial board member (2015–).

*International Journal of Molecular Sciences*, Editorial board member (2017–).

##### 理科教育活動

理科年表物理／化学部監修者 (2022).

#### B-8) 大学等での講義, 客員

名古屋市立大学薬学部, 大学院薬学研究科, 特任教授, 2008年4月–.

名古屋市立大学薬学部, 講義「構造生物学」「薬学物理化学Ⅱ」「生命薬科学研究入門」「一般教養科目 創薬と生命」「創薬科学・知的財産活用論」「物理系実習Ⅱ」, 2015年–.

名古屋市立大学大学院薬学研究科, 講義「創薬生命科学基礎Ⅱ」「生命分子構造学特論」, 2015年-.

京都大学複合原子力科学研究所, ユニット研究員, 2022年4月-2025年3月.

大阪大学蛋白質研究所, 招へい教授, 2022年4月-2023年3月.

Kasetsart University, Collaborating Professor, 2021年9月-2022年8月.

#### B-10) 競争的資金

科研費基盤研究(A), 「先端計測アプローチの統合による抗体の構造動態と機能発現の連関機構の解明」, 加藤晃一 (2019年度-2022年度).

科学技術振興機構CREST研究, 「ゴルジ体の動態解明に基づく糖鎖修飾の制御」, 加藤晃一 (2021年度-2025年度).

日本学術振興会学術国際交流事業二国間交流事業, 「スクレオソームダイナミクスに関わるATPaseの動的構造解析」, 加藤晃一 (2021年度-2022年度).

科研費基盤研究(B), 「抗体医薬の高機能化に向けた抗体の分子経路の解読と改変」, 谷中冴子 (2022年度-2025年度).  
AMED次世代治療・診断実現のための創薬基盤技術開発事業, 「国際競争力のある次世代抗体医薬品製造技術開発／革新的な次世代抗体医薬品製造基盤技術の開発(分子中に秘められた新規相互作用部位の探索と改変を通じた次世代抗体創成の基盤構築)」(代表: 谷中冴子), 加藤晃一(研究分担者) (2021年度-2025年度).

科研費基盤研究(C), 「スピン脱塩カラムと二次元NMRによる変性蛋白質残存構造の解析」(代表: 桑島邦博), 加藤晃一(研究分担者) (2020年度-2023年度).

AMED次世代治療・診断実現のための創薬基盤技術開発事業, 「国際競争力のある次世代抗体医薬品製造技術開発／次世代抗体医薬品の実用化に向けた物性・品質評価及び管理手法に関する技術的研究(次世代抗体医薬品の実用化に向けた品質評価及び管理手法に関する技術的研究)」(代表: 石井明子), 加藤晃一(研究分担者) (2021年度-2025年度).

科研費特別推進研究, 「空間捕捉によるタンパク質の構造・機能制御および高効率構造解析」(代表: 藤田 誠), 矢木真穂(研究分担者) (2019年度-2023年度).

#### C) 研究活動の課題と展望

これまでの成果をさらに発展させて, 複雑な生命分子システムを舞台とする分子科学を開拓する。すなわち, 生命分子システムの中における各構成要素のダイナミックな振る舞いを「みる」アプローチ法を発展させるとともに, 得られたデータを情報科学的に「よむ」ためのアプローチ法を開拓する。さらに, 階層横断的な機能解析を実施し, 外部環境の変動の中で秩序創発していくロバストな生命の本質を統合的に理解することを目指す。生命体を構成する多様な分子素子がダイナミックに秩序創発する仕組みを理解するためには, 生命分子を取り巻く不均一かつ複雑な環境因子の影響を考慮することが必要である。微小重力環境下において形成したアミロイド線維の構造解析を継続するとともに, 極限環境において生命活動を司る分子集団の構造・動態・機能の解析を通じて生命の環境適応の機構を理解することを目指した研究を展開する。さらに, 第3の生命鎖とよばれる糖鎖の構造・機能・形成に関する統合的な研究を推進する。