

先導分子科学研究部門（客員研究部門）（分子スケールナノサイエンスセンター）

加 藤 晃 一（客員教授）（2004 年 10 月 16 日着任）＊）

A-1) 専門領域：NMR 構造生物学、糖鎖構造生物学

A-2) 研究課題：

- a) 生体を構成する主要な高分子である複合糖質およびタンパク質の精密立体構造解析
- b) NMR を利用した生体高分子の相互作用と内部運動の解析
- c) 超高磁場固体 NMR 法の生体高分子の高次構造解析への応用

A-3) 研究活動の概略と主な成果

- a) 免疫グロブリン G (IgG) は高等動物の生体防御系において中心的な役割を演じている多機能糖タンパク質である。IgG の発現するエフェクター機能は Fc 領域に存在する糖鎖の構造に依存しており、殊に糖鎖の還元末端付近に位置するフコース残基が欠落している IgG 分子は標的細胞を殺傷する ADCC 活性が 100 倍程度向上していることが最近明らかとされている。我々は、X線結晶構造解析法と超高磁場 NMR 分光法を利用して、フコース残基の欠失に伴うヒト IgG の Fc 領域の高次構造を比較解析した。その結果、フコース残基の除去に伴う Fc 領域の構造変化は当該残基の周辺に限局されているが、その周囲の水分子の配置とアミノ酸残基の運動性には有意な変化が生じていることが明らかとなった。また、酸味を甘味と感じさせる植物タンパク質クルクリンについて結晶構造解析と NMR 解析を行い、部位特異的変異実験の結果と併せて本タンパク質の味覚修飾活性の分子機構に関するモデルを提起した。
- b) 細胞内におけるタンパク質分解の中核を担うユビキチンリガーゼの作動メカニズムの構造基盤を明らかにするために NMR を利用した分子の相互作用解析を行なった。SCF 複合体と総称される一群のユビキチンリガーゼは、Cullin サブユニットに Nedd8 とよばれるユビキチン様タンパク質がイソペプチド結合を介して連結することを契機として活性化される。我々は、NMR 解析と部位特異的変異実験の結果に基づいて、Cullin 上で空間的に近接して存在する Nedd8 と Rbx1 が協働して、ユビキチンを担う酵素（E2）を選択的にリクルートすることが SCF 複合体の活性発現の本質であることを示した。また、細胞質において糖タンパク質を認識するユビキチンリガーゼ SCF^{Fbs1} のレクチンドメインについて、安定同位体標識を施した糖ペプチドとの相互作用様式を明らかにした。これにより、本酵素は標的糖タンパク質の糖鎖とポリペプチド鎖との連結部と相互作用することを通じてそのフォールディング状態を認識し、さらにユビキチン鎖の形成に際して標的を脱糖鎖酵素より保護しているというモデルを提唱するに至った。
- c) 超高磁場における固体 NMR 計測は四極子核の観測においてメリットをもたらすことが期待される。¹⁷O を部位特異的に濃縮した単糖を用いて糖鎖の固体 NMR 構造解析における 920MHz NMR 装置の有用性を検討した。

B-1) 学術論文

E. SAKATA, Y. YAMAGUCHI, Y. MIYAUCHI, K. IWAI, T. CHIBA, Y. SAEKI, N. MATSUDA, K. TANAKA and K. KATO, “Direct Interactions between NEDD8 and Ubiquitin E2 Conjugating Enzymes Upregulate Cullin-Based E3 Ligase Activity,” *Nature Struct. Mol. Biol.* **14**, 167–168 (2007).

- S. MATSUMIYA, Y. YAMAGUCHI, J. SAITO, M. NAGANO, H. SASAKAWA, S. OTAKI, M. SATOH, K. SHITARA and K. KATO, "Structural Comparison of Fucosylated and Non-Fucosylated Fc Fragments of Human Immunoglobulin G1," *J. Mol. Biol.* **368**, 767–779 (2007).
- Y. YAMAGUCHI, T. HIRAO, E. SAKATA, Y. KAMIYA, E. KURIMOTO, Y. YOSHIDA, T. SUZUKI, K. TANAKA and K. KATO, "Fbs1 Protects the Malfolded Glycoproteins from the Attack of Peptide:N-Glycanase," *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **362**, 712–716 (2007).
- H. SASAKAWA, E. SAKATA, Y. YAMAGUCHI, M. MASUDA, T. MORI, E. KURIMOTO, T. IGUCHI, S. HISANAGA, T. IWATSUBO, M. HASEGAWA and K. KATO, "Ultra-High Field NMR Studies of Antibody Binding and Site-Specific Phosphorylation of α -Synuclein," *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **363**, 795–799 (2007).
- E. KURIMOTO, M. SUZUKI, E. AMEMIYA, Y. YAMAGUCHI, S. NIRASAWA, N. SHIMBA, N. XU, T. KASHIWAGI, M. KAWAI, E. SUZUKI and K. KATO, "Curculin Exhibits Sweet-Tasting and Taste-Modifying Activities through Its Distinct Molecular Surfaces," *J. Biol. Chem.* **282**, 33252–33256 (2007).

B-3) 総説、著書

- 山口芳樹、加藤晃一、「NMRによる糖鎖—タンパク質相互作用の解析」, *実験医学*, **25**, 1137–1144 (2007).
- 加藤晃一、栗本英治、「ストップフロー法」, *生物物理学ハンドブック*, 石渡信一、桂 勲、桐野豊、美宅成樹編, 朝倉書店, pp.552–555 (2007).
- 加藤晃一、山口芳樹、「NMRによる抗体の高次構造解析」, *抗体医薬の最前線*, 植田充美監修, シーエムシー出版, pp.116–126 (2007).
- N. TAKAHASHI, H. YAGI and K. KATO, "The two-/three-dimensional HPLC mapping method for the identification of N-glycan structures," in *Comprehensive Glycoscience*, J. P. Kamerling, Ed., Elsevier; Oxford, **vol.2**, pp.283–301 (2007).
- Y. YAMAGUCHI, N. TAKAHASHI and K. KATO, "Molecular interactions: Antibody structures," in *Comprehensive Glycoscience*, J. P. Kamerling, Ed., Elsevier; Oxford, **vol.3**, pp.745–763 (2007).
- K. KATO and Y. KAMIYA, "Structural views of glycoprotein-fate determination in cells," *Glycobiology*, **17**, 1031–1044 (2007).

B-4) 招待講演

- K. KATO, Y. YAMAGUCHI, Y. KAMIYA, M. UTSUMI, H. SASAKAWA and N. TAKAHASHI, "920 MHz ultra-high field NMR analyses of sugar-protein interactions," *Glycobiology and Sphingobiology 2007*, Tokushima (Japan), February 2007.
- K. KATO, "Stable-isotope-assisted NMR analyses of post-translational modifications," *International Workshop on Perspectives on Stable Isotope Aided NMR Methods for Protein Structural Analysis*, Osaka (Japan), March 2007.
- 加藤晃一、「糖タンパク質の細胞内運命を決定するシステムの構造的基盤」, 第27回日本糖質学会年会, 福岡, 2007年8月.
- 加藤晃一、高橋禮子、矢木宏和、内海真穂、笹川弘明、栗本英治、山口芳樹、「超高磁場NMRと糖鎖ライブラリーによるアプローチ」, 第29回生体膜と薬物の相互作用シンポジウム, 仙台, 2007年11月.
- 加藤晃一、「翻訳後に多様化するタンパク質への構造生物学的アプローチ」, CBRC2007, 東京, 2007年12月.

B-6) 受賞、表彰

加藤晃一, 日本薬学会奨励賞 (2000).

B-7) 学会および社会的活動

学協会役員、委員

日本バイオイメーjing学会 評議員 (1995-).

日本生化学学会 評議員 (2002-).

日本糖質学会 評議員 (2003-).

日本核磁気共鳴学会評議員 (2006-).

その他

株式会社グライエンス 科学技術顧問 (2004-2005).

株式会社グライエンス 取締役 (2005-).

B-8) 大学での講義、客員

お茶の水女子大学, 客員教授, 2006年 6月- .

B-10) 外部獲得資金

基盤研究(C)(2), 「NMR 情報に基づく免疫グロブリンFc レセプターの分子認識とシグナル伝達機構の解明」, 加藤晃一 (1997年-1998年).

持田記念医学薬学振興財団研究助成金, 「NMR 情報に基いた免疫グロブリンFc 領域におけるタンパク質間相互作用メカニズムの解明と制御」, 加藤晃一 (2000年).

医科学応用研究財団研究助成金, 「 尿路結石マトリクスを構成する糖タンパク質オステオポンチンの分子構造と生活習慣病の病態との相関の解析」, 加藤晃一 (2000年).

武田科学振興財団 薬学系研究奨励金, 「 構造生物学的アプローチによる免疫系複合糖質の立体構造形成と分子認識機構の解析」, 加藤晃一 (2001年).

山田科学振興財団 研究援助金, 「 糖タンパク質の立体構造形成および分子認識機構の構造生物学的解析」, 加藤晃一 (2001年).

島津科学技術振興財団研究開発助成金, 「 生体分子間相互作用および生体超分子の計測を指向したエレクトロスプレーイオン化質量分析装置の開発」, 加藤晃一 (2001年).

内藤記念科学振興財団研究助成金, 「 多機能型シャペロン・カルレティキュリンの分子認識機構の解明」, 加藤晃一 (2001年).
財団法人病態代謝研究会研究助成金, 「 神経変性疾患に関与する細胞内タンパク質品質管理システムの構造生物学的研究」, 加藤晃一 (2001年).

名古屋市立大学特別研究奨励費, 「NMR を利用したオステオポンチンの分子構造解析」, 加藤晃一 (2001年).

基盤研究(B), 「 免疫系で機能する複合糖質の立体構造形成と分子認識機構に関する構造生物学的研究」, 加藤晃一 (2001年-2002年).

(財)水谷糖質科学振興財団研究助成金, 「NMR を利用した糖タンパク質の機能発現メカニズムの解析」, 加藤晃一 (2002年).

特定領域研究「タンパク質の一生」,「タンパク質社会における糖鎖の機能解明を目指したNMR構造生物学」,加藤晃一(2003年-2004年).

特定領域研究「ゲノム情報科学」,「糖タンパク質の構造グライコミクスを展開するためのデータベース構築」,加藤晃一(2003年-2004年).

財団法人科学技術交流財団,「糖鎖科学名古屋拠点研究会」,加藤晃一(2003年-2004年).

(独)科学技術振興機構(プラザ育成研究調査),「糖鎖ライブラリーを活用したグライコミクス解析システムの開発」,加藤晃一(2004年).

経済産業省中部経済産業局(地域新生コンソーシアム研究開発事業),「糖鎖ライブラリーを活用した新規マイクロアレーの開発」,加藤晃一(2004年-2005年).

特定非営利活動法人バイオものづくり中部,「糖鎖分科会」,加藤晃一(2005年-2006年).

特定領域研究「グライコミクス」,「NMRを利用した構造グライコミクス」,加藤晃一(2005年-2006年).

萌芽研究,「味覚修飾タンパク質クルクリンの機能発現メカニズムの解明と応用」,加藤晃一(2005年-2006年).

ノバルティス研究奨励金,「NMR構造生物学によるパーキンソン病発症メカニズムの解明」,加藤晃一(2006年).

基盤研究(B),「タンパク質分解における糖鎖修飾系とユビキチン修飾系のクロストークの構造的基盤」,加藤晃一(2006年-2007年).

C) 研究活動の課題と展望

安定同位体標識を施した糖脂質の集合系を対象に超高磁場NMR解析を行い,これまでにその可能性が提唱されていたが実体が明らかでなかった糖鎖間の相互作用の存在を明らかにする。さらにタンパク質と糖脂質クラスターの相互作用系を対象に超高磁場NMR解析を行い,アルツハイマー病の発症にかかわるタンパク質会合体(アミロイド)の形成機構の構造基盤を明らかにする。一方,自己組織化する金属錯体を利用して形成した有限ナノ空間における生体高分子の挙動を,NMRを利用して探査することを通じて,生体分子のフォールディング,ダイナミクス,相互作用に関する新規概念の創出をはかる。

*) 本務は名古屋市立大学大学院薬学研究科教授