

## 加藤 晃一 (教授) (2008年4月1日着任)

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) NMR 分光法をはじめとする物理化学的手法による複合糖質およびタンパク質の構造・ダイナミクス・相互作用の解析
- b) 生化学・分子生物学的アプローチによる複合糖質およびタンパク質の機能解析
- c) ナノテクノロジーと構造生物学の融合による生命分子科学研究

A-3) 研究活動の概略と主な成果

- a) アルツハイマー病の発症に関わるアミロイド  $\beta$  ( $A\beta$ ) は、神経細胞表層に豊富に存在する糖脂質である GM1 ガングリオシドとの相互作用を契機として、アミロイド繊維とよばれる異常な会合体を形成することが知られている。 $A\beta$  の重合初期過程に関する構造情報を得るために、超高磁場 NMR 分光法を利用して、GM1 およびリゾ GM1 から形成されたミセルとアミノ酸 40 残基から  $A\beta(1-40)$  の相互作用様式を解析した。飽和移動実験の結果、 $A\beta(1-40)$  はガングリオシドクラスターにおける親水性 / 疎水性領域の境界面に横たわったかたちで、2 つの  $\alpha$  ヘリックスと C 末端部を疎水的環境に配置し、それ以外の部位を親水的環境に露出したトポロジーを形成していることが明らかとなった。一方、種々の分子シャペロンの構造生物学的研究も大きく進展した。例えば、20S プロテアソームのサブユニット集合に関与するシャペロン PAC3 の結晶構造を解明するとともに、グループ II シャペロニンとプレフォルディングの複合体中に内在されている柔構造を  $^{13}\text{C}$  NMR を利用して突きとめた。
- b) 糖タンパク質の細胞内運命 (フォールディング, 輸送, 分解) を決定する機構の分子基盤を明らかにするために、糖鎖ライブラリーを活用したフロンタルアフィニティークロマトグラフィ解析を行なった。これにより分子シャペロン, 積荷受容体, ユビキチンリガーゼなどとして機能している一連の細胞内レクチンが高マンノース型糖鎖の異なる部位を特異的に認識しており、小胞体からゴルジ体に至る過程で現れる糖鎖のプロセッシング中間体を捕捉することを通じて担体タンパク質の運命を決めていることを明らかにした。さらに、立体構造情報に基づいた部位特異変異導入実験により、積荷受容体として機能している L 型レクチンが糖鎖の脱グルコシル化や細胞内の pH 環境を感知する部位を糖鎖認識ドメインの中に配していることを示した。一方、多次元 HPLC 法の応用範囲を拡張し、様々な生体組織における N 型糖鎖の発現プロファイルを解明した。特に、モデル生物としてゲノム情報が明らかにされているカタコウレイボヤの組織別の糖鎖プロファイリングを実施し、神経複合体がキシロースを含有する N 型糖鎖を専ら発現していることを報告した。これは、後口動物におけるキシロース含有 N 型糖鎖の存在を初めて示すものである。
- c) 糖鎖は化学構造の微視的不均一性を有する一方で官能基の多様性に乏しく、加えて内部運動の自由度に富むために水溶液中で立体構造は揺らいでいる。このように複雑な糖鎖の精密構造解析を NMR を用いて行なうために、糖鎖の還元末端にランタニドプローブを導入するための化学修飾法を検討し、モデル糖鎖について成功をおさめた。

B-1) 学術論文

**Y. KAMIYA, D. KAMIYA, K. YAMAMOTO, B. NYFELER, H. -P. HAURI and K. KATO**, "Molecular Basis of Sugar Recognition by the Human L-Type Lectins ERGIC-53, VIPL and VIP36," *J. Biol. Chem.* **283**, 1857–1861 (2008).

**H. YAGI, M. NAKAGAWA, N. TAKAHASHI, S. KONDO, M. MATSUBARA and K. KATO**, "Neural Complex-Specific Expression of Xylosyl N-Glycan in *Ciona intestinalis*," *Glycobiology* **18**, 145–151 (2008).

- B. NYFELER, Y. KAMIYA, F. BOEHLEN, K. YAMAMOTO, K. KATO, P. DE MOERLOOSE, H. -P. HAURI and M. NEERMAN-ARBEZ**, “Deletion of 3 Residues from the C-Terminus of MCFD2 Affects Binding to ERGIC-53 and Causes Combined Factor V and Factor VIII Deficiency,” *Blood* **111**, 1299–1301 (2008).
- E. KURIMOTO, Y. NISHI, Y. YAMAGUCHI, T. ZAKO, R. IIZUKA, N. IDE, M. YOYODA and K. KATO**, “Dynamics of Group II Chaperonin and Prefoldin Probed by <sup>13</sup>C NMR Spectroscopy,” *Proteins: Struct., Funct., Bioinf.* **70**, 1257–1263 (2008).
- H. YASHIRODA, T. MIZUSHIMA, K. OKAMOTO, T. KAMEYAMA, H. HAYASHI, T. KISHIMOTO, S. NIWA, M. KASAHARA, E. KURIMOTO, E. SAKATA, K. TAKAGI, A. SUZUKI, Y. HIRANO, S. MURATA, K. KATO, T. YAMANE and K. TANAKA**, “Crystal Structure of a Chaperone Complex that Contributes to the Assembly of Yeast 20S Proteasomes,” *Nat. Struct. Mol. Biol.* **15**, 228–236 (2008).
- H. YAGI, N. YASUKAWA, S. -Y. YU, C. -T. GUO, N. TAKAHASHI, T. TAKAHASHI, W. BUKAWA, T. SUZUKI, K. -H. KHOO, Y. SUZUKI and K. KATO**, “The Expression of Sialylated High-Antennary *N*-Glycans in Edible Bird’s Nest,” *Carbohydr. Res.* **343**, 1373–1377 (2008).
- H. YAGI, K. YAMADA, E. OHNO, M. UTSUMI, Y. YAMAGUCHI, E. KURIMOTO, N. TAKAHASHI, S. OKA, T. KAWASAKI and K. KATO**, “Development and Application of High Performance Liquid Chromatography Map of Glucuronyl *N*-Glycans,” *Open Glycoscience* **1**, 8–18 (2008).
- S. MIYAKAWA, Y. NOMURA, T. SAKAMOTO, Y. YAMAGUCHI, K. KATO, S. YAMAZAKI and Y. NAKAMURA**, “Structural and Molecular Basis for Hyperspecificity of RNA Aptamer to Human Immunoglobulin G,” *RNA* **14**, 1154–1163 (2008).
- Y. HIRANO, T. KANEKO, K. OKAMOTO, M. BAI, H. YASHIRODA, K. FURUYAMA, K. KATO, K. TANAKA and S. MURATA**, “Dissecting  $\beta$ -Ring Assembly Pathway of the Mammalian 20S Proteasome,” *EMBO J.* **27**, 2204–2213 (2008).
- M. TAKEDA, N. SUGIMORI, T. TORIZAWA, T. TERAUCHI, A. M. ONO, H. YAGI, Y. YAMAGUCHI, K. KATO, T. IKEYA, J. G. JEE, P. GÜNTERT, D. J. ACETI, J. L. MARKLEY and M. KAINOSHO**, “Structure of the Putative 32 kDa Myrosinase-Binding Protein from *Arabidopsis* (At3g16450.1) Determined by SAIL-NMR,” *FEBS J.* **275**, 5873–5884 (2008).
- E. M. QUAN, Y. KAMIYA, D. KAMIYA, V. DENIC, J. WEIBEZAHN, K. KATO and J. S. WEISSMAN**, “Defining the Glycan Destruction Signal for Endoplasmic Reticulum-Associated Degradation,” *Mol. Cell* **32**, 870–877 (2008).

### B-3) 総説，著書

- 坂田絵理，加藤晃一，「Nedd8化修飾によるCullin型E3の活性化機構」*実験医学* **26**, 207–213 (2008).
- K. KATO, H. SASAKAWA, Y. KAMIYA, M. UTSUMI, M. NAKANO, N. TAKAHASHI and Y. YAMAGUCHI**, “920 MHz Ultra-High Field NMR Approaches to Structural Glycobiology,” *Biochim. Biophys. Acta, Gen. Subj.* **1780**, 619–625 (2008).
- 栗本英治，雨宮瑛子，加藤晃一，「味覚修飾タンパク質クルクリンの構造生物学」*Foods & Food Ingredients J. Jpn.* **213**, 645–652 (2008).
- 加藤晃一，「構造糖鎖生物学と糖鎖創薬：オーバービュー」*蛋白質 核酸 酵素* **53**, 1661 (2008).

神谷由紀子, 加藤晃一, 「細胞内レクチンによる糖蛋白質の輸送と品質管理の構造基盤」*蛋白質 核酸 酵素* 53, 1662–1669 (2008).

栗本英治, 岡本健太, 鈴木淳巨, 日影達夫, 山根 隆, 加藤晃一, 「20 S プロテアソームサブユニットの集合過程に関わる分子シャペロン PAC3 の X 線結晶構造解析」*名古屋大学 X 線回折研究のあゆみ* 29, 3–6 (2008).

#### B-4) 招待講演

加藤晃一, 「NMR で解る糖鎖の働き」文部科学省特定研究領域「糖鎖によるタンパク質と分子複合体の機能調節」研究成果公開発表シンポジウム, 東京, 2008年1月.

**K. KATO**, “Structure-based biomolecular engineering targeting ‘sweets,’” Pan-Pacific International Partnership Conference on Pharmaceutical and Life Science, Nagoya (Japan), February 2008.

加藤晃一, 「抗体医薬の開発に向けた多次元 HPLC 法および NMR 法による糖鎖解析技術」技術情報協会講習会「抗体医薬品を始めとしたバイオ医薬品の開発に向けた抗体分析法・バリデーション」東京, 2008年3月および11月.

**K. KATO**, “Ultra-high field NMR and sugar library approaches for structural glycomics,” BIT Life Sciences’ 1<sup>st</sup> Annual Protein and Peptide Conference, Shenzhen (China), April 2008.

加藤晃一, 神谷由紀子, 神谷大貴, 西尾美穂, 「糖タンパク質の細胞内運命を司るレクチンの分子認識」生理研研究会「糖鎖機能研究会・・・分子レベルでの解明を目指して」岡崎, 2008年5月.

加藤晃一, 笹川弘明, 神谷由紀子, 中野路子, 杉原隆広, 内海真穂, 山口芳樹, 「超高磁場 NMR を利用したタンパク質・複合糖質の構造解析」高分子学会 08-1 NMR 研究会, 東京, 2008年5月.

加藤晃一, 神谷由紀子, 「糖タンパク質の細胞内運命決定の構造的基盤」第8回日本蛋白質科学会年会, 船堀, 2008年6月.

**K. KATO, H. YAGI, M. UTSUMI, N. TAKAHASHI and Y. YAMAGUCHI**, “A structural biology approach to sugar recognition at the neural cell surface,” 第31回日本神経科学大会 / Neuroscience 2008, Tokyo (Japan), July 2008.

**K. KATO**, “Structural views of glycoprotein-fate determination in cells,” 23<sup>rd</sup> International Conference on Magnetic Resonance in Biological Systems, San Diego (U.S.A.), August 2008.

加藤晃一, 「NMR と糖鎖ライブラリーを利用した構造グライコムクス」日本化学会第2回関東支部大会, 群馬, 2008年9月.

加藤晃一, 「構造グライコムクスの体系的アプローチ——糖鎖プロファイリングから抗体医薬の立体構造解析まで——」第67回日本癌学会学術総会, 名古屋, 2008年10月.

**K. KATO**, “Medical applications of structural glycobiology: From glycosylation profiling to biomolecular engineering,” BioJapan 2008 ~ World Business Forum ~, Yokohama (Japan), October 2008.

加藤晃一, 「翻訳後に多様化するタンパク質への NMR アプローチ」タンパク質 NMR の最前線 立命館大学理工学研究所シンポジウム, 草津, 2008年11月.

矢木宏和, 加藤晃一, 「O 結合型糖鎖の分析法の開発と応用」第2回 GFRG 研究会公開シンポジウム, 東京, 2008年9月.

栗本英治 雨宮瑛子 加藤晃一, 「味覚修飾タンパク質の構造と機能」バイオ分子センサー連携研究プロジェクト レクチャーコース「センサーの不思議: 分子から個体まで」岡崎, 2008年10月.

#### B-6) 受賞, 表彰

加藤晃一, 日本薬学会奨励賞 (2000).

神谷由紀子, 特定領域研究「タンパク質の社会」全体班会議ポスター優秀賞 (2008).

## 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-).
- 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-), 理事 (2008-2009).

### 学会誌編集委員

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

### その他

- (株)グライエンス 科学技術顧問 (2004-2005).
- (株)グライエンス 取締役 (2005-).

## B-8) 大学での講義, 客員

- 総合研究大学院大学物理科学研究科, 「機能構造化学」2008年6月3日.
- 名古屋市立大学薬学部, 「構造生物学」 「薬学物理化学II」 「物理系実習II」 「免疫学」 「バイオインフォマティクス」 「創薬科学」 「知的財産活用論」2008年.
- 名古屋市立大学大学院薬学研究科, 「生命分子構造学特論」2008年.
- お茶の水女子大学, 客員教授, 2006年6月-.
- 名古屋工業大学, 「薬科学特論」非常勤講師.

## B-10) 競争的資金

- 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・カルレチキュリンの分子認識機構の解明」, 加藤晃一 (2001年).
- (財)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)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).

新学術領域研究「揺らぎが機能を定める生命分子の科学」, 「NMRを利用したタンパク質および複合糖質の揺らぎの検出とその機能関連の探査」, 加藤晃一 (2008年-).

### C) 研究活動の課題と展望

糖鎖が担う生命情報を解読するために, 分子レベルの精密構造解析の一層の進展をはかるとともに, 細胞・組織・個体レベルでの機能解析を推進する。安定同位体標識を施した高マンノース型糖鎖に常磁性プローブを導入して超高磁場NMR解析を行なうことにより, 複雑な多分岐糖鎖の3次元構造をコンフォメーションの揺らぎも含めて解き明かすことを計画している。特に, 小胞体とゴルジ体間の糖タンパク質小胞輸送にかかわる糖鎖-タンパク質間相互作用, タンパク質-タンパク質間相互作用を原子レベルで解明し, 血液凝固因子欠損症等の細胞内輸送機構の破綻が引き起こす疾患の発症機構の構造基盤を明らかにする。また, 糖鎖クラスター上でのA $\beta$ の分子間相互作用をNMRを利用して捉えることにより, アミロイド形成の初期過程における分子の動的挙動を解明し, 最終的に神経変性疾患の分子基盤を理解することを目指す。さらに, キシロース含有糖鎖の神経系における機能解明のために, 本糖鎖を生合成する酵素をコードする候補遺伝子をノックアウトしたマウスを作出して行動解析を行なう。このように, 神経系における糖鎖機能のマイクロ-マクロの統合的理解を目指す。