

加藤 晃一（教授）（2008年4月1日着任）

矢木 真穂（助教）

谷中 冴子（助教）

鈴木 達哉（研究員）

GOH, Ean Wai（インターンシップ）

WILASRI, Thunchanok（インターンシップ）

HIRANYAKORN, Methanee（大学院生）

関口 太郎（大学院生）

柚木 康弘（特別共同利用研究員）

與語 理那（特別共同利用研究員）

斉藤 泰輝（特別共同利用研究員）

小藤 加奈（特別共同利用研究員）

梅澤 芙美子（特別共同利用研究員）

佐々木 雄大（特別共同利用研究員）

山田 梨乃（特別共同利用研究員）

磯野 裕貴子（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) 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) 統合的アプローチによる生命分子の構造機能解析

A-3) 研究活動の概略と主な成果

- a) タンパク質の翻訳後修飾体のコンフォメーションダイナミクス：タンパク質は限られたサイズのゲノムの中にコードされており、それらの大部分は糖鎖やユビキチンなどによる翻訳後修飾を通じて多様化している。糖鎖とユビキチン（Ub）鎖は、それぞれ‘グリココード’と‘Ub コード’といった生物学的情報を担っており、そうした情報は特異的に相互作用するタンパク質によって読み解かれる。糖鎖と Ub 鎖の溶液中における3次元構造動態を探索するため、我々は NMR 分光法を基軸とするアプローチ法を開発した。その結果、プロテアソームによる分解の目印として機能する Lys48 連結型 Ub 鎖について、各コンフォーマーの存在割合の定量化が可能となった。これにより、Ub 鎖の中で最も遠位の Ub ユニットが、Ub 認識タンパク質との相互作用面を最も露出しており、その遠位端への変異導入が他の Ub ユニットの相互作用面の溶媒露出に遠隔的に影響を与えることが明らかとなった。このことは、Ub 鎖がアロステリックに制御可能なマルチドメインタンパク質を創成するためのユニークなデザインフレームワークとなり得ることを示している。一方、カイコの蛹を用いた抗体の安定同位体標識技術を開発するとともに、動物細胞発現系を用いて安定同位体標識を施した抗体の Fc 領域に結合した糖鎖の NMR 信号を帰属し、糖鎖修飾を受けたマルチドメインタンパク質の分子内相互作用ネットワーク探索の基盤を構築した。また、重水素標識を利用した中性子小角散乱法を高度化し、溶液中における抗体の分子複合体の構造解析に応用した。さらに、オリゴ糖鎖の非結合状態における構造空間をリモデリングすることで、タンパク質への結合親和性を向上させるアプローチを開発した。この方

法は、NMRを用いて検証した分子動力学シミュレーションに基づいて、立体障害なしに標的タンパク質にアクセス可能なマイナーコンフォーマーの割合を増加させるようにオリゴ糖鎖アナログを設計・創成するものである。

- b) タンパク質集合体のダイナミクスを探る統合的な生物物理学アプローチ：ExCELLSの複数の研究グループおよび外部の研究者ネットワークとの共同で開発してきた統合的な生物物理学的アプローチを、様々な生体分子集合系へと応用し、この1年間で以下に述べるような成果が得られた。①機能的なアノテーションがなされていない古細菌由来の2種類のタンパク質（PbaAとPF0014）が、古代ギリシャ建造物のトロスのようなユニークな構造体へと共集合することを明らかにし、これにより、機能的なタンパク質ケージを設計するための新しいフレームワークを提供した。②抗原を含む膜に結合した抗体が自発的に6量体のリング状構造を形成し、それによって補体成分C1qをリクルートする動的なプロセスを可視化することができた。③国際宇宙ステーションを用いて微小重力環境下でのアミロイドβ（Aβ）の分子集合について調べたところ、微小重力環境下ではAβの線維化の過程が著しく遅くなり、異なる形態のアミロイド線維が形成されることが明らかとなった。④血液凝固第V因子および第VIII因子の細胞内輸送を担うカーゴ受容体複合体が、これらの糖タンパク質に組み込まれた10残基ほどのアミノ酸配列を分泌経路の“パスポート”として認識していることを示した。このパスポート配列をタグとして付加するだけで、組換え糖タンパク質の分泌量を有意に高めることができることも実証した。これらの知見は、バイオ医薬品として利用される組換え糖タンパク質の生産収率を向上させるための有用なツールをもたらすものである。⑤配位結合を介して集合する人工脂質の細胞表面における挙動をキャラクタライズするとともに、糖骨格を持たない人工核酸の結晶構造を決定するなど、人工生命分子の設計・創成に向けての構造基盤をもたらす研究成果を得た。

B-1) 学術論文

M. L. A. DE LEOZ, D. L. DUEWER, A. FUNG, L. LIU, H. K. YAU, O. POTTER, G. O. STAPLES, K. FURUKI, R. FRENKEL, Y. HU, Z. SOSIC, P. ZHANG, F. ALTMANN, C. GRUBER, C. SHAO, J. ZAIA, W. EVERS, S. PANGELLEY, D. SUCKAU, A. WIECHMANN, A. RESEMANN, W. JABS, A. BECK, J. W. FROEHLICH, C. HUANG, Y. LI, Y. LIU, S. SUN, Y. WANG, Y. SEO, H. J. AN, N. C. REICHARDT, J. E. RUIZ, S. ARCHER-HARTMANN, P. AZADI, L. BELL, Z. LAKOS, Y. AN, J. F. CIPOLLO, M. PUČIĆ-BAKOVIĆ, J. ŠTAMBUK, G. LAUC, X. LI, P. G. WANG, A. BOCK, R. HENNIG, E. RAPP, M. CRESKEY, T. CYR, M. NAKANO, T. SUGIYAMA, P. A. LEUNG, P. LINK-LENCZOWSKI, J. JAWOREK, S. J. YANG, H. ZHANG, T. KELLY, S. KLAPOETKE, R. CAO, J. Y. KIM, H. K. LEE, J. LEE, J. S. YOO, S. R. KIM, S. K. SUH, N. DE HAAN, D. FALCK, G. S. M. LAGEVEEN-KAMMEIJER, M. WUHRER, R. J. EMERY, R. P. KOZAK, L. P. LIEW, L. ROYLE, P. A. URBANOWICZ, N. PACKER, X. SONG, A. EVEREST-DASS, E. LATTOVÁ, S. CAJIC, K. ALAGESAN, D. KOLARICH, T. KASALI, V. LINDO, Y. CHEN, K. GOSWAMI, B. GAU, R. AMUNUGAMA, R. JONES, C. J. M. STROOP, K. KATO, H. YAGI, S. KONDO, C. T. YUEN, A. HARAZONO, X. SHI, P. MAGNELLI, B. T. KASPER, L. K. MAHAL, D. J. HARVEY, R. M. O'FLAHERTY, P. RUDD, R. SALDOVA, E. S. HECHT, D. C. MUDDIMAN, J. KANG, P. BHOSKAR, D. MENARD, A. SAATI, C. MERLE, S. MAST, S. TEP, J. TRUONG, T. NISHIKAZE, S. SEKIYA, A. SHAFER, S. FUNAOKA, M. TOYODA, P. DE VREUGD, C. CARON, P. PRADHAN, N. C. TAN, Y. MECHREF, S. PATIL, J. S. ROHRER, R. CHAKRABARTI, D. DADKE, M. LAHORI, C. ZOU, C. W. CAIRO, B. REIZ, R. M. WHITTAL, C. LEBRILLA, L. D. WU, A. GUTTMAN, M. SZIGETI, B. G. KREMKOW, K. LEE, C. SIHLBOM, B. ADAMCZYK, C. JIN, N. G. KARLSSON, J. ÖRNROS, G. LARSON, J. NILSSON, B. MEYER, A. WIEGANDT, E. KOMATSU, H. PERREAULT, E. D. BODNAR, N. SAID,

Y. N. FRANCOIS, E. LEIZE-WAGNER, S. MAIER, A. ZECK, A. J. R. HECK, Y. YANG, R. HASELBERG, Y. Q. YU, W. ALLEY, J. W. LEONE, H. YUAN and S. E. STEIN, “NIST Interlaboratory Study on Glycosylation Analysis of Monoclonal Antibodies: Comparison of Results from Diverse Analytical Methods,” *Mol. Cell. Proteomics* **19**, 11–30 (2020). doi:10.1074/mcp.RA119.001677

S. YANAKA, R. YOGO, H. WATANABE, Y. TANIGUCHI, T. SATOH, N. KOMURA, H. ANDO, H. YAGI, N. YUKI, T. UCHIHASHI and K. KATO, “On-Membrane Dynamic Interplay between Anti-GM1 IgG Antibodies and Complement Component C1q,” *Int. J. Mol. Sci.* **21**, 147 (12 pages) (2020). doi: 10.3390/ijms21010147

M. YAGI-UTSUMI, A. SIKDAR, C. SONG, J. PARK, R. INOUE, H. WATANABE, R. N. BURTON-SMITH, T. KOZAI, T. SUZUKI, A. KODAMA, K. ISHII, H. YAGI, T. SATOH, S. UCHIYAMA, T. UCHIHASHI, K. JOO, J. LEE, M. SUGIYAMA, K. MURATA and K. KATO, “Supramolecular Tholos-Like Architecture Constituted by Archaeal Proteins without Functional Annotation,” *Sci. Rep.* **10**, 1540 (10 pages) (2020). doi: 10.1038/s41598-020-58371-2

G. GEORGE, S. NINAGAWA, H. YAGI, T. SAITO, T. ISHIKAWA, T. SAKUMA, T. YAMAMOTO, K. IMAMI, Y. ISHIHAMA, K. KATO, T. OKADA and K. MORI, “EDEM2 Stably Disulfide-Bonded to TXNDC11 Catalyzes the First Mannose Trimming Step in Mammalian Glycoprotein ERAD,” *eLife* **9**, e53455 (19 pages) (2020). doi: 10.7554/eLife.53455

H. YAGI, M. YAGI-UTSUMI, R. HONDA, Y. OHTA, T. SAITO, M. NISHIO, S. NINAGAWA, K. SUZUKI, T. ANZAI, Y. KAMIYA, K. AOKI, M. NAKANISHI, T. SATOH and K. KATO, “Improved Secretion of Glycoproteins Using an N-Glycan-Restricted Passport Sequence Tag Recognized by Cargo Receptor,” *Nat. Commun.* **11**, 1368 (9 pages) (2020). doi: 10.1038/s41467-020-15192-1

K. YAMADA, Y. YAMAGUCHI, Y. UEKUSA, K. AOKI, I. SHIMADA, T. YAMAGUCHI and K. KATO, “Solid-State ¹⁷O NMR Analysis of Synthetically ¹⁷O-Enriched D-Glucosamine,” *Chem. Phys. Lett.* **749**, 137455 (5 pages) (2020). doi: 10.1016/j.cplett.2020.137455

T. SATOH, M. NISHIO, K. SUZUKI, M. YAGI-UTSUMI, Y. KAMIYA, T. MIZUSHIMA and K. KATO, “Crystallographic Snapshots of the EF-Hand Protein MCFD2 Complexed with the Intracellular Lectin ERGIC-53 Involved in Glycoprotein Transport,” *Acta Crystallogr., Sect. F: Struct. Biol. Commun.* **76**, 216–221 (2020). doi: 10.1107/S2053230X20005452

K. MORISHIMA, A. OKUDA, R. INOUE, N. SATO, Y. MIYAMOTO, R. URADE, M. YAGI-UTSUMI, K. KATO, R. HIRANO, T. KUJIRAI, H. KURUMIZAKA and M. SUGIYAMA, “Integral Approach to Biomacromolecular Structure by Analytical-Ultracentrifugation and Small-Angle Scattering,” *Commun. Biol.* **3**, 294 (7 pages) (2020). doi: 10.1038/s42003-020-1011-4

M. YAGI-UTSUMI, S. YANAKA, C. SONG, T. SATOH, C. YAMAZAKI, H. KASAHARA, T. SHIMAZU, K. MURATA and K. KATO, “Characterization of Amyloid β Fibril Formation under Microgravity Conditions,” *NPJ Microgravity* **6**, 17 (6 pages) (2020). doi: 10.1038/s41526-020-0107-y

M. HIRANYAKORN, S. YANAKA, T. SATOH, T. WILASRI, B. JITYUTI, M. YAGI-UTSUMI and K. KATO, “NMR Characterization of Conformational Interconversions of Lys48-Linked Ubiquitin Chains,” *Int. J. Mol. Sci.* **21**, 5351 (12 pages) (2020). doi: 10.3390/ijms21155351

T. SUZUKI, S. YANAKA, T. WATANABE, G. YAN, T. SATOH, H. YAGI, T. YAMAGUCHI and K. KATO, “Remodeling of the Oligosaccharide Conformational Space in the Prebound State to Improve Lectin-Binding Affinity,” *Biochemistry* **59**, 3180–3185 (2020). doi: 10.1021/acs.biochem.9b00594

H. YAGI, S. YANAKA, R. YOGO, A. IKEDA, M. ONITSUKA, T. YAMAZAKI, T. KATO, E.Y. PARK, J. YOKOYAMA and K. KATO. “Silkworm Pupae Function as Efficient Producers of Recombinant Glycoproteins with Stable-Isotope Labeling,” *Biomolecules* **10**, 1482 (12 pages) (2020). doi: 10.3390/biom10111482

R. OHTANI, K. KAWANO, M. KINOSHITA, S. YANAKA, H. WATANABE, K. HIRAI, S. FUTAKI, N. MATSUMORI, H. UJI-I, M. OHBA, K. KATO and S. HAYAMI. “Pseudo-Membrane Jackets: Two-Dimensional Coordination Polymers Achieving Visible Phase Separation in Cell Membrane,” *Angew. Chem., Int. Ed.* **59**, 17931–17937 (2020). doi: 10.1002/ange.202006600

M. YAGI-UTSUMI, M. S. CHANDAK, S. YANAKA, M. HIRANYAKORN, T. NAKAMURA, K. KATO and K. KUWAJIMA. “Residual Structure of Unfolded Ubiquitin as Revealed by Hydrogen/Deuterium-Exchange 2D NMR,” *Biophys. J.* **119**, 2029–2038 (2020). doi: 10.1016/j.bpj.2020.10.003

Y. KAMIYA, T. SATOH, A. KODAMA, T. SUZUKI, K. MURAYAMA, H. KASHIDA, S. UCHIYAMA, K. KATO and H. ASANUMA. “Intrastrand Backbone-Nucleobase Interactions Stabilize Unwound Right-Handed Helical Structures of Heteroduplexes of L- α TNA/RNA and SNA/RNA,” *Commun. Chem.* **3**, 156 (10 pages) (2020). doi: 10.1038/s42004-020-00400-2

S. RATANABUNYONG, N. AEKSIRI, S. YANAKA, M. YAGI-UTSUMI, K. KATO, K. CHOOWONGKOMON and S. HANNONGBUA, “Characterization of New DNA Aptamers for Anti-HIV-1 Reverse Transcriptase,” *ChemBioChem* **22**, 915–923 (2021). doi: 10.1002/cbic.202000633

A. OKUDA, R. INOUE, K. MORISHIMA, T. SAIO, Y. YUNOKI, M. YAGI-UTSUMI, H. YAGI, M. SHIMIZU, N. SATO, R. URADE, K. KATO and M. SUGIYAMA, “Deuteration Aiming for Neutron Scattering,” *Biophys. Physicobiol.* **18**, 16–27 (2021). doi: 10.2142/biophysico.bppb-v18.003

S. RATANABUNYONG, M. YAGI-UTSUMI, S. YANAKA, K. KATO, K. CHOOWONGKOMON and S. HANNONGBUA, “Investigation of RT1t49 Aptamer Binding to Human Immunodeficiency Virus 1 Reverse Transcriptase,” *J. Curr. Sci. Technol.* **11**, 51–59 (2021).

M. YAGI-UTSUMI, T. TANAKA, Y. OTSUBO, A. YAMASHITA, S. YOSHIMURA, M. NISHIDA and K. KATO, “Cold Atmospheric Plasma Modification of Amyloid β ,” *Int. J. Mol. Sci.* **22**, 3116 (9 pages) (2021).

B-3) 総説、著書

加藤晃一，與語理那，「抗体に秘められた結合部位の発見——免疫分子の働く姿をリアルタイムで観測！」，*academist Journal*, <https://academist-cf.com/journal/?p=12589> (2020).

佐藤匡史，加藤晃一，「タンパク質の品質管理とN型糖鎖」，「糖鎖生物学」，北島 健，佐藤ちひろ，門松健治編，名古屋大学出版会，pp. 83–95 (2020).

加藤晃一，山口拓実，「糖鎖の動的構造解析」，「糖鎖生物学」，北島 健，佐藤ちひろ，門松健治編，名古屋大学出版会，pp.109-110 (2020).

矢木宏和，加藤晃一，「免疫と糖鎖（Ⅲ）——獲得免疫——」，「糖鎖生物学」，北島 健，佐藤ちひろ，門松健治編，名古屋大学出版，pp. 223–236 (2020).

T. SATOH and K. KATO, “Recombinant Expression and Purification of Animal Intracellular L-Type Lectins,” in *Lectin Purification and Analysis, Methods in Molecular Biology*, J. HIRABAYASHI, Ed., Humana Press; New York, **2132**, pp. 411–417 (2020).

S. YANAKA, R. YOGO and K. KATO, “Biophysical Characterization of Dynamic Structures of Immunoglobulin G,” *Biophys. Rev.* **12**, 637–645 (2020).

矢木宏和, 加藤晃一, 「HPLC を用いた抗体医薬の糖鎖解析」, 「医薬品／化粧品／食品分野における HPLC・GC 分析テクニック」, 技術情報協会, pp. 310–319 (2020).

谷中冴子, 加藤晃一, 「複雑な糖鎖のコンフォメーション空間の探査と変化——計算と実験の統合によるアプローチ」, *化学* **75**, 30–71 (2020).

B-4) 招待講演

K. KATO, “Dynamic sugar codes that determine protein functions and fates,” SOKENDAI Asian Winter School “Challenges for New Frontiers in Molecular Science: From Basics to Advanced Researches,” 岡崎, 2020年1月.

M. YAGI-UTSUMI, “NMR characterization of the conformations and interactions of amyloid- β on glycolipid membrane,” 7th International Postgraduate Conference on Pharmaceutical Sciences (iPOPS 2020), 千葉, 2020年2月.

矢木真穂, 「ガングリオシド膜上におけるアミロイド β の構造転移」, 第93回日本生化学会大会, オンライン開催, 2020年9月.

S. YANAKA, “Impacts of the N-glycan variation of antibodies on their dynamic structures of functional relevance,” The 58th Annual Meeting of the Biophysical Society of Japan, オンライン開催, 2020年9月.

矢木真穂, 「宇宙実験からアルツハイマー病の解明を目指す!」, 第30回自然科学研究機構シンポジウム「宇宙科学と生命科学の深〜いつながり」, オンライン開催, 2020年9月.

加藤晃一, 「分子研における NMR 共同利用研究の現況と展望」, 文部科学省最先端研究基盤共用促進事業 NMR 共用プラットフォームシンポジウム 2020, 理化学研究所横浜キャンパス, 2020年10月.

加藤晃一, 「アルツハイマー病発症のカギとなるアミロイド線維のかたちの変化〜「きぼう」で発見! 宇宙では独特なかたちのアミロイド線維ができる〜」, 国際宇宙ステーション「きぼう」利用シンポジウム 2021 **[DAY2]** “サイエンス” で宇宙最先端に行く」, オンライン開催, 2021年2月.

B-6) 受賞, 表彰

関口太一郎, 比較グライコーム研究会 2020 online シンポ「糖の起源と進化〜宇宙 & 深海〜」奨励賞 (2020).

齋藤泰輝, 2020年度糖鎖科学中部拠点奨励賞 (2021).

梅澤美美子, 令和2年度日本生化学会中部支部支部長賞 (2021).

谷中冴子, 令和3年度物理系薬学学会奨励賞 (2021).

B-7) 学会および社会的活動

学協会役員等

日本バイオイメーキング学会評議員 (1995–), 理事 (2012–).

日本生化学会評議員 (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–).
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–).

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–).

文部科学省, 学術振興会, 大学共同利用機関等の委員等

日本学術振興会科学研究費委員会専門委員 (2009–).
生物系特定産業技術研究支援センター イノベーション創出基礎的研究推進事業 書類審査専門委員 (2009–).
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–).
公益財団法人水谷糖質科学振興財団選考委員 (2016–).
日本学術会議連携会員 (2017–).
先端科学 (FoS) シンポジウム事業委員会委員 (2018–).

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–).

B-8) 大学での講義, 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, 「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」, 2015年–.
名古屋市立大学大学院薬学研究科, 「創薬生命科学基礎II」「生命分子構造学特論」, 2015年–.

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関連機構の解明」, 加藤晃一 (2019年–2022年).
科研費基盤研究(C), 「タンパク質分子を取り巻く環境を考慮した構造解析によるアミロイド形成機構の解明」, 矢木真穂 (2019年–2021年).
科研費挑戦的研究(萌芽), 「パスポート配列の導入による糖タンパク質の分泌経路と糖鎖修飾の制御」, 加藤晃一 (2020年–2021年).
科研費若手研究, 「糖鎖とタンパク質が織りなす抗体のアロステリックネットワークの探査」, 谷中冴子 (2020年–2021年).

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-2022年).

AMED次世代治療・診断実現のための創薬基盤技術開発,「NMRと計算技術の統合による糖鎖の3次元構造ダイナミクスの体系的評価法の開発」(代表:矢木宏和),加藤晃一(研究分担者)(2016年-2021年).

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-2023年).

科研費基盤研究(S),「新世代中性子構造生物学の開拓」(代表:杉山正明),矢木真穂(研究分担者)(2018年-2022年).

B-11)産学連携

太陽日酸(株),「タンパク質の安定同位体標識技術の開発」,加藤晃一(2020年).

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。