

### 3-3 生命分子

#### 加藤 晃 一 (教授)

- 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
- 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
- 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β (Aβ) 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。Aβ 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 Aβ(1-40) の相互作用様式を解析した。飽和移動実験の結果、Aβ(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るかたちで、2つのα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I シャペロニンとプレフォルディンの複合体中に内在されている柔構造を<sup>13</sup>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し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ユ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。

#### 4) 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 deficiency” *Blood*, **111**, 1299-1301 (2008).

**E. Kurimoto, Y. Nishi, Y. Yamaguchi, T. Zako, R. Iizuka, N. Ide, M. Yohda 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. Guntert, 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).

#### 5) 著書, 総説

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 - General Subjects*, **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, “20S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).

#### 6) 国際会議発表リスト

**H. Yagi, N. Takahashi and K. Kato**, “Application of the multi-dimensional HPLC mapping method for *N*-glycosylation profiling of cells, tissues and organs” Pan-Pacific International Partnership Conference on Pharmaceutical and Life Science, Nagoya (Japan), (2008.2).

**Y. Kamiya, D. Kamiya, M. Nishio and K. Kato**, “Molecular and structural basis of the mechanisms underlying the glycoprotein-fate determination by the intracellular lectins” INTERLEC 23, Edinburg (Scotland), (2008.6).

**M. Nishio, Y. Kamiya, H. Tsukakoshi, Y. Yamaguchi, Y. Ito, K. Yamamoto and K. Kato**, “Structural basis of intracellular traffic of glycoproteins mediated by ergic-53, a lectin-type cargo receptor” INTERLEC 23, Edinburg (Scotland), (2008.6).

**S. Kim, T. Mizushima, Y. Saeki, T. Yamane, K. Tanaka and K. Kato**, “The structural analysis of Rpn14 as the molecular-chaperone for eukaryotic 26S proteasome assembly” XXI Congress and General Assembly of the International Union of Crystallography, Osaka (Japan), (2008.8).

**K. Takagi, T. Mizushima, H. Yashiroda, K. Kato, T. Yamane and K. Tanaka**, “Crystal structure of a chaperone complex that contributes to the assembly of yeast 21S proteasomes” XXI Congress and General Assembly of the International Union of Crystallography, Osaka (Japan), (2008.8).

**M. Utsumi, Y. Yamaguchi, H. Sasakawa, N. Yamamoto, K. Yanagisawa and K. Kato**, “Up-and-Down Topological Mode of Amyloid  $\beta$ -Peptide Lying on Hydrophilic/Hydrophobic Interface of Ganglioside Clusters” The 23<sup>rd</sup> ICMRBS, San Diego (USA), (2008.8).

**Y. Kamiya, M. Nishio, D. Kamiya and K. Kato**, “Structural basis of fate-determination of glycoproteins in cells” 7<sup>th</sup> OIB Symposium, Okazaki (Japan), (2008.11)

**T. Mizushima, Y. Yoshida, T. Kumanomidou, Y. Yamaguchi, T. Yamane, K. Tanaka and K. Kato**, “Structure basis for recognition of glycosylated substrates by SCF<sup>Fbs1</sup> ubiquitin ligase” ZOMES V, Yokohama (Japan), (2008.11)

**H. Yashiroda, T. Mizushima, K. Kato, K. Tanaka and S. Murata**, “The DMP1-DMP2 complex helps to assemble yeast 20S proteasomes” ZOMES V, Yokohama (Japan), (2008.11)

**Y. Kamiya, D. Kamiya, M. Nishio and K. Kato**, “Molecular basis of fate-determination of glycoproteins by the sugar-recognizing proteins in cells” Sokendai Asian Winter School, Okazaki (Japan), (2008.12)

#### 7) 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，(2008.1)。

**K. Kato**, “Structure-based biomolecular engineering targeting ‘sweets’”, Pan-Pacific International Partnership Conference on Pharmaceutical and Life Science, Nagoya (Japan), (2008.2).

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，(2008.3および11)。

**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), (2008.4).

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，(2008.5)。

加藤晃一，笹川拓明，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，(2008.5)。

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，(2008.6)。

**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), (2008.6).

**K. Kato**, “Structural views of glycoprotein-fate determination in cells” 23<sup>rd</sup> International Conference on Magnetic Resonance in Biological Systems, San Diego (USA), (2008.8).

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ミクス”，日本化学会第2回関東支部大会，群馬，(2008.9)。

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，(2008.9)。

加藤晃一，“構造グライコミ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，(2008.10)。

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，(2008.10)。

**K. Kato**, “Medical applications of structural glycobiology: From glycosylation profiling to biomolecular engineering” BioJapan 2008 ～World Business Forum～, Yokohama (Japan), (2008.10).

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，(2008.11)。

## 8) 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年-)。

日本生化学学会 評議員 (2002年-)。

日本糖質学会 評議員 (2003年-)。

日本核磁気共鳴学会理事 (2008年-)。

学会誌編集委員

Open Glycoscience, Editorial board member (2008年).

その他

株式会社グライエンス 取締役 (2005年ー).

9) 他大学での非常勤講師, 客員教授

名古屋市立大学薬学部, 大学院薬学研究科, 特任教授

お茶の水女子大学, 客員教授.

名古屋工業大学, 非常勤講師

10) 受賞, 表彰

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).

11) 外部獲得資金

ターゲットタンパク研究プログラム, 「巨大で複雑なタンパク分解装置の動態と作動機構」, 加藤晃一 (分担) (2007年ー).

戦略的創造研究推進事業 C R E S T プログラム, 「自己組織化有限ナノ界面の化学」, 加藤晃一 (分担) (2007年ー).

新学術特定領域研究 タンパク質の社会, 「構造生物学的アプローチによる小胞体関連分解装置の分子認識と作動機構の解明」, 加藤晃一 (代表) (2008年).

科学研究費補助金 特定領域研究 病態脳, 「NMR 構造生物学に基づいた薬物相互作用の解析と神経変性疾患への治療応用」, 加藤晃一 (分担) (2008年ー).

新学術領域研究 揺らぎと生体機能, 「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 (代表) (2008年ー).

政策創薬総合研究事業, 「生物構造学による Tat の分子認識様式の解明」, 加藤晃一 (分担) (2006年ー2008年).