

生命環境研究領域

(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) 糖鎖の機能を詳細に理解するためには、その立体構造を溶液中での揺らぎを含めて明らかにする必要がある。我々は、常磁性ランタニドイオンの導入によって観測される擬コンタクトシフト (PCS) を活用し、NMR 法と分子動力学 (MD) 計算を組み合わせた糖鎖の動的立体構造解析法を開発した。神経細胞膜上に存在する糖脂質 GM3 の糖鎖に常磁性ランタニドイオンを導入し、糖鎖の各水素および炭素原子の化学シフト変化から PCS 値を求めた。一方、MD 計算によって得られた複数のコンフォマーを考慮した立体構造モデルから PCS の理論値を算出し、実験値との比較を行った。その結果、主要なコンフォメーションのみならず、存在割合の低い安定構造を考慮することで両者がよりよく一致することが判明し、これにより溶液中での糖鎖の立体構造の揺らぎを正しく記述することに成功した。さらに、本手法を分岐型糖鎖 GM2 へと拡張し、糖残基間の相互作用を通じて立体構造の揺らぎが制御されている様子を明らかにした。
- b) タンパク質の細胞内運命の決定に関わるいくつかの分子認識メカニズムを構造生物学的アプローチによって解明した。ユビキチン (Ub) -プロテアソーム系で働くタンパク質の中には Ub と相同性の高いドメイン (UBL) を持つものがいくつか存在する。例えば、NF- κ B の活性化制御を通じて免疫応答や細胞の生存など様々な生命現象に関与している直鎖状ユビキチン (Ub) 鎖の生成を触媒する酵素複合体は、HOIL-1L の UBL と HOIP の Ub 会合ドメイン (UBA) の相互作用を通じて形成されている。また、立体構造不全の糖タンパク質から糖鎖を切り離す酵素の N 末端に位置する PUB ドメインがプロテアソーム基質運搬因子 HR23 の UBL と相互作用することを私たちは見出している。これらの分子間相互作用様式を X 線結晶構造解析と NMR 解析を通じて明らかにし、立体構造の類似した Ub/UBL が独自のパートナータンパク質との特異的相互作用を実現する仕組みの一端を明らかにすることができた。また、コラーゲン特異的な分子シャペロン Hsp47 の基質結合部位を解明することにも成功した。

c) 自然界ではタンパク質やDNAが、ウイルス殻などの巨大なカプセル状の構造体に閉じ込められることで、その構造や機能の制御を受けている。一方、人工系では、精密構造をもつカプセル状分子の大きさに限界があり、タンパク質のような巨大な分子を閉じ込めることはこれまでできなかった。我々は、東京大学の藤田誠教授との共同研究を通じて、パラジウムイオンと有機二座配位子、計36個の構成成分から自己組織化した巨大な中空球状錯体を基盤として、その内面に糖鎖の有限ナノ界面を構築し、球状錯体の内部にUbを丸ごと包接することに成功した。すなわち、分子生物学的手法と化学修飾を組み合わせることによりユビキチンを連結した配位子を新たに調製し、これを糖で化学修飾した有機配位子およびパラジウムイオンと混合することで、球状錯体を自己組織化生成した。NMRを利用した拡散速度の計測などを通じて、Ubが球状錯体に封入されていることを実証することができた。

4) 学術論文

L. Mauri, R. Casellato, M. G. Ciampa, Y. Uekusa, K. Kato, K. Kaida, M. Motoyama, S. Kusunoki and S. Sonnino, “Anti-GM1/GD1a complex antibodies in GBS sera specifically recognize the hybrid dimer GM1-GD1a,” *Glycobiology* **22**, 352–360 (2012).

D. Fujita, K. Suzuki, S. Sato, M. Yagi-Utsumi, E. Kurimoto, Y. Yamaguchi, K. Kato and M. Fujita, “Synthesis of a bridging ligand with a non-denaturated protein pendant: Toward protein encapsulation in a coordination cage,” *Chem. Lett.* **41**, 313–315 (2012).

K. Takagi, S. Kim, H. Yukii, M. Ueno, R. Morishita, Y. Endo, K. Kato, K. Tanaka, Y. Saeki and T. Mizushima, “Structural basis for specific recognition of Rpt1p, an ATPase subunit of the 26 S proteasome, by the proteasome-dedicated chaperone Hsm3p,” *J. Biol. Chem.* **287**, 12172–12182 (2012).

S. Yamamoto, Y. Zhang, T. Yamaguchi, T. Kameda and K. Kato, “Lanthanide-assisted NMR evaluation of a dynamic ensemble of oligosaccharide conformations,” *Chem. Commun.* **48**, 4752–4754 (2012).

Y. Kamiya, Y. Uekusa, A. Sumiyoshi, H. Sasakawa, T. Hirao, T. Suzuki and K. Kato, “NMR characterization of the interaction between the PUB domain of peptide:N-glycanase and ubiquitin-like domain of HR23,” *FEBS Lett.* **586**, 1141–1146 (2012).

S. Kim, A. Nishida, Y. Saeki, K. Takagi, K. Tanaka, K. Kato and T. Mizushima, “New crystal structure of the proteasome-dedicated chaperone Rpn14 at 1.6 Å resolution,” *Acta Cryst.* **F68**, 517–521 (2012).

H. Yagi, K. Ishimoto, T. Hiromoto, H. Fujita, T. Mizushima, Y. Uekusa, M. Yagi-Utsumi, E. Kurimoto, M. Noda, S. Uchiyama, F. Tokunaga, K. Iwai and K. Kato, “A non-canonical UBA-UBL interaction forms the linear-ubiquitin-chain assembly complex,” *EMBO Rep.* **13**, 462–468 (2012).

H. Yagi, S. Watanabe, T. Suzuki, T. Takahashi, Y. Suzuki and K. Kato, “Comparative

analyses of *N*-glycosylation profiles of influenza A viruses grown in different host cells,” *Open Glycoscience* **5**, 2–12 (2012).

N. Sriwilaijaroen, S. Kondo, H. Yagi, H. Hiramatsu, S. Nakakita, K. Yamada, H. Ito, J. Hirabayashi, H. Narimatsu, K. Kato and Y. Suzuki, “Bovine milk whey for preparation of natural *N*-glycans: structural and quantitative analysis,” *Open Glycoscience* **5**, 41–50 (2012).

Y. Zhang, S. Yamamoto, T. Yamaguchi and K. Kato, “Application of paramagnetic NMR-validated molecular dynamics simulation to the analysis of a conformational ensemble of a branched oligosaccharide,” *Molecules* **17**, 6658–6671 (2012).

H. Yagi, T. Saito, M. Yanagisawa, R. K. Yu and K. Kato, “Lewis X-carrying *N*-glycans regulate the proliferation of mouse embryonic neural stem cells via the Notch signaling pathway,” *J. Biol. Chem.* **287**, 24356–24364 (2012).

Y. Uekusa, S. Mimura, H. Sasakawa, E. Kurimoto, E. Sakata, S. Olivier, H. Yagi, F. Tokunaga, K. Iwai and K. Kato, “Backbone and side chain ¹H, ¹³C, and ¹⁵N assignments of the ubiquitin-like domain of human HOIL-1L, an essential component of linear ubiquitin chain assembly complex,” *Biomol. NMR Assign.* **6**, 177–180 (2012).

M. Yagi-Utsumi, S. Yoshikawa, Y. Yamaguchi, Y. Nishi, E. Kurimoto, Y. Ishida, T. Homma, J. Hoseki, Y. Nishikawa, T. Koide, K. Nagata and K. Kato, “NMR and mutational identification of the collagen-binding site of the chaperone Hsp47,” *PLoS ONE* **7**, e45930 (2012).

D. Fujita, K. Suzuki, S. Sato, M. Yagi-Utsumi, Y. Yamaguchi, N. Mizuno, T. Kumasaka, M. Takata, M. Noda, S. Uchiyama, K. Kato and M. Fujita, “Protein encapsulation within synthetic molecular hosts,” *Nature Commun.* **3**, 1093 (2012).

T. Fujita, M. Urushihara, H. Kashida, H. Ito, X. Liang, M. Yagi-Utsumi, K. Kato and H. Asanuma, “Reversed assembling of dyes in an RNA duplex compared with those in DNA,” *Chem. Euro. J.* **18**, 13304–13313 (2012).

5) 著書、総説

K. Kato and Y. Yamaguchi, “Glycoproteins and antibodies: Solution NMR studies,” *Encyclopedia of Magnetic Resonance*, R. K. Harris and R. E. Wasylshen ed. John Wiley (Chichester), **3**, 1779–1790 (2012).

柳澤勝彦, 松崎勝巳, 加藤晃一, 「アミロイド蓄積開始機構の解明と治療薬開発への展開」, *最新医学*, **67**, 138–158 (2012).

加藤晃一, 「タンパク質の翻訳後修飾の構造生物学研究」, *薬学雑誌*, **132**, 563–573 (2012).

加藤晃一, 「研究戦略 YAKU 学—研究現場から臨床へ—No.38 創薬ターゲットとしての糖鎖」, *薬事日報*, **11133**, 8, (2012).

Y. Kamiya, T. Satoh and K. Kato, “Molecular and structural basis for *N*-glycan-dependent determination of glycoprotein fates in cells,” *Biochim. Biophys. Acta –General Subjects*, **1820**,

1327–1337 (2012).

加藤晃一, 矢木宏和, 「バイオ／抗体医薬品における構造解析」, *バイオ／抗体医薬品の開発・製造プロセス*, 情報機構, 173–183 (2012).

加藤晃一, 矢木宏和, 「X線とNMRによる抗体解析」, *新機能抗体開発ハンドブック*, 浜窪隆雄監修, エヌ・ティー・エス, 65–69 (2012).

加藤明文, 矢木宏和, 加藤晃一, 飯田 茂, 中村和靖, 「糖鎖制御による抗体医薬品の差別化」, *次世代医薬開発に向けた抗体工学の最前線*, 熊谷 泉監修, シーエムシー出版, 144–149 (2012).

加藤晃一, 矢木宏和, 「NMR法による抗体の高次構造」, *次世代医薬開発に向けた抗体工学の最前線*, 熊谷 泉監修, シーエムシー出版, 275–283 (2012).

6) 国際会議発表リスト

Y. Zhang, T. Yamaguchi, S. Yamamoto and K. Kato, “Conformational dynamics of ganglioside GM3 as studied by NMR spectroscopy,” The 5th International Symposium, Molecular Science of Fluctuations toward Biological Functions, Nara (Japan), January 2012.

K. Kumoi, T. Satoh, H. Yagi, T. Hiromoto, T. Mizushima, S. Uchiyama, M. Noda, K. Murata, Y. Kamiya and K. Kato, “Structural basis for the mechanisms underlying proteasomal activation by archaeal PbaB homotetramer,” The 5th International Symposium, Molecular Science of Fluctuations toward Biological Functions, Nara (Japan), January 2012.

S. Kitazawa, M. Yagi-Utsumi, A. Ido, M. Urushitani, K. Sugase, K. Kato and R. Kitahara, “Structure, dynamics and function of high-energy state mutant of ubiquitin,” The 5th International Symposium, Molecular Science of Fluctuations toward Biological Functions, Nara (Japan), January 2012.

K. Kato, “Conformational dynamics of sugar-protein interaction systems as potential therapeutic targets,” The 5th International Symposium, Molecular Science of Fluctuations toward Biological Functions, Nara (Japan), January 2012.

K. Okawa, M. Yagi-Utsumi, K. Takagi, T. Hiromoto, H. Yagi, T. Mizushima, T. Satoh and K. Kato, “Structural and functional analyses of yeast Ump1p, an intrinsically disordered protein operating as proteasome assembly chaperone,” The 5th International Symposium, Molecular Science of Fluctuations toward Biological Functions, Nara (Japan), January 2012.

M. Yagi-Utsumi, P. Boonsri, Y. Yamaguchi and K. Kato, “Spectroscopic characterization of conformational transitions of membrane-binding peptides upon their specific interactions with glycolipids,” 4th Japan-Korea Seminar on Biomolecular Science: Experiments and Simulations, Nara (Japan), January 2012.

Y. Zhang, T. Yamaguchi, S. Yamamoto and K. Kato, “Application of lanthanide ions for NMR characterization of oligosaccharides,” SOKENDAI Asian Winter School "Basics and Frontiers in Molecular Science", Okazaki (Japan), January 2012.

H. Yagi and K. Kato, “Identification of specific N-glycans expressed on the nervous systems by HPLC mapping method,” GCOE International Symposium, Nagoya (Japan), January 2012.

Y. Zhang, T. Yamaguchi, S. Yamamoto and K. Kato, “Oligosaccharide conformational dynamics analyses by using PCS in conjunction with MD simulation,” The 26th International Carbohydrate Symposium (ICS2012), Madrid (Spain), July 2012.

Y. Uekusa, S. Sonnino and K. Kato, “NMR analysis of specific carbohydrate-carbohydrate interaction between gangliosides,” The 26th International Carbohydrate Symposium (ICS2012), Madrid (Spain), July 2012.

S. Kitazawa, T. Kameda, M. Yagi-Utsumi, K. Sugase, K. Kato and R. Kitahara, “NOE-derived solution structure of the high-energy open conformer N₂ of ubiquitin,” XXVth International Conference on Magnetic Resonance in Biological Systems (ICMRBS), Lyon

(France), August 2012.

R. Kitahara, S. Kitazawa, M. Yagi-Utsumi, N. Baxter, M. Williamson and K. Kato, “Conformational fluctuation of ubiquitin probed by perturbation with pressure and mutation,” XXVth International Conference on Magnetic Resonance in Biological Systems (ICMRBS), Lyon (France), August 2012.

M. Yagi-Utsumi, P. Boonsri, Y. Yamaguchi and K. Kato, “NMR analyses of the conformational transition of the antibacterial peptide sarcotoxin IA interacting with lipid A,” 4th Asian Communications of Glycobiology and Glycotechnology (ACGG 2012 Conference), Jeju (Korea), October 2012.

Y. Zhang, T. Yamaguchi, S. Yamamoto, Y. Uekusa and K. Kato, “Paramagnetic-assisted NMR analyses of conformational dynamics of gangliosides,” 4th Asian Communications of Glycobiology and Glycotechnology (ACGG 2012 Conference), Jeju (Korea), October 2012.

K. Yanagi, Y. Kamiya, T. Kitajima, T. Yamaguchi, Y. Chiba and K. Kato, “Comparative conformational analysis of high-mannose-type oligosaccharides using high-field NMR spectroscopy combined with ¹³C-labeling technique,” 4th Asian Communications of Glycobiology and Glycotechnology (ACGG 2012 Conference), Jeju (Korea), October 2012.

T. Yamaguchi, Y. Zhang and K. Kato, “NMR spectroscopic approaches to the conformational dynamics of oligosaccharides by paramagnetic tagging,” The First International Symposium on Biofunctional Chemistry (ISBC2012), Tokyo (Japan), November 2012.

S. Kitazawa, T. Kameda, M. Yagi, K. Sugase, N. Baxter, K. Kato, M. Williamson and R. Kitahara, “Solution structure of the alternatively folded state of ubiquitin,” The 6th International Symposium, Molecular Science of Fluctuations toward Biological Functions, Kyoto (Japan), December 2012.

T. Kuniyama, M. Yagi-Utsumi, T. Nakamura, K. Kuwajima and K. Kato, “Multiple binding models in molecular recognition process of GroEL as studied by NMR spectroscopy,” The 6th International Symposium, Molecular Science of Fluctuations toward Biological Functions, Kyoto (Japan), December 2012.

K. Inagaki, Y. Uekusa, Y. Kamiya, T. Satoh and K. Kato, “Redox-dependent conformational dynamics of protein disulfide isomerase coupled with exposure of its substrate binding region,” The 6th International Symposium, Molecular Science of Fluctuations toward Biological Functions, Kyoto (Japan), December 2012.

Y. Uekusa, Y. Zhang, K. Yanagi, T. Yamaguchi and K. Kato, “Conformations, dynamics, and interactions of sugar chains as studied by NMR spectroscopy,” The 6th International Symposium, Molecular Science of Fluctuations toward Biological Functions, Kyoto (Japan), December 2012.

M. S. Chandak, T. Nakamura, K. Makabe, T. Takenaka, J. Chen, K. Kato and K. Kuwajima, “Hydrogen-deuterium (H/D) exchange studies on free GroES and the GroEL-SR1-ADP chaperonin complex,” The 6th International Symposium, Molecular Science of Fluctuations toward Biological Functions, Kyoto (Japan), December 2012.

7) 招待講演

K. Kato, “Protein dynamics in the ubiquitin-proteasome system,” 4th Japan-Korea Seminar on Biomolecular Science-Experiments and Simulations, Nara, January 2012.

加藤晃一, 「糖鎖の生命分子科学」, 基礎生物学研究所・生理学研究所・分子科学研究所—名古屋工業大学 第4回合同講演会, 岡崎, 2012年1月.

K. Kato, “Structural Basis for Improved Efficacy of Therapeutic Antibodies by Engineering of their Fc Glycans,” Antibodies Asia 2012, Shanghai (China), February 2012.

加藤晃一, 「糖鎖機能解明への分子科学的アプローチ」, 山手イブニングセミナー, 岡崎, 2012年5月.

- K. Kato**, “Structural observations on sugar chains as protein extensions for functional promotion,” 第 12 回日本蛋白質科学会年会, 名古屋, 2012 年 6 月.
- K. Kato**, “Structural glycomics approaches for characterization of biotherapeutics and their application to atomic anatomy of antibodies,” BioChina 2012, Shanghai (China), June 2012.
- K. Kato**, “Structural views of carbohydrate-protein interaction systems as potential therapeutic targets,” The 26th International Carbohydrate Symposium (ICS2012), Madrid (Spain), July 2012.
- 加藤晃一, 「NMR を利用したタンパク質・複合糖質の揺らぎの検出とその機能関連の探査」, 新学術領域「揺らぎと生体機能」平成 24 年度合同班会議, 作並, 2012 年 7 月.
- K. Kato**, “High Resolution Analysis of Protein Glycosylation,” 日本製薬工業協会 バイオ医薬品委員会, 東京, 2012 年 9 月.
- 加藤晃一, 「ATP 非依存性シャペロンの構造ダイナミクスと機能発現メカニズム」, 新学術領域「揺らぎと生体機能」「水と ATP」合同公開シンポジウム「ゆらぎと水-生命のエネルギーと機能の分子機構を探る」, 大阪, 2012 年 9 月.
- 矢木真穂, 「アミロイド β の構造転移と分子間相互作用」, 大阪大学蛋白質研究所セミナー・包括脳ネットワーク研究会 第 3 回神経科学と構造生物学の融合研究会, 大阪, 2012 年 10 月.
- 加藤晃一, 「糖鎖改変による抗体医薬の機能向上の構造基盤」, 第 4 回糖鎖科学中部拠点研究会, 名古屋, 2012 年 10 月.
- K. Kato**, “Structural biology of post-translational modifications of proteins,” Seminar in Department of Biochemistry Yonsei University, Seoul (Korea), October 2012.
- K. Kato**, “NMR of glycoproteins,” Pharmaceutical NMR Lecture Series in Osaka, Osaka, October 2012.
- K. Kato**, “Conformational dynamics and interactions of glycoconjugates of therapeutic interest,” Commemorative Symposium on the 20th Anniversary of the Mizutani Foundation for Glycoscience, Tokyo, November 2012.
- 加藤晃一, 「複合糖質の構造生物学: 創薬標的としての糖鎖」, 第 40 回構造活性関連シンポジウム, 岡崎, 2012 年 11 月.
- 加藤晃一, 「生体分子の自己組織化プロセスの精密構造解析」, CREST 「ナノ界面技術の基盤構築」研究領域第 2 回公開シンポジウム「ナノ界面が生み出す次世代機能」, 東京, 2012 年 12 月.
- K. Kato**, “NMR Characterization of Conformational Fluctuations of Oligosaccharides and Glycoconjugates,” 新学術領域研究「揺らぎと生体機能」第 6 回公開シンポジウム, 京都, 2012 年 12 月.
- 加藤晃一, 「複合糖質の立体構造・ダイナミクス・相互作用」, 第 85 回日本生化学会大会, 福岡, 2012 年 12 月.
- K. Kato**, “High Resolution Analysis of Protein Glycosylation,” CASSS CMC Strategy Forum

Japan 2012, Tokyo, December 2012.

8) 学会および社会的活動

学協会役員等

- 日本バイオイメーキング学会 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- 2012) 理事(2008-2012).
- NPO バイオものづくり中部 理事 (2008-).
- 日本蛋白質科学会 理事 (2010-).

学会の組織委員等

第 51 回 NMR 討論会運営委員 (2012).

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「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-).

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-).
- Journal of Glycomics & Lipidomics*, Editorial board member (2010-).
- Glycobiology*, Editorial board member (2011-).

その他

株式会社グライエンス 取締役 (2005-).

9)他大学での非常勤講師、客員教授

- お茶の水女子大学, 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
- 理化学研究所, 客員研究員
- 国立長寿医療研究センター認知症先進医療開発センター, 客員研究員

10)受賞、表彰

- 山口拓実, 日本化学会第 92 春季年会優秀講演賞 (学術)
- Zhang Ying, 平成 24 年度総合研究大学院大学学長賞
- 雲井健太郎, 第 12 回日本蛋白質科学会年会ポスター賞

11) 外部獲得資金

戦略的創造研究推進事業 CREST 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-）.

科研費基盤研究（B）、「脳領域依存的なアミロイドベータ蛋白質蓄積の分子機構解明」、加藤晃一（分担）（2010年-）.

厚生労働省長寿医療研究開発費、「アルツハイマー病根治薬の開発」、加藤晃一（分担）（2010年-）.

医薬基盤研究所先駆的医薬品・医療機器研究発掘支援事業、「抗体医薬品等のバイオ医薬品の合理的開発のための医薬品開発支援技術の確立を目指した研究」、加藤晃一（分担）（2010年-）.

科研費研究活動スタート支援、「アミロイド線維末端の特異構造の解明に基づく線維伸長メカニズムの理解」、矢木真穂（代表）（2011年-）.

科研費挑戦的萌芽研究、「分子シャペロン機能を有するシャトル型プロテアソーム活性化因子の同定と構造機能解析」、加藤晃一（代表）（2012年-）.

科研費若手研究（B）、「常磁性金属修飾糖鎖を用いた過渡的相互作用の動的観察」、山口拓実（代表）（2012年-）.

科研費基盤研究（A）、「糖鎖認識系を標的とする創薬を目指した複合糖質機能の構造基盤の解明と分子設計」、加藤晃一（代表）（2012年-）.