

2020年度事業報告書

自 2020年 4月 1日
至 2021年 3月 31日

公益財団法人 野 口 研 究 所

事業報告書

2020年4月1日から
2021年3月31日まで

事業の大要

当研究所は、我が国化学工業界のパイオニアであり旧日窒コンツェルンの創始者である故野口遵がその私財を投じて1941年に設立した研究所である。設立趣旨は「化学工業の振興を期するため、諸般の研究並びに調査を行うとともに広く重要な研究に対し援助をなし、なお研究者の養成、発明・考案の工業化にも力を注ぐ・・・」と、設立当時の要請にこたえるものとなっている。この精神を尊重しつつ、今日の社会ニーズにこたえるような基礎的研究と人材育成を目的として公益のための事業を行っている。当研究所は2021年2月に創立80周年を迎えた。

2020年は年初から新型コロナウイルスの感染が世界的に拡大し、当研究所においても在宅勤務、オンライン会議などへの対応を進めた。

研究事業については糖鎖バイオロジー分野を研究領域と定め、取り組んでいる。

この研究領域で長年の歴史のある糖鎖合成技術、構造解析技術に加えて糖鎖機能解析技術にも重点を置いている。この3つの技術を併せ持つことを当研究所の強みとして基礎的研究を進めている。

今年度は研究体制の変更を行った。これまで当研究所では各研究者がそれぞれ個別の研究テーマを担当していたが、より高い研究成果を目指し研究の効率を向上するため、2020年6月より以下の4つの研究テーマに集約し、チーム研究体制に移行した。

① グライコミクス・グライコプロテオミクス解析の基盤技術開発

これまで解析が困難であったO結合型糖タンパク質をターゲットにし、そのグライコミクスおよびグライコプロテオミクスの基盤技術を構築することを目的として研究を進めている。今年度は化学的手法であるBEP法の改良、新規酵素の探索、膜タンパク質精製技術の検討などを実施した。

② 抗体薬物複合体(ADC)の創製に関する研究

重点テーマとして蓄積してきた糖鎖リモデリング技術を応用して第2世代の抗体医薬として期待されている抗体薬物複合体(ADC)創製につながる2種類の方法につき検討を行った。PEG化糖オキサゾリンを用いた方法では高収率で反応が進行する条件を見出すとともに、薬物が標的細胞のみに作用することを確認した。

③ 高転移性胃がんの治療に向けた研究

昨年度は悪性度の高い胃がん細胞の腹膜播種の過程で糖鎖結合たんぱく質の一種が重要な役割を果たしていることを動物実験により突き止めた。今年度はメカニズムの解明と阻害薬の探索に取り組んだ。

④ 糖鎖情報科学基盤研究開発

糖鎖研究支援のため、競争的資金を活用したデータベース開発プロジェクトに参画し糖タンパク質データベースの構築に取り組んでいる。当研究所で開発した糖鎖表記法をベースにして糖鎖構造処理基盤の構築、糖鎖構造を鍵としたデータの統合化を進めている。

研究成果は学会報告、論文投稿を実施するとともに、取得特許をホームページに掲載および野口研究所時報に掲載し配布するなどして、成果を広く使っていただく事を目指して活動している。

研究助成事業は、挑戦的な若手研究者を支援するために野口遵研究助成事業を継続実施した。本年度は「ライフサイエンス」、「エネルギー・資源・環境」及び「新しい電子材料・デバイス」の3課題で募集し、148名の応募の中から13名に助成金を授与した。本年度の野口遵賞は2017年度の助成者である京都大学の寺島崇矢氏に贈呈した。受賞テーマ名は「両親媒性高分子の自己組織化とセルフソーティングを基盤とする機能材料創成」であった。

昨年度は新型コロナウイルス感染拡大のため贈呈式を延期し、今年度に2年分合同でオンラインによる贈呈式を行った。

人材の育成については大学への講師派遣3名、卒業研究生3名の受け入れを継続して実施した。

財政面について、当研究所の運営費は資産運用収入を柱に寄付金、公的機関からの競争助成金等で賄っている。2019年度より資産の効率的な運用とリスク分散を図る目的で、債券から上場投資信託(ETF)への切り替えを行ってきた。今年度は債券の償還分約23億円をETF購入にあて、これまでのETF購入は累計で約40億円となった。

今年度は豪ドル高によって債券の利息収入が増えたこと、またETFの分配金収入も順調であったことから予算に対し収入は増加した。支出面では新型コロナウイルス感染防止の観点から出勤を抑制した時期があったこと、チーム研究体制への移行などにより支出は減少した。この結果、現金収支は大幅に改善した。

また高額な質量分析器の買い替えおよび土壤汚染費用支払いのために債券売却を行ったほか、EB債による資産の棄損があったが、債券時価の回復やETFの時価増加等により資産総額は増加した。

事業の内容

1. 研究事業

これまで当研究所では「糖鎖工学研究」として、①糖鎖リモデリング法の開発と糖鎖機能解明、②リモデリング技術を活用した抗体医薬の機能向上および改善、③複数個所に糖鎖を有する糖タンパク質、糖ペプチドのリモデリング法の開発など、糖鎖改変技術の開発とその機能変化についての研究を行ってきた。また「疾患と糖鎖の関連研究」においては、④癌と糖鎖の関連、⑤骨格筋領域疾患と糖鎖の関連、など疾患に関連する糖鎖とそのメカニズムの解明とその応用について研究を行い、複数の研究成果を創出してきた。更には、糖鎖科学全体の課題でもあるコンピュータ上で利用可能な糖鎖表記法(WURCS)の開発に取り組み、世界標準とすべく検討を重ねている。

これら長年の研究成果を更に発展、加速する事を目的として、昨年度(2020年6月)より、こ

れまでの個人研究（個別テーマ研究）体制からチーム研究に研究体制を移行し、以下の4つのテーマに取り組んでいる。

A チーム：糖タンパク質をターゲットにしたグライコミクス・グライコプロテオミクス解析の基盤技術開発

B チーム：抗体の位置選択的な多重標識による革新的な抗体薬物複合体の創製

C チーム：糖結合タンパク質の高転移性胃癌におよぼす影響とその機能解明による治療法開発に向けた研究

D チーム：情報科学を活用した糖鎖科学基盤の開発研究

以下に4チームの研究概要と2020年度の研究成果について報告する。

1-1 A チーム：糖タンパク質をターゲットにしたグライコミクス・グライコプロテオミクス解析の基盤技術開発

糖鎖は発生や分化、老化、疾患などの生命現象において重要な役割を担っている事が知られており三大生命鎖の一つと言われているが、その解析は他分野（遺伝子：ゲノム、タンパク：プロテオーム）と比較して大きく後れを取っているのが現状である。その理由の一つが、糖鎖解析技術が未整備なためである。

糖タンパク質糖鎖には、アスパラギン（Asn）のアミド基に糖鎖が結合するN結合型糖鎖と、セリン（Ser）あるいはスレオニン（Thr）の水酸基に糖鎖が結合するO結合型糖鎖が存在する。N結合型糖鎖にはGlcNAc-Asn（糖鎖-タンパク質）間を切断する酵素(PNGase; peptide-N-glycosidase)やGlcNAc-GlcNAc間を切断する酵素(ENGase; endo- β -N-acetylglucosaminidase)が存在し、糖鎖をまるごと切り出すことができる。しかし、生命現象に大きく関わっていると言われるO結合型糖鎖には全ての糖鎖をまるごと切り出せる酵素がなく、化学的な手法もその副反応のために定量的な切断は困難である。この様な理由から、O結合型糖鎖を有する糖タンパク質を標的としたグライコミクス、グライコプロテオミクスなどの解析手法は、N結合型糖タンパク質と比べると未整備に等しい。

そこで上記課題を解決すべく、2020年度よりO結合型糖タンパク質のグライコミクス/グライコプロテオミクス解析の基盤技術となる以下の技術の開発に着手した。

① : O結合型糖鎖を丸ごと遊離させるグリコシダーゼの探索・創製

これまでに様々なO型糖鎖をまるごと切り出す酵素の探索が多くの研究者によって行われてきたが、現状のO-グリコシダーゼが切断できるO型糖鎖はcore1型やcore3型の2糖構造のみであり、グライコミクスなどの糖鎖構造解析に有効活用されているとは言い難い。しかしながら、近年のゲノムデータの蓄積により、より基質特異性の広い酵素が見出される可能性がある。そこで、新たにデータベースを網羅的に解析して新規なO-グリコシダーゼの探索を行い、分岐糖鎖やシアル酸含有糖鎖などの3糖以上の糖鎖を切断できる酵素の存在について調べることにした。

O-グリコシダーゼと呼ばれる endo- α -N-acetylgalactosaminidase は、Carbohydrate-Active enZymes database (CAZy)における分類ではGH101ファミリーに属する酵素である。CAZy databaseのGH101配列データ（調査当時約530配列、全てバクテリア由来）のうち、同種同属の菌由来のものやアミノ酸数が同じものなど重複していると思われる配列を省いた約130配列を利

用して、分子系統樹を作成 (MEGA7 プログラムを使用) した。その分子系統樹を用いてグルーピングを行い、未解析のグループからそれぞれ一種ずつの新規 O-グリコシダーゼ候補を選択し、その遺伝子を大腸菌にて発現させて活性について検討を行った。

その結果、core1 遊離活性のほかにシアリダーゼ活性やペプチダーゼ活性を有する酵素を見出すことができた。しかし、これらの酵素はシアル酸含有の core1 型糖鎖に対してまずシアリダーゼ活性を発揮してシアル酸を切断し、その後 core1 遊離活性により core1 型糖鎖を切断するものであることが明らかとなった。つまり、O 型糖鎖をまるごと切り出す酵素ではないことから、グライコミクスなどの糖鎖構造解析に用いるのは難しいと判断した。

② : 副反応を抑制した効率的な化学的糖鎖遊離法の開発

O 結合型糖鎖の解析は、網羅的に糖鎖を切断する酵素がないため、化学的な糖鎖切断法を用いて解析が行われている。しかし糖鎖切断効率や標識化効率の低さ、副反応 (糖鎖のピーリング反応) による副産物の生成等が問題点になっており、未だに効率的な糖鎖切断方法は確立していない。近年、アルカリ条件下でピラゾロン誘導体と混合して加熱反応を行う BEP 法によって、糖鎖のピーリング反応を抑制できることが報告された。しかし BEP 法は O 結合型糖鎖の切断からピラゾロン誘導体による標識反応までの複数の反応を同時に行う為、反応の制御が容易ではない。本研究では糖鎖切断効率や標識化効率の低さ等、従来の BEP 法の問題点を解決し、O 結合型糖鎖の高感度、かつ定量的解析が可能な改良型 BEP 法の開発を行う。

2020 年度は塩基の種類や反応温度、溶媒、添加剤等、BEP 法の反応条件の検討を行った。その結果最適な反応条件を見出し、従来の BEP 法よりも糖鎖切断効率と標識化効率を向上させることに成功した。さらに、いくつかの糖タンパク質サンプルを用いて本改良 BEP 法の検証を行ったところ、O 結合型糖鎖の高感度、かつ定量的解析が可能であることが明らかとなった。

③ : O 結合型糖鎖が結合している糖アミノ酸の N 末または C 末側のペプチド結合を加水分解するエンドペプチダーゼの探索・創製

グライコプロテオミクス解析の前処理操作として、糖タンパク質をペプチダーゼ処理により糖ペプチド断片化する必要がある。N 結合型糖タンパク質の場合はトリプシンやサーモリシンのような一般的なペプチダーゼ処理により容易に糖ペプチド断片化が可能である。しかし、O 結合型糖タンパク質は糖鎖がタンパク質上に密に結合しているために、一般的なペプチダーゼ処理では糖ペプチド断片化が困難である。

そこで本研究では O 結合型糖タンパク質のグライコプロテオミクス解析で利用可能な酵素の取得を目指し、O 型糖鎖を認識しその付加部位の近傍を切断することで糖ペプチド断片化が可能な新規なエンドペプチダーゼの探索・創製を行うことにした。

2020 年度は酵素探索用の基質の合成と、基質合成のために使用する各種酵素の調製を行った。

④ : LC/MS によるグライコプロテオミクスに適応可能な、効率的な膜糖タンパク質の調製法の確立

細胞には、核酸、タンパク質や多糖類に代表される高分子から、脂質や多様な代謝中間体などの低分子までの様々な化合物が存在している。この多種多様な夾雑物が含まれる混合物の中から糖タンパク質のみを抽出し解析を行うためには、多段階の精製が必要となり、場合によっては、精製法の最適化が必要とされる。近年膜タンパク質抽出試薬が開発され、細胞から膜糖タンパク質

を分離することが可能になってきた。しかし微量な膜糖タンパク質を解析する際には、細胞全タンパク質を可溶化した後、抗体によりターゲットタンパク質を捕捉する免疫沈降の操作が必須であり、この工程で高価な抗体やビーズが必要となる。また未知糖タンパク質の場合は抗体が存在しないためサンプルとしての回収が非常に困難、もしくは取りこぼす危険性等が予想される。本研究では、LC/MSによるグライコプロテオミクスに適応可能な、免疫沈降を使用しない膜糖タンパク質の調製法を確立することを目的とする。

2020年度はモデルとして複数の細胞から、標的とする糖タンパク質サンプルの調製とLC-MS/MS解析の検討を行った。その結果、サンプル量、消化酵素の種類と量等の最適な条件を決定し、免疫沈降及びHILIC精製無しでLC-MS解析する手法を確立することに成功した。

抗体医薬を含めた創薬標的の枯渇が叫ばれて久しいが、グライコプロテオミクスによるアプローチは従来のオミクス手法では見逃されて来た標的を発掘できる可能性を秘めた手法であると期待される。将来的には細胞膜総糖タンパク質へとグライコプロテオミクス解析の幅を拡張し、新たな標的分子の発掘に挑む。

1-2 B チーム：抗体の位置選択的な多重標識による革新的な抗体薬物複合体の創製

抗体薬物複合体（ADC）は、抗体医薬品に細胞障害性低分子医薬品等をリンカーを介して結合させた両医薬の利点を併せ持つ複合体であり、第二世代の抗体医薬として期待されている。すでに数品目が上市され、多くの新規品目が開発されつつあるが、ADC創製においては抗体分子の特定部位に特定数の薬物を搭載させる事が望まれている。しかしながら、抗体分子上に多数存在するシステイン残基やリジン残基を主な結合部位とする現行法では薬物搭載部位及び薬物搭載数の制御が困難である。

我々は、薬物搭載部位と薬物搭載数の両方を制御可能な技術として抗体分子中に1か所（1対）のみ存在する糖鎖部位に対して選択的に非天然型官能基を導入し、クリックケミストリーを活用して薬物を連結する方法の開発を検討している。具体的には、昨年度（2019年度）報告したように、アジドPEG化糖オキサゾリンを抗体の糖部位に選択的に導入し、そのアジド基に対してクリックケミストリーにより薬物を導入する手法である。

本研究の成果は、ADCの品質管理・薬効制御などの面で大きな進展をもたらすと共にアンメットメディカルニーズを満たす次世代型ADCの開発にも大いに貢献できる。更には、その結果としてがん治療分野等に新たなブレークスルーをもたらし、高い診断精度に基づく治療の最適化や患者負担の軽減等、医療経済への貢献も期待される。

昨年度（2019年度）まではHGPプロジェクトからの流れを引き継ぐ形でリツキシマブを用いた糖鎖リモデリング研究を行ってきたが、2020年度から本チーム研究を開始するに際し、抗体としてトラスツズマブを使用する事とした。

①：アジドPEG化糖オキサゾリンの大量合成に適した合成経路の確立

アジドPEG化糖オキサゾリンは本手法の鍵化合物であることから、本チーム研究を遂行するためにはグラムスケールでの合成・供給が必要となる。昨年度（2019年度）までに、アジドPEG化糖オキサゾリンを合成することができたが、この際の合成経路には低収率（30%以下）の工程、及び生成物の分離精製が困難な工程が複数含まれており、大量合成に適応する際の課題であ

った。2020年度はこれら問題となった合成工程や精製工程の改良を行った。使用する保護基や試薬の種類など、種々反応条件の検討を行った結果、グラムスケール合成に適した合成経路を確立することに成功した。

② : アジド PEG 化トラスツズマブの調製

昨年度 (2019 年度) に予試験として行ったリツキシマブへのアジド PEG 化糖オキサゾリンの転移収率は 47%と低い結果であった。2020 年度は転移収率の向上を目的として種々反応条件の検討を行い、転移収率を 90%以上に向上させることに成功した。得られた反応条件を用いてアジド PEG 化トラスツズマブの合成を行い、目的とするアジド PEG 化トラスツズマブの Fully 体を約 500 μ g 得た。

③ : one-pot 反応

糖を薬物搭載の足場とする ADC 合成法は、原料抗体の糖鎖を ENGase で加水分解をしてアクセプター体を合成した後、このアクセプター体に対して Glycosynthase 存在下でオキサゾリンドナーを転移させることで、抗体糖鎖上にアジド基などの薬物搭載用官能基を導入する、2 工程の反応である。我々の手法ではオキサゾリンドナーの転移に ENGase を使用することから、アクセプター体の合成とオキサゾリンドナーの転移が同時に行える one-pot 反応が可能なのではないかと考えた。アジド PEG 化糖オキサゾリンと native なトラスツズマブを基質として種々検討を行った結果、80%以上の高収率で反応が進行することが明らかとなった。なお、原料の native トラスツズマブ由来の糖鎖の残存は 1%未満であった。

④ : 細胞殺傷実験

昨年度 (2019 年度) 得られたアジド化 PEG リツキシマブを用いて、クリックケミストリーによる薬物導入条件の検討を行い、最適な薬物導入の反応条件の確立に成功した。また ADC の評価系の立ち上げを行い、本手法で得られたリツキシマブ型 ADC を用いて細胞殺傷実験を行った。その結果、抗原発現細胞に特異的な細胞殺傷効果を確認することができた。これらの結果を基にトラスツズマブ型 ADC の合成を行い、現在トラスツズマブ型 ADC の細胞殺傷効果評価系の準備中である。

⑤ : Dual-warhead 型

2 つの異なる薬物を単一の抗体薬物複合体に導入した「Dual-warhead 型 ADC」は、複数の作用機序を介して作用する可能性があることから、現在利用可能な薬剤に耐性のあるがんの治療薬として注目されている。上記のアジド PEG 化糖オキサゾリンは 1 分子内に 2 つのアジド基を有する化合物である。そこで、この化合物の 2 つのアジド基のうち 1 つを別の官能基に変えることで、Dual-warhead 型 ADC の足場を抗体糖鎖上にもみ位置選択的に構築することが可能になると考えた。

2020 年度は 1 分子内にアジド基とテトラジン基を有する 2 官能性 PEG 化糖オキサゾリンの合成に成功した。

⑥ : PCT 出願に向けた実施例の追加

昨年度 (2019 年度)、本研究の基盤技術に関する特許を出願した。2020 年度は当該特許を基礎出願とした PCT 国際出願を行うに際し、請求項の内容をより広くカバーするために 6 種類の新たな化合物の合成を行い実施例の追加を行った。3 月末に PCT 出願を完了した事から、本技術の紹介

活動に移る予定である。

⑦ : ADC の新規合成法の開発

上記のアジド PEG 化糖オキサゾリンを用いる手法の他に、新たな概念による糖鎖部位に対する位置選択的な薬物導入法の開発にも着手した。本手法は従来の ADC 合成法と比べて、極めて簡便かつ多数の薬物を導入可能な魅力的な技術、アイデアである反面、挑戦的なテーマである。

1-3 C チーム : 糖結合タンパク質の高転移性胃癌におよぼす影響と

その機能解明による治療法開発に向けた研究

胃癌は日本国内で年間罹患数 : 約 13 万人、年間死亡者数 : 約 4 万人と癌の中で第 3 位と頻度が高く、その治療は外科的な癌組織切除と化学療法を組み合わせられている。特に転移や再発をきたし切除することが難しい場合には非常に予後が悪く、活発に転移し全身に拡散する遠隔転移性の強い癌では 5 年生存率は 3%とも言われている。胃癌の転移としては、腹膜播種、リンパ節転移、血行性転移という 3 つの経路が存在するが、それぞれの転移経路に特異的な診断マーカーや効果的な治療法に関する情報も少ない。その中で腹膜播種は癌細胞が腹膜に散らばるように転移するもので、胃粘膜の下層に広がり増殖するスキルス性胃癌など悪性度の高い胃癌で特に多く見られ、発見が難しく手術切除が不可能で胃癌の死亡率を上昇させる大きな要因となっている。そのため、この様な低分化型で高転移性の癌に関するメカニズムを解明し、新たな癌治療法を開発することが求められている。

我々は高転移性と密接に関係することが示唆されている糖結合タンパク質に着目し、各種のヒト胃癌細胞株における発現を検討した。その結果、高転移性低分化型のスキルス性胃癌細胞株に本タンパク質が高発現していることが明らかとなり、胃癌の高転移性と関係があることが示唆された。そこで、その中で最も本タンパク質を高発現する NUGC4 細胞を用いてその発現をノックアウトした K0 株を樹立し、ヌードマウスの腹腔に投与して腹膜播種の形成状況を解析した。その結果、本タンパク質を発現する NUGC4 細胞を投与すると腹膜播種が起こるものの、K0 株の投与では腹膜播種は認められなかった。さらに、この K0 株に本タンパク質をコードする遺伝子を導入して再度発現するようにした Res 株の投与では腹膜播種形成が一部回復したことから、この NUGC4 細胞における腹膜播種の形成に本タンパク質が何らかの役割を果たしているものと考えられた。

この様な背景から、我々は本タンパク質が胃癌腹膜播種の形成に関係しており、その機能を特異的に阻害することで胃癌の高転移性を抑制する新しい治療法となる可能性があると考えた。そこでまずは、本タンパク質に対する siRNA をヒト胃癌細胞に導入することでその発現をノックダウンした細胞を調製して検討を行った。発現をノックダウンした細胞ではコントロールに比べて増殖能の低下や腹膜播種関連分子の発現低下などが確認され、本タンパク質が腹膜播種と密接な関係があることが裏付けられた。

1-4 D チーム : 情報科学を活用した糖鎖科学基盤の開発研究

学際領域の研究において AI など情報科学の技術を活用した研究は様々な分野の研究課題を解決するための重要なアプローチとなってきているが、これら情報科学と関連した学際分野の発展はめざましく、今後の研究において情報科学を抜きに語ることは困難な状況となっている。糖鎖科

学分野においても糖鎖関連データのデータベース化を推進してきたが、その構造の複雑さから統一された糖鎖構造表記法がないために他分野の関連データベースとの連携だけでなく、糖鎖関連データベース間の連携も不十分であるなど、研究者が必要な情報を得るための基盤整備がなされてこなかった。これらの問題を解決する手段として糖鎖構造表記法の標準化や既存表記法との相互変換などの糖鎖情報基盤技術の確立は、糖鎖構造を鍵とするデータベースの連携に必須の課題であり、他分野データを含めた各データの統合化実現に繋がる。

これまで、我々は乱立していた糖鎖構造の表記法の統一/標準化を目指して、独自の表記法である WURCS および既存表記法との相互変換ソフトウェア (GlycanFormatConverter) を開発すると共に、国内外の研究者と協働し WURCS の一意性を活用した国際糖鎖構造リポジトリ (GlyTouCan) を開発してきた。これにより、糖鎖構造の同一性判断が困難であった糖鎖を一意的に表記/判断可能となり、異なる糖鎖表記法で蓄積されてきた各糖鎖関連データベースのデータが相互利用可能となった。更には、これらの成果を GlycoNAVI に組み込む事によってデータの統合化を推進した。

このような背景の下、2020 年度は更なる統合推進を目指して「Linked Open Data (LOD) のための糖鎖情報科学基盤研究開発」をチーム研究課題として取り組んだ。

① : 糖鎖構造表記法 WURCS をコンピュータで扱う基盤ソフトウェアの改良・機能拡張

WURCS は多種多様な糖鎖構造をコンピュータで利用可能な糖鎖構造表記法である一方、その表記は極めて複雑で一般の研究者が直接 WURCS を扱うことは困難である。そこでこの課題を解決するため、GlycanFormatConverter を活用して糖鎖構造描画ツール (SugarDrawer) を開発した。この描画ツール (SugarDrawer) は、グラフィカルユーザーインターフェース (GUI) によって糖鎖構造を描画・構築し、ソフトウェア内において WURCS に変換する機能を有しているため、ユーザーは WURCS の文字列を意識することなく糖鎖構造を扱うことができ、その糖鎖構造について GlycoNAVI をはじめ各種データベースを検索することが可能となった。さらには、このソフトウェアを利用することにより、描画した糖鎖構造の国際糖鎖構造リポジトリ GlyTouCan のアクセス番号取得や糖鎖構造の登録が可能であり、糖鎖データの連携などの利便性を向上させることができた。

また、GlycanFormatConverter に GLYCAM 形式への変換機能を実装する事によって、2次元で描画した糖鎖構造の3次元立体構造のシミュレーションが可能となった。

これらの研究成果をまとめ、「Nucleic Acids Res.」および「Nature Methods」の2つの学術誌で報告を行った。

② : タンパク質立体構造データベース (PDB: Protein Data Bank) との連携

糖鎖領域に加えタンパク質領域との連携を推進するため、構造生物学や創薬研究において重要なデータベースであるタンパク質立体構造データベース (PDB: Protein Data Bank) に含まれる糖鎖構造を解析するツールとして PDB2Glycan を開発した。PDB2Glycan は抽出した糖鎖構造を WURCS として出力することができる。また、PDB において 2020 年度実施した「Carbohydrate Remediation」に参画し、PDB における糖鎖構造の標準形式の一つとして WURCS が採用された。これにより、日米欧の PDB から公開されるタンパク質立体構造データにおいて、含有される全ての糖鎖構造に WURCS が付与された。これは、PDB の OneDep チームとの協働により実現したものであり、その成果は Structure 誌にて報告した。

さらに、この PDB の標準形式に含まれる WURCS を利用して PDB に含まれる糖鎖構造に国際糖鎖構造リポジトリ GlyTouCan のアクセッション番号を付与する事によって、GlyTouCan と PDB データベース間の連携を実現した。これにより糖鎖領域とタンパク質領域のデータについて糖鎖構造を鍵として繋げることができ、両分野の連携の基礎が構築できた。

③：化学構造形式データと WURCS を相互変換するソフトウェア (Mo1WURCS) の開発

代謝物や低分子化合物との連携のため、化学構造形式データと WURCS を相互変換する Mo1WURCS ソフトウェアの開発に着手した。このソフトウェアを利用することにより化学構造形式の糖鎖データを WURCS に変換し、代謝物や低分子化合物のデータを糖鎖領域と繋ぐことが可能となるばかりでなく、糖鎖領域の WURCS で記述された糖鎖構造を化学構造形式データに変換し、代謝物や低分子化合物のデータと連携することが可能となる。

④：複合糖質データの活用推進

脂質やタンパク質との複合体である複合糖質は、分子全体でデータベースに収録されている事が多く糖鎖の結合様式や結合部位を正確に記述されてこなかったため、糖鎖の有無や糖鎖部位など糖鎖に着目した情報は極めて乏しかった。これは、統一された複合糖質の記述法が確立されていなかった事に起因するが、統一された糖鎖表記法がなかったのもその一因である。しかし、WURCS が糖鎖構造表記法として標準的に利用されることによって複合糖質の表記法の標準化が可能となった。そこで我々は、国内外の研究者と協働して複合糖質の標準的記述方法 (オントロジー: GlycoCo0) を開発し、その成果を Glycobiology 誌にて報告した。この複合糖質オントロジーの利用によって、複合糖質に付加されている糖鎖情報を正確に把握する事が可能となり、複合糖質が関与する疾患や生物種、書籍情報などの膨大なデータと糖鎖構造データを繋ぐことが可能となった。また、本オントロジーは日米欧の各データベースにおいて利用されている。

1-5 その他

当研究所はフルオラス科学の研究振興を継続して支援している。2020 年度のフルオラス科学研究会第 13 回シンポジウムはコロナ禍の影響により次年度 (2021 年度) に延期となった。

2. 大学等公的機関及び企業との共同研究

2-1 競争的委託研究事業

- ・国立研究開発法人科学技術振興機構 (JST) ライフサイエンスデータベース統合推進事業 (統合化推進プログラム)
研究開発課題名：糖鎖科学ポータル構築
- ・国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) 「次世代治療・診断実現のための創薬基盤技術開発事業」
研究開発課題名：革新的中分子創薬技術の開発/中分子シミュレーション技術の開発
- ・科学研究費助成事業 (科学研究費補助金) 研究成果公開促進費 (データベース)
データベース名称：グライコナビ
- ・科学研究費助成事業 (科学研究費補助金) 基盤研究 (B)
研究開発課題名：老化現象の解明に資する、オープンデータを体系的に利用した知識

推論基盤の構築

- ・科学研究費助成事業（科学研究費補助金）基盤研究（C）
研究開発課題名：腹膜播種における胃癌細胞の糖鎖変化と、糖鎖結合分子
ガレクチンによる制御機構の解明

2-2 共同研究

- ・東京化成工業株式会社
- ・北陸先端科学技術大学院大学（芳坂貴弘教授）
- ・大阪大学大学院理学研究科（深瀬浩一教授）
- ・東京都健康長寿医療センター研究所老化機構研究チーム（遠藤玉夫シニアフェロー）
- ・立命館大学生命科学部（松村浩由教授）
- ・創価大学糖鎖生命システム融合研究所（細田正恵助教）

3. 研究助成事業（別添資料1）

3-1 野口遵研究助成金

野口遵研究助成金は2009年度よりスタートし2020年度は12回目の助成を行った。本助成金は、国内の大学またはそれに準じる研究機関に所属する39歳以下の若手研究者を対象とし、ライフサイエンス、エネルギー・資源・環境、電子材料等の3分野で募集を行った。2019年度より、昨今の多様な勤務形態に対応するため、常勤である要件を応募条件から外し非常勤でも応募可能としている。2020年度は148件の応募の中から13件に助成金を贈呈し、2021年度も同規模の採択件数を考えている。

本助成金の採択者は12年間で延べ163人となった。過去の採択者のその後の調査では、職位の上がった研究者、各種の賞の受賞者も多くみられ若手研究者の研究を助成するという本助成金の趣旨にそった成果が得られつつある。

3-2 野口遵賞

2014年度に「野口遵賞」を新設した。「野口遵賞」の設置目的は、野口遵研究助成後、顕著な功績があり継続的な発展が期待できる研究を推進する研究者を更に支援することである。2020年度は7回目であり、2016年度および2017年度の採択者の中から選考し、京都大学大学院工学研究科寺島崇矢氏に贈呈した。

3-3 講演会

本研究助成事業の研究成果を広く公開するため野口遵研究助成金採択者に講師を依頼し講演会を毎年開催している。2020年度は、3名の講演をオンラインで開催したため多くの参加者があり盛会であった。

4. 人材育成事業

科学者の育成は当研究所の設立趣意書にも記載されている重要な使命の一つである。2020

年度は3名の卒業研究の指導を行った。また、非常勤講師として研究員3名を各大学に派遣し、化学系技術者の教育・育成活動に努めた。

(1) 学生の受け入れ

2020年度は東海大学から卒業研究生を2名と、北里大学から卒業研究生を1名受け入れ、下記のテーマにより研究・指導を行った。

<卒業論文研究テーマ>

- ・抗体の位置選択的修飾を指向した糖誘導体の合成研究
- ・テトラジン型リンカーを利用したクリック反応によるタンパク質の位置選択的修飾法の検討
- ・二分岐アジド PEG リンカーを有する糖オキサゾリンの合成と、その転移反応

(2) 教育活動

2020年度は下記の3名の所員が大学の非常勤講師として教育活動に携わった。

大隅 賢二：明治大学

山田 一作：明治大学

後藤浩太郎：駒沢大学、前橋工科大学

5. 研究の成果

(1) 特許出願関係

- ・国内特許出願 : 0件 (うち共同出願 0件)
- ・国内特許公開 : 2件 (うち共同出願 2件)
- ・国内審査請求 : 0件 (うち共同出願 0件)
- ・国内特許登録 : 5件 (うち共同出願 2件)
- ・PCT出願 : 1件 (うち共同出願 1件)
- ・外国特許出願 : 0件 (うち共同出願 0件)
- ・PCT公開 : 1件 (うち共同出願 0件)
- ・外国特許公開 : 0件 (うち共同出願 0件)
- ・外国特許登録 : 1件 (うち共同出願 0件)

(2) 学会発表 14件 (別添資料2)

(3) 誌上発表 7件 (別添資料2)

別添資料 1

(1) 2020 年度野口遵研究助成金採択者

| 助成金採択者 | 所属* | 研究テーマ名 |
|--------|-----------------------|---|
| 小林 裕一郎 | 大阪大学大学院理学研究科 | 超分子硫黄ポリマーの合成と材料への応用 |
| 矢崎 亮 | 九州大学大学院薬学研究院 | 極度の立体障害を有する非天然 α -アミノ酸を用いたボトムアップ型 PPI 創薬 |
| 北尾 岳史 | 東京大学大学院工学系研究科 | ナノ空間情報の転写に基づく新奇ナノカーボン材料の創製 |
| 高坂 亘 | 東北大学金属材料研究所 | キラリティー可変な多孔性配位高分子磁石の創製 |
| 山本 俊介 | 東北大学大学院工学研究科 | プリンタブル蓄電デバイスの開発：混合伝導性高分子を用いた電気二重層キャパシタ |
| 岩井 智弘 | 北海道大学大学院理学研究院 | 高分子トポロジー制御に基づく触媒デザイン |
| 神谷 由紀子 | 名古屋大学大学院工学研究科 | 構造情報に基づいた抗 RISC 核酸の設計基盤の開発 |
| 渡邊 翼 | 京都大学複合原子力科学研究所・白眉センター | 中性子を用いた高感度・高特異度で見逃しが少ない癌スクリーニング法開発 |
| 石井 佑弥 | 京都工芸繊維大学繊維学系 | バイオベースマテリアルからなる電界紡糸ナノマイクロ疑似圧電ファイバ膜の研究 |
| 二口 亜希子 | 東北大学加齢医学研究所 | エピトランスクリプトームによる革新的な緑内障病態の解明 |
| 中根 大介 | 電気通信大学基盤理工学専攻 | 宿主感染過程における細菌ドリル戦車運動のメカニクス |
| 吉井 一倫 | 徳島大学ポスト LED フォトニクス研究所 | 光トランジスターの実現 ー アト秒光ファンクションジェネレーターの新奇応用を拓く ー |
| 林 剛介 | 名古屋大学大学院工学研究科 | タンパク質化学合成を用いた高機能化抗ウイルス人工抗体の開発 |

*所属は応募時のもの

(2) 2020 年度野口遵賞受賞者

| 野口遵受賞者 | 所属 | 研究テーマ名 |
|-----------------------------|--------------|-------------------------------------|
| 寺島 崇矢 (2017 年度 助成金採択) | 京都大学大学院工学研究科 | 両親媒性高分子の自己組織化とセルフソーティングを基盤とする機能材料創成 |

(3) 2020 年度授賞式講演者

| 講演者 | 所属 | 演題 |
|-----------------------------|---------------------------|--|
| 高橋 幸奈 (2014 年度 助成金採択) | 九州大学カーボンニュートラル・エネルギー国際研究所 | 金属ナノ粒子の局在表面プラズモン共鳴を利用したナノスケール光エネルギー変換システムの開発 |
| 西野 智昭 (2013 年度 助成金採択) | 東京工業大学理学院化学系 | 伝導度計測に基づく単分子化学 |
| 高妻 篤史 (2012 年度 助成金採択) | 東京薬科大学生命科学部 | 電気で微生物を制御する “電気遺伝学”の将来展望 |

別添資料 2

(1) 学会発表 14 件

- ・ 第 68 回質量分析総合討論会 (2020. 5. 11-13) 1 件
- ・ 第 10 回 CSJ 化学フェスタ 2020 (2020. 10. 20-22) 1 件
- ・ 第 93 回日本生化学学会年会 (2020. 9. 14-16) 1 件
- ・ 第 39 回日本糖質学会年会 (2020. 11. 23、誌上発表) 8 件
- ・ 日本農芸化学会 2021 年度大会 (2021. 3. 18-21) 1 件
- ・ 第 17 回情報プロフェッショナルシンポジウム (2020. 7. 2-3) 1 件
- ・ トーゴーの日シンポジウム 2020 (2020. 10. 5) 1 件

(2) 誌上発表 7 件

Novel endo- β -N-

acetylglucosaminidases from *Tannerella* species hydrolyze multibranched complex-type N-glycans with different specificities.

Shou Takashima, Masaki Kuroguchi, Kenji Osumi, Shu-ichi Sugawara, Mamoru Mizuno, Yoshio Takada, Junko Amano and Akio Matsuda.

Glycobiology 30, 923-934 (2020).

The GlyCosmos Portal: a unified and comprehensive web resource for the glycosciences.

Issaku Yamada, Masaaki Shiota, Daisuke Shinmachi, Tamiko Ono, Shinichiro Tsuchiya, Masae Hosoda, Akihiro Fujita, Nobuyuki P. Aoki, Yu Watanabe, Noriaki Fujita, Kiyohiko Angata, Hiroyuki Kaji, Hisashi Narimatsu, Shujiro Okuda & Kiyoko F. Aoki-Kinoshita.

Nature Methods, 17, 649, (2020).

Preparation of O-

glycopeptides from commercial bovine whey proteins using offline liquid chromatography-Mass spectrometry.

Masaki Kuroguchi, Akio Matsuda, Mamoru Mizuno.

Carbohydr. Res., 491, 107981 (2020).

Crystal structures of fukutin-related protein (FKRP), a ribitol-phosphate transferase related to muscular dystrophy.

Naoyuki Kuwabara, Rieko Imae, Hiroshi Many, Tomohiro Tanaka, Mamoru Mizuno,

Hiroki Tsumoto, Motoi Kanagawa, Kazuhiro Kobayashi, Tatsushi Toda, Toshiya Senda,

Tamao Endo, and Ryuichi Kato.

Nat. Commun., 11, Article number 303 (2020).

The international glycan repository GlyTouCan version 3.0.

Akihiro Fujita, Nobuyuki P Aoki, Daisuke Shinmachi, Masaaki Matsubara, Shinichiro Tsuchiya, Masaaki Shiota, Tamiko Ono, Issaku Yamada, Kiyoko F Aoki-Kinoshita. Nucleic Acids Research, 49, D1529 (2020).

Enhanced validation of small-

molecule ligands and carbohydrates in the Protein Data Bank.

Zukang Feng, John D. Westbrook, Raul Sala, Oliver S. Smart, Gérard Bricogne, Masaaki Matsubara, Issaku Yamada, Shinichiro Tsuchiya, Kiyoko F. Aoki-Kinoshita, Jeffrey C. Hoch,

Genji Kurisu, Sameer Velankar, Stephen K. Burley, Jasmine Y. Young. Structure, 29, 393 (2021).

The Glycoconjugate Ontology GlycoCoO for standardizing the annotation of glycoconjugate data and its application.

Issaku Yamada, Matthew P Campbell, Nathan Edwards, Leyla Jael Castro, Frederique Lisacek, Julien Mariethoz, Tamiko Ono, Rene Ranzinger, Daisuke Shinmachi, Kiyoko F Aoki-Kinoshita.

Glycobiology, cwab013(2021).

庶務関係

1. 評議員会・理事会に関する事項

1-1 2020年5月26日 理事会開催

・決議事項

- ① 2019年度事業報告書(案)及びその付属明細書並びに計算書類(貸借対照表・正味財産増減計算書・付属明細書・財産目録)(案)の承認
- ② 理事10名の任期満了に伴う改選について、任期中の小宮山眞氏を除き小林宏史氏、入江辰則氏、白井博史氏、野崎貴司氏、松崎 修氏、大塚信之氏、内野正純氏、川崎俊之氏、杉 智和氏、向井克典氏10名の推薦を承認。
- ③ 定時評議員会開催の承認

・報告事項

- ① 業務執行状況報告
- ② 新資金運用手法導入の件

1-2 2020年6月12日 理事会開催

・決議事項

- ① 代表理事を互選により小林宏史氏を、業務執行理事を互選により杉智和氏、入江辰則氏を選任
- ② 常務理事を互選により杉 智和氏を選任

1-3 2020年6月12日 定時評議員会開催

・決議事項

- ① 2019年度事業報告書(案)及びその付属明細書並びに計算書類(貸借対照表・正味財産増減計算書・付属明細書・財産目録)(案)の承認
- ② 理事小宮山眞氏を除く、理事候補者の小林宏史氏、入江辰則氏、白井博史氏、野崎貴司氏、松崎 修氏、大塚信之氏、内野正純氏、川崎俊之氏、杉 智和氏、向井克典氏の計10名を選任。

1-4 2020年11月2日 理事、監事への報告

・報告事項

上場投資信託(ETF)の2020年上期の運用実績

1-5 2020年11月17日 臨時理事会

・決議事項

監事山本 宏氏より辞任の申し出があり、後任監事候補として山口正雄氏を推薦。

1－6 2020年11月24日 臨時評議員会開催

・決議事項

監事山本 宏氏の辞任に伴い後任監事に山口正雄氏を選任

1－7 2021年3月22日 理事会開催

・決議事項

2021年度事業計画書(案)並びに収支予算書(案)の承認

・報告事項

業務執行状況報告

2. 登記に関する事項

①2020年7月16日 新理事の杉 智和氏、向井克典氏の登記を完了

②2020年12月25日 新監事の山口正雄氏の登記を完了

3. 研究所の体制及び方針

理事の職務の執行が法及び定款に適合することを確保するための体制。

その他職務の適正を確保するための体制

当研究所が一般社団・財団法人法第90条第4項第5号、施行規則第14条に基づき、業務の適正を確保するための体制の整備につき、理事会で以下の通り決定している。

(1) 理事の職務の執行に係る情報の保存及び管理に関する体制

①評議員会、理事会、常任理事会の議事録を法令及び規程に従い作成し、適切に保存・管理している。

②経営、研究及び業務執行に係る重要な情報、決定事項、所内通達などは、所管部所で作成し、適切に保存・管理している。

(2) 損失の危険の管理に関する規程その他の体制

理事は、会計処理規程、安全衛生管理規程、購買管理規程等を遵守の上、所管する研究所内のあらゆるリスクに対する管理責任を負っている。

リスク管理については、コンプライアンス規程に適宜適切な対応が図れるように制度を整備、明確化している。

(3) 理事の職務の執行が効率的に行われることを確保するための体制

年2回の理事会の開催で、予算・決算を確定し、月2回の常任理事会において職務の執行が効率的に行われるようにしている。また、効率向上のため職務権限規程を作成し、使用人への権限委譲を行っている。

監事は、理事会への出席を通じ、理事の業務執行を監視している。

(4) 使用人の職務の執行が法令及び定款に適合することを確保するための体制

理事は、理事会が別途定める倫理規程の理念と規範に則り、「行動基準」の周知徹底を心がけ、コンプライアンス規程等諸規程に従い全使用人に

- よる職務執行が適正に行われるよう監督している。また、法令違反行為の防止等を目的に、コンプライアンス・ホットライン運営要綱を定めている。
- (5) 監事はその職務を補助すべき使用人を置くことを求めた場合における当該使用人に関する事項
- 総務部を監事の職務を補助すべき組織として位置づけている。
- (6) 前号の使用人の理事からの独立性に関する事項
- 前号の使用人が、監事から補助すべき業務についての指定を受けた場合において、当該業務の遂行に関し、理事からの指揮命令は及ばないものとしている。
- (7) 理事及び使用人が監事に報告するための体制その他の監事への報告に関する体制。
- 理事及び使用人は下記の事項を監事に報告している。
- ① 研究所に著しく損害を及ぼすおそれのある事実
 - ② 上記の他、監事はその職務遂行上報告を受ける必要があると判断した事項
- (8) その他監事の監査が実効的に行われることを確保するための体制
- 監事が、理事及び使用人からヒアリングを実施し、重要案件の決裁書の確認などにより、その権限が支障なく行使できる体制になっている。

4. 職員に関する事項

2021年3月末現在の在籍者は28名（前年度末28名）である（役員・顧問を除く）