

提出日：平成 30 年 6 月 22 日

平成 29 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

## (2) 研究成果の概要

課題名	抗体の動的高次構造解析を基軸とした糖蛋白質の構造研究手法の開拓		
研究代表者	氏名	加藤 晃一	
	所属機関名・部局名	自然科学研究機構 生命創成探究センター	
	職名		
事業名 (該当の事業名の右欄に○)		共同研究員	
	○	超高磁場NMR 共同利用研究課題	
		クライオ電子顕微鏡共同利用研究課題	
		客員フェロー	
蛋白研受入担当教員名	宮ノ入洋平		
<p>自然界に存在する蛋白質の約半数は糖鎖修飾をうけているが、そうした蛋白質の構造生物学研究は未だ立ち遅れている。申請者は動物細胞をはじめとする真核生物発現系を用いて糖鎖を含めた抗体の安定同位体標識技術確立しており、これをモデル系として糖蛋白質のNMR解析の可能性を追求してきた。糖鎖は蛋白質に比べて官能基の多様性が乏しいためNMRピークの重なり合いが激しい。抗体はまた高分子量（150kDa）の多ドメイン蛋白質であるため、TROSYや磁場配向を利用した計測が構造情報の取得に甚だ有効である。特に、観測周波数に依存した緩和解析を行うためには、申請者が管理運営している800MHz装置よりも有意に高い磁場での極低温プローブを用いた高感度計測が不可欠である。</p> <p>今年度は昨年度に引き続き、950MHzを用いた高感度計測によるマウス抗体のFc領域の帰属に取り組み、蛋白質主鎖をほぼ全て帰属するに至った。この結果に基づき、本来の機能発現の場である血清を含めた不均一混み合い環境下における抗体の計測・解析を実施することができた。また、蛋白質主鎖のみならず糖鎖部分の帰属も行うべく、計測と解析を行った。その結果、抗体のエフェクター機能に大きく影響を与える糖鎖のフコース部分を帰属することができた。そこで、Fcのフコースと蛋白質の相互作用を精査するべくNOESYの計測と解析を行なったところ、Fcのチロシン側鎖とフコースの間にNOEピークを観測することができ、チロシン側鎖とフコースがFc内で相互作用していることが示唆された。今後はチロシン側鎖とフコースの相互作用がFcの機能に与える影響の詳細を明らかにするべく、計測と解析を検討していく予定である。</p> <p>さらに、Fcと相互作用する標的分子であり、抗体のエフェクター機能に関わるFc受容体について、連鎖帰属を行うための3次元計測を実施し、主鎖シグナルの完全帰属を達成した。これにより、FcとFc受容体の相互作用を溶液中で精査するための基盤を整えることができた。</p> <p>本研究を通じて得られた研究成果は、抗体の溶液中での構造解析や、Fc受容体を介した機能発動メカニズムの構造基盤を与えるものである。そのため、本成果は抗体医薬をはじめ糖鎖修飾を伴う多くのバイオ医薬品の研究開発にも資するものと期待される。</p>			

※本様式は、“拠点事業成果報告”として、拠点ホームページにて公開させていただく予定です。

※必ずA4用紙1枚におさめて下さい。 ※提出期限：平成30年5月18日（金） ※提出の際はPDF変換して下さい。

※提出先：大阪大学蛋白質研究所拠点プロジェクト班 E-mail: tanpakuken-kyoten@office.osaka-u.ac.jp