

(様式 1-2)

提出日：2020 年 5 月 11 日

2019 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		NMR による抗体の構造動態と機能発現の関連機構の解明	
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	教授	
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	
抗体は Fc 領域において N 型糖鎖による修飾を受けており、その生物活性は糖鎖構造に強く依存することが知られている。そのため、抗体医薬の開発において、糖鎖修飾が活性に影響を与えるメカニズムの構造基盤を確立することは重要である。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。これまでヒトおよびマウス抗体の Fc 領域 (50kDa) について帰属に取り組んできており、主鎖を完全に帰属するに至った。しかしながら、糖鎖の 3 次元構造は溶液中で揺らいでおり、NMR シグナルの縮減も激しいため、抗体糖鎖の構造解析は一筋縄では行かない。そこで本研究では、糖鎖も含めた抗体の構造解析を推進するため、抗体の Fc 領域に結合した糖鎖の NMR 信号を帰属することを試みた。 ヒト抗体およびマウス抗体それぞれに糖鎖選択的に ^{13}C 安定同位体標識を施し、Fc 領域を取得した。得られたヒトおよびマウスの Fc 領域について、糖鎖を帰属するのに必要な一連の NMR 計測 (COSY, TOCSY, NOESY) を行なった。950MHz 超高磁場 NMR 装置を用いた高感度計測を行うことにより、帰属を進めるのに十分な良好な NMR スペクトルを取得することができた。得られたデータに基づき、Fc 領域の ^1H-^{13}C HSQC スペクトル上の信号の帰属を行なった。その結果、糖鎖の NMR 信号を全て帰属することに成功した。 また、水溶液中における IgG の構造ダイナミクスをナノ秒からミリ秒オーダーに至る分子運動を原子レベルで明らかにするために、抗体分子に常磁性プローブを導入することを試みた。Fc 領域に特異的に結合するペプチドを活用することで、効率的にプローブを導入することに成功した。ただし、プローブ導入に伴う目的糖蛋白質の溶解性の低下がみとめられるので、その改善が今後の課題である。 本研究で得られた成果は、抗体医薬の高機能化を加速し、薬学的応用を視野に入れた抗体の分子構造の設計・改変に重要な指針を与えることが期待される。			