

2021 年度 大阪大学蛋白質研究所 拠点事業

研究成果報告書

(1) 事業名 (下記より該当事業名を選択し、ほかは削除して下さい。)

超高磁場 NMR

(2) 研究代表者

氏名：加藤晃一

所属機関名・部局名・職名：自然科学研究機構生命創成探究センター（分子科学研究所）・生命動秩序創発研究グループ・教授

(3) 研究課題名 (申請時に記載したものと同一課題名を記入して下さい。)

抗体の動的構造および相互作用の *in situ* 解析

(4) 蛋白質研究所受入担当教員

教員名：宮ノ入洋平

(研究室名：高磁場 NMR 分光学研究室)

(5) 研究成果の概要 (公開)

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を確立してきており、特に抗体のFc領域についてその糖鎖部分と蛋白質部分のNMR信号の帰属を達成している。これにより、NMR信号をプローブとして、溶液条件の変動や分子構造の改変が抗体の動的な高次構造や相互作用に与える影響を詳細に調べる基盤を整えている。バイオ医薬品としての抗体の製造・開発の過程においては pH、温度、アミノ酸配列や糖鎖構造の改変など様々な摂動が抗体の高次構造や機能に影響をもたらすことが想定される。そこで、本研究では帰属の確定したNMRを利用してこれらの摂動が抗体の蛋白質および糖鎖の動的立体構造に与える影響を評価した。

昨年度にマウス抗体をモデル系として開発したアプローチ法を基盤に、本年度は、抗体医薬として用いられているヒトIgG1のFc領域の動的構造に糖鎖が及ぼす影響を精査した。そのために、糖鎖非還元末端の構造（ガラクトシル化やフコシル化の有無）が異なるFcについて、NMR分光法と分子動力学計算を用いた解析を行なった。効率的に試料調製とスペクトル解析を実現するための真核生物由来の発現系を活用した同位体標識技術の改良を行なうとともに、Fc領域の全域にプローブを設けることで、NMRを用いた原子レベルでの動的構造解析の高度化を行なった。得られた結果を分子動力学シミュレーションと合わせて解釈することで、抗体分子内に張り巡らされたアロステリックネットワークを明らかにすることが期待される。

また、抗体をはじめとする糖蛋白質の働く主な舞台は血液の中であり、高純度に精製された環境では想定できないような影響が存在する。血中における生体分子の機能発現メカニズムを正しく理解するために、本来の作動環境に近い複雑な多成分系において分子の高次構造・ダイナミクス・相互作用の実態解明に取り組んだ。