

（様式 1-1）

提出日：2025 年 5 月 9 日

2024 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、ほかは削除してください。）

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）・生命動秩序創成研究グループ・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ください。）

抗体の非標識 NMR 計測法の開発と応用

（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

*背景および目的、方法と結果について、公開して差し支えない範囲で記載。

免疫グロブリン G1 (IgG1) は最もバイオ医薬品として利用されている抗体の形態である。近年、微細な構造の違いに対する高い感度と、高い計測の再現性のために、抗体医薬の品質評価において NMR を利用することが国内外で検討されている。しかしながら、抗体医薬品の NMR 計測を行う上では2つの問題点がある。一つは、分子質量が 150kDa と NMR で計測するには比較的大きな分子であることである。これを解決するために、計測や解析において種々の工夫が必要である。もう一つは、バイオ医薬品が天然存在比の安定同位体を含む非標識状態であり、NMR 計測において不利な状態での計測となることである。そこで、本研究では、抗体を非標識状態で NMR 計測をおこない、構造を評価するための手法の開発と応用に取り組んだ。

これまで申請者は、真核細胞発現系を用いた糖蛋白質の安定同位体標識技術を開発してきており、安定同位体標識技術に基づく試料作成・NMR 計測・解析によって IgG の Fc 領域の NMR 信号の帰属を行ってきた。ここでは特に、高分子量蛋白質を対象とした場合でも明瞭な信号を与えるメチル基に着目し、計測・解析を実施した。その結果、IgG の Fc 領域に由来するほぼすべてのメチル基に由来にする NMR 信号を帰属することに成功し、非標識の Fc 領域についてもアミノ酸残基や糖鎖構造の違いによる構造変化を部位特異的に捉えることができた。一方、医薬品として用いられている Fab 領域についても NMR 解析に着手し、まずは主鎖に由来する信号の帰属に着手した。Fab 領域は重水素標識が可能である。これを利用して NMR 信号の幅広化を抑えることで、良質な NMR スペクトルを取得することに成功した。さらに、Fab を構成する C_L ドメインについて一連のアイソフォームを組み換え蛋白質として作出し、それらの主鎖と側鎖の信号を完全に帰属することができた。これにより、Fab 定常領域のメチル基に由来する信号の帰属が加速された。このように、安定同位体標識抗体で得られた情報に基づき、非標識 IgG の計測・解析の基盤を構築することができた。