

提出日：平成 29 年 5 月 18 日

平成 28 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		抗体の高次構造解析に基づく、高分子量糖タンパク質の構造解析法の開拓
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 岡崎統合バイオサイエンスセンター
	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		藤原敏通
<p>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認しており、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、ヒトIgG1のFcについては主鎖を完全に帰属するに至った。しかしながら、連鎖帰属に必要な3次元スペクトルの質は800MHzのクライオプローブ付きNMRを持ってしても十分ではなく、HNCACB, CBCACONH, HNCACOなどの計測において、観測できないシグナルが多数存在する。このような場合、帰属にはアミノ酸選択的標識など標識にも工夫を施した多重の試料調製と計測が必要とされるため、多大な時間とコストを要する。また、帰属のみならず、立体構造決定やその他の精密構造解析を行おうとした場合、既に取得したスペクトルの質では十分ではない。そこで、本研究課題ではFc領域の完全帰属、立体構造決定のために高磁場NMR、non-uniform-samplingによってスペクトルの質の改善を図ることを目的とした。</p> <p>マウス抗体のFc領域は抗体からの切断の仕方でスペクトルが異なることが知られており、切断の難しさから、これまではSS結合が還元処理されたFc領域を帰属に用いていた。本研究ではより天然型に近い構造を有するFc領域を用いて、帰属を試みた。一週間のマシンタイムを用い、HSQC, HNCA, HNCOCAの計測を行う事ができた。HSQC, HNCAについては帰属に十分な質のデータを獲得することが出来たため、これまで計測を行ってきたSS結合が還元処理されたFc領域のデータを合わせて、マウスのFc領域の帰属を行ったところ、9割以上のピークを帰属するに至った。</p> <p>より完全な帰属を目指すためには不足しているデータの計測が必要である。HNCOCAは積算が不足しており、十分なスペクトルを得るためにはより長いマシンタイムが必要である。HNCO, HNCACOのデータも合わせて取得することで、より高い帰属率を目指したい。Fc領域の主鎖NMRシグナルが十分に帰属された暁には、Fcと血中分子の相互作用解析を効率的に進めることができる。</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 29 年 5 月 19 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