

提出日：2019年 5月 17日

平成 30 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		糖鎖修飾に依存した抗体の活性発現機構に関わる動的構造の解明
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
<p>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。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、構造解析は一筋縄では行かない。申請者らは NMR 計測と分子動力学 (MD) 計算を組み合わせることで、抗体の糖鎖とそれを取り巻くアミノ酸残基について、分子局所の精密なダイナミクスの情報を得て、糖鎖修飾が抗体の活性に影響を与える仕組みを明らかにすることを目的とした。</p> <p>特に、フコース残基は Fcγ 受容体 III (FcγRIII) との結合を介した抗体依存性細胞傷害 (ADCC) 活性に大きな影響を与え、これを取り除くと FcγRIII への親和性が高まり、ADCC 活性が劇的に向上する。免疫グロブリン G (IgG) の Fc の結晶構造に基づいた MD シミュレーションを行い、Fc 結合糖鎖のフコース残基の有無による Fc の構造ダイナミクスの変化を精査した。そして、MD 計算の結果を検証するために NMR 計測を行った。</p> <p>MD 計算の結果において、Fc 結合糖鎖のフコース残基の有無によって、FcγRIII との相互作用に重要な Tyr296 残基の構造ダイナミクスに差異を見出した。すなわち、フコシル化 Fc における Tyr296 の側鎖芳香環はフコースの間で特異的な相互作用を形成し、FcγRIII との相互作用に不利な配向に固定される傾向にあることが明らかとなった。NMR 解析を行ったところ、フコースと Tyr296 の側鎖芳香環の間で NOE が観測され、シミュレーションの結果を実験的にも裏付けることができた。一方で、非フコシル化 Fc においては Tyr296 の芳香環は多様な配向をとることが可能であり、FcγRIII と結合に有利な配向を高頻度で取り得ることが明らかとなった。そこで、Tyr296 残基の配向と相関関係が見られた Ha、Hβ の距離について、NMR の NOE シグナルを指標として定量的に解析した。[CO, α, β, γ, ϵ1, ϵ2-13C$_6$; δ2, δ1, δ2-2H$_3$; 15N]Tyr を用いた代謝標識を施した Fc を用いて超高磁場 NMR 計測を行った結果、MD 計算で見出された脱フコシル化に伴う Tyr296 の配向の変化を実験的に裏付けることができた。これにより、Fc 結合糖鎖のフコース残基が FcγRIII との相互作用に影響を及ぼす仕組みの一端が明らかとなった。</p>		