

(様式 1-2)

提出日：2021 年 5 月 11 日

2020 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	超高磁場 NMR を利用した糖鎖修飾に依存した抗体の構造ダイナミクスの解明および抗体医薬のレギュレトリーサイエンスの展開に向けた技術基盤構築	
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>抗体の分子中には、抗原、補体、受容体など様々な分子との相互作用部位が配置されており、しかも、それらの部位の間の働きを連携させる仕組みが存在する。申請者は、ダイナミックな構造変化を通じて抗体分子中の相互作用部位の間の連関が制御されているものと考えている。こうした抗体の柔構造の中には未知の相互作用部位が潜在している可能性もある。しかしながら、抗体分子の立体構造データの多くは、結晶構造解析によってもたらされたものであるため、その動的構造に関する情報を得ることは本質的に困難であり、とりわけ分子内の遠位の部位の間の機能相関に関する構造情報は失われている。これに対して申請者は、水溶液中における生体高分子の動的構造を原子レベルでもたらず核磁気共鳴(NMR)分光法を応用して、抗体の高次構造研究に長年にわたって取り組んできている。特に動物細胞培養系を利用した糖タンパク質の安定同位体標識技術と超高磁場 NMR を活用することによって、抗体の Fc フラグメントの主鎖および糖鎖に由来する NMR 信号の帰属を達成し、その動的構造解析を行う基盤を整えている。</p> <p>今年度はこれまでに確立した NMR 信号の帰属をもとに、抗体に対する様々な摂動や分子修飾の影響を水溶液中において評価するとともに、溶液環境の摂動に伴う抗体の構造変化をモニターするプローブをより充実させることを目指した。抗体の Fc に結合している糖鎖は構造不均一性があり、そのことが抗体の機能と密接に関係している。NMR 計測と分子動力学計算を組み合わせ、糖鎖のマイクロ構造の変化がアロステリックな構造変化を通じて分子のマクロ構造に影響を及ぼすことを明らかにした。さらに、抗体の環境摂動に伴う構造変化をモニターするためのプローブを一層充実させるため、側鎖シグナルに帰属を拡張した。特に、メチル基の信号に着目し、立体選択的な安定同位体標識を活用して Fc 領域の Val 残基の側鎖シグナルの立体特異的な帰属を行なった。ひとたび帰属の確定したメチル信号は天然存在比における NMR 計測にも応用することが可能である。今後は側鎖の帰属をすべてのメチル基を有するアミノ酸残基を対象に拡張する。これにより、抗体医薬の品質評価において NMR を利用する道が広がることが期待される。</p>		