

2022 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。)

客員フェロー

(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。)

蛋白質の柔構造を探索するための超高磁場 NMR を基軸とした統合的構造解析手法の開発と応用

(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 分光光学研究室)

(5) 研究成果の概要 (公開)

***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 1 ページ以内で記載。**

人工知能による深層学習に基づいた蛋白質の立体構造予測の精度が飛躍的に向上しており、アミノ酸配列から蛋白質やその複合体の 3 次元構造を正確に予測できるようになっている。しかしながら、構造柔軟性を持つマルチドメイン蛋白質、天然変性蛋白質、および糖蛋白質等は、内部運動の自由度の高さ、過渡的構造の多形性、また糖鎖修飾の多様性といった複雑性を有しており、実験で得られる情報を伴わずにこれらの蛋白質研究を行うことは現時点では困難である。本研究では、これらの蛋白質を対象とした NMR 解析手法の開発に取り組むとともに、これを応用して動的構造情報の取得を行なった。特に、抗体のアミノ酸残基及び糖残基のマイクロ情報を抽出するのに特化した高度に選択的な安定同位体標識を開発し、超高磁場計測を通じて観測される NMR パラメータを駆使して、精密構造解析を実施した。そのために、高度に選択的な安定同位体標識技術を活用した NMR 研究に精通した宮ノ入博士の協力のもとで、蛋白質研究所の超高磁場溶液 NMR 装置を利用した。具体的には、抗体の Fc 領域について、NMR 信号のメチル領域の帰属とユビキチン鎖のドメイン選択標識に取り組んだ。抗体の Fc 領域については特に糖鎖とアミノ酸残基側鎖に部位選択的な安定同位体標識試料を作成し、観測されるピークを帰属するための三次元 NMR 計測を様々な磁場で実施した。ユビキチン鎖については、テトラユビキチン鎖をドメイン選択的に標識することに成功するとともに、変異によるドメインの構造変化を評価した。こうした溶液 NMR による計測を基軸に、固体 NMR 解析や結晶構造解析、電子顕微鏡解析といった構造解析手法も併用し、マルチドメイン蛋白質および糖蛋白質といった高難易度のターゲットに関する構造研究を展開した。