

(様式 1-1)

提出日：2024 年 月 日

2023 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。)

蛋白質の柔構造を精密探査するための超高磁場 NMR を基軸とした統合的構造解析の応用展開

(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 (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。**

人工知能の活用によって蛋白質の立体構造予測の精度が飛躍的に向上したが、糖蛋白質、天然変性蛋白質、マルチドメイン蛋白質等の構造柔軟性を有する蛋白質の構造研究を行うためには、NMR をはじめとする実験的アプローチが不可欠である。本研究は、超高磁場 NMR を基軸としつつ、高速原子間力顕微鏡 (HS-AFM) をはじめとする多角的な生物物理学的観測手法と計算科学的方法を統合的に活用することで、こうした構造解析難度の高い蛋白質の柔構造を精密探査することを目的とするものである。まず、前年度に引き続き、宮ノ入博士の協力のもとで抗体蛋白質の精密な微細構造情報を抽出するためのテーラード同位体標識法の開発と応用に取り組んだ。免疫グロブリン G (IgG) の Fc 領域を対象に、糖鎖に官能基選択的な安定同位体標識を施すと同時に、アミノ酸残基側鎖に立体選択的な安定同位体標識を導入し、これらに由来する NMR 信号をプローブとして糖鎖構造の変化に伴う糖蛋白質分子のダイナミクスの変化を捉えることができた。さらに、IgG の Fab 領域の中に秘められたエフェクター分子の結合サイトを探査するとともに、非標識 IgG 試料を用いて分子のマイクロ情報を抽出するための方法を開発し、バイオ医薬品の品質評価方法の基盤を整えることができた。一方、プロテインジスルフィドイソメラーゼの基質結合部位が酸化還元状態に応じてドメインの相対配置を変化させることを利用して、細胞内の酸化還元環境を検知する FRET バイオセンサーを創成した。また、アミロイド B (Aβ) の線維形成メカニズムに関しても研究を進め、ガングリオシド GM1 を含む膜上に形成されるユニークな Aβ 集合体の構造、線維伸長末端における Aβ 分子挙動と特異抗体の相互作用、溶液 pH や重力等の外的因子が線維形態に及ぼす効果などを明らかにすることができた。