

分子・物質合成プラットフォームにおける利用成果 高磁場NMR装置を利用した抗体の高次構造解析

^a名古屋市立大学大学院薬学研究科, ^b分子科学研究所／岡崎統合バイオサイエンスセンター

矢木宏和^a, 佐藤匡史^a, 加藤晃一^b

【目的】

自然界に存在するタンパク質全種類のおよそ半数以上は糖鎖による修飾を受けているといわれており、糖鎖は疾患予防・治療のための有望な標的となっている。また、免疫反応において重要な役割を担う抗体分子は糖タンパク質であり、抗体医薬に代表されるバイオ医薬品の開発・生産においても、糖鎖の取り扱いが重要な課題となっている。本研究では、抗体分子である免疫グロブリンG (IgG) をモデル糖タンパク質として、植物などの生物基材を利用して糖タンパク質を大量に調製するとともに安定同位体標識を施す方法を開発し、NMR法を用いてその高次構造解析に取り組んだ。

【成果】

哺乳類細胞の培養系を用いて安定同位体標識を施したヒトIgG1のFc領域について、NMRシグナルの帰属を行った。通常IgG-Fcのような巨大タンパク質の構造解析には困難を伴うが、高磁場NMR装置を利用することで高分解能のスペクトルを得ることができた。また、多次元NMR解析やアミノ酸選択的標識法を駆使し、その帰属に成功した(図)[1]。こうして得られたNMR信号をプローブとして利用することにより、溶液中における糖タンパク質の高次構造情報を容易に取得することが可能となった。

異なる生産基材を用いて発現したタンパク質は、発現基材に依存した糖鎖が付加されることから、タンパク質の構造が正しく保たれているかを評価する方法の樹立が望まれている。私たちは、様々な生物基材を利用して糖タンパク質を大量に調製するとともに安定同位体標識を施す方法を開発している[2]。例えば、硝酸アンモニウムと硝酸カリウムのみを窒素源とする環境で遺伝子組み換えタバコを水耕栽培することにより、安定同位体標識を施したIgGを大量に調製することに成功した(産業技術総合研究所・松村博士との共同研究)。植物で発現したIgGと動物細胞で発現させたIgGのFc領域のNMRスペクトルを比較したところ、糖鎖の付近の構造が影響を受けているものの、両者の立体構造は大部分保持されていることが明らかになった(図)[3]。

[1] H. Yagi. *et al.*, *Biomol. NMR Assign.* 9, 257-260 (2015).

[2] H. Yagi. *et al.*, *J. Biomol. NMR* 62, 157-167 (2015).

[3] H. Yagi. *et al.*, *Plant Cell Rep.* 34, 959-968 (2015).

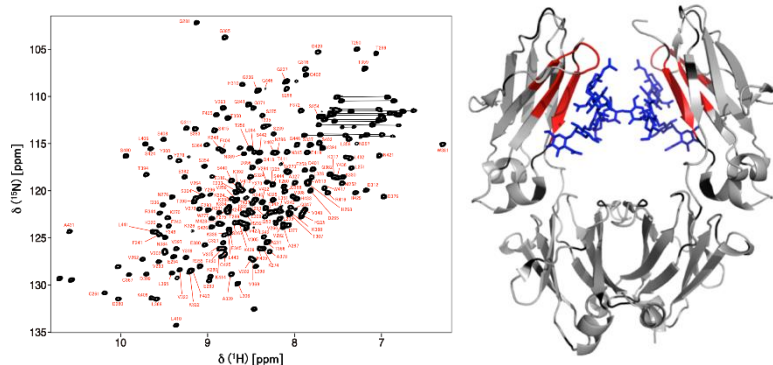


図. (左) 動物細胞由来のIgGのFc領域の¹H-¹⁵N HSQCスペクトル。
(右) 動物細胞およびタバコ由来のIgG-Fcの間で化学シフトが異なる部位を立体構造上にマッピングした(赤色)。