

2023/7/23

## 糖たんぱく質の構造解析のための高磁場での既存技術評価

自然科学研究機構 岡崎統合バイオサイエンスセンター  
生命動秩序形成研究領域  
加藤晃一

### 1. 成果の概要 (1~2 ページ)

#### 実施内容

自然界に存在する蛋白質の約半数は糖鎖修飾をうけているが、そうした蛋白質の構造生物学研究は未だ立ち遅れている。私たちは動物細胞をはじめとする真核生物発現系を用いて糖鎖を含めた抗体の安定同位体標識技術を確立しており、これをモデル系として糖蛋白質のNMR解析の可能性を追求してきた。超高磁場利用技術ワーキンググループでの提案のための基礎情報を得るために、既設の 900 MHz NMR を中心とした装置で、磁場の有効性と、必要な工夫を明確にすることに取り組んだ。分子量が大きい(5万)糖たんぱく質をモデルとし、試料条件(溶液組成、温度、試料管形状)についての評価とパルスシーケンスの選択の評価を行なった。

#### 本課題により得られた成果、当初目標と結果との比較

本提案でのモデル糖たんぱく質は分子量5万のマウス免疫グロブリン G(IgG)の Fc 領域である。Fc は動物細胞培養によって安定同位体標識を施しており、 $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$  の標識は可能であるが、全体を  $^2\text{H}$  標識することは困難を極める。 $^2\text{H}$  標識されていない高分子量のタンパク質の主鎖帰属において TROSY(横緩和最適化)法が有効かを試した。また BEST(帯域選択励起短時間計測)法が有効かを試した。これらの情報をもとに、将来の超高磁場での最適な試料と測定の実験法を外挿して予想した。これらの検討を経て、帰属に十分な質のデータを獲得することができ、マウスの Fc 領域の主鎖と糖鎖の信号について、ほぼ完全にピークを帰属するに至った。加えて、Fc に部位選択的に重水素標識を施すことにも取り組み、これにより、一部の側鎖信号についても帰属を進めることができた。これらの情報に基づき、Fc 糖鎖のグリコフォームの変化に伴う、主鎖と糖鎖の NMR 信号変化を追跡し、Fc の構造にグリコフォームが及ぼす影響を明らかにした。さらに、血清中の Fc の信号を観測し、血清成分と Fc とが相互作用することを明らかにした。

#### 今後の展開、課題

Fc 領域の主鎖 NMR シグナルは十分に帰属されたが、側鎖シグナルについては帰属が不十分である。今後は側鎖帰属と立体構造情報の取得、さらには帰属に基づいた種々の動的構造変化の解析へと応用していく予定である。

## 2. 利用における感想(改善要望等を含む)

理化学研究所の計測、解析における密な情報提供・支援体制により、研究の展開が加速され、効率的に成果発表まで至ることができ、大変感謝している。

## 3. 利用周辺環境に関する希望

遠隔計測システムが導入されることを期待する。

## 4. 今後の利用予定

なし

## 5. 今後期待するその他のサービス

遠隔からの計測サービスの提供を期待する。

## 6. その他

## 7. 利用実施時期及び期間

2016年 4月 1日 ~ 2017年 3月 31日

当初計画どおり

## 8. 利用研究基盤

溶液 900MHz 2017年 2月 28日 ~ 3月 6日 (1週間)