

30-0019 W28-7

グライコフォームの変化に伴う IgG-Fc の高次構造変化の NMR 解析

○長野 真弓¹, 西村 真美子¹, 山口 芳樹¹, 高橋 禮子¹, 内田 和久², 設楽 研也², 加藤 晃一^{1,3,4,5} (¹名市大院薬, ²協和発酵工業(株), ³分子研, ⁴理研 GSC, ⁵グライエンス)

【目的】免疫グロブリン G(IgG)の Fc フラグメントの H 鎖 297 番目のアスパラギン残基に結合している二本鎖複合型糖鎖は、Fc γ レセプター(Fc γ R)に対する結合に寄与し、抗体依存性細胞傷害 (ADCC) 活性に影響を及ぼす。したがって、抗体医療において Fc 結合糖鎖を考慮することは極めて重要である。われわれは、Fc 結合糖鎖の機能を構造生物学的な観点から理解するため、NMR を用いてヒト IgG1 およびマウス IgG2b の Fc の高次構造解析を行った。

【方法】全ての炭素源と窒素源をそれぞれ ¹³C と ¹⁵N で標識された化合物で置換した無血清培地中で抗体産生細胞を培養することにより、ポリペプチド鎖と糖鎖が ¹³C および ¹⁵N で均一に標識された IgG を調製した。また、アミノ酸残基タイプ別あるいは糖残基タイプ別に選択的に安定同位体標識を施した IgG を多種類調製した。これらの IgG より Fc フラグメントを単離して、NMR 測定に供した。

【結果】各種多次元 NMR スペクトルと選択的安定同位体標識試料を用いて得られた NMR スペクトルを組み合わせることにより Fc の主鎖シグナルの帰属を行った。これらのシグナルをプローブとして、糖転移酵素を用いた糖鎖非還元末端へのガラクトース、シアル酸残基の付加、および各種グリコシダーゼ、グリコアミダーゼを用いた糖鎖のトリミング・除去に伴って、Fc に誘起される動的な高次構造変化を追跡することが可能となった。これにより、Fc 結合型糖鎖の機能発現機構を解明する基盤が整った。