

実施課題名: 化学合成した糖タンパク質の構造解析

【背景】近年、中分子タンパク質の創薬が活発になっている。またそれらペプチド、タンパク質は化学合成されているものも多く、その3次構造を解析する必要がある。しかし、そのペプチド、タンパク質のほとんどは非標識となるため、簡便な解析法が必要となる。これまでも¹Hを中心としたリゾチーム等の構造解析は実施されているが、容易ではない。さらには、糖鎖などが結合した高純度糖タンパク質の構造解析は、実施されていない。本申請では、均一な構造の糖鎖を持つタンパク質(アミノ酸100残基程度)を化学合成し、その3次構造解析を目指す

【実施内容】アミノ酸が40残基からなる糖結合性タンパク質ならびに、糖鎖が結合し50残基程度の2つのヘリックス構造からなる中分子サイズのペプチドの構造解析を実施した。各サンプルを重水—軽水5:95に溶解し、DIPSI, NOESY, COSY, HSQC, HSQC-DIPSI, HSQC-NOESYを測定した。HSQC系の測定は比較的よい分離を示し、ほぼ全ての¹H, ¹³Cシグナルの帰属ができた。現在、NOEの詳細な解析を検討しており、終了後CYANAによる3次構造の解析を実施する。

Fig. 1

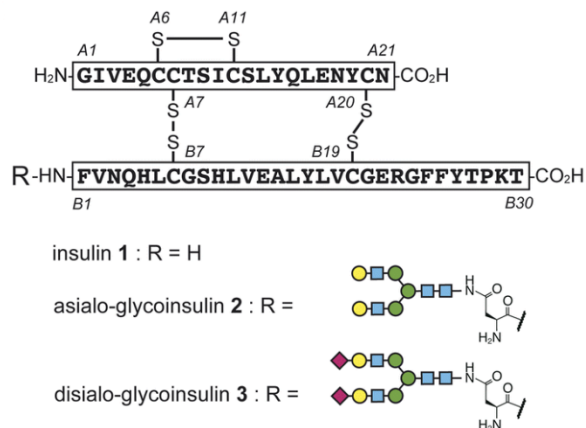


Fig.1 構造解析に利用した糖ペプチド

Fig. 2

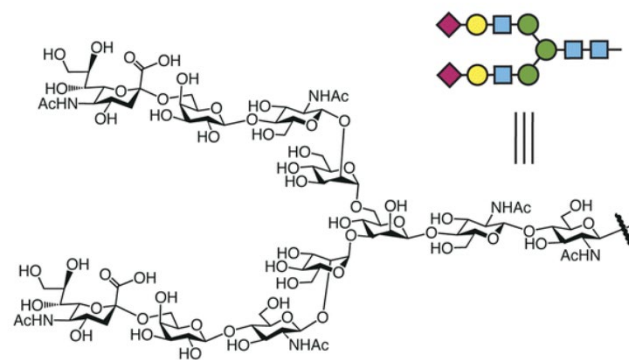


Fig.2 糖鎖構造

NMR プラットフォーム
実施課題 利用報告書

課題受付番号	PF25-01-090			
利用課題名	化学合成した糖タンパク質の構造解析			
所属機関	大阪大学			
所属部署	理学研究科 化学専攻			
役職・氏名	役職	教授	氏名	梶原康宏
利用実施時期、及び期間	2025 年 7 月 1 日～2025 年 7 月 8 日 950MHz 2026 年 3 月 11 日～2026 年 3 月 16 日 950MHz 故障のため 800MHz 総利用日数: 14 日 ☒ 当初計画どおり・ ☐ 当初計画変更 (変更理由)			

1. 本課題の概要・目的

近年、中分子タンパク質の創薬が活発になっている。またそれらタンパク質は化学修飾されており、3 次構造を解析する必要がある。しかし、そのタンパク質のほとんどは非標識となるため、簡便な解析法が必要となる。これまで 1H を中心としたリゾチーム等の構造解析は実施されているが、容易ではない。さらには、糖鎖などが結合した高純度糖タンパク質の構造解析は、実施されていない。本申請では、均一な構造の糖鎖を持つタンパク質(アミノ酸 100 残基程度)を化学合成し、その 3 次構造解析のため、種々の測定法(DIPSI, NOESY, COSY, HSQC, HSQC-DIPSI, HSQC-NOESY)を実施する。今後の創薬分薬、基礎研究分野で、これらタンパク質分子が NMR で解析できるようになるとそれら研究が飛躍的に向上する。本申請実験では、アスパラギン、セリン・トレオニンに糖鎖が結合した糖タンパク質の構造解析を検討する。

2. 成果の概要

実施内容

アミノ酸が40残基からなる糖結合性タンパク質ならびに、糖鎖が結合し 50 残基程度の2つのヘリックス構造からなる中分子サイズのペプチドの構造解析を実施した。各サンプルを重水—軽水 5:95 に溶解し、DIPSI, NOESY, COSY, HSQC, HSQC-DIPSI, HSQC-NOESY を測定した。HSQC 系の測定は比較的よい分離を示し、ほぼ全ての 1H, 13C シグナルの帰属ができた。現在、NOE の詳細な解析を検討しており、終了後 CYANA による3次構造の解析を実施する。

本課題により得られた成果と当初目標との比較

高分解の NMR を利用できたために期待した測定結果が得られている。今後は、各シグナルの帰属を再確認し、NOE 情報をもとに3次構造確定を目指す。

成果発表

2026 年度を目処に論文投稿を行う予定である

今後の展開

今後、いろいろな構造の糖鎖をもつ糖タンパク質を合成する予定であり、今回のような高分解能 NMR を利用させてもらえば、構造解析が十分可能であることがわかった。糖タンパク質を順次合成し、NMR 測定を実施したいと考えている。そして、糖鎖がタンパク質上でどのような挙動をとっているか解析する予定である

3. 社会・経済への波及効果の見通し

本測定法は、基本的な測定法を利用しているが、複雑な糖鎖が結合しても、その糖鎖とペプチド部位を分離させて解析できることがわかった。現在、ペプチド創薬が世界的に広範に展開されるようになっており、ペプチド業界での本手法による解析は大きな貢献をすると期待できる。

4. 利用における感想(改善要望等を含む)

大変親切な対応をいただき感謝しております。希望する改善点等は全くありません。

5. 今後の NMR プラットフォームに対する期待

本測定例は、基礎研究、創薬研究に貢献できるので、引き続き大型 NMR を使わせていただければと思います。

6. 成果公開延期の希望の有無

() あり : (○) なし

「あり」の場合理由:

7. その他

連携・人材育成利用枠としても使用した (申請番号 PF21-05-001)

8. 利用施設

大阪大学

溶液 950MHz

2025 年 7 月 1 日～2025 年 7 月 8 日 950MHz

2026 年 3 月 11 日～2026 年 3 月 16 日 950MHz 故障のため 800MHz

9. その他の利用施設