

抗体を用いた 膜タンパク質結晶化技術の確立

代表機関：京都大学大学院医学研究科

代表研究者：岩田 想

背景

- 膜タンパク質を生体膜から溶かしだすのに使われる界面活性剤は、結晶化を阻害する
- 膜タンパク質の特定の部位に結合する抗体を使うと、結晶化を促進できる

成果

- 哺乳類由来の膜タンパク質に対し、高い親和性をもつ抗体を効率よく作製する技術を確立
- 膜タンパク質と抗体の複合体では結晶化が促進され、単体結晶に比べ分解能が向上した

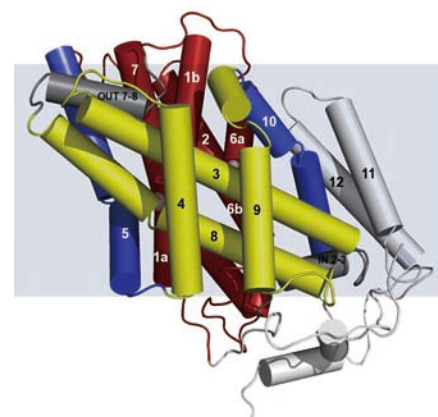
膜タンパク質の構造解析が難しい原因の1つは、結晶化の過程にあります。タンパク質を結晶化させるためには、いったん水に溶かす必要があります。膜タンパク質は水に溶けにくい領域が多いため、界面活性剤を使用しますが、この界面活性剤の集合体（ミセル）が膜タンパク質を覆うため、結晶ができにくくなってしまいます。

この問題を解決するため、私たちは、膜タンパク質の特定部分に結合する抗体を利用する方法を世界で初めて試み、1995年に細菌の膜タンパク質の結晶を得て構造解析を成功させました。抗体が結合することで膜タンパク質の一部が安定化し、水に溶けやすい部分が広がるため、結晶化しやすくなるのです。そこで、本課題では、この技術をあらゆる膜タンパク質に適用することを目指して開発を進め、目標を達成することができました。

抗体はマウスの免疫機構を用いて作製し

ます。従来は、膜タンパク質の精製標準品や部分オリゴペプチドを抗原としてマウスに与え、抗体を作製していました。しかしこの方法では、哺乳類由来の膜タンパク質に対して親和性の高い抗体を得るのは困難でした。そこで、膜タンパク質を、細胞膜でのかたちを保持したまま、マウスに与えることのできる技術を開発しました。この技術によって、ターゲットとする膜タンパク質ごとに、その立体構造を認識する抗体を効率よく作製することが可能になりました。さらに、マウスのつくる抗体の中から、目的の抗体を選び出すためのスクリーニング技術を開発し、時間的およびコスト的な問題を改善しました。

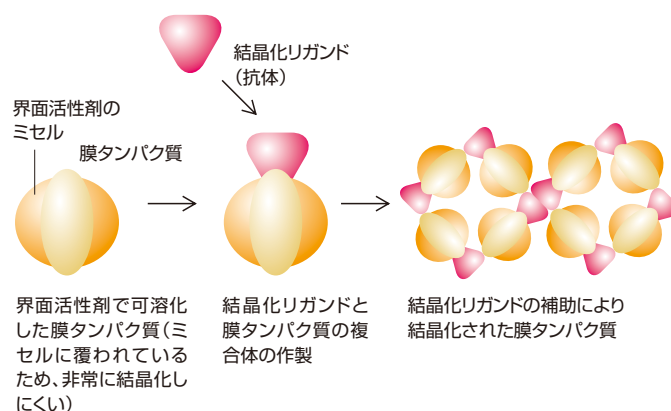
開発した技術により、実際に、数種の哺乳類由来の膜タンパク質に対して親和性の高い抗体をつくることに成功しました。一部については、膜タンパク質と抗体の複合体を結晶化して構造解析を行い、抗体を使



ヒダントイン輸送体 (Mhp1) の構造。輸送機構が解明され、ヒトの神経疾患の病態解明や治療法の開発につながる可能性もある。
図版提供：岩田 想

用しない場合に比べてずっと高分解能で解析できることを確かめました。

開発した技術を生かして、新たなタンパク質の構造決定にも取り組んでいます。その1つとして、ミクロバクテリウムという細菌の細胞膜にあるヒダントイン輸送体 (Mhp1) の構造を解析し、それに基づいて輸送のメカニズムを明らかにしました。ヒトの神経伝達物質輸送体も、同様のメカニズムをとっていると考えられていることから、この知見はヒトの神経疾患の病態解明や治療法の開発につながる可能性があります。



抗体を用いた膜タンパク質の結晶化の原理。抗体が結晶化リガンド（結晶化の際に特定のタンパク質部分に結合する物質）の役割をする。

図版提供：岩田 想