

3D ドメインスワッピングに重要なアミノ酸に着目した多量化抗体軽鎖の探索

(奈良先端大¹・大分大研究マネジメント機構²・九州先端研ナノテク³) ○山口 将平¹・酒井 隆裕¹・真島 剛史¹・小林 直也¹・一二三 恵美²・宇田 泰三³・廣田 俊¹
 Search of oligomeric antibody light chains by focusing on amino acid residues important for 3D domain swapping (¹*Div. Mat. Sci., NAIST*, ²*Inst. Res. Mgmt., Oita Univ.*, ³*Nano-tech Lab., ISIT*) ○Shohei Yamaguchi,¹ Takahiro Sakai,¹ Tsuyoshi Mashima,¹ Naoya Kobayashi,¹ Emi Hifumi,² Taizo Uda,³ Shun Hirota¹

Antibodies are highly useful in medical diagnosis and therapy, but they easily associate, causing aggregation and viscosity increase. However, the details of the association of antibodies have not been fully revealed. Thus, we investigated the association of an oligomeric antibody light chain variable region (VL) of antibody #4 and revealed its 3D domain swapping (3D-DS) X-ray

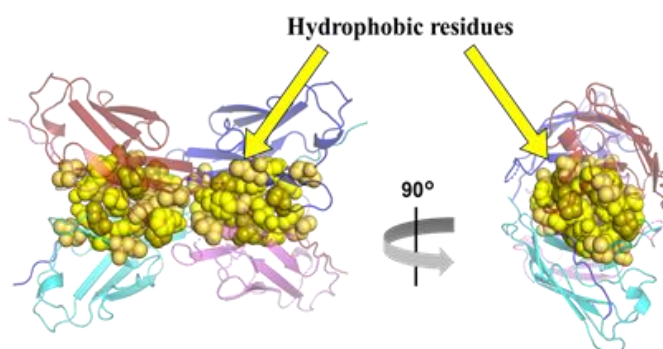


Figure 1. Tetrameric structure of VL

crystallographic structure. The obtained tetrameric structure (dimer of 3D-DS dimers) of #4 VL was stabilized by hydrophobic interactions at the dimer interface (Fig. 1). In this work, in order to evaluate whether other VL molecules can oligomerize by 3D-DS, we searched the database for VL molecules that conserved the hydrophobic amino acid residues important for stabilization of the dimer-dimer interaction. We focused on 11 residues at the dimer interface and selected three VL molecules which mostly conserved these residues. We expressed the selected VL molecules with *E. coli* and purified them by Ni-NTA chromatography. The association behaviors of the VL molecules were analyzed by size exclusion chromatography.

Keywords : 3D domain swapping; antibody light chain; oligomerization; protein aggregation; protein oligomer

医薬品に幅広く利用されている抗体は不安定で会合しやすく、凝集や粘度上昇などが問題となる場合が多い。しかし、その会合挙動について原子レベルで詳細に調べた研究は限定的である。当研究室では、多量化するヒト抗体#4の軽鎖可変領域 (VL) の詳細な挙動を調査し、3D ドメインスワッピング (3D-DS) による2量体がさらに2量化して形成される4量体の立体構造を原子レベルで明らかにした(Fig. 1)。本研究では、他の抗体のVLで3D-DSが起こるかを調べるため、3D-DS2量体間の相互作用に重要と考えられる疎水性アミノ酸残基が保存されているVLをデータベースから探索した。注目した11個のアミノ酸残基の多くが保存されている3つのVLを選定し、それらの会合挙動を調べた。大腸菌を用いて各抗体のVLを培養・精製し、サイズ排除カラムを用いて会合挙動を分析した。