

IgG4 抗体の酸変性構造の SEC-SAXS 解析

SEC-SAXS analysis of acid-denatured IgG4 antibody

今村比呂志^{1,*}, 本田真也²

¹長浜バイオ大学バイオサイエンス学部, 〒526-0829 滋賀県長浜市田村町 1266

²産業技術総合研究所モレキュラーバイオシステム研究部門, 〒305-8566 茨城県つくば市東
1-1-1

Hiroshi IMAMURA^{1,*} and Shinya HONDA²

¹Nagahama Institute of Bio-Science and Technology, Department of Biological Data Science,
1266 Tamura, Nagahama 526-0829, Japan

²National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, 1-1-1, Higashi, Tsukuba,
Ibaraki 305-8566, Japan

1 はじめに

抗体医薬品は酸処理によって構造が不安定化し、失活・凝集することが知られている。1990年代より IgG1 抗体は酸性条件で変性し、alternatively folded state (AFS)と呼ばれる状態になることが知られてきたが[1]、その構造的実体は不明であった。筆者らはサイズ排除クロマトグラフィー小角 X 線散乱法 (SEC-SAXS) を活用し、IgG1 の AFS の実体が単量体でコンパクトな構造であることを明らかにした[2]。しかし、AFS の形成およびコンパクトな構造が IgG1 に特有の現象か、他の IgG サブクラスにも共通するかは不明であった。本研究では酸性条件下で IgG4 抗体の SEC-SAXS 解析を行い、これを検討した[3]。

2 実験

ヒト化モノクローナル抗体(免疫グロブリン G4, IgG4)の Lebrikizumab を用いた。SEC-SAXS 測定は BL10C の ビームラインで行った[4]。X 線の波長は 0.15 nm、カメラ長は 1 m とし、ベヘン酸銀の散乱パターンを用いて校正した。HPLC システム(Nexera-i, Shimadzu Co.)に IgG4 溶液を注入し、ゲルろ過カラム (Superdex200 (10/300) GL, Cytiva Sweden AB, Uppsala, Sweden)で分離した。溶出液は 0.1 M グリシン塩酸緩衝液 (0.2 M NaCl, pH 2.0)を用いた。IgG4 溶液の調製および分析条件は文献[3]に詳述されている。X 線散乱は、PILATUS3 2M (DECTRIS Ltd., Switzerland) で検出した(露光 20 秒)。BL10C の SAXS-UV 同時測定システム[3]を利用し、UV のクロマトグラムを得た。サンプルセルホルダは 25.0 °C に保った。

3 結果および考察

IgG4 は酸性条件下で SEC のクロマトグラムに三つのピークが観測された。これは最も酸で安定な単量体の分子種と、短寿命の単量体の分子種が二つあることを示している。これらの単量体ピークから抽出した SAXS プロファイルから R_g を算出した。最も酸

で安定な分子種の R_g が最も小さく、 $41.3 \pm 0.1 \text{ \AA}$ であった。これは IgG4 の天然構造 ($48.3 \pm 0.7 \text{ \AA}$) より 14% 小さかった。

IgG1 の酸変性単量体は $41.8 \pm 0.2 \text{ \AA}$ であり、両サブクラスの AFS の構造はほぼ同一の SAXS プロファイルを示した。

4 まとめ

IgG4 および IgG1 は酸性条件下で共通してコンパクトな AFS を形成することが明らかとなった。この構造変化は、サブクラス違いによる SS 結合の様式やヒンジの長さなどの違い、可変領域配列の差異に依存せず、IgG 抗体に普遍的な現象である可能性を示している。

謝辞

SEC-SAXS 実験のサポートをいただきました小角 X 線散乱ビームラインの皆様には感謝いたします。本研究は JSPS 科研費課題番号 JP21K06503 (H.I.), JP22K06575 (S.H.) の支援を受けて行われました。

参考文献

- [1] J. Buchner *et al.*, *Biochemistry* 30, 6922 (1991).
- [2] H. Imamura, A. Ooishi, S. Honda, *J. Phys. Chem. Lett.* 14, 3898 (2023).
- [2] H. Imamura and S. Honda, *FEBS Lett.* 599, 1433 (2025).
- [4] N. Shimizu *et al.*, *AIP Conf. Proc.* 2054, 060041 (2019).

成果

- 「IgG 抗体の第二の形を明らかに」長浜バイオ大プレスリリース <https://www.nagahama-i-bio.ac.jp/?p=54827>

* h_imamura@nagahama-i-bio.ac.jp