

tCAP 試薬による部位特異的 IgG 抗体修飾法の開発

○吉矢 拓^{1,2}・津田修吾¹・野原由江¹・坂本 健¹・増田 駿¹・Abdur Rafique³・木吉真人⁴・柴田寛子⁴・石井明子⁴・伊東祐二³ (1 株式会社ペプチド研究所、²大阪大蛋白研、³鹿児島大院理工、⁴国立医薬品食品衛生研究所 生物薬品部)

Development of tCAP reagents for site-specific payload transfer onto IgG antibodies (Peptide Institute, Inc.¹, Institute for Protein Research, Osaka University², Graduate School of Science and Engineering, Kagoshima University³, Division of Biological Chemistry and Biologicals, National Institute of Health Sciences⁴) **YOSHIYA, Taku**^{1,2}; TSUDA, Shugo¹; NOHARA, Yukie¹; SAKAMOATO, Ken¹; MASUDA, Shun¹; RAFIQUE, Abdur³; KIYOSHI, Masato⁴; SHIBATA, Hiroko⁴; ISHII-WATABE, Akiko⁴; ITO, Yuji³

近年、抗体薬物複合体 (ADC) の合成や蛍光標識など、様々な目的で IgG 抗体の効率的な化学修飾が注目されている。一方、従来から実施されてきた活性エステルによる非特異的な Lys 残基への反応では、望ましくない位置での修飾により抗体の性能が損なわれうることが知られている。そのため、多くの部位特異的な修飾戦略が報告されている¹⁾。このような状況の中、我々のグループは 2019 年に、ヒト IgG 抗体に対する親和性ペプチドを利用した CCAP (chemical conjugation by affinity peptide) 法を開発した。この方法は、抗体 Fc 領域の Lys²⁴⁸ 残基に対し部位特異的に修飾することを可能とする²⁾。さらに、我々のグループは幅広い生物種の IgG に対するアフィニティーペプチドを用いて、より一般的な CCAP 法を報告した³⁾。また、この方法論をより深化させた AJICAP 法も報告されている⁴⁾。これらの方法はいずれも、ペイロード、アフィニティーペプチド、活性アシルドナー (活性エステル) の 3 つの部位をこの順に含む「CCAP 試薬」を利用し、ペイロード付きアフィニティーペプチドを部位特異的に IgG 抗体に結合させる。

今回我々は、CCAP 試薬を基盤とし、ペイロードのみの転移を可能とする tCAP 試薬を新たに開発した (Fig. 1)。tCAP 試薬はペイロード、活性アシルドナー、アフィニティーペプチドの順に構成されており、IgG 抗体と混ぜるだけでペイロードが部位特異的に転移し、2 価修飾抗体が得られる。また、中性緩衝液に溶解するだけで自己活性化する前駆体構造を活性アシルドナーとして採用しているため、研究用試薬として重要な性質である高い保存安定性も持っている。今後、本手法を用いることで、様々な IgG コンジュゲートが実験室で手軽に作製できるようになることが期待される。

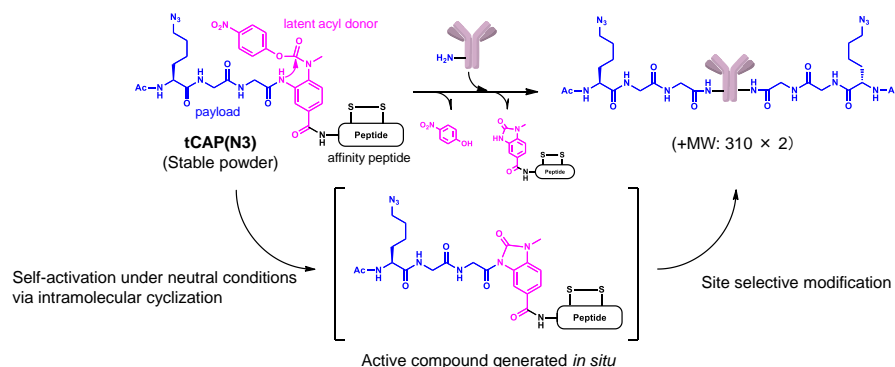


Fig 1. Payload [Ac-Lys(N₃)-Gly-Gly] transfer reaction onto IgG antibody using tCAP reagent “tCAP(N₃)”.

- 1) K. Yamada, Y. Ito, *ChemBioChem*, **20**, 2729-2737 (2019)
- 2) S. Kishimoto, *et al.*, *Bioconjugate Chem.*, **30**, 698-702 (2019)
- 3) S. Mori, *et al.*, *J. Biochem.*, **169**, 35-42 (2021)
- 4) K. Yamada, *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **58**, 5592-5597 (2019)