

## 3D ドメインスワッピングで多量化する抗体軽鎖の会合挙動と金属イオンが多量化へ及ぼす影響

(奈良先端大先端科技<sup>1</sup>・兵庫県大院理<sup>2</sup>・大分大研究マネジメント機構<sup>3</sup>・九州先端研ナノテク<sup>4</sup>) ○高橋 鈴乃<sup>1</sup>・酒井 隆裕<sup>1</sup>・山口 将平<sup>1</sup>・真島 剛史<sup>1</sup>・小林 直也<sup>1</sup>・緒方 英明<sup>2</sup>・一二三 恵美<sup>3</sup>・宇田 泰三<sup>4</sup>・廣田 俊<sup>1</sup>

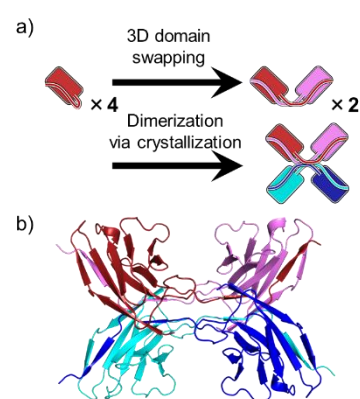
Association property of an antibody light chain that oligomerizes by 3D domain swapping and the effect of metal ions on the oligomerization (<sup>1</sup>Grad. Sch. Sci. Tech., NAIST, <sup>2</sup>Grad. Sch. Sci., Univ. Hyogo, <sup>3</sup>Inst. Res. Mgmt., Oita Univ, <sup>4</sup>Nano-tech Lab., ISIT) ○Suzuno Takahashi,<sup>1</sup> Takahiro Sakai,<sup>1</sup> Shohei Yamaguchi,<sup>1</sup> Tsuyoshi Mashima,<sup>1</sup> Naoya Kobayashi,<sup>1</sup> Hideaki Ogata,<sup>2</sup> Emi Hifumi,<sup>3</sup> Taizo Uda,<sup>4</sup> Shun Hirota<sup>1</sup>

Monoclonal antibodies often form aggregates, causing a loss in their ability to recognize antigens. However, atomic-level structural analyses of antibody aggregates are limited. We have previously shown that the variable region of the human antibody light chain #4 (#4V<sub>L</sub>) forms a tetrameric structure through 3D domain swapping (3D-DS) and the tetramerization is promoted by the addition of Cu(II) ions. In this study, in order to evaluate whether other V<sub>L</sub> molecules can oligomerize by 3D-DS, we investigated the oligomerization properties of an antibody light chain variable region P1V<sub>L</sub>, which is structurally similar to #4V<sub>L</sub>. According to size exclusion chromatography (SEC) and SEC-multi angle light scattering analyses, P1V<sub>L</sub> existed in equilibrium between monomeric and dimeric states. The dimer ratio of P1V<sub>L</sub> increased from 1% to 22% by the addition of 2 equivalents of Cu(II) ions. The 3D-DS dimer structure of P1V<sub>L</sub> was revealed by X-ray crystal structure analysis (**Fig. 1**). In the crystal, the dimer further dimerized to form a tetramer.

**Keywords :** protein aggregation; antibody light chain; X-ray crystallography; metal ions; domain swapping

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、凝集は抗原認識能の低下要因となる。しかし、抗体の会合状態について原子レベルで調べた研究は限られている。我々は、ヒト抗体軽鎖#4 の可変領域 (#4V<sub>L</sub>) が 3D ドメインスワッピング (3D-DS) により 4 量化することを原子レベルで明らかにし<sup>1)</sup>、Cu(II)イオンが#4V<sub>L</sub>の4量体構造を安定化させることを示した。本研究では、抗体軽鎖の3D-DSが#4V<sub>L</sub>に固有の現象でないことを示すため、#4V<sub>L</sub>に構造が類似した抗体軽鎖可変領域 (P1V<sub>L</sub>) の会合挙動を調べた。P1V<sub>L</sub>は溶液中において2量体を形成することがわかり、P1V<sub>L</sub>に2当量のCu(II)イオンを添加すると、2量体の割合が1%から22%に増加した。P1V<sub>L</sub>2量体のX線結晶構造解析により、P1V<sub>L</sub>は3D-DSにより2量化していることが明らかになった。また、結晶中ではその2量体がさらに2量化した4量体を形成していた (**Fig. 1**)。

1) Sakai, T. et al., *Nat. Commun.*, **14**, 7807 (2023).



**Figure 1.** a) Schematic diagram of P1V<sub>L</sub> tetramerization. b) Crystal structure of P1V<sub>L</sub> (Resolution: 2.0 Å).