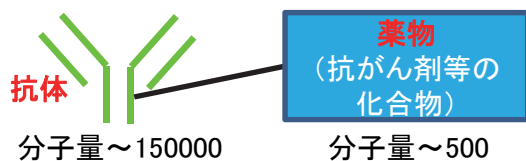


# 抗体薬物複合体(ADC)の薬物結合数 および薬物結合位置の分析

抗体医薬品のリジン等のアミノ基にFITCを結合させた抗体薬物複合体(ADC)のモデルサンプルを調製し、それを用いて抗体1分子あたりの薬物結合数の測定などの各種分析手法の開発を行ったので紹介する。本分析内容は、タンパク質と低分子化合物との複合体の分析にも広く応用可能である。

## ADC(Antibody-Drug Conjugate)

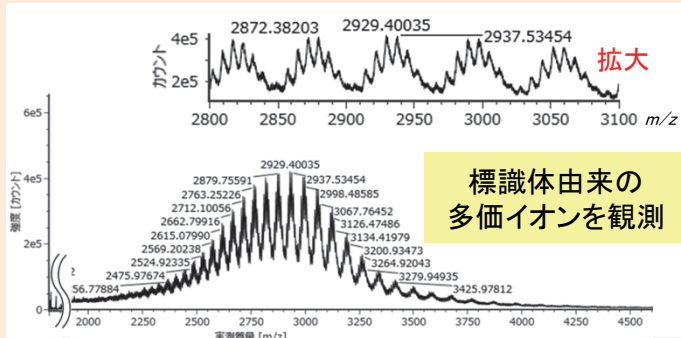
- ・近年、期待されている次世代抗体医薬の一種。
- ・抗体に薬物を共有結合させ、抗体の結合特異性と薬物の高活性との両方の長所を備える。
- ・抗体-薬物複合体の市場は2020年までに116億ドルに達すると見込まれる。



## DAR\*の測定

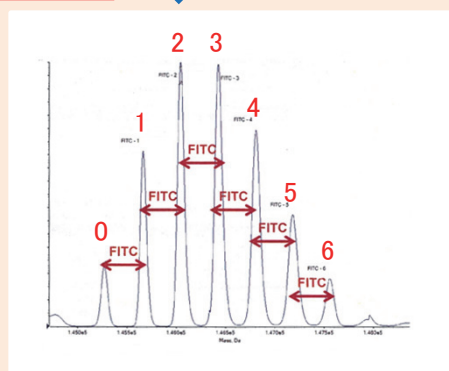
\*Drug Antibody Ratio (薬物抗体比)

### FITC蛍光色素を標識した抗体のマスマスペクトル



## DARの算出

↓ デコンボリューション



FITC標識による分子量変化 389.4 Da

標識数ごとのスペクトル強度より平均標識数としてDAR=2.7と算出

## FITC付加位置の解析

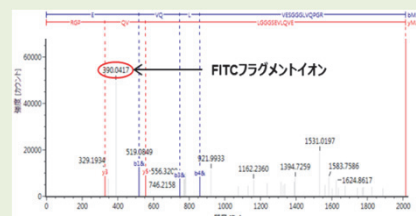
FITC標識抗体を酵素消化し、LC/MS/MSでペプチドマップを作成

### MSクロマトグラム



FITC標識ペプチドのMS/MSスペクトルでは乖離したFITCのイオンがあらわれることを利用

### FITC標識ペプチドのMS/MSスペクトル



FITCフラグメントイオンのm/z値で抽出イオンクロマトグラムを作成し標識ペプチドを探索

### 検出したFITC標識ペプチド

○はFITC付加が予想される部位

ペプチド	実測質量 (Da)
EVQLVESGGGLVQPGR	2013.8991
DNAKISLYLQMNSLR	2155.9200
GPSVFPLAPSSKISGTTAALGCLVK	2878.3401
SCDKTHTCPPCPPELLGGPSVFLFPPKPK	3723.6671
THTCPPCPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR	4049.9042
VSNKALPAPIEK	1655.7777
ALPAPIEKTIISK	1656.7977
LTVDKSR	1207.5072
SLSLSPGK	1177.4873
DIQMTQSPSSLSASVGD	2267.9204
VYACEVTHQGLSSPVTKSFNR	2769.2026

複数のFITC標識ペプチドを検出し、その付加部位も予測できた。但し、他にもFITC標識部位は多数あると考えられ、今後他の消化条件の組合せ等の検討を進める。