

令和5年度 創薬基盤推進研究事業 研究開発課題
中間報告書

研究開発課題名	超高感度 CE-MS 技術に基づくマイクロスケール薬物動態評価プラットフォーム	
代表機関名	国立大学法人九州大学	
研究開発代表者	所属 役職	大学院理学研究院化学部門 准教授
	氏名	川井 隆之
全研究開発期間	令和3年11月30日 ~ 令和8年3月31日 (予定)	

研究開発成果概要：

まずペプチド医薬品や抗体薬物複合体のペイロードなどの疎水性が高いモダリティを対象に、新たな濃縮法に基づく超高感度キャピラリー電気泳動-質量分析 (CE-MS) 分析法の開発を行った。ドデシル硫酸ナトリウムなどの荷電性界面活性剤を利用した疎水性試料向けの濃縮法である **sweeping** 法と **analyte focusing by micelle collapse** 法を融合させた新規二重濃縮法「**large-volume dual preconcentration by micelle collapse and sweeping (LDMS)**」法を新開発し、これを用いたシーストレス型 CE-MS 装置によって濃縮・分離・検出を行い、解析に最適な分析・定量プロトコルを作成した。これにより、検出下限が数百 **zmol/μL** の超高感度を維持しながらも、内部標準・外部標準による補正により $n = 200$ スケールでの定量再現性 (RSD) 10%以下を実現した。また CE-MS の定量性を検証するため、LC-MS を用いたバルクスケール解析プロトコルを開発し、二重に分析信頼性を担保するパイプラインを構築した。続いてモデル動物として、ヒト由来腫瘍細胞を移植した **Xenograft** モデルマウスへ DDS 薬剤の一種である抗体薬物複合体を投与し、その後組織から凍結切片を作製し、隣接する 2 枚以上の切片から 1 枚は HE 染色や免疫染色を行い標的細胞が多い領域を決定し、この情報をベースに非染色のもう 1 枚の切片からレーザーマイクロダイセクションを用いて標的細胞領域およびそれ以外の領域をサンプリングした。得られた微小切片よりペイロード分子である **DXd** を抽出し、その後超高感度 CE-MS システムで定量分析を行ったところ、**DXd** を **amol/mm²** レベルの感度で解析することに成功した。最終的に本技術を用いてシーズ対応を行い、連携機関より受領した生体試料から高感度に薬剤を定量分析できることを実証した。

核酸医薬品の解析については、イオン化・分離・濃縮条件の最適化を行い、過渡的等速電気泳動を適用することで濃縮無しの条件と比較して 20 倍の高感度化を達成し、**500 pM (500 amol)** の検出下限を実現した。今後 **large-volume dual preconcentration by isotachopheresis and stacking** 法などの二重濃縮法を適用して濃縮効率の向上を図り、さらに検出条件の最適化を進めることで、ペプチド医薬品・ADC ペイロードと同様の **zmol/μL** 感度の実現を目指して研究を推進する予定である。

また開発した分析プラットフォームを用いて様々な創薬シーズ研究と連携して研究を進めており、各種モダリティに対するマイクロスケール薬物動態解析を推進している。

以上