

## 分岐シクロデキストリンを用いたリゾチームの会合及び凝集抑制

竹田 清子<sup>1</sup>, Sumitra TAVORNVIPAS<sup>1</sup>, 有馬 英俊<sup>1</sup>, 平山 文俊<sup>1</sup>, 上釜 兼人<sup>1</sup>(<sup>1</sup>熊本大院薬)

【目的】タンパク質の凝集は、タンパク質製剤を製造する際の問題点の一つである。本研究では、親水性シクロデキストリン (CyD) の凝集阻害剤としての利用を企図し、リゾチームの熱変性と化学変性による凝集に及ぼす各種 CyDs の影響を比較検討した。

【方法】(1) 熱変性 : Microcal 社製 MC-2 型断熱型示差走査熱量計 (DSC) を用いて行った。各種 CyDs (100 mM) 存在下、リゾチーム (150  $\mu$ M)/リン酸緩衝液 (pH 4.0、 $\mu$ =0.05) を走査速度 1°C/min で昇温した。(2) 化学変性 : 塩酸グアニジン (6 M)、ジチオスレイトール (DTT、50 mM) 存在下、リゾチーム (15 mg/mL)/リン酸緩衝液 (pH 6.5、 $\mu$ =0.03) を 25°C で 24 時間静置した。その後、各種 CyDs (10 mM) 含有溶液を用いて 10 倍希釈し、25°C で 1 時間静置した。遠心分離後、上清液の 280 nm の吸光度を測定した。

【結果および考察】(1) リゾチームの熱変性を DSC を用いて検討した結果、( $\Delta H_v/\Delta H_{cal}$ ) 比は CyD 添加系、非添加系いずれの場合も約 1 となり、典型的な 2 状態転移が示唆された。一方、リゾチームの  $T_m$  値は CyD 添加により低下し、中でも分岐  $\beta$ -CyDs 添加による  $T_m$  値の低下が大きかった。(2) リゾチームの化学的凝集に対する CyD の抑制効果は、 $\beta$ -CyD >  $\alpha$ -CyD >  $\gamma$ -CyD の順であり、特に分岐  $\beta$ -CyDs ならびに DM- $\beta$ -CyD が顕著な抑制効果を示した。親水性 CyDs はリゾチームの凝集体形成に伴う不活化を抑制することからタンパク質製剤の溶解や熱処理時の安定化剤あるいは再生過程における構造再形成剤としての利用が期待される。その際、タンパク質や変性剤の種類によって CyD の効果が異なることから、外部刺激に応じて最適な CyD を選択する必要があることが示唆された。