

マイクロチップ等電点電気泳動によるタンパク質製剤の迅速評価

○中辻 佑強¹, 岸本 昌太¹, 木下 充弘¹, 荒井 昭博², 中村 伸², 早川 堯夫³,
掛樋 一晃¹(¹近畿大薬,²島津製作所分析計測事業部,³近畿大薬総研)

【緒言】ゲル等電点電気泳動法はタンパク質の不均一性を評価できる重要な手段であるが、分析バッチ間の再現性を得るためには熟練を要し、ゲルの調製から染色操作までを含め、結果を得るまでに長時間を要する。一方、キャピラリー電気泳動およびマイクロチップ電気泳動(ME)による等電点電気泳動は全操作工程を自動化できるうえ、オンライン紫外外部吸収検出が可能であるため、定量性が高く再現性も高いことが特徴である。本研究では UV リニアイメージング検出器を用いる ME によるタンパク質製剤の迅速評価法について検討した。

【方法】装置には Shimadzu 製 MCE-2010 を用い、マイクロチップには 30 μm の流路幅と流路長 27 mm の石英製チップを用いた。また、検出は UV リニアイメージング検出により全流路をリアルタイム検出した。

【結果・考察】ペプチド pI マーカー (pI=5.12, 7.4, 9.22, 10.1) を用いて、陽極および陰極液の組成、両性担体の種類ならびにフォーカシング条件を詳細に検討した。その結果、陽極液として 1% HPMC を含む 0.04M アスパラギン酸、陰極液として 1% HPMC を含む 0.1 M 水酸化ナトリウムを用いた場合、4 種類のペプチドマーカーを 240 秒以内に完全に分離できた。次にヒト血清トランスフェリンの分析に適用した結果、200 秒以内に pI5.46~6.19 の 5 つのグライコフォームを分離でき、キャピラリー等電点電気泳動と比較して測定された pI 値の誤差は 0.2 以下と良好な結果が得られた。本発表では試料溶液中の両性担体の種類と濃度、種々のアミン類が分離に与える影響ならびに最適化した条件を用いて数種の抗体医薬品の分析へ応用した結果についても報告する。