

PEG 修飾タンパク質の分子不均一性評価に関する研究

○岸本 昌太¹, 前田 瑛起², 木下 充弘¹, 早川 堯夫³, 掛樋 一晃¹(¹近畿大薬,
²武田薬品工業, ³近畿大薬総研)

【緒言】タンパク質性医薬品の薬物動態や免疫特性を改善する手段として、ポリエチレングリコールによる修飾（PEG化）が脚光を浴びている。一方、PEG化タンパク質はPEGによる置換に伴う著しい不均一性を示す。また、PEG化により表面電荷が低下すると同時に水和効果により、その分離分析は一般に困難である。本研究では、主としてキャピラリー電気泳動（CE）によるPEG化タンパク質の不均一性評価のための分離分析条件について基礎的な検討を行った。

【方法】試料：PEG化インターフェロン（PEG-IFN α -2a 及び PEG-IFN α -2b）及び日局リゾチームを NHS 型 PEG により PEG 化し分析試料とした。PEG 化タンパク質は、キャピラリーゲル電気泳動（CGE）及びキャピラリー等電点電気泳動（cIEF）、SDS-PAGE、陰イオン交換クロマトグラフィー（AEC）を用いて分析した。

【結果】PEG 化リゾチームを CGE により分析した結果、コアタンパク質上の 1~3 か所が PEG 化された分子種と考えられる 3 本のピークを完全に分離できた。一方、PEG-IFN α については、PEG-IFN α -2a は 1 本、PEG-IFN α -2b は 2 本のピークが観察され、修飾に用いる PEG の分子量および PEG の置換度の違いを反映した結果が得られ、CGE による結果は SDS-PAGE による分析結果とも一致した。一方、PEG 化リゾチームを AEC により分離すると、6 本のピークを与え、CGE と SDS-PAGE において同じ分子量を示す PEG を 1 分子のみ持つと考えられる分子種が 3 本に分離して観察された。これらの結果は、PEG 化タンパク質が PEG 置換度と PEG 自体の不均一性に加え、PEG 修飾部位の違いによる不均一性を生じうることを示し、今後不均一性評価法について更なる検討が必要であると考えられた。