

30amL-004

ジボロン酸含有微粒子化ゲルからのタンパク薬の糖応答性放出の評価

○武井 千弥¹, 宮原 菜生¹, 小島 裕¹, 江川 祐哉¹, 三木 涼太郎¹, 関 俊暢¹
(¹城西大薬)

【目的】糖に応答してインスリン放出を示す製剤は有用であるが、*in vitro* で精度よくインスリンの放出性を評価することは難しい。そこで、高感度で定量できるホースラディッシュペルオキシダーゼ (HRP) をモデルタンパク薬として用いて、その糖応答性放出を評価した。すなわち、ジピリジニウムボロン酸誘導体 (DPrBA) とポリビニルアルコール (PVA) を組み合わせて HRP 含有微粒子化ゲルを調製し、グルコース応答により生じる HRP の放出をその酵素活性により評価した。DPrBA の 2 つのボロン酸と PVA 間の架橋がグルコースにより切断され、HRP が放出すると期待できる。放出の評価にはマイクロミキサー型溶出試験器を用いた。

【方法】DPrBA (20 mg/mL, 10 mL)、PVA (n=2,000, 20 mg/mL, 1.0 mL)、水酸化ナトリウム (4 mg/mL, 0.50 mL)、HRP (最終濃度 10 mg/mL) を混合して、その 1.5 mL をポリプロピレングリコール中 (15 mL) で乳化したのち、脱水して微粒子を得た。微粒子をエタノールに分散し (3.0 mg/mL)、溶出試験器のセルに 60 μ L 分注して、エタノールを蒸発させた。セルの流路中に HEPES 緩衝液 (10 mM, pH 7.4) を 12.5 μ L/min で流し、20 分ごとに流出溶液を分画した。2 時間後、HEPES 緩衝液で調製したグルコース溶液 (100 mM) に切り替えることで糖応答性を評価した。各サンプルの HRP の活性は *o*-フェニレンジアミンを用いて測定し、微粒子化ゲル内の活性保持と放出速度の変化を確認した。

【結果および考察】加熱や界面活性剤処理を行わない調製方法を用いたことにより、微粒子化ゲル内の HRP の活性は保持されていた。溶出試験器への流入溶液をグルコース溶液に切り替えた直後に HRP の放出速度が高くなり、糖応答性の放出が確認された。インスリンにおいても同様な放出が期待される。