

高濃度タンパク質溶液の熱凝集を抑制する 添加剤の開発

SATテクノロジー・ショーケース2025

■ はじめに

タンパク質は、加熱・振盪・酸化といった物理化学的な刺激によって立体構造が壊れ、凝集体を形成する。凝集体の形成はタンパク質固有の機能を損なわせるため、凝集抑制手法の開発が要求されている。これまで、水溶液内のタンパク質凝集を抑制するために、種々の化合物が”添加剤”として利用されてきた。これらの添加剤は、1 mg/mL以下の低濃度タンパク質溶液に対して効果的な凝集抑制作用を示してきた。しかし、粘性や表面張力などの溶液物性はタンパク質の濃度に依存して異なるため、1 mg/mLの濃度で効果のある添加剤が10 mg/mL以上の高濃度タンパク質溶液に対しても効果を示すとは限らない。特に、100 mg/mL以上のタンパク質濃度になるとタンパク質間の相互作用が働きやすく、加熱に対する凝集抑制が困難である。このような背景のもと、我々は、i) 熱凝集を抑制する既存の添加剤が、タンパク質の濃度に依存して異なる作用を示すこと、ii) 高濃度タンパク質溶液に対してはアミノ酸のアミド誘導体が最も高い凝集抑制効果を示すことを発見したので報告する。

■ 活動内容

1. 濃度に依存したLYZ溶液の凝集挙動

リゾチーム(LYZ)は塩基性の等電点(pI 11)をもつ加水分解酵素であり、熱凝集のモデルタンパク質として広く利用されている。LYZ溶液を加熱すると、1 mg/mL LYZ溶液中ではLYZはアモルファス凝集体を形成したが、100 mg/mL LYZ溶液中ではゲルを形成した。高濃度LYZ溶液中ではLYZ間の距離が近くなって分子間ネットワーク構造が形成されやすいためである。なお、ゲルを形成した場合、LYZの活性や立体構造は失われた。

2. 添加剤(塩、アミン化合物、糖類)による凝集抑制

低濃度タンパク質溶液の熱凝集を抑制する添加剤として、塩・アミン化合物・糖などが利用されてきた。本研究では、まず、タンパク質溶液に対して異なる塩析作用をもたらす3種類の塩の添加剤効果を調査した。塩析作用の強さに関係なく、LYZ濃度の増加にともない凝集量は増加した。しかし、LYZのゲル化は起こらず活性と立体構造は保持された。

次に、静電相互作用とカチオン- π 相互作用を介してタンパク質の凝集を抑制するアミン化合物の添加剤効果を調査した。驚くべきことに、グリシンアミドは100 mg/mL LYZ溶液の加熱にともなう凝集量を約6割も抑制した。他

のアミン化合物を添加した場合も、塩を添加した場合と同様にLYZのゲル化は起こらず、活性および立体構造が保持された。

最後に、タンパク質の天然構造を安定化する糖類の添加剤効果を調査した。分子構造が異なる4種類の非還元糖を用いたが、糖の種類によらず、LYZ濃度の増加に伴い凝集量は増加した。また、高濃度LYZ溶液ではゲルが形成され、LYZの活性や立体構造は保持されなかった。

3. まとめ・今後の展望

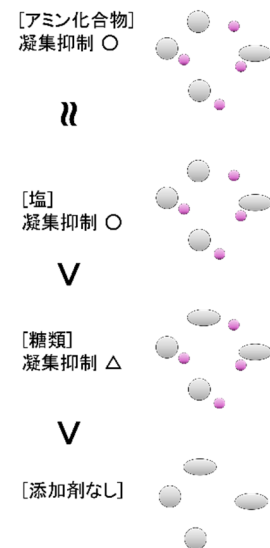
1 mg/mL LYZ溶液に対して、添加剤の凝集抑制効果はアミン系化合物>塩>糖類>無添加剤の順に大きく、100 mg/mL LYZ溶液に対しては、アミン系化合物>塩>糖類>無添加剤の順に大きかった(図1)^[1]。本研究の結果は、タンパク質濃度に応じて理想的な添加剤が異なることを示しており、高濃度の条件でタンパク質を扱う抗体製剤や機能性食品などへの凝集抑制剤のデザインに応用できる。

■ 関連情報等(特許関係、施設)

[1] M. Iijima, *et al.*, *In preparation*

■ LYZ溶液の濃度

■ 低濃度 (1 mg/mL)



■ 高濃度 (100 mg/mL)

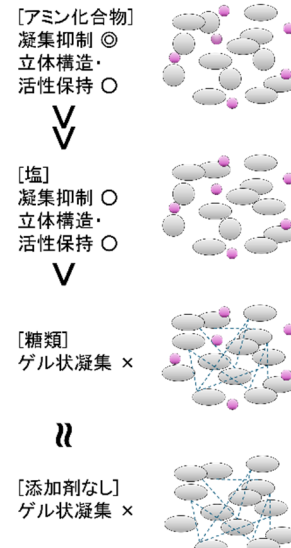


図1. LYZの濃度に依存した塩・アミン化合物・糖類の凝集抑制効果

代表発表者 飯島 萌(いじま もえ)
所 属 筑波大学大学院 理工情報生命学院
数理工学物質科学研究群 博士前期課程1年
産業技術総合研究所
健康医工学研究部門 産学官制度来所者
問合せ先 〒305-8573 茨城県つくば市天王台 1-1-1
TEL: 029-853-5621 FAX: 029-853-6305
E-mail: s2420265@u.tsukuba.ac.jp

■ キーワード: (1) 凝集抑制
(2) 高濃度タンパク質
(3) 添加剤効果

■ 共同研究者: 野本 晃
(筑波大学・数理工学物質科学研究群)
白木 賢太郎
(筑波大学・数理工学物質科学研究群)