PEG 試薬

池田 豊^{*1)}・長崎幸夫^{*2)}

PEGylation agents

ポリエチレングリコール(以下 PEG)は、材料表面に修飾することでタンパク質等の生体分子の非特異的吸着を抑制する。ミセルやリポソーム等のナノ粒子製剤の表面に修飾することで粒子の血中滞留性が向

上し、またバイオセンサー表面に修飾することで生体分子の非特異的吸着を抑制することが可能となる。さらにこれら材料表面にタンパク質等のリガンドや蛍光分子を結合させる際のクロスリンカーとしても用いら

れており、分子量も数百から数十万まで幅広い試薬が販売されている。現在では4-arm や8-arm といった多分岐型の PEG 試薬も開発されており、今後もドラッグデリバリー分野をはじめとして広い分野で用いられている。工業的に利用されている PEG は、本来水酸基末端を有するために、上述の目的で利用する際には、より反応性の高い官能基を有する PEG 試薬を用いることが一般的である。PEG 修飾の研究は1970年代に Abuchowski らのタンパク質(あるいはアルブミン)の抗原性低下の研究から始まった。この初期の研

[スルファニル基を用いた PEG 化反応]

[アミノ基を用いた PEG 化反応]

[クリックケミストリーを用いた PEG 化反応]

[固相表面の修飾に用いられる PEG 試薬]

図1 様々な官能基を末端に有する PEG 試薬の例

*1) Yutaka Ikeda

筑波大学大学院 数理物質科学

Department of Materials Science, Graduate School of Pure and Applied Sciences, University of Tsukuba

*2) Yukio Nagasaki

筑波大学物質工学 フロンティア医科学 WPI-MANA 筑波大学サテライト

Department of Materials Science and Medical Sciences, WPI-MANA Satellite, University of Tsukuba

究において Abuchowski らはタンパク質の PEG 化(PEGylation と呼ばれている)にトリクロロトリアジンを用いたが、反応制御が困難であった。近年ではさまざまな PEG 化反応剤が開発されている。図 1 に各種官能基を有する PEG 試薬をまとめた。

ドラッグデリバリーの分野においては、タンパク質の分解性・滞留性・免疫原性等の問題点を解決するため、PEG 化が頻繁に行われ、PEG 化タンパク質が医薬品として開発・上市されている。また薬剤や薬剤を内包したナノ粒子に抗体等のタンパク質をリガンドとして結合させる際のリンカーとしても、しばしば PEG が用いられる。タンパク質は生体分子であるために、PEG 化反応は水溶液中で行う必要があり、タンパク質中のスルファニル(メルカプト)基やアミノ基が主に PEG との反応に用いられる。スルファニル基と反応する試薬(図 1. 1~3)として代表的なものはマレイミド基を有する PEG 試薬がある(図 1. 1)。スルファニルとマレイミド基との反応は中性付近の水溶液中において速やかに進むため、便利な PEG 化反応である。しかしながら、PEG 化にともないその活性が劇的に低下したり、タンパク質中に反応に用いることのできるスルファニル基が存在しないタンパク質も多い。その際は遺伝子組み換え技術によりスルファニル基を導入することも可能であるが、タンパク質の構造変化や凝集を引き起こすこともしばしばあるので注意が必要である。

タンパク質中のアミノ基は、PEG

化反応に頻繁に利用される官能基である。用いられる PEG 試薬として代表的なものは PEG の末端を活性エステル化した PEG 試薬である(図 1. 4、5)。アミノ基と活性エステルは中性付近の水溶液中で反応するために、非常に汎用性の高い PEG 化反応である。現在医薬品として販売されている PEG 化タンパク質の多くはこの反応を用いている。この反応の問題点としてはアミノ基が反応後にアミド結合となるために、アミノ基の塩基性が大きく失われることがあげられる。そのために、アミノ基の塩基性が活性やタンパク質の立体構造に関与しているタンパク質においては、修飾後に活性が大きく失われることがしばしば生じる。アミノ基の塩基性を失わない PEG 化反応としてアルデヒド基を用いた PEG 化反応がある(図 1. 6)。アミンとアルデヒドを反応させた後に還元アミノ化により修飾が可能である。この反応を用いるとアミノ基の塩基性は保持されるが、この反応の問題点として、水溶液を弱酸性にする必要があること、毒性の高い還元剤を使用する必要があることがあげられる。近年、末端にグルタルアルデヒド骨格を有する PEG 試薬が開発された(図 1. 7)。この試薬を用いると、中性付近の水溶液中でタンパク質中のアミノ基のアルキル化反応により PEG 化反応が進行する。還元剤が不要であり、反応後もアミン構造を保持している。これら水溶液中で反応を行う PEG 試薬は水溶液中で不安定であるために、使用するたびに水溶液として調製する必要がある。

スルファニル基やアミノ基以外の官能基を用いる PEG 化反応として、クリックケミストリーを用いた PEG 化反応が開発されつつある(図 1. 8、9)。PEG の末端にアジド基もしくはアルキン骨格を有する試薬が開発されている。一般的なクリック反応には毒性の強い銅触媒が必要であるという欠点があるものの、これらの官能基は生体分子とほとんど反応することがないため、部位選択的な反応が可能である。

磁性粒子や金基板等は分子診断等のセンサー基盤として用いられており、PEG を表面修飾剤として用いることでセンサー表面の非特異吸着を抑制することが可能である。エポキシや活性化したカルボン酸等の官能基が修飾された固相担体が開発されており、PEG 試薬(図 1. 10、11)により表面処理が可能である。近年、ポリアミンを末端に有する PEG が開発され、表面処理剤として用いられている(図 1. 12)。ポリアミンの場合、多点により表面に結合することが可能であり、より強固に固相表面に結合する。

両末端に異なる分子を結合させるクロスリンカーとして PEG を用いる際には、PEG の末端に異なる官能基を有する試薬を用いる必要がある。さまざまなヘテロ二官能基性 PEG 試薬が開発されている。ヘテロ二官能基性 PEG 試薬をリンカーとして用いることで、ナノ粒子表面やセンサー表面へのリガンド導入が可能となる。

表 1 に日本国内の製造メーカー、取り扱い(輸入も含む)企業をまとめた。

表1 PEG試薬の入手先^{注1)}

会社名 (HP)	PEG 試薬の情報
サーモフィッシャーサイエンティフィック(株) http://www.thermofisher.com/jp/ja/home.html	・ http://www.thermofisher.com/jp-PEGylation
シグマ アルドリッチ ジャパン合同会社 http://www.sigmaaldrich.com/japan.html/	・ http://www.sigmaaldrich.com/dds-peg-jp
重松貿易(株) http://www.shigematsu-bio.com/	Broadpharm 社、Creative PEGWorks 社、IRIS Biotech 社、Polypure 社製品の販売 ・ http://www.shigematsu-bio.com/suppliers.aspx で検索
東京化成工業(株) http://www.tcichemicals.com/ja/jp/	・ http://www.tcichemicals.com/ja/jp/03861/ ・ http://www.tcichemicals.com/ja/jp/brochure/LL009.pdf
ナミキ商事(株) http://www.namiki-s.co.jp/	Broadpharm 社製品の販売 ・ http://www.namiki-s.co.jp/supply/relations.php#reB
フィルジェン(株) http://www.filgen.jp/	NANOCS 社製品の販売 ・ http://www.filgen.jp/Product/Nanotech/NANOCS/PEG.html
フナコシ(株) http://www.funakoshi.co.jp	・ http://www.funakoshi.co.jp/contents/63464 ・ http://www.funakoshi.co.jp/contents/80161 ・ http://www.funakoshi.co.jp/contents/5024
油化産業(株) http://yuka-sangyo.co.jp/	日油(株) 製品の販売 ・ http://yuka-sangyo.co.jp/dds/peg.html
和光純薬工業(株) http://www.wako-chem.co.jp/	Quanta BioDesign 社製品の販売 ・ http://www.quantabiodesign.com/
HiPep Laboratories http://hipep.jp/	・ http://hipep.jp/?cat=15

注1) 日本国内の製造メーカー、取り扱い(輸入も含む)企業を五十音順、アルファベット順に掲載した。

“DDS” 用語解説 No.297

活性酸素種 (Reactive Oxygen Species)

活性酸素種 (Reactive Oxygen Species、ROS) とは、酸化反応で酸素が4電子還元されて水になる過程で生じる途中の反応性中間体をいう。具体的にはスーパーオキシドアニオン、過酸化水素、ヒドロキンドラジカルに一重項酸素を加えた4種類の活性種をさす。これらはミトコンドリア中の電子伝達系で産生されるものに加え、マクロファージや好中球のような炎症性細胞が大量に産生し、外敵から生体を防御する。過剰に産生した活性酸素種はカタラーゼやスーパーオキシドディスムターゼなどの抗酸化酵素や、ビタミンCやビタミンEなどの還元性化合物が代謝する。しかし、内在性の抗酸化酵素や化合物で処理しきれなくなると発病、重篤化が起こる。90%以上の疾病で活性酸素種が何らかの作用をしていることが報告されている。また、光や放射線、たばこ、薬物などの外的要因から生じる活性酸素種も知られており、有害な場合が多い。

長崎幸夫 (Yukio Nagasaki)

筑波大学物質工学 フロンティア医科学 WPI-MANA 筑波大学サテライト