

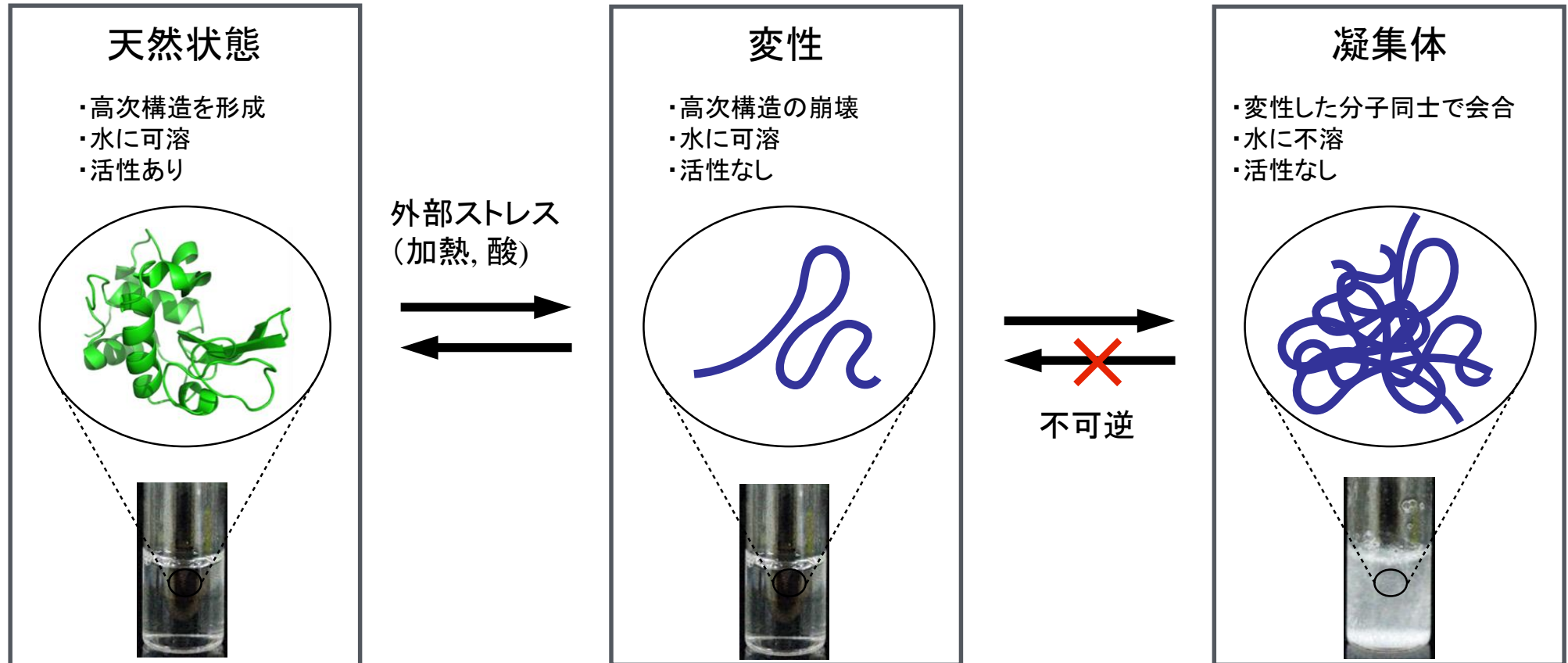
# タンパク質を安定化する 化合物の開発

東京工業大学生命理工学院

教授 金原 数

2021年11月2日

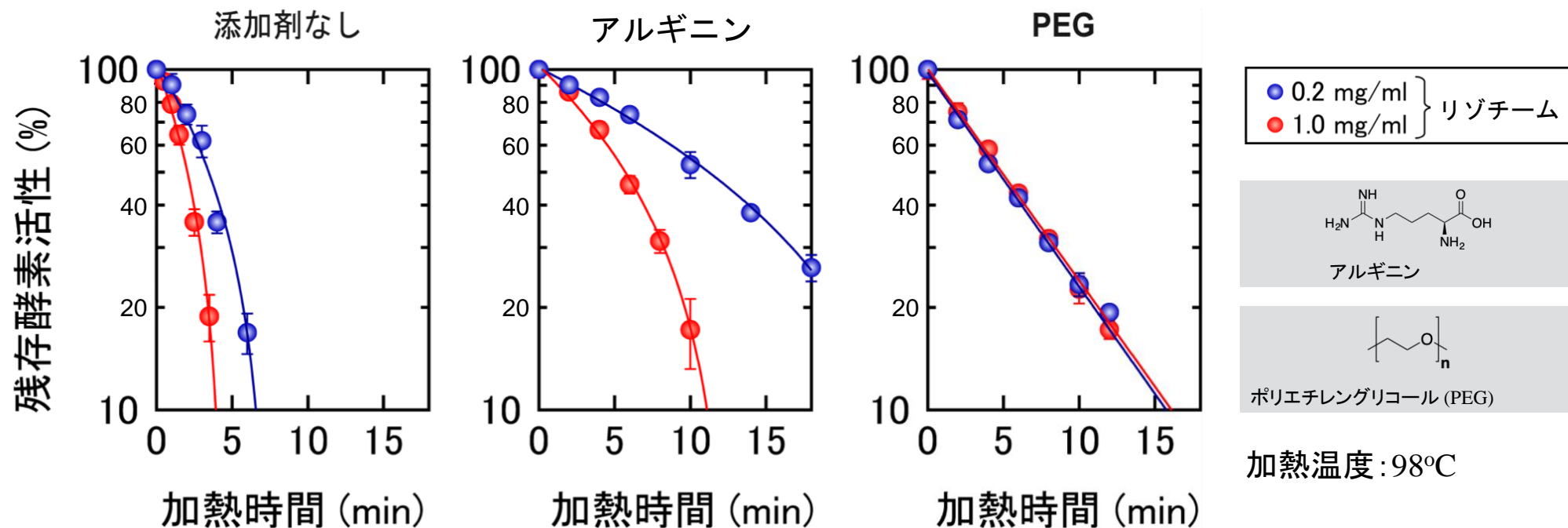
# 背景：タンパク質の凝集体形成



タンパク質は、医薬品などにも利用されている産業上重要な物質である。  
タンパク質は、高次構造を形成してはじめて活性を示すが、加熱などによって容易に変性し、活性を失う。  
さらに、変性したタンパク質同士が集まって不可逆な凝集体を形成し、元の天然状態に戻れなくなる。  
凝集体形成はタンパク質の産業利用の妨げとなるため、**凝集体形成を抑制する方法が求められている。**

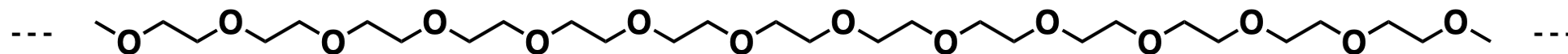
# 背景：凝集抑制剤の利用

任意時間加熱したリゾチームの残存酵素活性 (Biotech. Bioeng. 2012, 109, 2543-2552.)



これまでに、タンパク質の凝集体形成を防ぐ添加剤(凝集抑制剤)が数多く開発されてきた。  
しかし、従来の凝集抑制剤は、数百mMの濃度を加えなければタンパク質凝集を十分に抑制できない。  
溶液粘性の増加や精製の大規模化などの懸念があるため、**高濃度の凝集抑制剤は応用上の問題となる。**

# 背景：ポリエチレングリコール（PEG）

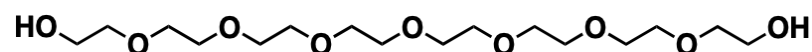
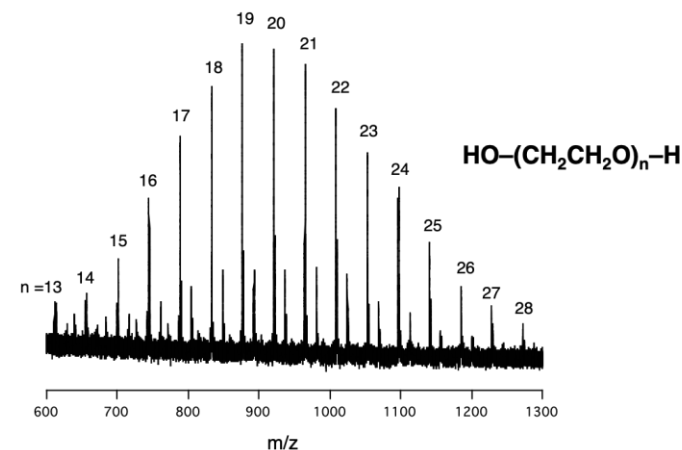


## PEG の検討課題

多分散性（混合物）

高粘度（高濃度）

直鎖構造（単純な構造）



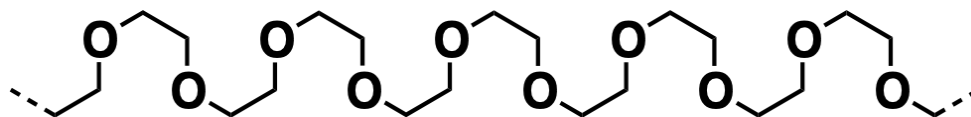
短鎖単分散 PEGを用いた分子エンジニアリング

非イオン性水溶性分子の開発

# 背景：ポリエチレングリコール（PEG）の熱応答性

ゴーシュ型

親水的

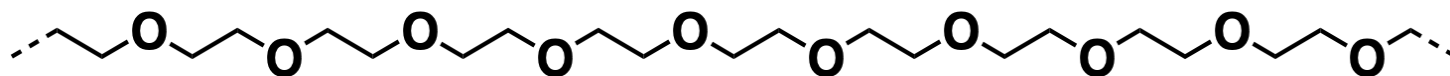


冷却

加熱

アンチ型

疎水的



# 背景：PEGのエンジニアリング



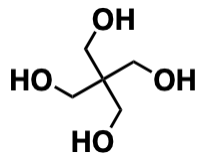
単分散性

生体分子と同様の大きさ

多次元的な分子の拡がり

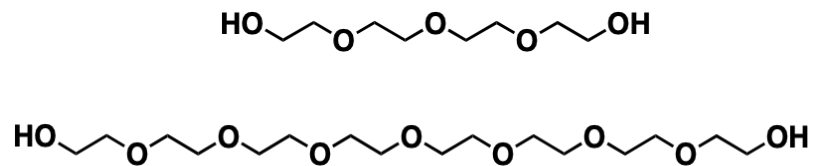
---

## Components



ポリオール

+

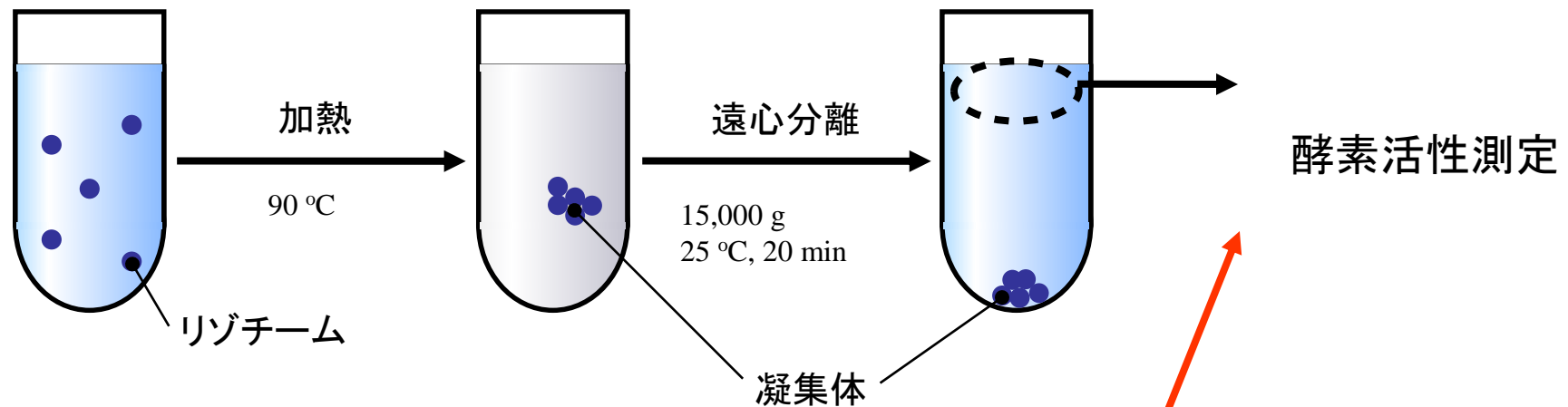


単分散PEG

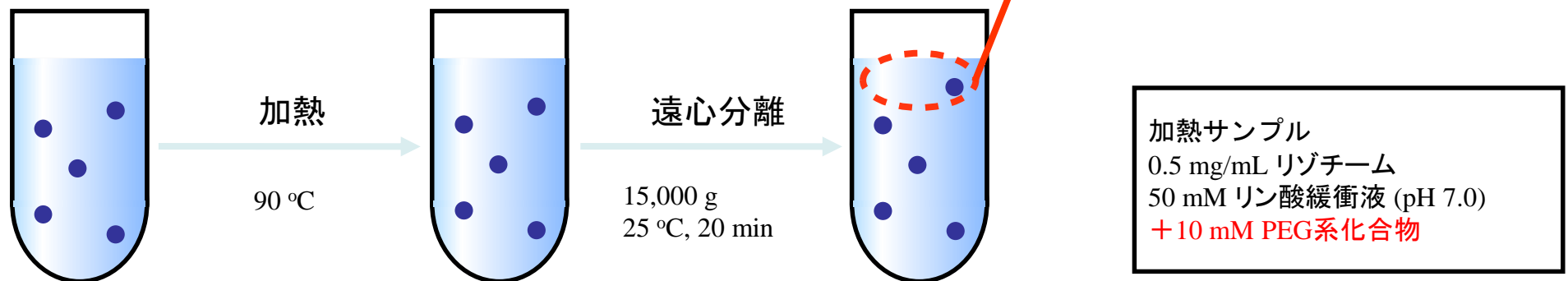
etc.

# 加熱凝集抑制の評価

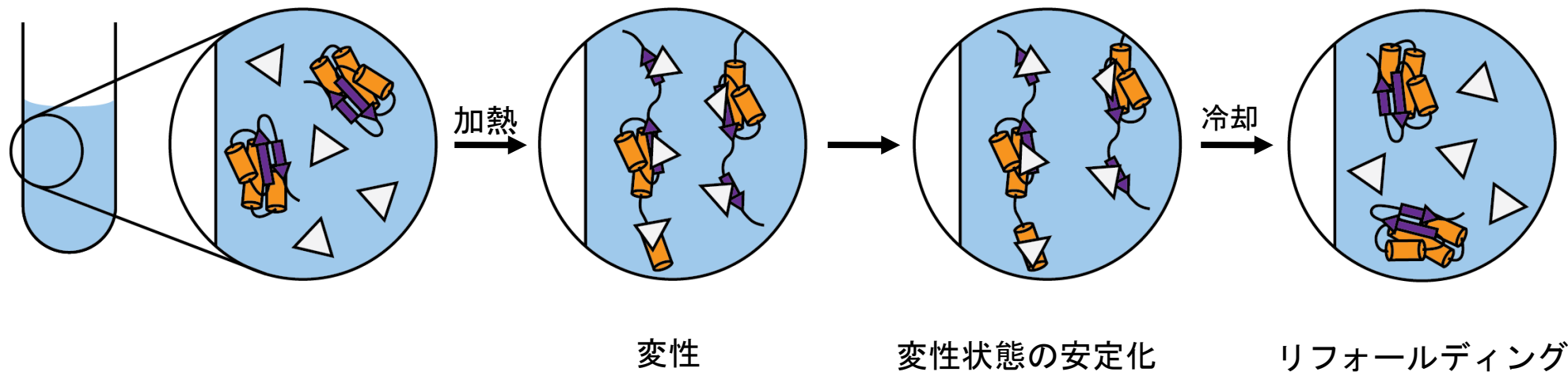
PEG系化合物なし



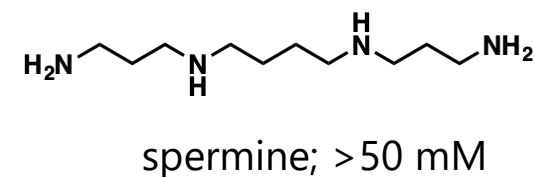
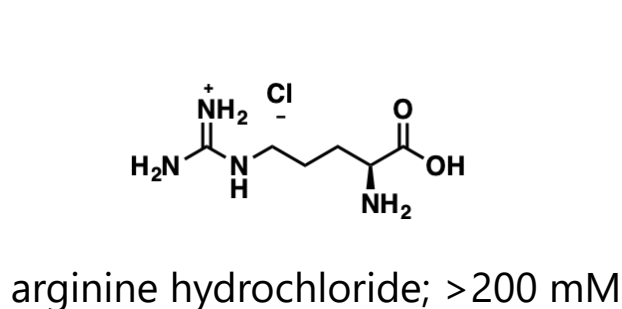
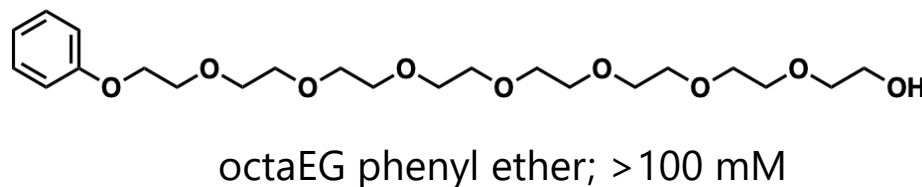
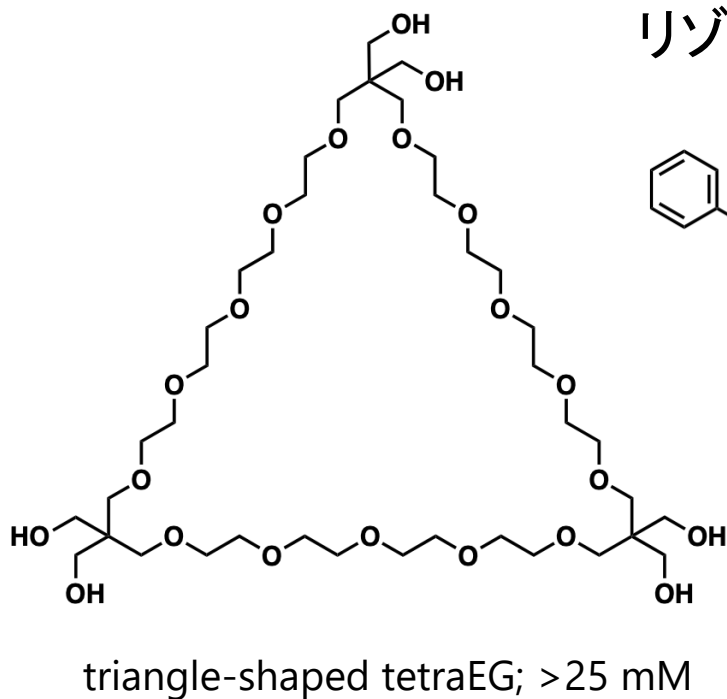
PEG系化合物あり



# 関連技術：PEG系化合物による加熱失活の抑制



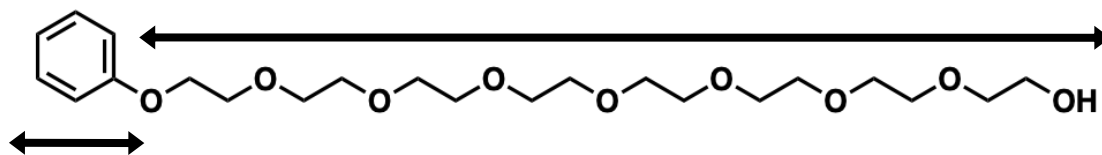
リゾチームをモデルとした添加剤の検討(有効濃度))





# 関連技術：芳香環の導入による凝集抑制剤効果

オクタエチレングリコール

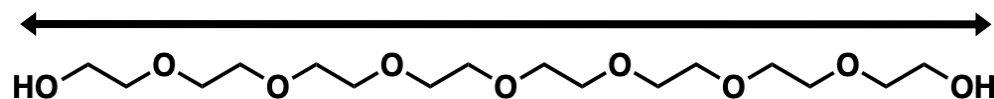


フェニルエーテル

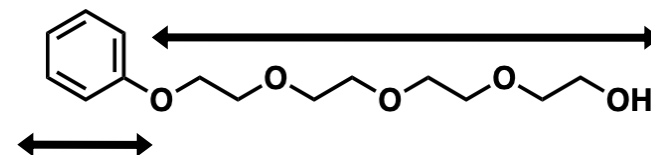
- ・ タンパク質に対する熱凝集抑制効果
- ・ 有効濃度 >100 mM
- ・ 単純な構造
- ・ PEG鎖長の影響

X

オクタエチレングリコール



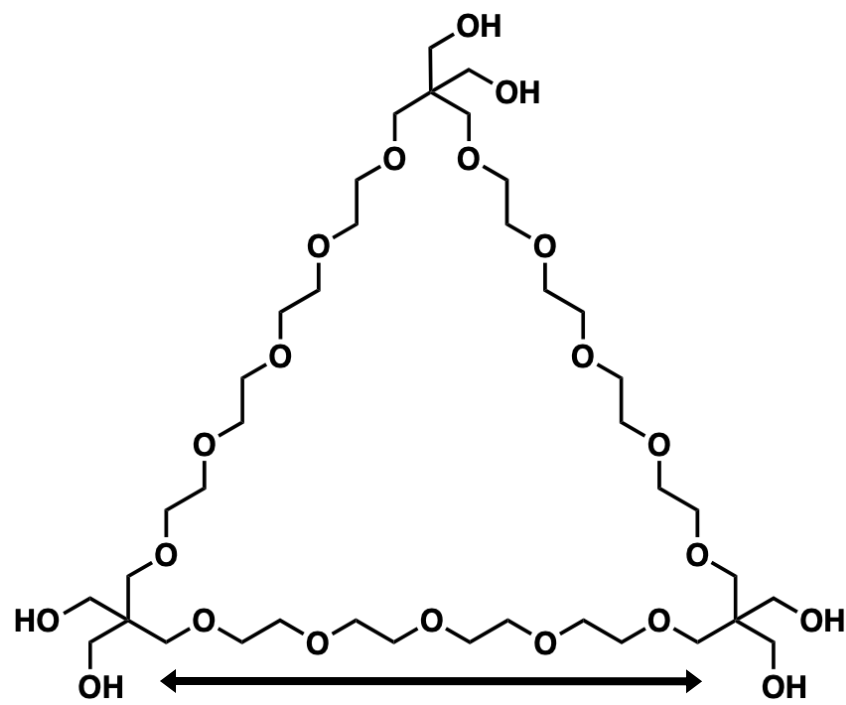
X



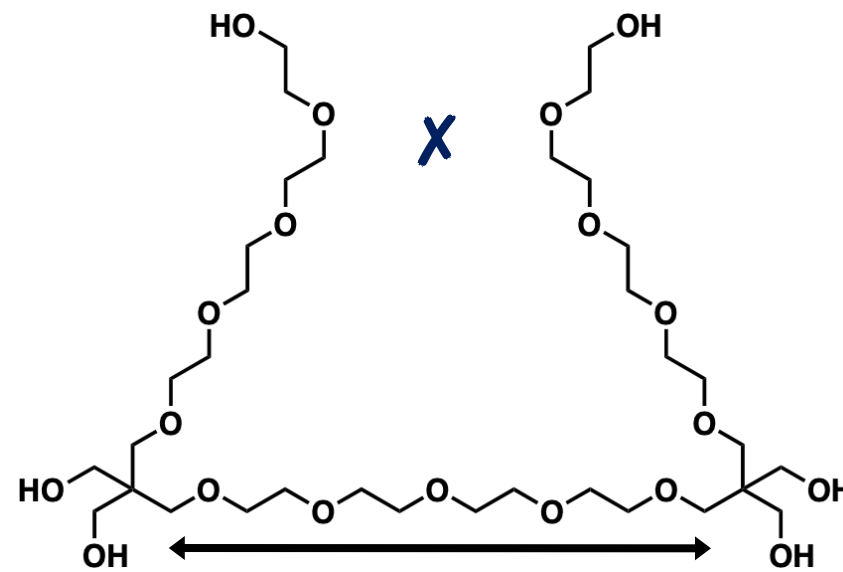
フェニルエーテル

# 関連技術：分子のトポロジーの影響（構造化PEG）

- ・ 有効濃度 >25 mM
- ・ 分子の形状により異なる効果

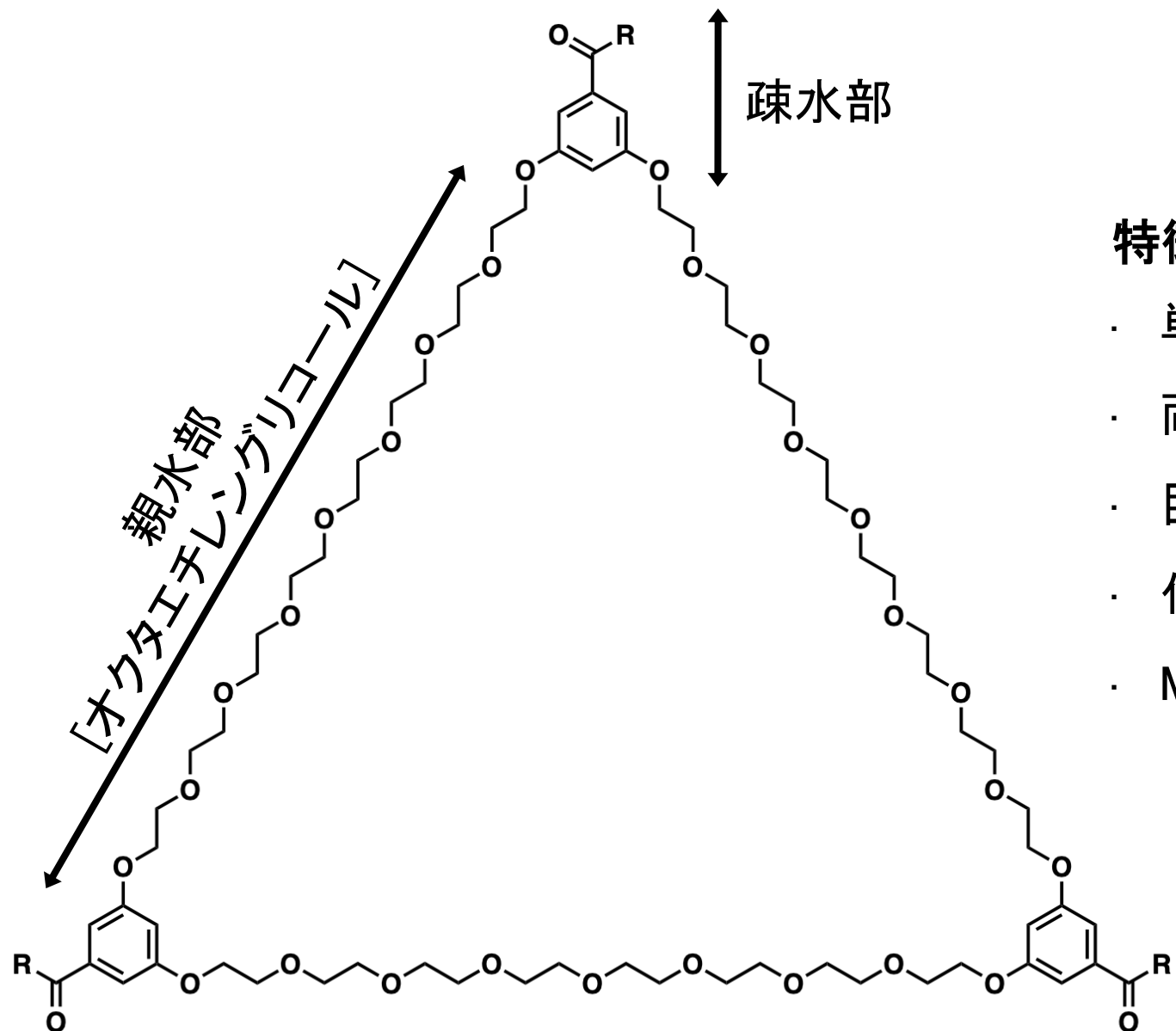


テトラエチレングリコール



テトラエチレングリコール

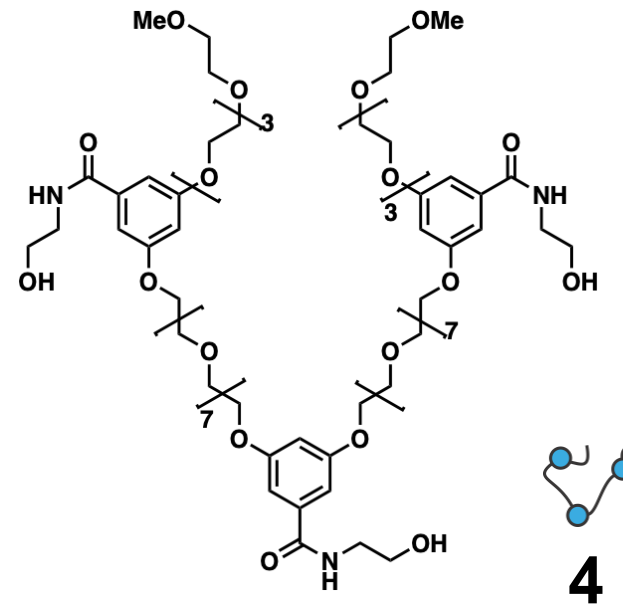
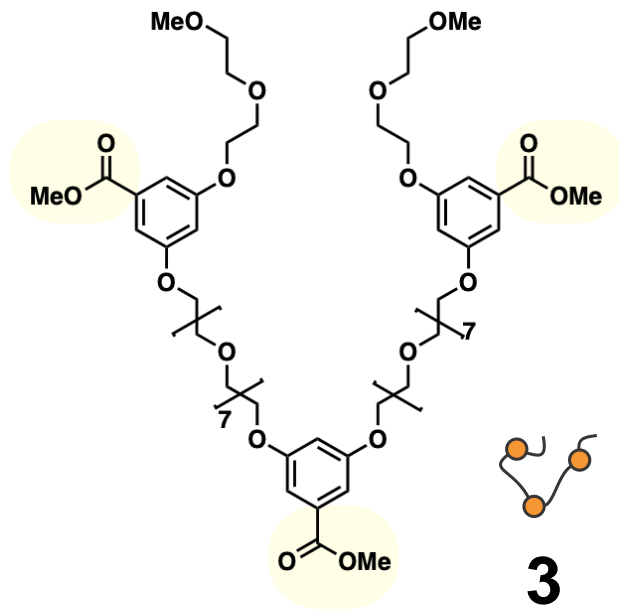
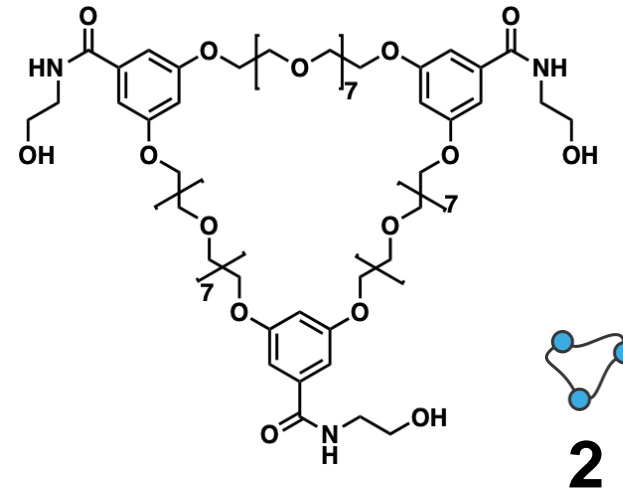
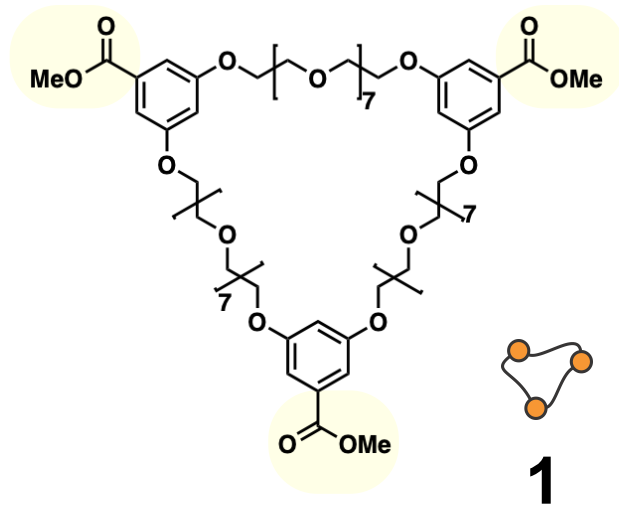
# 特許取得：最終的な分子設計



## 特徴

- ・ 単分散性
- ・ 両親媒性マルチブロック分子
- ・ 巨大環状分子
- ・ 化学修飾可能
- ・ MW: ca. 1600 Da

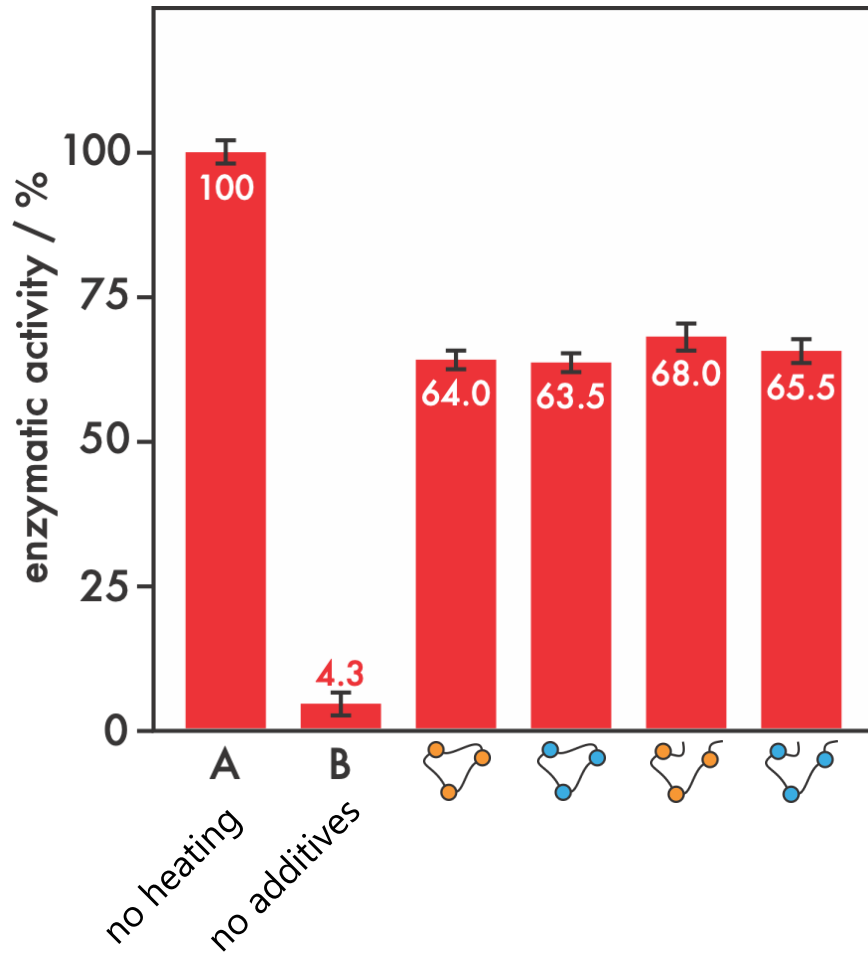
# 特許取得：関連分子



# 特許取得：リゾチームの凝集抑制

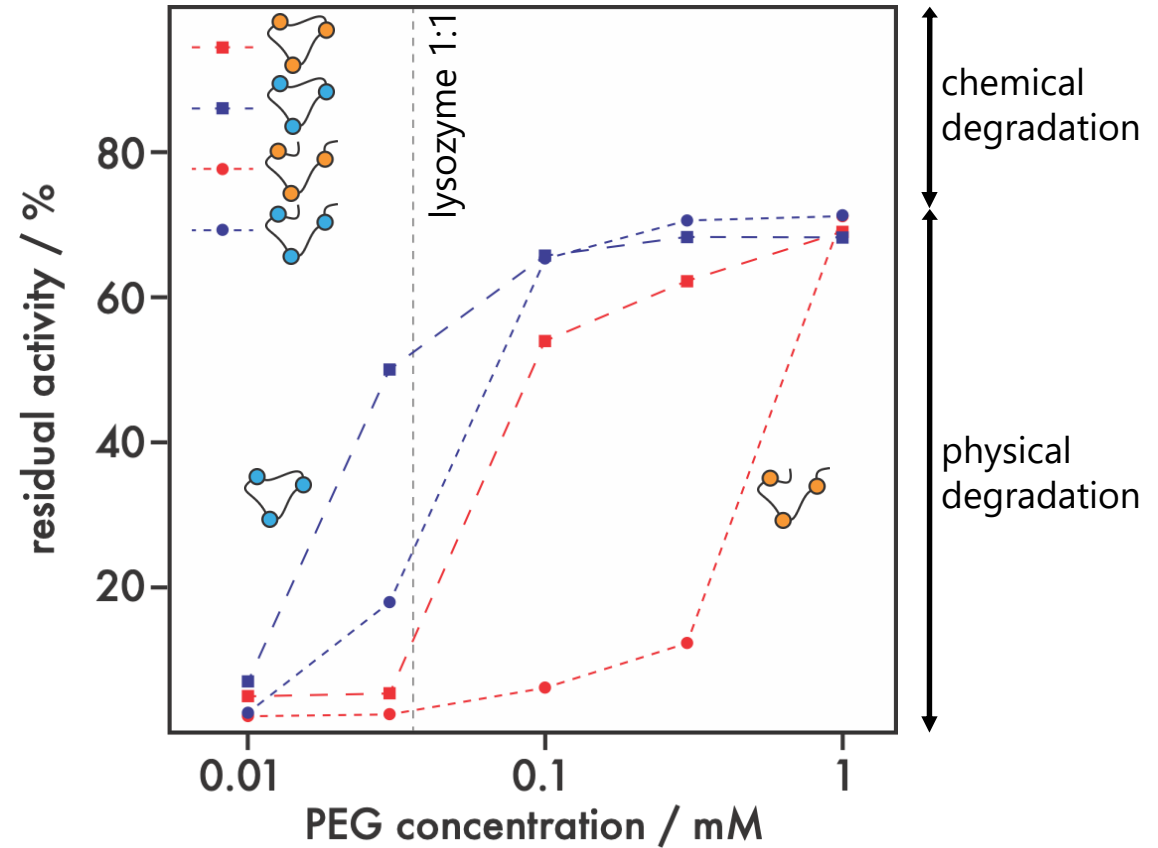
## リゾチームの残存酵素活性

lysozyme, 0.036 mM in PB pH 7.0, 50 mM  
incubated at 90 °C for 20 min  
with tOEGs, 3.0 mM, repeated × 3



## リゾチームの残存酵素活性

lysozyme, 0.036 mM in PB pH 7.0, 50 mM  
incubated at 90 °C for 20 min  
with tOEG, various concentrations



# 特許取得：加熱失活抑制のメカニズム

PEG系化合物なし



PEG系化合物あり



PEG系化合物は加熱前のタンパク質と相互作用しないが、加熱後のタンパク質と相互作用すると考えられる。この相互作用が変性タンパク質の会合を妨げ、タンパク質の凝集を抑制する。

## 関連技術：想定される用途

---

- タンパク質溶液の熱安定性向上
- コールドチェーンの改善, 回避
- 熱以外の外部刺激に対する安定性の向上に  
応用することも可能と思われる。
- タンパク質溶液の高濃度化

## 実用化に向けた課題

---

- 現在、リゾチームをモデルとして用いているが、目的とするタンパク質に応じて構造を最適化する必要がある
- 大量合成のためには、合成ルート最適化と構造の単純化が望ましい
- PEGは生体に対し毒性がないとされているが、厳密には構造が違っているので、製剤に応用する場合には検証が必要



## 企業への期待

---

- ターゲットとなるタンパク質をご提供頂ける企業との共同研究を希望。
- タンパク質の活性評価は企業側でお願いしたい。
- 特許取得済みの分子だけでなく、ターゲットとなるタンパク質に合わせた新規分子の開発も念頭においています。

## 本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : タンパク質の凝集抑制剤及びタンパク質の凝集抑制方法
- 出願番号 : 特願2016-141891
- 特許番号 : 特許第6778947号
- 出願人 : 東京工業大学
- 発明者 : 金原 数、村岡貴博  
ヴァブロ アダム マルシン

# お問い合わせ先

**東京工業大学**

**研究・産学連携本部**

**TEL 03-5734-2445**

**FAX 03-5734-2482**

**e-mail [sangaku@sangaku.titech.ac.jp](mailto:sangaku@sangaku.titech.ac.jp)**