

Purity Analysis of Adeno-Associated Virus (AAV) Capsid Proteins using CE-SDS Method

アデノ随伴ウイルス(AAV)カプシド蛋白質の、CE-SDS ゲル分離による純度解析

Key Words : 遺伝子治療、細胞治療、ベクター、ウイルス、カプシド、キャピラリーSDS ゲル泳動、SDS ゲル分子量解析キット

遺伝子治療・細胞治療にベクターとして用いられるアデノ随伴ウイルス (AAV) は、3 種類の蛋白質を主構成成分とするカプシドを持っています。この蛋白質の構成比や純度は AAV の品質において非常に重要です。SDS-PAGE に変わって、より自動化／標準化した手法として、キャピラリーSDS ゲル電気泳動による評価がこの解析応用で注目されています。

Sciex の SDS ゲル分子量解析キット (製品番号 390953) を用い、生物製剤解析キャピラリー電気泳動システム PA 800Plus で、AAV8 カプシド構成蛋白質を中心にこの解析を行いました。その結果、3 種の主要蛋白質 (VP1~3) は良好に分離・検出され、これら以外の不純物ピークも検出されました (Fig. 2)。各蛋白質ピーク補正面積値%の再現性 (RSD%) は、8 回連続泳動においていずれも 0.7 %以内でした (Fig. 2, Table 1)。 $5 \times 10^{11} \sim 1 \times 10^{14}$ GC/mL (GC : Gene Copy、AAV8 サンプルでは、 8×10^{13} GC/mL が 0.7 mg/mL 蛋白質に相当した) の濃度範囲で良好な直線性が得られました (Fig. 16)。

AAV カプシド蛋白質の変性処理の検討では、混合する SDS 溶液の濃度 1% (Fig. 9) で 50°C 10 分間 (Fig. 10) の変性が最適と判断されました。濃度の低いサンプルの濃縮及びサンプル溶媒塩濃度軽減のために溶媒置換を要する場合を考慮し、この処理の有無による分離結果 (再現性含む) への影響が認められないこと (Fig. 11, 12, 13, Table 1)、また濃縮／希釈割合を変更した場合の分離への影響と濃度応答 (Fig. 14) も検討されました。さらに AAV2 でも同様の分離結果が得られました (Fig. 15)。

簡易な前処理で、比較的低濃度の場合も解析可能であり、分離も良好であることから、キャピラリーSDS ゲル電気泳動法が AAV のカプシド構成蛋白質の純度試験法として有用であることが示されました。