

インスリンと等電点

インスリンの注射薬が色々と医療現場に出てきていますが、一度、頭の中を整理したいというのでインスリン注射の学習会を依頼されました。その中で分かったつもりでいて、いざ詳しい説明をと言われると窮してしまった話題が今回のテーマです。

1) 持効型インスリン製剤グラルギン (商品名ランタスとランタスXR)

インスリンの**基礎分泌**に対応させるために合成された3種類の薬剤の内の1つですが、持続性を持たせるために人のインスリンのアミノ酸配列の一部を加工した製品になります。

グラルギンの場合は、インスリンのA鎖2位のアスパラギンをグリシンに変換、さらにB鎖のC末端側にアルギニンを2分子結合させた形になっています。

そのような変換をすることによって、人のインスリンの**等電点**が**5.5**なのを**6.7**まで上げています。血液や体液のpHは約**7.4**ですから、等電点を体液のpHに近づけた合成インスリンになります。

製剤としては無色透明な液ですが、皮下に注射するとグラルギンの等電点に近いpHに曝されるため、**等電点沈殿**を起こし白濁化して、インスリンがそこから徐々に溶け出して血液中へと移行して持続性が保たれることとなります。分類としては**持効性**と呼ばれています。

2) 等電点とは

さて等電点ですが、Isoelectric point(IEP)とも**pI**とも表現されます。インスリンの様な蛋白質では周囲の液体のpHによって**正の電気**を帯びたり、**負の電気**を帯びたりする**アミノ酸**が何種類か含まれています。そして**蛋白質全体**として差し引き、**正の電気**や**負の電気**を帯びたり、もしくは**電氣的に±ゼロ**にもなったりします。

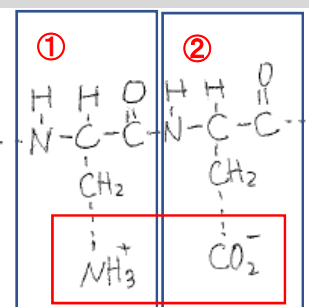
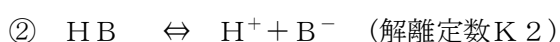
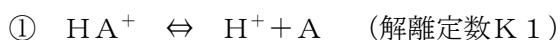
等電点とは蛋白質全体として**±ゼロの電気状態**になる**周囲の液のpH**を言います。グラルギンの場合ですと、pH6.7の時にインスリン全体として電氣的に±ゼロになります。**電氣的にゼロ状態は水に最も溶け込みにくい状態**でもありますから、蛋白質のように比較的大きな分子では**析出しやす**くなります。つまり**等電点で沈殿**するという現象が起こります。

3) 等電点の求め方 (一般論として)

以上でグラルギンと等電点の関係のお話は終わりにして、後は等電点の求め方へ話を移します。

話を簡単にするために、ある蛋白質に右のような2つの官能基(電気を帯びる可能性のある基 NH_3^+ と CO_2^-)があったとします(下手な絵ですが)。

それぞれの解離式を次のように現わします。



本当は濃度なので[HA]の表現にしないといけないのですが、面倒なので省略します。また本当は①と②のH⁺の濃度は違うので区別しないといけないのですが、これも面倒なので同じに書きます。

さらに Henderson-Hasselbalch の式より下記のように表現します。

$$\textcircled{3} \quad \text{pH} - \text{pK}_1 = \log(A/\text{HA}^+)$$

$$\textcircled{4} \quad \text{pH} - \text{pK}_2 = \log(B^-/\text{HB})$$

さらにさらに、それぞれの官能基は1つの分子内にあるので、2つの官能基の解離していない濃度と解離した濃度の和は等しいはずです。

$$\textcircled{5} \quad \text{HA}^+ + \text{H}^+ + \text{A} = \text{HB} + \text{H}^+ + \text{B}^-$$

さて等電点の条件は、全体として電氣的に±ゼロになるpHでした。

ここで③と④を足してlogも含めて式を揃えて⑥にします。

$$\textcircled{6} \quad \text{pH} + \text{pH} = (\text{pK}_1 + \text{pK}_2) + \log[(A \times B^-)/(\text{HA}^+ \times \text{HB})]$$

等電点の時のpHは等しいですから左辺のpHは

$$2 \times \text{pH} \quad \text{とまとめられます。}$$

また等電点の時に電気は±ゼロになりますから、電気を帯びた2つの分子は

$$\text{B}^- = \text{HA}^+ \quad \text{と同じ濃度になります。}$$

残りの電荷をもっていない成分は⑤式から残り者同士で、

$$\text{A} = \text{HB} \quad \text{と同じ濃度になります。}$$

これらの条件を⑥式に当てはめてみるとlogの中は1となるためlogの値は0になります。

でまとめますと

$$\textcircled{7} \quad 2 \text{pH} = \text{pK}_1 + \text{pK}_2 \quad \text{この時のpHがpIなので}$$

$$\text{pI} = (\text{pK}_1 + \text{pK}_2) / 2 \quad \text{とできました。}$$

蛋白質全体のpIを求めるには、官能基のもつ個々の解離定数pKを足して、その数で割れば、全体のpIが算出できるという訳です。

4) 塩析

余白が空いたので、蛋白質が沈殿するもう一つの現象について記載してみましょう。

塩析とは塩濃度(たとえば塩化ナトリウム)を増やした時に、**蛋白質が析出**する現象になります。蛋白質は構成されるアミノ酸の種類によって**親水性**の部分があったり、**疎水性**の部分があるのは前述のとおりです。水溶液は**水分子**で構成されていて、水分子は**H-O-H**になりますが、一般に**酸素O**には**−の電子**が偏りがちになり、相対的に**水素H**には**+**に偏ります。蛋白質が水溶液に溶けている状態は**蛋白質の親水性**の部分が**水分子の+の偏り部分**や**−の偏り部分**が取り囲んでいる状態になります。つまり水分子が蛋白質を小さな分子レベルで取り囲んで、水の中に上手に**溶け込んでいる**状態になっています。

そのようなところに**高濃度の塩化ナトリウム**が入ってくるとナトリウム**Na⁺**の**+**が**水分子の−傾向部分**を引き寄せて、塩素**Cl[−]**が**水分子の+傾向部分**を引き寄せ、結果的に蛋白質から水分子を引き離します。すると行き場を失った蛋白質の親水性部分が隠れて水を避けるのが上手い**疎水性部分**がでてきます。その結果、蛋白質の**疎水性部分同士**が水を避けるようにして仕方なく寄り集まって起こる**疎水結合**が蛋白質間で始まり、**集合して沈殿**するというのが塩析の原理になります。

(終わり)