

Production of dimeric rhEGF linked by bi-functional PEG aldehyde

권진숙, 이은규*
한양대학교 화학공학과
(eklee@hanyang.ac.kr*)

EGF(Epidermal Growth Factor)는 세포표면에 위치한 EGF receptor에 결합하여 신호를 전달함으로써 세포의 분열을 유도하여 상피세포의 성장을 촉진하는 것으로 밝혀져 있다. 단량체(monomer) 보다는 이량체(dimer) 형태로 receptor에 결합할 때 신호전달이 촉진되는 것으로 알려져 있다. 우리는 bi-functional PEG aldehyde를 이용하여 한 PEG분자 당 두 분자의 EGF를 PEGylation시키는 것을 시도하였다. 또한, multi- 그리고 random-PEGylation되면서 receptor binding site를 masking하여 생물학적 활성을 급격히 감소시키는 것을 줄이기 위하여 단백질의 N-terminal 부위만을 특이적으로 반응시키려고 하였다. 이 PEGylation 반응은 PEGylation되는 EGF의 개수와 N-말단기 외 두개의 lysine 잔기와의 결합에 따라 여러 종류의 불순물을 생성할 수 있다. 따라서 EGF의 아미노산 잔기 중 가장 선택적으로 PEG 분자와 결합하는 잔기를 찾아내고, bi-functional PEG aldehyde와 EGF의 결합 반응속도론을 규명하는 것이 요구된다.

본 연구에서는 bi-functional PEG와 mono-functional PEG의 반응차이를 분석하고, bi-functional PEG aldehyde를 이용한 EGF PEGylation 반응조건을 예비적으로 최적화하였다. 또한 일정 농도의 PEG 용액에 EGF 분자를 서서히 첨가시킨 후 EGF-PEG 접합체를 Lys-C 처리하여 선택적인 PEGylation 반응 부위를 규명하였다.