

長い中空のキャピラリーカラムによる低分子、合成ポリマー、タンパク質の分離
○任 麗英¹, 金野 智浩¹, 石原 一彦¹, 加藤 大²(¹東大院工, ²東大院薬)

目的 タンパク質は生体内反応を調整する高分子であり、その高次構造が機能に密接に関連している。例えば、アルツハイマー病、プリオン病等のいわゆるフォールディング病は、タンパク質の構造が変化し異常凝集することが原因であると考えられている。本研究では、タンパク質の凝集メカニズムを解析するために、タンパク質が凝集していく過程で生じる各種中間体の分離分析法の開発を目指している。タンパク質の構造を変化させずに分離するには、充填剤との相互作用が無視でき、さらに十分な空隙を有し、低圧で分析が可能な中空のカラムが適していると考えた。またタンパク質の変性を防ぐために、水を移動相に用いた。

方法 分析装置にはキャピラリーLC システム(UV 検出)を利用した。カラムにはフューズドシリカキャピラリー(内径 25 μm)を用いた。低分子、合成ポリマーとタンパク質を試料に用い、その溶出挙動を調べた。

結果及び考察 各試料の注入量が、0.50 μl 以上の時には1本のピークとして検出されるのに対し、0.01 μl 以上 0.50 μl 未満の時には後ろに新たなピークが溶出し、2本の分離したピークとして検出された。2本の分離したピークとして溶出する原因は、キャピラリー内に生じる層流の先端部分と内壁部分に分離したと予想した。そこでチオウレアを用いて、試料濃度(0.01, 0.1, 1.0, 10.0 mg/ml)、注入量(0.01~0.20 μl)、移動相の流速(0.5~5.0 $\mu\text{l}/\text{min}$)とキャピラリー長(0.6, 3.1, 6.7, 10.3 m)を変化させた時の2本のピークの保持時間比と面積の割合の変化を調べた。保持時間比は、試料濃度、注入量、移動相の流速では変化せず、キャピラリー長が長くなると小さくなった。一方、後ろのピークの割合は、試料濃度が高く、注入量が少なく、流速が速く、キャピラリー長が長いほど増加した。