

28T-am08

新規 long-pressed locular tube を用いた向流クロマトグラフィーによるタンパク質の分離

○梅澤 元紀¹, 宮本 葵¹, 四宮 一総¹, 伊東 洋一郎²(¹日本大薬,²米国NIH)

【目的】我々はこれまで locular tube を考案し、向流クロマトグラフィー(CCC)を用いたタンパク質分離に有用であることを示した。^{1,2)} CCC では固定相の保持、カラム内での二液相の攪拌、分相及び移動相の移動を効率よく行うことが必要である。今回、更に long-pressed locular tube を作製し、タンパク質の CCC 分離を行って、その分離効率を検討した。

【実験】(i) long-pressed locular tube の作製：テフロンチューブ(内径 1.5mm、外径 2.5mm)を 1.2cm 毎に 8mm 幅で平坦に press した。(ii) CCC 分離：装置：交軸型 CCC(理工学部工作技術センター製)；カラム：multilayer coil(容量 90.0mL)；二相溶媒：12.5%PEG1000/12.5%K₂HPO₄ 水溶液；タンパク質試料：cytochrome C(cyt C)、myoglobin(myo)、lysozyme(lys)；移動相：上層又は下層；回転速度：1000rpm；移動相流速：0.4、0.6、0.8mL/min；分画：2min/tube；検出：UV280nm。

【結果・考察】下層を移動相とした場合、流速 0.4、0.6、0.8mL/min で分離度(Rs(cyt C/myo))は順に、2.2、1.9、1.3、Rs(myo/lys)は 1.7、1.6、1.2 となり、理論段数(Nmyo)は 569、509、533 段、固定相保持率(Sf)は 37.2、27.8、20.1%であった。また、上層を移動相とした場合、同様に Rs(lys/myo)は 1.8、1.1、0.7 であり、Nlys は 604、479、326 段、Sf は 19.5、13.8、6.5%となった。Rs、N 及び Sf はいずれも流速が低下するにつれて増加した。以上の結果から long-pressed locular tube はタンパク質の CCC 分離に有効であることがわかった。現在、一層の分離効率の向上を目的として long-pressed locular tube の改良を検討している。

<文献> 1)K. Shinomiya, et. al., J. Liq. Chrom. & Rel. Technol., 32, 1096 (2009).

2)K. Shinomiya, et. al., J. Liq. Chrom. & Rel. Technol., 34, 182 (2011).