

28AB-pm339S

温度応答性高分子および DNA アプタマーを用いた新規アフィニティー担体の開発

○秋丸 倫子¹, 蛭田 勇樹¹, 金澤 秀子¹ (慶大院薬)

【目的】アフィニティークロマトグラフィーはその選択性の高さから様々な生理活性物質の分離・精製に利用されている。しかし従来の方法では、リガンドに結合した標的物質を溶出させるために低 pH や高塩濃度条件が必要となり、タンパクの凝集・変性が起こりやすい、脱塩など煩雑な後処理を要するなどの問題点がある。本研究室ではこれまで、温度応答性高分子 poly(*N*-isopropylacrylamide) (PNIPAAm)を用いた温度応答性クロマトグラフィーシステムを構築してきた。本研究ではこのシステムをアフィニティー担体へ応用し、これまでの苛酷な溶出条件による精製タンパクの変性などの問題を解決する新規アフィニティーシステムの構築を目指した。

【方法】モデルタンパクとして α -トロンビン、モデルリガンドとしてトロンビンアプタマー(15-mer)を用いた。温度応答性高分子 PNIPAAm とスペーサーを介したアプタマーを共固定したアフィニティー担体を作製し、温度によるトロンビンの吸脱着能を評価した。

【結果及び考察】作製したアフィニティー担体において、低温側では PNIPAAm 鎖の水和・伸長によりアプタマーが遮蔽され、トロンビンの吸着が抑制された。一方、高温側では PNIPAAm 鎖の脱水和・凝集によりアプタマーが表面に露出し、トロンビンが吸着された。これにより、タンパク変性を引き起こさない温和な条件下でのアフィニティー精製の可能性が示された。本システムの実現により、タンパク精製を必要とする様々な分野において、品質の向上・工程の簡略化への貢献が期待できる。