

28AB-pm340

タンパク精製のための温度応答性固相抽出カラムの開発

○大阿久 絢加¹, 大久保 廣平¹, 秋丸 倫子¹, 蛭田 勇樹¹, 金澤 秀子¹ (慶應大薬)

[目的] 近年製薬会社は、低分子医薬品よりも、ターゲットにのみ効果を与えるバイオ医薬品の開発に力を注いでいる。また、医療費削減へ向けた予防医学の推進により ELISA などの抗体を用いた診断キットの開発が盛んに行われている。このような背景から、タンパクを精製する需要が増している。従来のタンパク精製法では、有機溶媒や低 pH 溶媒、高塩濃度溶媒の使用によるタンパクの変性や凝集が問題となることがある。本研究では、これまでに開発してきた温度応答性クロマトグラフィーを固相抽出カラムに応用し、水系溶媒を用いた温和な条件でのタンパクの精製を検討した。

[方法] シリカゲルビーズ(粒径: 40-63 μm , 細孔径: 300 Å)表面に NIPAAm、疎水性モノマー、陰イオン性モノマー及び架橋剤を導入した温度応答性 PNIPAAm 共重合体ハイドロゲル表面を持つシリカゲルビーズ担体を作製し、固相抽出カラムとした。カラムをコンディショニングし、各試料を負荷した後、1 mL ずつフラクションに分画することで溶出操作を行った。

[結果・考察] モデルタンパクとしてリゾチームを試料とし、作製したカラムの評価を行った。カラムの温度や溶出溶媒のイオン強度を変化させた結果、温度によって充填剤表面の電荷密度を制御できることを確認した。また、リゾチームとオвалブミンの混合物から、温度変化のみでリゾチームを回収することができた。さらに、従来法と比較して、リゾチームの酵素活性をより維持しながら精製できることを確認した。さらに、IgG とアルブミンの混合物から温度の効果によって、IgG を回収できることを確認した。