

23PO-am109

ポリエチレングリコール結合性シリカゲル担体を用いたタンパク質の分離

○治京 玉記¹ (¹大夕短大食栄)

【目的】タンパク質などの高分子化合物の分離・精製に液体クロマトグラフィー (HPLC) を用いる場合、アフィニティークロマトグラフィー、ゲルろ過クロマトグラフィー、逆相クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィーなど複数の分離モードを組合せ段階的に精製する方法が一般的である。しかしながら、アフィニティークロマトグラフィーは網羅性とコスト性、ゲルろ過クロマトグラフィーは分解性能、逆相クロマトグラフィーは生理活性の維持、イオン交換クロマトグラフィーは高い分解性能と高い吸着容量の両立が困難である。そこで、タンパク質とリガンド相互作用を有し、さらに緩和な条件で分離・定量解析がダイレクトに行える HPLC システムの開発・実用化が囑望されている。本研究は、ポリエチレングリコール (PEG) 結合性シリカゲル担体を新規に作成し、それを HPLC 担体として使い、ウシ血清由来アルブミン (BSA) およびインスリンの分離・精製について検討を行った。

【方法および結果・考察】まず、親水性ポリエーテルである PEG の鎖長を高分子 (平均分子量 3,000)、中分子 (平均分子量 1,500)、低分子 (平均分子量 500) と 3 段階に分類した PEG 結合性アミノシリカゲル担体を作成した。次いで、PEG 結合性シリカゲル担体を HPLC 用カラムに充填し、BSA およびインスリンの分離・精製についてグラジエント 0 - 100% B in 20min (Buffer A; 50mM Tris-HCl buffer, pH8.3, Buffer B; 0.5M NaCl/50mM Tris-HCl buffer, pH8.3) の条件下で測定を行った。その結果、BSA はどの鎖長においても保持されなかったのに対して、インスリンでは中分子 (平均分子量 1,500) PEG 結合性シリカゲル担体において保持が確認された。今後、分離能の改善、再現性、耐久性について検討を行う予定である。