



強疎水性タンパクの対処

INS-005

STE Bio Consultant

疎水性の強いタンパク質の分離精製ができない、又は苦労した経験をお持ちの方は多くと思います。
何故、できないのか？

((実 例))

- ・ サンプル中には多量に入っているが、精製操作後には、無くなってしまう。(回収率が非常に低い)
- ・ 精製操作により、回収できたが、余分な他タンパク質が混在してしまう。
- ・ など

((原 因))

- ・ タンパク質サンプルの脱塩カラムや各種精製キット、及びサンプルバイアルなどは、プラスチック製である。
- ・ 金属やガラスの場合、プラスチック程ではないが、吸着はゼロではない。
- ・ 疎水性タンパク質は、プラスチックに吸着する。
- ・ 『販売しているメーカーの説明書には、吸着は無いと明記してある』⇒これが誤解のもと！
各種キットや器具等の吸着に関する性能は、①多くの場合、BSAを使用しての評価結果である、②欧米では、5%以下のロスは、『ゼロ』と表示されている。たとえば、タンパク質精製器具で、適用タンパク質量が、1mg以上の場合、50 μ gまでの吸着は『吸着は無い』と表現される。
- ・ 共存タンパク質が除けないのは、強疎水性タンパク質と共存タンパク質の疎水性部分の吸着が強固であるため。

((機器や器具類への吸着への対処法))

- ・ 目的タンパク質が吸着する可能性のある部分を、事前にBSAやカゼインなどでブロッキングする。
- ・ ブロッキング後、大量の精製水で洗い、弱く付いているブロッキング剤を物理的に取り除く。

((共存タンパク質との吸着への対処法))

- ・ 精製プロセスの適当なところで、有機溶媒による分離、又はSDSのような強力な界面活性剤を使用する。
- ・ 有機溶媒や界面活性剤による変性のリスクがあることを考慮してください。

分子量3000弱の強疎水性ペプチドの分離精製の助言を行い、世界で初めて成功させた経験があります。その研究は、Nature Medicineに掲載されました。強疎水性タンパク質等の分離は使用する機器・器具により方法が異なります。ご相談下さい。

STE Bio Consultant