

SDS 電気泳動法による分子量測定について

1. はじめに

蛋白質はアミノ酸がペプチド結合により多数つながったポリペプチド鎖から成り、さらに立体的な化学結合により折りたたまれた構造をとる生体高分子で、大小様々な大きさが存在します。その蛋白質の大きさを表すのが分子量です。蛋白質の分子量を知ることは、目的蛋白質の同定やクロマトグラフィー等による分離精製する上で必要となります。蛋白質の分子量というのは蛋白質全体の1モルあたりの相対質量のことで、一般的にアミノ酸の総和から算出する方法やゲル濾過法、電気泳動法などの測定方法があります。ここでは数ある電気泳動法の中、SDS(ドデシル硫酸ナトリウム)電気泳動法を用いた分子量測定法について紹介します。

2. SDS 電気泳動法の原理

SDS 電気泳動法は1970年 Laemmli らによって開発されました。図1に本法の装置を、図2に原理の概要を示します。まず還元剤などでアミノ酸同士の立体結合を切り、アミノ酸が多数つながった一本鎖のポリペプチド状態にします。これに陰イオン界面活性剤である SDS をポリペプチド鎖に結合させると、SDS-ポリペプチド複合体は多大な負電荷を帯びるので、直流電圧をかけてプラス極方向へと移動させていきます。移動中はポリペプチド鎖の長い分子ほど網目状になっているゲルに引っかかるため移動度は小さくなり、短いほど移動度が大きくなります。従って、ゲル中での分離要因は蛋白質の分子サイズの違いだけになり、蛋白質を分子量により分離することができます。

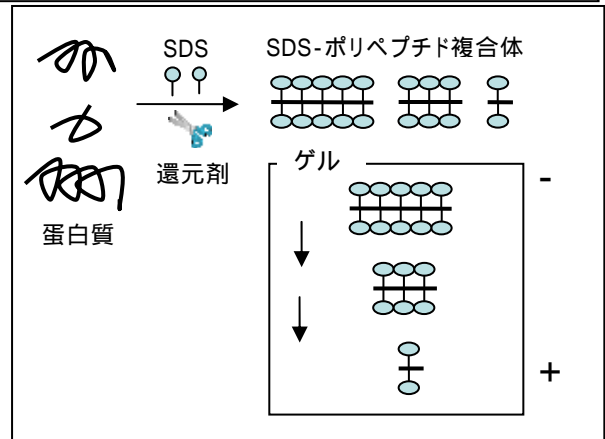


図2 SDS 電気泳動法の原理

3. 電気泳動結果

実際にケラチン蛋白質を分離し、蛋白質染色剤で染めた結果を図3に示します。左に分子量マーカー、右にケラチン蛋白質の分離結果を示します。ゲル先端から各バンドまでの移動距離を測り、これを移動度 - 分子量標準曲線(図4: 片対数グラフの縦軸に分子量マーカーの各分子量の対数を、横軸に移動距離をとった曲線)にプロットすることで、泳動したサンプル蛋白質の分子量を測定する事が可能となります。よって、下図に示すケラチン蛋白質では、110kDa、50kDa(Da: ダルトン、分子量の単位)あたりの分子量をもつ蛋白質が多いことが分かります。

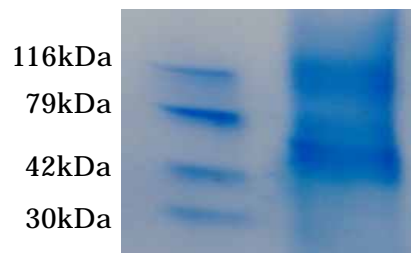


図3 電気泳動結果

(左: 分子量マーカー 右: ケラチン蛋白質)



図1 電気泳動装置

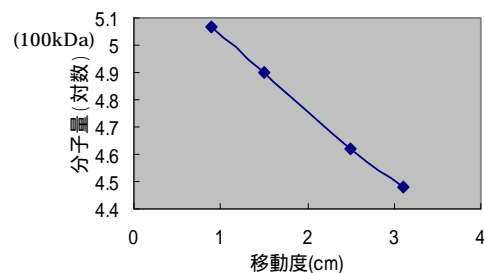


図4 移動度 - 分子量標準曲



尾張繊維技術センター 加工技術室 中西裕紀 (0586-45-7871)

研究テーマ: 天然高分子を利用した機能性繊維に関する研究

担当分野: 染色加工技術