

たんぱく質の精製法

たんぱく質は、アミノ酸が多数つながったもので、生物の重要な基本構成成分です。ひとくちに「たんぱく質」と言いますが、たんぱく質は、アミノ酸配列に応じて特徴的な立体構造を形成し、様々な役割を持っています。例えば、生体構造を形成するたんぱく質（コラーゲンやケラチン）、筋肉構成たんぱく質（アクチンやミオシン）、生体内情報伝達たんぱく質（たんぱく質ホルモン）、免疫やアレルギーに関わる抗体、貯蔵・輸送たんぱく質（アルブミン、グルテリン）、そして触媒機能を持った酵素などがあります。今年度のノーベル化学賞の受賞理由もおわんくらげ由来の緑色蛍光たんぱく質の発見でした。

たんぱく質は大豆食品や牛乳などから摂取する栄養素であり、生命活動を維持する上で、重要な役割を果たしていますが、私たちの生活の中でも活躍しています。例えば、プロテアーゼやリパーゼという酵素は、それぞれたんぱく質や脂汚れを分解してくれるので洗剤に配合されています。リパーゼやアミラーゼが配合された整腸剤もあります。口臭予防用に、フェノール酸化酵素の1種であるラッカーゼやプロテアーゼが利用されている例があります。血糖値計などのバイオセンサにも酵素が使われています。当センターでは、環境浄化への活用として、カビのアルコール酸化酵素とギ酸酸化酵素を固定したホルムアルデヒドガス分解フィルターを開発しています。

これらの有用たんぱく質を自然界から見つけだし、その生理的な意義や機能を明らかにするためには、多種多様なたんぱく質が存在する中から目的となるたんぱく質だけを取り出す「精製」という技術が必要です。精製には、カラムクロマトグラフィーが多用されます。これは、無機または高分子ゲルを充填したカラムにたんぱく質を含む溶液を流し、たんぱく質の性質の違いにより分離する方法です。

最も代表的なものが、たんぱく質の電気的性質の違いを利用したイオン交換クロマトグラフィーです。たんぱく質は、アミノ酸に由来するアミノ基やカルボキシル基などのイオン性の官能基を多

数持っているため、溶液のpHに依存して正や負に帯電します。溶液のpHが低いと正に荷電する官能基が増えるので、たんぱく質全体としては正に帯電し、逆に溶液pHが高くなると負に帯電します。ちなみに正と負の電荷量が等しく、見かけ上たんぱく質が電氣的に中性となるpHを等電点といいます。たんぱく質の荷電符号に応じて陰、陽のいずれかのイオン交換カラムが選択されます。

例として、目的たんぱく質がその等電点よりも高いpHの溶液に含まれている場合を考えます。この溶液を陰イオン交換カラムに流すと、目的たんぱく質を含む負に帯電しているたんぱく質はカラムに吸着し、それ以外の夾雑たんぱく質は素通りします。吸着したたんぱく質は、イオン強度を高くした溶液を流して、たんぱく質とイオン交換樹脂との電気的相互作用を弱めることにより溶出させることができます。このとき、イオン強度を徐々に上げることにより、イオン交換樹脂との相互作用が弱いたんぱく質から早く溶出してくるので、目的たんぱく質を選択的に得ることができます。

たんぱく質の大きさの違いを利用して分離するゲルろ過クロマトグラフィーもよく用いられます。この方法で用いられるゲルには、非常に微少な孔が多数空いています。孔よりもサイズの小さなたんぱく質は、孔の中を通っていくためにカラムから溶出するのに非常に時間がかかりますが、大きなたんぱく質はゲルの中に入らないので、短時間で溶出します。

これら以外にも、たんぱく質の疎水的性質を利用した疎水クロマトグラフィーや特定のたんぱく質と特異的に結合するアフィニティークロマトグラフィーなどがあります。

たんぱく質の精製は、たんぱく質の性質、安定性、収率や時間を考慮しながら、これらの方法を複数組み合わせで行います。最適化には経験と勘が必要であり、試行錯誤の繰り返しですが、うまく精製できた時は、山登りでようやく登頂できたときのような喜びを感じます。

応用技術室：近藤徹弥

研究テーマ：微生物や酵素を活用した生物資源の機能開拓や機能評価法の開発

指導分野：微生物一般、食品包装

愛産研食品工業技術センターニュース（平成20年11月19日発行）

編集・発行：愛知県産業技術研究所食品工業技術センター

〒451-0083 名古屋市西区新福寺町2-1-1 TEL 052-521-9316 FAX 052-532-5791

URL: <http://www.aichi-inst.jp/afri/> E-mail: afri@mb.aichi-inst.jp