

タンパク質汚れの酵素分解挙動と洗浄性に関する研究 (第1報)

日本女大家政 ○横内良子 中西茂子

<目的> タンパク質汚れの洗浄に対する基礎的な研究として、タンパク質の酵素分解挙動を把握し、分解過程と脱離性との関連性を追求することを目的として検討を行った。

<方法> タンパク質汚れのモデルとしてウシ血清アルブミン(BSA)など、に対して酵素としてトリプシンを用い、50mM NH_4HCO_3 (pH 8.0)中で5~20分(にわたって)酵素分解を行った。5~10分ごとにHCl conc 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を加えて分解反応を停止させたものについて高速液体クロマトグラフィーにより分析を行った。装置は日本分光 UVIDEC-100-V, BIP-I, カラムは① Biofine RPC-SC18、② Biofine GFC SI-150K (x2), 溶離液はカラム①についてはA液:10% $\text{CH}_3\text{CN}/0.1\%$ TFA, B液:60% $\text{CH}_3\text{CN}/0.1\%$ TFAを用い30分間グラジエント溶出を行い、カラム②については25~50mM $\text{Na-PO}_4 + 150\sim 300\text{mM NaCl}$ (pH 7.5)を用いた。流量1ml/min, UV 220nmで検出した。また、種々の分子量標準物質を用い分解生成物の分子量の推定を行った。

<結果> 逆相カラムの①を用いた場合、分解時間5分で既に15の小ピークが検出され、10分毎に2~3コずつピークの数が増し量的にも増加するのが見られた。30分で25~26コに達した後は生成物の種類は増えず量のみ増加し、これに反して未分解タンパク部分が減りするのが見られた。これに対して②のゲルろ過カラムによれば、5分から20分位までに分子量2万以下のものおよび若干のオリゴマーとして3~4コのピークのみが検出され、その間では各分画が量的にのみ増加する。30分になると各分画の量的増加に加えて新たに未分解分画が分割され6万に近い分画と共にアミノ酸レベルの分画が生成した。このような分解過程と洗浄性との関連性について報告する。