

Application News

No. T150

熱分析
Thermal Analysis

DSCによるタンパク質の熱変性測定

Heat Denaturation of Protein by DSC

タンパク質は高次構造を形成することにより、その機能を発現します。また、タンパク質の機能は、溶媒の種類、温度上昇や pH の変化などに大きな影響を受けます。そこで様々な溶媒、pH でのタンパク質の安定性を評価することは非常に重要になってきます。その安定性評価手法の一つとして示差走査熱量計 (DSC) があげられます。

DSC は、試料と基準物質に出入りするエネルギー差が両者の温度差に比例することを利用して、試料の反応熱量が測定できます。DSC の温度を一定速度で上昇させた時にセル中のタンパク質が変性した時の熱変化を吸熱ピークとして捉えることができます。DSC-60plus は、高感度かつベースライン安定性に優れているため、溶液中の試料変化も容易に測定できます。ここでは、リゾチームと卵由来のタンパク質の熱変性温度、また、pH による影響についても測定しました。

A. Naganishi

■ タンパク質の熱変性温度

Heat Denaturation Temperature of Protein

タンパク質は温度上昇により高次構造が破壊され不可逆的な変化を起こして活性を失い変性を起こします。この温度上昇による変性は熱変性と呼ばれています。

Fig. 1 は卵白由来のタンパク質, Fig. 2 と Fig. 3 はリゾチーム (ニワトリ卵白製) を用い、各試料に pH 7.05 のリン酸バッファを加え、アルミニウムシールセルを使用して熱変性温度を測定しました。

Fig. 1 では、83.5 °C にアルブミン由来の吸熱ピークが見られました。また、Fig. 2 と Fig. 3 はリゾチームの濃度を変えて測定しました。0.2 % という希薄水溶液でも熱変性による吸熱ピークを検出することができました。

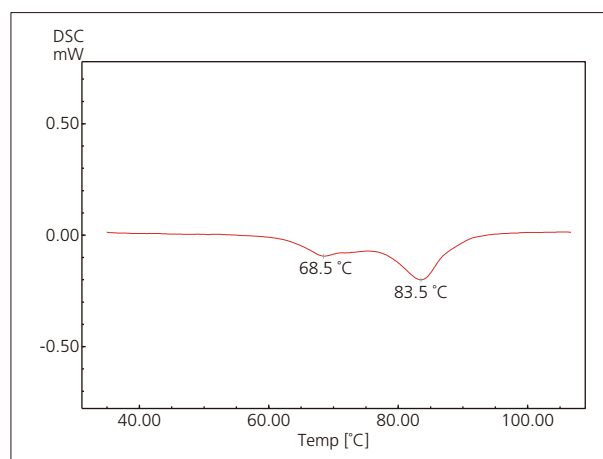


Fig. 1 10.4 % Protein from Egg pH 7.05 Buffer

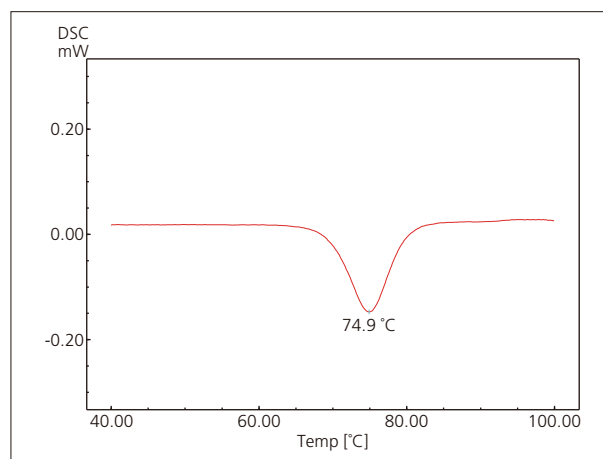


Fig. 2 2.5 % Lysozyme pH 7.05 Buffer

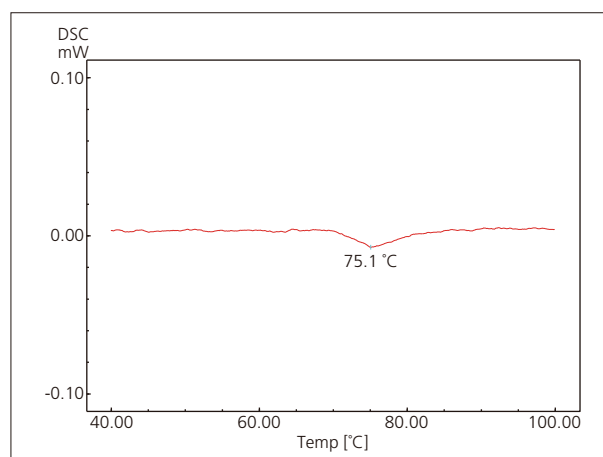


Fig. 3 0.2 % Lysozyme pH 7.05 Buffer

■タンパク質の熱変性温度-pHによる影響-

Heat Denaturation Temperature of Protein

タンパク質の熱安定性は測定を行う pH によって異なります。リゾチーム（ニワトリ卵製）に 0.2 M リン酸ナトリウム緩衝液 pH 4.20, pH 7.05, pH 9.10 をそれぞれ加え 10 % リゾチーム溶液を調整し、5 °C/min で 100 °C まで加熱しました。中性と比較して酸性になると熱変性温度が高温側へシフトしているのがわかりました。

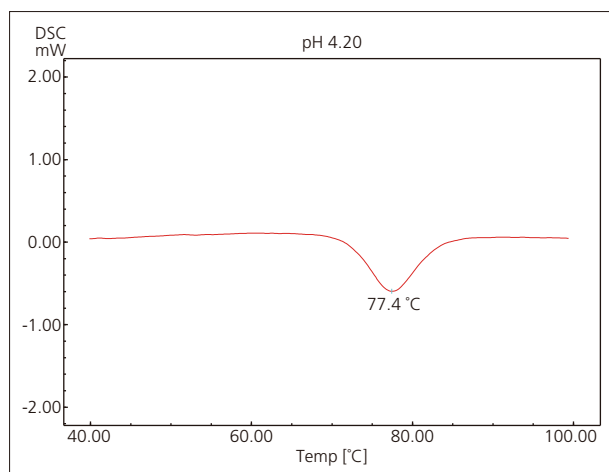


Fig. 4 pH 4.20

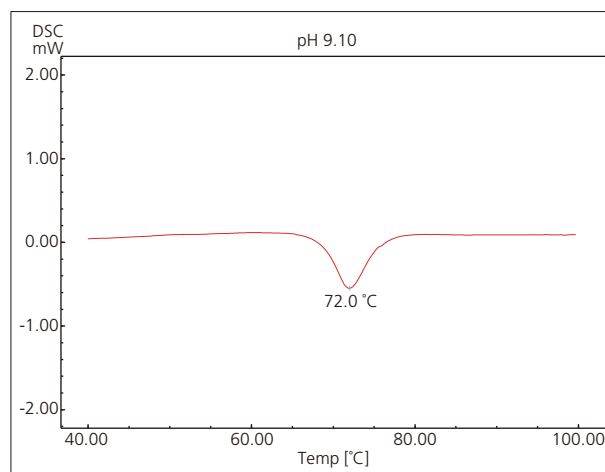


Fig. 6 pH 9.10

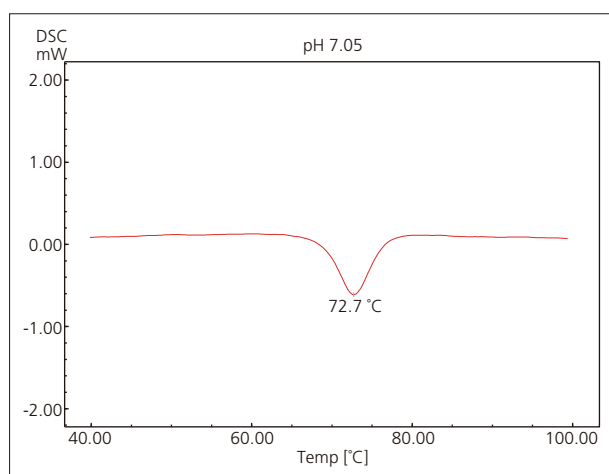


Fig. 5 pH 7.05

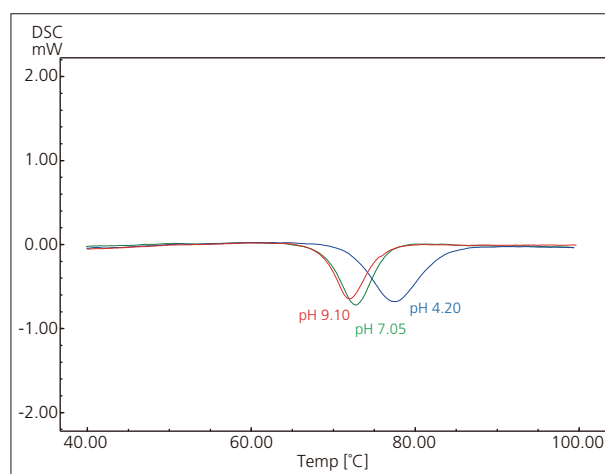


Fig. 7 Overwriting pH 4.20, pH 7.05 and pH 9.10