

プロテインシーケンサ PPSQ™-50Aシリーズ

## プロテインシーケンサを用いたアミノ酸配列の長鎖分析 –イソクラティックシステム–

栗木 智子

### ユーザーベネフィット

- ◆ N末端からのアミノ酸配列を確実に同定することができます。
- ◆ ソフトウェアを用いたアミノ酸配列の自動推定を簡単に行うことが可能です。
- ◆ ゲノムデータベースに登録されていないタンパク質のアミノ酸配列も容易に決定することができます。

### ■はじめに

エドマン分解を用いてアミノ酸配列を決定する装置に島津プロテインシーケンサ PPSQ-50Aシリーズがあります。単離精製されたpmolレベルのタンパク質のアミノ酸配列を同定することが可能です。分析に使用するサンプルは、精製の純度を上げることが必要ですが、操作は非常に簡便です。例えば、電気泳動後に分離されたタンパク質をPVDF膜上に電氣的に転写 (Electroblotting) し、染色後に膜上のタンパク質スポットを切り取り、直接リアクタに置くだけで、自動分析を行うことができます。本稿では、このシステムを用いて、N末端部からの長鎖配列分析を行った例を紹介いたします。



図1 プロテインシーケンサ PPSQ™-50Aシリーズ  
イソクラティックシステム

### ■PPSQ-50A イソクラティックシステム

島津プロテインシーケンサには、イソクラティックシステムとグラジエントシステムの2種類があります。本稿ではPPSQ-50Aイソクラティックシステムの分析例について説明します。PPSQ-50Aイソクラティックシステム (図1) では、エドマン分解で得られたPTH-アミノ酸をイソクラティック溶離で分析するシステムです。PTH-アミノ酸の分析条件を表1に、PTH-アミノ酸のクロマトグラムを図2に示します。PPSQ-50Aイソクラティックシステムには次の特長があります。

- ・簡単な操作性
- ・低ランニングコスト
- ・確実なアミノ酸配列の同定
- ・高感度セルを用いた微量分析
- ・同じ質量を有するIleとLeuを区別可能

プロテインシーケンサを用いたアミノ酸配列では、前後のクロマトグラムを比較し、そのサイクルで特異的に増加しているPTH-アミノ酸を同定することによってアミノ酸配列を決定します。このシステムではイソクラティック溶離を用いているため、それぞれのPTH-アミノ酸の溶出位置がずれることはありません。そのため、そのサイクルにおいて特異的に増加しているPTH-アミノ酸を容易にかつ確実に決定することが可能です。さらに移動相をリサイクルで使用しているため、廃液をだすことなくランニングコストを抑え、環境にも考慮したシステムです。

質量分析計を用いたアミノ酸配列分析では区別が難しい、同じ質量であるロイシン (Leu)とイソロイシン (Ile)をHPLCで分離を行い、簡単に同定することができます。また、PTH-アミノ酸の検出には、高感度セルを使用することで、pmol程度のサンプル量でもアミノ酸配列同定を実現できました。

表1 分析条件 (イソクラティックシステム)

Column	: Wakopak Wakosil PTH-II (S-PSQ) (250 mm x 4.6 mm I.D.)
Mobile phase	: PTH-amino Acids Mobile Phase
Flow Rate	: 1.0 mL/min
Time program	: T. Flow 1.0 mL/min(0 – 21.25 min)- 0.3 mL/min(21.5 - 45.25min)- 1.0 mL/min(45.5 – 45.51 min)
Column temp.	: 40 °C
Detection	: UV 269 nm (SPD-M30A) High Sensitivity Flow Cell

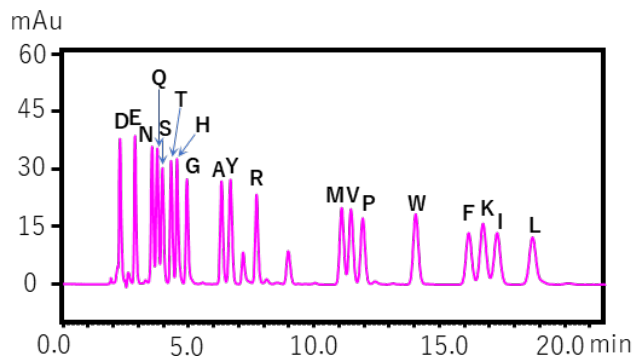


図2 PTH-アミノ酸標準混合物 (各25 pmol)の分析  
PPSQ-50A イソクラティックシステム使用

## ■ ヒトエリスロポエチンの分析例

バイオ医薬品としてよく知られているエリスロポエチン (CALBIOCHEM cat#329871)、50 pmolの分析を行いました。そのクロマトグラムを図3に示します。N末端部から49番目のアミノ酸残基も検出することができました。本手法を用いれば、50残基前後のアミノ酸配列を同定することが可能です。

## ■ まとめ

バイオ医薬品は、微生物や培養細胞など生物を用いて生産された医薬品です。化学合成で製造される低分子医薬品の製造工程と異なり、バイオ医薬品の製造工程は、様々な因子が培養に影響を与えるため、わずかな変化によって最終産物に影響がでてしまうことがあります。そのため、バイオ医薬品の製造には製品の安全性や有効性を維持するための品質管理が求められています。その一つである特性解析には、N末端部アミノ酸配列解析が含まれており、プロテインシーケンサを用いることにより高い信頼性のあるアミノ酸配列結果を得ることができます。研究・開発の分野だけでなく、品質管理の分野においても、プロテインシーケンサはきわめて有用な装置といえます。

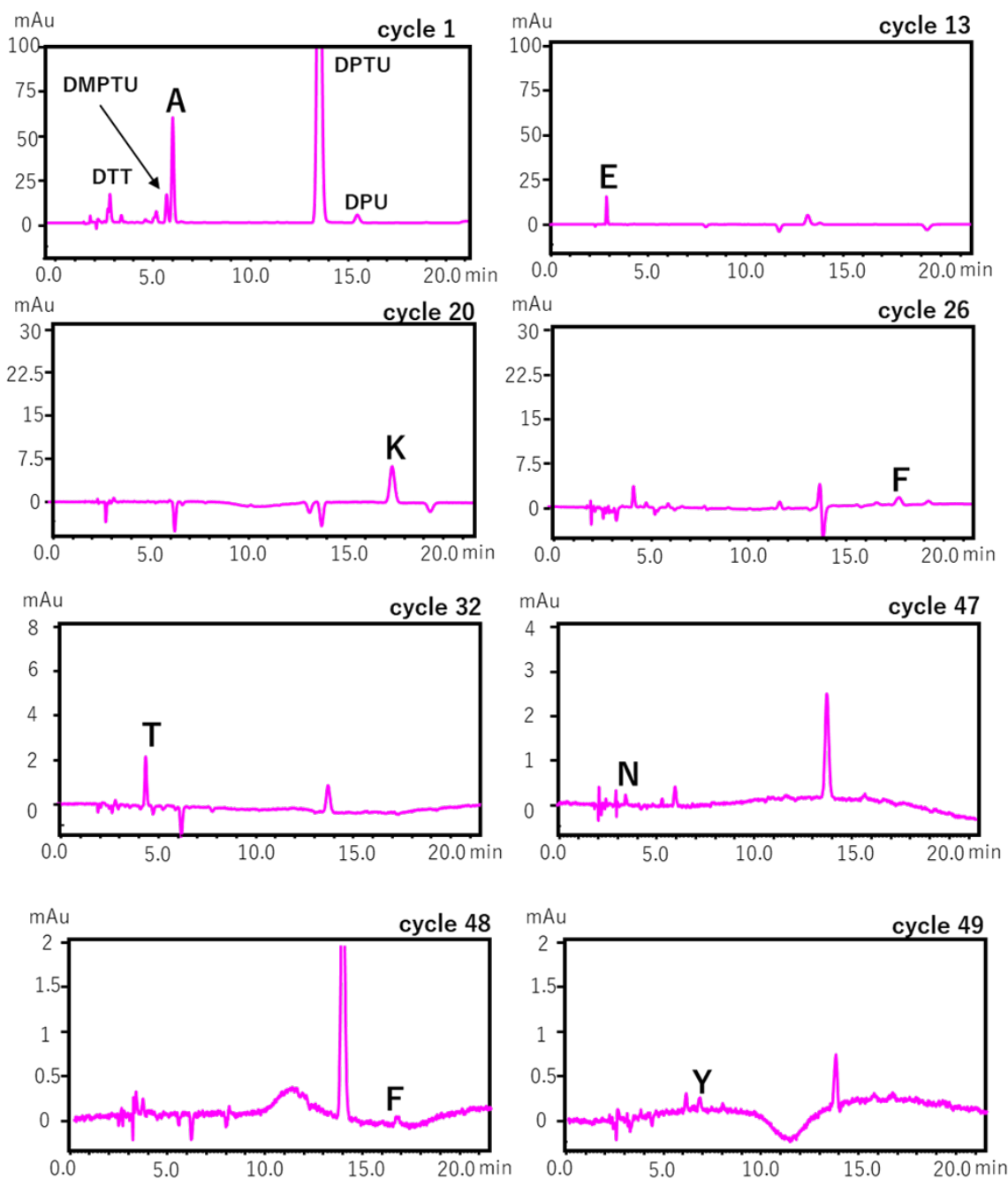


図3 エリスロポエチン 30pmolのアミノ酸配列分析のクロマトグラム

PPSQは、株式会社島津製作所またはその関係会社の日本およびその他の国における商標です。

# 株式会社 島津製作所

01-00521-JP 初版発行：2023年 4月

島津コールセンター ☎ 0120-131691

本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。本文中に記載されている会社名および製品名は、各社の商標および登録商標です。本文中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。