

P-2 非変性条件の電気泳動後のタンパク質の機能解析法の検討

○島崎洋次¹⁾、友澤孝宣²⁾

1) 愛媛大学大学院・理工、2) 愛媛大・理

非変性条件の電気泳動法（等電点電気泳動、サイズ分離電気泳動）では、生体タンパク質をインタクトな状態で分離することができるため、分離後のタンパク質の生理活性を解析するのに適した方法と考えられる。

本研究では、この電気泳動法により分離されたタンパク質の酵素活性、プロテアーゼ活性阻害、抗菌活性について調べ、この方法の生理活性分析法の適応範囲について考察した。

酵素活性解析：マウス肝臓由来の水溶性画分のタンパク質を非変性条件の2次元電気泳動法(2-DE)により分離し、分離後のエステラーゼ、デヒドロゲナーゼなどの酵素活性をそれぞれの基質および発色団により検出した(Shimazaki Y et. al. Proteomics 2003, Vol 3, p.2002-2007)。

トリプシン阻害活性解析：ヒト血漿タンパク質を非変性条件の2-DE法により分離し、それらをPVDF膜に転写し、pH 5.1の酢酸緩衝溶液中で色素染色した。各スポットにトリプシンを作用させた後、ACTHのト

リプシンによる分解活性の有無を調べることで、各スポットのトリプシン阻害活性を解析した。その結果、 α_2 -マクログロブリンやハプトグロビンのスポットで、トリプシン阻害活性が得られた(Shimazaki Y et. al. Clin Chim Acta 2013, Vol 425, p.48-53)。

抗菌活性解析：ニワトリ卵白中のタンパク質を非変性条件の等電点電気泳動により分離し、そのゲルを寒天培地内に静置し、さらに、納豆由来の菌を表面に塗布し、菌の生育度合いの違いを検討した。pI 8以上の塩基性領域に強い抗菌活性が得られた。さらに、他の抗菌活性タンパク質の活性検出法への適応を検討している。

以上の結果から、非変性条件の電気泳動法では生体タンパク質を高分離能で分離できるのみでなく、生体タンパク質をよりインタクトの状態でも分離できるため、その酵素活性解析のみならず、プロテアーゼ活性阻害の解析や抗菌活性解析などの種々の生理活性を調べる方法へと適応可能であると考えられる。