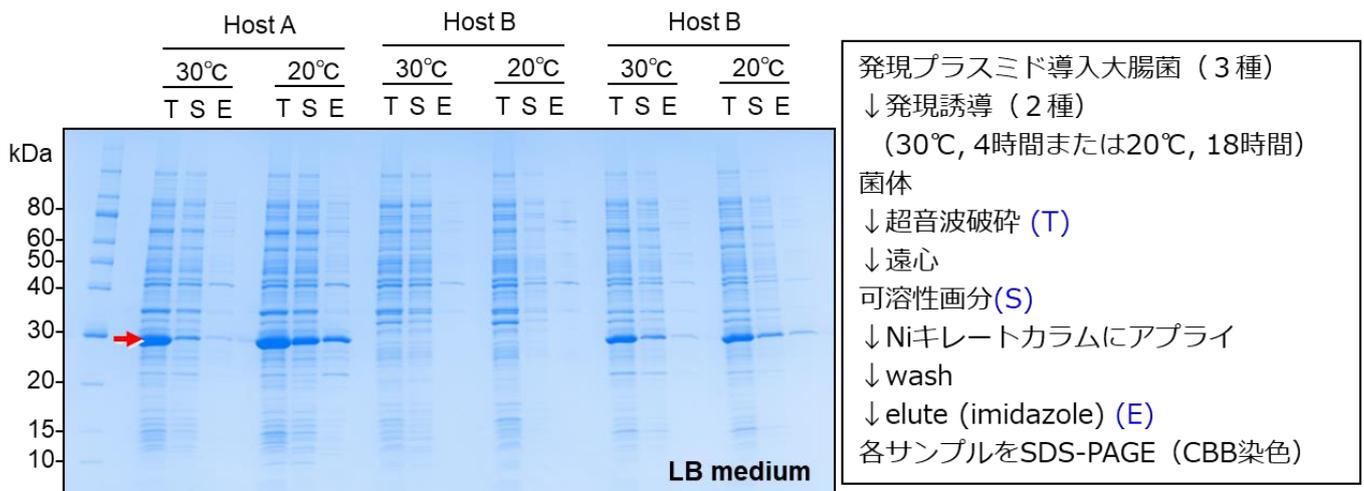


〈大腸菌によるタンパク質生産（モデルケースでの実施例）〉

大腸菌によるタンパク質生産に関して、一般的なフローをモデルケースとして実施いたしました。

【試験1；小規模発現試験・精製トライアル】

あるタンパク質をコードする発現ベクターを3種の大腸菌株に導入、2種の誘導条件で発現誘導を行いました。菌体を回収、超音波破碎を行った後に、Ni キレートカラムを用いた簡易精製試験を実施しました。結果を下に示します。

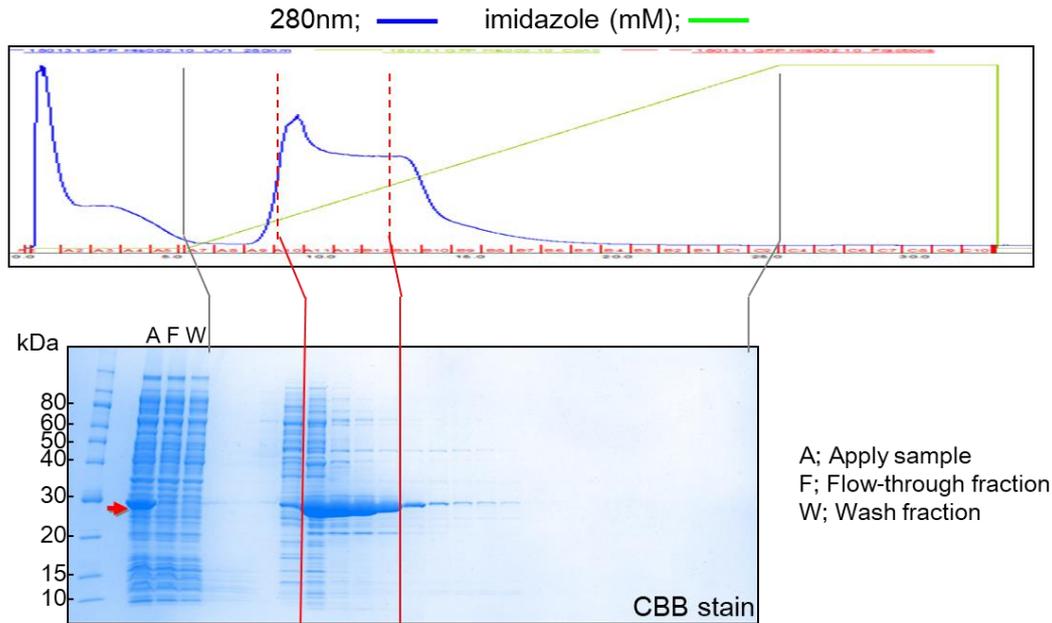


各条件における目的タンパク質の確認（小規模発現試験）と精製トライアル

結果、目的タンパク質のバンドを赤矢印で示していますが、宿主や誘導条件により生産量、可溶性での生産割合等異なっており、発現させたい対象により、生産系の選択が重要であると言えます。この試験で発現に最適だった条件を選択し、スケールアップ培養、Ni キレートカラム精製を行いました。

【試験2；スケールアップ培養、Ni キレートカラム精製】

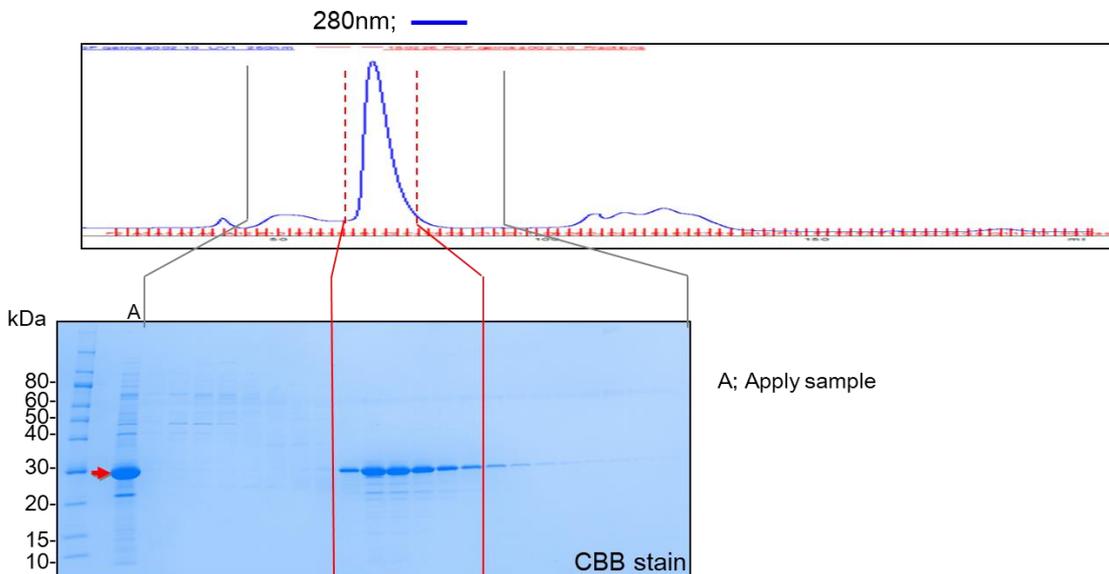
試験1で得られた最適条件でスケールアップ培養を行い、菌体破碎後の可溶性画分をNi キレートカラムにアプライしました。カラムをバッファーで洗浄後、イミダゾールの濃度勾配により目的タンパク質を溶出させたところ、図中の赤線で囲ったフラクションに目的タンパク質が溶出されていることを確認、これらのフラクションを回収いたしました。



Ni キレートカラム精製のクロマトチャートと SDS-PAGE 解析

【試験3：ゲルろ過カラム精製】

一般に Ni キレートカラム精製では非特異的な結合により、夾雑タンパク質が混入することが見られます。そこで、更なる高純度化を目的としてゲルろ過カラム精製を行いました。

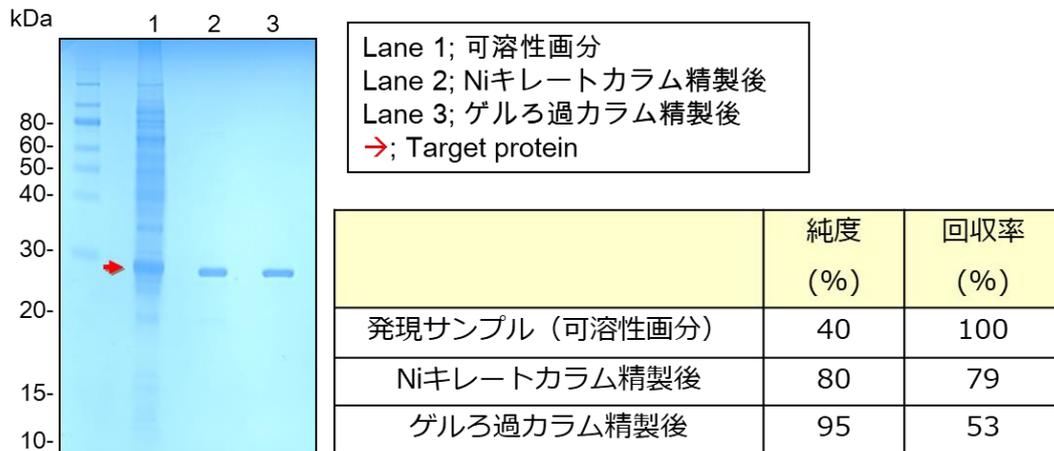


ゲルろ過カラム精製のクロマトチャートと SDS-PAGE 解析

結果、目的タンパク質の高分子側に見られた夾雑タンパク質との分画ができ、より高純度のタンパク質標品を得ることができました。

まとめ

各工程の標品を SDS-PAGE にて解析、目的タンパク質をバンド強度から純度測定いたしました。結果を下の図にまとめます。



ゲルろ過カラム精製まで実施することで、95%という高純度のタンパク質標品を得ることができました。

今回の結果はモデルケースとして実施したもので、発現させる対象により、初期生産量の高低があり、すべての対象で本結果が反映されるわけではありません。しかしながら、当社では Ni キレートカラム精製のようなアフィニティカラムだけでなく、イオン交換、ゲルろ過カラム精製などにも対応しており、お客様のご要望に応じた精製工程の提案を行うことができます。

タンパク質受託発現サービス情報は[こちら](#)