



本号のカラム	Shodex PROTEIN KW-804, Asahipak GS-620HQ, GPC UT-806M, GPC HT-806M
本号のサンプル	タンパク質分子量マーカー ポリエチレンスタンダード (SRM 1467)

SEC-MALLSによるタンパク質の 絶対分子量測定を行いました。

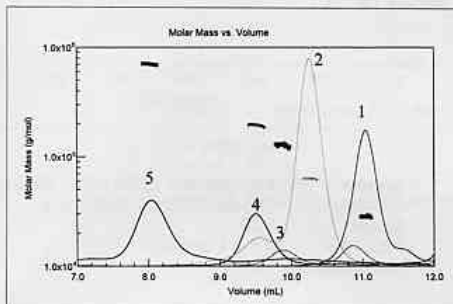


図 1

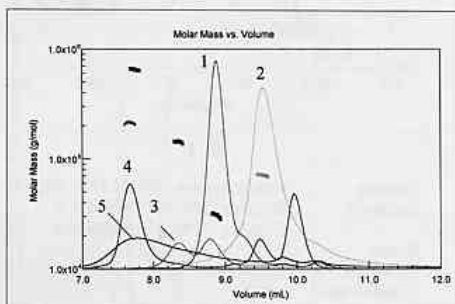


図 2

Sample :

- | | |
|--------------------------|-------------------|
| 1) Carbonic Anhydrase | 0.15% 100 μ L |
| 2) Albumin | 0.15% 100 μ L |
| 3) Alcohol Dehydrogenase | 0.15% 100 μ L |
| 4) β -Amylase | 0.15% 100 μ L |
| 5) Thyroglobulin | 0.15% 100 μ L |

Column : Shodex PROTEIN KW-804

Eluent : 0.1M Phosphate buffer
+0.3M NaCl (pH7.0)

Flow rate : 1.0 mL/min

Detector : DAWN DSP + Shodex RI-71

Column : Shodex Asahipak GS-620HQ

Eluent : 0.1M Phosphate buffer
+0.3M NaCl (pH7.0)

Flow rate : 0.6 mL/min

Detector : DAWN DSP + Shodex RI-71

サイズ排除クロマトグラフィー(SEC)はタンパク質の分子量を測定する分析法として、簡便であり、分取も可能であるという長所を持っています。一方、タンパク質の立体構造の違いや、イオン性、疎水性の違いにより、タンパク質分子量マーカーを用いた較正曲線では、絶対分子量を得られないことが欠点といえます。

このようなSEC分析の長所を生かし欠点を補うため、検出器としてMALLSを組み合わせたSEC-MALLS分析を行いました。その有用性を確認するため、サンプルとして分子量既知のタンパク質分子量マーカーを用い、分離特性の違うカラムShodex PROTEIN KW-804とShodex Asahipak GS-620HQを用い比較しました。

図1はKW-804を用いて、絶対分子量とRI検出器によるクロマトグラムを示します。

図2はGS-620HQを用いて、絶対分子量とRI検出器によるクロマトグラムを示します。

KW-804ではタンパク質の分子量順に溶出されていますが、GS-620HQでは溶出は分子量順ではありません。これは、KW-804ではタンパク質との相互作用がない純粋なSECモードで分離されているのに対し、GS-620HQではSECモードの他に相互作用による分離が僅かに加わったマルチモードで分離されているためです。

SECでは溶出容量が変化するような場合でも、MALLSによる測定には影響がなく絶対分子量の測定が可能であることがわかりました。

