

プロテインシーケンサー（PPSQ）利用再開時の復帰検討

○三浦 瑞穂

秋田大学 理工学研究科技術部 生命科学系

背景と目的

本学で使用しているプロテインシーケンサーは、主に生命系研究室に所属する学生の研究に使用されている。

プロテインシーケンサーとは、エドマン分解を用いてタンパク質あるいはペプチドのアミノ末端のアミノ基を化学修飾し、アミノ末端からアミノ酸一残基ごとに脱離させ、高速液体クロマトグラフで分析することで目的のタンパク質あるいはペプチドのアミノ酸配列を決定する装置である。

DNA 塩基配列解析でアミノ酸配列を決定できるようになったことから、使用頻度は低下している機器ではあるが、生体から単離された遺伝子未知のタンパク質の解析には不可欠な装置であり、定期的に稼働していないと、測定の精度や機器の安定性が損なわれやすい特長がある。

そのため、一定期間放置された際の機器のメンテナンスや装置の再セットアップのための対処方法を明確にするために、正常な状態へ復帰させるための各々の問題に対する対処法を検討した。

検討項目

最もトラブルが発生しやすい箇所として、HPLC 装置部分があげられる。特に、良く発生する状態異常としては、「股上が高い」「溶出時間が遅れる」「分離状態が悪い」「波形が出ない」等があり、考えられる要因としては、反応に関わる試薬の劣化や分離に関わる試薬やカラムの劣化があげられる。プロテインシーケンサーには7種類の試薬が使用されており、各トラブルの要因に主に大きく影響する試薬を切り分ける必要が考えられた。

結果

右図は標準試薬の PTH-AA を測定した結果である。上段の波形ではアスパラギン酸 (Asp) からアルギニン (Arg) の波形バランスが悪く、リシン (Lys) のピーク高さが低いことから分離状態が悪いことを示していた。メーカーが推奨する対処法である、反応試薬やカラムの交換を実施したが改善は見られず、測定を繰り返す中で PTH-AA のロット変更時に右図のような全体の波形に大きく変化がみられることが分かった。そのため PTH-AA を新規に調整測定した結果、下段のようにメーカーが提示している波形のバランスと分離状態を示す Lys のピーク高さの改善を確認することができた。

また、しばらく稼働していないことで起こりやすいトラブルとして「股上が高い」「分離状態が悪い」などが起こりやすい。効果的な対処法としては「溶離液の交換」が最も効果的であったが、溶離液の使用期限内であるにも関わらず効果が大きかった点については、他の要因の可能性を検討すべきと考える。

