

タンパク質の再生。その限界点を探る！

尚絅高等学校 佐伯 恵・大田 佳乃子

1 研究の目的

タンパク質の変性とは

タンパク質の二次以上の高次構造が変化し、その機能（活性）失う。これをタンパク質の変性という。原因としては熱・酸・塩基・界面活性剤・有機溶媒・変性剤と呼ばれる化学物質・圧力・超音波・攪拌などがある。

タンパク質の再生とは

変性したタンパク質を元の高次構造に戻す操作をタンパク質の再生という。

かつてはタンパク質の変性が不可逆と考えられていたが、現在では多くのタンパク質において変性は可逆的な過程であることが確認されている。

タンパク質の再生が起こるか否かはタンパク質の変性（高次構造の破壊）が、元に戻る程度に破壊するか、戻れないほど破壊するかの違いである。

そこで、酸・塩基・重金属・界面活性剤・有機溶媒によりタンパク質の変性を起こし、そしてその再生の限界点が、それぞれどこにあるのかを探ってみた。

2 研究の方法

卵白標準溶液の調整
卵白 30mL+水 100mL+食塩 3.0g

酸による変性

pH=1

卵白標準溶液	pH=1 (HClaq)	変性	生理的食塩水	再生
3mL	3mL	○	5mL	×
3mL	2mL	○	5mL	×
3mL	1mL	○	5mL	×

pH=2

卵白標準溶液	pH=2 (HClaq)	変性	生理的食塩水	再生
3mL	1mL	○	5mL	○
3mL	2mL	○	5mL	○
3mL	3mL	○	5mL	○
3mL	4mL	○	5mL	×

pH=3

卵白標準溶液	pH=3 (HClaq)	変性	生理的食塩水	再生
3mL	1mL	○	5mL	○
3mL	2mL	○	5mL	○
3mL	3mL	○	5mL	○
3mL	4mL	○	5mL	○
3mL	5mL	○	5mL	○

熱による変性

55℃

温度	時間	卵白標準溶液	変性
55℃	1分	3mL	×
55℃	3分	3mL	×
55℃	10分	3mL	×

60℃

温度	時間	卵白標準溶液	変性	生理的食塩水	再生
60℃	1分	3mL	×		
60℃	3分	3mL	×		
60℃	4分	3mL	○	5mL	○
60℃	5分	3mL	○	5mL	×
60℃	10分	3mL	○	5mL	×

塩基による変性

pH=13

卵白標準溶液	pH=13 (NaOHaq)	変性	生理的食塩水	再生
3mL	5mL	○	5mL	×
3mL	4mL	○	5mL	×
3mL	3mL	○	5mL	×
3mL	2mL	○	5mL	×
3mL	1mL	○	5mL	×

pH=12

卵白標準溶液	pH=12 (NaOHaq)	変性	生理的食塩水	再生
3mL	5mL	○	5mL	×
3mL	4mL	○	5mL	×
3mL	3mL	○	5mL	○
3mL	2mL	○	5mL	○

有機溶媒による変性

エタノール

*エタノール(99.5)試薬一級

卵白標準溶液	EtOH	変性	生理的食塩水	再生
3mL	3mL	○	5mL	×
3mL	2mL	○	5mL	×
3mL	1mL	○	5mL	×

卵白標準溶液	1/10 EtOH	変性
3mL	1mL	×
3mL	2mL	×
3mL	5mL	×

卵白標準溶液	1/2 EtOH	変性	生理的食塩水	再生
3mL	5mL	○	5mL	×
3mL	1mL	○	5mL	○
3mL	2mL	○	5mL	×

重金属による変性

0.1mol/L CuSO₄aq

卵白標準溶液	0.1mol/L (CuSO ₄ aq)	変性	生理的食塩水	再生
3mL	5mL	○	5mL	×
3mL	4mL	○	5mL	×
3mL	3mL	○	5mL	×
3mL	2mL	○	5mL	×
3mL	1mL	○	5mL	×

0.01mol/L CuSO₄aq

卵白標準溶液	0.01mol/L (CuSO ₄ aq)	変性	生理的食塩水	再生
3mL	5mL	○	5mL	×
3mL	4mL	○	5mL	×
3mL	3mL	○	5mL	×
3mL	2mL	○	5mL	×
3mL	1mL	○	5mL	×

0.001mol/L CuSO₄aq

卵白標準溶液	0.001mol/L (CuSO ₄ aq)	変性	生理的食塩水	再生
3mL	9mL	○	5mL	×
3mL	8mL	○	5mL	×
3mL	7mL	×		

界面活性剤による変性

卵白標準溶液	変性 (*)
卵白標準溶液 3mL + 台所洗剤 (1/10希釈)	5mL ×
卵白標準溶液 3mL + 台所洗剤 (1/2希釈)	5mL ×
卵白標準溶液 3mL + 台所洗剤 (原液)	5mL ×

台所洗剤

成分：界面活性剤（33% アルキルエーテル硫酸エステルナトリウム、アルキルアミンオキシド、ポリオキシエチレンアルキルエーテル）、安定化剤、粘度調整剤

3 研究のまとめ

○再生の限界点は以下の通りであった。

酸による変性

卵白標準液 3mLにpH=2 (HClap) 3mLであった。

塩基による変性

卵白標準液 3mLにpH=12 (NaOHap) 3mLであった。

熱による変性

卵白標準液 3mLを入れた試験管を60℃の恒温槽に4分浸したものであった。

重金属(CuSO₄ap)による変性

変性はするものの、再生はしなかった。

有機溶媒による変性

卵白標準液 3mLに1/2 EtOH 1mLであった。

(*) 界面活性剤による変性

卵白標準液に界面活性剤（台所洗剤）を加えても凝固・沈殿は起こらなかった。

ただ、界面活性剤の中には、変性をして凝固・沈殿をしたものを溶解させる作用をもつものもあるため、凝固・沈殿が起こらなかったからといって、変性が起こらなかったとは結論づけられない。界面活性剤については、今後の研究課題である。

謝辞

本研究を行うにあたり、熊本大学 大学院医学薬学研究部教授 山縣ゆり子先生には、実験方法・考察など、いろいろな御指導、ご助言をいただきました。この場を借りてお礼を申し上げます。