

## タンパク質の熱変性の防止

あなたのタンパク質は困った挙動をしていませんか？

Choline-O-Sulfate で、あなたのタンパク質サンプルを安定させてください！

ある小さな有機溶質（「オスモライト」または「化学的シャペロン」としても知られる）は、微生物、植物、動物細胞の細胞内環境にたまる天然に存在する分子です。これらの化合物は、他の細胞プロセス<sup>1</sup>を攪乱させることなく折まげられたタンパク質の熱力学安定性を増やすために用います。このような”オスモライト”、**choline-O-sulfate (COS)** は、いろいろな植物、地衣類、藻類、糸状菌、細菌によって合成されます。これは塩ストレスを受ける塩生植物の中の浸透圧保護をする化合物として役立っており、いくつかのグラム陰性の細菌と菌類アオカビ属 *Penicillium fellutanum*<sup>2</sup>の浸透圧保護剤として働くことがわかりました。

群馬大学（群馬、日本）の若松馨博士はタンパク質 NMR 研究で COS と COS-d<sub>13</sub> の使用法を開発するために”母なる自然”から学んだ教えを取り入れました。

若松博士の結果は人間の生理的溫度近くで得られる多次元 NMR データセットで感度の増加を伴う溶液中でのタンパク質の溶解形態を安定させるのに重要な改善を示しています。

### Choline-O-Sulfate の長所：

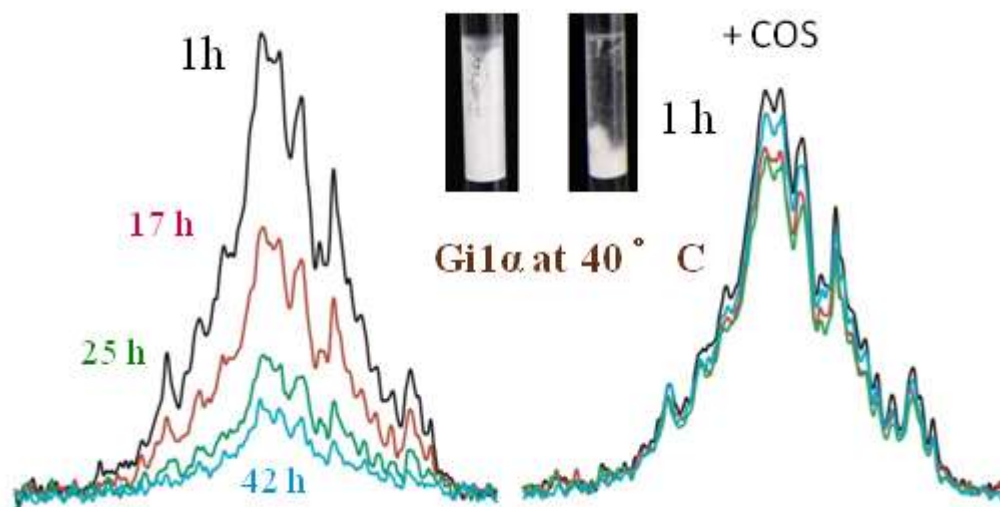
- G タンパク質共役受容体( GPCRs)を含む膜タンパク質の熱変性の防止
- タンパク質とタンパク質/ペプチド複合体の沈殿防止
- NMR 測定の簡易化（特に高い温度での）
- 精製中でのタンパク質回収率の改善

CIL は、非標識 COS を世界中のタンパク質 NMR コミュニティに対して提供することを誇りにしています。一度、非標識 COS を使って結果に満足されたら、S I サイエンス(株)のセールスマンにユニフォーム重水素化 COS (COS-d<sub>13</sub>) の見積りを依頼してください。

Catalog No.	Description	Size	Price
ULM-8703	<b>Choline-O-Sulfate</b>	1g	お問合せ下さい
ULM-8703	<b>Choline-O-Sulfate</b>	10g	お問合せ下さい

<sup>1</sup>Kumar,R.(2009)Role of natural occurring bosmolytes in protein folding stability. Archive of Biochemistry and Biophysics,(491)1-6

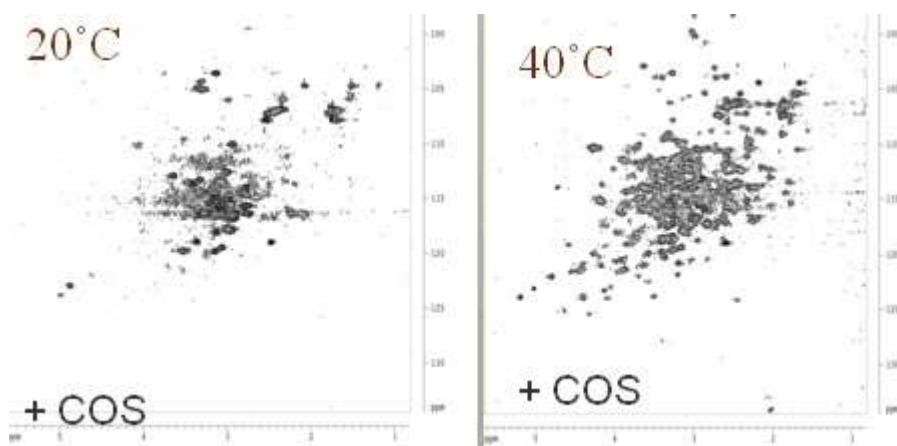
<sup>2</sup>Nau-Wagner,G,J.,LeGood,A.,and Bremer,E.(1999) High-affinity transport of choline-O-sulfate and its use as a compatible solute in bacillus subtilis..Applied and Environmental Microbiology,65(2)560-568



第 1 図

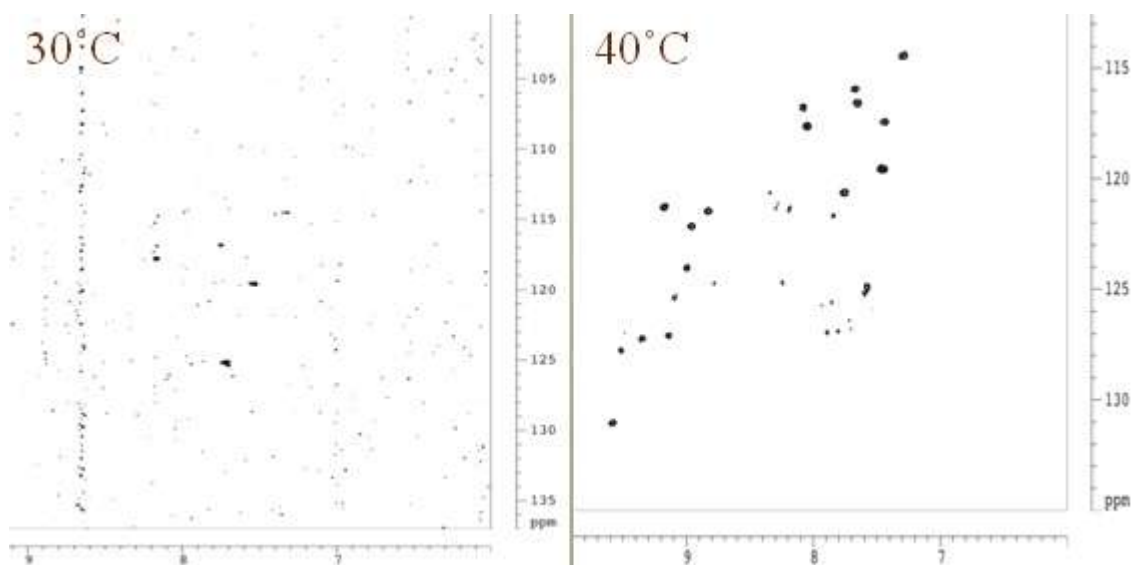
1M COS を使用(右),不使用(左)でのユニフォーム  $^{15}\text{N}$  標識 Gi1 $\alpha$  の 1D HSQC スペクトルが Bruker ARX-400 分光計、40°C で温度コントロール後、1h(黒),17h(赤),25h(緑),42h(シアン)後に記録された。

写真は、43h で COS の存在下で非常に少ない沈殿物を示します。



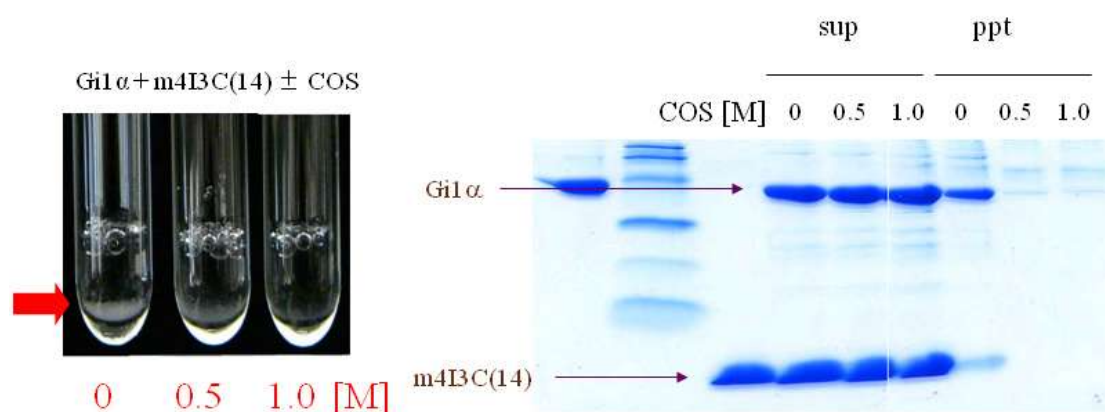
第 2 図

20°C(左)と 40°C(右)での 1M COS の存在下でのユニフォーム  $^{15}\text{N}$  標識 Gi1 $\alpha$  の HSQC スペクトル。スペクトルは、Bruker ARX-400 分光計で記録された。



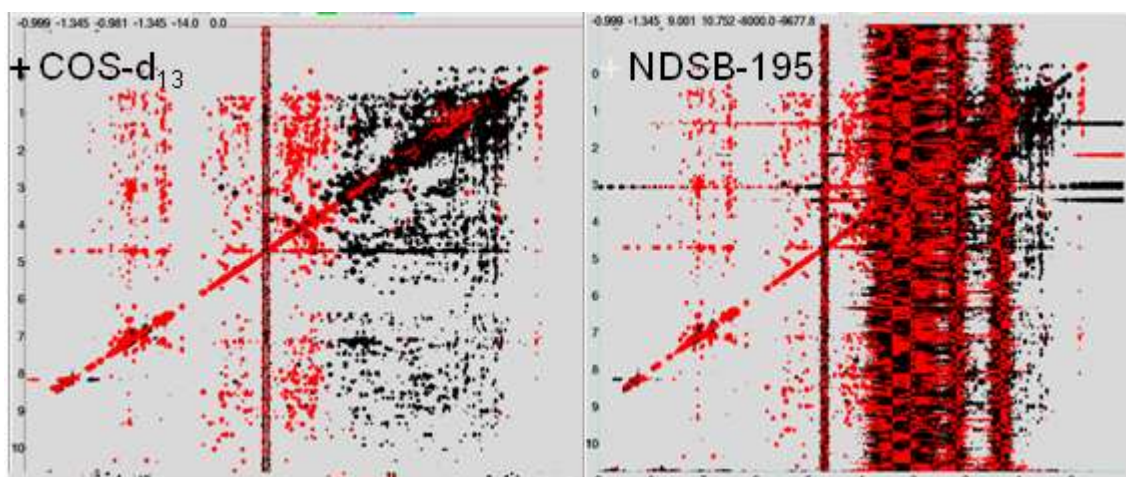
第3図

30°C(左)と40°C(右)で1MのCOS-d<sub>13</sub>の存在下で<sup>15</sup>Nフェニルアラニンで標識したGi1αのHSQCスペクトル。ほとんどすべて(19中18)のフェニルアラニン信号は、40°Cで明らかに観察された。スペクトルはBruker Avance-700分光計で記録された。



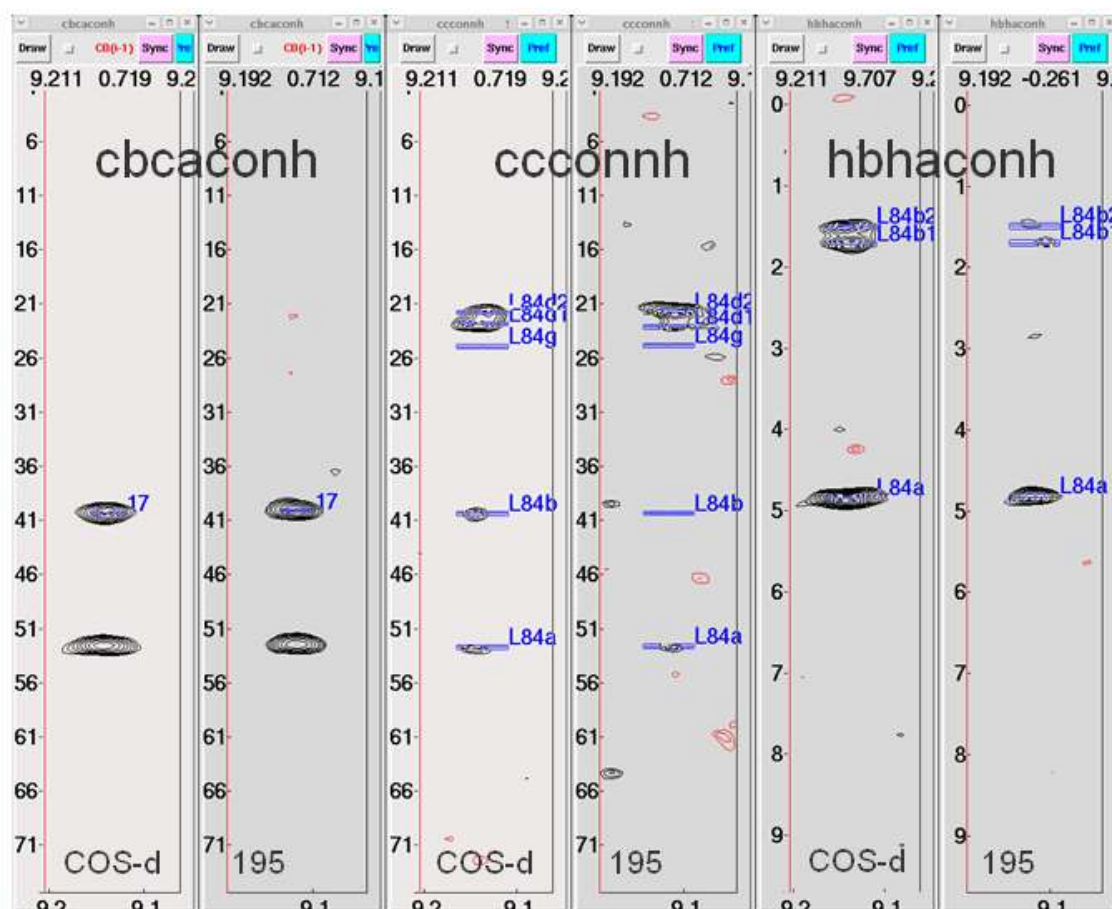
第4図

COSは、Gi1αとその選択的な活性化物質m4I3C(14)の混合での共沈を防ぎます。Gi1αとm4I3C(14)の混合による沈殿物の形成(写真左のチューブの底)。沈殿物の組成は、SDS-PAGE(パネル右下、lane ppt/0)によって確かめられます。COSの存在下で、沈殿物は観察されません(写真、SDS-PAGE)。



第5図

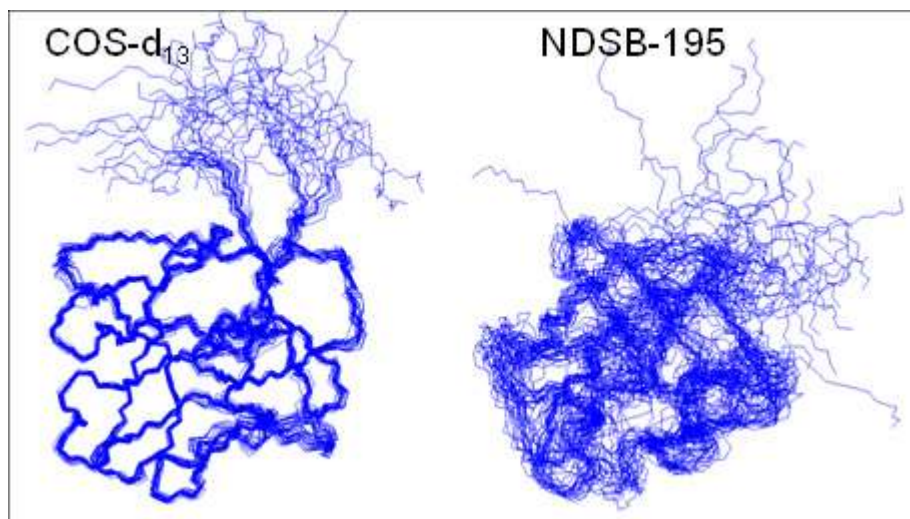
0.5M COS-d<sub>13</sub>(左)または0.5M NDSB-195(右)の存在下でユニフォーム<sup>13</sup>Cと<sup>15</sup>N標識酸性線維芽細胞成長因子(αFGF)の<sup>13</sup>C-edited NOESYスペクトルがBruker Advance-800光度計で記録された。COSの重水素化により、意味のあるt1ノイズがなくなることは、<sup>13</sup>C edited NOESYスペクトルで重要です。



第6図



cbcaconh、ccconnh、hbhaconh 測定のための COS-d<sub>13</sub>(左)対 NDSB-195(右)の存在下で  $\alpha$  FGF のスペクトルのストリップの比較。タンパク質の濃度が同じであるが、COS-d<sub>13</sub> は NDSB-195 より大きな横線ピークを与えます。Bruker Avance-600 分光計で記録されます。



第7図

COS-d<sub>13</sub>(左)または NDSB-195(右)の存在下で NOE データを用いて計算された 20 の  $\alpha$  FGF 構造の重ね書き。はっきりした構造は、COS-d<sub>13</sub> の存在下で得られるが、NDSB-195 の存在下では得られない。

全ての画像は群馬大学の若松博士の好意による。