

【应用合集】 No.8 | 用SiliaSep C18反相Flash柱分离新型微量精蛋白

微量精蛋白介绍

微量精蛋白是天然的生物活性化合物，已知可以用于抑制蛋白酶，这使它成为了一种在药物研究中十分有趣的化合物。这些微量精蛋白是由线性脂肽组成。蓝藻可以产生许多种多肽，其中就包括微量精蛋白，其结构通常是由Ahda(3-氨基-2羟基癸酸)的存在为特征的三到四种氨基酸组成的。据研究报道，它们普遍具有生态毒理学效应和药理作用。

微量精蛋白的分离

Leã o的小组研究通过对蓝藻基因组的不断挖掘研究，报道了从蓝藻的绿脓杆菌菌株中找到了新的微量精蛋白。这些微量精蛋白是一种新的氨基酸组合并包含一种不太常见的Ada脂肪酰基部分。

铜绿微囊藻（一种蓝藻）的提取物中含有丰富的微量精蛋白，现使用SiliaSep C18 柱进行Flash反相色谱分离。色谱条件如表1所示。

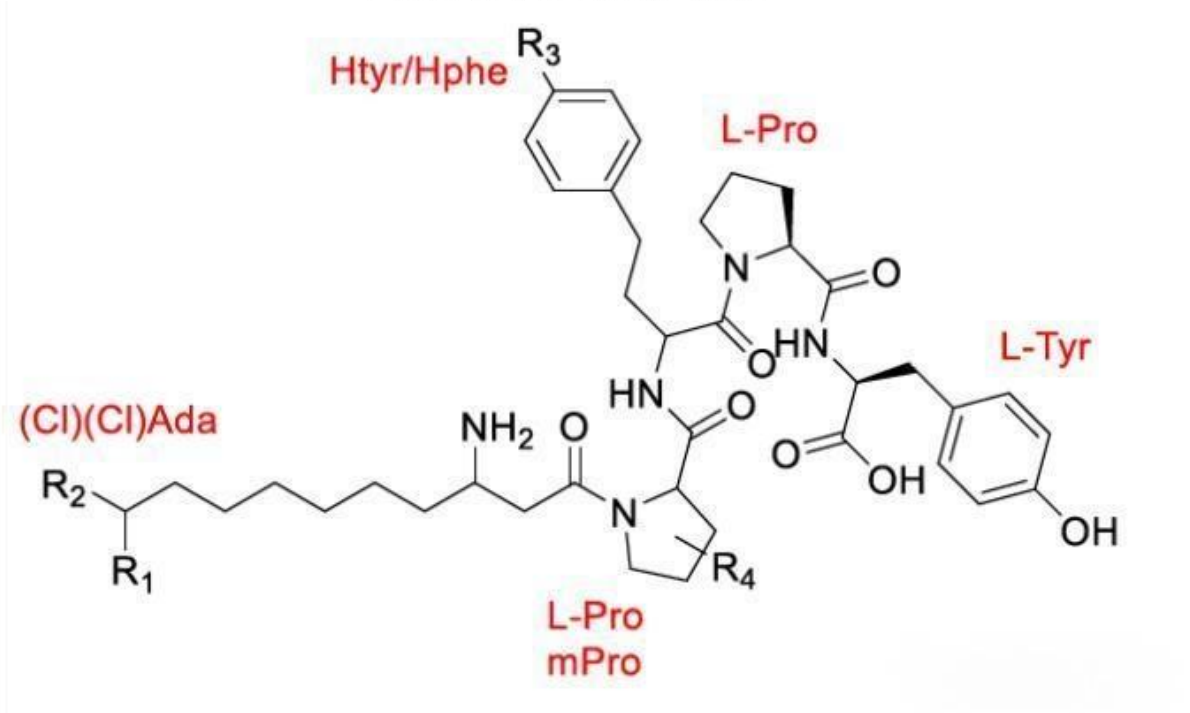
表1：色谱条件

色谱条件	
参数	数值
柱类型	SiliaSep Flash 柱, 硅胶基质, C18 (17 %) mono, 120 g, 40 - 63 µm, 60 Å
柱号	FLH-R33230B-IS120
梯度	梯度 10 % 甲醇溶于水(1 CV) 30 % 甲醇溶于水 (1 CV) 40 % 甲醇溶于水 (1.3 CV) 50 % 甲醇溶于水 (1.3 CV) 60 % 甲醇溶于水 (1 CV) 80 % 甲醇溶于水 (0.8 CV) 100 % 甲醇
检测	UV 210, 254, 280 和 320 nm
流速	2 mL/min

CV =柱体积

经分离和结构分析出的微量精蛋白如图1所示。这是首次在蓝藻的多肽中发现Hphe或mPro。

图1: 蓝藻绿脓杆菌菌株中发现微量精蛋白



来自铜绿微囊藻菌株的12种新型微量精蛋白是以Ada-Pro/mPro Hphi - Htr Pro -(Tyr)为基础结构的不同化合物，具体结构见表2。

表2: 新型微量精蛋白中R基团的确定

确认新型微量精蛋白中的官能团R				
新型微量精蛋白	官能团R			
产物 1	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
产物 1A	Cl	Cl	OH	H
产物 1B	Cl	H	OH	H
产物 1C	H	H	OH	H
产物 1D	Cl	Cl	H	H
产物 1E	Cl	H	H	H
产物 1F	H	H	H	H
产物 1G	Cl	Cl	OH	Me
产物 1H	Cl	H	OH	Me
产物 1I	H	H	OH	Me
产物 2	R ₁		R ₂	
产物 2A	H		H	
产物 2B	Cl		H	
产物 2C	Cl		Cl	

通过¹H NMR、¹³C NMR和2D NMR (HSQC、HMBC和COSY的数据)对其结构进行了鉴别。研究表明，这些化合物在大肠杆菌中有异源表达，因此自然进化变异的生物活性化合物是可以被发现的。