

## himac APPLICATION

No.47 SEPTEMBER 1992

題目 肝ミクロゾームの調製におけるホモジナイザの比較

機種 HG30形日立ホモジナイザ

HG30形日立ホモジナイザを用いて調製したラットの肝ミクロゾーム画分と従来のポッター型ガラスーテフロンホモジナイザを用いて調製した場合との比較。

### 1. はじめに

肝ミクロゾーム画分は主として小胞体膜からなる細胞画分であり、多くの薬物代謝酵素を豊富に含有しています。このため、生体内物質や薬物などの生体外異物の代謝を研究する際の酵素源として広く用いられています。

今回、薬物代謝酵素活性として次の項目について測定し、比較しました。

- (1) グラム肝臓あたりのミクロゾーム蛋白量
- (2) ミクロゾーム懸濁液の蛋白濃度
- (3) チトクローム P450 含量
- (4) チトクローム b5 含量
- (5) NADPH チトクローム C 還元酵素活性 (以下 Fp2)
- (6) アニリン水酸化酵素活性
- (7) アミノピリン N 脱メチル化酵素活性
- (8) 7-エトキシマリン O 脱エチル化酵素活性 (以下 7-EC)

### 2. 結果および考察

#### i) 測定結果

表 1. ホモジナイザ比較実験結果 (それぞれ n = 6 の平均値)

ホモジナイザの種類	蛋白量 mg/g 肝	蛋白濃度 mg/ml	P-450 量 nmol/mg	b5 量 nmol/mg	Fp2 活性 units/ min/mg	アニリン nmol/min/mg	アピリン nmol/min/mg	7-EC protein
ポッター型	11.24	8.92	1.1062	0.4716	0.5202	0.611	0.851	1.020
HG30	13.96	10.78	1.0630	0.4488	0.5251	0.737	1.038	0.991
HG30/ポッター型	1.24	1.21	0.961	0.952	1.009	1.207	1.220	0.971

#### ii) 考察

表 1 からグラム肝臓あたりのミクロゾーム蛋白量およびミクロゾームの懸濁液の蛋白濃度は、それぞれ HG30 (日立) が 1.24 倍、1.21 倍と大きな値を示しました。一方、P-450 量、b5 量、Fp2 活性、アニリン、アミノピリン、7-EC の代謝活性のそれぞれの比 (HG30/ポッター型) は、0.952~1.220 とほぼ同等でした。以上の結果から、HG30 形日立ホモジナイザを用いて肝ミクロゾーム画分を調製した場合、従来のポッター型に比べて、蛋白の収量は向上し (約 20%)、薬物代謝酵素源としてはほぼ等しい画分の得られることが示されました。

### 3. 実験

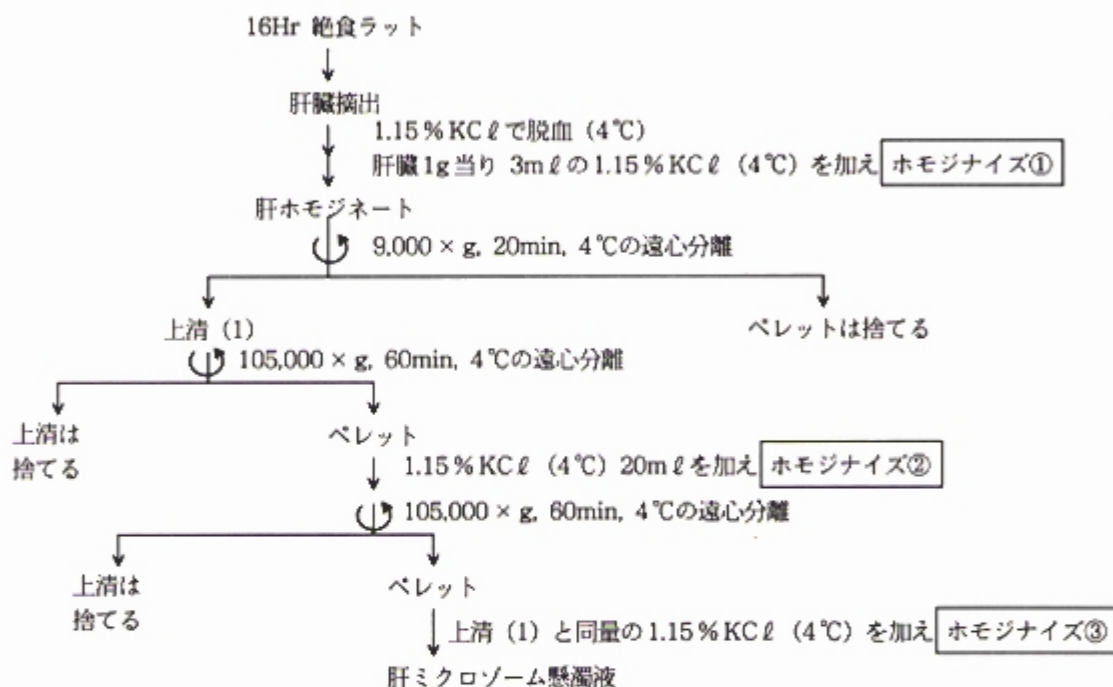
#### i) 試薬および機器

- 1.15% 塩化カリウム
- 0.1M リン酸カリウム緩衝液 (pH 7.4)
- ポッター型ガラス-テフロンホモジナイザ
- HG30形日立ホモジナイザ
- 日立高速冷却遠心機 (SCR20B、RPR20 - 2 アングルロータ)
- 日立分離用超遠心機 (SCP70H、RP50T - 2 アングルロータ)

#### ii) 肝ミクロゾーム画分の調製

Scheme 中の□で示したホモジナイズの操作をHG30あるいはポッター型のホモジナイザを用いて行ない、いずれも6例ずつ調製しました。なお、それぞれの場合の装置の設定条件を表2に示しました。

Scheme 1 ラット肝ミクロゾーム画分の調製手順



\* 得られた肝ミクロゾーム懸濁液は液体窒素で凍結し、使用するまで -80℃ で保存しました。

表2 ホモジナイズの条件

No.	ポッター型	HG30		
	ストローク	カッター	ダイヤル	時間(秒)
①	7	C10	2	45
②	4	C10	2	10
③	4	C07	2	15

なお、本資料に関するお問い合わせは日立工機(株)精機事業部応用開発グループまでお願い致します。

## 日製産業株式会社

本社 東京都港区西新橋1丁目24番14号  
〒105 電話 東京 (03) 3504-7211

事業所	北海道 (011) 221-7241	東北 (022) 264-2211	筑波 (0298) 23-7391	首都圏 (03) 3504-7211
	北関東 (048) 653-2341	千葉 (043) 247-4151	西関東 (0426) 43-0080	厚木 (0462) 27-1391
	横浜 (045) 451-5151	新潟 (025) 241-3011	北陸 (0764) 24-3386	豊田 (0565) 28-5191
	中部 (052) 583-5841	京都 (075) 241-1591	関西 (06) 366-2551	岡山 (0864) 25-1316
	中国 (082) 221-4514	四国 (0878) 62-3391	九州 (092) 721-3501	沖縄 (0988) 78-1311

## 日立工機株式会社

本社工場 〒312 茨城県勝田市武田1060番地 電話 勝田 (0292) 76-7384 (ダイヤルイン)  
日立遠心機アンサーセンター 0120-02-4125