

himac APPLICATION

No.57 August 1993

題目 分離用超遠心機によるリポタンパク質の分離

機種 CP100 α 形高機能分離用超遠心機

P100AT形アングルロータによりヒト血清中から
リポタンパク質を迅速に分離した例

血清中に含まれているリポタンパク質は、脂質の代謝に密接な関係があり、高脂血症に関する研究分野で注目されています。ここでは、最高回転数100,000rpm、最大遠心加速度800,000 \times gの高機能分離用超遠心機を用いて、ヒト血清中よりリポタンパク質の分離を行ないました。

比重液の調製法については文献(1)によりました。その他、文献(2)も含めて操作法等について参考としました。詳細および注意などについては、当書を参照して下さい。

1. 使用機種

本体：日立CP100 α 形高機能分離用超遠心機

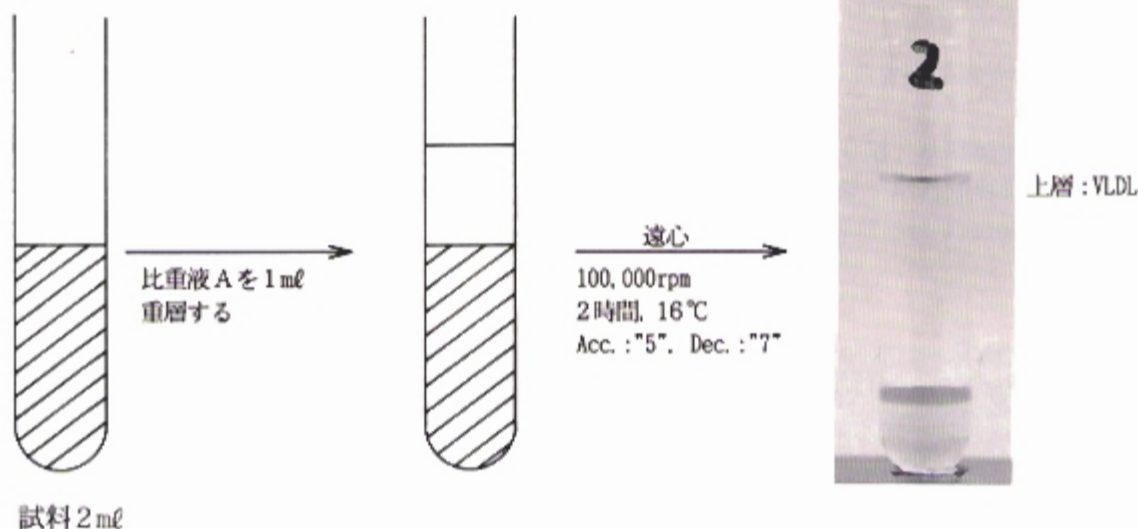
ロータ：P100AT形アングルロータ

チューブ：4.7PCアッチューブ（ただし、このチューブで60,000rpmを超えた時は遠心時間を4時間までとして下さい。チューブが変形しロータから抜けなくなることがあります。また、一度60,000rpm以上で遠心したチューブは、再使用しないで下さい。）

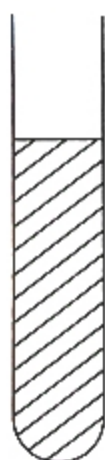
2. 操作および分離結果

実験は、目視により観察できるように試料にFAT RED 7Bを添加して行ないました。³⁾

1) VLDLの分離 ($\rho < 1.006\text{g/cm}^3$)

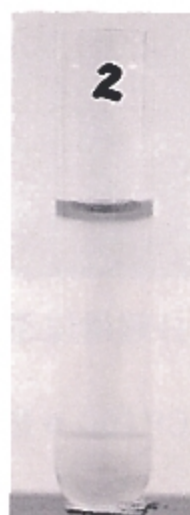


2) LDLの分離 ($1.006\text{g/cm}^3 < \rho < 1.063\text{g/cm}^3$)



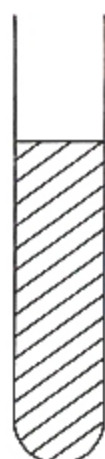
1)のVLDL層(上層)1mlを分取後、下層2mlを別のチューブに移す。

比重液Bを1ml添加、攪拌後
遠心
100,000rpm
3時間、16℃
Acc.: "9", Dec.: "7"



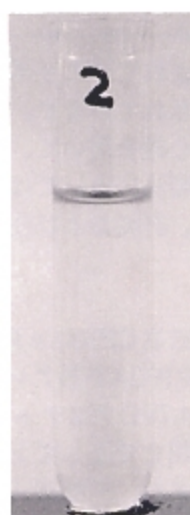
上層: LDL

3) HDLの分離 ($1.063\text{g/cm}^3 < \rho < 1.21\text{g/cm}^3$)



2)のLDL層(上層)1mlを分取後、下層2mlを別のチューブに移す。

比重液Cを1ml添加、攪拌後
遠心
100,000rpm
4時間、16℃
Acc.: "9", Dec.: "7"



上層: HDL

下層: 7%等

比重液A (1.006g/cm^3): NaCl 11.40gとEDTA-Na₂ 0.1gを1,000mlのメスフラスコに入れ、蒸留水500mlと1N NaOH 1mlを加えて、よく混じて溶解させる。ついで蒸留水で1,000mlとし、さらに蒸留水を3ml加える。(NaCl:0.195mol)

比重液B (1.182g/cm^3): NaBr 24.98gを100mlの比重液Aに加える。(NaCl:0.195mol, NaBr:2.44mol)

比重液C (1.478g/cm^3): NaBr 78.32gを100mlの比重液Aに加える。(NaCl:0.195mol, NaBr:7.65mol)

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。
(参考文献)

(1)生化学実験講座 第9巻 "脂質の代謝" p.454-456 (東京化学同人)。

(2)続生化学実験講座 第3巻 "膜脂質と血漿リポタンパク質(下)" p.599-601 (東京化学同人)。

(3)T. J. Bronzert and H. B. Brewer, Clin. Chem., 23, 2089 (1977)。

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