

himac

APPLICATION

Oct. 2004

限外ろ過チューブ用ロータによるタンパク質溶液の濃縮

CF16RX/12RX/9RX 多用途小形遠心機

T6AP31 形アングルロータ: 血清試料をわずか 10 分 で約 10 倍 に濃縮

タンパク質溶液の濃縮あるいは脱塩の目的で限外ろ過チューブの使用が一般的になってきています。そこで、このような限外ろ過チューブを簡便に使用できる最高回転速度 6,000rpm(最大遠心加速度 4,770xg)の培養管用アングルロータを開発しました。本ロータは樹脂製の軽量タイプで、加速、減速が迅速に行えるものです(当社比 70%)。ここでは、ミリポア社の「アミコン®ウルトラ-4」に標準血清試料を用い、タンパク成分の濃縮性能について検討しました。

1. 遠心条件

遠心機: himac CF16RX 形多用途小形遠心機

ロータ: T6AP31 形培養管用アングルロータ

アダプタ: 15TA50T アダプタ

回転速度: 6,000rpm(最大遠心加速度: 4,630xg(上記アダプタ使用時))

時間: 10 分

温度: 15

限外ろ過チューブ: ミリポア社「アミコン®ウルトラ-4 (30K)」(分画分子量 30,000)

試料: 10 倍に希釈した「標準血清」(和光純薬工業(株)製)

初期試料量: 3 mL

濃縮後試料量: 約 300 μ L

2. タンパク質測定試薬

バイオ・ラッド社「Protein Assay」

3. 実験結果

(1) タンパク質濃度検量線

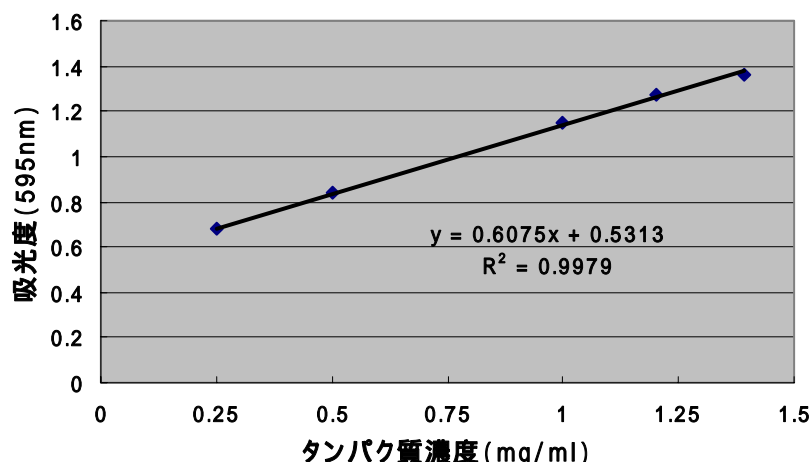


図2 タンパク質濃度検量線(試料:IgG)



図1 T6AP31 形アングルロータ

(2)濃縮前および濃縮後試料の濃度測定

表1. 濃度測定結果

試料 No.	初期試料(濃縮前)			濃縮後試料		
	量 (mL)	吸光度 (595nm)	濃度 (mg/mL)	量(mL)	吸光度 (595nm)	濃度 (mg/mL)
試料1	3.0	1.072	8.900	約 0.3	1.157	103.0
試料2	3.0	1.140	10.02	約 0.3	1.144	100.9
平均			9.460			102.0

(注意)

濃縮前の初期試料は 10 倍希釈した後に測定しました。

濃縮後試料は 100 倍希釈した後に測定しました。

4. 実験手順

- (1)精製水で溶解した標準血清を精製水でさらに 10 倍に希釈し、約 10mg/mL のタンパク質溶液を調製し、これを試料としました。
- (2)分画分子量 30,000 のミリポア社「アミコン®ウルトラ-4 (30K)」に 3mL の上記試料を注入します。
- (3)T6AP31 形培養管用アングルロータに標準付属の 15TA50T アダプタを装着し、上記の限外ろ過チューブをセットします。
- (4)6,000rpm、10 分、15 、最大加速、最大減速で回転します。
- (5)濃縮された試料を回収しタンパク質濃度を測定しました。

5. 結論

上記、表1の通り、わずか **10 分** の遠心処理で、タンパク質溶液試料が約 **10 倍** に濃縮されました。

なお、本ロータは、CF5RX 形多用途小形遠心機にも使用できます。ただしこの場合、最高回転速度は 5,000rpm(最大遠心加速度 3,310xg(15TA50T アダプタ使用時))となります。

また、アミコン®ウルトラ-4 以外の限外ろ過チューブ用として、セントリコン用、セントリプラス用およびウルトラフリー-CL 用の各種アダプタがオプションで用意されています。ご使用の限外ろ過チューブの形状に合わせてご使用ください。

本資料に関するお問い合わせは日立工機(株)ライフサイエンス機器事業部アプリケーション担当 森田
(e-mail アドレス: mmorita@hitachi-koki.co.jp)までお願いいたします。

(販売)

株式会社日立ハイテクノロジーズ

本 社 〒105-8717 東京都港区西新橋一丁目 24 番 14 号 電話(03)3504-7211(ダイヤルイン)

事業所

北海道(011)221-7241 中 部(052)583-5851 四 国(087)862-3391

東 北(022)264-2211 京 都(075)241-1591 九 州(092)721-3501

筑 波(0298)25-4811 関 西(06)4807-2551

北 陸(076)263-3480 中 国(082)221-4514

(製造・保守)

日立工機株式会社

本社工場 〒312-8502 茨城県ひたちなか市武田 1060 番地 電話(029)276-7384(ダイヤルイン)

インターネット <http://www.hitachi-koki.co.jp/himac>
最新情報にアクセスして下さい。

日立遠心機お客様相談センター(フリーダイヤル)0120-02-4125