

ゾーナルロータによる Hepatitis B 抗原の分離精製-

分離用超遠心機 CP-WX シリーズ / P35ZT 形ゾーナルロータ

アプリケーション No.130 で分離された HB 抗原を塩化セシウム密度勾配による沈降平衡法により、Dane 粒子（ウィルス本態、直径約 42nm）と、小型粒子及び管状粒子（HBs 抗原、直径約 27nm）に分画した。

内 容

1. 遠心条件

遠心機：分離用超遠心機 CP-WX シリーズ

ロータ：P35ZT 形ゾーナルロータ

回転速度：28,000rpm

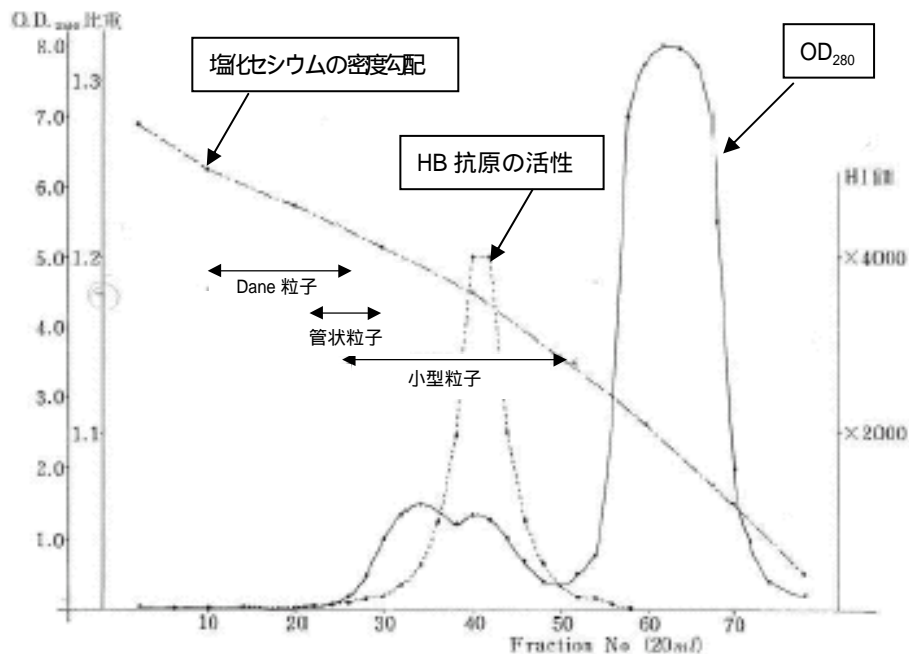
遠心時間：12 時間

密度勾配液： 塩化セシウムの密度が 1.10g/ml (12% (w/w)) から 1.30g/ml (30% (w/w)) の連続密度勾配液 1,600ml をロータの外壁側から入れる。

塩化セシウムの密度が 1.35g/ml (35% (w/w)) の液を約 200ml、ロータの外壁側から追加し、ロータの内壁側から液を確実にオーバーフローさせる。試料 50ml をロータ内壁側から入れた後、ロータ内壁から生理食塩水を約 200ml 加え、配管内に残った試料を全てロータ内に押し込む。

試料：アプリケーション No.130 で得られた HB 抗原画分 400ml を透析して塩化セシウムを除去し、限外濾過で濃縮し 50ml にする。7% (w/w) 塩化セシウムを加え、密度が 1.05g/ml となるように調製する。

2. 結果



HB 抗原成分は沈降し、それぞれの密度の位置で分離された。

Dane 粒子：1.23g/ml ~ 1.24g/ml

管状粒子：1.22g/ml

小型粒子：1.14g/ml ~ 1.20g/ml

血清タンパク質は 1.06g/ml ~ 1.13g/ml の位置に見られた。

3. 解説

血清タンパク質の密度は約 1.3g/ml ですが、今回の結果ではそのほとんどは 1.06g/ml ~ 1.13g/ml の位置に見られました。これは血清タンパク質の沈降係数が小さく沈降しにくいため、今回の遠心条件では、血清タンパク質本来の密度位置まで沈降できなかったことを示しています。つまり、今回の HB 抗原成分の分離手法は沈降平衡法でありながら、血清タンパク質との分離は沈降速度法となっています。このことから、遠心時間が長すぎると小型粒子の画分に血清タンパク質が混入する恐れがあり、遠心時間及び回転速度の設定に十分配慮する必要があります。

装 置




分離用超遠心機 CP-WX シリーズ



P35ZT 形ゾーナルロータ

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のホームページ
(<https://ccs.hitachi-koki.co.jp/cgi-bin/himac/contactus/toiawase.cgi>) からお願いいたします。

【製造・販売・保守】

 日立工機株式会社

日立遠心機お客様相談センター

 0120-024125

受付時間 9:00~12:00 / 13:00~17:00 (土・日・祝日・弊社休業日除く)

 <http://www.hitachi-koki.co.jp/himac/>

医療機器製造販売業許可0883X00002

勝田工場 〒312-8502 茨城県ひたちなか市武田1060

首都圏地区 (中核ビル)	東京都渋谷区千駄ヶ谷五丁目8-2 (イフオアネックスビル)	03-3226-7713
北海道地区	北海道札幌市中央区北三条西四丁目1-1 (日本生命札幌ビル)	011-232-7713
東北地区	宮城県仙台市若林区御町東三丁目3-36	022-288-0435
中部地区	愛知県名古屋市中区栄三丁目7-13 (コスモビル)	052-262-8221
関西地区 (中核ビル)	大阪府大阪市北区梅田二丁目6-20 (スノークリスタルビル)	06-6344-4125
九州地区	福岡県福岡市東区松島四丁目8-5	092-622-4025