himac APPLICATION

Jan. 2008

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.131 で分離・分画した"小型粒子"から、ショ糖密度勾配による沈降速度法により血清タンパク質の除去を行った。これにより、ヒト血漿 1,000ml から純度 95%以上の HBs 抗原粒子を 30mg 分離することができた。

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: 22,000rpm 遠心時間: 16 時間

密度勾配液: ショ糖濃度が5~35%(w/w)(密度1.018g/ml~1.151g/ml)の連続密度勾

配液 1,690ml をロータの外壁側から入れる。

ショ糖濃度が 40%(w/w)の液を約 100ml ロータの外壁側から追加し、ロー

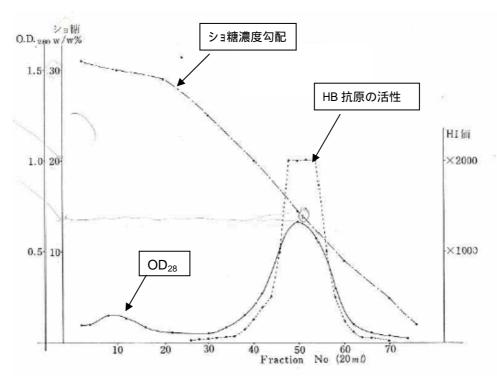
タの内壁側から液を確実にオーバーフローさせる。

試料 50ml を内壁側から入れ、更に生理食塩水約 100ml を加え、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.131 で得られた小型粒子画分 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 する。5%(w/w)ショ糖を加え、密度が 1.02g/となるように調製する。





HB 抗原粒子がショ糖濃度 10~20%(w/w)の位置に分離された。(No.40~60 の 21 画分、420ml) 本手法により、HB 抗原陽性ヒト血漿 1,000ml から純度 95%以上の HBs 抗原粒子を 30mg 分離 することが可能である。

3.解説

今回の分離は密度勾配沈降速度法であり、沈降係数の大きな Dane 粒子や管状粒子は沈降し、沈降係数の小さな血清タンパク質は上層に残されます。今回もアプリケーション No.131 同様、遠心時間及び回転速度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。

