

使用日立微量超离在百万离心力下进行脂蛋白从血清中的分离

目前很多实验室在进行载脂蛋白的研究，很多情况下需要先将脂蛋白分离出来。由于脂类物质不能使用层析提纯，因为很容易堵塞过滤柱，所以很多研究人员都选择使用超速离心机，并利用不同容量的角转头及梯度液来进行脂蛋白的分离。但一般使用角转头分离时间都非常长，三种脂蛋白（VLDL, LDL, HDL）分别都需要10几个小时才能分离出来，耗时太多。本文将介绍一种使用全球最大离心力的角转头（日立S140AT转头）进行脂蛋白快速分离的方法。

1. 梯度液配置：

A液：11.40g NaCl，0.1g EDTA-Na₂，置于1000ml量筒中加入500ml重蒸水及1ml 1N NaOH，混匀至全部溶解。加重蒸水至1000ml最后再加3ml重蒸水（NaCl：0.195mol）。终密度1.006g/cm³，PH10.37。

B液：加24.98g NaBr到100ml A液中。终密度1.182g/cm³。（NaCl：0.195mol，NaBr：7.65mol），PH9.72。

C液：加78.32g NaBr到100ml A液中。终密度1.478g/cm³。（NaCl：0.195mol，NaBr：7.65mol），PH8.86。

2. 离心机及转头

离心机：Hitachi CP-NX系列（日立CP100NX/90NX/80NX）超速离心机。

或 Hitachi CS-150NX 或 CS150/120FNX 日立微量超速离心机。

转头及离心管：S 140 AT：140,000rpm, 1,050,000×g（全球最大离心力），10×2ml，K=5，1PC厚壁管。



CS150NX



CS150FNX



S140AT

3. 血浆-血球分离：

全血，角转头或甩平转头 3000rpm×20min，沉淀为血细胞，上清血浆待用。

4. 乳糜粒分离：

- 离心参数：各种转头均可用， 4×10^6 (g×min)，10℃
- 梯度液：离心管下部 3/4 容积为血浆，上部 1/4 容积为 0.15MNaCl+0.3MEDTA。PH7.4。
- 离心结果：乳糜粒上浮，离心管倾斜，吸管贴管壁慢吸出（约占血浆容积的 2~6%。
禁令 12 小时以上供血者血浆中乳糜含量很低，食后供血者含量较高。

5. 血清脂蛋白分离：

(i) VLDL 分离 ($\rho < 1.006\text{g/cm}^3$)

转头	离心管内液体分布	离心参数	结果
S140AT	下部 600uL 血浆 上部 300uL A 液	140,000rpm, 50 分钟, 16℃, 加速速率 5, 减速速率 7	可见明显分层, 上部约 1/3 VLDL 吸出

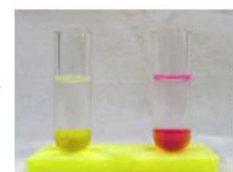


600uL 血浆

加入300uL
A液



离心
140,000 rpm
50分钟, 16℃
加速速率: 5
减速速率: 7

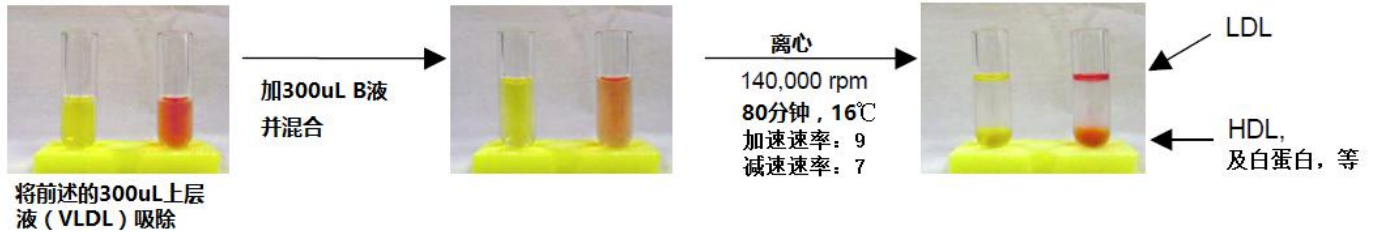


VLDL

LDL, HDL,
及白蛋白, 等

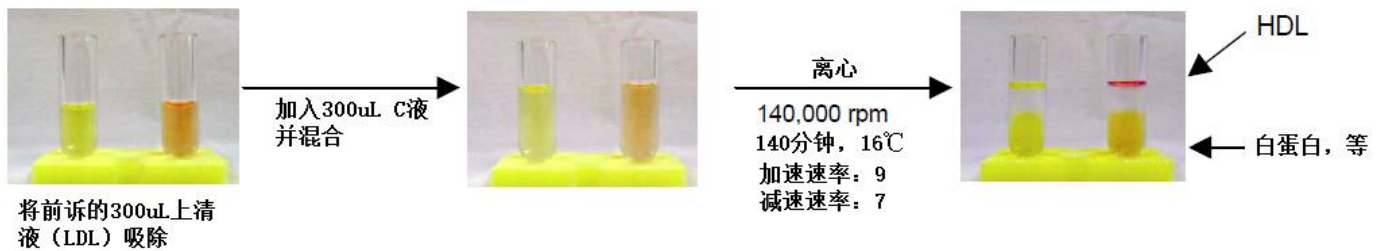
(ii) LDL (含IDL) 分离 ($1.006\text{g/cm}^3 < \rho < 1.063\text{g/cm}^3$)

转头	离心管内液体	离心参数	结果
S140AT	第一次离心后上部 VLDL 取出，下部 600uL 移入另一个离心管，加 300uL B 液，充分混合	140,000rpm, 80 分钟，16℃，加速速率 9，减速速率 7	上部约 1/3 体积 LDL 吸出



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

转头	离心管内液体	离心参数	结果
S140AT	第二次离心后吸出上部 300uL 后，下部 600uL 移入另一个离心管，加 300uL C 液，充分混合	140,000rpm, 140 分钟，16℃，加速速率 9，减速速率 7	可见较明显分层，上部为 HDL，下部为血清蛋白及白蛋白



总结：使用该全球最大离心力转头（日立 S140AT），可以分别用 50 分钟，80 分钟，及 140 分钟将 VLDL, LDL, 及 HDL 顺序超速漂浮离心出来，极大的节省了研究人员的宝贵时间。

如有任何其它相关问题，请随时联系天美（中国）科学仪器有限公司。