

題目 プラスミドDNAの迅速分離
機種 分離用超遠心機バーティカルロータ RP67VF

一般にプラスミドDNAの分離は塩化セシウム (CsCl) と臭化エチジウム (Eth.Br) の混合溶媒中で分離用超遠心機により分離しています。この方法は分離時間が24~48時間と長時間を要するため、時間短縮する方法としてアングルロータとステップ勾配を用いる方法が報告されています。

◇ 70,000rpm×3hr, 20°C …… Beckman 80Ti (日立 RP83T相当)

◇ 100,000rpm×2.5hr, 20°C …… Beckman TLA-100.2 (日立 RP100AT相当)

日立では更に分離時間を短縮する方法としてバーティカルロータとステップ勾配を用いて2hrで分離する方法を実現しました。

◇ 67,000rpm×2hr, 20°C …… 日立 RP67VF

RP67VF形バーティカルロータは新素材のカーボンファイバー材からなり、従来のチタン合金ロータと同じ強度を有し、重量が4.6kgと軽量で取扱操作が便利な構造になっています。このロータの性能は最高回転数67,000rpm、最大遠心加速度410,000×gで、加速、減速時間も短くなっています。

RP67VFロータとチューブアダプターの外観を図1に示します。



図1 RP67VFバーティカルロータ

分離手順

- (1) 始めに5PAシールチューブに比重(ρ)1.47のCsCl液3.5mlをシリンジで注入します。
- (2) 次に試料1.02mlにCsCl 1.689g, Eth.Br液50 μ l (10mg/ml)を加え、 $\rho=1.81$ に調製した試料1.5mlをシリンジでチューブ底より静かに注入します。
- (3) チューブシーラ(日立STF-1)でチューブを密封し、チューブアダプターに入れ、ロータにセットします。
- (4) 分離用超遠心機スローアクセラモードで67,000rpm×2hr 20°Cで運転します。
- (5) 分離後暗室でチューブにUV光を当て、蛍光を発した分離層に注射針を差し抜き取りします。
- (6) 分離結果を図2に示します。(約80 μ gのプラスミドDNAを含む)

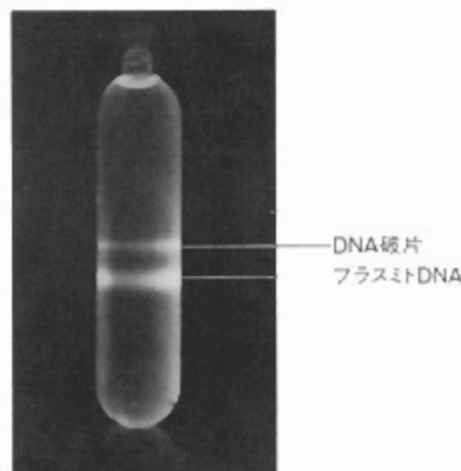


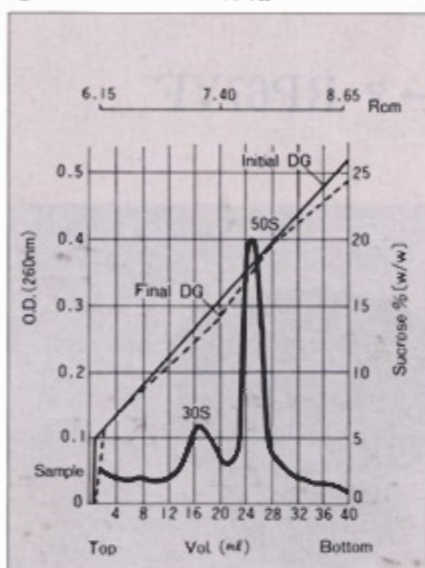
図2 分離後の写真

分離用超遠心機パーティカルロータ

密度勾配遠心を効率よく短時間で分離する方法に
パーティカルロータが採用されています。

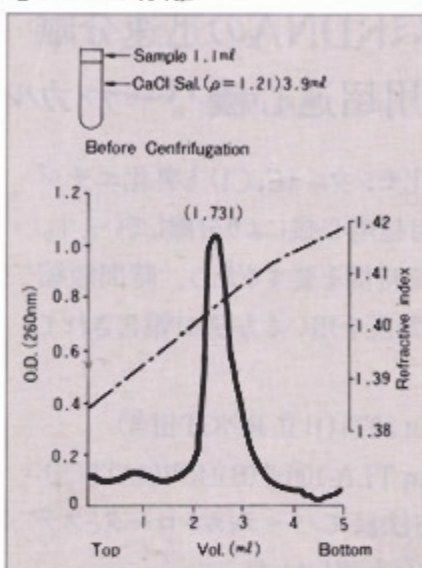
分離例

●Ribosomesの分離



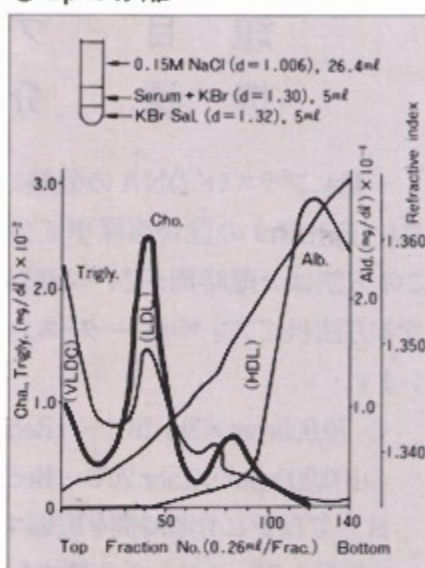
RP50VF 50,000rpm × 50min, 4℃

●DNAの分離



RPV65T 57,000rpm × 45min, 25℃

●Lpの分離



RPV50T 50,000rpm × 2.5h, 10℃

◆日立パーティカルロータに軽量、操作性、強度など性能に優れた
カーボンファイバー材ロータが加わりました。

●日立パーティカルロータ仕様

形 式	容 量	最高回転数	最大遠心加速度	ロータ材質
RP67VF	5 ml × 8本	67,000rpm	410,000 × g	カーボンファイバー
RP55VF	12 ml × 12本	55,000rpm	299,300 × g	
RP50VF	40 ml × 8本	50,000rpm	243,200 × g	
RP83VT	5 ml × 8本	83,000rpm	549,000 × g	チタン合金
RPV65T	5 ml × 8本	65,000rpm	404,000 × g	
RPV50T	40 ml × 8本	50,000rpm	243,000 × g	
RPV45T	12 ml × 12本	45,000rpm	200,400 × g	
RPV30	40 ml × 8本	30,000rpm	87,500 × g	アルミ合金

適用遠心機：85P-72/70P/55P-72・SCP85H/70H/55H

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)504-7211(ダイヤルイン)

事 業 所 札幌 (011)221-7241

横浜 (045)671-5421

名古屋 (052)583-5841

岡山 (0864)25-1316

仙台 (022)264-2211

新潟 (0252)41-3011

京都 (075)241-1591

広島 (082)221-4514

水 戸 (0292)32-0112

北 陸 (0764)24-3386

大 阪 (06)366-2551

九 州 (092)721-3501

筑 波 (0298)23-7391

豊 田 (0565)28-5191

四 国 (0878)62-3391

沖 縄 (0988)78-1311

日立互機株式会社

本社工場 〒312 茨城県勝田市武田1060番地 電話 勝田 (0292)73-8111(大代表)