

題目 培養細胞の分離  
機種 エルトリエータロータシステム SRR6Y

培養細胞の増殖中に生ずる大きささまざまな細胞から一定周期の細胞だけを分取するのに、エルトリエータロータシステムが用いられます。

従来は、DNA合成阻害酵素などを用いて成長を一時止め分取する方法がとられていました。この方法は細胞の一部を損傷するなどの欠点がありました。

エルトリエータロータシステムは、細胞を培養液中に浮遊させたまま分離ができるので、細胞を損傷することなく安定した状態で分取できる特長があります。

K562腫瘍細胞の分離に用いた結果、良好な分離能を有することが確認できました。

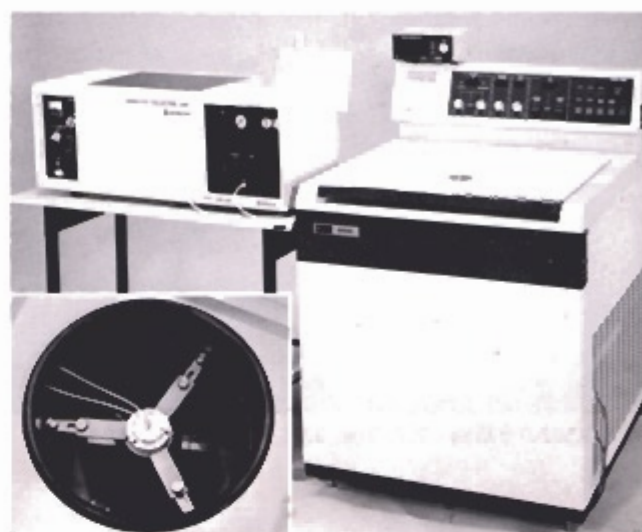


図1 エルトリエータロータシステム

## 分離手順

- (1) 遠心機にロータ及び付属品を取付け、パイプラインを接続します。
- (2) 回転(500rpm)しながら70%エタノール150mlを流し(20ml/min)ます。
- (3) 滅菌蒸留水約200mlを流してエタノールを除去します。
- (4) 続けてBuffer液を流しながら所定の回転数2,000rpmにします。合せて、流量を22.5ml/minに調整します。
- (5) 試料10mlを22.5ml/minの流量で注入します。
- (6) 50ml分取後、流量を2.5ml/min毎増加させ、50mlずつ分取します。
- (7) 流量42.5ml/minで分取した後ロータを停止させ、分離チャンバー内の細胞も回収します。
- (8) 各フラクションは、フローサイトメータによりDNA量を測定します。

### ●流量と回転数の関係

$$Q = 19.03 \times SN^2 \text{ (ml/min)}$$

N : 回転数 rpm

$$S : \text{沈降係数} \quad S = \frac{d^2(\rho_2 - \rho_1)}{18\eta}$$

d = 粒子の直径 (cm)

$\rho_1$  = 溶媒の密度 (g/cm<sup>3</sup>)

$\rho_2$  = 粒子の密度 (g/cm<sup>3</sup>)

$\eta$  = 溶媒の粘度 (Poise)

## 分離条件と結果

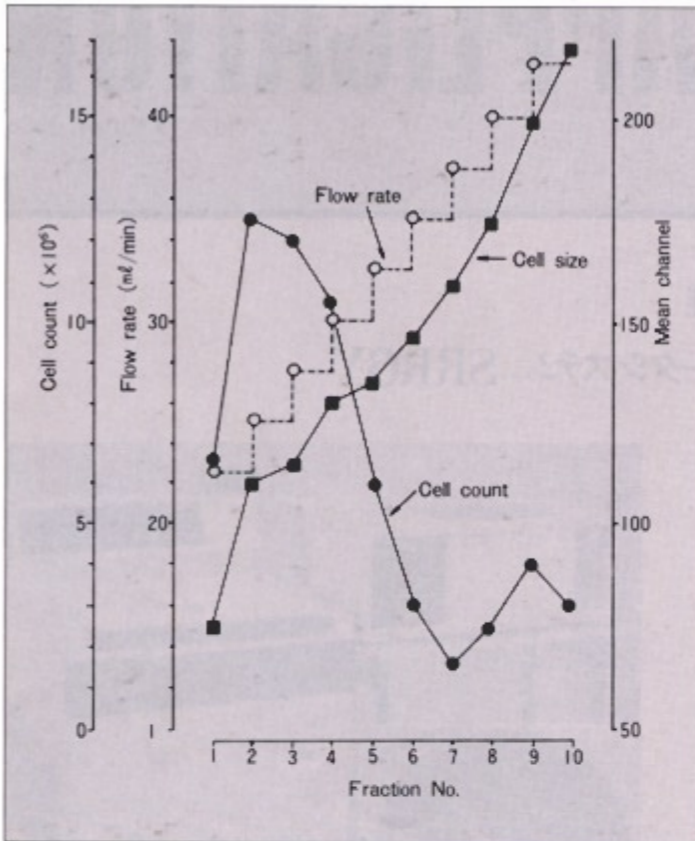


図2 K562の分離例 2,000rpm 22.5-42.5ml/min, 20℃

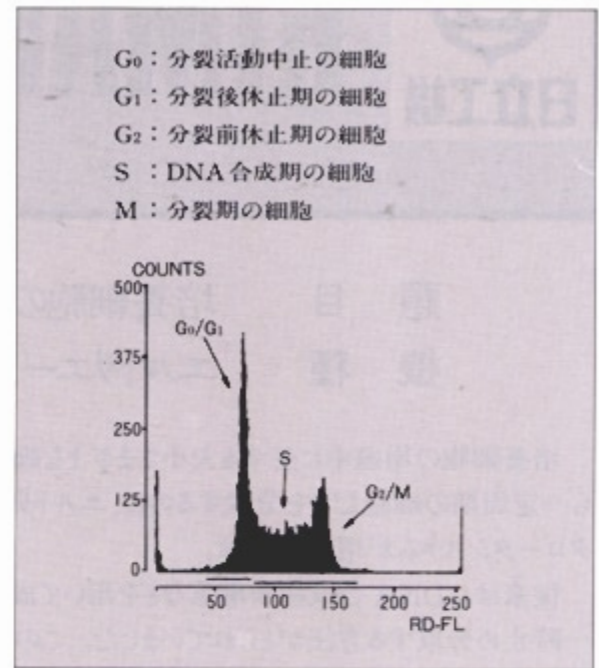


図3 分離前試料のDNA分布

図3に示すようなDNA量分布を持つ試料が、DNA量の違いで各フラクションに分離されました。図4に主なフラクションのDNA量分布を示します。

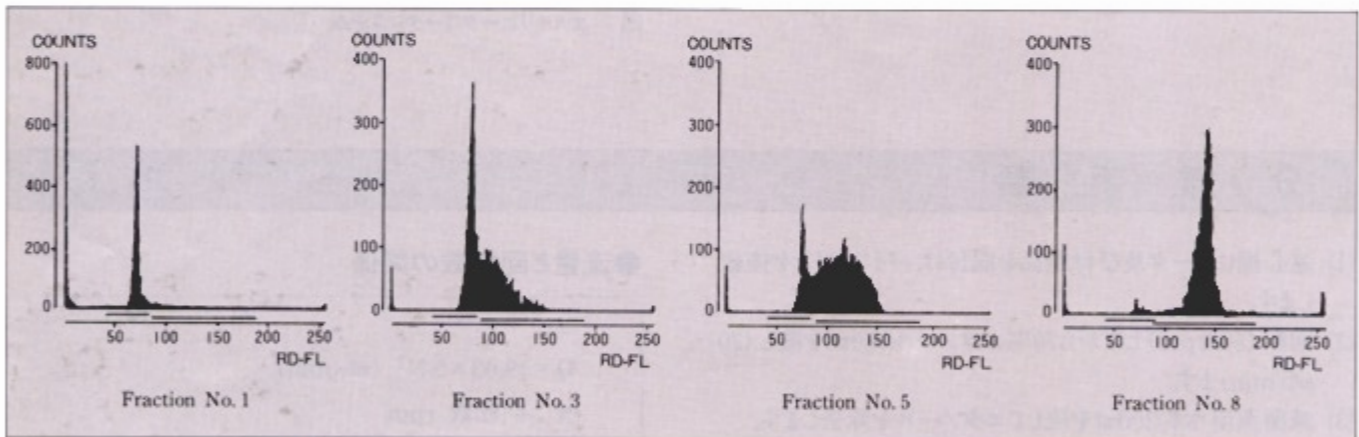


図4 各フラクションのDNA分布

◆上記データは久留米大学免疫学教室のご協力によるものです。

## 日製産業株式会社

本社 〒105 東京都港区虎ノ門1丁目26番5号(第17森ビル) 電話 (03)504-7211(ダイヤルイン)  
 〒105 東京都港区西新橋1丁目24番14号 電話 (03)504-7211(ダイヤルイン) (3月10日以降)  
 事業所 札幌 (011)221-7241 仙台 (0222)64-2211 水戸 (0292)32-0112 筑波 (0298)23-7391  
 横浜 (045)671-5421 新潟 (0252)41-3011 北陸 (0764)24-3386 豊田 (0565)28-5179  
 名古屋 (052)583-5841 京都 (075)241-3501 大阪 (06)366-2551 四国 (0878)62-3391  
 岡山 (0864)25-1316 広島 (082)221-4514 九州 (092)721-3501 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)

Printed in Japan 389797 (IF)