

題目 密度勾配沈降平衡法によるプラスミドDNAの分離
機種 小形超遠心機 CP120H用RP100ATロータ

日立が新発売したCP120H形小形超遠心機を用いてプラスミドDNAの分離を試みました。試料はHIMAC APPLICATION No.1 JUNE 1985で用いたものと同一です。

プラスミドDNAの分離法には、均一液を用いて沈降平衡で分離する方法とステップ勾配により短時間で分離する方法とがあります。RP100ATロータは沈降距離が短く、100,000rpmまで回転できるので13~15時間で十分な分離が可能です。この時間は前日の夕方に運転して当日の朝停止する時間に相当します。ステップ勾配遠心法は2時間で分離できるので1日に複数回数の遠心分離ができ効率向上がはかれます。また均一液を用いて短時間で分離する方法は粗分離に適しています。

分離条件

試料溶液は全てTE Buffer pH8.0 (10mM Tris HCl, 1mM EDTAを含む)で調製します。臭化エチジウム(Eth.

Br)はFinal, 0.1mg/mlになるように添加します。CsClの密度調製は屈折計を用いて行ないます。

表1 遠心条件と結果

実験 NO.	遠心条件	DNA量 (μg)	結果
1	100,000rpm × 2.5h, 25°C	24	図2
2	100,000rpm × 3h, 25°C	40	図3
3	100,000rpm × 15h, 25°C	24	図4
4	100,000rpm × 13h, 25°C	40	図5

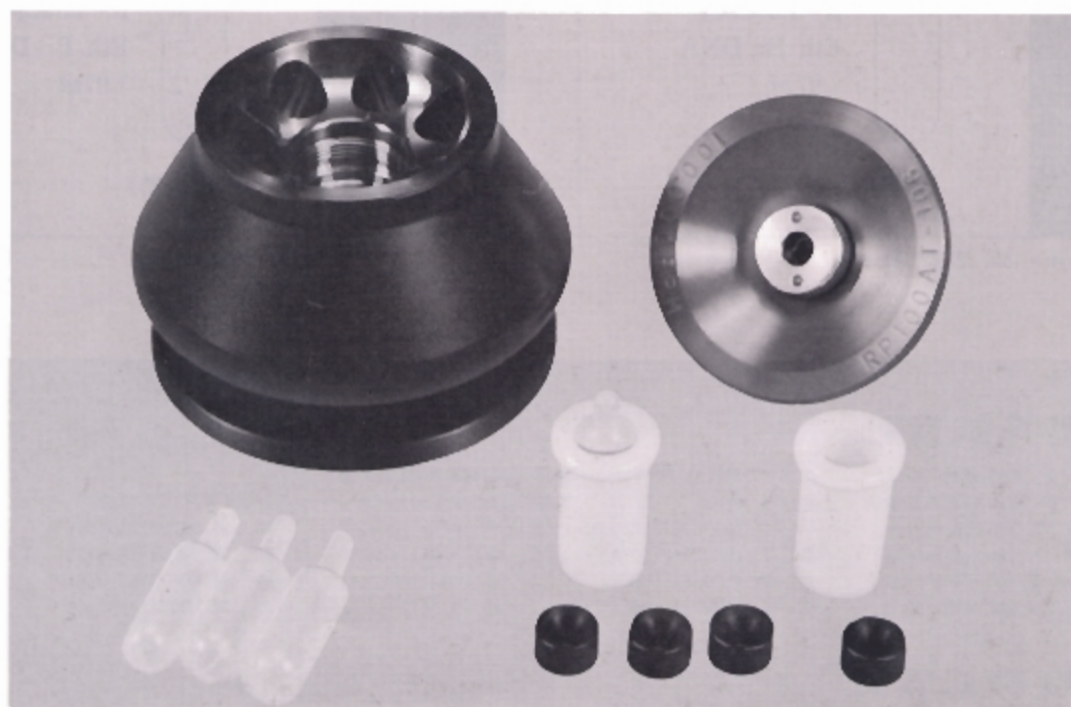
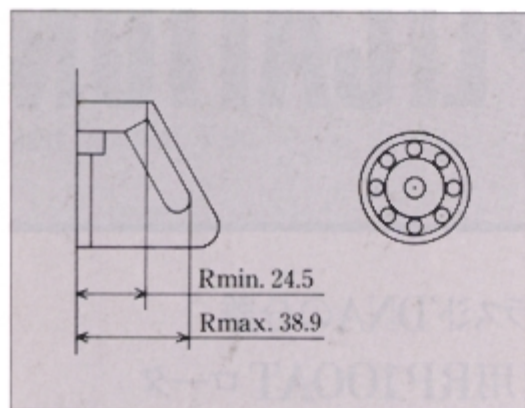


図1 実験に用いたロータとチューブ

RP100ATロータ仕様



最高回転数	100,000rpm	
最大遠心加速度	400,000×g	
チューブ数	8本	
チューブの種類と容量	2PAシールチューブ	2 ml
	1.5PAシールチューブ	1.5ml
	1 PCチューブ	1 ml
ロータの材質	チタン合金	
重量	600g	

分離結果

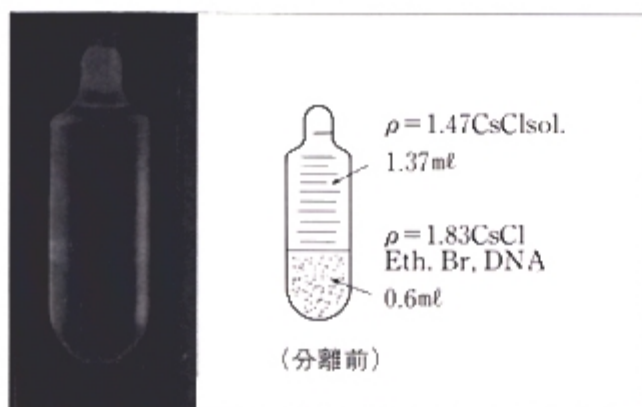


図2 100,000rpm×2.5h, 25℃ (No.1)



図3 100,000rpm×3h, 25℃ (No.2)



図4 100,000rpm×15h, 25℃ (No.3)

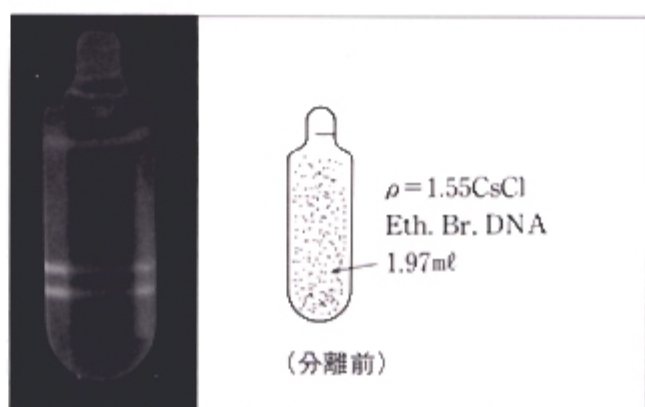


図5 100,000rpm×13h, 25℃ (No.4)

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)
 〒105 東京都港区西新橋1丁目24番14号
 事業所 札幌 (011)221-7241 仙台 (0222)64-2211
 横浜 (045)671-5421 新潟 (0252)41-3011
 名古屋 (052)583-5841 京都 (075)241-3501
 岡山 (0864)25-1316 広島 (082)221-4514

電話 (03)504-7211(ダイヤルイン)
 電話 (03)504-7211(ダイヤルイン)〔3月10日以降〕
 水戸 (0292)32-0112 筑波 (0298)23-7391
 北陸 (0764)24-3386 豊田 (0565)28-5179
 大阪 (06)366-2551 四国 (0878)62-3391
 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)