



# HIMAC APPLICATION

No.9 JULY 1987

- 題 目 DNAの制限酵素消化によるフラグメントのSucrose  
グラジエントを用いた分画法
- 機 種 分離用小形超遠心機CP100H用RP55S形スイ  
ングロータ

CP100H形日立分離用小形超遠心機にRP55S形スイングロータを用いて、黄色ブドウ球菌の染色体DNAを制限酵素により消化したものをSucroseグラジエントにより分画しました。試料は耐熱性皮剥脱毒素(100°C、20分でも失活せず)の産生を支配する染色体DNAを制限酵素HindIIIで37°C、1時間消化したものを用いました。グラジエント溶液はSucroseの40%、30%、20%、10%溶液(1M NaCl、20mM Tris-HCl、5mM EDTA (pH8.2)中に溶解)を各々0.5mlずつ遠心チューブの底からピペットにより重ねることによって作成し、その上に試料を100 $\mu$ l重層した後、遠心しました。

遠心後、遠心チューブの底に18Gの注射針を刺し、3滴(約63 $\mu$ l)ずつ分画しました。分画後、各フラクションの10 $\mu$ lを用い、アガロースゲル電気泳動を行いました(ゲル濃度0.6%)。結果を図1に示します。図1のようにDNAの制限酵素断片がその大きさの順に分画していることがわかります。

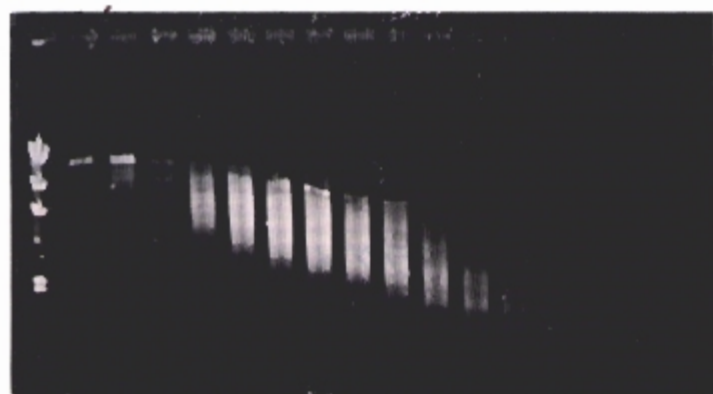
このように、分離用小形超遠心機にスイングロータを用いてDNAフラグメントを分画することができます。従って、この手法は遺伝子のクローニングのための分画法としても応用が可能となります。

## 分 離 条 件

- (1) 使用チューブ  
2.2CNチューブ
- (2) 遠心分離条件

| 回転数(rpm) | 遠心時間(hr) | 温度(°C) | 加速モード | 減速モード |
|----------|----------|--------|-------|-------|
| 36,000   | 18       | 10     | 5     | 4     |

# 分離結果



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16  
 (Bottom) フラクション No.  
 分子量マーカー ( $\lambda$ /Hind III)

図1 分画後の電気泳動結果

(本結果は、東京慈恵医科大学 桜井 進先生の御協力によるものです。)

注) フラクションNo.の小さい方がチューブのボトム(底)側です。  
 DNAフラグメントの小さいもの程、泳動像は下方にあらわれます。

## 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

仙台(022)264-2211

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)28-5191

名古屋(052)583-5841

京都(075)241-1591

大坂(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)