

himac APPLICATION

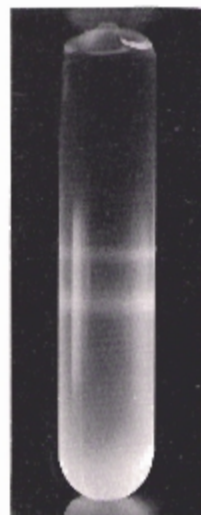
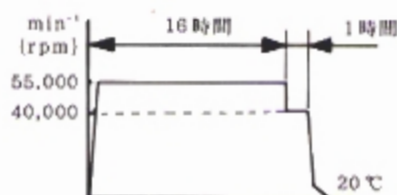
No.15 APRIL 1989

題目 ステップモード運転法によるプラスミドDNAの分離
機種 分離用超遠心機SCPシリーズ, CPシリーズ
 チューブ容量12mlのRP83Tアングルロータを用いてステップモード運転法によりプラスミドDNAの分離をオーバーナイト運転で行った例

従来12ml用チューブを用いたアングルロータによるプラスミドDNAの分離は $45,000\text{min}^{-1}$ {rpm}で36時間の遠心が必要でした。¹⁾しかし、ステップモード運転を自動的に行うことのできる日立分離用超遠心機SCP85H2, SCP70H2, SCP55H2, CP70, CP56によれば、 $55,000\text{min}^{-1}$ {rpm}×16時間+ $40,000\text{min}^{-1}$ {rpm}×1時間(20℃)の合計17時間と従来の約半分の遠心時間でも十分な分離結果が得られました。

分離結果

- ロータ : RP83T (アングルロータ)
- チューブ : 12PA シールチューブ
- 運転方法 : 自動ステップモード運転
- Accel. : SCPシリーズ「-」
: CPシリーズ「9」
- Decel. : SCPシリーズ「3」
: CPシリーズ「7」



上層 : λ-ファージDNA

下層 : プラスミド pUC19DNA

分離前



CsCl : $\rho = 1.57$
 エチジウムブロマイド 0.2mg/ml
 プラスミド pUC19DNA 約 100 μ g
 λ-ファージDNA 約 35 μ g
 TE緩衝液 (pH8.0)
 合計 12 ml

図1 ステップモード運転によるプラスミドDNAの分離

分離条件

(1) 遠心分離条件

ロータ	回転数 (min^{-1} [rpm])		遠心時間 (h)	温度 ($^{\circ}\text{C}$)	Accel.	Decel.	結果
RP83T	第1ステップ	55,000	16	20	SCPシリーズ「--」 CPシリーズ「9」	SCPシリーズ「3」 CPシリーズ「7」	図1
アングルロータ	第2ステップ	40,000	1				

なお、この結果は

RP80T-3, SRP70AT, RP65T アングルロータにもそのまま適用できます。

(2) 使用チューブ

12PA シールチューブ

(3) 試料調製法

チューブ1本につき、DNAを含むTE緩衝液(10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH8.0) 8mlに塩化セシウム7.9gを溶解し、エチジウムブロマイド(10mg/ml) 0.24ml加えたものを用意します。十分に攪拌後、12PAシールチューブに充填します。次にあらかじめ作成しておいた補充液(TE緩衝液1mlあたり塩化セシウム1gを溶解したもの)を加え、チューブを満たします。その後、STF-1形チューブシーラにて密封します。

(参考文献)

- 1) T. Maniatis, E. F. Fritsch & J. Sambrook, "Molecular Cloning", Cold Spring Harbor Laboratory, (1982).

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

筑波(0298)23-7391

北関東(0486)53-2341

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)

0120-024125