

# himac APPLICATION

No.18 APRIL 1989

題目 リボゾームの分離 (1)

機種 分離用超遠心機 SCP85H2, SCP70H2, CP70

5ml用チューブによりリボゾームをサブユニット (50Sと30S) に分離した例。パーティカルロータとスイングロータの比較。

大腸菌由来のリボゾームを50S (分子量約180万) と30S (分子量約90万) のサブユニットに分離しました。リボゾームの調製には  $Mg^{2+}$  の濃度が重要であることが知られています。10mM 酢酸マグネシウム存在下では安定な70S粒子を形成し、50Sと30Sのサブユニットに分離するには0.2mMが至適マグネシウム濃度です。(大腸菌由来のリボゾームの場合) このため、10mM 酢酸マグネシウムを含む緩衝液を用いて調整したリボゾーム (70S) を0.2mM 酢酸マグネシウムを含む緩衝液に一昼夜透析し、試料としました。パーティカルロータを用いることにより同じチューブ容量のスイングロータによる場合の約53%の時間で分離できました。また、高速のスイングロータはチューブ本数が少くなる (RPS 65T: 5ml×3本) のに対し、パーティカルロータは多数のチューブを遠心することができます。(RP65VT2: 5ml×16本)

## 分離結果

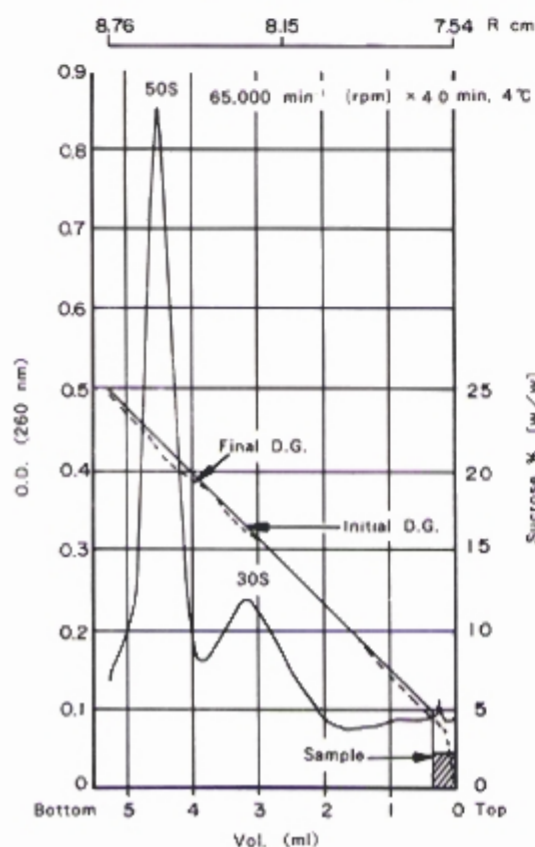


図1. RP65VT2パーティカルロータによる分離

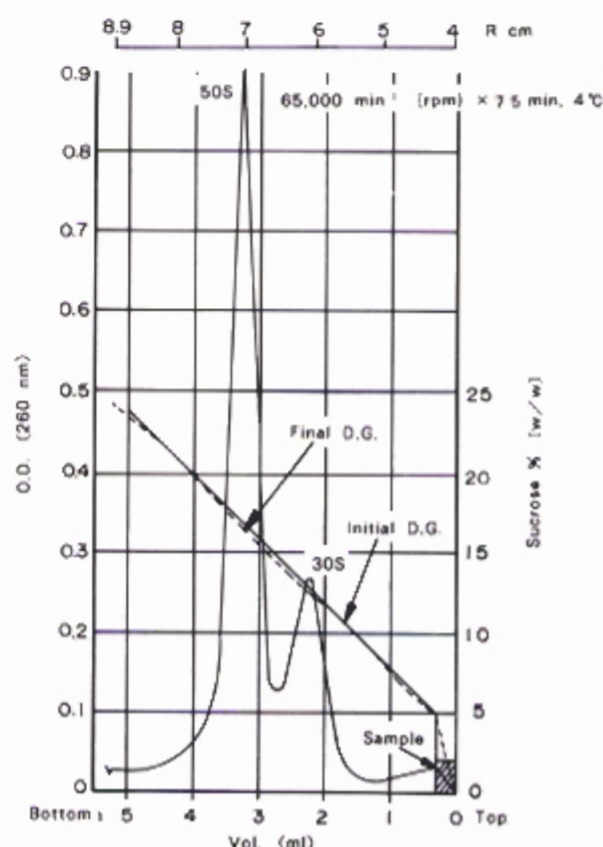


図2. RPS65Tスイングロータによる分離

# 分離条件

## (1) 遠心分離条件

ロータ	回転数 min <sup>-1</sup> (rpm)	最大遠心加速度 ×G	遠心時間 min	密度勾配	温度 ℃	Accel.	Decel.	結果
RP65VT2 パーティカル ロータ	65,000	416,100	20 40	シュークロース 5~25% 直線勾配	4	SCPシリーズ「5」 CP70「5」	SCPシリーズ「3」 CP70「6」	図1
RPS65T スイングロータ	65,000	420,400	46 75	同上	4	SCPシリーズ「1」 CP70「8」	SCPシリーズ「1」 CP70「8」	図2

## (2) 使用チューブ

5PA チューブ

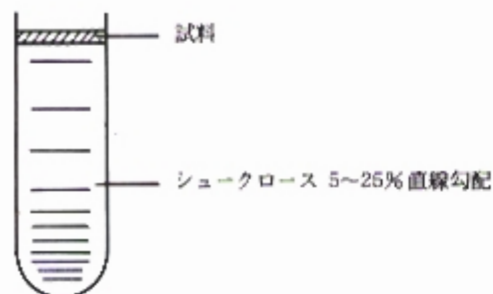
## (3) 試料の調製

試料：リボゾーム（大腸菌） 0.35 ml

緩衝液：10mM Tris-HCl, 0.2mM 酢酸マグネシウム, 60mM 塩化アンモニウム (pH7.8)

密度勾配液：シュークロース 5~25% 直線勾配

(シュークロースを上記、緩衝液に溶解し調製する。)



## 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

西国 (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