

himac APPLICATION

No.19 APRIL 1989

題目 リボゾームの分離 (2)

機種 分離用超遠心機 SCP シリーズ, CP シリーズ

40ml用チューブによりリボゾームをサブユニット (50S, 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1/10の時間で分離できました。このように、パーティカルロータを用いることにより、分離時間を大幅に短縮することが可能です。しかし、一般にスイングロータの方がパーティカルロータよりも分離精度は高く、分離ピークはシャープになります。つまり、多成分系試料を精度良く分離する場合にはスイングロータを用いる必要があります。試料と分離目的によって使い分けることが大切です。

分離結果

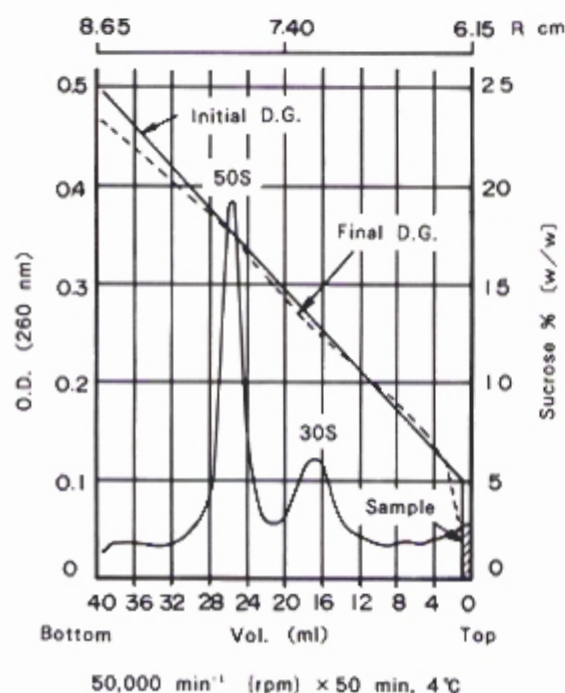


図1. RPV50T パーティカルロータによる分離

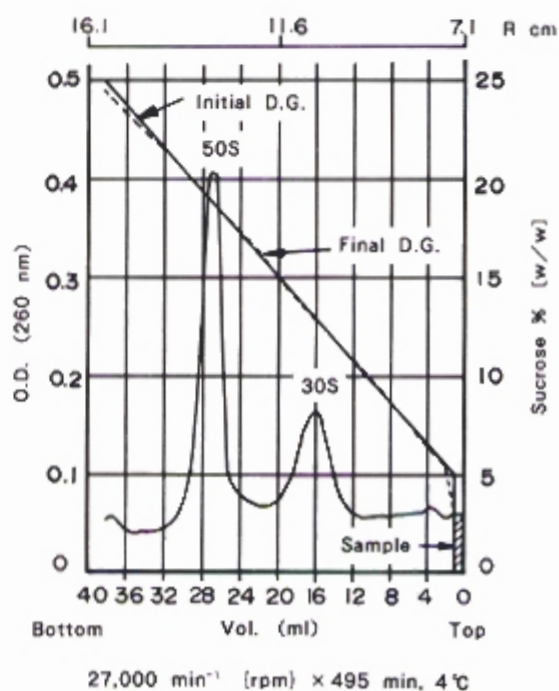


図2. SRP28SA スイングロータによる分離

分離条件

(1) 遠心分離条件

ロータ	回転数 min ⁻¹ [rpm]	最大遠心加速度 ×G	遠心時間 min	密度勾配	温度 ℃	Accel.	Decel.	結果
RPV50T パーティカル ロータ	50,000	243,200	50	シュークロス 5~25%直線勾配	4	SCPシリーズ「5」 CPシリーズ「5」	SCPシリーズ「3」 CPシリーズ「6」	図1
SRP28SA スイングロータ	27,000	131,200	495	同上	4	SCPシリーズ「1」 CPシリーズ「8」	SCPシリーズ「3」 CPシリーズ「7」	図2

(2) 使用チューブ

40PA チューブ

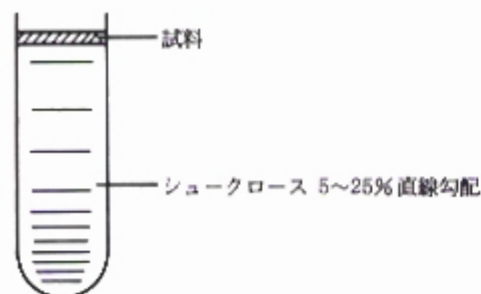
(3) 試料の調製

試料：リボゾーム（大腸菌） 0.8 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：シュークロス 5~25% 直線勾配

(シュークロスを上記、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

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)

0120-024126