

himac APPLICATION

No.20 JULY 1989

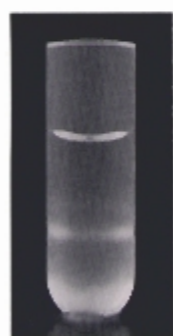
題目 1PCチューブによるプラスミドDNAの分離

機種 小形超遠心機CSシリーズ

チューブ容量1mlのキャップレスチューブを用いてプラスミドDNAの分離を行った例

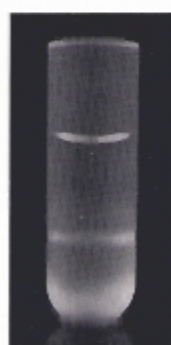
チューブ容量1mlのキャップレスチューブである1PCチューブをRP120ATアングルロータに用いてプラスミドDNAを分離する条件について検討しました。下記の結果の通り、 $120,000\text{min}^{-1}$ {rpm} では3.5時間程度、オーバーナイト運転の時には $85,000\text{min}^{-1}$ {rpm} で分離できることを確認しました。

分離結果



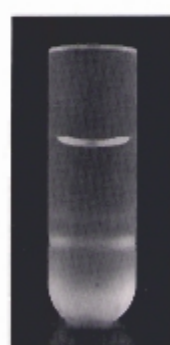
$120,000\text{min}^{-1}$ {rpm}
2.5時間

写真1



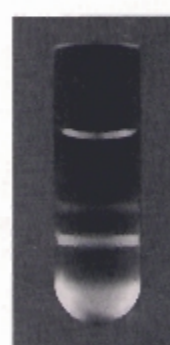
$120,000\text{min}^{-1}$ {rpm}
3時間

写真2



$120,000\text{min}^{-1}$ {rpm}
3.5時間

写真3



$85,000\text{min}^{-1}$ {rpm}
オーバーナイト (15時間)

写真4

いずれも、下層：プラスミドpU19DNA、上層：linearDNA、チューブ底部：RNA

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
RP120AT アングルロータ	120,000	2.5	15	8	7	写真1
	120,000	3	15	8	7	写真2
	120,000	3.5	15	8	7	写真3
	85,000	オーバーナイト	15	8	7	写真4

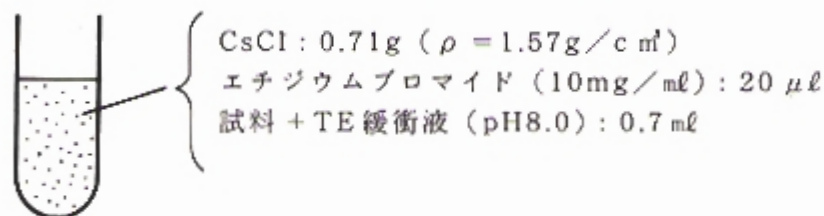
なお、RP100ATアングルロータによる場合は $100,000\text{min}^{-1}$ {rpm} では4.5時間程度、オーバーナイト運転の時には $85,000\text{min}^{-1}$ {rpm} で分離できます。

(2) 使用チューブ

1PCチューブ (ポリカーボネート製)

(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) 0.7mlに塩化セシウム0.71gを溶解し、エチジウムブロマイド (10mg/ml) 20 μl を加えます。十分に攪拌後、1PCチューブに入れ、バランス調整を行います。許容アンバランス量はチューブ1対につき、0.2gですのでこれ以内となる様に調整して下さい。(同一試料を用い、目視で液面レベルを合わせれば十分です。)



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)

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 (大代通)
0120-024125