

himac APPLICATION

No.23 OCTOBER 1989

- 題目** ラムダファージ粒子の分離
機種 CS120/100形日立分離用小形超遠心機
 RP80ATアングルロータ
概要 RP80ATアングルロータにより、 $80,000\text{min}^{-1}$ {rpm}で、大腸菌のラムダファージ溶菌液から、ラムダファージ粒子を15分で分離した例

ラムダファージはプラスミドとともに、大腸菌を宿主とする組換えDNA実験のベクターとして汎用されています。このwild typeラムダファージを大腸菌LE392株に感染させて得られたファージ溶菌液から、下記条件を用いてラムダファージ粒子の分離を行いました。

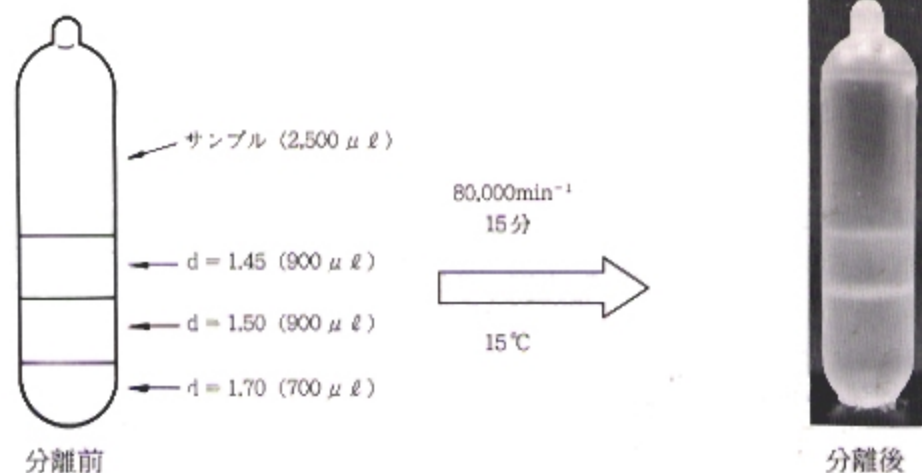
1. 使用機種

本体 : CS120形日立分離用小形超遠心機
 ロータ : RP80ATアングルロータ
 チューブ : 5PAシールチューブ

2. 分離条件

回転数 (min^{-1})	遠心時間	温度	加速モード	減速モード
80,000	15分	15°C	5	7

3. 分離結果



4. 試料調製法

大腸菌LE392株にラムダファージを感染させ、その一晚培養液1ℓより得た溶菌液をPEG (ポリエチレングリコール) 6,000により沈澱させます。これに、5mlの緩衝液(10mMのMgSO₄を含む20mM Tris-HCl pH7.5)を加え懸濁し、クロロホルム処理したものを試料として用います。この試料2.5mlをあらかじめ5PA シールチューブ中に作成しておいた塩化セシウムの密度勾配液(d=1.7(56%W/W): 700μℓ、d=1.5(45%W/W): 900μℓ、d=1.45(42%W/W): 900μℓ)の上に重層し、チューブを満たした後に、STF-1形チューブシーラにて溶着し密封します。

5. 解説

本実験に用いたRP80ATアングルロータは5ml容5PAシールチューブが使用できるため、小形超遠心機と従来機種との間にあったギャップを埋めることができ、小形超遠心機の応用範囲を大きく拡張できる画期的なロータといえます。

従来の超遠心機を用いた場合、ファージ粒子の分離には、RPS40Tスイングロータで、32,000min⁻¹[rpm]、60分間の遠心操作が必要でした。ここでは、RP80ATアングルロータ、80,000min⁻¹[rpm]×15分間で分離した結果を示しています。水層と塩化セシウム層の境界のバンド(上層)が膜断片のバンドで、塩化セシウム層に形成されたバンド(下層)がファージ粒子のバンドです。このようにCS120形分離用小形超遠心機にRP80ATアングルロータを用いると、わずか15分間でファージ粒子が分離できます。同様の分離は、CS100形分離用小形超遠心機を用いた場合でも可能です。

尚、当資料に関する御質問等がございましたら日立工機(株)精機事業部応用開発担当 四柳宛御連絡ください。

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

横浜(045)671-5421

新潟(0252)41-3011

名古屋(052)583-5841

京都(075)241-1591

大阪(06)366-2551

北関東(0486)53-2341

岡山(0864)25-1316

広島(082)221-4514

九州(092)721-3501

豊田(0565)28-5191

四国(0878)62-3391

沖縄(0988)78-1311

日立工機株式会社

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