

himac APPLICATION

No.24 OCTOBER 1989

- 題目** ラムダファージ粒子の分離
機種 CS120形日立分離用小形超遠心機、RP120ATアングルロータ
概要 RP120ATアングルロータにより、 $120,000\text{min}^{-1}$ {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5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。

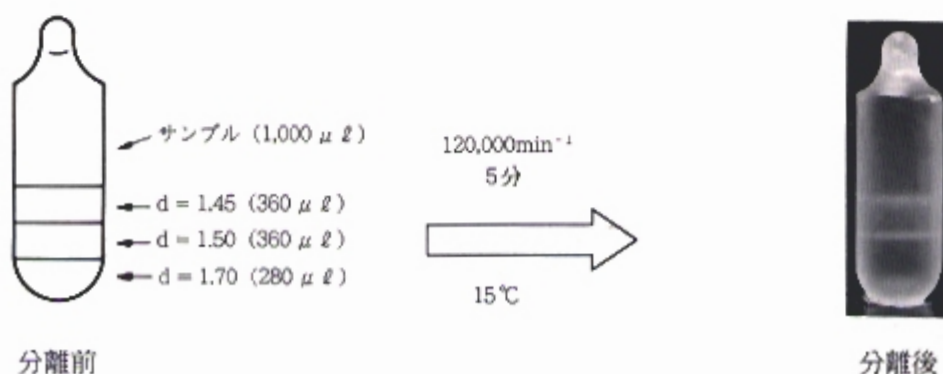
1. 使用機種

本体 : CS120形日立分離用小形超遠心機
 ロータ : RP120ATアングルロータ
 チューブ : 2PA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
120,000	5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 1 ℓ 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 $MgSO_4$ 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 1ml をあらかじめ 2PA 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) : $280 \mu l$ 、 $d = 1.5$ (45% W/W) : $360 \mu l$ 、 $d = 1.45$ (42% W/W) : $360 \mu l$) の上に重層し、チューブを満した後に、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 RP120AT アングルロータは、世界最高回転数である $120,000 \text{min}^{-1}$ (rpm) と沈降距離の短縮を実現したため、遠心分離時間の大幅な短縮が可能となりました。

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 $32,000 \text{min}^{-1}$ (rpm)、60 分間の遠心操作が必要でした。ここでは、RP120AT アングルロータ、 $120,000 \text{min}^{-1}$ (rpm) \times 5 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 RP120AT アングルロータを用いると、わずか 5 分間でファージ粒子が分離できます。

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。

日製産業株式會社

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

日立工機株式會社

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