

# himac APPLICATION

No. 31 DECEMBER 1990

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  
RP100AT4 アングルロータ

100AT4 アングルロータにより、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。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、下記条件によりラムダファージ粒子の分離を行いました。

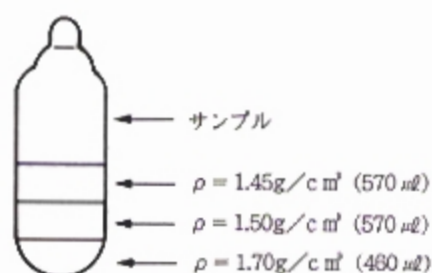
### 1. 使用機種

本体 : 日立CS120形分離用小形超遠心機 (CS100でも同じ条件で分離ができます)  
ロータ : RP100AT4 アングルロータ  
チューブ : 3.5PA シールチューブ

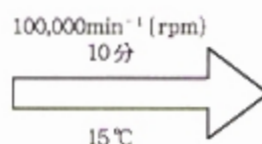
### 2. 分離条件

回転数	遠心時間	温度	加速モード	減速モード
100,000 min <sup>-1</sup> {rpm}	10分	15℃	5	7

### 3. 分離結果



分離前



→ 上層: 膜断片

→ 下層: ファージ粒子

分離後

#### 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 より得た溶菌液をポリエチレングリコール 6,000 により沈澱させる。これに、5 ml のバッファ (10 mM MgSO<sub>4</sub> を含む 20 mM 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る。

この試料をあらかじめ 3.5 PA シールチューブ中に作成しておいた塩化セシウムの不連続密度勾配液 { $\rho = 1.7 \text{ g/cm}^3$  (5.65 M CsCl) : 460  $\mu\text{l}$ ,  $\rho = 1.5 \text{ g/cm}^3$  (4.0 M CsCl) : 570  $\mu\text{l}$ ,  $\rho = 1.45 \text{ g/cm}^3$  (3.62 M CsCl) : 570  $\mu\text{l}$ } の上に重層し、チューブを満した後、STF-1 形チューブシラにて溶着し密封する。

#### 5. 解説

本実験に用いた RP100AT4 アングルロータは、最高 100,000 min<sup>-1</sup> (rpm) まで回転できるロータの中では、最も容量の大きい 3.5 PA シールチューブを使用することができ、また最大遠心加速度も 541,000 G と大きいため、試料の効率的な処理に非常に有用なロータです。

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、32,000 min<sup>-1</sup> (rpm)、60 分の遠心操作が必要でした。このラムダファージの分離は、CS120/100 形日立分離用小形超遠心機を用いることにより、迅速化にすることができます。(himac APPLICATION No.23、No.24 参照)

ここでは、RP100AT4 アングルロータ、100,000 min<sup>-1</sup> (rpm) × 10 分で分離した結果を示します。水層と塩化セシウム層の境界のバンド (上層) が膜断片、塩化セシウム層中に形成されたバンド (下層) がファージ粒子です。このように CS120/100 形日立分離用小形超遠心機に RP100AT4 アングルロータを用いると、わずか 10 分でファージ粒子の分離が可能です。

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 応用開発グループまで御連絡ください。

### 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	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