

himac APPLICATION

No. 32 DECEMBER 1990

題目 分離用小形超遠心機による RNA の迅速分離

機種 CS120 / 100 形日立分離用小形超遠心機
RP100AT4 アングルロータ

分離用小形超遠心機 CS シリーズを用いて、ヒト白血病由来株化細胞から RNA を 4 時間で分離した例

RNA の分離は、cDNA ライブラリを作成し、特定の cDNA クローンを得るために、不可欠な操作です。この RNA の分離をヒト骨髄性白血病由来の株化細胞である HL-60 から、分離用小形超遠心機を用いて下記条件により行ないました。

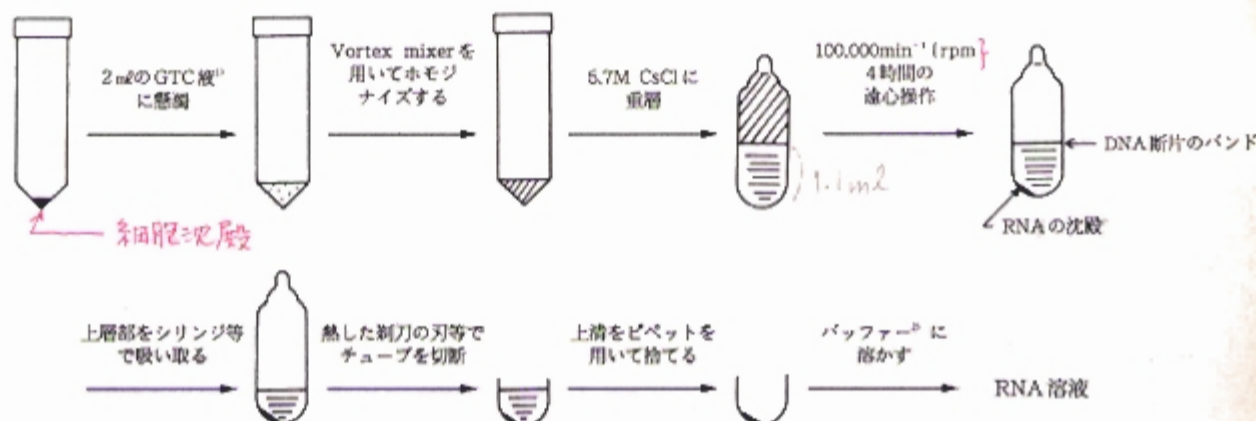
1. 使用機種

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 ⁻¹ {rpm}	4 時間	15°C	5	7

3. 操作



- 1) 4M チオシアン酸グアニジン、0.5% (w/v) N-ラウロイルサルコシン酸ナトリウム、1% (w/v) メルカプトエタノールを含む溶液
- 2) 10mM Tris-HCl (pH7.4)、5mM EDTA、0.1% (w/v) SDS

4. 分離結果

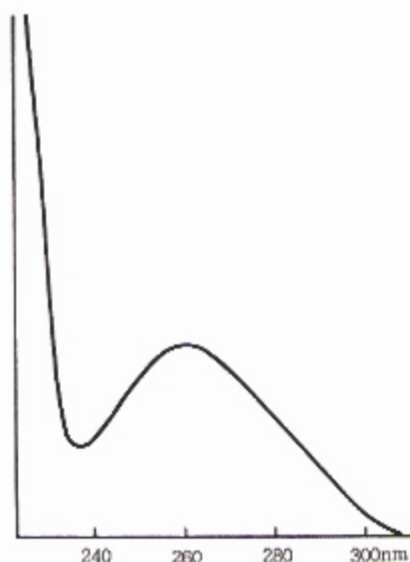


Fig. 1 :
RP100AT4により得られたRNA溶液の
波長260nm付近の吸収曲線



Fig. 2 :
RPS40T スィングロータおよびRP100AT4
アングルロータにより得られたRNA溶液の
1.5%アガロースゲル電気泳動による比較
1: RPS40T 2: RP100AT4

5. 解説

RNAの分離は従来、スィングロータで行なわれていました。しかしスィングロータを用いた場合には、その沈降距離の長さのため、非常に長時間の遠心操作が必要でした。このRNAの分離を小形超遠心機CSシリーズに最高回転数 $100,000\text{min}^{-1}$ {rpm}のRP100AT4アングルロータ用い、4時間の遠心操作により行ないました。あわせて、RPS40Tスィングロータを用いて、従来の方で分離を行ない($27,000\text{min}^{-1}$ {rpm}、22時間)両者を比較しました。吸収曲線および電気泳動の結果から、RP100AT4ロータを用いることによって、従来通りの方法で行なった場合と同様の分離をわずか4時間で行なうことができました。(遠心時間は3.5時間でも可能ですが、4時間の方が収率が良いようです。)

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(0296)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

西国(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)
0120-024125