

## himac APPLICATION

No.40 JANUARY 1992

題目 分離用小形超遠心機による RNA の迅速分離  
機種 分離用小形超遠心機用 RP120AT アングルロータ

チューブ容量 2 ml の RP120AT アングルロータを用いて  
ヒト白血病由来株化細胞から RNA を 2.5 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 の分離を分離用小形超遠心機により迅速に行なうことができました。試料としてヒト骨髄性白血病由来の株化細胞である HL-60 を用いました。

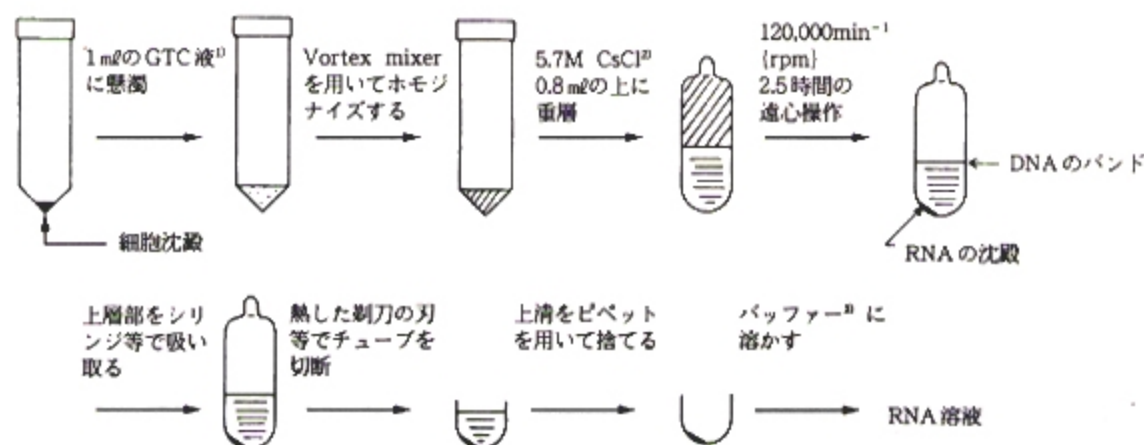
## 1. 使用機種

遠心機 : 日立 CS120 形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	遠心時間	温度	加速モード	減速モード
120,000 min <sup>-1</sup> (rpm)	2.5時間	15℃	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) 5.7M CsCl、10mM EDTA (pH7.5)
- 3) 10mM Tris-HCl (pH7.4)、5mM EDTA、0.1% (w/v) SDS

#### 4. 分離結果

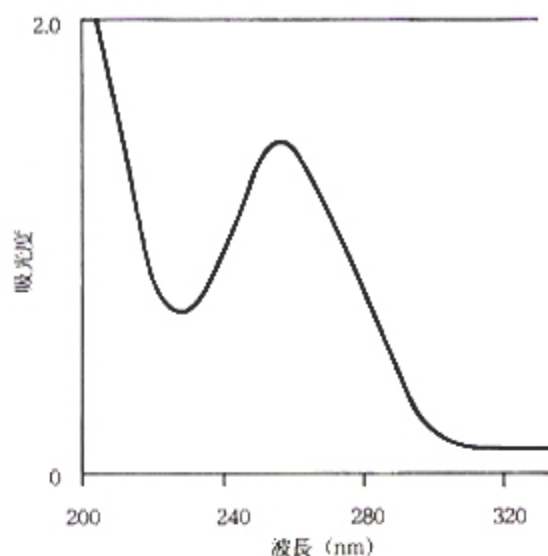


Fig 1. RP120ATにより得られたRNAの260nm付近の吸収曲線



Fig 2. RP120ATにより得られたRNAの1.5%アガロースゲル電気泳動の結果

#### 5. 解説

RNAの分離は従来、スイングロータで行なわれていました。しかし、スイングロータを用いる場合には、その沈降距離が長いため、非常に長い時間の遠心が必要でした。例えば、一般によく用いられるRPS40Tスイングロータの場合、 $27,000\text{min}^{-1}$  [rpm] で22時間を要していました。しかし、分離用小形超遠心機にRP120ATアングルロータを用いることにより、処理できる試料量は少量ながらも、2.5時間という短時間で分離が可能となりました。迅速性が要求される場合には、これは非常に有用な手法です。

この場合、5.7M CsCl溶液とRNAを含むGTC溶液の比を1:1.25とし、通常の1:2よりも5.7M CsCl溶液の量を若干多くした方がDNAの混入を防止できます。

なお、本資料に関するお問い合わせは日立工機（株）精機事業部応用開発グループまでお願い致します。

## 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)

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 平312茨城県勝田市武田1060番地 電話 勝田 (0292)73-8111(大代表)

0120-024125