

## himac APPLICATION

No.43 JANUARY 1992

題目 ネオアングルロータを用いたプラスミドDNAの迅速分離

機種 分離用超遠心機用 RP85NT ネオアングルロータ

チューブ容量5mlのRP85NTネオアングルロータを用いて大腸菌のプラスミドDNAを3時間で分離した例

プラスミドDNAの分離をパーティカルロータで行なうと分離時間をアングルロータ使用時に比べ大幅に短縮できます。しかし、試料中にRNAの含有量の多い時にはRNAのペレットがチューブ内壁に付着し、分離されたプラスミドDNAを抽出する際にRNAの混入を招く恐れがあります。これに対しアングルロータではRNAをチューブ底部に沈澱させることができ、RNAがプラスミドDNAの分離帯に混入することがありません。そこでチューブ穴角度を従来のアングルロータよりも低角度にし、RNAをチューブ底に沈澱させながら、パーティカルロータでの分離時間に近い時間で分離を可能にしたものが、このネオアングルロータです。

なお、ネオアングルロータを用いてプラスミドDNAを分離するにはポリオキシ(10)オクチルフェニルエーテル (Triton X-100)、N-ラウロイルサルコシン酸ナトリウム、ポリオキシエチレンラウリルエーテル (Brij 35) などを0.05~0.1%程度試料に添加と、RNAをチューブ底に確実に沈澱させる効果があります。また、N-ラウロイルサルコシン酸ナトリウムと同じ陰イオン性界面活性剤であるドデシル硫酸ナトリウム (SDS) は塩化セシウム溶液に溶解しないため、効果の小さいことが認められました。(Fig. 4参照)

## 分離結果

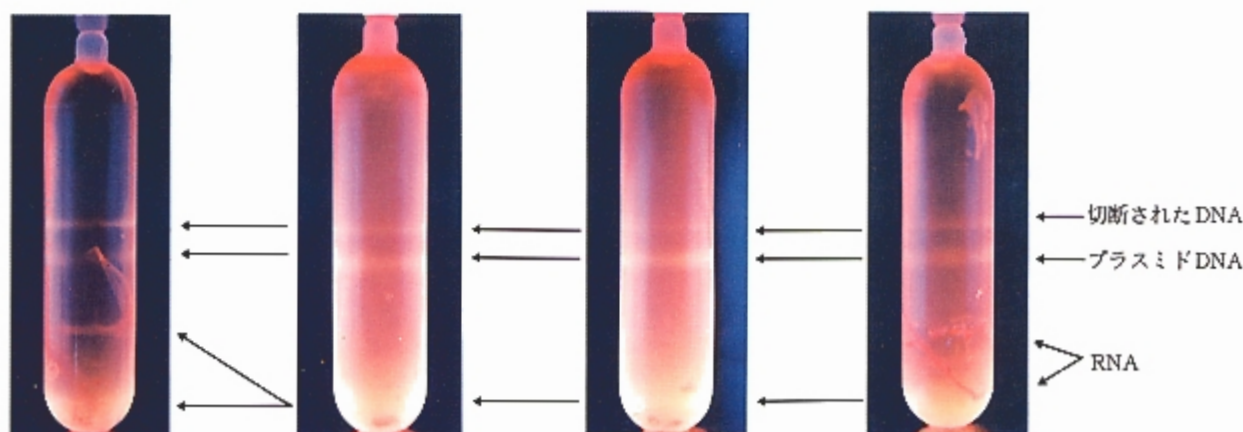


Fig. 1  
無添加

Fig. 2  
0.1%  
ポリオキシ(10)  
オクチルフェニル  
エーテル  
(Triton X-100)

Fig. 3  
0.1%  
N-ラウロイル  
サルコシン酸  
ナトリウム

Fig. 4  
0.1%  
ドデシル  
硫酸ナトリウム  
(SDS)

## 分離条件

### (1) 遠心分離条件

ロータ	回転数 min <sup>-1</sup> (rpm)	遠心時間 (h)	温度 (°C)	加速モード	減速モード
RP85NT ネオアングルロータ	85,000	3	20	SCPシリーズ「--」 CPシリーズ「9」	SCPシリーズ「3」 CPシリーズ「7」

### (2) 使用チューブ 5PA シールチューブ

### (3) 試料調製法

プラスミド pUC19DNA を含む大腸菌 JM109 を一夜振とう培養後、アルカリ-SDS 法などによって処理して得られたプラスミド DNA を含む TE 溶液 (10mM Tris-HCl, 1mM EDTA) を試料とします。

5PA シールチューブ 1 本あたり

- ・試料 : 3.8ml
- ・塩化セシウム : 3.8g
- ・エチジウムブロマイド (10mg/ml) : 100 $\mu$ l

ポリオキシエチレン(10)オクチルフェニルエーテル (Triton X-100) : 2.5~5 $\mu$ l  
あるいは  
10% N-ラウロイルサルコシン酸ナトリウム : 25~50 $\mu$ l  
あるいは  
10% ポリオキシエチレンラウリルエーテル (Brij 35) : 25~50 $\mu$ l

以上を混合し、チューブに注入します。チューブが満たされない場合には、あらかじめ作成しておいた補充液 (TE 緩衝液 1ml あたり、塩化セシウム 1g を溶解したもの) を加えチューブを満たします。その後、STF-1 形チューブシーラにて溶着し密封します。

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)

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