

himac APPLICATION

No.58 August 1993

題目 エルトリエータ細胞分離システムによる酵母細胞の分離

機種 高速冷却遠心機用 SRR6Y 形エルトリエータロータ

エルトリエータ細胞分離システムを用いて酵母細胞を増殖段階に応じて分離した例

エルトリエータ細胞分離システムは遠心力だけではなく、遠心力と対向する流れによる力の二つの力を利用して、細胞レベルの大きさのもの (2~50 μm 程度) を分離するシステムです。このシステムを利用すると、遠心力だけでは難しい細胞のサイズごとの分離が可能になります。

本システムは、酵母細胞の増殖中に生じるさまざまな大きさの細胞から、各増殖段階の細胞の分離に有効です。分離には特殊な試薬を必要としないので、細胞を損傷することなく安定した状態で分離できます。

1. 分離結果

- (1) フラクシオン1とフラクシオン2に出芽前の酵母細胞が100%の純度で得られました。
- (2) フラクシオン5に出芽した酵母細胞が約70%の純度で得られました。
- (3) フラクシオン7に分裂前のだるま状の酵母が約80%の純度で得られました。
- (4) フラクシオン2とフラクシオン7の酵母を培養し、その同調性を確認しました。(図2参照)

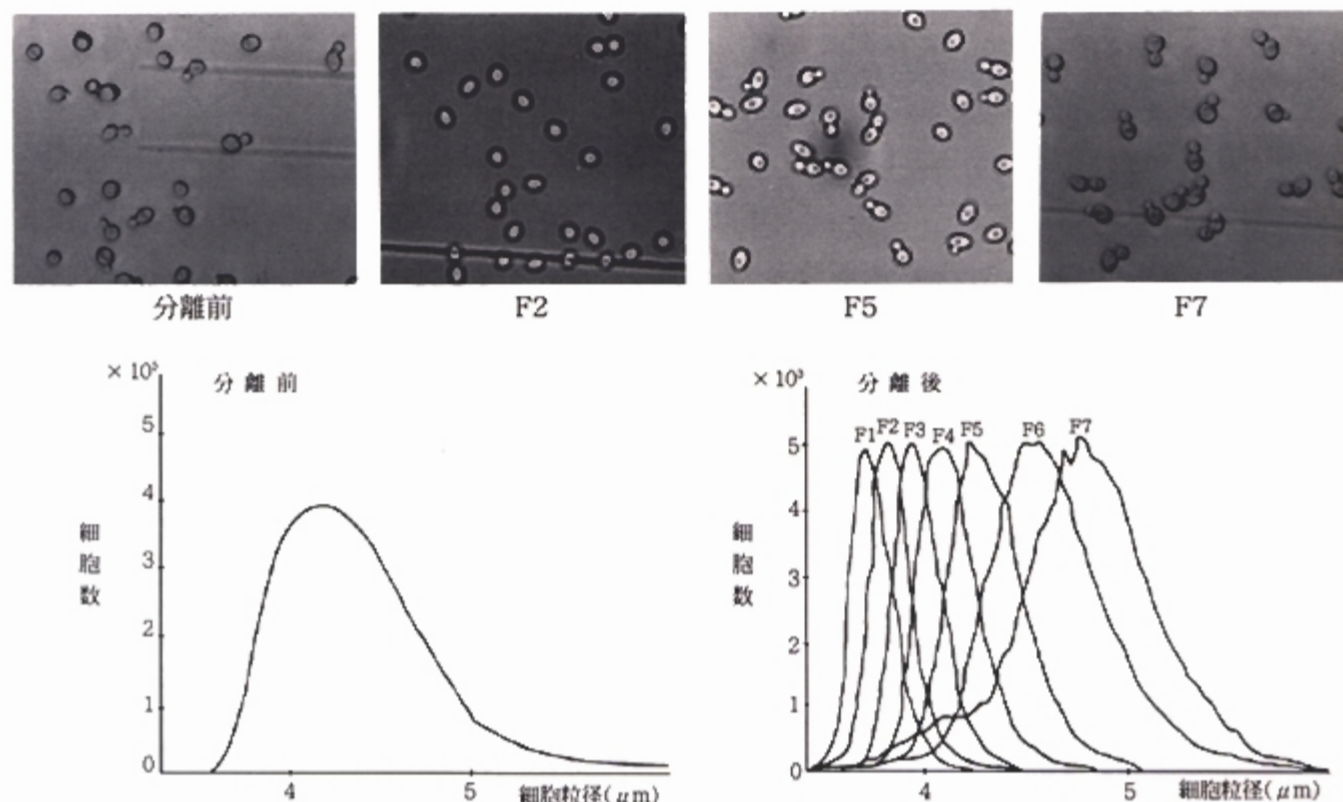


図1. 分離前とエルトリエータでの分離後の酵母細胞の顕微鏡写真と粒径分布の結果

表1. 分離条件と結果の一覧表

フракション	回転数 (rpm)	流量 (mℓ/min)	分画時間 (min)	分画量 (mℓ)	細胞数 ($\times 10^7$)	平均粒径 (μm)
分離前	—	—	—	—	97	4.45
1	3,000	12	8.3	100	1.1	3.57
2	3,000	14	10.7	150	4.4	3.76
3	3,000	16	12.5	200	7.8	3.99
4	3,000	18	11.1	200	10.0	4.21
5	3,000	20	10	200	14.0	4.47
6	3,000	23	8.7	200	12.0	4.84
7	3,000	25	10	250	4.2	5.01
8	0	25	4	100	3.1	4.42
合計	—	—	75.3	1400	56.6	—

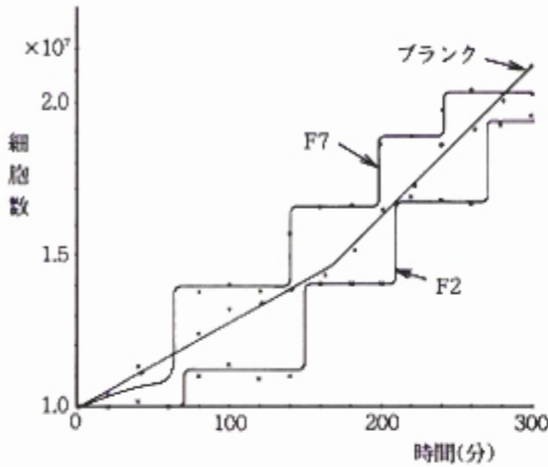


図2. 同調培養の様子

2. 分離方法

- (1) 使用菌種 : *Saccharomyces cerevisiae*
- (2) 細胞数 : 9.7×10^7
- (3) バッファ : 滅菌蒸留水
- (4) 実験手順

保存スラントより1白金耳を前培養用培地10mℓに植え継ぐ

↓
前培養 (30°C, 125rpm, 8hrs)

↓
前培養1mℓを本培養用培地100mℓに植え継ぐ

↓
本培養 (30°C, 125rpm, 16hrs)

↓
細胞を濃縮し、10mℓに調整する

↓
エルトリエータ細胞分離システムによる分離
分離サンプルをサンプルボトルに入れる

↓
表1に示した条件で分離を行う

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) 3504-7211

事業所	北海道 (011) 221-7241	東北 (022) 264-2211	筑波 (0298) 23-7391	首都圏 (03) 3504-7211
	北関東 (048) 653-2341	千葉 (043) 247-4151	西関東 (0426) 43-0080	厚木 (0462) 27-1391
	横浜 (045) 451-5151	新潟 (025) 241-3011	北陸 (0764) 24-3386	豊田 (0565) 28-5191
	中部 (052) 583-5841	京都 (075) 241-1591	関西 (06) 366-2551	岡山 (0864) 25-1316
	中国 (082) 221-4514	四国 (0878) 62-3391	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) 76-7384 (ダイヤルイン)
日立遠心機アンサーセンター 0120-02-4125