

himac APPLICATION

No. 59 APRIL 1994

題目 ネオアングルロータを用いたプラスミドDNAの分離時間の詳細検討

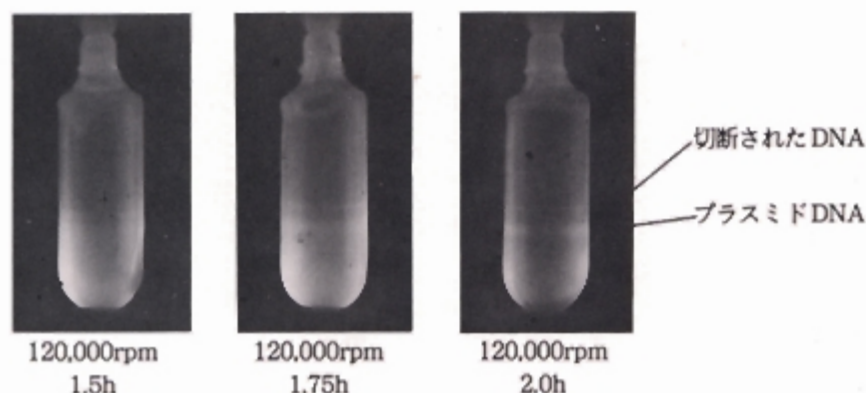
機種 CS120FX 形分離用小形超遠心機
RP120NT ネオアングルロータ

チューブ容量2mlのRP120NTネオアングルロータを用いた均一液法による大腸菌由来プラスミドDNAの最短分離時間の検討

RP120NTネオアングルロータでのプラスミドDNAの分離時間については、すでにアプリケーションNo.46において3時間と報告しています。しかし、ここではさらに短い時間での分離の可能性について検討しました。

その結果、120,000rpm、20℃で2時間の遠心時間で分離できることが認められました。

実験結果



実験条件

(1) 遠心分離条件

| ロータ | 回転数 (rpm) | 遠心時間 (h) | 温度 (°C) | 加速モード | 減速モード |
|--------------------------|-----------|--------------------|---------|-------|-------|
| RP120NT ネオアングル ロータ | 120,000 | 1.5 1.75 2.0 | 20 | 9 | 7 |

(2) 使用チューブ

2PA 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を一夜振盪培養後、アルカリ-SDS法により得られたプラスミドDNAを含むTE溶液(10mM Tris-HCl, 1mM EDTA)を試料としました。
2PA シールチューブ1本あたり

試料: 1.48ml

塩化セシウム: 1.52g

臭化エチジウム (10mg/ml): 50 μ 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): 1~2 μ l

以上を混合し、チューブに注入しました。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した。その後、STF-1形チューブシーラにて溶着し密封しました。

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 北関東 (048) 653-2341 千葉 (043) 247-4151
西関東 (0426) 43-0080 厚木 (0462) 96-6831 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 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