

## 培養管用高速スイングロータによるミトコンドリアの分離

高速冷却遠心機 CR-GⅢシリーズ / R8S 形スイングロータ

高等生物の細胞内におけるエネルギー転換に関するオルガネラとして広く知られている「ミトコンドリア」の遠心分離法は 1974 年にノーベル医学生理学賞を受賞したクロードによって確立されました。このようにミトコンドリアの分離は古くから行われていますが、高速遠心時にはシェル付きのスイングロータが必要でした。スイングロータは、その構造上、概ね  $5,000 \times g$  を超える遠心時にはロータに覆い(シェル)が必要となりますが、シェルを付けることにより“加減速が遅くなる”、“冷えが悪くなる”という問題がありました。今回、シェルなしで  $11,500 \times g$  まで遠心できる、しかも市販の 50ml 用コニカルチューブ(TC チューブ)が使用できる、斬新な形状の“R8S 形高速冷却用スイングロータ”を開発しました。ここではこの新型スイングロータを用いたラット肝ミトコンドリアの分離例を紹介します。

### 内 容

#### 1. 装置等

遠心機 : CR-GⅢシリーズ高速冷却遠心機  
ロータ : R8S 形スイングロータ(4 本架け)  
遠心管 : 50ml 用コニカルチューブ(市販品)

#### 2. 操作手順

10%ラット肝ホモジネート(組織量:10~20g)

↓ 遠心(600 xg (1,800 rpm)、10 分、4°C、加速モード「9」、減速モード「9」)

↓ 上清を新しい 50TC コニカルチューブに移す。

↓ 遠心(5,500 xg (5,600 rpm)、20 分、4°C、加速モード「9」、減速モード「9」)

↓ 上清を除去するが、デカンテーションの際に遠心管を軽く2度ほど振って、沈殿上部の赤褐色リソソーム画分を流し出すようにする。残ったミトコンドリアの黄褐色の沈殿に0.25M ショ糖液を適当量加え再懸濁する。

↓ 遠心(6,000 xg (5,800 rpm)、15 分、4°C、加速モード「9」、減速モード「9」)

↓ この操作を繰り返すほど純度は上がるが、活性も落ちるので通常、2度ほどで十分である。

↓ 遠心(6,000 xg (5,800 rpm)、15 分、4°C、加速モード「9」、減速モード「9」)

↓ 沈殿:ミトコンドリア画分

この方法で得たミトコンドリアはラット肝1gあたり 15~30 mg のタンパク量に相当するという。

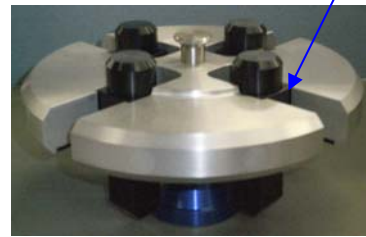
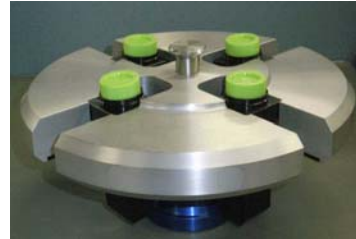
参考:UP biology 「ミトコンドリア」(東京大学出版会、1978 年発行)

## 装置

シエルなしで 5,000×g 以上遠心可能!



CR22GⅢ形高速冷却遠心機



シールドバケット

R8S 形スイングロータ

本資料に関するお問い合わせは日立工機(株)ライフサイエンス機器事業部のホームページ (<https://ccs.hitachi-koki.co.jp/cgi-bin/himac/contactus/toiawase.cgi>) からお願いいたします。

【製造・販売・保守】

 **日立工機株式会社**

日立遠心機お客様相談センター

 **0120-024125**

受付時間 9:00~12:00 / 13:00~17:00 (土・日・祝日・弊社休業日除く)

 <http://www.hitachi-koki.co.jp/himac/>

医療機器製造販売業許可08B3X00002

勝田工場 〒312-8502 茨城県ひたちなか市武田1060

首都圏地区 (甲種綜合む)	東京都渋谷区千駄ヶ谷五丁目8-2 (イワオアネックスビル)	03-3226-7713
北海道地区	北海道札幌市中央区北三条西四丁目1-1 (日本生命札幌ビル)	011-232-7713
東北地区	宮城県仙台市若林区御町東三丁目3-36	022-288-0435
中部地区	愛知県名古屋市中区栄三丁目7-13 (コスモ栄ビル)	052-262-8221
関西地区 (中區・西區・京都含む)	大阪府大阪市北区梅田二丁目6-20 (スノークリスタルビル)	06-6344-4125
九州地区	福岡県福岡市東区松島四丁目8-5	092-622-4025