

himac APPLICATION

October 2000

新型小形超遠心機での 5ml 用シングロータによる SRSV の分離

CS150GXL 形小形超遠心機、S52ST 形シングロータ

従来比 2.3 倍量のシングロータによる SRSV (小型球形ウイルス) の分離例

これまで小型球形ウイルス (SRSV) などの比較的小さなウイルスの分離には大形の超遠心機とそのシングロータが用いられていました。しかしこのたび、シングロータでは大形超遠心機にのみ使用可能であった 5ml チューブが使える小形超遠心機用シングロータ S52ST と、このシングロータが使用できる新型小形超遠心機 CS150GXL が開発されました。そこでここでは、ヒト糞便中の小型球形ウイルス (SRSV) を電子顕微鏡法により検査する際の遠心分離条件について示しました。

このような密度液 (クッション液) を用いた分離にはシングロータが最適です。このため、ここでの分離条件は、この他のウイルスの場合にも応用が可能です。

1. 使用機種

遠心機：日立 CS150GXL 形分離用小形超遠心機

ロータ：S52ST 形シングロータ

(最高回転数 52,000rpm、最大遠心加速度 276,000xg、5ml × 4 本)

チューブ：5PA チューブ

2. 分離条件

回転数：38,000rpm

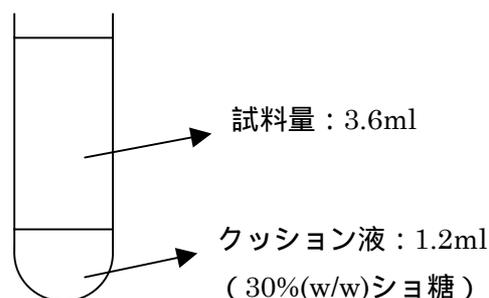
最大遠心加速度：147,000xg (平均遠心加速度：105,000xg)

時間：3 時間

温度：4

加速：「 5 」

減速：「 7 」



3. 操作手順

患者の糞便(約1g)を15mlのポリプロピレン製遠心チューブに入れる。

9mlの蒸留水を加え10%懸濁液を作成する。

4,000xg(微量高速遠心機用アングルロータで6,000~7,000rpm) 30分、4で遠心する。

上清を新しい遠心チューブに移し、等量のフルオロカーボン(HCFC141b)を加え2分間攪拌する。

2,000xg(微量高速遠心機用アングルロータで3,500~4,000rpm) 30分、4で遠心する。

上清を超遠心用試料とする。(凍結保存可)

4. 超遠心後の処理

超遠心後のチューブをロータから取りだし、褐色の上清および30%ショ糖液をパスツールピペットで除去する。

チューブ内壁に付着している液をキムワイプでコヨリを作り吸い取る。(この時、沈殿には触れないように注意する。)

36μlの純水を加える。

加えた純水が沈殿を覆っていることを確認し、遠心チューブにパラフィルムなどで蓋をして一夜、4で保持する。

振とう装置で約30分振とうする。

1.5mlマイクロチューブに全量を移す。

15,000rpm、30分、4で遠心する。

1~2μlの上清を取り、陰性染色して透過型電子顕微鏡で観察する。

これらの手順は国立感染症研究所ウイルス2部 宇田川悦子先生よりご提供いただいたプロトコールをもとに作成しました。

なお、本資料に関するお問い合わせは、日立工機(株)精機事業グループ営業部(Tel 03-3504-7717)までお願いいたします。

日製産業株式会社

本社 〒105-8717 東京都港区西新橋一丁目24番14号
科学システム営業本部 電話(03)3504-7211(ダイヤルイン)

事業所

北海道(011)221-7241	新潟(025)241-3011	関西(06)6366-2551
東北(022)264-2211	北陸(0762)63-3480	中国(082)221-4514
筑波(0298)23-7391	中部(052)583-5841	四国(0878)-62-3391
横浜(045)451-5151	京都(075)241-1591	九州(092)721-3501

日立工機株式会社

本社工場 〒312-8502 茨城県ひたちなか市武田 1060 番地 電話(029)276-7384(ダイヤルイン)

インターネット <http://www.hitachi-koki.co.jp/himac>
最新情報にアクセスして下さい。

日立遠心機お客様相談センター(フリーダイヤル)0120-02-4125