

himac APPLICATION

小形超遠心機によるロタウイルスの分離

CS-GX シリーズ小形超遠心機、S80AT3 形アングルロータ

従来の半分以下の時間（1.5 時間）でロタウイルスを分離した例

従来、ロタウイルスなどの比較的小さいウイルスの分離には大形の超遠心機とスイングロータが用いられており、一般に **4 時間以上** の長時間にわたる遠心分離が行われていました。ここでは、特にウイルスおよびオルガネラの分画遠心用に開発された、S80AT3 形アングルロータを用いて、小型球形ウイルスの迅速分離について検討しました。

その結果、従来の半分以下の **1.5 時間** で分離できることがわかりました。

分離結果(電子顕微鏡写真：日立 H-7000 使用)



遠心機：CS150GX 形小形超遠心機

ロータ：S80AT3 形アングルロータ

チューブ：6PC アツチューブ

回転数：45,000rpm

時間：1.5 時間

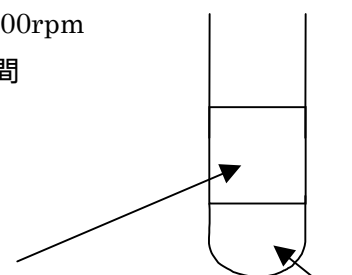
温度：4

加速：「5」

減速：「7」

試料量：3ml

クッション液（30%(w/w)シヨ糖）：2ml



操作手順

1. 検査材料の前処理方法

患者の糞便（約 1 g）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）

2. 超遠心分離の条件

前ページの電子顕微鏡写真の右側参照

3. 超遠心後の処理

超遠心後のチューブをロータから取り出し、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。)

30 μ l の純水を加え、パラフィルムなどでチューブにフタをする。

加えた純水が沈殿に触れるような傾斜状態で遠心チューブを一夜、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。

1~2 μ l 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。

電子顕微鏡写真を含め、これらの結果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きました。

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までお願い致します。

(日製産業(株)内 03-3504-7717)

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