

小形超遠心機用ロータによるインフルエンザウイルスの分離例

卓上型小形超遠心機 CS150NX / S50A 形アングルロータ

インフルエンザウイルスはオルソミクソウイルスに分類され、一本鎖 RNA をゲノムとし、血清型によって A 型、B 型、C 型の 3 種類があり、その直径は 80~120nm でほぼ球状であることが知られています。特に近年、強毒性の鳥インフルエンザウイルスの出現により、インフルエンザ・パンデミックが危惧されています。ここでは新型小形超遠心機用として新たに開発された、このクラスの遠心機用ロータとしては世界最大量のロータであります S50A 形アングルロータを用いた場合のインフルエンザウイルスの分離例を紹介します。

内 容

1. 装置等

遠心機 : CS150NX 形分離用小形超遠心機

ロータ : S50A 形アングルロータ(6 本架け)

遠心管 : 25PC アツチューブ(実容量:19.8ml)、キャップレス

2. 操作手順

ウイルス感染尿膜腔液あるいは感染細胞培養液を 6,000rpm、20 分遠心し、宿主由来の粗大夾雑物を除く。



上清を 25PC アツチューブに移す。(チューブ 1 本あたり 19ml)



S50A 形アングルロータで遠心(32,000rpm、45 分、4°C、Acc.:9、Dec.:7)

上清を除き、沈さに 3mM CaCl_2 を含むペロナール緩衝液 1.5ml を加え再浮遊する。(ウイルス凝集塊の形成を最小限に食い止めるには沈さに少量の緩衝液を加え、4°C で一夜放置した後、ピペッティングを行う。)



この濃縮ウイルス液を 25PC アツチューブに予め作成した、チューブ 1 本当たり 17ml の 10~40%(w/v) ショ糖連続密度勾配液上に重層する。



S50A 形アングルロータで遠心(32,000rpm、45 分、4°C、Acc.:5、Dec.:7)

遠心チューブの中央やや上の位置に白色の層を形成する。暗所で細い光を遠心チューブの外側から当てればウイルス層は容易に観察することができる。ウイルス層はできるだけ少量(2ml 程度以内)の液量として回収する。



分画したウイルス液を更に緩衝液で 1.5 倍程度に希釈して(希釈後の液量約 3ml)、25PC アツチューブに予め作成した、チューブ 1 本当たり 15ml の 30~60%(w/v) ショ糖連続密度勾配液上に重層する。

↓
S50A 形アングルロータで遠心 (32,000rpm、3 時間、4℃、Acc.: 5、Dec.: 7)

形成したウイルス層を回収し、2.5 倍以上の緩衝液で希釈。

↓
S50A 形アングルロータで遠心 (32,000rpm、1 時間、4℃、Acc.: 9、Dec.: 7)

沈さに緩衝液を加え、再浮遊する。

参考: ウイルス実験学(各論)(丸善、昭和 57 年発行)

装 置



CS150NX 形小形超遠心機

女性でもロータカバが閉め易いTバーハンドル採用



S50A 形アングルロータ

*本ロータは CS150NX、CS-GX II シリーズ、CS-GXL シリーズ、CS-GX シリーズ でご使用いただけます。

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 (甲信越含む)	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 (中国・四国・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