

第93回麻布獣医学会 一般学術演題 15

一般遠心機を使用してウイルスを精製する

○那須川 忠弥¹, 内山 淳平¹, 田原口 智士¹, 松崎 茂展², 阪口 雅弘¹¹麻布大学微生物学第一研究室、²高知大学

【背景】

ウイルス構造解析、Virome解析など高度なウイルス研究には、ウイルス精製は必要不可欠である。ウイルスの精製では、塩化セシウム (CsCl) 密度勾配超遠心法によるウイルス精製が、広く使用される。しかしながら、高い加速度によりウイルスが破壊される場合は少なくない。

【目的】

一般遠心機を使用して、低い加速度でのCsCl密度勾配法によるウイルス精製を検討した。

【材料と方法】

ブドウ球菌ファージS13¹、腸球菌ファージφEF24C、鶏アデノウイルスJM1/1株を使用した。ウイルスを培養後、ウイルスを濃縮した。濃縮ウイルス液をCsCl密度勾配液上 ($\rho=1.7, 1.5, 1.3$) に重層させ、4℃で遠心を行った。遠心には、超遠心機 (Hitachi Koki, Tokyo, Japan) および一般遠心機 (Kokusan, Saitama, Japan) を使用した。精製ウイルスの評価には、精製ウイルスの濃度測定、透過型電子顕微鏡による粒子の観察、SDS-PAGEによるタンパク質の分離解析を行った。

【結果・考察】

はじめに、一般遠心機を使用した条件 ($40,000 \times g$ or $30,000 \times g$, 2h or 4h) および超遠心機を使用した条件 ($100,000 \times g$, 1h) でファージを精製し、分離ウイルスの精製度の評価を行った。ウイルス濃度測定の結果、一般遠心機を使用した2つの条件 ($40,000 \times g$, 2h; $30,000 \times g$, 4h) は、超遠心機を使用した条件と同等のウイルス濃度を示した。また、透過型電子顕

微鏡による粒子の観察やSDS-PAGEによるタンパク質の分離解析でも、一般遠心機を利用した上記2つの条件は、超遠心機を使用した条件と同等の結果を示した。次に、アデノウイルスを使用し、本ウイルス精製法の実施性を検討した。一般遠心機 ($40,000 \times g$, 2h) を使用した場合でもアデノウイルスの精製が可能であった。

以上より、低い加速度でもCsCl密度勾配遠心法は、ウイルス精製に有効であることが示唆された。

【参考文献】

Nasukawa T, Uchiyama J, Taharaguchi S, Ota S, Ujihara T, Matsuzaki S, Murakami H, Mizukami K, Sakaguchi M (2017) Virus purification by CsCl density gradient using general centrifugation. Arch Virol 162: 3523-3528.

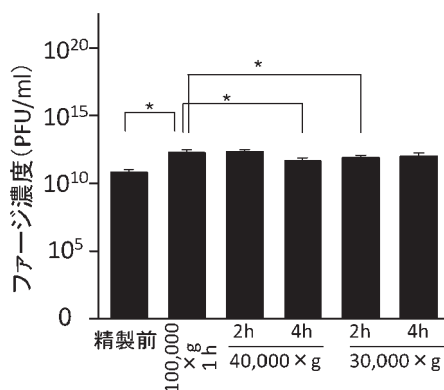


Fig1. 精製後のファージ濃度 (φEF24C)