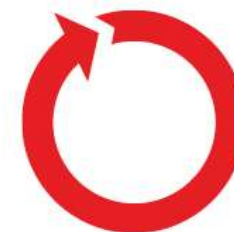




70 YEARS OF
CENTRIFUGATION



機器分析セミナー 超遠心機の安全な取扱いと超遠心機の使い分け

於： 大阪大学大学院 医学系研究科附属共同研究実習センター 様

ベックマン・コールター株式会社
ライフサイエンス事業部 マーケティング本部
遠心機担当 シニアアプリケーションスペシャリスト

村山 宗司

2021.04.19

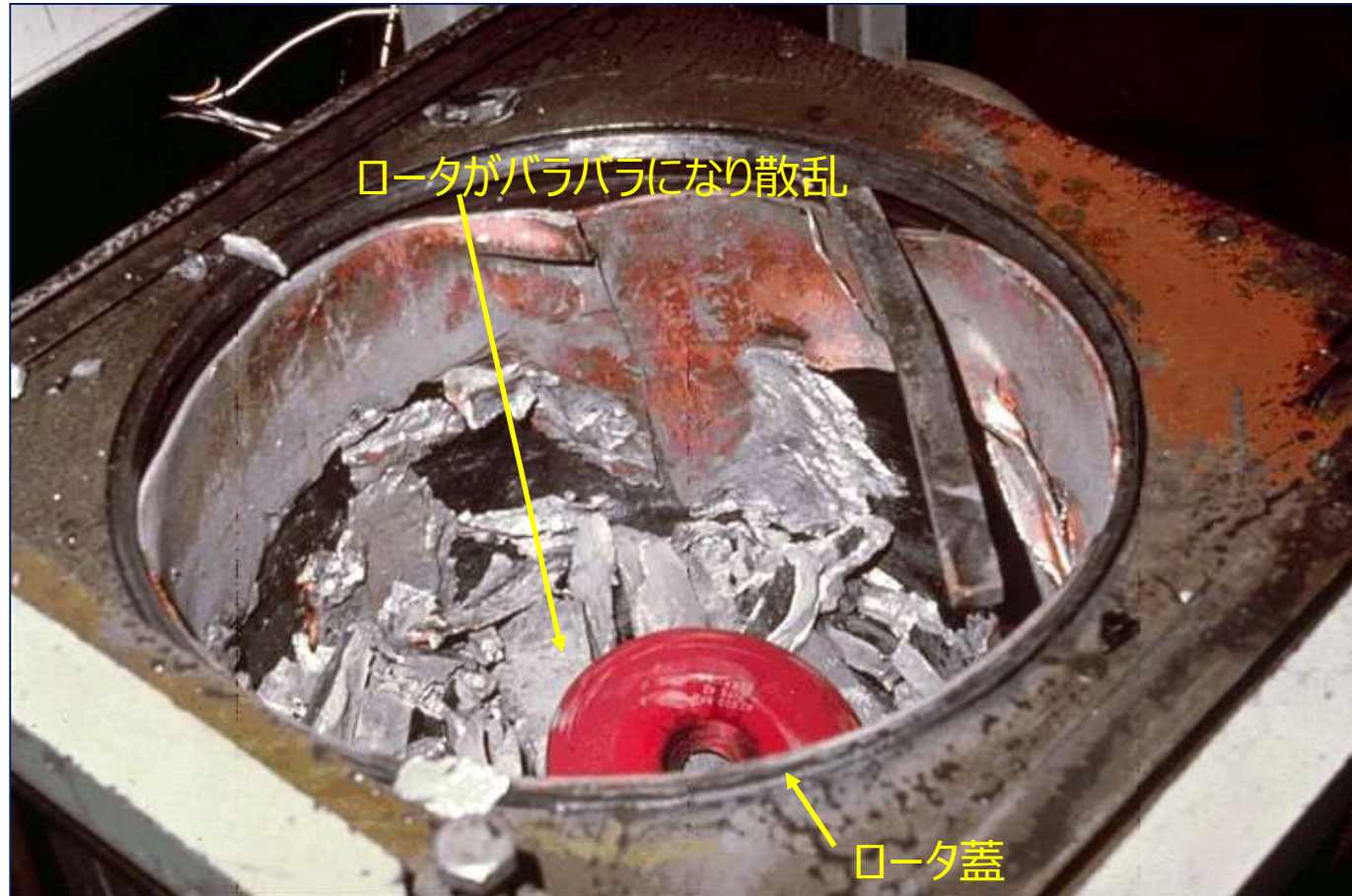
..... Delivering INNOVATIVE and trusted scientific solutions across the globe



超遠心機ならびにロータの安全な取り扱いポイント



□一タ転倒事故例





セミナーの目的

- ベックマン遠心機を安全に使用していただくため
- ベックマン遠心機を永く使用していただくため
- お客様の予算を無駄に使わないため



超遠心機の取り扱い

- 超遠心機の操作は、簡易マニュアルを参照し、ご利用ください。

Optima XPN-100 クイック操作ガイド



- ① ホームページボタン
どの画面からこのボタンを押せばホームに戻ります
- ② メニューボタン
オプション設定、参考資料閲覧などに行くためのボタンです
- ③ ヘルプ機能ボタン
- ④ スピード設定ボタン
- ⑤ 時間設定ボタン
- ⑥ 温度設定ボタン
- ⑦ スタートボタン
- ⑧ バキュームボタン
- ⑨ 加速設定ボタン
- ⑩ 減速設定ボタン
- ⑪ 停止ボタン



使用方法は共同研究実習センターのポスターを確認する

SW 41Ti スウィングローター並びに肉薄オープントップチューブの使用法

●バケットにサンプルチューブをセットするまで

1. 使用前にすべてのバケットおよびローターを確認する

- (1) バケットのフック部分、ローターヘッドのハンガー部、全体に破損や変形がないか
- (2) バケット内にアダプター、スペーサ、チューブの残存がないか
- (3) バケット内にサンプルリーク等の汚れがないか

※ 異常がある場合は絶対に使用せず、共同研担当者まで連絡する



2. バケットの状態を確認する

- (1) バケットキャップがスムーズに締まるか
 - ・バケットキャップのねじ部分が歪んだり壊れていないか
 - ・バケットキャップのねじ部分に汚れがないか
- (2) バケット内の黒色のガスケットが良好な状態か
 - ・ガスケットにヒビや傷などがみられないか
 - ・ガスケットに光沢があるか

※ バケットキャップのねじ部分にはスピコート、ガスケットにはバキュームグリースを塗布してから使用する



3. 肉薄オープントップチューブの容量・バランスを確認する

- (1) サンプルをチューブトップから3 mmの位置まで正確に注入されているか

※ 3mmの位置までサンプルが満たない場合、サンプルを溶解した同一の溶媒もしくはミネラルオイルを重層しメスアップする

※ 奇数本数でサンプルをセットする場合、サンプルの対角の位置にセットするリファレンスは、サンプルと同一の密度の溶媒で作成しバランスをとる

肉薄オープントップチューブ
↑上から2~3 mm



4. 専用工具を使ってバケットキャップのねじをしっかりと閉める

- (1) 6本全てのバケットにバケットキャップをセットしたか
- (2) 専用工具（ヒンジピンツール）を使ってしっかりと閉めたか

※ 必ず6本全てのバケットにバケットキャップを装着する



ヒンジピンツール

●バケットにサンプルチューブをセットしてから

5. バケットをローターにセットする

- (1) ローターヘッドの決められた番号のホールに、同じ番号のバケットを慎重にセットしたか
- (2) バケットの首部分を指でつまんでから、左右に軽く水平方向に移動させて、バケットがスムーズに動くか

※ サンプルチューブが入ってなくても必ず6本全てのバケットをローターにセットする



6. ローターを超速心機にセットする

- (1) ローターピンと超速心機のスピンドルピンの位置を確認したか
- (2) これらが接触しないように十字の位置となるように予め位置決めをしたか
- (3) バケットに手が触れないように両手で慎重にローターヘッドを持ち上げているか
- (4) 超速心機のスピンドルの真上から静かにローターを下ろし設置できたか



7. 設置後のローターの動作を確認する

- (1) 軽くローターを手で回し、バケットが均等でスムーズな動きをしているか

※ スピンドルに負荷がかからないように、絶対に強くローターを回転させない





正しいロータの取り扱いとは

1. サンプルバランスを正しくとる
2. サンプル密度を考慮して使用する
3. チューブ、アダプタ、ツールを正しく使う
4. ロータ本体、フタ、バケットを正しくセットする
5. 適切にメンテナンスされているロータを使う



1. サンプルバランスを正しくとる

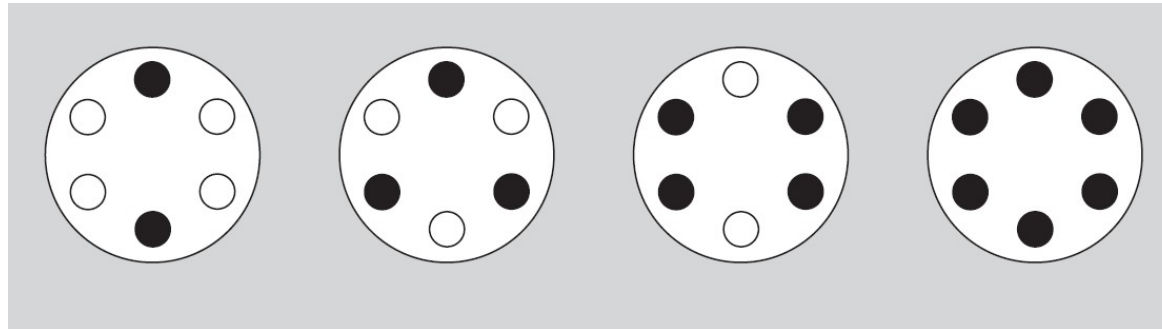
- ローターの対角位置のサンプルは、
① 同じ比重でかつ、② 少なくとも目分量で同じ量
であることを確認する
(設置施設の基準がある場合はそれに従う)
- ローターの対角位置のバランス許容量を確認する
- チューブやボトルの種類毎に異なる最大ならびに最小処理容量
を確認する





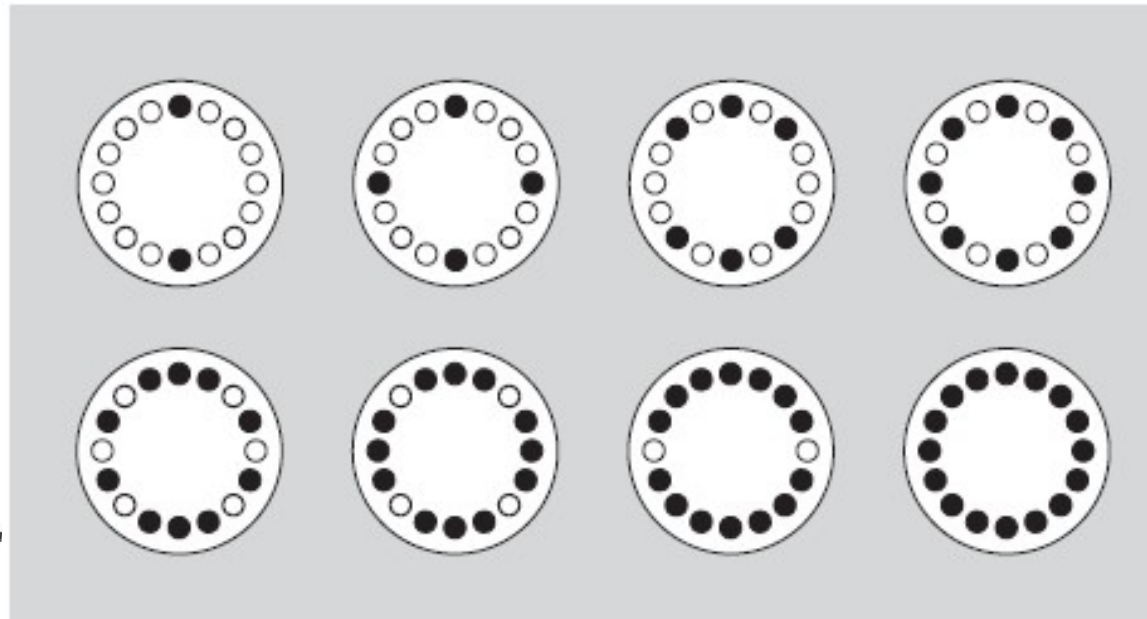
1. サンプルバランスを正しくとる (ローター対角位置)

6本がけローターのサンプル位置



● サンプル

12本がけローターのサンプル位置





1. サンプルバランスを正しくとる（チューブの液量）

チューブの液量とシールについて			
チューブまたはボトル	水平ロータ	固定角ロータ	垂直/近垂直ロータ
ポリアロマー（PA）			
肉薄（オープントップ）チューブ	トップから2～3mmまで、キャップ不要	フル容量、キャップ必要	-
肉厚（オープントップ）チューブ	フル容量の1/2以上、キャップ不要	フル容量の1/2以上、キャップなし、キャップありどちらも可能	-
クイックシールチューブ	フル容量、熱シール必要	フル容量、熱シール必要	フル容量、熱シール必要
オブチシールチューブ	フル容量、プラグでシール必要	フル容量、プラグでシール必要	フル容量、プラグでシール必要
コニカル・クイックシールチューブ	フル容量、熱シール必要	-	-
コニカル・オープントップチューブ	トップから2～3mmまで、キャップ不要	-	-
ウルトラクリアチューブ（UC）			
肉薄（オープントップ）チューブ	トップから2～3mmまで、キャップ不要	フル容量、キャップ必要	-
クイックシールチューブ	フル容量、熱シール必要	フル容量、熱シール必要	フル容量、熱シール必要
ポリカーボネイト（PC）			
肉厚（オープントップ）チューブ	フル容量の1/2以上、キャップ不要	フル容量の1/2以上、キャップなし、キャップありどちらも可能	-
ボトル	-	フル容量の約1/2以上（詳細はロータマニュアルを参照）、キャップまたはキャップアッセンブリでシール必要	-
ポリプロピレン（PP）			



1. サンプルバランスを正しくとる（チューブの液量）

肉薄のオープントップチューブ（PAチューブ、UCチューブ）

スウィングロータの場合

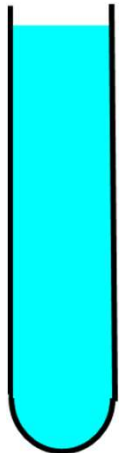
- ・上から2~3mmまで満たします
- ・チューブキャップは必要ありません

固定角ロータの場合

- ・フル容量を満たします
- ・チューブキャップが**必要**です



チューブキャップ



肉厚のオープントップチューブ（肉厚PA、肉厚PCチューブ）

スウィングロータの場合

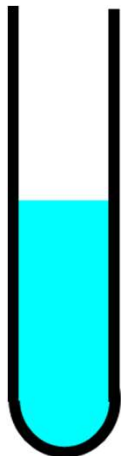
- ・半分量以上で使用可能です
- ・チューブキャップは必要ありません

固定角ロータの場合

- ・半分量以上で使用可能です
- ・チューブキャップは**なくても使用可能**

※ただし、最大液量が変わります

【詳細はロータマニュアルを参照】



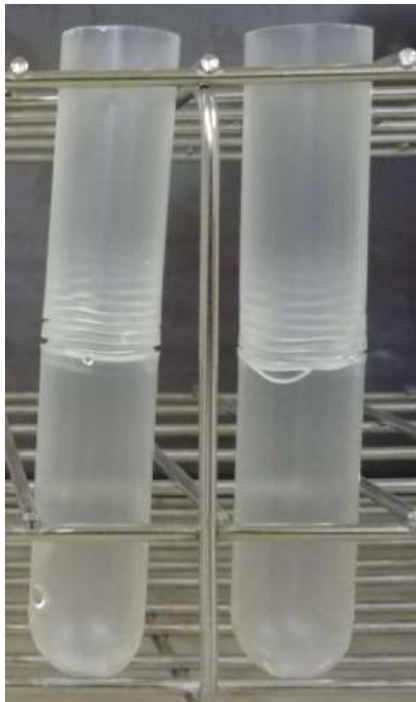


1. サンプルバランスを正しくとる（チューブの液量）

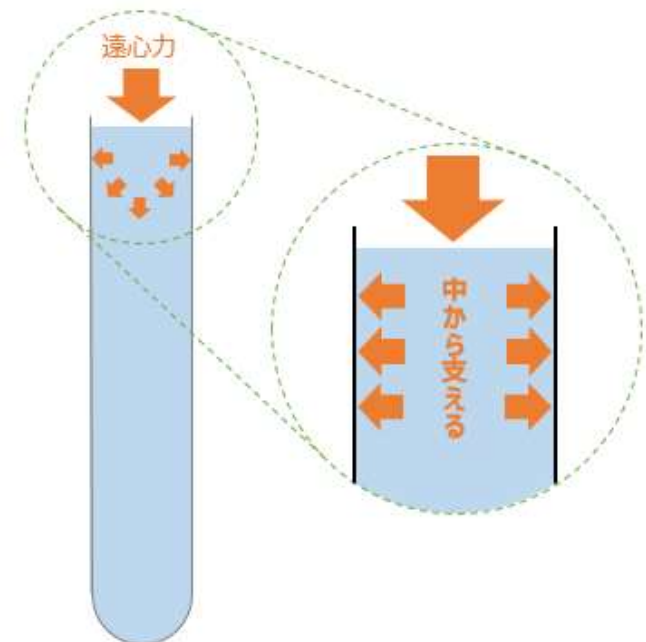
肉薄のオープントップチューブ（PAチューブ、UCチューブ）

スウィングロータの場合、上から2～3mmまで満たします

誤ってスウィングロータで少ない液量で遠心した場合



チューブ中央が
蛇腹状になり破損





2. サンプル密度を考慮して使用する

- フロア型超遠心機 (Optima) 用ローター
 - 固定角ローター / スウィングローター 1.2 g/mL
 - 垂直 / 近垂直ローター 1.7 g/mL
- 卓上型超遠心機 (Optima) 用ローター
 - MLS-50, MLA-50, MLA-55 1.2 g/mL
 - 上記以外のローター 1.7 g/mL

サンプル密度がローターの許容回転数を超えていた場合、下式で許容最高回転数を算出する

$$\text{ローターの最高回転数} \times \sqrt{\frac{1.2 \text{ g/mL}}{\rho}}$$

$$\text{ローターの最高回転数} \times \sqrt{\frac{1.7 \text{ g/mL}}{\rho}}$$



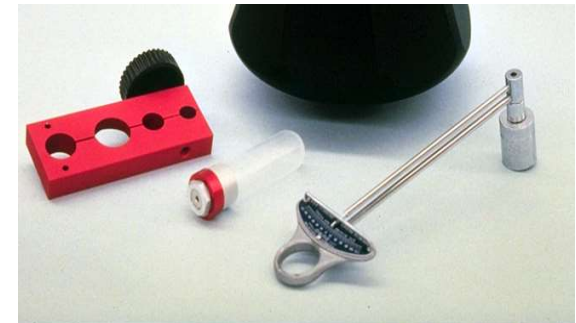
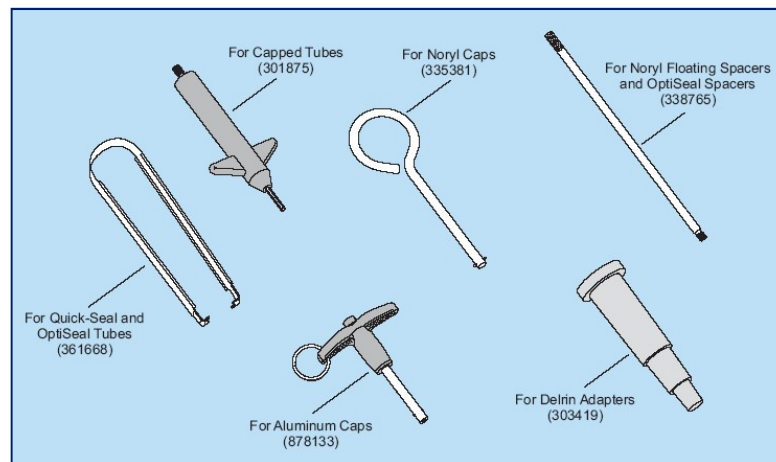
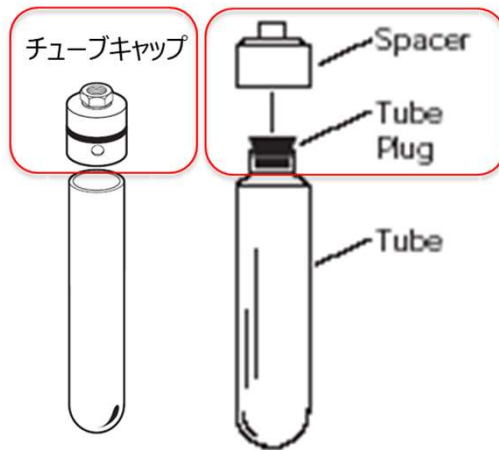
3. チューブ、アダプタ、ツールを正しく使う（使用前確認）

ローターを使用する前に、アクセサリ、工具類がそろっているかを必ず確認する

チューブアクセサリ

引き抜き工具

チューブキャップ締め込み工具





4. ロータ本体、フタ、バケットを正しくセットする（使用前確認）

ロータを使用する前に、ロータ、バケット、部品に破損がないかを必ず確認する



ロータ

バケットフックが破損していないか

バケット

- ・サンプル漏れがないか
- ・アダプタ、チューブが残っていないか
- ・ガスケットが破損していないか



4. ロータ本体、フタ、バケットを正しくセットする（使用前確認）

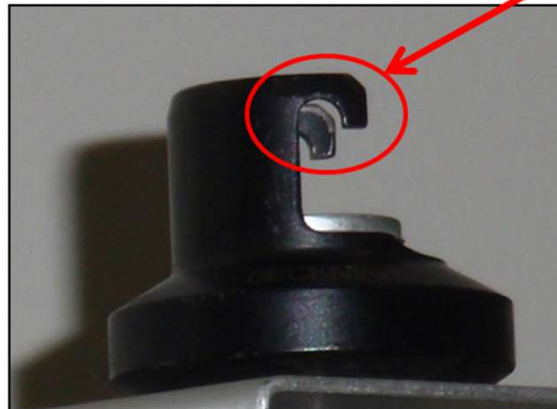
ローターを使用する前に、ローターに破損がないかを必ず確認する

SW 41 Ti など

水平になっているか？



摩耗、曲りはないか？





4. ロータ本体、フタ、バケットを正しくセットする

専用工具を使ってバケットキャップのねじをしっかりと閉める

- 全てのバケットにバケットキャップをセットし、
専用工具（ヒンジピンツール）を使って、しっかりと閉める



ヒンジピンツール



4. ロータ本体、フタ、バケットを正しくセットする

バケットをロータにセットする

- ・ ロータヘッドに決められた番号のホールに、同じ番号のバケットを慎重にセットします
- ・ バケットが正しくセットされたかを確認する



サンプルチューブが入ってなくても
すべてのバケットをセットする



ロータにバケットが正しくセットされたか
確認する

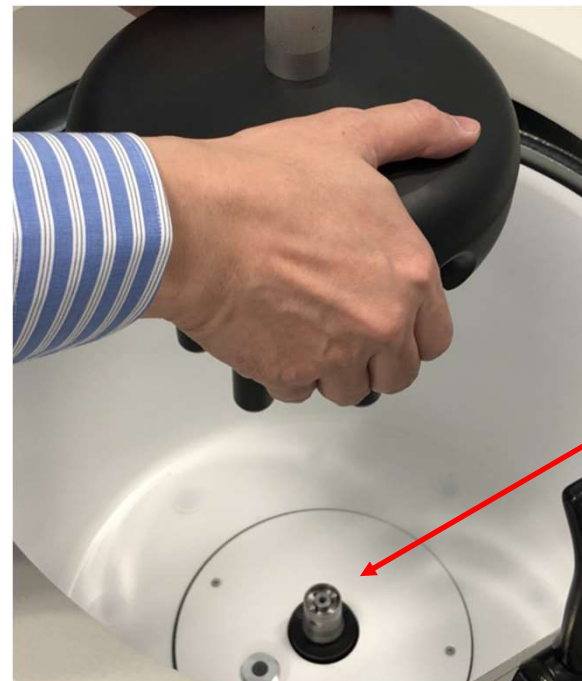


4. ロータ本体、フタ、バケットを正しくセットする

ロータを超遠心機にセットする

- ロータピンと超遠心機のスピンドルピンの位置を確認する
- 両手で慎重にロータヘッドを持ち上げ、超遠心機のスピンドルの真上から静かにロータを下ろし 設置する

ロータピンの位置



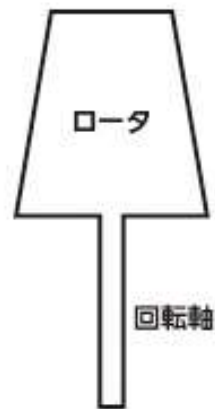
スピンドル



遠心を開始したら、

- いままでの注意点を守ることで、安心して遠心することができます。
- なにか起きるとしたら3,000~5,000 rpmです。
- このため、**最高回転数に達するまでは遠心機の前にはいてください。**

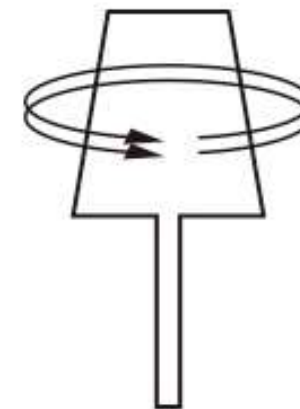
ロータの歳差運動



1. 遠心開始
安定



2. クリティカルポイント
歳差運動が始まる



3. 定常遠心
安定



5. 適切にメンテナンスされているロータを使う

ロータが汚染された時の滅菌方法

- オートクレーブ
ロータの金属部は 121℃ 1 時間以内
※ オートクレーブをかける前にO-リングは外し、
ローターと分けてオートクレーブをかけてください
- コールドメソッド
70% エタノール、6% 過酸化水素水の噴霧
※ 次亜塩素酸ナトリウムのような漂白剤は、
ロータ塗装面を剥がすので使用を避けます



遠心が終了したら、

- スペーサー用引き抜き工具でスペーサーを引き抜く
- 鉗子等でOptisealチューブを引き抜く
- 他の穴にサンプル漏れや、スペーサー、チューブ等がないことを確認する



.....
スペーサーの引き抜き

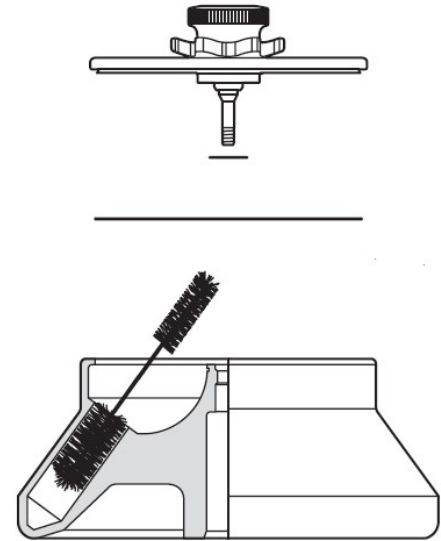


Optisealチューブの引き抜き

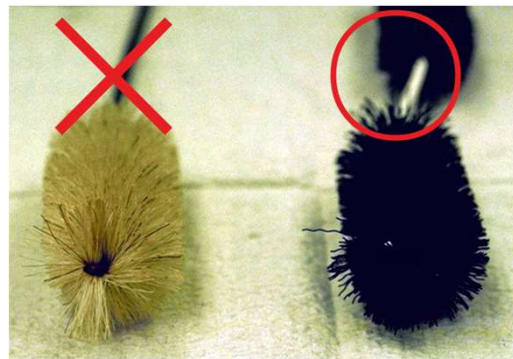


5. 適切にメンテナンスされているロータを使う (ロータ洗浄法)

- 定期的なロータ洗浄 例えば月1回程度
サンプルが漏れた場合は毎回
- 洗浄の前にO-リングをはずす
- 中性洗剤、柔らかなブラシを使用
- 蒸留水で充分すすぎ
- ロータを逆さまにして空気乾燥 (風乾)



ベックマンロータクリーニングキット



適切なローターブラシを選ぶ

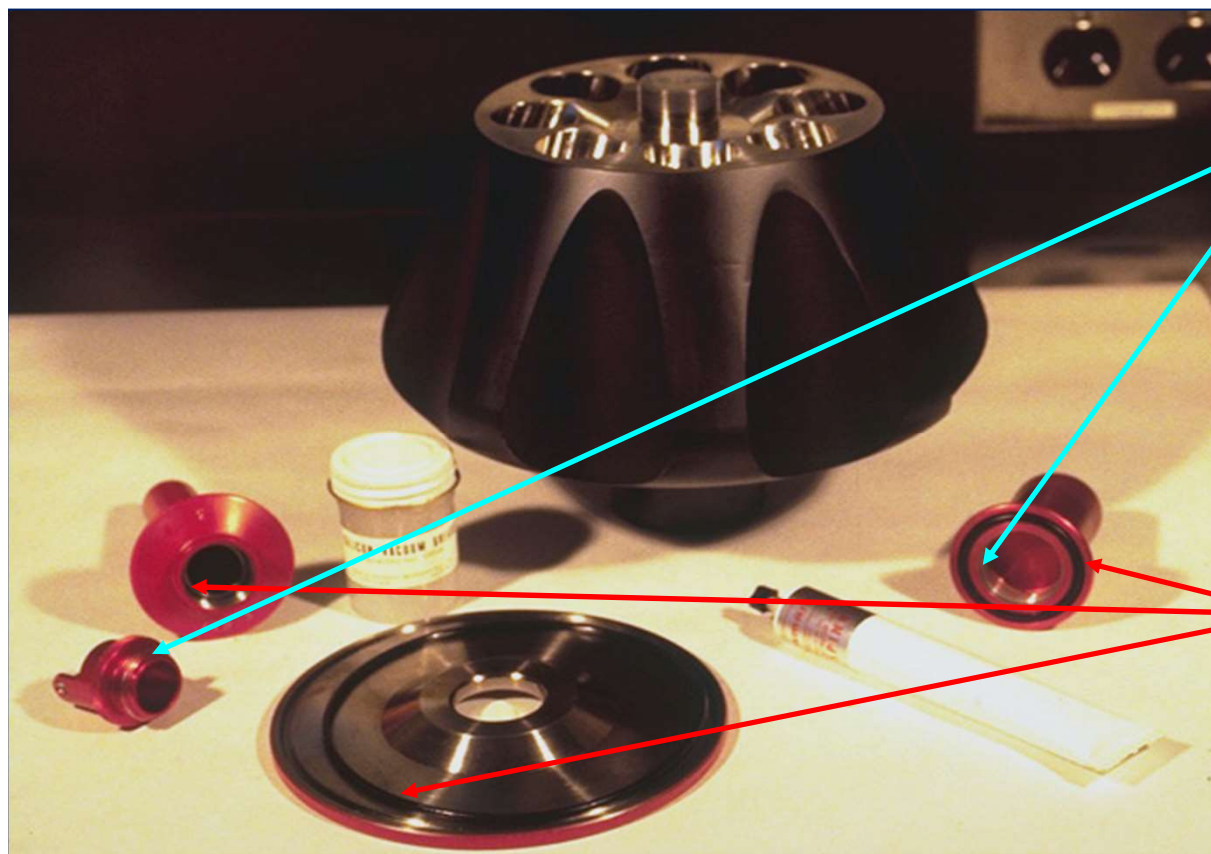


ローターの乾燥



5. 適切にメンテナンスされているロータを使う

ローター乾燥後、各パーツにバキュームグリース&スピコート塗布する



スピコート
ねじ山の保護に使用



バキュームグリース
O-リングの保護に使用





実験目的に応じた超遠心機、ロータの使い分け



共同研に設置の超遠心機



XPN-80
(Beckman Coulter)



L-90K



TLX
(Beckman Coulter)

	タイプ	型式	設置場所	拡散防止措置
1	フロア型	XPN-80 1号機	D91-06	P1
2	フロア型	XPN-80 2号機	D91-06	P1
3	フロア型	L-90K 1号機	D91-06	P1
4	フロア型	L-90K	DX1-06	P2
5	フロア型	XE-90	D91-12	P3
6	卓上型	TLX	D91-06	P1

- ・共同研の超遠心機はフロア型5台、卓上型1台を設置。
- ・フロア型用ロータ：スウィング4、固定角3種類
- ・卓上型用ロータ：スウィング1、固定角6種類
- ・実験に合わせて各拡散防止措置の区分に設置の機器をご利用ください。
- ・チューブ、スペーサ/アダプターをご用意ください。
- ・予約システム対象機器（有償）です。
- ・XPN-80は利用者登録制です。



超遠心機の使い分け

サンプル処理容量



チューブ1本当たり

0.23 ~ 94 mL 0.2 ~ 32.4 mL

大容量

少容量

フロア型



卓上型



ロータの使い分け

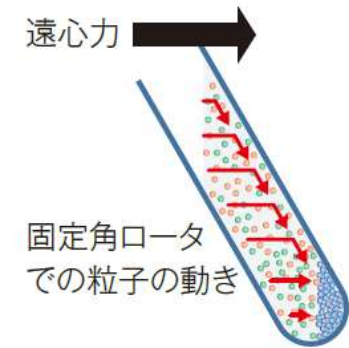
固定角ロータ

- 高い遠心力を使用可能
- 処理容量が多い
- 短時間で分離できる
- 取り扱いがしやすい
- **ペレットが壁面に尾を引くので、
コンタミのリスク高い**



固定角ロータ

スウィングロータ



固定角ロータ
での粒子の動き

スウィングロータでの粒子の動き

スウィングロータ

- 密度勾配でキレイにバンド形成したい
- **コンタミのリスクが低い**
- ペレットの位置がチューブの中心にくる

トップローディング・スウィングロータ

- 取り扱いがしやすい
- 密度勾配でキレイにバンド形成したい
- **コンタミのリスクが低い**
- ペレットの位置がチューブの中心にくる





サンプル容量の変更に伴う遠心条件の設定変更



サンプル容量の変更に伴う遠心条件の設定変更

(例)

SW 32Tiロータで回転数32,000 rpm、遠心時間60分、高さ89 mmのチューブと
SW 41 Tiで回転数41,000 rpm、高さ89 mmのチューブと同一の遠心効果を得るための
遠心時間は何分必要か？

異なるロータ間で同一の遠心効果が得られる遠心条件の計算が必要



Optima XE-90



SW 32 Ti

回転数 32,000 rpm
(k1 : 204)
遠心時間 60分 (t1)



SW 41Ti

回転数 41,000 rpm
(k2 : 124)
遠心時間 ? 分 (t2)

$$t = \frac{k}{S}$$

t : 粒子が液面からチューブの底まで沈降する時間 (hr)

k : ロータのkファクタ

S : 粒子の沈降係数 (粒子によって決まっている沈降速度を示す値)



粒子の沈降時間を計算する

沈降係数とある回転数でのロータのKファクタが分かれば、
粒子の沈降時間を計算することができます

$$t = \frac{k}{S}$$

t : 粒子が液面からチューブの底まで沈降する時間 (hr)

k : ロータの k ファクタ

S : 粒子の沈降係数 (粒子によって決まっている沈降速度を示す値)

例えば、

Type 45 Tiロータを用いて、回転数45,000 rpmで70 Sリボゾームを回収したい場合
Type 45 Tiの回転数45,000 rpmでのKファクタは133なので、



70S リボゾーム



Type 45 Ti
最高遠心力235,000g
最大処理容量 564 mL

$$T \text{ (沈降時間)} = \frac{133 \text{ (Kファクタ)}}{70 \text{ (S)}} = 1.9 \text{ 時間}$$



ロータのKファクタを計算する

Kファクタは、

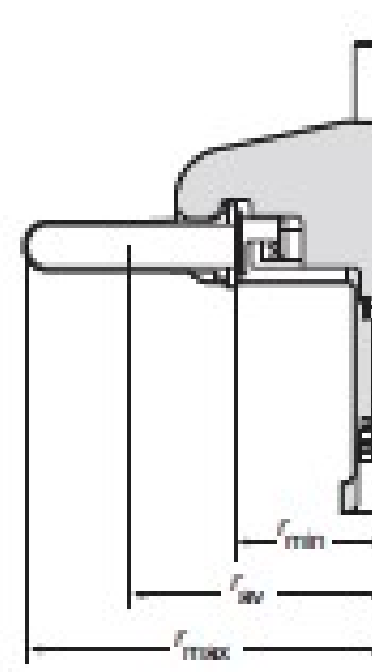
遠心力と粒子の沈降経路長（回転半径）の両方を組み込んだ遠心効率の尺度です
各ロータの回転半径の比に比例し、回転数の2乗に反比例する値です

$$K = \frac{2.53 \times 10^5 \times \ln(r_{\max} / r_{\min})}{(\text{RPM} / 1000)^2}$$

r_{\max} : 最大半径

r_{\min} : 最小半径

RPM : 1 分間あたりの回転数



回転半径 r



異なるロータ間で同一の遠心効果が得られる遠心条件の計算法

K / t の値を比較することで、異なるロータ間で同一の遠心効果が得られる遠心条件を計算することができます

$$\frac{K_1}{t_1} = \frac{K_2}{t_2}$$

- t1 : スケール変更前の遠心時間
- K1 : スケール変更前のロータのkファクタ
- t2 : スケール変更後の遠心時間
- K2 : スケール変更後のロータのkファクタ



SW 32 Ti

(SW 32 Tiでの遠心条件)
回転数 32,000 rpm
(k1 : 204)
遠心時間 60 分 (t1)



SW 41Ti

(SW 41 Tiでの遠心条件)
回転数 41,000 rpm
(k2 : 124)
遠心時間 36 分 (t2)



異なるロータ間で同一の遠心効果が得られる遠心条件の計算法

Intellifuge rotor calculatorを使用すれば、簡単に遠心条件の計算ができます

(Webサイト)

<https://www.beckman.jp/centrifuges/rotors/calculator#tab2>

Intellifuge 遠心条件の変換 カタログ

遠心条件の変換



使い方

1. プロトコルを選択
2. 比較したいプロトコルを選択
3. 「計算する」をクリックして次の画面に進む
4. スライダーを使用して、回転数、遠心力、kファクタを計算します。プロトコルを比較するため、稼働時間を入力します。

構成を設定する



異なるロータ間で同一の遠心効果が得られる遠心条件の計算法

「Run time (min)」に遠心時間を入力し、「Calculate」ボタンを押すと、簡単に遠心時間が求まります

The screenshot displays two side-by-side panels of a centrifuge software interface. Each panel shows rotor specifications, tube configuration, and centrifuge status. The left panel is for a 'Swinging Bucket, SW 32 Ti' rotor, and the right panel is for a 'Swinging Bucket, SW 41 Ti' rotor. Both panels show a 'Run Time (min)' input field and a 'Calculate' button. The left panel shows a run time of 60 minutes, and the right panel shows a calculated run time of 36 minutes. Below the input fields are sliders for 'Rotor Speed (RPM)' and 'g-Force (avg)'. The left panel shows 32,000 RPM and 125,755 g-Force, while the right panel shows 41,000 RPM and 207,570 g-Force. The 'Tube' and 'Centrifuge' status are 'Not Configured' in both panels.

Parameter	Left Panel (SW 32 Ti)	Right Panel (SW 41 Ti)
Rotor	Swinging Bucket, SW 32 Ti	Swinging Bucket, SW 41 Ti
Max RPM	32000	41000
Rmin	66.8	67.4
Rmax	152.5	153.1
Tube	Not Configured	Not Configured
Centrifuge	Not Configured	Not Configured
Run Time (min)	60	36
Rotor Speed (RPM)	32,000	41,000
g-Force (avg)	125,755	207,570



ベックマン・コールター 遠心機websiteのご紹介

Intellifuge

<https://www.beckman.jp/centrifuges/rotors/calculator#tab2>



遠心機・ロータカタログ

<https://www.beckman.jp/centrifuges>

Home > 遠心機 (遠心分離機)

遠心機 (遠心分離機)

1947年以降、ベックマン・コールターは世界中のラボ・病院・大学に遠心機 (遠心分離機) を提供し続けています。革新的な遠心分離技術はライフサイエンス・バイオテクノロジー・製薬・臨床診断・学術・産業分野など、幅広いお客様にご利用いただいています。

当社の遠心機製品は、小型遠心機や多機能な卓上型遠心機、フロア型遠心機、分析用超遠心機 (AUC) など、幅広く取り揃えております。また、遠心機用ロータはお客様独自の要望にもお応え出来るよう、どのようなサンプル量や遠心力、回転数にも対応可能な幅広いラインナップをご用意しております。さらに、研究に必要な耐久性のある素材で作られたチューブ、ボトル、ライナーなどの消耗品も提供しています。



..... Delivering INNOVATIVE and trusted scientific solutions across the globe





ご清聴ありがとうございました。