

使用条件：

ディスラプター・ジェニー（MS 機器）、Bead Smash 12（和光純薬）を用いることを推奨する。

往復型の破碎機は使用禁止。8 の字型のものであれば要検討。

もし、上記破碎機器を使用する場合は、機器推奨のチューブにビーズを入れ替えて使用することを推奨する。

理由： 5mm の大きなジルコニアビーズが入っているため、往復型の破碎機では破碎容器を破壊する可能性がある。

基本プロトコール

1. EZ-Beads に溶解 Buffer 200 μ l と、サンプルを入れる。
2. 時間の目盛りを回し、2～3 分間破碎 （最大 5 分まで）を行う。
* Bead Smash 12（ワケンビーテック）の場合は 2500rpm で 2 分間破碎を行う。

注意）

- #1 1 分以上破碎処理を行う場合は、サンプルを冷却する行程を入れてください。
例えば、1 分破碎 → 1 分氷冷 → 1 分破碎・・・
- #2 DNA 抽出のときは、破碎処理の時間に比例して DNA の裁断が起こる可能性がある。
破碎効率が良い条件を事前に検討が必要。
- #3 溶解 Buffer 量は、100～200 μ l を推奨する。
200 μ l 以上添加した場合は、破碎効率が低下する可能性がある。
- #4 破碎が困難な場合は、破碎処理の前に、90℃で熱処理を行う。



細胞破碎装置：Bead Smash 12（和研薬）



ディスラプター・ジェニー（エムエス機器）

糞便からのDNA抽出の基本プロトコール

使用する Maxwell キット：

Maxwell RSC PureFood GMO & Authentication Kit (カタログ番号 AS1600)

1. 最大 250mg のマウス糞便サンプルを 2ml のサンプルチューブに入れる。
2. 1ml の CTAB Buffer を加え、30 秒のボルテックスにより十分に攪拌する。
3. 95℃、5 分間の加熱処理をヒートブロックにて行う。
4. 常温に 2 分間おいて、サンプルを冷却する。その後、1 分間のボルテックスによりサンプルを完全に攪拌する。
5. 200μl を EZ-Beads に移し、破碎装置 Disruptor Genie にセットし、5 分間の破碎を行う。
6. 40μl の Proteinase K Solution と 20μl の RNase A (RNase A はオプション)を加え、ボルテックスで攪拌する(サンプルは泡立っているが、そのまま進める)。
7. 56℃、10 分間のインキュベーションを行う(大部分の泡は消えている)。
8. 150μl の CTAB Buffer を加え、ボルテックスにより攪拌する。
9. 10,000 rpm で 5 分間の遠心を行い、遠心後の上澄み 約 300μl を Maxwell カートリッジのウエル#1 に加える。
10. 300μl の Lysis Buffer を同じくウエル#1 に加え、ピペティングで攪拌する。

細菌からのRNA抽出の基本プロトコール (ボルテックスを用いた簡易破碎方法)

使用する Maxwell キット：Maxwell RSC SimplyRNA Tissue Kit (カタログ番号 AS1340)

本プロトコールは、単一培養した細菌で実施したプロトコールです。

ボルテックスを用いた簡易破碎では、推奨の破碎機器を用いた場合と比べて破碎効率が低下する可能性があります。特に、複数の細菌、カビが含まれるサンプルの場合は、条件を検討する必要があります。

1. 200μl の Homogenization Solution (1-thioglycerol 入り)を細菌ペットに加え、よく懸濁したのち EZ-Beads に入れる。
2. ボルテックスミクスを用いて、激しく 1 分間攪拌し、1 分間氷冷する。
これを、2 回 (合計 2 分間破碎) 繰り返す。
3. 200μl の Lysis buffer を入れて、15 秒間 攪拌する。
4. ビーズを取らないようにして上清を Maxwell カセットへ加える。
もし、析出物が認められる場合は、12,000g 20 秒遠心を行う。

* EZ-Beads は、RNase の混入が気になる場合は、RNaseOUT など一度洗浄してから使用してもよい。

