



バイオマッシャー I ~ III 技術資料

- 1 バイオマッシャー II 使用例
- 2 バイオマッシャー II を用いた甲虫由来触角からの total RNA 抽出
- 3 バイオマッシャー III を用いた RNA 抽出実験
- 4 バイオマッシャー I, II, III を用いた RNA 抽出効率の比較
- 5 バイオマッシャー I を用いたマウス組織からの RNA 抽出プロトコール
- 6 バイオマッシャー II, III を用いたマウス組織からの RNA 抽出プロトコール



株式会社ニッピ
バイオ・ケミカル事業部

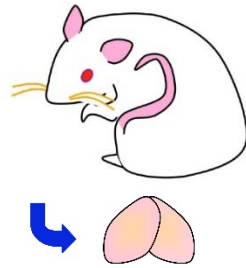
〒120-8601 東京都足立区千住緑町1-1-1

TEL: 03-3888-5184、FAX:03-3888-5136

本資料は、予告なく変更することがあります。ご了承ください。

nippi, incorporated

バイオマッシャーII 使用例



マウス肝臓を採取

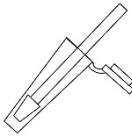
等量 (80mg) の肝臓片を採取



試料がチューブ内で滑る。

試料がチューブ壁に飛び散る。

十分なホモジナイズには
時間と手間が必要。
(試料の劣化進行)



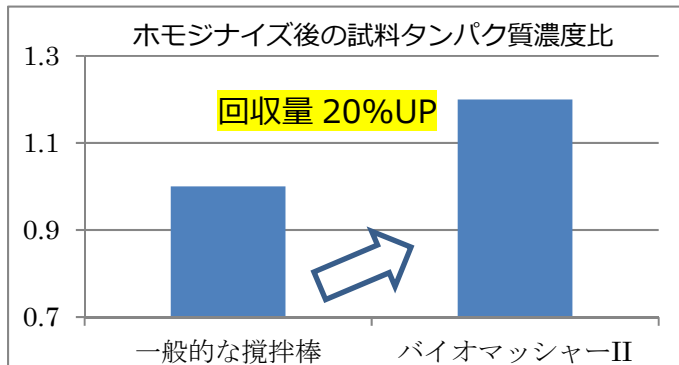
一般的な攪拌棒とチューブ

バッファーを加えて
ホモジナイズ。

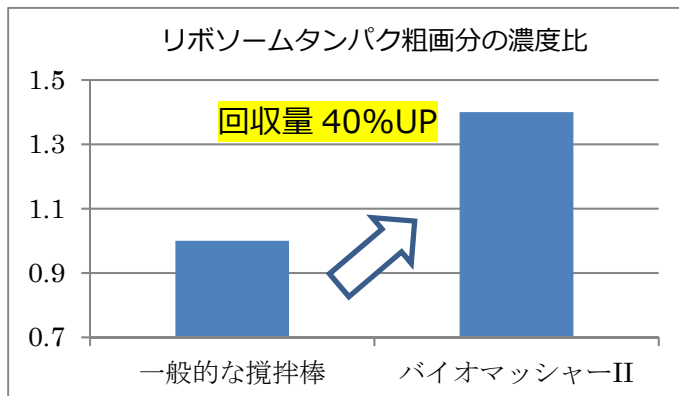


バイオマッシャーII

遠心・回収
(脂質・非破碎画分を除去)



シヨ糖密度勾配超遠心
(リボソーム蛋白質粗画分を回収)



ディンプル加工
破碎棒

マイクロチューブ
内側をディンプル
加工。

攪拌棒とチューブ内壁のディンプル
加工で試料が滑らない。

バッファーの跳ね返り防止機構あり。

十分なホモジナイズが
迅速かつ簡便に完了。
(資料の劣化抑制)



跳ね返り防止

ディンプル加工

(この実験データは一例です)

バイオマッシャーIIを用いた甲虫由来触角からのtotalRNA抽出



株式会社ニッピ
バイオ・ケミカル事業部

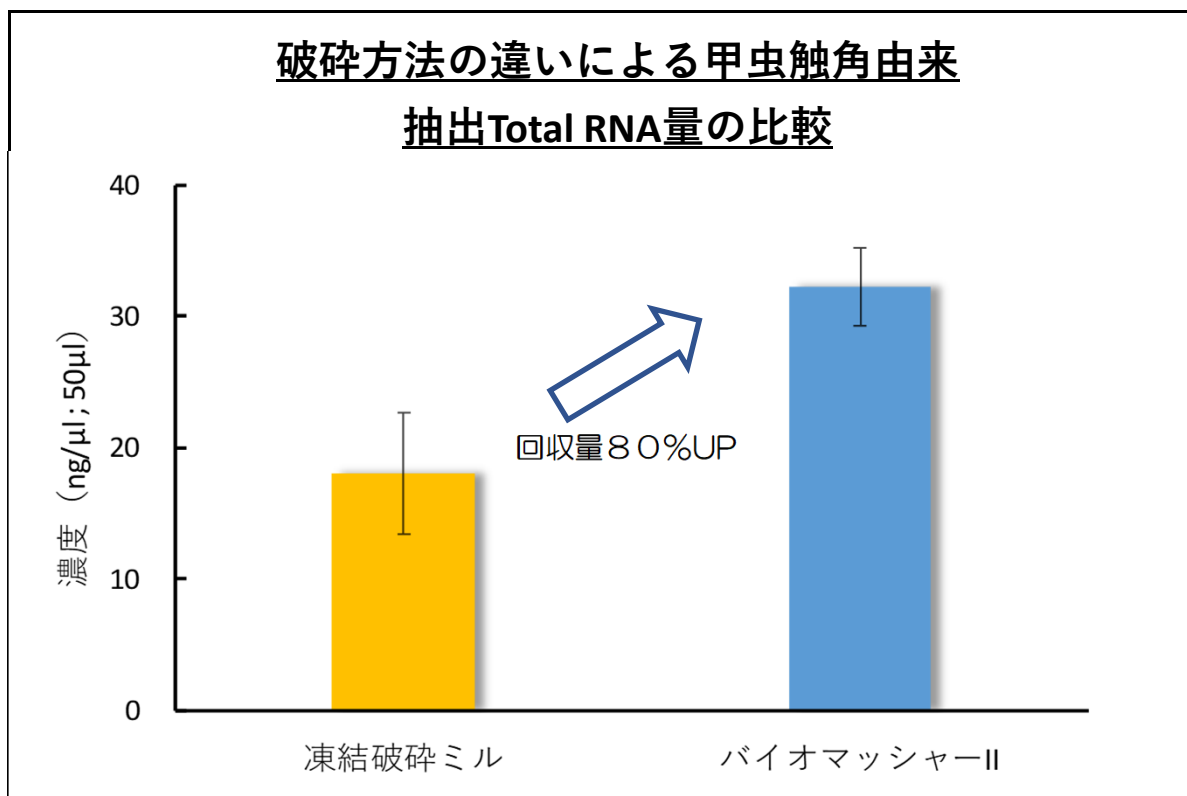
【方法】

バイオマッシャーIIを使用し、羽化直後の甲虫由来触角からRelia Prep核酸精製システム (Promega)を用いてtotal RNAの抽出を行った。

対照はA社製凍結破碎ミルと2 mLチューブを用いてtotal RNAを抽出した。Relia Prepシステムのプロトコルに従い実施し、最後に精製カラムから50 μ lのNuclease-Free Waterにて溶出し、吸光度計にて260 nmの吸光度を測定した。

【結果】

得られた結果をいかにまとめた。



データご提供: 東京農業大学生命科学部 様

バイオマッシャー3を使ったRNA抽出実験



株式会社ニッピ
バイオ・ケミカル事業部

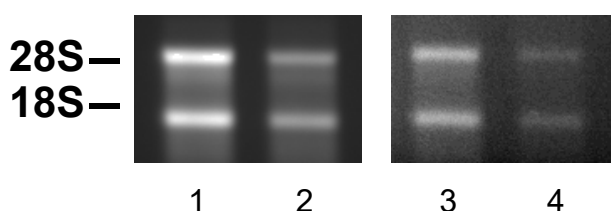
バイオマッシャー3を使用して、RNAlater (Ambion)に保存しているマウスの1.肝臓、2.腎臓、3.心臓、4.骨格筋からTrizol (Life Technologies)を使用してtotal RNAの抽出を行った。
抽出プロトコールは以下の通り。

1. バイオマッシャー3にサンプルを入れ、100uL Trizolで破碎する。
2. 200uL Trizolで、破碎棒を洗浄する。
3. 破碎棒を廃棄して、RT 3min静置する。
4. 12,000rpm30sec遠心後、フィルターチューブを廃棄し、Trizol 700uL加え混和する。
5. クロロフォルム200uLを加え、RT 3min静置する。
6. 8°C、12,000rpm、15min遠心後、上清を新しいチューブに移す。
7. イソプロピルアルコール 500uLを加えてRT 10min静置する。
8. 8°C、12,000rpm、10min遠心後、上清を棄てる。
9. 75% EtOH 1mLを加える。
10. 7,500rpm、5min、8°C遠心後、上清を棄てて5minRTで風乾する。
11. 50uL DEPCを加え、60°C10min溶解する。
12. 260nmの吸光度を測定する。

組織名	サンプル量	mRNA(ug/g; 50ul)	抽出率(mg/mg)	260nm/280nm
1.肝臓	36	948.84	1.32	1.91
2.腎臓	10	931.84	4.66	1.8
3.心臓	35	352.86	0.50	1.81
4.筋肉	50	236.52	0.24	1.66

抽出量、抽出率および260/280について良好な結果が得られた。
(参考抽出率)A社製ペッスル(ディンプル加工無):肝臓0.92、腎臓0.15、心臓0.12、筋肉0.43

1%アガロースゲル電気泳動を行い、28Sと18Sのバンドの確認を行った(RNA 1ug / lane)。



どの組織からも18S、28Sの両方のバンドが確認できた。

本実験データは、一例です。

バイオマッシャーI,II,IIIを用いたRNA抽出効率の比較



株式会社ニッピ
バイオ・ケミカル事業部

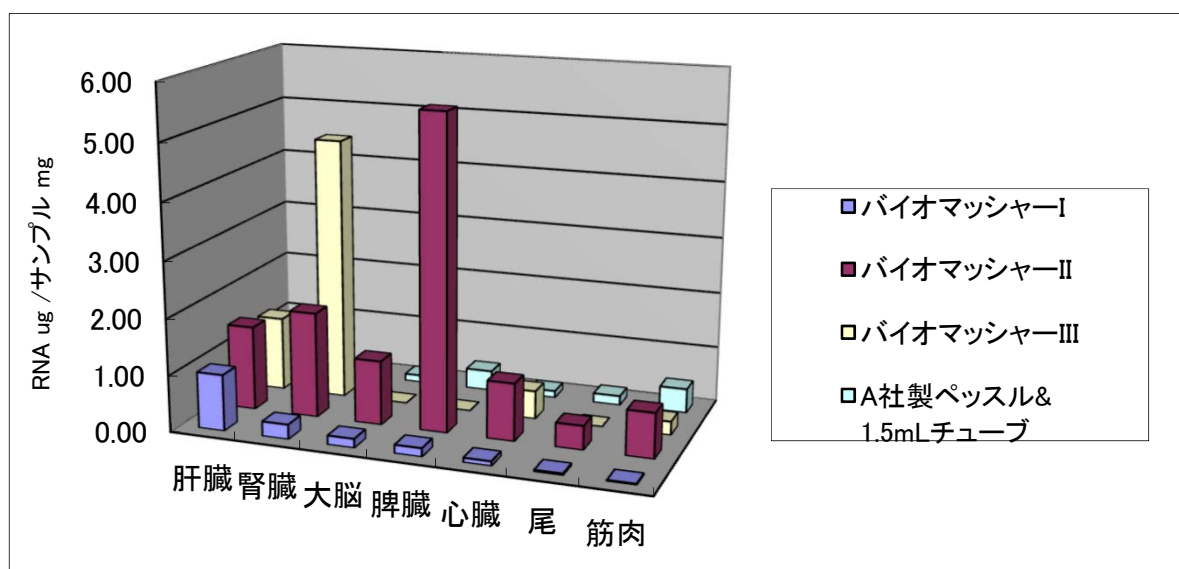
【方法】

マウス (Crj:CD1(ICR): 8週齢以上の週齢不詳リタイヤマウス) の各臓器から、バイオマッシャーI~IIIを用い、別紙プロトコールに従い、RNAを抽出した。
対照は、ディンプル加工のないA社製のペッスルと1.5mLのチューブを用いて、RNAを抽出した。

【結果】

得られた結果を以下にまとめた。

組織	RNA抽出率 (RNA ug/サンプルmg)			
	バイオマッシャーI	バイオマッシャーII	バイオマッシャーIII	A社製ペッスル& 1.5mLチューブ
肝臓	1.00	1.50	1.32	0.92
腎臓	0.26	1.87	4.66	0.15
大脳	0.16	1.14	-	0.12
脾臓	0.15	5.53	-	0.36
心臓	0.08	1.02	0.50	0.12
尾	0.03	0.43	-	0.16
筋肉	0.02	0.80	0.24	0.43



バイオマッシャー I を用いたマウス組織からのRNA抽出プロトコール ～TRIzol (Invitrogen) を使用した場合～



株式会社ニッピ
バイオ・ケミカル事業部

破碎する組織の硬さにより、バイオマッシャー I の破碎棒のOリングの有無を使い分けます。

肝臓、腎臓、大脳、小脳、脾臓（比較的軟らかな組織）

→ Oリング付き破碎棒を使用

1	回収用チューブにフィルターチューブをセットし、フィルターチューブ内に破碎する組織50 - 100mgを入れる。
2	フィルターチューブにOリング付き破碎棒を挿入し、奥まで押し込む。
3	15,000G、30秒の遠心操作を行う。
4	フィルターチューブと破碎棒を棄てる。
5	回収用チューブにTRIzol 1mLを加えボルテックスを行う。

以下、TRIzolのプロトコルに従う。

6	15 - 30°Cで5分間インキュベートする。
7	0.2 mLのクロロフォルムを加え、蓋をした後15秒間手で転倒混和する。
8	15-30°Cで2、3分インキュベートする。
9	2-8°Cで、12,000G、15分間の遠心分離を行う。
10	一番上層のRNA層を新しいチューブに移す。
11	0.5 mLのイソプロピルアルコールを加え、15-30°Cで10分間インキュベートする。
12	2-8°Cで、12,000G、10分間の遠心分離を行う。
13	上清を棄て、75%エタノール1mLを加える。
14	ボルテックスし、2-8°Cで、8,000G、5分間の遠心分離を行う。
15	上清を棄て、5-10分間の風乾を行う。
16	50 μ LのDEPC処理水あるいはTEバッファーを加え、55-60°Cで10分間のインキュベートを行う。

小腸、大腸、肺、尾、筋肉、精のう、胆のう、唾液腺、包皮腺、心臓、血管（比較的硬い組織）

→ Oリング無し破碎棒を使用

1	回収用チューブにフィルターチューブをセットし、フィルターチューブ内に破碎する組織50 - 100mgを入れる。
2	フィルターチューブ内に500 μ LのTRIzolを加え、Oリング無しの破碎棒を挿入する。
3	破碎棒をフィルターチューブのフィルター面に押しつけながら回転させ、組織を破碎する。
4	15,000G、30秒の遠心操作を行う。
5	破碎棒を棄て、フィルターチューブ内に500 μ LのTRIzolを加える。
6	15 - 30°Cで5分間インキュベートする。
7	15,000G、30秒の遠心操作を行う。
8	フィルターチューブを棄てる。
9	回収用チューブの蓋を締めボルテックスを行う。

以下、TRIzolのプロトコルに従う。（上記6～16）

バイオマッシャーⅡ、Ⅲ を用いたマウス組織からのRNA抽出プロトコール ～TRIzol (Invitrogen) を使用した場合～



株式会社ニッピ
バイオ・ケミカル事業部

バイオマッシャーⅡ

1	バイオマッシャーⅡに付属のチューブに破碎する組織50 - 100mgを入れる。
2	500 μ LのTRIzolを加える。
3	破碎棒を挿入し、チューブ側面に組織を押しつけながら組織を破碎する。
4	破碎棒を棄て、500 μ LのTRIzolを加える。
5	ボルテックスを行う。

以下、TRIzolのプロトコールに従う。

6	15 - 30°Cで5分間インキュベートする。
7	0.2 mLのクロロフォルムを加え、蓋をした後15秒間手で転倒混和する。
8	15-30°Cで2、3分インキュベートする。
9	2-8°Cで、12,000G、15分間の遠心分離を行う。
10	一番上層のRNA層を新しいチューブに移す。
11	0.5 mLのイソプロピルアルコールを加え、15-30°Cで10分間インキュベートする。
12	2-8°Cで、12,000G、10分間の遠心分離を行う。
13	上清を棄て、75%エタノール1mLを加える。
14	ボルテックスし、2-8°Cで、8,000G、5分間の遠心分離を行う。
15	上清を棄て、5-10分間の風乾を行う。
16	50 μ LのDEPC処理水あるいはTEバッファーを加え、55-60°Cで10分間のインキュベートを行う。

バイオマッシャーⅢ

1	バイオマッシャーⅢにサンプルを入れ、100uL Trizolで破碎する。
2	200uL Trizolで、破碎棒に付着した組織片をフィルターチューブ内に洗い入れる。
3	破碎棒を廃棄して、室温で3min静置する。
4	RT、12,000rpm、30secの遠心後、Trizol 700uL加える。
5	ボルテックスを行う。

以下、TRIzolのプロトコールに従う。

6	15 - 30°Cで5分間インキュベートする。
7	0.2 mLのクロロフォルムを加え、蓋をした後15秒間手で転倒混和する。
8	15-30°Cで2、3分インキュベートする。
9	2-8°Cで、12,000G、15分間の遠心分離を行う。
10	一番上層のRNA層を新しいチューブに移す。
11	0.5 mLのイソプロピルアルコールを加え、15-30°Cで10分間インキュベートする。
12	2-8°Cで、12,000G、10分間の遠心分離を行う。
13	上清を棄て、75%エタノール1mLを加える。
14	ボルテックスし、2-8°Cで、8,000G、5分間の遠心分離を行う。
15	上清を棄て、5-10分間の風乾を行う。
16	50 μ LのDEPC処理水あるいはTEバッファーを加え、55-60°Cで10分間のインキュベートを行う。