

ビーズ式細胞破碎装置と対照法によるバラのトゲ粉碎の比較

佐賀大学 農学部 谷本研究室

1. 目的

本研究室では、バラのトゲの先端部に特異的に蓄積する蛋白質の解析とその遺伝子の単離を目指している。トゲは非常に硬いために従来は液体窒素中で乳鉢と乳棒を用いて破碎していた。今回、トミーのビーズ式細胞破碎装置を試用して破碎の程度について試験した。なお、結果の評価は破碎後の蛋白質含量で比較した。

2. 方法

トゲを先端部と基部に分割し、それぞれの生重量を測定した。2ml のマイクロチューブに試料を入れ、ビーズ式細胞破碎装置 (Micro Smash MS-100) で、 $\phi 4.8\text{mm}$ のステンレスビーズを 1 個入れ破碎した。対照として、試料を液体窒素中で乳鉢と乳棒を用いて破碎し、マイクロチューブに移した。破碎後の試料に蛋白質抽出用緩衝液を入れ、攪拌後遠心し、上清にフェノールを加えて抽出した。メタノール沈殿及びアセトン沈殿後、沈殿に蛋白質抽出用緩衝液を加えて溶解し、蛋白質含量を測定した。

3. 結果

3. 1. トゲの先端部

破碎法	破碎条件	生産量	蛋白質含量 (ng/mgFW)
対照		15.3 mg	26.14 (100%)
MS-100	3,500 rpm, 60 sec	15.7 mg	34.22 (131%)
MS-100	4,000 rpm, 60 sec	17.8 mg	35.56 (136%)
MS-100	4,000 rpm, 120 sec	16.2 mg	チューブ破損

3. 2. トゲの基部

破碎法	破碎条件	生産量	蛋白質含量 (ng/mgFW)
対照		64.9 mg	24.65 (100%)
MS-100	3,500 rpm, 60 sec	65.6 mg	36.42 (148%)
MS-100	4,000 rpm, 60 sec	77.8 mg	37.65 (153%)
MS-100	4,000 rpm, 120 sec	67.5 mg	チューブ破損

4. 考察

ビーズ式破碎装置を用いると対照法よりも蛋白質含量が多かった。肉眼的にも細かく破碎されていた。また、試料の量が比較的多い方がよく破碎される傾向があった。難点は、破碎時間が長いとチューブが破損されることであった。破碎条件等を検討することで、より有効に破碎が行えるものと思われる。