

高圧ホモジナイザーEmulsiFlex-C3 の使い方 大腸菌破碎編 Ver.1.0

1. サンプルの準備

- 1) 菌体を約 0.5 g/mL の濃度になるように破碎 Buffer に懸濁する
- 2) DNase I および Mg イオンを加え、4°C でおよそ 15 分攪拌する

2. 機械の立ち上げ

- 1) 金属の接続具をねじ (①) で固定する (上のねじを締めた後に、したのナットを反対側に回して固定) : 通常は付けたまま
- 2) ガラス製のサンプルシリンダー (②) を、挟んでねじで締める金属金具で固定
- 3) サンプル排出口 (③) にシリコンチューブを接続する
- 4) 本体背面にある電源スイッチ (④) を縦に回して電源を入れる
- 5) 圧縮空気の元栓 (⑤) を開ける (コックを縦にする)
- 6) 圧縮空気の 2 次調節弁 (⑥) を全開にする
- 7) メーター (⑦) で空気の圧力が 0.5-0.8 MPa になっていることを確認する

3. 機内の中を洗う

- 1) サンプルシリンダーに約 100 mL の脱イオン水を入れる
- 2) サンプル排出側のシリコンチューブにシリンジを接続して脱イオン水を内部に引き込む
- 3) 空気圧調製ねじ (⑧) が緩んでいることを確認する
- 4) ストップボタン (⑨) を時計回りに回してロックを解除し、スタートボタン (⑩) を押す
- 5) 脱イオン水がシリコンチューブから脈を打って出てくることを確認する
- 6) 脱イオン水がほとんどなくなったらストップボタンを押して流れを止める
- 7) サンプルシリンダーに約 50 mL の破碎 Buffer を入れ、4)~6) の手順で内部を Buffer に置換する

4. 圧力を上げていく

- 1) サンプルシリンダーに 1. で調製した大腸菌懸濁液を入れる
- 2) シリコンチューブの先をサンプルシリンダーの上に固定し、サンプルが循環するようになる
- 3) 空気圧調製ねじを回し、圧力をメーター1 (⑪) で 20 psi まで上げる
- 4) サンプルが 5 回脈をうつごとに、空気圧調節ねじを 45° ずつ回して圧力をさらに上げる。破碎が開始されるとメーター2 (⑫) の圧力が脈を打つようになり、最大値が 20,000 psi 以上 (大腸菌の場合) になるまで圧力を上げる
- 5) このまま 5. の破碎に入る

5. 破碎する

- ・ 方法 1 : 破碎後の菌液を別のビーカーに受ける. 1-2 回通せば, 十分に破碎できる.

《注意点》

菌液が枯れて空運転をすると装置が痛むので, 液が無くなる直前で運転を止める

- ・ 方法 2 : 循環させる. サンプル排出口のシリコンチューブをサンプルシリンダー上部に固定し, 破碎液を循環させる. サンプル量 100mL の場合, 15 分~20 分の循環で十分に破碎できる.

《注意点》

循環中の破碎液にむらができるので, 5 分に一度くらい, サンプルシリンダーの中の菌液をかき混ぜる.

6. 後片付け

- 1) ストップボタンを押して, 送液を止める
- 2) 空気圧調製ねじ (⑧) を完全に緩めて圧力を下げる
- 3) 本体後ろの電源スイッチ (④) を切る
- 4) ガラス製サンプルシリンダーをはずし, 金属製サンプルシリンダーに付け替える
- 5) 圧縮空気の 2 次調節弁 (⑥) を回して空気圧を 0.05 MPa (⑦) にする
- 6) サンプル排出口のシリコンチューブを廃液用のガロン瓶にセットする
- 7) サンプルシリンダーに脱イオン水 150 mL を入れ, 圧縮空気のホースがつながっている金属製サンプルシリンダーのふたを閉め, 空気圧で送液する.
- 8) 7)の要領で, 脱イオン水で 3 回洗浄し, 最後に 20% EtOH で 1 回洗浄する
- 9) 圧縮空気の 2 次調節弁 (⑥) を閉め, 元栓 (⑤) も閉める.
- 10) ガラス製サンプルシリンダー, 金属製サンプルシリンダー, シリコンチューブは, シカクリーンを加えた脱イオン水で 30 分超音波洗浄し, よくすすいでから, 低温室で乾燥させておく

