

速報

針葉破砕機 KIT 1号の開発について*1

草野僚一*2 · 家入龍二*2 · 金坂光祐*2 · 高田琢也*2 · 緒方久美子*2

キーワード：針葉破砕，簡単，安価

I. はじめに

現在，本県をはじめ，九州各県でDNAマーカーを用いすぎのクローン分類が行われている。その中で最も時間と手間を要するのが，針葉の破砕である。これまで，乳鉢や凍結粉碎装置SKミル（TokkenInc.）など人力で破砕する方法や，サンプル破砕装置SH-48（倉敷紡績株式会社）などの針葉も破砕できる機器が用いられてきた。

しかし，乳鉢やSKミルには液体窒素を使用しなければならず，作業時間もかかりすぎること，一度に破砕する個体数が少ないことなどの問題があり，SH-48など破砕機器は高価であるなどの問題があった。

今回，このような問題を解決するために，液体窒素を使用せず，簡単に大量のサンプルを破砕でき，かつ機器が比較的安価な「針葉破砕機KIT 1号」を開発し，その性能を確認するために，乳鉢，SKミルと抽出DNA量の比較を行ったので報告する。

II. KIT 1号の概要

KIT 1号は，市販の糸鋸機（RYOUBI TFE-550DX）の盤を外した本体（図-1）に木製のアタッチメント（図-2から図-5）を取り付けたものである（図-6）。

アタッチメント内部にシリカゲルで乾燥させた針葉とSKミル用クラッシャーを入れた2.0mlチューブを差し込んだ後，アタッチメントを本体に取り付け，縦振動により針葉を破砕する機器である。

III. 抽出DNA量の比較

1. 材料

熊本県林業研究指導所内の苗畑から県球磨11号の針葉を採取して材料とした。

採取針葉を直ちにKIT 1号用と，乳鉢，SKミル用に10gずつ分け，KIT 1号用の針葉は，密封用のビニール袋に針葉が隠れる

くらいの量のシリカゲルとともに入れ，5日間室温で乾燥させた。乳鉢とSKミルで破砕する針葉は，密封用ビニール袋に入れ，5日間-20℃の冷凍庫に保存した。

2. 方法

5日経過後KIT 1号，SKミル，乳鉢でそれぞれ針葉を破砕し，その後Plant Genomic DNA miniキット（VIOGENE社）を使用し，DNAの抽出及び精製を行った。

なお，破砕時にそれぞれの方法について，破砕時間の計測を行い，抽出，精製されたDNA量を分光光度計Gene Quant II RNA/DNA Calculator（Pharmacia Biotech社）を使用して計測した。

3. 結果及び考察

計測の結果，KIT 1号は，SKミルに比べDNAの収量が劣るものの，乳鉢とはほとんど同じDNA収量を得ることができた。また，乳鉢，SKミルと比較し，同等の純度のDNAを得ることができた（表-1）。

このことから，KIT 1号を用いて破砕する方法は，液体窒素を

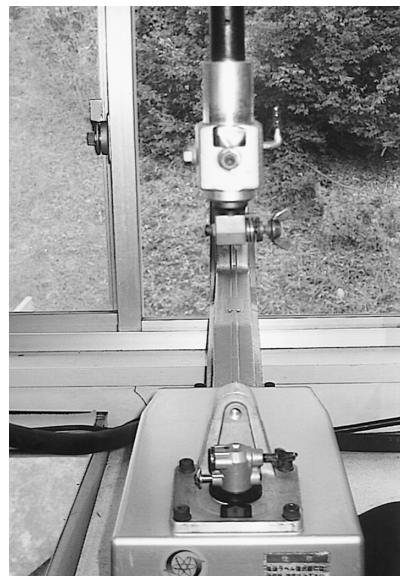


図-1. 使用した糸鋸機

*1 Kusano, R., Ieiri, R., Kanesaka, K., Takata, T. and Ogara, K.: The development of a needle crusher "KIT No.1".

*2 熊本県林業研究指導所 Kumamoto Prefectural Forestry Research center, Kumamoto 860-0862

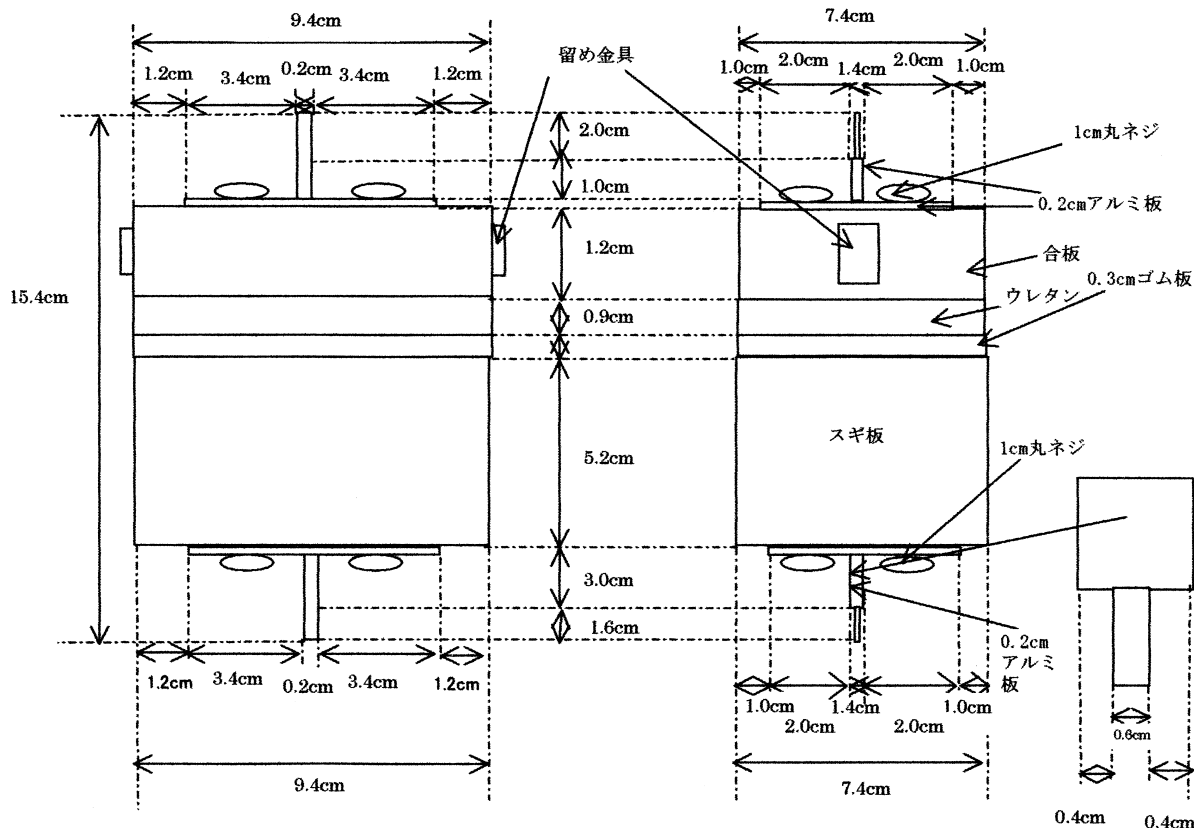


図-2. 木製アタッチメント正面図

図-3. 木製アタッチメント側面図

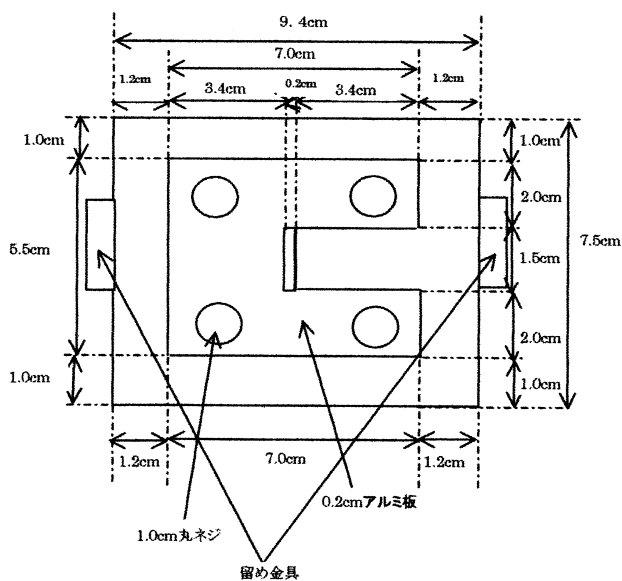


図-4. 木製アタッチメント平面図

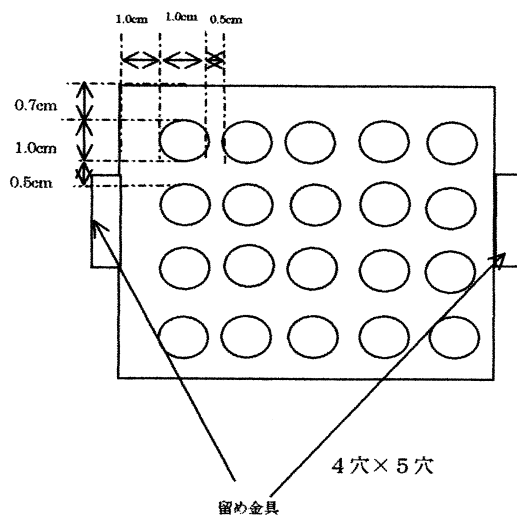


図-5. 木製アタッチメント内面図

表-1. 破碎方法による抽出DNA量比較

破碎方法	破碎量 (g)	DNA濃度 (ug/ml)	純度
KTI1号	0.08	55.3	1.790
乳鉢	0.08	59.9	1.826
S Kミル	0.08	183.9	1.845

表-2. 破碎方法の比較

破碎方法	液体窒素 使用の有無	1回の破碎時間	1回の破碎数(個体)	機器の価格(円)
乳鉢(9cm)	要	約2分30秒	1	280
SKミル	要	約5分	3	80,000
SH-48	不要	約2分	48	480,000
KTI1号	不要	約2分	20	90,000

- 1) 乳鉢, SKミル, KIT1号の破碎時間は, 県球磨11号の針葉を使用し測定。
- 2) SH-48の破碎時間はカタログによる。

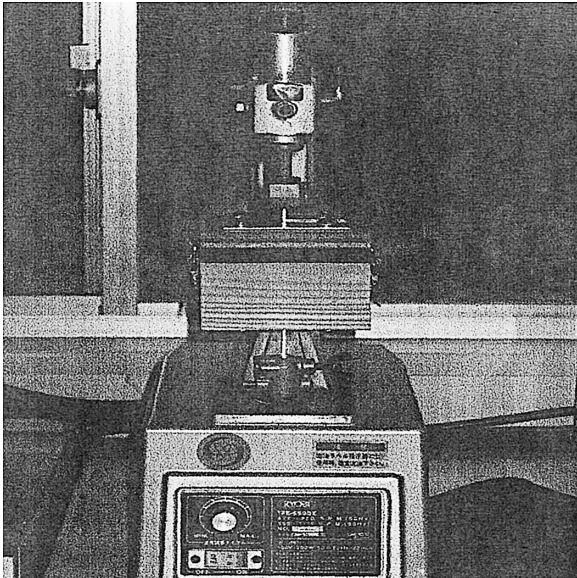


図- 6. KIT 1号正面図 (アタッチメント装着)

使用せず、約2分で20サンプルを一度に破碎することができ、機器購入費も市販の自動破碎機と比較して安価であり(表-2)かつ乳鉢と比べても大差ないDNA収量が得られることから、他の方法と比べて有利であると言える。

(2004年11月8日 受付：2005年1月6日 受理)