

<ビーズクラッシャー μT-12 破碎データ 20101025版>



■ブタ心筋

2mlネジロマイクロチューブ
解凍ブタ心筋100mg
φ5mmSUSビーズ×1個
溶媒1ml
(溶媒は0.5mlがベター)
3200r/min
30秒



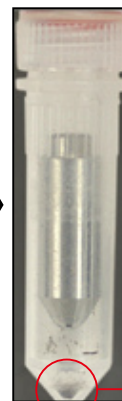
■ブタ肝臓

2mlネジロマイクロチューブ
解凍ブタ肝臓100mg
φ3mmシリコニアビーズ×15個
(φ5mmSUSビーズ×1個でも可)
溶媒0.5ml
3200r/min
30秒



■ヒトの手の爪

2mlネジロマイクロチューブ
成人男性の手の指1本分の爪
金属クラッシャー×1個
溶媒なし
2500r/min
10～30秒



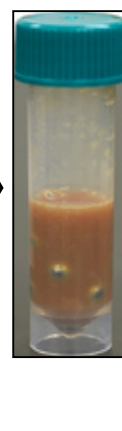
■ヒトの毛髪

2mlネジロマイクロチューブ
成人男性の頭髮1本(約10cm)
金属クラッシャー×1個
溶媒なし
2500r/min
20秒



■錠剤

2mlネジロマイクロチューブ
市販の清涼菓子1粒
金属クラッシャー×1個
溶媒なし
2200r/min
10～15秒



■ブタ肝臓

5mlネジロチューブ
解凍ブタ肝臓1g
φ6mmSUSビーズ×9個
(φ5mm×15個でも可)
溶媒1ml
2500r/min
30秒



■昆虫(蛾)

5mlネジロチューブ
蛾の死骸1匹
φ6mmSUSビーズ×9個
(φ5mm×15個でも可)
溶媒なし
2500r/min
30秒



■植物の根

5mlネジロチューブ
乾燥した植物の根0.4g
φ10mmSUSビーズ×2個
溶媒なし
2500r/min
30秒×1～2回
(節や繊維状のものが残る場合あり)

- ★μT-12には、5mlネジロチューブ(ワトソン自立型メイリングチューブ/ 2332-105)用1本架ホルダーもご用意しています。
- ★2ml用ホルダーには、6本架のほか保冷性の高い3本架タイプもあります。いずれのホルダーも、本体に2個取付け可能です。
- ★記載の破碎データは、すべてサンプルを凍結しないでを行っています。
- ★凍結破碎を行う場合は、チューブの破損を防ぐために特注の金属チューブ(2mlのみ)のご使用をお薦めしています。
- ★金属クラッシャーの使用においては、2500r/minで1分程度まで、架数は計6本まで、となります(保冷用3本架ホルダーをお使いください)。
- ★市販のチューブを使用する関係上、お客様にて液漏れや破損には十分お気をつけください。これらの可能性を低減するため、弊社推奨品のご使用をお薦めしています。

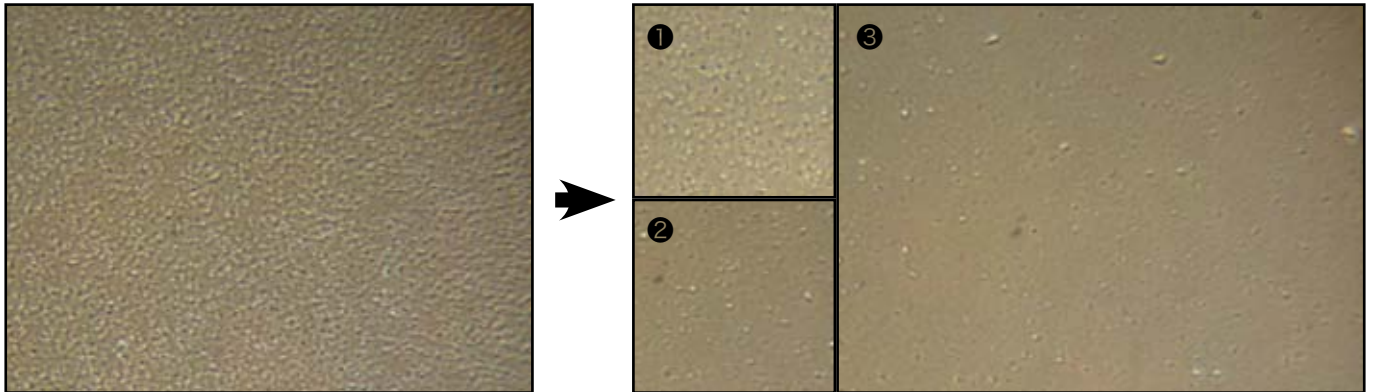
<破碎データ20110406追加>

■大腸菌

2mlネジロマイクロチューブ(ワトソン 1392-200)、平均直径φ0.2mmのジルコニアビーズ(体積にして1ml分)

大腸菌(HB101)終夜培養液1ml分の菌量、溶媒は下記参照

3200r/min、60秒(①)、120秒(②)、180秒(③)→60秒で50%、180秒で90%以上の破碎を確認



【手順の詳細】

- 1) 大腸菌を一晩培養、1ml 分の培養液を遠心し菌体を回収。
- 2) Triton X100 を終濃度 0.1% で含む PBS を 1ml 加え再懸濁。
- 3) 容積にして約 1ml のビーズを入れた 2ml チューブに懸濁液を移し、PBS ですり切りまでメスアップ（＊）。



写真はビーズを注いだところ。細かいビーズはチューブ外にこぼれやすいので、紙などで簡単な漏斗を作ると注ぎやすく便利です。

（＊）チューブ内を満タンにすると破碎力は低下しますが、泡立ちを軽減することができます。

- 4) 3200r/min にて破碎。

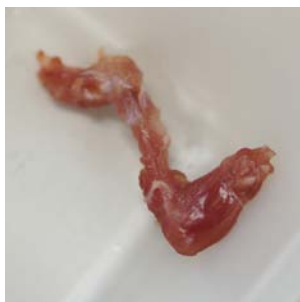
＜ビーズクラッシャーμT-12 マウス関節部の凍結破碎 20110221＞

■ マウス前足関節部

2ml ネジロマイクロチューブ 金属クラッシャー使用。液体窒素凍結、2500r/min、45 秒でパウダー状に破碎された。

【手順の詳細】

1) 『保冷用 3 本架ホルダー TH-0203』を、-20℃のフリーザーであらかじめ冷却した（30 ～ 60 分程度）。



2) 関節周囲の不要な肉はあらかじめ取り除いておく（左）。

関節部を切り取り（中）、破碎しやすいよう 5mm長程度に切断して（右）、プラスチック製のチューブに移した。

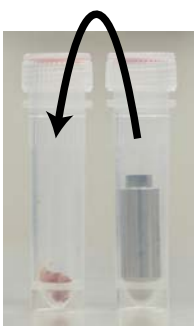
*サンプルはチューブに入れて 50 ～ 100μl 程度の位置までが良い。あまり多いと凍結破碎しにくくなった。



3) マウス関節部のサンプルは水分が多く、同じチューブに金属クラッシャーを入れて凍結するとサンプルが張り付き破碎不足を誘発する。

これを防ぐため**サンプルと金属クラッシャーは一度別々のチューブで凍結した**。各チューブにサンプルとクラッシャーを入れ、軽めに（*）キャップを閉めたのち、チューブ全体を液体窒素に浸した。「シュー」という大きな空気が収まるまでしばらくチューブを浸して凍結させた。

*キャップを軽く回していき止まった所で、それ以上は固く閉めない。液体窒素はチューブ内に入らない。これで凍結後も素早く蓋を開けられる。



4) 液体窒素からチューブを引き上げ、素早くキャップをあけて金属クラッシャーをサンプル側のチューブに移した。

今度は固くキャップを閉めて、液体窒素で同様に再度チューブを凍結させた。

5) 冷却した『保冷用 3 本架ホルダー TH-0203』に、凍結させたサンプルチューブを手早くセットした。

6) サンプルチューブをセットした『保冷用 3 本架ホルダー TH-0203』を手早く本体のアームに取り付けた。

反対側のアームにも同じ容器ホルダーを取り付けた（質量差を小さくするため）。2500 r/min にて 45 秒破碎。



マウス関節サンプルは粉状に粉碎された。

*左写真は、融解前に急いで撮影したため、チューブ底（写真楕円部）にもサンプルが残ってしまっている。これもパウダー状に粉碎されていることを確認済み。

※今回、実験の条件決めや再現性の確認のため数回の凍結破碎実験を行った中で、液体窒素で凍結させた 2ml ネジロマイクロチューブにてφ5mm ジルコニアビーズ ×3 個・φ10mmSUS ビーズ ×1 個・金属クラッシャーのいずれの使用したが、チューブの破損は見られなかった。しかしながら凍結による脆弱化によってチューブが破損する危険性は免れないため、実験に際しては十分な注意を払うこと（チューブが破損しても破碎マテリアルが激しく飛ぶようなことは基本的にはないが、サンプルロスや汚染につながるため完了まではその場を離れないことが望ましい）。* 2) チューブはフナコシ2641-0Bを推奨（20150408追記）

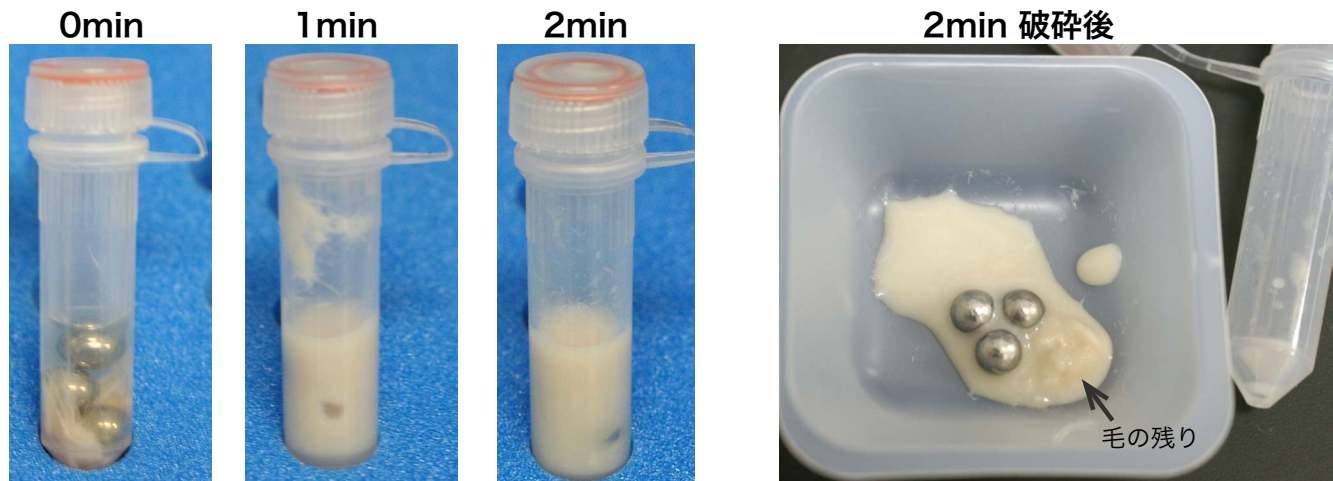
＜破碎データ20110418追加＞

■マウス皮膚(毛つき)

2mlネジロマイクロチューブ、平均直径φ5mmのSUSビーズ×3個

マウス皮膚100mg、バッファーとしてPBS 500μl

3200r/min、1分で皮膚部がほぼ破碎完了。2分では、毛も破碎が進み短くなる。



＊毛がついている場合、毛は残る場合が多いです。

【手順の詳細】

1) マウス皮膚（毛つき）を 100mg 切り取る。



2) 2ml ネジロマイクロチューブにマウス皮膚 100mg、φ 5mm の SUS ビーズ ×3 個、PBS 500 μ l を入れる。

3) 3200r/min にて破碎。

【補記】

＊ 2ml チューブ 1 本あたり 200mg までは皮膚を増やせます。その際、破碎時間を少し伸ばす必要が生じる場合もあります。

＊＊ 同様の手順で金属クラッシャーでも破碎可能（2500r、1 ～ 2min）ですが、金属クラッシャーでは発熱量が多くチューブが暖まりやすいため、本実験にはφ 5mm の SUS ビーズを推奨します。

※φ5mmビーズを使用する際の推奨チューブが変更となりました。上記写真とは外観が異なりますが、本実験にはフナコン2641-0Bのチューブを推奨します(20150408追記)

<ビーズクラッシャーμT-12 破碎データ 20110428追加>

■ダイズ(乾燥した種子)

5mlネジロマイクロチューブ(ワトソン2332-105)、φ10mmのSUSビーズ×2個を使用(バッファーなし)。

【結果】小粒の乾燥ダイズ5粒(約450mg)→2000r/min、60秒で破碎完了。(*1)

破碎前



60秒



チューブの中身



(*1) 5mlチューブでは基本的に2500r/minが速度上限になりますが、φ10mm SUSビーズ2個の質量は装置負荷が大きく、またチューブの破損確率が上がりますので、2000r/minで行ってください。

【参考①】小粒の乾燥ダイズ10粒(約850mg)→2000r/min、90秒で9割程度破碎。(*2)

破碎前



60秒



90秒



チューブの中身



ほとんどは粉になったが、大きめの破片がいくつか残った

(*2) 5mlチューブでは基本的に1g程度まで破碎が可能ですが、本実験条件(ビーズの種類、大きさ、個数)では90秒より処理時間を延ばしても破碎率が90%以上になることはありませんでした。破碎すると乾燥粉末になるようなサンプルでは、粉末がクッションになって破碎力が弱まりやすいためと考えられます。ビーズの大きさと個数を変えるか、サンプル量を若干減らすことで改善が期待できます(ビーズの変更にて条件を再検討中)。

【参考②】大粒の乾燥ダイズ1粒(約400mg)→2000r/min、90秒で破碎完了。

破碎前



60秒



90秒



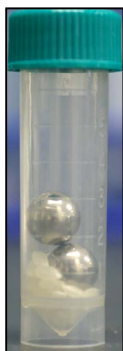
<ビーズクラッシャーμT-12 破碎データ 20120418追加>

■生米

5mlネジロマイクロチューブ(当社推奨品：ワトソン2332-105)、φ10mmのSUSビーズを使用(バッファーなし)。

【結果①】 生米30粒(約550mg)、φ10mm SUSビーズ×2個→2000r/min、30秒で破碎完了。(*1)

破碎前



30秒



破碎後、チューブの中身



(*1) 5mlチューブでは基本的に2500r/minが速度上限になりますが、φ10mm SUSビーズ2個の質量は装置負荷が大きく、またチューブの破損確率が上がりますので、2000r/minで行ってください。

φ10mm SUSビーズ2個では、30秒の破碎により生米は均一な粉となりました。

今回の実験では破碎後のサンプル中に、マイクロチューブの蓋裏が削れたことによる緑色の微粒子(矢尻部)が若干量見受けられました。プラスチック製チューブにおけるビーズ破碎機の注意点として、質量の大きなビーズを使用しますとこのような破片が見られることがあります。マイクロチューブは当社推奨品かつ新品を使用し、あまり破片量が多い場合は低速にする、ビーズ個数を減らすなどの調整を行ってください。

【結果②】 生米30粒(約550mg)、φ10mm SUSビーズ×1個→2500r/min、60秒で破碎完了。(*2)

破碎前



破碎後、チューブの中身



(*2) φ10mm SUSビーズ1個では、2500r/min、60秒の破碎により生米は均一な粉となりました。

今回の実験では破碎後のサンプル中に、マイクロチューブ蓋が削れたことによる緑色の微粒子(矢尻部)が若干量見受けられました。

【参考①】 生米30粒(約550mg)、φ5mm SUSビーズ×8個→2500r/min、60秒処理。破碎されず(*3)

破碎前



破碎処理後、チューブの中身



(*3) φ5mm SUSビーズ×8個(φ10mm SUSビーズ1個とほぼ同質量)では、2500r/min、60秒の破碎でも全く破碎が見られませんでした。

写真には示ませんが、φ6mm SUSビーズ×4個の場合にも生米は破碎されませんでした。

5mlチューブでの生米の破碎には、10mm SUSビーズの使用を推奨します。

<ビーズクラッシャーμT-12 破碎データ 20150408追記>

■チンパンジーの体毛



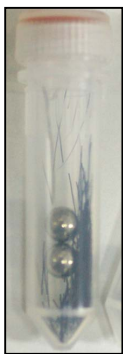
【前処理】

チンパンジーの体毛を0.5～1cm程度の長さにハサミでカットしました。
飛散防止のため、今回はビニール袋の中に体毛を入れて刻みました。袋の隅に毛を集めると刻みやすいです。

破碎方法 ①：2mlネジロマイクロチューブ、φ5mmのSUSビーズを使用(バッファーなし)。

【結果】体毛約40mg、φ5mm SUSビーズ×2個→3200r/min、90秒で破碎完了。(*1)

破碎前



破碎後、チューブの中身



(*1) φ5mm SUSビーズ2個では、90秒の破碎によりチンパンジー体毛は粉状となりました。

破碎物は均一な粒状ではなく、ごく短い毛の断片となっていました。破碎時間等の条件は異なりますが、人毛を処理した際の破碎物と外見はよく似ています。

姉妹機種μT-01で行う場合は、4600r/minにてお試しください。

※φ5mmビーズを使用する際の推奨チューブが変更となりました。上記写真とは外観が異なりますが、本実験にはフナコシ2641-0Bのチューブを推奨します。(20150408追記)

大径ビーズ・金属クラッシャー使用時の推奨チューブの変更について(20150408)

【経緯】

平素より弊社製品をご愛顧頂きまして誠にありがとうございます。

これまで弊社ビーズ破碎機 μ T-01 / μ T-12 用の 2mL ねじ口チューブとして推奨して参りました、ワトソン社 1392-200 チューブに 2014 年より若干の仕様変更がございました。細径ビーズを使用する際(細菌・酵母の破碎)には問題ありませんが、 ϕ 4~5mm の大径ビーズ、金属クラッシャーを使用する際(動物組織などの破碎)にチューブ破損が見られるようになりましたので、下記のとおり推奨チューブを変更いたします。

【対応】

- ϕ 3mm 以下のビーズを使う場合(細菌や酵母の破碎)
→問題ないので従来どおりワトソンチューブ 1392-200 を推奨
- ϕ 4~5mm ビーズ、金属クラッシャーを使う場合(動植物の組織、固いサンプルの破碎)
→SSI 社チューブ (フナコシ取扱 2641-0B)を推奨品とします。



<http://www.funakoshi.co.jp/contents/4142>

ビーズ式破碎装置に使用可能な耐衝撃性チューブ

Shatter Resistant 2.0 ml Tube & Cap

米サイエンティフィックスペシャリティーズ社製、フナコシにて取扱

試験の結果、T-01/12 にて ϕ 5mm SUS ビーズ、金属クラッシャーとも使用可能なことを確認しました。

※強度が高い一方、本チューブは白色不透明で中が見えにくく、うまく破碎できているか外から判りにくいという欠点があります。透明で中がよく見えるチューブの方が好ましい場合は、速度制限があることをご留意頂いた上でワトソンチューブをご使用ください(次ページを参照)。固い組織や植物種子等の破碎をご希望の場合は強固な SSI 社チューブを推奨します。

SSI 社チューブでの、鶏ムネ肉の破碎例)

鶏ムネ肉 100mg



破碎前



後



破碎後の鶏肉



ワトソンチューブを使う場合の、大径ビーズと金属クラッシャーの速度制限について

● ワトソンチューブでφ4～5mmビーズ、金属クラッシャーを使用する際は注意。速度制限が生じます。

新ワトソンチューブでも鳥肉程度なら十分に破碎可能でした。透明なチューブをお好みの場合、下記に注意してワトソンチューブをお使いください。

・φ5mm、φ4mmビーズ(SUS)を使う際には1個まで。(バッファーなしで2個以上入れると割れます)

バッファーなしのときは3000r/min以下で使用。

バッファーをチューブ容積の半分まで入れた場合は、最高速度の3200r/minまで使用可能。

・金属クラッシャー使用の場合はバッファーを入れるか、2200r/min以下に落とした方が安全。

・できるだけ**低速、短時間**でお使いください。

ワトソン新チューブ強度試験の詳細) 溶媒なしで振とう

新チューブが使用可能な速度等の条件を検討しました。各6本程度試験。○は全てOK、×は1本以上破損がみられました。

Ø5 mm SUS × 1, 60 s	3200 r/min	3000 r/min	2800 r/min	2600 r/min
溶媒なし	×	○	○	○
溶媒 1/2 量	○	○		
溶媒満タン	○			



金属クラッシャー、30s	2500r/min
溶媒なし	△(＊)

金属クラッシャーに関しては5/100本が首のところで破損しました。

またホルダーのネジゆるみが2回に1回は見られました。

金属クラッシャー使用の際は2200r/min程度に落とした方が安全と考えます。

また、できれば溶媒を入れるといいでしょう。

・金属クラッシャーにて特に硬いサンプル(アスパラ種、乾燥するめなど)を破碎した場合、底割れが頻発する例がありました。水分が少なく固いサンプルの破碎をご希望の場合はSSI社のチューブを推奨します。