

アプリケーションデータシート #028

恒温振とう培養機 **DWMax** ディー・ダブルユー・マックス **M・BR-034P** No.1

ディープウェルで振とう培養した酵母からのDNA抽出



M・BR-034Pによりディープウェルで酵母を振とう培養し、その酵母からDNAを抽出

概要

〈DWMax M-BR-034P〉は、新開発の『NewMax drive®』機構により平行販売製品である〈マキシマイザー M-BR-022UP〉の上を行く振とう攪拌力と均一性、安定性を備えた恒温振とう培養機だ。マイクロチューブや96穴ディープウェルを均一かつ強力に攪拌出来き、一般的に振とう培養には不向きなディープウェルにおいて、酵母のように菌体が大きく沈降しやすい微生物でも十分な培養効率を発揮できる。

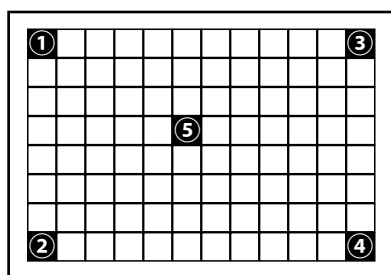
本紙では、M-BR-034Pを用いて、ディープウェルで酵母 (*Saccharomyces cerevisiae* S288C) の培養を行い、培養した酵母からDNA抽出キット (ニッポンジーン) を用いてDNA抽出を行い、試験管型の培養チューブで培養した場合と比較して遜色なくDNAを回収することができた結果をご紹介します。

使用機器、試薬等

- 恒温振とう培養機 ————— DWMax M-BR-034P (タイテック)
- ディープウェル ————— バイオシェーカー® BR-23FP-MR (タイテック)
- ディープウェルのシーリング ————— 96ウェル ディープウェルプレート 2.0mL 四角穴 (AxyGen Scientific)
- ディープウェルのシーリング ————— Breathable Film (AxyGen Scientific)
- 酵母からDNA抽出が可能な試薬キット ————— ISOPLANT (ニッポンジーン)
- 酵母 ————— *S. cerevisiae* S288C
- 培地 ————— YPD
- 遠心機 ————— 12000×gが可能なもの (=マイクロチューブ用)
- 試験管ミキサー (ボルテックス) ————— デルタミキサー Se-04 (タイテック)
- アガロースゲル電気泳動用の試薬および装置、紫外可視分光光度計

実験方法

1) ディープウェルを用いた酵母の振とう培養

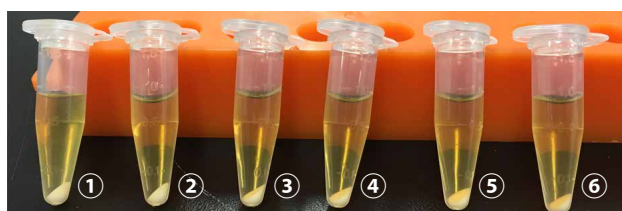


酵母を植菌した培地2mLをディープウェルの左図の位置①～⑤に分注し、〈DWMax M-BR-034P〉で振とう培養した (1500r/min、+30℃、24hr)。

比較対象として、12mLディスク培養チューブに同様の植菌済み培地を2mL分注し、バイオシェーカー® BR-23FP-MRで振とう培養した (往復180r/min、+30℃、24hr)。以下、これを⑥とする。

2) ISOPLANTのプロトコルに従ってDNA抽出

上記①～⑥の培養液から900μLをとり、それぞれマイクロチューブに入れて遠心、上清を捨てた。



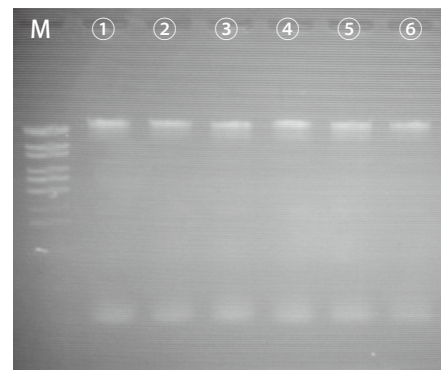
◀ ①～⑥を遠心した様子。
目視では、沈殿した菌の量はほぼ同じであった。

↓
 それぞれにSolution Iを加えてボルテックスした。
 ↓
 それぞれにSolution IIを加えてボルテックスした。
 ↓
 M-BR-034P内に①～⑥のマイクロチューブを静置し、+50℃で25minインキュベートした。
 (プロトコルでは15minだが、気相のM-BR-034Pを用いたので少し長めにインキュベート、5minおきに手で軽く転倒攪拌した)
 ↓
 それぞれにSolution IIIを加えてボルテックスした。
 ↓
 氷上で15minインキュベートした。
 ↓
 12000×gで10min遠心した。
 ↓
 水相をとり2倍量のエタノールを加えてよく混合し、12000×gで10min遠心した。
 ↓
 上清を捨て沈殿を70%エタノールで洗浄し、風乾した。
 ↓
 沈殿を30μLのTEに溶かしてDNA溶液とし、純度および収量を吸光度測定と電気泳動で確認した。

結果と考察

抽出したDNAの収量と純度、および電気泳動結果を示す。培養チューブで培養した酵母⑥と比較して、ディープウェルで培養した酵母①～⑤からも遜色なくDNAを回収することができた。いずれも1.3～2μg/mgの良好な収量であった。

	収量 (μg/mg)	A260/280
① (ディープウェル / M・BR-034Pで培養)	1.345	1.855
② (〃)	2.020	1.906
③ (〃)	1.475	1.916
④ (〃)	1.735	1.896
⑤ (〃)	1.470	1.909
⑥ (培養チューブ / BR-23FPで培養)	1.515	1.930



1% Agarose Sで電気泳動▶
 M: Marker 6 (λ/Sty I digest、ニッポンジーン)

好評発売中

恒温振とう培養機
 DWMax M-BR-034P

価格: ¥520,000

バリデーション
 対応!



新機構『NewMax drive®』でディープウェルやマイクロチューブによる多検体培養において、高い均一性と安定性を実現。ウェルプレートは標準で4個、1.5mLマイクロチューブは別売ラックで最大96本を載せられます。電子加熱冷却により、室温-7℃から+60℃までの温度調節が可能です。



著者・編集

タイテック株式会社
 企画開発部 宣伝企画グループ
 〒343-0822 埼玉県越谷市西方2693-1
 TEL: 048-988-8341 FAX: 048-988-8346 E-mail: senden@taitec.org
 Web: http://taitec.net/

2017年6月発行
 『恒温振とう培養機 DWMax M-BR-034P』および本紙の内容に関するお問い合わせは、左記までお願いいたします。