

資源植物科学研究所「微量生体物質・植物ホルモン解析装置」利用手引き

はじめに

微量生体物質・植物ホルモン解析支援は、LC/MS (Agilent 6410) を用いて主に植物のストレス応答に関連する植物ホルモン（アブシジン酸、サリチル酸、ジャスモン酸）の定量分析を行うものです。後述する抽出方法で得たサンプルを用いて、数種類（上述のホルモンに加えオーキシシン、ジベレリン、サイトカイニン）の定量分析が可能です。その他の物質の定量につきましては、相談してください。

利用される場合は、事前に担当者までご連絡いただくとともに、「植物科学最先端研究ネットワーク利用申請書」により利用申請していただきます。利用案内については、以下のサイトもご覧ください。利用予約表もここからご利用になります。

<http://www.rib.okayama-u.ac.jp/network/network2.html>

使用機器

LC/qMS/MS (Agilent 6410)

利用の流れ

基本的にサンプルを送付していただき、当研究所で解析します。解析は共同研究が前提となります。

- ① 事前打ち合わせ
- ② 申請書の提出、審査
- ③ 解析詳細打ち合わせ
- ④ 分析依頼サンプルの送付
- ⑤ 解析結果

解析の流れ

- (1) 試料からの植物ホルモンの粗抽出と乾固
- (2) 試料の送付 (植物研究)
- (3) サンプルの前処理 (固相抽出)
- (4) LC-MS 解析 (アジレント社 6410Triple Quad LC/MS を使用)
- (5) 溶出スペクトラムの送付 (依頼主宛)
- (6) データの解析

試料からの植物ホルモンの粗抽出と乾固の方法

- 1) 100-500 mg の植物試料の新鮮重を迅速に秤量する.
- 2) 組織を 1 cm 角程度にハサミ等で細断し, 丸底ポリプロピレンチューブ (Falcon 14 mL Polypropylene Round-Bottom Tube 等) に取り, 直径 1 cm ジルコニアビーズと共に液体窒素で凍結する.
- 3) チューブ内で, 凍結組織とジルコニアビーズをボルテックスミキサーにより強く攪拌することで, 磨砕する.
- 4) 組織粉末に 3 mL の 80%メタノール/1%酢酸を加え混和した後, 4°C で 1 時間保温する. 3000 g 程度で 10 分間遠心分離後, 上清を 10 mL のディスポーザブルガラス試験管 (旭硝子 Disposable Culture Tube, 13 x 100 mm 等) に回収する. 抽出操作をもう一度繰り返す.
- 5) 溶媒を遠心濃縮機 (サーモフィッシャーサイエンティフィック社 Speed Vac 等) で蒸発させ, 試料を濃縮乾固する.
- 6) 乾燥した試料を 500 μ l 程度のメタノールに溶解し, パスツールピペット等で, 2 mL マイクロ遠心管 (エッペンドルフ社 2 mL Safe-Lock tube 等) に回収する. この操作をもう一度繰り返す.
- 7) 最後に, マイクロ遠心管内の溶媒を遠心濃縮機で蒸発させ, 試料を乾固する.
- 8) 乾燥試料を送付する.

溶出スペクトラムの送付とデータの解析について

- 1) アジレント社 6410Triple Quad LC/MS で得られた生データは無料で

公開されている専用ソフトウェアにより閲覧・解析することができます。
2) LC-MS 解析では安定同位体の内部標準を用いて解析します。定量解析の詳細についてはスペクトラムデータ送付時に各々説明いたします。

経費の負担について

利用に関わる消耗品などについては利用者負担でお願いします。一定期間で使用した溶媒およびメンテナンス費用についても利用者負担を原則としますが、明らかに過失と認められる故障については該当する利用者で負担していただきます。

Authorship

成果を発表する際は、分析に関わった方を共同研究者として共著者に入れてください。また、謝辞には最先端研究開発戦略的強化費補助金による機器と、明記してください。当研究所の共同研究として行う場合は、成果発表はその契約に従って下さい。

納期

納期は、機器の状態、サンプルの混雑状況により異なります。

連絡先

平山隆志 hira-t@rib.okayama-u.ac.jp

森 泉 imori@rib.okayama-u.ac.jp