

酵母の生死判定解析法

Yeast control – viability キットを用いたFCM解析法

Yeast control - viability 染色キットは酵母培養の品質管理のために開発されました。このキットにより酵母の全細胞数と生細胞数の割合を算出することが可能です。

試薬・装置

- ・市販用のパン生酵母(酵母：標準サンプルとして使用。ドライ酵母ではなく、生の状態で脱水されたものを購入から10日以内に使用)
- ・Yeast control - viability染色キット：下記表に示すReagent A および Reagent Bの2種類から構成。
- ・その他必要な材料：PBS (-)
- ・フローサイトメーター：
対応可能機種：CyFlow Cube 6/Cube 8, Spaceなど488 nm青色レーザーを装備しているFCM。

| Yeast control -viability kit | 検出フィルター構成 |
|------------------------------|--|
| Reagent A：生細胞染色用 | ・最大励起：495 nm、最大蛍光：519 nm ・FITC検出用フィルター (FL1:536/40 nm etc.) |
| *Reagent B：死細胞染色用 | ・最大励起：530 nm、最大蛍光：630 nm ・PI 検出用フィルター (FL2:590/50 nm or FL3:675/20 nm etc.) |

*Reagent BはPIとメタノールを含んでいるため、製品説明書の指示に従い、注意して取扱ってください。

サンプル準備

細胞懸濁液の調製

10 mgの酵母を10 mlのPBSに懸濁し、対数増殖期にある酵母培養液から10 μ lの細胞を採取し、990 μ lのPBSにて100倍に希釈します。

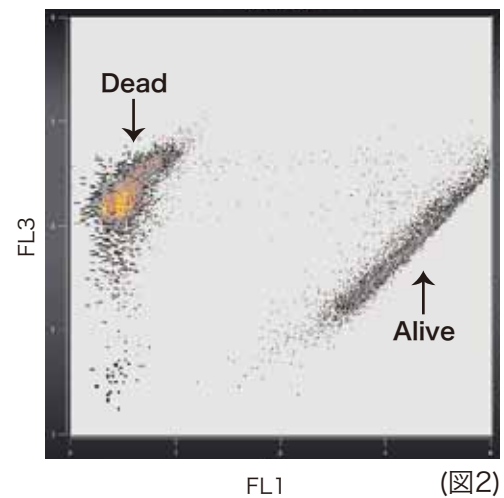
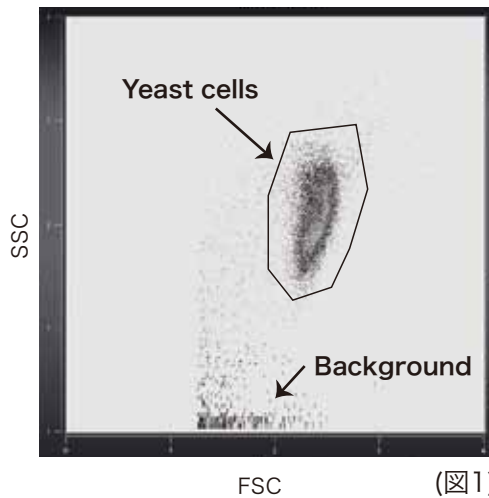
キットによる染色

1 mlの酵母培養液に10 μ lのReagent Aを添加し、遮光下にて5分間室温でインキュベーションした後、10 μ lのReagent Bを加え、さらに5分間室温、遮光下にてインキュベーションを行います。調製後、15分以内にフローサイトメーターによる解析を行ってください。

サンプルのオプション

死細胞のコントロールを用意する場合は、同様に調製したサンプルを70 $^{\circ}$ Cの恒温槽で10分間インキュベーションし、得られた死細胞を生細胞と混合してコントロールサンプルとしてください。

フローサイトメーターによる解析



FSC-SSCとFL1-FL3を表示する5プロットのレイアウトを選択し、速度を0.5-1 $\mu\text{l}/\text{sec}$ の間に設定します。実際の解析速度 (events/sec) を観察し、1000 events/secを超える場合は、PBSでサンプルを5倍希釈します。範囲内におさまるまで希釈操作を繰り返します。FSC-SSCプロット中央に細胞集団が表示されるようゲイン設定し、図1のように酵母細胞集団をゲーティング、yeast cellsの集団をFL1-FL3プロット(図2)に展開します。

細胞濃度測定

細胞濃度を計測するには、測定モード“volumetric counting with electrodes”を使用してください。この測定は850 μl の染色された酵母細胞を必要とします。

関連製品 (Yeast Control シリーズ)

| 製品番号 | 製品名 | 用途 | 容量・サイズ |
|----------|------------------------------|------------------|---------|
| BQ716271 | Yeast Control Cell Cycle | DNA を染色し、細胞周期を解析 | 50 テスト |
| BB143681 | Yeast Control Viability | 細胞の生死判定 | 100 テスト |
| BW721127 | Yeast Control Glycogen | 細胞内グリコーゲンの測定 | 50 テスト |
| BP689344 | Yeast Control Trehalose | 細胞内トレハロースの測定 | 50 テスト |
| AA931132 | Yeast Control Neutral Lipids | 細胞内中性脂質の測定 | 50 テスト |
| AK478553 | Oeno Yeast Reagent Kit | 生細胞(酵母)の検出と計数 | 30 テスト |

発行：シスメックス株式会社 R&I事業本部 事業企画部 細胞計測事業推進課

ソリューションセンター 神戸市西区室谷1-3-2 〒651-2241 Tel 078-991-2091 Fax 078-997-9976
東京支社 東京都品川区大崎1-2-2 〒141-0032 Tel 03-5434-8556 Fax 03-5434-8557

<http://www.sysmex-fcm.jp>

本誌の内容を無断で複写・複製・転写すると、著作権・出版権の侵害となることがありますのでご注意ください。