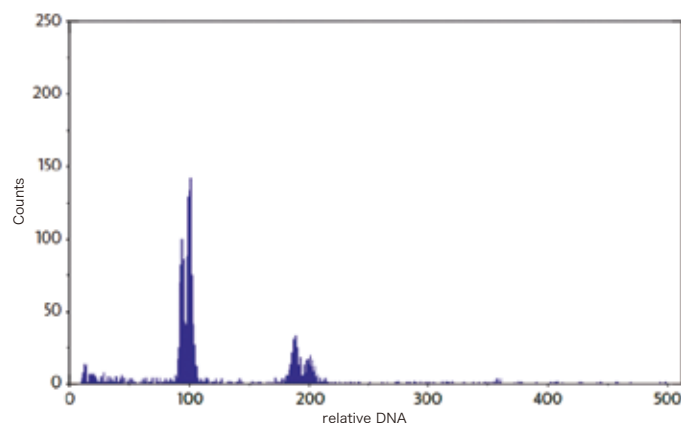


植物のアポミクシスや異数性の解析法

CyStain DNA染色キットを用いたFCM解析法

CyStain DNA 染色キットは植物や哺乳類細胞のゲノムサイズおよび倍数性を評価するための試薬です。ゲノムサイズおよび倍数性を測定して細胞周期や染色体異常を調べることができ、さらに植物特有のアポミクシス (無融合生殖) の解析にも使用することが可能です。

フローサイトメーターによる解析



セイヨウアブラナ (*Brassica napus*) の倍数性の解析

セイヨウアブラナは、通常染色体数 $n=16$ と $n=19$ の2つのピークを形成しますが、異数体の場合、ピークの位置が変動します。上図では2Cと4Cのピークがさらにそれぞれ2つに分かれているのは、異数性であることを示しています。

試薬・装置

- ・ CyStain DNA 染色キット (Sysmex: DAPI またはPI から選択)
- ・ その他必要な材料 : CellTrics セルストレイナーおよび各キットのプロトコールに準ずる
- ・ フローサイトメーター

対応可能機種 : CyFlow Ploidy Analyser, Cube 8, Space (Sysmex) など

365 nm UV-LED または355 nm, 375 nm UV レーザー (DAPI) 、

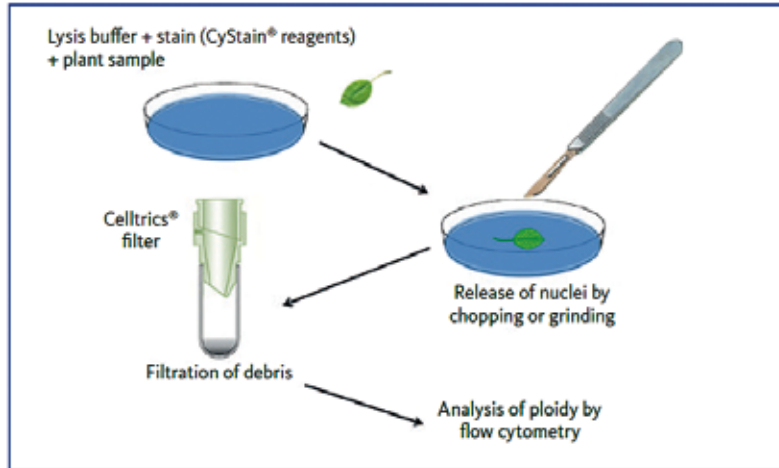
488 nm レーザーまたは532 nm レーザー (PI) を搭載したFCMを使用。

	検出フィルター構成
DAPI	<ul style="list-style-type: none"> ・最大励起 : 345 nm、最大蛍光 : 455 nm ・フィルター (455/50 nm etc.)
PI	<ul style="list-style-type: none"> ・最大励起 : 530 nm、最大蛍光 : 630 nm ・PI 検出用フィルター (590 nm ロングパスフィルター、590/50 nm、675/20 nm etc.)

サンプル調製

組織断片にExtraction buffer を加えた後、カミソリでサンプルを刻み、一定時間静置します。

50 μ m CellTrics セルストレイナーにてフィルトレーションしたのち、CyStain buffer を加えて核染色を行います。



目的サンプル種とほぼ同じゲノムサイズを持つ生物種の核からレファレンスを用意します。種間でのばらつきを低減するためにサンプルと同時に調製することが必要です。次の関係式により、レファレンスDNA(重量pgもしくは塩基対bp)との比較から、サンプルの正確な測定が可能となります。

$$\text{DNA content (bp)} = 0.978 \times 10^9 \times \text{DNA content (pg)}$$

関連製品 (CyStain シリーズ)

製品番号	製品名	内容	容量・サイズ
CU246612	CyStain UV Ploidy	核抽出と染色 (DAPI) を1ステップで行う	250テスト
AF009546	CyStain UV Precise P	強酸による核抽出、染色 (DAPI) を2ステップで行う	250テスト
BA327320	CyStain UV Precise P automate	同上で96ウェルプレート用に容量を調整	250テスト
CK250398	CyStain UV Precise T	弱酸による核抽出、染色 (DAPI) を2ステップで行う	250テスト
BN763072	CyStain UV Precise T automate	同上で96ウェルプレート用に容量を調整	250テスト
BH251553	CyStain PI Absolute P	強酸による核抽出、染色 (PI) を2ステップで行う	250テスト
AN695184	CyStain PI Absolute T	弱酸による核抽出、染色 (PI) を2ステップで行う	250テスト
CY696051	CyStain DNA 1 step	動物細胞用の核抽出と染色 (DAPI) を1ステップで行う	250テスト
AT803834	CyStain DNA 2 step	動物細胞用の核抽出と染色 (DAPI) を2ステップで行う	250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。