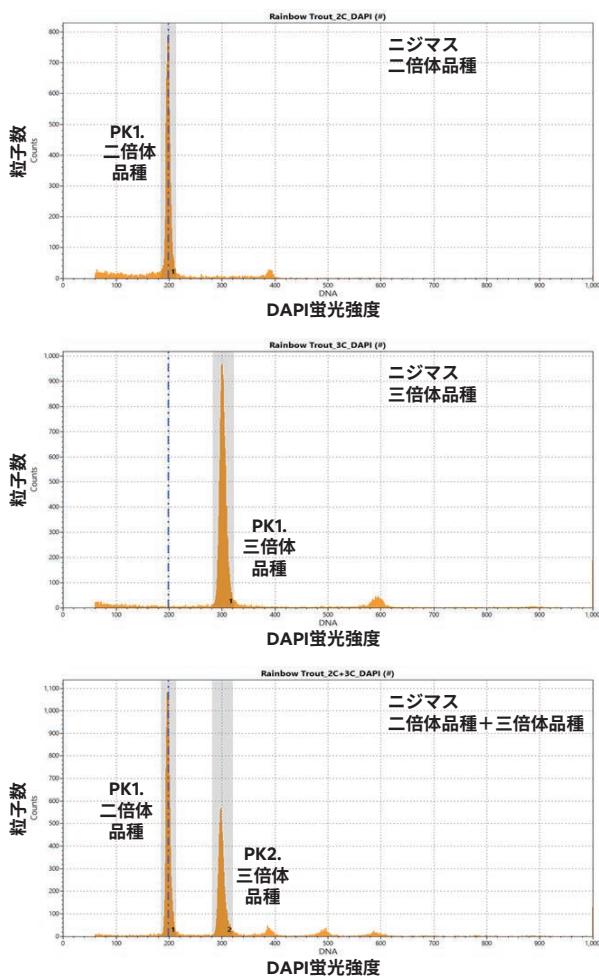


## 水産物の倍数性解析 CyStain DNA染色キットを用いたフローサイトメトリー

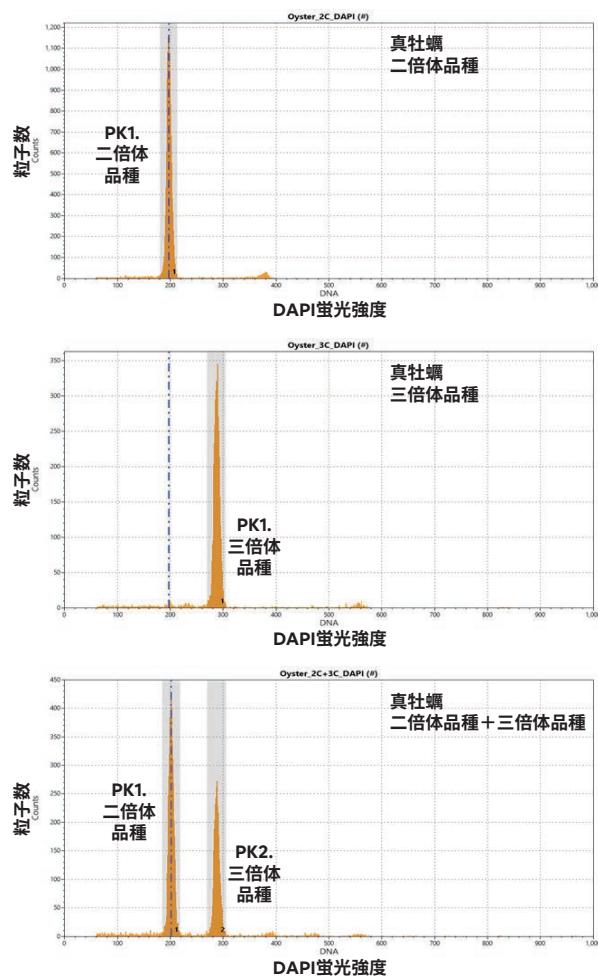
水産養殖において、染色体操作技術による性の統御や不妊個体の作出など、いわゆる倍数性育種が注目されています。このような育種技術の開発にあたって、作出された個体の倍数性を判定することは非常に重要です。本アプリケーションレポートでは、CyStain DNA染色キットを用いた魚類・貝類のサンプル調製方法とフローサイトメーター CyFlow RP-300/RP-310 Ploidy Analyzerを用いた倍数性解析例をご紹介します。

### 結果

#### a. ニジマス



#### b. 真牡蠣



ID	Overview	Info	Ploidy				DNA Index			
			1	2	3	4	PK1	PK2	PK3	PK4
Rainbow Trout_2C_DAPI		Reference		2C			1.00			
Rainbow Trout_3C_DAPI				3C			1.52			
Rainbow Trout_2C+3C_DAPI			2C	3C			1.00	1.51		

ID	Overview	Info	Ploidy				DNA Index			
			1	2	3	4	PK1	PK2	PK3	PK4
Oyster_2C_DAPI		Reference		2C			1.00			
Oyster_3C_DAPI				3C			1.46			
Oyster_2C+3C_DAPI			2C	3C			1.02	1.46		

図1. 水産物(ニジマス、真牡蠣)の倍数性解析

ニジマス(a)・真牡蠣(b)の固体組織からCyStain UV Precise Tを用いて染色サンプルを調製し、CyFlow RP-310 Ploidy Analyzerで測定。測定結果をCyView Batchデータ解析ソフトウェアで解析し倍数性レポートを作成。

## サンプル調製・測定

### ■ CyStain UV Precise Tを用いたDAPI染色

- 魚類では尾ビレ(図2a)など、貝類では外套膜(図2b)などから約5 mm角の組織を採取する。
- 採取した組織片を添付文書に従って調製した0.5 mLのExtraction Buffer working solutionに入れ、軽くボルテックスミキサーで攪拌し5分間静置する。
- 再度、軽くボルテックスミキサーで攪拌した後に、CellTrics 50  $\mu\text{m}$ でろ過する。
- ろ液に2 mLのStaining Bufferを加え染色後、CyFlow RP-300/RP-310 Ploidy Analyzerで測定する。

### ■ CyStain PI Absolute Tを用いたPI染色

- 魚類では尾ビレ(図2a)など、貝類では外套膜(図2b)などから約5 mm角の組織を採取する。
- 採取した組織片を添付文書に従って調製した0.5 mLのExtraction Buffer working solutionに入れ、軽くボルテックスミキサーで攪拌し5分間静置する。
- 再度、軽くボルテックスミキサーで攪拌した後に、CellTrics 50  $\mu\text{m}$ でろ過する。
- 添付文書に従ってPIとRNase Aを添加したStaining Solutionを2 mL加え室温、暗所で30分間静置する。
- CyFlow RP-310 Ploidy Analyzerで測定する。

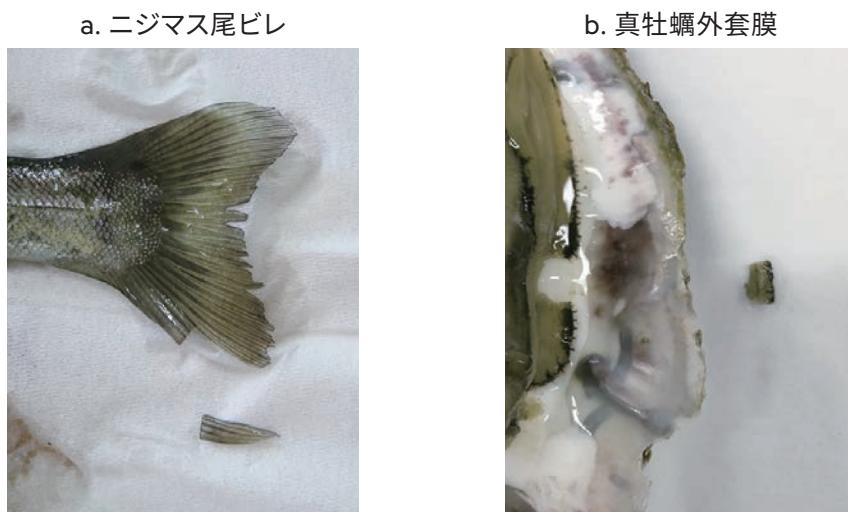


図2. 魚類・貝類からの固形組織片の採取

## 試薬・機器

- CyStain DNA染色キット
  - DAPI染色 : CyStain UV Precise T (弱酸性、主に動物用) (Sysmex, cat# CK250398)
  - PI染色 : CyStain PI Absolute T (弱酸性、主に動物用) (Sysmex, cat# AN695184)
- CellTrics 50  $\mu\text{m}$  (Sysmex, cat# BM786910)
- CyFlow RP-300 Ploidy Analyzer (UV-LED [DAPI]) (Sysmex, cat# AW755564)
- CyFlow RP-310 Ploidy Analyzer (UV-LED [DAPI] + グリーンレーザー [PI]) (Sysmex, cat# BF209548)

※本製品は研究用であり、診断には使用できません。

お問合せ先

**シスメックス株式会社**

日本・東アジア地域本部 R&I 営業推進部

神戸 神戸市西区室谷1-3-2 〒651-2241

東京 東京都品川区大崎1-2-2 〒141-0032

[www.sysmex-fcm.jp](http://www.sysmex-fcm.jp)