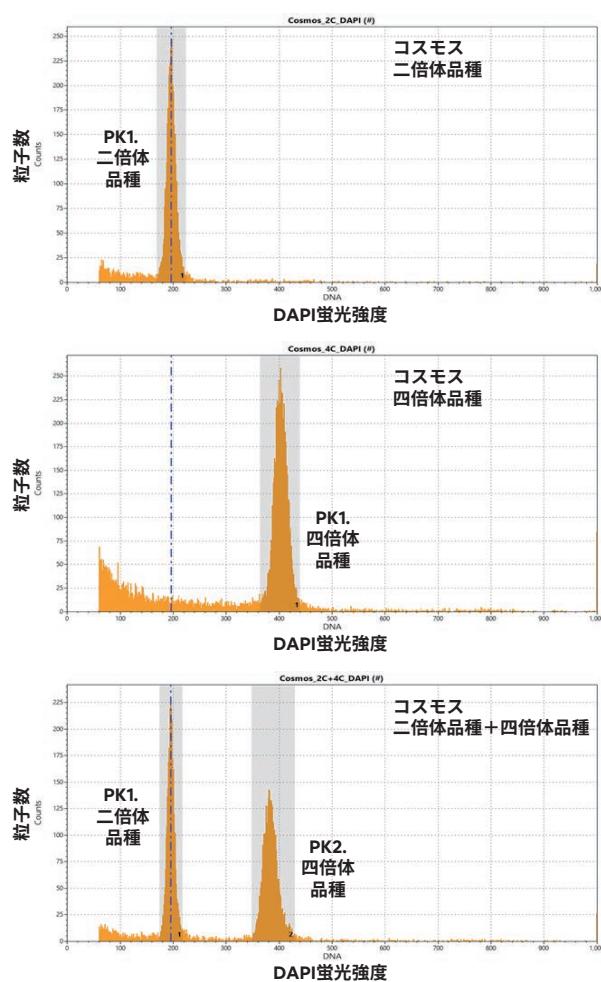


植物の倍数性およびゲノムサイズの解析 CyStain DNA染色キットを用いたフローサイトメトリー

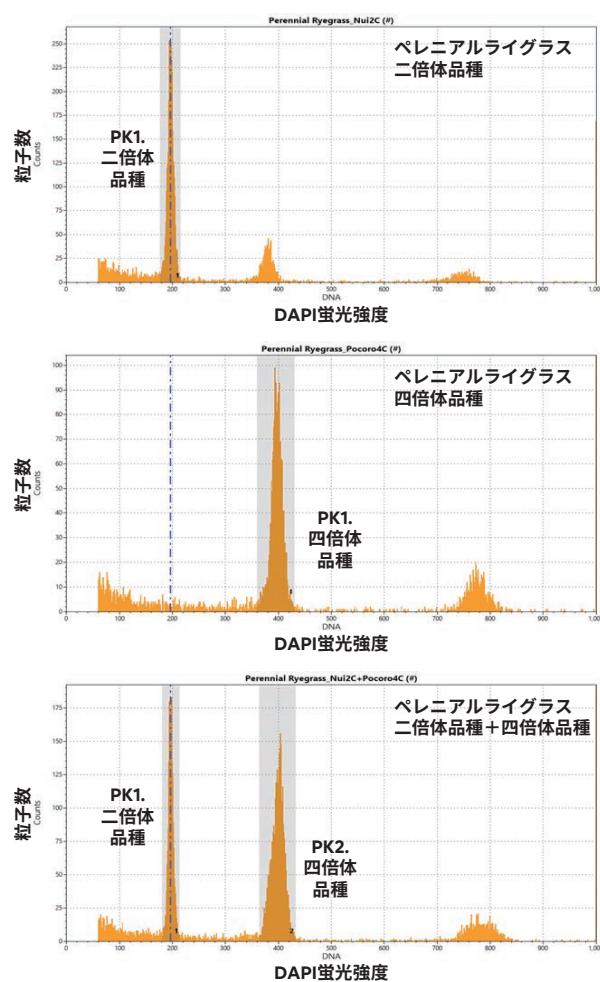
植物の倍数性育種やゲノム育種において、倍数性の判定やゲノムサイズの推定は非常に重要です。本アプリケーションレポートでは、CyStain DNA染色キットを用いた植物のサンプル調製方法とフローサイトメーター CyFlow RP-300/RP-310 Ploidy Analyzerを用いた倍数性およびゲノムサイズの解析例をご紹介します。

結果

a. コスモス



b. ペレニアルライグラス

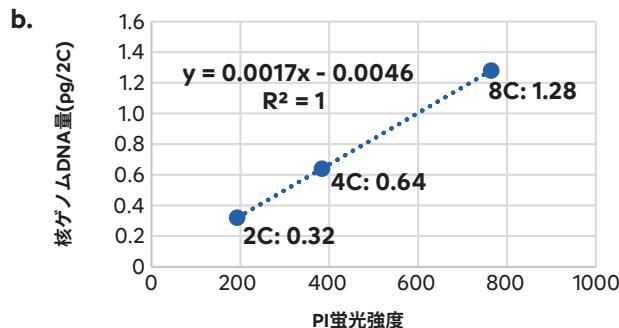
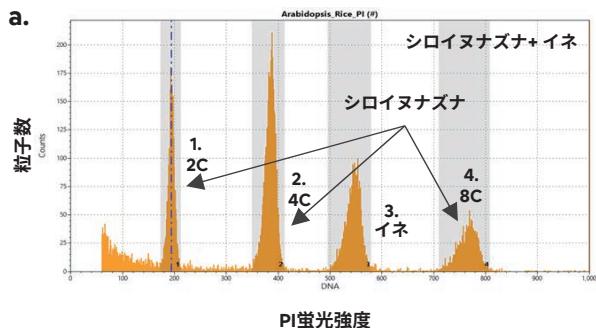


ID	Overview	Info	Ploidy				DNA Index			
			1	2	3	4	PK1	PK2	PK3	PK4
Cosmos_2C_DAPI		-		2C			1.00			
Cosmos_4C_DAPI		-			4C		2.06			
Cosmos_2C+4C_DAPI		-	2C		4C		1.00	1.96		

ID	Overview	Info	Ploidy				DNA Index			
			1	2	3	4	PK1	PK2	PK3	PK4
Perennial Ryegrass_Nu12C		-		2C			1.00			
Perennial Ryegrass_Pocoro4C		-			4C		2.03			
Perennial Ryegrass_Nu12C+Pocoro4C		-	2C		4C		1.00	2.04		

図1. 植物(コスモス、ペレニアルライグラス)の倍数性解析

コスモス(a)・ペレニアルライグラス(b)の葉からCyStain UV Precise P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。



PI蛍光強度平均値

Region	Parts	%Total	%Marked	Center	Mean	Median	CV%	Left	Right	Ratio
1	2357	16.98	20.43	194.00	193.13	193.90	3.33	173.00	212.00	1.000
2	4486	32.32	38.88	387.00	383.87	385.33	2.67	349.00	412.00	1.988
3	2965	21.36	25.70	548.00	543.56	545.63	2.66	496.00	579.00	2.814
4	1731	12.47	15.00	769.00	764.61	767.30	2.44	710.00	808.00	3.959

シロイヌナズナ 核ゲノムDNA量 (2C) = 0.32 pg*

*Kew Plant C-values Database (<https://cvalues.science.kew.org/>)
(参照 2025-06-01)

【推定】

イネ 核ゲノムDNA量 (2C) = 0.92 pg

イネ ゲノム配列長 = $0.978 \times 10^9 \times 0.46 = 450 \text{ Mbp}$

図2. 植物(イネ)のゲノムサイズ解析

- 核内倍加を示すシロイヌナズナを内部標準にし、イネとシロイヌナズナの葉を纏めてCyStain PI Absolute Pを用いて染色サンプルを調製し、CyFlow RP-310 Ploidy Analyzerで測定。
- 内部標準として使用したシロイヌナズナの2C, 4C, 8C核のPI蛍光強度の平均値と既知のシロイヌナズナ核ゲノムDNA量(0.32 pg)をもとに検量線を作成しイネの核ゲノムDNA量を算出。

サンプル調製・測定

■ CyStain UV Precise P・CyStain PI Absolute P

- 若く新鮮な葉などから約5 mm角の組織をシャーレに採取する。
- 0.5 mLのNuclei Extraction Bufferを添加しカミソリで切り刻みCellTrics 50 μm でろ過する。
- CyStain UV Precise Pでは2 mLのStaining Bufferを添加し、CyFlow RP-300/RP-310 Ploidy Analyzerで測定する。CyStain PI Absolute Pでは添付文書に従ってPIとRNase Aを添加したStaining Solutionを2 mL加え室温、暗所で30分間静置した後、CyFlow RP-310 Ploidy Analyzerで測定する。

試薬・機器

- CyStain DNA染色キット
 - DAPI染色 : CyStain UV Precise P (強酸性、主に植物用) (Sysmex, cat# AF009546)
 - PI染色 : CyStain PI Absolute P (強酸性、主に植物用) (Sysmex, cat# BH251553)
- CellTrics 50 μm (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。

お問い合わせ先

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

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。

No part of this publication may be reproduced or copied without prior written permission of the publisher.

©2026 SYSMEX CORPORATION

ISRP_A34_2601_1