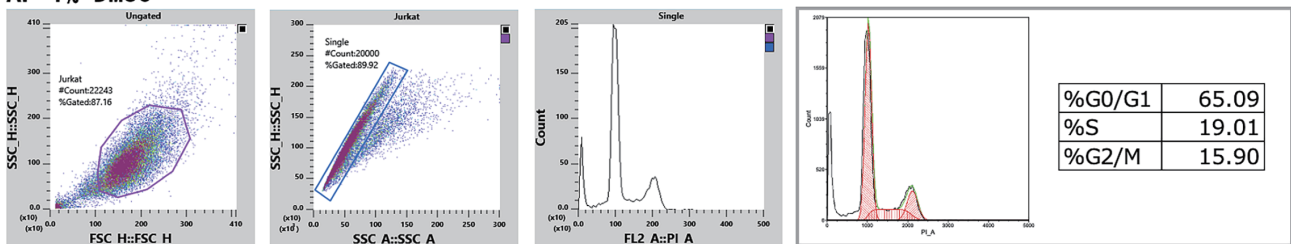


【RF-500】細胞周期解析 –PI染色法–

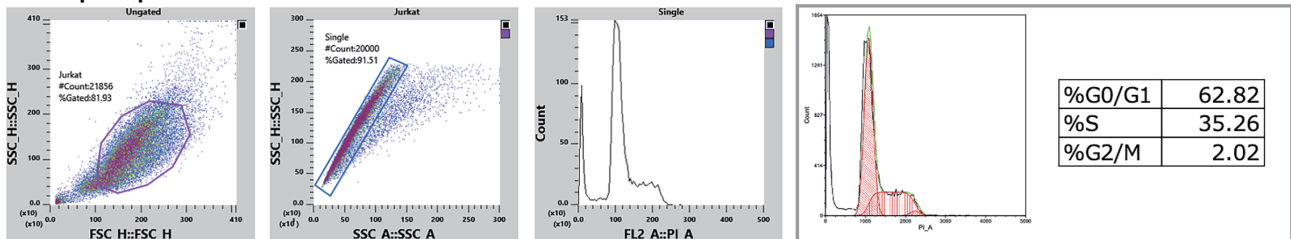
アプリケーションレポート Vol.28

細胞周期解析は、細胞増殖機構の解明のために欠かせない解析の一つです。フローサイトメトリーでは、DNA検出試薬で染色した個々の細胞の蛍光強度を測定することにより、DNA含量に応じた細胞周期の各期の細胞割合を算出することが可能です。本アプリケーションレポートでは、フローサイトメーター RF-500を用いたPI染色法での細胞周期解析の例をご紹介します。

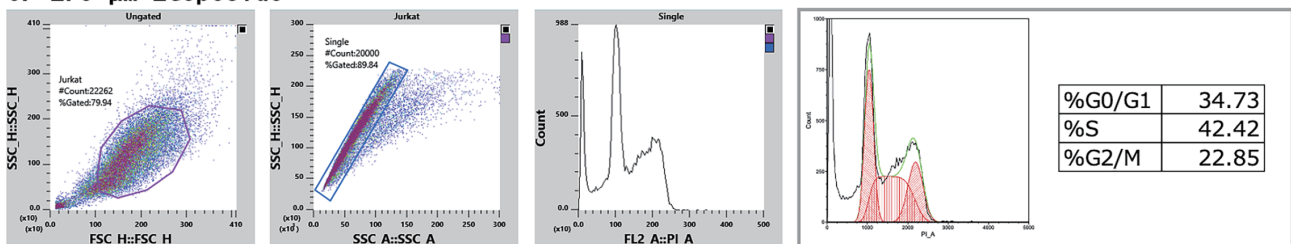
A. 1% DMSO



B. 2 μM Aphidicolin



C. 2.5 μM Etoposide



D. 0.5 μM Paclitaxel

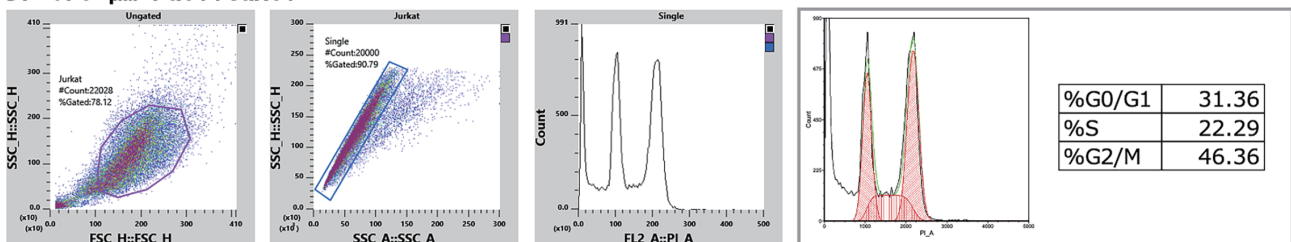


図1. フローサイトメーター RF-500を用いたJurkat細胞の細胞周期解析(PI染色法)
Jurkat細胞を1% DMSO(A)、2 μM Aphidicolin(B)、2.5 μM Etoposide(C)、0.5 μM Paclitaxel(D)で15時間処理しました。細胞を回収後、PI染色しRF-500で測定しました。測定結果を市販の解析ソフト(FCS Express)で解析し、各期の細胞割合を算出しました。

サンプル調製・測定

1. Jurkat細胞を 5×10^5 cells/mLに濃度調整し、一晚培養します。
2. 細胞を回収後、 2×10^6 cells/mLに濃度調整し、12 wellプレートに1 mLずつ播種します。
3. DMSOで濃度調整した薬剤を1%添加後、15時間培養します。
4. PBS (-)で2回洗浄後、300 μ LのPBS (-)に懸濁します。
5. 細胞懸濁液をシェーカーで攪拌しながら、 -20°C で冷却した100%エタノールを1滴ずつ700 μ L添加します。
6. -20°C で一晩静置します。
7. PBS (-)で2回洗浄後、1 mLの100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ RNase溶液に懸濁し、 37°C で30分間静置します。
8. 10 μ Lの5 mg/mL PI溶液を添加し混和後、直ちにCellTrics 30 μm でろ過してフローサイトメーター RF-500で測定します。

試薬・機器

- Aphidicolin (Wako, cat# 017-09813)
- Etoposide (Wako, cat# 055-08431)
- Paclitaxel (Wako, cat# 163-28163)
- Ribonuclease (DNase free) solution (ニッポンジーン, cat# 313-01461)
- Propidium iodide (Thermo Fisher SCIENTIFIC, cat# P1304MP)
- CellTrics 30 μm (Sysmex, cat# BP486257)
- フローサイトメーター RF-500 (Sysmex, cat# BF209548)

※ すべて研究用機器・試薬のため診断には使用できません。

※ 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。

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

ソリューションセンター 神戸市西区室谷1-3-2 〒651-2241

東京支社 東京都品川区大崎1-2-2 〒141-0032