

微小粒子/0.1 μm の検出

近年、エクソソームやEV (extracellular vesicle)などに代表されるように微小粒子の検出が求められています。CyFlow シリーズのフローサイトメーターでは、微小粒子を検出することが可能です。ここではCyFlow Cube 8 により0.1 μm の微小粒子ビーズを検出する例をご紹介します。

試薬・装置

- ・ Fluoresbrite® YG Microspheres* 0.10 μm (Polysciences, Inc. Cat. # 17150-10)
- ・ Fluoresbrite® YG Microspheres* 0.20 μm (Polysciences, Inc. Cat. # 17151-10)
- ・ Fluorescent Nile Red Particles* 0.4-0.6 μm (平均粒子径: 0.5 μm) (Bay bioscienc Cat. # FP-0556-2)
- ・ フローサイトメーター (対応可能機種): CyFlow Cube 6 / Cube 8, Space
- ・ シース液: 蒸留水 (高速液体クロマトグラフ用)、(ナカライテスク, Cat. 14029-33)

*: FL1 フィルターで検出可能

サンプル調製・測定

測定対象である各微小粒子ビーズは、バックグラウンドノイズを可能な限り抑えるために蒸留水 (高速液体クロマトグラフ用) により濃度調製し、低流速 (0.2 $\mu\text{l}/\text{sec}$) にて測定します。

0.1 μm の微小粒子ビーズを希釈 (4.55×10^{10} particles/ μl の微小粒子ビーズを $3\text{-}20 \times 10^6$ 倍に希釈) し、CyFlow Cube 8 により測定を行いました。

結果

青レーザー (488 nm) のSSC (側方散乱光) により、0.1 μm の微小粒子ビーズ由来のシグナルがバックグラウンドノイズに埋もれることなく検出されました (図1 a-d)。

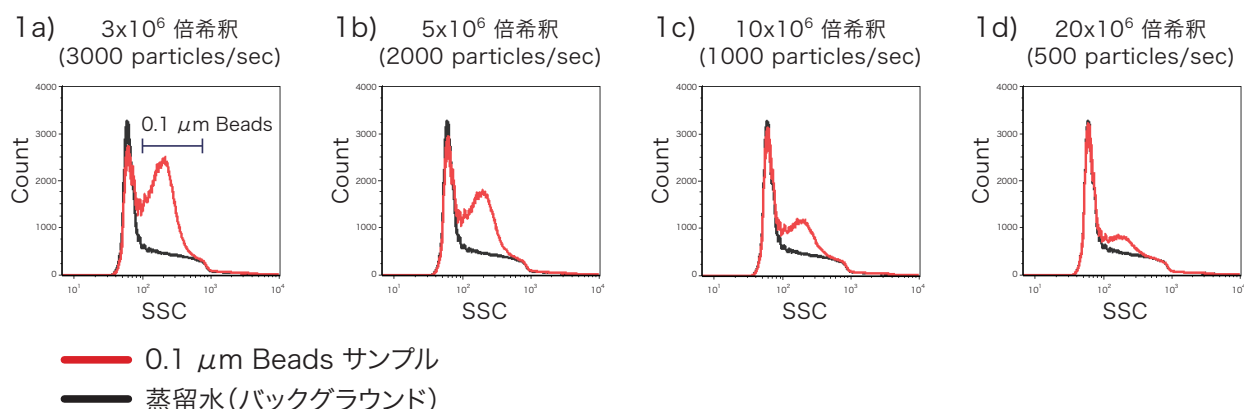


図1 異なる希釈率で調製した0.1 μm の微小粒子ビーズ溶液の測定
()内は1秒間あたりのビーズ検出数の理論値

各希釈率で調製した0.1 μm の微小粒子ビーズ溶液において、1秒間に検出されたビーズ数の実測値(計測値)は、サンプルの希釈率から算出される理論値と相関しており、微小粒子ビーズが計測されていることが示されました(図2)。

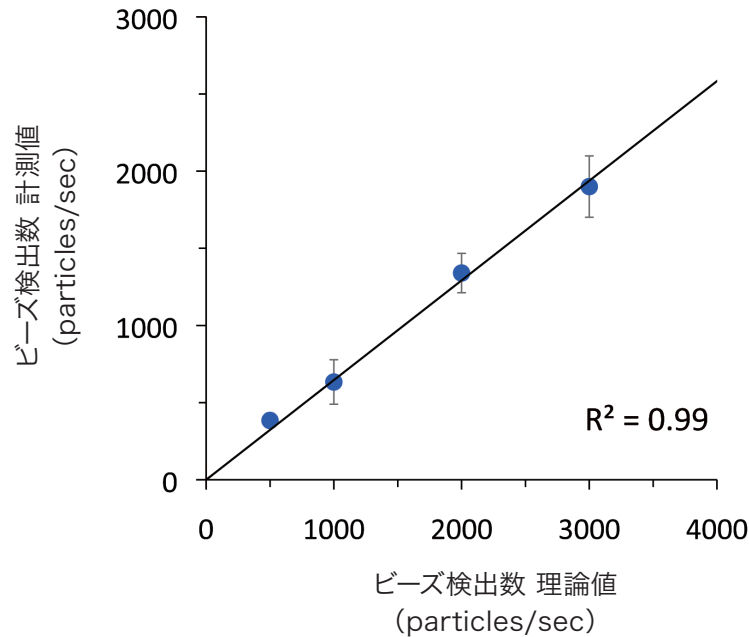


図2 1秒間に検出された微小粒子ビーズ数

粒子径の異なる3種類の微小粒子ビーズ(0.1 μm、0.2 μm、0.5 μm)を混合して測定した結果、各微小粒子ビーズは独立して検出され、高い分離能が示唆されました(図3a, b)。

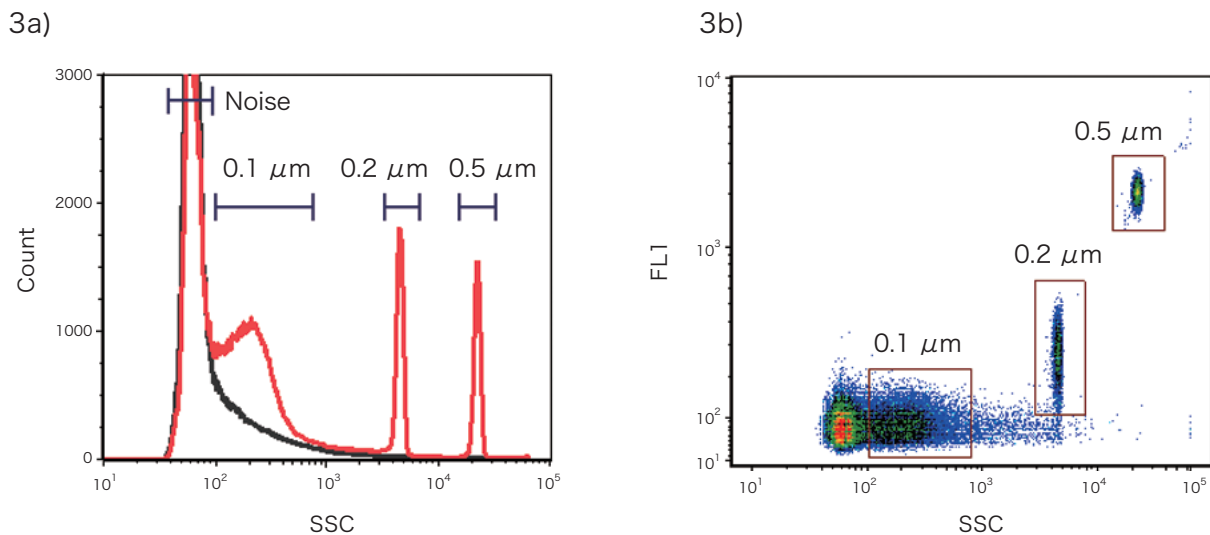


図3 3種類の微小粒子ビーズを混合して測定したときの(a) SSC ヒストグラムおよび(b)SSC-FL1 スキャッターグラム

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 078-992-6272 Fax 078-991-2317

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。

G1607002_1602_1607II