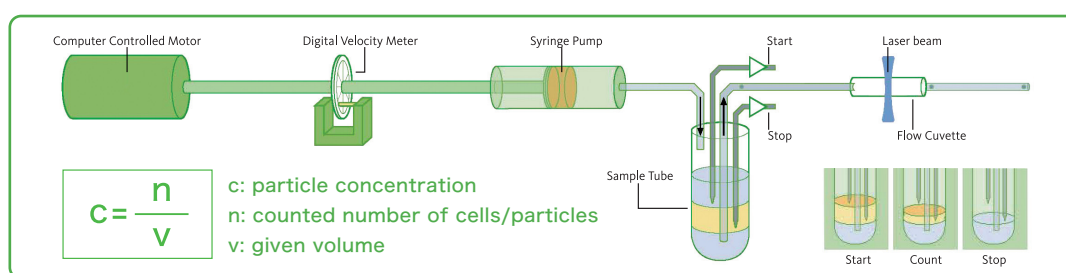


絶対数カウント測定法

このアプリケーションノートでは、CyFlow Cubeシリーズ (CyFlow Cube 6 および Cube 8) における絶対数カウント測定法のノウハウを記載します。Cubeシリーズはプラチナ電極を使用する方法と、シリンジにより測定する方法の2種類があります。この機能により、内部標準ビーズを用いることなく簡単にサンプル中の細胞、パーティクルの絶対数を知ることができます。ここではサンプルとしてビーズを用いた例をご紹介します。



試薬・装置

- Count Check Beads (Sysmex : CE552962)
(クオリティーコントロールのための専用ビーズです。青色およびバイオレットレーザーによって励起されます。)

サンプル準備

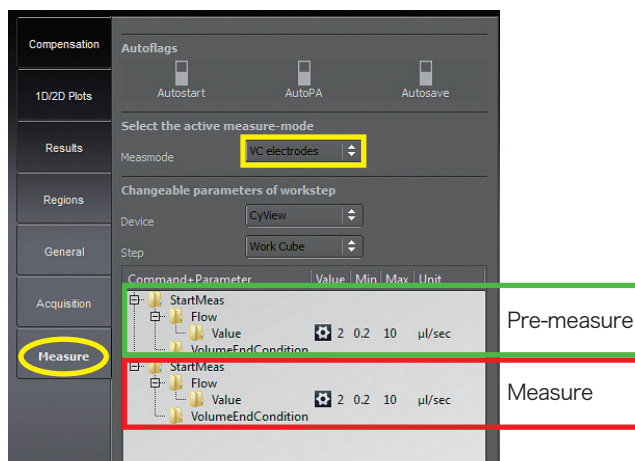
フローサイトメーターCube 6/Cube 8の専用サンプルチューブに850 μ lの Count Check Beadsを加えます。

フローサイトメーターによる解析

電極を使用した絶対数カウント方法 (VC electrodesモード)

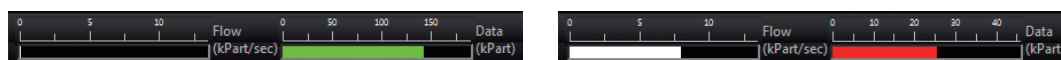
- “Measure” タブから右記の画面を表示します。
- 下記のように条件設定します。

- サンプル量：850 μ l
- 測定速度は 1-2 μ l/sec に収まるようにする。
- “pre-measure” と“measure” の測定速度は同じにする。
- “pre-measure” 測定は上部の電極がサンプル水面に達したところでストップする。
- “VC electrodes” の測定モードで測定されるサンプル量は常に 200 μ lである。



3. サンプルチューブをサンプルポートに取り付けて測定を開始します。

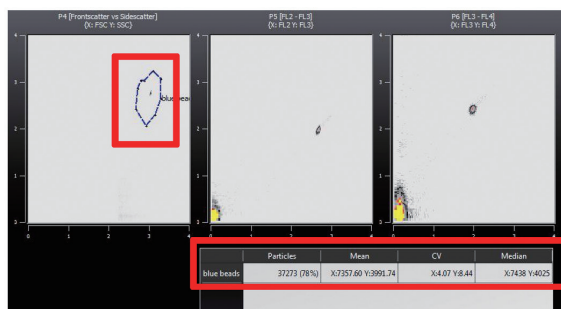
下記のように“pre-measure” phaseが始まり、水面が上部電極に達するまでに緑色のバーで表示され、電極が水面に達した時点で赤色のバーで表示されます。



4. 自動的に“measure”測定がスタートし、下部の電極に水面が達したところで測定が終了します。

(測定速度1 μl/sec の場合、測定終了まで約200秒を要する)

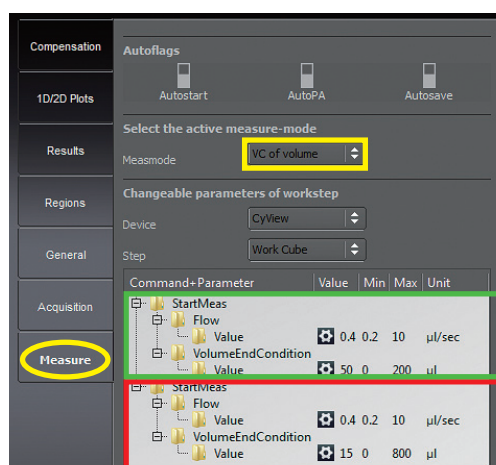
5. 結果データは下記のように表示されます。



ターゲットとする細胞集団をゲーティングします。ゲーティングしたリージョン数だけ左図のようにリストが表示されます。

電極を使用しない絶対数カウント方法 (VC of volume モード)

内蔵されているシリンジポンプを使った絶対数カウントです。正確性は、電極を使ったカウント(“VC electrodes”モード)の方が高くなります。この方法では任意のサンプル量を入力して測定することが可能です。



- ・ サンプル量(800 μlまで)および測定速度は自由に設定可能。
- ・ “pre-measure”と“measure”の測定速度は同じにする。
- ・ “pre-measure”は少なくとも30 秒程度を要する。(2 μl/sec で測定する場合、“pre-measure” フェーズでは少なくとも60 μlを要する)

その他のTips

- ・ サンプルを沈殿させないこと。
- ・ < 3000 events/sec はサンプルが沈殿する可能性があるため流速に注意すること。

関連試薬製品

| 製品番号 | 製品名 | 容量・サイズ |
|----------|-------------------|--------|
| CE552962 | Count Check Beads | 50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

リサーチセンター 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製・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。