ハイレゾリューションフローサイトメーター

CELL LAB QUANTA SC

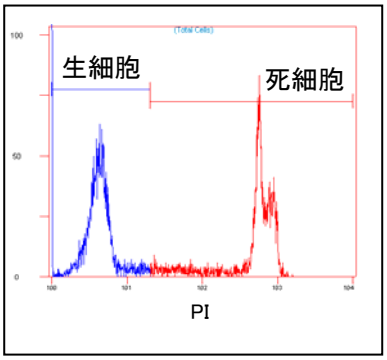
QUANTA SC アプリケーショントピック No.4

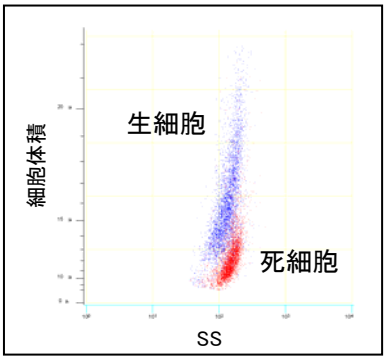
生死細胞の判別と計数

Innovate SIMPLIFY Automate

UV 励起蛍光色素による核染色にも対応！！

Cell Lab Quanta SC は、488nm, 435nm, 405nm, 366nm の光で励起可能な蛍光色素が発する蛍光を、最大 3 種類測定することができます。したがって、PI や 7-AAD のような 488nm 励起の核染色試薬のほか、UV 励起が必要な核染色試薬を用いた生死細胞の判別を行うことが可能です。また、一定容量のサンプリングが可能なシリンジ吸引方式を採用していますので、従来の一般的な FCM では内部標準粒子を用いなければならなかった細胞絶対数の測定*も容易に行うことができます。さらに、機器内部のサンプル流路に残ったサンプルを自動的にサンプルチューブに戻すこともできるので、容量の少ない貴重なサンプルを無駄なく、効率的に活用することができます。





PI は死細胞の DNA を染色する試薬としてよく知られています。この測定例では、PI 染色による生死細胞の判別（左）、さらに細胞体積の変化によっても生死細胞の確認（右）をしています。一般に死細胞の細胞体積は、生細胞よりも小さくなることが知られています。

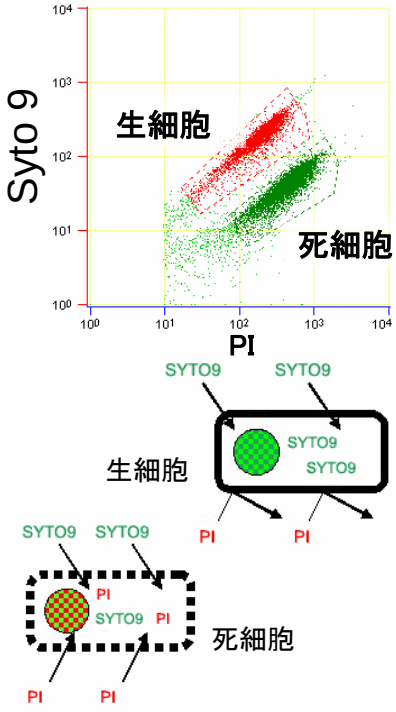
Cell Lab Quanta SC のコールター電気抵抗法による細胞体積の測定値は、散乱光では区別することのできない細胞の大きさの変化を検出可能です。

* コールター電気抵抗法の詳細については、Cell Lab Quanta SC アプリケーショントピック No1,2 をご参照ください。

マルチカラー解析で生死細胞それぞれの検出も可能！

Syto9 のような生細胞を染色可能な蛍光色素と、PI によるマルチカラー解析を行えば、右図のように、生死細胞それぞれを検出することも可能です。

* Cell Lab Quanta SC の光学系については、Cell Lab Quanta SC アプリケーショントピック No3 をご参照ください。



核染色試薬の特徴

核染色試薬は、細胞膜に対する透過性の有無によって大別することができます。代表的な核染色試薬である PI(Propidium Iodide)は、細胞膜に対する透過性がないため、生細胞の核 DNA を染色することはできません。しかし、死細胞では細胞膜の構造が崩壊するために PI が細胞膜によってブロックされることなく、核 DNA を染色することができます。

一方で、細胞膜に対する透過性を持つ核染色試薬もあり、上記例の Syto9 もその 1 つです。こうした試薬は生死細胞双方を染色することになりますが、PI のような死細胞のみを染色する試薬との併用で生細胞のみを検出することも可能になります。

このほか、DAPI や Hoechst といった核染色試薬もあります。

詳しくは弊社サイトメトリー専門 Web サイト（http://www.bc-cytometry.com/）内のフローサイトメトリー用蛍光色素一覧表をご参照ください。

代表的な核染色試薬は裏面にも掲載しています。

FCM による細胞絶対数の測定

現在の一般的なFCMの多くは、サンプル懸濁液に加圧することによってサンプルを測定系に送り出す形式を採用しています。この方式には、サンプルフローの安定性をはじめ数多くの利点がありますが、一定容量のサンプル懸濁液中の細胞を解析することができません。この場合、現在では内部標準粒子と呼ばれる、濃度既知の標準粒子をサンプル懸濁液中に添加し、測定後に標準粒子と細胞の比率から目的細胞の絶対数を算出することが一般的になっています。詳しくは、弊社サイトメトリー専門Webサイト（http://www.bc-cytometry.com/）内のアプリケーションノート5 「Flow-Countを用いた細胞絶対数の測定」をご参照ください。
Cell Lab Quanta SCでは、一定量のサンプリングが可能なシリンジ吸引方式を採用しているため、内部標準粒子や測定後の計算を必要とせず、細胞絶対数の測定が可能です。

代表的な核染色試薬

Hoechst33342	343	483	A-T特異的DNA染色、生細胞染色、2カラー染色体、アポトーシス
DAPI	345	455	A-T特異的DNA染色
Chromomycin A3	442／457	575	G-C特異的DNA染色、2カラー染色体
PI	488／536	617	1カラー染色体、DNAセルサイクル、死細胞除去
YOYO-1	491	509	DNAセルサイクル、死細胞除去
CPO	488	530／670	DNA(530)／RNA(670)、網赤血球測定
7-AAD	546	647	G-C特異性、DNAセルサイクル、死細胞除去
Ethidium homodimer-1	528	617	生細胞染色、Calcein AMと2カラーで細胞生死測定、死細胞除去
SYTO9	483	500	生細胞染色
SYBR Green I	498	522	DNAセルサイクル
LDS751	543／590	712／607	DNA（543ex／712em）、RNA（590ex／607em）、生細胞染色
TO-PRO-3	642	661	死細胞除去

Cell Lab Quanta SCでは、コールター電気抵抗法によって得られる細胞体積の変化に基づいた生死細胞の判別も可能です（表面データ例参照）。また、空冷固体レーザ（488nm）と水銀アークランプの併用により 488nm, 435nm, 405nm, 366nmの4つの励起波長を選択することができます。コールター電気抵抗法の詳細については Cell Lab Quanta SC アプリケーショントピック No.1,2 を、光学系の詳細については同 No3 および弊社サイトメトリー専門 Web サイトをご参照ください（http://www.bc-cytometry.com/）。

Cell Lab Quanta SC のアプリケーション例

- アポトーシス解析
- 細胞周期解析（DAPI, Hoechst 利用も可能）
- 細胞表面抗原密度解析
- 細胞内イオン濃度解析
- 核内 DNA 密度解析
- 生死細胞判別
- 蛍光タンパク（GFP, CFP など）解析

・・・etc.

ベックマン・コールター株式会社
お客様専用 0120-566-730 ☎ 03-6745-4704 FAX 03-5530-2460
e-mail bckkcas@beckmancoulter.co.jp URL http://www.beckmancoulter.co.jp
本　社：〒135-0063　東京都江東区有明2-5-7 TOC有明ウエストタワー　大阪支店：〒560-0083　大阪府豊中市新千里1-1-8 第一火災ビル8F
全国サポートセンター：札幌・仙台・つくば・名古屋・広島・福岡

0609-APT-Q4