

# 細胞表面や質内の抗原密度解析

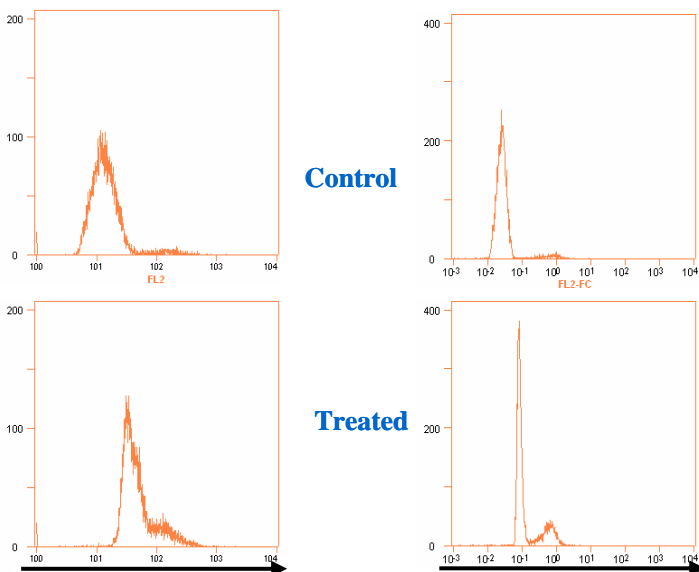
Innovate Automate  
SIMPLIFY

## 従来の FCM では解析できなかった細胞当たりの抗原密度を正確に測定！！

Cell Lab Quanta SC は、コールター電気抵抗法\*により細胞体積を正確に定量測定します。この細胞体積データを利用することで、従来の散乱光のみを利用したフローサイトメーターでは定量することのできなかつた細胞当たりの抗原密度を解析することが可能になります。

従来の散乱光を利用した FCM においても、細胞表面や細胞質内の抗原を蛍光色素で染色して検出することは可能でした。しかし、細胞の正確な大きさ(体積、表面積など)を測定することが出来なかつたため、このデータから細胞 1 つが持つ抗原の密度を解析することはできませんでした。Cell Lab Quanta SC は、コールター電気抵抗法による精密な細胞体積測定と蛍光強度をもとに、抗原密度の解析を実現しました。

\*コールター電気抵抗法の詳細については裏面参照



Caspase 3 蛍光強度

Caspase 3 蛍光強度/細胞体積  
= Caspase 3 密度(濃度)

蛍光強度\* / 細胞体積 = 抗原密度

\* 蛍光強度は蛍光色素で染色される抗原の量に比例

CD95 等による刺激で細胞にアポトーシス反応が起こると、細胞質内で活性化 Caspase 3 の濃度が上昇します。

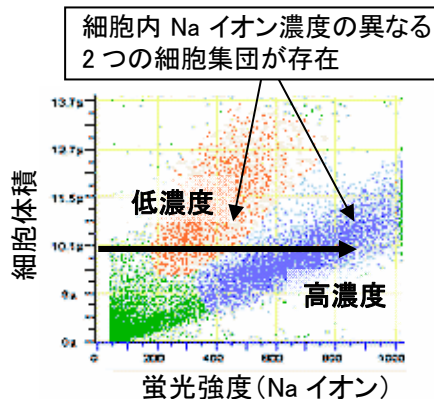
蛍光強度のみ(左下)では、活性化 Caspase 3 濃度の変化は不明瞭なピークの変化としてしか検出できません。

一方、細胞体積をもとに活性化 Caspase 3 の細胞当たりの濃度を見てみると(右下)、明瞭に濃度の異なる、2 つのピーク(細胞集団)が存在することがわかります。

### こんな応用も！！

上記アポトーシス解析の場合と同様に細胞内のイオンを蛍光染色して、得られた蛍光強度と細胞体積から、単位細胞体積当たりのイオン量を解析することができます。右図では、横軸に蛍光強度、縦軸に細胞体積をとっています。単位細胞体積当たりの Na イオン量が異なる、2 つの細胞集団の存在することが明確にわかります。

単位細胞体積当たりの蛍光強度  
= 単位細胞体積当たりの Na イオン量



細胞内 Na イオン濃度の異なる  
2 つの細胞集団が存在

蛍光強度 (Na イオン)

## コールター電気抵抗法とは？

Wallace Coulter が 1949 年に発明した、「粒子の体積と粒子の数を 1 個ずつ正確かつ精密に測定する」画期的な技術(コールター原理)です。

粒子の入った電解質溶液(例えば、食塩水)に小さな孔(細孔)の開いたガラス管を浸し、ガラス管の内外に 2 枚の電極を設置して一定電圧の電流を流しておきます。この状態でガラス管内を陰圧にすると、粒子が細孔を通過するたびに電気抵抗が発生します。発生する電気抵抗の大きさは、極めて正確に粒子の体積に比例することが知られており、粒子の形状、色、屈折率、内部構造、粒子の通過方向に影響されません。

Cell Lab Quanta SC は、コールター電気抵抗法による細胞体積と蛍光パラメータの同時測定を可能にした、極めてユニークなハイレゾリューションフローサイトメーターです。

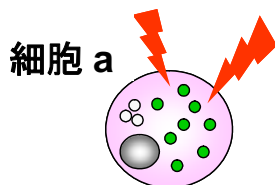


## 細胞体積から抗原密度へ

細胞質内の抗原密度が同じで、体積の異なる 2 つの細胞を想定してみましょう。

得られる蛍光強度は、細胞体積が大きくなるほど強くなります。これは、細胞体積が大きいほど、内部に存在する抗原量(分子数)が多くなるからです。ところが、もともと抗原密度には差が無いのですから、2 つの細胞に質的な差(抗原密度に関する限り)は無いと考えられます。蛍光強度とともにコールター電気抵抗法による正確な細胞体積を測定しておけば、単位細胞体積当たりの抗原量、すなわち抗原密度を客観的なデータとして表現することができます。

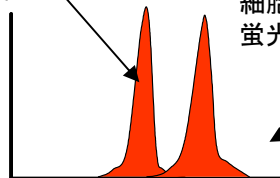
染色する抗原を細胞質内のイオンに置き換えて考えてみれば、単位細胞体積当たりのイオン量を比較することも可能なわけです。



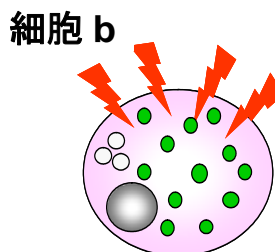
細胞 a

蛍光強度のみのデータからは、単位細胞体積当たりの抗原量(抗原密度)に差の無いことは不明

細胞 a から得られた  
蛍光強度

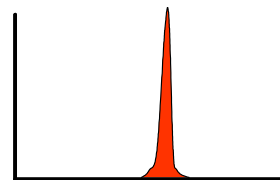


細胞 b から得られた  
蛍光強度



細胞 b

抗原密度で表示すると、質的な差の無いことが明白



蛍光強度 / 細胞体積  
= 抗原密度

## 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 [bckcas@beckmancoulter.co.jp](mailto:bckcas@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