

# CDA-1000 による細胞測定

## 1. はじめに

細胞を用いた実験が各分野で盛んに行われている。保存機関から細胞株を購入したり、組織から細胞を採取して利用するなど、実験目的に応じた細胞が用いられる。培養細胞を用いた実験では、細胞濃度や大きさの分布が、測定項目の一つとして用いられる。例えば、細胞の継代時に播く細胞数を適切に調整することが、細胞の維持、実験系の確立に重要となる。

そこで、CDA を用いた細胞測定を試み、得られた知見について報告する。

## 2. 試料

CHO-K1 細胞をシャーレにて接着培養し、サブコンフルエント～コンフルエントになったところでトリプシンを用いて細胞を回収して、培地に浮遊させた。

セルパック中に細胞浮遊液を混合して、適正濃度 ( $10^4$ /mL程度) に調整したものを測定対象とした。

## 3. 装置条件

- アパチャー :  $100 \mu\text{m}$
- X 軸 : 粒子径
- 分析量 :  $500 \mu\text{L}$

## 4. 結果

図 1 に CHO-K1 細胞の測定結果 (粒度分布) を示す。上記装置条件の測定範囲内に明瞭な粒度分布を示した。また、直線性 (図 2-1)、再現性 (表 1) とともに良好な結果を示しており、測定上大きな問題は無いと推察する。

### 4-1 測定結果

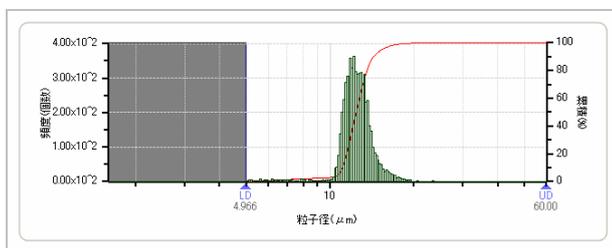


図 1-1 分布図

$12 \mu\text{m}$  付近にピークを持つ明瞭な粒度分布を得た。CDA が細胞を的確に捉えた結果と考える。

項目名	値	単位
分析容積	500.000	$\mu\text{L}$
粒子濃度	$1.29 \times 10^7$	/mL
カウント数	6219	個
平均粒子径	12.541	$\mu\text{m}$
粒子径SD	1.725	$\mu\text{m}$
粒子径CV	13.76	%
モード径	12.125	$\mu\text{m}$
分布幅(50%)	2.790	$\mu\text{m}$
10%	11.075	$\mu\text{m}$
25%	11.615	$\mu\text{m}$
50%	12.415	$\mu\text{m}$
75%	13.335	$\mu\text{m}$
90%	14.305	$\mu\text{m}$
< $9.000 \mu\text{m}$	2.44	%
< $10.97 \mu\text{m}$	8.02	%
< $13.00 \mu\text{m}$	66.63	%
< $14.98 \mu\text{m}$	93.83	%

図 1-2 測定・解析結果

測定結果画面には、粒度分布のほか、上図のような各データが表示される。ふるい設定 (<  $\mu\text{m}$ )、積算分率 (%) は任意の値に設定可能である。

### 4-2 直線性

濃度  $2 \times 10^2 \sim 6 \times 10^4$ /mL のデータを示す。

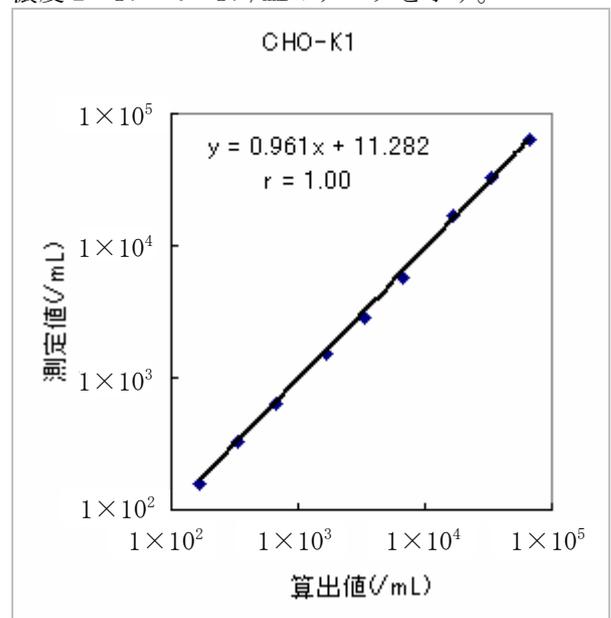


図 2-1 直線性グラフ

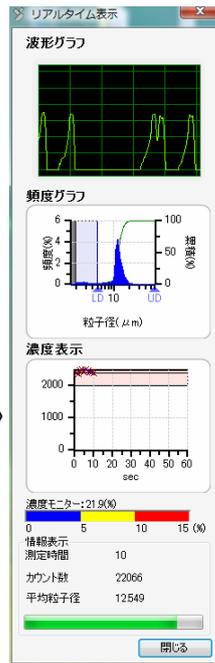
回帰直線、相関係数とともに良好な数値を示した。

このことから、測定試料は、 $2 \times 10^2 \sim 6 \times 10^4$ /mL 程度に調整すればよいことがわかる。

\*) 推奨濃度範囲について

リアルタイム表示画面の〔濃度表示〕グラフの数値が2000を超えない濃度を意味する。  
 今回、測定に用いた試料の場合、 $6 \times 10^4$ /mL以上で2000を超えた

測定を開始すると右図のようなリアルタイム表示画面が開く。濃度表示が2000を超えると同時通過の影響を受けやすくなる。



希釈倍率の入力について

上記データは直線性を見るために〔希釈倍率〕を「1」に設定した。  
 [希釈倍率]に測定試料調製時の倍率を入力すれば、自動的に換算する機能によって元(希釈前)の試料濃度を表示する。

4-3 同時再現性

約  $1.3 \times 10^4$ /mLの試料を用いて同時再現性を確認したところ、良好な再現性(CV%)を示した。

表 1 CHO-K1 細胞の再現性

	粒子濃度 ( $\times 10^4$ /mL)
1	1.29
2	1.30
3	1.29
4	1.30
5	1.29
6	1.30
7	1.28
8	1.26
9	1.29
10	1.27
平均	1.28
CV	1.04%

測定試料の粒度分布を示す。(縦軸の最大値は自動調整)

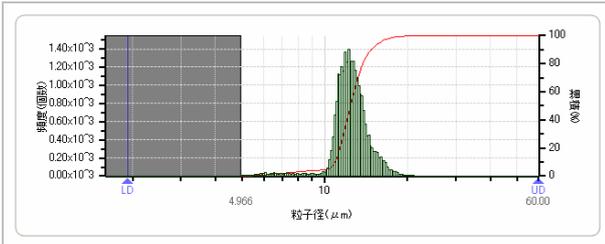


図 2-2  $6.3 \times 10^4$ /mL (200 倍希釈)

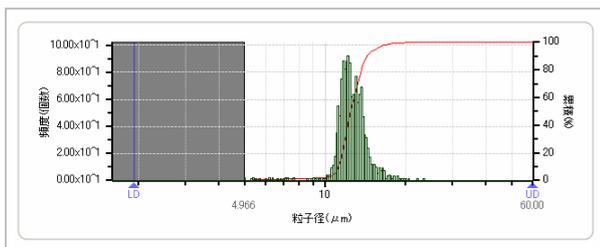


図 2-3  $2.9 \times 10^3$ /mL (4000 倍希釈)

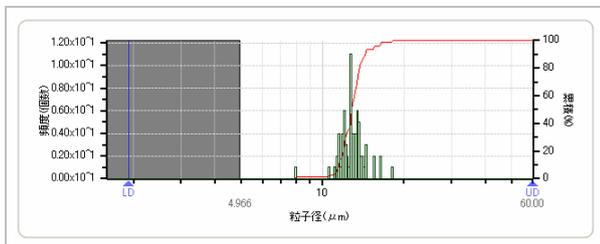


図 2-4  $1.6 \times 10^2$ /mL (80000 倍希釈)

5. 3T3L1 細胞の場合

3T3L1 細胞の測定結果を示す。  
 装置条件は CHO-K1 の装置条件と同じ。  
 アパチャー : 100 μm  
 X 軸 : 粒子径  
 分析量 : 500 μL

培養した 3T3L1 細胞を回収して細胞浮遊液を調製し、セルパックで 150 倍希釈(約  $1.1 \times 10^4$ /mL)に調整してから測定した。  
 その結果、16 μm 付近にピークを持つ明瞭な粒度分布を得ることができた。

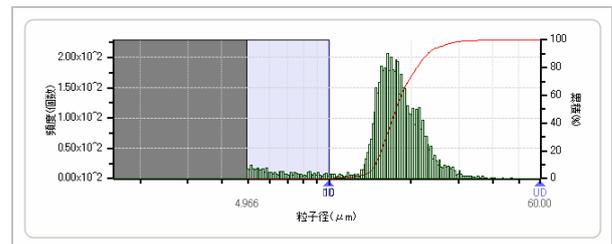


図 3 3T3L1 細胞 粒度分布

発行 : シスメックス株式会社 科学計測事業部

〒651-2271 神戸市西区高塚台 4 丁目 4 番地の 4

Tel. (078) 991-2091 Fax (078) 997-9976

URL : <http://www.sysmex.co.jp/labscience/>

Published by : SYSEMEX CORPORATION SCIENTIFIC INSTRUMENTATION BUSINESS DIV.

Copyright © 2010 by SYSEMEX CORPORATION

No part of this publication may be reproduced without the prior the written permission of the publisher.

Printed in Japan.

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。