

## フローサイトメトリーによる細胞集団の解析

フローサイトメーターは現在の医学・生物学の発展に貢献してきており、今後、従来の機能に加えてイメージングや機械学習の技術等が導入されたフローサイトメーターの進化や普及により、更なる生命現象の解明が期待される。これまでフローサイトメーターについては、測定方法や解析ソフトの利用法等、詳細な個々の解説は見受けられるものの、フローサイトメーターの実用例を含めた初歩的な解説は数少ない。そこで本稿では、主にはじめて学ぶ方々を対象に、フローサイトメーターの原理から実際の利用について基礎的な内容をできるだけ幅広く取り上げて解説する。

志村 絵理

### 1 はじめに

制御された水流中で蛍光標識された大量の粒子を一つずつ高速に解析することができるフローサイトメトリー (flow cytometry : FCM) は基礎研究や臨床検査等幅広い分野で活用されている。研究分野では特に生物を対象とした細胞の解析に FCM 解析が用いられることが多い。

本稿では、FCM の歴史や基本原理を紹介したのち、フローサイトメーターの利用方法を概説する。最後に、動物細胞集団の FCM による細胞解析の実例を紹介する。

### 2 フローサイトメトリーの概要

#### 2.1 細胞計数装置とフローサイトメーター

フローサイトメーターは近年、より多くのパラメータが測定可能となっているため、細胞集団の同定や分取、特定の分子の発現量の評価など様々な分析に用いられているが、その起源を遡ると自動細胞計数装置の原理にたどり着く。

研究及び医療分野において細胞計数は、重要な測定の一つである。研究分野においては細胞の増殖や生存率の測定、細胞継代過程における細胞濃度の測定等、様々な意図により実施される。また医療分野においては、血球計数検査や細胞療法等に用いられている。

1950 年頃までは、細胞の計数は血球計算盤を用い、顕微鏡下における人の目視により行われていたが、その後、Wallence H. Coulter が電気抵抗を利用した粒子測定原理を示したことで、新しい細胞計数法が生まれた。この原理は、粒子が細孔を通過した際の電気抵抗の変化を利用して粒子測定を行うというものである<sup>1)</sup>。

Coulter の原理に基づいた機器が登場することで、細胞計数の自動化が可能となり、目視による計数における多くのデメリットが改善され、現代における血球計数装置の先駆けとなった。

1960 年代には更にレーザーを搭載した装置としてフローサイトメーターが開発され、粒子を一個ずつ高速で計数できる Coulter の原理の特徴が応用されることとなる<sup>2)</sup>。フローサイトメーターでは、毎秒数千個以上の速度で細胞などの粒子一個ずつの形態情報、ならびに細胞においては、DNA, RNA, タンパク質へ蛍光染色や蛍光免疫染色を施すことで、それらの情報を取得することが可能である。

フローサイトメトリーでは、細胞浮遊液を試料として調整する必要があるため、一般的には蛍光顕微鏡のように観察面における細胞の形態や分子の局在・動態のイメージ画像や動画を取得することができないが、1秒あたり数万個といった多数の細胞の情報を取得できることから、細胞集団の解析に適している。また、セルソーターを利用することで、複数のパラメータを組み合わせて特定の細胞を分取することが可能であることから、分取した細胞の遺伝子解析や培養実験等に幅広く利用されている。

#### 2.2 フローサイトメーターの基本原理

##### 2.2.1 フローサイトメーターの構成

FCM のための機器であるフローサイトメーターは、解析のみを目的としたアナライザーと解析結果に基づいて目的細胞を生きのまま分取する装置が追加されたセルソーターに大別される。アナライザーはフロー系と測定系から構成され、セルソーターはさらにソーティング系が装備されている (図 1)。

フローサイトメーターを用いて解析を実施したことは『FCM 法』『FCM で解析した』といった装置と解析法を意識していない言い回しや、FACS (fluorescence-activated cell sorting) の 4 文字で表現される。FACS は細胞分取装置も含むことになるが、慣例的にこの表現を用いていることも多い。

##### (a) フロー系

フローセルが中心となり、細胞懸濁液試料中の細胞

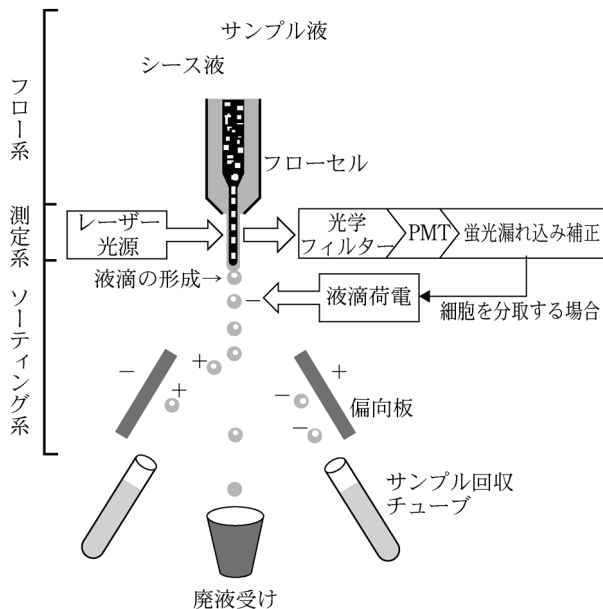


図1 フローサイトメーターの概略

が一列に並んで連続的に流れる状態が作り出される。フローサイトメーターでは、シース（鞘）液とよばれる溶液を一定の速度で流路に流しており、フローセルはその流れの中心に試料溶液が合流し、層流が形成されるように設計されている。試料溶液とシース溶液は、コンプレッサーなどの圧力で押し出されており、シース液よりも試料液が押し出される圧力を低くすることで流体力学的絞り込み（hydrodynamic focusing）が生じる。これにより、試料溶液とシース溶液の流れは混ざることなく層流を形成すると共に、流径の非常に細い試料溶液の流れを、シース溶液の流れが鞘のように包み込む状態となる。このように溶液の圧力差を調節することで、試料溶液の流径を細胞一つしか通れない細さに絞ることができ、結果として細胞は一つずつ連続的に流れてゆく。フローセルはこの他にも、シース溶液を用いないマイクロキャピラリーや、超音波の照射を利用した音響絞り込み（acoustic focusing）とよばれる技術により、細胞を一列に並べる機構を搭載した装置もある。

(b) 測定系

フローセルを通過する細胞は、流路に直行するレーザー光の照射を受ける。この時、細胞はレーザー光を散乱させ、蛍光色素は励起されて蛍光を発する。散乱光は、前方散乱光（forward scatter : FSC）と側方散乱光（side scatter : SSC）が観測され、FSCは細胞の大きさを、SSCは内部構造の複雑さを反映する（図2A）。各蛍光色素からの蛍光は、特定の波長以上もしくは以下のみを反射するダイクロックミラーと、特定の波長のみを通過させる光学フィルターを組み合わせることによって、各蛍光色素の蛍光波長領域に分光され、光電子増倍管（photomultiplier tube : PMT）

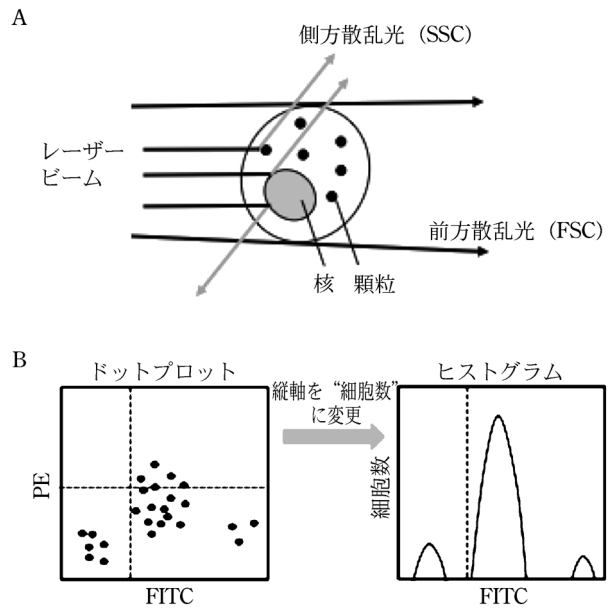


図2 レーザーによる細胞の検出と表示の例

に導かれる。PMTはその機器で測定可能なパラメータの数だけ搭載されており、微弱な蛍光（光子）を電子へ変換及び増幅することで、光子の量を電圧として測定可能となる。蛍光色素についての詳細は省略するが、これまでにフローサイトメーターでの測定に適した蛍光色素が数多く開発されている。

測定結果の表示の例を図2Bに示す。細胞一つずつを表現したドットプロットや、縦軸を細胞数に変えたヒストグラム等の表示方法があり、表示方法を変えることで、解析に適した機器設定や測定を行う。

(c) 蛍光漏れ込み補正

各蛍光組織の蛍光波長分布は最大蛍光波長をピークとして特に長波長側に広がっており、隣接する蛍光色素の蛍光波長域と重複することが多い。そのため、光学フィルターで波長域別に分離しても、各検出器に目的以外の蛍光色素からの蛍光が漏れ込むことがある。例えば、FITC（fluorescein isothiocyanate）からの蛍光は、FITC用のPMTだけでなく、隣接するPE（phycoerythrin）用のPMTでも検出される（図3A）。複数の蛍光色素を用いてマルチカラー測定を行う場合、この漏れこみがデータに影響するため、各蛍光色素についてそれぞれの検出器への漏れこみ量を測定し、漏れこみ分を差し引いて補正する（図3B）。この過程を蛍光漏れ込み補正（compensation）とよび、古い機種ではアナログ電気回路で測定と同時に行っていたが、最近ではデジタル化により、測定中・測定後を問わず行うことができる。

(d) ソーティング系

セルソーターでは、目的の細胞だけを分取する機構として液滴荷電方式の細胞分取装置が多く用いられている。この装置は、フローセルとノズルが一体化され

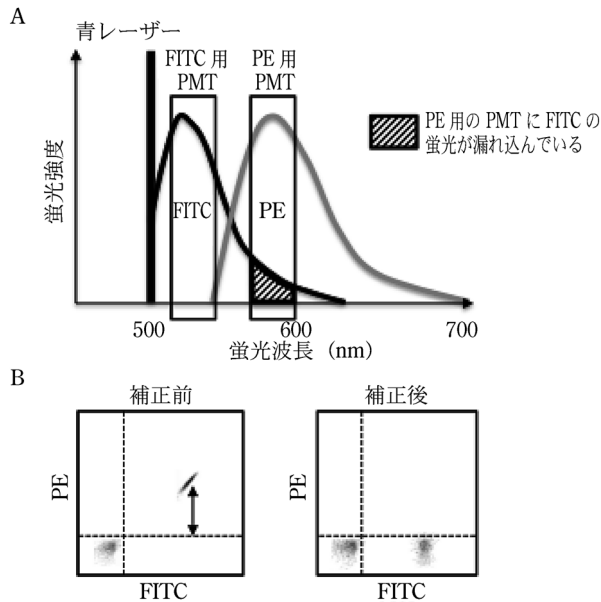


図3 蛍光漏れ込み補正

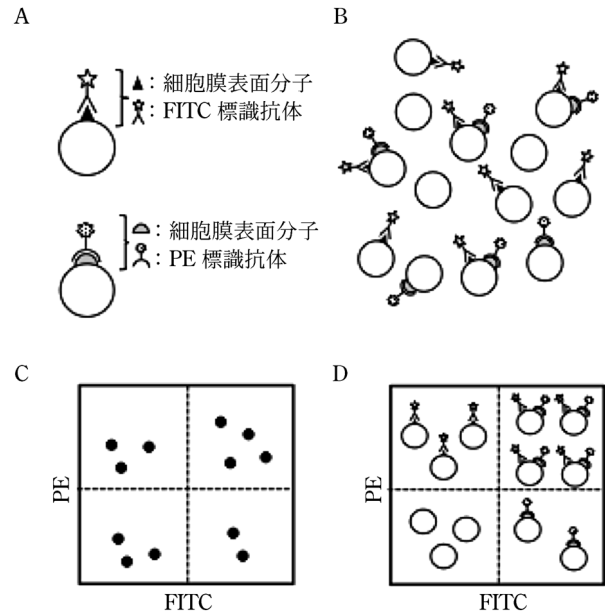


図4 蛍光免疫染色試料を用いた解析

た液滴発生装置、液滴を荷電させる装置、荷電した液滴の進行方向を変える電場を発生する偏向板から構成される。液滴発生装置では、超音波振動によってノズル先端から噴出された試料溶液とシーズ液の流れが液滴の形状へ変化する。この時、水流に電荷を付与することで、荷電された特定の液滴は偏向板による磁場の影響を受けて進行方向を変え、細胞回収用容器へ向かい、一方で荷電していない溶液については、通常、廃液用容器へ向かう。

## 2.3 分析試料の特徴

### 2.3.1 懸濁液の調製

FCM では水流に試料を流して測定することから、細胞や粒子の浮遊液が分析試料となる。つまり、液中に細胞や粒子が一個ずつ分離している状態を調製する必要がある。凝集塊が試料中に存在すると、一粒子ごとの情報の取得が困難になり、フローセル（後述）を詰まらせる原因にも繋がる。そのため、接着性の高い細胞等、測定対象が凝集しやすい場合は試料溶液の組成等に工夫を要することがある。フローサイトメーターでは、直径が約  $0.3\ \mu\text{m}$  から  $40\ \mu\text{m}$  の粒子であれば様々な物の測定が可能とされている。以降は主に細胞を測定する際の手法を述べる。

### 2.3.2 蛍光標識

標的の生体成分に結合する蛍光色素や、蛍光色素を結合させた標的的特異的抗体による染色を行うことで、その生体成分を特異的かつ定量的に検出することができる。例えば、細胞周期の解析では、DNA の二重らせん構造へのインターカレートにより蛍光を発する色素が用いられることがある。この場合、フローサイトメーターで蛍光強度の情報を得ることで DNA 量を定量することがで

きる。一方、生体組織から試料を採取し、存在する細胞種を分類し定量することがある。細胞種を区別するためにはそれぞれの細胞において発現するタンパク質で特徴的なものを標的とした蛍光標識抗体による蛍光免疫染色を行う（図 4A）。例えば、蛍光免疫染色を行い、図 4B のような細胞懸濁液を試料としてフローサイトメーターで測定結果について解析した場合、PE の蛍光強度を縦軸、FITC の蛍光強度を横軸に展開したドットプロットの表示が得られ、4 種類の細胞集団があることを確認できる（図 4C）。このドット一つ一つが細胞であり、この場合は、図 4D のように PE 標識の抗体のみ染色された細胞は左上、FITC 標識の抗体のみ染色された細胞は右下、両方の標識抗体で染色された細胞は右上、染色されなかった細胞は左下に表示される。

## 3 フローサイトメトリーにおける測定および解析

### 3.1 解析分子の選定と抗体・蛍光色素の割り当て

解析は、対象の分子を決めることから始まるが、抗体や蛍光標識物の入手の可否も含めて検討する。使用するフローサイトメーターに搭載されている蛍光色素の励起用レーザー光源と分光フィルターから同時使用可能な蛍光色素の種類と数を確認し、測定に用いる蛍光色素を割り当てる（図 5）。一般に、市販のフローサイトメーターでは検出用の蛍光フィルターはお互いの波長の漏れ込みが少なくなるように選択・設定されている。

蛍光色素は、青レーザーで 5~6 チャンネル、赤レーザーで 3 チャンネル、紫レーザーで 3 チャンネルの合計 11~12 色の検出が可能となっている。

励起レーザー	検出チャンネル	蛍光色素	励起波長 (nm)	最大蛍光波長 (nm)
青	FITC	FITC	494	525
		AlexaFluor488	495	519
		EGFP	489	508
		CFSE	492	517
	PE	PE	488	575
	PE-Texas Red	PI	536	617
	PerCP/Cy5.5	PE-Cy5	広範囲	670
7-AAD		546	620	
PE-Cy7	PE-Cy7	565	774	
赤	APC	APC	650	660
		AlexaFluor647	650	647
	APC-Cy7	APC-Cy7	650	774
紫	Pacific Blue	Pacific Blue	401	455
		DAPI	359	461
	AmCyan	Briliant Violet 510	405	510
		Oacific Orange	400	551

図5 フローサイトメーターにおける代表的なレーザーと蛍光色素の例

### 3.2 試料の調製

単一細胞に分散させた細胞懸濁液を調製し、割り当てた蛍光標識抗体で免疫染色を行う。測定用試料の他、各蛍光色素の単染色を行った蛍光補正のための校正用試料を用意する。抗体によって染色の条件が異なるので、適した条件を個々に検討しておく必要がある。一般的に、細胞数は約  $1 \sim 5 \times 10^6$  個/mL の濃度、試料量は約 200  $\mu$ L 以上となるように調製する。

セルソーターを利用する場合は、分取した細胞を培養や遺伝子解析等、その後の実験に利用するため、細胞へのダメージが少なく、目的細胞の割合が高く分取されるように配慮する。例えば、細胞凝集塊を形成しない程度で細胞密度が高い試料を調製することで細胞を分取に要する時間をなるべく短縮する。単位時間に流れる細胞数（試料を流す速度）を多く設定することで分取速度を上げることができるが、目的の細胞が含まれるとされる液滴の中に目的外の細胞も含まれる可能性が高まるため、注意が必要である。

### 3.3 フローサイトメーターの設定

校正用試料を用いて、散乱光と蛍光の検出器の感度を最適化する。散乱光は FSC と SSC の二次元プロットにおいて測定対象の細胞集団が他の細胞集団や死細胞断片と分離するように検出感度を調整する。後で触れるが、多種の細胞集団が存在する試料では、散乱光の二次元プロットでは目的細胞集団の特定が難しいことがある。一

方、蛍光は単染色試料の陽性コントロールと陰性コントロールを用いて、陰性細胞集団と陽性細胞集団がいずれも表示され、良く分離するように PMT 電圧を調整することで感度を決める。極端にシグナルが弱い、あるいは強い場合には蛍光色素の変更を検討することがある。これは、測定ダイナミックレンジが狭くなることや、ノイズがより増幅される可能性が高くなるため、陽性細胞群と陰性細胞群の分離が悪くなることを避けるためである。

全検出器の感度の調整を決定した後、単染色の陽性コントロールを用いて蛍光漏れ込み補正を行う。ソーティングを行う際には、利用する機種にもよるが、細胞に適したノズルへの交換や液滴形成の最適化、液滴が試料容器内の血清や培地へ落ちるように設定する等の準備が必要となる。

### 3.4 データの取得と解析

設定が完了したフローサイトメーターで測定用試料を用いて再現性が維持できる程度の細胞数のデータを取得する。データの統計解析を考慮すると、データの解析には少なくとも数十～百個以上の細胞数が必要となる。データの取得後の解析はソフトウェアによってコンピュータ上で行う。

## 4 FCM による動物細胞の分析

### 4.1 免疫学研究における FCM の利用

近年、免疫学研究は、様々な着眼点による研究が展開されてきており、研究分野も多種多様であるがマウスを実験に用いていることが多い。研究対象となる免疫細胞は、これまで多数のサブセットに分類され、その表現型解析においては検出する分子数も多い。組織や出現期間が限定される等の理由で生体内における細胞数が少ない細胞種の場合は、少ない細胞数の試料で解析を行うことになるため、可能な限り多くの情報を得る必要がある。このように、少ない細胞数や得たい情報が多い試料を研究対象とする場合、FCM 解析は非常に有用であり、多くの免疫学的研究において用いられている。ここでは、実際の実験における FCM の利用として、マウスを用いた生体試料の調製と解析について触れる。

### 4.2 動物細胞の分析

#### 4.2.1 疾患モデルマウス

生命科学の研究領域にて用いられる実験動物のなかで、マウスは最もよく使われる哺乳動物である。実験用マウスは、厳密に管理された環境下で飼育されており、遺伝的にも統御されている近交系マウスを用いるため個体差が少ない。そのため、個体レベルでの解析において広く用いられている。特に医学研究の分野では、病態形成メカニズムの解明や治療法の開発などを目的に疾患を



模した疾患モデルマウスの解析が重要な役割を担ってきている。

#### (a) 実験発症モデル

研究目的にあった病態や症状を人為的に正常マウスへ誘導することで得られる。薬剤の投与や病原微生物感染、手術処置を施すことによって病態や症状を誘導するもの等、様々なモデルが報告されてきている。

#### (b) 自然発症モデル

偶発的に発見された異常形質が遺伝的に継代され、病的な状態を自然発症するマウスである。単一もしくは複数の遺伝子の影響により疾患を発症する。

#### (c) 遺伝子改変モデル

ゲノム編集技術の進歩により、ヒト疾患発症の原因と考えられる遺伝子変異を導入した遺伝子改変マウスを作成できるようになっている。

### 4・2・2 動物細胞の試料調製

例えば、疾患モデルマウスを用いてその病態にかかわる細胞について解析する場合、マウスから生体試料を採取することになる。先にも触れたように、FCM測定用試料は単一細胞に分散させた細胞懸濁液とする必要がある。組織は様々な細胞種が集まって形成されているため、試料の調製にあたり、細胞を一つ一つに分散させる工程が必要となる。多くの場合、酵素処理による分散方法をとる場合が多く、分散したい組織や細胞によって使用する酵素や操作方法が異なる。酵素処理はその種類や純度、濃度、処理を行う温度や時間といった様々な要因がかかわるため、既報や細胞分散用試薬の説明書を参考に検討するのが一般的である。酵素やその処理時間が標的分子に対して発現量の低下などの影響を及ぼすことがあるため、酵素処理の特徴に配慮した試料調製が必要となる。組織の細胞を分散させた後は、細胞数や細胞濃度を確認して細胞へ蛍光染色を施す。

組織における存在割合が少ない細胞を解析する場合は、測定に不必要な細胞集団を除去することで、試料中における解析対象の細胞の割合を多くすることがある。これは、標的細胞をセルソーターで回収して遺伝子解析や培養等の実験に用いる場合や、フローサイトメーターのメモリー容量によっては組織を細胞一つ一つに分散しただけの試料だと、標的細胞の解析に十分な細胞数を測定できないことがあるためである。

### 4・3 細胞標識蛍光色素を用いた細胞増殖活性の測定

CFDA-SE (carboxyfluorescein diacetate succinimidyl ester) は細胞膜透過性の低分子化合物であり、細胞内に拡散するとアセチル基が切断されて CFSE (carboxyfluorescein succinimidyl ester) が生じる。CFSE は細胞質タンパク質と共有結合することで細胞内に安定に保持され、細胞が1回分裂するたびに半減する。これを利用して FCM 解析を行うことで CFSE の減弱程度

から細胞分裂回数を7~8回程度まで追跡することができる<sup>3)</sup>。CFSEが488nmのアルゴンレーザーで励起され、517nm付近の緑色色調の蛍光を発することを利用して、CFSEを用いたT細胞の増殖応答を分析することができる。通常T細胞は、培養時に特定の試薬やタンパク質を作用させると増殖するため、この培養系にてT細胞へCFSEを含ませておくことでT細胞の増殖応答を分析することができる。したがって、この分析を行うことでマウスの病態や症状等、実験系によりT細胞の機能低下や亢進があるか解析することができる。

### 4・4 特定細胞種の分析におけるフローサイトメーターの利用

筆者は、皮膚組織における免疫応答を解析してきており、主に皮膚組織の細胞を試料とし、フローサイトメーターを利用している。その中から、マウスの表皮に少数存在する DETC (dendritic epidermal T cell) の解析を実際の例として最後に述べる。

表皮はケラチノサイト (keratinocyte) と呼ばれる細胞が9割以上で構成されており、DETCを含むその他細胞の存在割合は少ない。また、DETCの存在する場所は、表皮及び胎児期の胸腺であることから、マウス一匹から試料として得られる細胞数が非常に少ない。そのため、フローサイトメーターは有用な解析ツールの一つとなっている。

実際の操作では、皮膚組織の細胞を試料とした FCM 解析の実施にあたり、目的細胞である DETC とは別に、自家蛍光の強いケラチノサイトの存在を考慮した試料調製や機器設定を行う等の配慮が必要となる。

#### 4・4・1 DETCの分析における試料調製とフローサイトメーターの設定

DETC は、表皮をシート状に剥がして蛍光免疫染色を行うことにより観察することができる (図6)。このように蛍光顕微鏡下で得られる情報から、DETCの局在や形態変化を知ることができる。ここでは示していないが、皮膚組織を薄く切り出した組織切片としても同様の染色で検出が可能である。細胞の形態や局在は、機能

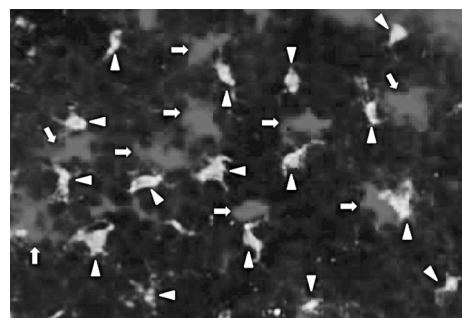


図6 表皮シートにおける DETC (矢印) および樹状細胞 (矢頭)

と関連することがあり、DETC においては活性化することで丸い形状となることが報告されている。

一方、図 6 と同じく表皮について FCM 解析を実施することにより DETC の存在割合や特定分子の発現量について情報を得ることができる。以下、具体的な操作について触れたい。まず、前述のように懸濁液を得る必要があるため、マウス表皮細胞を分散させる。フローサイトメーターを用いた、表皮細胞の測定のみを行う場合は、軟骨を取り除いたマウスの耳翼へ酵素処理を施すことで表皮細胞を得る。ここでは、表皮の DETC について解析を行うことを想定しているが、真皮の細胞の FCM 解析を行う場合は、真皮に適した酵素で処理した試料を測定する。研究目的に応じて、耳翼の軟骨を分けずに試料調製を行うことや、マウスの胴体部分の皮膚組織から試料を調製することもある。

次に蛍光免疫染色の操作に移る。ここでは、一例として DETC の検出を目的とした染色の組み合わせを示す(図 7)。表皮試料中には主にケラチノサイト、樹状細胞(ランゲルハンス細胞)、DETC が存在することが想定されるため、これらを FCM 解析で分けられるような蛍光抗体を選出している。このように複数のパラメータを検出する解析をマルチカラー解析とよぶが、蛍光標識抗体の選出が解析結果に大きく影響する。蛍光色素は蛍光波長のピークがシャープな蛍光色素の方が使用しやすいことや、抗体のクローンによっては検出感度が異なることがある等を考慮しながら、最適な蛍光標識抗体を決定する。筆者の場合、蛍光標識抗体を選ぶ際は表皮細胞を用いて予備実験を行い、染色に用いる標識抗体の濃度や細胞数を確認した上で実際の測定に用いている。

試料の調製が終了したら、フローサイトメーターでの測定に移る。まず、測定準備として、表皮細胞の試料を用いて、表皮細胞の自家蛍光を考慮した PMT を設定する。また、蛍光漏れ込み補正も実施するが、表皮細胞は皮膚組織から回収できる量が少ないため、リンパ節の細胞を用いて調整した後、測定試料で微調整を行う。

測定が終了後、ソフトウェア上で解析を行う。図 7 の組み合わせで染色した表皮試料については、ドットプロットを用いて図 8 のように DETC やその他の細胞集団を表示することができる。

解析には、まず、図 8 中の 1 で表示されているプロットを作成し、7AAD 陰性、CD45 陽性の細胞集団を囲んで選択する(ゲートをかける)。7AAD は死細胞で陽性、CD45 はリンパ球細胞に発現している分子であることから、選択した細胞集団は生きているリンパ球ということになる。一般にはこのようにゲートした細胞集団を表現する際、“7AAD<sup>-</sup>CD45<sup>+</sup>細胞”といったように陰性を-、陽性を+と示すことが多い。次に、ゲートした 7AAD<sup>-</sup>CD45<sup>+</sup>細胞集団について他の分子の情報で展開したドットプロットを図 8 中の 2 のように表示す

励起レーザー	検出チャンネル	検出分子	発 現	
			DETC	ランゲルハンス細胞
青	FITC	V $\gamma$ 5	+	-
	PE	TCR $\gamma/\delta$	+	-
	PerCP/Cy5.5	7AAD	/	/
	PE-Cy7	CD11c	-	+
赤	APC	Langerin	-	+
	APC-Cy7	MHC Class II	-	+
紫	Pacific Blue	CD3e	+	-
	AmCyan	CD45	+	+

図 7 表皮細胞試料における蛍光免疫染色の例

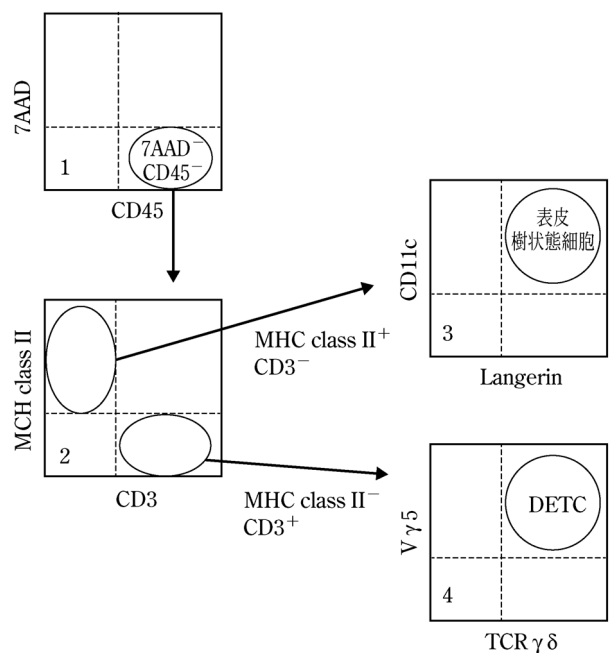


図 8 表皮細胞におけるデータ解析の例

る。ここでは、表皮の樹状細胞と DETC を分けるために、このような展開を行っている。MHC class II<sup>+</sup>CD3<sup>-</sup>細胞は表皮の樹状細胞、MHC class II<sup>-</sup>CD3<sup>+</sup>細胞は DETC が含まれることになるが、これらにゲートをかけて、図 8 中の 3、4 のように、細胞の特定ができる分子についてさらに展開することで細胞集団を絞り込む。以上の工程で解析を行うことにより、絞り込んだ細胞集団の数や存在割合、蛍光色素を介して検出した分子の発現量の指標となる数値を蛍光強度から算出する。

#### 4.4.2 DETC の遺伝子解析を目的としたセルソーターの利用

DETC は、現在、マウスにのみに存在するとされている。筆者は同様の細胞がヒトに存在する可能性について検討を進めており、その一環として、セルソーターで回収した DETC を試料とした遺伝子解析を実施してい

る。

ソーティングにおいては、基本的に細胞を分取する際に、時間や純度はどのぐらいになるのか、目的細胞の回収率はどの程度か注意する。今回例に挙げている DETC を回収する場合は、先に述べた方法と同様に調製した表皮細胞試料を用いると、特に分取時間が長くなることが負担となり、細胞が死にやすくなるため、分取する時間の短縮を目指した試料調製を行っている。実際には、磁気細胞分離法<sup>†</sup>によりあらかじめケラチノサイトをできるだけ除く工程を入れることで、DETC の存在割合が高い試料を用いている。

## 5 おわりに

近年、フローサイトメーターは、レーザー光源の小型化やデジタル化の進展により、安価な卓上型の装置や様々な最適値を設定することが可能となっている。一方で、蛍光顕微鏡とフローサイトメーターと顕微鏡の機能を併せたイメージングフローサイトメーターも普及してきていることから、これら機器の発展と共に今後より多彩な解析が行われることが期待される。

### † 磁気細胞分離法

磁性体ビーズが付加した抗体を用いて、抗体で認識された細胞とそれ以外の細胞を磁石により分別する方法。

## 文 献

- 1) M. Don : *J. Assoc. Lab. Autom.*, 8(6), 72 (2003).
- 2) R. A. Thomas : *J. Histochem. Cytochem.*, 25, 827 (1997).
- 3) G. A. Romar, T. S. Kupper, S. J. Divito : *J. Invest. Dermatol.*, 136, e1-e7 (2016).
- 4) 中内啓光/監, 清田 純/編: “実験医学別冊 新版フローサイトメトリー もっと幅広く使いこなせる!”, (羊土社), (2016).
- 5) 戸村道夫: “ラボ必帯 フローサイトメトリー Q&A~正しいデータを出すための 100 箇条 (実験医学別冊)”, (羊土社), (2017).
- 6) ベックマン・コールター社: FCM の原理入門講座, <<https://www.bc-cytometry.com/fcm/principle.html>>, (2019 年 12 月 28 日, 最終確認).



志村絵理 (Eri SHIMURA)

順天堂大学医学部 (〒270-1695 千葉県印西市平賀学園台 1-1)。東京理科大学生命科学科修了。博士 (理学)。《現在の研究テーマ》接触性皮膚炎における IL-21 の作用機序の解明等, 皮膚組織における免疫応答の解析。《趣味》散歩, ヨガ。

## 原 稿 募 集

トピックス欄の原稿を募集しています

内容: 読者の関心をひくような新しい分析化学・分析技術の研究を短くまとめたもの。

執筆上の注意: 1) 1000 字以内 (図は 1 枚 500 字に換算) とする。2) 新分析法の説明には簡単な原理図などを積極的に採り入れる。3) 中心となる文献は原則として 2 年以内のものとし, 出所を明記する。

なお, 執筆者自身の文献を主として紹介する

ことは御遠慮ください。又, 二重投稿は避けてください。

◇採用の可否は編集委員会にご一任ください。原稿の送付および問い合わせは下記へお願いします。

〒141-0031 東京都品川区西五反田 1-26-2

五反田サンハイツ 304 号

(公社)日本分析化学会「ぶんせき」編集委員会

[電話: 03-3490-3537]