

【今更聞けない、、、全血からのサンプル調製】

フローサイトメトリー実験に関する、今更聞けない質問にお答えする「今更聞けない、、、」シリーズ、今回は基本的な部分に立ち戻って、血液サンプルの前処理方法についてお話しします。

血液は赤血球、白血球、血小板の血球細胞成分と血漿（液体）成分で構成されています。血液中の細胞濃度や粘性の関係で、そのままフローサイトメトリー機器に流すことはお勧めできませんが、すでに細胞 1 つ 1 つが単離状態にあることから、組織サンプルのような、酵素処理や物理的な処理は必須ではありません。

しかし、多くの研究者の方々が、全血を使つてのフローサイトメトリー実験を行う際に、何らかの前処理をしておいてもらいます。

これらの処理は、研究内容によって赤血球、白血球、血小板のどの血球細胞のデータを取得したいのかによって使い分けられています。

☆溶血処理☆

血球細胞において、健常者の場合その 95%以上が赤血球といわれています。

研究対象が赤血球以外の場合、フローサイトメトリー機器に流す前に赤血球を除去し、目的細胞を濃縮することで取得するデータ量を小さくし目的細胞のデータを見やすくすることが出来ます。

溶血剤の種類は様々で、細胞の変性を極力抑えながら溶血させる Buffer（例：塩化アンモニウム溶液）や、とにかくスピード重視の Buffer（例：シュウ酸アンモニウム溶液）などがあり、実験に合わせて適切なものを選択する必要があります。

BioLegend 社製品紹介：

Cat#420301 RBC Lysis Buffer (10X)

<https://www.biolegend.com/ja-jp/products/rbc-lysis-buffer-10x-1498>

白血球への影響を最小限に抑えながら赤血球を溶解するように調整されています。全血と Buffer を混ぜ合わせて 5 分ほど待つだけで、手順が簡便です。

※サンプル種や組織に合わせてプロトコルをよく読み、実験に合わせて最適化してください。

☆密度勾配遠心分離☆

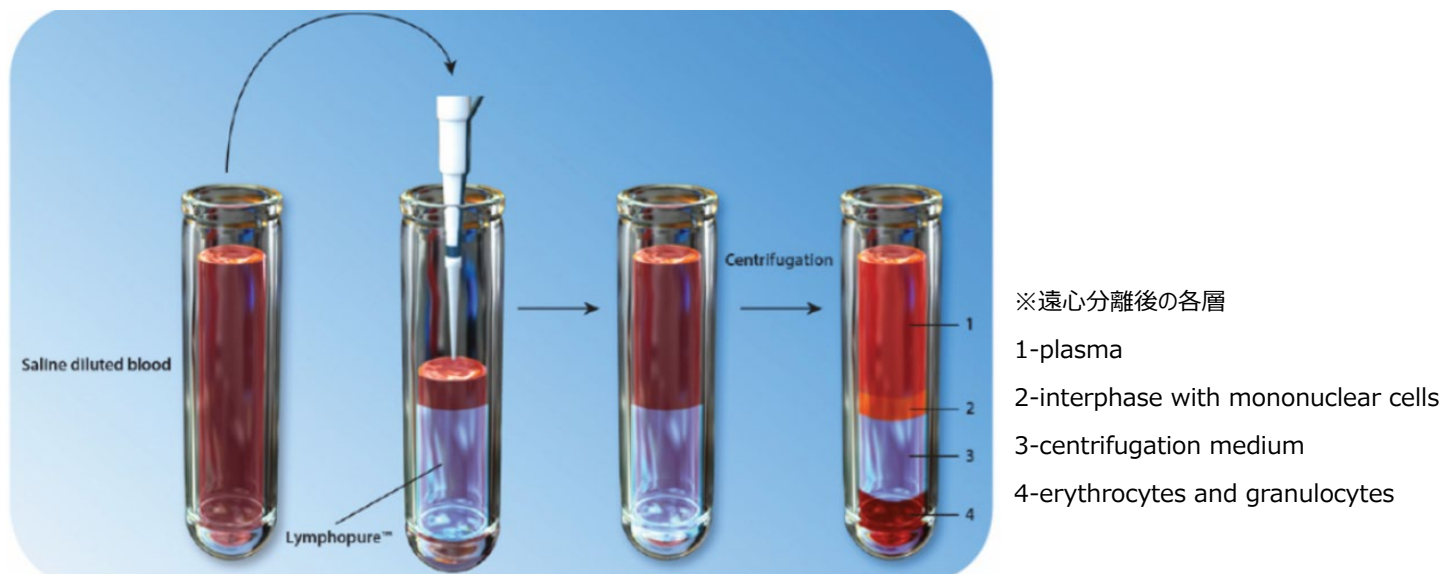
密度勾配遠心法は、サイズ、形状、密度に基づいて分離していく実験手法です。血液をサンプルとした密度勾配遠心分離では使用する密度勾配遠心用の Buffer を変えることで目的細胞だけを分取することが可能になります。（例：すべての白血球、PBMC、単球、血小板など）

BioLegend 社製品紹介：

Cat#426201 Lymphopure™

<https://www.biolegend.com/ja-jp/products/lymphopure-13797>

Lymphopure™ は密度 1.077 ± 0.001 g/mL、浸透圧 290 ± 15 mOsm で配合された単核球 (mononuclear cells) 分離用の密度勾配液です。顆粒球や赤血球などの血液中の他の細胞から単核球を分離できる密度で配合されています



今回ご紹介した Buffer 以外にも、BioLegend 社では様々な Buffer をご用意しておりますので、ご紹介した製品以外にも、それぞれの実験にあった Buffer をお探しいただければ幸いです。

フローサイトメトリー試薬ガイドライン - 蛍光色素や抗体などの関連試薬などのご紹介：

https://www.digital-biology.co.jp/allianded/cms/wp-content/uploads/2022/02/02-0006-04_Multicolor-flow_A4JPv1.3_added-TDB-logo.pdf

「今更聞けない、、、」シリーズ 記事まとめページは[こちら](#)