

細胞マーカー検査染色法プロトコール

全血法、直接蛍光法で解析する

検体：骨髄液、末梢血、胸水、腹水、髄液、組織から調整した細胞浮遊液等¹

- 1) 細胞数の調整：細胞数を測定し、PBSで1回洗浄後、細胞数を 1×10^7 /mlに調整し
 1×10^6 /100 μ l /tube を使用する
- 1') 細胞内抗原の染色では、膜透過処理を、試薬に添付されたプロトコールに従って行う²
- 2) 遮光状態で、所定量の抗体を室温15分間反応させる³
- 3) 赤血球溶血試薬⁴で希釈し、3分間室温で溶血してから、遠心吸引する
肉眼で完全に溶血するまで、3)の操作を繰り返す
- 4) シース液 500 μ l に浮遊させて、フローサイトメーターで解析する

注¹：細胞が浮遊している状態であれば、どんな検体でも解析可能

注²：中央診断では、ベックマンコールター社のIntraPrep(イントラプレップ) 細胞膜透過処理試薬(製品番号 A07802、A07803)を使用している

注³：抗体は、あらかじめ混合、分注した状態で-80°Cで凍結保存しているものを用いているが、予備検査によって、直前に混ぜて用いた場合と全く変わらない結果が得られることを確認している

注⁴：溶血試薬：NH₄Cl 8.26g, KHCO₃ 1.0g, EDTA•4Na 0.037g/L