【今更聞けない、、、フローサイトメーターで細胞数を正確に測定する方法】

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、、、」ですが、 今回は蛍光ビーズを使用した、”Absolute Count”細胞数測定方法についてお話します。

● 細胞集団の「割合」ではなく「細胞数（cells/uL）」情報は必要？

フローサイトメトリー実験において、例えばレギュラトリーT 細胞や NK 細胞など、特定の細胞集団の割合を評価することが一般的です。しかし、特にがん免疫や感染症、自己免疫疾患などにおける免疫のモニタリング、臨床検査や免疫療法の評価の際に、特定の細胞の絶対数はとても大切な指標になります。これは、特定の細胞集団の割合はかわっていなかったとしても、細胞の実数が大きく変化していることがあるからです。

例１）リンパ球数の減少

	Healthy Donor	Patient
総リンパ球数	1000 cells/uL	500 cells/uL
CD4T 細胞の割合	40%	40%

→割合は同じ 40%だが、CD4T 細胞の実数は半分になっている

例２）免疫細胞数の増減

	投与前	投与後
総リンパ球数	1000 cells/uL	500 cells/uL
NK 細胞の割合	10%	20%

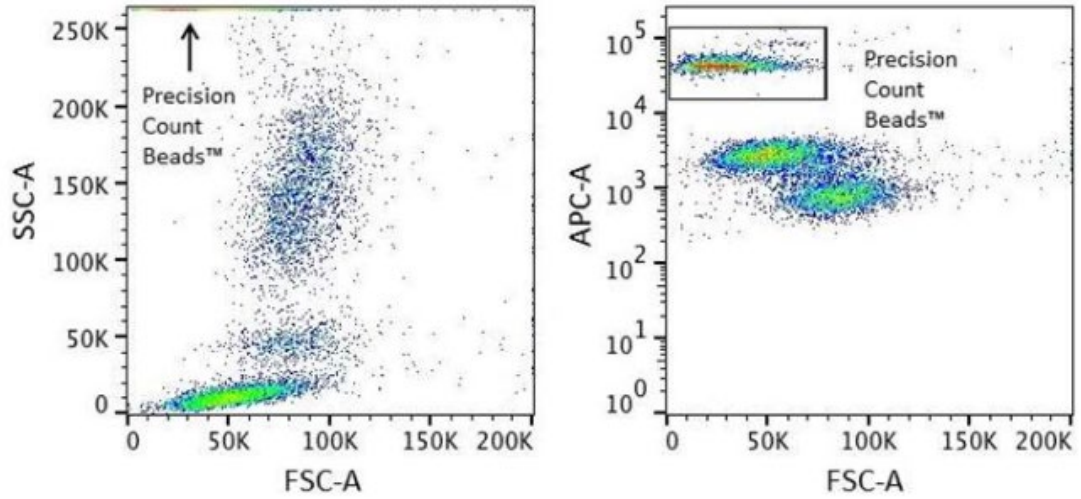
→投与前後で割合は異なるが、NK 細胞の実数は同じ（ほかの細胞集団が減少した？？）

● Precision Count Beads™とは

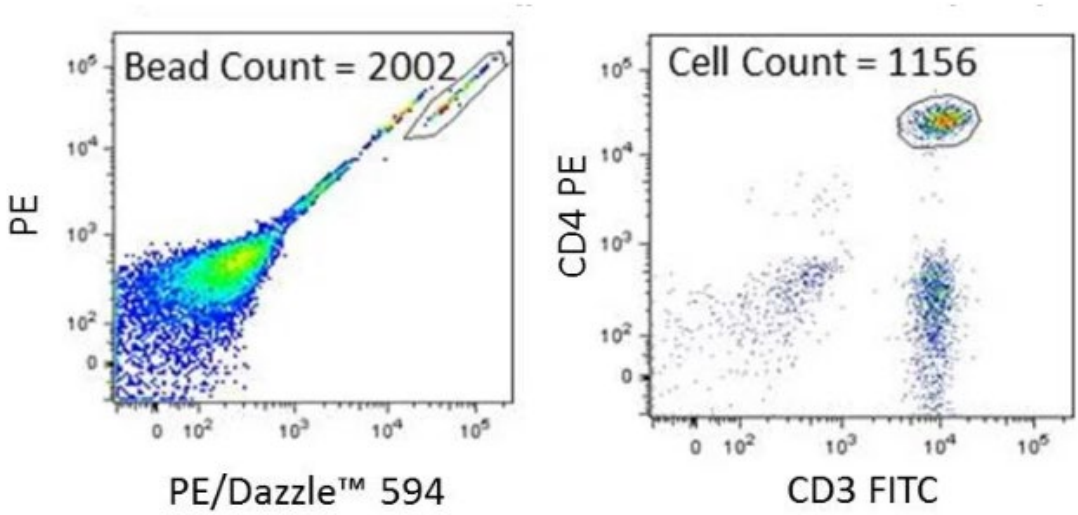
BioLegend 製品の Precision Count Beads™（Cat.＃424902）は、フローサイトメトメーターを使って、測定サンプルの絶対数を測定するために使用できます。

Precision Count Beads™自体は、約 10 um の蛍光粒子で広範囲の波長（励起波長 405～635nm、蛍光波長 400～800nm）で検出可能です。サンプルに直接添加して、細胞と同時にビーズも測定します。ビーズはロットごとに濃度を確認することができるようになっていますので、解析時に、ビーズ数と細胞数を比較することによって、サンプル中の細胞の絶対数が算出できるようになっています。

Precision Count Beads™は、SSC が高く FSC が低いという特徴もあります。そのため、容易に細胞と区別することができます。



冒頭にも記載したように、幅広蛍光レンジを持っていますので、下記のように蛍光チャンネルをパラメータとした場合にもゲーティングができます。



全血 100 uL とビーズ 100uL で混合させた場合の絶対数の求め方は、以下の通りです。

$$\text{細胞の絶対数 Absolute Cell Count [cells/uL]} = \frac{\text{特定細胞集団の細胞数}}{\text{ビーズカウント数}} \times \text{ビーズ濃度 [ビーズ数/uL]}$$

BioLegend 社のテクニカルプロトコルに詳細が記載されていますので、ご参照ください。

Precision Count Beads™ Protocol and Applications
https://www.biolegend.com/ja-jp/protocols/precision-count-beads-protocol-and-applications

連載記事 「今更聞けない、、、」シリーズ 記事まとめページはこちら

TDB News 10.2026
トミーデジタルバイオロジー株式会社
Phone 03-6240-0843 Fax 03-6240-0461