

## Coulter számláló

## Áramlási citometria (flow cytometry)

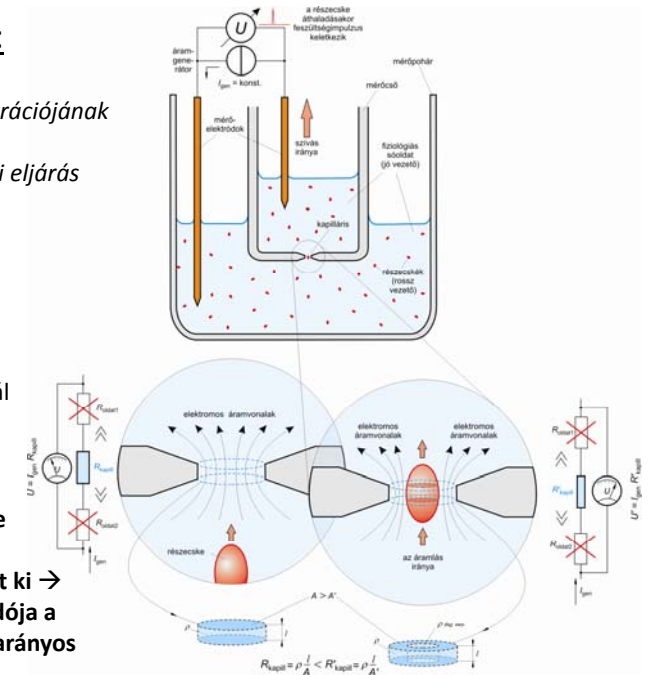
### Coulter számláló:

A vér alakoselem-koncentrációjának meghatározására

→ elektronikus számlálási eljárás

Jól vezető folyadék →  
alakoselem nem vezet,  
ellenállásként funkcionál

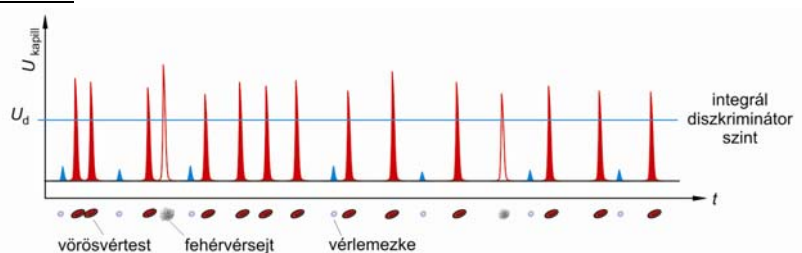
minden egyes részecske  
áthaladása egy  
feszültségimpulzust vált ki →  
az impulzusok amplitúdója a  
részecske térfogatával arányos



### Coulter számláló:

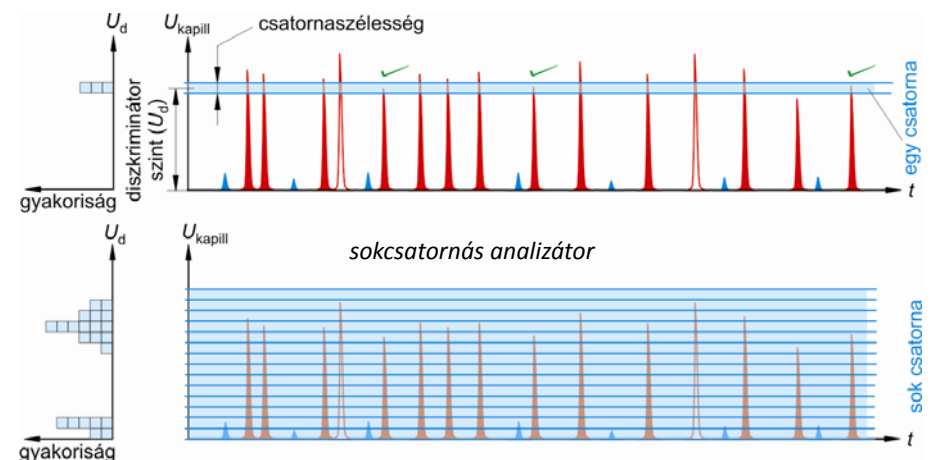
	vörösvértest	fehérvérsejt (granulocita)	fehérvérsejt (limfocita)	vérlemezke
koncentráció (db/ $\mu$ l)	$4-5,9 \cdot 10^6$	$3-7 \cdot 10^3$	$1,2-3 \cdot 10^3$	$1,5-4 \cdot 10^5$
átmérő ( $\mu$ m)	7-8	10-12	5-6	2-3

#### Analizátor:



### Coulter számláló:

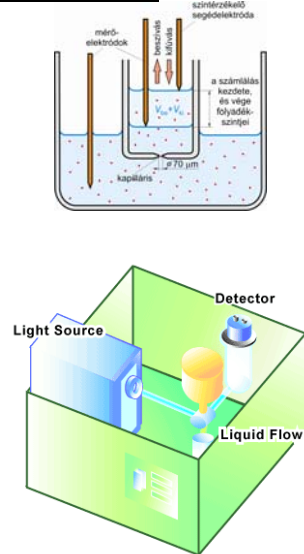
*differenciál diszkriminátor*



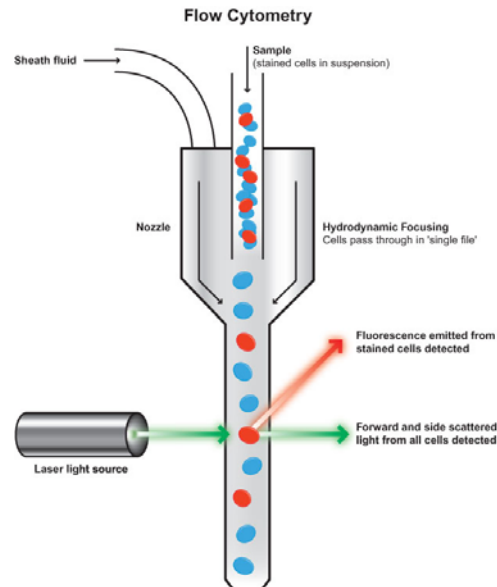
Bemutató kísérlet: LABORSKALE és a 64 csatornás impulzusamplitúdó - analízátor

## Áramlási citometria:

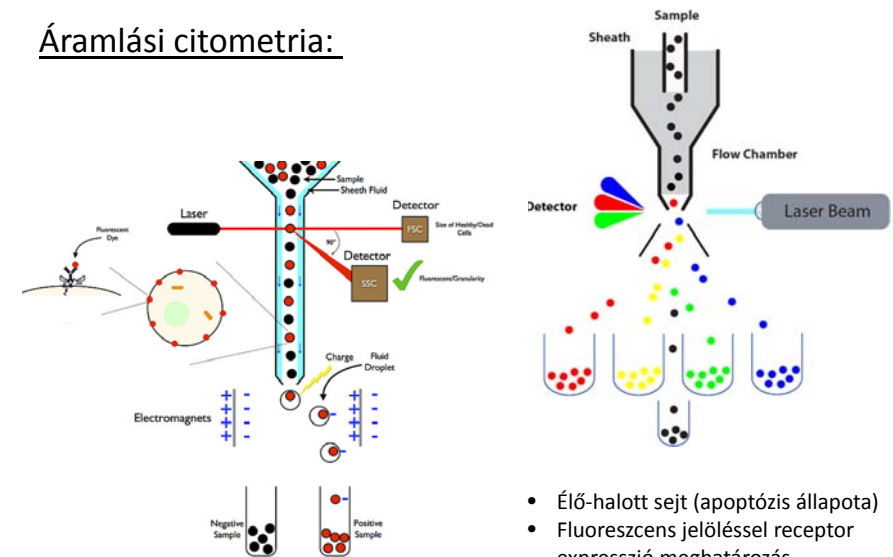
### Coluter számláló:



másodpercek alatt nagyszámú sejtről kapunk többféle információt



## Áramlási citometria:

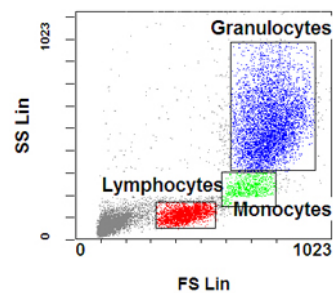


„forward scatter” (FS) a sejt nagyságáról,  
„side scatter” (SS) a granuláltságáról ad információt

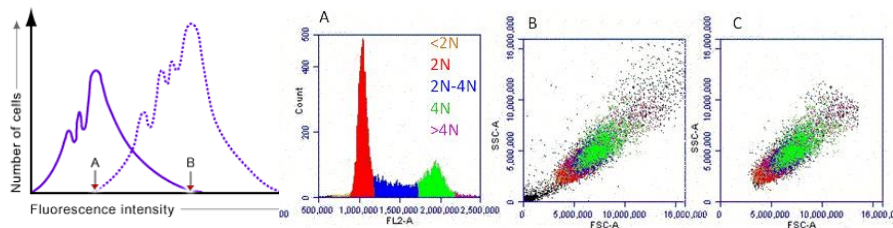
- Élő-halott sejt (apoptózis állapota)
- Fluoreszcens jelöléssel receptor expresszió meghatározás
- CD4+/CD8+ sejtek elkülönítése
- DIAGNOSZTIKA

## Áramlási citometria:

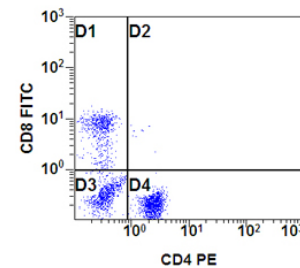
[Ungated] FS Lin/SS Lin - ADC



Morfológiai információ

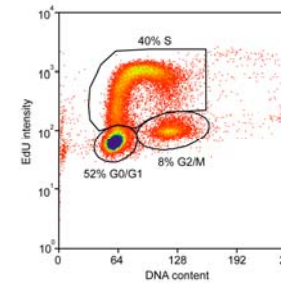


[A] FL2 Log/FL1 Log - ADC

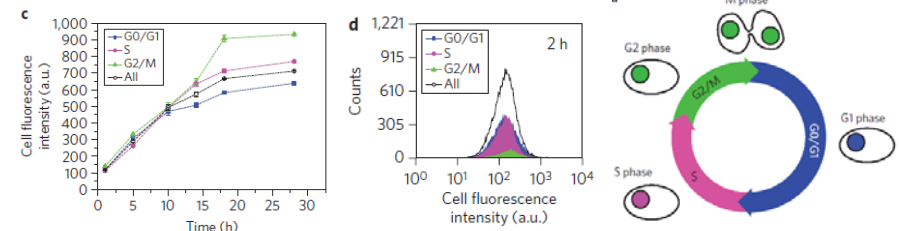


2 fluoreszcens festék jelenlétében információ receptor expresszióról a különböző sejtpopulációk esetén

## Áramlási citometria:

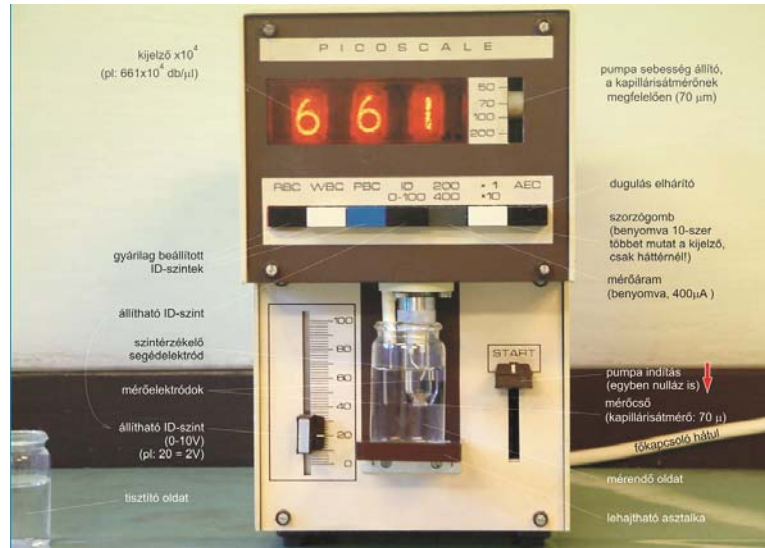


- Leukémia immuntipizálása
- AIDS vizsgálat CD4 : CD8 arányból
- MDR (multi drug rezisztencia) receptor kimutatása
- Apoptózis mértéke
- pH, ionkoncentráció sejten belül
- DNS tartalom mérés (propídium jodid festék)
- Sejt életszakaszának meghatározása (G1, S, G2, M)



## Coluter számláló:

### Mérés menete



## Mérés menete

Valamennyi mérésünket 70 μm-es mérőkapillárisal és 400 μA-es mérőárammal végezzük

### A HITELESÍTÉSI ÉRTÉK MEGHATÁROZÁSA:

A hitelesítési érték megadja, hogy a **tényleges és a mért részecske-koncentráció** milyen arányban áll egymással.

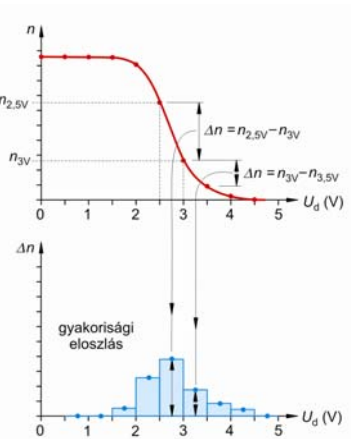
hitelesítési érték ( $h$ ) 
$$h = \frac{c_{\text{tényleg}}}{c_{\text{mért}}} = \frac{c_{\text{tényleg}}}{n \cdot 10^4 / \mu\text{l}}$$
  $n$  a kijelzőről leolvasott szám

1. Ellenőrizzük a **fiziológiás sóoldat (SÁRGA)** tisztaságát
  - 10-szeres érzékenyséű kijelzéssel (x10 szorzógomb benyomva)
  - ID-szint → RBC-gomb benyomva
  - észlelt részecskeszám → **háttér**

### A MÉRÉS LEÍRÁSA:

2. **Ismert koncentrációjú** redcal szuszpenziót ( $c_{\text{tényleg}} = 4,61 \cdot 10^6 / \mu\text{l}$ ) tartalmazó minta (**FEKETE**)

- impulzusszám mérése ( $n$ , a kijelzőről leolvasott szám), gyárilag előre beállított ID-szint (RBC-gomb benyomva)
- Határozzuk meg a műszer  $h$  hitelesítési értékét
- impulzusszám mérése változtatható ID üzemmódban (ID 0 -100 gomb benyomva)!
- ID - szintetk( $U_d$ ) 0-tól 9 V-ig 0,5 V lépésközzel
- Ábrázoljuk a mért eredményeket
- Rajzoljunk hisztogramot



3. **Ismeretlen koncentrációjú** mintán ( **PIROS**).

- A hitelesítési érték figyelembevételével határozzuk meg a minta valódi koncentrációját a gyári ID-szint (RBC gomb benyomva) mellett