

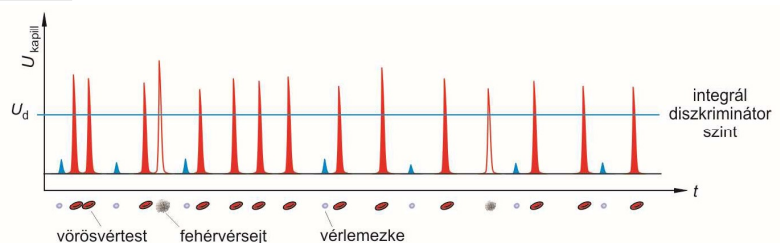
Coulter számláló

Áramlási citometria (flow cytometry)

Coulter számláló:

	vörösvértest	fehérvérsejt (granulocita)	fehérvérsejt (limfocita)	vérlemezke
koncentráció (db/ μ 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 (μ m)	7-8	10-12	5-6	2-3

Analizátor:

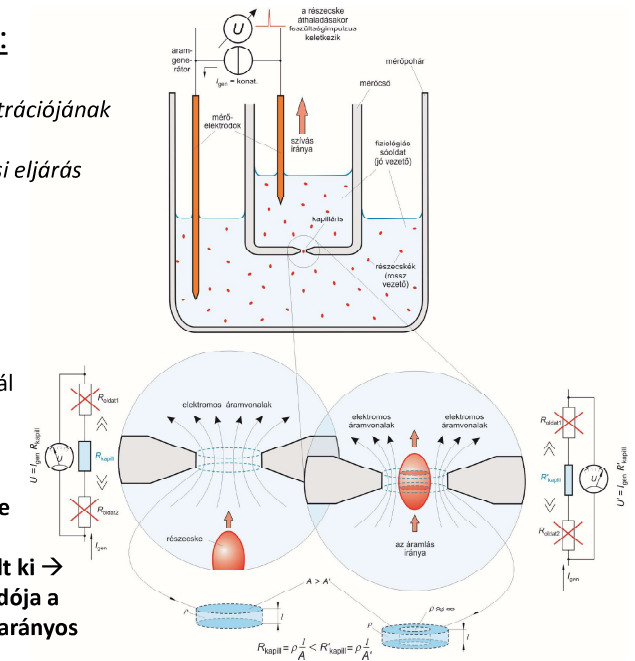


Coulter számláló:

A vér alakoselem-koncentrációjának meghatározására
→ elektronikus számlálási eljárás

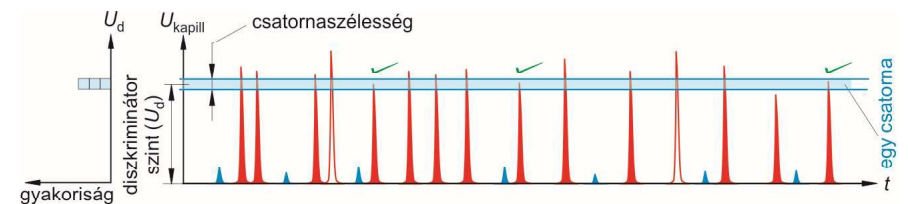
Jól vezető folyadék →
alakoselem nem vezet,
ellenállásként funkcionál

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

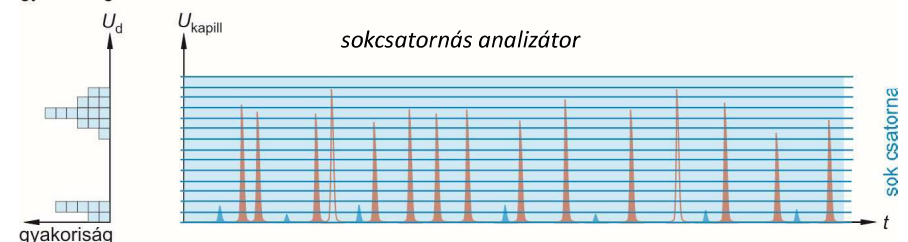


Coulter számláló:

differenciál diszkriminátor



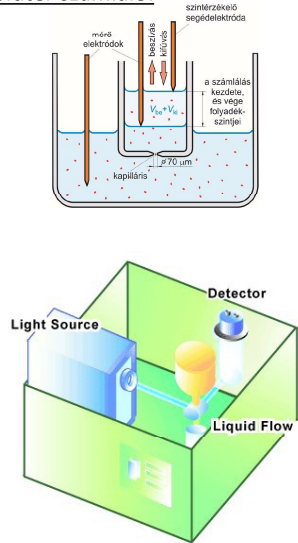
sokcsatornás analízátor



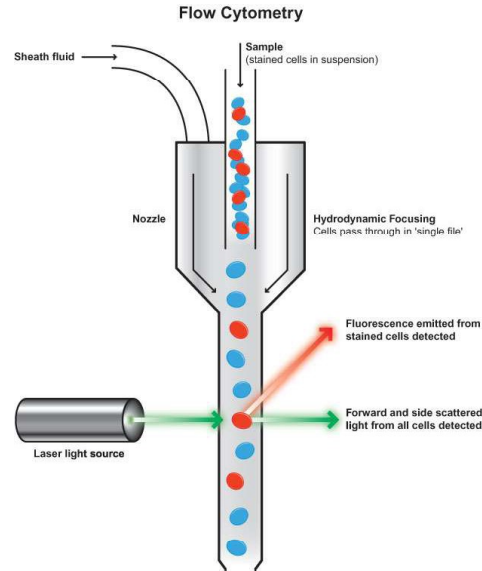
Bemutató kísérlet: LABORSKALE és a 64 csatornás impulzusamplitúdó - analízátor

Áramlási citometria:

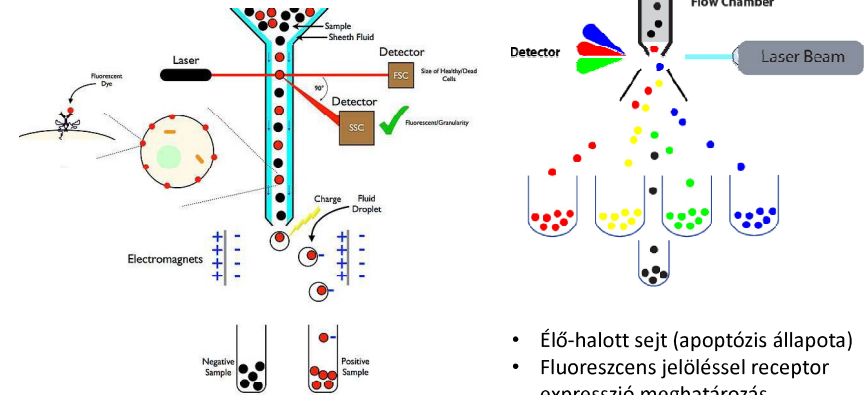
Coluter számláló:



másodpercek alatt nagyszámú sejtről kapunk többféle információt



Áramlási citometria:

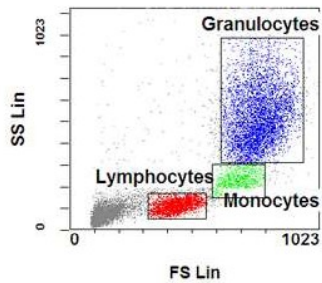


„forward scatter” (FS) a sejt nagyságáról,
„side scatter” (SS) a granuláltságáról ad információt

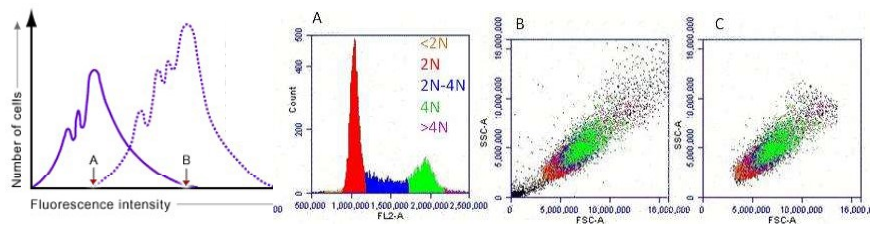
- Élő-halott sejt (apoptózis állapota)
- Fluoreszcens jelöléssel receptor expresszió meghatározás
- CD4+/CD8+ sejtek elkülönítése
- DIAGNOSZTIKA

Áramlási citometria:

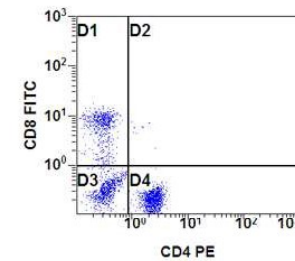
[Ungated] FS Lin/SS Lin - ADC



Morfológiai információ

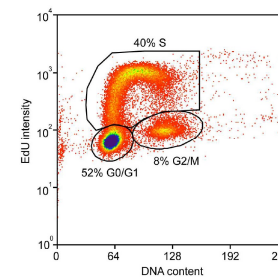


[A] FL2 Log/FL1 Log - ADC

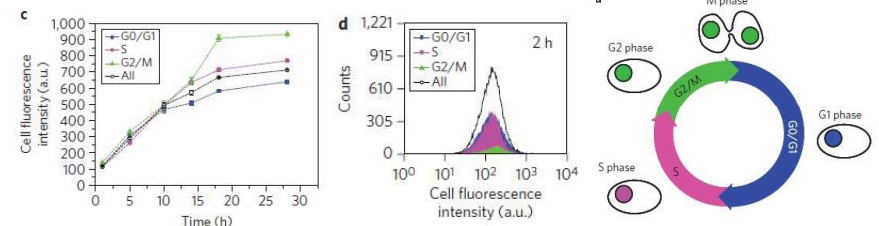


2 fluoreszcens festék jelenlétében információ receptor expresszióról a különböző sejtpopulációk esetén

Áramlási citometria:

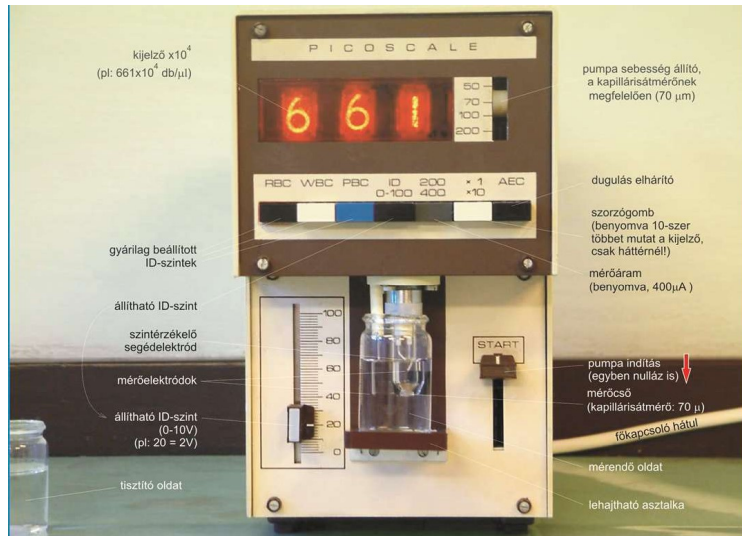


- Leukémia immuntipizálása
- AIDS vizsgálat CD4 : CD8 arányból
- MDR (multi drug rezisztencia) receptor kimutatása
- Apoptózis mértéke
- pH, ionkoncentráció sejten belül
- DNS tartalom mérés (propídium jodid festék)
- Sejt életszakaszának meghatározása (G1, S, G2, M)



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

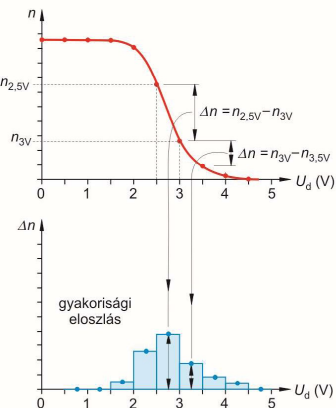
1. Ellenőrizzük a **fiziológiás sóoldat** (SÁRGA) tisztaságát
 - 10-szeres érzékenységgű kijelzéssel (x10 szorzógomb benyomva)
 - ID-szint → RBC-gomb benyomva
 - észlelt részecskeszám → **háttér**

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 - szintek(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