

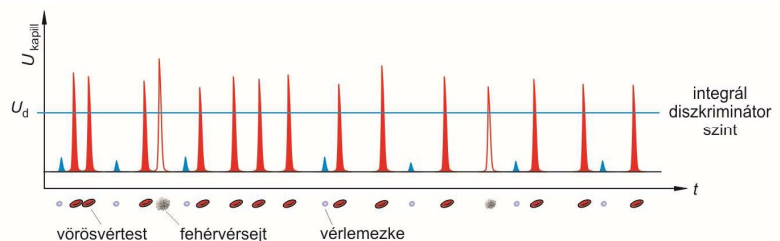
Coulter számláló

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:

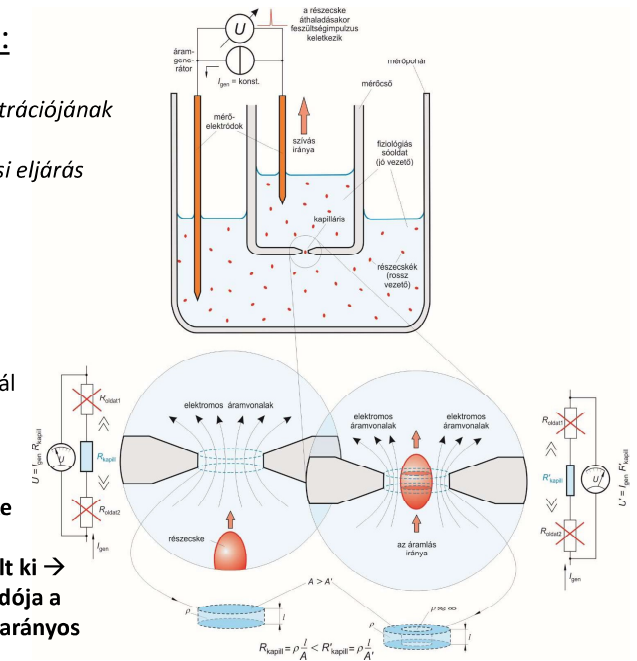


Coulter számláló:

A vér alakoselem-koncentrációjának meghatározására
→ elektronikus számlálási eljárás

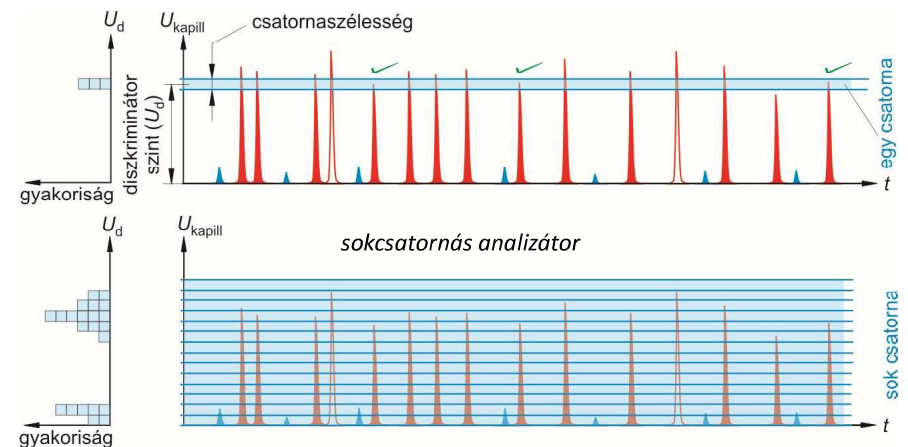
Jól vezető folyadék →
alakoselem nem vezet,
ellenállásként funkcionál

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



Coulter számláló:

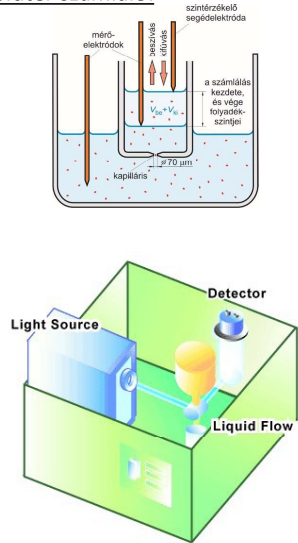
differenciál diszkriminátor



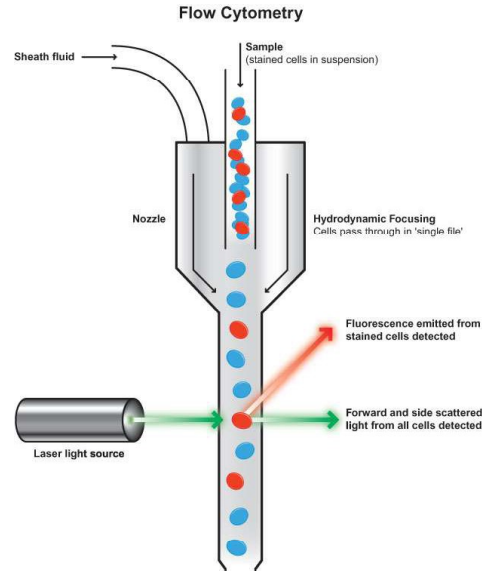
Bemutató kísérlet: LABORSKALE és a 64 csatornás impulzusamplitúdó - analízátor

Áramlási citometria:

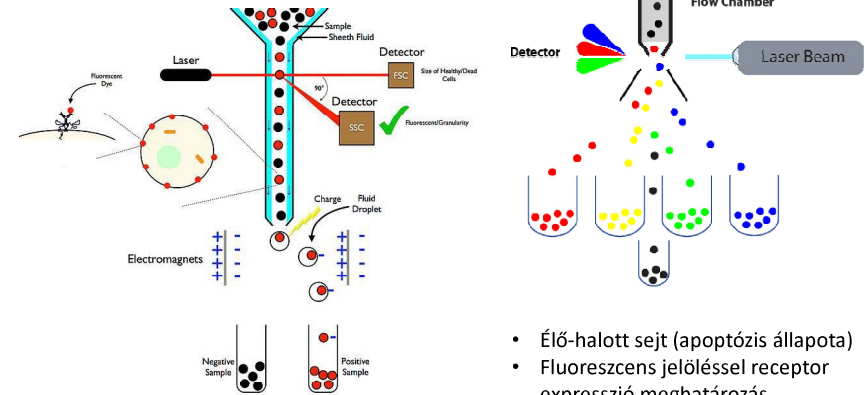
Coluter számláló:



másodpercek alatt nagyszámú sejtről kapunk többféle információt



Áramlási citometria:

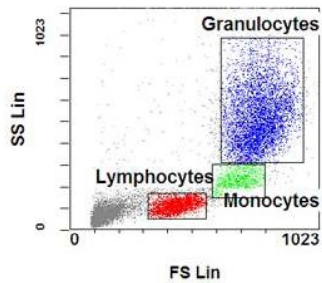


„forward scatter” (FS) a sejt nagyságáról,
„side scatter” (SS) a granuláltságáról ad információt

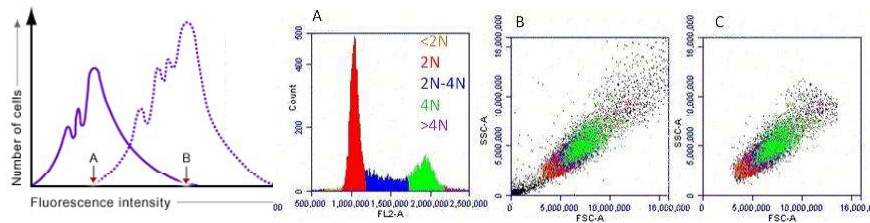
- Élő-halott sejt (apoptózis állapota)
- Fluoreszcens jelöléssel receptor expresszió meghatározás
- CD4+/CD8+ sejtek elkülönítése
- DIAGNOSZTIKA

Áramlási citometria:

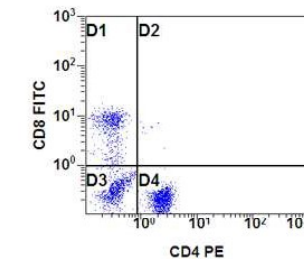
[Ungated] FS Lin/SS Lin - ADC



Morfológiai információ

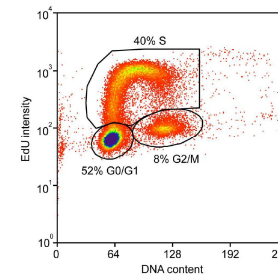


[A] FL2 Log/FL1 Log - ADC

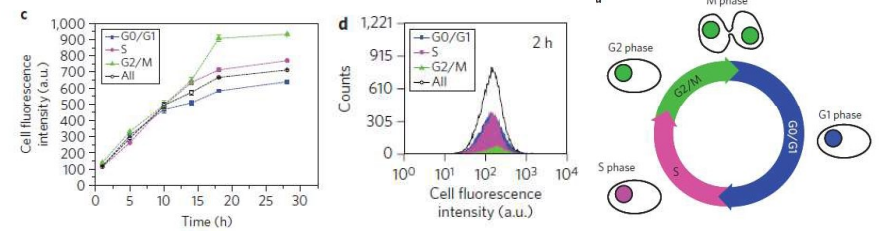


2 fluoreszcens festék jelenlétében információ receptor expresszióról a különböző sejtpopulációk esetén

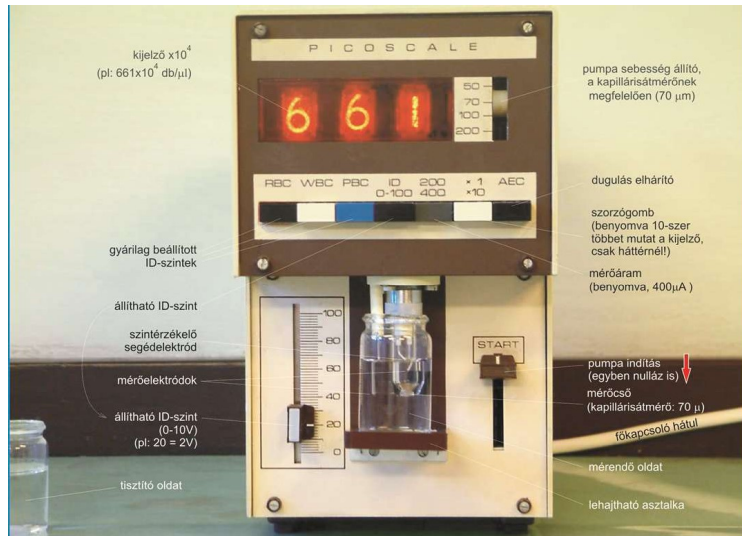
Áramlási citometria:



- 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

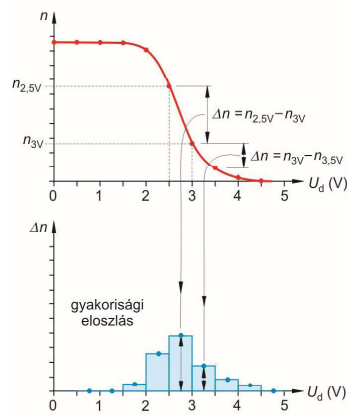


II. feladat

ID szint állítása mellett Fekete oldatot mérni:

ID 0-100 benyomva, 10x nincs benyomva

ID szint (osztás)	U _d (V)	Mért impulzusszám
10	1	
15	1.5	
20	2	
25	2.5	
30	3	
35	3.5	
40	4	
45	4.5	
50	5	
55	5.5	
60	6	
65	6.5	
70	7	
75	7.5	
80	8	
85	8.5	
90	9	
95	9.5	
100	10	



I. feladat

RBC szinten lemérni:

1. **Sárga oldatot** (x10 érzékenység) = háttér, $n \cdot 10^3 / \mu l$

2. **Fekete oldatot** (x10 nincs benyomva)

- Fekete oldat koncentrációja ismert; $c_{\text{tényleg}} = 4,61 \cdot 10^6 / \mu l$
- Hitelesítési érték (h) számolása $h = \frac{c_{\text{tényleg}}}{c_{\text{mért}}} = \frac{c_{\text{tényleg}}}{n \cdot 10^4 / \mu l}$

3. **Piros oldat** lemérése

- Tényleges koncentrációt hitelesítési érték alapján megmondani, $c_{\text{tényleg}} = ?$

Sárga oldat		Fekete oldat		Piros oldat	
Mérés sorszáma	impulzusok	Mérés sorszáma	impulzusok	Mérés sorszáma	impulzusok
	1				
	2				
	3				

Hisztogram készítése

Csatorna	Δn
$U_{d1} - U_{d2} \text{ (V)}$	$n_{U_{d1}} - n_{U_{d2}}$
0,5 - 1	
1 - 1,5	
1,5 - 2	
2 - 2,5	
2,5 - 3	
3 - 3,5	
3,5 - 4	
4 - 4,5	
4,5 - 5	
5 - 5,5	
5,5 - 6	
6 - 6,5	
6,5 - 7	
7 - 7,5	
7,5 - 8	
8 - 8,5	
8,5 - 9	
9 - 9,5	
9,5 - 10	

