

改良型ノイバウエル計算盤

— 培養細胞数の算出方法 —

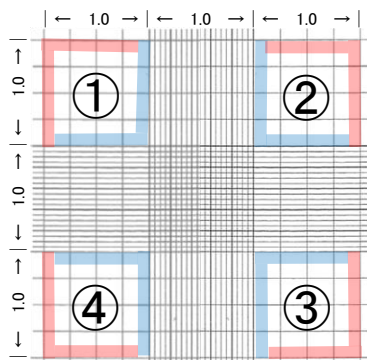
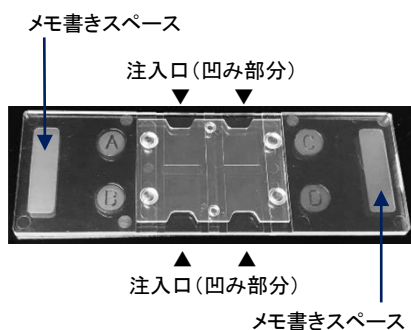
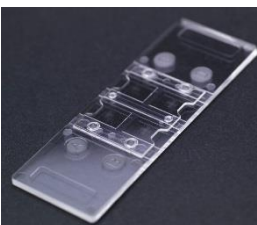


図1 カウント領域図

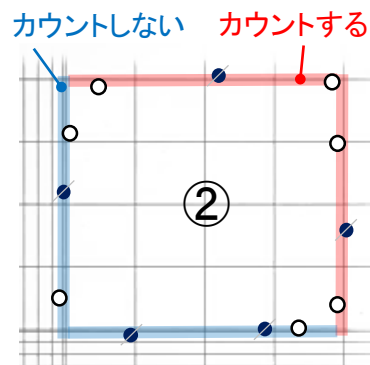


図2 四隅区画(②)拡大図

○: 生細胞 ●: 死細胞

【 サンプルの調製 】

- 細胞懸濁液を用意する。接着細胞数を算出する場合には、カウントし易くなるよう細胞剥離試薬 Accutase(#AM105)や Accumax(#AT105)等を用いて細胞を剥離し、1個1個に分散させる。
- 細胞懸濁液から 100 μ L 採取して別のチューブに入れ、そこに調製済 0.3~0.4 %トリパンブルー (Trypan Blue) 溶液 100 μ L を加える(2倍希釈^{*1})。
 - *1 細胞数が多い場合には、細胞懸濁液の希釈率を変更する。
- 穏やかにピペッティングを数回行う(★)。

【 カウント 】

- トリパンブルー染色を行った細胞懸濁液(★)から 10 μ L とり、細胞計算盤のウェル(A~D)へ凹み部分からゆっくり^{*2} 注入する。
 - *2 勢い良く注入すると他ウェルへ漏れ出る場合がありますので、ご注意ください。
- 四隅の区画(①~④)に確認できる細胞を全てカウントする(図1参照)。
 - 4辺の境界線上にある細胞は、2辺(例: 上辺、右辺)上のみカウントする(図2参照)。
 - 生細胞(未染色 ○)、または死細胞(トリパンブルーで濃青色に染色された細胞 ●)をカウントする。
- カウントした各細胞数から算出する。

<1mLあたりの細胞数>

- 生細胞数 = (区画中の全生細胞 ○ / 数えた区画数) \times 希釈倍率 $\times 10^4$
- 死細胞数 = (区画中の全死細胞 ● / 数えた区画数) \times 希釈倍率 $\times 10^4$
- 細胞生存率(%) = 生細胞数 / 全細胞(生細胞数 + 死細胞数) $\times 100$

【 注意事項 】

- * 正確な測定を行うため、大体 1 mm 角の枠内に 100~500 個の細胞があるように調整して下さい。
- * 細胞懸濁液を注入前、極稀に視野に微小な異物が確認されることがございますが、品質の異常ではございません。
- * 本情報は参考資料です。詳細な細胞数算出方法等につきましては、実験参考書等でご確認下さい。