

Application News

No. Q120

粉粒体測定

血中粒子の迅速定量 - qLD 法の血液試料への応用 -

血液中の各種粒子状物質（赤血球、白血球、血小板、アポトーシス小体、マイクロベシクル、エクソソームなど、図 1）は、体内において様々な生理活性を持っており、その濃度情報は疾患に対するリスク予測や健康状態の判断において重要な情報となります。

血中粒子の定量方法として、自動血球計測装置や電気抵抗法、ELISA、フローサイトメトリーなどが実施されていますが、抗体反応に時間を要する、測定対象や対象粒子径範囲が限られているなど、多検体を分析する際のスループットに課題があります。

Aggregates Sizer™ は定量化レーザ回折・散乱法により、液中の粒子のサイズと濃度を測定する分析装置で、抗体反応による前処理は不要であり、1 度に多数の粒子にレーザーを照射し、全体の情報から粒子径分布を計算するため、1 測定数秒程度で再現性の高いデータを取得可能です。また、測定可能な粒子径範囲が 0.1 μm から 10 μm と広く、サイズの異なる粒子であれば、分離することなくそれぞれの粒子の濃度を求めることができます（ただし、密度と屈折率が不明な混合サンプルに対しては、定量精度は低下します。同種の粒子についての相対比較には問題ありません。）。

ここでは、Aggregates Sizer で血液を測定し、血中粒子を定量評価した例をご紹介します。

H. Maeda

■ 試料と方法

試料の調製手順を図 2 に示します。全血を 2 本に分け、1 本は 250 G×15 min で遠心分離して上清を採取し、血小板リッチ血漿（PRP）としました。もう 1 本は 600 G×1 min + 10,000 G×20 min で遠心分離して上清を採取し、血漿としました。粒子径分布および濃度測定は Aggregates Sizer を用いて行いました。測定条件を表 1 に示します。

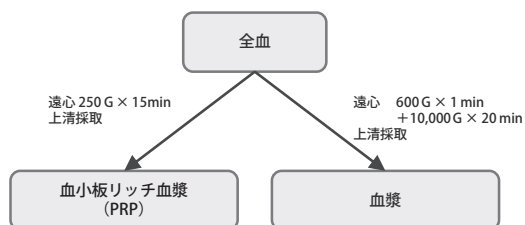


図 2 試料調製手順

表 1 測定条件

Instrument	: Aggregates Sizer
Method	: 定量化レーザ回折・散乱法 (qLD 法)
Measuring unit	: マイクロセル
Measurement range	: 0.1 μm - 10 μm
Refractive index	: 1.41-0.10i *1
Density	: 1.37 g/cm ³ *1

*1 粒子の組成が明らかであれば、そちらのパラメータを計算に使用することで、より正確な定量測定が可能となります。

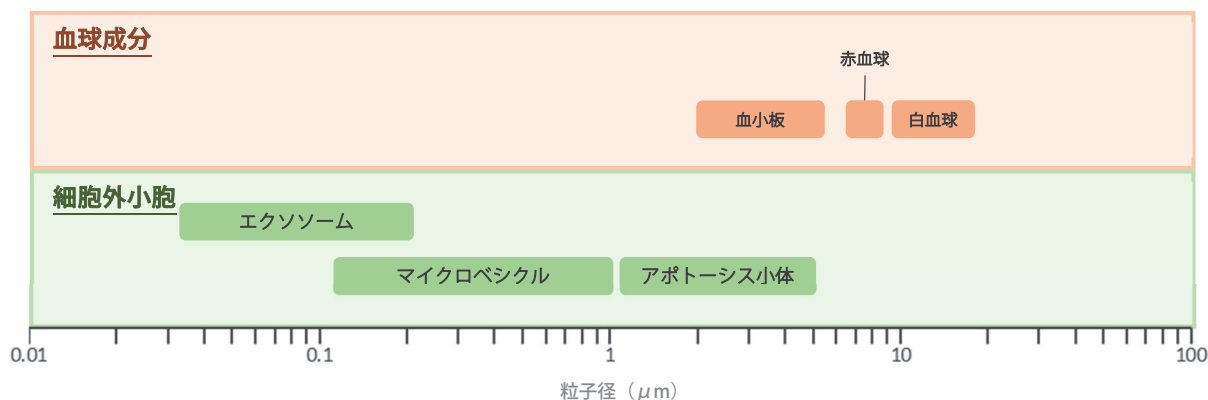


図 1 血中粒子のサイズ

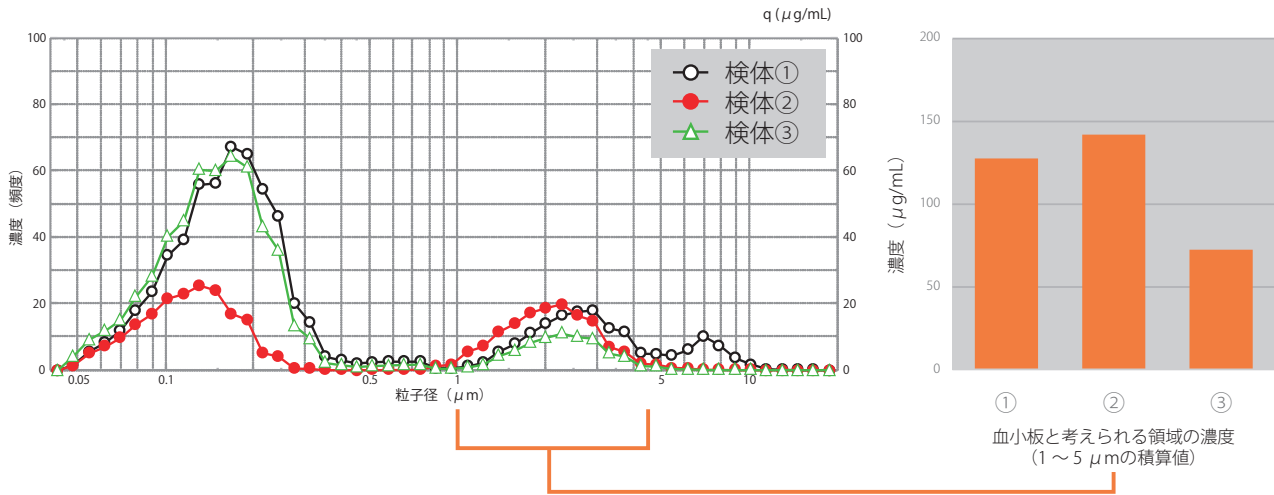


図3 PRPの測定結果

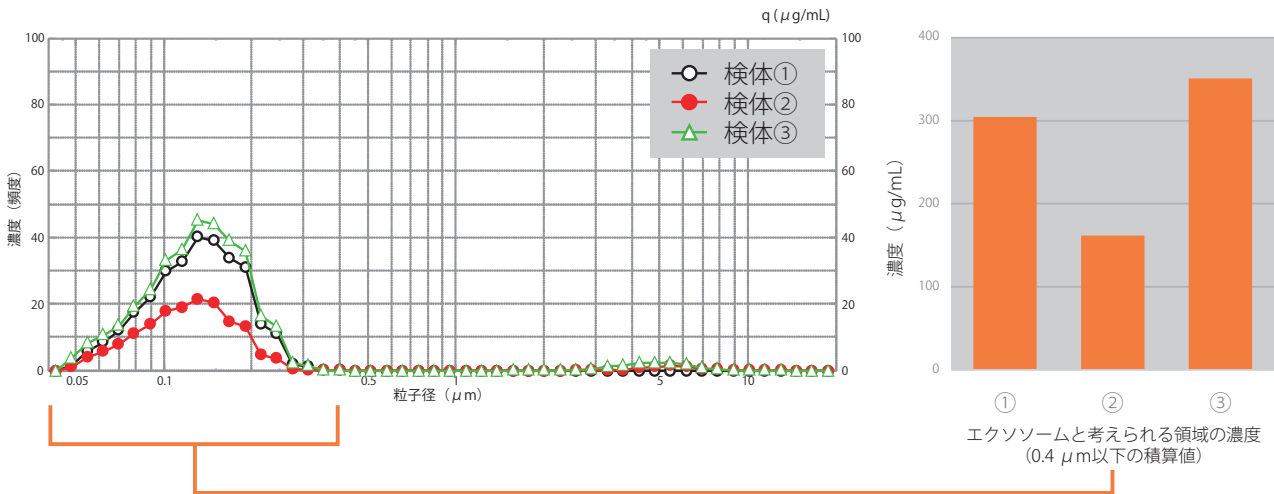


図4 血漿の測定結果

測定結果

まず図3、図4にPRPおよび血漿の測定結果を示します。それぞれ、3検体の粒子径分布と血小板もしくはエクソソームと推定される粒子濃度を示しています。

本装置では、物質の同定はできませんが、サイズから粒子径分布上のピークについて、PRPでは2 μm付近が血小板、8 μm付近が赤血球、血漿では100 nm付近がエクソソームと推定できます。

粒子濃度として、PRPでは血小板と推定される1~5 μmの区間の粒子濃度を、血漿ではエクソソームと推定される0.4 μm以下の区間濃度を記載しています。この結果から、検体ごとにそれぞれの粒子の量が異なっていることを確認できます。

まとめ

以上のようにAggregates Sizerを用いることにより、従来より少ない分離操作で、0.1 μm~10 μmのサイズの血中粒子の試料間の濃度差を定量的に評価することが可能です。

本製品は研究用途にのみ使用可能です。
医薬品医療機器等法に基づく医療機器として承認・認証を受けておりません。
治療診断目的およびその手続き上での使用はできません。

Aggregates Sizerは、株式会社島津製作所の日本およびその他の国における商標です。

株式会社 島津製作所 分析計測事業部
グローバルアプリケーション開発センター

初版発行：2019年9月

島津コールセンター ☎0120-131691
(075) 813-1691

※本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。
改訂版は下記の会員制 Web Solutions Navigator で閲覧できます。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。

<https://solutions.shimadzu.co.jp/>

会員制 Web の閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。