



**CYTOMETRY SOURCE BOOK**

**BD モノクローナル抗体**

フローサイトメトリー用

サンプル調製マニュアル

**BD Biosciences**

Clontech  
Discovery Labware  
Immunocytometry Systems  
Pharmingen



# CONTENTS

## 目次

<b>A</b>	はじめに	1
<b>B</b>	試薬および材料	2
<b>C</b>	検体	3
<b>1</b>	2カラー染色(直接免疫蛍光法)	
<b>1 a</b>	SimulTEST(全血法)	4
<b>1 b</b>	FITC標識抗体 / PE標識抗体	5
<b>1 c</b>	FITC標識抗体 / PE標識抗体(別法)	6
<b>2</b>	2カラー染色(間接免疫蛍光法)	
<b>2 a</b>	精製抗体 / ビオチン標識抗体またはFITC標識抗体(一次抗体のサブクラスが異なる場合)	7
<b>2 b</b>	精製抗体 / ビオチン標識抗体または蛍光標識抗体(一次抗体のサブクラスが同じ場合)	9
<b>2 c</b>	ビオチン標識抗体 / 蛍光標識抗体	11
<b>3</b>	3カラー染色(直接免疫蛍光法)	
	FITC標識抗体 / PE標識抗体 / PerCP標識抗体(全血法)	12
<b>4</b>	シングル染色(直接免疫蛍光法)	
	蛍光標識抗体	13
<b>5</b>	シングル染色(間接免疫蛍光法)	
	精製抗体またはビオチン標識抗体	14

# A

## はじめに





このBDモノクローナル抗体サンプル調製マニュアルは、BDモノクローナル抗体を用いたフローサイトメトリー法による、リンパ球細胞表面抗原の測定に使用する、抗体染色サンプルの調製方法をまとめたものです。

直接免疫蛍光法および間接免疫蛍光法については米国本社で製作された Cytometry Source Book の Becton Dickinson Procedure を基に作成しました。

2カラー染色、3カラー染色およびシングル染色のサンプル調製方法について掲載していますが、近年リンパ球表面抗原測定の主流となっておりマルチカラー解析のためのサンプル調製については、参考までに2カラー染色のセクションで抗体タイプの組合せによるいくつかの例を示しています。なお、体外診断用医薬品に該当する製品に關しましては、当該製品の添付文書にしたがってください。

内容に関するご質問またはご要望等ございましたら、BDアプリケーションホットライン(TEL: 03-5805-9960)までご連絡ください。

ご注文等についてのお問い合わせは、藤沢薬品工業株式会社医療関連事業部営業担当(TEL: 06-6206-7890 / 03-5256-5311)までご連絡ください。

- 1 **EDTA入りVacutainer®採血管** (BD社 EDTA 2K; カタログ番号367846またはEDTA 3K; カタログ番号367858など)
- 2 **PBSリン酸生理食塩液**:(細胞洗浄、細胞浮遊に使用)
  - 2-1 **0.1%アジ化ナトリウムを含むリン酸生理食塩液(Ca<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup>free)**(BD社 CellWASH カタログ番号349524)
  - 2-2 **蛋白含有リン酸生理食塩液**  
(赤血球溶血剤を用いて調製した細胞浮遊液あるいは単核細胞浮遊液を抗体として使用する場合に用います。)  
2-1に2%濃度(wt/vol)になるようにFetal calf serumを加えたもの。
- 3 **FACS Lysing Solution(全血法で使用)**(BD社 注文番号349202(医薬用外毒物))  
2~25 で保存します。使用に際して、20~25 の試薬調製用の水(局方の精製水またはそれに相当するもの)で10倍に希釈します。ガラス容器に入れ、20~25 で保存します。  
調製した溶液は20~25 で1カ月間安定です。  
詳細はFACS Lysing Solutionの添付能書をご参照ください。
- 4 **1%バラホルムアルデヒドPBS溶液**(BD社Cell FIX カタログ番号340181(医薬用外毒物))  
CellFIXは、2~25 で保存します。使用に際して、20~25 の試薬調製用の水(局方の精製水またはそれに相当するもの)で10倍に希釈します。ガラス容器に入れ、20~25 で保存します。  
調製した溶液は20~25 で1カ月間安定です。  
詳細はCellFIXの添付能書を参照してください。
- 5 **Ficoll-Hypaque® (Pharmacia社)またはVacutainer® Cell Preparation Tubes (CPT™)**(BD社 カタログ番号362753)  
(単核細胞分取用、 検体のB-1参照)
- 6 **赤血球溶血剤(細胞浮遊液調製用、 検体のB-2参照)**  
**[10倍濃度保存用]**  
NH<sub>4</sub>Cl 89.9g、KHCO<sub>3</sub> 10.0g、EDTA 4Na 370.0mgを1リットルの蒸留水に溶解します。  
pH 7.3に調整します。ガラス容器に入れ、密閉して2~8 で保存します。  
**[1倍濃度溶液]**  
90mLの精製水に10倍濃度保存液10mLを加え混和します。20~25 で保存します。1週間以上経ったものは廃棄します。
- 7 **精製マウスIgG**  
(2カラー染色   で使用)
- 8 **12x75mm Falconポリスチレン製使い捨て試験管**(BD社 カタログ番号352052, 352054, 352058)
- 9 **ロータ式遠心器**
- 10 **Vortex ミキサー**
- 11 **アスピレーター**
- 12 **チップ付マイクロピペッター**
- 13 **アイスバス**



## A 全 血

EDTA 入り採血管で採血したものを、

注)染色するまで20~25℃で保存します。

## B 細胞浮遊液

### B-1 比重遠心法により分離した単核細胞浮遊液

#### [調製法]

Ficoll-Hypaque(Pharmacia社)またはVacutainer® CPT™(BD社)でその能書に従って全血より単核細胞を分取し、 $2 \times 10^7$  cells / mL濃度の単核細胞浮遊液にします。

### B-2 赤血球溶血剤を用いて調製した細胞浮遊液\*

#### [調製法]

- 1 全血1mLに、20~25℃にもどした1倍濃度溶血剤14mLを加え、すぐにキャップをし転倒混和します。  
注)この検体調製にはFACS Lysing Solutionは使用しないでください。
- 2 振盪器にのせて20~25℃で3~5分間放置します。  
注)これ以上インキュベーション時間が長くないようにします。
- 3 20~25℃、300Xgで5分間遠心します。
- 4 ペレットを壊さないよう約50μL残して上清を除去します。
- 5 混和後、冷PBS 5mLを添加します。再度混和し2~8℃、300Xgで5分間遠心します。
- 6 ペレットを壊さないよう上清を除去し、PBS 1mL( **B** 試薬および材料の2-2参照)に再浮遊します。

注)Bの検体についてはトリパンブルー法、またはEthidium Bromide / Acridine Orange (EB / AO)法で細胞の生存率(viability)が90%以上であることを確認してください。  
EB / AO法では死細胞のほか顆粒球や血小板も染色されますのでご注意ください。

\* Cytometry Source Book, Becton Dickinson Procedures ;  
Direct Immunofluorescence Staining of Cell Surface Antigens in Unseparated Bloodより抜粋

1

2カラー染色  
(直接免疫蛍光法)

a

SimulTEST(全血法)

\* 白血球濃度が、 $3.5 \times 10^3 - 9.4 \times 10^3$  cell /  $\mu$ L  
である検体をご使用ください。

\*\* 白血球も増される恐れがあるので、12分  
以上インキュベーションしないでくださ  
い。



1 準備

測定する患者検体ごとに試験管2本を用意し、一方には試薬名を、他方にコントロールとラベルします。



2 抗体の添加

試薬名の試験管にSimulTEST20 $\mu$ L、コントロールの試験管にできるだけ同じアインタイプの組合せのSimulTESTコントロール試薬20 $\mu$ Lを管底に入れます。



3 検体の添加

全血100 $\mu$ L\*を加え、試薬と混和するように3秒間Vortexします。



4 インキュベーション

20~25℃、暗所で15分~30分間インキュベーションします。



5 溶血剤の添加

10倍希釈したFACS Lysing Solution 2mLを加え暖やかにVortexします。



6 インキュベーション

20~25℃、暗所で10分~12分間\*\*インキュベーションします。



7 溶血剤の除去

300xgで5分間遠心し、ペレットを壊さないように約50 $\mu$ L残して上清を除去します。



8 洗浄

PBS 2mLを加え3秒間Vortexし、200xgで遠心し、ペレットを壊さないように約50 $\mu$ L残して上清を除去します。



9 固定

1%パラホルムアルデヒドPBS溶液0.5mLを添加し、直ちに3秒間Vortexします。固定しない場合は、1%パラホルムアルデヒドPBS溶液の代わりに、PBS 0.5mLを添加します。



10 保存

試験管をカバーして測定まで冷暗所で保存します。固定した場合は染色後24時間以内に、固定しない場合はできるだけ早くに、測定します。

1

## 2カラー染色 (直接免疫蛍光法)

b

### FITC標識抗体 / PE標識抗体

注意 抗体の種類、組み合わせによっては適切な抗体の濃度調整が必要となることもあります。事前に確認されることをお勧めします。

\* 抗体や検体によっては全血法も可能です。(全血法の詳細についてはSimulTESTの項を参照。) 但し、抗体の種類、組合せによっては同様に抗体の濃度調整が必要となる場合があります。



## 1 準備

測定する患者検体ごとに試験管2本を用意し、一方には試薬名を、他方にコントロールとラベルします。



## 2 蛍光標識抗体の添加

試薬名の試験管にFITCおよびPE標識モノクローナル抗体各20μL、コントロールの試験管にできるだけ同じアイソタイプのFITCおよびPE標識コントロール試薬各20μLを管底に入れます。



## 3 検体の添加

検体(細胞浮遊液)\* 50μLを分注し、試薬と混和するように緩やかにVortexします。



## 4 インキュベーション

避光したアイスバスで30~45分間インキュベーションします。



## 5 洗浄

PBS 2mLを加え3秒間Vortexし、2~8、300xgで5分間遠心します。ペレットを壊さないよう上清を除去します。



## 6 PBS添加

約0.5mLになるようPBSを加えVortexし、細胞を再浮遊させます(最終細胞濃度約 $1 \times 10^6$  cell/mL)。固定する場合は、PBSの代わりに1%パラホルムアルデヒドPBS溶液を加えます。



## 7 保存

試験管をカバーして測定まで冷暗所で保存します。固定しない場合は染色後できるだけ早くに測定します。

1

**2カラー染色**  
(直接免疫蛍光法)

C

**FITC標識抗体**  
**PE標識抗体(別法)**

\* 抗体や検体によっては全血法も可能です。  
(全血法の詳細についてはSimulTESTの項を参照。)



**1 準備**

測定する患者検体ごとに試験管2本を用意し、一方には試薬名を、他方にコントロールとラベルします。



**2 FITC標識抗体の添加**

試薬名の試験管にFITC標識抗体20μL、コントロールの試験管にできるだけ同じアインタイプのFITC標識コントロール試薬20μLを管底に入れます。



**3 検体の添加**

検体(細胞浮遊液)\* 産50μLずつ分注し、試薬と混和するように緩やかに攪拌します。



**4 インキュベーション**

遮光したアイスバスで30～45分間インキュベーションします。



**5 洗浄**

PBS 2mLを加え3秒間Vortexし、2～8、300xgで5分間遠心します。ペレットを壊さないように約50μL残して上清を除去します。



**6 PE標識抗体の添加**

試薬名の試験管にPE標識抗体20μL、コントロールの試験管にできるだけ同じアインタイプのPE標識コントロール試薬20μLを加えます。



**7 インキュベーション**

遮光したアイスバスで30～45分間インキュベーションします。



**8 洗浄**

PBS 2mLを加え3秒間Vortexし、2～8、300xgで5分間遠心します。ペレットを壊さないよう上清を除去します。



**9 PBS添加**

約0.5mLになるようPBSを加えVortexし、細胞を再浮遊させます(最終細胞濃度約 $1 \times 10^6$  cell/mL)。固定する場合は、PBSの代わりに1%パラホルムアルデヒドPBS溶液を加えます。



**10 保存**

試験管をカバーして測定まで冷暗所で保存します。固定しない場合は染色後できるだけ早くに、測定します。

2

2カラー染色  
(間接免疫蛍光法)

a

精製抗体 /  
ビオチン標識抗体  
またはFITC標識抗体

一次抗体のサブクラスが異なる場合



## 1 準備

測定する患者検体ごとに試験管2本を用意し、一方には試薬名を、他方にコントロールとラベルします。



## 2 精製抗体の添加

試薬名の試験管に精製抗体20µL、コントロールの試験管に同じアイソタイプのコントロール試薬20µLを管底に入れます。



## 3 検体の添加

検体(細胞浮遊液)を50µLずつ分注し、試薬と混和するように緩やかに撹拌します。



## 4 インキュベーション

避光したアイスバスで30～45分間インキュベーションします。



## 5 洗浄

PBS 2mLを加え3秒間Vortexし、2～8、300xgで5分間遠心し、ペレットを壊さないように約50µL残して上清を除去します。



## 6 二次抗体の添加

二次抗体のPE標識ラット抗マウスIgG<sub>1</sub>またはIgG<sub>2a+b</sub> 20µLを加えます。



## 7 ビオチン標識またはFITC標識抗体の添加

試薬名の試験管にはビオチン標識抗体またはFITC標識抗体20µLを、コントロールの試験管にはビオチン標識コントロール試薬またはFITC標識コントロール試薬20µLを加え、3秒間Vortexします。



## 8 インキュベーション

避光したアイスバスで30～45分間インキュベーションします。



## 9 洗浄

PBS 2mLを加え3秒間Vortexし、2～8、300xgで5分間遠心します。ペレットを壊さないように約50µL残して上清を除去します。  
< FITC標識抗体を用いた場合13へ進みます >



## 10 アビジン-FITCの添加

アビジン-FITC 4µLを加え、3秒間Vortexします。



## 11 インキュベーション

遮光したアイスバスで30～45分間インキュベーションします。



## 12 洗 浄

PBS 2mLを加え3秒間Vortexし、2～8、300xgで5分間遠心し、ペレットを壊さないよう上清を除去します。



## 13 PBS添加

約0.5mLになるようPBSを加えVortexし、細胞を再浮遊させます(最終細胞濃度約 $1 \times 10^6$  cell/mL)。固定する場合は、PBSの代わりに1%パラホルムアルデヒドPBS溶液を用います。



## 14 保 存

試験管をカバーして測定まで冷暗所で保存します。固定しない場合は染色後できるだけすぐに、測定します。

# 2

2カラー染色  
(間接免疫蛍光法)

# b

精製抗体 /  
ビオチン標識抗体  
または蛍光標識抗体

一次抗体のサブクラスが同じ場合



## 1 準備

測定する患者検体ごとに試験管2本を用意し、一方には試薬名を、他方にコントロールとラベルします。



## 2 精製抗体の添加

試薬名の試験管に精製抗体20 $\mu$ L、コントロールの試験管に同じアイソタイプのコントロール試薬20 $\mu$ Lを管底に入れます。



## 3 検体の添加

検体(細胞浮遊液)を50 $\mu$ L分注します。試薬と混和するように緩やかに攪拌します。



## 4 インキュベーション

遮光したアイスバスで30~45分間インキュベーションします。



## 5 洗浄

PBS 2mLを加え3秒間Vortexし、2~8、300xgで5分間遠心します。ペレットを壊さないように約50 $\mu$ L残して上清を除去します。



## 6 二次抗体の添加

二次抗体のFITC標識ヤギ抗マウスIg 4 $\mu$ LまたはPE標識抗マウスKappa 20 $\mu$ Lを加え、3秒間Vortexします。



## 7 インキュベーション

遮光したアイスバスで30~45分間インキュベーションします。



## 8 洗浄

PBS 2mLを加え3秒間Vortexし、2~8、300xgで5分間遠心します。ペレットを壊さないように約50 $\mu$ L残して上清を除去します。



## 9 ブロッキング

精製マウスIgGを添加し、二次抗体の未反応の抗原結合部位に次に加える蛍光標識抗体が結合しないようブロックします。



## 10 インキュベーション

遮光したアイスバスで10分間インキュベーションします。



### 11 ビオチン標識または蛍光標識抗体の添加

試験名の試験管にビオチン標識抗体20 $\mu$ Lまたは蛍光標識抗体20 $\mu$ L、コントロールの試験管にできるだけ同じアイソタイプのビオチン標識コントロール試薬または蛍光標識コントロール試薬20 $\mu$ Lを加え3秒間Vortexします。



### 12 インキュベーション

遮光したアイスバスで30分間インキュベーションします。



### 13 洗 浄

PBS 2mLを加え3秒間Vortexし、2~8、300xgで5分間遠心します。ペレットを壊さないように約50 $\mu$ L残して上清を除去します。  
< 蛍光標識抗体の場合は17へ進みます >



### 14 蛍光標識ストレプトアビジン または蛍光標識アビジンの添加

ストレプトアビジン-PE 20 $\mu$ Lまたはアビジン-FITC 4 $\mu$ Lを加え、3秒間Vortexします。



### 15 インキュベーション

遮光したアイスバスで30分間インキュベーションします。



### 16 洗 浄

PBS 2mLを加え3秒間Vortexし、2~8、300xgで5分間遠心します。ペレットを壊さないように約50 $\mu$ L残して上清を除去します。



### 17 PBSの添加

約0.5mLになるようPBSを加えVortexし、細胞を再浮遊させます(最終細胞濃度約 $1 \times 10^6$  cell / mL)。固定する場合は、PBSの代わりに1%パラホルムアルデヒドPBS溶液を加えます。



### 18 保 存

試験管をカバーして測定まで冷暗所で保存します。固定しない場合は染色後できるだけすぐに、固定した場合は染色後24時間以内に、測定します。

# 2

## 2カラー染色 (間接免疫蛍光法)

# C

### ビオチン標識抗体 / 蛍光標識抗体



### 1 準備

測定する患者検体ごとに試験管2本を用意し、一方には試薬名を、他方にコントロールとラベルします。



### 2 抗体の添加

試薬名の試験管にビオチン標識抗体とFITCまたはPE標識抗体を各20 $\mu$ L、コントロールの試験管に同じアイソタイプのビオチン標識コントロール試薬および蛍光標識コントロール試薬20 $\mu$ Lを管底に入れます。



### 3 検体の添加

検体(細胞浮遊液)を50 $\mu$ L注します。試薬と混和するように緩やかに攪拌します。



### 4 インキュベーション

避光したアイスバスで30分間インキュベーションします。



### 5 洗浄

PBS 2mLを加え3秒間Vortexし、2~8、300xgで5分間遠心します。ペレットを壊さないように約50 $\mu$ L残して上清を除去します。



### 6 二次抗体の添加

二次抗体のアビジン-FITC 4 $\mu$ Lまたはストレプトアビジン-PE 20 $\mu$ Lを加え、3秒間Vortexします。



### 7 インキュベーション

避光したアイスバスで30分間インキュベーションします。



### 8 洗浄

PBS 2mLを加え3秒間Vortexし、2~8、300xgで5分間遠心します。ペレットを壊さないよう上清を除去します。



### 9 PBS添加

約0.5mLになるようPBSを加えVortexし、細胞を再浮遊させます(最終細胞濃度約1x10<sup>6</sup> cell/mL)。固定する場合は、PBSの代わりに1%パラホルムアルデヒドPBS溶液を加えます。



### 10 保存

試験管をカバーして測定まで冷暗所で保存します。固定しない場合は染色後できるだけ早くに、固定した場合は染色後24時間以内に、測定します。

# 3

## 3カラー染色 (直接免疫蛍光法)

**FITC標識抗体 /  
PE標識抗体 /  
PerCP標識抗体  
(全血法\*)**

注) 抗体の種類や組み合わせによっては適切な抗体の濃度調整が必要となることもあります。事前に確認されることをお勧めします。  
また、2カラー染色(直接免疫蛍光法) FITC標識 / PE標識抗体(別法)のように、各蛍光標識抗体を別々に反応させる方法もあります。

\* 抗体や検体によっては全血法で出来ない場合もあります。その場合には細胞洗浄液を使用した方法を用います。(間接免疫蛍光法を参照。)

\*\* 白血球濃度が、 $3.5 \times 10^3 - 9.4 \times 10^3$  cell /  $\mu\text{L}$ である検体をご使用ください。

\*\*\* 白血球も破壊される恐れがあるので、12分以上インキュベーションしないください。



## 1 準備

測定する患者検体ごとに試験管2本を用意し、一方には試薬名を、他方にコントロールとラベルします。



## 2 蛍光標識抗体の添加

試薬名の試験管に蛍光標識モノクローナル抗体各20 $\mu\text{L}$ 、コントロールの試験管にできるだけ同じアイソタイプのコントロール試薬各20 $\mu\text{L}$ を管底に加えま。



## 3 検体の添加

全血100 $\mu\text{L}$ \*\*を加え、試薬と混和するように3秒間Vortexします。



## 4 インキュベーション

20~25℃、暗所で15分~30分間インキュベーションします。



## 5 溶血剤の添加

10倍希釈したFACS Lysing Solution 2mLを加え3秒間Vortexします。



## 6 インキュベーション

20~25℃、暗所で10分~12分間\*\*\*インキュベーションします。



## 7 溶血剤の除去

300xgで5分間遠心し、ペレットを壊さないように約50 $\mu\text{L}$ 残して上清を除去します。



## 8 洗浄

PBS 2mLを加え3秒間Vortexし、2~8℃、300xgで5分間遠心します。ペレットを壊さないように約50 $\mu\text{L}$ 残して上清を除去します。



## 9 固定

1%パラホルムアルデヒド溶液0.5mLを添加し、直ちに3秒間Vortexします。固定しない場合は、1%パラホルムアルデヒドPBS溶液の代わりに、PBS 0.5mLを添加します。



## 10 保存

試験管をカバーして測定まで冷暗所で保存します。固定した場合は染色後24時間以内に、固定しない場合はできるだけ早くに、測定します。

# 4

## シングル染色 (直接免疫蛍光法)

### 蛍光標識抗体

\* 抗体および検体によっては全血法も可能です。  
(全血法の詳細についてはSimulTESTの項を参照。)



#### 1 準備

測定する患者検体ごとに試験管2本を用意し、一方には試薬名を、他方にコントロールとラベルします。



#### 2 蛍光標識抗体の添加

試薬名の試験管に蛍光標識モノクローナル抗体20µL、コントロールの試験管にできるだけ同じアイソタイプのコントロール試薬20µLを管底に加えます。



#### 3 検体の添加

検体(細胞浮遊液)\* 50µLを分注します。試薬と混和するように緩やかに攪拌します。



#### 4 インキュベーション

避光したアイスバスで30分間インキュベーションします。



#### 5 洗浄

PBS 2mLを加え3秒間Vortexし、2~8、300xgで5分間遠心します。ペレットを壊さないように約50µL残して上清を除去します。



#### 6 PBS添加

約0.5mLになるようPBSを加えVortexし、細胞を再浮遊させます(最終細胞濃度約 $1 \times 10^6$  cell / mL)。固定する場合は、PBSの代わりに1%パラホルムアルデヒドPBS溶液を加えます。



#### 7 保存

試験管をカバーして測定まで冷暗所で保存します。固定しない場合は染色後できるだけすぐに、固定した場合は染色後24時間以内に、測定します。

# 5

シングル染色  
(間接免疫蛍光法)

精製抗体または  
ビオチン標識抗体



## 1 準備

測定する患者検体ごとに試験管2本を用意し、一方には試薬名を、他方にコントロールとラベルします。



## 2 精製抗体またはビオチン標識抗体の添加

試薬名の試験管に精製抗体またはビオチン標識抗体20 $\mu$ L、コントロールの試験管に同じアイソタイプのコントロール試薬20 $\mu$ Lまたはビオチン標識コントロール試薬を管底に入れます。



## 3 検体の添加

検体(細胞浮遊液)を50 $\mu$ Lずつ分注します。試薬と混和するように緩やかに攪拌します。



## 4 インキュベーション

遮光したアイスバスで30分間インキュベーションします。



## 5 洗浄

PBS 2mLを加え3秒間Vortexし、2~8、300xgで5分間遠心します。約50 $\mu$ L残してペレットを吸引しないよう上清を除去します。



## 6 二次抗体の添加

精製抗体の場合はFITC標識ヤギ抗マウスIg 4 $\mu$ L等、ビオチン標識抗体の場合はアビジン-FITC 4 $\mu$ L等の二次抗体を加え、3秒間Vortexします。



## 7 インキュベーション

遮光したアイスバスで30分間インキュベーションします。



## 8 洗浄

PBS 2mLを加え3秒間Vortexし、2~8、300xgで5分間遠心し、ペレットを壊さないよう上清を除去します。



## 9 PBS添加

約50 $\mu$ LになるようPBSを加えVortexし、細胞を再浮遊させます(最終細胞濃度約 $1 \times 10^6$  cell/mL)。固定する場合は、PBSの代わりに1%パラホルムアルデヒドPBS溶液を加えます。



## 10 保存

試験管をカバーして測定まで冷暗所で保存します。固定しない場合は染色後できるだけ早くに、固定した場合は染色後24時間以内に、測定します。



機器輸入販売元・試薬輸入元

日本ベクトン・ディッキンソン株式会社

東京都港区赤坂 8-5-26 赤坂DSビル 〒107-0052

お客様情報センター ☎ 0120-8555-90

Fax 024-593-5761

ホームページアドレス <http://www.bdj.co.jp>

製造元  
BD Biosciences



試薬発売元

藤沢薬品工業株式会社

大阪市中央区道修町 3丁目 4番 7号 〒541-8514

医療関連事業部 Tel.06-6206-7890(代表)

64-002-02  
R0-0112-000.7-851