

## 別表C

使用血球計算版

Improve Neubauer改良 (インプルーブド) ノイバウエル

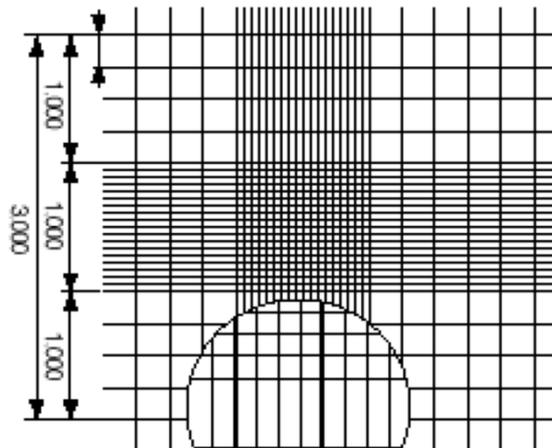
計算版のタイプ

標準目盛 (JIS検定品) 複式チャンバ

—

目盛標線 3.000×3.000 mm

deep 0.100 mm 1/400 1/16 mm<sup>2</sup>



### 生細胞数の算定方法

ガーゼにて傷つかぬ様70%Et-OHに浸かっている血球計算盤、カバーガラスを拭き、カバーガラス載せる。この計算版に限っては、強く押し付ける等無理にニュートンリング作成の必要はなく、計算盤にカバーガラスを載せるだけで、密着面にニュートンリングが確認できる。マイクロピペットにチップを着け、均一になる様 pipettingした細胞浮遊液0.5 mlを、ガラスtube0.1%トリパンプルー溶液 (1.5 ml) に加える。

計算盤とカバーガラスの隙間に、パスツールピペットを使いトリパンプルー液と混ぜた細胞浮遊液を注入。(液は毛細管現象により吸い込まれる) この時、細胞浮遊液が計算盤目盛周囲の溝に漏れ出す、または液量が少なく細胞浮遊液が計算盤目盛を満たしていない場合、正確なカウントとはならない事に注意。

計算盤の容積：縦31.0 mm×横3.0 mm×深さ0.1 mm =  $0.9 \times 10^{-6}$  つまり0.9  $\mu$ l

細胞浮遊液は0.1%トリパンプルー溶液によって、希釈 (0.5/2.0mlつまり1/4) されているので計算式を4倍する。

全区画の細胞数/0.9 × 4 = □□cells/ $\mu$ l

ただし、1 ml中の細胞数を求めたいので、単位はcells/ml に換算するので

全区画の細胞数/0.9×4 ×10<sup>3</sup>= □□cells/ml

あるいは計算の便宜上

$$\boxed{\text{全区画の細胞数}/9 \times 4 \times 10^4 = \square\square \text{cells/ml}}$$

全区画中の細胞数を数えるが、0.1%トリパンブルーにより青く染まるのは死細胞、丸く透明に見えるものが生細胞である。

### カウント実例

全区画細胞数223 の場合

$$223/9 \times 4 \times 10^4 = 5.18 \times \boxed{2 \times 10^5} \text{ cells/ml}$$

\*dishに播きたい濃度が  $\boxed{2 \times 10^5}$  であるため、この場合

5.18倍希釈≒5倍希釈を行う