

# 粒子計数分析装置 CDA-1000/1000B のご紹介

シスメックス株式会社 科学計測事業部

## はじめに

電気抵抗式（電氣的検知帯法）による粒子計数分析装置は、生理食塩水などの電解質溶液に浮遊させた細胞を 100  $\mu\text{m}$  程度のアパチャー（細孔）に通し、その際に発生する電気信号を検出・解析することにより、粒子の粒子径・体積と個数を簡便に測定することができる分析装置である<sup>1)</sup>。主に、臨床検査の分野で、赤血球、白血球などの血球計数ならびに簡易白血球分類に用いられる<sup>2)</sup>とともに、基礎研究の分野で酵母、培養細胞などの分析に広く利用されている。

弊社では、1995年より、自動血球計数装置 F-520 をベースとして、培養細胞<sup>3,4)</sup>、精子細胞<sup>5,6)</sup>、酵母<sup>7,8)</sup>などの各種細胞、さらに、トナーなどの工業用粉体の計数、粒子径・体積（粒度分布）測定に対応した汎用の粒子計数分析装置 CDA-500（以下、CDA-500；シスメックス社）を販売している。

このたび、CDA-500 の後継機種として、測定部本体とオプションを組み合わせることでユーザーの多様なニーズに適合できる CDA シリーズ 3 モデルを開発した。今回は、理化学・医化学分野向けに各種細胞・酵母などの測定に適した

電氣的検知帯法 粒子計数分析装置 CDA-1000/1000B（以下、CDA-1000/1000B；シスメックス社、**図 1**）についてその概要を紹介する。

## 商品コンセプト

CDA-1000B は、測定部本体のみで動作するスタンドアロンタイプで、CDA シリーズの中で最も低価格の製品であり、主に細胞を計数するためのモデルである。

CDA-1000 は、測定部本体 + データ処理部（PC）で構成される。データ処理部を接続することで測定結果の保存・各種解析機能が付加されるとともに、PC（Windows Vista）がサポートするプリンタ、ストレージデバイスとの接続が可能となる。また、製薬市場向けオプションとして、21 CFR Part11 対応ソフトウェアを提供している。

以下に詳細な商品コンセプトを紹介する。

### 1. コンパクト設計

CDA システムは、測定部本体とデータ処理部（解析 PC）で構成される（**図 1**）。（※ CDA-1000B は測定部本体のみ）



図 1. 装置外観図

測定部本体の設置面積は B4 サイズのコンパクト設計 (幅×高さ×奥行き: 約 250 × 370 × 390 (mm), 約 17.5Kg) である。

## 2. 簡単操作

装置本体の電源をオンし、解析ソフトを起動すると、自動的にスタートアップ動作を行い、約 2 分後に測定を開始できる。

CDA-1000 では、SOP (標準操作手順) を作成することにより、各種細胞の測定に適した条件を簡単に設定し、測定が可能である。

CDA-1000B では、タッチパネルによる簡単な操作で測定が可能である。

## 3. 広い測定ダイナミックレンジ

標準の検出器 (100  $\mu\text{m}$ ) では、2 ~ 60  $\mu\text{m}$  の細胞を一度に測定できる。検出器の交換、測定レンジの切替など煩雑な操作は不要である。

オプションの検出器では 1 ~ 30  $\mu\text{m}$  (50  $\mu\text{m}$  検出器)、4 ~ 120  $\mu\text{m}$  (200  $\mu\text{m}$  検出器) の範囲の細胞を一度に測定できる。

## 4. 多彩な測定モード

シリンジ定量方式の採用により、測定容量を自由に設定可能 (50 ~ 2000  $\mu\text{L}$ : 100  $\mu\text{m}$  検出器使用時) である。また、解析細胞数を設定するトータルカウントモードも可能であり、希薄試料、濃厚試料でも最適な測定条件を設定できる。

## 5. デジタル波形処理

デジタル波形処理の採用により、パルス波高値を正確に求めるだけでなく、パルス幅などの新たな情報を提供する。

## 6. 多彩なデータ処理機能

CDA-1000 では、測定結果は解析用パソコンに自動保存され、画面に表示される (図 2)。プリンタでの印刷、PDF 形式での保存、頻度・積算データは CSV 形式、および XML 形式で出力できる。印刷フォーマットをカスタマイズできるレポートデザイン機能も搭載している。また、トレンドグラフ、重ね合わせ機能、再解析機能など、多彩なデータ処理が可能である。

Run No.	測定日付	プレート名	ウェル名	検出器	検出モード	測定結果
1	2008/12/04 11:00:00			100 $\mu\text{m}$	標準(100 $\mu\text{m}$ )	1.00
2	2008/12/04 11:00:40			100 $\mu\text{m}$	標準(100 $\mu\text{m}$ )	1.00
3	2008/12/04 11:01:41			100 $\mu\text{m}$	標準(100 $\mu\text{m}$ )	1.00
4	2008/12/04 11:02:21			100 $\mu\text{m}$	標準(100 $\mu\text{m}$ )	0.00
5	2008/12/04 11:03:00			100 $\mu\text{m}$	標準(100 $\mu\text{m}$ )	0.00

図 2. CDA-1000 測定結果一覧表画面

CDA-1000B では、測定結果は内蔵プリンタで印刷される（※ CDA-1000B にデータの記憶機能は搭載していない）。

## 7. リアルタイムモニター機能 (CDA-1000のみ, 図3)

測定中の粒子検出状態をリアルタイムにモニター可能であり、粒子のパルス波形、粒子濃度、測定の進行をグラフと数値でリアルタイム表示でモニターできる。また、検出器の詰まりなどの異常をリアルタイムに検出できる。

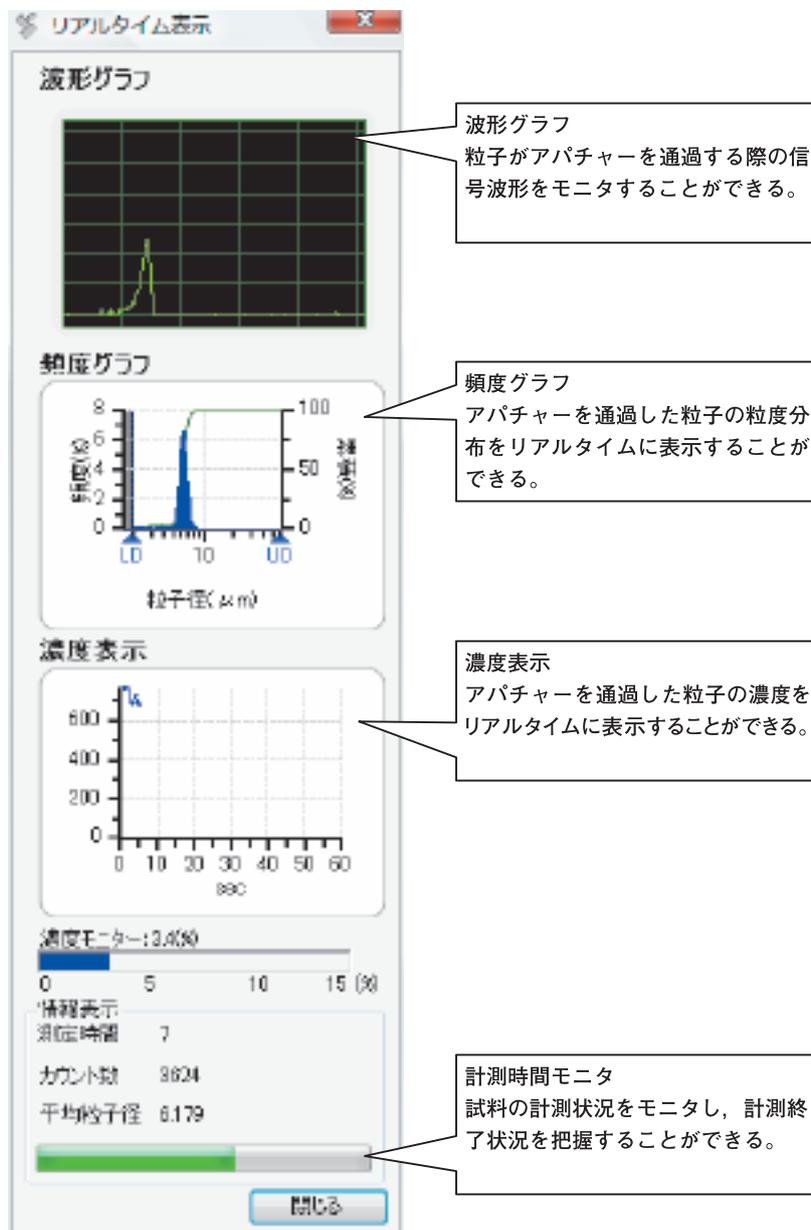


図3. リアルタイム表示画面

## 測定原理

検出部は、アパチャー（細孔）で区切られた電解質溶液の両側に電極を配置して構成される（図4）。細胞は電氣的に絶縁体と見なされ、細胞がアパチャーを通過すると、電極間の電気抵抗が変化する。電氣的検知帯法はこの電気抵抗の変化を電気パルスとして検出する。生じた電気パルスの高さは、通過した

細胞の体積と比例しており、パルス数から細胞の個数を求めることができる（図5）。CDA-1000は電流感応型の電氣的検知帯法を採用しており、電解質溶液の温度変化によるインピーダンスの影響を排除している。測定された細胞の大きさは「体積」、あるいは細胞体積と同等の球の直径「粒子径」（球相当径）として表示される。

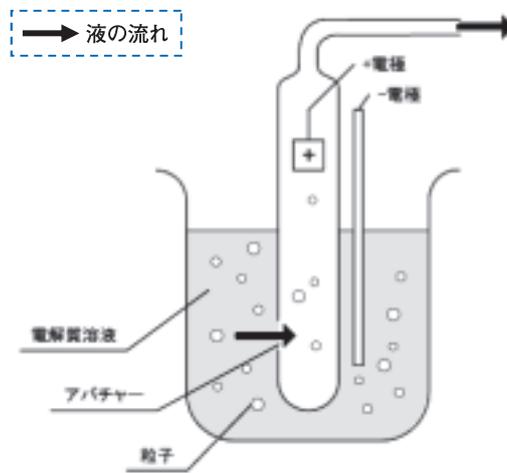


図4. 電氣的検知帯法の原理 概念図

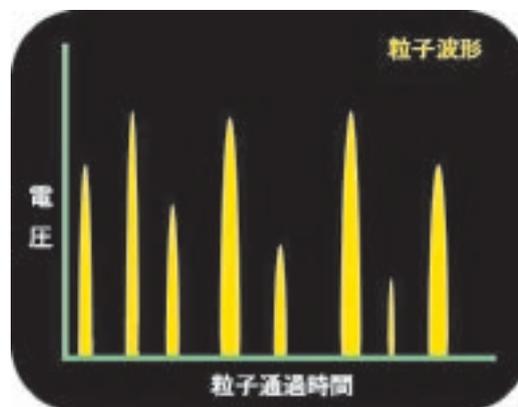


図5. アパチャー通過粒子の検出波形 概念図

## 主な仕様

名称 : 粒子計数分析装置 CDA-1000/1000B  
 用途 : 電気検知帯法による、細胞の粒度分布および数の測定  
 分散媒 : セルパック (シスメックス社)

検出感度 :

アパチャー径	粒子径測定	体積測定
100 $\mu\text{m}$	2.0 ~ 60 $\mu\text{m}$	4.190 ~ 113,040 fL
50 $\mu\text{m}$ (オプション)	1.0 ~ 30 $\mu\text{m}$	0.524 ~ 14,130 fL
200 $\mu\text{m}$ (オプション)	4.0 ~ 120 $\mu\text{m}$	33.5 ~ 904,320 fL

測定時間 :

アパチャー径	測定容量	測定時間
100 $\mu\text{m}$	500 $\mu\text{L}$ の場合	約 40 秒
50 $\mu\text{m}$ (オプション)	500 $\mu\text{L}$ の場合	約 88 秒
200 $\mu\text{m}$ (オプション)	2000 $\mu\text{L}$ の場合	約 41 秒

測定モード :

定量測定  
 トータルカウント (限定無)  
 トータルカウント (限定有)

定量測定モードおよびトータルカウントモード時のサンプリング容量・カウント数の設定範囲 :

アパチャー径	設定容量範囲	設定カウント数
	(容量測定モード時)	(トータルカウントモード時)
100 $\mu\text{m}$	50 ~ 2,000 $\mu\text{L}$	1 ~ 500,000 個
50 $\mu\text{m}$ (オプション)	50 ~ 2,000 $\mu\text{L}$	1 ~ 500,000 個
200 $\mu\text{m}$ (オプション)	200 ~ 2,000 $\mu\text{L}$	1 ~ 500,000 個

測定項目およびグラフ表示項目 :

(粒子径測定時)

- ・平均粒子径, モード径, 分布幅\*, 粒子径 SD\*, 粒子径 CV\*, 積算分率, ふるい分け\*, 粒子濃度
- ・カウント数, オーバーカウント数, 平均パルス幅\*

(体積測定時)

- ・平均体積, モード体積, 分布幅\*, 体積 SD\*, 体積 CV\*, 体積分率\*, ふるい分け\*, 粒子濃度
- ・カウント数, オーバーカウント数, 平均パルス幅\*

(グラフ表示)

- ・粒度分布図, 重ね合わせグラフ\*, トレンドグラフ\*, パルス幅分布\*
- ・スキャッタグラム (粒子サイズとパルス幅の 2 次元分布図)\*, 精度管理グラフ\*

\*CDA-1000 のみ

使用環境 :

周囲温度 : 15 ~ 30°C  
 相対湿度 : 30 ~ 85%  
 気圧 : 80 ~ 106KPa

オプション :

50  $\mu\text{m}$ ・200  $\mu\text{m}$  アパチャー 検出器  
 21 CFR Part11 対応ソフトウェア (CDA-1000 のみ)

## 装置の基本性能

表 1-a ~ f に CDA-1000 の基本性能を示す。

表 1-a. 正確度 (平均体積)

アパチャー径：50 μm

試料	呼径 [μm]	試料濃度 [×10 <sup>3</sup> 個/mL]	規格値
DUKE 製 4016A	1.6	約 62.5	換算体積 ±3% (※)
DUKE 製 4025A	2.5	約 62.5	
DUKE 製 4205A	5.0	約 31.25	
DUKE 製 4212A	12	約 12.5	
DUKE 製 4225A	25	約 6.25	
DUKE 製 4225A	25	約 6.25	

アパチャー径：100 μm

試料	呼径 [μm]	試料濃度 [×10 <sup>3</sup> 個/mL]	規格値
DUKE 製 4203A	3.0	約 12.5	換算体積 ±3% (※)
DUKE 製 4205A	5.0	約 12.5	
DUKE 製 4210A	10	約 6.25	
DUKE 製 4225A	25	約 2.5	
DUKE 製 4250A	50	約 1.25	
DUKE 製 4250A	50	約 1.25	

アパチャー径：200 μm

試料	呼径 [μm]	試料濃度 [×10 <sup>3</sup> 個/mL]	規格値
DUKE 製 4206A	6.0	約 3.125	換算体積 ±3% (※)
DUKE 製 4210A	10	約 3.125	
DUKE 製 4220A	20	約 1.5625	
DUKE 製 4250A	50	約 0.625	
DUKE 製 4311A	115	約 0.3125	
DUKE 製 4311A	115	約 0.3125	

セルパックを分散媒として、上記の試料を体積モードで10回連続測定した場合の平均値が上記の規格値の範囲内。

※換算体積：粒子径表示値から求めた球相当体積

表 1-b. 正確度 (平均粒子径)

アパチャー径：50 μm

試料	呼径 [μm]	試料濃度 [×10 <sup>3</sup> 個/mL]	規格値
DUKE 製 4016A	1.6	約 62.5	表示値 ±3%
DUKE 製 4025A	2.5	約 62.5	
DUKE 製 4205A	5.0	約 31.25	
DUKE 製 4212A	12	約 12.5	
DUKE 製 4225A	25	約 6.25	
DUKE 製 4225A	25	約 6.25	

アパチャー径：100 μm

試料	呼径 [μm]	試料濃度 [×10 <sup>3</sup> 個/mL]	規格値
DUKE 製 4203A	3.0	約 12.5	表示値 ±3%
DUKE 製 4205A	5.0	約 12.5	
DUKE 製 4210A	10	約 6.25	
DUKE 製 4225A	25	約 2.5	
DUKE 製 4250A	50	約 1.25	
DUKE 製 4250A	50	約 1.25	

アパチャー径：200 μm

試料	呼径 [μm]	試料濃度 [×10 <sup>3</sup> 個/mL]	規格値
DUKE 製 4206A	6.0	約 3.125	表示値 ±3%
DUKE 製 4210A	10	約 3.125	
DUKE 製 4220A	20	約 1.5625	
DUKE 製 4250A	50	約 0.625	
DUKE 製 4311A	115	約 0.3125	
DUKE 製 4311A	115	約 0.3125	

セルパックを分散媒として、上記の試料を粒子径モードで10回連続測定した場合の平均値が上記の規格値の範囲内。

表 1-c. 正確度 (粒子濃度)

試料	希釈倍率	試料濃度 [×10 <sup>9</sup> 個/mL]	規格値
セルチェック-400 (CC-12) シスメックス製	50,000 倍	約 4.00	表示値 ±3%

上記の試料を体積モードで 10 回連続測定した場合の平均値が上記の規格値の範囲内。

表 1-d. 再現性 (平均体積)

アパチャー径：50 μm

試料	呼径 [μm]	試料濃度 [×10 <sup>3</sup> 個/mL]	規格値
DUKE 製 4016A	1.6	約 62.5	3%
DUKE 製 4025A	2.5	約 62.5	
DUKE 製 4205A	5.0	約 31.25	
DUKE 製 4212A	12	約 12.5	
DUKE 製 4225A	25	約 6.25	

アパチャー径：100 μm

試料	呼径 [μm]	試料濃度 [×10 <sup>3</sup> 個/mL]	規格値
DUKE 製 4203A	3.0	約 12.5	3%
DUKE 製 4205A	5.0	約 12.5	
DUKE 製 4210A	10	約 6.25	
DUKE 製 4225A	25	約 2.5	
DUKE 製 4250A	50	約 1.25	

アパチャー径：200 μm

試料	呼径 [μm]	試料濃度 [×10 <sup>3</sup> 個/mL]	規格値
DUKE 製 4206A	6.0	約 3.125	3%
DUKE 製 4210A	10	約 3.125	
DUKE 製 4220A	20	約 1.5625	
DUKE 製 4250A	50	約 0.625	
DUKE 製 4311A	115	約 0.3125	

セルパックを分散媒として、上記の試料を体積モードで10回連続測定した場合の変動係数CVが上記の規格値の範囲内。

表 1-e. 再現性 (平均粒子径)

アパチャー径：50 μm

試料	呼径 [μm]	試料濃度 [×10 <sup>3</sup> 個/mL]	規格値
DUKE 製 4016A	1.6	約 62.5	3%
DUKE 製 4025A	2.5	約 62.5	
DUKE 製 4205A	5.0	約 31.25	
DUKE 製 4212A	12	約 12.5	
DUKE 製 4225A	25	約 6.25	

アパチャー径：100 μm

試料	呼径 [μm]	試料濃度 [×10 <sup>3</sup> 個/mL]	規格値
DUKE 製 4203A	3.0	約 12.5	3%
DUKE 製 4205A	5.0	約 12.5	
DUKE 製 4210A	10	約 6.25	
DUKE 製 4225A	25	約 2.5	
DUKE 製 4250A	50	約 1.25	

アパチャー径：200 μm

試料	呼径 [μm]	試料濃度 [×10 <sup>3</sup> 個/mL]	規格値
DUKE 製 4206A	6.0	約 3.125	3%
DUKE 製 4210A	10	約 3.125	
DUKE 製 4220A	20	約 1.5625	
DUKE 製 4250A	50	約 0.625	
DUKE 製 4311A	115	約 0.3125	

セルパックを分散媒として、上記の試料を粒子径モードで10回連続測定した場合の変動係数が上記の規格値の範囲内。

表 1-f. 再現性 (粒子濃度)

アパチャー径：50 μm

試料	呼径 [μm]	試料濃度 [×10 <sup>3</sup> 個/mL]	規格値
DUKE 製 4202A	2.0	約 62.5	体積モード：3% 粒子径モード：3%

アパチャー径：100 μm

試料	呼径 [μm]	試料濃度 [×10 <sup>3</sup> 個/mL]	規格値
DUKE 製 4204A	4.0	約 62.5	体積モード：3% 粒子径モード：3%

アパチャー径：200 μm

試料	呼径 [μm]	試料濃度 [×10 <sup>3</sup> 個/mL]	規格値
DUKE 製 4208A	8.0	約 6.25	体積モード：3% 粒子径モード：3%

セルパックを分散媒として、上記の試料を10回連続測定した場合の変動係数CVが上記の範囲内。

◎本試験で使用したラテックス粒子は、米国の国立標準技術研究所 (National Institute of Standards and Technology ; NIST) で定められた規格によってDuke Scientific Corporation が粒子径を保証している粒子である。

◎シスメックス製 セルチェック-400 (CC-12) は、粒子濃度の精度管理物質としてシスメックス社が独自に開発し、生産・管理している粒子である。

## 測定例

CDA-1000 を用いて、粒子径測定モードでビール酵母を測定した結果を図6に示す。

粒子径モードは、標準アパチャーを使用した場合 2 ~ 60  $\mu\text{m}$  と広範囲の細胞を一度に測定可能であり、分布範囲の広い細胞の測定に適している。

体積モードでビール酵母を測定した結果を図7に示す。体積モードは、比較的狭い範囲に分布する細胞の体積を正確に測定する場合に適しており、特に赤血球など粒度分布を測定する際によく用いられる。

CDA-1000 では、これらの複数の測定結果を重ね合わせグラフ、トレンドグラフで表示することができる。これらのグラフは、例えば、培養細胞の粒度分布の変化、細胞数の変化を観察する際に便利な機能である。

使用例として、ビール酵母を 0, 1.5, 3, 5 時間培養した場合の粒度分布を示す重ね合わせグラフと粒子径、粒子数などのトレンドグラフを示す(図8-a, b)。培養時間の経過によるビール酵母の体積、細胞数の変化を簡単に図示することができる。

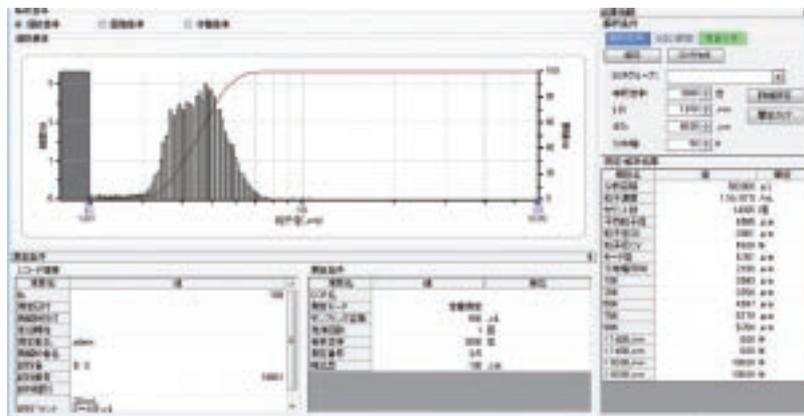


図6. ビール酵母測定例 (粒子径表示)

試料培養液 10  $\mu\text{L}$  をセルパック 30 mL で希釈して測定  
検出器：100  $\mu\text{m}$ 、測定モード：定量測定 (500  $\mu\text{L}$ )

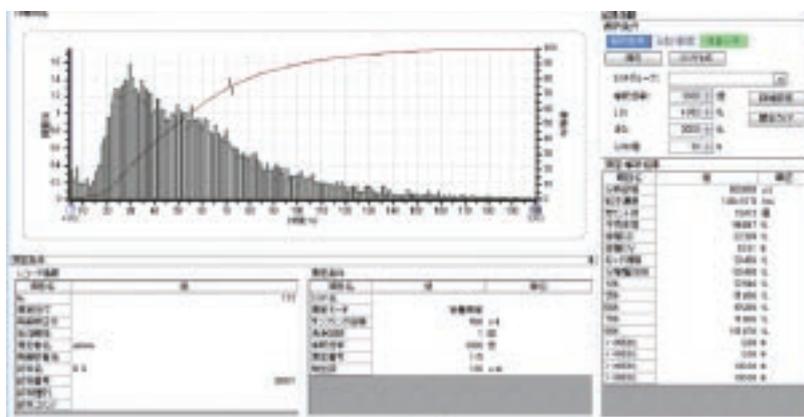
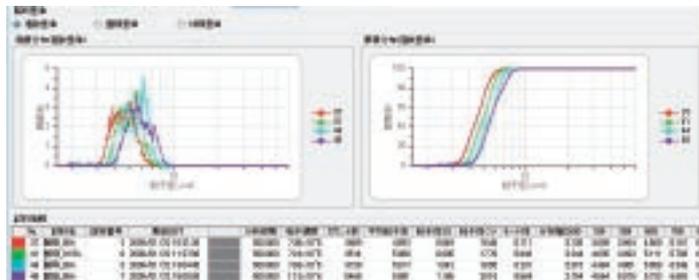


図7. ビール酵母測定例 (体積表示)

試料培養液 10  $\mu\text{L}$  をセルパック 30 mL で希釈して測定  
検出器：100  $\mu\text{m}$ 、測定モード：定量測定 (500  $\mu\text{L}$ )



測定結果

培養時間 (hr)	粒子濃度 (個/mL)	モード径 (μm)
0.0	$7.38 \times 10^5$	5.111
1.5	$7.18 \times 10^5$	5.643
3.0	$7.68 \times 10^5$	6.231
5.0	$1.13 \times 10^6$	5.568

個数基準：モード径

図8-a. ビール酵母の培養時間と粒度分布，粒子濃度（重ね合わせグラフ）

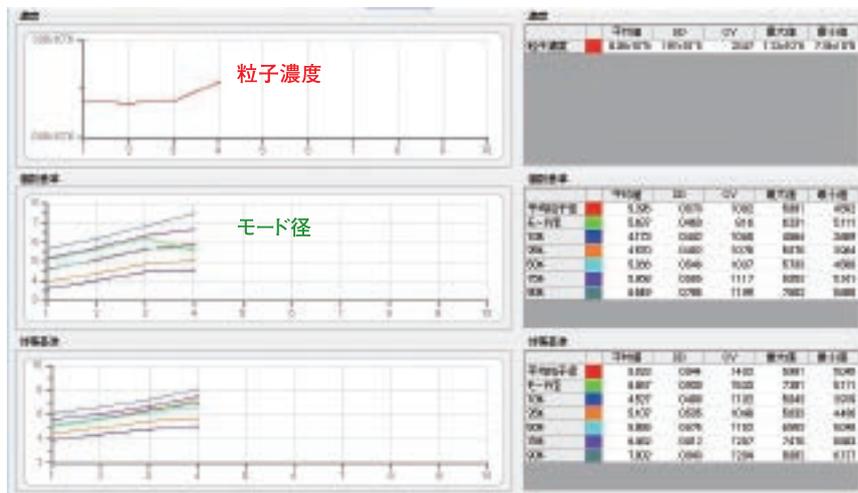


図8-b. ビール酵母の培養時間と粒度分布，粒子濃度（トレンドグラフ）

ビール酵母を25℃にて0, 1.5, 3, 5hr培養後測定した結果を重ね合わせグラフ，トレンドグラフで表示。酵母を培養すると，出芽により体積が増加し，右に分布が移動する。3hrで体積が最大になり，5hrでは出芽した酵母が分裂し，粒子濃度が高くなる。

試料培養液 100 μL をセルパック 10 mL で希釈して測定  
 検出器：100 μm アパチャー，測定モード：定量測定 (500 μL)

## おわりに

今回、CDA-1000/1000B について概説した。皆様の研究室でご使用いただき、ご意見・ご要望をお聞かせいただければ幸いです。

本報告では書面の都合により割愛したが、CDA には他にも多くの機能が搭載されている。今後、機能・測定性能の詳細および測定事例などを、順次、下記 URL にて公開予定であり、参照をお願いする。

「非臨床血液検査と細胞分析」

<http://www.sysmex.co.jp/labscience/>

また、CDA シリーズとして、CDA-1000 に攪拌機能および工業分野向けの各種機能を付加した工業分野向けモデル CDA-1000X も発売しており、下記 URL にて情報を公開している。合わせてご覧いただければ幸いです。

「粒子計測のこと何でも解決サイト」

<http://particle.sysmex.co.jp/>

## 参考文献

- 1) 藤本敬二. 当社の血球計数装置の測定原理の概要. *Sysmex J.* 1999 ; 22 ( 1 ) : 43-60.
- 2) 巽 典之 他. 血球計数装置の測定原理—血球細胞電気抵抗方式計測の変遷. *Sysmex J.* 1999 ; 22 ( 1 ) : 11-28.
- 3) Maeno E et al. Normotonic cell shrinkage because of disordered volume regulation is an early prerequisite to apoptosis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000 ; 97 ( 17 ) : 9487-9492.
- 4) Matsumoto M et al. Preclinical in vivo Antitumor Efficacy of Nedaplatin with Gemcitabine against Human Lung Cancer. *Jpn J Cancer Res.* 2001 ; 92 ( 1 ) : 51-58.
- 5) 大村 実 他. 精子数計測における粒子計数分析装置の有用性. *福岡医学雑誌.* 1997 ; 88 ( 8 ) : 294-297.
- 6) Tayama K et al. Measuring mouse sperm parameters using a particle counter and sperm quality analyzer : A simple and inexpensive method. *Reprod Toxicol.* 2006 ; 22 ( 1 ) : 92-101.
- 7) Tanaka K et al. Characterization of a Fission Yeast SUMO-1 Homologue, Pmt3p, Required for Multiple Nuclear Events, Including the Control of Telomere Length and Chromosome Segregation. *Mol Cell Biol.* 1999 ; 19 ( 12 ) : 8660-8672.
- 8) Shimoda C et al. Isolation of thermotolerant mutants by using proofreading-deficient DNA polymerase  $\delta$  as an effective mutator in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genes Genet Syst.* 2006 ; 81 ( 6 ) : 391-397.