

認定サイトメトリー技術者の知識レベルの到達目標(スタンダード)

I. 基礎

A. サイトメトリーとサイトメーターの基本概念

1. フローサイトメトリーとは何かを簡潔に述べることができる.
2. フローサイトメーターとは何かを簡潔に説明できる.
3. ソーティングとは何かを簡潔に述べることができる.
4. フローサイトメトリーの特徴と限界を列挙することができる.
5. レーザースキャニングサイトメーターとは何かを簡潔に説明できる.
6. レーザースキャニングサイトメーターの特長を列挙することができる.

B. フローサイトメーターの基本的な構造と機能

1. 流路系

- 1) 細胞(サンプル液)の流路を概説できる.
- 2) ハイドロダイナミックフォーカシングにおけるシース液の役割とラミナフローについて説明できる.
- 3) アコースティックフォーカシングの特長を簡潔に述べることができる.
- 4) マイクロ流路チップフローサイトメーターの特長を簡潔に述べることができる.

2. 光学系

- 1) 励起光の意味を述べることができる.
- 2) レーザー光の特長を述べることができる.
- 3) マルチレーザー方式を説明できる.
- 4) フローサイトメトリーで測定される散乱光の種類と意義を述べることができる.
- 5) 励起波長, 蛍光波長および検出器の関係を述べることができる.
- 6) 光学フィルターの種類と特性について簡潔に述べることができる.
- 7) 異軸レーザーのレーザーディレイについて簡潔に説明できる.
- 8) スペクトル型フローサイトメーターの特長を簡潔に述べることができる.

3. 電気回路・情報処理系

- 1) ヒストグラムとは何かを説明できる.
- 2) サイトグラムとは何かを説明できる.
- 3) ドットプロット表示と等高線表示のそれぞれの特長と欠点を述べることができる.
- 4) 光電子増倍管(PMT)やアバランシェフォトダイオード(avalanche photodiodes, APD)の適切な調整方法を述べることができる.
- 5) リニアスケールとログスケールの特長・欠点を述べることができる.
- 6) ロジカルスケール(リニアログスケール)の有用性を説明できる.
- 7) Threshold(閾値)の意味や設定の際の留意点を説明できる.

- 8) ゲート解析とは何かを説明できる.
- 9) Compensation とは何かを説明できる.
- 10) 変動係数 (coefficient of variation, CV) 定義, 並びに結果を評価する上でのその意義を説明できる.
- 11) シグナルの Area, Height, Width の意味や活用法について簡潔に述べることができる.
- 12) データー保証における Time の利用を簡潔に述べることができる.
- 13) デジタルフローサイトメーターの特長を簡潔に述べることができる.

4. ソーティング

- 1) ソーティングの原理を説明できる.
- 2) Jet in Air 方式ソーターとキューベット式ソーターの違いを説明できる.
- 3) ブレイク・オフ・ポイントとドロップ・ディレイについて説明できる.
- 4) マイクロ流路方式ソーターの特長を簡潔に述べることができる.

C. サンプル調製 (一般事項)

1. 抗体

- 1) 抗体分子の構造とサブクラスについて説明できる.
- 2) エピトープおよびアフィニティーについて説明できる.
- 3) ポリクローナル抗体とモノクローナル抗体の特徴と欠点を説明できる.
- 4) 宿主動物種のモノクローナル抗体の特徴と欠点を説明できる.

2. 染色

- 1) 蛍光抗体法 (直接法, 間接法) の原理を説明できる.
- 2) 蛍光抗体法の一般的な手技の概略を説明できる.
- 3) 非特異反応および自家蛍光について説明できる.
- 4) wash 法と no-wash 法の特徴と欠点を説明できる.
- 5) Blue レーザー, Red レーザー, Violet レーザーで使用可能な代表的蛍光色素の種類と蛍光波長を述べることができる.

3. 標準試料

- 1) 標準試料の必要性を説明できる.
- 2) DNA 解析における内部標準 (internal standard) と外部標準 (external standard) の定義と実例を述べることができる.
- 3) モノクローナル抗体染色におけるアイソタイプコントロールの必要性について説明できる.
- 4) アイソクロニックコントロールについて説明できる.

D. フローサイトメーターのメンテナンスと事故・感染の予防

1. 毎回の測定終了後に行う流路の洗浄法を説明できる.

2. 定期的に行う流路の十分な洗浄法を説明できる.
3. 検体・色素の感染性・毒性について述べるができる.
4. 廃液の適切な処理の仕方を説明できる.

E. イメージサイトメトリー

1. イメージサイトメトリー (イメージフローサイトメトリーを含む) について説明できる.
2. イメージサイトメトリーとフローサイトメトリーの違い, それぞれの特長・欠点を説明できる.

II. サイトメトリーの応用

A. 臨床血液検査におけるサイトメトリー

1. 血液細胞の取り扱いについて
 - 1) 抗凝固剤の特長・欠点を説明できる.
 - 2) 末梢血や骨髓血, 生検組織から血球の分離・採取方法を説明できる.
 - 3) 比重遠心分離法およびデキストラン生食法による血球分離について説明できる.
 - 4) 溶血操作の注意点と全血法の意義を説明できる.
 - 5) サンプルの事前の洗浄 (pre 洗浄) の必要性を説明できる.
 - 6) 血小板の分離方法について説明できる.
 - 7) 検体の保存方法と生細胞 (viability) の測定について説明できる.
2. 免疫蛍光染色と多重染色 (マルチカラー解析) について
 - 1) Stain Index について簡潔に説明できる.
 - 2) エスケープ現象について簡潔に説明できる.
 - 4) マルチカラー解析における spread 現象を軽減する方法を簡潔に述べることができる.
 - 5) ヒト白血球に対する代表的なモノクローナル抗体 (CD 分類) と反応細胞の種類を 10 組以上挙げることができる.
3. 血液細胞への応用
 - 1) 血液細胞の同定と細胞表面および細胞内抗原解析
 - ① 散乱光サイトグラム上の末梢血白血球の種類と分布領域を述べることができる.
 - ② 健常成人における末梢血リンパ球サブセットの分類とその基準値について述べるができる.
 - ③ CD45 ゲーティングの有用性について述べることができる.
 - ④ 造血器腫瘍の細胞表面マーカー検査について説明できる.
 - ⑤ リンパ球の単一増殖性の評価方法を説明できる.
 - ⑥ 細胞内抗原解析の留意点を述べることができる.
 - ⑦ CD34 陽性幹細胞測定の階層化ゲーティングについて述べることができる.
 - ⑧ 治療効果判定のための微小残存病変 (MRD) の有用性について述べることができる.
 - ⑨ 高感度 PNH クローン解析の留意点について述べることができる.

2) その他の解析

- ①好中球の殺菌能・貪食能の測定法について簡潔に説明できる.
- ②アレルギー反応の評価における好塩基球のマーカーについて説明できる.

B. 細胞核 DNA 量の測定

1. 細胞核 DNA 量測定法

- 1)ダブレット除去法について説明できる.
- 2)細胞周期と DNA 量との関係を説明できる.
- 3)DNA ヒストグラムとは何かを説明できる.
- 4)DNA diploidy /aneuploidy と DNA ploidy の定義を述べることができる.
- 5)DNA index (DI) の定義を述べることができる.

2. 細胞核 DNA 量測定の生物学・医学の応用

- 1)核 DNA 量測定による細胞増殖評価法を説明できる.
- 2)核 DNA 量測定によるアポトーシス検出法を説明できる.
- 3)DNA aneuploidy と核型異常・染色体不安定性・染色体倍加の関係について説明できる.
- 4)腫瘍細胞における DNA ploidy 測定について, その方法, 意義について説明できる.

C. その他サイトメトリ技術の生物学・医学への応用

1. サイトメリーによる細胞増殖評価法(核 DNA 量測定以外)を説明できる.
2. サイトメリーによるアポトーシス検出法(核 DNA 量測定以外)を説明できる.
3. ビーズアレイ法について説明できる.
4. 細胞外小胞の測定法について説明できる.
5. 細胞内 pH の測定および細胞内カルシウム測定に使用する代表的な色素を述べることができる.