



顕微鏡の調整について

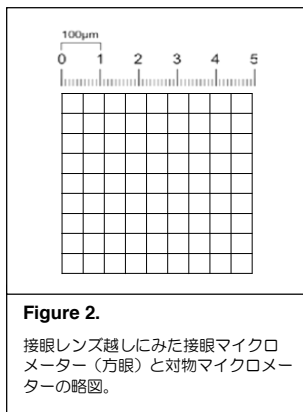
MICROSCOPE CALIBRATION

顕微鏡を一台一台調整するのはなぜ？

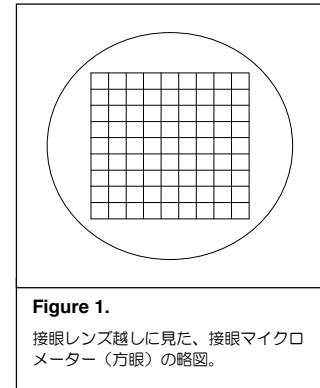
顕微鏡はそれぞれ条件が違います。同じ精液サンプルを複数の顕微鏡で測定した場合、違う結果がでることがあります。

顕微鏡同士の差を補正するため、補正係数 (F) を計算して、精子濃度を正確に算出する必要があります。補正係数 (F) は、特定の顕微鏡と特定の対物レンズに対し、必ず 1 回行う必要があります。

調整の手順



1. 接眼マイクロメーター（方眼）をセットします。（または、予備として顕微鏡に付属する方眼目盛付きの接眼レンズをご使用下さい。）
Figure 1 にある、接眼レンズ越しに見た方眼の様子を参考にして下さい。
2. 対物マイクロメーターを、“0” が接眼マイクロメーターの方眼の縁と完全に揃うようセットします（Figure 2 参照）。対物マイクロメーターの長い線同士の距離は、100 μm です。
3. 接眼マイクロメーターの方眼の一番左の端から一番右の端までの長さを計り、この数値を 10（方眼の数、Figure 2 を参照）で割って、1 ボックス当たりの幅を計算します (= D)



例； Figure 2 では、方眼の一番左の端から一番右の端までの長さは 500 μm となっています。従って、

$$D = \frac{500\mu\text{m}}{10} = 50\mu\text{m}$$

以下の式を用いて、顕微鏡の補正係数を計算します。

F = 補正係数

D = 小ボックスの幅

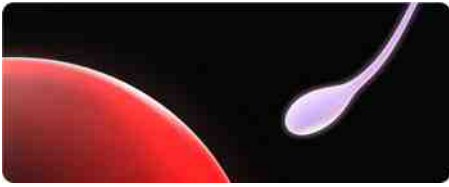
T = Leja スライドのチャンバーの高さ（深さ）

$$F = \frac{1,000,000}{T \times D^2}$$

例； Leja 20 ミクロン・スライドをご使用の場合、D 値は上記 3 項によって算出

$$F = \frac{1,000,000}{T \times D^2} = \frac{1,000,000}{20 \times 50^2} = 20$$

補正係数 (F) を使って小ボックス 1 個当たりのサンプルの容積の濃度を修正することにより、精液サンプルの濃度を正確に計算できます。



Leja

Leja[®]スライドと接眼レンズ用方眼目盛を使った 手動による精子数の測定

MANUAL SPERM COUNTS USING A LEJA[®] SLIDE AND EYEPIECE RETICLE

以下では、Leja[®]スライドと接眼レンズ用方眼目盛を使った手動による精子数の測定を解説しています。

手動で精子数を測定する前に、ご使用の顕微鏡のための補正係数 (F) を調べる必要があります。顕微鏡、あるいは対物レンズを変えない限り、この F 値の算出を繰り返す必要はありません。 F 値の算出については、Leja のウェブサイト

【<http://www.leja.nl> [download > manuals]】でもご覧頂けます。

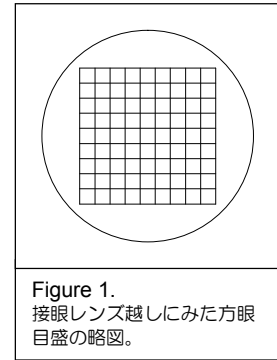


Figure 1.
接眼レンズ越しにみた方眼目盛の略図。

カウンティングの手順：

測定に当たっては、以下の2つの数値に注意して下さい。

S = カウントした精子の数 (最低でも 200 以上)

B = カウンティングに使用したボックスの数 (Figure 1 の方眼目盛では、100 ボックスあります)

通常では、カウンティングは最も左上のボックスから始め、列を右方向に進み、次に列-2、列-3...、と数えていきます。

列から列へと進む際に同じ精子細胞を重複して数えることがないように、下記のルールに従って下さい。

- 精子の頭部のみを数える (ボックスの中の尾の部分は 1 と数えない)。
- 完全にボックス内に頭部が収まっている場合のみ、1 として数える。
- 頭部がボックスの枠線にかかっている場合、頭部の半分以上が入っているボックスのカウントとして扱う。

濃度の計算：

1. 始めに、カウントしたボックス 1 つあたりの精子数の平均値を出します。

$$N = \frac{S}{B}$$

2. 濃度 (C) を 100 万/ml ($= 10^6 \text{ ml}^{-1}$) に直すため、この N 値に顕微鏡の補正係数 (F) を掛けます。

$$C = N \times F$$

重要事項：Leja[®]スライドには複数のチャンバーがあります。上記の濃度は、カウントを行った特定のチャンバーに対してのものです。スライドに注入する前にサンプルが薄めてあった場合、未処理の精液の元々の濃度を計算するためには希釈率を考慮する必要があります。

 <http://www.neuro-s.co.jp>
NEUROSCIENCE, INC.[®]

株式会社 ニューロサイエンス

本社 ■ 〒110-0016 東京都台東区台東 4-5-1 sales@neuro-s.co.jp
TEL: 03-5688-1061 FAX: 03-5688-1065
大阪営業所 ■ 〒532-0002 大阪府大阪市淀川区東三国 5-13-9 米澤ビル東三国 4F
TEL: 06-6391-8841 FAX: 06-6391-8859

販売代理店

--