

# 精子数の測定に関するマニュアル

MANUAL FOR THE ASSESSMENT OF SPERM COUNTS

Leja<sup>®</sup> 20 ミクロン 4 チェンバー スライド

Leja<sup>®</sup> 20 micron four chamber slide

*Leja*





## Leja<sup>®</sup> Standard Counting Chamberのご案内

製造元：

Leja Products B.V.  
Luzernestraat 10, 2153 GN Nieuw Vennepe, The Netherlands  
web: [www.Leja.nl](http://www.Leja.nl)

Leja<sup>®</sup> は ISO 9001:2000 の認定を受けております。

Leja<sup>®</sup>スライドは、専門家専用のインビトロ診療器具です。

Leja<sup>®</sup>スライドは、血中細胞や精子など浮遊している細胞を専門家が顕微鏡下で数値化し鑑定するためのもので、セルフトテスト用ではありません。Leja<sup>®</sup>スライドをお取扱いの際は、資格をもつ専門家の方のみとさせていただきます。

Leja<sup>®</sup>スライドは日光のあたらない密閉した箱に室温で保存して下さい。Leja<sup>®</sup>スライドは長年保管してあってもお使い頂けます。チャンバーから霞のようなものが出ることがありますが、チャンバー中を満たせばとれまらずしチャンバーの機能には影響はありません。

体液は感染危険物質です。スライドを取扱う際は、外側の左右の縁のみに触れるようにし、注入口には触れないで下さい。体液がこぼれないようにして下さい。

Leja<sup>®</sup>スライドはガラス製です。割れると鋭い角ができますので、ご注意下さい。

使用済みのLeja<sup>®</sup>スライドは感染性廃棄物として扱い、地区の医療廃棄物処理法に従って廃棄して下さい。

### 総説

Leja<sup>®</sup>スライドは、血中細胞や精子など浮遊している細胞を専門家が顕微鏡下で数値化し鑑定するためのものです。測定の際は、顕微鏡が必要です。顕微鏡を、精液分析によく用いられる Computer Assisted Semen Analysis (CASA) システムに装着することも可能です。運動性の高い精子の分析には、10x あるいは 20x の対物レンズを使って 12 ミクロンまたは 20 ミクロンの高さのチャンバー付き Leja<sup>®</sup>スライドをご使用下さい。高さ 100 ミクロンの Leja<sup>®</sup>スライドは、少ない細胞数 (0 ~ 8,000 /ml および 8,000 ~ 1×10<sup>6</sup> /ml) の分析の際にご使用下さい。(詳しくは、Leja スライド 20 ミクロン&100 ミクロン用のマニュアルをご覧ください。)

Leja<sup>®</sup>スライドは、フロートガラス製で、顕微鏡用スライドの標準規格サイズ (75x25x1 mm) です。切って割るのではなく挽いて適切なサイズにカットしてありますので切断面が鋭くなく、取扱いの際のユーザーへの安全性に配慮されています。Leja<sup>®</sup>チャンバーの上には、カバースリップがあります。Leja<sup>®</sup> 4 チャンバータイプのスライドのカバースリップのサイズは、32 x 21 x 0.7 mm です。ガラスのスライドもカバースリップも洗浄済みでコーティング処置を施してあります。洗浄済みのガラスの表面は、非常に反応しやすくなっていますが、コーティング加工で、検体注入の際ガラスの表面に細胞が張り付いてしまうのを防止し、また、注入の際空気の泡が出来てしまうのを防ぎます。ですが、精液サンプルの中に微小物質がある場合、空気が発生しやすくなりますのでご注意下さい。

Leja<sup>®</sup>スライドの仕様はスライド本体の左右の側面にプリントされています。

Leja<sup>®</sup>スライドには、様々なチャンバーの数や高さのタイプがあり、チャンバーの数は 3 種類 (2、4、8)、高さは 3 種類 (12、20、100 ミクロン) あります。各チャンバーの最小容量は 1 μl、最大は 25 μl で、スライドにプリントされています。分析の際有効な表面積は、8 チャンバーのスライドの場合で 20 mm<sup>2</sup>、4 チャンバーの場合で 66 mm<sup>2</sup>、高さ 100 ミクロンの 2 チャンバーの場合 250 mm<sup>2</sup> です。

Leja<sup>®</sup>スライドの 2 層のガラス板の距離は厳密に決められており、対物サイドに樹脂が塗ってあります。この樹脂中に、精密な決まった直径のスペーサーが入っています。カバースリップはプリント済みのパターンの上



に置かれ、二つのガラス板が並行になるように押しつけられます。この時、スペーサーの直径によりガラス板の間の距離が決まり、樹脂を固めます。製造中チャンバー内にホコリやチリが入り込むのを防ぐため、Leja®スライドの製造はクリーンルームで行われております。

製造工程とチャンバーのデザインは、特許により守られています。

## チャンバーの高さ

チャンバーの高さの許容率は、最大5%です。100ミクロンのチャンバーの場合、実際の高さは $100 \pm 5$ ミクロンです。実際の製造されたスライドの高さの最大値と最小値および95%信頼区間は、製造バッチごとにウェブサイトにてご提供しております。

## Segre-Silberberg 効果のための補正

原則として Segre-Silberberg 効果は全ての毛細管の側面にあてはまるため、チャンバーにサンプルを注入する際の細胞の動きにも影響します。そのため、分析チャンバー中央部での測定濃度が、実際より低い数値に出ます。この Segre-Silberberg 効果の補正の必要性は、ポアズイコ流の発生、チャンバーの高さ、カウンティングチャンバー表面の特質、表面張力、サンプルの流入速度や粘性など、多くのファクターによります。水分の多い液体中の精子の場合、補正係数は 1.30、粘性の高いサンプルの場合は 1.00 に近い数値を用います。他のファクターは全て定数値なので、Segre-Silberberg 効果に関連する変数はサンプルの粘性のみです。流入時間と粘性度は高い関連性がありますので、21 mm の毛細管を使って Leja®チャンバーにサンプルを充填する時間を計ることで特定のサンプル用の補正係数を計算できます。

チャンバーの高さが 100 ミクロンの場合、Segre-Silberberg 効果はほとんどありませんので、補正係数を使用する必要はありません。

## 品質管理

### 1. チャンバーの高さ

製造後、全てのスライドに品質管理テストを行います。印刷の質と樹脂の接着面は視認で確認されます。チャンバーの高さに関しては、1) 単色光で干渉パターンをチェックする、2) 1箱25枚のスライドのうち3枚を、Leja®特製の測定機器でミクロン単位で高さを計測する2つの方法で検査されます。この Leja®特製機器は、視認できる光の全波長の干渉原理を利用した測定機器です。製造ロットそれぞれの測定結果は Leja®のウェブサイトでご覧頂けます。

### 2. 毒性

それぞれの製造ロットは、人間の精子よりも毒性に敏感なイノシシの精子を薄めた液で毒性テストを受けます。チャンバー中央部（樹脂の縁から最低 0.8 mm 内側の部分）にある精子の運動性もテストします。毒性テストには6分かかりますが、その間精子の運動性は最大10%減少します。毒性テストの結果は、Leja®のウェブサイトでご覧頂けます。10xあるいは20xの対物レンズを用いた場合の視覚は、100ミクロンより大幅に低いため、100ミクロンのスライドは毒性テストの対象外となります。

### 3. 空気泡の発生

それぞれの製造ロットに、標本注入時の空気泡発生テストがあります。日々無作為に選ばれたスライドに水を入れ、空気泡が発生しない場合のみ品質テストにパスしたことになります。

### 4. 廃棄処理

ご使用前の Leja®スライドは、家庭の一般廃棄物として廃棄して頂けます。人間の体液を充填した後の Leja®スライドは感染の危険がありますので、使用後の Leja®スライドの破棄に関しては地方自治体の指示に従って下さい。



## 異なる手順のご案内

	ページ
精子数の測定： CASA システム使用	5
変数と数式	5
ラボ用マニュアル（手順）	5
精子数の測定： 手動	7
変数と数式	7
$S_x$ の決定	7
ラボ用マニュアル（手順）	8
顕微鏡の調整 (Leja®スライドを最初にご使用になる時のみ)	9



## CASA システムによる測定方法

CASA システムが適切にセットアップされカリブレーション済みであるかどうか、CASA システム製造元の発行した取扱説明書でご確認下さい。

人間精液および精液・子宮頸管粘液の採取や精液の取扱に関しては、WHO の定めた実験室用マニュアル

*WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction*  
(参考文献リスト参照) に従って下さい。

## 序 説

精子細胞の運動パターンは温度に敏感です。繰返し精度があり、かつ比較に値する結果を得るには、保存および計測中の温度域を慎重に管理する必要があります。急激な温度変化は避けて下さい。室温にするために精子のサンプルを冷やした場合、運動パターンが妨げられたり完全に停止してしまうことがあります。こうした場合、運動パターンが戻るまで時間がかかります。

液化したサンプルから精子を採取して測定する際は、決まった時間の後、標準プロトコールに従って運動パターンを測定することをお勧め致します。

サンプルは、適当な時間（約 30 分）37° C で保って下さい。  
スライドは、注入前の数分、37° C のホットプレートに置いて下さい。

## 変数と数式

$TC_1$  = チャンバー #1 での測定数の合計

$TC_2$  = チャンバー #2 での測定数の合計

$C_{i1}$  = チャンバー #1 の濃度 (Segre Silberberg 効果補正前)

$C_{i2}$  = チャンバー #2 の濃度 (Segre Silberberg 効果補正前)

$C_{t1}$  = チャンバー #1 (Segre Silberberg 効果補正済みの数値)

$C_{t2}$  = チャンバー #2 (Segre Silberberg 効果補正済みの数値)

$S_x$  = Segre Silberberg 効果の補正係数 (Appendix 1 を参照)

$C_f = (C_{i1} + C_{i2}) / 2$ ; 最終的な正しい濃度

$SR_n = \sqrt{TC_1 + TC_2}$ ; チャンバー #1 と #2 で測定された精子数の合計の平方根

$AD_n = |TC_1 - TC_2|$ ; チャンバー #1 と #2 で測定された精子数の差異の絶対値

## CASA 手順

### 必要な設備

- ホットプレート (37° C)
- 注入容量: 8  $\mu$ l (2-チャンバー・スライド)、または 4  $\mu$ l (4 チャンバー・スライド)
- ストップウォッチ
- CASA システム

1. Leja®スライドを用意し、チャンバー充填時間の測定準備をします。
2. ストップウォッチを用意して下さい。
3. ストップウォッチを「ゼロ (0)」にセットして下さい。
4. 精液サンプルを静かに混ぜ、液体化していることを確認して下さい。
5. チャンバーに記載の量より多めの量をピペットに吸い取ります。
6. スライドの注入口にピペットの先を当てます。
7. ピペットのボタンを押すと同時に、ストップウォッチのスタートボタンを同時に押して下さい。
8. チャンバーへの流入具合に気をつけて下さい。 チャンバーの注入口まで液が満ちたら、ストップウォ



ッチのストップボタンを押して下さい\*\*。

9. 余分な液をぬぐい取ります。
10. コンピュータ・スクリーンの適切な個所に、充填時間を入力して下さい。
11. CASA システムのステージに、充填済みのスライドを置きます。少なくとも 4 か所のフィールドでカウンティングを行います。(その際、チャンバー外枠の樹脂接着面に最も近い 2 フィールドは避けて下さい。)
12. 測定数を記録します  $= TC_1$  。
13. 推定濃度を記録します  $= C_{11}$  。
14. Appendix 1 を参考に、ステップ 1 で記録した充填時間をもとに対応する  $S_x$  (補正係数) を記録します。
15. チャンバー #1 の正しい濃度を算出して下さい:  $C_{11} = C_{11} \times S_x$  。
16. できれば 200 以上の細胞を数えて下さい。カウント数が多ければ多いほど、数式から算出される数値が正確になります。CASA システムでは通常 10 フィールド測定します。
17. 同じスライドのもう一つのチャンバーに同じステップを繰り返して、 $TC_2$  と  $C_{12}$  を算出して下さい。
18. 2 つのチャンバーからの数値が 同じサンプルの結果として妥当かどうか比較検討します。
19. 2 つのチャンバーからの細胞数を合計します:  $(TC_1 + TC_2)$  。
20.  $(TC_1 + TC_2)$  の平方根に 2 を掛けます:  $2 \times \sqrt{(TC_1 + TC_2)}$  。
21. 2 つの細胞数の差異の絶対値を計算します:  $|TC_1 - TC_2|$  。
22.  $|TC_1 - TC_2| \leq [2 \times \sqrt{(TC_1 + TC_2)}]$  の場合、2 つのチャンバーの測定結果は 95% の信頼区間内です。測定結果を採用します。
23.  $|TC_1 - TC_2| \geq [2 \times \sqrt{(TC_1 + TC_2)}]$  の場合、2 つのチャンバーの測定結果には誤差があります。最初からやり直して下さい。
24. 2 つのチャンバーから得た数値が正確だと思われる場合(手順-22 で結果が採用された場合)、2 つのチャンバーから得た濃度の平均値 ( $C_f$ ) を計算してこのサンプルの正しい精子濃度を算出します;  
 $C_f = (C_{11} + C_{12}) / 2$  。

注 1. ご使用の CASA システムに Segre-Silberberg 効果の補正機能が無い場合、充填時間を書きとめ、Appendix 1 を参考に補正係数を、見つけて自分で補正値を計算して下さい。

注 2. 細胞数を 200 まで数えることができない場合、精子濃度が低いと思われます。別の方法で濃度を測定することをお勧めします。

(別冊の Leja® マニュアル「低精子数及び無精子症の測定に関するマニュアル」をご参照下さい。)





## 手動による測定方法

人間精液および精液・子宮頸管粘液の採取や精液の取扱に関しては、WHO の定めた実験室用マニュアル

*WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction*  
(参考文献リスト参照)に従って下さい。人間精子の運動性の評価に関しては、このマニュアルも併せて参考にして下さい。

## 変数と数式

$TC_1$  = チャンバー #1 での測定数の合計

$TC_2$  = チャンバー #2 での測定数の合計

$AF$  = カウンティングに使用したフィールドの数

$SB_1$  = チャンバー #1 で計測した小ボックスの数

$SB_2$  = チャンバー #2 で計測した小ボックスの数

$N_1$  = 接眼マイクロメーター(方眼)の小ボックス 1 つあたりの平均細胞数(チャンバー #1);  $N_1 = TC_1/SB_1$

$N_2$  = 接眼マイクロメーター(方眼)の小ボックス 1 つあたりの平均細胞数(チャンバー #2);  $N_2 = TC_2/SB_2$

$C_{11}$  = チャンバー #1 の濃度 (Segre Silberberg 効果補正前);  $C_{11} = N_1 \times F$

$C_{12}$  = チャンバー #2 の濃度 (Segre Silberberg 効果補正前);  $C_{12} = N_2 \times F$

$C_{t1}$  = チャンバー #1 の正しい濃度 (Segre Silberberg 効果補正済みの数値);  $C_{t1} = C_{11} \times S_x$

$C_{t2}$  = チャンバー #2 の正しい濃度 (Segre Silberberg 効果補正済みの数値);  $C_{t2} = C_{12} \times S_x$

$S_x$  = Segre Silberberg 効果の補正係数 (Appendix 1 を参照のこと)

$F$  = 接眼マイクロメーター(方眼)に映し出された小ボックスの中身が 1 nl (1 ナノリットル)になるために掛け合わせなければならない数値

対物レンズが 10x で、直線上の倍率が実際に 10 倍である場合、~5

対物レンズが 20x で、直線上の倍率が実際に 20 倍である場合、~20

(上記の太字の数値はあくまでも目安で、実際の数値は顕微鏡によって異なります。顕微鏡の調整については、13 ページをご覧ください。)

$D$  = 接眼マイクロメーター(方眼)の 10x10 mm の小ボックス(10x10 ブロック)の一辺の長さ(単位 = ミクロン)

$C_f$  = 最終的な正しい濃度;  $(C_{t1} + C_{t2})/2$

$SR_n$  = チャンバー #1 と #2 で測定された精子数の合計の平方根;  $\sqrt{TC_1 + TC_2}$

$AD_n$  = チャンバー #1 と #2 で測定された精子数の差異の絶対値;  $|TC_1 - TC_2|$

## Segre Silberberg 効果の補正係数 ( $S_x$ ) の決定方法

### 必要な設備

- 2 チャンバーまたは 4 チャンバーの、縁に開口部がある Leja®スライド (チャンバーの長さ = 21 mm)
- 調整済みの顕微鏡
- ストップウォッチ
- 注入容量: 8  $\mu$ l (2-チャンバー・スライド)、または 4  $\mu$ l (4 チャンバー・スライド)
- このマニュアルの Appendix 1

すでに Leja®の 20 ミクロン・スライドをご利用頂いている場合、ご使用の顕微鏡はすでに調整済みですので、Segre Silberberg 効果を修正するための補正係数 ( $S_x$ ) を測定して下さい。Leja®スライドをご利用したことのない場合、または調整済みでない顕微鏡をご使用になる場合、9 ページをご覧ください。以下の手順は、 $S_x$  を測定する作業であり、同時に精子濃度を調べる手順です。

1. Leja®チャンバーの充填時間をストップウォッチで測定し、0.1 秒単位で記録する



2. 余分な液を拭い取って下さい。
3. 適度な時間をかけ、顕微鏡でサンプルを観察します。WHO の定めた実験室用マニュアル *WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction* (参考文献リスト参照) を参考に、サンプル中の精子の運動性を判断して下さい。
4. 最初の濃度を 1 として、 $C_{i1}$  を計算します；  $C_{i1} = N_1 \times F$ 。
5. Appendix 1 の列-1 (充填時間) を調べて、対応する補正係数 ( $S_x$ ) の数値を見つけます。
6.  $S_x$  の数値に  $C_i$  を掛け、正しい濃度 ( $C_{t1}$ 、又は  $C_{t2}$ ) を計算します；  $C_{t1} = C_{i1} \times S_1$ 、 $C_{t2} = C_{i2} \times S_2$ 。
7. 両方のチャンバーの正しい濃度を測定し、最終的な正しい濃度 ( $C_f$ ) を計算します；  $(C_{t1} + C_{t2})/2$ 。

補正係数 ( $S_x$ ) を使用することで、ここで得る数値は血球計を利用して得た数値と同等のものとなります。

#### Leja®からのワンポイント (参考までに) …

..... 薄めた精子	$S_x = 1.23$
..... 正常な粘性の精子	$S_x = 1.1$
..... 非常に粘性のある精子	$S_x = 1.0 \sim 1.05$

## 精子濃度の手動測定の方法

### 必要な設備

- 2 チャンバーまたは 4 チャンバーの、縁に開口部がある Leja®スライド (チャンバーの長さ = 21 mm)
- ストップウォッチ
- 注入容量： 8  $\mu$ l (2-チャンバー・スライド)、または 4  $\mu$ l (4 チャンバー・スライド)
- 10x または 20x (BM または DL 対物レンズ) を含む位相差顕微鏡
- 10 mm X 10 mm の接眼マイクロメーター (方眼) 付きの接眼レンズ

以下の手順は、ご使用の顕微鏡の対物レンズの倍率と、総合 (観察) 倍率が同一であると確信できる場合のみ従って下さい。(例：対物レンズ 10x  $\Rightarrow$  総合 (観察) 倍率 10x、対物レンズ 20x  $\Rightarrow$  総合 (観察) 倍率 20x)。そうでない場合、次のセクションを参考に顕微鏡を調整して下さい。

## 始めるにあたって

1. 完全に液化した精子サンプルを静かにかき混ぜ、8  $\mu$ l のピペット (スライドが 2 チャンバーの場合は 8  $\mu$ l、4 チャンバーの場合は 7  $\mu$ l のものを使用) にサンプルを吸い取ります。充填時間を正しく測定するために、サンプルはおおめに取って下さい。
2. ピペットの先をスライドのチャンバー注入口にあてます。
3. ストップウォッチのスタートボタンを押すと同時に、ピペットでサンプルを注入し始めます。
4. チャンバーへの流入具合に気をつけて下さい。チャンバーの注入口まで液が満ちたら、ストップウォッチのストップボタンを押して下さい。
5. 充填時間を被験者のファイルに記録します。
6. 余分な液を拭い取って下さい。
7. サンプルが充填されたスライドを顕微鏡にセットし、特筆するようなことがないか、サンプルを観察して下さい。WHO のマニュアル (*WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction*、参考文献リスト参照) に従い、少なくとも 5 つのフィールドで精子の運動性を評価します。
8. 少なくとも 5 カ所のフィールドでカウンティングを行います。その際、チャンバー外枠の樹脂接着面に最も近い 2 フィールドは避けて下さい。
9. 接眼レンズの小ボックス毎に細胞数を数えます。この際、測定に使用した小ボックスの数が、 $S_B$  の数値になります。

5x の対物レンズをご使用の場合、5 個の小ボックス、あるいは 5 の倍数の数の小ボックスを使うと、数えた数値がそのまま  $10^{-6}$  ml 単位の濃度に等しいので、計算が便利です。20x の対物レンズをご使用の場合は 20 個の小ボックスを使うと、同様にそのまま  $10^{-6}$  ml 単位の濃度として使えます。どちらにせよ、可能な限り細胞数の合計が 200 以上になるようにカウンティングをすることをお勧めします。





10. 数えた細胞数の合計が  $TC_1$  です。
11. カウンティングに使用したフィールドの数が  $AF$  です。
12.  $N_1$  を計算します；  $N_1 = TC_1 / SB_1$ 。
13. 対物レンズが 10x の場合；  $C_{i1} = N_1 \times 5$  (最初の濃度 = 1.0)。
14. 対物レンズが 20x の場合；  $C_{i1} = N_1 \times 20$  (最初の濃度 = 1.0)。
15.  $C_{t1}$  を計算します；  $C_{t1} = C_{i1} \times S_x$   
Appendix 1 を参照して下さい。  
列-1 が **充填時間**、列-2 が Segre Silberberg 効果を修正するための**補正係数 ( $S_x$ )** です。
16. 別のチャンバーにも同じ手順を繰り返して、充填時間、最初の濃度 ( $C_{i2}$ )、測定数の合計 ( $TC_2$ )、チャンバーの正しい濃度 ( $C_{t2}$ )、を算出して下さい。 その際は、チャンバー #1 でカウンティングに使用したフィールドの数 ( $AF$ ) と同じフィールド数で細胞数をカウンティングして下さい。
17. 平方根  $SR_n$  に 2 を掛けます；  $2 \times \sqrt{(TC_1 + TC_2)}$ 。
18. 絶対値  $AD_n$  を計算します；  $|TC_1 - TC_2|$ 。
19.  $|TC_1 - TC_2| \leq [2 \times \sqrt{(TC_1 + TC_2)}]$  の場合、2 つのチャンバーの測定結果は 95% の信頼区間内です。 測定結果を採用します。
20.  $|TC_1 - TC_2| \geq [2 \times \sqrt{(TC_1 + TC_2)}]$  の場合、2 つのチャンバーの測定結果には誤差があります。 最初からやり直して下さい。
21. 2 つのチャンバーから得た数値が正確だと思われる場合 (手順-19 で結果が採用された場合)、チャンバー #1 と チャンバー #2 の濃度 ( $C_{t1}$ 、 $C_{t2}$ ) の平均値を計算して、このサンプルの最終的な精子濃度 ( $C_f$ ) を算出します；  $C_f = (C_{t1} + C_{t2}) / 2$ 。

## 最初にお使いになる時： 顕微鏡の調整

### D の決定

顕微鏡を調整するには、接眼マイクロメーター (方眼) と対物マイクロメーターが必要です。 接眼マイクロメーターの方眼は全体が 10 mm x 10 mm で、1 ブロック当たり 1 mm x 1 mm のものをご使用下さい。対物マイクロメーターは 1 mm のもの (2 つの線の最短距離は 10 ミクロン、少し太い線同士の最短距離は 50 ミクロン、最も太い線同士の最短距離は 100 ミクロンになります) をご使用下さい。接眼マイクロメーターが接眼レンズに正しくセットされていることをご確認下さい。

1. 細胞濃度の査定にご使用になる予定の対物レンズ (通常は 10x または 20x) をお使い下さい。
2. 対物マイクロメーターを顕微鏡のステージにセットします。対物マイクロメーターと接眼マイクロメーター、両方焦点を合わせます。 接眼レンズを回して方眼の向きを動かし、対物マイクロメーターの線と接眼マイクロメーターの方眼の線を合わせます。
3. 方眼の最も外側の 2 つの線の間の距離を対物マイクロメーターで読み取って下さい。この距離は、個々の顕微鏡、また中間レンズの有無によって違います。対物レンズが 10x で中間レンズがない場合、1,000 ミクロン (1 mm) に近いはずで、読み取った数値を 10 で割り、小ボックスの一辺の長さ ( $D$ ) を計算します。 対物レンズが 10x で中間レンズがない場合、100 ミクロンに近いはずで、

### F の計算

- $F$  = 接眼マイクロメーター (方眼) に映し出された小ボックスの中身が 1 nl (1 ナノリットル) になるために掛け合わせなければならない数値；  $F = 10^6 / D^2 \times T$ 。  
対物レンズが 10x で、直線上の倍率が実際に 10 倍である場合、~5  
対物レンズが 20x で、直線上の倍率が実際に 20 倍である場合、~20
- $T$  = チャンバーの高さ (20 ミクロン)



- $D$  = 接眼マイクロメーターの方眼の小ボックスの一辺の長さ  
 $D^2 \times T$  = 高さ 20 ミクロンの Leja®スライドに映し出された小ボックスの容積 (単位 =  $\mu^3$ )。  
 $10^6$  = 正確な容積を計算するのに必要な数値 (1  $\mu$ l =  $10^6 \times \mu^3$ )

個々の対物レンズ、またそれぞれの顕微鏡ごとに  $F$  値は異なります。 $F$  値の計算は最初に Leja®スライドを使う時だけです。別の顕微鏡をご使用になる際は、 $F$  値を再計算して下さい。

## 【参考文献】

- Douglas-Hamilton DH, Smith NG, Kuster CE, Vermeiden JP, Althouse GC. Particle distribution in low-volume capillary-loaded chambers. *J Androl.* 2005 Jan-Feb; 26(1): 107-14.
- Douglas-Hamilton DH, Smith NG, Kuster CE, Vermeiden JP, Althouse GC. Capillary-loaded particle fluid dynamics: effect on estimation of sperm concentration. *J Androl.* 2005 Jan-Feb; 26(1):115-22.
- WHO Laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. (4th ed.) Cambridge University Press, 1999.  
 ISBN 0 521 64599 9

## Appendix 1

充填時間 (FT) 秒	$S_x$	充填時間 (FT) 秒	$S_x$
2.0	1.32	9.0	1.09
2.1	1.31	10.0	1.08
2.2	1.30	11.0	1.08
2.3	1.29	12.0	1.07
2.4	1.28	13.0	1.06
2.5	1.27	14.0	1.06
2.6	1.26	15.0	1.06
2.8	1.25	16.0	1.05
2.9	1.24	17.0	1.05
3.2	1.23	18.0	1.05
3.4	1.22	19.0	1.04
3.6	1.21	20.0	1.04
3.8	1.20	21.0	1.04
4.0	1.19	22.0	1.04
4.2	1.18	23.0	1.04
4.5	1.17	24.0	1.04
5.0	1.16	25.0	1.03
5.3	1.15	30.0	1.03
5.5	1.14	60.0	1.01
6.0	1.13	120.0	1.01
7.0	1.11	180.0	1.00
8.0	1.10	240.0	1.00

この表は充填時間と Segre Silberberg 効果を修正するための補正係数 ( $S_x$ ) の関係を示しています。

これらの数値が適用となるのは、精液や血漿など水を含む液体を、長さ21mm・高さ20ミクロンの Leja®チャンバーに使用する場合のみです。充填時間が 2.2 秒かかる場合、水を注入するのと等しいことになり

*Leja*

ます (粘性 = 1 cP)。

Leja

Leja 社日本総代理店

<http://www.neuro-s.co.jp>

 **NEUROSCIENCE, INC.**<sup>®</sup>

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

--