



DG2024-70
バイオアナリシスにおける
フローサイトメトリー
の現状と課題



DGメンバー

メンバー（応募順）	所属
吉田 幸亮	メディフォード株式会社
依田 聖未	シミックファーマサイエンス株式会社
杉山 聡深	アステラス製薬株式会社
境 愛子	株式会社 新日本科学
原田 英樹（リーダー）	メディフォード株式会社

<http://bioanalysisforum.jp/>

活動内容

May 2024

- ✓ メンバー募集

Jul 24, 2024

- ✓ キックオフミーティング

Jul 2024 ~ Dec 2024

- ✓ DGの方向性を協議
- ✓ JBFに参加している施設におけるFCMの使用状況や運用方法、課題等を把握
- ✓ アンケート内容決定
- ✓ 連絡はメール等で随時
- ✓ 月一でWeb会議を開催（毎月最終木曜日の13:00～）

Dec 2024 ~ Jan 2025

- ✓ アンケート結果の集計
- ✓ ポスター作成

Mar 3-5, 2025

- ✓ ポスター発表：第16回JBFシンポジウム 姫路市



JBFにおけるFCMに関するこれまでの発表

【基礎講座】

フローサイトメーターの基礎講座 —原理と測定例—
(第12回JBFシンポジウム、2021年)

【DG】

DG2016-27

内因性物質の定量 (フローサイト, Luminex及びPCR)

DG2023-61

Immunogenicityの予測 - バイオアナリストの観点から -

要約

医薬品開発のモダリティの変化に伴い、細胞を測定対象とするフローサイトメトリー（FCM）もバイオアナリシスに欠かせない測定手段になりつつある。一方で測定対象や測定操作の複雑化に悩まされる場面も見受けられる。そこで当ディスカッショングループ（DG）ではFCMの手助けの最初のステップとして、「バイオアナリシスにおけるフローサイトメトリーの現状と課題」をテーマとした。

まずはFCMを日常の業務として実施している当DGのメンバー内で現状及び課題の洗い出しと整理を行った後に、DGサポーター及び関係者へ向けてアンケートを実施した。その結果、開発のフェーズや規制対応などさまざまな場面でFCMが使用されていることが把握できたと同時に、測定の計画から報告までの各段階における課題や問題点が明らかになった。また、一部の課題については当DGメンバー内で協議し、解決のための方向性を示した。



Summary

With the changes in drug development modalities, flow cytometry (FCM), which measures cells, is becoming an indispensable measurement tool in bioanalysis. However, there are also instances where the complexity of the measurement targets and operations poses challenges. Therefore, our discussion group (DG) has chosen “Current Status and Challenges of Flow Cytometry in Bioanalysis” as the theme for the first step in assisting with FCM.

First, within our DG members who routinely perform FCM in their daily work, we identified and organized the current status and challenges. Then, we conducted a survey for DG supporters and stakeholders. As a result, we found that FCM is used in various stages of development and regulatory compliance. At the same time, issues and challenges at each stage, from measurement planning to reporting, were identified. Additionally, some of these challenges were discussed within the DG members, and directions for solutions were suggested.



本DGの背景

本DGの背景

【目的】

フローサイトメトリーについて、分析面、規制面での疑問点や困っていることを議論する。

【医薬品開発の薬物濃度測定法の変遷】

低分子：LC/MS ⇒ 抗体医薬：LBA ⇒ 中分子医薬（LC/MS、LBA、PCR）⇒ 細胞医薬（FCM、PCR）

【測定対象】

免疫細胞（イムノフェノタイピング、特定の細胞集団の検出、細胞機能の測定など）
細胞医薬の測定（まだ少ない）＜投薬による免疫系への影響（ほとんどがこのケース）

【測定法の多様化】

パラメーター数の増加（に伴う測定操作・解析の複雑化）
測定項目（イムノフェノタイピング、細胞の機能解析など）
検出原理の多様化（従来のフィルター型、スペクトル検出型、マスサイトメトリー）

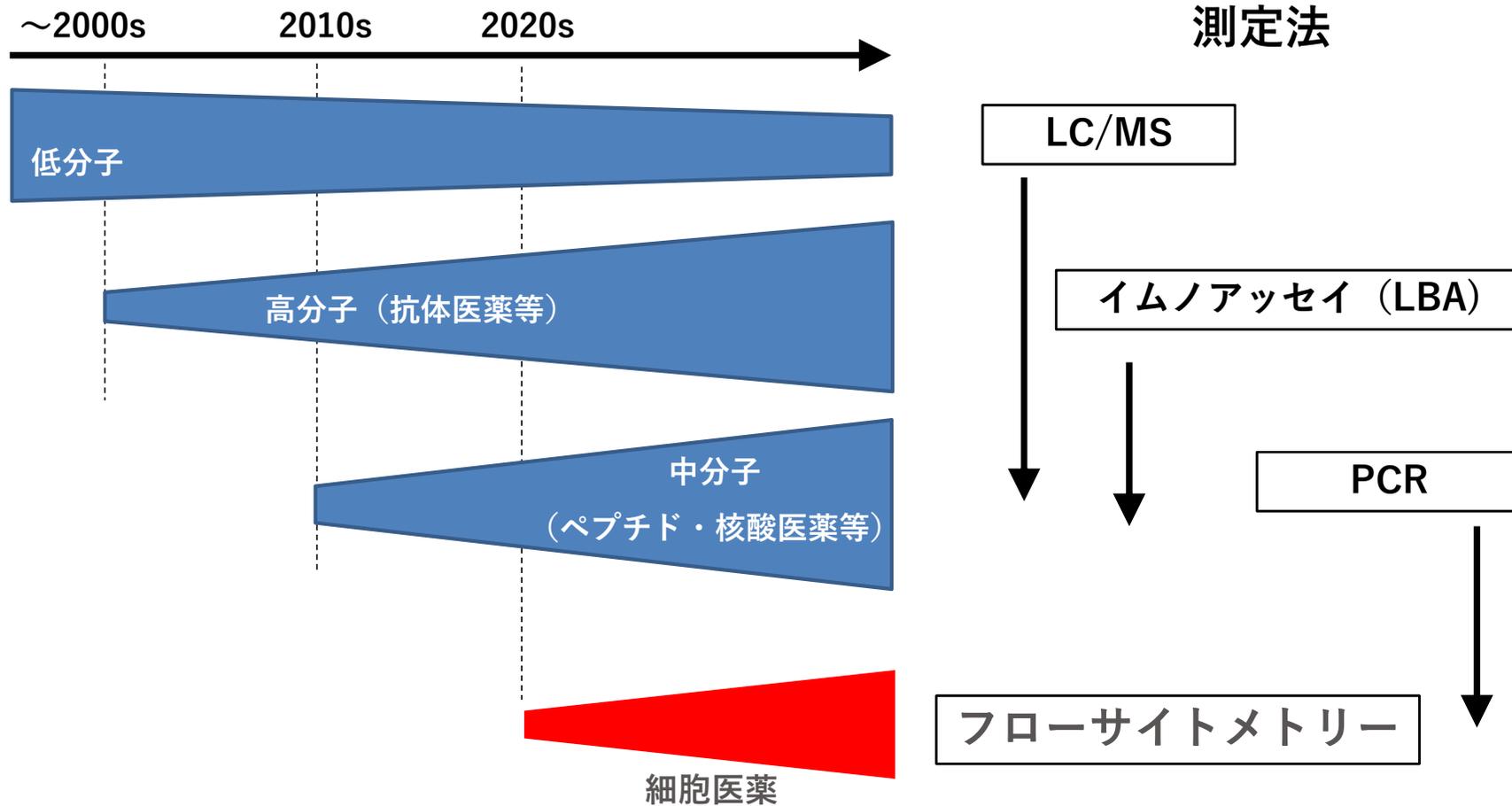
【規制対応】

バリデーション、コンピューターシステム、データの取扱い……

医薬品開発のモダリティの変化に合わせて測定法のモダリティも変化しており、細胞を測定対象とするフローサイトメトリーもバイオアナリシスに欠かせない測定手段になりつつある。一方で測定対象や測定法の多様化に伴って、測定操作や結果の取扱いが複雑化することにより、しばしば測定者を悩ませる場面も見受けられる。そこで本DGにおいて、分析面及び規制面での疑問点や困っていることを議論し、フローサイトメトリーを円滑に遂行するための一助とする。



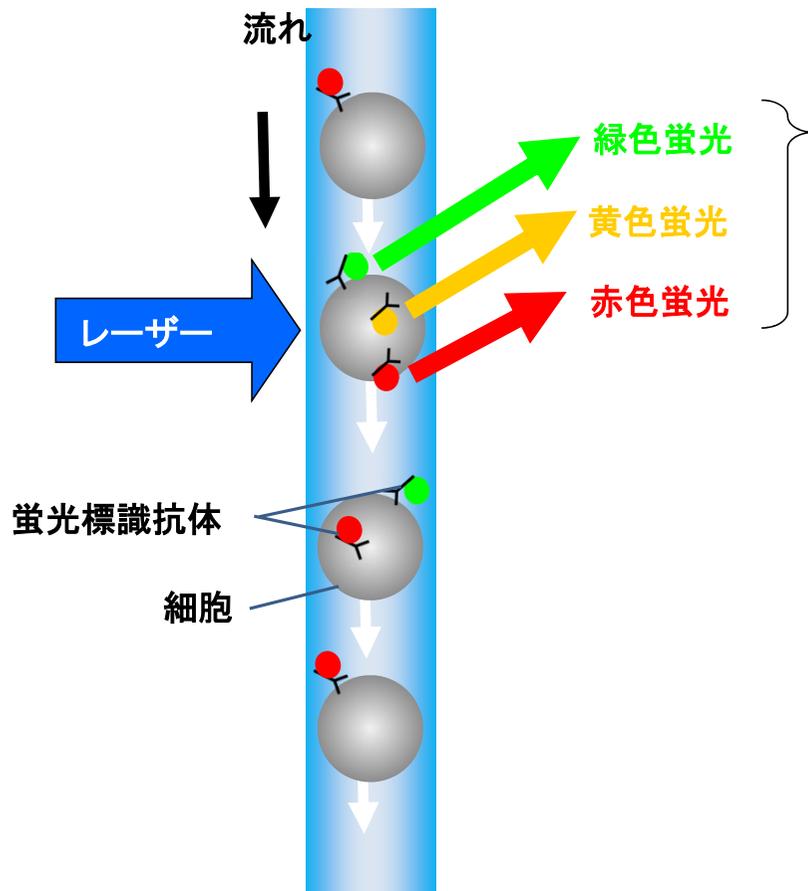
医薬品開発と薬物濃度測定法の変遷



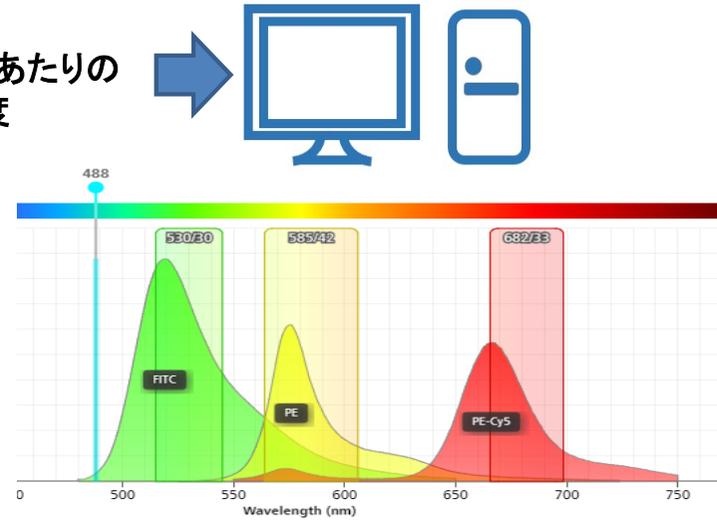
<http://bioanalysisforum.jp/>



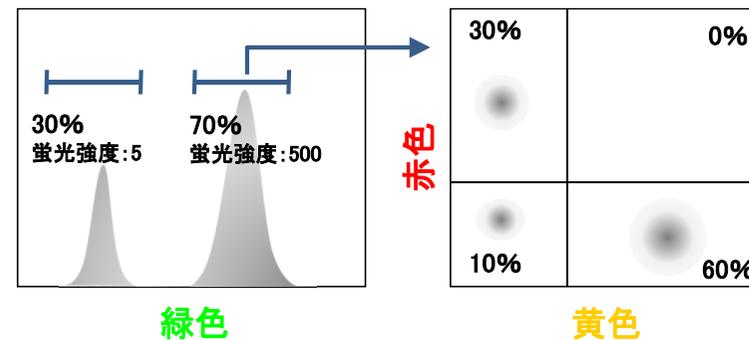
フローサイトメトリー (FCM) の原理



細胞1個あたりの
蛍光強度

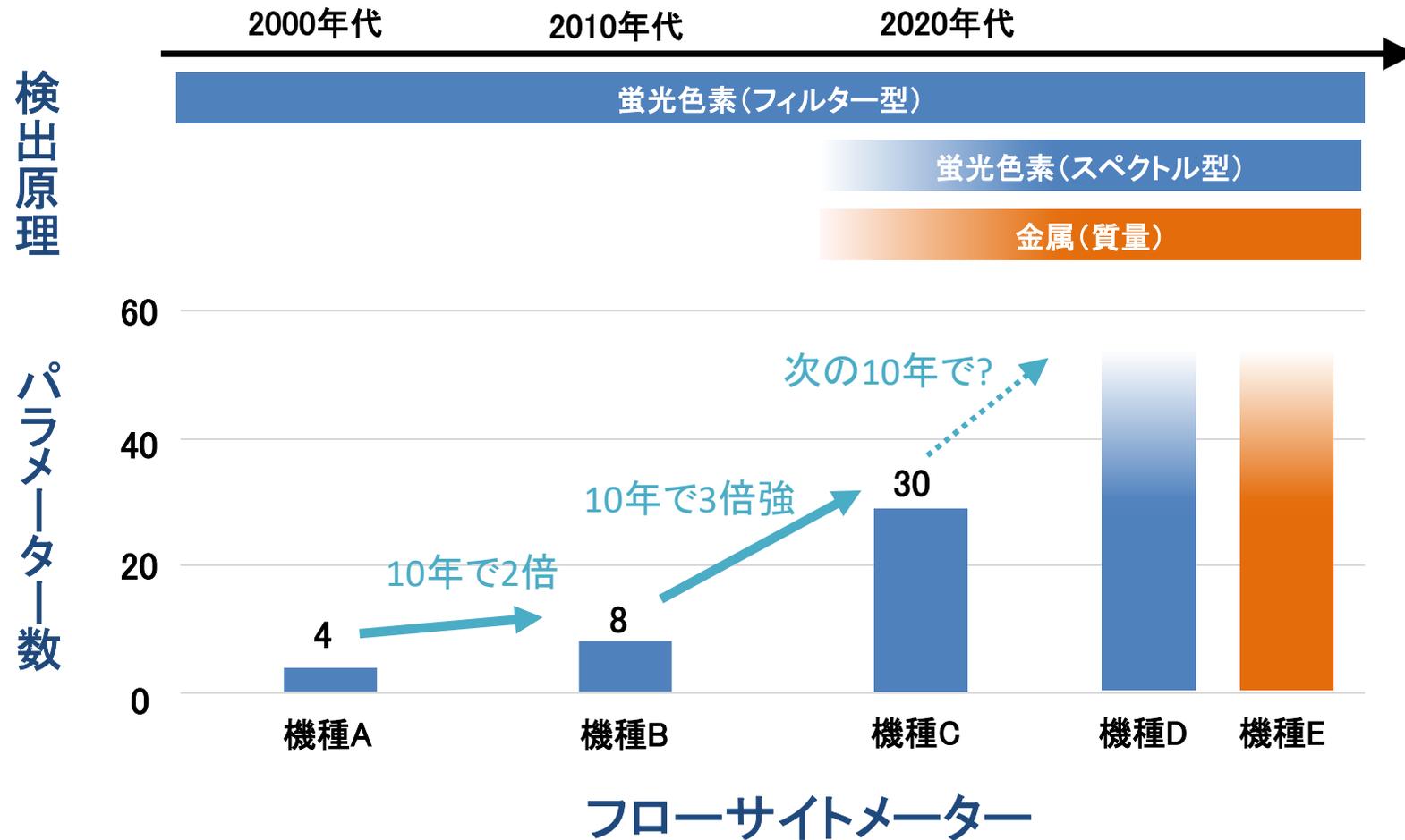


- ・細胞集団の割合
- ・分子の発現量



<http://bioanalysisforum.jp/>

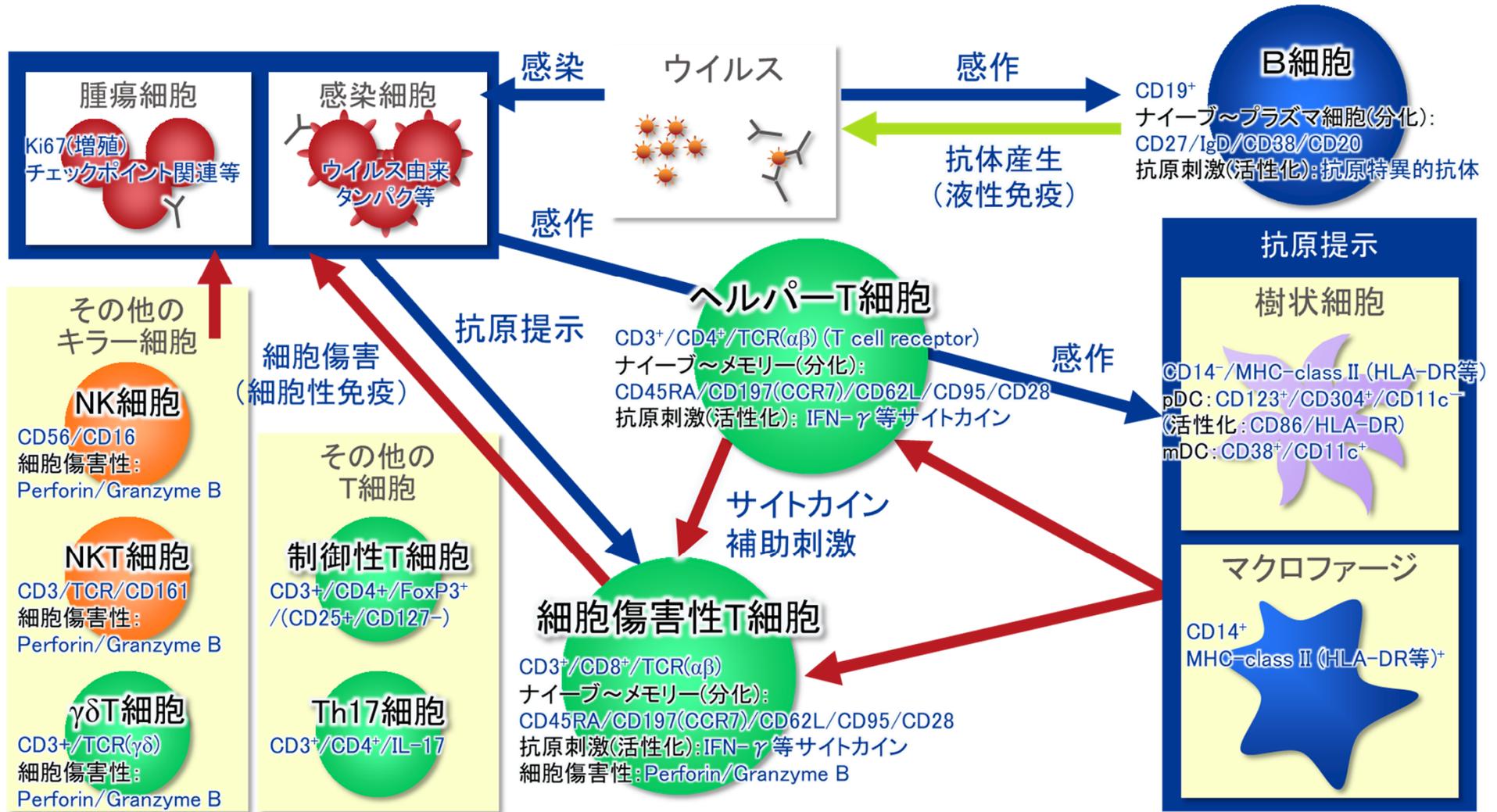
FCMにおける解析パラメーター数の変遷



年々パラメーター数が増加し、より複雑な解析が可能になってきている。



FCMの主な測定対象：免疫細胞とマーカー



<http://bioanalysisforum.jp/>

免疫系をより詳細に把握するためには、可能な限り多くのマーカーの解析が必要

医薬品開発におけるFCMの対象分野と使用目的

対象分野		目的
感染症予防		細胞性免疫の誘導（薬効）の確認 （バイオアッセイとの組み合わせ）
腫瘍免疫	薬物分析	<ul style="list-style-type: none"> 輸注細胞の量と機能 体内動態（TK/PK等）の解析 （CAR-T細胞等）
	バイオマーカー	細胞性免疫の誘導（薬効）の確認 （バイオアッセイとの組み合わせ）
その他 <ul style="list-style-type: none"> 免疫系に作用する可能性のある薬剤 作用メカニズムに免疫系が関与する薬剤 		免疫細胞に対する影響・作用の確認 <ul style="list-style-type: none"> 免疫フェノタイピング バイオアッセイ（特性分析等）

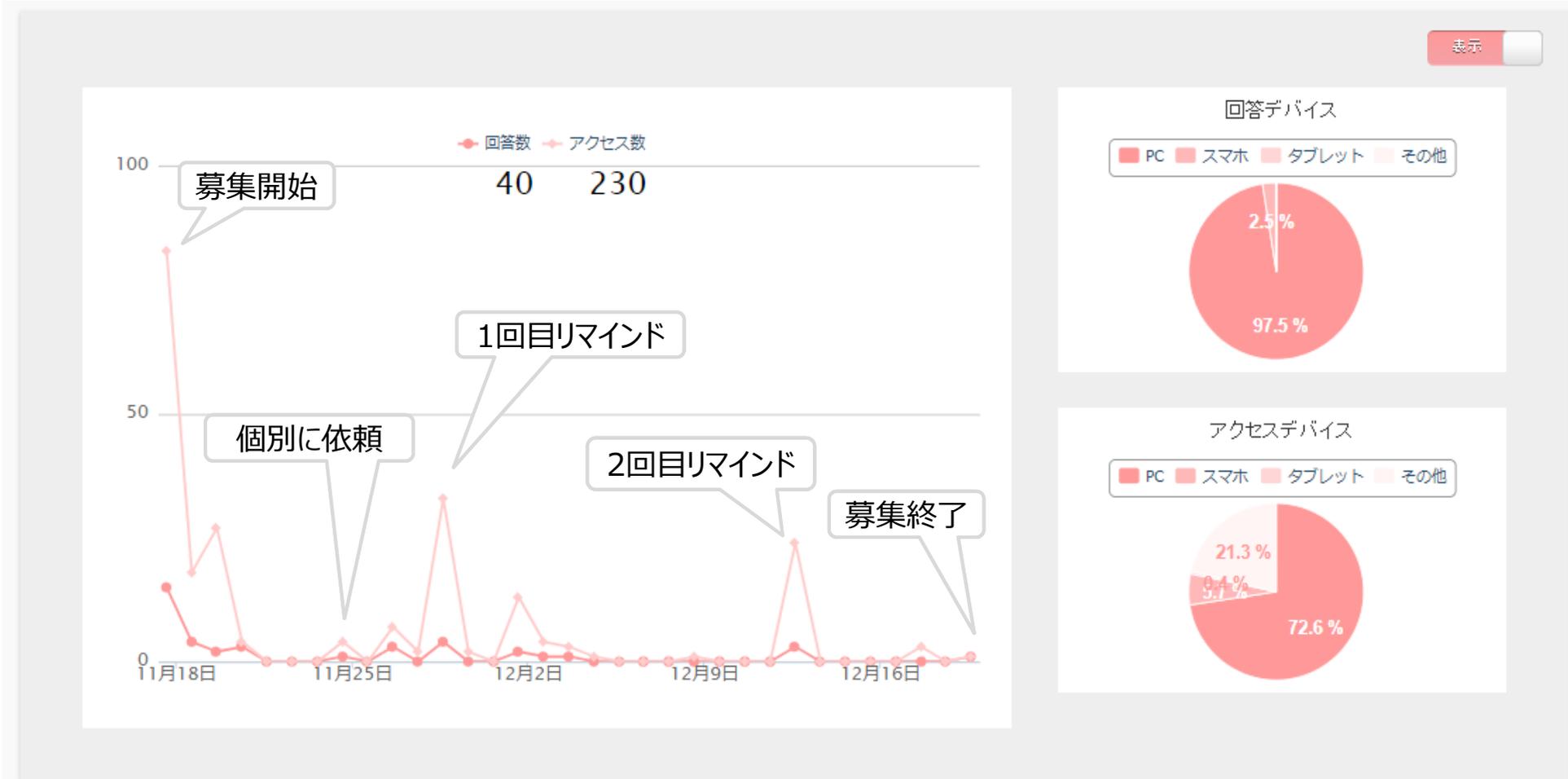
薬剤の動態、薬効の確認、投与の影響、薬剤の特性分析など幅広い範囲で使用されている



バイオアナリシスにおける FCMの現状

アンケート結果

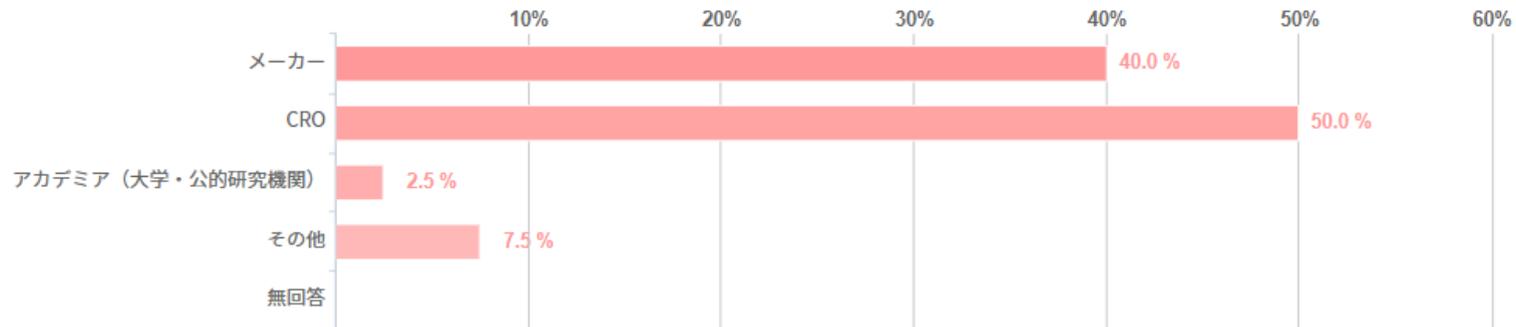
アンケート対象・回答数・アクセス数



- 対象： JBFパートナー／DGサポーター（関係者にも転送可とした）
- 募集期間： 2024年11月18日～12月20日
- アンケートツール： Questant
- 設問数： 21
- 回答数： 40（アクセス数：230）

バイオアナリシスにおけるFCMの現状

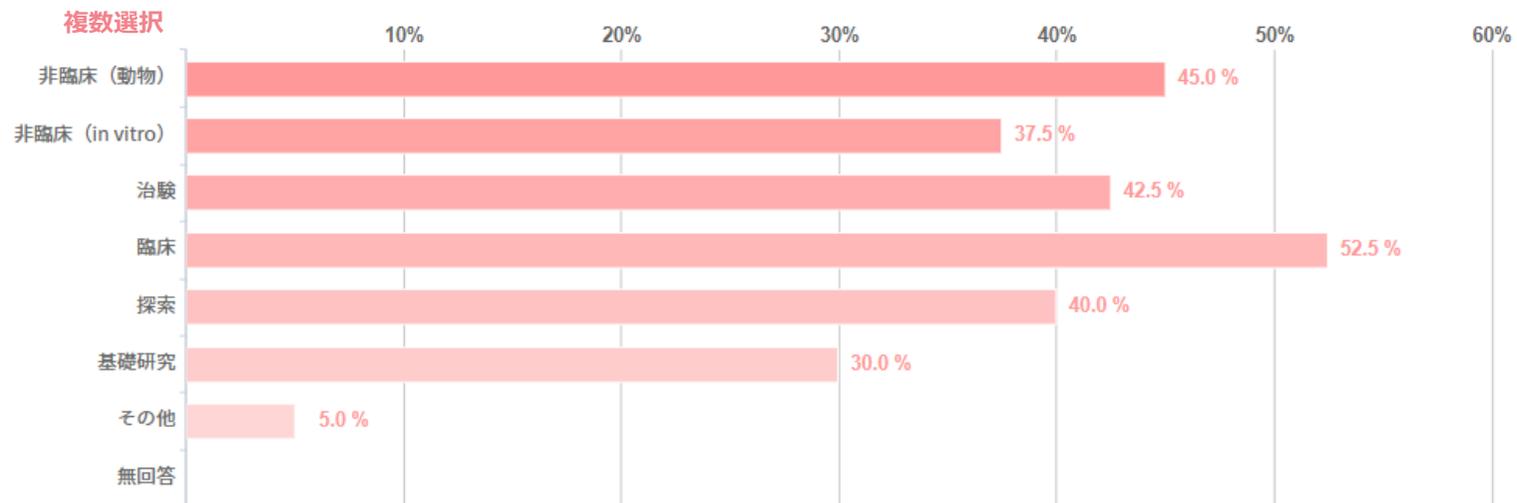
Q1. 所属



*その他：臨床検査会社など

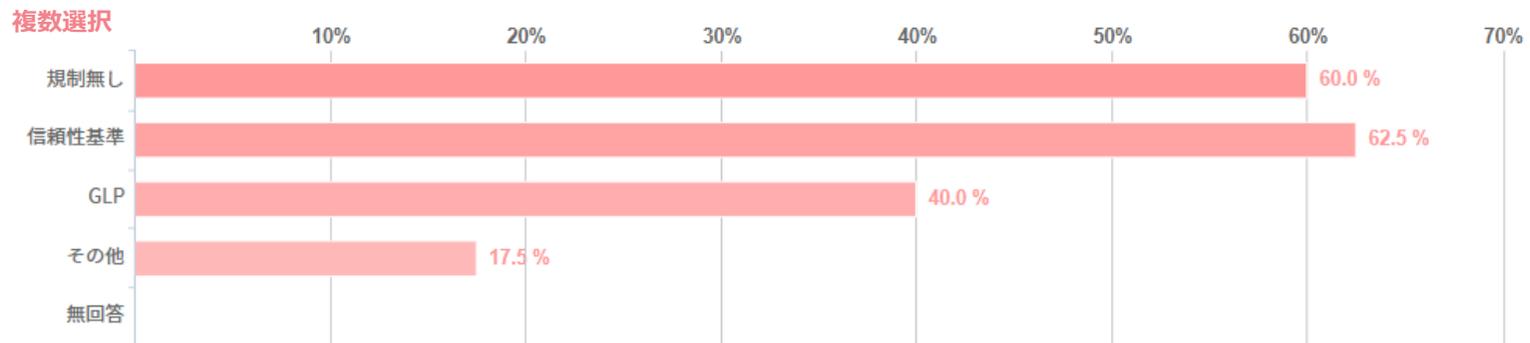
バイオアナリシスにおけるFCMの現状

Q2. 開発ステージ



バイオアナリシスにおけるFCMの現状

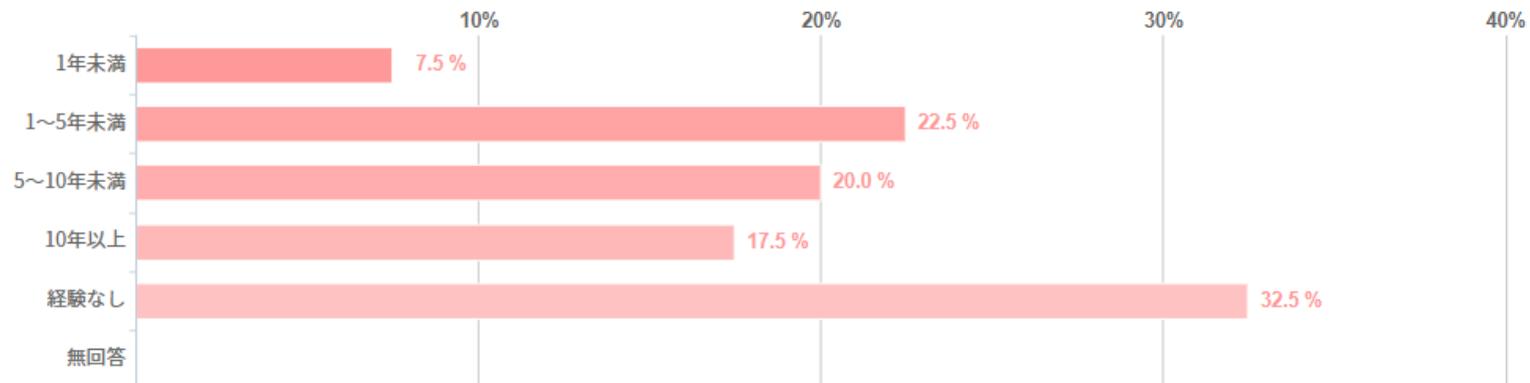
Q3. 規制対応



*その他 : GMP, GCP, 衛生検査所登録規定など

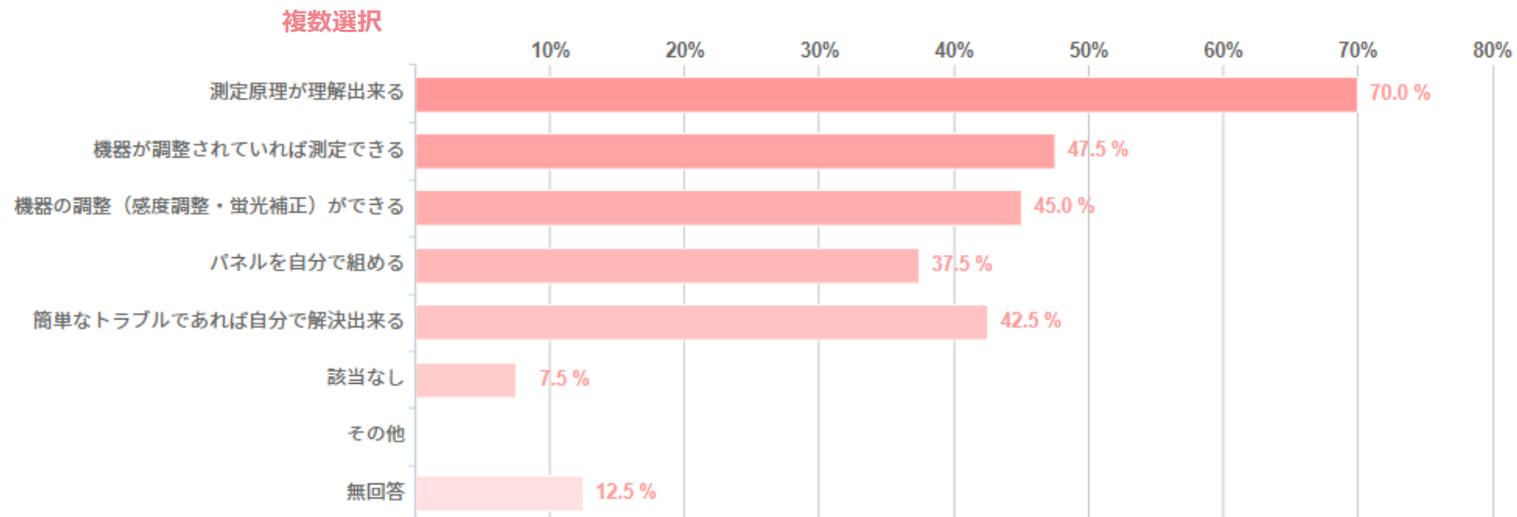
バイオアナリシスにおけるFCMの現状

Q4. フローサイトメトリー（FCM）の経験年数



バイオアナリシスにおけるFCMの現状

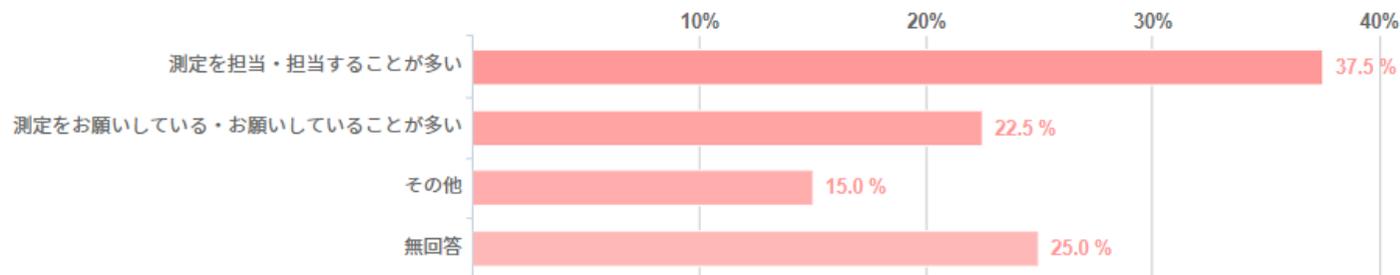
Q5. FCMの習熟度





バイオアナリシスにおけるFCMの現状

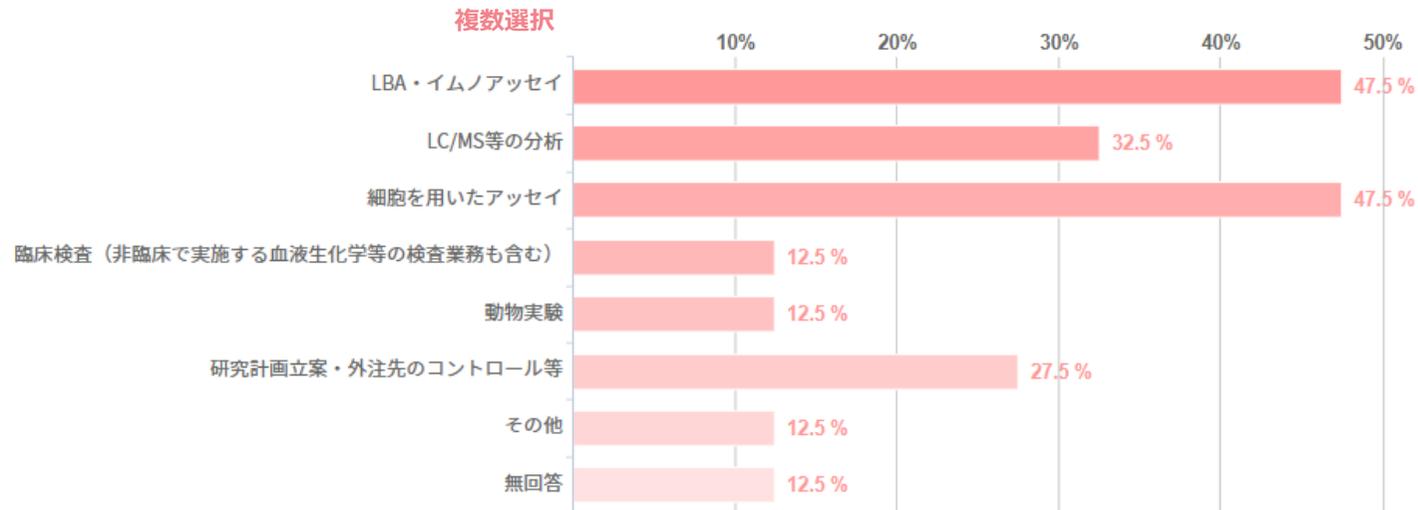
Q6. FCM業務での役割



*その他：FCM業務外、コンサルティングなど

バイオアナリシスにおけるFCMの現状

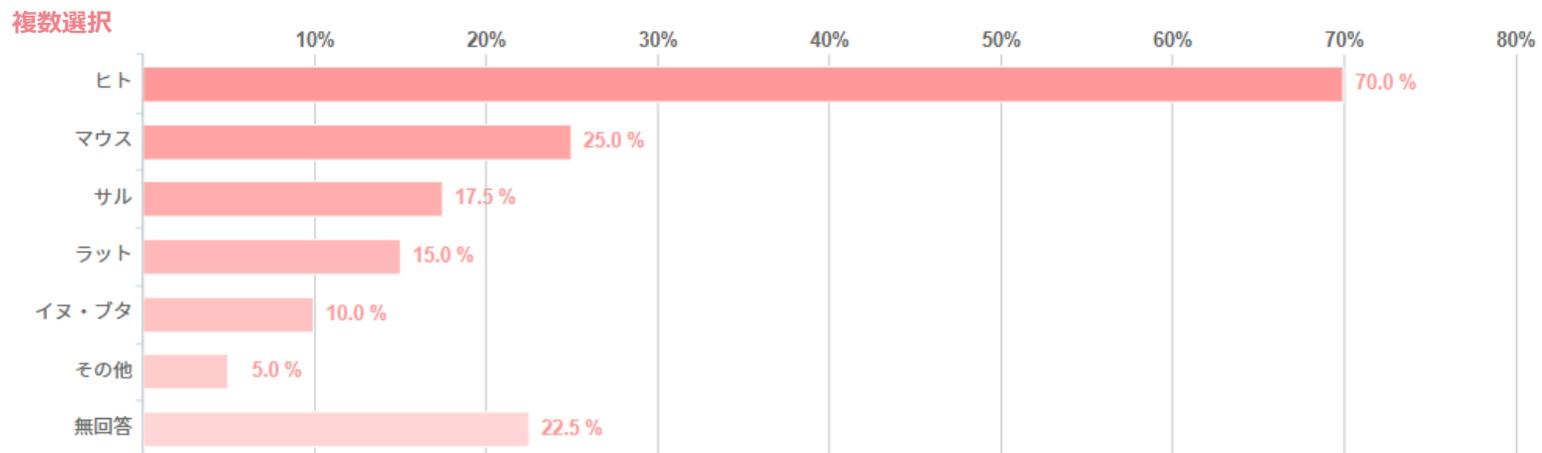
Q7. FCM以外に担当している業務



*その他：遺伝子解析 (qPCRなど) , PBMC分離

バイオアナリシスにおけるFCMの現状

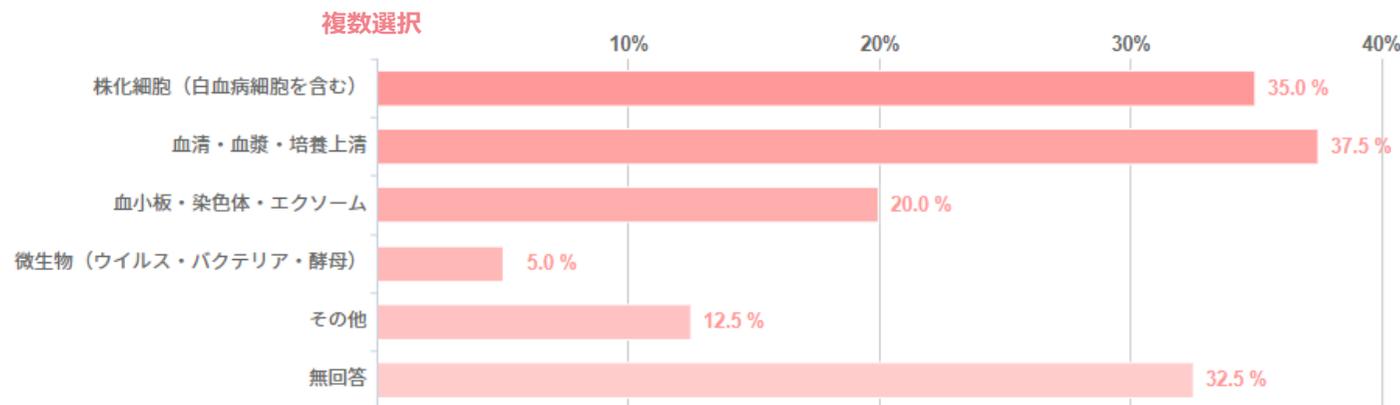
Q8. 測定材料にしている動物種



*その他：ウサギ, モルモット, ハムスター

バイオアナリシスにおけるFCMの現状

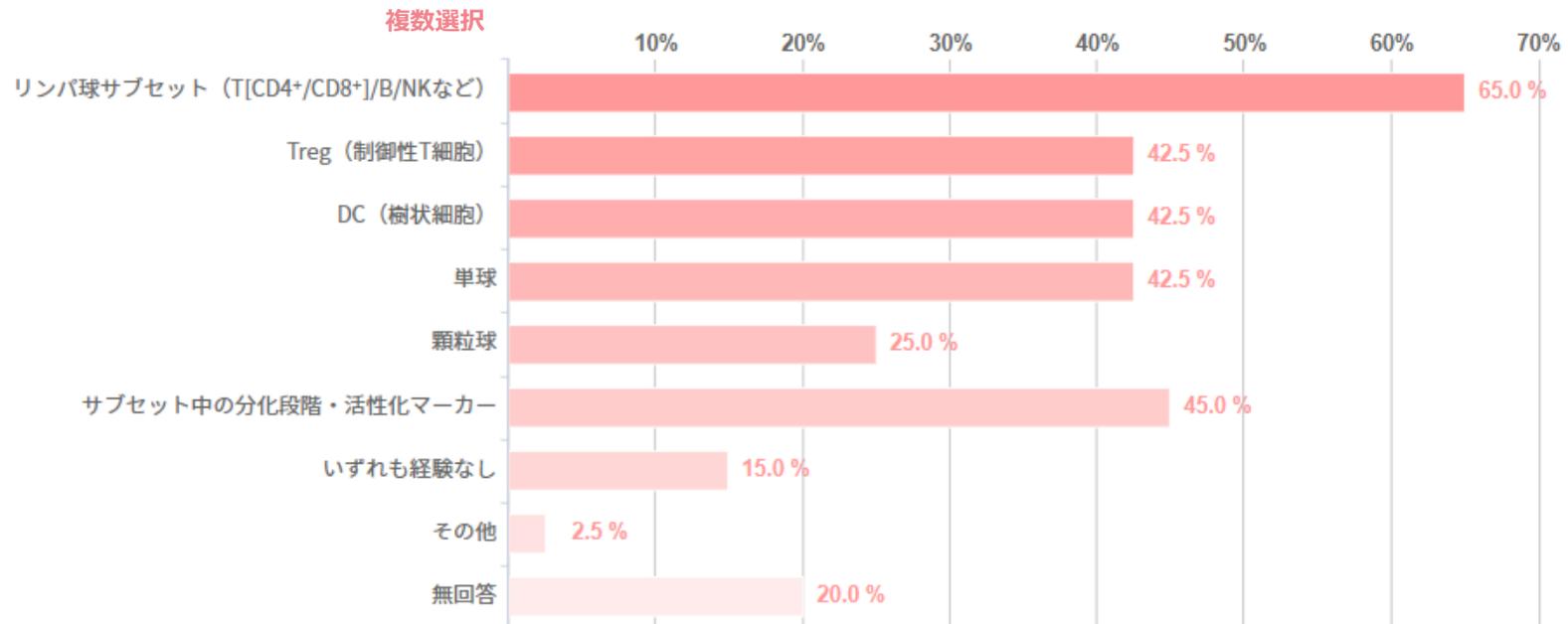
Q9. 免疫細胞以外の材料



*その他：赤血球, DNA, RNA,
動物臓器由来の上皮細胞など

バイオアナリシスにおけるFCMの現状

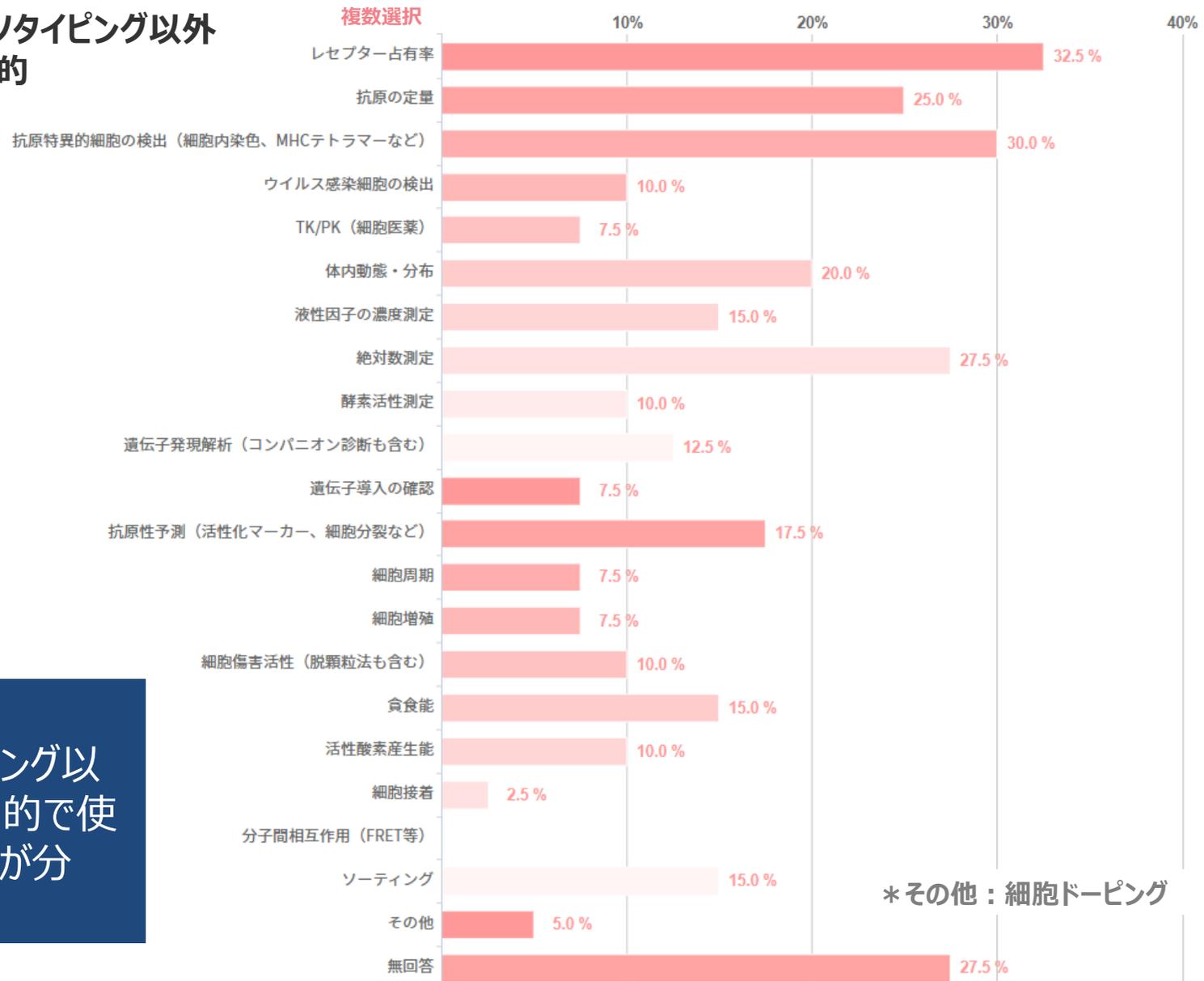
Q10. 経験のあるイムノフェノタイピング



*その他：造血器腫瘍細胞

バイオアナリシスにおけるFCMの現状

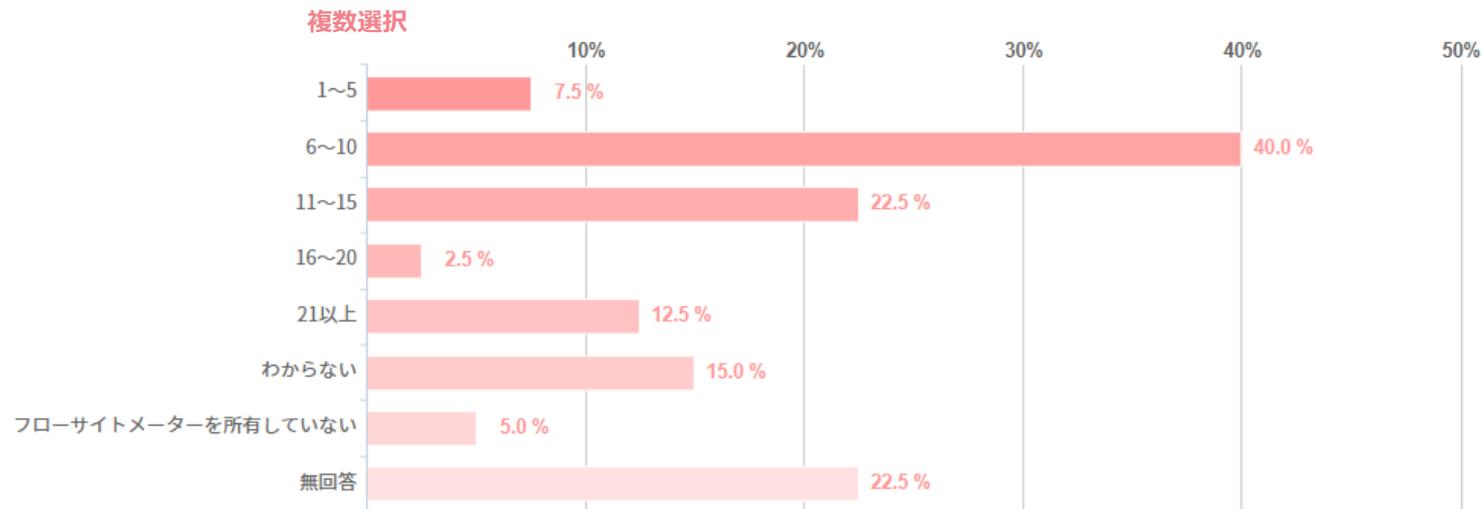
Q11. イムノフェノタイピング以外の使用目的



コメント：
イムノフェノタイピング以外にも幅広い目的で使用されていることが分かった。

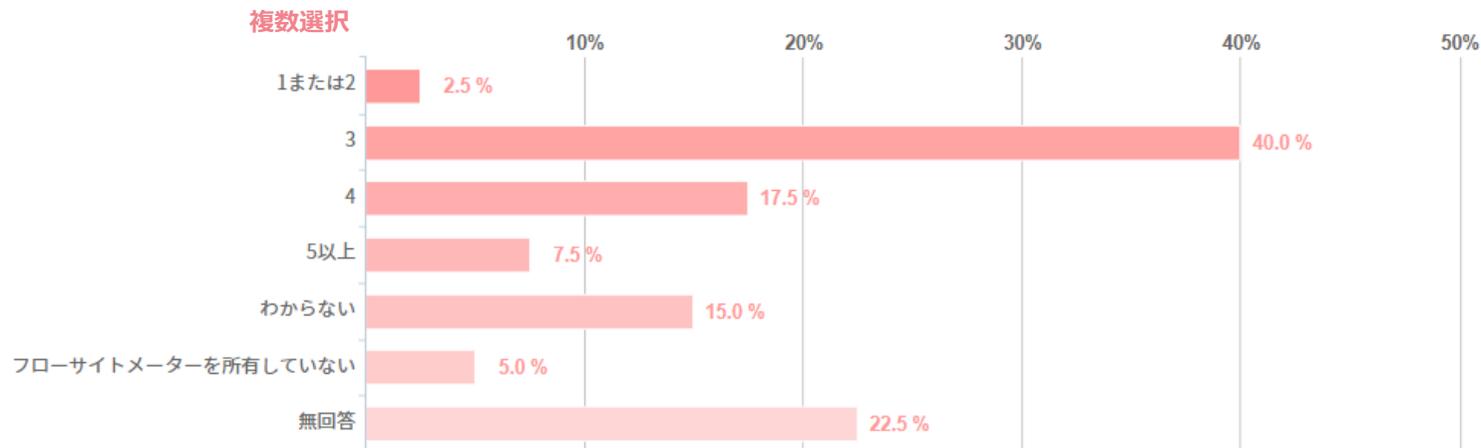
バイオアナリシスにおけるFCMの現状

Q12. フローサイトメーターのパラメーター数（FSC/SSCを除く）



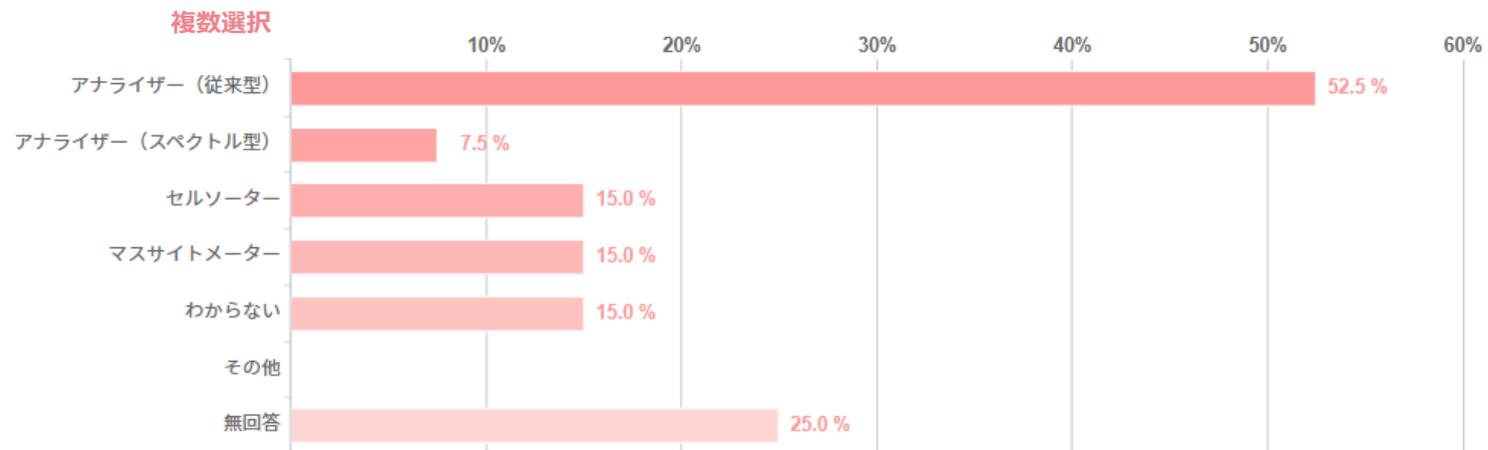
バイオアナリシスにおけるFCMの現状

Q13. フローサイトメーターの搭載レーザー数



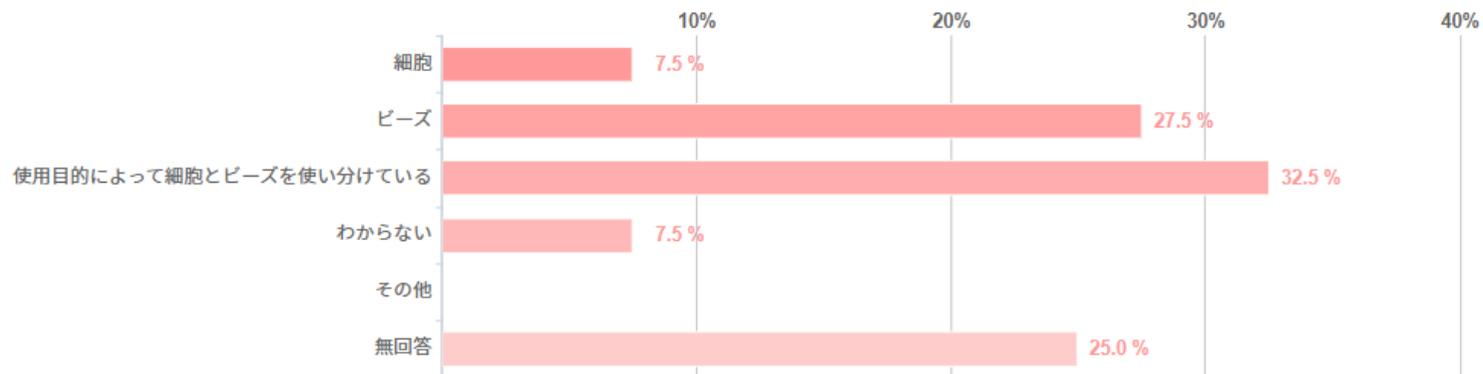
バイオアナリシスにおけるFCMの現状

Q14. 機器のタイプ°



バイオアナリシスにおけるFCMの現状

Q15. 機器の調整（感度・蛍光補正）に使用する材料





バイオアナリシスにおける FCMの課題

アンケート結果 & DGメンバーコメント



フローサイトメトリーの各ステップごとに課題を抽出

バイオアナリシスにおけるFCMの課題



【パネルデザイン】

パラメータ数が多くなるほど複雑になり迷う・うまくいかない場合がある。

- ・蛍光色素の選択
- ・抗体(クローン)の選択
- ・マーカの選択

【バリデーション項目の設定】

- ・再現性(日内・日間)程度
(当日測定が必須の場合は日間再現性は実施しない)
- ・検体・調製試料の安定性

【試験計画書への記載内容】

測定機器の設定値(VoltageやArea Scaling Factorなど)について具体的に記載するか。

バイオアナリシスにおけるFCMの課題



【存在比のばらつき:バリデーション段階での基準の設定】

リンパ球サブセット(T細胞(CD4⁺T細胞、CD8⁺T細胞)、B細胞、NK細胞)など存在比が高い細胞集団(数%~数十%)の場合はばらつきの基準を設定しやすいが、樹状細胞、制御性T細胞など存在比が低い細胞集団の場合(1%以下など)は再現性が低い場合が多い。

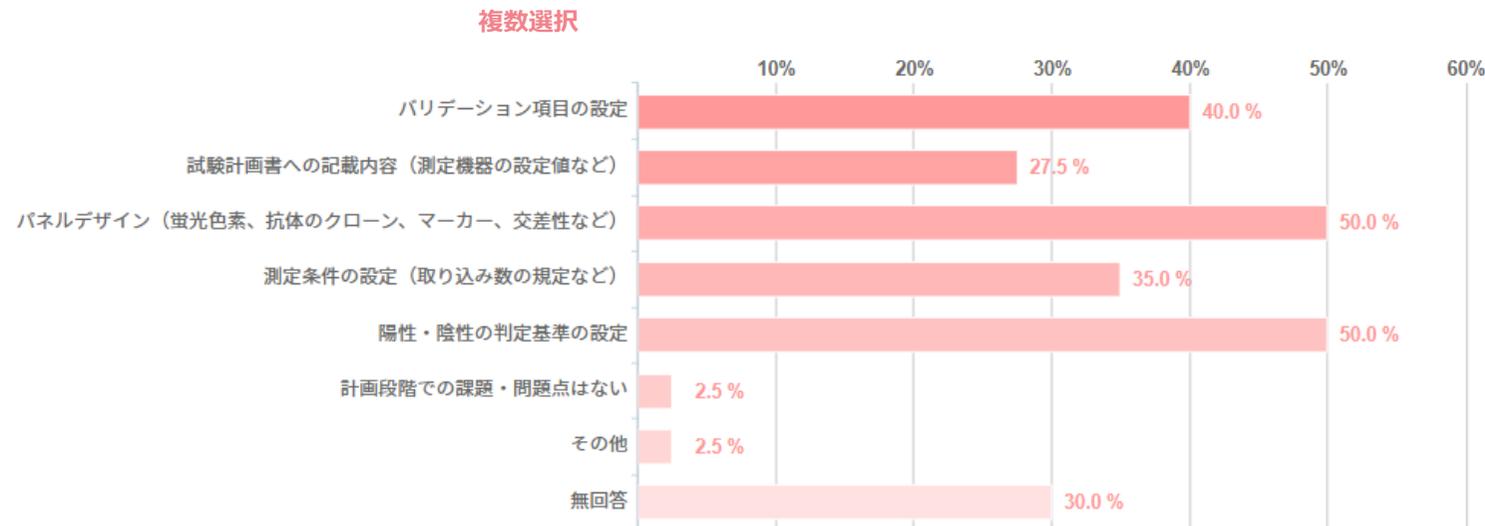
【取り込みイベント数の設定】

リンパ球サブセットの場合は、リンパ球画分で1000~10000程度が多いが、計画書に30000など多めに設定する場合があります、満たなかった場合は再調製する場合もある。

存在比にも関連し、レアな細胞集団が測定対象の場合は取り込み数を多く設定する必要がある。

バイオアナリシスにおけるFCMの課題

Q16. 計画段階での課題・問題点



コメント:

- ・存在比が低い細胞集団を測定する場合は、バリデーション試験での基準が設定しづらいため、ばらつきの程度を把握する程度に留めることが多い。
- ・存在比が低い細胞集団が測定対象の場合、取り込みイベント数を多めに設定する場合がある。ケースバイケースで取り込み数を判断する場合がある。
- ・試料調製の方法が煩雑で長時間にわたる場合がある(細胞内染色を含む場合など)。

バイオアナリシスにおけるFCMの課題



【ヒト鮮血の取得】

- ・倫理申請
- ・抗凝固剤や安定化剤の要否・選択
- ・ボランティア採血の手続き(バリデーション試験で使用する場合など)

【抗体・試薬】

- ・特に抗体はストックしておらず、必要な時にオーダーすることが多い。ほとんどが海外製のため、入手までに時間がかかる
- ・ロットを切り替えるタイミングで割合・再現性を評価し、一定の基準で判断する場合もある。

バイオアナリシスにおけるFCMの課題



【試料の採取・運搬】

<治験>

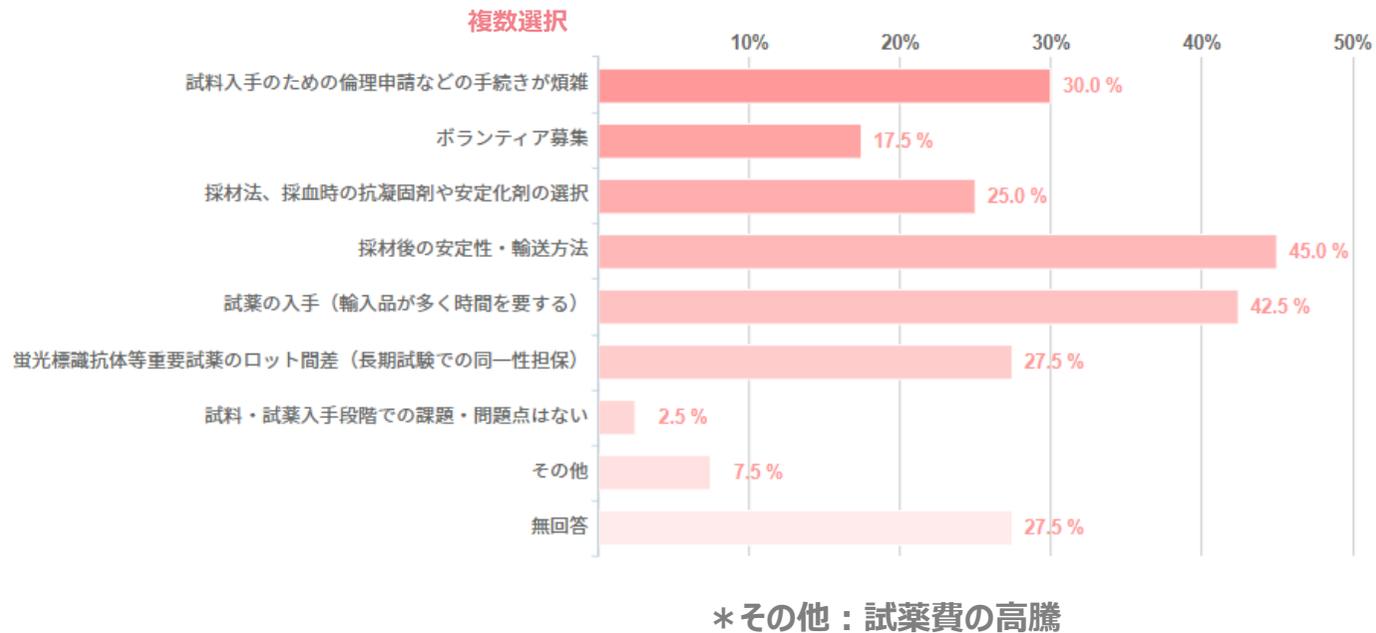
- ・採材法やサンプル保管期間のコントロール(特に海外・複数施設連携時)
- ・治験実施施設からラボへの輸送時間
- ・PBMC分離と保管

<非臨床の動物実験>

検体採取から測定までの時間制限が規定される場合がある

バイオアナリシスにおけるFCMの課題

Q17. 試料・試薬入手段階での課題・問題点



コメント:

生もの（細胞）が測定対象のため、採材から測定までの安定性が問題になる、または懸念の対象になる場合が多いため、事前に確認しておくことが重要である。

バイオアナリシスにおけるFCMの課題



【細胞凝集】

細胞によっては凝集しやすく、つまりの原因になる。(セルストレーナーを使用した後でも時間がたつと凝集することがある)

【染色時の固定のタイミング】

細胞表面、細胞内を染色するときに固定のタイミングに迷う場合がある。(表面、細胞内を同時に染色する場合がある。
表面⇒固定⇒細胞内が一般的かも)

【スペクトル型装置の場合の注意点】

Unmix用の単染色Referenceデータの取扱い(保管、陽性集団選択)

【洗浄の自動化・均一化】

- ・作業時間
- ・細胞回収率
- ・自動化装置導入コスト

【作業時間・人員】

サンプル調製のプロトコルや検体数によっては作業時間が長時間に及ぶことがある。場合によっては複数人数で対応する(したい)場合がある。

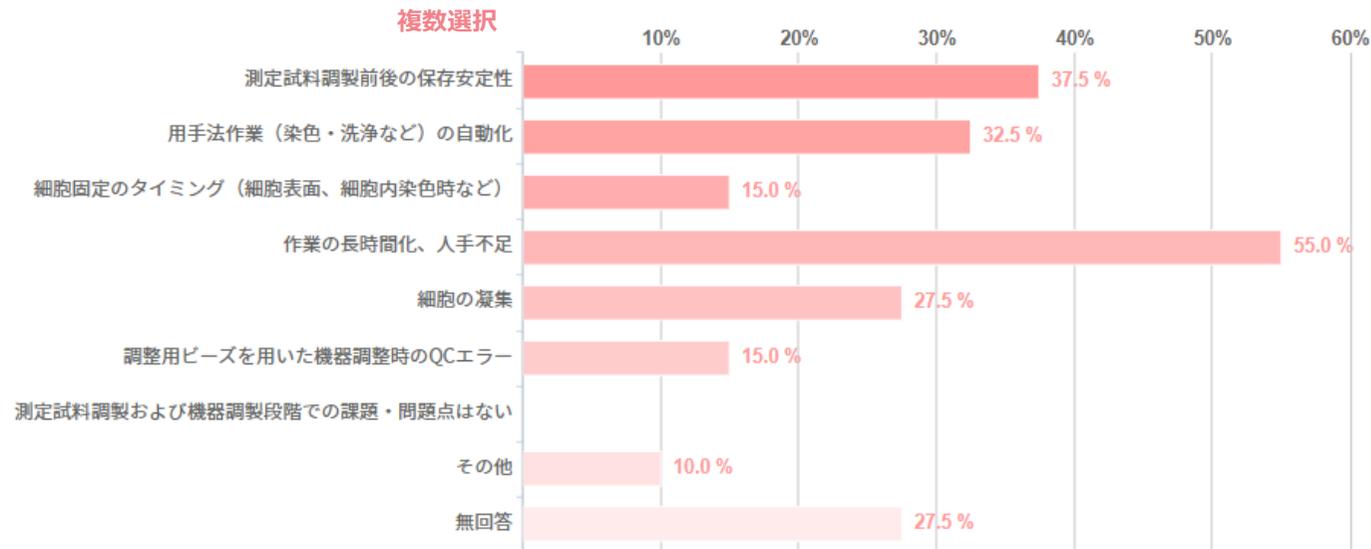
バイオアナリシスにおけるFCMの課題



マルチカラー化に伴う蛍光補正の複雑化も、近年では自動化が進みそこまで問題にならない場合が多そうである。

バイオアナリシスにおけるFCMの課題

Q18. 測定試料調製および機器調整段階での課題・問題点



*その他：抗体濃度の決定(検討), 溶血の有無, 蛍光補正

コメント:

- ・測定試料調製に長時間を要するため、翌日に測定することが多いと思われる。細胞を蛍光で標識しているため、調製後の安定性確認は重要な場合がある。
- ・作業工程や処理時間が長い調製方法(培養後に細胞内染色など)の場合などは、シフト性を組む場合もある。
- ・対応可能な人員が限られ、他部署や上司などにお問い合わせするケースもある。

バイオアナリシスにおけるFCMの課題



【作業者間差】

作業者間でバリデーションが必要か？

【機器間差】

・機器間(同一機種や異なる機種)のバリデーションが必要か？

【流路のつまり】

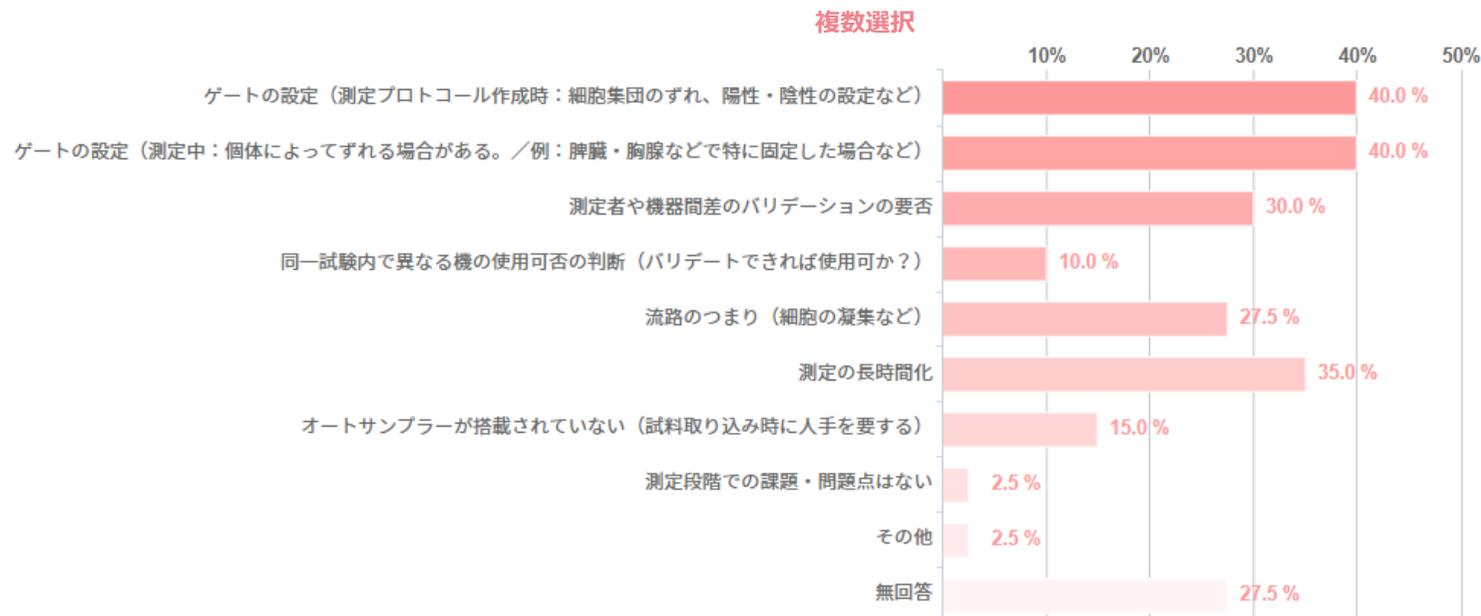
細胞の凝集により流路が詰まり測定ができなくなる場合がある。

【作業時間】

オートサンプラーが付いていない機器の場合は、取り込みの際に作業者が張り付く必要があり、拘束時間が長くなる。

バイオアナリシスにおけるFCMの課題

Q19. 測定段階での課題・問題点



コメント:

- ・測定に長時間を要することが多いため、省力化のためにオートサンプラー付きの機種やオプションを選択したい。
- ・ゲートの設定は迷う場合が多い。例えば、活性化マーカーのような集団の一部が若干シフトするだけの場合など設定の仕方で結果が変わる。測定項目ごとに基準の設定を標準化した方がよいと思われる。

バイオアナリシスにおけるFCMの課題



【解析ソフト】

機器に付属のソフトのみ
解析専用ソフト(FlowJoなど)を使用する場合も。

【スペクトル型装置の場合】

Rawデータの保管(大容量)、Unmix
の記録方法

【ゲーティング】

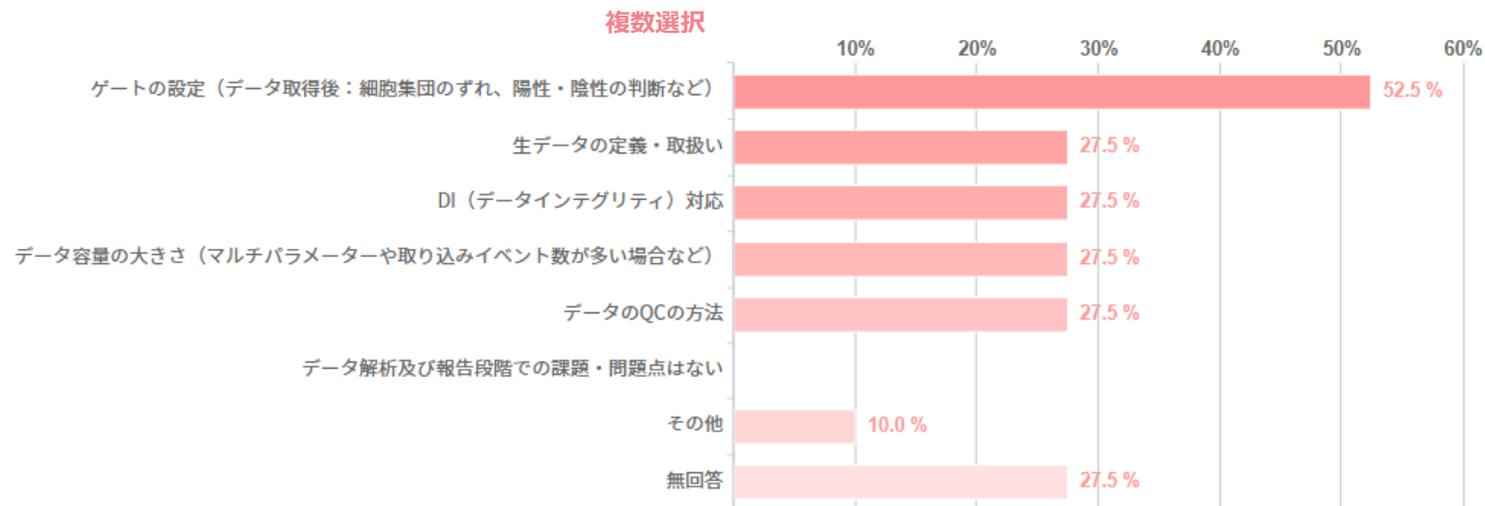
- ・ゲートの設定に迷う場合がある(アイソタイプコントロール(FMO含む)を使用する。
- ・検体によっては測定開始時に設定したゲートからずれる場合がある。ポピュレーションを見ただけで動かしてもよいか迷う場合がある。
- ・脾臓・胸腺等組織由来細胞の場合、個体によっては自家蛍光が高い場合がある(特に固定時)。

【データの取扱い】

生データの定義: 電子or紙

バイオアナリシスにおけるFCMの課題

Q20. データ解析及び報告段階での課題・問題点



*その他：データ解析(データ提供まで)の時間がかかりすぎる, 解析ソフトの選定, 解析ソフトの不具合・使用感

コメント:

・ゲートの設定については解析時にも問題になることが多い。データ取得後のため、イレギュラーな結果（個体によっては集団の位置がずれる、など）については、あらかじめ対応法を規定しておくことが重要である。

バイオアナリシスにおけるFCMの課題

Q21. アンケート全体へのご意見等、自由記載

- バリデーションの実施項目について悩むことが多いので、実施例を紹介いただくと参考になる。

DGコメント：

使用する材料や測定対象によって異なる場合が多い。n=3程度の同時再現性はよく実施しますが、全血を採取当日に測定しなければならない場合は、日間再現性はあまり意味がないと思われます。また精度や安定性については、基準値を設けてしまうと、レアなポピュレーションの場合に基準値を大きく超えてしまう場合もありますので、ばらつきの程度を把握する程度に留めることが多いです。実施の機会が多いと思われるイムノフェノタイピングについて、バリデーションの実施項目を協議することは有用と思われます。

- 血液試料の安定性が短いことが業務の負担が大きくなる要因になっています。フローサイト担当者は、休日出勤も多いため、残業が他の業務と比較して大幅に多い傾向にあります。

DGコメント：

DGメンバー内でも、対応可能な人員が限られかつ作業量が多め、というのは共通認識です。可能であれば以下のような対応がよろしいかと思えます。

- ・計画段階の場合、測定結果に影響しないと思われる範囲で可能な限り省力化・簡略化されたプロトコルやバリデーション項目を設定する。
- ・測定結果に影響しない範囲でプロトコルの短縮を検討する。
(実施頻度が多い定型的な測定系であれば時間と人をかけて検討する必要があるが、頻度が少ない場合はそのまま実施してしまうケースも・・・)
- ・シフト勤務などで作業を分割する。(培養、サンプル調製、測定など)
- ・人手が足りない場合は上司や他部署に応援を依頼するケースも (DGメンバーの例)
- ・試料調製の自動化 (使用場面が限られる場合がある、所有しているが稼働していない : DGメンバー)
- ・オートサンプラー付きのフローサイトメーターを使用 (導入) する。

バイオアナリシスにおけるFCMの課題

Q21. アンケート全体へのご意見等、自由記載

- 細胞が維持されないと評価できないので、ヒト試料では採取、輸送、安定性の課題は大きいと思います。投与前後の検体を同じタイミングで測定できないことも多い一方、相対定量なので、比較が難しいように思うときがありました。また長期にわたる治験では、試薬ロット変更などのライフサイクルマネージメントがたいへんと思います。

DGコメント：

材料が生もの（細胞）であるため、安定性が重要であることは共通認識です。凍結保存や安定化剤などが使用できる場合は異なる採取ポイントのサンプルを同一バッチで調製、測定も可能ですが、当日調製が必須の場合はそうはいきませんので、可能な限り測定間差が少なくなるような測定系で実施することが重要かと思えます。治験など長期にわたる場合はさらに試薬のロット差も気になるところですが、こちらも測定間差が少なくなるような対策が必要です。自前で標識した抗体であれば、都度確認をしますが、購入試薬の場合は、抗体濃度が異なっている場合は濃度が一定になるように調整する場合があります（DGメンバーのケース）。

- FCMについては、医薬品開発において有用で避けることができない分析手法になっていると思います。治験検体の評価を委託している身としては外部委託施設におけるFCMの専門性の向上を期待いたします。また、治験においては、検体の安定性担保が非常に大きな課題となっておりますので、そこに対する手当についてご提案なされると非常に有用だと思えます。

DGコメント：

FCMに関する専門性の向上については、この資料の終わりに「FCMに関するお役立ち情報集」としていくつか紹介した情報が有用かもしれません。

また先のコメント同様、材料が生もの（細胞）であるため、安定性が重要であることは共通認識です。輸送方法・条件もさることながら、採材施設の地理的条件の考慮も必要かと思えます。いずれにしても実試料を測定する条件で事前に安定性を確認しておくことが重要になるかと思えます。

バイオアナリシスにおけるFCMの課題

Q21. アンケート全体へのご意見等、自由記載

- 自分の周りでは、FCMは薬理研究者が実施していることが多いが、FCMは薬物動態研究においても非常に有用であると感じる。薬物動態研究においてどのような検討にFCMが活用されているのかもっとよく知りたい。

DGコメント：

細胞療法で用いられるCAR-T細胞は、血中の薬物濃度測定として実施例があるかと思います。CAR-T細胞の臓器分布も不可ではありませんが定量性が低いと思われます。

- FCMの試験担当者として、測定サンプル数が多い時の測定時間の長さが大変だなと感じています。測定機器の自動化の現状を知りたいです。

DGコメント：

作業の自動化は、省力化に加え均質化にも重要と認識しています。

試料調製に関しては、各メーカーからいろいろな機種が発売されていますが、価格が見合わない、使用場面が限られる場合（定型的な試料調製でのみ使用）や、所有しているが稼働していないのが現状です（DGメンバー）。

一方で、フローサイトメーターに測定試料を取り込むオートサンプラーは有用であると認識しています。FCMチューブや96穴プレート用、または両方を使用できるものが一般的になりつつあるようです。

バイオアナリシスにおけるFCMの課題

Q21. アンケート全体へのご意見等、自由記載

- 原理をわかっているようでわかっていないので、わかりやすく解説していただけると助かります。その際にバリデーション項目の例があるとなお助かります。

DGコメント：

測定原理などについては、この資料の終わりに「FCMに関するお役立ち情報集」としていくつか紹介していますので、ご参考にしていただければと思います。バリデーション項目については、実施する測定系により大きく異なりますので、今回のDGのテーマとはいたしませんでした。具体的な測定系に絞ることができれば議論を深めてゆければと思います。

- ゴーストサイトメトリー、エクソソーム分析を取り上げて頂けるとよろしいかと思ひます。

DGコメント：

フローサイトメトリーについては測定原理や測定対象が拡大中と認識しています。要望や機運が高まれば順次議論の対象にしてゆければと思ひます。

- 取り上げてもらいたいテーマは、解析ソフトの簡便化、外部精度管理の統一化（マルチカラー解析）

DGコメント：

パラメーター数が多くなるにしたがって解析の複雑になり、簡便化が求められるところでは。臨床検査の分野では解析の自動化も進んでいるようですが、まだマニュアル解析が一般的ではないでしょうか。また、精度管理も重要なテーマかと思ひますので、こちらも要望や機運が高まれば順次議論の対象にしてゆければと思ひます。

今後の課題

バイオアナリシスにおいてFCMで最も実施する機会が多い測定項目としてはイムノフェノタイピングが挙げられた。

最近では測定ニーズの高度化及び機器の高性能化もあり典型的なリンパ球サブセットにとどまらず、制御性T細胞や樹状細胞のような存在比率が少ない細胞集団や、細胞集団としてはっきりと区別できない場合もある。

具体的なバリデーション項目、測定方法やデータ採用基準を標準化しづらい部分もあり当DGの議論の対象外としたため、今後の課題の一つとして挙げておきたい。

総括

FCMを日常の業務として実施している当DGのメンバー内で現状及び課題の洗い出しと整理を行った。その内容を基にDGサポーター及び関係者へ向けてアンケートを実施し、当DGのメンバーで結果を振り返った。

その結果、開発のフェーズや規制対応などさまざまな場面でFCMが使用されていることが把握できたと同時に、測定の計画から報告までの各段階における、次の課題や問題点が明らかになった。

- ・バリデーションの実施内容・基準
- ・試料の安定性
- ・ゲートの設定
- ・人員不足
- ・教育に時間がかかる（特に測定・解析）

当DGではFCMに関する現状と課題について把握することを主な目的としたが、今後は今回得られた知見を基に具体的な解決策等の議論が深まり、バイオアナリシスにおけるFCMの円滑な遂行に寄与することが期待される。



FCMに関するお役立ち情報集

<http://bioanalysisforum.jp/>

[Best Practices in Performing Flow Cytometry in A Regulated Environment: Feedback from Experience Within The European Bioanalysis Forum](#)

Bioanalysis. 2017 Aug;9(16):1253-1264.

[CLSI H62 Validation of Assays Performed by Flow Cytometry, 1st Edition](#)

CLSI(Clinical & Laboratory Standards Institute). 2021 Oct.

[P057 - Anna Laurén - Intro to the Flow Cytometry workshop – final](#)

EBF 17th Open Symposium, 2024

FCM上達のための情報源

Webサイト

- [フローサイトメトリーソリューション | Thermo Fisher Scientific - JP](#)
- [BD® Spectrum Viewer | Spectral Analyzer](#)
(色素の励起・蛍光スペクトル：パネルデザインに必須)
- [Nonhuman Primate Reagent Resource \(NHPRR\)](#)
(ヒト抗体のサルへの交差性情報等)
- [OMIPs Collection](#)
(ピアレビュー済みのパネルが85種類ほど掲載)

FCM上達のための情報源

書籍

- ・[フローサイトメトリー もっと幅広く使いこなせる！～マルチカラー解析も、ソーティングも、もう悩まない！ - 羊土社](#)
- ・[スタンダード フローサイトメトリー 第2版/医歯薬出版株式会社](#)
- ・[ラボ必携 フローサイトメトリーQ&A～- 羊土社](#)
- ・[新世代フローサイトメトリー活用スタンダード～- 羊土社](#)
(パネルの組み方や代表的な測定例など実践的な内容)

その他

- ・技術認定：[日本サイトメトリー技術者認定制度](#)



シンポジウム会場でいただいた ご質問等

<http://bioanalysisforum.jp/>

シンポジウム会場でいただいたご質問等に対するコメント (1)

分類	ご質問・ご意見	DGメンバーからの回答・コメント
計画	バリデーションについて	精度と安定性はよく実施する。感度や干渉は測定系によりケースバイケース。アンケートにおいても質問があり、興味を持たれている方が多い印象。測定系を絞って（イムノフェノタイピング等）、今後のテーマにしてもよいかもしいない。
計画	CLSIのガイダンスには準拠しているか	参考にはしているが、必ずしも準拠できていない。
測定	細胞内への移行を経時的に捉えられないか？	時間をパラメータとして取得は可能。培養条件の維持と細胞内へ移行したことが蛍光の変化で捉えられれば測定できる可能性はある。
測定	臨床検体測定時、細胞生存率が低い検体のデータ採否に悩む	細胞生存率または目的集団の細胞数のCriteriaを後から設定し基準外の検体は参考値扱いとするか、染色コントロールにおいて平均蛍光強度を評価するような試験であればコントロールの値が他と同等であることを基準にする、といった方法が考えられる。目的の算出値への影響を考慮して決定する。
測定	測定可否について ①ウイルス ②エクソソーム ③組織分布 ④ADA	①機種によっては可能。（粒子としてとらえられる大きさに制限がある） ②注目はされているようだが、まだ一般的ではないような気がする。 ③シングルセルにできれば可能。位置情報が得られない。 ④可能。ただしスループット性でプレートを用いたLBAに劣りそう。バッチ間の再現性に問題があるかもしれない。

シンポジウム会場でいただいたご質問等に対するコメント (2)

分類	ご質問・ご意見	DGメンバーからの回答・コメント
試料入手	安定性が問題になるケースが多い（時間、温度、抗凝固剤、添加剤等）	測定対象が生きた細胞であるため、採血から測定試料調製までの測定性は重要である認識。安定性を延長されるような採血管も市販されているので、バリデーション項目として検討したいところ。
試料入手	ヒト新鮮血の入手方法	病院との連携、公共バイオバンクへの登録、社内ボランティアなど。研究ごとにヒト倫理審査は必要。
データ解析・報告	生データの定義・データの取扱い	測定施設により対応が異なる <ul style="list-style-type: none"> ●測定データ（電子）を生データとする場合、サーバー又は磁気媒体への移行が必須のため、CSV形式で同一性データを保証し、移行前後のデータ容量を確認し記録する。 ●測定データの解析結果をPDF出力したものを生データとする場合、測定データと解析ファイルを特定のサーバーに保存し、解析結果をPDF出力し、生データとして紙や電子で保存。 ⇒いずれの場合も、再解析の取り扱いが難しいと感じている。 ●現時点では紙出力を生データとしており再解析時は一旦電子に戻っているが、近いうちに測定データおよび解析データの両方の電子化を予定。
その他	結合した抗体は外れないのか	アフィニティー（結合性）が高い抗体が取得され試薬として売っているのでそう外れないと思われる。ボルテックスなど操作で外れたり、固定処理で外れにくくなる可能性を経験している。