

1.1

- FSC und SSC werden bei der Wellenlänge des Laserlichts (488 nm) detektiert (kein Fluoreszenzlicht). („normale“ EM-Strahlung). Die Filter bei FSC und SSC lassen also 488 nm (mit einer gewissen Bandbreite: ± 10 nm) durch, also Anregungswellenlänge, da ja hier kein Fluoreszenzsignal gemessen werden soll.
- FL1 - FL3: Fluoreszenzlichtdetektoren. \Rightarrow alle detektieren bei höheren Wellenlängen als 488 nm, denn Fluoreszenzlicht ist langwelliger als das Anregungslicht (*Stokes'sches Gesetz!*). Die entsprechenden Filter lassen auch hier nur die Wellenlängen durch, die detektiert werden sollen. Beim Kanal, der das rote Fluoreszenzlicht detektieren soll, liegt ein Langpassfilter vor. Hier wird also sämtliches Licht überhalb 670 nm detektiert. Langwelligeres Licht, als die rote Fluoreszenzstrahlung, liegt eh nicht vor.
- Wichtig ist auch die sinnvolle Reihenfolge der Kanäle! Die Interferenzfilter lassen nämlich nur Licht unterhalb einer bestimmten Wellenlänge unverändert durch. Dieses Licht verändert seine Ausbreitungsrichtung nicht. Hingegen wird langwelligeres Licht jedoch auf den entsprechenden Filter abgelenkt, also gespiegelt.
 - Der erste Interferenzspiegel (der beschriftete) lässt z.B. alle Wellenlängen, die kürzer als 620 nm sind, ungehindert passieren, die darüber liegen, werden auf den Filter (670/LP) gespiegelt.
 - Der zweite Interferenzspiegel lässt z.B. alle Wellenlängen kürzer 570 nm ungehindert passieren, die darüber liegen, werden auf den Filter (585/42) gespiegelt. Wegen des vorherigen 1. Spiegels sind das Werte zwischen 571-620 nm (also im entsprechenden Detektionsbereich)
 - Der dritte Interferenzspiegel lässt z.B. alle Wellenlängen kürzer 510 nm ungehindert passieren, die darüber liegen, werden auf den Filter (530/30) gespiegelt. Wegen des vorherigen 1. und 2. Spiegels sind das Werte zwischen 511-570 nm (also im entsprechenden Detektionsbereich)
 - Für den nun folgenden SSC-Kanal bleibt also nur noch das kurzwellige Anregungslicht (488 nm) übrig. Der SSC-Kanal muss der letzte sein.
 - FAZIT: Die Kanäle sind in der Reihenfolge so hintereinander gereiht, dass sie immer kürzere Wellenlängen detektieren.

4.1

x-Achse: FSC (Größe)

y-Achse: SSC (Granularität)

4.2 a) und b) gemeinsam

b) Geben Sie für alle Quadranten an: „Ag1 positiv, Ag2 negativ“ o.ä.

- Die Histogramme zeigen Häufigkeitsmaxima bei Ag1-Negativ und Ag2-Positiv. Die dazu passende Zellgruppe findet sich im Konturenplot im linken oberen Quadranten dargestellt. Man erkennt an der Farbintensität, dass gerade diese Zellgruppe (Ag1 positiv, Ag2 negativ) häufig vertreten ist.
- Weiteres Argument: Das Histogramm links (FL1-Kanal) zeigt, dass die Zellen bezüglich des Merkmals Ag1-negativ und Ag1-positiv scharf getrennt ist. Es gibt kaum Zellen im Grenzbereich zwischen diesen beiden Merkmalen. Die Histogrammkurve zeigt hier eine starke Delle. Das passt im Konturenplot am besten zur x-Achse. Die Zellgruppen die rechts und links im Konturenplot dargestellt sind, sind auch scharf getrennt. \Rightarrow Auf der x-Achse muss lg FL1 aufgetragen sein.
- Damit ist auch die Bezeichnung der anderen Quadranten eindeutig.

Rechts oben: Ag1-positiv. Ag-2-positiv.

Links unten: Ag1-negativ. Ag2-negativ.

Rechts unten: Ag1-positiv. Ag2-negativ
- Beschriftung der Achsen: X-Achse: lg FL1 y-Achse: lg FL2