

1.1

1.1 Schreiben Sie eine Erklärung zur Abb. 1.2 (Optisches System). Diskutieren Sie dabei auch die Zahlenwerte. Hinweis: Bei Bandfiltern findet sich vor dem Schrägstrich die durchgelassene Wellenlänge und nach dem Schrägstrich die spektrale Bandbreite. "488/10" bedeutet beispielsweise, dass nur Licht zwischen 483 und 493 nm durchgelassen wird. LP steht für Langpassfilter, der das gesamte Licht oberhalb der angegebenen Wellenlänge durchlässt. FL steht für Fluoreszenzkanal.)

- FSC und SSC werden bei der 488 nm detektiert $\Rightarrow$ kein Fluoreszenzlicht, sondern EM-Strahlung des Lasers $\Rightarrow$ Filter bei FSC und SSC lassen 488 nm (Bandbreite: ± 10 nm!) durch, also Anregungswellenlänge.
- FL1 – FL3: Fluoreszenzlichtdetektoren. $\Rightarrow$ alle detektieren bei WL $\lambda > 488$ nm, also Fluoreszenzlicht (langwelliger als Anregungslicht!). Entsprechende Filter lassen nur WL durch, die detektiert werden sollen. Beim Kanal, der das rote Fluoreszenzlicht detektiert, liegt ein Langpassfilter vor $\Rightarrow$ Sämtliches Licht $\lambda > 670$ nm wird detektiert.
- Wichtig ist sinnvolle Reihenfolge der Kanäle! Interferenzspiegel lassen nämlich nur Licht unterhalb einer bestimmten Wellenlänge unverändert durch. Hingegen wird langwelligeres Licht auf den entsprechenden Filter gespiegelt.
 - Der 1. Interferenzspiegel (der beschriftete) lässt $\lambda \leq 620$ nm ungehindert passieren, WL darüber werden auf den Filter (670/LP) gespiegelt. $\Rightarrow$ passende Detektions-WL gelangt auf Photomultiplier (PM).
 - Der 2. Interferenzspiegel lässt $\lambda \leq 570$ nm passieren, ab dieser WL (wegen 1. Interferenzspiegels: 570 - 620 nm) werden auf den Filter (585/42) gespiegelt. $\Rightarrow$ passende Detektions-WL gelangt auf PM.
 - Der 3. Interferenzspiegel lässt alle $\lambda \leq 510$ nm ungehindert passieren, WL darüber (510 - 570 nm) werden gespiegelt. $\Rightarrow$ passende Detektions-WL gelangt auf PM.
 - 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 detektierten.

4.1

Aufgabe 4.1 Beschriften Sie die beiden Achsen des Streudiagramms in Abb. 4.2 mit SSC und FSC!.

x-Achse: FSC (Größe) y-Achse: SSC (Granularität)

Begründung: Granulozyten müssen besonders hohe Granulärität besitzen.

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