

【今更聞けない、、、細胞固定によって影響を受ける表面抗原タンパク質】

[前回](#)は、SDS（安全データシート）のご紹介をしました。

フローサイトメトリー実験に関する試薬で、特に SDS に気を付けなければいけない試薬の一つは、細胞固定試薬です。細胞の固定液は、[前々回](#)にご紹介した、細胞内分子の染色時に使用されます。

一般的に細胞内分子の染色時は、固定→開孔の順でおこない最後にバッファーを洗い流します。（固定と開孔を同時に行える試薬もあります。）

細胞の固定（Fix）には、パラホルムアルデヒドが使用されることが一般的です。パラホルムアルデヒドは劇物に該当し、その作用により、タンパク質は変性します。

（パラホルムアルデヒド濃度は試薬によって異なります。またパラホルムアルデヒド以外の成分を使った固定用バッファーもありますため、試薬によって SDS の内容が変わることもあります。要注意！）

フローサイトメトリー実験において固定をする前に気を付けるべき点は、大きく分けて下記 2 点です。

- ① 固定用バッファーにより、抗体結合している蛍光色素に影響があること
- ② タンパク質である細胞表面抗原が、細胞固定により変性し、抗体との結合性が変わってしまうこと。

① について、

固定用バッファーの強さや反応時間と、蛍光色素の種類により影響を受ける度合いが変わります。特に影響を受けやすいのは、一般的にタンデム色素といわれる色素です。

② について、

抗体クローンにより、固定用バッファーによるタンパク質の変性の影響で結合性が変わるかどうか異なります。固定により影響を受けるかどうかは、抗原の結合部位に固定された影響が生じるかによるため、同じ抗原を認識する抗体であっても、クローンが違えば、結合部位が変わりますため、影響を受ける度合いが異なります。

①のように、使用予定の抗体の蛍光色素が、固定により壊れる可能性がある場合は、細胞表面抗原であっても固定後に細胞に添加し、染色するという方法で回避できますが、②では、固定時のタンパク質の変性により抗体が結合できなくなる恐れがあります。



細胞表面抗原と細胞内分子を同時染色する予定がおりでしたら、表面抗原染色が固定によって影響を受けるかどうか、事前検討をしていただくことを推奨いたします。

事前検討のまえに、ご参照いただける情報がバイオレジェンド社のウェブページにございますので、ご参照いただければ幸いです。

■ BioLegend 社 HP 参照ページ

[Fixation](#)

上記サイトでは、一部クローンが 4%パラホルムアルデヒドによる固定によって抗原への結合性が変わるかどうかの比較を行っています。固定前後それぞれの染色パターンのデータを見ることができますので、ぜひ細胞固定をご検討されている場合には、上記サイトで固定による影響の有無をご確認ください。

■ 過去の記事はこちらからどうぞ

[第 1 回：今更聞けない、、、CD 抗原とは？？？？](#)

[第 2 回：今更聞けない、、、マルチカラーパネルとは？？？？](#)

[第 3 回：今更聞けない、、、抗体のタイトレーションとは？？？？](#)

[第 4 回：今更聞けない、、、何のマーカーを測定したらよいの？？？？](#)

[第 5 回：今更聞けない、、、細胞内因子の測定とは？？？？](#)

[第 6 回：今更聞けない、、、Viability Dye（死細胞標識試薬）の重要性](#)

[第 7 回：あなたを守る、SDS（安全データシート）を確認しよう！](#)