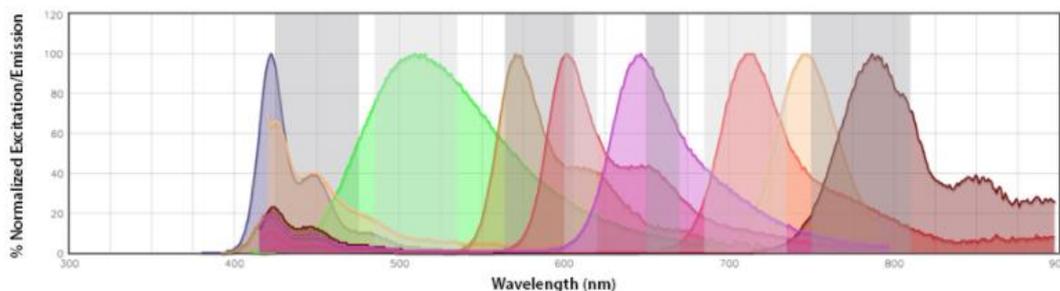


## 【今更聞けない、、、FCM で多重染色するときの抗体の選び方とは？】

フローサイトメトリー実験に関する、今更聞けない質問にお答えする「今更聞けない、、、」は、2019 年からスタートし、今年で 3 年目となります。今回は再度初心に戻り、フローサイトメトリー実験で多重染色を行うときの抗体の組み合わせ（抗体パネルと言います）の基本的なルールについてお話します。このルールに従って、抗体パネルを作成すると、データの解釈および解析がスムーズになります。

また、抗体パネル作成の際の便利なウェブツールなども掲載しておきますので、ご参照ください。



### ■ 基本的なルール

#### 1. 発現量の少ない抗原タンパク質に対しては明るい蛍光色素を選択する

逆に、発現量の多い抗原タンパク質に対しては、蛍光強度の低い蛍光色素を選択します。例えば、CD45 や CD3, CD4 といった分子は高発現しているため、暗い蛍光色素標識抗体で十分に検出可能です。それらの分子に明るい蛍光色素を付けてしまうと、他の蛍光色素の検出を妨げてしまいます。

— 血球上の一般的な表面分子発現量は、下記 PDF より確認できます。

[【Expression of Common Surface Molecules on Blood Cells】](#)

#### 2. 蛍光色素の特徴を知る

複数蛍光色素を使うと、どうしても蛍光色素の波長が他の色素へ洩れ込むことを避けることができません。各色素が他の色素にどのように洩れ込むのか、洩れ込みにくい色素の組み合わせは何かなどを知っておく必要があります。

蛍光色素の特徴として認識しておくべきは、①タンデム色素はドナー分子（例；PE / Cyanine7 の場合、ドナー分子は PE, Cyanine7 はアクセプター分子と呼ばれます）に洩れ込むこと、②励起レーザーが異なる色素同士は洩れ込みにくい（＝漏れ込みが無いわけではない）。

悪い例を挙げると、CD3 と CD4 で展開しようと考えているのに、CD3 を PE, CD4 を PE / Cyanine7 で検出しようとする、PE と PE / Cyanine7 が洩れ込みあい、きれいな図になりません。

蛍光色素に関するおすすめツール

- 蛍光波長は：[Fluorescence Spectra Analyzer](#)
- 特長は：[Fluorophore Families](#)
- 蛍光強度の比較は：[Fluorophore Brightness Index](#)

### 3. 解析時に蛍光波長の漏れ込みを無視できるような展開を考える

ルール 2 に従い、各蛍光色素の特徴を知り、洩れ込みが生じても影響が少なくなるようなゲート展開ができるようにパネルを組む必要があります。これはつまり、測定する前の抗体パネル作成時には、解析時の展開を考えておく必要があるということも意味します。

### 4. ダンプチャンネル (Dump Channels) を検討する

特定の細胞集団のみを解析したい場合、不要な他の細胞すべてを同じ蛍光色素で標識することにより、除外する手法です。解析したい細胞集団が希少な場合は、とても有効な方法となります。また、このチャンネルに死細胞除去用の色素も含めることによって死細胞除去も同時に行うことができます。

最も漏れ込みの多い色素を当てることにより、その色素の漏れ込みの問題もクリアすることができます。

パネルデザイン用のツールのご紹介もしておきます。

#### — [Multicolor Panel Selector](#)

測定したい分子を入力すると、同一色素を複数回選択せずにパネルが組めるサイト

#### — [FluoroFinder](#)

アカデミアは無料で使用可能な、パネル作成ツール

#### ■「今更聞けない、、、」シリーズ お題大募集中■

フローサイトメトリー実験についての「今更聞けない、、、」なことを大募集しています。

TDB News に採用された方にはオリジナル USB メモリーをプレゼントします。

お題お申込み、過去の記事は[こちら](#)からご確認ください。