

【今更聞けない、、、細胞の自家蛍光とは？】

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、、、」シリーズですが、今回は自家蛍光についてご説明させていただきます。

そもそも、細胞は自家蛍光と呼ばれる自然なレベルの蛍光を有しています。

この自家蛍光は、細胞内小器官（例：ミトコンドリア、リソソーム）などの構造物や、細胞内に含まれる化合物（例：NADPH）などに起因しており、計測される蛍光レベルは細胞の大きさ、活性、顆粒の量など変化します。

一般的に、より大きな細胞、より顆粒を多く含む細胞では、起因する物質が多く含まれるため自家蛍光レベルが増加する傾向にあります。

多くの自家蛍光分子は、励起波長 350～500nm、蛍光波長 350～550nm と言われており、従来型のフローサイトメトリー機器であれば BV421™、FITC、PE の検出器において検出されやすいことに留意してください。

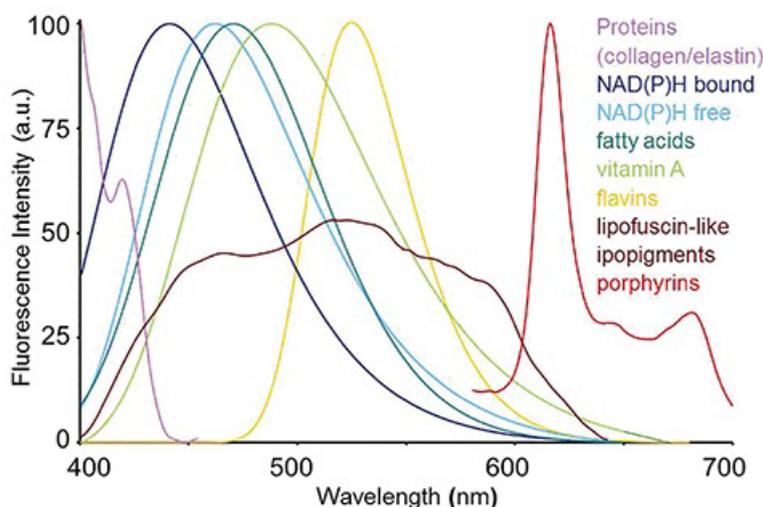


図1 主な自家蛍光の蛍光波長

(引用：<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4289852/>)

なお、自家蛍光のレベルは、無染色コントロールを用いて確認することができます。

実際に測定した際の見え方を図2に示しましたが、細胞の種類によって検出される蛍光レベルが異なることが確認できます。

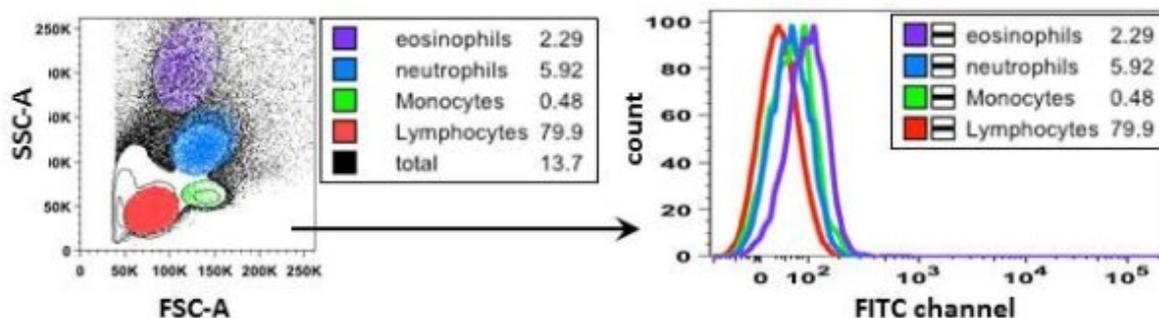


図 2. マウス末梢血の細胞腫毎の自家蛍光レベルを FITC の検出器で確認した
 左 : FSC × SSC で展開における、細胞種ごとのゲーティング
 右 : ゲーティング後のそれぞれのデータについて FITC の検出器で自家蛍光レベルを確認
 Eosinophils (紫), Neutrophils (青), Monocytes (緑), Lymphocytes (赤)

(参考 : BioLegend 社 Blog 「Key sample considerations for flow cytometry staining」)

<https://www.biolegend.com/ja-jp/blog/key-sample-considerations-for-flow-cytometry-staining>

前述した通り、自家蛍光は波長 350~550nm であることが多い為、より長い波長の検出器 (例 : APC、BV711 など) であれば自家蛍光によるデータへの影響が少なくなります。実験で自家蛍光レベルの高い細胞を用いる際には 600nm を超える蛍光色素を優先して使用することもご検討ください。

また、近年普及しているスペクトル型アナライザーの場合、無染色サンプルの測定データをもとに細胞の自家蛍光の波形を差し引いて解析してくれるため、自家蛍光によるデータへの影響を最小限に抑えることができます。詳細は過去の今更聞けないシリーズをご確認ください。

(参考 : 『今更聞けない、、、スペクトル型フローサイトメーターて何?』)

https://www.digital-biology.co.jp/html/japanese/mail/TDBNews2021_06/BLI.pdf

「今更聞けない、、、」シリーズ 記事まとめページは[こちら](#)